

高抗氧化活性大果山楂发酵液的发酵工艺优化

Optimization on fermentation process of high antioxidant activity of *Malus doumeri* fruits beverage

程天德¹ 谢庆彤² 游丽君²

CHENG Tian-de¹ XIE Qing-tong² YOU Li-jun²

(1. 清远职业技术学院食品药品学院, 广东 清远 511510; 2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东 广州 510640)

(1. School of Food and Drug, Qingyuan Polytechnic, Qingyuan, Guangdong 511510, China; 2. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

摘要:采用主成分分析法确定大果山楂发酵液的抗氧化能力综合评价模型,以大果山楂发酵液的综合抗氧化能力值为依据,采用单因素试验和响应面优化设计来确定最佳的发酵工艺条件。结果显示:大果山楂发酵液的抗氧化能力评价模型为 $F_{\text{综合}} = 1.214 \cdot 2 \times (0.386 \cdot 2F_1 + 0.241 \cdot 2F_2 + 0.196 \cdot 2F_3)$, 最佳发酵工艺参数为起始 pH 5.0, 发酵温度 30 °C, 大果山楂添加量 20 g/100 mL 发酵液、鼠李糖乳杆菌接种量 5 mL/100 mL 发酵液、发酵时间 28 d, 大果山楂发酵液的 $F_{\text{综合}} = 3.42$ 。

关键词:大果山楂; 发酵液; 抗氧化; 主成分分析法

Abstract: The comprehensive evaluation model of antioxidant capacity of *Malus doumeri* fruits beverage was determined by principal component analysis. Based on the antioxidant capacity of fermented beverage of *Malus doumeri* fruits, the single factor test and the response surface methodology were used to find out optimal fermentation conditions. Results showed that the comprehensive antioxidant capacity of *Malus doumeri* fruits fermented beverage was $F_{\text{综合}} = 1.214 \cdot 2 \times (0.386 \cdot 2F_1 + 0.241 \cdot 2F_2 + 0.196 \cdot 2F_3)$. The optimal fermentation parameters of antioxidant fermented beverage of *Malus doumeri* fruits were: starting at pH 5.0, fermentation temperature 30 °C, adding 20 g/100 mL of *Malus doumeri* fruits, inoculating 5 mL/100 mL of LGG, fermentation time 28 d, $F_{\text{综合}} = 3.42$.

Keywords: *Malus doumeri* fruits; fermentation; antioxidant; principal component analysis

大果山楂是一种有着悠久历史的药食两用水果,与中国传统中药山楂具有相似的成分和功效,在欧洲、中国和美国等地均有种植,已被证实具有抗氧化和降血脂等功效^[1-3]。大果山楂既可鲜食,也可加工成山楂粉、山楂果脯、山楂干、山楂饼、山楂酒、山楂醋、山楂罐头等^[4-6]。虽然大果山楂具有较高的营养价值,但由于大果山楂的味道酸涩,山楂干、山楂饼等粗加工产品难以被消费者广泛接受,因此需要研究可以改善大果山楂风味的深加工技术。杨静云等^[7]研究了山楂固态发酵工艺,王彦安^[8]研究了山楂果醋发酵工艺,张巧等^[9-10]研究了大果山楂酵素发酵工艺,上述研究结果均表明大果山楂经发酵处理后风味得到了改善,但由于其采用的是固态发酵工艺和自然菌种发酵,加工过程耗时长,产品质量不稳定,且没有对能够体现大果山楂主要功效的抗氧化能力进行系统研究,不利于产品的功能性评价。为了深入研究大果山楂液体深层发酵工艺,得到质量稳定、总体抗氧化能力强的大果山楂发酵液,研究拟采用主成分分析法构建大果山楂发酵液抗氧化能力综合评价模型,以大果山楂发酵液的综合抗氧化能力值为评价指标,优化高抗氧化活性大果山楂发酵液的发酵工艺条件,旨在为大果山楂抗氧化类功能食品的研究与开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 大果山楂

采摘于广东省连山县某大果山楂种植基地(2019年10月),鲜大果山楂采摘后于4 °C冰箱中保存待用。

1.2 主要试剂

鼠李糖乳杆菌(CBS98073):广东环凯微生物科技有限公司;

福林酚试剂、2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)、2,2-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS):分析纯,美

基金项目:广东省农村科技特派员专项(编号:KTP20190191);广东省普通高校特色创新项目(自然科学)(编号:2018GKTSCX116)

作者简介:程天德,男,清远职业技术学院副教授,硕士。

通信作者:游丽君(1982—),女,华南理工大学副教授,博士生导师,博士。E-mail: feyoulijun@scut.edu.cn

收稿日期:2020-06-30

国 Sigma 公司;

