

申光辉,冯 孟,张志清,等. 乳酸菌发酵低糖桑葚复合果酱工艺优化及其风味成分分析[J].江苏农业学报,2018,34(1):158-165.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2018.01.023

乳酸菌发酵低糖桑葚复合果酱工艺优化及其风味成分分析

申光辉, 冯 孟, 张志清, 陈安均, 黎杉珊, 吴贺君
(四川农业大学食品学院,四川 雅安 625014)

摘要: 为优化乳酸菌发酵低糖桑葚复合果酱工艺条件,并分析发酵对其风味物质的影响,在单因素试验基础上,分别采用正交试验法和均匀试验法对乳酸菌发酵和果酱浓缩条件进行优化,采用离子色谱法测定果酱有机酸的组成与含量,顶空固相微萃取-气相色谱-串联质谱法分析果酱风味物质成分。结果表明,果酱最佳发酵条件为:乳酸菌接种量 1×10^5 CFU/ml,蔗糖添加量 8.00%,脱脂乳粉添加量 5.00%,37 ℃ 发酵 20 h。最佳浓缩条件为:初始 pH 值 3.8,蔗糖添加量 28.90%,增稠剂(低甲氧基果胶:黄原胶=1.0:1.0)添加量 0.50%,氯化钙添加量 0.04%。所得果酱呈明亮的紫红色,稳定性和口感良好,有桑葚果香和发酵特有的气味和芳香。与未发酵果酱相比,乳酸菌发酵提高了果酱中乳酸含量、乙酸含量和柠檬酸含量,发酵果酱产生的挥发性物质比未发酵果酱多 8 种,包括 5 种酯类,2 种烯类和 1 种脂肪酸。乳酸菌发酵可显著增加桑葚复合果酱中的有机酸和香气成分,可以用来加工风味独特的新型乳酸菌发酵低糖桑葚复合果酱。

关键词: 乳酸菌;低糖桑葚复合果酱;有机酸;风味成分

中图分类号: TS255.43

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2018)01-0158-08

Optimization of process conditions and volatile flavor components analysis of low-sugar complex mulberry jam fermented by lactic acid bacteria

SHEN Guang-hui, FENG Meng, ZHANG Zhi-qing, CHEN An-jun, LI Shan-shan, WU He-jun
(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: In order to optimize processing conditions of low-sugar complex mulberry jam fermented by lactic acid bacteria and analyze the volatile flavor components in fermentation jam, orthogonal and uniform experiments based on single-factor test were employed to optimize fermentation and jam concentration conditions, respectively. Organic acids in jam were determined by ion chromatography with conducting detection. Volatile flavor components were analyzed by headspace solid-phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry. Results showed that the optimum fermentation condition was: 1×10^5 CFU/ml inoculation of lactic acid bacteria, added with 8.00% sucrose, 5.00% dried skim milk, fermentation time 20 h. The optimum concentration condition was: pulp pH 3.8, added with 28.90% sucrose, 0.50% complex thickeners (low-methoxyl pectin: xanthan gum = 1.0 : 1.0) and 0.04% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. The final product, purple-red in color, had delicate taste, good stability and the flavor both of mulberry fruit and yoghurt. The content of lactic acid, acetic

acid and citric acid were increased after fermentation. The total of eight volatile flavor compounds were newly produced by lactic acid bacteria in fermented jam, including five esters, two kinds of alkene and one linoleic acid. Lactic acid bacteria fermentation can be applied for the production of novel low-sugar complex mulberry jam with unique enjoyable flavor.

收稿日期:2017-06-28

基金项目:公益性行业(农业)科研专项项目(201303073)

作者简介:申光辉(1985-),男,陕西渭南人,博士,讲师,主要从事农产品贮藏与加工研究。(Tel) 0835-2882281; (E-mail) shenghuishen@163.com

通讯作者:张志清, (E-mail) zqzhang721@163.com

Key words: lactic acid bacteria; low-sugar complex mulberry jam; organic acid; volatile flavor components

桑葚又名桑果、桑实、桑枣,富含白藜芦醇、花青素、黄酮等多种生物活性成分^[1-4],具有抗氧化^[5-6]和解酒^[7]等功能。中国桑葚资源丰富,但因其成熟期集中,皮薄,含水量较高,贮藏难度大,资源加工利用率低,导致其深加工产品多元化程度不高。

