

DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2023.03.008

引文格式:张丽华,唐培鑫,查蒙蒙,等.杜仲叶超微粉添加量对发酵苹果汁品质的影响[J].中国调味品,2023,48(3):43-50.

ZHANG L H, TANG P X, ZHA M M, et al. Effect of the addition amount of superfine powder of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves on the quality of fermented apple juice[J]. China Condiment, 2023, 48(3): 43-50.

杜仲叶超微粉添加量对发酵苹果汁品质的影响

张丽华^{1,2,3}, 唐培鑫¹, 查蒙蒙¹, 冯路瑶¹, 纵伟^{1,2,3*}

(1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 郑州 450001; 2. 食品生产与安全河南省协同创新中心, 郑州 450001; 3. 河南省冷链食品质量安全控制重点实验室, 郑州 450001)

摘要:为了拓宽杜仲叶在食品加工中的应用范围,提高植物乳杆菌发酵苹果汁的品质,通过在苹果汁中添加1%、2%和3%杜仲叶超微粉(SPEL),探讨植物乳杆菌发酵苹果汁过程中的品质变化。结果表明,与对照组相比,添加SPEL的发酵苹果汁pH值、 a^* 值和 b^* 值显著增加($P<0.05$)。电子鼻结果显示,发酵苹果汁中烃类、醇类、芳香族化合物和无机硫化物等挥发性香气物质增加。苹果汁功能性成分结果显示,发酵48h后,添加SPEL的发酵苹果汁的黄酮、总酚、酒石酸、乙酸、乳酸、抗坏血酸和苹果酸的质量浓度均显著高于对照组($P<0.05$),且与SPEL添加量呈正相关。因此,在发酵苹果汁中添加SPEL能够弥补植物乳杆菌发酵过程中苹果汁功能性成分的降低,改善发酵苹果汁的品质。

关键词:杜仲叶;超微粉;发酵苹果汁;香气;功能性成分

中图分类号:TS255.44

文献标志码:A

文章编号:1000-9973(2023)03-0043-08

Effect of the Addition Amount of Superfine Powder of *Eucommia ulmoides* Oliv. Leaves on the Quality of Fermented Apple Juice

ZHANG Li-hua^{1,2,3}, TANG Pei-xin¹, ZHA Meng-meng¹, FENG Lu-yao¹, ZONG Wei^{1,2,3*}

(1. College of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China; 2. Collaborative Innovation Center of Food Production and Safety in Henan Province, Zhengzhou 450001, China; 3. Key Laboratory of Cold-chain Food Quality and Safety Control in Henan Province, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: To broaden the application range of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves in food processing and improve the quality of apple juice fermented by *Lactobacillus plantarum*, the quality change of apple juice fermented by *Lactobacillus plantarum* is studied by adding 1%, 2% and 3% superfine powder of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves (SPEL) into apple juice. The results show that compared with the control group, the pH value, a^* value and b^* value of fermented apple juice with SPEL increase significantly ($P<0.05$). The electronic nose results show that volatile aroma substances such as hydrocarbons, alcohols, aromatic compounds and inorganic sulfides increase in fermented apple juice. The results of functional components of apple juice show that after 48 hours of fermentation, the mass concentrations of flavonoids, total phenols, tartaric acid, acetic acid, lactic acid, ascorbic acid and malic acid of fermented apple juice with SPEL are significantly higher than those in the control group ($P<0.05$), and are positively correlated with the addition amount of SPEL. Therefore, the addition of SPEL into fermented apple juice can compensate for the decrease of functional components in apple juice during the fermentation process, and improve the quality of fermented apple juice.

Key words: *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves; superfine powder; fermented apple juice; aroma; functional components

收稿日期:2022-08-28

基金项目:十三五国家重点研发项目(2017YFD060130205);河南省科技攻关项目(222102110408)

作者简介:张丽华(1982—),女,河南焦作人,副教授,博士,研究方向:果蔬加工与安全技术控制。

* 通信作者:纵伟(1965—),男,安徽宿州人,教授,博士,研究方向:果蔬加工与安全技术控制。

杜仲是中国特有的名贵滋补中药材^[1]。最新研究表明,杜仲叶富含黄酮、多糖、多酚等活性成分,具有与杜仲皮相似的降血压、降血糖、抗炎和抗骨质疏松等功能^[2-3]。杜仲叶在 2005 年被载入《中华人民共和国药典》,2018 年纳入药食两用物质管理。在中国的湖南省和河南省等地,有将杜仲嫩叶入菜、煮粥、泡茶及制作主食的饮食习俗^[4-5]。近年来,利用杜仲叶开发的产品有杜仲茶、杜仲叶饮料、杜仲叶浸膏粉等^[6-8],但将其作为配料应用在食品加工中的研究较少。

超微粉碎技术是生产保健品和功能性食品的新型加工技术,能最大限度地保留天然活性物质的功能。已有研究表明,超微粉碎能够增加天然可食植物中总酚和总黄酮的溶出^[9]。陈书明等^[10]发现提高面包中杜仲叶超微粉(superfine powder of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves, SPEL)的添加量,有利于增强其清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基的能力;Zhang 等^[11]研究发现杜仲叶超微粉碎后,更有利于杜仲叶功能性食品的开发。

近年来,益生菌发酵果蔬汁饮料因具有改善人体肠道菌群,改善便秘和乳糖不耐症,抑制一些腐败菌在肠道内定植等功能受到许多消费者的青睐。益生菌在苹果汁发酵中研究表明,植物乳杆菌发酵不仅在一定程度上抑制苹果汁氧化酶的活性,而且能够提高发酵苹果汁的抗氧化活性和赋予果汁香气^[12]。然而,益生菌发酵过程中苹果汁的总酚、绿原酸、原花青素 B₂ 含量降低^[13-14]。但是还有研究表明,植物乳杆菌发酵在降低桑叶的苦味^[15]、提高木瓜叶的总酚和非洲茄香草酸、醋酸、铁藻酸、黄酮类(卡钦、奎辛和叶黄素)和抗坏血酸的功能性成分含量等方面效果显著^[16-17]。目前,已有研究发现桑叶和植物乳杆菌混合发酵能够提高奶酪的营养价值^[18];橄榄叶和植物乳杆菌混合发酵能够提高餐用橄榄的总酚含量^[19]。因此,本研究将 SPEL 添加到苹果汁中,探究 SPEL 不同添加量(1%、2%、3%)对发酵苹果汁中总酚、黄酮、有机酸等功能性成分和香气的影响,可为杜仲叶功能性产品开发提供借鉴。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