没食子酸、儿茶素、维生素 E 水溶性类似物 (Trolox): 标准品, 美国 Sigma 公司;

熊果酸、抗坏血酸: 标准品, 上海纯晶生化科技股份有限公司;

四氯对苯醌、硼氢化钠: 分析纯, 生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.3 主要仪器

高速组织捣碎机: DS-1 型, 上海精科实业有限公司;

高压灭菌锅: LDZF-100L-III 型, 上海申安医疗器械厂;

多功能提取浓缩机组: EC-02A 型, 杭州恩创机械有限公司;

发酵罐: ZY-800 型, 上海紫裕生物科技有限公司;

离心机: TGL-20M 型, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

分光光度计: UV1800 型, 上海菁华科技仪器有限公司;

氮吹仪: PGG-01G 型, 天津艾维欧科技发展有限公司;

旋涡混合仪: MS1 型, 德国 IKA 公司;

多功能酶标仪: Filter Max F 型, 美国 Molecular 公司。

1.4 试验方法

1.4.1 菌种活化培养 鼠李糖乳杆菌于一 80 °C 冰箱中保存备用, 试验前将鼠李糖乳杆菌接种到 MRS 肉汤培养基中活化传代, 37 °C 静置培养 24 h, 取培养液于 4 °C、4 500 r/min 离心 20 min, 收集菌体, 用 0.85% 的生理盐水洗涤 2 次, 混匀制成菌悬液 ($>10^9$ CFU/mL) 供后续试验使用。

1.4.2 发酵工艺

(1) 工艺流程:

大果山楂 → 洗净 → 去核 → 打浆 → 调配 → 灭菌 → 接种 → 发酵 → 离心 → 大果山楂发酵液

(2) 操作要点: 选取设定量的大果山楂清洗晾干, 去核去梗打浆后置于 60 L 0.2% 的抗坏血酸溶液中护色, 加入 2.5 kg 白砂糖混合均匀后转移至 100 L 发酵罐中, 121 °C 灭菌 20 min, 冷却至室温, 用 2 mol/L 的 HCl (或 NaOH) 溶液调节 pH 至设定值, 接入设定量的鼠李糖乳杆菌 (LGG) 菌悬液, 于设定温度下进行发酵。

1.4.3 指标测定

(1) 总酚含量: 采用 Folin-Ciocalteu 比色法^[11], 分别采用 50, 100, 150, 200, 250, 300 $\mu\text{g/mL}$ 的没食子酸溶液在 760 nm 下制作没食子酸标准曲线。线性回归方程为 $y=0.376x+0.032$, $R^2=0.999\ 2$ 。

(2) 总黄酮含量: 采用硼氢化钠-四氯苯醌 (SBC) 比色法^[12], 分别采用 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50,

3.00 mg/mL 的儿茶素标准溶液在 490 nm 下制作儿茶素标准曲线。线性回归方程为 $y=0.481\ 7x+0.005\ 3$, $R^2=0.998\ 9$ 。

(3) 总多酚含量: 参照 Khishova 等^[13] 的方法进行测定, 分别采用 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{g/mL}$ 的熊果酸标准溶液在 548 nm 下制作熊果酸标准曲线。线性回归方程为 $y=0.011\ 2x+0.056$, $R^2=0.995\ 6$ 。

(4) 氧自由基吸收能力 (ORAC): 参照 Wen 等^[14] 的方法进行测定, 以 Trolox 为标准品制作标准曲线, 每个样品平行测定 3 次取平均值。样品的 ORAC 值表示为每克大果山楂干重的 Trolox 当量 ($\mu\text{mol TE/g DW}$)。

(5) 过氧自由基清除能力 (PSC): 参照 Adom 等^[15] 的方法进行测定, 以现配的抗坏血酸 (V_c) 和没食子酸 (GA) 为抗氧化标准物质, 以磷酸缓冲溶液代替抗氧化物质进行空白试验, 每个样品平行测定 3 次取平均值。样品的 PSC 值表示为每克大果山楂干重的 V_c 当量 ($\mu\text{mol VCE/g DW}$)。

(6) DPPH 自由基 (DPPH $\cdot$) 清除率: 参照 Blois^[16] 的方法进行测定, 将待测样品溶液与 2×10^{-4} mol/L 的 DPPH 溶液等体积混合, 室温下静置 30 min, 以蒸馏水作为参比, 于 517 nm 下测定吸光度, 通过计算得出 DPPH 自由基清除率。

