

DOI:10.16433/j.1673-2383.202401170001

周鑫欣,张丽霞. 豌豆乳乳酸菌发酵工艺优化及其品质特性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2024,45(4):91-99.

ZHOU X X, ZHANG L X. Optimization of process and quality characteristics of pea milk fermentation by lactic acid bacteria [J]. Journal of Henan university of technology(natural science edition),2024,45(4):91-99.

豌豆乳乳酸菌发酵工艺优化及其品质特性研究

周鑫欣^{1,2},张丽霞^{1,2*}

1. 江苏大学 食品与生物工程学院,江苏 镇江 212000

2. 江苏省农业科学院 农产品加工研究所,江苏 南京 210000

摘要:为研制和开发营养性新型豌豆乳,以豌豆粉为原材料,使用植物乳杆菌发酵工艺制备豌豆乳,通过单因素试验研究发酵时间、温度、接种量和豌豆粉添加量对豌豆发酵乳中活菌数的影响,以活菌数为指标进行响应面实验对豌豆乳发酵工艺进行优化,运用质构仪测定豌豆发酵乳的质构,对不同发酵时间条件下的豌豆发酵乳进行感官评价。结果表明:最优工艺为发酵温度 36 ℃、乳酸菌接种量 0.10%、豌豆粉添加量 5.83%、发酵时间 24 h;乳酸菌接种量和发酵温度、发酵温度和时间交互作用对活菌数影响极显著;在最优发酵条件下活菌数的对数为 9.05,总酚含量为 281.77 mg/L,总糖含量为 86.01 mg/mL,淀粉含量为 21.94 mg/g,蛋白含量为 1.10 g/100 g;与发酵前相比,发酵后豌豆乳抗氧化活性显著增强,DPPH 清除率可达 66.83%;豌豆发酵乳的总糖、总酚含量、活菌数、抗氧化活性及淀粉含量均高于大豆发酵乳;豌豆发酵乳的黏附性、内聚性、硬度、弹性及咀嚼性显著提升;发酵 24 h 的豌豆乳感官评分最高。植物乳酸菌发酵能够提升豌豆乳的营养成分和品质特性,研究结果为豌豆开发利用提供新的途径。

关键词:豌豆;乳酸菌;发酵工艺;抗氧化活性;质构特性;感官评价

中图分类号:TS201.3

文献标志码:A

文章编号:1673-2383(2024)04-0091-09

Optimization of process and quality characteristics of pea milk fermentation by lactic acid bacteria

ZHOU Xinxin^{1,2}, ZHANG Lixia^{1,2*}

1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China

2. Institute of agricultural products processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210000, China

Abstract: In order to develop new nutritional pea milk, *Lactobacillus plantarum* was used in the fermentation process. The effects of fermentation time, temperature, inoculated amount and pea flour addition on the number of viable bacteria in pea fermented milk were studied through single factor experiment. The results indicated that the optimal conditions were: fermentation temperature of 36 ℃, inoculated amount of lactic acid bacteria of 0.10%, additive amount of pea powder of 5.83%, fermentation time for 24 h. The interaction between pea powder addition and fermentation temperature, fermentation temperature and time

收稿日期:2024-01-17

基金项目:江苏省政府留学基金项目(29011904)

作者简介:周鑫欣(1998—),女,江苏泰州人,硕士研究生,研究方向为食品生物技术与谷物豆类加工。

* 通信作者:张丽霞,博士,副研究员,E-mail:zlx5885@163.com。

had significantly influences on the number of viable bacteria. The logarithm of viable bacteria counts under the optimal fermentation conditions was 9.05 CFU/mL, the total phenolic content was 281.77 mg/L, the total sugar content was 86.01 mg/mL, the starch content was 21.94 mg/g, and the protein content was 0.11 mg/g. Compared with pre-fermentation, the antioxidant activity of pea milk was significantly enhanced after fermentation, and the DPPH clearance could reach 66.83%. The total sugar, total phenolic content, number of viable bacteria, antioxidant activity and starch content of pea fermented milk were higher than those of soybean fermented milk. The texture of pea fermented milk was determined by texture analyzer, and the results showed that the adhesion, cohesion, hardness, elasticity and chewiness of pea fermented milk were significantly improved. Pea fermented milk fermented for 24 h showed the highest sensory score. The fermentation by plant lactic acid bacteria can improve the nutritional composition and quality characteristics of pea milk, and the research results provide a new way for the development and utilization of pea.

