

苹果-沙棘复合饮品益生菌发酵 工艺优化研究

袁 晶, 康三江, 张海燕, 苟丽娜, 宋 娟

(甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以苹果-沙棘汁为原料, 运用两水平分式析因设计法(2^5)筛选关键影响因素, 并结合响应面法优化益生菌发酵条件, 以期改善苹果-沙棘汁口感, 提升饮品营养功能。通过分析料液比、接种量、菌浓度、发酵温度及发酵时间对苹果-沙棘汁中活菌数和可滴定酸含量的影响, 确定显著影响因素料液比、发酵温度和发酵时间。在此基础上, 运用响应面中心组合试验设计法, 以活菌数和感官评分为衡量指标优化最佳发酵工艺。结果表明, 最优条件为料液比 1:1(V/V)、接种量 6%、菌浓度 8.00 lg(CFU/mL)、发酵温度 34 °C、发酵时间 24 h, 在此条件下, 发酵苹果-沙棘汁的活菌数达到 8.78 lg(CFU/mL), 感官评分为 33.91。研究表明, 苹果-沙棘汁可以作为益生菌发酵的良好载体, 与发酵前比, 发酵显著改善了苹果-沙棘汁的口感。

关键词: 益生菌; 发酵; 苹果-沙棘汁; 工艺优化

中图分类号: TS275.4

文献标志码: A

文章编号: 2097-2172(2025)05-0459-08

doi:10.3969/j.issn.2097-2172.2025.05.012

Optimization of Probiotic Fermentation Process for Apple-seabuckthorn Compound Beverage

YUAN Jing, KANG Sanjiang, ZHANG Haiyan, GOU Lina, SONG Juan

(Agricultural Product Storage and Processing Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences,
Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: In order to improve the taste of apple-seabuckthorn juice, and enhance the nutritional function of the beverage, this study used apple-seabuckthorn juice as raw materials, based on two horizontal fraction factorial design method (2^5) to screen for the significant influencing factors, and then response surface methodology was used to optimize the process conditions for probiotic fermentation of apple-seabuckthorn juice. Through analyzing the impact of material-liquid ratio, inoculation volume, bacterial density, fermentation temperature, and duration on viable bacterial counts and titratable acidity in apple-seabuckthorn juice, the key factors identified were material-liquid ratio, fermentation temperature, and time. On this basis, a central composite design was employed, with viable bacterial counts and sensory score as evaluation indices, to determine the optimal fermentation parameters. The optimal conditions were determined as follows: a material-to-liquid ratio of 1:1(V/V), 6% inoculation, bacterial concentration of 8.00 lg(CFU/mL), fermentation temperature of 34 °C, and fermentation time of 24 h. Under these parameters, the probiotic-fermented apple-seabuckthorn juice achieved a viable bacterial count of 8.78 lg (CFU/mL) and a sensory score of 33.91. The study demonstrates that apple-seabuckthorn juice serves as an excellent substrate for probiotic fermentation, and fermentation significantly improved the flavor profile of the juice compared to its unfermented counterpart.

Key words: Probiotic; Fermentation; Apple-seabuckthorn juice; Optimization

益生菌发酵果蔬汁是目前广受喜爱的健康饮品之一^[1]。果蔬汁经发酵后, 不仅保留了原有的膳食纤维、维生素和矿物质等营养物质, 还新增了益生菌和代谢产生的小分子活性物质, 提高了果蔬汁的营养性和功能性^[2-3]。已有大量研究表

明, 果蔬汁可以作为益生菌发酵的良好载体^[4-6]。Xu 等^[7]研究发现, 利用加氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)发酵胡萝卜汁, 可以生产营养增强型且热量低的功能饮料。黄豪等^[8]以山楂为原料, 分别接种植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、干酪乳杆菌、副

收稿日期: 2025-02-28; 修订日期: 2025-04-28

基金项目: 甘肃省农业农村厅科技项目(GNKJ-2024-42); 国家苹果产业技术体系(CARS-27-2025); 庆阳市科技计划项目(QY-STK-2023A-005); 甘肃省农业科学院科研结余资金项目(2024JGS05)。

作者简介: 袁 晶(1983—), 女, 宁夏银川人, 副研究员, 研究方向为农产品加工。Email: yuanjing@gsagr.cn。

通信作者: 康三江(1977—), 男, 甘肃陇西人, 研究员, 研究方向为农产品贮藏与加工。Email: kang58503@163.com。

干酪乳杆菌、瑞士乳杆菌和双歧乳杆菌等 6 种乳酸菌,比较发酵山楂汁的理化性质、酚类化合物、抗氧化性及风味,结果表明双歧乳杆菌发酵山楂汁具有较高的抗氧化性、丰富的香气物质和优良的感官品质。

