

沙棘原浆发酵功能饮料的研制及其品质特征和抗氧化活性评价

付依依¹, 王永霞^{1*}, 李月¹, 张笑莹¹, 夏凯², 谭志超³

(1.河北工程大学生命科学与食品工程学院, 河北邯郸 056038; 2.中国食品发酵工业研究院有限公司, 北京 100015; 3.张北宝得康食品有限公司, 河北张家口 076450)

摘要:以沙棘原浆为原料, 采用酒球菌进行苹果酸-乳酸发酵, 并对发酵原浆进行调配, 通过单因素试验和响应面试验、正交试验分别优化沙棘发酵功能饮料的发酵工艺及饮料配方, 进一步对产品的理化指标、抗氧化活性及风味特征进行分析。结果表明, 沙棘原浆发酵最佳工艺参数为: 接种量5.0%、发酵温度28℃、发酵时间6 d、初始pH3.5, 此条件下苹果酸降解率达87.41%。沙棘发酵功能饮料的最优配方为: 发酵沙棘汁添加量25%、蜂蜜2%、白砂糖7%, 产品感官评分最高为89分。沙棘发酵饮料中总酚和总黄酮含量分别为340.00、56.33 mg/L; 羟自由基和DPPH自由基清除能力与Vc(10 μg/mL)无显著差异, 而ABTS自由基、超氧阴离子自由基清除能力和总抗氧化能力均显著高于Vc(10 μg/mL); SOD酶活力为935.48 U/mL, 显著高于未发酵沙棘原浆。电子鼻能准确区分沙棘发酵饮料与沙棘原浆和市售3款发酵果汁饮料, PCA累计贡献率为98.3%; 电子舌分析表明沙棘发酵饮料与原浆相比, 酸味降低, 甜味和鲜味均提高。综上, 所研制的沙棘发酵饮料风味独特、甜酸适宜, 且具有较高的抗氧化活性。

关键词: 沙棘原浆; 发酵; 功能饮料; 工艺; 配方; 抗氧化活性

中图分类号: TS 275.4 文献标志码: A 文章编号: 1005-9989(2022)01-0123-09

DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2022.01.032

Preparation, Quality Characteristics and Antioxidant Activity Evaluation of Seabuckthorn Puree Fermented Functional Beverage

FU Yiyi¹, WANG Yongxia^{1*}, LI Yue¹, ZHANG Xiaoying¹, XIA Kai², TAN Zhichao³

(1.College of Life Science and Food Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China; 2.China National Research Institute of Food & Fermentation Industries Co., Ltd., Beijing 100015, China; 3.Zhangbei Baodekang Food Co., Ltd., Zhangjiakou 076450, China)

Abstract: Using seabuckthorn puree as the raw material, the malo-lactic acid fermentation is carried out by *O. enococcus*, and the fermentation puree is prepared. The fermentation process and beverage formula of the seabuckthorn fermented functional beverage are optimized through single factor experiments, response surface experiments, and orthogonal experiments. The physical and chemical

收稿日期: 2021-08-31

*通信作者

基金项目: 河北省重点研发计划项目(19223002D)。

作者简介: 付依依(1996—), 女, 河北唐山人, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全。

indicators, antioxidant activity and flavor characteristics of the product are further analyzed. The results showed that the optimal process parameters of seabuckthorn puree fermentation were as follows: inoculum amount 5.0%, fermentation temperature 28 °C, fermentation time 6 d, initial pH 3.5, and the malic acid degradation rate reached 87.41% under these conditions. The optimal formula of seabuckthorn fermented functional beverage was: 25% fermented seabuckthorn juice, 2% honey, 7% sugar, and the highest sensory score of the product was 89 points. The contents of total phenols and total flavonoids in seabuckthorn fermented beverages were 340.00 mg/L and 56.33 mg/L, respectively; hydroxyl radical and DPPH free radical scavenging ability was not significantly different from Vc (10 µg/mL), while ABTS free radical and superoxide anion free radical scavenging capacity and total antioxidant capacity were significantly higher than Vc (10 µg/mL). SOD enzyme activity was 935.48 U/mL, significantly higher than unfermented seabuckthorn puree. The electronic nose could accurately distinguish between seabuckthorn fermented beverage and sea buckthorn puree and 3 types of fermented juice beverages on the market, and the cumulative contribution rate of PCA is 98.3%. Electronic tongue analysis showed that compared with the puree, the sourness of seabuckthorn fermented beverage was reduced, and the sweetness and umami taste were improved. In summary, the developed seabuckthorn fermented beverage has unique flavor, suitable sweet and sour, and has high antioxidant activity.

