



超声波诱导植物乳杆菌对发酵红枣汁品质的影响

张丽华^{1,2}, 刘世豪¹, 石勇³, 李顺峰⁴, 方莹钰¹, 陈云莉¹, 纵伟^{1,2}

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001;
2. 冷链食品加工与安全控制教育部重点实验室 郑州轻工业大学, 河南 郑州 450001;
3. 好想你健康食品股份有限公司, 河南 郑州 451150;
4. 河南省农业科学院 农产品加工研究中心, 河南 郑州 450002

摘要: 为有效提高发酵红枣汁的品质, 对不同生长阶段的植物乳杆菌 CICC 20022 进行超声波诱导处理后, 接种于红枣汁中进行发酵, 通过测定活菌数、总糖含量、可滴定酸含量、抗坏血酸含量、总黄酮含量等指标, 研究超声波诱导处理对发酵红枣汁品质的影响。结果表明: 相较于对照组, 对数期超声组的活菌数显著提高了 1.15 lg CFU/mL; 可滴定酸、总黄酮和总酚含量分别提高了 31.25%、54.17% 和 19.05%, DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除率分别提高了 28.26% 和 19.04% ($P < 0.05$)。然而, 总糖和抗坏血酸含量在不同处理阶段均呈下降趋势。此外, 对数期超声组的胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶活性均达最高值, 为 0.07 U/mL, 且感官品质与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$)。因此, 超声波诱导处理通过定向调控植物乳杆菌 CICC 20022 生长代谢活性, 能促进菌株代谢产物的生成, 显著提高发酵红枣汁的生物活性物质含量, 进而提升其风味品质。

关键词: 发酵红枣汁; 植物乳杆菌; 超声波诱导; β -葡萄糖苷酶; 品质

中图分类号: TS255.44 文献标识码: A

0 引言

红枣是一种药食同源的健康食品, 现代研究^[1-2]表明, 红枣富含的酚类和黄酮类化合物具有显著的抑菌、抗氧化、调节免疫、保护胃肠黏膜、抑制肿瘤细胞增殖等生理功效。然而, 当前红枣加工产业面临产品形态单一化的发展瓶颈, 仍以干枣、蜜枣等

传统制品为主^[3], 难以满足消费市场对营养强化型、功能特色化产品的多元化需求。因此, 乳酸菌发酵技术作为新型生物加工手段, 为红枣深加工提供了创新方向。该技术通过微生物代谢可有效提升红枣汁的营养价值和功能特性^[4-5]。但现有发酵工艺仍存在菌种适配性不足、代谢调控机制不明确等技术难点, 导致产品存在品质稳定性较差、功能

收稿日期: 2024-07-01; 修回日期: 2025-03-13

基金项目: 河南省重点研发与推广专项项目 (242102110100); 郑州轻工业大学基础研究基金资助项目 (23XJCYJ018)

作者简介: 张丽华 (1982—), 女, 河南省博爱县人, 郑州轻工业大学教授, 博士, 主要研究方向为果蔬加工与安全控制技术。

E-mail: zhanglihua82828@163.com

通信作者: 李顺峰 (1982—), 男, 河南省中牟县人, 河南省农业科学院副研究员, 博士, 主要研究方向为农产品保鲜与加工。

E-mail: lishunfeng2000@163.com



特性不突出、品类单一等问题^[6],这严重制约了该技术的产业化应用进程。

低频率超声波处理是改善食品发酵过程中微生物性能的新兴技术。研究^[7]表明,超声波在改善传质、修复细胞结构等方面起着关键作用。适度的超声波空化效应能够通过改善传质效率、修复受损细胞结构、调控细胞膜通透性等途径,有效提升微生物代谢活性;此外,其对微生物造成的细胞分散、细胞膜渗透性增加、细胞成分和遗传物质改变等损害也是可修复的。因此,可利用低频率超声波处理改善发酵剂菌株性能,或在不同阶段干预菌株的生长和增殖,进而有效调节发酵过程^[8]。T. S. Manyatsi 等^[9]研究发现,25%的超声波振幅可通过诱导微生物细胞膜通透性改变及增强微生物代谢活性,显著提升红枣浆液中嗜酸乳杆菌 PTCC 1637 和鼠李糖乳杆菌 PTCC 16403 的增殖效率,其中空化效应引发的微流剪切力可加速细胞内外物质交换,进而优化菌体生长动力学特性。汪雨晨等^[10]研究也证实,超声波处理可提升植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) 对糖类物质的代谢效率,促进乳酸合成,同时加快该菌株对其他营养物质的代谢速率。

尽管现有研究^[11]已初步揭示了超声波对发酵菌株的促进作用,但在发酵红枣汁体系中的应用还鲜见报道。基于此,本研究拟采用探头式超声波诱导处于不同生长阶段的植物乳杆菌 CICC 20022 (*L. plantarum* CICC 20022),研究其对发酵红枣汁主要品质指标的影响,以期为促进超声波技术在发酵红枣汁中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

灰枣,采自新疆维吾尔自治区尉犁县;植物乳杆菌 CICC 20022(下文均简称植物乳杆菌),中国工业微生物菌种保藏管理中心;果胶酶(100 000 U/g)、纤维素酶(5000 U/g),江苏锐阳生物科技有限公司;Na₂CO₃(食品级),Al(NO₃)₃·CH₃OH、NaCl、HCl、NaOH、NaNO₃、H₂SO₄和苯酚,均为分析纯,天津大茂化学试剂厂;MRS 肉汤培养基,北京奥博星生物技术有限责任公司;没食子酸(分析纯),上海

晶纯生化科技股份有限公司;福林-酚试剂、酚酞指示剂,均为分析纯,北京索莱宝科技有限公司;芦丁(纯度>98%),上海生物技术有限公司;2,6-二氯苯酚吡啶酚(DCPIP,分析纯),飞净生物科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

