黄清铋, 黄家琦, 王丽宁, 等. 复合菌发酵刺梨原汁脱涩工艺优化及其营养成分和代谢物差异分析 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(15): 248−258. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070158

HUANG Qinghua, HUANG Jiaqi, WANG Lining, et al. Optimization of Deastringency Process for Compound Bacteria-Fermented *Rosa roxburghii* Juice and Analysis of Differences in Nutritional Components and Metabolites[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(15): 248−258. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070158

· 工艺技术 ·

复合菌发酵刺梨原汁脱涩工艺优化及其营养成分和代谢物差异分析

黄清铋[1], 黄家琦[1], 王丽宁[1], 胡　彪[1], 王庆福[1,*], 许付勇[2]

（1.广东省科学院生物与医学工程研究所, 广东省植物纤维综合利用工程技术研究开发中心, 广东省生物质高值化利用工程实验室, 药食同源功效成分研发与应用协同创新中心, 药食同源崖柏精油产业化研究工程中心, 广东广州 510316;
2.贵州省贵源生态食品有限公司, 贵州黔南州 551200）

摘　要: 为探究醋酸菌-少根根霉复合发酵刺梨原汁脱涩工艺及发酵过程营养成分变化与代谢物差异，本文以刺梨原汁为原料，以单宁降解率为响应值，通过单因素及响应面试验优化其发酵工艺，分析发酵前后营养成分差异及抗氧化活性，采用基于 LC-MS 的非靶向代谢组学方法，分析发酵后代谢物的差异和变化。结果表明，最佳发酵工艺为葡萄糖添加量 2.00%、初始 pH3.5（原汁），接入少根根霉 0.325%、醋酸菌 5.00%、混合发酵 3 d，在此条件下，单宁降解率为 65.54%±2.31%。刺梨原汁经最优发酵工艺发酵后还原糖、单宁、总酚和 L-抗坏血酸含量显著下降（P<0.05），而多糖和黄酮含量显著增加（P<0.05），抗氧化活性保持稳定。刺梨原汁发酵前后共鉴定到 1926 个代谢物，筛选出 664 种关键差异代谢物，其中 148 种上调，516 种下调，莽草酸和苯丙素类上调物质主要以黄酮类为主。KEGG 通路富集显示，甲苯降解、D 氨基酸代谢、氨基酸的生物合成在发酵后显著上调。在类黄酮生物合成途径中注释到短叶松素、花青素和杨梅素等典型的涩味成分，呈显著下调趋势，证实复合益生菌发酵可显著降低刺梨汁涩味，改善口感，同时黄酮类成分的增加有利于抗氧化活性保持稳定，为刺梨功能性饮品开发提供了科学依据。

关键词: 刺梨, 复合菌, 发酵工艺, 营养成分, 非靶向代谢组学

中图分类号: TS255.44　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)15−0248−11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070158

本文网刊:

Optimization of Deastringency Process for Compound Bacteria-Fermented *Rosa roxburghii* Juice and Analysis of Differences in Nutritional Components and Metabolites

HUANG Qinghua[1], HUANG Jiaqi[1], WANG Lining[1], HU Biao[1], WANG Qingfu[1,*], XU Fuyong[2]

（1.Institute of Biological and Medical Engineering, Guangdong Academy of Sciences; Guangdong Plant Fiber Comprehensive Utilization Engineering Technology Research and Development Center; Guangdong Engineering Laboratory of Biomass High-value Utilization; Collaborative Innovation Center for Research and Application of Functional Components from Medicinal and Edible Sources; Research and Development Center for Industrialization of Medicinal and Edible Yabai Essential Oil, Guangzhou 510316, China;
2.Guiyuan Ecological Food Co., Ltd. of Guizhou Province, Qiannanzhou 551200, China）

收稿日期: 2025−07−11

基金项目: 广州市科技计划项目（2024E04J0947）; 广东省科学院青年人才专项（2023GDASQNRC-0306）; 广东省科技厅专项项目（2025B0202010030）; 以农产品为单元的广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目（甘蔗剑麻产业技术体系 2024CXTD03-08）; 广东省科学院发展专项资金项目（2024GDASZH-2024010102）。

作者简介: 黄清铋（1988−）, 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 微生物发酵与农产品加工, E-mail: qinghuahuang88@126.com。

*** 通信作者:** 王庆福（1986−）, 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 农产品加工, E-mail: kuangwty@163.com。

Abstract: This study aimed to investigate the deastringency process of *Rosa roxburghii* juice fermented with a composite starter culture of *Acetobacter* and *Rhizopus arrhizus*, as well as the associated changes in nutritional components and metabolite profiles. Using raw *R. roxburghii* juice as the raw material and tannin degradation rate as the response value, the fermentation process was optimized through single-factor experiments and response surface methodology (RSM). Differences in nutritional composition and antioxidant activity before and after fermentation were analyzed, and untargeted LC-MS-based metabolomics was employed to examine metabolite variations. The results showed that the optimal fermentation conditions were as follows: glucose addition of 2.00%, initial pH of 3.5 (raw juice), inoculation with 0.325% *R. arrhizus* and 5.00% *Acetobacter*, and mixed fermentation for 3 days. Under these conditions, the tannin degradation rate reached 65.54%±2.31%. Compared with raw juice, the fermented juice exhibited significantly decreased contents of reducing sugars, tannins, total phenolics, and L-ascorbic acid ($P<0.05$), while the contents of polysaccharides and flavonoids increased significantly ($P<0.05$); the antioxidant activity remained stable. A total of 1926 metabolites were identified, among which 664 were screened as key differential metabolites, including 148 upregulated and 516 downregulated metabolites. The upregulated shikimic acid and phenylpropanoid compounds were mainly flavonoids. KEGG pathway enrichment analysis revealed that toluene degradation, D-amino acid metabolism, and amino acid biosynthesis pathways were significantly upregulated after fermentation. In the flavonoid biosynthesis pathway, typical astringent compounds such as pinocembrin, cyanidin, and myricetin were annotated, and showed significantly downregulated trends, confirming that composite probiotic fermentation could effectively reduce the astringency and improve the taste of *R. roxburghii* juice. Meanwhile, the increase in flavonoids contributed to the maintenance of stable antioxidant activity. This study provides a scientific basis for the development of functional beverages from *Rosa roxburghii*.

Key words: *Rosa roxburghii* Tratt.; complex microorganisms; fermentation process; nutritional ingredient; non-targeted metabolomics

刺梨（*Rosa roxburghii* Tratt.）是蔷薇科蔷薇属刺梨的果实，作为我国西南地区特有的药食两用植物资源，主要分布于我国贵州、四川、云南等地，贵州刺梨资源尤为丰富，已成为贵州省重点发展的药食同源经济作物[1]。刺梨果实含有极高的维生素 C 含量，此外还富含黄酮类化合物、多糖、酚酸、三萜类、超氧化物歧化酶以及多种微量元素等活性成分[2]，具有调节机体免疫[3]、抗氧化[4]、延缓衰老[5]、抗动脉粥样硬化[6]、缓解肺损伤[7]、抗肿瘤等功能[8]。近年来，随着健康生活方式的普及以及人们对大健康理念的重视，刺梨发酵产品及相关的研究报道越来越多，主要集中在菌种筛选、发酵工艺优化以及发酵产物成分分析与功效评价等方面。发酵工艺的优化是提升产品品质的关键，研究报道表明，通过发酵可显著改变刺梨的理化特性和生物活性，包括活性成分转化[9−10]、抗氧化活性提升[11]、风味物质重组[12] 以及功能特性拓展[13]等方面。