新鲜苹果:购于当地丹尼斯超市;杜仲叶:2021 年 6 月采自国家林业局泡桐研究开发中心杜仲种植基地;植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum* CICC 20022);中国工业微生物菌种保藏中心。

福林酚:北京索莱宝科技有限公司;没食子酸、硝酸铝、苹果酸、酒石酸:天津市科密欧化学试剂有限公

司;MRS 肉汤、MRS 培养基:北京奥博星生物技术有限责任公司;果胶酶、纤维素酶:江苏锐阳生物科技有限公司;3,5-二硝基水杨酸、葡萄糖:国药集团化学试剂有限公司;盐酸:洛阳昊华化学试剂有限公司;氢氧化钠、亚硝酸钠、磷酸二氢钾、抗坏血酸、柠檬酸:天津市大茂化学试剂厂;乳酸:郑州派尼化学试剂厂;甲酸:阿拉丁试剂有限公司;乙酸:天津市富宇精细化工有限公司。

1.2 仪器与设备

LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌器 上海申安医疗器械厂;SC-80C 全自动色差仪 北京康光光学仪器有限公司;PHS-3C pH 计 上海雷磁仪器厂;PAL-1 数显折光糖度仪 日本 ATAGO 公司;TU-1810 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;BPH-9272 精密恒温培养箱 上海一恒科学仪器有限公司;SW-CJ-2D 超净工作台 上海浦东荣丰科学仪器有限公司;PEN3 电子鼻系统 德国 AIRSENSE 公司;Agilent G4212.60008 型高效液相色谱仪 美国安捷伦公司;PM100 行星式球磨机 弗尔德(上海)仪器设备有限公司;TECAN 酶标仪 勒菲生物科技(上海)有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种活化

将冻干菌粉在 MRS 肉汤培养基中活化后,吸取 0.75 mL 于 1.5 mL 的离心管中,用甘油 1:1 冷冻保藏,然后配制 100 mL MRS 肉汤培养基,经煮沸溶解、高压蒸汽灭菌(0.1 MPa, 121 °C, 20 min),冷却至室温后,加入 1 管保藏在甘油中的植物乳杆菌菌液,摇匀,在 37 °C 恒温培养箱中培养 48 h,按照 1% 的接种量转接 2 代后得到活化好的植物乳杆菌培养液。培养液离心取沉淀即得到植物乳杆菌菌泥,用无菌水重悬 2 次后,配制成浓度为 0.1 g/mL 的菌悬液,备用。

1.3.2 植物乳杆菌发酵苹果汁的制备

杜仲叶超微粉(superfine powder of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves, SPEL)的制备:将新鲜杜仲叶清洗,置于 50 °C 的电热恒温鼓风干燥箱中脱水烘干。将烘干好的杜仲叶进行超微粉碎,用粒度仪测得平均粒径为 200 μm,装袋密封放在干燥器中备用。

苹果经清洗、去皮、切片热烫 1 min 后进行打浆,向苹果浆中分别添加 1%、2%、3% 的 SPEL。用纤维素酶:果胶酶为 2:1 的复合酶于 40 °C 酶解 4 h,经过滤、离心后得到的澄清液于 0.1 MPa, 121 °C 灭菌 20 min,待其冷却至室温后添加 4% 的植物乳杆菌菌悬液,在 37 °C 的培养箱中进行发酵,取发酵 0, 12, 24, 36, 48 h 的样品进行测定。

1.3.3 植物乳杆菌活菌数的测定

植物乳杆菌活菌数的测定方法参考 GB 4789.35—2016^[20]。

1.3.4 pH 值的测定

采用 PHS-3C pH 计直接测定。

1.3.5 可溶性固形物的测定

采用 PAL-1 数显折光糖度仪,单位记为°Brix。

1.3.6 色差的测定

取一定体积的发酵液离心,得上清液,以蒸馏水为对照,用色差仪测定色差值。其中 L^* 代表亮度, a^* 代表红绿色度, b^* 代表黄蓝色度, ΔE^* 越大表明色差越大。

1.3.7 功能性成分的测定

1.3.7.1 总糖、还原糖的测定

采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法进行测定^[21]。

总糖含量测定:取 1 mL 发酵液于 50 mL 的烧杯中,加入 5 mL HCl,混合均匀后于 68 °C 水浴 15 min,冷却后分别用 2 mol/L 和 0.1 mol/L NaOH 溶液将其中和至中性,定容至 100 mL 的容量瓶中制成待测液。取 0.4 mL 待测液于具塞管中,加蒸馏水补至 0.4 mL 后分别加入 0.8 mL 的 DNS 试剂,混合均匀进行 5 min 的沸水浴,冷却至室温后加水定容至 10 mL,在 540 nm 处测定吸光度值。

还原糖含量测定:取 1 mL 发酵液于 10 mL 离心管中,50 °C 水浴 20 min,离心后取上清液加水定容至 100 mL,制成待测液。取 0.4 mL 待测液于具塞管中,按照总糖含量的测定方法测定吸光度值。

总糖、还原糖含量均按式(1)计算:

$$X = \frac{C \times V_1}{V_0} \quad (1)$$

式中: X 为样品中总糖或还原糖的含量(以葡萄糖计),mg/mL; C 为根据标准曲线计算得出的葡萄糖浓度,mg/mL; V_0 为样品体积,mL; V_1 为待测液定容体积,mL。

