DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250922001
引用格式: 刘凤听, 蒋泰龙, 康超, 等. 广西沃柑乳酸菌发酵饮料制作工艺的优化及其品质分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(4): 175–185.
LIU FT, JIANG TL, KANG C, *et al*. Optimization of the production process and quality analysis of Guangxi Orah lactic acid bacteria fermented beverage [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(4): 175–185. (in Chinese with English abstract).

广西沃柑乳酸菌发酵饮料制作工艺的优化及其品质分析

刘凤听, 蒋泰龙, 康　超*, 李莉莉, 周昕仪

(南宁学院食品与质量工程学院, 南宁　530200)

摘　要: 目的　开发兼具良好口感与保健功能的沃柑乳酸菌发酵饮料并进行品质分析。**方法**　通过单因素实验考察料液比、白糖添加量、菌种复配比、接种量、发酵时间和温度对发酵工艺的影响, 结合模糊综合评价筛选基础参数, 进一步利用响应面法进行优化并建立感官评价预测模型。**结果**　经优化最优工艺参数为: 接种量 3%、发酵温度 35 ℃、发酵时间 6 h, 此时模糊综合评判值达 0.9397。发酵后饮料的理化指标为: 总酸含量 1.12 g/100 mL、总糖含量 10.6 g/100 mL、pH 3.54、可溶性固形物含量 12.4°Brix。**结论**　本研究开发的沃柑乳酸菌发酵饮料符合 GB/T 31121—2014《果蔬汁类及其饮料》要求, 可对沃柑深加工高附加值产品开发提供理论基础。

关键词: 沃柑; 乳酸菌发酵; 饮料; 工艺优化

Optimization of the production process and quality analysis of Guangxi Orah lactic acid bacteria fermented beverage

LIU Feng-Ting, JIANG Tai-Long, KANG Chao*, LI Li-Li, ZHOU Xin-Yi

(*College of Food and Quality Engineering*, *Nanning University*, *Nanning* 530200, *China*)

ABSTRACT: Objective　To develop a Orah lactic acid bacteria fermented beverage with both excellent taste and health-promoting functions, and to conduct a comprehensive quality analysis thereof. **Methods**　Single-factor experiments were conducted to investigate the effects of material-liquid ratio, white sugar addition amount, strain compound ratio, inoculation amount, fermentation time and temperature on the fermentation process. Basic parameters were screened by combining fuzzy comprehensive evaluation, and response surface methodology was further used for optimization and to establish a sensory evaluation prediction model. **Results**　The optimized optimal process parameters were determined as follows: Inoculation amount of 3%, fermentation temperature of 35 °C and fermentation time of 6 h, under these conditions, the fuzzy comprehensive evaluation value reached 0.9397. The

收稿日期: 2025-09-22
基金项目: 热带亚热带特色水果高值化利用广西高校工程研究中心项目
第一作者: 刘凤听(1986—), 男, 实验师, 主要研究方向为食品营养。E-mail: 357718945@qq.com
***通信作者:** 康超(1985—), 女, 博士, 副研究员, 主要研究方向为食品加工。E-mail: kangchao8529@163.com

physicochemical indexes of the fermented beverage were: Total acid content of 1.12 g/100 mL, total sugar content of 10.6 g/100 mL, pH 3.54 and soluble solid content of 12.4°Brix. **Conclusion** This study develope Orah lactic acid bacteria fermented beverage complies with GB/T 31121—2014 *Fruit and vegetable juices and beverages*. The research provide a theoretical basis for the development of high-value-added products from deep processing of Orah.

KEY WORDS: Orah; lactic acid bacteria fermentation; drinks; process optimization

0 引 言

广西武鸣沃柑营养丰富，含有大量的营养物质如膳食纤维、果胶、维生素、胡萝卜素，对心血管系统有益处[1–2]，沃柑还含有其他水果中较少见的成分，如橙皮苷，这些成分能够加强维生素 C 的效果，强化微血管组织，降低毛细血管的脆弱性，对于高血压和肥胖症患者来说尤其有益。广西壮族自治区人民政府在 2019 年印发关于加快推进现代特色农业高质量发展的指导意见(桂政发〔2019〕7 号)，明确水果业被列为全区 6 个打造千亿元目标的产业之一，同年政府部门印发广西特色水果加工业发展实施意见的通知(桂工信食药〔2019〕460 号)，提出果汁加工已经列入重点发展对象。2021—2022 年仅南宁市沃柑总产量已约 203 万吨，占全国沃柑种植面积 1/4，产量达 120 万吨，但主要以鲜销为主，初加工转化率达 85.30%，初加工企业次果率高达 30%，关于沃柑生鲜果及次果进行深加工的企业少之又少。目前已开发的沃柑产品主要为非浓缩还原汁(not from concentrat, NFC)沃柑果汁[3]，沃柑-胡柚复配果汁，沃柑浓缩汁，沃柑茶饮原料等，沃柑复配果汁较少，沃柑果酱，沃柑罐头也逐渐成为沃柑产品开发的方向[4]，但是市面上缺乏较为成熟的沃柑发酵饮料产品。乳酸菌是一种能将糖发酵为乳酸等多种物质的无芽孢微生物并且革兰氏染色呈阳性[5]，特别是其发酵产品因健康效益而备受青睐[6–8]。乳酸菌发酵果蔬汁是以果蔬汁为基质，通过单菌或复合菌协同发酵后[9–11]，结合调香调味工艺制成的新型功能饮品。目前研究表明乳酸菌复配相较于单一菌株发酵优势更为明显，焦媛媛[12]以梨汁作为原料，利用不同发酵乳酸菌进行工艺优化与品质分析，得出植物乳杆菌和干酪乳杆菌复配发酵效果最好。卢嘉懿[13]通过控制植物乳杆菌发酵甜柠檬汁时活菌数显著上升，乳酸含量提升使 pH 下降，同时抗氧化活性稳定性提高 42%。综上，本研究旨在通过优化植物乳杆菌与保加利亚乳杆菌的复配比例及发酵工艺参数，期望解决广西武鸣沃柑次果利用率低、加工产品同质化及高糖度抑制乳酸菌活性的产业痛点，开发出兼具良好感官品质、稳定益生菌活性与沃柑营养特性的沃柑乳酸菌发酵饮料，并明确该饮料的关键理化指标、微生物指标，为丰富沃柑深加工产品品类、提升沃柑产业附加值提供理论支撑与技术参考，助力广西现代特色水果产业高质量发展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

市售广西沃柑[可滴定酸含量为(0.54±0.01) g/100 mL，可溶性固形物含量为(13.33±0.06)°Brix，固酸比为 24.54±0.16，P<0.05]，2024 年 12 月份购于广西壮族自治区南宁市。

直投式保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)菌粉(菌株保藏号 CCIC 2215，活力 100 亿 CFU/g，西安米先尔生物科技有限公司)；直投式植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)菌粉[菌株号 JYLP-002，活力 100 亿 CFU/g；民生中科嘉亿(山东)生物工程有限公司]；市售白砂糖(食品级，云南皇冠园食品有限公司)；氢氧化钠(NaOH)(分析纯，成都金山化学试剂有限公司)；指示剂酚酞($C_{20}H_{14}O_4$)、葡萄糖标准品、磷酸二氢钾、磷酸、乳酸(分析纯，天津市大茂化学试剂厂)。