HX-1800E 型细胞破碎超声仪,上海丙林电子科技有限公司;HC-3618R 型高速冷冻离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;HH-S₄ 型数显恒温水浴锅,江苏省金坛市医疗仪器厂;LDZX-50KBS 型立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;78-2 型双向磁力加热搅拌器,常州国华电器有限公司;KQ-700DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;TU-1810 型紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;PHS-3C 型 pH 计,中国上海一电科学仪器有限公司;SC-80C 型全自动色差计,北京康光光学仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 菌株活化及生长曲线测定 取 1 mL 保存在甘油中的植物乳杆菌菌液,加入 100 mL MRS 肉汤培养基中,于 37 °C 条件下孵育 48 h;取 1 mL 培养物添加到新的 100 mL MRS 肉汤培养基中,于同样孵育条件下重复活化 2 次;将复壮、活化后的菌株培养物于 4 °C、6000 r/min 条件下离心 10 min,用无菌水洗涤沉淀 2 次,制备 7.16 lg CFU/mL 的菌悬液,备用^[12-13]。

将菌悬液置于 37 °C 恒温培养箱中,分别在培养 0 h、4 h、8 h、12 h、16 h、20 h、24 h、32 h、40 h、48 h、56 h、64 h、72 h 和 80 h 时采样,参照《食品安全标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》(GB 4789.2—2022)^[12]测定活菌数,并绘制生长曲线,以确定植物乳杆菌的滞后期、对数期、稳定期和衰退期。

1.3.2 红枣汁制备 挑选品质良好的灰枣,清洗去核后,于 50 °C 条件下烘干并磨成粉,按照料液比 1 : 5(g : mL)加入 2.4 g/L 酶制剂(*m*(果胶酶) : *m*(纤维素酶) = 1 : 2),于 40 °C 恒温水浴中反应 4 h,再经 85 °C 灭酶 15 min 后,于 4 °C、3000 r/min 条件下离心 10 min,弃去沉淀,用 Na₂CO₃ 和饮用水将上



清液的 pH 值和白利糖度分别调整到 5.0 和 10 °Brix,并于 121 °C 条件下高压灭菌 20 min,冷却,即得红枣汁^[13-14]。

1.3.3 超声波诱导处理 参照王红梅等^[15]的方法,并稍作修改。将尖端直径为 10 mm 的超声波探头伸入植物乳杆菌不同生长阶段(滞后期 0 h、对数期 8 h、稳定期 24 h 和衰退期 64 h)的菌悬液中,深度均为 1 cm,分别以开 1 s、关 4 s 的脉冲模式进行 324 W 超声波诱导处理 20 min 后,按 3% 的接种量接入红枣汁中,于 37 °C 恒温培养箱中发酵培养 48 h,即得发酵红枣汁样品^[15],分别命名为滞后期超声组、对数期超声组、稳定期超声组和衰退期超声组。以未经超声波诱导处理的菌株按上述条件发酵红枣汁,作为对照组。

1.3.4 活菌数测定 采用标准十进制稀释技术进行活菌计数^[12]。

1.3.5 总糖和可滴定酸含量测定 1) 总糖含量测定:取 10 mL 发酵红枣汁样品于 25 mL 具塞试管内,加入 10 mL 乙腈-水溶液($V(\text{乙腈}) : V(\text{水}) = 1 : 9$),涡旋 10 s,超声处理 30 min,取上清液,采用苯酚-硫酸法测定总糖含量^[16]。

2) 可滴定酸含量测定:在发酵红枣汁样品中加入酚酞指示剂,用 NaOH 溶液中和至样品中出现微红色,按照下式计算可滴定酸含量^[16]。

$$X = \frac{c \times V_1}{V_2 \times \frac{10}{250}}$$

式中, X 为发酵红枣汁样品的可滴定酸含量/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), c 为 NaOH 溶液的浓度/(0.1 mol/L), V_1 为发酵红枣汁样品所消耗 NaOH 溶液的体积/mL, V_2 为发酵红枣汁样品的体积/mL。

1.3.6 pH 值和抗坏血酸含量测定 1) pH 值测定:使用 pH 计测定发酵枣汁样品的 pH 值。

2) 抗坏血酸含量测定:取 5 mL 发酵红枣汁样品于锥形瓶中,加入 5 mL 偏磷酸-乙酸混合液和 10 mL 去离子水;配制质量浓度为 250 mg/L 的抗坏血酸标准溶液;采用 DCPIP 溶液滴定法测定发酵红枣汁样品的抗坏血酸含量^[17],具体计算公式如下:

$$\text{抗坏血酸含量} = \frac{c' \times V \times M}{V_0}$$

式中, c' 为 DCPIP 溶液浓度($8.61 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$); M 为抗坏血酸的摩尔质量(176 g/mol); V 为 DCPIP 溶液体积/mL; V_0 为样品体积/mL。

1.3.7 总黄酮和总酚含量测定 1) 总黄酮含量测定:参考杨成峻等^[18]的方法,并稍作修改。取 0.10 mL 发酵红枣汁样品,加入 5 mL 体积分数为 80% 的甲醇溶液,于 50 °C 条件下超声处理 40 min,再于 4000 r/min 条件下离心 10 min,上清液即为提取液。吸取 0.5 mL 提取液,依次加入 5 mL 体积分数为 80% 的乙醇溶液、0.3 mL 质量分数为 6% 的 NaNO_3 溶液,静置 6 min;再加入 0.3 mL 质量分数为 10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液,静置 6 min;最后加入 4 mL 质量分数为 4% 的 NaOH 溶液,静置 15 min,在 510 nm 波长处测定吸光度。