(7) ABTS 自由基 (ABTS $^+\cdot$) 清除率: 参照王存堂等^[17] 的方法进行测定, 取 5 mL 7×10^{-3} mol/L 的 ABTS, 加入 8.8 μL 1.4 mol/L 的 $K_2S_2O_8$, 充分混合后静置 16 h 即得 ABTS 工作液。分别取 50 μL 待测液 (相同浓度发酵液) 和 5 mL ABTS 工作液于试管中, 摇匀静置 10 min 后于 734 nm 处测定吸光度, 以不加样品的 ABTS 工作液作为参比, 平行测定 3 次取平均值, 通过计算得出 ABTS 自由基清除率。

1.4.4 抗氧化能力综合评价模型的建立 按 20 g/100 mL 发酵液的大果山楂添加量、5 mL/100 mL 发酵液的 LGG 接种量, 在 25 °C、初始 pH 6.0 的条件下发酵 56 d, 每 7 d 取样一次, 4 500 r/min 离心 10 min, 取上清液检测其总黄酮含量、总酚含量、总三萜含量、ORAC、PSC、DPPH $\cdot$ 和 ABTS $^+\cdot$ 清除能力。参照程天德等^[18] 的方法进行主成分分析, 构建大果山楂发酵液抗氧化能力综合评价模型。

1.4.5 单因素试验

(1) 大果山楂添加量对发酵液抗氧化活性的影响: 在 25 °C、初始 pH 6.0、LGG 接种量 5 mL/100 mL 发酵液的条件下, 分别按 5, 10, 15, 20, 25 g/100 mL 发酵液的量添加大果山楂。

(2) LGG 接种量对发酵液抗氧化活性的影响: 在 25 °C、初始 pH 6.0、大果山楂添加量 20 g/100 mL 发酵液的条件下, 分别按 1, 3, 5, 7, 9 mL/100 mL 发酵液的浓度接种 LGG 菌悬液。

(3) 发酵温度对发酵液抗氧化活性的影响: 在

20 g/100 mL 发酵液的大果山楂添加量、5 mL/100 mL 发酵液的 LGG 接种量、初始 pH 6.0 的条件下,分别在 15,20,25,30,35 ℃ 下进行发酵。

(4) 初始 pH 对发酵液抗氧化活性的影响:在 25 ℃、20 g/100 mL 发酵液的大果山楂添加量、5 mL/100 mL 发酵液的 LGG 接种量的条件下,分别以 pH 2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 的初始 pH 进行发酵。

每组样品均发酵 56 d,每 7 d 取样一次,4 500 r/min 离心 10 min,取上清液检测其总黄酮含量、总酚含量、总三萜含量、ORAC、PSC、DPPH·清除率和 ABTS⁺·清除率,采用大果山楂发酵液抗氧化能力综合评价模型计算出发酵液的抗氧化能力综合评价得分。

1.4.6 响应面优化试验 在单因素试验的基础上,以大果山楂添加量、LGG 接种量、发酵温度和初始 pH 为主要影响因素,以发酵液的抗氧化能力综合评价得分为评价指标设计响应面试验,确定最优的高抗氧化活性大果山楂发酵液发酵工艺条件。

1.5 数据分析

采用 Excel 软件进行数据统计分析,用 Design-Expert 8.0 软件进行响应面分析,各组试验结果数据均以平均数表示。

2 结果与分析

2.1 抗氧化能力综合评价模型

2.1.1 抗氧化指标检测结果 大果山楂发酵液中主要抗氧化指标检测结果如表 1 所示。由表 1 可知,随着发酵时间的延长,总酚、总黄酮和总叁萜含量都有不同程度的提高,发酵液的 ORAC、PSC、DPPH·清除率和 ABTS⁺·清除率也随之提高,说明在试验设定的发酵期限内,大果山楂发酵液的抗氧化能力有所提高。

2.1.2 抗氧化指标统计分析 大果山楂发酵液的抗氧化指标统计分析结果如表 2 所示。由表 2 可知,ABTS⁺·清除率、DPPH·清除率和总黄酮含量 3 个指标的变异系数较高,分别达到 26.67%,16.30%,13.39%,其他指标的变异系数均低于 5%。

2.1.3 抗氧化能力综合评价的主成分分析 为了消除 7 种抗氧化指标之间的量纲和数量级差异,采用标准差标准化法对各指标的检测数据进行标准化处理,即:

$$k = (X - \bar{X}) / b, \tag{1}$$

式中:
k——该指标的标准化值;
X——该指标的测定值;

表 1 大果山楂发酵液主要抗氧化指标检测结果

Table 1 Test results of main antioxidant indexes of *Malus doumeri* fruits fermented beverage

