

植物酵素代谢产物形成机制研究进展

周亚楠, 郑舒怡, 柳嘉雯, 董宇, 卢旭

Research Progress on the Metabolites Formation Mechanism of Plant Jiaosu

ZHOU Yanan, ZHENG Shuyi, LIU Jiawen, DONG Yu, and LU Xu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023080203>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

食用酵素发酵代谢及功能特性研究进展

Research Progress on Fermentation Metabolism and Functional Characteristics of Edible Fermented Extract

食品工业科技. 2021, 42(20): 408–414 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020080281>

传统发酵食品中微生物多样性与风味形成之间关系及机制的研究进展

Research Progress on Relationship and Mechanism between Microbial Diversity and Flavor Development in Traditional Fermented Foods

食品工业科技. 2021, 42(9): 412–419 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070365>

乳杆菌强化发酵对苦荞酵素抗氧化特性及风味的影响

Effects of *Lactobacillus* Enhanced Fermentation on the Antioxidant Characteristics and Flavor of Tartary Buckwheat Jiaosu

食品工业科技. 2024, 45(2): 118–125 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020286>

基于非靶向代谢组学的蓝莓酵素和沙棘酵素代谢产物特征比较

Comparison of Metabolite Characteristics of Blueberry Jiaosu and Sea-buckthorn Jiaosu Based on Non-targeted Metabolomics Approach

食品工业科技. 2022, 43(19): 160–166 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120282>

不同乳酸菌对葡萄酵素发酵特性及代谢产物的影响

Effects of Different Lactic Acid Bacteria on Fermentation Characteristics and Metabolites of Grape Jiaosu

食品工业科技. 2021, 42(17): 120–128 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020110244>

食用酵素产品稳定性研究进展

Research Progress on the Stability of Edible Jiaosu Products

食品工业科技. 2024, 45(6): 32–41 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023050342>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

周亚楠, 郑舒怡, 柳嘉雯, 等. 植物酵素代谢产物形成机制研究进展 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(15): 380–391. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080203

ZHOU Yanan, ZHENG Shuyi, LIU Jiawen, et al. Research Progress on the Metabolites Formation Mechanism of Plant Jiaosu[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(15): 380–391. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080203

· 专题综述 ·

植物酵素代谢产物形成机制研究进展

周亚楠^{1,2,3}, 郑舒怡^{1,2,3}, 柳嘉雯¹, 董 宇⁴, 卢 旭^{1,2,3,*}

(1.福建农林大学食品科学学院,福建福州 350002;

2.福建省特种淀粉品质科学与加工技术重点实验室,福建福州 350002;

3.结构中国-爱尔兰国际合作食品物质学与结构设计研究中心,福建福州 350002;

4.徐州幼儿师范高等专科学校,江苏徐州 221004)

摘要:植物酵素 (Plant Jiaosu) 是一种以果蔬谷类为主要原料, 通过微生物发酵制得的产品。因其具有无毒无害、拥有多项生理功能的特点, 逐渐得到大众的青睐, 了解植物酵素的代谢机制对提高其品质有重要的作用, 但是目前对于植物酵素代谢机制的总结仍较少, 本文综合分析了植物酵素的研究进展, 介绍了植物酵素酵解过程中的相关代谢途径、产物变化分析、产物形成影响因素以及植物酵素的风味来源和风味物质变化, 并对植物酵素的未来发展进行了探讨, 为植物类酵素的进一步研究发展提供参考。

关键词:植物酵素, 发酵, 菌群, 代谢机制, 风味物质

中图分类号:TS201.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2024)15-0380-12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023080203

本文网刊:



Research Progress on the Metabolites Formation Mechanism of Plant Jiaosu

ZHOU Yanan^{1,2,3}, ZHENG Shuyi^{1,2,3}, LIU Jiawen¹, DONG Yu⁴, LU Xu^{1,2,3,*}

(1.Fujian Agriculture and Forestry University, College of Food Science, Fuzhou 350002, China;

2.Fujian Provincial Key Laboratory of Quality Science and Processing Technology in Special Starch, Fuzhou 350002, China;

3.China-Ireland International Cooperation Centre for Food Material Science and Structure Design, Fuzhou 350002, China;

4.Xuzhou Kindergarten Teachers College, Xuzhou 221004, China)

Abstract: Plant Jiaosu is a kind of product made from fruit and vegetable cereals as the main raw material by microbial fermentation. It has been gradually favored by the public because of its non-toxic and harmless characteristics and multiple physiological functions. Understanding the metabolic mechanisms of plant Jiaosu plays an important role in improving their quality. However, there are still few summaries on the metabolic mechanism of plant Jiaosu. This paper comprehensively analyzes the research progress of plant Jiaosu, and introduces the related metabolic pathways, product change analysis, product formation influencing factors, flavor source and flavor substance changes of plant Jiaosu in the process of plant ferment glycolysis. The future development of plant Jiaosu is discussed, which provides a reference for the further research and development of plant Jiaosu.

Key words: plant Jiaosu; fermentation; microbial species; metabolic mechanism; flavor substance

收稿日期: 2023-08-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32172151); 福建省科技重大专项 (2018NZ0003-1); 福建省对外合作项目 (2021I0007); “中爱国际合作食品物质学与结构设计研究中心”项目 (KXGH17001); 福建农林大学杰出青年科研人才计划项目 (xjq201811); 福建农林大学科技创新专项基金 (CXZX2018069, CXZX2019095G, CXZX2020120A)。

作者简介: 周亚楠 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与营养, E-mail: 1281106241@qq.com。

* 通信作者: 卢旭 (1986-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与化学, E-mail: lxvfst@yeah.net。

随着近年来的进一步研究,研究人员和制造商开始重新思考酵素产品的适当定义。酵素是除酱油、茶、醋、盐腌等传统发酵食品外,采用一种或多种原料,如新鲜水果和蔬菜、谷物、豆类、海藻、食药材、食用菌等植物性原料,在发酵过程中添加(或不添加)糖类,温度通常在 20~40 ℃ 范围内,由多种益生菌的参与长时间发酵的一种功能性微生物发酵产品。酵素起源于日本,而后传至中国台湾。酵素食品在日本每年可达近千亿日元的消费额^[1],以水果蔬菜作为原料的植物酵素是乳糖不耐受人群的较好选择。微生物发酵是获得天然且无害的食用酵素的主要手段^[2]。日本每天有超过 2000 万人服用酵素产品,在 2020 年其市场规模已达近百亿美元。近十年酵素才传入中国市场^[3],我国的酵素产品仍处于开发阶段,其种类和品牌较少。

酵素是一种以动物、植物、菌类等为原料,在添加或不添加辅料的情况下,经微生物发酵制得的含有特定生物活性成分的产品^[4]。广义上的酵素范围的定义大于生物学所定义的酶:除了酶外还包括产酶微生物以及相关调节因子等,是一种功能性很强的发酵产品^[5]。酵素可消除自由基^[6];降低胆固醇^[7],预防与心血管、肥胖有关的疾病^[8];同时也具有保护和修复肝脏^[7];美白和抗肿瘤等功效^[9~10]。酵素内部含有大量复杂的微生物,微生物的代谢机制直接或者间接的影响着酵素的质量,酵素的风味也决定着酵素本身的价值,但是目前国内关于酵素的风味物质以及酵素的代谢机制报道较少。本文通过对植物酵素的代谢机制、产物分析、加工影响因素及风味物质等方面总结,为植物酵素的发展提供理论基础。

1 植物酵素发酵过程中的相关代谢途径及产物分析

酵素是一种果蔬食物经微生物发酵而成的制品^[11~12],植物原料经过预处理后经过天然或者接种的微生物,如酵母菌、乳酸菌(LAB)和醋酸菌,在特定温度下进行一定时间的发酵制成酵素。酵素食品中含有大量有益菌,能改善和平衡宿主的肠道菌群,这些菌种还能利用植物基质合成机体所需要的代谢产物。

微生物的酵解形式有酵母菌的乙醇代谢,以乙醇和二氧化碳为初级产物;乙酸属细菌进行的醋酸发酵,以醋酸为主要产物;乳杆菌进行的乳酸发酵,以乳酸为主要代谢产物;芽孢杆菌和真菌对蛋白质基质进行的氨或碱发酵,以氨为主要产物,使食品具有强烈的氨味^[13]。由于食品基质成分复杂且酵素微生物或酶种类复杂,目前未能明确酵素内部(特别是来源于复合食品原料)存在复杂的微生物酵解途径,大部分酵素的具体代谢机制较为复杂,尚未见报道。因此本研究以植物酵素中较为典型的酵母菌和乳酸菌的部分已较为明确的代谢类型进行阐述,以为酵素的应用开发提供参考。