2) 总酚含量测定:参考乔锦莉等^[19]的方法,并稍作修改。取 0.10 mL 发酵红枣汁样品,添加 5 mL 体积分数为 80% 的甲醇溶液,超声处理 0.5 h 后,于 4000 r/min 条件下离心 10 min,上清液即为提取液。吸取 0.3 mL 提取液,加入 5 mL 体积分数为 10% 的福林酚试剂,反应 6 min 后,加入 4 mL 质量分数为 10% 的 Na_2CO_3 溶液,用去离子水定容至 10 mL,于 37 °C 条件下避光静置 1 h,在 765 nm 波长处测定吸光度。以没食子酸为标准品,采用外标法进行定量,结果以每克干样品中含多少毫克没食子酸表征总酚含量,单位 mg/g。

1.3.8 抗氧化能力测定 参考李红艳等^[20]的方法,并稍作修改。DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除率的计算公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}\right) \times 100\%$$

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率} = \left(1 - \frac{B_j}{B_0}\right) \times 100\%$$

式中, A_i 为发酵红枣汁样品与 DPPH 溶液反应后的吸光度, A_j 为发酵红枣汁样品与无水甲醇反应后的吸光度, A_c 为无水甲醇与 DPPH 溶液混合后的吸光度; B_0 为去离子水与 ABTS⁺ 工作液混合后的吸光度, B_j 为发酵红枣汁样品与 ABTS⁺ 工作液反应后的吸光度。

1.3.9 色泽测定 采用色差仪测定亮度值(L^*)、红绿值(a^*)、黄蓝值(b^*)和色差值(ΔE),其中,



L^* 越大,说明样品的亮度(光泽度)越大; $a^* > 0$,表示样品偏向红色, $a^* < 0$,表示样品偏向绿色; $b^* > 0$,表示样品偏向黄色, $b^* < 0$,表示样品趋向蓝色; ΔE 越大,表明两种样品之间色泽差异越明显^[21]。 ΔE 的计算公式如下:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

其中, $\Delta L^{*2} = L_{\text{超声}}^* - L_{\text{对照}}^*$, $\Delta a^{*2} = a_{\text{超声}}^* - a_{\text{对照}}^*$, $\Delta b^{*2} = b_{\text{超声}}^* - b_{\text{对照}}^*$ 。

1.3.10 胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶活性测定 参考 X. Fan 等^[22] 的方法。取 20 mL 经超声波诱导处理后的植物乳杆菌菌悬液,加入 10 mL 0.1 mol/L 的柠檬酸钠缓冲液(pH 值为 6.0,下同),于 4 ℃、8000 r/min 条件下离心 10 min,去除菌体后,取上清液,即胞外酶提取液。

取 20 mL 经超声波诱导后的植物乳杆菌菌悬液,加入 10 mL 0.1 mol/L 的柠檬酸钠缓冲液,冰浴后,以开 3 s、关 5 s 的脉冲模式进行 600 W 超声波诱导处理 27 min,以裂解细胞并释放胞内酶,得到胞内酶提取液。

将 0.4 mL 20 mmol/L 对硝基苯酚- β -D-吡喃葡萄糖苷、0.2 mL 酶提取液和 1.2 mL 柠檬酸-磷酸盐缓冲液混合后,加入 4 mL 1 mol/L 的 Na_2CO_3 溶液进行猝灭,在 400 nm 波长处测定光密度。在温度 37 ℃、pH 值为 4.8 的条件下,通过计算对硝基苯酚- β -D-吡喃葡萄糖苷的水解速率来表征酶活性,结果以酶提取液中每分钟形成 1 μmol 对硝基苯酚进行表示,单位 U/mL。

1.3.11 感官评价 参考 K. H. Wang 等^[23] 的方法,邀请 10 名评估人员(5 女 5 男,年龄 19~40 岁)组成感官评定小组。感官测试前,取 50 mL 发酵红枣汁样品于 100 mL 无色透明玻璃烧杯中,采用 5 分制评分法对发酵红枣汁样品的整体接受性、甜度、香气、滋味、酸度和浑浊度进行综合评价。具体感官评价标准见表 1。

1.4 数据处理

分别利用 Office 2019、SPSS 21.0 和 Origin 2021 软件进行数据处理、显著性差异分析和绘图,所有实验均重复 3 次,实验结果以(平均数 \pm 标准差)表示。

表 1 发酵红枣汁的感官评价标准
Table 1 Sensory score standard of fermented jujube juice

指标	评价标准	得分/分
整体接受性	难以接受,有刺鼻气味	0~1
	颜色较淡,枣红色,不透亮	2~3
	颜色呈枣红色,透亮饱满	4~5
甜度	无明显甜味	0~1
	甜度适中	2~3
	口感酸甜,柔滑	4~5
香气	风味较淡,具有不良风味	0~1
	风味较淡,具有轻微枣香	2~3
	风味浓郁,无不良风味	4~5
滋味	口感粗糙	0~1
	口感稍粗糙	2~3
	口感柔滑	4~5
酸度	无明显酸味	0~1
	有少许酸味	2~3
	酸甜适中	4~5
浑浊度	液体浑浊,有少许沉淀	0~1
	液体无明显沉淀	2~3
	液体澄清透明,无分层现象	4~5