Key words: peas; lactic acid bacteria; fermentation process; antioxidant activity; plasma structure characteristics; sensory evaluation

豌豆(*Pisum sativum* L.)属于豆科豌豆属植物,分布于我国中部及东北部,其含有淀粉 48%,蛋白质 23%,总脂质 4%,灰分 3%,糖 8%等^[1],被认为是一种优质的营养来源。豌豆中最主要的碳水化合物是淀粉,也是豌豆食品中重要的能量来源之一。此外,淀粉在豌豆中具有自然的慢消化特性^[2],与谷物相比较,豌豆淀粉的 GI 指数较低^[3]。随着人们对健康饮食的重视程度提升,对于豌豆所含功能性成分也有所关注。根据相关研究,豌豆多酚具有抗氧化、抗癌、消除自由基、抑制细菌以及增强免疫力等作用。豌豆黄酮类化合物可以降低血糖、血脂和胆固醇水平,有益于健康^[4-6]。侯文娟等^[7]以豌豆蛋白为原料开发出了一种植物发酵乳制品,制品属非牛顿流体且显弹性,与传统酸奶相比,制品表面微观结构更致密、孔隙更多且更小。目前,我国豌豆食品的加工方式仍然停留在初级阶段,生产的产品种类有限,深加工技术欠缺已成为该产业可持续发展的障碍。

乳酸菌与人类的日常生活联系十分紧密,常见于发酵乳制品、蔬菜制品以及肉类等食品中,且乳酸菌在人体内能够定植于肠道,并发挥许多有益于人体健康的益生作用^[8],如分泌有机酸,产生抑菌素、多肽类等物质,维持肠道微生态平衡,提高机体免疫力^[9]。植物乳杆菌属于乳酸杆菌科中的乳酸杆菌属,革兰氏阳性兼性厌氧发酵,被广泛应用于乳酸菌饮料、酸奶、发酵调味料等食品中,能提升产品风味品质^[10]。当前,植物乳杆菌发酵能有效保持和提高豌豆的营养价值和产品风味,同时具有益生功效。豌豆中的植物化学物质是天然抗氧化剂的良好来源,但以结合

的形式存在,而传统的处理方法不足以释放这些化合物。有研究表明,发酵能够提升豆类中的酚类物质和抗氧化性能^[11]。目前,植物乳杆菌发酵豆乳的研发关注度逐渐提高。植物乳杆菌发酵型豌豆乳作为一种新型饮品,不仅去除了豆制品中的豆腥味,改善了饮品口感,增加了其附加价值,还丰富了产品的种类,符合健康天然食品的发展趋势。然而目前对于植物乳杆菌发酵豌豆乳的工艺还未见报道,发酵豌豆乳的品质研究尚未开展。

本文应用具有自主知识产权的植物乳杆菌作为发酵菌种制备豌豆乳,并通过响应面试验对其活菌数进行优化,比较分析发酵前后豌豆乳主要营养成分、生物活性成分、质构及感官指标,为开发杂豆类发酵乳产品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豌豆粉(蛋白含量 22.47 g/100 g,碳水化合物含量 32 g/100 g):加拿大曼尼托巴大学食品学院;MRS 培养基:北京奥博星生物技术有限公司;福林酚、水杨酸、乙醇、苯酚、过硫酸钾、没食子酸、硫酸亚铁:国药集团化学试剂有限公司;2,2-联氮-二二铵盐(ABTS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH):上海源叶生物科技有限公司;SH-470 乳酸菌:江苏省农业科学院加工所 401 实验室保藏;L(+)-抗坏血酸(V_C):天津市恒兴化学试剂制造有限公司;大豆(苏豆 21 号):江苏省农业科学院经济作物研究所。

1.2 仪器与设备

HH-4 数显恒温水浴锅:常州普天仪器制造有限公司;XFS-280 高压蒸汽灭菌锅:浙江新丰医疗器械有限公司;SW-CJ-1D 单人净化工作台:苏州净化设备有限公司;LRH-150AE 生化培养箱:广东泰宏君科学仪器有限公司;UV-1800PC 紫外-可见分光光度计:上海美普达仪器有限公司;TMS-Touch 物性分析仪:美国 FTC 公司;TG16-WS 台式高速离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 豌豆乳制备与菌种活化

豌豆乳的制备:取豌豆粉 6 g 于锥形瓶中,依次加入 6 g 蔗糖和 100 mL 蒸馏水,调 pH=4.5,于 121 °C 杀菌 20 min,冷却至室温后备用。

乳酸菌活化^[12]:在 10% 灭菌脱脂乳中接入乳酸菌冻干粉,在 37 °C 下活化 24 h 后备用。

1.3.2 单因素试验

将豌豆乳接入活化后的乳酸菌,分别考察发酵温度(33、35、37、39、41 °C)、发酵时间(6、12、24、36、48、60 h)、乳酸菌粉接种量(0.04%、0.06%、0.08%、0.10%、0.12%)和豌豆粉添加量(3%、4%、5%、6%、7%)等因素对豌豆发酵乳活菌数的影响。