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)属于胡颓子科沙棘属落叶性灌木,具有显著的生态环境改造作用,在我国黄土高原半干旱区广泛种植^[9]。沙棘是一种药食同源植物,果实富含维生素、氨基酸、类胡萝卜素、多酚、黄酮以及不饱和脂肪酸等生物活性物质,具有抗菌消炎、调理肠胃、保护心脑血管系统等功效^[10-11]。然而,由于沙棘有机酸成分含量高,糖分含量较少,含有黄酮醇糖苷类等活性物质,口感较酸涩^[12]。有研究表明,部分乳酸菌可以通过糖基水解酶将黄酮类糖苷转化为相应的苷元,起到去除涩味、改善口感的作用^[13]。苹果营养均衡且性温味甘,作为基料与沙棘饮品进行复配,可有效改善产品口感,提高营养价值^[14-15]。基于此,我们以沙棘、苹果汁为原料,以活菌数和可滴定酸为指标,通过考察影响发酵的料液比、接种量、菌浓度、发酵温度和发酵时间等 5 个单因素,筛选显著因素,优化益生菌发酵苹果-沙棘汁的工艺条件,以期改善口感,提升营养功能,为药食同源功能性饮品的开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试沙棘采自甘肃省庆阳市华池县,红富士苹果采自甘肃省平凉市静宁县。戊糖乳植物杆菌(*Lactiplantibacillus pentosus*, CICC 24202),由中国工业微生物菌种保藏管理中心提供;MRS 肉汤培养基购自北京奥博星生物技术有限责任公司;纤维素-果胶复合果蔬专用酶(8万 U/g)购自宁夏和氏璧生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

ZHJH-C112B 超净工作台,由上海智城分析仪器制造有限公司提供;BXM-90FE 立式压力蒸汽灭菌器,由上海博迅医疗生物仪器股份有限公司提供;Z8-V82 商用榨汁机,由九阳生活电器有限公司提供;PB-10 pH 酸度计,由德国 Sartorius 集团公司提供。

1.3 试验方法

1.3.1 菌种活化 将戊糖乳植物杆菌(CICC 24202)菌液接入 150 mL MRS 液体培养基中,37 ℃培养 24 h。4 ℃无菌条件下 12 000 r/min 离心 5 min,收集沉淀菌体。将菌体用无菌生理盐水洗涤 2 次后,制成浓度 8 lg(CFU/mL)菌悬液,备用。

1.3.2 苹果-沙棘汁的制备 取新鲜、成熟的苹果和沙棘各 300 g,清洗干净去核榨汁,加入 500 mL 蒸馏水、0.06%亚硫酸钠和 3‰纤维素-果胶复合酶,50 ℃充分酶解 30 min 后,90 ℃水浴灭菌 20 min,迅速冷却至室温后移至超净台待接种。

1.3.3 发酵 将制备好的菌悬液按 6%接种量接入上述苹果-沙棘汁中,37 ℃静置发酵 24 h,取样测定。

1.4 测定指标及方法

活菌数参照标准《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》进行测定^[16],结果以 lg(CFU/mL)表示。滴定酸参照标准《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》进行测定^[17],结果以 g/L 表示。pH 使用 pH 酸度计进行测定。感官评价采用 9 分制法略有修改^[18],满分 36 分,分别对色泽(0~9 分)、气味(0~9 分)、滋味(0~9 分)和可接受性(0~9 分)进行评价。

1.5 单因素试验

1.5.1 料液比对益生菌发酵苹果-沙棘汁的影响 设定接种量 6%,菌浓度 8 lg(CFU/mL),发酵温度 37 ℃,发酵时间 24 h,分别设定(V/V)为 3:1、2:1、1:1、1:2、1:3 的苹果-沙棘汁与蒸馏水的料液比,静置发酵后测定活菌数和可滴定酸。

1.5.2 接种量对益生菌发酵苹果-沙棘汁的影响 设定料液比 1:1 (V/V),菌浓度 8 lg(CFU/mL),将混合液置于 37 ℃的发酵条件下培养 24 h,分别以 2%、4%、6%、8%、10%的接种量接种,静置发酵后测定活菌数和可滴定酸。

1.5.3 菌浓度对益生菌发酵苹果-沙棘汁的影响 设定料液比 1:1 (V/V),接种量 6%,发酵温度 37 ℃,发酵时间 24 h,设定菌浓度为 6、7、8、9、10 lg(CFU/mL),静置发酵后测定活菌数和可滴定酸。

1.5.4 发酵温度对益生菌发酵苹果-沙棘汁的影响 设定料液比 1:1 (V/V),接种量 6%,菌浓度

8 lg (CFU/mL), 发酵时间 24 h, 设定发酵温度为 33、35、37、39、41 ℃, 静置发酵后测定活菌数和可滴定酸。

1.5.5 发酵时间对益生菌发酵苹果-沙棘汁的影响 设定料液比 1:1(V/V), 接种量 6%, 菌浓度 8 lg (CFU/mL), 发酵温度 37 ℃, 设定发酵时间为 20、22、24、26、28 h, 静置发酵后测定活菌数和可滴定酸。