1.3.7.2 总酚的测定

总酚含量采用 Folin-Ciocalteus 法测定^[22]:取 1 mL 发酵液,加入 25 mL pH 为 3.0 的 70% 酸性乙醇,避光反应 30 min 后在 80 °C 恒温水浴 60 min。离心取上清液,滤渣用乙醇洗涤 2 次,合并滤液,定容于 50 mL 容量瓶中,得到待测液。取 1 mL 待测液于 25 mL 比色管中,加水稀释至 6 mL 后,再分别加入 0.5 mL 福林酚试剂、1 mL 15% 的 Na_2CO_3 溶液,避光反应 30 min 后加水定容至 25 mL,以零管为对照,在 760 nm 处测定吸光度值。

总酚含量按式(2)计算:

$$X = \frac{C \times V_1 \times V_2 \times 10^{-3}}{V_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: X 为样品中总酚的含量(以没食子酸计),mg/dL; C 为根据标准曲线计算得出的没食子酸浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; V_0 为样品体积,mL; V_1 为比色定容体积,mL; V_2 为待测液定容体积,mL。

1.3.7.3 总黄酮的测定

采用硝酸铝络合法测定^[23]。取 1 mL 发酵液于 25 mL 具塞比色管中,用 30% 乙醇溶液定容至 6 mL 后,分别加入 1 mL 5% 的 NaNO_2 溶液,摇匀静置 6 min 后,再加入 1 mL 10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液,摇匀静置 6 min 后,最后加入 10 mL 10% 的 NaOH 溶液,用 30% 乙醇定容至 25 mL,摇匀静置 15 min。以零管为对照,于 510 nm 处测定吸光度值。总黄酮含量按式(3)计算:

$$X = \frac{C \times V_1 \times 10^{-3}}{V_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: X 为样品中总黄酮的含量(以芦丁计),mg/dL; C 为根据标准曲线计算得出的芦丁浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; V_0 为样品体积,mL; V_1 为比色定容体积,mL。

1.3.7.4 有机酸的测定

采用高效液相色谱法对有机酸含量进行测定。

色谱条件:Agilent 填充柱 C_{18} (4.60 mm × 250 mm, 5 μm),流动相: KH_2PO_4 (0.02 mol/L, pH 2.60): 甲醇为 92:8 (体积比),流速为 1.0 mL/min,柱温为 30 °C,进样量为 10 μL ,配备 PDA 检测器,检测波长为 210 nm。

样品测定:发酵液经 5000 × g 离心 10 min, 0.22 μm 滤膜过滤得上清液,用外标法进行定量。通过各标准品的标准曲线对苹果汁中有机酸含量进行定量,以 mg/L 表示。

1.3.8 香气的测定

精确量取发酵液 8 mL 于样品瓶中,于 50 °C 水浴 10 min 后,将电子鼻探头插入样品瓶中,通过顶空吸气法用电子鼻进行测定。电子鼻参数设置:清洗时间 100 s,样品测定时间 60 s,进样流量和载气流量均为 400 mL/min。电子鼻传感器名称及敏感物质参数见表 1。

表 1 电子鼻传感器名称及敏感物质

Table 1 Names and sensitive substances of electronic nose sensors

序号	传感器名称	敏感物质
1	W1C	对芳香性化合物敏感
2	W5S	对氮氧化物敏感
3	W3C	对氨类和芳香性化合物敏感
4	W6S	对氢气有选择性
5	W5C	对烯烃和芳香性化合物敏感

续表

序号	传感器名称	敏感物质
6	W1S	对烃类物质敏感
7	W1W	对无机硫化物敏感
8	W2S	对醇类物质敏感
9	W2W	对芳香化合物和有机硫化物敏感
10	W3S	对碳氢化合物敏感

1.4 数据统计与分析

所有数据均为 3 次独立重复试验的平均值,数据表示为“平均值±标准差”。采用 SPSS 统计软件进行差异显著性分析,通过 Origin 函数绘图软件制图。电子鼻数据采用 WinMuster 软件进行主成分分析(PCA)和载荷分析(loading analysis)。

2 结果与分析

2.1 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁活菌数的影响

不同添加量的 SPEL 对苹果汁发酵过程中活菌数的影响见图 1。

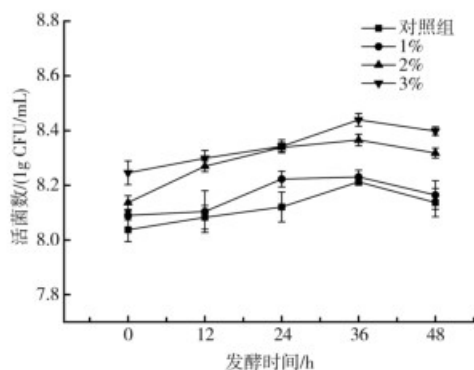


图 1 杜仲叶超微粉添加量对发酵苹果汁活菌数的影响
Fig.1 Effect of the addition amount of SPEL on the viable count of fermented apple juice

在发酵过程中,4 组苹果汁的活菌数均呈先上升后下降的趋势。随着 SPEL 添加量的增加,发酵苹果汁中植物乳杆菌的活菌数增多,发酵 36 h 时,各组苹果汁中活菌数均达到最大。发酵 36 h 后,活菌数呈下降趋势。产生这种现象的原因是植物乳杆菌代谢过程中产生乳酸,抑制了植物乳杆菌的生长;另一方面可能是 SPEL 对植物乳杆菌的生长有类似嗜酸乳杆菌的促进作用,因此添加 SPEL 的活菌数始终大于对照组的活菌数^[24]。

2.2 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁 pH 和可溶性固形物的影响

苹果汁酸度高,使得植物乳杆菌在较低的 pH 环境下发酵时间长、活菌数增幅低^[25]。

由图 2 中 A 可知,发酵 0 h 时,与对照组苹果汁的 pH(2.75)相比,随着 SPEL 添加量的增加,苹果汁的 pH 分别升高至 2.93,3.07,3.12。结合图 1 可知,添