单宁是一类具有收敛性、有苦涩味的植物多酚。刺梨鲜果含有高浓度单宁类物质，导致其压榨原汁具有强烈的苦涩味，极大地限制了刺梨果汁的应用。传统脱涩方法主要包括物理法、化学法和生物酶法。但这些方法存在有效成分损失、处理时间长、易残留且微生物风险高等局限性，不适用于大规模生产。生物发酵脱涩是另一重要研究方向，生物发酵脱涩技术通过微生物及其酶系的高效、特异性作用，不仅能有效去除果汁的涩味，还能保留甚至提升其营养功能和风味，同时兼具环境友好的特性。有研究表明，采用米曲霉、酵母菌和乳酸菌复合发酵可有效降低刺梨汁单宁含量 40%~60%[14]。魏涛涛等[15] 研究乳酸菌发酵前后刺梨汁品质变化得出，干酪乳杆菌对刺梨单宁降解率达到 40% 以上，发酵后保留了刺梨汁的主要营养成分，并增加了刺梨汁的果香，对改善刺梨汁风味起到了积极作用。本文课题组前期在刺梨汁自然发酵中分离到一株能够在刺梨原汁低 pH 条件下快速生长，并降低刺梨原汁中单宁含量的少根根霉 CLF001[16]。通过发酵后刺梨汁的感官评价，筛选乳酸菌、酵母菌、醋酸菌、红曲霉、根霉等 10 余种微生物，筛选到对刺梨脱涩效果较优的微生物组合，用其发酵 3 d，即可显著提升多糖和黄酮等含量，降低单宁的含量，使得发酵刺梨原汁涩味不明显，研究发现该复合菌中醋酸菌与少根根霉为脱涩的主要贡献菌株[17]。由于不同菌种在刺梨发酵过程中物质转化途径与调控机制不同，特别是多糖降解与重构、黄酮苷生物转化、风味物质形成等关键过程的分子机制仍不清楚。因此，本研究以醋酸菌与少根根霉为出发菌株，以刺梨汁中主要涩味成分（单宁）降解率为响应值优化醋酸菌-少根根霉复合菌发酵刺梨原汁降解单宁工艺，通过非靶向代谢组学对刺梨发酵产物进行代谢物分析，挖掘差异代谢物及相关重要通路，明确发酵过程中代谢物的变化规律，为刺梨发酵产品开发与应用提供理论支撑。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

刺梨原汁　源自贵龙 5 号有籽刺梨，可溶性固形物 8%，碳水化合物 7.0 g/100 mL，pH3.5，由贵州省贵源生态食品有限公司提供；醋酸菌（ATCC 23768）、少根根霉 CLF001　本实验室保藏；MRS 肉汤、MRS 琼脂、马铃薯葡萄糖水、PDA 等培养基

青岛海博生物技术有限公司; 醋酸菌培养基　葡萄糖 8 g、酵母粉 10 g、碳酸钙 5 g、琼脂 15~20 g、水 1000 mL, pH5.5, 0.1 MPa 灭菌 20 min; 醋酸菌液体增殖培养基　葡萄糖 10 g, 酵母粉 10 g, pH5.5, 水 1000 mL 灭菌后加入酒精(食用级)40 mL; 没食子酸、葡萄糖、芦丁、L-抗坏血酸　标准品, 纯度≥99%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 其他分析试剂均为国产 AR 级。

GZBG-D1 小型组合式全温振荡培养箱　象尚昱科(上海)实验仪器有限公司; CR22N 立式低温高速离心机　天美仪拓实验室设备(上海)有限公司; UV-1750 紫外可见分光光度计　日本岛津公司; U445 超低温冰箱　西班牙 Telstar 公司; 3-30KS 低温离心机　德国 Sigma 公司; Vanquish 超高效液相色谱仪、OrbitrapEx-ploris 120 质谱仪　德国赛默飞世尔科技。

1.2　实验方法

1.2.1　单因素实验

1.2.1.1　不同葡萄糖与蔗糖比例对刺梨汁单宁降解率的影响　取刺梨汁 100 mL 于 250 mL 三角瓶中, pH 自然, 分别添加 2% 的葡萄糖、葡萄糖∶蔗糖(2∶1)、葡萄糖∶蔗糖(1∶1)、葡萄糖∶蔗糖(1∶2)、蔗糖, 同时接入醋酸菌 3%, 少根根霉 0.2%, 于 30 ℃, 150 r/min 条件下, 振荡培养 4 d, 以发酵后单宁降解率为评价指标, 考察葡萄糖与蔗糖比例对刺梨汁单宁降解率的影响。

1.2.1.2　pH 对刺梨汁单宁降解率的影响　取刺梨汁 100 mL 于 250 mL 三角瓶中, 添加 2% 的葡萄糖, 因 pH 过低对微生物生长不利, 因此取原汁 pH3.5 为最低组别, 用氢氧化钠分别调节 pH 为 4.0、5.0、6.0、7.0; 同时接入醋酸菌 3%, 少根根霉 0.2%, 于 30 ℃, 150 r/min 条件下, 振荡培养 4 d, 以发酵后单宁降解率为评价指标, 考察 pH 对刺梨汁单宁降解率的影响。

1.2.1.3　葡萄糖添加量对刺梨汁单宁降解率的影响　取刺梨汁 100 mL 于 250 mL 三角瓶中, pH 自然, 分别添加 1%、2%、3%、4%、5% 的葡萄糖; 同时接入醋酸菌 3%, 少根根霉 0.2%, 于 30 ℃, 150 r/min 条件下, 振荡培养 4 d, 以发酵后单宁降解率为评价指标, 考察葡萄糖添加量对刺梨汁单宁降解率的影响。

1.2.1.4　少根根霉接种量对刺梨汁单宁降解率的影响　取刺梨汁 100 mL 于 250 mL 三角瓶中, pH 自然, 添加 2% 的葡萄糖, 分别接入 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5% 的少根根霉和 3% 的醋酸菌; 于 30 ℃, 150 r/min 条件下, 振荡培养 4 d, 以发酵后单宁降解率为评价指标, 考察少根根霉接种量对刺梨汁单宁降解率的影响。

1.2.1.5　醋酸菌接种量对刺梨汁单宁降解率的影响　取刺梨汁 100 mL 于 250 mL 三角瓶中, pH 自然, 添加 2% 的葡萄糖, 分别接入 2%、3%、4%、5%、6% 的醋酸菌和 0.3% 的少根根霉; 于 30 ℃, 150 r/min 条件下, 振荡培养 4 d, 以发酵后单宁降解率为评价指标, 考察醋酸菌接种量对刺梨汁单宁降解率的影响。

1.2.1.6　发酵时间对刺梨汁单宁降解率的影响　取刺梨汁 100 mL 于 250 mL 三角瓶中, pH 自然, 添加 2% 的葡萄糖, 接入 4% 的醋酸菌和 0.3% 的少根根霉; 于 30 ℃, 150 r/min 条件下, 分别振荡培养 2、3、4、5、6 d, 以发酵后单宁降解率为评价指标, 考察发酵时间对刺梨汁单宁降解率的影响。

1.2.2　响应面优化　在单因素实验的基础上, 选取少根根霉接种量(A)、醋酸菌接种量(B)和发酵时间(C)为自变量, 以单宁降解率(Y)为响应值, 设计 3 因素 3 水平响应面试验, 使用 Design-Expert13.0 软件进行试验的优化设计, 响应面试验因素与水平见表 1。

表 1　响应面试验的因素水平

Table 1　Factors and levels of response surface experiment

水平	因素		
	A少根根霉接种量(%)	B醋酸菌接种量(%)	C发酵时间(d)
−1	0.2	3	3
0	0.3	4	4
1	0.4	5	5

1.2.3　单宁含量的测定　样品处理: 发酵后样品经 8000 r/min 离心 5 min 后保留上清液, 取发酵前后刺梨汁各 1 mL, 加入 2 mL 无水乙醇, 超声提取 5 min, 8000 r/min 离心 5 min, 备用。单宁含量测定: 参照 NY/T 1600-2008《水果、蔬菜及其制品中单宁含量的测定分光光度法》[18], 每组 3 个重复。以没食子酸浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线: y=0.0105x+0.0083, R^2=0.9982。

1.2.4　多糖含量测定　样品处理: 发酵后样品经 8000 r/min 离心 5 min 后保留上清液, 取发酵前后刺梨汁各 1 mL, 加入 4 倍体积无水乙醇, 充分混匀后于 4 ℃ 静置过夜, 8000 r/min 离心 5 min, 所得沉淀用 80% 乙醇清洗 3 次, 加入 5.0 mL 水溶解, 即为多糖待测液。多糖含量测定: 参照团体标准 T/GZCX 019-2022《刺梨及其制品中多糖含量的测定》[19], 每组 3 个重复。以葡萄糖浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线为 y=5.2494x+0.0552, R^2=0.9945。

1.2.5　总酚含量测定　样品处理: 发酵后样品经 8000 r/min 离心 5 min 后保留上清液, 取发酵前后刺梨汁各 1 mL 与 1 mL 无水乙醇混合, 超声处理 30 min 后, 8000 r/min 离心 5 min, 收集上清液备用。总酚含量测定: 参照 T/GZCX 020-2022《刺梨及其制品中总酚含量的测定》[20], 每组 3 个重复。以没食子酸浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线: y=0.015x+0.0337, R^2=0.9989。