1.3.3 响应面试验设计

在单因素试验的基础上,通过优化试验设计,以乳酸菌活菌数作为响应值,设计响应面试验。

1.3.4 总糖含量和总酚含量测定

总糖含量测定采用苯酚硫酸法^[13]。总酚含量测定采用福林酚比色法^[14]。

1.3.5 乳酸菌活菌数测定

将豌豆乳稀释 2~3 个适宜稀释度,每个平皿加入 15 mL MRS 培养基,在无菌 MRS 培养皿上均匀涂布 0.1 mL 稀释液。选取菌落数在 30~300 CFU 之间的平板计数。采用 3 个平板的平均数作为每个稀释度的菌落数。

1.3.6 抗氧化指标测定

1.3.6.1 DPPH 自由基清除率的测定^[15]

将 2 mL 豆乳上清液和 2 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 无水乙醇溶液混合,吸光度记为 A_1 。将 2 mL 样品加 2 mL 无水乙醇混合,吸光度记为 A_2 。将 2 mL 蒸馏水加 2 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 无水乙醇溶液混合,吸光度记为 A_0 。计算 DPPH 清除率(γ_1):

$$\gamma_1 = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

1.3.6.2 ·OH 清除率的测定^[13]

将 0.5 mL 豆乳上清液和 0.5 mL 9 mmol/L 的 FeSO_4 溶液、0.5 mL 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 溶液和 0.5 mL 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇溶液混匀,吸光度记为 A_1 。上样液体系中不加 H_2O_2 溶液,吸光度记为 A_2 。样品替换为蒸馏水,吸光度记为 A_0 。计算·OH 清除率(γ_2):

$$\gamma_2 = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (2)$$

1.3.6.3 ABTS⁺ 自由基清除率的测定^[15]

将 2 mL ABTS⁺ 工作液和 2 mL 豆乳上清液混合,吸光度记为 A_1 。将 2 mL 样品加 2 mL 无水乙醇混合,吸光度记为 A_2 。将 2 mL 蒸馏水加 2 mL ABTS⁺ 工作液混合,吸光度记为 A_0 。计算 ABTS⁺ 清除率(γ_3):

$$\gamma_3 = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

1.3.7 蛋白含量和淀粉含量的测定

蛋白含量根据 GB 5009.5—2016(第一法)凯氏定氮法对豆乳进行测定。淀粉含量测定采用淀粉试剂盒测定,利用酸水解法分解淀粉为葡萄糖,再用蒽酮比色法对葡萄糖进行定量,从而计算出相关淀粉的含量。

1.3.8 质构特性的测定^[16]

在超净台中取三角瓶中发酵好的豌豆乳 30~40 mL 于 50 mL 的烧杯中,用封口膜封好,放入冰箱 4 °C 冷藏一段时间。质构仪参数:运行模式 Texture Profile Analysis;测前速率 60 mm/min,测试速率 60 mm/min;压缩比 60%,压缩距离 55 mm,量程 250 N;测试容器体积 50 mL。

1.3.9 感官评价

邀请 10 名经过感官品评训练的人员,对豌豆乳 5 个方面进行感官评定。评价标准如表 1 所示。最后收集评判结果,并统计分析。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2010、SPSS 23.0 和 Design-Expert13 进行数据处理、方差分析及作图。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌发酵豌豆乳单因素试验

2.1.1 发酵时间对豌豆乳活菌数的影响

由图 1(a)可知,乳酸菌的活菌数量在发酵时间逐渐增加的过程中,呈现出先增加后减

表1 豌豆乳感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation criteria of pea milk

项目	满分	感官评价
香气	10	有酸豆乳固有气味,豆腥味轻 7~10分;有酸豆乳固有气味,豆腥味重 5~<7分;无酸豆乳固有气味 3~<5分;气味异常 1~<3分
表观	10	呈奶白色,表面光滑、无裂纹、无乳清析出,凝乳紧密、稳定,均匀一致 7~10分;呈淡白色,表面光滑、少量乳清析出,凝乳较疏松、不均匀 5~<7分;呈淡黄色,表面有裂纹、乳清析出,凝乳较粗糙、不均匀 3~<5分;呈偏灰色,表面有裂纹、乳清析出严重,凝乳粗糙或柔软不紧密 1~<3分
滋味	10	酸甜味比例适当,无豆味 7~10分;酸甜比略有失调,稍有豆味 5~<7分;过酸或过甜,豆味明显 3~<5分;异常滋味,滋味不好 1~<3分
质构	10	质构柔软、爽滑、组织细腻 7~10分;质构过硬或过软、不够爽滑、组织较细腻 5~<7分;质构粗糙、组织松散、内部有少量空隙、稍有颗粒感 3~<5分;质构粗糙、组织松散、内部有大量空隙、有明显颗粒感、有杂质 1~<3分
总体可接受度	10	非常好,愿意主动购买品尝 7~10分;较好,能够接受该风味 5~<7分;较差,勉强接受该风味 3~<5分;非常差,拒绝再次饮用 1~<3分