利用益生乳酸菌发酵果蔬产生的香气物质来改善果蔬产品的风味,并产生新的功能活性成分,提高其营养保健价值^[8-11],已成为国内外果蔬深加工研究的热点之一。如利用乳酸菌发酵制得胡萝卜汁^[12]、番茄汁^[13]、石榴汁^[14]、南瓜汁^[15]和樱桃果泥^[16]等功能性发酵果蔬汁(浆)产品。利用植物乳杆菌 R23 进行发酵,使枇杷果汁增加了以醇类和酸类为主的 6 种挥发性特征风味物质^[17]。利用嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌发酵,分别增加了西瓜汁中酸类挥发性风味物质和酮类挥发性风味物质^[18]。接种保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌发酵龙眼果浆,可增加果浆醇类、醛类、酯类、酮类和酸类等 18 种挥发性风味物质^[19]。

果酱是各种不耐贮藏浆果的主要加工产品^[20]。目前,中国桑葚主要采用传统果酱加工方式,其含糖量高($\geq 60\%$)^[21],产品种类单一,风味寡淡,无法满足市场需求。因此,低糖桑葚果酱加工新工艺研究对其产业的可持续发展具有重要意义。多数研究主要通过添加胡萝卜、番茄^[22]或红枣^[21]等果蔬原料,提高低糖桑葚果酱的口感风味和营养价值。近年来,乳酸菌发酵工艺逐渐被应用于脐橙^[23]、蓝莓果^[24]及桑葚^[25]等果酱的加工中,以改善产品风味。但关于乳酸菌发酵对桑葚果酱风味物质成分影响的报道较少。本研究拟以桑葚为原材料,以富含 V_C 、矿物质等多种营养元素的番茄和胡萝卜为辅料,通过乳酸菌发酵改善低糖桑葚复合果酱的产品风味,采用离子色谱法测定发酵果酱有机酸组成及含量,顶空固相微萃取-气相色谱-串联质谱法(SPME-GC-MS)分析乳酸菌发酵对桑葚果酱挥发性物质的影响,以期对桑葚果酱制备工艺的优化提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 桑葚品种为无核大十果桑,采自四川德昌县,番茄和胡萝卜均购自本地农贸市场,蔗

糖购自本地超市,脱脂乳粉购自伊利乳业有限责任公司,柠檬酸、海藻酸钠、黄原胶、低甲氧基果胶(LMP)和氯化钙(食品级)均购自河南千志商贸有限公司,伊仕特酸奶发酵剂(主要菌种为嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌)购自湖北安琪酵母股份有限公司。

1.1.2 培养基与试剂 MRS 液体培养基:蛋白胨 10.00 g,牛肉膏 10.00 g,酵母膏 5.00 g,磷酸氢二钾 2.00 g,柠檬酸二铵 2.00 g,乙酸钠 5.00 g,葡萄糖 20.00 g,吐温-80 1 ml, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.50 g, $MnSO_4$ 0.25 g,蒸馏水 1 L, pH 6.2~6.4, 121 °C 灭菌 20 min。乳酸、乙酸、甲酸、苹果酸、琥珀酸、酒石酸、草酸、柠檬酸均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

1.1.3 主要仪器设备 采用仪器设备主要有:100 型胶体磨(郑州玉祥公司产品)、WZS-1 型阿贝折光仪(上海光学仪器厂产品)、pHS-320 型酸度计(成都世纪方舟公司产品)、ZWY-2102C 型恒温摇床(上海智城分析仪器公司产品)、TA-Xplus 型质构仪(超技仪器公司产品)、ICS-1100 型离子色谱仪(Thermo 公司产品)、7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪(Agilent 公司产品)、50/30 μm DVB/CAR/PDMS 型顶空固相微萃取头(Supelco 公司产品)。

1.2 方法

1.2.1 果浆制备 挑选无机械损伤、无腐烂、无病虫害的新鲜桑葚、番茄和胡萝卜,用水漂洗干净,分别蒸汽漂烫软化。桑葚漂烫 3 min 后打浆,番茄十字形切 4 块漂烫 4 min 后打浆,胡萝卜切 0.5 cm 厚片漂烫 8 min,按 0.5 ml/g 加水打浆。传统果酱大都以单一原料果肉进行加工,为了使得果酱口感更丰富并提高果酱营养价值,对果酱进行多种原料复配。根据混料试验结果,将各原料果浆按质量比为桑葚:番茄:胡萝卜=7.3:1.0:1.7 混匀,100 °C 沸水浴杀菌 20 min,冷却备用。

1.2.2 发酵种子液制备 菌种活化:将灭菌 MRS 培养液冷却至室温,接种乳酸菌菌剂,37 °C、140 r/min 恒温振荡培养,连续传 3 代,直到活菌数大于等于 1×10^8 CFU/ml。

种子液制备:分别配制复合果浆添加量为 25%、50%、75%、100% 的 MRS 培养基,按复合果浆

添加量由低到高进行传代培养,每代均在 37 ℃、140 r/min 条件下恒温振荡培养 36 h,使发酵菌种逐步适应复合果浆的培养条件,每代测得活菌数均达到 1×10^8 CFU/ml 以上,即得发酵种子液。