发酵时 间/d	X ₁ 总酚含量/ (mg·g ⁻¹)	X ₂ 总黄酮含量/ (mg·g ⁻¹)	X ₃ 总叁萜含量/ (10 ⁻² mg·g ⁻¹)	X ₄ ORAC/ (μmol TE·g ⁻¹)	X ₅ PSC/ (μmol VCE·g ⁻¹)	X ₆ DPPH· 清除率/%	X ₇ ABTS ⁺ · 清除率/%
0	63.67	41.33	388.66	578.45	282.96	45.58	23.67
7	64.37	43.98	398.32	586.23	297.35	53.26	30.08
14	66.83	47.66	415.86	598.62	308.25	61.78	38.57
21	68.37	54.18	430.58	605.78	316.75	68.74	49.66
28	70.02	58.36	428.82	612.73	319.06	71.88	53.28
35	68.54	59.89	426.22	616.35	321.58	75.13	55.82
42	67.55	59.96	426.59	620.06	323.28	78.23	57.94
49	67.56	60.13	425.38	622.35	322.16	77.08	59.02
56	67.45	60.56	426.21	623.86	322.67	77.15	59.56

表 2 大果山楂发酵液的抗氧化指标统计分析结果[†]

Table 2 Statistical analysis results of antioxidant index of *Malus doumeri* fruits fermented beverage

项目	X ₁ 总酚含量/ (mg·g ⁻¹)	X ₂ 总黄酮含量/ (mg·g ⁻¹)	X ₃ 总叁萜含量/ (10 ⁻² mg·g ⁻¹)	X ₄ ORAC/ (μmol TE·g ⁻¹)	X ₅ PSC/ (μmol VCE·g ⁻¹)	X ₆ DPPH· 清除率/%	X ₇ ABTS ⁺ · 清除率/%
平均值	67.15	54.01	418.52	607.16	312.67	67.65	47.51
最大值	70.02	60.56	426.59	623.86	323.28	78.23	59.56
最小值	63.67	41.33	388.66	578.45	282.96	45.58	23.67
极差	6.35	19.23	37.93	45.41	40.32	32.65	35.89
标准差	1.89	7.23	14.10	15.38	13.23	11.03	12.67
变异系数	2.81	13.39	3.37	2.53	4.23	16.30	26.67

[†] 变异系数的单位为%。

$\bar{X}$ ——该指标的平均值；

b ——该指标的标准差(SD)。

从表 3 可以看出,前 3 个主成分的累计方差贡献率已经达到 82.36%,基本涵盖了 7 项主要抗氧化指标的数据信息,达到了提取主成分因子的标准,因此选取前 3 个主成分。

2.1.4 抗氧化能力综合评价模型 由表 4 可知,决定第 1 主成分的主要是总黄酮含量、PSC 和 DPPH·清除率,决定第 2 主成分的主要是总酚含量、ORAC、PSC 和 DPPH·清除率,决定第 3 主成分的主要是总三萜含量、ABTS⁺·清除率和 DPPH·清除率,推测可能是因为指标之间的相关性比较高,这些指标才会出现在同一主成分中。

根据表 4 中主成分的特征向量,可将 3 个主成分分别表示为:

第 1 主成分: $F_1 = -0.132X_1 + 0.723X_2 + 0.032X_3 - 0.187X_4 + 0.626X_5 + 0.586X_6 + 0.118X_7$; (2)

第 2 主成分: $F_2 = 0.825X_1 - 0.154X_2 + 0.065X_3 + 0.752X_4 + 0.536X_5 + 0.605X_6 + 0.018X_7$; (3)

第 3 主成分: $F_3 = -0.086X_1 + 0.118X_2 + 0.776X_3 + 0.107X_4 + 0.124X_5 + 0.596X_6 + 0.645X_7$ 。 (4)

大果山楂发酵液的综合抗氧化能力值:

$F_{\text{综合}} = 1.214 \ 2 \times (0.386 \ 2F_1 + 0.241 \ 2F_2 + 0.196 \ 2F_3)$ 。 (5)

表 3 特征值与方差贡献率

Table 3 Contribution rate of characteristic value and variance

指标	特征值	方差贡献率/%	累计贡献率/%
X ₁	3.09	38.62	38.62
X ₂	1.93	24.12	62.74
X ₃	1.57	19.62	82.36
X ₄	0.62	7.75	90.11
X ₅	0.35	4.37	94.48
X ₆	0.27	3.37	97.85
X ₇	0.17	2.15	100.00

表 4 主成分的特征向量[†]

Table 4 Eigenvectors of principal components

主成分	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇
F ₁	-0.132	0.723	0.032	-0.187	0.626	0.586	0.118
F ₂	0.825	-0.154	0.065	0.752	0.536	0.605	0.018
F ₃	-0.086	0.118	0.776	0.107	0.124	0.596	0.645

[†] X₁代表总酚含量标准化值、X₂代表总黄酮含量标准化值、X₃代表总三萜含量标准化值、X₄代表氧自由基吸收能力 ORAC 标准化值、X₅代表过氧自由基清除能力 PSC 标准化值、X₆代表 DPPH 自由基清除率标准化值、X₇代表 ABTS 自由基清除率标准化值。

