

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80168

山楂酵素发酵工艺优化及体外生物活性研究

缪园欣^{1,2} 田建阳³ 贲锦华¹ 彭欣雨¹ 高佳¹

(1. 荆楚理工学院农业生物技术研究所, 湖北 荆门 448000; 2. 荆楚理工学院特色花卉生物育种湖北省工程研究中心, 湖北 荆门 448000; 3. 安琪酶制剂(宜昌)有限公司, 湖北 宜昌 443000)

摘要: [目的] 以山楂为原料, 利用高活性植物乳杆菌和酿酒酵母混合菌种发酵制备山楂酵素, 并对其发酵工艺和体外生物活性进行研究。[方法] 以酸度、可溶性固形物含量、超氧化物歧化酶 SOD 酶活为试验指标, 研究料液比、混合菌种接种量、初始糖度、发酵时间、发酵温度对山楂酵素品质的影响, 通过响应面试验确定山楂酵素的最佳发酵工艺条件, 并分析山楂酵素的体外生物活性。[结果] 山楂酵素发酵最佳工艺条件为料液比 1:3 (g/mL)、混合菌种接种量 5.5%、初始糖度 11.4%、发酵时间 102 h、发酵温度 32 °C, 此条件下得到的酵素酸度为 (21.82±0.26) mg/mL (以乳酸计), 可溶性固形物含量为 (10.75±0.29)%, SOD 酶活为 (26.45±0.31) U/mL。此外, 该酵素具有明显的 DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟自由基清除能力, 以及胰脂肪酶抑制活性。[结论] 山楂素具有较好的胰脂肪酶抑制活性和抗氧化活性。

关键词: 山楂酵素; 发酵; 酸度; SOD 酶活; 胰脂肪酶; 抗氧化

Optimization of fermentation technology and its in-vitro activity of hawthorn enzyme

MIAO Yuanxin^{1,2} TIAN Jianyang³ BI Jinhua¹ PENG Xinyu¹ GAO Jia¹

(1. Research Institute of Agricultural Biotechnology, Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei 448000, China; 2. Hubei Engineering Research Center for Specialty Flowers Biological Breeding, Jingchu University of Technology, Jingmen, Hubei 448000, China; 3. Angel Enzyme (Yichang) Co., Ltd., Yichang, Hubei 443000, China)

Abstract: [Objective] Hawthorn enzyme was prepared from hawthorn by using the mixed strains of Lactobacillus plant-based and saccharomyces cerevisiae with high activity, and its fermentation process and biological activity in vitro were investigated. [Methods] The effects of solid-liquid ratio, inoculant number of mixed strains, initial sugar degree, fermentation time and fermentation temperature on the quality of hawthorn enzyme were studied with acidity, soluble solid content and superoxide dismutase SOD activity as experimental indexes. The optimal fermentation conditions of hawthorn enzyme were determined by response surface test, and the biological activity of hawthorn enzyme in vitro was analyzed. [Results] The optimum fermentation parameters were liquid-solid ratio 1:3 (g/mL), inoculated amount of mixed fermentation strains 5.5%, initial sugar content 11.4%, fermentation time 102 h and fermentation temperature 32 °C. Under the control of those conditions, the acidity, soluble solids content and SOD activity of hawthorn enzyme were (21.82±0.26) mg/mL, (10.75±0.29)%, (26.45±0.31) U/mL, respectively. In addition, hawthorn enzyme had obvious scavenging ability on DPPH·, ABTS· and ·OH, and some pancreatic lipase inhibitory activities. [Conclusion] The enzyme has good inhibitory activity of pancreatic lipase and antioxidant activity.

Keywords: hawthorn enzyme; fermentation; acidity; superoxide dismutase activity; pancreatic lipase; antioxidant activity

山楂(*Crataegus pinnatifida* Bunge), 又称“仙果”“山里红”, 味酸、甘、性微温, 入脾、胃、肝经, 具有消食健胃、行气散瘀和化浊降脂的功效, 是一种药食同源类植物^[1]。Alirezalu 等^[2-3]研究发现, 山楂中含有丰富的有机酸、维生素 C、矿物质元素等, 同时含有大量的黄酮、多酚、原花青素、多糖、超氧化物歧化酶(SOD)等活性物质; 董嘉琪等^[4-5]

基金项目: 湖北省科技厅面上项目(编号: 2022CFB021); 特色花卉生物育种湖北省工程研究中心开放课题(编号: 2022ZD005); 湖北省大学生创新项目(编号: S200311336039)