1.2.3 乳酸菌发酵条件优化 根据预试验结果,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验,以感官评价为指标,对接种量、发酵时间、蔗糖添加量、脱脂乳粉添加量 4 个主要影响因素进行优化,试验因素及水平见表 1。将制备好的发酵种子液接种于杀菌复合果浆中,37 ℃ 静置发酵。按表 2 的评分标准对发酵果浆进行感官评价。

表 1 复合果浆乳酸菌发酵 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of $L_9(3^4)$ orthogonal experiment of fruit pulp fermented by lactic acid bacteria

水平	接种量 (CFU/ml)	发酵时间 (h)	蔗糖添加量 (%)	脱脂乳粉 添加量(%)
1	1×10^4	12	8	3
2	1×10^5	16	10	5
3	1×10^6	20	12	7

表 2 发酵果浆感官评分标准

Table 2 Sensory evaluation criteria of fermented fruit pulp

评分项目	评分标准	分值
口感(35 分)	口感纯正,桑葚味浓,无异味	26~35
	口感较纯正,桑葚味较淡,少有异味	16~25
	风味不正,无桑葚味,有异味	0~15
气味(40 分)	具有桑葚特有香气和良好醇香味,香气浓郁	31~40
	具有桑葚独特香气和较为良好的醇香味,香气较淡	16~30
	不具有桑葚香气,有异味,较差的醇香味	0~15
色泽(25 分)	色泽呈深紫色或紫色,颜色均匀一致	21~25
	色泽呈淡紫色,颜色基本均匀一致	16~20
	不表现紫色,颜色不均匀	0~15

1.2.4 果酱调配浓缩工艺优化 依据预试验结果,采用 $U_6(6 \times 3^2 \times 2)$ 均匀试验设计,以果酱感官品质、凝胶强度和黏度为指标,对蔗糖添加量、果浆 pH 值、复合增稠剂添加量和 CaCl_2 添加量 4 个主要因素进行优化,试验因素水平见表 3。将发酵复合果浆调整 pH 后倒入不锈钢锅中进行预浓缩,分批添加糖浆,至可溶性固形物含量为 40% 左右时加入复合增稠剂(根据感官评价和质构获得的最佳增稠剂配比为:低甲氧基

果胶:黄原胶=1:1)和凝固剂 CaCl_2 ,搅拌均匀获得发酵低糖桑葚复合果酱。根据果酱感官要求^[26],并结合乳酸菌发酵果酱风味特点制定果酱感官评价标准(表 4)。由 10 名专业人员组成感官评价小组进行感官评价。凝胶强度、黏度采用质构仪测定,选用 A/BE 探头,d40 盘状活塞,下降速度 1 mm/s,测试速度 1 mm/s,上升速度 1 mm/s,触发力 Auto-5 g,测试距离 20 mm,记录速度 200 pps。

表 3 果酱调配浓缩 $U_6(6 \times 3^2 \times 2)$ 均匀试验因素水平表

Table 3 Factors and levels of $U_6(6 \times 3^2 \times 2)$ uniform experiment in the process of jam concentration

水平	蔗糖添加量 (%)	果浆 pH 值	复合增稠剂 添加量(%)	CaCl_2 添加量 (%)
1	5.00	3.20	0.50	0.02
2	10.00	3.70	0.60	0.04
3	15.00	4.20	0.70	
4	20.00			
5	25.00			
6	30.00			

表 4 发酵低糖桑葚复合果酱的感官评定标准

Table 4 Sensory evaluation criteria of fermented low-sugar complex mulberry jam

评分项目	评分标准	分值
气味(15 分)	具有桑葚果香和良好的醇香味,香气浓郁	14~15
	具有桑葚果香和较为良好的醇香味,香气稍淡	11~13
	无桑葚果香,有异味	0~10
色泽(15 分)	色泽自然明亮,光泽度好,呈紫色或紫红色	14~15
	色泽较明亮,光泽度较差,淡紫红色	11~13
	色泽灰暗,光泽度差,非紫红色	0~10
口感(30 分)	酸甜适中,果味浓郁	26~30
	略偏酸或偏甜,果味较淡	16~25
	酸甜比例不协调有异味	0~15
质构(30 分)	凝胶良好,无流散,无分层析水	26~30
	基本形成凝胶,流散轻微,分层析水较少	16~25
	未形成凝胶,流散缓慢,分层析水较多	0~15
涂抹性(10 分)	易涂抹,涂层均匀光滑	9~10
	较易涂抹,涂层均匀但不光滑	6~8
	难涂抹,涂层不均匀,不连贯	0~5