Key words: seabuckthorn puree; fermentation; functional drink; technology; formula; antioxidant activity

随着社会经济的发展和国民健康意识的提升,功能性食品越来越受到消费者关注。其中,功能性饮料作为功能食品市场的重要类别,其需求更是日益增加。目前,中国功能饮料市场的主要类别是能量饮料和运动饮料^[1],相较于这些主要添加人工合成营养素的传统功能饮料,使用具有功能性的天然原料加工而成的饮料越来越受到欢迎,如使用药食同源原料研制的具有降血脂、抗氧化、抗癌等功能的饮料或运用益生菌直接发酵果蔬汁、牛乳等而后经调配而成的具有调节肠道菌群平衡的功能饮品等^[2-3]。

沙棘富含黄酮类物质、V_C、生育酚、三烯醇、类胡萝卜素和植物类固醇等多种活性成分^[4-5],已被证明具有抗炎、抗氧化、抗疲劳及抗癌等多种功效。我国市场上沙棘饮料主要包括沙棘原浆和调配饮料,调配饮料主要是通过蓝莓^[6]和梨^[7]等其他果蔬汁复配而成。沙棘原浆虽然最大限度保持了沙棘果实原有的营养成分,但由于有机酸含量较高,pH值仅为2.7~2.9,其中高浓度的苹果酸造成原浆口感酸涩,使沙棘原浆直接饮用的可接受度降低。近年来,越来越多的科研人员将酒球菌应用于高酸度果汁进行生物降酸的研究:如张晟等^[8]以北五味子为原料,发现酒球菌发酵不仅显著降低了果汁的酸度,同时还提高了其抗氧化活性。当前,有关沙棘原浆的酒球菌发酵工艺优化,以及乳酸菌发酵沙棘功能性饮料的研

制尚未见报告。

本研究针对沙棘原浆苹果酸含量较高的问题,首先采用酒球菌进行苹果酸-乳酸发酵,以苹果酸降解率为评价指标,确定酒球菌发酵最佳工艺;然后以感官评价为指标,对发酵原浆进行调配,获得具有沙棘独特风味、营养丰富且具有较高抗氧化功效的沙棘发酵功能饮料,为沙棘原浆的高值化利用及新型功能性饮料的开发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

沙棘原浆:张北宝得康食品有限公司;酒球菌(*Oenococcus oeni* CICC 6066):冻干粉,上海保藏生物技术中心;碳酸氢钠(食品级)、白砂糖:市售;蜂蜜:上海冠生园蜂制品有限公司;芒果益生菌果汁饮品、红西柚乳酸菌果汁饮料、益生菌猕猴桃果汁饮料:市售;ATB液体培养基:上海瑞楚生物科技有限公司;磷酸氢二钾、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、磷酸:天津欧博凯化工有限公司;D-L苹果酸:上海易恩化学技术有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、三吡啶基三嗪(TPTZ)、2,2-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS):上海易恩化学技术有限公司;芦丁、福林酚:北京索莱宝科技有限公司;上述所有化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

PX224ZH型电子天平：奥豪斯仪器(常州)有限公司；PB-21 pH计：赛多利斯科学仪器有限公司；KQ50DA型数控超声波清洗器：昆山市超声仪器有限公司；生化培养箱：上海新苗医疗器械制造有限公司；ZHJH-C1214C型垂直流超净工作台：上海智城分析仪器制造有限公司；LC-20AT高效液相色谱仪：日本岛津公司；PEN3便携型电子鼻：德国Airsense公司；SA-4028型电子舌：北京盈盛恒泰科技有限责任公司。

1.3 试验方法

1.3.1 沙棘发酵饮料制作工艺流程及操作要点 沙棘原浆→调节pH值→灭菌→降温→接种→发酵→冷藏→调配→杀菌→成品。

沙棘原浆：所用沙棘原浆初始pH值为2.70，可溶性固形物为12.30%。

调节初始pH值：使用1.0 mol/L NaHCO₃溶液，调节沙棘原浆pH值至3.5。

灭菌、冷却：巴氏杀菌(85 ℃、30 min)，然后冷却至室温备用。

接种：将菌种管内酒球菌CICC 6066冻干粉用200 μL的ATB液体培养液溶解，吸取100 μL接种到ATB斜面培养基中，25 ℃培养2 d。挑取一环接入ATB液体培养基，25 ℃培养2 d，连续传代2次，将所得菌液离心(4000 r/min，10 min)，所得菌泥用生理盐水洗涤2次，再用生理盐水重悬获得发酵种子液。按照沙棘原浆5%的体积接种。

发酵、冷藏：接种后的样品置于28 ℃培养箱，发酵6 d后取出，4 ℃冷藏使其停止发酵。

调配、杀菌：将沙棘发酵液和纯净水按一定比例混合，并加入适量的蔗糖和蜂蜜，调配成沙棘发酵饮料，巴氏杀菌后得到成品。

1.3.2 沙棘发酵原浆发酵工艺优化

1.3.2.1 单因素试验 设定初始pH值分别为3.1、3.3、3.5、3.7、3.9，接种量分别为3%、4%、5%、6%、7%，发酵温度分别为22、25、28、31、34 ℃，发酵时间分别为4、5、6、7、8 d，发酵结束后测定苹果酸含量，依次考察初始pH值、接种量、发酵温度和发酵时间对苹果酸降解率的影响。

1.3.2.2 响应面试验 在单因素试验基础上，根据Box-Behnken试验设计，以接种量(A)、发酵温度(B)、发酵时间(C)和初始pH值(D)为自变量，苹果

酸降解率(R)为响应值，进行工艺优化试验，因素与水平见表1。

表1 Box-Behnken试验因素与水平

水平	因素			
	接种量/% A	发酵温度/℃ B	发酵时间/d C	初始pH值 D
-1	4	25	5	3.3
0	5	28	6	3.5
1	6	31	7	3.7