少的趋势。表明在发酵时间延长的过程中,乳酸菌的产酸量逐渐增加,乳酸菌菌数也逐渐增多。发酵 36 h,活菌数对数值达到最大值 9.11。随后乳酸菌活菌数开始降低,豌豆发酵乳中的活性成分因为酸度过高导致其分解,这是由于发酵时间延长所引起的。同时,发酵时间的延长将导致生产周期过长,进而带来过高的成本等问题^[17]。综合考虑,选择 36 h 作为最佳发酵时间。

2.1.2 发酵温度对豌豆乳活菌数的影响

由图 1(b)可知,随发酵温度升高,活菌数先升高后下降。在 39~41 °C 范围内,乳酸菌活菌数下降迅速。温度过低或过高,会造成菌种活性较差^[18]。当温度升高时,不利于乳酸菌的生长,加速菌种老化,使得活菌数下降。当温度为 37 °C 时,活菌数的对数为 9.12,达到最高值。而温度为 41 °C 时,活菌数的对数仅为 8.49。因此,发酵

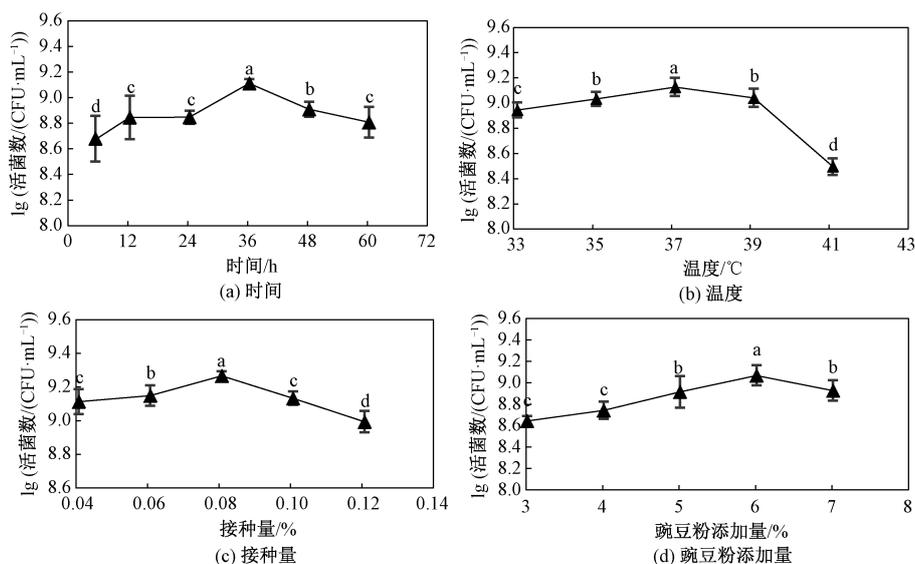
温度过高或过低时,不适宜乳酸菌的生长,导致代谢产物合成量下降以及抗氧化活性降低。这与李理等^[19]的研究结果基本一致。因此选择最佳发酵温度为 37 °C。

2.1.3 乳酸菌接种量对豌豆乳活菌数的影响

由图 1(c)可知,随着接种量的增加,活菌数先增加后减少。当接种量为 0.08% 时,活菌数的对数最高,达到 9.26。当豌豆乳接种乳酸菌过多时,乳中的营养物质不足以满足过量乳酸菌生长^[20],活菌数量减少。接种过量时,菌种密度过高并迅速进行发酵,引起发酵乳中的营养物质的过度消耗,有机酸含量上升,导致发酵乳酸度过高,对乳酸菌生长产生不利影响。因此,选择最佳接种量为 0.08%。

2.1.4 豌豆粉添加量对豌豆乳活菌数的影响

由图 1(d)可知,随着豌豆粉添加量的增加,



注:不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图1 不同因素对豌豆乳活菌数的影响

Fig. 1 Effects of different factors on the number of viable bacteria in pea milk

活菌数先增加后减少。当豌豆粉添加量过少时,体系不利于微生物生长,导致酸产量偏低^[21],活菌数较少;当豌豆粉添加量高于 6% 时,豌豆乳比较黏稠会抑制菌种繁殖和代谢,对乳酸菌的生长不利^[22]。豌豆粉添加量为 6% 时,活菌数的对数最高为 9.06。综合考虑,选取 6% 作为最佳豌豆粉添加量。

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面试验结果

在蔗糖添加量为 6% 的基础条件下,选取对活菌数有显著影响的因素,以乳酸菌接种量(A)、发酵时间(B)、豌豆粉添加量(C)和发酵温度

(D)为变量设计响应面试验,结果见表 2。经回归分析得到回归方程: $Y=9.020+0.045A+0.009B+0.062C-0.021D-0.360AB-0.039AC-0.038AD+0.010BC+0.088BD+0.072CD-0.059A^2-0.026B^2-0.066C^2-0.179D^2$ 。