1.2.5 果酱有机酸测定 采用离子色谱仪测定。色谱条件:IonPac AS18 (4 mm×250 mm)阴离子交换分析柱,AG18 保护柱(4 mm×50 mm)。KOH 淋洗液梯度洗脱条件:0~13 min 2 mmol/L,13~30 min 2~45 mmol/L,30~45 min 45 mmol/L,45~50 min 45~2 mmol/L;淋洗液流速 1 ml/min;进样体积 25 μl,色谱池温度 35 ℃,柱温 30 ℃,抑制电流 112.5 mA。样品用纯水稀释 100 倍,过 SPE-RP 柱和 SPE-Ag 柱,去掉 3 ml 初滤液后经 0.22 μm 滤膜过滤,进样分析,峰面积按外标法进行定量。

1.2.6 果酱挥发性风味物质分析 为考察乳酸菌发酵对桑葚复合果酱挥发性成分的影响,采用顶空固相微萃取-气相色谱-串联质谱法测定发酵低糖复合果酱的挥发性物质^[27],以未发酵低糖桑葚果酱为对照进行分析。顶空固相微萃取:取 5 g 果酱于 15 ml 采样瓶中,加入 NaCl 调整其质量浓度为 0.1 g/ml,超声 10 min,插入装有萃取纤维头的手动进样器,60 ℃萃取 30 min,快速移出萃取头并插入气相色谱进样口,250 ℃热解析 3 min 进样。色谱条件:HP-5MS (30.00 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱,进样口温度 250 ℃,He 载气流量 1 ml/min,不分流。程序升温:起始温度 40 ℃,保持 5 min,然后以 5 ℃/min 升温至 190 ℃,保持 2 min,再以 10 ℃/min 升温至 250 ℃,保持 5 min。质谱条件:电子轰击电离(EI)源,电子能量为 70 eV,离子源温度为 230 ℃,质量扫描的质荷比范围为 33~550,接口温度为 250 ℃。利用 GC-MS 工作站的 NIST 11.L 标准图库对采集到的质谱图进行检索,根据匹配度来确定未知化合物,当相似度(SI)>80%时定性为对应化合物,采用峰面积归一化法计算各成分相对百分含量。

表 6 乳酸菌发酵果浆正交试验方差分析结果

Table 6 Analysis of variance of orthogonal experiment of fruit pulp fermented by lactic acid bacteria

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
接种量	111.823 3	2	55.911 7	7.580 7	0.011 8
发酵时间	33.070 0	2	16.535 0	2.241 9	0.162 2
蔗糖添加量	21.003 3	2	10.501 7	1.423 8	0.290 2
脱脂乳粉添加量	40.723 3	2	20.361 7	2.760 7	0.116 2
误差	66.380 0	9	7.375 6		

2 结果与分析

2.1 乳酸菌发酵工艺条件优化

单因素试验结果表明,乳酸菌接种量、发酵时间、蔗糖添加量和脱脂乳粉添加量 4 个发酵参数对乳酸菌发酵桑葚复合果浆的感官品质影响较大。表 5 和表 6 显示,各影响因素的主次顺序为:接种量>脱脂乳粉添加量>发酵时间>蔗糖添加量。接种量对发酵果浆感官分值具有显著影响,而发酵时间、蔗糖添加量和脱脂乳粉添加量对发酵果浆感官分值的影响不显著(表 6)。采用 L₉(3⁴)正交试验确定最佳发酵条件,接种量 1×10⁵ CFU/ml、发酵时间 20 h、蔗糖添加量 8%、脱脂乳粉添加量 5%,在此条件下进行验证发酵试验,所得发酵果浆感官评分为 83.6,与试验组评分差异不大。

表 5 乳酸菌发酵果浆 L₉(3⁴) 正交试验设计及结果

Table 5 Orthogonal experiment design and results of fruit pulp fermented by lactic acid bacteria

试验号	接种量	发酵时间	蔗糖添加量	脱脂乳粉添加量	感官分值
I	1	1	1	1	74.6±1.0
II	1	2	2	2	77.5±0.6
III	1	3	3	3	78.9±1.4
IV	2	1	2	3	79.0±3.1
V	2	2	3	1	82.1±0.7
VI	2	3	1	2	85.1±0.1
VII	3	1	3	3	79.2±1.4
VIII	3	2	1	2	73.2±0.8
IX	3	3	2	1	77.4±2.5
k ₁	77.0	77.6	77.6	78.0	
k ₂	82.1	77.6	77.9	80.6	
k ₃	76.6	80.5	80.1	77.0	
R _j	5.5	2.9	2.5	3.6	

k₁、k₂、k₃分别为各因素 1 水平、2 水平、3 水平的感官分值的平均值。R_j为极差。1、2、3 见表 1。

2.2 果酱调配浓缩工艺优化

发酵低糖桑葚复合果酱制作的关键工艺在于蔗糖用量、初始 pH、复合增稠剂添加量和 CaCl_2 添加量。蔗糖的加入会在浓缩过程中加速果酱凝结,同时增加渗透压,可起到一定的防腐作用,但蔗糖添加过多则会掩盖原料果汁风味,导致果酱酸甜比例不适,风味