1.1 酵母菌代谢机制及产物变化

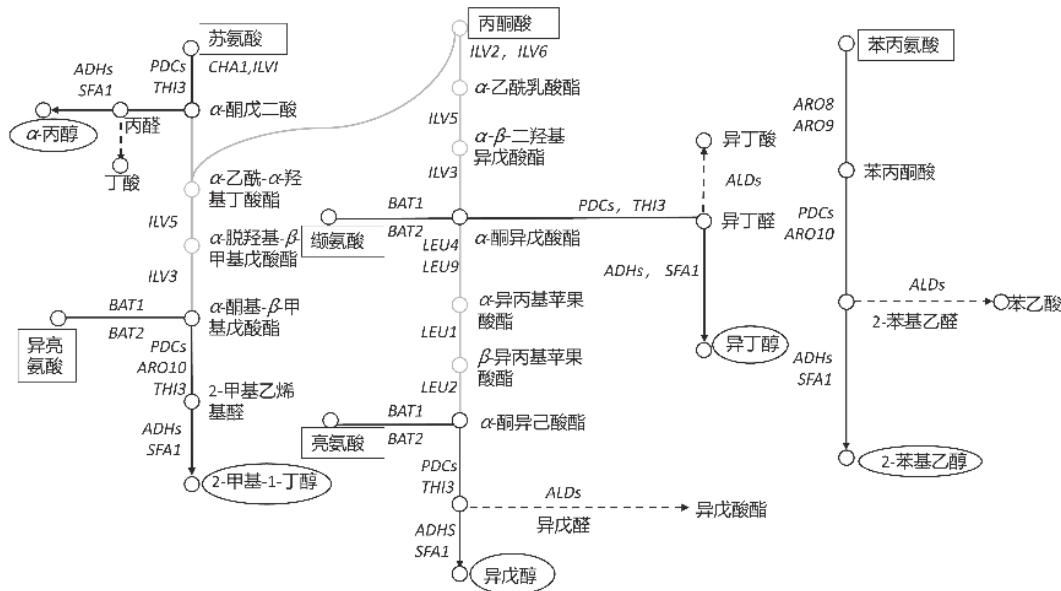
酵母菌发酵是植物酵素发酵过程中形成乙醇和二氧化碳的主要原因。葡萄糖在无氧条件下通过 Embden-Meyerhof 途径产生丙酮酸,丙酮酸在无氧条件下代谢生成乙醇或者乳酸,或者在有氧的情况下,丙酮酸将被分流至 Krebs 循环进行进一步的呼吸代谢;或在发酵代谢过程中通过丙酮酸脱羧酶直接转化为乙醇和二氧化碳。苹果酸代谢是草酰乙酸通过三羧酸循环等途径产生的酸、氨基酸,乙醇发酵产生的高级醇和苹果酸代谢产生的代谢产物都为酵素提供良好的风味。

1.1.1 酵母菌中的乙醇代谢过程 醇类是酵母菌发酵中产生的主要风味化合物之一,同时其也是许多饮料和酒的特征香气之一,食品中许多酿酒酵母菌属和部分非酿酒酵母菌属的代谢可以产生醇类,如库德毕赤酵母^[14],酵母菌中的乙醇代谢有三种途径,其中糖酵解途径(EMP)只能在 pH3.5~4.5 的厌氧条件下进行,一型发酵为葡萄糖从 1,6-二磷酸果糖开始分解,通过丙酮酸生成乙醛,最后乙醛通过乙醇脱氢酶(ADHs)转化成乙醇,ADHs 在整个代谢过程中可以利用底物进行调节,确保产物和中间体的平衡^[15]。二型发酵是丙酮酸在 NaHSO₃ 的条件下与乙醛发生加成反应,生成甘油。三型发酵是弱酸条件下,乙醛得不到足够的氢不能成为正常受氢体,与乙醛发生器化反应生成乙醇和乙酸, NADH₂ 无法积累,磷酸二羟丙酮无法接受还原氢,最后脱磷酸生成甘油。醇的代谢中高级醇的代谢对风味的影响尤为重要,高级醇可以给产品带来理想的风味,如图 1 所示,在该代谢过程中, *BAT1* 基因参与生成了辛醇和乙醇,除图上的基因外, *EHT1* 基因参与生成了合成癸酸乙酯, *IRAI* 基因参与生成了乙酸^[16]。

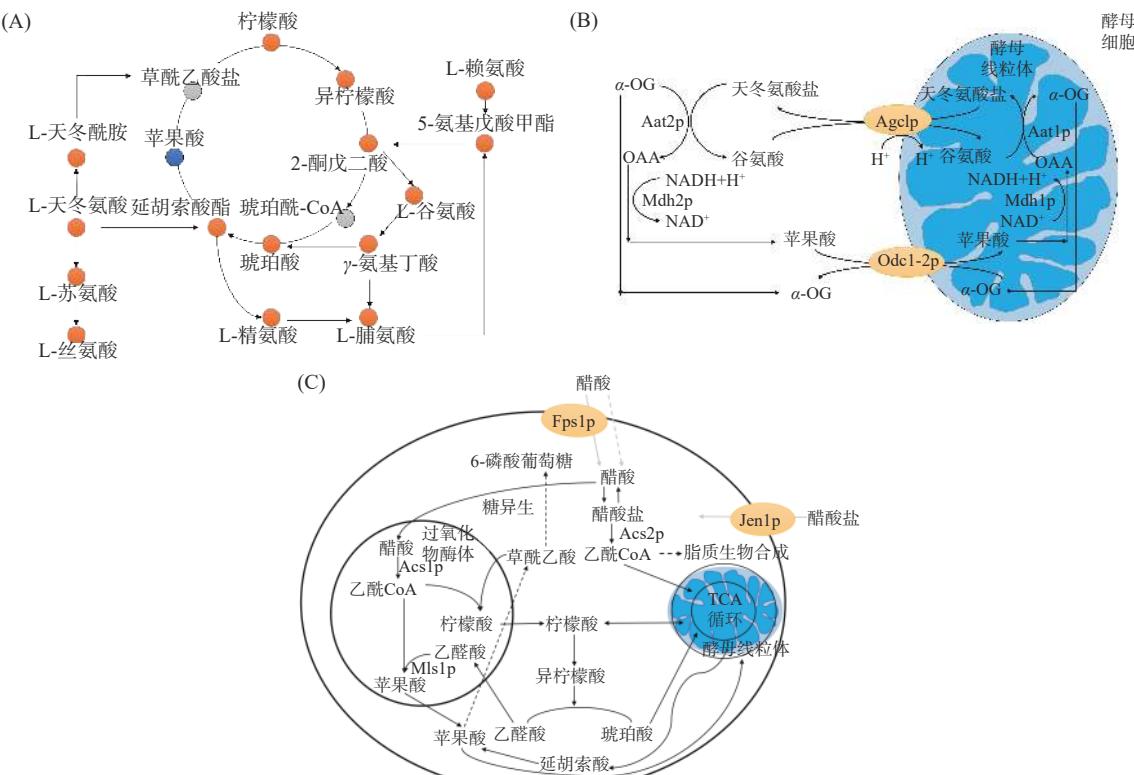
1.1.2 酵母菌中酸的代谢过程 苹果酸代谢对酵素的风味起着重要的作用,苹果酸在细胞中可以通过脱羧、氧化或脱水获得。如图 2 所示^[19],L-苹果酸的氧化途径为乙醛酸循环,在柠檬酸合成酶的作用下乙酰 CoA 和草酰乙酸结合生成柠檬酸,经过一系列氧化分解后生成琥珀酸和乙醛酸,在苹果酸合酶的催化下乙醛酸和乙酰 CoA 结合成苹果酸,琥珀酸由乙醛酸循环转入线粒体,通过三羧酸循环(TCA)生成苹果酸、延胡索酸,再生成草酰乙酸,之后草酰乙酸继续进行 TCA 循环或者脱羧生成磷酸烯醇式丙酮酸(PEP),经过糖异生生成糖^[20]。

草酰乙酸在苹果酸脱氢酶的作用下生成苹果酸进入线粒体基质,在天冬氨酸氨基转移酶的作用下转换成天冬氨酸,同时将氨基转给谷氨酸生成草酰乙酸和丙酮酸,丙酮酸经过 EMP 生成乙酰 CoA,草酰乙酸接着进入乙醛酸循环还原成苹果酸、草酰乙酸、NADH,接着通过苹果酸、天冬氨酸穿梭进入线粒体,进行氧化分解。

在有氧条件下,乙酸盐可以作为能源,为代谢供

图 1 酵母中高级醇的代谢途径^[17-18]Fig.1 Metabolic pathways of higher alcohols in yeast^[17-18]

注: 黑色实线表示高级醇源自 Ehrlich 途径, 灰色实线表示高级醇源自 Harris 途径, 黑色虚线表示相应羧酸的合成; ADHs: 乙醇脱氢酶; ALD 基因: 编码丙氨酸脱氢酶; ARO10 基因: 编码苯基丙酮酸脱羧酶; BAT1 基因: 编码支链氨基酸转氨酶; BAT2 基因: 编码支链氨基酸转氨酶; CHA1 基因: 编码 L-丝氨酸/L-苏氨酸解氨酶; ILV1 基因: 编码合成代谢苏氨酸脱氨酶; ILV3 基因: 编码二羟基酸脱水酶; ILV5 基因: 编码酮酸还原异构酶; ILV2 基因、ILV6 基因: 编码乙酰乳酸合酶调节亚基; LEU1 基因: 编码 3-异丙基苹果酸脱氨酶; LEU2 基因: 编码 3-异丙基苹果酸脱氨酶; LEU4 基因: 编码 2-异丙基苹果酸合酶; LEU9 基因: 编码-异丙基苹果酸合酶; ARO 基因: 编码芳香族转氨酶; PDC 基因: 编码丙酮酸脱羧酶; SFA1 基因: 编码双功能醇脱氢酶; THI3 基因: 编码支链-2-氧化酶脱羧酶。

图 2 酵母菌中酸的代谢途径^[19]Fig.2 Metabolic pathways of acids in yeast^[19]

注: A 柠檬酸循环与苹果酸代谢; B 氧代二羧酸盐 Odc1p 和 Odc2p 以及线粒体天冬氨酸/谷氨酸盐 Agc1p 载体在苹果酸/天冬氨酸转运系统中的作用示意图; C 酵母菌中的乙酸盐代谢示意图。Aat1p: 线粒体天冬氨酸转氨酶; Aat2p: 胞浆天冬氨酸转氨酶; Mdh1p: 线粒体苹果酸脱氢酶; Mdh2p: 胞浆苹果酸脱氢酶; α -OG: 2-氧戊二酸; OAA: 草酰乙酸盐; Odc1-2p: 氧代二羧酸载体; Fps1p: 一种调节未解离形式的乙酸通过酵母膜运输的水甘油酯(实线); 乙酸也可以通过简单的扩散(虚线)进入细胞; Acs1p、Acs2p: 天冬氨酸/谷氨酸载体; Mls1p: 苹果酸合成酶; Jen1p: 酿酒酵母乳酸转运体(也能运输乙酸盐)。