通信作者: 缪园欣(1988—), 女, 荆楚理工学院副教授, 博士。E-mail: 849567331@qq.com

收稿日期: 2024-02-26 **改回日期:** 2024-07-04

研究发现,山楂具有开胃健脾、降糖、降脂等多种药理功效。在中国,山楂食用历史悠久,常制成山楂片、山楂糕、果丹皮等产品食用。

酵素是一种富含维生素、酶等生物活性物质的发酵产品^[6],具有增强代谢、抗菌、抗疲劳、通肠润便等功效^[7-8]。目前,酵母菌、植物乳杆菌常被用于生产酵素,由于这两种菌种中酶类物质丰富,代谢过程中能使有机酸、醇类、氨基酸等代谢产物含量增加,从而提高饮品营养价值,改善饮品风味和感官品质,因此被广泛应用于果蔬发酵饮料生产^[9-10]。由于酵素属于功能性饮品,深受年轻人的喜爱,市面上的酵素产品日新月异,在很大程度上提高了果蔬产品的附加值。山楂酵素作为一种微生物发酵饮品,富含总酚、黄酮、有机酸等功能成分,具有抗氧化功效^[11-12]。张巧等^[12]研究了不同菌种对山楂酵素的影响,结果显示,3菌种发酵产生的酵素感官品质优于双菌种发酵的。杨洋^[13]从红茶菌中筛选菌种进行山楂发酵,并对其发酵工艺进行了优化。而对于山楂酵素发酵过程中SOD酶活性变化及山楂酵素的胰脂肪酶抑制活性和抗氧化活性有待进一步研究。研究拟选用高活性植物乳杆菌和酿酒酵母对山楂进行双菌种混菌发酵制备山楂酵素,通过响应面法优化山楂酵素的发酵工艺,并对酵素的体外抗氧化能力、降脂能力进行研究,为山楂酵素的开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜成熟山楂:市售;
植物乳杆菌:西安米尔先生物科技有限公司;
酿酒酵母:安琪酵母股份有限公司;
亚硝酸钠:分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;
福林酚试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;
结晶氯化铝、氢氧化钠:分析纯,天津市福晨化学试剂厂;
无水碳酸钠:分析纯,天津市广成化学试剂有限公司;
1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH):默克西格玛公司;
维生素C(V_C):分析纯,北京博奥拓达有限公司;
胰脂肪酶:15~35 U/mg,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;
纤维素酶(50 000 U/g)、果胶酶(40 000 U/g):北京索莱宝科技有限公司;
SOD试剂盒:南京建成生物工程研究所;
芦丁标准品:分析纯,云科生物技术有限公司;
没食子酸:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;
其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

双光束紫外分光光度计:TU-1901型,北京普析通用仪器有限公司;
生化培养箱:BSP-100型,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;
破壁机:P155型,九阳股份有限公司;
酶标仪:SN-ERA-104G型,上海尚普仪器设备有限公司;
恒温培养箱:DH-600型,北京科伟永兴仪器公司;
电子分析天平:FA224C型,上海力辰邦西仪器科技有限公司;
折射式糖度计:DLX-ART050型,上海德力西集团有限公司。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程及操作要点

山楂→预处理→清洗打浆→酶解→成分调整→巴氏杀菌→接种活化的混合菌种→发酵→过滤除菌→山楂酵素成品

操作要点:

(1) 预处理、清洗打浆:挑选新鲜,无霉变、无病虫害的山楂,用清水洗净后晾干表面水分,按照一定的料液比加入蒸馏水打浆,得到山楂果浆。

(2) 酶解:向山楂果浆中加入0.4%的纤维素酶和果胶酶复合酶($m_{\text{纤维素酶}}:m_{\text{果胶酶}}$ 为1:1)进行酶解。

(3) 成分调整:向酶解后的山楂果浆中加入白砂糖糖粉,调节果浆的糖度。

(4) 巴氏杀菌:85℃灭菌15 min后冷却至室温。

(5) 酿酒酵母活化:取适量的酿酒酵母,按照料液比1:10(g/mL)加入35℃无菌水,混匀,30℃下培养至对数生长期,离心得到湿菌体,待用。

(6) 植物乳杆菌活化:挑取植物乳杆菌单菌落,加至MRS肉汤培养基中,37℃下扩大培养,至对数生长期时离心得到湿菌体,待用。

(7) 混合发酵菌种制备:将上述活化制备的酵母菌和植物乳杆菌湿菌体以 $V_{\text{酵母菌}}:V_{\text{植物乳杆菌}}$ 为1:1混合,待用。

(8) 接种:向果浆中接种一定量的混合发酵菌种。

(9) 发酵、过滤除菌:将接种后的果浆置于恒温培养箱中静置培养一定时间,发酵完成后,8 000 r/min离心10 min,上清液于无菌条件下过0.22 μm滤膜,得到山楂酵素成品。

1.3.2 山楂酵素发酵单因素试验 以山楂酵素的酸度、可溶固形物含量及SOD酶活为评价指标,考察料水比[1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6(g/mL)]、混合菌种接种量(1%, 3%, 5%, 7%, 9%)、初始糖度(7%, 9%, 11%, 13%, 15%)、发酵时间(48, 72, 96, 120, 144 h)、发酵温度(28, 30, 32, 34, 36℃)对山楂酵素品质的影响。固定料水比1:3(g/mL),