1.3.3 沙棘发酵饮料的配方优化

1.3.3.1 单因素试验 发酵后的沙棘原浆进行适当调配，以感官评分为评价指标，研究沙棘发酵浆添加量、蜂蜜添加量和白砂糖添加量对沙棘发酵饮料感官品质的影响。

1.3.3.2 正交试验 在单因素试验的基础上，以感官评分为评价指标，采用L₉(3⁴)正交试验对配方进行优化。因素水平见表2。

表2 正交试验因素水平表

水平	因素		
	沙棘发酵浆/% A	蜂蜜添加量/% B	白砂糖添加量/% C
1	20	1.5	3
2	25	2	5
3	30	2.5	7

1.3.4 感官评分标准 由20位河北工程大学食品专业人员组成感官评价小组，对各组沙棘发酵饮料进行感官评价，分别从口感、色泽、香气和组织状态4个方面进行评分，产品的感官评分标准见表3。

表3 感官评定标准

指标	评分标准	分值
口感(40)	酸甜适宜，清爽口感，无不良口感	30~40
	滋味较淡，略爽口或稍有不良口感	15~29
	过酸或过甜，有不良口感	1~14
色泽(20)	呈橙黄色，色泽均匀一致	15~20
	呈橙黄色，色泽较均匀	10~14
	色泽不均匀，有杂色	1~9
香气(20)	具有沙棘的香气且浓郁，醇味淡	15~20
	具有沙棘的香气较淡，略有醇味	10~14
	无香气，醇味较浓或有异味	1~9
组织状态(20)	质地均匀，无分层，无沉淀	15~20
	浑浊，轻微封层或少量沉淀	10~14
	分层明显且有大量沉淀	1~9

1.3.5 苹果酸的测定 参照文献[9]的方法, 略作改进。高效液相色谱条件: 采用InertSustain-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱, 紫外检测器, 以0.05 mol/L KH₂PO₄溶液(用20%磷酸调为pH2.70)为流动相, 等度洗脱20 min, 流速0.6 mL/min, 波长210 nm, 柱温30 ℃, 进样量20 μL。

准确称取苹果酸0.4000 g(精确至0.0001 g), 流动相定容于100 mL容量瓶中, 作为标准溶液备用。

精密移取10 mL沙棘原浆至100 mL容量瓶用流动相定容, 然后用0.45 μm微孔滤膜过滤后直接进样。

苹果酸降解率(%)=[(C₀-C)/C₀]×100

式中: C为发酵后沙棘原浆中苹果酸含量, mg/mL;

C₀为未经发酵的沙棘原浆中苹果酸含量, mg/mL。

1.3.6 理化性质的测定 pH值的测定: pH计直接测定; 可溶性固形物含量的测定: 参照NY/T 2637—2014《水果和蔬菜可溶性固形物含量的测定 折射仪法》; 总酸含量的测定: 参照GB/T 12456—2008《食品中总酸的测定方法》; 总糖含量的测定: 苯酚硫酸法^[10]。

1.3.7 活性成分的测定

1.3.7.1 总黄酮的测定 参照DB43T476—2009《植物源性食品中总黄酮的测定》, 样液以4000 r/min离心10 min取上清液得待测液。准确配制芦丁标准液0.2 mg/mL, 准确吸取0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 分别置于50 mL具塞比色管中, 于标准管和试样管分别加入2.0 mL三氯化铝溶液(2.5 g/100 mL), 混匀, 各加入2.0 mL醋酸钾溶液(9.82 g/100 mL), 混匀, 加30%的乙醇至刻度, 静置15 min, 于波长415 nm处测定吸光度, 绘制标准曲线; 同时做空白。代入回归方程 $y=0.0015x+0.0055(R^2=0.9928)$ 计算出待测液中总黄酮的浓度。

1.3.7.2 总酚的测定 采用Folinciocalteu法^[11], 样液以4000 r/min离心10 min取上清液得待测液。准确配制没食子酸标准溶液1 mg/mL, 分别置于25 mL容量瓶中, 用水定容。分别取0.5 mL上述浓度的标液和待测液, 加2.5 mL蒸馏水, 再加入0.5 mL Folinciocalteu显色剂和1.5 mL 7.5%的碳酸钠溶液, 混合均匀。室温避光1 h后, 765 nm下测定吸光度值, 蒸馏水作为空白对照, 绘制标准曲线。

代入回归方程 $y=3.98x+0.0278(R^2=0.9968)$ 计算出待测液中总酚的浓度。

1.3.8 沙棘发酵饮料风味特征的测定

1.3.8.1 电子鼻测定 准确吸取10 mL样液, 放入50 mL顶空瓶中, 静置10 min后, 插入电子鼻探头吸取顶端空气, 测定挥发性物质。参照文献[12]的测定条件: 气体流量400 mL/min, 清洗时间200 s, 调零时间5 s, 样品间隔时间1 s, 准备时间5 s, 测定时间120 s。