1.2.6　总黄酮含量测定　样品处理: 发酵后样品经 8000 r/min 离心 5 min 后保留上清液, 取发酵前后

刺梨汁各 1.0 mL，加入 2.0 mL 无水乙醇，超声处理 30 min 后，8000 r/min 离心 5 min，收集上清液备用。总黄酮含量测定：参照 T/GZCX 018-2022《刺梨及其制品中总黄酮含量的测定》[21]，每组 3 个重复。以芦丁浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线：y=5.7801x+0.1029，R^2=0.999。

1.2.7　抗坏血酸含量测定　参考 GB 5009.86-2016《食品中抗坏血酸的测定 第三法 2,6-二氯靛酚滴定法》[22]。标定：取 1.0 mL 浓度为 1 mg/mL 的 L(+)-抗坏血酸标准溶液，加入 10 mL 20 g/L 偏磷酸溶液摇匀，用 2,6-二氯靛酚滴定至粉红色，保持 15 s 不褪色，同时做空白组。计算 2,6-二氯靛酚的滴定度 T=0.0793。测定：取发酵前后刺梨汁 1 mL 于 50 mL 锥形瓶中，加蒸馏水稀释 10 倍后，加入 10 mL 偏磷酸溶液，用标定过的 2,6-二氯靛酚溶液滴定，直至溶液呈粉红色 15 s 不褪色为止，同时做空白组。根据公式(1)计算 L-抗坏血酸含量(X)：

$$X(mg/mL)=\frac{(V-V_0)\times T}{m} \qquad 式（1）$$

式中：V 为滴定试样消耗 2,6-二氯靛酚溶液的体积(mL)；V_0 为滴定空白消耗 2,6-二氯靛酚溶液的体积(mL)；T 为 2,6-二氯靛酚的滴定度(mg/mL)；m 为试样的量(mL)。

1.2.8　还原糖含量测定　采用 DNS 法测定还原糖含量。取发酵前后样品经 8000 r/min，离心 5 min，取稀释至合适倍数的样品 0.5 mL 加 0.5 mL DNS 试剂，沸水浴 5 min，取出冷却，加蒸馏水补足至 5 mL，于 540 nm 处测吸光度，每组 3 个重复。标准曲线通过葡萄糖制得，同时做试剂空白，540 nm 处测定吸光度，以葡萄糖浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线：y=1.9215x−0.0288，R^2=0.9966。

1.2.9　体外抗氧化活性评价　参考 GB/T 39100-2020《多肽抗氧化性测定 DPPH 和 ABTS 法》[23] 并作修改。

1.2.9.1　DPPH 自由基清除率　准确称取 19.716 mg DPPH，用无水乙醇定容 100 mL 容量瓶中，得到浓度为 1 mmol/L 的 DPPH 溶液。在 3.0 mL DPPH 溶液中加入 1.0 mL 稀释 400 倍后的发酵前后刺梨汁，室温避光反应 30 min，测定波长 517 nm 处的吸光度 A_i。以等体积无水乙醇代替 DPPH 溶液测定样品本底吸光度 A_j，以等体积蒸馏水代替刺梨汁样品溶液测定空白对照吸光度 A_0，根据公式(2)计算 DPPH 自由基清除率(P)：

$$P(\%)=\left(1-\frac{A_i-A_j}{A_0}\right)\times 100 \qquad 式（2）$$

以 L-抗坏血酸为阳性对照，以 L-抗坏血酸质量浓度为横坐标，DPPH 自由基清除率为纵坐标，绘制曲线为：y=642.03x−35.557，R^2=0.9996。

1.2.9.2　$ABTS^+$自由基清除率　准确称取 200 mg ABTS 和 34.4 mg 过硫酸钾溶于水定容至 50 mL，摇匀，室温避光放置 24 h 后，作为 ABTS 母液。取适量母液，用 95% 乙醇稀释至吸光值在 0.70±0.02 左右（波长 734 nm），作为 ABTS 测定液。在 3.0 mL ABTS 测定溶液中，加入稀释 2000 倍的发酵前后刺梨汁 1.0 mL，室温避光反应 5 min，测定 734 nm 波长处的吸光度 A_i，以等体积蒸馏水代替 ABTS 工作液测定样品本底吸光度 A_j，以等体积蒸馏水代替刺梨汁样品溶液测定空白对照吸光度 A_0，根据公式(3)计算 $ABTS^+$自由基清除率(P)：

$$P(\%)=\left(1-\frac{A_i-A_j}{A_0}\right)\times 100 \qquad 式（3）$$

以 L-抗坏血酸为阳性对照，以 L-抗坏血酸质量浓度为横坐标，$ABTS^+$自由基清除率为纵坐标，绘制曲线为：y=5736x−0.1618，R^2=0.9985。

1.2.10　非挥发性代谢物　采用液相色谱-质谱联用(LC-MS)法。使用 Vanquish 超高效液相色谱仪，通过 Phenomenex Kinetex C_{18}（2.1 mm×50 mm，2.6 μm）液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。液相色谱 A 相为水相，含 0.01% 乙酸，B 相为异丙醇：乙腈（1∶1，v/v），梯度洗脱（0~0.25 min，95%B；0.25~3.5 min，95%~65%B；3.5~4.0 min，65%~40%B；4.0~4.5 min，40%B；4.5~4.55 min，40%~95%B；4.55~6 min，95% B）。样品盘温度：4 ℃，进样体积：2 μL。Orbitrap Exploris 120 质谱仪能够在控制软件（Xcalibur，版本：4.4，Thermo）控制下进行一级、二级质谱数据采集。详细参数如下：鞘气流量：50 Arb，辅助气流量：15 Arb，离子传输管温度：320 ℃，全质谱分辨率：60000，MS/MS 分辨率：15000，碰撞能量：SNCE 20/30/40，喷雾电压：3.8 kV(positive)或−3.4 kV(negative)，扫描范围 70~1500。

1.3　数据处理

实验重复三次，采用平均值±标准差表示。利用 SPSS19.0 软件对数据进行方差分析和相关性分析等。组间差异采用单因素方差分析（ANOVA）检验，进行 Tukey 多重比较检验；$^*P$<0.05 和 $^{**}P$<0.01 分别为差异显著和差异极显著。质谱原始数据经 ProteoWizard 软件（V3.0.24054）转成 mzXML 格式后，使用 R 包进行代谢物鉴定和可视化分析。

2　结果与分析

2.1　单因素实验结果

不同发酵条件对果蔬单宁的降解效果不同[15,24]。单因素实验结果显示，不同葡萄糖与蔗糖比例（图 1A）对刺梨汁单宁降解率的影响不同，添加葡萄糖发酵，单宁降解率最高为 37.11%±3.19%，添加葡萄糖与蔗糖对单宁降解率有显著影响（P<0.05），但是以葡萄糖为主的组别间没有显著性差异，因此选葡萄糖进行后续实验。pH 对刺梨汁单宁降解率的影响见图 1B，结果显示随着 pH 增加，单宁降解率呈下降趋势，刺梨