加 SPEL 可以通过提高苹果汁的 pH,避免低酸环境对植物乳杆菌生长能力的抑制,更适合植物乳杆菌的生长。随着发酵时间的增加,对照组的 pH 下降了 26.91%,3 组添加 SPEL 的苹果汁 pH 分别下降了 26.96%、28.01%、29.17%,主要是植物乳杆菌在代谢过程中产生乳酸,也表明高添加量的 SPEL 能够促进植物乳杆菌在苹果汁中的生长。

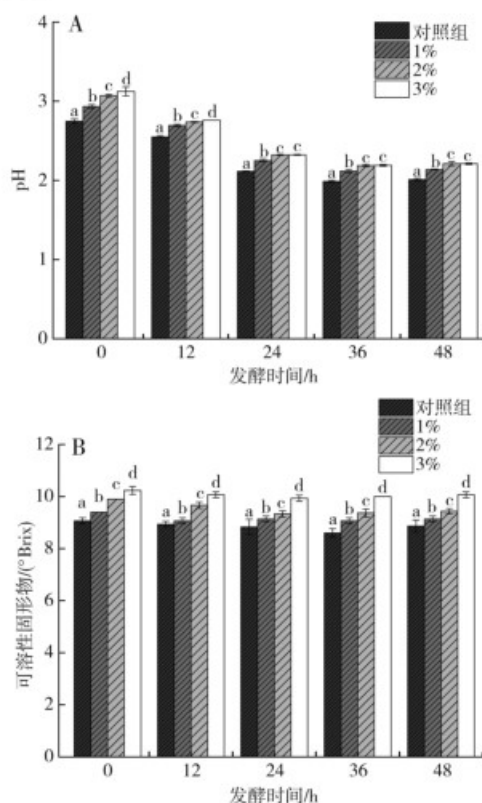


图 2 杜仲叶超微粉添加量对发酵苹果汁 pH(A)和可溶性固形物(B)的影响

Fig.2 Effect of the addition amount of SPEL on pH (A) and soluble solid (B) of fermented apple juice

注:不同字母表示同一发酵时间不同实验组差异显著($P < 0.05$),图 3 中 B 和图 4 同。

由图 2 中 B 可知,在发酵 0 h 时,对照组的可溶性固形物含量为 9.07°Brix,随着 SPEL 添加量的增加,可溶性固形物含量分别增加了 3.64%、9.15%、12.79%,可能是由于杜仲叶中富含胶质,在发酵前进行的酶解处理中使用的果胶酶可以将杜仲叶中的胶质酶解成小分子物质,使细胞壁疏松,从而降低扩散阻力,使细胞内的可溶性固形物充分溶解出来^[26]。在发酵前后,与对照组相比,不同 SPEL 添加量的苹果汁可溶性固形物含量具有显著性差异,其中添加 3% SPEL 的苹果汁中可溶性固形物含量一直显著高于其他 3 组。发酵 48 h 后,4 组样品的可溶性固形物含量分别降低至 8.87,9.13,9.43,10.07°Brix,可能是植物乳杆菌利用了苹果汁基质中大量的可溶性糖。

2.3 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁色差的影响

色泽是评价果汁感官品质的重要因素,除了能测得产品本身的质量,还可以影响人们对产品的主观感受或喜欢程度。杜仲叶的颜色为深绿色,其添加量的变化会影响果汁的色泽。

表 2 杜仲叶超微粉添加量对发酵苹果汁色泽的影响
Table 2 Effect of the addition amount of SPEL on the color of fermented apple juice

发酵时间/h	SPEL 添加量	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
0	对照组	97.36±0.48 ^a	0.20±0.11 ^c	4.25±0.41 ^d	5.02±0.60 ^d
	1%	85.65±0.48 ^b	0.16±0.14 ^c	13.68±0.17 ^c	19.87±0.24 ^c
	2%	78.05±0.91 ^c	1.11±0.12 ^b	19.83±0.34 ^b	29.64±0.71 ^b
	3%	71.94±1.15 ^d	2.69±0.14 ^a	24.20±0.35 ^a	37.21±0.67 ^a
12	对照组	97.76±0.31 ^a	0.20±0.25 ^d	3.78±0.36 ^d	4.40±0.47 ^d
	1%	85.31±0.31 ^b	1.01±0.12 ^c	14.38±0.21 ^c	20.61±0.32 ^c
	2%	77.35±0.11 ^c	2.48±0.19 ^b	20.06±0.37 ^b	30.40±0.28 ^b
	3%	69.70±0.95 ^d	4.59±0.18 ^a	24.10±0.25 ^a	39.04±0.71 ^a
24	对照组	98.44±0.20 ^a	0.06±0.06 ^d	3.18±0.13 ^d	3.54±0.18 ^d
	1%	87.59±0.37 ^b	1.61±0.04 ^c	13.93±0.27 ^c	18.75±0.36 ^c
	2%	79.38±0.21 ^c	3.34±0.08 ^b	20.04±0.34 ^b	28.99±0.37 ^b
	3%	72.74±0.36 ^d	5.46±0.15 ^a	24.27±0.30 ^a	36.95±0.65 ^a
36	对照组	98.72±0.14 ^a	0.06±0.04 ^d	3.07±0.18 ^d	3.31±0.22 ^d
	1%	86.99±0.60 ^b	1.91±0.11 ^c	14.70±0.21 ^c	19.76±0.44 ^c
	2%	79.89±0.51 ^c	3.69±0.19 ^b	20.74±0.34 ^b	29.16±0.59 ^b
	3%	72.64±0.92 ^d	6.10±0.14 ^a	25.39±0.18 ^a	37.87±0.70 ^a
48	对照组	95.50±4.46 ^a	0.47±0.62 ^d	4.32±2.84 ^d	6.35±5.22 ^d
	1%	86.05±1.11 ^b	2.42±0.32 ^c	15.33±0.62 ^c	20.91±1.22 ^c
	2%	78.78±0.63 ^c	4.30±0.15 ^b	21.44±0.43 ^b	30.51±0.70 ^b
	3%	72.18±0.52 ^d	6.77±0.08 ^a	25.86±0.18 ^a	38.62±0.46 ^a