混合菌种接种量 5%, 初始糖度 11%, 发酵温度 32 °C, 发酵时间 96 h。

1.3.3 响应面优化试验 根据 Box-Behnken 试验设计原理, 选择混合菌种接种量、初始糖度和发酵时间为自变量, 以 SOD 酶活为响应值, 进行三因素三水平响应面优化试验。

1.3.4 SOD 酶活测定 参照 SOD 试剂盒说明书。

1.3.5 酸度测定 酵素酸度为扣除初始含酸量后的酸度, 以乳酸计。

1.3.6 可溶固形物含量测定 使用折射式糖度计按照说明书测定。

1.3.7 DPPH 自由基清除率测定 取 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/mL 的发酵后山楂酵素样品溶液各 2 mL, 分别加入 0.1 mmol/L 的 DPPH 工作液 2 mL, 震荡混匀后避光反应 20 min, 测定 517 nm 处吸光度。用无水乙醇代替 DPPH 为对照组, 用纯水代替样品溶液为空白组, V_c 作阳性对照。所有样品重复测定 3 次, 按式(1)计算 DPPH 自由基清除率^[14]。

$$R = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0} \right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R ——自由基清除率, %;

A_0 ——空白组吸光度;

A_1 ——对照组吸光度;

A_2 ——样品液吸光度。

1.3.8 ABTS 自由基清除率测定 取 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/mL 的发酵后山楂酵素样品溶液各 2 mL, 分别加入 ABTS 工作液 2 mL, 震荡混匀后避光反应 6 min, 测定 734 nm 处吸光度值, 以 V_c 为阳性对照, 无水乙醇代替 ABTS 为对照组, 纯水代替样品溶液为空白组。所有样品重复测定 3 次, 按式(1)计算 ABTS 自由基清除率^[15]。

1.3.9 羟自由基清除率测定 取 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/mL 的发酵后山楂酵素样品溶液各 2 mL, 分别加入 6 mmol/L 硫酸亚铁 2.0 mL、6 mmol/L 过氧化氢 2.0 mL、6 mmol/L 水杨酸 2 mL, 混匀静置 30 min, 测定 510 nm 处吸光度值。以 V_c 为阳性对照, 蒸馏水代替水杨酸为对照组, 纯水代替样品溶液为空白组。所有样品重复测定 3 次, 按式(1)计算羟自由基清除率^[16]。

1.3.10 胰脂肪酶抑制活性测定 按表 1 加入 PBS、胰脂肪酶溶液和样品溶液至 96 孔板中, 37 °C 恒温孵育 15 min, 加入 100 μ L 棕榈酸对硝基苯酯作为水溶性底物, 37 °C 继续孵育 15 min。使用酶标仪测定 405 nm 处吸光值。以奥司他他为阳性对照, 按式(2)计算脂肪酶抑制率^[17]。

$$c = \left(1 - \frac{B - b}{A - a} \right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

表 1 胰脂肪酶活性测定反应体系

| Table 1 Reaction system for determination of lipase activity | | | | μ L |
|--|-----|-----|-----|---------|
| 组别 | PBS | 底物 | 样品液 | 胰脂肪酶 |
| 对照试验组 | 50 | 100 | 0 | 50 |
| 对照空白组 | 100 | 100 | 0 | 0 |
| 样品试验组 | 30 | 100 | 20 | 50 |
| 样品空白组 | 80 | 100 | 20 | 0 |

C ——胰脂肪酶抑制率, %;

B ——样品组吸光度值;

b ——样品空白组吸光度值;

A ——对照试验组吸光度值;

a ——对照空白组吸光度值。

1.4 数据处理

使用 Origin 2019 软件进行数据处理; 通过 Design-Expert 10.0.3 软件进行响应面试验设计和数据分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 料液比对山楂酵素品质的影响 由图 1 可知, 随着料液比的增加, 总酸度(扣除初始含酸量后酸度)和 SOD 酶活呈先上升后降低趋势, 而可溶固形物含量呈先降低后增加趋势。料液比较低时, 由于酵素原液过于浓稠, 水分活度和溶解氧较少, 使得菌种生长受到抑制, 营养物质消耗较少, 因此酸度和 SOD 酶活较低, 可溶固形物含量较高。随着料液比的增加, 菌种逐渐活跃, 营养物质消耗增加, 代谢产物和内容物释放增加, 此时酸度和 SOD 酶活较高, 而可溶固形物含量降低。当料液比 $> 1:3$ (g/mL) 时, 酵素原液过稀, 山楂果汁含量较少, 原液中营养物质不足, 菌种生长受限, 故发酵速度减缓, 产酸减少; 同时山楂果汁减少, 使得酵素中产物含量低, SOD 酶活降低。因此, 料液比选择 1:3 (g/mL) 较为合适。