1.6 两水平分式析因设计(2⁵)试验

采用两水平分式析因设计(2⁵)进行因素筛选, 使用 Design-Expert 8.0.6 软件进行试验设计, 考察料液比、接种量、菌浓度、发酵温度和发酵时间 5 个因素对发酵苹果-沙棘汁的影响, 每个因素 2 个水平(-1, 1), 各因素水平设计见表 1。

1.7 响应面优化试验

根据 1.6 试验结果, 筛选出料液比、发酵温度和发酵时间作为显著影响因素。基于 Box-Behnken 设计(Box-Behnken design, BBD), 利用 Design-Expert 8.6.0 软件设计响应面试验, 各因素水平设计见表 2。

表 2 BBD 响应面试验因素水平

水平	试验因素		
	A 料液比 (V/V)	B 发酵温度 /℃	C 发酵时间 /h
-1	2:1	35	22
0	1:1	37	24
1	1:2	39	26

1.8 数据统计与分析

使用 Excel 2016 软件对数据进行整理, 使用 SPSS 24.0 和 Design-Except 8.0.6 软件进行数据分析, 使用 Origin 2018 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 不同料液比对益生菌发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响 由图 1 可以看出, 活菌数和可滴定酸含量均随料液比的减小先升后降。

当料液比为 1:1(V/V)时, 可滴定酸含量达到最大值, 为 4.65 mg/mL; 当料液比为 1:2(V/V)时, 活菌数达到峰值 9.62 lg (CFU/mL), 但此时由于料液比较高, 发酵液品质受到较大影响, 色泽暗淡, 口感稀薄^[19], 因此确定 1:1(V/V)为最佳料液比。

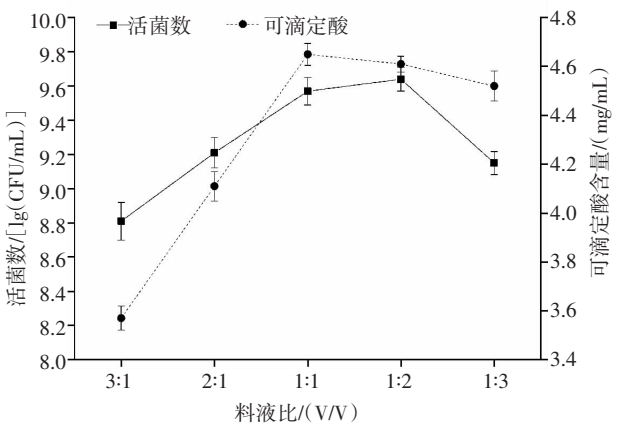


图 1 料液比对发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响

2.1.2 不同接种量对益生菌发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响 由图 2 可以看出, 活菌数和可滴定酸含量均随接种量的增加逐渐升高。当接种量为 8%时, 发酵趋于稳定, 此时活菌数为 9.65 lg(CFU/mL), 可滴定酸含量为 4.86 mg/mL, 发酵液色泽橙黄, 口感协调柔和, 无涩味。当接种量增至 10%时, 可滴定酸含量达 5.12 mg/mL。由于过高的接种量会导致发酵过快产酸过多, 影响产品口感, 综合考虑, 选择接种量为 8%。

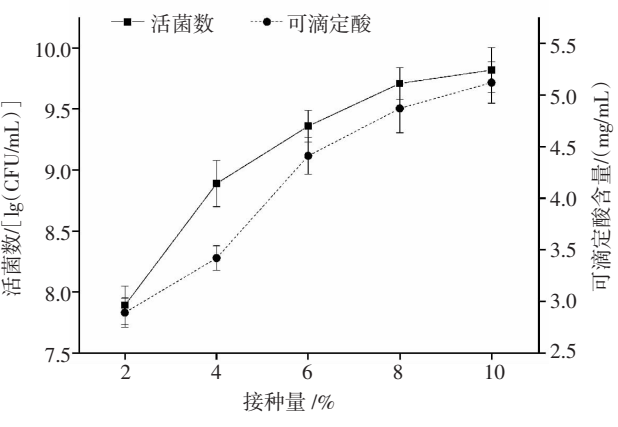


图 2 接种量对发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响

表 1 两水平分式析因设计(2⁵)试验因素水平及编码

水平	试验因素				
	料液比 X ₁ (V/V)	接种量 X ₂ /%	菌浓度 X ₃ /[lg(CFU/mL)]	发酵温度 X ₄ /℃	发酵时间 X ₅ /h
1	2:1	8	9	39	26
-1	1:2	4	7	35	22

2.1.3 不同菌浓度对益生菌发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响 由图 3 可知, 发酵液中活菌数和可滴定酸含量均随菌浓度升高呈显著增长趋势。接种菌浓度为 8 lg(CFU/mL) 时, 活菌数为 9.36 lg(CFU/mL)、可滴定酸含量为 4.83 mg/mL; 接种菌浓度为 9、10 lg(CFU/mL) 时, 活菌数含量分别为 9.75、9.86 lg(CFU/mL), 此时可滴定酸含量分别为 5.35、5.61 mg/mL。如果菌浓度过高, 乳酸菌的迅速增殖可能引起细胞老化及自溶, 同时发酵液中过高的酸度亦会影响产品的风味^[20]。因此, 选择 8 lg(CFU/mL) 为最适接种菌浓度。