给能量, 在低 pH 条件下, 乙酸通过简单扩散进入细胞, 乙醇按恒定速率增强乙酸的流速, 乙酸酯被过氧化物酶(Ady2p 蛋白)代谢为乙酰 CoA 后进入线粒体进行 TCA 循环, 并且有一部分乙酰 CoA 进入乙醛酸循环生成琥珀酸、苹果酸。

1.1.3 酵母菌发酵过程中相关代谢物质的变化 甘油和乙醇是酵母菌发酵后的常见化合物, 甘油为酵母中间代谢产物, 乙醇为终代谢产物^[21]。酵母菌能够产生葡萄糖苷酶, 该酶负责植物原料果酚类化合物的生物降解, 促进自然脱羧^[22]。酵母在乙醛脱氢酶的催化下可使乙醛(发酵中间体)氧化生成乙酸, 会抑制或完全阻断酵母菌的代谢和生长活性^[23]。所形成的酵素也具有提高清除羟基自由基、DPPH 自由基的能力^[24]。

1.2 乳酸菌代谢机制及产物变化

乳酸菌是另一类在食品发酵中广泛应用的菌种, 可改善许多水果和蔬菜的风味和香气。其生态适应性与食物中可发酵碳水化合物的缓慢代谢有关。根据发酵产物的不同, 可将乳酸菌分为专性同发酵菌与专性异发酵菌, 前者主要产生乳酸(约 90%), 后者可同时产生乳酸、乙酸、乙醇和二氧化碳等多种代谢产物。有些菌种为兼性异发酵菌, 能运用上述两种发酵途径^[25]。专性同发酵乳酸菌通过 Embden-Meyerhof 途径代谢葡萄糖, 丙酮酸为核心代谢中间体; 异发酵乳酸菌以丙酮酸和乙酰辅酶 A(acetyl-CoA)为核心中间体, 通过磷酸酶途径将葡萄糖转化。葡萄糖生成的丙酮酸需要使用乳酸脱氢酶或甲酸丙酮酸裂解酶进行代谢以生成减少的辅因子, 但由柠檬酸形成的丙酮酸不带有减少的辅因子, 因此可部分直接转化为乙酰酸盐^[26]。

1.2.1 乳酸菌中有机酸的代谢 柠檬酸和苹果酸在乳酸菌中交替作用以维持菌体 pH 的稳态或辅助因子再生。酒石酸盐主要由酒石酸脱水酶转化; 柠檬酸盐则转化为琥珀酸盐以获得两个还原型辅因子的再生, 或通过两次脱羧反应转化为乙酰苷以消耗质子和产生质子动力。柠檬酸转化为乳酸或醋酸盐后和乙醇结合氧化 1 mol NADH 并产生脱羧反应。

乳酸杆菌将柠檬酸转化为琥珀酸盐或乳酸盐; 嗜盐菌通过丙酮酸甲酸裂解酶和乙醇优先转化柠檬酸; 乳酸乳杆菌、明串珠菌和酒类球菌将柠檬酸盐转化为替代的最终产物醋酸盐或乳酸盐(图 3)^[26]。

1.2.2 乳酸菌中的谷氨酰胺和谷氨酸代谢 食物中的氨基酸以肽的形式存在, 并被乳酸菌细胞中一系列的内肽酶所裂解, 谷氨酸和谷氨酰胺通过 Gln(谷氨酰胺)-或 Glu(谷氨酸)-氨基丁酸(GABA)逆向转运 γ -氨基丁酸反向转运蛋白(GadC)(图 4)^[26]。谷氨酰胺由谷氨酰胺转移酶中的谷氨酰胺酶转化为谷氨酸, 谷氨酸转化为氨基丁酸。异发酵乳酸菌如 *L. plantarum*、*L. paracasei* 能通过谷氨酸-半胱氨酸连接酶将谷氨酸转化为-谷氨肽, 谷氨酸在谷氨酸脱氢酶的作用下转化为-酮戊二酸(KG), 异发酵乳酸菌将 KG 转化为-羟基戊二酸。乳酸菌(LAB)通常在有其他氨基酸作为氨基酸供体存在的情况下表现出转氨酶活性, 将 KG 转化为谷氨酸。

1.2.3 乳杆菌发酵过程中相关代谢物质的变化 乳酸菌包括了乳酸杆菌、乳杆菌。乳酸杆菌、乳杆菌是属于乳酸菌的一科。但是它们产生的功效是相同的, 都是发酵糖类主要产物为乳酸的一类无芽孢、革兰氏染色阳性细菌。经乳杆菌发酵后可提高植物的健

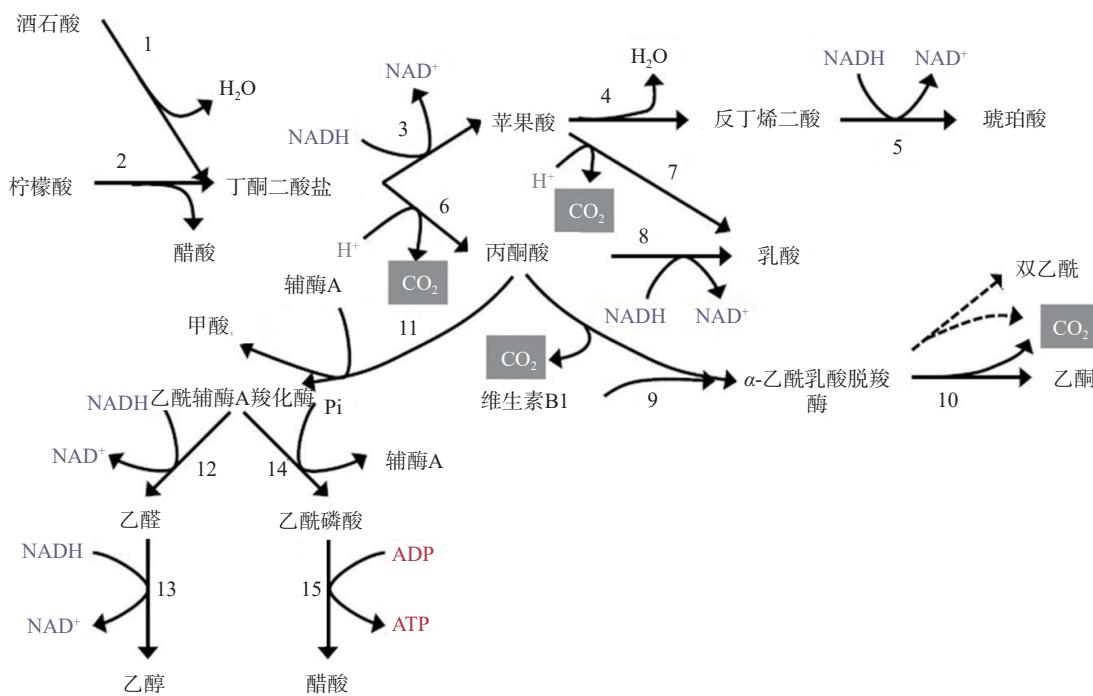
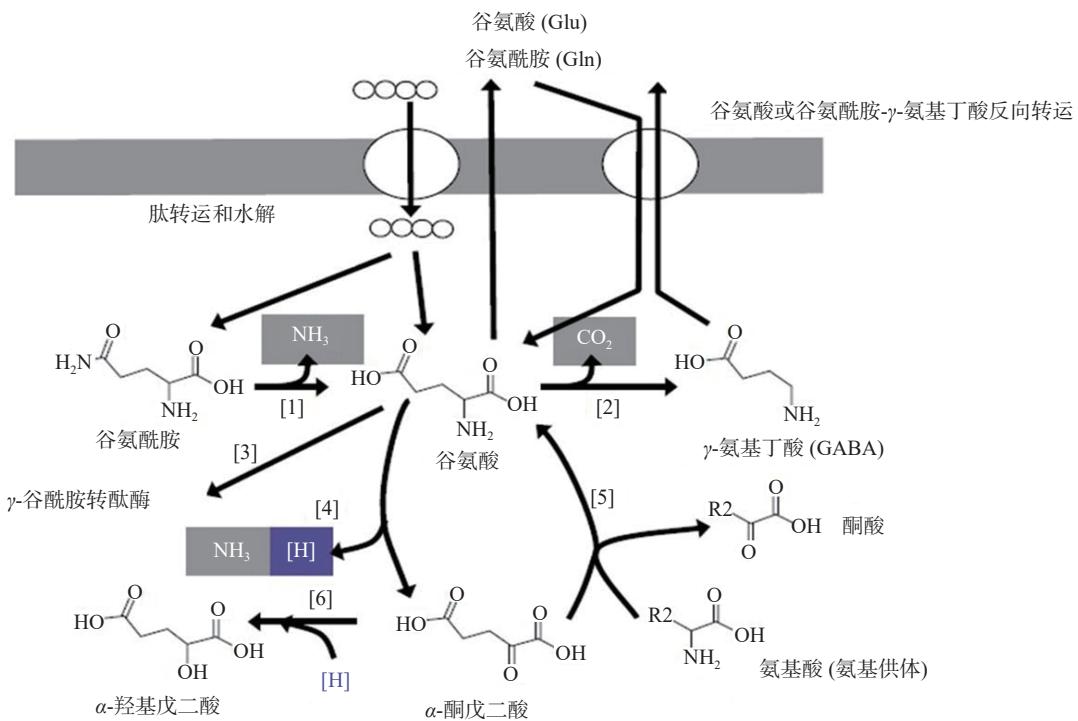