1.2 仪器与设备

BCD-200 (KK20V51TI)低温冰箱(博西华家用电器有限公司)；LRT-250 生化(恒温)培养箱、DBG-9030 热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)；WB100-6F 数显恒温水浴锅(群安实验仪器有限公司)；L18-Y933 榨汁机(九阳家电有限公司)；pHS-3E 电子 pH 计(湖南强德电子科技有限公司)；WTY 手持式折光仪(成都泰华光学有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 工艺要点

原材料的选择：选取外观鲜艳、成熟度高且无病虫害或腐烂迹象的新鲜沃柑果实，清洗果实表面，去除果皮、种子等非食用部分。

果汁制备：将沃柑分成小块，然后通过榨汁机榨取果汁。

菌种复配：根据参考文献[14–17]，选用植物乳酸菌与保加利亚乳酸菌进行复配工艺优化实验。

过滤：使用 80 目食品级过滤纱布进行过滤，去除大颗粒物。

巴氏灭菌：根据参考文献[18]对上述获得的发酵果汁进行 80 ℃灭菌。

1.3.2 沃柑乳酸菌发酵饮料工艺优化实验

(1)料液比对发酵效果的影响

白砂糖添加量 6%、菌种接种量 3%(保加利亚乳杆菌:

植物乳杆菌=1:1, *V*:*V*, 下同)、35 ℃发酵 6 h。设置料液比为 11:9、13:7、3:1、17:3、19:1 (*m*:*V*, 下同)。每组重复测定 3 次, 通过 pH、总酸含量和模糊数学评价确定最佳料液比。

(2)白砂糖添加量对发酵效果的影响

料液比 13:7、菌种接种量 3%(保加利亚乳杆菌:植物乳杆菌=1:1)、35 ℃发酵 6 h。设置白砂糖添加量梯度为 2%、4%、6%、8%、10% (*w*/*V*, 下同)。每组重复测定 3 次, 通过 pH、总酸含量和模糊数学评价确定最佳白砂糖添加量。

(3)两种乳酸菌复配比对发酵结果影响

料液比 13:7、白砂糖 6%、总接种量 3%、35 ℃发酵 6 h。设置菌种比例梯度: 植物乳杆菌:保加利亚乳杆菌=3:1、2:1、1:1、1:2、1:3。每组重复测定 3 次, 通过 pH、总酸含量和模糊数学评价确定最佳复配比。

(4)接种量对发酵效果的影响

料液比 13:7、白砂糖 6%、菌种接种量 3%(保加利亚乳杆菌:植物乳杆菌=1:1, *V*:*V*, 下同)、35 ℃发酵 6 h。设置总接种量 1%、2%、3%、4%、5% (*V*:*V*, 下同)。每组重复测定 3 次, 通过 pH、总酸含量和模糊数学评价确定最佳接种量。

(5)发酵温度对发酵效果的影响

料液比 13:7、白砂糖 6%、接种量 3%、菌种接种量 3%(保加利亚乳杆菌:植物乳杆菌=1:1)。设置温度梯度 31、33、35、37、39 ℃, 发酵 6 h。每组重复测定 3 次, 通过 pH、总酸含量和模糊数学评价确定最佳发酵温度。

(6)发酵时间对发酵效果的影响

料液比 13:7、白砂糖 6%、接种量 3%、菌种接种量 3%(保加利亚乳杆菌:植物乳杆菌=1:1)、发酵温度 35 ℃。设置时间 2、4、6、8、10 h。每组重复测定 3 次, 通过 pH、总酸含量和模糊数学评价确定最佳发酵时间。

(7)响应面实验优化发酵工艺

响应面实验基于 Box-Behnken 设计原理, 选取接种量(*A*)、发酵时间(*B*)、发酵温度(*C*)为自变量, 响应值(*Y*)为模糊综合评判值, 因素水平表见表 1。

表 1　因素水平编码

Table 1　Factor level coding

水平	因素		
	A: 接种量/%	*B*: 发酵时间/h	*C*: 发酵温度/℃
−1	2	4	33
0	3	6	35
1	4	8	37

1.3.3　检测方法

(1)感官评定

针对乳酸菌发酵沃柑汁的感官评定, 采用感官评分法(表 2)评估产品的 4 项关键指标: 外观、口感、组织状态及风味。

(2)总酸的测定

产品的总酸依据 GB 12456—2021《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》中的酸碱指示剂滴定法测定。

(3)模糊数学评价

基于赖婷等[19]与崔璇璇等[20]提出的方法体系, 采用模糊综合评判法对乳酸菌发酵沃柑汁品质进行 3 因素评价分析。通过构建包含 pH、总酸含量及感官评价的三维评价指标集 $U=\{U_1,U_2,U_3\}$, 应用极值法对原始数据进行无量纲化处理。其中, pH (U_1)与发酵强度呈负相关, 其无量纲转化函数如式(1)所示; 而总酸含量(U_2)与感官评分(U_3)则与产品品质呈正相关, 转化关系见式(2)。

$$U_i=\frac{y_{i\min}}{y_i} \tag{1}$$

$$U_i=\frac{y_i}{y_{i\max}} \tag{2}$$

式中: 式(1)和式(2)将实测值 Y_i 转化为无量纲参数 U_i (i=1,2,3...n), 其中 i 为不同评价指标的序列编号。

表 2　感官评分表

Table 2　Sensory rating form

评定项目	单项评分	评分标准	感官评分
外观	20	橘黄色均匀, 透彻	15~20
		橘黄色稍均匀	10~14
		橘黄色暗淡或者其他颜色	0~9
口感	30	酸甜适宜, 口感柔和	20~30
		稍微酸或者稍微甜	10~19
		过酸或者过甜	0~9
组织状态	20	均一稳定, 无明显分层	15~20
		较为稳定, 少量分层	10~14
		有明显颗粒或者沉淀	0~9
风味	30	沃柑与发酵风味与香味浓郁	20~30
		沃柑与发酵香味稍微偏淡	10~19
		无明显香味或者异味	0~9

基于极差标准化原理，将实验数据代入评价函数构建多维评价矩阵。在权重分配环节，采用经验赋值法确定各指标相对重要性: pH (A_1=0.3)、总酸含量(A_2=0.3)及感官评价(A_3=0.4)，该权重体系符合食品发酵领域对感官品质的侧重原则。评价函数 Y 计算见式(3)。

$$Y=\sum_{j=1}^{2}A_iU_{ij} \tag{3}$$

式中: Y 为模糊数学综合评价结果; γi 为权重系数; i 为第 i 个指标, i=1, 2, 3, …n; j 为第 j 组实验, j=1, 2。

(4)总糖与还原糖的测定

总糖的初步样品前处理参照卢嘉懿[13]的总糖检测样品处理，还原糖的样品处理参照卢靖辉[21]的还原糖检测方法。标准曲线构建: 精密配制 1 mg/mL 葡萄糖标准溶液，梯度取 0~0.35 mL 标准液，以蒸馏水补至 0.5 mL，形成系列浓度梯度。每管加入 1 mL 3,5-二硝基水杨酸显色剂，混匀后沸水浴显色 5 min，放入冰水终止反应，于 540 nm 波长测定吸光度。以葡萄糖质量为横坐标(X, mg/mL)、吸光度为纵坐标(Y)，建立线性回归方程，Y=3.0325X+0.0304, r^2=0.999。

