

益生菌发酵苹果汁过程中总酚酸变化与动力学研究

高振鹏^{1,2} 宋 杨^{1,2} 张美娜^{1,2} 韩梦珍^{1,2} 岳田利^{1,2}

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100;

2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(杨凌), 陕西杨凌 712100)

摘要: 为了使苹果汁中结合态多酚变为游离态多酚, 提高苹果汁的功能性多酚单体含量, 利用嗜酸乳杆菌 6005、植物乳杆菌 21805 和发酵乳杆菌 21828 混菌发酵复合苹果汁, 分析苹果汁发酵过程中活菌数及理化成分变化, 建立混菌生长和总酚酸变化动力学模型, 并进行模型验证。结果表明: 混合益生菌在复合苹果汁中生长良好, 活菌数达到 2.68×10^8 CFU/mL, 发酵过程中总糖含量下降, 可滴定酸含量上升, 总酚酸含量总体呈上升趋势, 绿原酸及没食子酸等功能性酚酸类多酚单体含量增加; 建立了复合益生菌发酵苹果汁的菌体生长动力学模型和总酚酸增加量变化动力学模型, 模型理论值与试验值的平均误差小于 10%, 说明建立的动力学模型能够较好地预测混合益生菌发酵苹果汁中总酚酸的变化过程。

关键词: 益生菌; 苹果汁; 酚酸; 动力学

中图分类号: TS255.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2019)11-0350-07

Changes and Kinetics of Total Phenolic Acids of Apple Juice Fermented by Probiotics

GAO Zhenpeng^{1,2} SONG Yang^{1,2} ZHANG Meina^{1,2} HAN Mengzhen^{1,2} YUE Tianli^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

2. Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products (Yangling),

Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to change the binding polyphenols into free polyphenols in apple juice, improve the content of functional polyphenols, and develop products of apple juice with health care function, *Lactobacillus acidophilus* 6005, *Lactobacillus plants* 21805 and *Lactobacillus fermentum* 21828 were mixed and fermented with apple juice, which was mixed with three varieties of Aksu, Qinguan and Granny Smith. The changes of viable cell numbers and physicochemical composition in apple juice fermentation process were studied. In addition, the kinetic model of bacterial growth and the kinetic model of total phenolic acid incremental change were established and verified. The results showed that probiotics grew well in apple juice, and the number of viable bacteria exceeded 2.68×10^8 CFU/mL. During fermentation, the total sugar content was decreased, the titratable acid content was increased, and the total phenolic acid content was increased. Moreover, the content of several functional phenolic polyphenol was increased, such as chlorogenic acid and gallic acid. Probiotic fermentation changed the quality of apple juice. The kinetic model of bacterial growth and the kinetic model of total phenolic acid change were established. The average error between the theoretical and experimental values of the model was less than 10%. The fitting was good and the established kinetic model could predict the fermentation process. The research results provided a theoretical basis for the development of functional juice beverage products.

Key words: probiotics; apple juice; phenolic acid; kinetics

收稿日期: 2019-09-18 修回日期: 2019-10-22

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0400700、2017YFD0400702)

作者简介: 高振鹏(1973—), 男, 教授, 博士, 主要从事食品加工及安全控制研究, E-mail: gzp5988@163.com

通信作者: 岳田利(1965—), 男, 教授, 博士, 主要从事健康食品制造及安全控制研究, E-mail: ytl6503@163.com

0 引言

苹果富含多酚,苹果多酚以游离态及结合态的形式存在,具有抗氧化及预防心血管疾病等作用^[1-2]。酚酸(对羟基苯甲酸或对羟基肉桂酸衍生物)是多酚的一种,在植物中主要以共价键的形式存在。使结合态多酚(包括酚酸)转变为游离态多酚以产生更大的功效,是目前的研究方向。另外,苹果加工产品急需升级,功能化加工是未来果蔬加工的发展方向之一。益生菌具有调节人体肠道菌群平衡及抗肿瘤等^[3-7]多重功能。通过益生菌发酵苹果汁,既使苹果汁含有益生菌,又可使苹果汁中结合态多酚变为游离态多酚,增加了苹果汁中功能成分含量。