由表 3 可知,回归方程极显著($P<0.01$),且 $R^2>0.9$,失拟项不显著($P>0.05$),回归方程拟合度好,模型显著($P<0.01$),BD、CD 极显著,其他交互项均不显著($P>0.05$)。由 F 检验可知影响豌豆乳活菌数的因素由大到小顺序为豌豆粉添加量、乳酸菌接种量、发酵温度、发酵时间。

表 2 Box-Behnken 试验结果

Table 2 Results of Box-Behnken test

序号	A 乳酸菌接种量/%	B 发酵时间/h	C 豌豆粉添加量/%	D 发酵温度/℃	Y lg(活菌数/(CFU·mL ⁻¹))
1	0(0.08)	-1(24)	-1(5)	0(37)	8.88
2	1(0.10)	1(48)	0(6)	0	8.93
3	0	0(36)	0	0	9.04
4	0	1	0	-1(35)	8.79
5	-1(0.06)	0	0	1(39)	8.76
6	-1	0	0	-1	8.65
7	0	1	0	1	8.87
8	0	0	-1	-1	8.80
9	-1	0	-1	0	8.78
10	0	-1	1(7)	0	8.97
11	-1	0	1	0	8.96
12	1	0	0	1	8.85
13	0	0	0	0	9.03
14	0	1	1	0	9.01
15	-1	1	0	0	8.95
16	1	0	0	-1	8.90
17	1	0	-1	0	8.91
18	1	0	1	0	8.93
19	0	0	1	-1	8.81
20	-1	-1	0	0	8.88
21	1	-1	0	0	9.00
22	0	-1	0	1	8.66
23	0	1	-1	0	8.88
24	0	0	0	0	8.99
25	0	0	-1	1	8.60
26	0	-1	0	-1	8.94
27	0	0	1	1	8.90
28	0	0	0	0	9.04
29	0	0	0	0	9.02

根据软件 Optimization 程序中 Numerical 分析,可得最大响应值所对应的因素条件为接种量 0.10%、温度 36.1℃、时间 24.4 h、豌豆粉添加量 5.83%,依据该条件进行实际的发酵工艺试验。

2.2.2 模型的验证

为了方便操作,将发酵工艺参数修改为接种量 0.10%、发酵温度 36℃、发酵时间 24 h、豌豆粉添加量 5.83%。再进行 3 次验证试验,试验平均对数值为 9.05,与预测的最大响应值对数值

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance of response surface test results

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	0.364 3	14	0.026 0	16.67	<0.000 1	**
A	0.024 9	1	0.024 9	15.95	0.001 3	**
B	0.001 0	1	0.001 0	0.65	0.435 0	
C	0.045 8	1	0.045 8	29.35	<0.000 1	**
D	0.005 2	1	0.005 2	3.35	0.088 7	
AB	0.005 2	1	0.005 2	3.31	0.090 1	
AC	0.006 2	1	0.006 2	3.98	0.065 9	
AD	0.005 9	1	0.005 9	3.75	0.073 1	
BC	0.000 4	1	0.000 4	0.25	0.625 0	
BD	0.030 8	1	0.030 8	19.76	0.000 6	**
CD	0.020 4	1	0.020 4	13.09	0.002 8	**
A ²	0.022 3	1	0.022 3	14.31	0.002 0	**
B ²	0.004 2	1	0.004 2	2.70	0.128 8	
C ²	0.028 4	1	0.028 4	18.21	0.000 8	**
D ²	0.206 8	1	0.206 8	132.46	<0.000 1	**
残差	0.021 9	14	0.001 6			
失拟项	0.019 9	10	0.002 0	3.96	0.098 2	不显著
误差	0.002 0	4	0.000 5		R ² = 0.943 4	
总和	0.386 1	28				

注: **表示极显著($P < 0.01$)。

偏差为 0.01,表明该模型优化可用于豌豆乳活菌数条件优化,验证模型可靠,因此具有实际应用的价值。

2.3 豌豆乳发酵前后品质特性

2.3.1 豌豆乳发酵前后营养物质含量及抗氧化活性

由表 4 可知,与未发酵豌豆乳相比,豌豆发酵乳的总糖含量显著降低,而总酚含量提高了 32.54%,淀粉和蛋白含量变化不显著。与对照组大豆发酵乳相比,豌豆发酵乳活菌数的对数值(9.05)显著高于大豆发酵乳($P < 0.05$),淀粉含量高于大豆发酵乳,蛋白含量低于大豆发酵乳。乳酸菌发酵后总酚含量的增加可能是由于乳酸菌产生的酶可以破坏酚类与其他取代基之间的键合作用,从而从植物细胞壁中释放可溶性共轭或不溶性结合酚类化合物^[23]。与发酵前相比,豌豆发酵乳和大豆发酵乳的抗氧化能力(DPPH 自由基清除率、·OH 清除率、ABTS⁺ 自由基清除率)均显著增加($P < 0.05$)。薛玉旗等^[24]研究发现在乳酸菌发酵作用下,发酵绿豆粉的抗氧化能力显著提升,与上述结果一致。Marazza 等^[25]报道 *L. rhamnosus* CRL981 发酵大豆乳 24 h 后,其 DPPH 自由基的清除率比未发酵豆乳高 29.5%。这表明通过植物乳杆菌发酵提高了发酵豆乳的抗氧化活性。Hur 等^[26]报道,发酵提高抗氧化活性的能力主要是由于发酵过程中酚类化合物的数量