1.4 数据处理

感官评分和模糊数学综合评价表使用 Origin Pro 2024 版绘制; 响应面使用 Design-Expert 13 版进行绘制和记录; 采用 IBM SPSS Statistics 27 对实验数据进行统计分析，方差分析字母相同表示无显著性差异(P>0.05)，P<0.05 表示为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 沃柑乳酸菌发酵饮料工艺优化实验结果

2.1.1 料液比对发酵效果的影响结果

沃柑料液比对发酵过程的调控机制主要体现在渗透压调节效应与碳源代谢平衡两方面。结果如图 1 所示，当料液比为 13:7 时，体系 pH 达到最低值，总有机酸含量呈现峰值，过高浓度和过低的底物浓度表现为总酸含量下降及 pH 回升，这源于适宜的碳源供给维持了稳定的发酵动力学[22]。

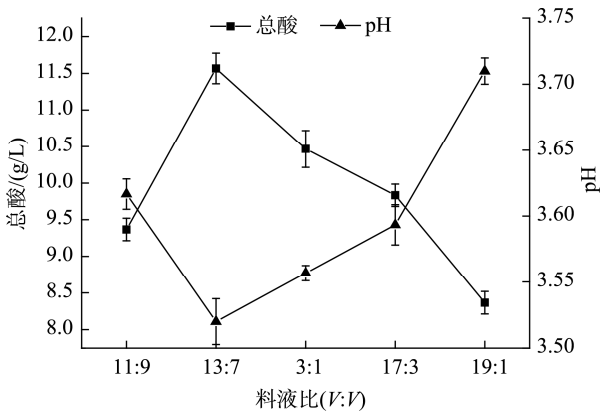


图 1 料液比对 pH 与总酸的影响

Fig.1 Effects of juice addition on pH and total acid

由表 3 可知，料液比 3:1 时，感官评分最高。高浓度添加组因渗透压胁迫引发乳酸菌活性抑制，导致糖代谢受阻及乙酸/乳酸转化效率降低，表现为酸度衰减与沉淀率上升; 而低浓度组因碳源限制使萜烯氧化衍生物生成不足。料液比为 13:7 体系通过优化发酵基质碳氮比，在维持细胞膜渗透稳定性的同时实现萜类-酮类风味前体物质的最适配比，形成澄清度与风味强度的工艺平衡点。不同料液比处理组的综合评价值依次为: 13:7 (0.9841)>3:1 (0.9684)>17:3 (0.9208)> 11:9 (0.8975)>19:1 (0.8665)。其中 13:7 处理组呈现最优发酵适配性; 当料液比增至 19:1 时，高渗透压环致菌体存活率下降，代谢副产物累积[22–23]。

2.1.2 白砂糖添加量对发酵效果的影响结果

白砂糖可用于乳酸菌生长消耗以及优化平衡口感，如图 2，白糖添加量为 6%时。pH 最低，总酸最高，表明此时沃柑果汁初始糖度适中，发酵效果好，而较低糖如 2%，4%初始糖度较低，乳酸菌可用糖分不足，导致影响产酸效率与风味生成且残留糖过低，过高糖度直接影响渗透压，如 8%与 10%严重抑制乳酸菌增值，发育停滞且 pH 降幅不大，由此，6%白糖添加量的发酵效率与效果最好。

表 3 料液比对感官评价的结果影响

Table 3 Effects of juice addition on sensory evaluation results

料液比	11:9	13:7	3:1	17:3	19:1
外观	16.90±0.99^{d}	17.90±0.74^{b}	18.40±0.69^{a}	17.10±0.74^{c}	16.70±0.95^{d}
口感	23.30±1.15^{c}	24.40±0.69^{b}	27.30±0.67^{a}	21.40±0.84^{d}	21.40±0.69^{d}
组织状态	15.70±0.67^{c}	16.20±0.78^{b}	16.30±0.67^{a}	15.50±0.84^{d}	15.40±0.69^{e}
风味	21.50±1.35^{e}	23.50±0.71^{a}	23.40±0.52^{b}	22.50±0.85^{c}	22.40±0.70^{d}
总分	77.40±0.84^{d}	82.00±0.91^{b}	85.40±1.10^{a}	79.40±0.95^{c}	77.90±0.78^{d}

注: 小写字母表示组内差异显著(P<0.05)，下同。

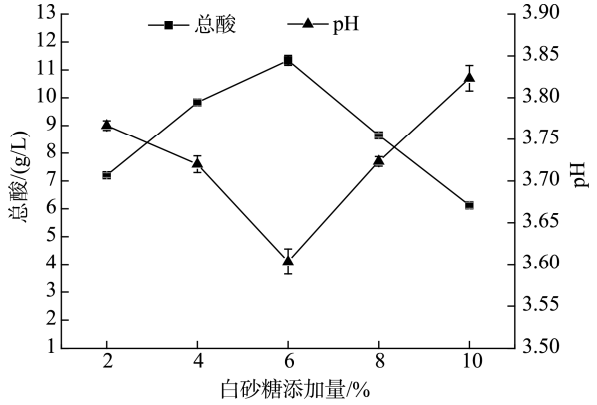


图 2　白糖添加量对 pH 与总酸的影响

Fig.2　Effects of sugar addition on pH and total acid

由表 4 可知, 白砂糖添加量为 4%时, 感官评分最高, 而 6%~10%感官评分逐渐下降, 主要为乳酸菌产酸效率下降, 未完全分解的糖分残留产生黏腻感, 产品呈甜腻与酸涩并存, 果香不明显。

白砂糖添加量对模糊综合评价的评判值为 0.8415, 0.9504, 0.9930, 0.9033, 0.8005, 可知白砂糖添加量对模糊综合评判值的影响呈现先升后降趋势, 当添加量从 2%增至 6%时, 评价值由 0.8415 提升至 0.9930(最高值), 随后在 8%时降至 0.8005。结合发酵动力学与感官分析, 6%添加量通过调节渗透压促进风味前体物质转化, 使产品甜酸比达到最好, 同时维持果香挥发性组分(萜烯类、酯类)与发酵特征香气(双乙酰、乙偶姻)的平衡[23]。

表 4　白砂糖添加量对感官评价的结果影响

Table 4　Effects of sugar addition on sensory evaluation results

白砂糖添加量/%	2	4	6	8	10
外观	17.40±0.84^{c}	17.70±0.82^{b}	18.00±0.94^{a}	17.40±0.84^{c}	17.10±1.28^{d}
口感	23.40±0.96^{d}	27.90±0.87^{a}	27.80±1.03^{b}	24.90±0.74^{c}	21.40±1.17^{e}
组织状态	16.10±0.73^{d}	16.90±1.19^{a}	14.60±0.84^{e}	16.80±0.79^{b}	16.40±1.43^{c}
风味	21.50±0.71^{d}	24.10±0.74^{b}	24.30±0.67^{a}	23.80±0.79^{c}	21.80±2.09^{d}
总分	78.40±0.77^{d}	86.20±1.18^{a}	84.70±1.26^{b}	82.90±0.94^{c}	76.70±0.72^{e}