苹果汁营养物质丰富,是益生菌发酵的良好载体。目前,大部分研究围绕苹果汁发酵工艺、菌种筛选及发酵前后风味变化展开^[8-10],对发酵过程中功能物质的变化研究较少。动力学模型能够对微生物发酵过程进行准确预测^[11-13],有助于优化发酵工艺,对于扩大工业化生产具有重要意义。微生物的种类繁多,发酵物质变化复杂。目前,尚未见混菌发酵使苹果汁中结合态酚酸变为游离态酚酸的动力学及其模型构建方面的研究报道。

本文以复合苹果汁为原料,利用植物乳杆菌、发酵乳杆菌及嗜酸乳杆菌协同发酵,对苹果汁发酵过程中总酚酸及单体物质含量进行动态分析,探究其变化趋势,构建混菌发酵苹果汁中菌体生长及总酚酸变化动力学模型,旨在为开发功能苹果汁产品及其产业化提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

嗜酸乳杆菌 6005 (*Lactobacillus acidophilus*)、植物乳杆菌 21805 (*Lactobacillus plants*)、发酵乳杆菌 21828 (*Lactobacillus fermentum*),均保存于西北农林科技大学食品科学与工程学院健康食品制造与安全控制实验室;阿克苏苹果、秦冠苹果、澳洲青苹果,均购于陕西省杨凌区当地市场;MRS 培养基(乳酸细菌培养基),北京奥博星生物技术有限责任公司;儿茶素(色谱纯),上海源叶生物科技有限公司;乙腈(色谱纯),美国 TEDIA 公司;没食子酸、绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、肉桂酸、对羟基苯甲酸(纯度 98% 以上),上海源叶生物科技有限公司;其他化学试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

GP2000-2 型榨汁机,南通金橙机械有限公司;

HSQ-1 型恒温水浴锅,上海智城分析仪器有限公司;ZX-35B1 型立式压力蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;BCN-1306B 型超净工作台,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;ZXSD-A1160 型恒温培养箱,上海智城分析仪器有限公司;HC-3018R 型高速冷冻离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;LC-15C 型高效液相色谱仪,日本岛津公司;UV-1700 型紫外可见分光光度计,日本岛津公司;RE-5205 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 苹果汁制备

制备工艺为:苹果挑选→清洗→切块→榨汁→酶解(45℃,2 h)→抽滤→复配(阿克苏苹果、秦冠苹果与澳洲青苹果体积比为 4:3:1)→-18℃ 冷冻待用。

1.3.2 苹果汁发酵

将保存于甘油管中的 3 株菌分别置于 MRS 液体培养基中活化培养 2 次,当第 2 次扩大培养液体培养基中菌体浓度达到 9.0 lg CFU/mL 时备用。将活化好的发酵剂(菌体浓度 9.0 lg CFU/mL)在 8 000 r/min 的转速下离心 10 min,弃上清液,用灭菌后的复合苹果汁重新悬浮^[14]。将重悬后的益生菌按照嗜酸乳杆菌 6005、植物乳杆菌 21805 与发酵乳杆菌 21828 的体积比 1:1:1,以 3% 的接种量接入复合苹果汁中,36℃ 下静置发酵 24 h,期间定时取样。

1.3.3 活菌数及理化指标测定

活菌数采用倾注平板计数法(GB 4789.35—2016)测定;可滴定酸含量采用酸碱滴定法(GB/T 15038—2006)测定;总糖含量采用斐林试剂滴定法(GB/T 15038—2006)测定。总黄酮含量采用氯化铝法测定^[15]:以儿茶素质量浓度(mg/L)为横坐标,510 nm 处的吸光度为纵坐标,得到的标准曲线方程为 $y = 0.0344x - 0.0036$, $R^2 = 0.9999$;总酚酸含量采用 $\text{FeCl}_3 - \text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 比色法测定^[16]:以没食子酸质量浓度(mg/L)为横坐标,720 nm 处的吸光度为纵坐标,得到的标准曲线方程为 $y = 0.4919x + 0.0044$, $R^2 = 0.9948$ 。

1.3.4 多酚单体含量测定

多酚单体含量测定采用高效液相色谱法^[17],略有修改。

样品处理:取 20 mL 发酵苹果汁,并用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.0,每次用 20 mL 乙酸乙酯萃取,共萃取 3 次,用 1 mol/L 盐酸溶液调节剩余发酵苹果汁的 pH 值至 2.0,再每次用 20 mL 乙酸乙酯萃取 3 次。合并萃取得到的酚提取液,35℃ 下旋转蒸发至干燥,用 10 mL 甲醇溶解干物质,经