1.3.8.2 电子舌测定 参照文献[13]的方法, 稍作修改。各样液加水稀释4倍, 以10000 r/min离心10 min后取上清液抽滤, 取35 mL滤液装入各电子舌专用烧杯中, 置于电子舌分析装置上, 对各样液的滋味进行评价。

1.3.9 生物活性的测定

1.3.9.1 抗氧化能力的测定 羟自由基清除能力的测定: 采用Fenton法^[14]; DPPH自由基清除能力的测定: 按照李世燕等^[15]的方法略作修改; ABTS自由基清除能力测定: 参照文献[16]的方法, 稍作修改; 超氧阴离子自由基清除能力的测定: 参照崔国庭等^[17]的方法, 略作改进; 总抗氧化能力FRAP测定: 参照文献[18]的方法稍作修改。

1.3.9.2 SOD酶活力测定 参照GB/T 5009.171—2003和郭伟峰等^[19]的方法。

试管中加入4.00 mL蒸馏水、4.5 mL PBS缓冲液、1 mL EDTA溶液(10 mmol/L)混匀, 25 ℃平衡20 min, 再加入0.5 mL邻苯三酚(3 mmol/L)于325 nm处测定每分钟光吸收值变化速率, 空白以HCl(10 mmol/L)溶液替代邻苯三酚。

样液8000 r/min离心10 min, 取上清液稀释10倍后, 取0.2 mL稀释液加3.8 mL蒸馏水, 其他及空白同上。

$SOD酶活力(U/mL)=[(\Delta_A-\Delta_B)/(100\%\times 50\%)]\cdot V_1\cdot(n/V_2)$

式中: Δ_A 为邻苯三酚自氧化速率;

Δ_B 为样品光吸收值变化速率;

V_1 为反应液总体积;

V_2 为测定样品体积;

n 为样品稀释倍数。

1.4 数据处理

采用SPSS 26.0软件进行数据分析, 应用Minitab、Office软件作图, 所有试验重复3次, 取平均值±SD, 同行小写字母不同表示组间存在显著性差异($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 沙棘原浆发酵工艺优化单因素试验

2.1.1 接种量对苹果酸降解率的影响

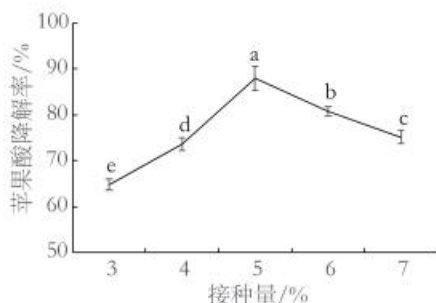


图1 接种量对苹果酸降解率的影响

由图1可知,随着接种量的增加,苹果酸降解率呈现先升高后降低的趋势,接种量为5%时苹果酸降解率达到最高。这可能是因为,继续加大接种量,虽使得酒酒球菌的初始数目增加,但其生长繁殖消耗营养过快,导致后期营养供应不足,使得苹果酸降解率下降。因此,接种量为5%最为合适。

2.1.2 发酵温度对苹果酸降解率的影响

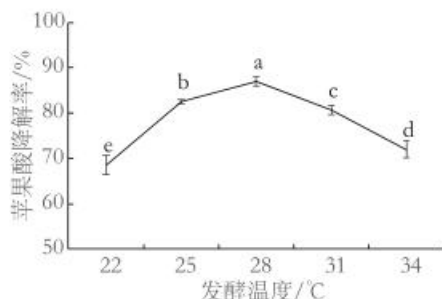


图2 发酵温度对苹果酸降解率的影响

温度是影响微生物生长繁殖最重要的因素之一,温度对沙棘原浆发酵苹果酸降解率的影响见图2。在22~28℃范围内,随着温度的升高,苹果酸降解率增加;而温度继续升高,苹果酸降解率明显降低。这主要是温度上升到一定程度,开始对酒酒球菌的生长产生不利的影响,微生物细胞的代谢活动也受到损害。因此,选择最佳发酵温度为28℃。

2.1.3 发酵时间对苹果酸降解率的影响 由图3可知,沙棘原浆的苹果酸降解率在发酵时间为6 d时达到最高(87.06%),发酵时间延长后,苹果酸降解率并无显著性增加。这可能是因为,发酵时间较短时,酒酒球菌总活菌数相对较少,苹果酸降