2 结果与分析

2.1 植物乳杆菌生长曲线分析

植物乳杆菌的生长曲线如图 1 所示,其中不同小写字母表示组间具有显著性差异($P < 0.05$),下同。由图 1 可知,当培养时间为 0~8 h 时,植物乳杆菌处在生长阶段的滞后期,此时活菌数较少且增长速度缓慢;当培养时间为 8~24 h 时,植物乳杆菌进入生长阶段的对数期,此时活菌数增长速度加快;当培养时间为 24~64 h 时,植物乳杆菌进入生长阶段的稳定期,此时活菌数增长速度平缓;当培养时间为 64~80 h 时,植物乳杆菌进入生长阶段的衰退期,此时大量菌株死亡。为了评价超声波诱导处理对不同生长阶段植物乳杆菌菌体生长的影响,选择各生长阶段的起始时间为超声波诱导处理参照标准,即培养时间 0 h、8 h、24 h 和 64 h。本研究对植物乳杆菌生长阶段的划分及关键时间节点的选择与刘欣宁等^[24] 建立的乳酸菌发酵阶段超声波响应理论模型较一致性,即通过特征时间节点的生理参数动态变化可有效反映菌体不同生长阶段的响应规律。



2.2 发酵红枣汁的活菌数、总糖和可滴定酸含量分析

发酵红枣汁的活菌数、总糖和可滴定酸含量如图2所示。由图2a)可知,相较于对照组,滞后期、对数期、稳定期和衰退期超声组的活菌数分别提高了11.84%、13.76%、11.96%和3.47%,其中对数期超声组的活菌数最高,从8.36 lg CFU/mL(对照组)增加到9.51 lg CFU/mL。这与B. D. Dahroud等^[25]的研究结果较一致,其研究发现,对数期进行超声波诱导处理对菌体细胞生长的促进作用效果最优。

由图2b)可知,相较于对照组,滞后期、对数期、稳定期和衰退期超声组的总糖含量分别降低了15.28%、34.47%、49.44%和60.21%,可滴定酸含

量分别提高了17.19%、31.25%、18.75%和15.63%。这可能是因为在对数期进行超声波诱导处理可提高活菌数,从而增强菌株的产酸能力^[26]。有研究^[26]表明,经超声波诱导处理后,对数期、稳定期和衰退期超声组的总糖含量较滞后期超声组变化不明显,这主要是因为经超声波诱导处理后,植物乳杆菌的滞后期被有效缩短,导致总糖消耗降低。而发酵过程中植物乳杆菌生长的碳源主要为糖类物质,故乳酸菌生物量的大幅增长会导致总糖含量降低^[25,27]。A. Gholamhosseinpour等^[28]的研究也发现,超声波通过影响菌体数量、酸类物质含量,干预植物乳杆菌的糖代谢过程。

2.3 发酵红枣汁的pH值、抗坏血酸含量分析

发酵红枣汁的pH值和抗坏血酸含量如图3所示。由图3可知,相较于对照组,滞后期、对数期、稳定期和衰退期超声组的pH值分别降低了7.14%、9.34%、3.30%和1.65%,抗坏血酸含量分别降低了9.44%、32.51%、33.44%和33.90%,其中衰退期超声组的抗坏血酸含量最低。研究^[28]表明,果汁中的抗坏血酸含量易受pH值等的影响,较低pH值环境不利于抗坏血酸的保留。A. Behzadnia等^[29]的研究也发现,在植物乳杆菌的不同生长阶段,低频率超声波技术有利于诱导该菌株产生生物表面活性剂,从而提高其发酵活力,加快抗坏血酸分解。这表明超声波诱导处理不利于发酵红枣汁中抗坏血酸的

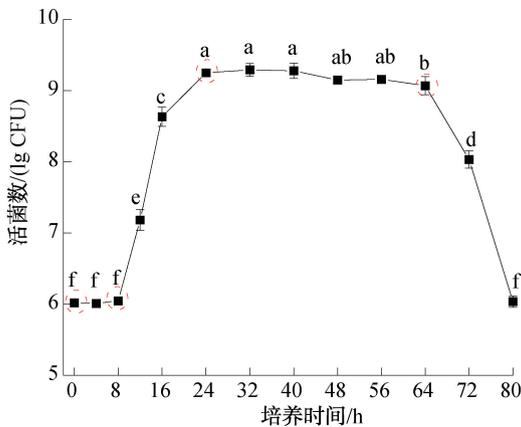
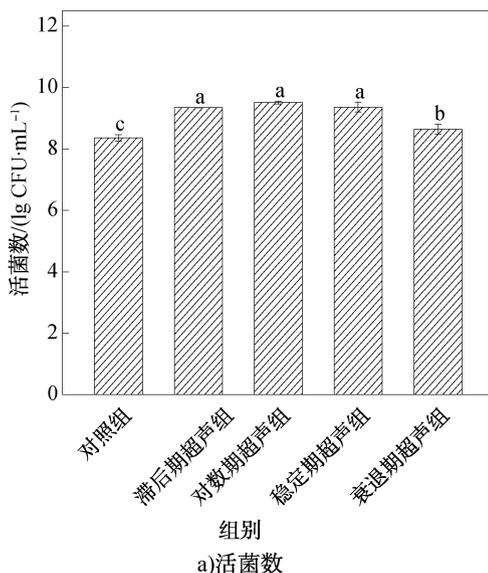
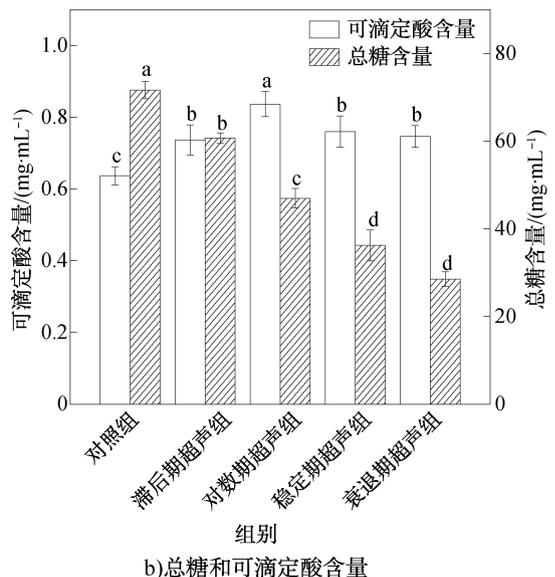