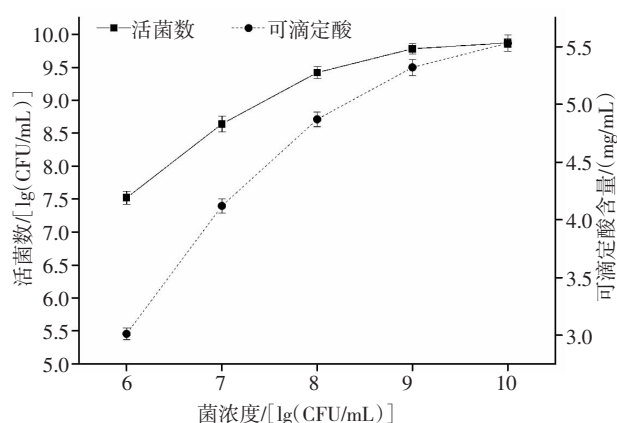


图 3 菌浓度对发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响

2.1.4 不同发酵温度对益生菌发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响 由图 4 可以看出, 发酵过程中活菌数和可滴定酸含量均随温度的升高先增后减。在 37 ℃ 条件下, 活菌数达到峰值 9.56 lg(CFU/mL), 可滴定酸含量为 4.71 mg/mL, 此时发酵液沙棘风味浓郁, 无涩味; 当温度升至 41 ℃ 时, 活菌数和可滴定酸含量均大幅下降, 发酵液滋味平淡, 涩味明显, 表明在此温度下乳酸菌生长极

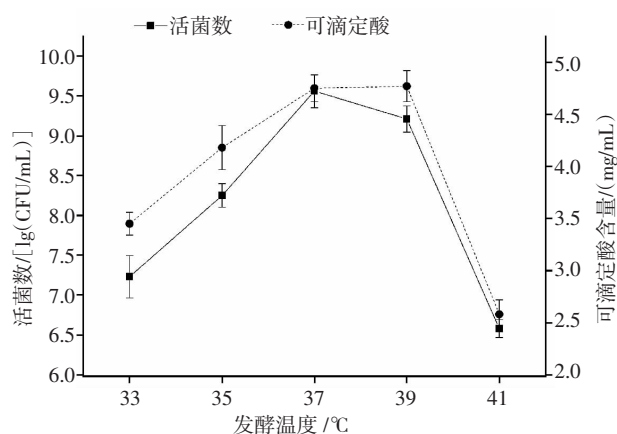


图 4 温度对发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响

缓慢。因此, 选择 37 ℃ 为最佳发酵温度。

2.1.5 不同发酵时间对益生菌发酵苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响 由图 5 可知, 活菌数随着发酵时间的延长先升高后趋于平缓。经过 24 h 发酵, 乳酸菌进入对数生长期, 活菌数达到峰值 9.46 lg(CFU/mL), 之后趋于稳定。可滴定酸含量随发酵时间持续增高, 随着发酵时间的延长, 发酵液口感越来越酸, 同时色泽逐渐灰暗。过度的酸积累可能引起益生菌自溶, 不利于乳酸菌生长^[21], 因此, 选择 24 h 为最佳发酵时间。

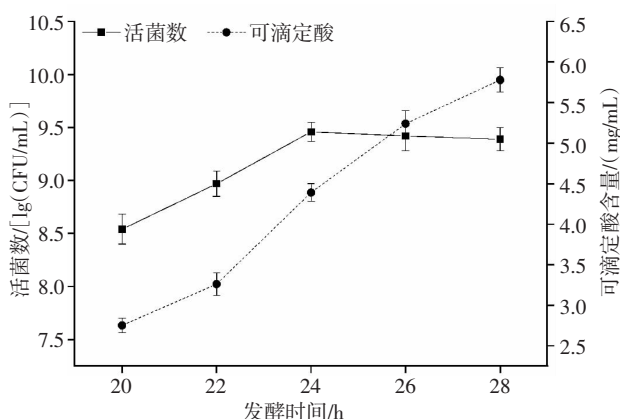


图 5 发酵时间对苹果-沙棘汁活菌数和可滴定酸的影响

2.2 两水平分式析因设计(2⁵)试验结果

以活菌数为响应值, 通过考察料液比、接种量、菌浓度、发酵温度和发酵时间等 5 个因素对益生菌发酵苹果-沙棘汁的影响。共设计 3 个中心点, 两水平分式析因设计(2⁵)试验及结果见表 3。