2.1.3　*两种乳酸菌复配比对发酵结果影响结果*

由图 3 可知, 当植物乳杆菌与保加利亚乳杆菌复配比为 3:1 时, pH 降至 3.46, 总酸含量达到 12.19 g/L, 均达到最优值; 植物乳杆菌与保加利亚乳杆菌复配比为 2:1 比例下 pH 稍微回升; 植物乳杆菌与保加利亚乳杆菌复配比为 1:1 比例时糖利用率降低; 当复配比调整为 1:2 或 1:3 时, 沃柑基质初始 pH 抑制保加利亚乳杆菌, 致使 pH 回升, 总酸含量减少。主要是两种菌在发酵过程中产生的有机酸的排泄, 除了氢离子的排泄, 初级磷酸盐的吸收、缓冲能力的变化也会导致饮料发酵过程 pH 的降低[24]。

植物乳杆菌发酵产生乳酸降低 pH, 产生明显酸味和发酵风味, 加利亚乳杆菌发酵后, 增加风味, 兼顾效率与乳脂香, 果香浓郁[25−26]。刘晓翠等[27]在乳酸菌发酵猕猴桃发现添加保加利亚乳杆菌与干酪乳杆菌复配发酵的猕猴桃汁较未添加的组别品质更好。

由表 5 可知, 菌种复配比例影响感官评价, 2:1 组在口感、风味及总分上表现最佳, 1:2 组次之, 3:1 和 1:3 组综合表现较差。乳酸菌复配比的模糊综合评判值为 0.9448, 0.9614, 0.9145, 0.8849, 0.8401 当植物乳酸菌主导时, 发酵效果最好。模糊综合评判值先于 3:1~2:1 升高, 逐渐下降显示过酸, 当 2:1 时模糊综合评判值最高。

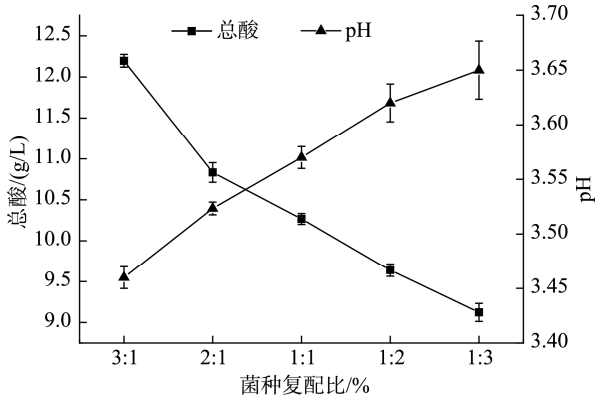


图 3　菌种复配比对 pH 与总酸的影响

Fig.3　Effects of strain composition ratio on pH value and total acid

表 5　菌种复配比对感官评价的结果影响

Table 5　Effects of strain combination ratio on sensory evaluation results

菌种复配比	3:1	2:1	1:1	1:2	1:3
外观	17.70±0.82^{b}	18.50±0.71^{a}	17.50±0.85^{d}	17.60±0.70^{c}	16.80±1.03^{e}
口感	23.30±0.48^{d}	27.80±0.78^{a}	24.60±0.69^{c}	24.90±0.74^{b}	22.00±0.94^{e}
组织状态	16.00±0.94^{c}	17.80±0.64^{a}	16.70±0.67^{b}	15.90±0.99^{d}	12.90±1.19^{e}
风味	21.90±1.28^{e}	24.80±0.64^{a}	23.90±1.53^{b}	22.00±0.94^{cb}	22.10±1.37^{d}
总分	76.80±0.66^{d}	89.10±1.08^{a}	82.70±0.94^{b}	80.40±0.92^{c}	73.80±1.01^{e}

2.1.4 接种量对发酵效果的影响结果

由图 4 可知, 当固定植物乳酸菌和保加利亚乳酸菌的复配比为 2:1, 沃柑乳酸菌发酵饮料随着接种量增加, 发酵饮料中总酸含量逐步增加。当复配接种量为 1%~4%时, 沃柑乳酸菌发酵饮料中的总酸逐渐上升, pH 下降; 当复配接种量大于 2%时, 随着接种量增加, pH 与总酸的变化无显著性差异, 但在 5%时下降, 接种量对乳酸菌发酵产酸影响较大, 总酸与 pH 的变化规律一致。

植物乳酸菌和保加利亚乳酸菌的复配比为 2:1, 低接种量(1%)易延长滞后期, 导致杂菌污染风险升高且产物合成效率下降; 适中接种量(2%~4%)可维持菌体指数生长期与产物合成期的动态平衡, 显著提升目标代谢物(如乙醇、有机酸)积累速率; 过高接种量(>5%)则因营养竞争与溶氧限制引发代谢应激, 促使杂醇、乙酸等副产物生成增加。表中 3%的接种量最佳工艺参数, 而 2%与 4%的感官评分差距不大。

由表 6 可知, 接种量对产品感官品质影响显著, 3%接种量组的组织状态、风味与综合总分显著最优; 2% 组为次优选择。1%和 5%接种量综合感官品质明显变差。不同乳酸菌接种量(1%~5%)的模糊综合评判值依次为 0.8652、0.9667、0.9931、0.9680、0.9074。当接种量增至 3%时, 通过维持菌群密度与底物传质效率的平衡, 实现最高评价值; 接种量超过 3%后, 菌体竞争性消耗碳源导致次级代谢产物积累[27], 评价值下降 8.6%。基于单因素极值特征, 选取 2%~4%接种量区间进行 Box-Behnken 响应面优化, 以解析多因素交互作用对发酵体系的协同影响。

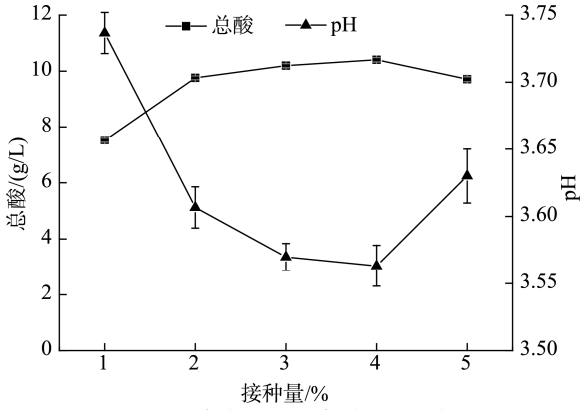


图 4 接种量对 pH 与总酸的影响

Fig.4 Effects of inoculation amount on pH value and total acidity

表 6 接种量对感官评价的结果影响

Table 6 Effects of vaccination dosage on sensory evaluation results

接种量/%	1	2	3	4	5
外观	17.70±0.82^{c}	18.10±0.99^{a}	16.90±0.87^{d}	17.80±0.79^{b}	16.70±0.82^{e}
口感	23.90±1.44^{d}	27.40±1.07^{a}	27.10±0.99^{b}	25.10±0.58^{c}	21.10±0.74^{e}
组织状态	16.70±0.95^{c}	18.40±0.69^{b}	18.50±0.97^{a}	16.50±1.08^{d}	15.70±0.82^{e}
风味	23.30±0.67^{d}	23.60±1.06^{b}	27.60±1.07^{a}	23.50±1.27^{c}	21.50±1.08^{e}
总分	81.60±0.85^{d}	87.50±1.01^{b}	90.10±1.25^{a}	82.90±0.95^{c}	75.00±0.68^{e}