图1 植物乳杆菌的生长曲线

Fig. 1 Growth curve of *L. plantarum*



a)活菌数



b)总糖和可滴定酸含量

图2 发酵红枣汁的活菌数、总糖和可滴定酸含量

Fig. 2 Viable counts, total sugar, and titratable acidity content of fermented jujube juice



保留,其中滞后期的抗坏血酸损失量最少,其余3个时期的抗坏血酸损失明显。因此,可通过改变超声时间、超声功率等来提高抗坏血酸的稳定性^[30]。

2.4 发酵红枣汁的总黄酮、总酚含量及抗氧化能力分析

发酵红枣汁的总黄酮、总酚含量及抗氧化能力如图4所示。由图4a)可知,相较于对照组,滞后期、对数期、稳定期和衰退期超声组的总黄酮含量

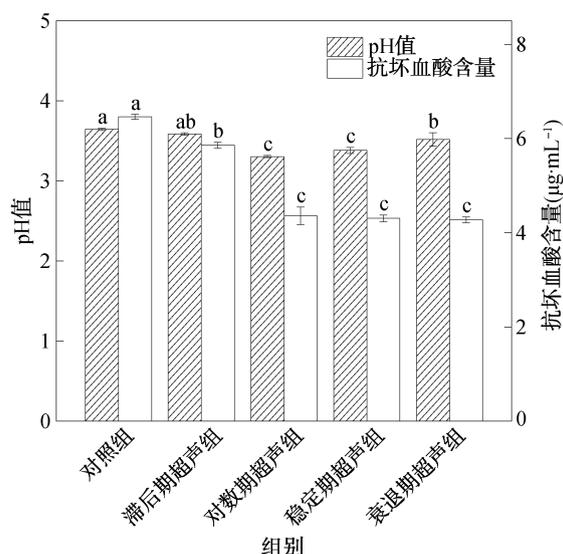
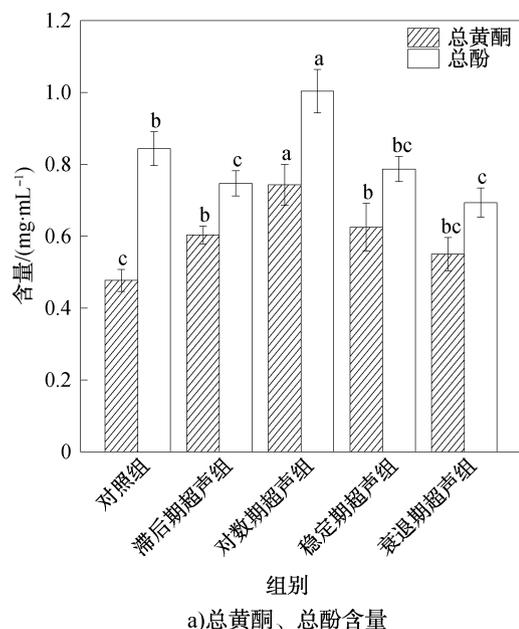


图3 发酵枣汁的pH值和抗坏血酸含量
Fig. 3 pH value and ascorbic acid content of fermented jujube juice



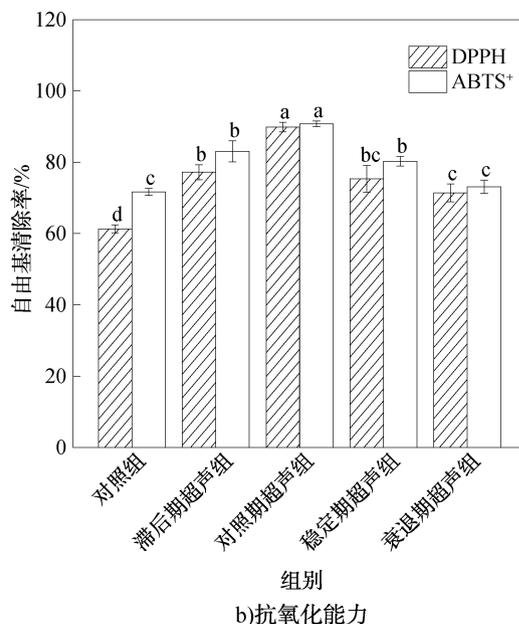
a)总黄酮、总酚含量

分别提高了25.00%、54.17%、31.25%和14.58%。A. K. Athmaselvi等^[30]研究发现,总黄酮含量与抗氧化能力呈显著正相关关系,总黄酮含量越高,抗氧化能力越强。相较于对照组,对数期超声组的总酚含量提高了19.05%,但滞后期、稳定期和衰退期超声组的总酚含量分别下降了11.90%、5.95%和17.86%。H. Rodriguez等^[31]研究发现,酚类化合物的降解可能不会导致其抗氧化能力的降低。植物乳杆菌能够降解某些酚类化合物,从而降低总酚含量,但同时也可能提高抗氧化能力。

由图4b)可知,相较于对照组,滞后期、对数期、稳定期和衰退期超声组的抗氧化能力均有所增强,其中对数期超声组的DPPH和ABTS⁺自由基清除率分别提高了28.56%和19.04%。这可能是因为在对数期进行超声波诱导处理会影响植物乳杆菌发酵过程中酚类物质的生物转化和衍生,从而有利于抗氧化能力的增强^[32-34]。