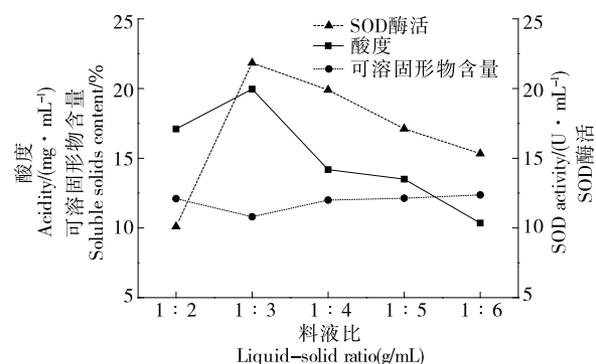


图 1 料液比对山楂酵素品质的影响

Figure 1 Effects of liquid-solid ratio on the quality of hawthorn enzyme

2.1.2 混合菌种接种量对山楂酵素品质的影响 由图 2 可知,随着混合菌种接种量的增加,酵素中酸度和 SOD 酶活逐渐增加,当接种量为 5% 时,酸度和 SOD 酶活力最高,随着接种量的进一步增加,酸度和 SOD 酶活呈下降趋势。当菌种接种量较少时,由于菌体数目较少,菌种生长繁殖所需时间长,发酵较为迟缓,产酸量较低;同时由于有机酸含量较低,不利于活性物质保存,使得 SOD 酶活较低。当接种量 > 5% 时,由于接种量过高,生长繁殖较为迅速,营养物质和氧气消耗过快,使得菌体自溶,发酵受阻,故可溶固形物含量越来越低,酸度和 SOD 酶活也逐渐降低^[18]。因此,选择混合菌种接种量为 5%。

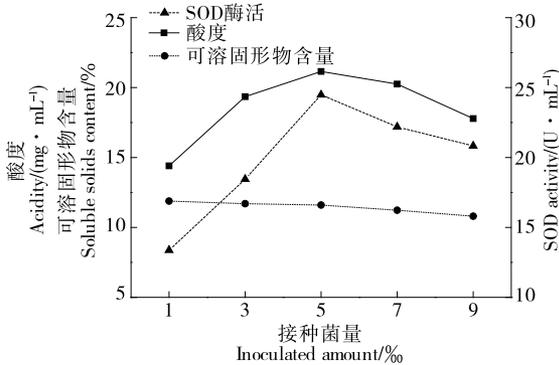


图 2 混合菌种接种量对山楂酵素品质的影响

Figure 2 Effects of inoculated amount of mixed fermentation strains on the quality of hawthorn enzyme

2.1.3 初始糖度对山楂酵素品质的影响 由图 3 可知,随着初始糖度的增加,可溶固形物含量增加。酵素总酸度和 SOD 酶活随初始糖度的增加逐渐上升,并在 11% 时达到最高,但当初始糖度过高时,酸度和 SOD 酶活迅速下降。初始糖度添加量较低时,酵素中产物少,酸度和 SOD 酶活性较低^[18-19]。当初始发酵液中糖度超过 11% 时,糖分子与生物活性物质争夺水分子,影响活性物质的释放,使得 SOD 酶活逐渐降低,而糖度过高会导致酵素液的渗透压升高,抑制菌种生长发酵,从而影响酵素中有机酸的产生^[20-21]。因此,选择初始糖度为 11%。

2.1.4 发酵时间对山楂酵素品质的影响 由图 4 可知,随着发酵时间的延长,酵素的 SOD 酶活呈先增加后降低趋势,并在发酵第 96 h 达到最大值;酵素的酸度随发酵时间的变化呈先上升后趋于平稳的趋势,而可溶固形物含量随发酵时间的延长逐渐降低。发酵前期,由于发酵液中营养物质充足,菌种生长良好,故发酵产酸较多、SOD 酶活高;而发酵后期营养物质被消耗殆尽,菌种生长减缓,发酵效果变差,次级代谢产物增加,SOD 酶活降低^[22]。当发酵时间为 4 d 时,酵素中的酸度和 SOD 酶活最高。