0.22 μm 有机系滤膜过滤备用。

色谱条件: 采用 Agilent 5 TC C18 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 2% 乙酸水溶液, 流动相 B 为含 0.5% 乙酸的乙腈-水溶液 (体积比 1:1); 梯度洗脱程序: 流动相 B 的体积分数在 0~50 min, 由 10% 增到 55%, 在 50~60 min, 由 55% 增到 100%, 在 60~65 min, 递减到 10%, 在此体积分数下平衡 10 min; 柱温: 30℃; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 20 μL。检测器: 紫外吸收检测器; 检测波长: 对羟基苯甲酸、扁蓄苷为 254 nm, 肉桂酸为 260 nm, 没食子酸、原花青素 B₂、原花青素 C₁、表儿茶素、根皮苷、根皮素为 280 nm, 绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、芦丁为 360 nm。

1.4 动力学研究

通过优化得到发酵条件为接种量 1.8%, 发酵温度 37℃, 在此条件下进行动力学研究, 每隔 1 h 测定菌体生物量及总酚酸含量, 建立菌体生长及总酚酸变化模型并验证, 预测发酵过程变化。

1.4.1 菌体生物量测定

将发酵苹果清汁稀释后于 600 nm 波长下测定吸光度。菌体光密度 (OD 值) 为 OD 读数与稀释倍数的乘积。

1.4.2 菌体生长动力学模型

Logistic 方程是用来描述发酵过程中菌体生长量随时间变化规律最常用的模型, 是典型的“S”形曲线。研究发现, 混合菌株发酵苹果汁符合这一规律, 因此采用 Logistic 方程^[18]对发酵过程进行研究。

1.4.3 总酚酸变化动力学模型

总酚酸变化与菌体生长变化趋势相似, 将苹果汁发酵过程中总酚酸与菌体 OD 值进行线性制图, 二者呈线性关系, 说明总酚酸含量的增加与菌体生长相关联。通过 Logistic、Sgompertz 和 Boltzmann 方程^[19]分别建立总酚酸变化动力学模型, 通过比较模型相关系数确定最终总酚酸变化模型^[20-21]。

1.5 数据处理

试验重复 3 次, 利用 Microsoft Office Excel 2016 软件对数据进行计算; 利用 SPSS 20.0 软件进行方差显著性分析; 利用 Origin 2018 软件绘图及模型拟合验证。

2 结果与讨论

2.1 活菌数、总糖及可滴定酸含量

对益生菌发酵苹果汁发酵过程中的活菌数、总糖及可滴定酸含量进行动态监测, 绘制曲线, 结果如图 1 所示。

由图 1 可知, 4 h 后苹果汁中益生菌进入对数生

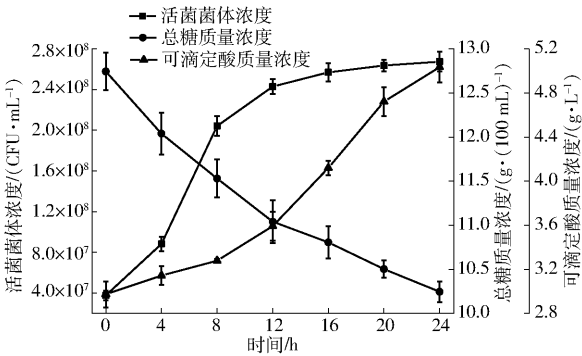


图 1 发酵过程中活菌数、总糖及可滴定酸含量的变化曲线

Fig. 1 Changes of viable count, total sugar and titratable acid during fermentation process

长期, 生长繁殖速度明显加快, 活菌数迅速增加。此后, 随着发酵的进行, 营养物质消耗, 代谢产物不断积累, 益生菌的繁殖速度逐渐下降。16 h 后益生菌繁殖进入稳定期, 24 h 发酵结束时, 活菌数基本保持稳定, 即活菌菌体浓度为 2.68×10^8 CFU/mL。益生菌维持自身生长和繁殖都需要糖代谢供能, 发酵初始苹果汁中总糖质量浓度为 12.74 g/(100 mL), 可滴定酸质量浓度为 2.97 g/L。接种后, 益生菌利用苹果汁中的可发酵糖, 将其转化为酸。随着益生菌发酵苹果汁发酵过程的进行, 苹果汁中总糖含量呈下降趋势, 可滴定酸含量呈上升趋势。发酵结束时, 总糖质量浓度下降至 10.25 g/(100 mL), 可滴定酸质量浓度增加到 5.04 g/L。