2.1.5 发酵温度对发酵效果的影响结果

由图 5 可知, 发酵温度为 31 ℃与 33 ℃时发酵缓慢, pH 降至 3.6~3.8, 总酸 7~9 g/L; 发酵温度为 35 ℃与 37 ℃时, pH 降至 3.5~3.6, 总酸 8~10 g/L, 发酵温度为 39 ℃时可能引发菌株代谢失衡, pH 回升, 保加利亚乳杆菌衰亡导致酸感降低。

感官评价如表 7, 发酵温度通过调控微生物酶活性与代谢方向直接影响发酵效果[28], 模糊综合评判值的影响在 31~39 ℃范围内评判值依次为 0.8683、0.9755、1.000、0.9504、0.8535。当温度升至 35 ℃时, 乳酸菌促进糖相比 31 ℃转化效率提升, 此时体系 pH 达到最低、总酸含量最高; 温度低于 33 ℃时, 菌体膜流动性下降导致代谢速率降低; 温度超过 37 ℃后, 关键酶构象变化引发代谢途径偏移。

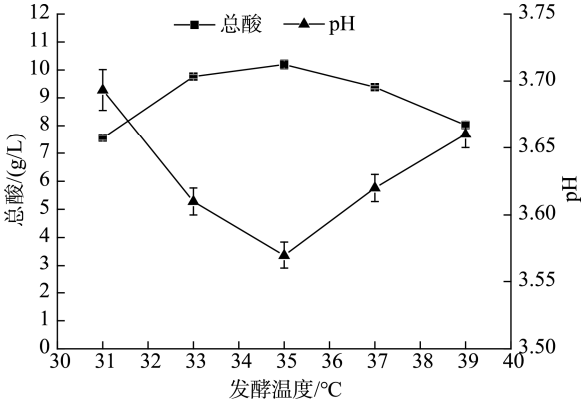


图 5 发酵温度对 pH 与总酸的影响

Fig.5 Effects of fermentation temperature on pH and total acid

表 7 发酵温度对感官评价的结果影响

Table 7 Effects of fermentation temperature on sensory evaluation results

发酵温度/℃	31	33	35	37	39
外观	17.10±1.19^{d}	18.30±0.67^{a}	17.50±1.08^{b}	17.40±0.69^{c}	16.60±0.97^{e}
口感	23.70±1.49^{d}	27.30±0.95^{b}	27.40±1.07^{a}	24.70±0.67^{c}	21.50±0.85^{e}
组织状态	16.60±0.84^{b}	17.70±0.68^{a}	16.50±0.71^{c}	15.50±0.71^{d}	12.50±1.08^{e}
风味	21.50±1.08^{d}	23.50±1.27^{c}	27.30±0.95^{a}	26.50±1.08^{b}	21.50±1.17^{d}
总分	78.90±0.80^{d}	86.80±1.02^{b}	88.70±1.33^{a}	84.10±1.19^{c}	72.10±0.98^{e}

2.1.6　发酵时间对发酵效果的影响结果

由图 6 可知在 2~4 h 菌体处于滞后期, 产酸微弱, 保加利亚乳杆菌活性受抑。发酵 6 h 在对数期启动, 双菌协同进入快速产酸阶段(pH 3.5~3.6), 总酸 8~10 g/L。8 h 在代谢高峰, pH 降至 3.4~3.5(总酸 9~10 g/L), 10 h pH 与总酸变化不大: pH≤3.5 导致菌体活性骤降, 总酸>12 g/L。LI 等[29]发酵苹果汁, 苹果中的糖被植物乳植杆菌发酵产生酸, pH 呈下降趋势, 总酸含量呈上升趋势。

如表 8, 发酵初期 2~4 h 风味物质感官接近原果汁甜感, 发酵风味未显, 6 h 植物乳杆菌与保加利亚乳杆菌特殊香气, 感官呈现酸甜初显、乳脂香萌芽, 8 h 在代谢高峰, 感官酸甜平衡、果香与乳香融合。10 h 后 pH 过低导致菌体活性骤降, 副产物积累, 引发尖锐酸味及微苦后味。

发酵时间(2~10 h)的模糊综合评判值分别对应 0.8195、0.8917、0.9711、0.94973、0.9463, 虽然发酵效果随着发酵时间的提升逐渐升高, 但是发酵时间在 6 h 后乳酸菌过度代谢, 产酸过多发酵风味过剩, 故选择 4、6、8 h 为响应面因素值。

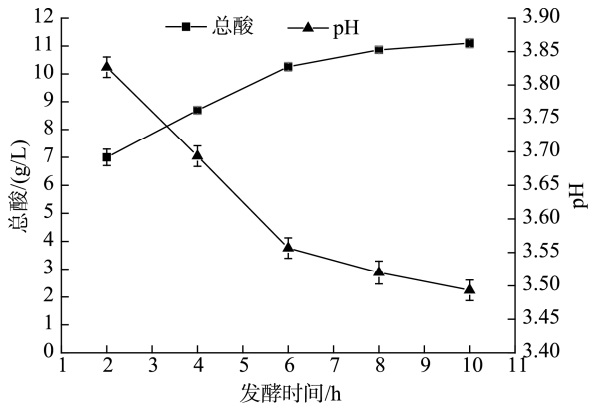


图 6 发酵时间对 pH 与总酸的影响

Fig.6　Effects of fermentation time on pH and total acid

2.2　响应面优化发酵工艺

2.2.1　响应面实验结果

根据上述单因素实验结果: 原料配比 13:7 (g/mL)、糖度 6%、植物乳酸菌与保加利亚乳酸菌菌种比例 2:1。根据表 1 参数梯度设置, 构建包含接种量(2%、3%、4%)、发酵温度(33、35、37 ℃)和发酵时间(4、6、8 h)的三维工艺优化模型。实验采用多变量交互作用分析框架, 建立发酵参数与品质指标的数学关联模型。响应面实验结果如表 9, 综合评价判定方差分析由表 10 可知, 模型 F 检验值达到 70.42 (P<0.0001), 证实该统计模型具有高度显著性。失拟检验 P=0.7044 (>0.05 临界值), 说明实验误差处于可控范围, 模型可有效预测工艺参数变化。调整后 R^2=0.9750 与预测 R^2=0.9402 的差值仅为 0.0348, 二者均超过 0.9 且偏差小于 0.2, 反映模型能准确拟合 97.5%的样本变异, 验证了沃柑发酵工艺数据的可靠性。通过因子贡献度排序可知: 发酵温度(C)对品质影响最大(F=21.63), 其次为发酵时间(B, F=14.47), 接种量(A, F=0.0417)作用相对较弱。

2.2.2　各因素响应面交互作用及等高线图

图 7 显示了各因素相互作用对沃柑乳酸菌发酵饮料模糊综合评判值影响。

A×B 交互(接种量×时间): 曲面陡峭, 等高线呈明显椭圆(P=0.0005)。当接种量 3%时, 发酵时间 6~7 h 区间 Y 值最高, 此时菌群代谢活性与底物消耗速率匹配, 避免酸度过载, B×C 交互(时间×温度): 中等坡度, 等高线趋近椭圆。34~35 ℃配合 6~7 h 发酵可协同提升保加利亚乳杆菌的乳脂香合成, A×C 交互(接种量×温度): 曲面平缓, 等高线接近圆形(P=0.2736)。表明在选定参数范围内, 二者对 Y 的协同影响较弱。