注:不同字母表示同一发酵时间不同实验组差异显著($P<0.05$),表 4 同。

由表 2 可知,与对照组相比,随着 SPEL 添加量的增加,苹果汁的 L^* 值显著降低($P<0.05$),果汁色泽变暗; a^* 值和 b^* 值显著增加($P<0.05$),苹果汁的红黄色得到显著改善。随着发酵时间的增加,样品的色泽值 L^* 、 a^* 和 b^* 变化不明显,与 De Oliveira 等^[27] 利用复合菌株分别发酵西印度樱桃和番石榴后果汁亮度均显著提高的结果不一致,这可能是发酵基质不同导致的,也可能是 SPEL 自身颜色影响了发酵过程中果汁的色泽变化。

2.4 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁总糖和还原糖的影响

不同添加量的 SPEL 对苹果汁总糖和还原糖的影响见图 3 中 A。在发酵前,4 组样品的总糖质量浓度分别为 27.46、28.67、30.10、30.79 g/L,在发酵 24~

36 h 内,4 组果汁中总糖含量分别降低 7.87%、11.84%、13.33%、13.46%。随着 SPEL 添加量的增加,总糖消耗越多,作为碳源被植物乳杆菌的生长所利用。由图 3 中 B 可知,SPEL 能提高果汁中还原糖的含量,且还原糖含量随着 SPEL 添加量的增加而增加。其中 3% SPEL 组的还原糖含量显著高于其他 3 组($P<0.05$),对照组和 1% SPEL 组的还原糖含量在发酵前 24 h 内呈上升趋势,可能是由于发酵过程中,植物乳杆菌将果汁中的蔗糖和多糖转化为还原糖^[28]。

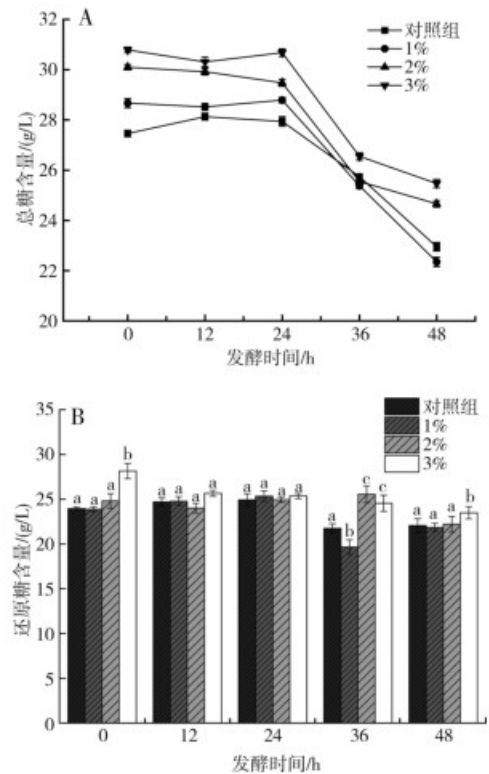
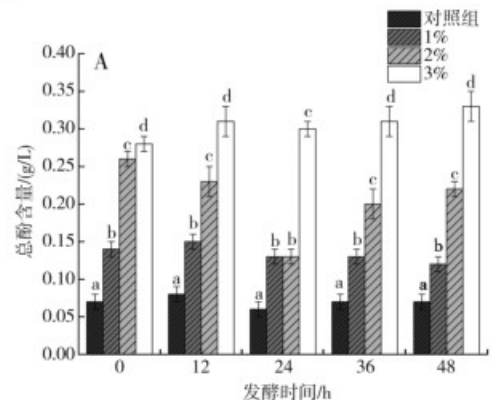


图 3 杜仲叶超微粉添加量对发酵苹果汁总糖(A)、还原糖(B)的影响

Fig. 3 Effect of the addition amount of SPEL on the total sugar (A) and reducing sugar (B) of fermented apple juice

2.5 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁总酚和总黄酮的影响



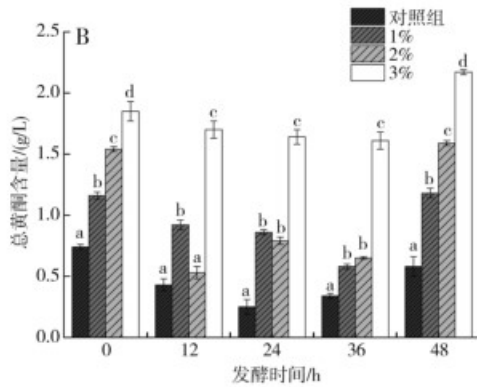


图 4 杜仲叶超微粉添加量对发酵苹果汁总酚(A)、总黄酮(B)的影响

Fig. 4 Effect of the addition amount of SPEL on the total phenols (A) and total flavonoids (B) of fermented apple juice

由图 4 可知,随着 SPEL 添加量的增加,苹果汁中总酚和总黄酮含量显著增加。由图 4 中 A 可知,与对照组相比,1%、2%和 3% SPEL 的样品中,总酚含量分别增加了 56.76%、108.11%、150.00%。由图 4 中 B 可知,1%、2%、3% SPEL 的样品中,黄酮含量分别增加了 100.00%、271.43%、300.00%。前人研究结果表明,杜仲叶中多酚和总黄酮含量较高^[29],罗磊等发现利用果胶酶酶解能增加杜仲叶中黄酮的释放量。植物乳杆菌在发酵过程中为了保持生长会降解酚类物质,导致在发酵过程中总酚和总黄酮含量降低^[30]。苹果汁发酵 36 h 后,总酚和总黄酮含量增加,可能是由于苹果汁中存在一定含量的植物乳杆菌,将大分子酚类化合物解聚,转化简单的酚类物质^[31]。