2.2 总黄酮及总酚酸含量

对益生菌发酵苹果汁发酵过程中的总黄酮及总酚酸含量进行动态监测, 结果如图 2 所示。

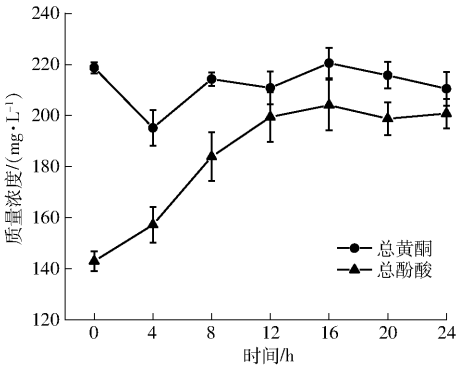


图 2 发酵过程中总黄酮及总酚酸含量的变化曲线

Fig. 2 Changes of total flavonoids and total phenolic acids during fermentation process

由图 2 可知, 益生菌发酵苹果汁初期, 苹果汁中总黄酮质量浓度为 218.73 mg/L, 16 h 时达到 220.54 mg/L, 随后开始下降, 24 h 时降为 210.49 mg/L。发酵过程中苹果汁中总酚酸含量总体呈上升趋势, 初始发酵时, 总酚酸质量浓度为 142.96 mg/L,

随后不断上升,16 h 时达到 204.06 mg/L,发酵后期总酚酸含量基本趋于稳定。多酚是一大类物质,根据酚环数量和彼此结合的结构分为酚酸、类黄酮、芪和木质素^[22]。由于酚酸在植物中主要以共价键的形式存在,发酵过程引起苹果汁中酚酸类物质含量变化的原因很多,部分原因是微生物分解共价键结合的

大分子酚酸物质为小分子酚酸物质,使其含量升高,也可能是由于膳食结合态酚酸能被微生物利用转化为游离态酚酸所致^[23-24]。

2.3 酚酸类单体含量

在苹果汁发酵过程中,对苹果汁中 7 种酚酸类单体含量进行动态分析,结果如表 1 所示。

表 1 发酵过程中酚酸类多酚单体质量浓度的变化

Tab.1 Changes of phenolic polyphenols content during fermentation process

时间/h	绿原酸	没食子酸	对羟基苯甲酸	阿魏酸	咖啡酸	对香豆酸	肉桂酸
0	89.10 ± 0.01	0.74 ± 0.01	0.46 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.22 ± 0.03	0.08 ± 0.01	0.03 ± 0.01
4	93.93 ± 1.59	1.54 ± 0.16	0.61 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.30 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.03 ± 0.01
8	84.02 ± 4.14	1.62 ± 0.08	0.62 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.02 ± 0.01
12	73.74 ± 3.36	1.84 ± 0.24	0.59 ± 0.05	0.03 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.01 ± 0.01
16	108.13 ± 4.58	1.32 ± 0.28	0.46 ± 0.04	0.04 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.01
20	112.53 ± 0.70	1.67 ± 0.16	0.46 ± 0.03	0.05 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.01
24	106.69 ± 9.77	1.73 ± 0.47	0.43 ± 0.03	0.04 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.01

由表 1 可知,7 种酚酸类单体成分中,绿原酸含量最高,初始发酵时质量浓度为 89.10 mg/L,随着发酵的进行,其含量不断变化,20 h 时达到最大值,质量浓度为 112.53 mg/L,随后稍有下降,24 h 时绿原酸质量浓度为 106.69 mg/L,比初始发酵时增加了 19.74%,发酵之后绿原酸含量显著升高($p < 0.05$)。初始发酵时没食子酸质量浓度为 0.74 mg/L,12 h 时质量浓度达到 1.84 mg/L,24 h 发酵结束时没食子酸质量浓度为 1.73 mg/L,是初始发酵时的 2.34 倍,发酵前后含量差异显著($p < 0.05$),主要是聚合单宁水解可以生成没食子酸^[25]。另外,在发酵过程中对羟基苯甲酸含量及阿魏酸含量变化差异不显著,其中阿魏酸是微生物合成多种香气成分的前体物质^[26]。咖啡酸、对香豆酸及肉桂醛的含量总体呈现下降趋势,发酵前后含量变化差异显著($p < 0.05$)。