2.5 发酵红枣汁色泽分析

色泽是果汁感官指标的重要参数之一。发酵红枣汁的色泽见表2。由表2可知,相较于对照组,各超声组的 L^* 、 a^* 、 b^* 和 ΔE 均显著提高($P < 0.05$),特别是对数期超声处理组,分别提升了23.12%、38.66%、21.81%和37.15%。红枣汁的色



b)抗氧化能力

图4 发酵红枣汁的总黄酮、总酚含量及抗氧化能力

Fig. 4 Total flavonoid, total phenolic content, and antioxidant capacity of fermented jujube juice



表2 发酵红枣汁的色泽
Table 2 Color characteristics of fermented jujube juice

色泽指标	对照组	滞后期超声组	对数期超声组	稳定期超声组	衰退期超声组
L^*	51.12±1.52 ^c	55.57±2.71 ^{bc}	62.94±2.50 ^a	60.56±1.89 ^{ab}	57.97±6.41 ^{ab}
a^*	4.63±0.28 ^b	5.84±0.19 ^a	6.42±0.22 ^a	6.36±0.04 ^a	6.35±0.06 ^a
b^*	21.32±1.25 ^b	25.44±0.86 ^a	25.97±1.28 ^a	23.04±1.45 ^{ab}	21.79±2.82 ^b
ΔE	0 ^d	23.04±3.57 ^b	37.15±4.48 ^a	15.75±2.22 ^c	11.71±1.58 ^c

注:表中同行不同小写字母表示组间显著差异($P<0.05$)。

泽在很大程度上取决于果汁中花青素、酚类化合物和类胡萝卜素的含量和组成,它们对保护乳杆菌细胞起着积极作用^[33]。此外,对数期超声处理组的色泽更加红润、饱满。有研究^[34]表明,酚类化合物含量越高,抗氧化能力越强,果汁色泽越饱满。色泽参数的提升可能与超声波诱导产生的细胞通透性改变有关,该物理效应促进了植物乳杆菌对红枣基质中花青素、酚类化合物、类胡萝卜素等色素前体的代谢转化^[33]。本研究结果表明,较高的 L^* 、 a^* 、 b^* 与发酵产品的色泽品质呈正相关,这主要归因于超声波诱导处理通过机械空化作用加速了植物乳杆菌细胞壁的通透性改变,促进了胞外酶的释放,从而提高了对酚类化合物的生物转化效率;此外,发酵体系中酚类化合物,尤其是黄酮类化合物的富集不仅增强了抗氧化能力,其分子共色效应还能显著提升体系的颜色饱和度^[35]。

2.6 胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶活性及感官评价结果分析

植物乳杆菌胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶活性及发酵红枣汁感官评价结果如图5所示。由图5a)可知,胞内 β -葡萄糖苷酶活性按降序排列为:对数期超声组(0.070 U/mL)>稳定期超声组(0.050 U/mL)>滞后期超声组(0.045 U/mL)>衰退期超声组(0.010 U/mL),而对照组的胞内 β -葡萄糖苷酶活性为0.010 U/mL。胞外 β -葡萄糖苷酶活性则呈现不同变化趋势:对数期超声组(0.070 U/mL)>稳定期超声组(0.040 U/mL)>衰退期超声组(0.032 U/mL)>滞后期超声组(0.031 U/mL),对照组胞外 β -葡萄糖苷酶活性为0.020 U/mL。这表明胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶活性在滞后期、对数期和稳定期超声组中均存在显著差异($P<0.05$),且均在対数期超声组达到最大值。这与W. S. Liu等^[36]的研究结果较一致,

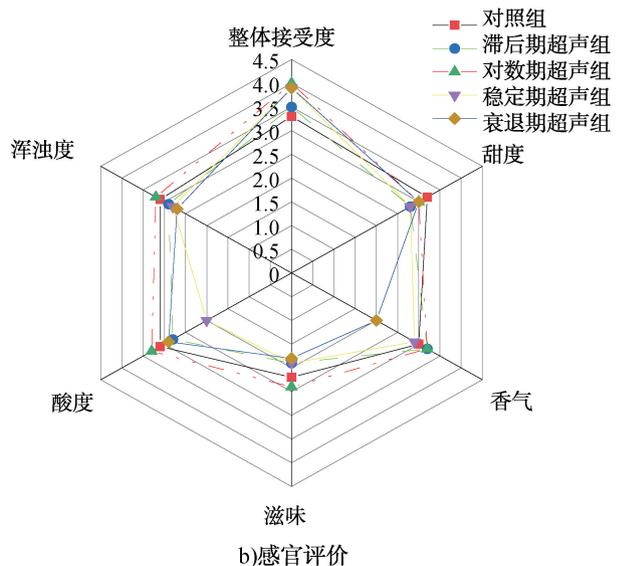
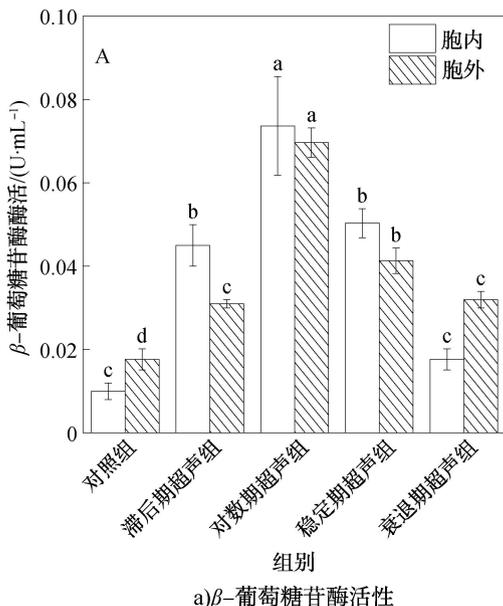