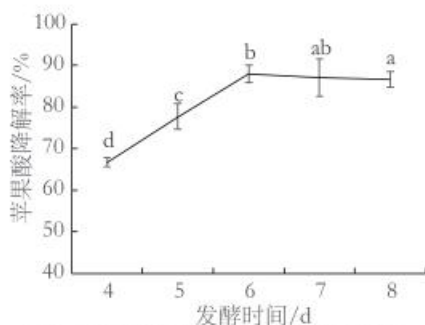


图3 发酵时间对苹果酸降解率的影响

解率较低;发酵时间过长,菌株活力下降,发酵能力有限,苹果酸降解率不再增加。因此,选择最佳发酵时间为6 d最为合适。

2.1.4 初始pH值对苹果酸降解率的影响

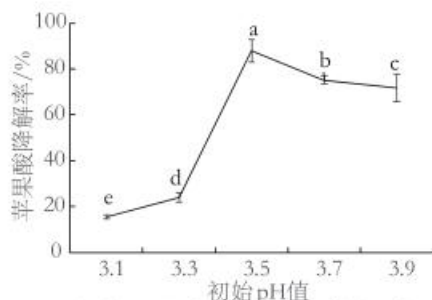


图4 初始pH值对苹果酸降解率的影响

不同初始pH值环境条件对苹果酸的降解率有影响,由图4可知,随着初始pH值的升高,苹果酸降解率先增加后降低。当pH值为3.5时降解率达到最高值。原因可能是,pH值较低时,会抑制酒酒球菌的生长,使其难以发生苹果酸-乳酸发酵^[8],而过高的初始pH值,没有为苹果酸-乳酸发酵创造良好的条件,可能抑制酒酒球菌体内酶的活性,导致苹果酸降解率下降。

2.2 沙棘原浆发酵工艺优化响应面实验

响应面优化沙棘原浆发酵工艺结果见表4,通过对表4的响应值进行多元回归拟合分析,可得到二次多元回归拟合方程如下: $R=86.40+0.078A+0.81B-1.49C+11.15D+0.72AB+2.50AC+1.42AD+0.33BC-4.32BD-0.86CD-8.27A^2-7.29B^2-11.21C^2-29.83D^2$ 。

对所得方程进行方差分析(表5),回归方程模型差异极显著($P<0.0001$),失拟项 P 值=0.0634($P>0.05$)不显著,证明模型选择正确;该模型的回归系数 $R^2=0.9817$,说明该模型响应值变化的98.17%来自于自变量,可以较好地描述自变量与苹果酸降解率之间的关系。方差分析结果表

表4 Box-Behnken试验设计与结果

试验号	因素				苹果酸降解率/% R
	A	B	C	D	
1	0	0	0	0	87.00
2	0	0	1	1	52.10
3	-1	0	-1	0	68.45
4	1	-1	0	0	70.32
5	-1	0	1	0	63.35
6	0	1	0	1	55.43
7	0	-1	-1	0	68.32
8	-1	-1	0	0	71.11
9	0	0	-1	-1	37.45
10	0	0	-1	1	57.65
11	0	0	0	0	85.46
12	1	0	-1	0	64.45
13	-1	0	0	1	60.33
14	0	-1	0	1	65.32
15	0	0	1	-1	35.34
16	-1	1	0	0	70.45
17	0	-1	1	0	62.66
18	1	1	0	0	72.56
19	-1	0	0	-1	37.99
20	1	0	1	0	69.34
21	0	0	0	0	84.98
22	0	0	0	0	87.62
23	0	0	0	0	86.96
24	1	0	0	-1	33.96
25	0	-1	0	-1	33.45
26	1	0	0	1	61.98
27	0	1	-1	0	72.98
28	0	1	1	0	68.66
29	0	1	0	-1	40.83

明, 各因素对苹果酸降解率影响大小依次为: 初始pH值>发酵时间>发酵温度>接种量。

经Design Expert 8.0.6软件分析, 预测沙棘原浆苹果酸-乳酸发酵最佳工艺为: 接种量5.010%、发酵温度27.995℃、发酵时间5.927 d、初始pH3.538, 在此条件下, 苹果酸降解率可达87.507%。为验证预测值的准确性和方便实际试验操作, 将发酵条件调整为: 接种量5.0%、发酵温度28℃、发酵时间6 d、初始pH3.5, 对结果进行3次平行验证试验, 最终测得苹果酸降解率为87.41%, 与理论预测值仅相差0.096%, 说明该模型可靠且具有实用性。

2.3 沙棘发酵饮料配方优化单因素试验

2.3.1 沙棘发酵浆添加量对感官品质的影响 沙棘发酵浆的含量是保证产品具有沙棘典型风味的前

表5 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	7641.26	14	545.80	108.14	0.0001	**
A	0.072	1	0.072	0.014	0.9066	
B	7.89	1	7.89	1.56	0.2317	
C	26.55	1	26.55	5.26	0.0378	*
D	1491.65	1	1491.65	295.55	0.0001	**
AB	2.10	1	2.10	0.42	0.5291	
AC	24.95	1	24.95	4.94	0.0432	*
AD	8.07	1	8.07	1.60	0.2268	
BC	0.45	1	0.45	0.089	0.7699	
BD	74.56	1	74.56	14.77	0.0018	**
CD	2.96	1	2.96	0.59	0.4566	
A ²	443.53	1	443.53	87.88	0.0001	**
B ²	345.10	1	345.10	68.38	0.0001	**
C ²	815.35	1	815.35	161.55	0.0001	**
D ²	5770.54	1	5770.54	1143.36	0.0001	**
残差	70.66	14	1			
失拟项	65.60	10	0	5.18	0.0634	
纯误差	5.06	4	1			
总和	7711.92	28				

注: “*”表示对结果影响显著($P<0.05$); “**”表示对结果影响极显著($P<0.01$)。

提, 其添加量越高, 产品的风味越突出, 对产品的感官品质有很大的影响。但由于沙棘浆中有机酸含量高, 添加量过高会影响产品口感, 如图5所示, 当沙棘发酵浆添加量在25%时, 感官评分最高为88分, 此添加量的产品色泽呈橙黄色, 且具有沙棘特有的香气。因此, 选取20%、25%和30% 3个水平的沙棘发酵浆添加量用于后续的正交试验。