增加。发酵豆乳抗氧化能力的增强可能与发酵过程中生物活性肽、异黄酮和其他酚类化合物等成分的变化有关。研究表明,由于乳酸菌菌株会产生不同的抗氧化化合物,如抗氧化肽和活性苷元,从而提升了抗氧化能力^[27-29]。因此,本研究中豌豆乳植物乳酸菌的发酵以及总酚含量的增加,有利于豌豆乳抗氧化能力的增强。

2.3.2 豌豆乳发酵前后的质构特性

由表 5 可知,经过发酵的豌豆乳黏附性、内聚性、硬度、弹性及咀嚼性呈上升趋势,而胶黏性呈降低趋势。经过发酵的豌豆乳,其内部蛋白质的结构分散较为合理,凝胶的紧密度逐渐增大,有利于蛋白形成蛋白凝胶,产品的硬度升高^[30]。豌豆淀粉经过发酵处理之后容易形成致密的结晶,其结构稳定且增强了直链淀粉与支链淀粉之间的结合力,所以发酵后的豌豆乳的内聚性上升了 16.7%,这与尹乐斌等^[31]研究结果一致。发酵后豌豆乳的黏附性较未发酵豌豆乳显著提升($P < 0.05$),这是由于乳酸菌的接入,其在代谢过程中会产生胞外多糖和蛋白质等物质,乳酸菌产黏性物质能力升高,这与付桂明等^[32]研究结果一致。同时,在发酵后,豌豆乳内部淀粉结构更为均匀分散,并逐渐增大了凝胶的紧密度,从而使咀嚼性升高。

2.4 不同发酵时间对豌豆乳感官品质的影响

表 6 为在不同发酵时间下,植物乳杆菌发酵

表 4 乳酸菌发酵对豌豆乳营养成分和抗氧化活性的影响

Table 4 Effect of lactic acid bacteria fermentation on nutritional compositions and antioxidant activities of pea milk

样品	总酚含量/ (mg·L ⁻¹)	总糖含量/ (mg·mL ⁻¹)	DPPH 清 除率/%	·OH 清 除率/%	ABTS ⁺ 清 除率/%	lg(活菌数/ (CFU·mL ⁻¹))	蛋白质/ (g·(100 g) ⁻¹)	淀粉含量/ (mg·g ⁻¹)
未发酵豌豆乳	212.60±2.64 ^c	121.32±1.13 ^a	58.87±2.18 ^c	48.42±0.05 ^c	53.40±0.25 ^c	-	1.31 ^a	24.04 ^b
豌豆发酵乳	281.77±3.07 ^a	86.01±1.28 ^c	66.83±0.07 ^b	58.58±2.23 ^b	62.10±1.07 ^b	9.05±0.02 ^a	1.10 ^a	21.94 ^b
未发酵大豆乳	191.68±3.09 ^d	112.25±1.08 ^b	52.79±1.68 ^d	44.15±1.86 ^d	45.27±5.08 ^c	-	2.17 ^a	17.61 ^b
大豆发酵乳	258.49±3.21 ^b	78.22±0.55 ^d	62.89±4.83 ^c	51.65±2.08 ^c	51.32±4.81 ^d	8.82±0.04 ^b	2.13 ^a	15.78 ^b
V _c	-	-	99.15±0.38 ^a	97.72±1.60 ^a	98.90±0.47 ^a	-	-	-

注:-表示无数据。同一列相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同字母表示差异显著($P<0.05$)。表 5 和表 6 同。

表 5 豌豆乳发酵前后凝胶质构参数

Table 5 Gel texture parameters before and after fermentation of pea milk

样品	硬度/N	黏附性/(N·mm ⁻¹)	内聚性	弹性/mm	胶黏性/N	咀嚼性/mJ
未发酵豌豆乳	0.36±0.07 ^b	0.58±0.04 ^b	0.30±0.00 ^b	1.36±0.26 ^b	0.21±0.04 ^a	0.30±0.14 ^b
发酵豌豆乳	0.43±0.08 ^a	0.73±0.07 ^a	0.35±0.07 ^a	2.11±0.30 ^a	0.19±0.03 ^b	0.40±0.14 ^a

豌豆乳的感官评价结果。由表 6 可知,发酵 24 h 的豌豆乳各项得分都较高,表观得分为 7.85 分,滋味为 7.10 分,总体接受度为 7.35 分,显著高于发酵 60 h 的豌豆乳($P<0.05$)。说明适当的发酵时间能够改善样品的凝胶结构,故其质构表现为