利用 Design Expert 8.0.6 软件对表 3 中的试验数据进行多元回归分析, 得到了响应值活菌数(Y)的回归模型方程:

$$Y = 7.83 - 0.074X_1 + 0.053X_2 + 0.460X_3 - 0.110X_4 - 0.098X_5 - 0.023X_1X_2 + 0.047X_1X_3 - 0.014X_1X_4 - 0.058X_1X_5 + 0.050X_2X_3 - 0.025X_2X_4 - 0.003X_2X_5 + 0.020X_3X_4 + 0.140X_3X_5 - 0.038X_4X_5$$

式中 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 分别为料液比、接种量、菌浓度、发酵温度和发酵时间因素水平的编码值, Y 为模糊评判值。

由表 4 可以看出, 活菌数的回归模型整体显著($P < 0.01$), 表明回归模型可以解释活菌数的变化; 失拟项不显著($P > 0.05$), 说明模型与试验数据拟合良好, 没有明显的偏差。校正决定系数

表 3 两水平分式析因设计(2⁵)试验及结果

试验号	料液比 X_1 (V/V)	接种量 X_2 /%	菌浓度 X_3 /[lg(CFU/mL)]	发酵温度 X_4 /℃	发酵时间 X_5 /h	活菌数 Y_1 /[lg(CFU/mL)]
1	-1	-1	-1	-1	-1	7.84
2	1	-1	-1	-1	-1	7.72
3	-1	1	-1	-1	-1	7.76
4	1	1	-1	-1	-1	7.59
5	-1	-1	1	-1	-1	7.69
6	1	-1	1	-1	-1	8.38
7	-1	1	1	-1	-1	8.63
8	1	1	1	-1	-1	8.56
9	-1	-1	-1	1	-1	7.57
10	1	-1	-1	1	-1	7.48
11	-1	1	-1	1	-1	7.53
12	1	1	-1	1	-1	7.51
13	-1	-1	1	1	-1	8.32
14	1	-1	1	1	-1	8.13
15	-1	1	1	1	-1	8.37
16	1	1	1	1	-1	8.09
17	-1	-1	-1	-1	1	7.59
18	1	-1	-1	-1	1	7.04
19	-1	1	-1	-1	1	7.61
20	1	1	-1	-1	1	7.00
21	-1	-1	1	-1	1	8.43
22	1	-1	1	-1	1	8.37
23	-1	1	1	-1	1	8.62
24	1	1	1	-1	1	8.55
25	-1	-1	-1	1	1	6.95
26	1	-1	-1	1	1	6.88
27	-1	1	-1	1	1	7.21
28	1	1	-1	1	1	6.91
29	-1	-1	1	1	1	8.39
30	1	-1	1	1	1	7.96
31	-1	1	1	1	1	8.27
32	1	1	1	1	1	8.24
33	0	0	0	0	0	7.40
34	0	0	0	0	0	7.58
35	0	0	0	0	0	8.00

表 4 活菌数的回归模型方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	8.82	15	0.59	13.00	<0.000 1	**
X_1	0.18	1	0.18	3.88	0.064 4	
X_2	0.091	1	0.091	2.02	0.172 2	
X_3	6.85	1	6.85	151.61	<0.000 1	**
X_4	0.40	1	0.40	8.81	0.008 2	**
X_5	0.31	1	0.31	6.86	0.017 4	*
X_1X_2	0.017	1	0.017	0.37	0.551 5	
X_1X_3	0.069	1	0.069	1.53	0.231 3	
X_1X_4	0.006	1	0.006	0.14	0.712 7	
X_1X_5	0.11	1	0.11	2.42	0.137 4	
X_2X_3	0.081	1	0.081	1.79	0.197 4	
X_2X_4	0.021	1	0.021	0.45	0.509 2	
X_2X_5	3.781×10 ⁻⁴	1	3.781×10 ⁻⁴	0.008	0.928 1	
X_3X_4	0.013	1	0.013	0.29	0.595 5	
X_3X_5	0.62	1	0.62	13.00	0.001 9	**
X_4X_5	0.047	1	0.047	1.05	0.320 0	
残差	0.81	18	0.045			
失拟项	0.62	16	0.039	0.41	0.880 2	不显著
误差	0.19	2	0.095			
总和	9.73	34				

R^2_{Adj} =0.906 2, 说明模型对试验数据的拟合度较高, 能够解释 90.62% 的变异。由 P 值可知, 一次项 X_3 、 X_4 , 交互项 X_3X_5 对活菌数影响极显著 ($P<0.01$), 一次项 X_5 对活菌数影响显著 ($P<0.05$), 其他因素对活菌数影响不显著。由 F 值可知, 各因素对活菌数的影响顺序为菌浓度 (X_3)>发酵温度 (X_4)>发酵时间 (X_5)>料液比 (X_1)>接种量 (X_2)。综合考虑感官评价结果, 在下一步响应面试验设计中将菌浓度设定为 8 lg(CFU/mL)。接种量 (X_2) 对试验结果没有显著影响 ($P>0.05$), 鉴于成本方面的考虑, 将其设定为最低水平 6%。