较淡,蔗糖添加过少,则果酱凝结缓慢,达不到果酱在甜度上的需求。低糖果酱中蔗糖的添加量低(质量分数<50%),影响果酱的凝胶效果,通过添加适量的增稠剂和凝固剂,在一定 pH 条件下才可以形成凝胶状态良好、口感细腻的果酱。因此,采用 $U_6(6 \times 3^2 \times 2)$ 均匀设计确定最佳调配浓缩条件(表 7)。

表 7 $U_6(6 \times 3^2 \times 2)$ 均匀试验设计及结果

Table 7 Experimental design and results of the uniform experiment

试验号	X_1	X_2	X_3	X_4	Y_1	$Y_2(\text{g})$	$Y_3(\text{g} \cdot \text{s})$
I	1	1	2	2	77.5	212.5	-196.5
II	2	2	3	2	81.6	225.8	-216.5
III	3	3	1	2	77.8	240.3	-195.2
IV	4	1	3	1	81.3	283.2	-210.3
V	5	2	1	1	83.8	293.8	-218.3
VI	6	3	2	1	76.3	276.3	-204.6

X_1 : 蔗糖添加量; X_2 : 果浆初始 pH 值; X_3 : 复合增稠剂添加量; X_4 : CaCl_2 添加量; Y_1 : 感官评分; Y_2 : 凝胶强度; Y_3 : 黏聚性。1、2、3 见表 3。

分别以感官评分(Y_1)、凝胶强度(Y_2)及黏聚性(Y_3)为优化指标,采用 DPS 7.05 软件进行二次多项式逐步回归分析,建立的回归方程及检验结果分别为:

$$Y_1 = -129.5429 + 118.7800X_2 - 17.4000X_2^2 - 0.1429X_1X_3 + 27.4570X_1X_4 \quad (1)$$

X_1 为蔗糖添加量, X_2 为果浆初始 pH 值, X_3 为复合增稠剂添加量, X_4 为 CaCl_2 添加量。方程相关系数 $r = 0.9996$, $F = 298.2800$, 显著水平 $P = 0.0434$, 剩余标准差 $S = 0.1897$, 调整相关系数 $r_a = 0.9979$, Durbin-Watson 统计量 $d = 2.70$ 。

$$Y_2 = 317.9300 - 4.9300X_3 - 5.9700X_3^2 - 31.2300X_4^2 + 17.7300X_2X_4 \quad (2)$$

方程相关系数 $r = 0.9999$, $F = 1533.1000$, 显著水平 $P = 0.0192$, 剩余标准差 $S = 0.9580$, 调整相关系数 $r_a = 0.9996$, Durbin-Watson 统计量 $d = 2.66$ 。

$$Y_3 = -263.3600 + 56.7500X_3 - 9.5300X_3^2 + 12.5400X_4^2 - 14.6500X_3X_4 \quad (3)$$

方程相关系数 $r = 0.9999$, $F = 2963.1400$, 显著水平 $P = 0.0138$, 剩余标准差 $S = 0.2021$, 调整相关系数 $r_a = 0.9998$, Durbin-Watson 统计量 $d = 1.83$ 。

上述结果表明,所得 3 个回归方程的 P 值均小于 0.05, Durbin-Watson 统计量 d 均为 2.00 左右,拟合结果较好。由各变量显著性检验 P 值大小(表 8)可知,各因素对样品感官评分、凝胶强度及黏聚性的

影响均存在交互作用($P < 0.05$)。

表 8 二次多项式逐步回归结果

Table 8 The results of quadratic polynomial stepwise regression

因变量	影响因子	偏相关系数	t 值	P 值
感官评分	X_2	0.9991	23.8640	0.0018
	X_2X_2	-0.9993	26.2315	0.0015
	X_1X_3	-0.9844	5.5902	0.0305
	X_1X_4	0.9977	14.8569	0.0045
凝胶强度	X_3	-0.9938	8.9304	0.0123
	X_2X_2	0.9983	17.1042	0.0034
	X_4X_4	-0.9998	48.5979	0.0004
	X_2X_4	0.9988	20.1211	0.0025
黏聚性	X_3	0.9999	73.7521	0.0002
	X_3X_3	-0.9998	54.4286	0.0003
	X_4X_4	0.9999	86.2108	0.0001
	X_3X_4	-0.9999	72.4987	0.0002