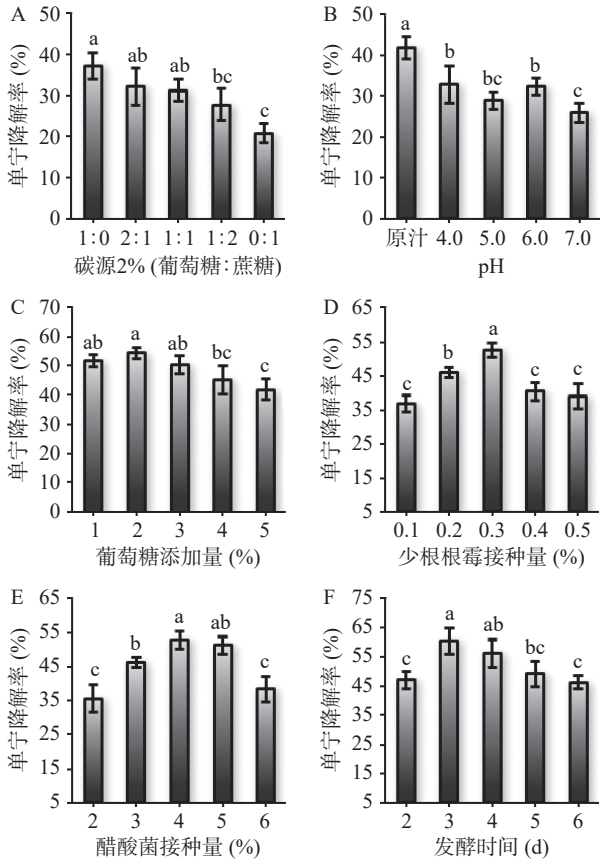


图 1 单因素实验结果

Fig.1 Results of single-factor experiment

注: 不同小写字母表示组内差异显著(P<0.05)。

原汁发酵单宁降解率最高, 为 41.74%±2.73%, 低 pH 条件并非微生物的最优生长与产酶条件, 但是单宁降解率却最优, 这可能是由于酸性条件下 H^+有利于 C-C 连接键发生断裂, 促使单宁降解[25]。葡萄糖作为优质的碳源, 添加量过高或过低都显著影响微生物对单宁的降解效果[26]。图 1C 显示随着葡萄糖添加量的升高, 单宁降解率呈现出先上升后下降的趋势, 葡萄糖添加量为 2% 时降解率最高为 54.36%±1.85%, 但其与添加量 1% 和 3% 的组别没有显著性差异。因此, 葡萄糖不作为显著影响因素, 后续实验选择葡萄糖添加量为 2% 进行。少根根霉接种量对刺梨汁单宁降解率的影响如图 1D 所示, 随着少根根霉接种量的升高, 单宁降解率呈现先上升后下降的趋势, 当接种量为 0.3% 时, 降解率最高为 52.58%±2.16%, 显著优于其他组别(P<0.05)。醋酸菌接种量对刺梨汁单宁降解率的影响如图 1E 所示, 结果显示, 随着醋酸菌接种量的升高, 单宁降解率呈现先上升后下降的趋势, 当接种量为 4% 时, 降解率最高达 53.44%, 降解率高于接种量 5% 的组别, 但两者没有显著性差异, 醋酸菌和少根根霉具有协同作用, 接种量过低或者过高都会影响复合菌生长与代谢, 另外考虑接种量增加必然导致成本提升, 因此, 选醋酸菌接种量为 4% 为最适接种量。图 1F 结果显示, 随着发酵时间的延长, 单宁降解率呈现先上升后下降的趋势, 当发酵时间为 3 d 时, 降解率最高, 达 60.42%±4.27%, 发酵时间过短不利于单宁的降解, 发酵时间过长后期多酚、黄酮等含量增加会导致苦味上升, 影响口感[27]。

2.2 响应面试验结果分析

为了进一步优化混菌发酵降解刺梨原汁中单宁的工艺, 在单因素实验结果的基础上, 采用 Box-Behnken 进行三因素三水平试验设计, 并以单宁降解率为响应值进行响应面试验设计。试验设计与结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 2 Box-Behnken 试验设计与结果

Table 2 Box-Behnken experimental design and results

试验号	A	B	C	单宁降解率(%)
1	−1	0	1	49.58
2	0	0	0	52.98
3	−1	1	0	49.55
4	1	0	−1	59.19
5	0	−1	1	54.11
6	0	0	0	56.49
7	−1	0	−1	50.48
8	0	0	0	52.12
9	0	0	0	56.65
10	0	1	−1	65.06
11	1	−1	0	49.15
12	1	1	0	50.31
13	−1	−1	0	43.21
14	0	−1	−1	60.55
15	0	0	0	54.75
16	0	1	1	55.81
17	1	0	1	46.36

表 3 方差分析结果

Table 3 Analysis of variance results

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	452.22	9	50.25	20.17	0.0003**
A	18.62	1	18.62	7.48	0.0291*
B	23.5	1	23.5	9.43	0.0180*
C	108.22	1	108.22	43.45	0.0003**
AB	6.69	1	6.69	2.69	0.1453
AC	35.63	1	35.63	14.31	0.0069**
BC	1.97	1	1.97	0.7926	0.4029
A^2	207.08	1	207.08	83.14	<0.0001**
B^2	0.9241	1	0.9241	0.371	0.5617
C^2	61.29	1	61.29	24.61	0.0016**
残差	17.43	7	2.49	−	−
失拟项	0.8773	3	0.2924	0.0706	0.9726
纯误差	16.56	4	4.14	−	−
总和	469.65	16	−	−	−

注: *表示差异显著(P<0.05); **表示差异极显著(P<0.01)。

2.2.1 模型拟合分析 以少根根霉接种量(A)、醋酸菌接种量(B)、发酵时间(C)为自变量, 以单宁降解率(Y)为响应值, 采用 Design-Expert 13.0 软件对表 2 试验结果进行多元二次回归拟合, 得到二次多元回归方程为: $Y=54.56+1.53A+1.71B-3.68C-1.29AB-2.98AC-0.7025BC-7.01A^2+0.4685B^2+3.82C^2$。由表 3 可知, 回归方程 P 值=0.0003, 模型极显著

（P<0.01），说明模型拟合效果好；失拟项 P 值=0.9726，不显著（P>0.05），表明试验误差较小；模型的决定系数 R^2=0.9629，校正决定系数 R^2=0.9152，说明该模型中 91.52% 的试验数据可以用该模型进行分析，试验误差较小，故用该模型进行分析合理。

2.2.2　方差分析　方差分析结果见表 3。通过比对 F 值可知，3 个因素对刺梨单宁降解率的影响顺序为发酵时间（C）>醋酸菌接种量（B）>少根根霉接种量（A）。一次项 C，交互项 AC，二次项 A^2、C^2 对结果影响极显著（P<0.01）；一次项 A、B 对结果影响显著（P<0.05）；交互项 AB、BC，二次项 B^2 对结果影响不显著。响应与因素间存在显著二次关系而交互作用较弱时，只要满足调整 R^2>0.85，预测 R^2 与调整 R^2 差值<0.2，失拟检验 P>0.05，该响应面模型仍是可靠的[28]，因此本模型可行。优化后最佳发酵工艺为：少根根霉接种量 0.323%、醋酸菌接种量为 5%、发酵时间为 3 d，在此条件下可获得发酵刺梨原汁单宁降解能力的最高预测值为 65.347%。对最佳发酵工艺条件进行调整，少根根霉接种量为 0.325%、醋酸菌接种量为 5.00%、发酵时间为 3 d、葡萄糖添加量为 2%、初始 pH3.5（原汁）。根据调整后的最优发酵工艺参数进行验证实验，结果得出单宁降解率为 65.54%±2.31%。此结果与响应面分析得到的最高预测值基本一致，验证了优化后发酵条件的可靠性。

2.3　刺梨发酵前后营养成分变化

刺梨原汁经最优发酵工艺发酵后营养成分变化显著（表 4）。其中还原糖、单宁、总酚和 L-抗坏血酸含量分别下降了 32.16%、68.55%、38.50% 和 59.81%。多糖和黄酮含量分别提升 54.84% 和 69.52%。刺梨发酵过程活性成分的变化与发酵菌种、发酵工艺、刺梨原料类型等有关。醋酸菌在发酵过程产生大量细菌纤维素，因其巨大的比表面积和纳米纤维网络以及纤维表面大量羟基，可通过物理吸附或化学键合的方式结合溶液中的单宁等酚类物质，通过离心去除菌体时，被吸附的酚类也随之被除去，导致上清液中测得的可溶性总酚减少[29]。另外，根霉菌株能够产生漆酶，能够催化多种酚类和芳香胺化合物的氧化，破坏酚类的结构，导致发酵液中酚类物质降低[30]，这与本文总酚、黄酮和单宁等成分变化结果一致。

表 4　发酵前后营养成分变化

Table 4　Changes in nutritional components before and after fermentation

成分（g/L）	发酵前	发酵后
多糖	0.62±0.09	0.96±0.08**
还原糖	45.83±1.32**	31.09±4.88
单宁	6.20±0.22**	1.95±0.12
总酚	12.91±1.38**	7.94±0.35
L-抗坏血酸	18.86±1.75**	7.58±0.70
黄酮	1.05±0.16	1.78±0.09**