2.3 响应面优化试验结果

2.3.1 BBD 响应面试验结果 根据两水平分式析因设计(2^5)试验结果, 确定菌浓度为 8 lg(CFU/mL), 接种量为 6%, 选取料液比、发酵温度和发酵时间为显著影响因素, 以活菌数和感官评分为响应值, 试验设计和结果如表 5。

2.3.2 回归模型拟合及方差分析 使用 Design Expert 8.0.6 软件对表 5 中的活菌数(Y_1)和感官评分(Y_2)进行多元回归拟合, 获得回归模型方程:

$$Y_1=8.830+0.042A+0.023B-0.035C+0.047AB+0.027AC-0.013BC-0.210A^2-0.170B^2-0.130C^2$$

$$Y_2=33.79-0.36A+0.45B-0.15C-0.14AB-1.27AC-1.30BC-1.36A^2-1.15B^2-2.01C^2$$

对上述模型进行回归与方差分析, 结果分别见表 6、表 7。由表 6 可以看出, 模型整体显著 ($P<0.01$), 表明回归模型可以解释活菌数的变化; 失拟项不显著 ($P>0.05$), 说明模型与试验数据拟合良

表 5 BBD 响应面试验设计及结果

试验号	A 料液比 (V/V)	B 发酵温度 /°C	C 发酵时间 /h	Y_1 活菌数 /[lg(CFU/mL)]	Y_2 感官 评分
1	0	0	0	8.79	33.78
2	0	1	-1	8.59	32.37
3	-1	0	1	8.39	31.63
4	0	-1	-1	8.53	28.86
5	-1	1	0	8.38	32.33
6	0	1	1	8.51	29.79
7	1	1	0	8.58	31.12
8	-1	-1	0	8.42	31.15
9	0	-1	1	8.50	31.48
10	1	0	-1	8.54	31.75
11	0	0	0	8.86	34.12
12	0	0	0	8.81	33.78
13	-1	0	-1	8.53	29.72
14	1	0	1	8.51	28.58
15	0	0	0	8.85	33.41
16	1	-1	0	8.43	30.51
17	0	0	0	8.82	33.87

好, 没有明显的偏差。校正决定系数 R^2_{Adj} =0.975 8, 表明模型拟合较好。模型的一次项 A 、 C 和二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对活菌数影响极显著 ($P<0.01$), 一次项 B 对活菌数影响显著 ($P<0.05$), 各因素对活菌数影响顺序为 A (料液比)> C (发酵时间)> B (发酵温度)。由表 7 可知, 模型显著 ($P<0.01$), 失拟项不显著 ($P>0.05$), 模型复相关系数 $R=0.989\ 0$, 校正决定系数 R^2_{Adj} =0.974 7, 说明该模型可以说明目标变量 94.77% 的变异。模型的一次项 A 、 B , 交互项 AC 、 BC , 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对感官评分的影响极显著 ($P<0.01$), 各因素对感官评分的影响

表 6 以活菌数为评价指标的回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.450	9	0.050	72.78	<0.000 1	**
A	0.014	1	0.014	21.21	0.002 5	**
B	0.004	1	0.004	5.94	0.044 9	*
C	0.010	1	0.010	14.38	0.006 8	**
AB	0.009	1	0.009	13.24	0.008 3	
AC	0.003	1	0.003	4.44	0.073 1	
BC	6.250×10 ⁻⁴	1	6.250×10 ⁻⁴	0.92	0.370 1	
A ²	0.180	1	0.180	264.12	<0.000 1	**
B ²	0.120	1	0.120	171.81	<0.000 1	**
C ²	0.068	1	0.068	99.27	<0.000 1	**
残差	0.005	7	6.814×10 ⁻⁴			
失拟项	1.450×10 ⁻³	3	4.833×10 ⁻⁴	0.58	0.657 4	不显著
误差	3.320×10 ⁻³	4	8.300×10 ⁻⁴			
总和	0.450	16				

表 7 以感官评分为评价指标的回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	49.89	9	5.54	69.61	<0.000 1	**
A	1.03	1	1.03	12.93	0.008 8	**
B	1.63	1	1.63	20.46	0.002 7	**
C	0.19	1	0.19	2.34	0.170 2	
AB	0.08	1	0.08	1.02	0.346 1	
AC	6.45	1	6.45	81.03	<0.000 1	**
BC	6.76	1	6.76	84.90	<0.000 1	**
A ²	7.78	1	7.78	97.77	<0.000 1	**
B ²	5.61	1	5.61	70.51	<0.000 1	**
C ²	17.05	1	17.05	214.12	<0.000 1	**
残差	0.56	7	0.08			
失拟项	0.30	3	0.099	1.53	0.337 4	不显著
误差	0.26	4	0.065			
总和	50.44	16				