2.2.3　响应面优化及模型验证实验

经 Design Expert 分析平台优化计算, 获得沃柑发酵工艺控制参数理论最优解: 菌种添加量 3.074%、发酵温度 34.82 ℃、发酵时间 6.371 h, 预测综合品质评分为 0.9470。基于工艺可行性原则, 将参数修正为菌种 3%、温度 35 ℃、发酵 6 h 进行 3 次重复验证。实测结果显示在此条件下测得模糊综合评价值为 0.9397, 与模型预测值之间的相对误差为 0.77%, 该工艺下, 沃柑乳酸菌发酵饮料总酸 11.3 g/L, 色泽明亮, 散发沃柑原果香和乳酸菌发酵特征风味, 口感酸甜协调, 质地均匀无沉淀或分层; 表明响应面优化实验得到的最佳发酵工艺参数准确可靠。

表 8　发酵时间对感官评价的结果影响

Table 8　Effects of fermentation time on sensory evaluation results

发酵时间/h	2	4	6	8	10
外观	17.50±1.08^{b}	18.00±0.66^{a}	17.50±.071^{b}	17.10±0.73^{c}	16.30±1.33^{d}
口感	22.90±1.52^{d}	23.10±0.99^{c}	27.10±70.99^{a}	24.30±0.48^{b}	21.50±0.71^{e}
组织状态	16.50±1.27^{c}	18.10±0.74^{b}	19.40±0.52^{a}	16.20±0.63^{d}	11.80±1.03^{e}
风味	21.90±0.99^{c}	23.20±1.03^{b}	24.20±0.94^{a}	21.60±0.69^{d}	21.40±0.52^{e}
总分	78.80±0.76^{d}	82.40±0.68^{b}	88.30±0.99^{a}	79.20±0.85^{c}	71.00±1.04^{e}

表 9 响应面设计及实验结果

Table 9 Response surface design and experimental results

实验号	因素			pH	总酸/(g/L)	感官评分	综合评价值(*Y*)
	A: 接种量/%	*B*: 发酵时间/h	*C*: 发酵温度/℃				
1	0	0	0	3.46	11.91	89.23	0.9744
2	–1	1	0	3.64	8.02	81.34	0.8404
3	0	0	0	3.51	11.33	89.24	0.9686
4	0	–1	1	3.56	9.31	82.13	0.8827
5	–1	0	1	3.54	9.54	79.44	0.8785
6	–1	0	–1	3.55	9.45	84.34	0.8966
7	0	–1	–1	3.64	8.43	78.32	0.8376
8	0	1	1	3.71	7.91	81.23	0.8317
9	0	0	0	3.49	11.16	92.12	0.9785
10	–1	–1	0	3.57	8.21	86.14	0.8716
11	0	0	0	3.52	10.8	89.32	0.9558
12	0	1	–1	3.67	8.21	79.02	0.8328
13	1	–1	0	3.67	8.23	86.23	0.8646
14	1	0	–1	3.67	8.13	81.21	0.8402
15	1	1	0	3.65	8.11	84.31	0.8548
16	0	0	0	3.49	11.42	91.31	0.9816
17	1	0	1	3.55	10.2	88.12	0.9327

表 10 模糊综合评判值方差分析

Table 10 Fuzzy comprehensive evaluation value variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均值	*F*	*P*	显著性
模型	0.0514	9	0.0057	70.42	<0.0001	极显著
A	3.380E-06	1	3.380E-06	0.0417	0.8441	
B	0.0012	1	0.0012	14.47	0.0067	
C	0.0018	1	0.0018	21.63	0.0023	
AB	0.0011	1	0.0001	1.41	0.2736	
AC	0.0031	1	0.0031	37.69	0.0005	
BC	0.0005	1	0.0005	0.0005	0.0376	
A^2	0.0056	1	0.0056	69.33	<0.0001	极显著
B^2	0.0252	1	0.0252	310.70	<0.0001	极显著
C^2	0.0098	1	0.0098	120.70	<0.0001	极显著
残差	0.0006	7	0.0001			
失拟项	0.0002	3	0.0001	0.4962	0.7044	不显著
纯误差	0.0004	4	0.0001			
总和	0.0520	16				

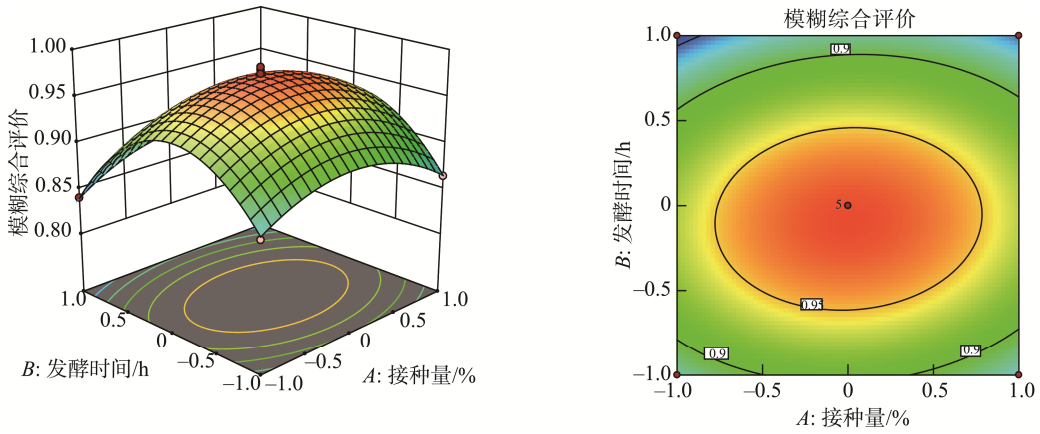


图 7 各因素交互作用对沃柑乳酸菌发酵饮料影响的响应面及等高线图

Fig.7 Response surface and contour plot of the interaction effects of various factors on the fermented beverage of Orah lactic acid bacteria