2.4 益生菌发酵苹果汁动力学研究

2.4.1 菌体生长及总酚酸含量变化动力学曲线

在益生菌发酵苹果汁过程中,随发酵的进行,菌体 OD 值及总酚酸含量也在发生变化,结果如图 3 所示。

由图 3 可知,3 h 后苹果汁中益生菌繁殖进入对数生长期,菌体生长迅速,大量繁殖,17 h 后菌体生长速度减缓,菌体数量趋于平稳,进入稳定期。总酚酸含量变化趋势与菌体生长曲线趋势基本一致。

2.4.2 菌体生长动力学模型的建立

Logistic 方程^[18]为

$$\frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = \mu_m \left(1 - \frac{x}{x_m} \right)$$

(1)

式中 x ——菌体的 OD 值

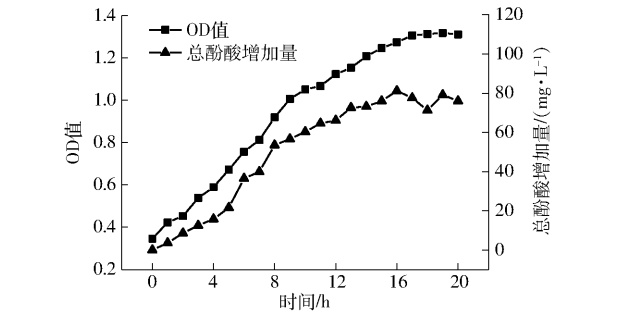


图 3 发酵苹果汁动力学曲线

Fig.3 Kinetics curves of fermented apple juice

t ——发酵时间, h

μ_m ——比生长速率的最大值, h^{-1}

x_m ——发酵过程菌体的最大 OD 值,其不随基质浓度变化而改变

当 $t = 0$ 时, $x = x_0$ (菌体的初始 OD 值) 为初始条件,式(1)积分变形为

$$x = \frac{x_0 e^{\mu_m t}}{1 - \frac{x_0}{x_m} (1 - e^{\mu_m t})}$$

(2)

菌体的最大 OD 值 $x_m = 1.318$,根据不同时间菌体量的试验数据,用 Origin 软件进行非线性拟合,经过运算得到 $x_0 = 0.3197$, $\mu_m = 0.2471 \text{ h}^{-1}$ 。

将 x_0 、 x_m 、 μ_m 代入式(2)得到菌体生长动力学模型为

$$x = \frac{0.3197 e^{0.2471 t}}{1 - 0.2426 (1 - e^{0.2471 t})}$$

(3)

2.4.3 总酚酸变化动力学模型的建立

为了研究益生菌发酵过程中总酚酸变化动力学过程,利用 Logistic、Sgompertz 和 Boltzmann 模型^[19]对试验数据进行拟合,确定最佳的总酚酸变化动

力学模型方程,各模型拟合方程及其决定系数见表 2, P 表示总酚酸增加量。

表 2 总酚酸增加量拟合方程及其决定系数
Tab.2 Fitting equations and its determination coefficients for total phenolic acid increment

模型	拟合方程	R^2
Logistic	$P = 81.8813 - \frac{78.3024}{1 + \left(\frac{t}{6.9968}\right)^{2.9307}}$	0.9903
Sgomperztz	$P = 79.2895e^{-e^{1.5718 - 0.2916t}}$	0.9909
Boltzmann	$P = 77.51 - \frac{83.2465}{1 + e^{\frac{t - 6.3283}{2.5209}}}$	0.9915

由表 2 可知,对比益生菌发酵过程总酚酸变化动力学方程 Logistic、Sgomperztz 和 Boltzmann 建立的 3 个拟合方程的决定系数,相关性均较高,其中, Boltzmann 模型拟合效果最好,其决定系数 R^2 为 0.9915,说明 Boltzmann 模型能够更好地描述益生菌发酵过程总酚酸变化,因此,本研究选取 Boltzmann 模型方程为益生菌发酵过程总酚酸变化动力学最佳模型。