顺序为B(发酵温度)>A(料液比)>C(发酵时间)。
2.3.3 响应面各因素交互作用 由图 6、图 7 可以看出,料液比与发酵温度、发酵时间的交互效应对活菌数和感官评分的影响极显著($P<0.01$)。当料液比为 1:1~1:2,发酵温度为 33~34℃,发酵时间为 19~21 h 时,活菌数和感官评分达到较高水平;进一步增加发酵时间,活菌数和感官评分均呈现下降趋势。

通过 Design-Expert 8.0.6 软件优化分析,确定益生菌发酵苹果-沙棘汁最优工艺参数为料液比 1:1(V/V)、菌浓度 8 lg(CFU/mL)、接种量 6%、发酵温度 34.43℃、发酵时间 24 h。此时,苹果-沙棘汁活菌数为 8.83 lg(CFU/mL),感官评分 33.83。对优化条件进行修约后,确定料液比1:1(V/V)、菌浓度 8 lg(CFU/mL)、接种量 6%、发酵温度 34℃、发酵时间 24 h。在此条件下进行试验验证,

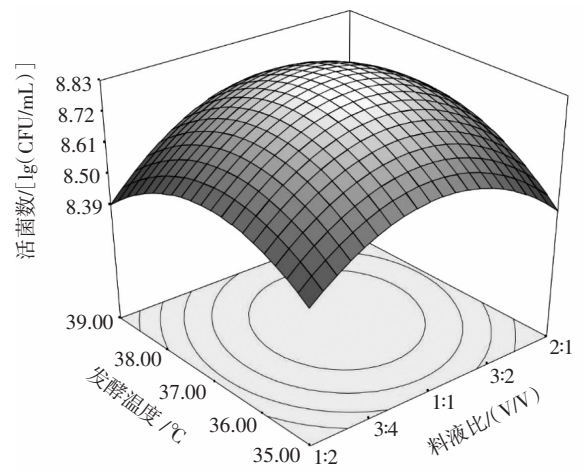


图 6 料液比与发酵温度互作对活菌数影响的响应面图

测得发酵苹果-沙棘汁的活菌数 8.78 lg(CFU/mL),感官评分 33.91,与模型预测值无明显差异。

3 讨论与结论

益生菌可以与水果中的糖、有机酸、多酚等发生反应,产生新的衍生物,从而改善果汁风味、提高营养价值^[22]。将苹果与沙棘复配,通过益生菌发酵提升风味,不仅可以拓宽益生菌摄入途径,还可改善口感,实现美味与营养并重。陈彦辉等^[23]研究发现,发酵有助于沙棘汁中的糖苷类多酚向苷元类多酚转化,在提升产品风味的同时,还可增强果汁的抗氧化能力。王晨曦等^[13]研究了发酵对沙棘果汁中苦味物质的转化,结果表明植物乳杆菌可以使异鼠李素糖苷转化成异鼠李素,发酵显著改善了沙棘汁的涩味,感官评分达到 85 分,与本研究结果一致。