2.6 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁有机酸含量的影响

果汁中的有机酸含量对其营养品质和感官特性有很大的影响^[32]。试验测定了植物乳杆菌发酵苹果汁中的 7 种有机酸含量,7 种有机酸相关系数见表 3,有机酸测定结果见表 4。

表 3 不同有机酸的标准曲线

Table 3 The standard curves of different organic acids

有机酸	回归方程	相关系数 R^2	保留时间/s
酒石酸	$y=2\ 979.5x-3.897$	0.998 7	3.295
甲酸	$y=1\ 055x-12.762$	0.998 5	3.567
抗坏血酸	$y=5\ 579.7x+26.168$	0.961 7	3.755
乳酸	$y=2\ 024.4x+7.504\ 4$	0.999 9	4.408
乙酸	$y=608.4x+3.223\ 7$	0.999 5	4.855
柠檬酸	$y=1\ 881.6x+3.654\ 4$	0.995 3	5.202
苹果酸	$y=1\ 090.2x-1.974$	0.999 0	6.480

表 4 杜仲叶超微粉添加量对植物乳杆菌发酵苹果汁有机酸含量的影响

Table 4 Effect of the addition amount of SPEL on the content of organic acids in fermented apple juice

有机酸	SPEL/%	发酵时间/h				
		0	12	24	36	48
对照组		41.35±3.10 ^a	23.37±1.65 ^a	32.11±0.58 ^a	55.63±0.46 ^a	68.28±5.30 ^a

续表

有机酸	SPEL/%	发酵时间/h				
		0	12	24	36	48
甲酸	1	30.39±0.34 ^b	40.31±7.37 ^b	50.19±6.63 ^b	72.08±4.18 ^b	87.21±3.53 ^b
		77.57±5.74 ^c	91.82±10.54 ^c	71.90±10.97 ^c	64.60±6.57 ^b	71.59±10.03 ^a
	2	99.45±2.41 ^d	98.11±9.93 ^c	104.85±1.71 ^d	105.38±4.18 ^c	104.60±3.82 ^c
		463.35±35.84 ^a	496.20±81.15 ^a	264.40±17.23 ^a	614.75±64.05 ^a	667.27±43.32 ^a
	3	413.52±21.19 ^a	819.30±2.17 ^b	826.38±35.52 ^b	841.65±9.15 ^b	853.18±19.25 ^b
		1 249.59±74.09 ^b	1 371.96±14.92 ^c	1 186.91±66.97 ^c	1 206.00±19.63 ^c	1 174.05±75.31 ^c
酒石酸	1	1 408.22±91.92 ^c	1 604.57±79.33 ^d	1 557.49±61.52 ^d	1 428.56±64.87 ^d	1 447.58±34.56 ^d
		151.90±26.25 ^a	59.12±12.36 ^a	98.51±7.41 ^a	429.55±27.90 ^a	516.12±71.11 ^a
	2	169.06±16.83 ^a	129.72±0.21 ^b	508.82±2.50 ^b	818.48±62.52 ^b	955.09±25.63 ^b
		296.25±48.75 ^b	223.04±22.44 ^c	693.26±20.47 ^c	1 168.61±65.07 ^c	1 545.09±74.68 ^c
	3	332.51±26.96 ^b	298.75±12.94 ^d	777.82±36.25 ^d	1 297.44±79.4 ^d	1 833.14±86.29 ^d
		5.90±0.37 ^a	783.80±10.69 ^a	511.71±44.71 ^a	1 481.86±38.76 ^a	1 691.10±14.00 ^a
抗坏血酸	1	7.42±0.50 ^a	874.66±36.91 ^b	1 278.58±56.17 ^b	1 605.96±40.20 ^b	1 786.98±16.28 ^b
		70.60±16.76 ^b	942.73±13.88 ^c	482.71±90.90 ^c	1 712.56±13.74 ^c	1 909.91±27.33 ^c
	2	153.39±11.89 ^c	1 270.43±52.32 ^d	1 776.71±23.71 ^d	1 900.78±33.15 ^d	2 216.32±3.55 ^d
		34.15±3.00 ^a	84.03±3.49 ^a	134.35±20.01 ^{ab}	246.79±25.70 ^a	189.37±9.90 ^a
	3	25.10±0.76 ^a	63.33±7.26 ^a	71.23±3.88 ^c	85.40±5.73 ^b	99.44±14.69 ^b
		25.84±3.65 ^a	60.26±13.07 ^a	116.16±15.05 ^a	55.10±2.18 ^c	91.21±9.70 ^b
乳酸	1	72.27±11.58 ^b	140.05±32.88 ^b	147.10±14.26 ^b	68.15±0.78 ^{bc}	99.59±4.05 ^b
		35.06±2.46 ^a	52.66±6.47 ^a	132.88±18.09 ^a	189.42±41.26 ^a	96.90±9.93 ^a
	2	29.35±1.48 ^a	17.68±0.22 ^b	20.45±4.06 ^b	6.21±1.08 ^b	—
		68.50±3.28 ^b	12.79±1.78 ^b	5.85±0.24 ^b	4.53±0.36 ^b	2.02±3.50 ^b
	3	96.06±6.78 ^c	13.49±2.11 ^b	6.75±1.10 ^b	6.88±0.07 ^b	9.50±1.07 ^b
		42.54±7.89 ^a	28.46±26.65 ^a	—	—	—
柠檬酸	1	39.67±1.44 ^a	41.21±15.38 ^{ab}	443.76±0.89 ^b	57.18±4.93 ^b	41.34±1.43 ^b
		108.13±2.61 ^b	63.93±13.10 ^b	107.42±5.75 ^c	81.56±7.79 ^c	89.05±0.40 ^c
	2	115.88±6.66 ^b	66.10±1.80 ^b	92.64±8.38 ^d	111.23±7.11 ^d	98.49±4.61 ^d
		—	—	—	—	—
	3	—	—	—	—	—
		—	—	—	—	—