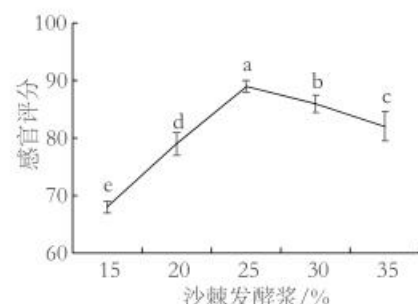


图5 沙棘发酵浆添加量对感官品质的影响

2.3.2 蜂蜜添加量对感官品质的影响 蜂蜜味道香甜润口, 有一定的调味作用。不同蜂蜜添加量对发酵饮料的感官品质影响结果如图6所示。蜂蜜添加量过少时, 蜂蜜的风味不突出, 添加过多又会

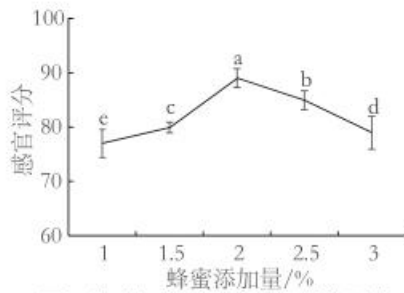


图6 蜂蜜添加量对感官品质的影响

导致口感甜腻。当蜂蜜添加量为2%时,感官评分最高为88分。因此,选取1.5%、2%和2.5% 3个水平的蜂蜜添加量用于后续的正交试验。

2.3.3 白砂糖添加量对感官品质的影响

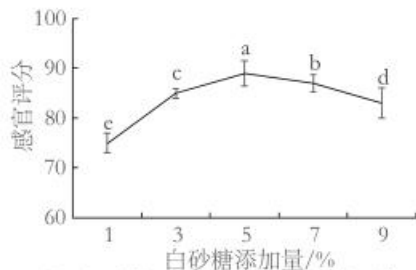


图7 白砂糖添加量对感官品质的影响

添加适量白砂糖可调节饮料的糖酸比,进一步改善产品的口感。如图7所示,随着白砂糖添加量的增加,发酵功能饮料的感官得分也随之变化,当白砂糖添加量在5%时,感官综合得分最高,为88分,产品酸甜可口,口感适宜。因此,选取3%、5%和7% 3个水平的白砂糖添加量用于后续的正交试验。

2.4 沙棘发酵饮料最佳配方的确定

按正交试验设计进行试验,结果如表6所示。由R值可知,影响沙棘发酵饮料感官品质的因素主次关系为: A>C>B,即沙棘发酵浆添加量>白砂糖添加量>蜂蜜添加量。由k值可知沙棘发酵

表6 配方优化正交试验结果

试验号	因素			感官评分/分
	A	B	C	
1	1	1	2	77
2	1	2	1	73
3	1	3	3	80
4	2	1	1	81
5	2	2	3	89
6	2	3	2	85
7	3	1	3	82
8	3	2	2	86
9	3	3	1	79
K ₁	230	240	233	
K ₂	255	248	248	
K ₃	247	244	251	
k ₁	76.67	80.00	77.67	
k ₂	85.00	82.67	82.67	
k ₃	82.33	81.33	83.67	
R	8	2.33	5.66	
优水平	A ₂	B ₂	C ₃	
因素次序	A	C	B	

饮料的最佳配方组合为A₂B₂C₃,此组合正是正交试验的第5组,实际试验评分最高89分,两者结果相符,即沙棘发酵功能饮料的最佳配方为:沙棘发酵原浆添加量25%、蜂蜜2%、白砂糖7%。

2.5 沙棘发酵饮料的理化指标

调配的沙棘发酵饮料色泽橙黄,甜酸适宜。经测定该饮料的pH值为3.95,可溶性固形物含量为10.10%,总糖和总酸含量分别为55.45 mg/mL和3.35 mg/mL。

2.6 沙棘发酵饮料的抗氧化能力分析

对沙棘发酵功能饮料进行活性成分及抗氧化能力、SOD酶活测定,并与沙棘原浆、沙棘发酵浆进行比较分析,结果如表7所示。调配后的沙棘发酵饮料总黄酮含量为56.33 mg/L,与未发酵沙棘

表7 抗氧化能力及活性成分的测定

检测指标	沙棘原浆	沙棘发酵浆	沙棘发酵饮料	V _C /(10 μg/mL)
总酚/(mg/L)	563.00±2.02 ^b	586.00±1.01 ^a	340.00±2.01 ^c	—
总黄酮/(mg/L)	57.00±1.53 ^b	111.00±1.20 ^a	56.33±0.91 ^b	—
羟自由基清除能力/%	68.17±0.52 ^b	72.00±0.71 ^a	53.01±0.99 ^c	51.55±0.92 ^d
DPPH自由基清除能力/%	86.23±0.95 ^b	93.90±0.45 ^a	80.73±0.57 ^d	87.73±0.35 ^c
ABTS自由基清除能力/%	48.78±0.99 ^b	64.50±0.76 ^a	38.03±0.50 ^c	10.95±0.32 ^d
超氧阴离子自由基清除能力/%	90.23±0.84 ^b	95.05±0.93 ^a	46.99±0.57 ^c	16.39±0.23 ^d
总抗氧化能力/(mmol FeSO ₄ /L)	9.53±0.34 ^b	10.08±0.05 ^a	4.68±0.05 ^c	2.17±0.11 ^d
SOD酶活力/(U/mL)	363.63±2.71 ^c	2750.00±7.56 ^a	935.48±8.11 ^b	—