2.1.5 发酵温度对山楂酵素品质的影响 由图 5 可知,随

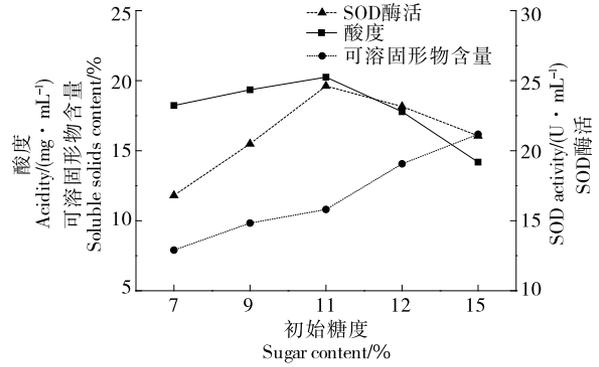


图 3 初始糖度对山楂酵素品质的影响

Figure 3 Effects of sugar content on the quality of hawthorn enzyme

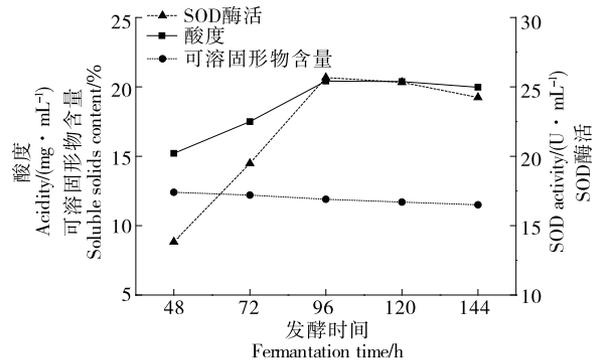


图 4 发酵时间对山楂酵素品质的影响

Figure 4 Effects of fermentation time on the quality of hawthorn enzyme

随着发酵温度的升高,可溶固形物含量呈先减少后略增加的趋势。而山楂酵素的酸度和 SOD 酶活随着发酵温度的升高呈先增加后下降的趋势,这是由于发酵温度较低时,菌种代谢速率较慢,使得发酵不完全,而较高的温度会抑制菌种生长代谢以及酶活,从而使得酸度和 SOD 酶活下降^[23]。当发酵温度为 32 °C 时,酵素的酸度和酶活最高。

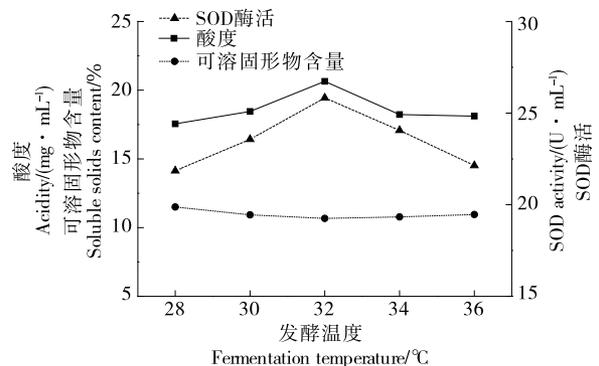


图 5 发酵温度对山楂酵素品质的影响

Figure 5 Effects of fermentation temperature on the quality of hawthorn enzyme

2.2 响应面试验

根据 Box-Behnken 试验设计原理,在单因素试验基础上固定料液比 1:3 (g/mL)、发酵温度 32 °C,选择混合菌种接种量、初始糖度和发酵时间为自变量建立响应面回归模型,以 SOD 酶活性为响应值,优化山楂酵素的发酵工艺。响应面试验因素水平见表 2,试验设计及结果见表 3。

表 2 响应面试验因素水平表

Table 2 Response surface test design factor horizontal coding table

| 水平 | A 混合菌种接种量/% | B 初始糖度/% | C 发酵时间/h |
|----|-------------|----------|----------|
| -1 | 3 | 9 | 72 |
| 0 | 5 | 11 | 96 |
| 1 | 7 | 13 | 120 |

表 3 响应面试验方案及结果

Table 3 Response surface analysis test scheme and results

| 试验号 | A | B | C | SOD 酶活/(U·mL ⁻¹) |
|-----|----|----|----|------------------------------|
| 1 | 1 | -1 | 0 | 15.79 |
| 2 | 0 | 0 | 0 | 17.66 |
| 3 | 1 | 0 | -1 | 20.67 |
| 4 | -1 | 0 | 1 | 21.28 |
| 5 | 0 | -1 | 1 | 19.56 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 16.64 |
| 7 | 0 | 1 | -1 | 14.77 |
| 8 | 0 | 1 | 1 | 26.34 |
| 9 | 1 | 0 | 1 | 25.71 |
| 10 | -1 | -1 | 0 | 13.82 |
| 11 | -1 | 1 | 0 | 12.16 |
| 12 | 1 | 1 | 0 | 26.34 |
| 13 | 0 | -1 | -1 | 21.59 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 24.84 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 22.49 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 25.64 |
| 17 | -1 | 0 | -1 | 15.65 |

采用 Design-Expert 10.0.03 软件对响应面试验结果进行多元回归拟合,得到回归模型方程为:

$$Y=25.77+2.01A+0.78B+3.11C-0.06AB+0.33AC+0.27BC-4.26A^2-2.92B^2-4.97C^2. \quad (3)$$

由表 4 可知,模型 P 值 $<0.000 1$,极显著;失拟项 P 值 $=0.237 2 >0.05$,不显著,表示 SOD 酶活与其他变量之间的对应关系良好,说明模型构建成功;决定系数为 0.988 8,用此模型可以较好地描述和分析试验结果,校正决定系数 R^2_{Adj} 为 0.974 8,说明有约 97.48% 的 SOD 酶活可