注：**表示差异极显著（P<0.01）。

2.4　抗氧化活性评价

抗氧化活性评价以 L-抗坏血酸作为阳性对照，DPPH 自由基清除效果评价得出，发酵前原汁的抗氧化活性相当于 36.76±1.30 mg/mL L-抗坏血酸的抗氧化效果，发酵后样品相当于 35.86±0.87 mg/mL L-抗坏血酸的抗氧化效果（图 2A），$ABTS^+$自由基清除效果显示，发酵前原汁的抗氧化活性相当于 31.09±1.75 mg/mL L-抗坏血酸的抗氧化效果，发酵后样品相当于 30.10±1.54 mg/mL 的 L-抗坏血酸的抗氧化效果（图 2B）。实验结果可见发酵后抗氧化活性略有降低，但没有显著性影响，仍然保持较高的抗氧化效果。L-抗坏血酸、多酚和黄酮等活性物质是刺梨原汁强抗氧化活性的关键成分，原汁中 L-抗坏血酸含量为 18.86±1.75 mg/mL，约占总抗氧化活性的 50%。在高温或者氧气存在情况下，L-抗坏血酸极易被氧化[31]，发酵后 L-抗坏血酸含量降低 60% 左右，但是抗氧化活性却并未明显降低，这可能是由于发酵后多糖、黄酮等成分含量显著提升，保留了较高的抗氧化活性，可弥补 L-抗坏血酸在加工过程中被氧化导致抗氧化活性降低的缺陷。

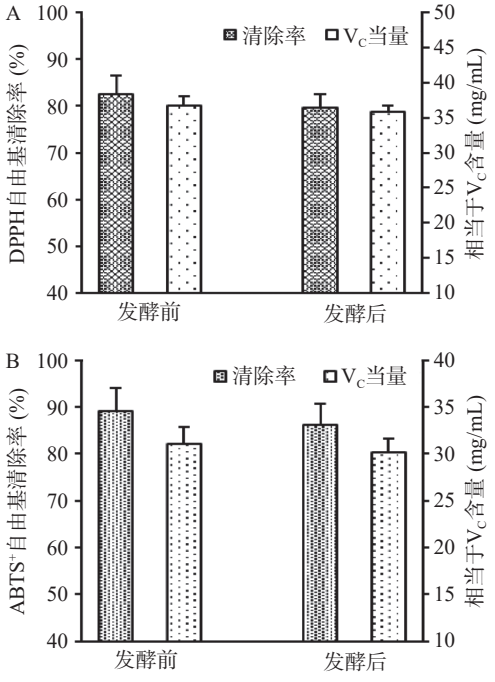


图 2　发酵前后抗氧化活性评价

Fig.2　Evaluation of antioxidant activity before and after fermentation

2.5　非挥发性代谢物分析

2.5.1　非挥发性代谢物鉴定结果　在原汁和发酵样品中一共检测到了 1926 个代谢物，主要分布在以下 8 类中（图 3）：氨基酸及短肽、聚酮类、莽草酸和苯丙酸类、生物碱类、碳水化合物、萜类化合物、脂肪酸及其他。其中莽草酸和苯丙素类占比最大（32.19%），包含异黄酮类、氧杂蒽酮、香豆素类、木脂素、黄酮类、酚酸、二苯基庚烷类、苯乙烯吡喃酮、苯乙醇类和苯丙素等物质，营养成分中的黄酮和总酚属于该类

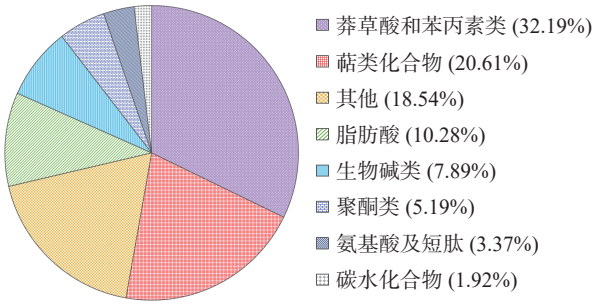


图 3 代谢物分类环形图

Fig.3 Donut plot of metabolite classification

物质。其次为萜类化合物(20.61%)、其他(18.54%)和脂肪酸(10.28%)。原汁和发酵样品的 PCA 得分如图 4 所示,从 PCA 得分图的结果可以看出,样本全部处于 95% 置信区间内,两个样本对应的代谢产物明显分离,说明刺梨原汁发酵前后代谢物有一定的差异。两个主要成分(PC1 和 PC2)分别解释了总方差 54.1% 和 13.2% 的变异。

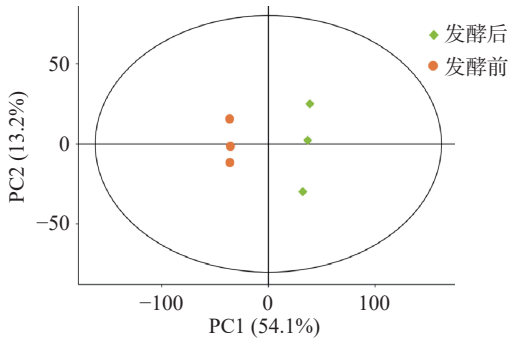


图 4 PCA 模型得分散点图

Fig.4 Score scatter plot of PCA model for group

2.5.2 非挥发性代谢物差异火山图 火山图中每个点代表一个代谢物。图 5 中纵坐标表示 P 值,P 值越大,代表代谢产物在 2 个样品之间的表达差异越显著,横坐标表示差异倍数值,其绝对值越大,表示代谢产物在 2 个样品中的差异倍数越大。显著上调的代谢物以红色表示,显著下调的代谢物以蓝色表示,非显著差异的代谢物为灰色。采用 VIP>1 和 $P<$

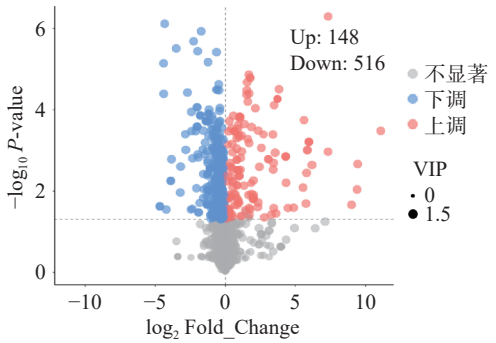


图 5 差异代谢物筛选火山图

Fig.5 Volcano plot of differential metabolite screening

0.05 筛选得到 664 种关键差异代谢物,其中 148 个代谢物在发酵后显著上调,516 个显著下调。在差异代谢物中,莽草酸和苯丙酸类代谢物占最大比例(32.98%),其次是萜类化合物(20.48%),说明复合菌发酵显著改变了刺梨原汁中的成分组成。上调物质中差异最显著的物质(红色最高点)为大黄素甲醚(聚酮类),对多种细菌和人体宫颈癌细胞生长抑制作用较强[32]。其次为 Epithienamycin E(氨基酸及短肽)属于碳青霉烯类抗生素的天然化合物,最初是从微生物发酵液中分离得到的[33]。排名第三的为 10-羟基喜树碱(生物碱类),属于拓扑异构酶 I 抑制剂类抗肿瘤药物,具有显著的抗肿瘤活性[34]。其他显著差异物质情况见表 5,莽草酸和苯丙素类、萜类化合物、脂肪酸、聚酮类、碳水化合物以及其他类物质成分以下调为主。特别是莽草酸和苯丙素类下调数量最多,占该类物质总数的 85% 以上,其中包括原花青素 C1、原花青素 B2、鞣花酸、儿茶酚类等单宁类主要成分,进一步证实复合菌发酵过程可有效降解单宁等苦涩味成分。上调物质主要以黄酮类为主,与营养成分中发酵后黄酮含量提高一致。其中异甘草素、杨梅素糖苷、新北美圣草苷、7-甲氧基黄烷醇等均具有较强的抗氧化活性,进一步发酵后抗氧化活性保持稳定可能是黄酮含量增加所致。氨基酸及短肽物质上调数量占比最多,主要以苯丙氨酸、苏氨酸、亮氨酸、缬氨酸、γ-氨基丁酸等必需氨基酸或功能氨基酸上调为主。