2.4.4 模型验证

为了检验建立的菌体生长动力学模型和总酚酸变化动力学模型的可靠性,对动力学模型的理论值与试验数据实测值进行比较,结果如图 4、5 所示,对模型进行方差分析,结果如表 3 所示。

表 3 发酵动力学模型方差分析 Tab.3 ANOVA for fermentation kinetic model					
类别	自由度	平方和	均方	F	R^2
菌体生长模型	回归	21.02	10.51	14 822.39	0.9939
	残差	19	0.01		
	未修正的整体	21	21.035		
	修正整体	20	2.21		
总酚酸增加量变化模型	回归	68 131.71	17 032.93	2 105.41	0.9915
	残差	17	137.53		
	未修正的整体	21	68 269.24		
	修正整体	20	16 111.35		

长模型和总酚酸增加量变化模型的决定系数分别为 0.9939 和 0.9915,模型拟合程度很高,说明模型能够很好地预测益生菌发酵苹果汁过程中菌体生长和总酚酸变化过程。

为进一步验证模型可靠性,对益生菌发酵苹果汁过程中的发酵试验值和模型理论值进行比较,结果如表 4 所示。

由表 4 可知,菌体生长模型理论值和试验值的平均误差为 2.64%,总酚酸增加量变化模型理论值和试验值的平均误差为 5.97%,均小于 10%,说明

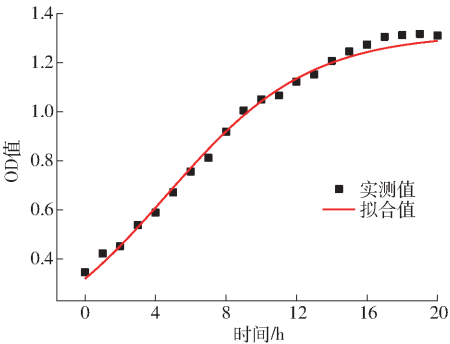


图 4 菌体生长模型拟合曲线
Fig.4 Fitting curve of microbial growth kinetics model

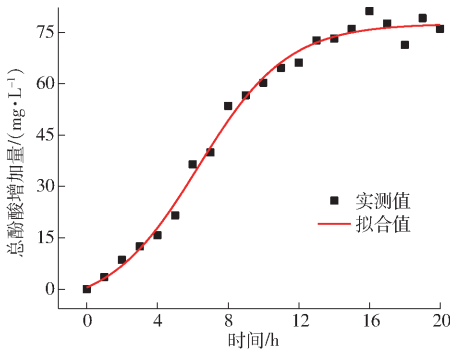


图 5 总酚酸增加量变化模型拟合曲线
Fig.5 Fitting curve of total phenolic acid increment model

由图 4、5 可知,菌体生长模型和总酚酸变化模型方程计算理论值(拟合值)与试验数据实测值符合较好,可以用上述两个方程作为菌体生长及总酚酸增加量变化的模型。由表 3 可知,菌体生

模型拟合度高,能够很好地描述发酵过程的变化规律。

3 结论

(1)利用嗜酸乳杆菌 6005、植物乳杆菌 21805 和发酵乳杆菌 21828 混菌发酵由阿克苏苹果、秦冠苹果和澳洲青苹果 3 个品种复合的苹果汁,发酵过程中活菌菌体浓度达到 2.68×10^8 CFU/mL,总糖含量下降,可滴定酸含量上升,总酚酸含量总体呈上升趋势,16 h 时总酚酸含量达到最大值,各

