

凝固型黑豆酸豆奶生产工艺的研究

刘芸, 刘欣, 曹宜, 刘波, 阮传清*

(福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福州 350003)

摘要: 目的 确定以带皮黑豆为主要原料的凝固型乳酸菌发酵黑豆酸豆奶的生产工艺。**方法** 将带皮黑豆制备成培养液, 通过对发酵产物进行感官评价, 从干酪乳杆菌 FJAT-7928、嗜热链球菌 FJAT-7927 和植物乳杆菌 FJAT-7926 的不同组合中筛选出最佳组合作为发酵剂, 通过单因素和正交试验确定培养液中乳糖、番茄汁、奶粉和白砂糖的最佳添加量和发酵时间。通过测定产品营养成分、发酵前后氨基酸含量变化以及低温储存期间乳酸菌活菌数、pH 及酸度的变化, 确定最佳生产工艺。**结果** 选择干酪乳杆菌 FJAT-7928 和嗜热链球菌 FJAT-7927 等体积混合作为酸豆奶发酵剂; 配料添加量为 2%乳糖、4%奶粉和 6%白砂糖; 发酵时间为 12 h。制备的酸豆奶因保留黑豆皮成份呈淡枣红色, 组织浓厚, 口感黏稠顺滑, 兼具黑豆香味和乳酸菌制品的风味。产品氨基酸种类齐全, 发酵后除赖氨酸和谷氨酸含量明显下降($P<0.05$)外, 其余种类氨基酸及总氨基酸含量与发酵前无显著差异。产品在 4 °C低温条件下储存 5 d, 乳酸菌活菌数、pH 和酸度无显著变化。**结论** 由优化的生产工艺发酵的凝固型黑豆酸豆奶符合 GB/T 30885—2014《植物蛋白饮料 豆奶和豆奶饮料》中的感官要求和营养要求, 低温贮藏稳定性较好。

关键词: 黑豆; 酸豆奶; 嗜热链球菌; 干酪乳杆菌; 生产工艺

Study on the production technology of solidifying black soybean yogurt

LIU Yun, LIU Xin, CAO Yi, LIU Bo, RUAN Chuan-Qing*

(Agricultural Bio-resources Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China)

ABSTRACT: Objective To develop a production technology of solidifying black soybean yogurt with unpeeled black soybean as the main raw material. **Methods** The culture medium was prepared from black soybean with peel. Through the sensory evaluation of the fermentation products, the best combination of *Lactobacillus casei* FJAT-7928, *Streptococcus thermophilus* FJAT-7927 and *Lactobacillus plantarum* FJAT-7926 was selected as the fermentation agent. The technological parameters such as the content of lactose, tomato juice, milk powder and sucrose in the culture medium as well as the fermentation time were determined by single factor or orthogonal test. The optimal production process was determined by measuring the nutrient composition of the product, the change of amino acid content before and after fermentation and the change of the number of viable lactic acid bacteria, pH and acidity during low temperature storage. **Results** The mixture of *L. casei* FJAT-7928 and *S. thermophilus* FJAT-7927 with equal volume for each was selected as the fermentation agent; the ingredients were 2% lactose, 4% milk powder and

基金项目: 福建省科技计划项目—省属公益类科研院所基本科研专项(2020R10340010)、福建省农业科学院对外合作项目(DEC201922)

Fund: Supported by the the Fujian Provinces Special Fund for Public Welfare Scientific Institutes (2020R10340010), and the External Cooperation Project of Fujian Academy of Agricultural Sciences (DEC201922)

*通信作者: 阮传清, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农业微生物应用。E-mail: ruanchuanqing@163.com

*Corresponding author: RUAN Chuan-Qing, Ph.D, Associate Professor, Agricultural Bio-Resources Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China. Email: ruanchuanqing@163.com

6% white granulated sugar; the fermentation time was 12 h. The prepared black soybean yogurt presented light jujube red because it retained the black soybean skin. It contained strong tissue, sticky and smooth taste with flavors of both black soybean and lactic acid bacteria products. The yogurt contained complete amino acids, except that the content of lysine and glutamate decreased significantly after fermentation ($P<0.05$), the content of other amino acids and total amino acids did not change significantly. When the yogurt was stored at 4 °C for 5 days, there was no significant change in the number of viable lactic acid bacteria, pH and acidity. **Conclusion** The solidifying black soybean yogurt fermented by the optimized production process can meet the sensory and nutritional requirements of national standard GB/T 30885—2014 *Vegetable protein-Drinks soy milk and soy milk drinks*, and has good storage stability at low temperature.