表 5 发酵前后差异代谢物质

Table 5 Differentially metabolized substances before and after fermentation

类别	差异代谢物总数量	显著上调代谢物		显著下调代谢物	
		数量	主要物质名称	数量	主要物质名称
莽草酸和苯丙素类	219	31	羟基酪醇、3-甲基儿茶酚、沙棘苷、7-乙酰氧基香豆素、西瑞香素、狐衣酸、7-甲氧基黄烷醇、泡桐素、杨梅素糖苷、异甘草素、新北美圣草苷、珊瑚菜素	188	原花青素C1、原花青素B2、鞣花酸、没食子酸、绿原酸甲酯、橙皮苷、云香内脂、儿茶素7-O-芹菜呋喃糖苷、儿茶素7-阿拉伯糖、芒果苷元、芦丁、白蔹素a
萜类化合物	136	22	依普利酮、通关藤皂苷H、细叶远志皂苷、胡黄连苷III、柴胡皂苷B2、黄楝素C	114	甘草次酸、贝萼皂苷元、皂皮酸、淫羊藿次苷 C1、毛冬青皂苷元A、黄夹次甙乙、羟基积雪草酸、苜蓿酸、樟脑、琥珀酸
其他	109	15	地衣酚、3-丁炔酸、4甲基儿茶酚、间甲酚、姜酮	94	乙醛酸、二苯甲酰硫胺素、5-氨基-4-咪唑-N-琥珀酰氨甲酰核糖核苷酸
脂肪酸	67	22	16-羟基十六烷酸、2-羟基-3-甲基丁酸、2-羟基十八烷酸、2-羟基-4-甲硫基丁酸、2-酮戊二酸、柠康酸、衣康酸、植物鞘氨醇	45	辛酸乙酯、4-乙基辛酸、十一酸、癸酸、丙戊酸、马来酸、乳酸丁酯、12 -羟基茉莉酸硫酸酯

续表 5

类别	差异代谢物总数量	显著上调代谢物		显著下调代谢物	
		数量	主要物质名称	数量	主要物质名称
生物碱类	53	27	脱硫生物素、1-甲基吡咯烷、消旋肾上腺素、吲哚3-乳酸、左旋异肾上腺素、核黄素、去甲变肾上腺素、哌唑嗪、帕米格雷、1,3-二甲基尿酸、雷西莫特	26	烟酰胺、替米沙坦、利波腺苷、嘌呤、7-甲基黄嘌呤、吡啶酰胺、1-甲基黄嘌呤、长春新碱、阿帕泛
聚酮类	28	7	间苯三酚、麦芽酚、曲酸、原金丝桃素、大黄素甲醚	21	抗坏血酸、苯乙酮糖苷、芦荟宁、间苯三酚葡萄糖苷、金丝桃素、斑点酸
氨基酸及短肽	32	27	L-脯氨酰-L-苯丙氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、γ-氨基丁酸、苏氨酸、亮氨酸、缬氨酸、脯氨酰苯丙氨酸	11	精氨酸、谷氨酸、亚氨基二乙酸、L-高丝氨酸、L-精氨琥珀酸、天冬氨酸、天冬酰胺
碳水化合物	20	3	葡萄糖酸、棉子糖、乳糖醛酸	17	β-D-吡喃果糖、腺苷二磷酸核糖、甘油醛、二羟丙酮、黄嘌呤核苷-5'-单磷酸、半乳糖、山梨糖、甘露糖、木糖

2.5.3　KEGG 代谢通路分析　KEGG 通路注释的结果进行分类，一共注释到 221 条代谢通路，显著富集前 15 条通路如图 6 显示，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的代谢和精氨酸生物合成属于氨基酸代谢；代谢通路、氨基酸的生物合成、不同环境中的微生物代谢和碳代谢 4 条通路属于全局和概述图谱；咖啡因代谢、ABC 转运蛋白、癌症中的中心碳代谢、蛋白质的消化与吸收、D-氨基酸代谢、氨基酸酰基-tRNA 生物合成、甲苯降解、GABA 能突触和酒精依赖通路对应各自的通路分类。代谢通路富集分析筛选代谢通路中显著富集的 KEGG 通路，筛选了富集显著性前 15 的通路结果如图 7 所示。圆点的大小表示该通路中富集到的差异代谢物数量，颜色表示 *P* 值的大小，

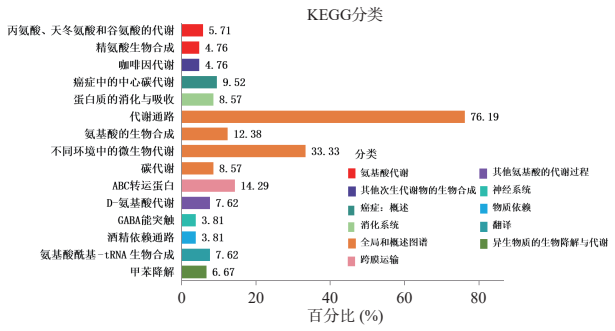


图 6　差异代谢物 KEGG 分类

Fig.6　KEGG classification of differential metabolites

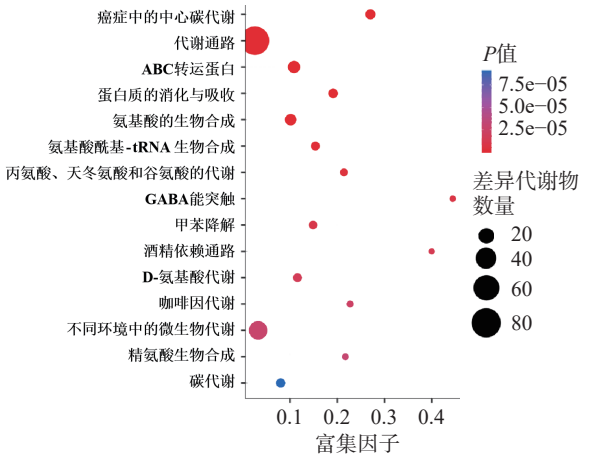


图 7　差异代谢物 KEGG 富集

Fig.7　KEGG enrichment of differential metabolites

P 值越小，颜色越偏红富集程度越显著。对比原汁和发酵样品发现，富集最显著的依次为：癌症中的中心碳代谢、代谢通路、ABC 转运蛋白、蛋白质消化与吸收和氨基酸的生物合成。富集差异代谢物数量最多的通路依次为：代谢通路、不同环境中的微生物代谢、ABC 转运蛋白、氨基酸的生物合成和癌症中的中心碳代谢，进一步分析代谢物在富集代谢通路中的调节情况，计算各个代谢通路的差异丰度得分，结果如图 8 所示，与原汁相比差异代谢物表达上调趋势从大到小依次为甲苯降解、D 氨基酸代谢、氨基酸的生物合成以及 ABC 转运蛋白；下调趋势从大到小依次为精氨酸生物合成、咖啡因代谢、碳代谢、酒精依赖通路、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸的代谢、不同环境中微生物代谢、代谢通路以及蛋白质消化与吸收。

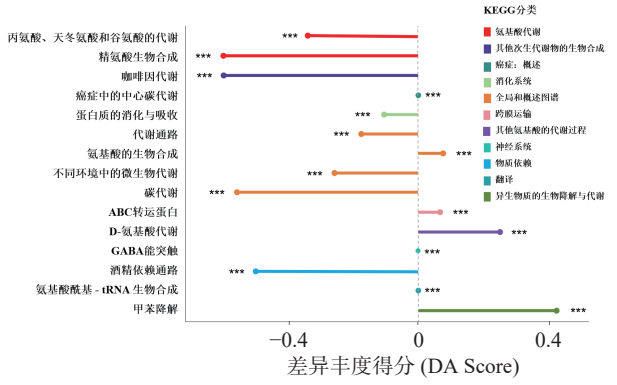


图 8　差异丰度得分图

Fig.8　Differential abundance score plot

注：***表示选取极其显著差异（*P*<0.001）的代谢物质进行差异丰度分析。

结合 *P* 值与刺梨功能活性物质特征，差异物代谢通路显著富集第 17 条为类黄酮生物合成途径。如图 9 所示，该通路一共注释到 18 个代谢物，参与类黄酮生物合成代谢通路的有 7 个差异代谢物，分别是 Hesperetin 7-O-neohesperidoside、柚皮素-7-O-葡萄糖苷、短叶松素、花青素、杨梅素、樱花素和异甘草素。发酵后除了异甘草素上调外，其他 6 个差异物质均显著下调，其中短叶松素、花青素和杨梅素是典型的涩味成分，这些涩味成分主要通过唾液黏蛋白形成沉淀，增加口腔摩擦系数诱发涩感[35−38]。涩味成分显著下调证实复合益生菌发酵可显著降低刺梨