2.2 单因素试验

2.2.1 大果山楂添加量对发酵液抗氧化活性的影响 由图 1 可知,发酵前期,大果山楂发酵液的抗氧化活性逐渐提高,尤其是 0~21 d,提高的幅度尤为明显,可能是由于细胞破裂,大果山楂中的主要活性成分不断溶出造成的,也有可能是由于原本的大分子物质被分解成小分子,从而在检测结果显示含量增加的现象^[19]。发酵后期,这些活性成分含量出现了小幅下降,可能是由于被氧化或被降解造成的。发酵液的抗氧化能力随大果山楂添加量的增加而增强,这种现象在 5~20 g/100 mL 发酵液的大果山楂添加量组中比较明显,但在 20~25 g/100 mL 发酵液的大果山楂添加量组中不显著,综合考虑,拟采用 20 g/100 mL 发酵液左右的大果山楂添加量进行响应面优化试验。

2.2.2 LGG 接种量对发酵液抗氧化活性的影响 由图 2 可知,发酵初期,LGG 接种量大的试验组抗氧化能力值较大,但发酵后期这种差异不明显,LGG 接种量 5~9 mL/100 mL 发酵液试验组的变化曲线基本重合,说明过多的 LGG 接种量对大果山楂发酵液的抗氧化能力影

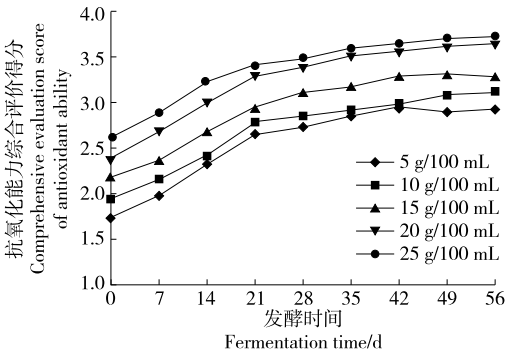


图 1 大果山楂添加量对大果山楂发酵液抗氧化活性的影响

Figure 1 Effects of adding amount of *Malus doumeri* fruits on antioxidant activity of *Malus doumeri* fruits fermented beverage

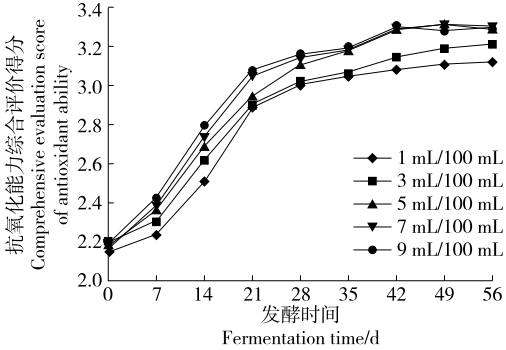


图 2 LGG 接种量对大果山楂发酵液抗氧化活性的影响
Figure 2 Effects of inoculum size of LGG on antioxidant activity of *Malus doumeri* fruits fermented beverage

响有限,因此选择5 mL/100 mL 发酵液左右的 LGG 接种量进行响应面优化试验。

2.2.3 发酵温度对发酵液抗氧化活性的影响 由图 3 可知,25 ℃ 和 30 ℃ 试验组的抗氧化能力值显著高于其他试验组,且在第 0~28 天这两组的抗氧化能力值变化曲线几乎重合,28 d 之后 25 ℃ 试验组的抗氧化能力值超过了 30 ℃ 试验组,因此考虑在 25 ℃ 左右进行响应面优化试验。

2.2.4 起始 pH 对发酵液抗氧化活性的影响 由图 4 可知,起始 pH 4.0,5.0,6.0 试验组的抗氧化能力值明显高于其他试验组,且这 3 组的抗氧化能力值出现了交替领先的现象,因此考虑在起始 pH 5.0 左右进行响应面优化试验。

综合单因素试验结果,得出了响应面试验的因素与水平,即大果山楂添加量 15~25 g/100 mL 发酵液、LGG 接种量 3~7 mL/100 mL 发酵液、起始 pH 4.0~6.0、发酵温度 20~30 ℃,各试验组大果山楂发酵液的抗氧化能力值在第 0~28 天增速较快,之后增幅逐渐放缓,从工业化生产的效率和效益方面考虑,发酵时间确定为 28 d。