用该模型解释; $R^2_{Pred}=0.883 0$,说明该模型的预测能力较好。一次项 A、C 和二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 差异极显著 ($P < 0.01$);一次项 B 差异显著 ($P < 0.05$)。根据 F 值可知,各因素对山楂酵素 SOD 酶活的影响顺序为发酵时间 $>$ 混合菌种接种量 $>$ 初始糖度。

表 4 回归模型方差分析[†]

Table 4 Analysis of variance of regression model

| 方差来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 | 显著性 |
|-------|--------|-----|--------|--------|------------|-----|
| 模型 | 355.59 | 9 | 39.51 | 68.89 | $<0.000 1$ | ** |
| A | 32.24 | 1 | 32.24 | 56.21 | 0.000 1 | ** |
| B | 4.84 | 1 | 4.84 | 8.43 | 0.022 9 | * |
| C | 77.50 | 1 | 77.50 | 135.12 | $<0.000 1$ | ** |
| AB | 0.01 | 1 | 0.01 | 0.03 | 0.878 6 | |
| AC | 0.44 | 1 | 0.44 | 0.76 | 0.412 4 | |
| BC | 0.30 | 1 | 0.30 | 0.53 | 0.491 3 | |
| A^2 | 76.30 | 1 | 76.30 | 133.04 | $<0.000 1$ | ** |
| B^2 | 35.95 | 1 | 35.95 | 62.68 | $<0.000 1$ | ** |
| C^2 | 104.09 | 1 | 104.09 | 181.48 | $<0.000 1$ | ** |
| 残差 | 4.01 | 7 | 0.57 | | | |
| 失拟项 | 2.48 | 3 | 0.83 | 2.15 | 0.236 2 | 不显著 |
| 纯误差 | 1.54 | 4 | 0.38 | | | |
| 总离差 | 359.61 | 16 | | | | |

† * 为显著 ($P < 0.05$), ** 为极显著 ($P < 0.01$); $R^2=0.988 8$, $R^2_{Adj}=0.974 8$, $R^2_{Pred}=0.883 0$ 。

由响应面分析软件得出的最优工艺参数为混合菌种接种量 5.558%,初始糖度 11.395%,发酵时间 105 h,此时 SOD 酶活为 26.562 U/mL。为方便实际操作,修订最佳工艺条件为混合菌种接种量 5.5%,初始糖度 11.4%,发酵时间 102 h,在此条件下进行 3 次验证实验,测得的酸度为 (21.82 ± 0.26) mg/mL,可溶固形物含量为 $(10.75 \pm 0.29)\%$,SOD 酶活为 (26.45 ± 0.31) U/mL,与软件预测值较为接近,表明该回归方程拟合良好,准确度较高,可用于预测山楂酵素的最佳工艺。

2.3 山楂酵素的体外抗氧化活性

由图 6 可知,山楂酵素对 DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟自由基均有一定的清除作用,且在试验浓度范围内,随着山楂酵素质量浓度的增加,DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟自由基清除率增加。当山楂酵素质量浓度为 30 mg/mL 时,其 DPPH 自由基、ABTS 自由基和羟自由基清除率分别为 $(84.34 \pm 1.64)\%$, $(93.97 \pm 1.35)\%$, $(85.57 \pm 1.74)\%$,而同浓度下 V_c 的清除率分别为 $(95.89 \pm 1.67)\%$, $(95.42 \pm 1.23)\%$, $(92.78 \pm 0.93)\%$,说明山楂酵素具有较强的体外抗氧化活性。

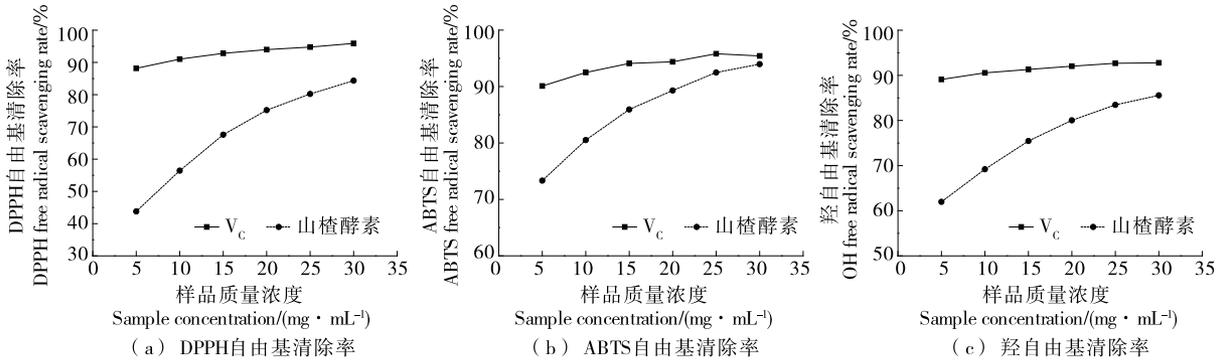


图 6 酵素样品的抗氧化性

Figure 6 The antioxidant activity of hawthorn enzyme

2.4 山楂酵素的体外降脂活性

由图 7 可知,试验范围内,山楂酵素对胰脂肪酶有一定的抑制作用,其对胰脂肪酶的抑制作用具有浓度依赖性,抑制率随质量浓度的增加而增加,且始终低于相同浓度的 Vc。当山楂酵素质量浓度为 30 mg/mL 时,其胰脂肪酶抑制率为(42.50±1.16)%,明显低于该浓度下奥利司他的胰脂肪酶抑制率[(90.87±1.46)%]。