本研究首先通过两水平分式析因设计(2⁵)方法,以活菌数和可滴定酸为指标,分析了料液比、

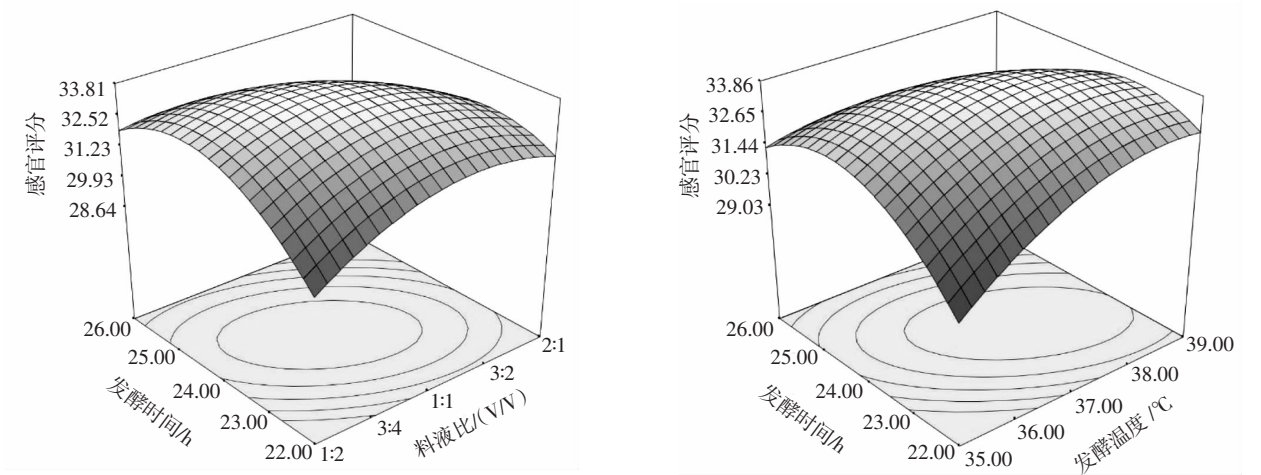


图 7 各因素交互作用对感官评分影响的响应面图

接种量、菌浓度、发酵温度和发酵时间 5 个因素对益生菌发酵苹果-沙棘汁的影响。在确定料液比、发酵温度和发酵时间为显著影响因素后,进一步以活菌数和感官评价为响应变量,通过 Box-Behnken 中心组合法优化了苹果-沙棘汁益生菌发酵的工艺,确定最佳发酵条件为料液比 1:1 (V/V)、菌浓度 8 lg(CFU/mL)、接种量为 6%、发酵温度 34 ℃、发酵时间 24 h。在此条件下,发酵液的活菌数含量 8.78 lg (CFU/mL),感官评分 33.91,此时,发酵液具有沙棘特有的风味,口感柔和,酸度适口。试验证明,苹果-沙棘汁可作为益生菌发酵的良好载体,通过发酵,显著提升了苹果-沙棘汁的风味和口感。该研究为开发一种药食同源,并具有益生功能的饮品奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] MANTZOURANI I, NIKOLAOU A, KOURKOUTAS Y, et al. Chemical profile characterization of fruit and vegetable juices after fermentation with probiotic strains[J]. Foods, 2024, 13(7): 1136.
- [2] LI Y, LIU H, QI H, et al. Probiotic fermentation of *Ganoderma lucidum* fruiting body extracts promoted its immunostimulatory activity in mice with dexamethasone-induced immunosuppression[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 141: 111909.
- [3] 张蕊,袁晶. 益生菌的生理功能及其在果蔬汁发酵中的应用研究进展[J]. 寒旱农业科学, 2024, 3(5): 393-399.
- [4] 吴彩云,张晓荣,徐怀德,等. 益生菌发酵果蔬汁生物活性成分及功能特性研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(12): 323-334.
- [5] 吴江娜,魏冠棉,毛娜,等. 不同乳酸菌发酵对雪花梨汁营养成分、抗氧化活性及挥发性风味物质的影响[J]. 中国食品学报, 2024, 24(9): 310-321.
- [6] 冯志强,张宇,田维志,等. 乳酸菌发酵前后山药汁营养成分及风味物质的变化[J]. 现代食品科技, 2024, 40(8): 294-301.
- [7] XU Y, HLAING M M, GLAGOVSKAIA O, et al. Fermentation by probiotic *Lactobacillus gasseri* strains enhances the carotenoid and fibre contents of carrot juice[J]. Foods, 2020, 9(12): 1803.
- [8] 黄豪,周义,陈佳慧,等. 乳酸菌发酵对山楂汁理化性质、酚类化合物、抗氧化性及风味的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 97-106.
- [9] 石莹莹. 沙棘的化学成分研究进展[J]. 广州化工, 2025, 53(1): 27-29; 38.
- [10] 张海燕,康三江,陈志玺,等. 沙棘玫瑰醋高产酸菌株的分离和筛选及分子生物学鉴定[J]. 寒旱农业科学, 2025, 4(1): 60-66.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [12] 邢玮. 沙棘果酒苹果酸-乳酸发酵条件及其特性的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2011.
- [13] 王晨曦,李乾弘,刘阳洲,等. 植物乳杆菌发酵对沙棘果汁中苦味物质的转化作用[J]. 食品工业科技, 2024, 45(16): 159-167.
- [14] 王晓雨,裴龙英,刘伟,等. 沙棘苹果复合饮料的研制及品质分析[J]. 现代食品, 2023, 29(13): 77-82.
- [15] 宋菲红,蒋玉梅,盛文军,等. 苹果沙棘复合果泥配方优化及品质分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(6): 184-194.
- [16] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验: GB 4789.35—2023[S]. 北京: 中国标准出版社, 2023.
- [17] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中总酸的测定: GB 12456—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [18] YUAN J, ZHANG H, ZENG C, et al. Impact of fermentation conditions on physicochemical properties, antioxidant activity, and sensory properties of apple tomato pulp[J]. Molecules, 2023, 28(11): 4363.
- [19] 康三江,袁晶,张海燕,等. 复合益生菌发酵南瓜浆菌株筛选及发酵工艺优化[J]. 中国酿造, 2021, 40(8): 92-98.
- [20] 刘佳奇,熊涛,李军波,等. 乳酸菌发酵茶饮料的工艺优化及其发酵前后香气成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(8): 109-114.
- [21] 袁晶,康三江,宋娟. 响应面法优化乳酸菌发酵苹果浆工艺及其抗氧化活性分析[J]. 中国酿造, 2020, 39(12): 86-90.
- [22] YUAN X, WANG T, SUN L, et al. Recent advances of fermented fruits: A review on strains, fermentation strategies, and functional activities[J]. Food Chemistry: X, 2024, 22(30): 101482.
- [23] 陈彦辉,李亚凤,李璞钰,等. 植物乳杆菌 YHG1-155 发酵沙棘汁促糖苷类多酚生物转化[J]. 中国食品学报, 2024, 24(11): 289-299.