图5 植物乳杆菌胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶活性及发酵红枣汁感官评价结果

Fig. 5 β -glucosidase activity of *L. plantarum* and sensory evaluation result of fermented jujube juice



其研究发现,超声波诱导可显著提升乳酸菌在延滞期、对数期和衰亡期的 β -葡萄糖苷酶活性,且 β -葡萄糖苷酶活性的峰值出现在稳定期和对数期。综上所述可知,相较于对照组,适宜的超声波诱导处理能够促进胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶的协同释放,并显著增强其生物催化活性。

由图5b)可知,超声波诱导处理对发酵红枣汁的感官评价指标未产生显著影响($P>0.05$),其综合品质与对照组基本保持统计学一致性。这表明超声波诱导处理在有效提升发酵红枣汁营养组分和生物活性物质的同时,可保持发酵红枣汁的感官品质、消费者接受度与对照组无统计学差异,实现了发酵红枣汁的营养强化和感官稳定性。A. T. Amir等^[37]的研究也证实,在40℃条件下采用20kHz、100W脉冲模式超声波处理15min后,橙汁的货架期显著延长且感官品质也得到了改善。

3 结论

本文采用超声波诱导处理了不同生长阶段(延滞期、对数期、稳定期及衰亡期)的植物乳杆菌,并结合理化指标测定及感官评价,研究了超声波诱导植物乳杆菌对发酵红枣汁品质的影响。得到如下结论:相较于对照组,在对数期进行超声波诱导处理,可显著增加发酵红枣汁中植物乳杆菌的活菌数及可滴定酸含量,促使菌株胞内和胞外 β -葡萄糖苷酶活性均达到峰值(0.07U/mL),并使发酵红枣汁色泽更加红润、饱满;可显著提高发酵红枣汁中总黄酮和总酚含量,增强其抗氧化能力,其中DPPH和ABTS⁺自由基清除率分别提高了28.26%和19.04%;此外,超声波诱导处理会降低发酵红枣汁中总糖和抗坏血酸含量,但未显著影响发酵红枣汁的感官品质。本研究提出的基于菌株生长阶段适配的超声波诱导调控策略,可为功能性发酵果蔬汁的品质协同优化提供参考。在未来的研究中,需进一步探索超声波诱导处理参数与不同菌株生长代谢之间的动态适配机制,以及超声波诱导处理对发酵红枣汁贮藏过程中活性成分稳定性的影响,以优化相关工艺,提高产品的品质和稳定性。

参考文献:

- [1] RAJAEI A, SALARBASHI D, ASRARI N, et al. Antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activities of extracts from the seed and pulp of Jujube (*Ziziphus jujuba*) grown in Iran [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 9(2): 682-691.
- [2] JI X L, PENG Q, YUAN Y P, et al. Isolation, structures and bioactivities of the polysaccharides from jujube fruit (*Ziziphus jujuba* Mill.): A review [J]. Food Chemistry, 2017, 227:349-357.
- [3] 张莹,孟园,马艳蕊,等.不同品种红枣酿醋的品质差异分析[J].食品工业科技,2024,45(20):300-311.
- [4] 陈善敏,王奕,常睿,等.乳酸菌的健康功效及其在发酵茶叶中的应用进展[J].食品科学,2024,45(13):365-372.
- [5] ZHANG L H, ZHA M M, LI S F, et al. Changes on some quality characteristics of jujube juice with enzymatic hydrolysis prior to *Lactobacillus plantarum* fermentation [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2022, 16(4):3196-3207.
- [6] 温科,毕文,金学莹.大麦红枣澄清型饮料加工工艺研究[J].农产品加工,2021(17):39-42.
- [7] HUANG G, CHEN S, DAI C, et al. Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 37:144-149.
- [8] YU Z, SU Y, ZHANG Y L, et al. Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods: A review [J]. Food Chemistry, 2021, 357:129805.
- [9] MANYATSI T S, MOUSAVI KHANEGHAH A, GAVAHIAN M. The effects of ultrasound on probiotic functionality: An updated review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2024, 64(31):11643-11660.
- [10] 汪雨晨,陶阳,李丹丹,等.低频低强度超声波辅助植物乳杆菌发酵白果汁的代谢特性研究[J].食品与发酵工业,2020,46(22):55-63.
- [11] 张丽华,查蒙蒙,李顺峰,等.益生菌发酵果蔬汁研究进展[J].轻工学报,2021,36(4):29-36.
- [12] 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 菌落总数测定:GB 4789.2—2022[S].北京:中国标准出版社,2022.
- [13] 倪慧,蔡文超,郭壮,等.超高压前处理对植物乳杆菌发酵红枣汁品质的影响[J].中国酿造,2023,42(10):202-206.
- [14] 徐铭阳,李崎,郑飞云,等.适于红枣汁发酵的乳酸菌的筛选及其发酵特性分析[J].食品与发酵工业,2023,49(21):66-74.
- [15] 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.
- [16] 王迎香, 唐子惟, 彭腾, 等. 苯酚-硫酸法测定酒蒸多花黄精多糖含量的优化[J]. 食品工业科技, 2021, 42(18): 308-316.
- [17] XU X X, BAO Y J, WU B B, et al. Chemical analysis and flavor properties of blended orange, carrot, apple and Chinese jujube juice fermented by selenium-enriched probiotics [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 250-258.
- [18] 杨成峻, 陈明舜, 刘成梅, 等. 花椒果皮多酚类成分鉴定及降血糖活性[J]. 食品科学, 2023, 44(2): 271-278.
- [19] 乔锦莉, 张妍, 刘佩, 等. 野生蓝果忍冬多酚鉴定及其抗氧化、降血糖活性[J]. 食品科学, 2021, 42(11): 47-55.
- [20] 李红艳, 孟庆, 徐明磊. 超声波及超高压联合处理对甜樱桃汁货架期及品质的影响[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(8): 220-229.
- [21] 马鹏利, 张馨予, 冬子众, 等. 超高压和热处理对混合果蔬汁品质影响的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(20): 51-57.
- [22] FAN X H, ZHANG X Y, ZHANG Q G, et al. Optimization of ultrasound parameters and its effect on the properties of the activity of beta-glucosidase in apricot kernels[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 468-476.
- [23] WANG K H, QI J, JIN Y, et al. Influence of fruit maturity and lactic fermentation on physicochemical properties, phenolics, volatiles, and sensory of mulberry juice [J]. Food Bioscience, 2022, 48: 101782.
- [24] 刘欣宁, 卢云浩, 何强. 没食子酸对植物乳杆菌 *Lactobacillus plantarum* 的抑制和促进生长[J]. 现代食品科技, 2024, 40(1): 61-66.
- [25] DAHROUD B D, MOKARRAM R R, KHIABANI M S, et al. Low intensity ultrasound increases the fermentation efficiency of *Lactobacillus casei subsp. casei* ATTC 39392 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 86: 462-467.
- [26] DE OLIVEIRA P M, DE CASTRO LEITE JÚNIOR B R, MARTINS E M F, et al. Mango and carrot mixed juice: A new matrix for the vehicle of probiotic lactobacilli [J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 58(1): 98-109.
- [27] HASHEMI S M B, MOUSAVI KHANEGHAH A, BARBA F J, et al. Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 38: 409-414.
- [28] GHOLAMHOSSEINPOUR A, HASHEMI S M B. Ultrasound pretreatment of fermented milk containing probiotic *Lactobacillus plantarum* AF1: Carbohydrate metabolism and antioxidant activity [J]. Journal of Food Process Engineering, 2019, 42(1): e12930.
- [29] BEHZADNIA A, MOOSAVI-NASAB M, TIWARI B K, et al. *Lactobacillus plantarum*-derived biosurfactant: Ultrasound-induced production and characterization [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 65: 105037.
- [30] ATHMASELVI K A, KUMAR C, POOJITHA P. Influence of temperature, voltage gradient and electrode on ascorbic acid degradation kinetics during ohmic heating of tropical fruit pulp [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2017, 11(1): 144-155.
- [31] RODRÍGUEZ H, CURIEL J A, LANDETE J M et al. Food phenolics and lactic acid bacteria [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 132(2/3): 79-90.
- [32] 陈君然, 李尚祜, 李海川, 等. 超声联合酶解处理对发酵整果枸杞子品质影响[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(18): 201-208.
- [33] OLADUNJOYE A O, ADEBOYEJO F O, OKEKUNBI T A, et al. Effect of thermosonication on quality attributes of hog plum (*Spondias mombin* L.) juice [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 70: 105316.
- [34] 刘二蒙. 低强度超声对酱油品质的影响及其初步机制 [D]. 镇江: 江苏大学, 2021.
- [35] WANG J Y, XIE B J, SUN Z D. Quality parameters and bioactive compound bioaccessibility changes in probiotics fermented mango juice using ultraviolet-assisted ultrasonic pre-treatment during cold storage [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 137: 110438.
- [36] LIU W S, YANG C Y, FANG T J. Strategic ultrasound-induced stress response of lactic acid bacteria on enhancement of β -glucosidase activity for bioconversion of isoflavones in soymilk [J]. Journal of Microbiological Methods, 2018, 148: 145-150.
- [37] THAI A A, SOUSA S, MADANI K, et al. Ultrasound and heat treatment effects on *Staphylococcus aureus* cell viability in orange juice [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 78: 105743.

Effect of ultrasound-induced *lactobacillus plantarum* on the quality of fermented jujube juice

ZHANG Lihua^{1,2}, LIU Shihao¹, SHI Yong³, LI Shunfeng⁴, FANG Xuanyu¹, CHEN Yunli¹, ZONG Wei^{1,2}

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Zhengzhou University of Light Industry, Key Laboratory of Cold Chain Food Processing



and Safety Control, Ministry of Education, Zhengzhou 450001, China;

3. Haoxiangni Health Food Co., Ltd., Zhengzhou 451150, China;

4. Institute of Agricultural Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China

Abstract: To effectively improve the quality of fermented jujube juice, this study investigated the effects of ultrasonic treatment on *Lactobacillus plantarum* CICC 20022 at different growth stages prior to inoculation into jujube juice for fermentation. Key quality parameters including viable cell count, total sugars, titratable acidity, total flavonoids, total phenolics, antioxidant capacity and β -glucosidase activity were systematically evaluated. The results indicated that compared to the control group, the viable cell count in the logarithmic phase ultrasound-treated group was significantly increased by 1.15 lg CFU/mL. The contents of titratable acid, total flavonoid and total phenol were elevated by 31.25%, 54.17% and 19.05%, respectively. Moreover, the DPPH and ABTS⁺ radical scavenging activities were improved by 28.26% and 19.04% ($P < 0.05$), respectively. However, the total sugar and ascorbic acid contents exhibited a declining trend across different treatment stages. Additionally, both intracellular and extracellular β -glucosidase activities reached their peak values (0.07 U/mL) in the logarithmic phase ultrasound-treated group. Sensory evaluation revealed no significant difference between the ultrasound-treated group and the control group ($P > 0.05$). Ultrasound treatment could accelerate the formation of metabolites by directional regulation of the growth and metabolic activity of *L. plantarum* CICC 20022, and significantly improve the content of bioactive substances and flavor quality in fermented jujube juice.

Key words: fermented jujube juice; *Lactobacillus plantarum*; ultrasonication; β -glucosidase; quality

[责任编辑:杨晓娟]