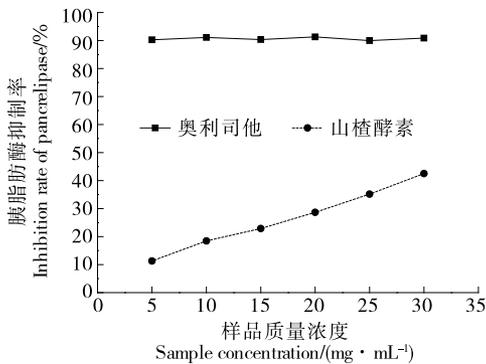


图 7 酵素样品和奥利司他对胰脂肪酶的抑制率

Figure 7 Inhibition rate of pancreatic by hawthorn enzyme and orlistat

3 结论

研究以山楂为原料,经高活性植物乳杆菌和酿酒酵母混合菌种发酵制备山楂酵素。结果表明,山楂酵素的最好发酵条件为料液比 1:3 (g/mL)、混合菌种接种量 5.5%,初始糖度 11.4%,发酵时间 102 h,发酵温度 32 ℃,此条件下的酵素酸度为(21.82±0.26) mg/mL(以乳酸计),可溶固形物含量为(10.75±0.29)%,SOD 酶活为(26.45±0.31) U/mL。此外,山楂酵素在一定质量浓度下具有较好的抗氧化性和胰脂肪酶抑制性,并呈浓度依赖性。后续可对山楂酵素的体内抗氧化性和胰脂肪酶抑制性进行探索。

参考文献

[1] WEI Z Q, AI L, CHEN X, et al. Comparative studies on the regulatory effects of raw and charred hawthorn on functional dyspepsia and intestinal flora[J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2019, 18(2): 333-339.

[2] ALIREZALU A, AHMADI N, SALEHI P, et al. Physicochemical characterization, antioxidant activity, and phenolic compounds of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits species for potential use in food applications[J]. Foods, 2020, 9(4): 436.

[3] VENSUKUTONIS P R. Phytochemical composition and bioactivities of hawthorn (*Crataegus* spp.): review of recent research advances[J]. Journal of Food Bioactives, 2018, 4: 69-87.

[4] 董嘉琪, 陈金鹏, 龚苏晓, 等. 山楂的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-Marker)预测[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2 801-2 818. DONG J Q, CHEN J P, GONG S X, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Crataegi fructus* and predictive analysis on Q-Marker[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(9): 2 801-2 818.

[5] LI T P, CHEN X J, HUANG Z, et al. Pectin oligosaccharide from hawthorn fruit ameliorates hepatic inflammation via NF-κB inactivation in high-fat diet fed mice[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 57: 345-350.

[6] 张海燕, 康三江, 曾朝珍, 等. 响应面法优化沙棘酵素多菌种发酵工艺[J]. 中国酿造, 2023, 42(10): 207-213. ZHANG H Y, KANG S J, ZENG C Z, et al. Optimization of multi-strain fermentation process of sea buckthorn Jiaosu by response surface methodology[J]. China Brewing, 2023, 42(10): 207-213.

[7] 余萍, 惠美星, 李东红, 等. 综合果蔬酵素发酵工艺优化及其润肠通便功能评价[J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 383-391. YU P, HUI M X, LI D H, et al. Optimization of fermentation technology of integrated fruit and vegetable enzyme and evaluation of its function of nourishing bowel and defecating[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(8): 383-391.