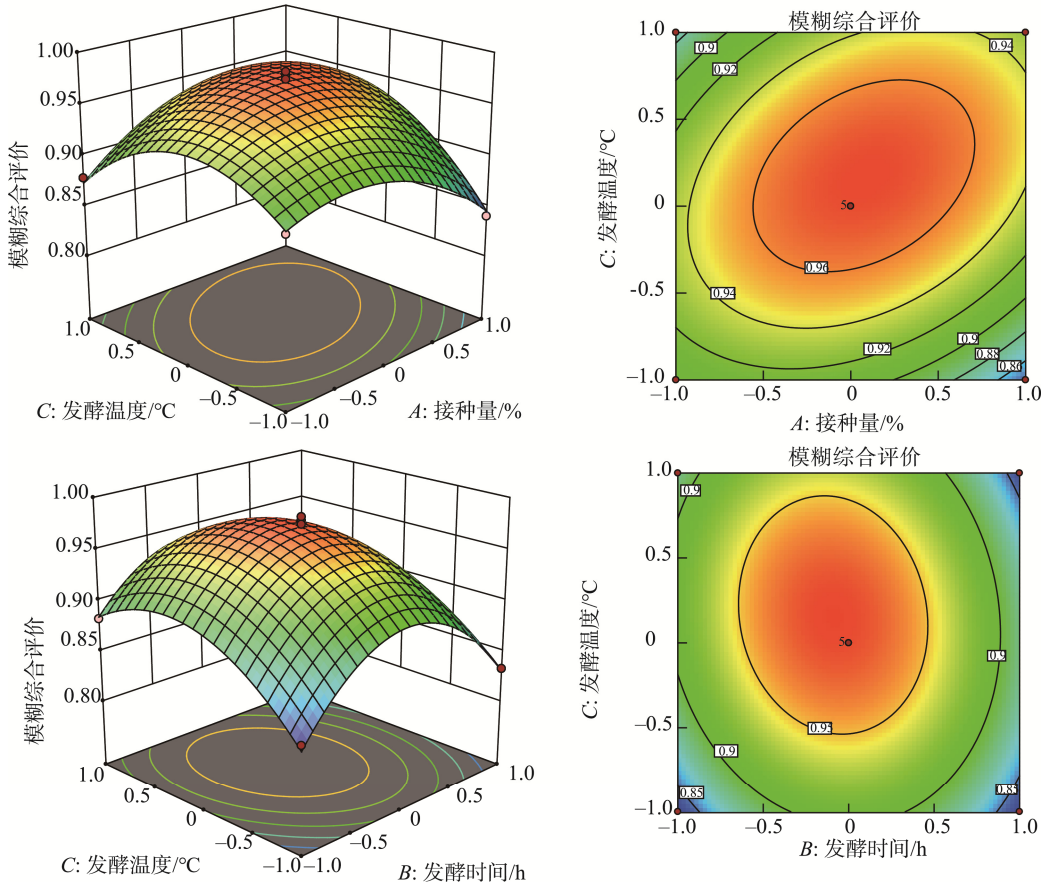


图 7(续)　各因素交互作用对沃柑乳酸菌发酵饮料影响的响应面及等高线图

Fig.7　Response surface and contour plot of the interaction effects of various factors on the fermented beverage of Orah lactic acid bacteria

2.3　产品品质分析

由图 8 检测数据显示广西沃柑乳酸菌发酵后还原糖含量为 7.6 g/100 mL，消耗量为 5.6 g/100 mL，下降 42.4%，总糖含量为 10.6 g/100 mL，总糖降低 3.8 g/100 mL，下降 26.3%。史晴晴等[30]利用不同发酵方式对玫瑰花发酵饮料品质和风味的影响，乳酸菌发酵样品的总糖含量降低了 21.86%，和本研究相符。产品可溶性固形物含量为 12.4°Brix，pH 为 3.54，符合 GB 7101—2022《食品安全国家标准 饮料》标准。

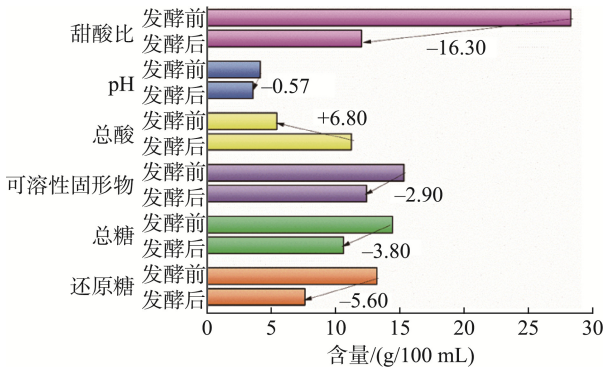


图 8　发酵前后对比

Fig.8　Comparison before and after fermentation

3　结　论

本研究针对广西沃柑深加工利用率低、产品同质化等问题，以沃柑鲜果为原料，通过单因素实验与响应面法相结合的系统优化，结果表明，料液比 13:7 (*m*:*V*)可平衡碳源供给与渗透压稳定性，糖添加量 6%既能满足菌体代谢需求，又能避免甜腻感。植物乳杆菌与保加利亚乳杆菌以 2:1 复配时，兼具产酸效率与风味协同效应，使总酸含量达 1.22 g/100 mL，pH 降至 3.46。基于 Box Behnken 响应面模型，确定最优工艺参数为接种量 3.074%、发酵温度 34.82 ℃、发酵时间 6.371 h，此时模糊综合评价值达 0.9470。验证实验显示实际参数的评价值为 0.9397，与预测值相对误差仅 0.77%，证实模型可靠性。发酵后产品总酸含量提升至 1.12 g/100 mL，总糖含量为 10.6 g/100 mL，甜酸比优化至 9.5:1，pH 稳定于 3.54，符合果蔬汁饮料国家标准。感官评价表明，成品呈现明亮橙黄色泽，兼具沃柑果香与乳酸菌发酵乳脂香，口感酸甜协调，组织状态均一。理化分析显示，可溶性固形物含量为 12.4°Brix，满足市场对果汁浓度的需求。

本研究为广西沃柑深加工开辟了新路径，其工艺标准化与功能特性研究为同类热带水果发酵制品的开发提供

了参考范式。通过产学研结合，该技术有望助力区域农产品升级，推动健康食品产业发展。

参考文献

[1] 梁玲玲, 黄若琪, 陈玉冲. 广西果品类农产品地理标志产业高质量发展路径与对策研究[J]. 中国热带农业, 2022, 22(5): 70–76.
LIANG LL, HUANG RQ, CHEN YC. Study on high-quality development paths and countermeasures of geographical indication industry for fruit agricultural products in Guangxi [J]. China Tropical Agriculture, 2022, 22(5): 70–76.

[2] 任二芳, 李建强, 黄燕婷, 等. 不同采收成熟度沃柑制汁品质评价与分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 61–70.
REN ERF, LI JQ, HUANG YT, *et al*. Quality evaluation and analysis of Orah juice prepared from fruits with different harvest maturities [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(8): 61–70.

[3] 任二芳, 罗文彬, 李建强, 等. 沃柑 NFC 果汁低温加工关键技术研究及应用[R]. 广西壮族自治区: 广西冰客食品有限公司, 2023.
REN ERF, LUO WB, LI JQ, *et al*. Research and application of key technologies for low-temperature processing of Orah NFC juice [R]. Guangxi Zhuang Autonomous Region: Guangxi Bingke Food Co., Ltd., 2023.

[4] 王若彤, 秦小勤, 何小宇, 等. 基于响应面法的沃柑果酱工艺优化[J]. 农产品加工, 2025, 24(3): 49–52, 57.
WANG RT, QIN XQ, HE XY, *et al*. Process optimization of orah jam based on response surface methodology [J]. Agricultural Products Processing, 2025, 24(3): 49–52, 57.

[5] 邢珂雪, 靳国杰, 康登昭, 等. 乳酸菌饮料菌类特性、发酵机制和工艺优化研究进展[J]. 现代食品, 2020, 11(3): 79–84.
XING KX, JIN GJ, KANG DZ, *et al*. Research progress on bacterial characteristics, fermentation mechanism and process optimization of lactic acid bacteria beverages [J]. Modern Food, 2020, 11(3): 79–84.