图 3 乳酸菌中有机酸的代谢过程^[27]

Fig.3 Metabolism of organic acids in lactic acid bacteria^[27]

图 4 乳酸菌中谷氨酰胺和谷氨酸代谢机制^[26]Fig.4 Glutamine and glutamate metabolism in lactic acid bacteria^[26]

注：“[H]”表示 NADPH 的发生消耗或生成反应；蓝底白字和蓝字分别表示还原和氧化辅因子的形成(发生在相关代谢分支点的上游或下游)；灰底白字为脱酰胺反应的脱羧质子。

康效益，如消除抗营养因素，通过聚合物水解(酚类化合物聚合酯)改善生物利用度，增加维生素、矿物质和酚类化合物的抗氧化能力。不同菌种的乳杆菌对碳水化合物的代谢能力主要依赖于原料和时间，在厌氧或有氧条件下，当可发酵碳水化合物的含量丰富时，乳杆菌主要代谢的糖类为葡萄糖和果糖^[28]，有部分乳酸菌菌株，如 *L. lactis*、*Lb. plantarum*、*Oenococcus oeni*，它们几乎都为植物乳杆菌，在低 pH 条件下具有较强的活性，在谷物中具有竞争优势，能够将柠檬酸代谢为丙酮酸，谷物发酵中丙酮酸代谢为主要反应^[29]；而 *L. casei* 使用柠檬酸裂解酶催化分解柠檬酸转化为乙酸和乳酸^[30]。

乳酸和乙酸是乳杆菌主要代谢产物^[30]，随着乳酸菌的发酵，酵素中多酚、黄酮化合物和益生菌含量和体外抗氧化活力也会有所增加^[31-32]。米谷物的乳杆菌发酵有助于提高产物中叶酸、硫胺素、吡哆醇和抗坏血酸含量，此外植酸酶活性随游离矿物质的积累也在整个发酵过程中不断增加，使产物的 DPPH 自由基清除能力等抗氧化活性增强^[33]。

1.3 植物酵素发酵过程中的其他代谢途径

酚酸代谢由还原酶和脱羧酶介导，该途径主要为羟基-苯甲酸和羟基-肉桂酸被脱羧成相应的苯酚或乙烯基衍生物，羟基肉桂酸及其乙烯基衍生物被还原酶转化，使双键氢化。如图 5 所示，除了酚酸的代谢外还有山奈酚经黄酮醇的生物合成途径生成芹菜素(图 5A)，脯氨酸通过代谢转化成精氨酸(图 5B)，谷胱甘肽通过一系列代谢途径生成脱氢抗坏血酸

(图 5C)，酪氨酸代谢转化成延胡索酸盐和琥珀酸进入 TCA 循环(图 5D)等^[34-35]。

1.4 发酵过程中微生物的变化

原料的不同会使酵素样品中微生物种类有所差异，蔬菜酵素样品中多数含有极少乳酸菌，水果酵素样品中以酵母菌为主，药用植物酵素如山药、山楂、铁皮石斛等药食同源的中药等^[36]，含有较多的酵母菌、乳酸菌以及醋酸菌，而三种原料中两两混合发酵后乳酸菌数量会产生显著变化^[37]。微生物决定植物酵素产品独特的风味、功能和药用价值^[33]，在酵素发酵过程中主要微生物间存在动态平衡，代谢产物互补机制使该平衡在发酵过程中得以维持。枸杞酵素发酵中后期，具有胞外多糖和细菌素的乳酸杆菌以及发酵后期具有强适应能力的酵母菌，替代前期的泛菌属等微生物成为优势菌^[38]。

部分菌种具有自我保护机制，不仅能保证其自身的正常繁殖，还可避免菌群平衡体系的破坏，如酵母菌与乳杆菌间存在的代谢产物互补机制，能够提高酵母菌的自我保护能力，避免其自溶或受外界环境影响，并始终与乳酸菌共同存在于同一动态平衡体系^[39]。此外发酵过程中优势菌产生的代谢产物，会促进其生存和生长，同时抑制其他生物体的生长和增殖。酵素中加入乳酸菌能有效控制发酵过程，同时提高酵素食品的营养价值^[40]。

2 植物酵素代谢产物形成的主要影响因素

2.1 发酵原料成分

食用植物酵素是用药食同源的中药材、水果、蔬

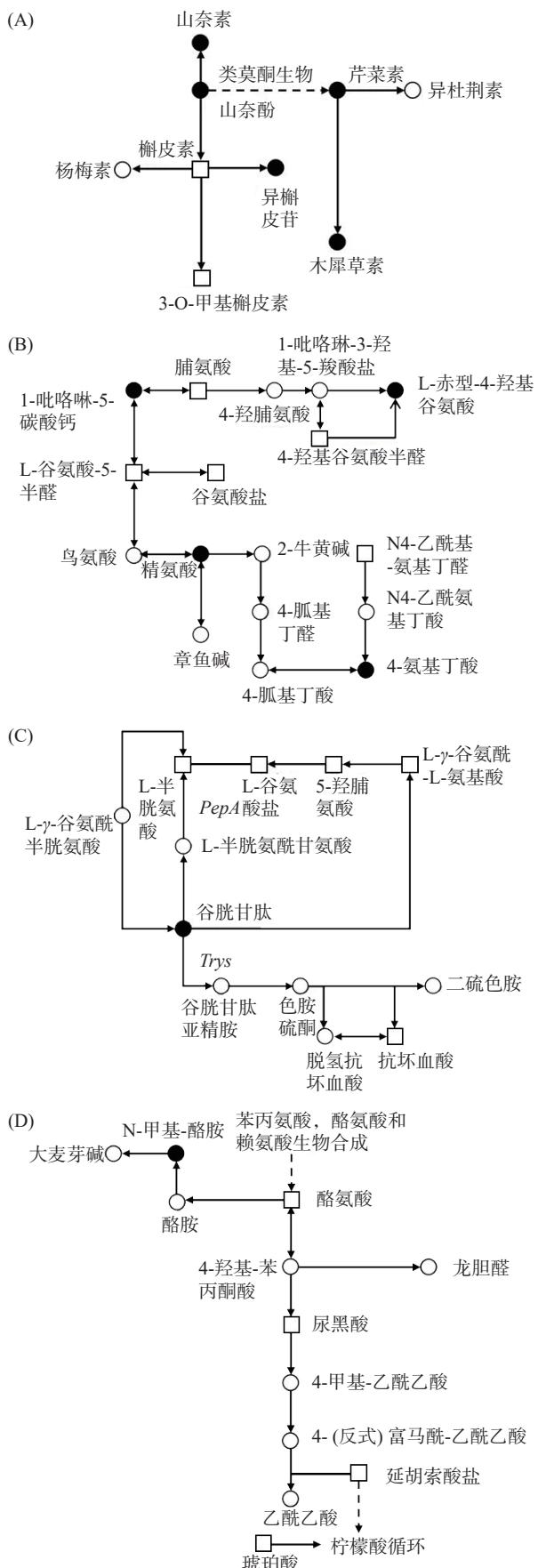
图 5 植物酵素发酵过程中的其他代谢途径^[34-35]

Fig.5 Other metabolic pathways during the fermentation of plant Jiaosu^[34-35]

菜等的根茎叶花果作为原料, 经自然发酵或微生物发酵制得的含有功效酶、氨基酸等多种活性成分的产

品。这些植物原料含有天然的营养成分或非营养成分, 酚类、吲哚类、异氰酸酯类等活性物质, 具有抗氧化、润肠通便、增强机体免疫力、抗衰老、抗肿瘤以及美白等功能^[41]。黄酮是植物中抗氧化能力最强的一种酚类化合物, 常见于植物的叶、花、种子和果实中, 酚类化合物杂环上的羟基可以在体内释放 H⁺ 竞争性结合自由基, 联合超氧阴离子自由基和铁离子, 同时可以抑制脂氧化酶活性进而抑制花生四烯酸的代谢, 因此在许多植物中酚类物质都起着主要的抗氧化、防癌的功效。

目前已被用作酵素的原料包括口感较好的水果如桑葚、诺丽果等水果^[42-43], 以及药食两用的植物如黄精、铁皮石斛等药用植物^[44-45]。混合型果蔬发酵会对酵素的代谢产物的功能性产生重要影响, 已发现混合果蔬、药食同源植物制备的酵素酶活性、抗氧化能力均优于单一果蔬发酵^[46]。因此在原料的选择上, 首先原料需具备一定的功能性成分, 其次要考虑不同原料部位的功能性差异, 第三可选择本身具有一定的风味物质的原料, 最后根据功能性需求将果蔬进行复配, 如食用菠萝类酵素易上火, 可往酵素中加入草莓, 还可提升酵素的抗氧化性^[47]。

同一原料不同部位制得的酵素抗氧化性有所差异, 如使用莲子制得的酵素中总黄酮、V_C、单宁含量均低于莲蓬和莲子壳制作的酵素^[48]。此外酵素一部分风味来自果蔬原料, 另一部分来源于发酵过程的生化反应。风味化合物的组成复杂, 是由多种成分共同作用的结果^[49]。部分本身含有滋味的原料物质(如十字花科植物大白菜萝卜等), 可选用异硫氰酸酯、芥子苷含量少的原料, 否则制作出的产品会产生强烈的辛辣味, 影响食用口感^[50]。若果蔬本身含有香气成分(如挥发性物质酯、醇、酸、萜烯等), 这些物质经过微生物发酵后会转变成酯类、醛类、氨基酸等物质, 赋予酵素愉悦的口感^[51]。对于本身气味较少的原料可根据 GB/T 31121-2014 标准, 使用糖或酸味剂或盐调整酵素风味适应市场需求。