[8] 商曰玲, 王清, 吴燕铃, 等. 特种沙棘酵素的制备及其体外降

- 脂性能分析[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(22): 61-67.
- SHANG Y L, WANG Q, WU Y L, et al. Seabuckthorn Jiaosu: preparation and lipid-lowering performance *in vitro*[J]. Food Research and Development, 2023, 44(22): 61-67.
- [9] 刘佳伊, 吕欣然, 李婧, 等. 植物乳杆菌 DL3 对腐败希瓦氏菌的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2020, 20(12): 90-95.
- LIU J Y, LU X R, LI J, et al. Antibacterial effect of *Lactobacillus plantarum* DL3 against *Shewanella putrefaciens* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(12): 90-95.
- [10] 朱珺, 钱永清, 孙盛, 等. 一株具有益生特性的植物乳杆菌及其在发酵果蔬汁中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(20): 197-201.
- ZHU J, QIAN Y Q, SUN S, et al. A probiotic *Lactobacillus plantarum* for vegetable and fruit juice fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(20): 197-201.
- [11] 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.
- HUANG H, ZHOU Y, CHEN J H, et al. Effect of lactic acid bacteria fermentation on physicochemical properties, phenolic compounds, antioxidant activity and volatile components of hawthorn juice[J]. Food Science, 2022, 43(10): 97-106.
- [12] 张巧, 柯博芳, 唐小闲, 等. 不同发酵菌种对大果山楂酵素品质的影响[J]. 食品工业, 2020, 41(6): 162-166.
- ZHANG Q, KE B F, TANG X X, et al. Effects of different fermentation strains on the quality of *Malus domeri* (Bois) Chev. enzyme drink[J]. The Food Industry, 2020, 41(6): 162-166.
- [13] 杨洋. 双菌种发酵山楂酵素及其功能性研究[D]. 天津: 天津农学院, 2020: 28-53.
- YANG Y. Study on the fermentation of hawthorn fermented product by two strains and its antioxidant activity[D]. Tianjin: Tianjin Agricultural University, 2020: 28-53.
- [14] 夏宁, 谢春阳, 黄威, 等. 响应面法优化花生红衣原花青素提取工艺及抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(20): 98-105.
- XIA N, XIE C Y, HUANG W, et al. Procyanidins in peanut red coat: optimization of extraction process by response surface methodology and antioxidant activity[J]. Food Research and Development, 2023, 44(20): 98-105.
- [15] 宁楚洁, 赵倩, 谢春阳, 等. 玉米须果蔬复合酵素饮料的研制及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(20): 116-122.
- NING C J, ZHAO Q, XIE C Y, et al. Extraction of functional components from corn stigma and preparation of corn stigma, fruit and vegetable complex enzyme beverage[J]. Food Research and Development, 2019, 40(20): 116-122.
- [16] 熊磊, 陈慧, 胡文兵, 等. 黄金茶多糖超声提取工艺及体外抗氧化研究[J]. 江西农业大学学报, 2017, 39(4): 801-809.
- XIONG L, CHEN H, HU W B, et al. A study on ultrasonic extraction technology for gold tea polysaccharide and its ecto antioxidant activity[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2017, 39(4): 801-809.
- [17] 李亦龙, 尚铂昊, 王建辉, 等. 荷叶活性成分及其药理功能研究进展[J]. 食品与机械, 2022, 38(12): 218-225.
- LI Y L, SHANG B H, WANG J H, et al. Research progress on active ingredients and pharmacological functions of lotus leaf [J]. Food & Machinery, 2022, 38(12): 218-225.
- [18] 张海燕, 康三江, 袁晶, 等. 苹果酵素自然发酵工艺优化及品质分析[J]. 中国酿造, 2020, 39(10): 145-151.
- ZHANG H Y, KANG S J, YUAN J, et al. Natural fermentation process optimization and quality analysis of apple enzyme[J]. China Brewing, 2020, 39(10): 145-151.
- [19] 赵敏, 王瑜, 杨娟, 等. 天麻酵素的发酵工艺优化与品质评价[J]. 中国酿造, 2022, 41(10): 177-182.
- ZHAO M, WANG Y, YANG J, et al. Optimization of fermentation process and quality evaluation of *Gastrodia elata* Jiaosu[J]. China Brewing, 2022, 41(10): 177-182.
- [20] 冯彦君, 张愨, 韩宇斌. 麦苗酵素发酵工艺的优化及其抗氧化功能[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(2): 165-170.
- FENG Y J, ZHANG M, HAN Y B. Optimization of the fermentation process of barley ferment and study on its antioxidant properties[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 37(2): 165-170.
- [21] 杨彬彦, 党娅, 黎坤怡. 蓝莓酵素复合菌种发酵工艺优化及品质分析[J]. 中国酿造, 2023, 42(12): 165-169.
- YANG B Y, DANG Y, LI K Y. Optimization of fermentation process and quality analysis of blueberry Jiaosu by mixed strains[J]. China Brewing, 2023, 42(12): 165-169.
- [22] 王印壮, 费鹏, 马艳莉, 等. 黄精山楂复合酵素发酵工艺优化及品质变化[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(19): 124-133.
- WANG Y Z, FEI P, MA Y L, et al. Optimization of fermentation process and quality change of *Polygonatum sibiricum*-hawthorn compound enzyme[J]. Food Research and Development, 2022, 43(19): 124-133.
- [23] 王虹玲, 丁昊, 安东平, 等. 软枣猕猴桃复合酵素饮料的发酵及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(12): 130-135.
- WANG H L, DING H, AN D P, et al. Research on fermentation process of *Actinidia arguta* complex ferment beverage and its antioxidant activities[J]. Food Research and Development, 2021, 42(12): 130-135.