由表 4 可知,添加 SPEL 的苹果汁在发酵过程中甲酸、酒石酸、乳酸、己酸和抗坏血酸的变化趋势与对照组相同,质量浓度均有显著增加($P < 0.05$)。但是苹果酸的质量浓度变化不显著,柠檬酸的质量浓度反而显著降低,这与对照组的柠檬酸和苹果酸的质量浓度分别显著升高和降低($P < 0.05$)明显不同。且随着 SPEL 添加量的增加,发酵后苹果汁中的甲酸、酒石酸、抗坏血酸、乳酸和苹果酸的质量浓度均有显著增加($P < 0.05$),与 SPEL 添加量呈正相关;而乙酸和柠檬酸的质量浓度均显著降低,其降低量与 SPEL 添加量无关($P > 0.05$)。与对照组相比,发酵 48 h 后的 3% SPEL 组,甲酸、酒石酸、抗坏血酸和乳酸质量浓度分别增加了 53.19%、116.94%、255.18%、31.06%;苹果酸的质量浓度增加了 98.48 mg/L;而乙酸和柠檬酸的质量浓度分别降低了 47.40% 和 90.20%。其中甲酸、酒石酸、乳酸和抗坏血酸的质量浓度增加是因为 SPEL 为植物乳杆菌提供了更多的发酵底物^[33];苹果酸的质量浓度变化不明显,可能是 SPEL 中某种物质被植物乳杆菌转化成苹果酸;乙酸的质量浓度降低,可能是因为 SPEL 含有的某种功能因子促进了植物乳杆菌快速增殖,使得乙酸含量降低的时间点由 36 h 提前到 24 h;柠檬酸的质量浓度降低,可能是因为添加 SPEL 促进了柠檬酸的分解或者抑制了丙酮酸的代谢,从而导致柠檬酸的含量不断降低^[34]。

2.7 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁香气的影响

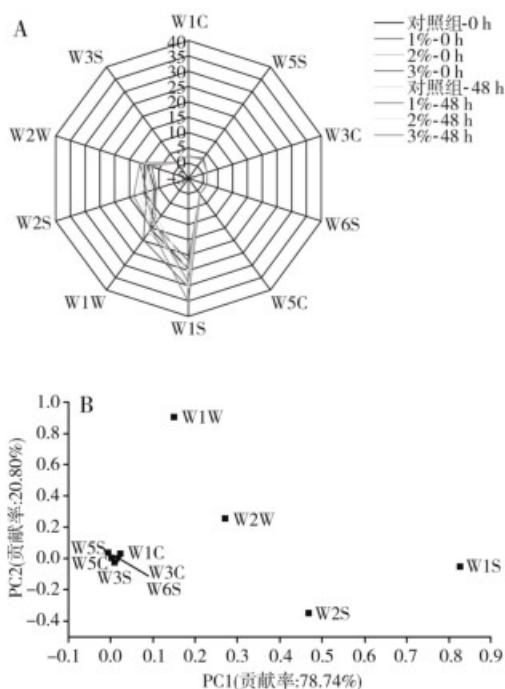


图 5 杜仲叶超微粉对发酵苹果汁香气响应雷达图(A)、挥发性风味物质载荷分析(B)和主成分分析(C)的影响
Fig. 5 Effects of SPEL on aroma response radar diagram (A), volatile flavor substance loading analysis (B) and principal component analysis (C) of fermented apple juice

由图 5 中 A 可知,发酵 48 h 后,与对照组相比, W1S(烃类物质)、W2S(醇类物质)、W1W(无机硫化物)、W2W(芳香物质和有机硫化物)4 个传感器所对应的响应值较强,这与郭玉如的研究结果一致^[35]。由香气响应雷达图(见图 5 中 A)可知,对照组的挥发性气味最弱,随着 SPEL 添加量的增加,挥发性气味有所增强,3% SPEL 组的挥发性气味相对较强。为了更直观地反映添加 SPEL 对植物乳杆菌发酵苹果汁香气的影响,对试验数据进行 PCA 和 Loading 分析。

由图 5 中 B 可知,添加不同 SPEL 的主成分 1(PC1, 78.74%)和主成分 2(PC2, 20.80%)贡献率之和为 99.54%,涵盖了样品的大部分原始信息^[36]。其中 W1S、W2S 对第一主成分的贡献率最大, W1W 对第二主成分的贡献率最大,这和香气雷达图结果是一致的。由图 5 中 C 可知,发酵前后添加 SPEL 组和对照组相比,各组图形都被很好地分开,说明添加 SPEL 能够改变发酵苹果汁的风味。从第一主成分上来看,对照组发酵前后 PC1 横轴坐标基本上不变,而添加 SPEL 组的 PC1 横轴坐标整体向右移动,且随着 SPEL 添加量的增加, PC1 轴的变化量变小,表明发酵后 1% SPEL 组对发酵苹果汁的挥发性香气成分影响最大,但从横轴上贡献率来看,3% SPEL 组的挥发性物质含量更高,具有更好的风味。

3 结论

添加 SPEL 能够显著提高发酵苹果汁中的 pH。

添加 SPEL 能够显著提高发酵苹果汁的功能性成分含量。发酵后苹果汁中还原糖、总酚、黄酮含量以及甲酸、酒石酸、抗坏血酸、乳酸和苹果酸 5 种有机酸的含量均显著高于对照组。

添加 SPEL 能够显著改善苹果汁的色泽和风味。

参考文献:

- [1] 项丽玲,温亚娟,苗明三. 杜仲叶的化学、药理及临床应用分析[J]. 中医学报, 2017, 32(1): 99-102.