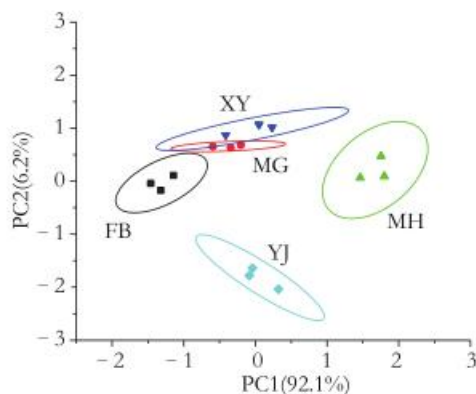
注:同行小写字母不同表示组间存在显著性差异(P<0.05)。

原浆无显著差异；总酚含量显著低于沙棘原浆和沙棘发酵浆，但含量也达到了340.00 mg/L。

3种沙棘原浆与 V_c (10 $\mu\text{g/mL}$)进行5种抗氧化指标的比较，由表7可看出，沙棘发酵饮料羟自由基和DPPH自由基清除能力与 V_c (10 $\mu\text{g/mL}$)相当，而ABTS自由基、超氧阴离子自由基清除能力和总抗氧化能力均显著高于 V_c (10 $\mu\text{g/mL}$)。沙棘发酵饮料的SOD酶活力为935.48 U/mL，显著高于未发酵沙棘原浆。说明该沙棘发酵饮料含有较高的生物活性物质，具有较好的抗氧化能力和SOD酶活。

2.7 沙棘发酵饮料的风味和滋味特征分析

2.7.1 电子鼻气味分析结果



注：沙棘发酵饮料(FB)；沙棘原浆稀释液(YJ)；芒果益生菌果汁饮品(MG)；红西柚乳酸菌果汁饮料(XY)；益生菌猕猴桃果汁饮料(MH)。

图8 样品电子鼻气味 PCA 分析图

沙棘发酵饮料、沙棘原浆4倍稀释液和3种市售发酵果汁饮料的电子鼻PCA分析见图8，PC1和PC2的贡献率分别为92.1%和6.2%，总贡献率为98.3%，样品的特征信息可以充分体现。5种样品位置区域较分散，说明电子鼻的PCA分析结果能很好地区分5种样品的风味。沙棘发酵饮料与其他4种样品均距离较远，说明沙棘发酵饮料与未发酵的沙棘原浆及其他市售发酵饮料风味各不相同，均存在显著性差异。

载荷分析可判别区分出样品中起主要作用的挥发性风味成分，由图9可知，W1W传感器对第一主成分(PC1)贡献率最大，其次是W5S；W2S传感器对第二主成分(PC2)贡献率最大。由此说明，传感器W1W、W5S和W2S在对5种样品主成分中发挥作用较大。参照各传感器的性能特征可知^[20]，第一主成分主要反映的是硫化物、萜烯类

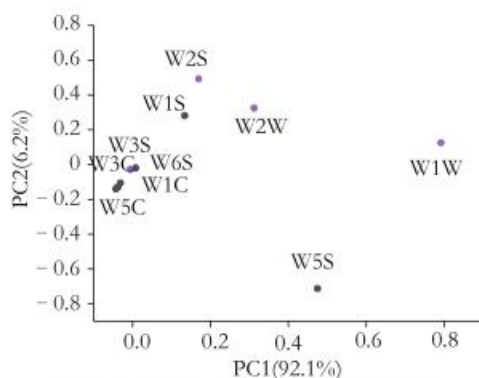


图9 电子鼻传感器响应值的载荷分析

和氮氧化合物；第二主成分主要反映的是醇类和芳香族化合物。

2.7.2 电子舌滋味分析结果

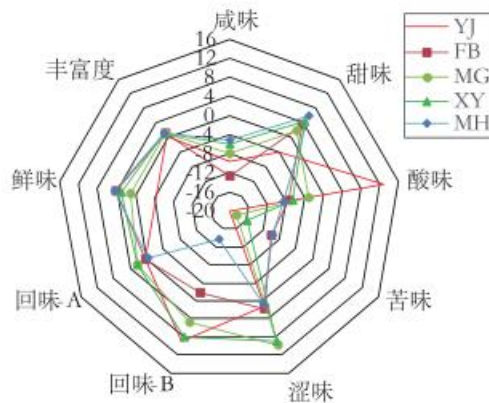


图10 样品滋味品质分析雷达图

5种样品滋味差异的电子舌分析结果见图10，可以看出，各样品之间的滋味有一定的差异，沙棘发酵饮料与未发酵沙棘原浆稀释液相比，酸味显著降低，鲜味显著增加。说明通过发酵有效改善了沙棘的过酸滋味，发酵过程中产生的代谢产物提升了饮料的鲜味。