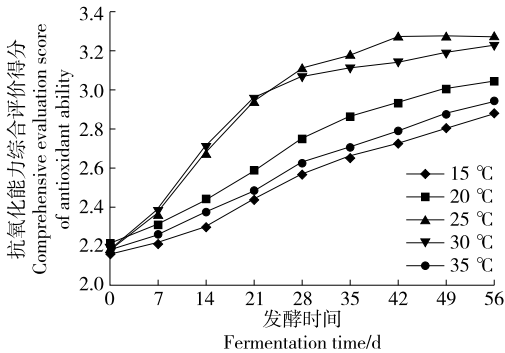


图 3 发酵温度对大果山楂发酵液抗氧化活性的影响

Figure 3 Effects of fermentation temperature on antioxidant activity of *Malus doumeri* fruits fermented beverage

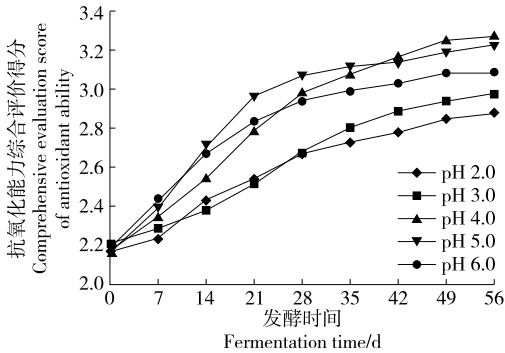


图 4 起始 pH 对大果山楂发酵液抗氧化活性的影响

Figure 4 Effects of initial pH on antioxidant activity of *Malus doumeri* fruits fermented beverage

2.3 响应面优化试验

2.3.1 响应面模型的建立 以单因素试验为依据,设计大果山楂发酵的响应面优化试验因素与水平,如表 5 所示。

2.3.2 试验结果及方差分析 大果山楂发酵的响应面优化试验结果如表 6 所示。

表 5 大果山楂发酵的响应面优化试验因素水平表

Table 5 Factor level table of response surface optimization experiment of *Malus doumeri* fruits fermentation

水平	A 起始 pH	B LGG 接种量/ (10 ⁻² mL · mL ⁻¹)	C 大果山楂添加量/ (10 ⁻² g · mL ⁻¹)	D 发酵温 度/℃
-1	4.0	3.0	15.0	20.0
0	5.0	5.0	20.0	25.0
1	6.0	7.0	25.0	30.0

表 6 大果山楂发酵的响应面优化试验结果

Table 6 The results of response surface optimization test of *Malus doumeri* fruits fermentation

试验号	A	B	C	D	抗氧化能力得分
1	0	0	1	1	3.04
2	1	1	0	0	3.03
3	-1	0	0	1	3.02
4	0	1	0	-1	2.83
5	0	0	-1	-1	2.47
6	-1	0	0	-1	2.45
7	0	0	0	0	3.38
8	0	-1	1	0	2.88
9	-1	-1	0	0	2.61
10	1	0	1	0	2.92
11	0	1	-1	0	2.67
12	0	0	-1	1	3.09
13	-1	0	-1	0	2.32
14	0	-1	-1	0	2.63
15	0	0	1	-1	2.90
16	0	1	1	0	2.99
17	0	-1	0	-1	2.75
18	1	-1	0	0	3.00
19	-1	0	1	0	2.71
20	0	0	0	0	3.56
21	-1	1	0	0	2.67
22	0	1	0	1	3.17
23	0	0	0	0	3.00
24	0	0	0	0	3.56
25	0	0	0	0	3.46
26	1	0	0	1	3.16
27	0	-1	0	1	3.12
28	1	0	-1	0	2.81
29	1	0	0	-1	3.07

由表 7 可知,模型的 P 值<0.000 1,说明回归性极显著,结果可信。失拟项 P 值(0.927 5)>0.05,说明模型的相对误差较小,能够较好地预测分析大果山楂发酵工艺。因素 A、C 和 D 对结果有显著性影响,因素 B 对结果的影响不显著,各因素对大果山楂发酵液抗氧化能力影响的大小顺序为:A>D>C>B。采用 Design-Expert 8.0 软件对回归模型进行预测分析,将大果山楂发酵液抗氧化能力综合评分的分值设置得尽可能大,得出最佳发酵工艺:

起始 pH 5.10、LGG 接种量 5.05 mL/100 mL 发酵液、大果山楂添加量 20.15 g/100 mL 发酵液、发酵温度 29.83 ℃,此时预测的大果山楂发酵液抗氧化能力综合评分为 3.46 分。为了方便操作,在起始 pH 5.0、LGG 接种量 5 mL/100 mL 发酵液、大果山楂添加量 20 g/100 mL 发酵液、30.0 ℃条件下进行 3 次验证实验,发酵时间均为 28 d,所得结果的平均值为 3.42 分,与理论值 3.46 分无显著性差异,表明该预测模型科学可行。

表 7 大果山楂发酵的响应面试验方差分析结果[†]