2.2 发酵温度

发酵温度通过影响微生物的生长代谢, 从而影响酵素及产物的抗氧化性, 是酵素品质的决定性因素之一。常用的发酵菌种中酵母菌(包括酿酒酵母等)的最适生长温度为 20~30 °C, 乳酸菌(包括保加利亚乳酸杆菌、嗜酸乳酸杆菌等)的最适生长温度为 37 °C, 而醋酸菌的最适生长温度为 30~35 °C^[17]。发酵温度过低时, 菌种的生长代谢受到抑制, 发酵周期长, SOD 活力及产物含量较低; 当温度在菌种的最适生长温度区间内时, 随着温度上升, 菌种的代谢速率会随之升高从而加速果蔬中 V_C、花青素等物质的溶出, 同时微生物的生长代谢也会生成酚类等抗氧化的物质, 体系中抗氧化物含量增高, SOD 活力也会随之上升。但温度过高时会抑制酵素中酶的活性与降低原料中 V_C、总酚、黄酮等活性物质的抗氧化性, 低温

可以维持酵素中较低的溶解氧含量,从而保护多酚和黄酮类物质不被氧化,并抑制菌种的生长代谢,导致发酵不彻底^[52]。温度会影响甲酯酶进而影响酵素中的甲酯、甲醛的含量。有时代谢产物中产生的有害物质会降低酵素的品质,如苹果皮中的果胶在甲酯酶和热的作用下易产生甲醇、甲醛与果酸,而甲醇的过度摄入容易对人体造成危害^[53]。混菌发酵时,则需优先考虑发酵温度的顺序,使酵素产物的抗氧化性最佳^[54]。酵母菌和乳酸菌混菌发酵时可以先使用 28 ℃后 37 ℃进行发酵,这样两个菌种能够协调生长,达到较优的发酵效果。这是由于酵母菌在最适生长温度下可以水解原料中的乳糖、蛋白质等为乳酸菌提供氨基酸、丙酮酸盐等营养因子;而乳酸菌进行乙醇发酵或酵母菌自溶所产生的吡喃甘露糖可以吸收中链脂肪酸,解除其对乳酸菌的毒害作用,同时可以增加乳酸菌的 α -葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶、肽酶等的活性,间接促进乳酸菌的生长繁殖。此外乳酸菌利用营养物质速度快于酵母菌,其产生的酸会抑制酵母菌的生长,因此在乳酸菌与酵母菌混合发酵时应优先选择酵母菌的最适生长温度为宜^[55]。

2.3 发酵时间

酵素的发酵时间与表 1 中菌种的生长曲线相关,可以根据菌种的生长曲线来预测酵素内部菌种的发酵终点,从而预测酵素的接种时间^[56]。发酵初期处于菌种的对数生长期,此时的营养成分、氧气最为充足,此时菌种增长速度最快,而后氧气和营养物质被消耗,二氧化碳以及有害产物开始积累,菌种的数量不再上升而是开始趋于平缓,随着时间的推移,外界环境逐渐不利于菌种的生长,菌种死亡速度大于新生成的速度,菌种进入衰亡期,数量开始减少^[57]。由于碳水化合物是菌种重要的营养物质,所以酵素的糖度与菌种数量成反比的关系,在衰亡期时菌种糖度几乎不再变化,此时的糖被酵母分解成水、二氧化碳等。酵素的 pH 由于发酵过程中先产生酸,后期受到蛋白质水解的影响呈现先下降后平缓的趋势,酸度也呈现先上升后平缓的趋势。发酵过程中碳源、氮源等会代谢转化成酚类,但是随着时间的推移菌种会产生酚酶等代谢产物分解酚类,衰亡期时由于菌种失去分解能力,此时酚类的数量趋于平缓。在培养时间较短时菌体生长不完全,自由基清除能力不完全。对数期时,酚类物质持续溶出, SOD 活性、酚类物质含量、自由基清除能力都会有所增长。培养时间过长,菌体进入衰亡期, SOD 活性、酚类物质含量、自由基清除

能力降低,处于先上升后下降的趋势。双菌发酵时酵母菌代谢产物产生较快可以为乳酸菌提供营养因子,两种菌种协同发酵、互生^[55]。

2.4 菌体种类

果蔬发酵是传统的保护果蔬的手段之一,其中添加菌种发酵又分为内源性和外源性菌种,这两种菌种的区别主要是,相同与不同的基质进行分离和利用。内源性菌种生长、酸化周期短;风味、抗氧化性都较好,内源性菌种的运用主要在奶酪和烘焙食品,但是考虑到快速酸化,目前商业果蔬酵素较少应用内源性菌种,广泛应用的为外源性菌种。乳酸菌中植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌常用于发酵果蔬汁,植物乳杆菌常用于脐橙、苹果、莓果类果蔬汁的发酵,提高果蔬汁的抗氧化性;干酪乳杆菌可以有效提升菠萝汁的风味色泽^[58],嗜酸乳杆菌则常用于梨汁、桑葚汁;植物乳杆菌发酵的果汁具果香和花香可以用于酯香型、醇香型果汁(葡萄汁),干酪乳杆菌发酵的果汁气味最柔和可用于烯烃类果汁(橙汁)^[59]。瑞士乳酸杆菌的蛋白水解活性在产物的质地和风味的形成中起着重要作用,因此常用于生产发酵乳饮料^[60]。不同酵母菌株发酵时易产生包括丁醇、乙酸和癸酸等特征香气物质^[61],产乙醇、高级醇和酯多而乙酸少的菌株为较优的酵母菌株^[62]。乳酸菌发酵易产生酸,酵母菌发酵易产生醇,由于不同菌种的性能不同,可以选择多菌种混合发酵提升口感,如采用果酒酵母和保加利亚乳杆菌进行复合发酵,产物的黄酮和自由基清除率均有所上升,口感中和^[47]。

使用不同菌种混合发酵和单独发酵时有不同的生长曲线,会产生不同的代谢产物和风味物质,需要根据实际生产情况综合考虑。例如使用酿酒酵母和干酪乳杆菌共同发酵玉米饮料时,乳酸菌的酸化为酵母生长提供酸性环境,酵母为乳酸菌提供维生素和氨基酸等生长基质,嗜酸乳杆菌耐酸不耐热,可利用糖类进行同型发酵产生乳酸^[63]。酵母菌发酵产生的活性物质为乳酸菌提供氨基酸、维生素等营养因子,能够缩短发酵时间、节约发酵成本^[54]。

2.5 接菌数量

植物酵素发酵过程中菌种的接种量通常会对酵素的 SOD 活性、总酸含量、淀粉酶活力、pH、酒精度、糖度和发酵菌活菌数量等参数产生重要影响。菌种浓度较低时,植物酵素内的微生物生长速度慢,对营养物质的利用率低,随着接菌量的升高,植物酵素可能会产生乙醇等有机溶剂,使细胞内的营养物质溶出,当接种量过高时,植物酵素中的营养物质会被过度消耗而无法提升发酵速率,接种量过高时会降低体系的 pH,不利于菌种的生长。魏文倩等^[64]发现酵母菌表面会吸附花青素,导致花青素随着酵母菌的升高而降低,同时使发酵液颜色变浅,因此 1.5% 的酵母菌接种量时花青素的含量最大。陈瑞鑫^[65]用双菌发酵芒果汁,发现当 5% 乳酸菌,7% 非酿酒酵母菌

表 1 微生物的生长特性

Table 1 Growth characteristics of microorganisms

	迟缓期(h)	对数期(h)	稳定期(h)	衰亡期(h)	参考文献
啤酒酵母	0~8	8~30	30~32	32后	
果酒酵母	0~4	4~24	24~32	32后	[57]
高活性干酵母	0~4	4~20	20~32	32后	
植物乳杆菌	0~8	8~11	11~16	16后	[56]

接种时, 异戊二烯类香气化合物生成率最大。刘维兵等^[66]在葡萄海棠果发酵试验中发现, 酵母菌接种量与果汁中 SOD 活力成正比, 当接种量高于 0.2% 时, 酵母菌浓度和 SOD 酶活力不再有明显变化。

3 植物酵素的风味来源及风味物质变化

3.1 酵素的风味来源

发酵食品最终的风味与其参与发酵的各种微生物代谢活动密切相关。微生物代谢产物影响食品的甜味(如甘露醇)、酸味(如乳酸)、鲜味(如 L-谷氨酸)、苦味(如疏水性肽)和果味(如酯)^[8]。酵素可以分为自然发酵和人工发酵, 其中人工发酵又分为纯种接种发酵和混合发酵, 主要利用的微生物有乳酸菌、酵母菌、醋酸菌等, 从表 2 可以看出不同微生物、原料都会给酵素带来不同的风味。乳酸菌有复杂的酶系统, 可以产生一系列乙醛、乙酰等提供风味的代谢物^[67~68]。酿酒酵母是乙醇的主要生产者, 同时也可以产生良好的酒香和果香^[69~70]。醋酸菌 GDMCC1.152 菌株在红茶醋中有氧条件下将乙醇氧化成乙酸, 同时生成丁二酸、柠檬酸等酸, 赋予了刺激香味^[71]。混合菌株与单一培养相比生长速度更快, 同时可以降低乙醇、有机酸含量, 丰富酯类物质, 如乙酸乙酯等挥发性物质的含量, 增加酵素的果香味^[72]。