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 见表 7 注。

根据回归方程(1)、(2)、(3)进行寻优计算,获得感官评分、凝胶强度和黏聚性的最优参数。表 9 显示,以不同指标所建立的回归方程得到的寻优结果不完全相同,为验证 3 个方程可靠性,分别对 3 组最优参数组合进行验证试验(表 10)。3 个不同回归方程所得最优参数条件下制备的样品感官评分、凝胶强度、黏聚性指标实测值与方程预测值相对误

差较小,表明 3 个方程的预测能力较好。同时,以感官评分优化获得的最佳参数所制备的样品,其凝胶强度和黏聚性均接近于其他 2 组优化条件下制备的产品,表明采用感官评价凝胶强度和黏聚性与质构仪器测定结果差异不大。但以凝胶强度、黏聚性为优化指标所得最优条件制备的果酱的感官评分略低,这可能是因为酸甜度对果酱口感的影响较大,而质构仪无法评价样品的酸甜度。因此,综合感官评价、凝胶强度和黏聚性所得的优化条件,最终确定调配浓缩的最优组合为:蔗糖添加量 28.90%,初始 pH 值 3.8,增稠剂添加量 0.50%,氯化钙添加量 0.04%。该条件下制备的发酵低糖桑葚复合果酱呈明亮的紫红色,具有桑葚清爽的果香,香气协调,酸甜适中,酱体均匀细腻,凝胶良好,易涂抹,涂层均匀光滑,流散适宜,无分层析水现象,口感风味俱佳。

表 9 二次多项式逐步回归浓缩条件寻优结果

Table 9 The concentration conditions obtained by quadratic polynomial stepwise regression model

拟合变量指标	最优参数组合				指标预测最优值
	X_1	X_2	X_3	X_4	
Y_1	28.90	3.80	0.51	0.04	99.80
Y_2	27.70	3.50	0.50	0.02	294.90
Y_3	29.20	4.20	0.53	0.04	-193.60

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 见表 7 注。

表 10 3 组最优参数组合验证试验结果

Table 10 The actual values of jam prepared with three different concentration conditions

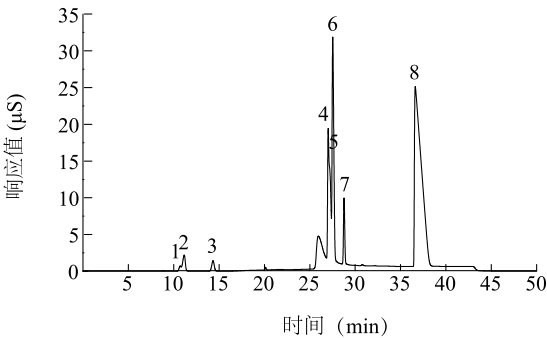
最优参数组合				实测值		
X_1	X_2	X_3	X_4	Y_1	Y_2	Y_3
28.90	3.80	0.51	0.04	94.70	284.00	-197.60
27.70	3.50	0.50	0.02	85.60	289.00	-203.50
29.20	4.20	0.53	0.04	83.20	279.00	-190.00

X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 见表 7 注。

2.3 有机酸分析

8 种有机酸混标色谱图如图 1 显示,有机酸是果酱重要风味和特征成分。表 11 显示,从果酱样品中共检出 7 种主要有机酸,与未发酵果酱相比,乳酸菌发酵果酱中乳酸含量、乙酸含量和柠檬酸含量增加,琥珀酸含量、草酸含量和苹果酸含量降低。因此,通过乳酸菌发酵增加了果酱中乳酸、乙酸及柠檬酸含量,特别是乳酸和柠檬酸含量的增加,改善了果

酱感官品质,赋予发酵果酱厚重的口感。



1:乳酸;2:乙酸;3:甲酸;4:琥珀酸;5:苹果酸;6:酒石酸;7:草酸;8:柠檬酸。

图 1 8 种有机酸标样离子色谱图

Fig.1 Ion chromatogram of eight organic acids

2.4 挥发性风味物质分析

表 12 显示,2 种桑葚果酱样品中总共鉴定出 13 种挥发性成分,其中酯类 8 种,烯类 4 种,脂肪酸 1 种。其中乳酸菌发酵果酱中检出 11 种挥发性成分,占总峰面积的 40.61%,酯类 7 种,占 36.42%,烯类 3 种,占 1.98%,脂肪酸类 1 种,占 2.21%。未发酵果酱中检出 5 种挥发性成分,占总峰面积的 30.41%,酯类 3 种,占 27.65%,烯类 2 种,占 2.76%。