KEY WORDS: black soybean; fermented soybean milk; *Streptococcus thermophilus*; *Lactobacillus plantarum*; production technology

0 引言

豆类含有大量生理活性物质,是高营养的天然植物蛋白食品。其中,黑豆具有豆中之王的美称^[1],具有高蛋白、低热量的特性^[2-3]。黑豆中蛋白质、脂肪、膳食纤维以及Ca、K、Mg、P、S、Zn等元素的含量均高于红芸豆、豌豆、藜麦等小杂粮^[4]。另外,黑豆种皮中花青素含量非常丰富^[5],这种类黄酮化合物具有抗氧化、降血脂、预防动脉粥样硬化等功效,在体外试验中表现出较好的降血糖活性^[6-10]。

将豆类与发酵工程相结合在我国已有悠久的历史,黑豆经微生物发酵后,蛋白质、多肽、可溶性糖的含量比原料黑豆均有不同程度的提高,这些低分子量的蛋白更有利于被人体消化吸收^[11]。近年来,我国也越来越重视利用乳酸菌发酵豆奶的研究。目前,黑豆酸豆奶的研究多是采用黑豆和鲜奶或其他作物(如花生、红枣、山药等)的混合物为主要原料进行发酵制作^[12-17],而鲜见以单一黑豆为主要原料制作凝固型发酵酸豆奶的研究报道^[18]。

黑豆乳酸菌发酵制品中最大的难点是筛选能适应单一黑豆浆为发酵环境的菌株,这关系到产品的发酵风味、口感和组织状态。因此,发酵剂的筛选成为生产优质产品的首要任务。刘芸等^[19]已筛选出植物乳杆菌 FJAT-7926 (*Lactobacillus plantarum* FJAT-7926)、干酪乳杆菌 FJAT-7928 (*Lactobacillus casei* FJAT-7928)和嗜热链球菌 FJAT-7927 (*Streptococcus thermophilus* FJAT-7927) 3株适合豆类发酵的乳酸菌。本研究以此为候选菌株,为保留黑豆皮中的功能物质,以带皮黑豆为原料,通过比较不同菌株组合对黑豆乳酸菌发酵产品的风味影响,选择合适的发酵剂。为提高菌种活力和加快发酵速度,对乳酸菌营养因子乳糖和番茄汁的添加量进行考察,在此基础上优化凝固型黑豆酸豆奶的生产工艺,并分析产品营养价值和储存过程中的重要参数变化,为黑豆发酵产品的规模化生产提供重

要依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

干酪乳杆菌 FJAT-7928、植物乳杆菌 FJAT-7926、嗜热链球菌 FJAT-7927 由福建省农业科学院农业生物资源研究所提供。

1.2 材料与试剂

黑豆(古田县科新工贸有限公司);鲜牛奶(福州长富乳业有限公司);奶粉(天津伊利乳业有限责任公司);白砂糖(厦门嘉祺贸易有限公司);MRS (Man Rogosa Sharp)肉汤培养基、MRS 固体培养基、改良 MC 培养基(modified Chalmers agar)、M17 肉汤培养基(M17 Broth)(北京陆桥技术股份有限公司);NaOH 标准滴定溶液(0.10 mol/L, 福建厦门海标科技有限公司);酚酞(纯度:98%,上海麦克林生化科技有限公司)。

1.3 仪器与设备

ZHJH-C1209C 超净工作台(上海智城分析仪器制造有限公司);Bluepard 隔水式恒温培养箱(上海一恒科技有限公司);Sartorius PB-10 pH 计(德国赛多利斯集团);D81SG 九阳豆浆机(九阳股份有限公司);DHG-9240A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);HH-W5S 智能数显多功能油水浴锅(上海锦赋实验仪器设备有限公司)。

1.4 黑豆酸豆奶工艺流程

选料→高温除腥→清洗→浸泡→热水磨浆→细网过筛→添加配料→灭菌→冷却至发酵温度→接种发酵→后熟→成品。

1.5 操作要点

1.5.1 发酵剂的制备

(1)菌种活化:将干酪乳杆菌 FJAT-7928 和植物乳杆菌

FJAT-7926 分别接入 MRS 肉汤培养基,嗜热链球菌 FJAT-7927 接入 M17 肉汤培养基,接种量均为 3%,于 37 °C 培养箱内静置培养 48 h。