表 4 动力学模型试验值与理论值的比较

Tab.4 Comparison of experimental and calculated data of kinetic model

时间/h	菌体量 OD 值			总酚酸增加量			时间/h	菌体量 OD 值			总酚酸增加量		
	试验值	理论值	误差/%	试验值/ (mg·L ⁻¹)	理论值/ (mg·L ⁻¹)	误差/%		试验值	理论值	误差/%	试验值/ (mg·L ⁻¹)	理论值/ (mg·L ⁻¹)	误差/%
0	0.346	0.320	7.60	0	0.52		11	1.067	1.093	2.40	64.63	66.23	2.47
1	0.423	0.383	9.40	3.59	3.24	9.78	12	1.123	1.135	1.08	66.12	69.57	5.22
2	0.453	0.454	0.15	8.57	6.94	19.02	13	1.153	1.171	1.53	72.63	72.00	0.87
3	0.538	0.530	1.53	12.49	11.81	5.44	14	1.208	1.200	0.66	73.18	73.72	0.74
4	0.589	0.610	3.49	15.78	17.92	13.58	15	1.246	1.224	1.77	76.00	74.92	1.42
5	0.672	0.691	2.80	21.58	25.17	16.60	16	1.274	1.243	2.41	81.18	75.75	6.68
6	0.757	0.771	1.87	36.48	33.18	9.05	17	1.306	1.259	3.61	77.57	76.32	1.61
7	0.812	0.848	4.46	39.93	41.40	3.68	18	1.313	1.271	3.17	71.30	76.71	7.59
8	0.919	0.920	0.11	53.50	49.20	8.03	19	1.318	1.281	2.79	79.14	76.97	2.74
9	1.006	0.985	2.08	56.64	56.09	0.97	20	1.311	1.289	1.67	76.00	77.14	1.51
10	1.051	1.043	0.79	60.28	61.78	2.48							

多酚单体中绿原酸及没食子酸等功能性酚酸类多酚单体含量增加。

(2)对益生菌发酵苹果汁进行动力学研究,建立了菌体生长动力学模型和总酚酸含量变化动力学模型并加以验证,决定系数分别为 0.993 9 和 0.991 5,试验值与理论值的平均误差均小于 10%,说明建立的模型可以很好地描述发酵过程,预测发酵中酚酸的变化过程。

参 考 文 献

[1] 戚飞. 三种灌溉方式对苹果食用及营养品质的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2018.
QI Fei. Effect of three drip irrigation methods on edible and nutritional quality of apple [D]. Yangling: Northwest A&F University,2018. (in Chinese)

[2] 李鑫. 不同品种苹果多酚组分分析及其相关生物活性研究[D]. 杭州:浙江大学,2015.
LI Xin. Polyphenolic compounds determination and bioactivity evaluation of different apple (*Malu spumila* Mill.)cultivars[D]. Hangzhou:Zhejiang University,2015. (in Chinese)

[3] REID G. Probiotics: definition, scope and mechanisms of action[J]. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 2016, 30(1): 17-25.

[4] 高达,孙颖,姜瞻梅,等. 益生菌调节由抗生素导致肠道菌群失衡的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(2): 30-33, 47.
GAO Da,SUN Ying,JIANG Zhanmei,et al. Research progress of probiotics regulating the imbalance of human in testinal flora and related diseases caused by antibiotics[J]. China Dairy Industry, 2019, 47(2): 30-33, 47. (in Chinese)

[5] RICCI I, ARTACHO R, OLLALLA M. Milk protein peptides with angiotensin I—converting enzyme inhibitory (ACEI) activity [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2010, 50(5): 390-402.

[6] MAITY T K, MAITY A K. Probiotics and human health: synoptic review[J]. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 2009, 9(8):1778-1796.

[7] KUUGBEE E D, SHANG X, GAMALLAT Y, et al. Structural change in microbiota by a probiotic cocktail enhances the gut barrier and reduces cancer via TLR2 signaling in a rat model of colon cancer[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2016, 61(10): 2908-2920.

[8] DIMITROVSKI D, VELICKOVA E, LANGERHOLC T, et al. Apple juice as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain[J]. Annals of Microbiology, 2015, 65(4): 2161-2170.

[9] 张健,黄翠姬,刘昭明,等. 益生乳酸菌发酵苹果汁的研究[J]. 食品科技, 2016, 41(12): 66-70.
ZHANG Jian,HUANG Cuiji,LIU Zhaoming,et al. Fermentation of apple juice by probiotic lactic acid bacteria[J]. Food Science and Technology, 2016, 41(12): 66-70. (in Chinese)

[10] 李维妮,郭春锋,张宇翔,等. 气相色谱-质谱法分析乳酸菌发酵苹果汁香气成分[J]. 食品科学, 2017, 38(4): 146-154.
LI Weini, GUO Chunfeng, ZHANG Yuxiang, et al. GC-MS analysis of aroma components of apple juice fermented with lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2017, 38(4): 146-154. (in Chinese)

[11] JIN H, LIU R, HE Y. Kinetics of batch fermentations for ethanol production with immobilized *Saccharomyces cerevisiae* growing on sweet sorghum stalk juice[J]. Procedia Environmental Sciences, 2012, 12: 137-145.