3.2 植物酵素发酵前后风味物质的变化

酵素中主要的风味化合物有醇、酯、醛、酮、有机酸、酚类以及一些萜烯类等芳香烃。醇类主要通过糖酵解途径产生, 乳酸菌的氨基酸分解代谢而来, 许多类型的酵母菌也含有长链感官特性的复合醇, 部分醇直接通过相应的醛氢化获得, 发酵后苹果酵素中的乙醇含量上升使产品含有一定的酒香味, 减少了辛辣味^[73]。酯类主要通过短链游离氨基酸和醇酯化产生, 羧酸酯是植物酵素中的香气重要来源, 挥发性强的酯类如乙酸乙酯具有花香和果香味, 但当其浓度超过阈值时会产生刺激性气味^[15]。醛类是丙酮酸和乙醇的中间体, 是苹果酵素中的代表挥发性化合物, 主要由苏氨酸醛缩酶转化形成, 适宜的醛会产生令人愉快的果香味, 过多的醛类会产生难闻的青草味^[75]。酮类味道浓郁, 在低于阈值时就能散发出香气, 主要由美拉德反应、脂肪酸的微生物氧化或脱羧形成, 甲基酮前体以链状烷酸的形式存在于新鲜黄油中无香气,

当其转为甲基酮后, 含有黄油状和其他乳状风味^[76]。酸类主要为一些细菌酵母在有氧情况下生成, 是诺丽果酵素的特征性风味化合物, 也是其难闻气味的来源, 如辛酸、己酸和丁酸会形成刺鼻的奶酪气味^[42]。

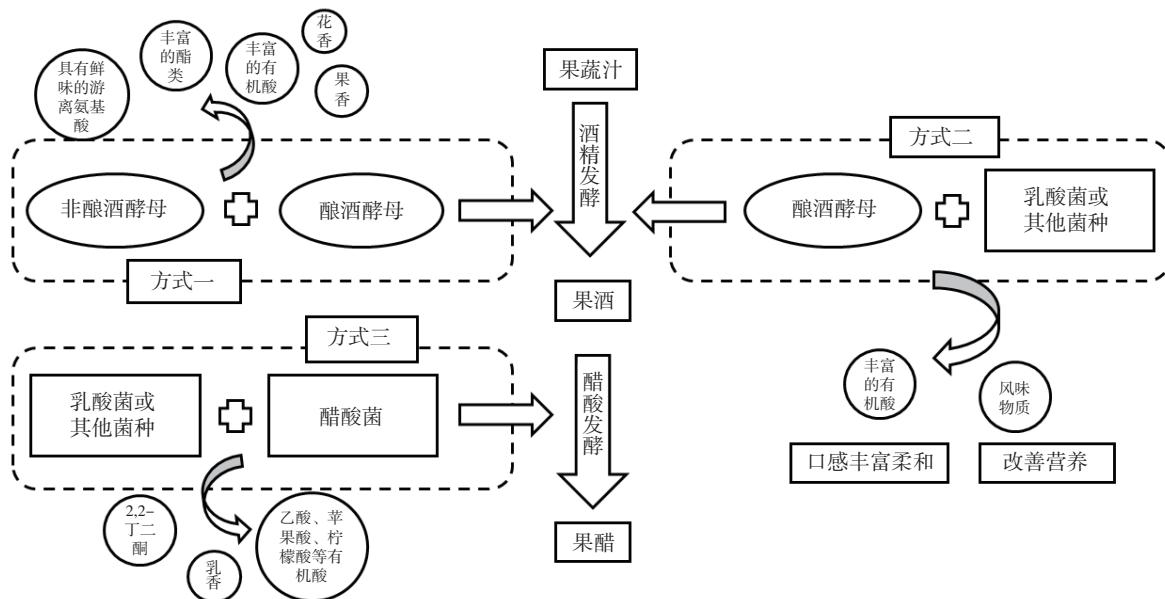
植物酵素发酵过程能增加原料的风味化合物的种类, 未发酵的枸杞液发酵后由 32 种香气成分增加至 64 种, 其中酯类(1~20 种)和醇类(11~23 种)增加最多, 赋予酵素花果香^[6]。发酵过程也能增加酯类、酚类等的含量, 如使用啤酒酵母、保加利乳酸杆菌、嗜酸乳酸杆菌、巴氏醋酸杆菌发酵陈皮、山药等中药, 发酵结束酯类(9.1%~23.4%)、酚类(2.82%~11.23%)都有明显增多, 赋予酵素椰子香、丁香香气, 同时发酵过程也能减少不良风味化合物的含量, 酸类(42.1%~36.4%)的减少使酵素口感更柔和, 减少刺激^[77]。不同发酵过程形成的风味物质不同, 未发酵、酵母菌发酵、植物乳杆菌发酵和混菌发酵苹果酵素, 四种酵素的风味物质分别为 28、36、24、37 种, 说明酵母菌发酵是增加苹果汁香气成分的主要原因^[78]。混菌发酵比单一菌种发酵能丰富口感, 多菌种固定化体系中, 菌种之间相互依存相互促进可以形成更丰富的酶系和多元化的产物体系, 从而生成更丰富的营养成分和改善风味的成分^[79]。酵素制作方法与果醋和果酒具有极强的相似性, 都是利用微生物的特性对果蔬进行发酵, 但是酵素的定义更广泛, 涵盖了几乎所有植物类原料的发酵。由于酵素成分的复杂性, 植物酵素的发酵机制以及风味产生机制并没有明确的报道, 因此可以参考果酒和果醋的风味变化。如图 6 所示, 方式一用酿酒酵母和非酿酒酵母协同发酵可以增加酯类含量提高果香和花香, 方式二用乳酸菌和酵母菌协同发酵可以削弱乙酸的刺激, 方式三为醋酸菌和乳酸菌发酵也可以使口感变柔和提升风味^[80]。产品风味一般来源于有机酸和呈味氨基酸和肽, 特别是具有鲜味和醇厚味活性的氨基酸和肽(通过上述细菌的转氨酶途径将氨基酸转化为风味挥发物实现)。

目前风味物质与底物之间的相互作用以及风味物质之间的相互作用是十分复杂的。需要通过调整发酵参数或补偿乳酸发酵后的典型香气化合物改善特征香气, 因此需要进行更全面的感官研究和评定, 以确定特定的香气化合物混合物中的协同性和掩盖

表 2 不同原料酵素的风味

Table 2 Flavors of Jiaosu with different ingredients

微生物来源	原料	风味	参考文献
乳酸菌	乳酸菌	生姜汁 产生2-乙基己醇、甲醇、丁醇、己醇、乙酸乙酯、乙醛等, 增加苹果香味、甜味	[68]
	嗜酸乳杆菌	苹果汁 诺卡酮, 产生葡萄气味	[73]
	毕赤酵母	葡萄汁 癸内酯, 产生桃子气味	[69]
酵母菌	解脂耶氏酵母 醋酸菌	桃子汁 发酵后己酸、辛酸、丁酸降低, 生成酯、酮、酸、醇、萜烯, 减少了诺丽果汁的难闻 气味, 形成果味和蘑菇气味	[69]
植物乳杆菌和类干酪乳杆菌(2:1)	黄精山楂	乳酸、苹果酸增加, 生成适宜的糖酸比, 产生柔和清爽的口感	[44]
混合菌株 植物乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌和 木醋杆菌(3:4:1.6:1.2:1)	蓝莓	乙酸乙酯、乙酸酯、丁香酸增加, 低浓度蓝莓浓缩汁的饮料含有发酵味、酯香味、果香味、乳香味, 酸味适中、持久却不刺激, 高浓度时发酵味过浓	[74]

图 6 多菌种复合发酵果醋过程^[80]Fig.6 Fermentation process of fruit vinegar by multiple strains^[80]

是否对发酵汁中的香气起决定作用。同时可以使用蛋白质组学分析技术进一步研究风味前体物质的变化,以验证益生菌与特定风味之间的关联。

4 总结与展望

酵素含有多种功效,在国内属于新兴行业,但是目前酵素的研究还不够深入,本文梳理了植物酵素酵解过程中的相关代谢途径、产物变化分析、产物形成影响因素以及植物酵素的风味来源和风味物质变化。首先通过对酵素代谢机制的研究可知,酵素内部含有各种微生物(酵母菌、乳酸菌、醋酸菌等)的代谢途径,可以根据产品所需的代谢产物挖掘优势菌及其代谢通路,其次酵素的发酵还需要考虑原料、温度、时间、菌种等因素,最后通过了解植物酵素的风味物质,可以复配出合适的酵素产品。然而,植物酵素发酵过程十分复杂,虽然部分产品的产物已经被证实,但是在代谢途径方面还存在一定的模糊点,并没有非常明确的关于酵素代谢途径的相关阐述,因此可以通过多组学技术等途径加强对该方面的研究。

同时酵素产品的生产也缺少一定的规范性,首先酵素的原料使用缺乏明确的分类和标准,缺少菌种与植物的适配表以及菌种的添加量的规范;其次微生物与酶活之间的关系不明确;最后植物酵素产物的安全性有待讨论,仍需进行临床试验。因此需要建立酵素产品质量标准,开发新技术,提高酵素的品质和安全性。总之,随着对植物酵素的深入研究,工艺技术、标准法规的制定完善,植物酵素将给人类的健康带来更多好处,植物酵素产品将会拥有更广阔 的市场。