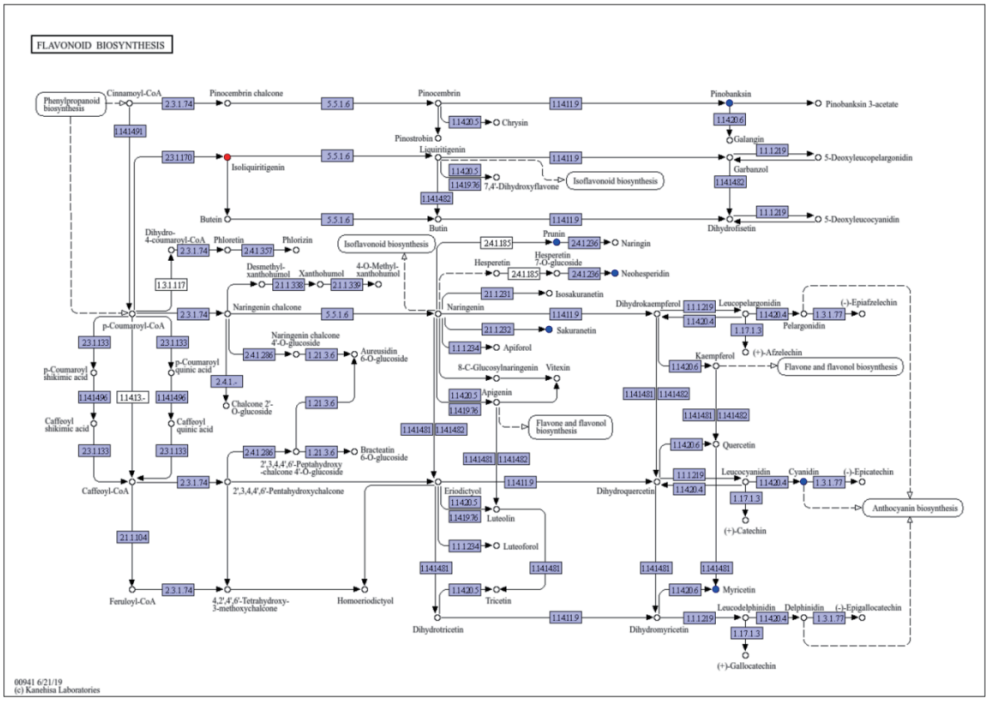


图 9 KEGG 通路图

Fig.9 KEGG pathway diagram

注: 亮红/亮蓝色标记的是差异代谢物。

汁涩味, 改善口感。异甘草素具有极强的抗氧化活性, 能有效抑制宫颈癌和前列腺癌细胞增殖, 具备作为抗癌新药的潜力, 其代谢合成途径为苯丙氨酸经苯丙氨酸解氨酶催化脱氨生成肉桂酸, 肉桂酸经肉桂酸-4-羟化酶催化形成香豆酸, 再经羟化和活化生成关键前体物香豆酰辅酶 A, 香豆酰辅酶 A 与 3 分子丙二酰辅酶 A 在查尔酮合酶催化合成柚皮素查尔酮, 经查尔酮还原酶还原成异甘草素[39−40], 苯丙氨酸显著上调保证异甘草素合成代谢具有丰富的前体物质。

3 结论

通过优化醋酸菌-少根根霉复合发酵刺梨原汁脱涩工艺, 确定最优工艺为: 刺梨原汁中添加 2.00% 葡萄糖、初始 pH3.5(原汁), 少根根霉接种量 0.325%、醋酸菌接种量 5.00%、混合发酵 3 d, 在此条件下, 单宁降解率为 65.54%±2.31%。此条件下发酵后刺梨汁中单宁和 L-抗坏血酸含量下降了 50% 以上, 但是抗氧化活性没有显著性降低, 发酵后多糖、黄酮的含量显著提升。

刺梨原汁发酵前后共鉴定到 1926 种代谢物, 筛选出 664 种关键差异代谢物, 其中 148 种上调、516 种下调。莽草酸和苯丙素途径中, 异甘草素、杨梅素糖苷、新北美圣草苷等具有较强的抗氧化活性的关键活性成分显著上调, 有效弥补了因 L-抗坏血酸和总酚含量下降引起的抗氧化能力降低。KEGG 分析显示, 类黄酮生物合成途径中, 短叶松素、花青素和杨梅素等典型涩味成分显著下调, 证实复合菌发酵能有效降低刺梨汁涩味, 改善口感。该途径中还发现具有抗癌潜力的异甘草素被显著上调富集, 提示发酵可能增强刺梨汁的功能活性。

在后续研究中, 可结合代谢组学和转录组学等方法, 深入探究复合菌发酵刺梨涩味改善机制, 挖掘发酵产物抗肿瘤、抗氧化、抗感染等方面代谢产物, 开展异甘草素等刺梨功效成分生物合成机制研究, 为刺梨功能强化与高值利用提供理论与应用基础。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 莫梅清, 曾健, 李洁雯, 等. 刺梨果醋发酵过程中理化特性和风味特征的变化[J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 238−249. [MO Meiqing, ZENG Jian, LI Jiewen, et al. Changes in physicochemical properties and flavor characteristics of *Rosa roxburghii* Tratt. fruit vinegar during fermentation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 238−249.]

[2] 付阳洋, 刘佳敏, 卢小鸾, 等. 刺梨主要活性成分及药理作用研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 328−335,342. [FU Yangyang, LIU Jiamin, LU Xiaoluan, et al. Research progress on main active components and pharmacological effects of *Rosa roxburghii* Tratt[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(13): 328−335,342.]

[3] 徐德昌, 胡婕伦, 钟亚东, 等. 刺梨食用菌发酵液对免疫抑制小鼠免疫功能和抗氧化能力的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(1): 116−125. [XU Dechang, HU Jielun, ZHONG Yadong, et al. Effects of *Rosa roxburghii* & edible fungi fermentation broth on immune function and antioxidation capacity of immunosuppressed mice[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(1): 116−125.]

[4] RAHMAN M A, SARKAR K K, AKTARUZZAMAN M, et

al. Evaluation of antioxidant, anxiolytic and antidepressant potential of *Saurauia roxburghii* Wall. leaves: Supported by *in vitro*, *in vivo*, and *in silico* approaches[J]. Phytomedicine Plus, 2025, 5(2): 100792.

[5] 高旭华. 刺梨籽多酚提取物的制备与工艺优化及其抗衰老作用研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2023. [GAO Xuhua. Study on the preparation, process optimization and anti-aging effects of polyphenols extracted from *Rosa roxburghii* seeds[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2023.]

[6] 邓滢滢, 戴莹莹, 吴杨盼, 等. 基于网络药理学整合 UHPLC-Q Exactive 分析、转录组学及分子对接探讨刺梨干预动脉粥样硬化的作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2025, 36(6): 937−949. [DENG Yingying, DAI Yingying, WU Yangyang, et al. Investigating the mechanism of *Rosa roxburghii* Tratt. in atherosclerosis intervention through network pharmacology, UHPLC-Q exactive, transcriptomics and molecular docking[J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2025, 36(6): 937−949.]

[7] CHEN Zhiyu, ZHANG Shuo, SUN Xiaodong, et al. Analysis of the protective effects of *Rosa roxburghii*-fermented juice on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice through network pharmacology and metabolomics[J]. Nutrients, 2024, 16(9): 1376.

[8] JANTHAMALA S, PROMRAKSA B, THANEE M, et al. Anticancer properties and metabolomic profiling of *Shorea roxburghii* extracts toward gastrointestinal cancer cell lines[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies, 2024, 24(1): 178.

[9] YI Xinxin, ZHANG Shuo, MENG Duo, et al. Optimization of *Rosa roxburghii* Tratt pomace fermentation process and the effects of mono- and mixed culture fermentation on its chemical composition[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1494678.

[10] ES-SBATA I, CASTRO R, ZOUHAIR R, et al. Effect of the type of acetic fermentation process on the chemical composition of prickly pear vinegar (*Opuntia ficus-indica*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2023, 103(1): 264−272.

[11] 任平国, 徐启红, 党卫红, 等. 刺梨酵素发酵工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 中国酿造, 2025, 44(2): 239−244. [REN Pingguo, XU Qihong, DANG Weihong, et al. Optimization of fermentation process and antioxidant activity of *Rosa roxburghii* Jiaosu[J]. China Brewing, 2025, 44(2): 239−244.]