更加细腻爽滑。发酵 48 h 与发酵 60 h 的豌豆乳香气、滋味得分均较低,显著低于发酵 24 h 的豌豆乳($P<0.05$)。这可能是发酵时间过长,豌豆乳中的乳酸不断堆积造成产品过酸,进而影响组织状态及风味^[33],气味和口感没有前 3 组高。

表 6 不同发酵时间豌豆乳的感官评价

Table 6 Sensory evaluation of pea milk at different fermentation times

发酵时间/h	香气	表观	滋味	质构	总体接受度	总分
12	7.05±0.79 ^b	7.30±0.53 ^c	6.30±0.75 ^d	7.70±0.63 ^b	7.05±0.49 ^c	35.40±2.05 ^b
24	7.25±0.42 ^a	7.85±0.41 ^a	7.10±0.39 ^a	7.75±0.67 ^b	7.35±0.41 ^{ab}	37.30±1.66 ^a
36	7.30±0.58 ^a	7.60±0.51 ^b	7.15±0.52 ^a	7.90±0.49 ^a	7.25±0.48 ^b	37.20±1.08 ^a
48	6.95±0.59 ^c	7.55±0.55 ^b	6.75±0.48 ^b	7.45±0.43 ^c	6.90±0.45 ^d	35.60±1.55 ^b
60	6.80±0.42 ^d	7.35±0.41 ^c	6.40±0.45 ^c	7.10±0.31 ^d	6.90±0.31 ^d	34.55±1.11 ^c

3 结论

植物乳杆菌适合制备发酵型豌豆乳。采用响应面法研究了发酵条件对豌豆乳乳酸菌活菌数的影响,得到乳酸菌发酵豌豆乳的最优工艺参数:接种量 0.10%、发酵时间 24 h、发酵温度 36 ℃、豌豆粉添加量 5.83%。该条件下豌豆乳乳酸菌活菌数的对数值为 9.05,总酚含量为 281.77 mg/L,总糖含量为 86.01 mg/mL,蛋白含量为 1.10 g/100 g,淀粉含量为 21.94 mg/g。与发酵前相比,发酵后豌豆乳活性物质显著增强,DPPH 自由基清除率高达 66.83%。

发酵后的豌豆乳黏附性、内聚性、硬度、弹性及咀嚼性升高,而胶黏性降低。发酵 24 h 的豌豆乳感官评分最高为 37.30 分,滋味较好。研究结果可为豌豆资源加工综合利用提供理论依据。

然而豌豆乳发酵的储藏稳定性也影响消费者对产品的选择,因此后续可对其进一步研究。

参考文献:

- [1] ARIF U, AHMAD M J, RABBANI M A, et al. Assessment of genetic diversity in pea (*Pisum sativum* L.) landraces based on physico-chemical and nutritive quality using cluster and principal component analysis [J]. Pakistan journal of botany, 2020, 52 (2): 575-580.
- [2] ZHANG L X, APEA-BAH F B, CHEN X, et al. The physicochemical and structural properties and *in vitro* digestibility of pea starch isolated from flour ground by milling and air classification [J]. Food chemistry,