Table 7 The results of analysis of variance of response surface test of *Malus doumeri* fruits fermentation

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	2.53	14	0.18	11.23	<0.000 1	* *
A	0.41	1	0.41	25.25	0.000 2	*
B	0.01	1	0.01	0.71	0.414 3	
C	0.18	1	0.18	10.87	0.005 3	*
D	0.38	1	0.38	23.46	0.000 3	*
AB	2.25E-004	1	2.25E-004	0.01	0.907 6	
AC	0.02	1	0.02	1.22	0.288 7	
AD	0.06	1	0.06	3.57	0.079 6	
BC	1.23E-003	1	1.23E-003	0.08	0.786 8	
BD	2.25E-004	1	2.25E-004	0.01	0.907 6	
CD	0.06	1	0.06	3.57	0.079 6	
A ²	0.67	1	0.67	41.47	<0.000 1	* *
B ²	0.40	1	0.40	24.85	0.000 2	*
C ²	0.86	1	0.86	53.18	<0.000 1	* *
D ²	0.16	1	0.16	10.11	0.006 7	*
残差	0.23	14	0.01			
失拟项	0.01	10	1.08E-003	0.02	0.927 5	不显著
纯误差	0.21	4	0.05			
总离差	2.76	28				

[†] * 表示有显著性差异(P<0.05), * * 表示有极显著性差异(P<0.01)。

3 结论

(1) 大果山楂发酵液的抗氧化能力评价模型为: $F_{综合}=1.214 2 \times (0.386 2 F_1 + 0.241 2 F_2 + 0.196 2 F_3)$,高抗氧化活性大果山楂发酵液的最佳发酵工艺为:起始 pH 5.0,发酵温度 30 ℃,大果山楂添加量 20 g/100 mL 发酵液、鼠李糖乳杆菌接种量 5 mL/100 mL 发酵液、发酵时间 28 d,该工艺所得大果山楂发酵液的 $F_{综合}=3.42$ 。

(2) 试验采用主成分分析法对可能影响大果山楂发酵液抗氧化活性的 7 项指标进行了分析,构建了大果山楂发酵液抗氧化能力的综合评价模型,该模型中的 3 个主成分分别反映了大果山楂发酵液中不同成分对抗氧化能力的贡献,虽然 DPPH·清除率与大果山楂发酵液中的主要活性成分(总黄酮、总酚、总三萜)都有关联,但其

与总黄酮、总三萜含量的关联度更高,说明仅用 DPPH·清除率作为评价指标无法准确地反映大果山楂发酵液中总酚及其他成分对总抗氧化能力的贡献。

(3) 大果山楂发酵液中的活性物质含量决定其抗氧化能力,试验测定的是总黄酮、总酚和总三萜 3 类物质的含量,但具体是这 3 类物质中的哪些化合物对大果山楂发酵液的抗氧化能力起主导作用,目前还不清楚,后续计划通过 HPLC 法鉴定大果山楂发酵液中的各种化合物,明确各活性物质对其抗氧化能力的具体影响。

参考文献

[1] 潘莹,张林丽.大果山楂的研究进展[J].时珍国医国药,2007,18(12):2 972-2 973.