参考文献

- [1] ZHANG L H, ZHANG M, MUJUMDAR A. New technology to overcome defects in production of fermented plant products-A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 116: 829–841.
- [2] BACHMANN H, NEVES A. Editorial overview: Microbial solutions in food biotechnology: fermentation, cell factories and beneficial microbes[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2019, 56: 6–8.
- [3] 付小琴. 苦荞芽果味酵素产品及其品质评价研究[D]. 成都: 成都大学, 2023. [FU X Q. Study on buckwheat sprout fruity Jiaosu products and their quality evaluation[D]. Chengdu: Chengdu University, 2023.]
- [4] 中国生物发酵产业协会. QB/T 5324-2018 酵素产品分类导则[S]. 北京: 中华人民共和国工业和信息化部, 2018: 1–6. [China Biological Fermentation Industry Association. QB/T 5324-2018 Guidelines for classification of enzyme products[S]. Beijing: Ministry of Industry and Information Technology, PRC, 2018: 1–6.]
- [5] 朱政, 周常义, 曾磊, 等. 酵素产品的研究进展及问题探究[J]. 中国酿造, 2019, 38(3): 10–13. [ZHU Z, ZHOU C Y, ZENG L, et al. Research progress and problems exploring of ferment products[J]. Forum and Summary, 2019, 38(3): 10–13.]
- [6] 郭红莲, 邢紫娟, 余巧银, 等. 天然枸杞酵素发酵的代谢产物分析[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(5): 48–55. [GUO H L, XING Z J, YU Q Y, et al. Analysis of metabolites produced by ferment of natural *Lycium barbarum*[J]. Food Research and Development, 2018, 39(5): 48–55.]
- [7] 沈燕飞, 聂小华, 孟祥河, 等. 酵素食品加工微生物与功能特性研究进展[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(1): 112–116. [SHEN Y F, NIE X H, MENG X H, et al. Research progress on microorganisms and functional properties of enzymes in food processing[J]. Zhejiang Agricultural Sciences, 2019, 60(1): 112–116.]
- [8] XIAO X W, LI S Y, ZHOU X B, et al. The anti-obesogenic effects and underpinning mechanisms of fermented plant-based foods: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2023, 136: 1–10.
- [9] 张瑞雪, 马勇, 刘宇, 等. 果蔬酵素对黑色素生成的影响[J].

- 食品工业, 2019, 40(5): 220–223. [ZHANG R X, MA Y, LIU Y, et al. Effects of fruit and vegetable enzymes on melanogenesisyao peilin[J]. The Food Industry, 2019, 40(5): 220–223.]
- [10] 陆雨, 江石平, 孙冬雪, 等. 诺丽酵素化学成分及其抗肿瘤活性研究[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(18): 1552–1556. [LU Y, JIANG S P, SUN D X, et al. Chemical constituents from noni enzyme and their antitumor activities[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2018, 53(18): 1552–1556.]
- [11] 王鑫, 修伟业, 毕海鑫, 等. 发酵蓝靛果果汁澄清工艺及贮藏稳定性研究[J]. 包装工程, 2023, 44(11): 87–98. [WANG X, XIU W Y, BI H X, et al. Clarification process and storage stability of fermented *Lonicera caerulea* juice[J]. Packaging Engineering, 2023, 44(11): 87–98.]
- [12] 汪琢, 梁鑫, 王虹玲. 荞米与番石榴复合乳酸发酵饮料的研制[J]. 包装工程, 2021, 42(3): 12–18. [WANGZ, LIANGX, WANG H L. Preparation of barley and guava compound lactic acid fermented beverage[J]. Packaging Engineering, 2021, 42(3): 12–18.]
- [13] MARCO M L, HEENEY D, BINDA S, et al. Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2017, 44: 94–102.
- [14] 罗玲, 何静, 徐丽萍, 等. 猕猴桃汁中酵母菌的分离鉴定及应用[J]. 中国酿造, 2023, 42(8): 103–110. [LUO L, HE J, XU L P, et al. Isolation, identification and application of yeast in kiwifruit juice[J]. China Brewing, 2023, 42(8): 103–110.]
- [15] DZIALO M C, PARK R, STEENSELS J, et al. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2017, 41: 95–128.
- [16] LI C, ZHANG S K, DONG G Y, et al. Multi-omics study revealed the genetic basis of beer flavor quality in yeast[J]. LWT, 2022, 168: 113932.
- [17] KOBAYASHI M, SHIMIZU H, SHIOYA S. Beer volatile compounds and their application to low-malt beer fermentation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 106(4): 317–323.
- [18] SUN Z G, WANG M Q, WANG Y P, et al. Identification by comparative transcriptomics of core regulatory genes for higher alcohol production in a top-fermenting yeast at different temperatures in beer fermentation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(12): 4917–4929.
- [19] VILELA A. Biological demarcation and deacetification of musts and wines: Can wine yeasts make the wine taste better?[J]. Fermentation, 2017, 3: 51.
- [20] STRATHERN J N, JONES E W, BROACH J R. The molecular biology of the yeast *Saccharomyces*: Metabolism and gene expression[M]. Cold Spring Harbor, N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982: 181–300.
- [21] FREIRE A L, RAMOS C L, DA C S, et al. Nondairy beverage produced by controlled fermentation with potential probiotic starter cultures of lactic acid bacteria and yeast[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 248: 39–46.
- [22] BONATSOU S, KARAMOUZA M, ZOUMPOULOU G, et al. Evaluating the probiotic potential and technological characteristics of yeasts implicated in cv. *Kalamata* natural black olive fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 271: 48–59.
- [23] LU Y Y, PUTRA S D, LIU S. A novel non-dairy beverage from durian pulp fermented with selected probiotics and yeast[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 265: 1–8.
- [24] CHU S C, CHEN C S. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha[J]. Food Chemistry, 2006, 98(3): 502–507.
- [25] SZUTOWSKA J. Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: A systematic literature review[J]. European Food Research and Technology, 2020, 246: 357–372.
- [26] DOYLE M P, DIEZ G F, HILL C. Food microbiology: Fundamentals and frontiers[M]. John Wiley & Sons, 2020.
- [27] GÄNZLE M G. Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage[J]. Current Opinion in Food Science, 2015, 2: 106–117.
- [28] PEREIRA A, FEITOSA W, ABREU V, et al. Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage[J]. Food Research International, 2017, 100: 603–611.
- [29] PEYER L C, EMANUELE Z, ELKE K. Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages[J]. Trends in Food Science Technology, 2016, 54: 17–25.
- [30] ALINE G T M, CÍNTIA L R, DISNEY R D, et al. Combination of probiotic yeast and lactic acid bacteria as starter culture to produce maize-based beverages[J]. Food Research International, 2018, 111: 187–197.
- [31] RICCI A, CIRLINI M, CALANI L, et al. In vitro metabolism of elderberry juice polyphenols by lactic acid bacteria[J]. Food Chemistry, 2018, 276: 692–699.
- [32] CHAVAN M, GAT Y, HARMALKAR M, et al. Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume[J]. LWT, 2018, 91: 339–344.
- [33] WANG L Y, HE J, ZHU H Z, et al. Profiling of dynamic changes of the microbial environment in the semen *Sojae praeparatum* fermentation process[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019, 252: 042107.
- [34] 欧科, 陈福欣, 王婷, 等. 基于代谢组学方法的两株酿酒酵母胞内差异代谢产物分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(4): 6.
- [35] OU K, CHEN F X, WANG T, et al. The analysis of intracellular differential metabolites of two *Accharomyces cerevisiae* strains based on metabolomics approach[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(4): 6.]
- [36] 姚沛琳, 刘梦茹, 杨澳, 等. 基于非靶向代谢组学的蓝莓酵素和沙棘酵素代谢产物特征比较[J]. 食品工业科技, 2022, 43(19): 160–166. [YAO P L, LIU M R, YANG A, et al. Comparison of metabolite characteristics of blueberry Jiaosu and sea-buckthorn Jiaosu based on non-targeted metabolomics approach[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(19): 160–166.]
- [37] 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. 药食同源目录大全[EB/OL]. 2020. <http://sc.foodmate.net/show-1996.html>. [National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. Homologous catalogue of medicine and food[EB/OL]. 2020. <http://sc.foodmate.net/show-1996.html>.]
- [38] 张梦梅, 刘芳, 胡凯弟, 等. 酵素食品微生物指标与主要功效酶及有机酸分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(9): 195–200. [ZHANG M M, LIU F, HU K D, et al. Analysis of food microbiological indexes and main functional enzymes and organic acids of enzymes[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(9): 195–200.]
- [39] 高庆超, 常应九, 马蓉, 等. 黑果枸杞酵素自然发酵过程中微生物群落的动态变化[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(13): 126–133. [GAO Q C, CHANG Y J, MA R, et al. Analysis of metabolites of natural *Lycium barbarum* fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(13): 126–133.]