- 2023, 419: 136086.
- [3] OLAGUNJU A I, OMOBA O S, ENUGHA V N, et al. Influence of acetylation on physicochemical and morphological characteristics of pigeon pea starch [J]. Food hydrocolloids, 2020, 100: 105424.
- [4] FAHIM J R, ATTIA E Z, KAMEL M S. The phenolic profile of pea (*Pisum sativum*): a phytochemical and pharmacological overview [J]. Phytochemistry reviews, 2019, 18(1): 173-198.
- [5] CHEN S K, LIN H F, WANG X, et al. Comprehensive analysis in the nutritional composition, phenolic species and *in vitro* antioxidant activities of different pea cultivars [J]. Food chemistry: X, 2023, 17: 100599.
- [6] STANISAVLJEVIĆ N S, ILIĆ M D, MATIĆ I Z, et al. Identification of phenolic compounds from seed coats of differently colored European varieties of pea (*Pisum sativum* L.) and characterization of their antioxidant and *in vitro* anticancer activities [J]. Nutrition and cancer, 2016, 68(6): 988-1000.
- [7] 侯文娟, 秦洋, 张丹, 等. 豌豆蛋白发酵乳的工艺优化及产品特性研究 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 175-182.
- [8] VANDENBERGH P A. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth [J]. FEMS microbiology reviews, 1993, 12(1/2/3): 221-237.
- [9] 曹振辉, 刘永仕, 潘洪彬, 等. 乳酸菌的益生功能及作用机制研究进展 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(24): 366-370, 377.
- [10] 周大宇, 门雨薇, 金子灿, 等. 植物乳杆菌发酵对富硒发芽糙小米饮料风味特征的影响 [J]. 食品研究与开发, 2024, 45(3): 52-58.
- [11] WANG Z N, FENG Y Z, YANG N N, et al. Fermentation of kiwifruit juice from two cultivars by probiotic bacteria: bioactive phenolics, antioxidant activities and flavor volatiles [J]. Food chemistry, 2022, 373 (Pt B): 131455.
- [12] 张丽霞, 黄开红, 周剑忠. 国外开菲尔粒中乳酸菌的分离纯化与鉴定研究 [J]. 江西农业学报, 2008, 20(5): 85-87.
- [13] 张晨颜, 张丽霞, 魏照辉, 等. 乳酸菌发酵蓝莓汁工艺优化及功能特性研究 [J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2022, 43(5): 77-85.
- [14] AMOUSSA A M O, ZHANG L X, LAGNIKA C, et al. Effects of preheating and drying methods on pyridoxine, phenolic compounds, ginkgolic acids, and antioxidant capacity of *Ginkgo biloba* nuts [J]. Journal of food science, 2021, 86(9): 4197-4208.
- [15] WOO K S, KIM H J, LEE J H, et al. Quality characteristics and antioxidant activities of rice/adzuki bean mixtures cooked using two different methods [J]. Journal of food quality, 2018, 2018: 4874795.
- [16] YILMAZ-ERSAN L, TOPCUOGLU E. Evaluation of instrumental and sensory measurements using multivariate analysis in probiotic yogurt enriched with almond milk [J]. Journal of food science and technology, 2022, 59(1): 133-143.
- [17] 吴隽松, 滕飞翔, 杨留才. 响应面法优化白首乌发酵乳制备工艺 [J]. 中国酿造, 2020, 39(12): 188-192.
- [18] 白琳, 茹先古丽·买买提依明, 丁帅杰, 等. 蓝莓酵素中复合菌种添加比例的确定及发酵工艺优化 [J]. 现代食品科技, 2021, 37(5): 91-99, 37.
- [19] 李理, 朱璐, 林国栋, 等. 富硒乳酸菌的筛选及富硒发酵乳抗氧化活性研究 [J]. 中国乳品工业, 2022, 50(8): 9-14.
- [20] 王龄焱, 陈辰, 万洋灵, 等. 乳酸菌在豆乳中的生长特性及其与酵母菌联合发酵作用 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(19): 129-135.
- [21] 吕铭守, 高亦昕, 石彦国, 等. 响应面法优化杂豆酸豆乳发酵工艺及体外消化分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 238-245.
- [22] 林松洋, 郝利民, 刘鑫, 等. 乳酸菌耐盐分子机制研究进展 [J]. 食品科学, 2018, 39(3): 295-301.
- [23] 覃超, 唐富豪, 滕建文, 等. 产 β -葡萄糖

- 苷酶乳酸菌发酵对百香果皮多酚含量和功能活性的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(8): 230-236.
- [24] 薛玉旗, 汪磊, 陈洁, 等. 乳酸菌发酵对绿豆粉功能特性及风味特征的影响 [J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2024, 45(1): 64-72.
- [25] MARAZZA J A, NAZARENO M A, DEGIORI G S, et al. Enhancement of the antioxidant capacity of soymilk by fermentation with *Lactobacillus rhamnosus* [J]. Journal of functional foods, 2012, 4(3): 594-601.
- [26] HUR S J, LEE S Y, KIM Y C, et al. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods [J]. Food chemistry, 2014, 160: 346-356.
- [27] XIAO Y, WANG L X, RUI X, et al. Enhancement of the antioxidant capacity of soy whey by fermentation with *Lactobacillus plantarum* B1-6 [J]. Journal of functional foods, 2015, 12: 33-44.
- [28] AGUILAR-TOALÁ J E, SANTIAGO-LÓPEZ L, PERES C M, et al. Assessment of multi-functional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains [J]. Journal of dairy science, 2017, 100(1): 65-75.
- [29] SANJUKTA S, PADHI S, SARKAR P, et al. Production, characterization and molecular docking of antioxidant peptides from peptidome of kinema fermented with proteolytic *Bacillus* spp [J]. Food research international, 2021, 141: 110161.
- [30] 闵建. 瑞士乳杆菌和干酪乳杆菌在大豆酸奶制备中的应用研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
- [31] 尹乐斌, 何平, 刘桢丽, 等. 豌豆抗性淀粉制备工艺优化及理化性质研究 [J]. 中国酿造, 2022, 41(2): 198-203.
- [32] 付桂明, 潘菲, 李梦楚, 等. 黄酒酒糟对酸乳质构的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(2): 98-104.
- [33] 张珺, 喻婷, 许浩翔, 等. 乳酸菌发酵刺梨-猴头菇饮料的工艺优化 [J]. 现代食品科技, 2020, 36(11): 202-211, 195.

(责任编辑 周凤航)