[12] 杨勇,刘群,章帅文,等. 利用动力学模型探讨甲萘醌对脱氮假单胞杆菌发酵过程的影响[J]. 生物灾害科学, 2018, 41(3): 184-191.

YANG Yong, LIU Qun, ZHANG Shuaiwen, et al. Study on effects of menadione on pseudomonas denitrificans fermentation by kinetics model[J]. Biological Disaster Science, 2018, 41(3): 184 – 191. (in Chinese)

[13] 李雪, 白新鹏, 曹君, 等. 仙人掌果酒发酵动力学及其抗氧化性[J]. 食品科学, 2017, 38(4): 87 – 92.
LI Xue, BAI Xinpeng, CAO Jun, et al. Fermentation kinetics and antioxidant activity of cactus wine [J]. Food Science, 2017, 38(4): 87 – 92. (in Chinese)

[14] 孟掉琴, 吴霞, 岳田利, 等. 混菌发酵苹果浊汁的益生菌筛选及其发酵动力学模型构建[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 153 – 159.
MENG Diaogin, WU Xia, YUE Tianli, et al. Screening of probiotics for mixed culture fermentation of cloudy apple juice and construction of kinetic models[J]. Food Science, 2019, 40(12): 153 – 159. (in Chinese)

[15] 苏鹏飞. 宁夏青铜峡产区主栽红色酿酒葡萄成熟度控制指标的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2016.
SU Pengfei. Study of maturity control indexes of major red wine grapes from Qingtongxia City in Ningxia [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2016. (in Chinese)

[16] 付煜荣, 张万明, 陈桂敏, 等. 景天三七中没食子酸和总酚酸含量测定[J]. 中成药, 2006, 28(7): 1016 – 1018.
FU Yurong, ZHANG Wanming, CHEN Guimin, et al. Determination of gallic acid and total phenolic acid in *Sedum Aizoon* L [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2006, 28(7): 1016 – 1018. (in Chinese)

[17] 叶萌祺. 苹果酒酿造过程香气物质调控及 FT – NIRS 分析方法研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2015.
YE Mengqi. The regulation of cider aroma compounds and the determination based on Fourier transform near infrared spectroscopy[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2015. (in Chinese)

[18] 李侠. 红枣酒发酵工艺研究及品质分析[D]. 郑州:河南工业大学, 2012.
LI Xia. The research of the fermentation technology of jujube wines and the analysis of quality [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2012. (in Chinese)

[19] 张勇. 低质蜂蜜酿制白酒的工艺优化及发酵动力学研究[D]. 海口:海南大学, 2015.
ZHANG Yong. Research on brewing technology and fermentation kinetic models of mesd (low-quality honey brewed liquor) [D]. Haikou: Hainan University, 2015. (in Chinese)

[20] 高振鹏, 张丹, 刘瑞, 等. 苹果汁中展青霉素的去除动力学与热力学研究[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(10): 304 – 310.
GAO Zhenpeng, ZHANG Dan, LIU Rui, et al. Adsorption thermodynamics and kinetics of patulin separation from apple juice using adsorbent resin [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(10): 304 – 310. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20151041&journal_id=jcsam. DOI: 10. 6041/j. issn. 1000-1298. 2015. 10. 041. (in Chinese)

[21] 高振鹏, 刘瑞, 张德举, 等. 超声波降解苹果汁中展青霉素动力学研究[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(11): 230 – 235.
GAO Zhenpeng, LIU Rui, ZHANG Deju, et al. Kinetics study of ultrasonic degradation of patulin in apple juice [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(11): 230 – 235. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20151131&journal_id=jcsam. DOI: 10. 6041/j. issn. 1000-1298. 2015. 11. 031. (in Chinese)

[22] RODRIGUEZ 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.

[23] MCCUE P P, SHETTY K. Phenolic antioxidant mobilization during yogurt production from soymilk using Kefir cultures[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(5): 1791 – 1797.

[24] VANDUYNHOVEN J, VAUGHAN E E, JACOBS D M, et al. Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(Supp. 1): 4531 – 4538.

[25] MORENO-ARRIBAS M V, POLO M C. Wine chemistry and biochemistry[M]. New York: Springer, 2009.

[26] ABDELKAFI S, SAYADI S, ALI G Z B, et al. Bioconversion of ferulic acid to vanillic acid by *Halomonas elongata* isolated from table-olive fermentation[J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 262(1): 115 – 120.