- mentation Industries, 2019, 45(13): 126–133.]
- [39] 洪厚胜, 朱曼利, 李伟, 等. 葡萄果渣酵素的发酵工艺优化及其理化特性[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 63–72. [HONG H S, ZHU M L, LI W, et al. Optimization of fermentation process and physicochemical properties of probiotic fermented grape pomace[J]. Food Science, 2019, 40(8): 63–72.]
- [40] RAGHUVANSHI R, GRAYSON A, SCHENA I, et al. Microbial transformations of organically fermented foods[J]. Metabolites, 2019, 9: 165.
- [41] 白浩, 文佳嘉, 费爽雯, 等. 酵素的功能与综合应用研究进展[J]. 食品工业, 2017, 38(6): 270–272. [BAI H, WEN J J, FEI S W, et al. Function and integrated application of the enzyme[J]. The Food Industry, 2017, 38(6): 270–272.]
- [42] CHENG Y L, LI P Z, HU B, et al. Correlation analysis reveals the intensified fermentation via *Lactobacillus plantarum* improved the flavor of fermented noni juice[J]. Food Bioscience, 2021, 43: 101234.
- [43] KWAW E, MA Y K, TCHABO W, et al. Impact of ultrasonication and pulsed light treatments on phenolics concentration and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice[J]. LWT, 2018, 92: 61–66.
- [44] 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.
- [45] 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.]
- [46] 岩孔卜, 梦婷, 崔文锐. 铁皮石斛酵素功能性研究[J]. 中国食品工业, 2021, 14: 107–111. [KONG Y B, MENG T, CUI W R. Functional study of *dendrobium officinale* enzyme[J]. Food Engineering, 2021, 14: 107–111.]
- [47] 刘敏, 能燕, 付忠旭, 等. 不同配方发酵的酵素产品中活性物质的对比研究[J]. 食品与发酵科技, 2015, 51(5): 27–31. [LIU M, XIONG Y, FU Z X, et al. Comparative study of active substances in different formulations of enzyme products[J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 51(5): 27–31.]
- [48] 段晓宇, 曾莉, 樊睿, 等. 草莓菠萝复合酵素成分及其体外生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(10): 1635–1642, 1706. [DUAN X Y, ZENG L, FAN R, et al. Study on constituents of strawberry-pineapple complex Jiaosu and its bioactivity *in vitro* [J]. Natural Product Research and Development, 2021, 33(10): 1635–1642, 1706.]
- [49] 陆皓茜, 黄桂丽, 马佳佳, 等. 莲蓬酵素的发酵工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(18): 4857–4863. [LU H Q, HUANG G L, MA J J, et al. Study on fermentation technology of lotus seedpod enzymes[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2018, 9(18): 4857–4863.]
- [50] 朱国斌. 食品风味原理与技术[M]. 北京: 北京大学出版社, 1996. [ZHU G B. Principles and techniques of food flavor[M]. Beijing: Peking University Press, 1996.]
- [51] 袁华伟, 尹礼国, 徐洲, 等. 5种蔬菜中风味物质成分分析[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(1): 5. [YUAN H W, YIN L G, XU Z, et al. Analysis of flavor substances in 5 kinds of vegetables[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(1): 5.]
- [52] 吴春英, 张冰, 李利强, 等. 响应面法优化蓝靛果红树莓复合发酵汁的研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(8): 172–179. [WEI W Q, ZHANG B, LI L Q, et al. Study on the optimization of the compound fermentation juice mixed with blue hazelnut and red raspberry using response surface method[J]. Food Research and Development, 2020, 41(8): 172–179.]
- [53] 王清国, 施江雁. 低温对冷藏富士苹果货架品质变化的影响[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(5): 192–198. [WANG Q G, SHI J Y. Effect of temperature on changes in shelf quality of refrigerated Fuji apples[J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(5): 192–198.]
- [54] 李红, 毛继龙, 陈文静, 等. 发酵温度对苹果酵素抗氧化性和安全性的影响[J]. 食品与药品, 2020, 22(5): 5. [LI H, MAO J L, CHEN W J, et al. Effect of temperature on antioxidant activity and safety of apple ferment[J]. Food and Drug, 2020, 22(5): 5.]
- [55] 莫大美, 吴荣书. 复合菌种发酵法制备玫瑰酵素工艺研究[J]. 食品工业, 2016, 37(10): 64–69. [MO D M, WU R S. Study on preparation of *Rosa rugosa* enzyme by compound strains fermentation process[J]. The Food Industry, 2016, 37(10): 64–69.]
- [56] 闫彬, 贺银凤. 酸马奶中乳酸菌与酵母菌的共生发酵特性[J]. 食品科学, 2012, 33(7): 131–137. [YAN B, HE Y F. Symbiotic fermentation characteristics of lactic acid bacteria and yeast isolated from koumiss in inner mongolia[J]. Food Science, 2012, 33(7): 131–137.]
- [57] 宋苏华. 发酵果蔬饮料益生乳酸菌的强化筛选及其发酵工艺技术研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012. [SONG S H. Improved screening of probiotic lactic acid bacteria specific for fruit-vegetable beverages fermentation and its fermentation technology[D]. Nanchang: Nanchang University, 2012.]
- [58] COSTA M, FONTELES T, DE JESUS A L, et al. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability[J]. Food Chemistry, 2013, 139: 261–266.
- [59] 卢嘉懿. 乳酸菌发酵果蔬汁风味品质研究与控制[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [LU J Y. Changes and control on sensory quality of lactic acid bacteria fermented fruit and vegetable juices[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.]
- [60] STRAHINIC I, LUKIC J, TERZIC-VIDEOJEVIC A, et al. Use of *Lactobacillus helveticus* BGRA43 for manufacturing fermented milk products[J]. Food Technology and Biotechnology, 2013, 51(2): 257–265.
- [61] 郑娇, 俞月丽, 彭强, 等. 不同酵母菌种对发酵海红果酒品质的影响研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(1): 9. [ZHENG J, YU Y L, PENG Q, et al. Effect of different yeast qualities of hai-hong wine[J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(1): 9.]
- [62] 张烨. 不同酵母菌种及工艺条件对冰葡萄酒发酵的影响[D]. 大连: 大连工业大学, 2017. [ZHANG Y. Effects of different yeast strains and technological conditions on fermentation of ice-wine[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2017.]
- [63] 徐东, BEHR J, GEIBLER A J, et al. Label-free quantitative proteomic analysis reveals the lifestyle of *Lactobacillus hordei* in the presence of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 294: 18–26.
- [64] 魏文倩, 张冰, 李利强, 等. 响应面法优化蓝靛果红树莓复合发酵汁的研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(8): 172–179. [WEI W Q, ZHANG B, LI L Q, et al. Study on the optimization of the compound fermentation juice mixed with blue hazelnut and red raspberry using response surface method[J]. Food Research and Development, 2020, 41(8): 172–179.]
- [65] 陈瑞鑫. 乳酸菌和非酿酒酵母菌混合发酵芒果汁的研究[D]. 海口: 海南大学, 2022. [CHEN R X. Fermentation of mango juice by a mixture of lactic acid bacteria and non-Saccharomyces]

- yeasts[D]. Haikou: Hainan University, 2022.]
- [66] 刘维兵, 王舸楠, 王犁烨, 等. 葡萄海棠果酵素发酵工艺优化及体外抑菌与抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(16): 118–125. [LIU W B, WANG G N, WANG L Y, et al. Study on characteristics of wild cherry beverage co-fermented by *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(16): 118–125.]
- [67] SALMERÓN I, THOMAS K, PANDIELLA S S. Effect of substrate composition and inoculum on the fermentation kinetics and flavour compound profiles of potentially non-dairy probiotic formulations[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 55(1): 240–247.
- [68] 邱大东, 周梨萍, 郭文字, 等. 生姜酵素发酵前后风味物质的变化[J]. 农产品加工, 2022, 16: 57–60. [QIU D D, ZHOU L P, GUO W Y, et al. Changes of flavor substance in ginger Jiaosu before and after fermentation[J]. Farm Products Processing, 2022, 16: 57–60.]
- [69] RANJITHA K, OBEROI S H. Food flavours from yeasts: Improved productivity through biotechnological interventions and process optimization[J]. *Current Biotechnology*, 2018, 7(3): 199–213.
- [70] DAI J, SHA R, WANG Z, et al. Edible plant Jiaosu: Manufacturing, bioactive compounds, potential health benefits, and safety aspects[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(15): 5313–5323.
- [71] CHEN C, WU S, LI Y, et al. Effects of different acetic acid bacteria strains on the bioactive compounds, volatile compounds and antioxidant activity of black tea vinegar[J]. *LWT*, 2022, 171(5): 114131.
- [72] 李婵媛, 郑森心, 邹玉婷, 等. 葡萄汁有孢汉逊酵母与酿酒酵母共培养发酵野樱桃饮品研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(7): 93–99. [LI C Y, ZHENG M X, ZOU Y T, et al. Study on characteristics of wild cherry beverage co-fermented by *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(7): 93–99.]
- [73] CHEN C, LU Y Q, YU H Y, et al. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice[J]. *Food Bio-science*, 2019, 27: 30–36.
- [74] 刘芯如, 古丽妮萨·库尔班, 倪辉, 等. 复合蓝莓果蔬汁酵素发酵及饮料调配[J]. 食品科技, 2020, 45(12): 80–85, 91. [LIU X R, GULNISA K, NI H, et al. Organic acid fermentation and beverage preparation using vegetable juices containing blueberry[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(12): 80–85, 91.]
- [75] NSOGNING D S, SACHER B, KOLLMANNSSBERGER H, et al. Key volatile aroma compounds of lactic acid fermented malt based beverages—impact of lactic acid bacteria strains[J]. *Food Chemistry*, 2017, 229: 565–573.
- [76] KUMAR V D, THYAB G A S, KAREEM N A, et al. Recent trends in microbial flavour compounds: A review on chemistry, synthesis mechanism and their application in food[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2022, 29(3): 1565–1576.
- [77] 陈英, 余雄伟, 龚文发, 等. 植物酵素发酵特性及风味物质变化的研究[J]. 饮料工业, 2015, 18(2): 9–12. [CHEN Y, YU X W, GONG W F, et al. Study on fermentation property and the change of flavor substances of plant enzyme[J]. *The Beverage Industry*, 2015, 18(2): 9–12.]
- [78] 刘秀娟. 苹果酵素发酵工艺及其抗氧化活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2021. [LIU X J. Study on fermentation technology and antioxidant activity of apple Jiaosu[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2021.]
- [79] 王克明, 庄树宏. 共固定化多菌种混合发酵生产稠酒的研究[J]. 酿酒科技, 2000, 44(3): 67–69. [WANG K M, ZHUANG S H. Study on the production of thick wine by co-immobilized multi-strain mixed fermentation[J]. *Brewing Technology*, 2000, 3: 67–69.]
- [80] 朱丹实, 吴逗逗, 沈雨思, 等. 多菌种混合发酵果蔬汁的研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(10): 343–352. [ZHU D S, WU D D, SHEN Y S, et al. Research progress of mixed fermentation of fruit and vegetable juice with multiple strains[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(10): 343–352.]