发酵低糖桑葚复合果酱风味物质主要来源于原料和乳酸菌发酵代谢产物,即浓缩过程中新产生的物质。通过对发酵果酱和未发酵果酱的挥发性物质进行分析对比,发现两者有 3 种共有的挥发性物质,其中发酵果酱右旋萆二烯和反-9-十八烯酸甲酯的相对含量均低于未发酵果酱,可能是因为在发酵过程中的相关发酵底物被乳酸菌代谢利用。发酵果酱与未发酵果酱相比,增加了 8 种挥发性物质,包括 5 种酯类,2 种烯类和 1 种脂肪酸,这些化合物赋予了桑葚发酵果酱独特的风味和香气。酯类化合物是发酵果蔬中一种很重要的挥发性风味物质,具有特殊的香味,同时酯类物质的阈值一般较低,对整个体系风味的贡献很大^[19]。因此,酯类物质是乳酸菌发酵低糖桑葚复合果酱风味的重要成分。

3 结论

本研究获得了乳酸菌发酵低糖桑葚复合果酱的最佳工艺:乳酸菌接种量 1×10^5 CFU/ml,蔗糖添加量 8.00%,脱脂乳粉添加量 5.00%,发酵 20 h,调整

pH 为 3.8,蔗糖添加量 28.90%,增稠剂(低甲氧基果胶:黄原胶=1:1)添加量 0.50%,CaCl₂添加量 0.04%,进行浓缩,获得的发酵低糖桑葚复合果酱产品呈明亮的紫红色,具有桑葚果香和乳酸发酵芳香气味,组织细腻,酸甜适中,稳定性好,其总糖含量(<42.00%)远低于传统果酱(含糖量≥

65.00%),符合当前消费者对食品三低(低糖、低盐、低脂肪)的要求。利用乳酸菌对复合果浆进行发酵,增加了低糖桑葚复合果酱中乳酸含量、乙酸含量、柠檬酸含量以及挥发性物质种类和含量,尤其是酯类香气成分,改善了产品的风味。

表 11 发酵低糖桑葚复合果酱与未发酵果酱有机酸含量的比较

Table 11 Comparison of organic acids content in fermented low-sugar complex mulberry jam and unfermented jam

样品	有机酸含量(mg/g)							
	乳酸	乙酸	甲酸	琥珀酸	苹果酸	酒石酸	草酸	柠檬酸
发酵果酱	1.937±0.005	0.162±0.011	0.023±0.003	0.984±0.011	0.282±0.005	—	0.065±0.006	16.400±0.256
未发酵果酱	0.083±0.002	0.014±0.001	0.029±0.002	3.165±0.018	0.704±0.008	—	0.088±0.003	14.709±0.312

—:未检测出化合物。

表 12 乳酸菌发酵对桑葚果酱挥发性成分的影响

Table 12 Effect of lactic acid bacteria fermentation on volatile components of mulberry jam

编号	保留时间 (min)	CAS 号	化合物名称	相对含量(%)	
				发酵果酱	未发酵果酱
1	12.51	3387-41-5	桉烯	0.27	—
2	12.52	28634-89-1	β-侧柏烯	—	0.43
3	14.44	5989-27-5	右旋萜二烯	1.58	2.33
4	15.47	99-85-4	萜品烯	0.13	—
5	37.55	5129-60-2	14-甲基十五酸甲酯	6.13	—
6	37.56	112-39-0	棕榈酸甲酯	—	5.62
7	39.52	1731-92-6	十七酸甲酯	0.20	—
8	40.60	112-63-0	亚油酸甲酯	8.66	—
9	40.69	1937-62-8	反-9-十八烯酸甲酯	13.94	19.29
10	41.05	112-61-8	硬脂酸甲酯	2.89	2.74
11	41.42	60-33-3	亚油酸	2.21	—
12	41.87	1000336-44-0	9,11-十八碳二烯酸甲酯	1.19	—
13	43.43	1120-28-1	花生酸甲酯	3.41	—

—:未检测出化合物。

在果蔬汁发酵中,不同的乳酸菌菌种对果蔬汁的适应性及其对原料功能性成分的影响不同^[15,18,28]。本研究仅采用市售乳酸菌发酵菌剂进行试验,证实了乳酸菌发酵可通过产生乳酸等有机酸以及酯类等香气成分改善桑葚低糖果酱的风味,但仍需进一步筛选适应性更强的发酵菌株,并分析发酵对桑葚功能性活性成分及其有效性的影响。

参考文献:

[1] SÁNCHEZ-SALCEDO E M, MENA P, GARCÍA-VIGUERA C, et

al. Phytochemical evaluation of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry fruits, a starting point for the assessment of their beneficial properties [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 12: 399-408.