3 结论

沙棘原浆口感酸涩的主要原因是苹果酸含量过高。本研究利用酒球菌发酵沙棘原浆，通过苹果酸-乳酸发酵进行生物降酸，有效降低了沙棘原浆中苹果酸含量。同时发酵代谢产生了更多的活性成分，进一步提高了产品的生物功效。试验分为发酵工艺优化和产品配方优化两个阶段，最终获得沙棘原浆最佳发酵工艺为：接种量5.0%、发酵温度28 $^{\circ}\text{C}$ 、发酵时间6 d、初始pH3.5。此条件下，苹果酸降解率达到87.41%。沙棘发酵功能饮料的最优配方为：发酵沙棘浆添加量25%、蜂

蜜2%、白砂糖7%，调配所得沙棘发酵饮料色泽橙黄、甜酸适宜，具有沙棘独特口感，感官评分最高为89分。电子鼻和电子舌的风味和滋味分析显示，该饮料风味独特，口感柔和，感官品质较好。同时，该沙棘发酵饮料兼具与 V_C (10 $\mu\text{g/mL}$)相当的抗氧化活性及较高的SOD酶活。研究结果为功能性饮料的开发提供了新思路。

参考文献:

- [1] 师雯,李洲.中国功能饮料市场现状及发展趋势分析[J].食品与发酵科技,2020,56(5):97-100,104.
- [2] 谭敏华,李小妮,于立梅,等.20种药食同源材料的双功能活性及饮料工艺研究[J].食品科技,2021,46(5):93-98.
- [3] 陈树俊,郑婕.复合果蔬发酵汁有机酸动态分析及体外模拟消化抗氧化活性和功能成分分析[J].食品科学,2021,42(7):90-97.
- [4] KALLIO H, YANG B R, PEIPPO P. Effects of different origins and harvesting time on vitamin C, tocopherols, and tocotrienols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002,50(21):6136-6142.
- [5] YANG B, KALLIO H. Effects of harvesting time on triacylglycerols and glycerophospholipids of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins[J]. Journal of Food Composition and Analysis,2002,15(2):143-157.
- [6] 王雨洁.蓝莓沙棘复合果汁饮料工艺优化及研制的探究[J].中国食品,2021,(6):125.
- [7] 陈永浩,李霁昕,冯丽丹,等.沙棘、梨混合果汁配方研发及稳定剂配比优化[J].食品与发酵工业,2020,46(16):141-147.
- [8] 张晟,张雅娜,马丽媛,等.北五味子汁苹果酸-乳酸发酵工艺优化及其抗氧化性研究[J].中国酿造,2021,40(1):93-97.
- [9] 陆敏,张绍岩,张文娜,等.高效液相色谱法测定沙棘汁中7种有机酸[J].食品科学,2012,33(14):235-237.
- [10] 杨宁.乳酸菌发酵樱桃汁工艺优化及樱桃果粉的制备[D].郑州:河南科技大学,2020.
- [11] LEDOUX M, LAMY F. Determination of proteins and sulfobetaine with the folin-phenol reagent[J]. Analytical Biochemistry,1986,157(1):28-31.
- [12] KOVACS Z, BODOR Z, ZAUUU J-L Z, et al. Electronic Nose for Monitoring Odor Changes of *Lactobacillus* Species during Milk Fermentation and Rapid Selection of Probiotic Candidates[J]. Foods,2020,9(11):1539.
- [13] YOSHIKAZU K, MASAAKI H, HIDEKAZU I, et al. Advanced taste sensors based on artificial lipids with global selectivity to basic taste qualities and high correlation to sensory scores[J]. Sensors,2010,10(4):3411-3443.
- [14] 颜飞翔,董佳萍,陈龙,等.北五味子麦芽糖素的制备及其抗氧化活性[J].中国酿造,2019,38(12):116-119.
- [15] 李世燕,朱丹,牛广财,等.不同发酵工艺对毛酸浆酵素抗氧化性的影响[J].中国酿造,2016,35(7):85-88.
- [16] SASIPRIYA G, SIDDHURAJU P. Effect of different processing methods on antioxidant activity of underutilized legumes, *Entada scandens* seed kernel and *Canavalia gladiata* seeds[J]. Food and Chemical Toxicology,2012,50(28):64-72.
- [17] 崔国庭,王敏,刘向丽,等.响应面法优化苹果酵素的发酵工艺及其生物活性初探[J].食品工业,2018,39(6):187-192.
- [18] BENZIE I F F, STRAIN J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay[J]. Analytical Biochemistry,1996,239(1):70-76.
- [19] 郭伟峰,王红梅,邹晓桐,等.桑葚酵素饮料的发酵工艺研究及其质量评价[J].食品研究与开发,2019,40(5):88-93.
- [20] 蓬桂华,李文馨,殷勇,等.电子鼻和电子舌在分析桑果汁风味上的应用[J].食品工业科技,2020,41(12):234-237,244.

欢迎订阅2022年《食品科技》

邮发代号: 2-681 全年订价: 300元