[2] 张巧,叶春玲,商飞飞,等.大果山楂酵素的多菌种发酵工

- 艺研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2019, 40(5): 70-76.
- [3] 陈勇, 甄汉深, 陆雪梅. 广山楂主要化学成分的定量研究[J]. 中药研究与信息, 2000(11): 18-21.
- [4] 郭婷, 白向丽, 陈益能, 等. 干燥方式对大果山楂粉干燥速率及品质的影响[J]. 食品与机械, 2019, 35(10): 122-125, 188.
- [5] 伊静, 李婷, 袁冬, 等. 地瓜黄浆水与山楂复合发酵液的研制[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 130-135.
- [6] 苏艳兰, 刘功德, 艾静汶. 浅述大果山楂营养价值及原味果脯生产工艺[J]. 大众科技, 2018, 20(5): 97-98.
- [7] 杨静云, 赖永勤, 李宇兴, 等. 山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵制备调血脂中药工艺研究[J]. 中草药, 2016, 47(12): 2100-2107.
- [8] 王彦安. 山楂和荔枝果醋发酵工艺优化研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2016: 5-6.
- [9] 张巧, 陈春喜, 吴天保. 利用猴头菌发酵大果山楂汁的条件优化研究[J]. 中国酿造, 2018, 37(12): 165-168.
- [10] 陈春喜, 张巧, 陈振林, 等. 大果山楂酵素发酵过程中组分及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(22): 15-19.
- [11] WEN Ling-rong, YANG Bao, CUI Chun, et al. Ultrasound-assisted extraction of phenolics from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit seed with artificial neural network and their antioxidant activity[J]. Food Analytical Methods, 2012, 5(6): 1244-1251.
- [12] HE Xiang-jiu, LIU Dong, LIU Rui-hai. Sodium borohydride/chloranil-based assay for quantifying total flavonoids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(20): 9337-9344.
- [13] KHISHOVA O M, DUBASHINSKAYA N V, GOLYAK Y A. Quantitative determination of total triterpenoid saponins in *Polemonium caeruleum* rhizomes and roots[J]. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2008, 42(8): 456-459.
- [14] WEN Ling-rong, GAO Qing, YOU Li-jun, et al. Effect of polysaccharides from *Tremella fuciformis* on UV-induced photoaging[J]. Journal of Functional Foods, 2016, 20: 400-410.
- [15] ADOM K K, LIU Rui-hai. Rapid peroxy radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(17): 6572-6580.
- [16] BLOIS M S. Antioxidant determination by use of stable free radicals[J]. Nature, 2016, 29(4617): 1199-1200.
- [17] 王存堂, 高增明, 姜辰昊, 等. 黄色洋葱皮不同溶剂多酚提取物的总酚、总黄酮含量及抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2019, 40(20): 325-328.
- [18] 程天德, 连晓蔚, 梁延省, 等. 清远麻鸡肉质综合评价方法研究[J]. 现代农业科技, 2019(15): 212-216.
- [19] KUNTAL G, MOUSUMI R, ATANU A, et al. Role of probiotic *Lactobacillus fermentum* KKL1 in the preparation of a rice based fermented beverage[J]. Bioresource Technology, 2015, 188: 161-168.

(上接第110页)

4 结论

设计了一套基于槽型凸轮传动的咖啡胶囊铝箔焊接设备,其主要由铝箔整平机构、托杯机构、铝箔冲切机构、铝箔焊接机构以及铝箔上料收料机构五大部分组成。并对铝箔焊接设备中最主要的铝箔冲切机构传动系统进行了详细设计及仿真。在 ADAMS 环境下,通过对所设计的传动系统进行运动学分析,以及对其中传动轴这一关键零部件进行刚柔耦合分析,验证了该套铝箔焊接设备设计的可行性。该套咖啡胶囊铝箔焊接设备采用的送料方式为直拉膜形式,相比于斜拉膜送料,其材料利用率不高,因此在未来的工作中需改进结构,将铝箔送料机构设计为斜拉膜送料的方式,以实现物料利用率的最大化。

参考文献

- [1] 丁莉, 侯媛媛. 中国咖啡产业形势分析及发展建议[J]. 热带农业科学, 2019, 39(3): 105-109.
- [2] 孙娟, 熊惠波. 世界咖啡产销情况及中国咖啡产业发展分析[J]. 世界农业, 2010(2): 38-40.
- [3] 王景巍, 王海滨, 等. 振动式蓝莓采摘机槽型凸轮传动装置的设计与分析[J]. 东北林业大学学报, 2017, 45(10): 88-93.
- [4] 巨刚, 袁亮, 刘小月. 凸轮机构高次多项式运动规律曲线研究及仿真分析[J]. 机械设计与制造, 2015(5): 107-109, 114.
- [5] 金杜挺, 郁元正. 基于多项式型运动规律凸轮配气机构运动仿真[J]. 内燃机与配件, 2020(3): 21-24.
- [6] 王海滨, 李志鹏, 姜雪松, 等. 基于槽型凸轮传动的蓝莓采摘机设计与试验[J]. 农业机械学报, 2018, 49(10): 80-91.
- [7] 张焱, 黄松和. 基于 ADAMS 的凸轮连杆系统中凸轮的 CAD 系统开发及机构仿真分析[J]. 包装工程, 2018, 39(9): 171-176.
- [8] 耿雷. 基于刚柔耦合动力学分析的蓝莓采摘机理与影响因素研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2017: 104-110.
- [9] 朱阳. 基于刚柔耦合的前移式叉车门架系统动应力分析[J]. 机械设计, 2020, 37(3): 107-112.
- [10] 付君, 张屹晨, 程超, 等. 刚柔耦合式小麦脱粒弓齿设计及试验[J]. 吉林大学学报(工学版), 2020, 50(2): 730-738.
- [11] 张政, 冯广斌, 孙华刚, 等. 齿轮传动系统刚柔耦合建模及载荷特性研究[J]. 机械强度, 2020, 42(1): 239-245.
- [12] 林仿. 铝箔轧机皮带助卷器装置的优化改进[J]. 科技创新与应用, 2019(30): 54-55.
- [13] 郑翔. 凸轮机构在 QFP 自动冲切成型系统中的应用[J]. 机械工程师, 2017(5): 118-120.