[12] WANG Tianyang, XIONG Yiling, YUAN Haibin, et al. Characterization of flavor profiles and microbial communities in Ciba chili fermentation using metagenomics, untargeted metabolomics, and flavoromics[J]. Food Bioscience, 2025, 66: 106100.

[13] 何兰兰, 马四补, 姜特, 等. 固态发酵刺梨果渣改性膳食纤维工艺优化及结构特性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 183−191. [HE Lanlan, MA Sibu, JIANG Te, et al. Process and structural characteristics analysis of solid-state fermentation of modified dietary fiber from *Rosa roxburghii* pomace[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(2): 183−191.]

[14] 马露, 王文举, 孔国祥. 一种微生物发酵制备刺梨果提取物及其制备方法和应用: CN202311121837.7[P]. 2024-11-15. [MA L, WANG W J, KONG G X. A microbial fermentation method for preparing the extract of *Rosa roxburghii* fruit and its preparation method and application: China, 202311121837.7[P]. 2024-11-15.]

[15] 魏涛涛, 左云洋, 王令, 等. 不同乳酸菌发酵对刺梨汁品质及风味影响[J]. 食品与生物技术学报, 2024, 43(4): 90−97. [WEI Taotao, ZUO Yunyang, WANG Ling, et al. Effects of fermentation with different lactic acid bacteria on quality and fragrance of *Rosa roxburghii* Tratt juice[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2024, 43(4): 90−97.]

[16] 黄清铧, 王庆福, 王丽宁, 等. 一株少根根霉在刺梨发酵脱涩中的应用: 中国, 202510528550.9[P]. 2025-08-08. [HUANG Q H, WANG Q F, WANG L N, et al. Application of *Rhizopus arrhizus* in the fermentation and deastringency of *Rosa roxburghii*: China, 202510528550.9[P]. 2025-08-08.]

[17] 黄清铧, 王庆福, 胡彪, 等. 一种多菌协同发酵刺梨原汁的方法: 中国, 202510528555.1[P]. 2025-08-08. [HUANG Q H, WANG Q F, HU B, et al. A method for multi-strain co-fermentation of *Rosa roxburghii* juice: China, 202510528555.1[P]. 2025-08-08.]

[18] 中华人民共和国农业部. 水果、蔬菜及其制品中单宁含量的测定 分光光度法: NY/T 1600-2008[S]. 北京: 中国农业出版社, 2008. [Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Determination of tannin content in fruit, vegetable and derived product-Spectrophotometry method: NY/T 1600-2008[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2008.]

[19] 贵州省刺梨协会. T/GZCX 019-2022 刺梨及其制品中多糖含量的测定[S]. 贵州: 2022. [Guizhou Cili Association. T/GZCX 019 2022 Determination of polysaccharide content in *Rosa roxburghii* Tratt and its products[S]. Guizhou: 2022.]

[20] 贵州省刺梨协会. T/GZCX 020-2022 刺梨及其制品中总酚含量的测定[S]. 贵州: 2022. [Guizhou Cili Association. T/GZCX 020 2022 Determination of total phenol content in *Rosa roxburghii* Tratt and its products[S]. Guizhou: 2022.]

[21] 贵州省刺梨协会. T/GZCX 018-2022 刺梨及其制品中总黄酮含量的测定[S]. 贵州: 2022. [Guizhou Cili Association. T/GZCX 018 2022 Determination of total flavonoid content in *Rosa roxburghii* Tratt and its products[S]. Guizhou: 2022.]

[22] 国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.86-2016 食品中抗坏血酸的测定, 第三法 2, 6-二氯靛酚滴定法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [National Health and Family Planning Commission. GB 5009.86-2016 Determination of ascorbic acid in foods-Part 3: 2, 6-dichloroindophenol titration method[S]. Beijing: China Standards Press, 2016.]

[23] 全国生化检测标准化技术委员会 GB/T 39100-2020 多肽抗氧化性测定, DPPH 和 ABTS 法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2020. [National Technical Committee on Biochemical Testing of Standardization Administration of China. GB/T 39100-2020 Determination of antioxidant activity of polypeptides-DPPH and ABTS methods[S]. Beijing: China Standards Press, 2020.]

[24] 陈秋竹, 谢菡怡, 何娇娇, 等. 基于有机酸和多酚组成的贵州 5 种特色水果酿酒特性评价[J]. 食品科学, 2024, 45(10): 158−166. [CHEN Qiuzhu, XIE Hanyi, HE Jiaojiao, et al. Evaluation of wine fermentation characteristics of Guizhou's five specialty fruits based on the composition of organic acids and polyphenols[J]. Food Science, 2024, 45(10): 158−166.]

[25] 张闽峰. 毛杨梅单宁的降解及其产物活性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2024. [ZHANG Minfeng. Study on degradation of tannin in *Myrica rubra* and its product activity[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2024.]

[26] 谭川川, 何劲, 魏雨萌, 等. 一株耐单宁酵母菌的筛选、鉴定及发酵特性[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(15): 47−53. [TAN Chuanchuan, HE Jin, WEI Yumeng, et al. Screening and identification of a tannin-tolerant yeast strain and its fermentation characteristics[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(15): 47−53.]

[27] WANG Dan, GUO Siqian, MAO Yu, et al. Influence of yeasts and aging on the accumulation of flavor components in *Rosa roxburghii* Tratt wine[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 140: 107262.

[28] WHITCOMB P J. RSM simplified: Optimizing processes using response surface methods for design of experiments[M]. USA: Productivity Press, 2004.
[29] WAHID F, HUANG Longhui, ZHAO Xueqing, et al. Bacterial cellulose and its potential for biomedical applications[J]. Biotechnology Advances, 2021, 53: 107856.
[30] CHÁVEZ-GONZÁLEZ M L, GUYOT S, RODRÍGUEZ-HERRERA R, et al. Exploring the degradation of gallotannins catalyzed by tannase produced by *Aspergillus niger* GH1 for ellagic acid production in submerged and solid-state fermentation[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2018, 185(2): 476−483.
[31] ABEYSURIYA H I, BULUGAHAPITIYA V P, JAYATISSA L P. Variation of vitamin C content and antioxidant capacities during the post-harvest storage of fresh fruits under different temperatures[J]. Journal of Stored Products Research, 2024, 109: 102426.
[32] PANG M J, YANG Z, ZHANG X L, et al. Physcion, a naturally occurring anthraquinone derivative, induces apoptosis and autophagy in human nasopharyngeal carcinoma.[J]. Acta pharmacologica Sinica, 2016, 37(12): 1623−1640.
[33] NOZAKI Y, KITANO K, IMADA A. Blocked mutants in the biosynthesis of carbapenem antibiotics from *Streptomyces griseus* subsp. *cryophilus*[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1984, 48(1): 37−44.
[34] HUANG Xingzhen, HUANG Jinping, HUANG Dongyi, et al. Preparation and quality evaluation of 7-ethyl-10-hydroxycamptothecin (SN38) nanocrystalline liposomes and evaluation of anti-breast cancer effects *in vivo* and *in vitro*[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2025, 681: 125814.
[35] ZHU Lijie, PAN Yueying, LI Yingyan, et al. Molecular mechanisms of bitterness and astringency in the oral cavity induced by soyasaponin[J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13(6): 3424−3433.
[36] ZHAO Xiaodan, AI Yingchao, HU Yulin, et al. Masking the perceived astringency of proanthocyanidins in beverages using oxidized starch hydrogel microencapsulation[J]. Foods, 2020, 9(6): 756.
[37] XUE Jinjin, LIU Panpan, FENG Lin, et al. Insights into the effects of fixation methods on the sensory quality of straight-shaped green tea and dynamic changes of key taste metabolites by widely targeted metabolomic analysis[J]. Food Chemistry: X, 2023, 20: 100943.
[38] WU Zibin, WU Xuehui, CHEN Pinjie, et al. Identification of tannin from *Phyllanthus emblica* and its mechanism of astringency caused by interaction with saliva protein *in vitro*[J]. Food and Bioprocess Technology, 2025, 18(4): 4025−4034.
[39] LIU Chi, LIU Xinyue, MA Qing, et al. Design, synthesis, and antitumor activity of isoliquiritigenin amino acid ester derivatives [J]. Molecules, 2024, 29(11): 2641.
[40] SHIBUYA M. Probing the deoxyflavonoid biosynthesis: Naringenin chalcone is a substrate for the reductase synthesizing isoliquiritigenin[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2024, 47(4): 801−808.