[6] 何进, 徐思杨, 刘波, 等. 乳酸菌在农业和食品加工中的应用研究进展[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(4): 1–11.
HE J, XU SY, LIU B, *et al*. Research progress on the application of lactic acid bacteria in agriculture and food processing [J]. Journal of Microbiology, 2022, 42(4): 1–11.

[7] 王丹. 保加利亚乳杆菌 M-58 在发酵豆乳中的应用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
WANG D. Study on the application of *Lactobacillus bulgaricus* M-58 in fermented soy milk [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.

[8] 袁嘉琦. 植物乳植杆菌 LP315 在活性乳酸菌饮料中的应用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2024.
YUAN JQ. Study on the application of *Lactobacillus plantarum* LP315 in active lactic acid bacteria beverages [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2024.

[9] 乔慧茹, 房祥军, 吴伟杰, 等. 蓝莓与铁皮石斛叶复合乳酸菌发酵饮料工艺优化与品质分析[J]. 浙江农业学报, 2025, 37(3): 654–666.
QIAO HR, FANG XJ, WU WJ, *et al*. Process optimization and quality analysis of compound lactic acid bacteria fermented beverage with blueberry and dendrobium officinale leaves [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2025, 37(3): 654–666.

[10] 朱绍先, 侯艳, 刘娅, 等. 德昂酸茶乳酸菌发酵饮料的工艺优化及品质分析[J]. 中国调味品, 2025, 50(1): 135–140.
ZHU SX, HOU Y, LIU Y, *et al*. Process optimization and quality analysis of lactic acid bacteria fermented beverage with De'ang Sour Tea [J]. China Condiment, 2025, 50(1): 135–140.

[11] 杨欣, 相君, 邓梅, 等. 葛根乳酸菌饮料发酵工艺优化及其品质分析[J]. 中国酿造, 2024, 43(7): 196–203.
YANG X, XIANG J, DENG M, *et al*. Fermentation process optimization and quality analysis of *Pueraria lobata* lactic acid bacteria beverage [J]. China Brewing, 2024, 43(7): 196–203.

[12] 焦媛媛. 酵母菌—乳酸菌共发酵低醇梨酒的研制[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
JIAO YY. Development of low-alcohol pear wine by co-fermentation of yeast and lactic acid bacteria [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2018.

[13] 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 JY. Study and control of flavor quality of lactic acid bacteria-fermented fruit and vegetable juices [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.

[14] 杨明美. 柿果乳酸菌发酵果汁饮料的研制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
YANG MM. Development of lactic acid bacteria-fermented persimmon juice beverage [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016.

[15] 张莉静. 无花果汁乳酸菌发酵工艺及其抗氧化性研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014.
ZHANG LJ. Study on lactic acid bacteria fermentation technology of fig juice and its antioxidant activity [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2014.

[16] 孙悦欣, 史嘉琦, 李璟, 等. 不同保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌 S10 复配对发酵乳特性的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(10): 206–215.
SUN YX, SHI JQ, LI J, *et al*. Effects of different combinations of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* S10 on the properties of fermented milk [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(10): 206–215.

[17] 台雪月, 卢忠魁, 刘超, 等. 保加利亚乳杆菌发酵转化人参皂苷工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(6): 1–9.
TAI XY, LU ZK, LIU C, *et al*. Study on fermentation process of ginseng saponins by *Lactobacillus bulgaricus* [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(6): 1–9.

[18] 林鑫勰, 余岳芳, 朱玉燕, 等. 不同热杀菌处理的 NFC 橙汁品质变化分析[J]. 保鲜与加工, 2022, 22(8): 51–58.
LIN XX, YU YF, ZHU YY, *et al*. Quality change analysis of NFC orange juice treated with different thermal sterilization methods [J]. Storage and Process, 2022, 22(8): 51–58.

[19] 赖婷, 张名位, 刘磊, 等. 龙眼果浆复合乳酸菌发酵工艺优化[J]. 农业

工程学报, 2016, 32(S2): 390–397.
LAI T, ZHANG MW, LIU L, *et al*. Optimization of compound lactic acid bacteria fermentation process for Longan Pulp [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2016, 32(S2): 390–397.

[20] 崔璇璇. 乳酸菌发酵黑蒜汁加工工艺研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.
CUI XX. Study on processing technology of lactic acid bacteria-fermented black garlic juice [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2023.

[21] 卢靖辉, 赖慧宁, 温靖, 等. 不同浓缩方式对沃柑汁品质特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(19): 36–43.
LU JH, LAI HN, WEN J, *et al*. Effects of different concentration methods on the quality characteristics of Orah juice [J]. Food Research and Development, 2025, 46(19): 36–43.

[22] 黄宁馨. 复合乳酸菌发酵枸杞汁的工艺优化及其营养品质变化研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
HUANG NX. Study on process optimization of compound lactic acid bacteria-fermented wolfberry juice and its nutritional quality changes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021.

[23] 朱星. 沙果乳酸菌发酵饮料的工艺研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
ZHU X. Study on the technology of lactic acid bacteria-fermented crabapple beverage [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.

[24] KAPRASOB R, KERDCHOECHUEN O, LAOHAKUNJIT N. Somboonpanyakul P. B vitamins and prebiotic fructooligosaccharides of cashew apple fermented with probiotic strains *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc mesenteroides* and *Bifidobacterium longum* [J]. Process Biochemistry, 2018, 70: 9–19.

[25] RATCHADAPORN K, ORAPIN K, NATTA L, *et al*. Changes in physico-chemical properties, astringency, volatile compounds and antioxidant activity of fresh and concentrated cashew apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum* [J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 55: 12.

[26] 蔡文超. 植物源乳酸菌的筛选及其在红枣汁发酵中代谢产物的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2022.
CAI WC. Screening of plant-derived lactic acid bacteria and study on their metabolites in jujube juice fermentation [D]. Shihezi: Shihezi University, 2022.

[27] 刘晓翠, 李仲巧, 朱慧君, 等. 乳酸菌发酵猕猴桃汁的工艺优化[J]. 西华大学学报(自然科学版), 2023, 42(3): 1–9
LIU XC, LI ZQ, ZHU HJ, *et al*. Process optimization of lactic acid bacteria-fermented kiwifruit juice [J]. Journal of Xihua University (Natural Science Edition), 2023, 42(3): 1–9.

[28] 全琦. 乳酸菌发酵崑丰脐橙汁的工艺优化及贮藏过程品质稳定性研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2023.
QUAN Q. Study on process optimization of lactic acid bacteria-fermented langfeng navel orange juice and quality stability during storage [D]. Changsha: Hunan University, 2023.

[29] LI HC, HUANG JT, WANG YQ, *et al*. Study on the nutritional characteristics and antioxidant activity of dealcoholized sequentially fermented apple juice with Saccharomyces cerevisiae and *Lactobacillus plantarum* fermentation [J]. Food Chemistry, 2021, 363: 130351.

[30] 史晴晴, 范柳萍, 沈选举, 等. 不同发酵方式对玫瑰花发酵饮料品质和风味的影响[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(22): 304–314.
SHI QQ, FAN LP, SHEN XJ, *et al*. Effects of different fermentation methods on the quality and flavor of rose fermented beverage [J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(22): 304–314.

(责任编辑: 蔡世佳　冯东慧)