- [2] HUSSAIN T, YUAN D, TAN B, et al. *Eucommia ulmoides* flavones (EUF) abrogated enterocyte damage induced by LPS involved in NF- κ B signaling pathway[J]. *Toxicology in Vitro*, 2020, 62: 104674.
- [3] LI L, LIU M H, SHI K, et al. Dynamic changes in metabolite accumulation and the transcriptome during leaf growth and development in *Eucommia ulmoides*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(16): 4030.
- [4] BHANDARKAR N S, BROWN L, PANCHAL S K. Chlorogenic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced cardiovascular, liver, and metabolic changes in rats[J]. *Nutrition Research*, 2019, 62: 78-88.
- [5] LIU L Q, LI M Z, YU M L, et al. Natural polysaccharides exhibit anti-tumor activity by targeting gut microbiota[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 743-751.
- [6] 张丽华, 李珍珠, 卮晓爽, 等. 植物乳杆菌发酵杜仲鲜叶饮料的研制[J]. *食品科技*, 2019, 44(2): 129-133.
- [7] 陈志远. 杜仲饮料底浆的生产工艺研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(13): 4489-4495.
- [8] 王大红, 宋鹏辉, 张颖, 等. 板栗红枣果醋醋酸发酵工艺及风味成分分析[J]. *河南科技大学学报(自然科学版)*, 2018, 39(4): 78-83.
- [9] 孟庆然. 超微粉碎对天然可食植物组织理化性质及营养素释放效率影响的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- [10] 陈书明, 刘明娣, 陈玮, 等. 超微杜仲粉对面包品质的影响[J]. *河南科技大学学报(自然科学版)*, 2021, 42(5): 88-92.
- [11] ZHANG P Q, TIE S S, LIU M P, et al. Effects of superfine grinding on micromeritic properties of *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves[J]. *Bangladesh Journal of Botany*, 2020, 49(4): 1037-1044.
- [12] 赵沁雨, 兰天, 袁取予, 等. 植物乳杆菌发酵对果汁品质的影响研究概述[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(16): 300-307.
- [13] 王红梅, 蒋思睿, 陶阳, 等. 超声辅助植物乳杆菌发酵苹果汁及草莓汁过程中菌体生长及酚类等物质代谢[J]. *食品科学*, 2020, 41(14): 72-81.
- [14] 郑若宇. 益生菌发酵苹果汁工艺优化及发酵过程中风味物质和功能性成分的变化[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [15] HAN K, CHUNG H Y. Quality characteristics of the fermented mulberry leaves[J]. *Food Engineering Progress*, 2019, 23(4): 251-257.
- [16] SÒAIB M S, HALIM K, HAMID K, et al. Phenolic content, antioxidant activity and biodiversity changes during spontaneous fermentation of carica papaya leaf[J]. *Jurnal Teknologi*, 2019, 82(1): 65-73.
- [17] DEGRAIN A, MANHIVI V, REMIZE F, et al. Effect of lactic acid fermentation on color, phenolic compounds and antioxidant activity in African nightshade[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(9): 1324.
- [18] CHEW H C, TANG P L, TAN X Y, et al. Effect of mulberry leaf extract fortification and probiotic fermentation on the bioactivities of cottage cheese[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2021, 16(1): 486-499.
- [19] CAPONIO F, DIFONZO G, CALASSO M, et al. Effects of olive leaf extract addition on fermentative and oxidative processes of table olives and their nutritional properties[J]. *Food Research International*, 2018, 116: 1306-1317.
- [20] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验: GB 4789.35-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [21] CHEN W X, ZHU J Z, NIU H, et al. Composition and characteristics of yam juice fermented by *Lactobacillus plantarum* and *Streptococcus thermophilus*[J]. *International Journal of Food Engineering*, 2018, 14(11-12): 123.
- [22] 吴澎, 贾朝爽, 李向阳, 等. 响应面分析优化福林酚法测定樱桃酒中总酚的含量[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(20): 200-206.
- [23] 李绮丽, 孙俊杰, 单杨, 等. 不同柑橘品种全果制汁适宜性分析[J]. *食品科学*, 2019, 40(13): 36-44.
- [24] 贾彦, 李毛毛, 陈蕊, 等. 杜仲水提液对嗜酸乳杆菌生长及发酵产物的影响[J]. *食品科学*, 2016, 37(23): 147-153.
- [25] 赵鑫, 付志飞, 高秀梅. 基于肠道益生菌的中药防治疾病作用研究进展[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(6): 1097-1102.
- [26] 罗磊, 白喜婷, 李辉, 等. 果胶酶在杜仲绿茶饮料生产中的应用研究[J]. *食品科技*, 2008(6): 69-71.
- [27] DE OLIVEIRA S D, ARAÚJO C M, BORGES D S C, et al. Improvement in physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit by-products fermented with potentially probiotic lactobacilli[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 134: 110200.
- [28] 龚频, 韩业雯, 翟鹏涛, 等. 杜仲叶的活性成分、药理作用及其在食品加工中的应用[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(10): 395-404.
- [29] 洪冰, 曾珍珍, 李阿敏, 等. 乳酸菌接种发酵对大头菜品质的影响[J]. *食品科学*, 2016, 37(11): 147-153.
- [30] ESTEBAN-TORRES M, LANDETE J M, REVERÓN I, et al. A *Lactobacillus plantarum* esterase active on a broad range of phenolic esters[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(9): 3235-3242.
- [31] MOUSAVI Z E, MOUSAVI S M, RAZAVI S H, et al. Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars, organic acids and phenolic compounds[J]. *Food Biotechnology*, 2013, 27(1): 1-13.
- [32] 李维妮, 张宇翔, 魏建平, 等. 益生菌发酵苹果汁工艺优化及有机酸的变化[J]. *食品科学*, 2017, 38(22): 80-87.
- [33] BOONE D R, GARRITY G, CASTENHOLZ R W. *Bergey's manual of systematic bacteriology*[M]. Berlin: Springer Verlag, 2001: 443-491.
- [34] OGURO Y, NISHIWAKI T, SHINADA R, et al. Metabolite profile of koji amazake and its lactic acid fermentation product by *Lactobacillus sakei* UONUMA[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2017, 124(2): 178-183.
- [35] 郭玉如. 复合乳酸菌苹果汁发酵工艺优化及生物活性研究[D]. 临汾: 山西师范大学, 2020.
- [36] 何晓贤, 闫博文, 赵建新, 等. 乳酸菌发酵对馒头香气特征的影响[J]. *现代食品科技*, 2017, 33(1): 179-190.