[2] SÁNCHEZ-SALCEDO E M, SENDRA E, CARBONELL-BAR-RACHINA ÁA, et al. Fatty acids composition of Spanish black (*Morus nigra* L.) and white (*Morus alba* L.) mulberries [J]. Food Chemistry, 2016, 190: 566-571.

[3] KOCA I, USTUN N S, KOCA A F, et al. Chemical composition, antioxidant activity and anthocyanin profiles of purple mulberry (*Morus rubra*) fruits [J]. Journal of Food Agriculture and Environ-

- ment, 2008, 6(2): 39-42.
- [4] 张秀梅,刘玉革,朱祝英,等. 不同成熟度桑葚果实和叶片的多酚、黄酮和抗氧化性研究[J]. 果树学报, 2014, 321(4): 660-666.
- [5] WU X Y, LIANG L H, ZOU Y, et al. Aqueous two-phase extraction, identification and antioxidant activity of anthocyanins from mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) [J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 443-453.
- [6] 张培丽,张 帅,陈雪香,等. 桑葚多糖对 H₂O₂ 诱导 PC-12 细胞氧化损伤的保护作用[J]. 现代食品科技, 2015, 31(11): 20-24.
- [7] 刘 玮,陈 亮,吴志明,等. 3 种不同产地桑葚抗氧化成分含量及能力测定[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(6): 22-26.
- [8] LEE A C, HONG Y H. Development of functional yogurts prepared with mulberries and mulberry tree leaves[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2010, 30(4): 649-654.
- [9] 谢明勇,熊 涛,关倩倩. 益生菌发酵果蔬关键技术研究进展[J]. 中国食品学报, 2014, 14(10): 1-9.
- [10] 李建军,周剑忠,董 月,等. 乳酸菌胞外多糖对黑莓果酒品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(6): 178-181.
- [11] 陈智慧,邹宇晓,刘 凡,等. 基于微生物转化技术的桑椹食品加工研究进展[J]. 蚕业科学, 2016, 42(2): 336-340.
- [12] 李雅乾,田洪涛,苏旭东,等. 双歧杆菌发酵胡萝卜汁酸乳贮藏稳定性研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(4): 94-96.
- [13] YOON K Y, WOODAMS E E, HANG Y D. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria[J]. Microbiology, 2004, 42: 315-318.
- [14] MOUSAVI Z E, MOUSAVI S M, RAZAVI S H, et al. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria [J]. World Journal of Microbiol Biotechnology, 2011, 27(1): 123-128.
- [15] 彭兴兴,林伟锋,陈 中,等. 两株乳杆菌发酵南瓜汁过程中挥发性物质的研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(4): 92-97.
- [16] RAFFAELLA D C, ROSALINDA F S, GIOVANNA M, et al. Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria[J]. Food Microbiology, 2011, 28(5): 900-909.
- [17] 林晓姿,魏 巍,何志刚,等. 植物乳杆菌 R23 发酵枇杷果汁的挥发性风味物质解析[J]. 核农学报, 2015, 29(7): 1329-1336.
- [18] 陈 中,徐柳柳,林伟锋. 两种乳杆菌发酵西瓜汁挥发性风味物质的研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(3): 291-299.
- [19] 刘 磊,汪 浩,张名位,等. 龙眼乳酸菌发酵工艺条件优化及其挥发性风味物质变化[J]. 中国农业科学, 2015, 48(20): 4147-4158.
- [20] 王中凤,韦 田,刘 燕,等. 基于渗透脱水的草莓魔芋酱加工工艺优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(4): 215-218.
- [21] 邹宇晓,吴娉明,施 英,等. 低糖桑椹红枣营养果酱的研制[J]. 现代食品科技, 2008, 24(11): 1130-1132.
- [22] 汪 燕,方建平. 多维低糖桑椹果酱的研制[J]. 食品工业科技, 2006, 27(1): 135-136.
- [23] 卫 娜,徐 曼. 利用乳酸菌发酵生产脐橙果酱的工艺研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(6): 667-669.
- [24] 陈丽杰,孙广仁,孙 杨,等. 发酵型蓝靛果复合果酱的研究[J]. 中国酿造, 2012, 31(6): 185-188.
- [25] 高 媛,李春艳,董 艳,等. 植物乳杆菌发酵桑椹枸杞果酱的工艺优化[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(5): 266-267, 341.
- [26] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 果酱: GB/T 22474-2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [27] BUTKHUP L, JEENPHAKDEE M, JORJONG S, et al. HS-SPME-GCMS analysis of volatile aromatic compounds in alcohol related beverages made with mulberry fruits[J]. Food Science and Biotechnology, 2011, 20(4): 1021-1032.
- [28] 张丽华,刘梦培,邓莹楠,等. 不同乳酸菌发酵对红枣汁贮藏品质的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(4): 332-336, 347.

(责任编辑:王 妮)