(2)乳酸菌发酵剂制备:将 3 种乳酸菌发酵液分别接入鲜牛奶中,接种量为 4%,置于 37 °C 培养箱中静置培养 48 h,再将牛奶中培养的 3 种菌株按不同体积比混合,制成黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂。

1.5.2 黑豆浆的制备

(1)选料:挑选颗粒饱满、无虫蛀、无霉烂、表面光滑的黑豆。

(2)高温除腥:将黑豆置于 85 °C 下干热处理 20 min,钝化黑豆中的脂肪氧化酶,减少豆腥味^[20]。

(3)清洗:清洗灭酶后的黑豆,去除杂质粉尘,保留黑豆皮。

(4)浸泡:清洗后的黑豆,加入黑豆质量 8 倍的水,浸泡 10~12 h,使黑豆膨胀软化,利于磨浆。

(5)磨浆、过滤:将清洗过的黑豆倒入豆浆机,加 90 °C 以上热水磨浆。水与干豆的质量比为 1:12。浆液经细纱网(80 目)过滤除渣,制得黑豆浆。

1.5.3 混合、灭菌

(1)配料的添加:以黑豆浆质量为基准,加入不同百分比的乳糖、白砂糖、奶粉等配料,搅拌均匀,制成发酵基质。

(2)灭菌:将发酵基质加热至 95 °C 恒温 30 min 灭菌。

(3)冷却:将灭菌后的发酵基质冷却至 40 °C 以下备用。

1.5.4 接种发酵、后熟

(1)接种:按照 4% 接种量将黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂接入冷却的发酵基质,搅拌均匀。

(2)培养发酵:将接种的发酵基质置于 37 °C 培养箱中静置发酵。

(3)后熟与保存:将发酵好的黑豆酸豆奶于 4 °C 冷藏保存 1 d,进行发酵后熟,促使产品风味物质更醇厚^[21-22]。

1.6 试验方法

1.6.1 黑豆酸豆奶发酵剂的选择

以黑豆浆质量为基准,添加 4% 白砂糖和 4% 奶粉制成发酵基质,将筛选获得的 3 株乳酸菌按表 1 中的 6 种体积比配成乳酸菌发酵剂,分别接种于灭菌后的发酵基质中,接种量为 4%,37 °C 发酵 12 h,以感官评价为考察指标,选择合适配比的黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂。

1.6.2 黑豆酸豆奶中乳糖和番茄汁添加量的选择

大多数乳酸菌是生长因子异养型微生物,需要从外界获得营养因子以促进乳酸菌的生长^[23]。本研究根据 MC 培养基和改良番茄汁培养基的成分,拟添加乳糖或番茄汁作为乳酸菌生长的基础碳源,并参考培养基的成分含量设置两者在黑豆浆中的添加比例。以黑豆浆质量为基准,添加 4% 白砂糖和 4% 奶粉制成发酵基质,按表 2 比例添加乳

糖和番茄汁,接入 1.6.1 确定的黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂,接种量为 4%,37 °C 发酵 12 h,以感官评价为考察指标,确定乳糖与番茄汁添加比例。

表 1 黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂中 3 种乳酸菌的体积比
Table 1 Volume ratios of 3 kinds of lactic acid bacteria stains in fermentation agent of black soybean yogurt

菌株	试验号					
	1	2	3	4	5	6
植物乳杆菌 FJAT-7926	1	0	0	1	1	0
嗜热链球菌 FJAT-7927	0	1	0	1	0	1
干酪乳杆菌 FJAT-7928	0	0	1	0	1	1

注:“0”和“1”代表接入发酵基质中的 3 种菌株的体积比。

表 2 黑豆酸豆奶中乳糖和番茄汁添加量
Table 2 Additions of lactose and tomato juice in black soybean yogurt

试验号	乳糖/%	番茄汁/%
1	0	0
2	0	2
3	0	5
4	2	0
5	2	2
6	2	5
7	5	0
8	5	2
9	5	5

1.6.3 黑豆酸豆奶生产工艺研究

在确定黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂及乳糖等基础碳源添加比例的基础上,本研究对黑豆酸豆奶生产工艺进行优化。选择影响黑豆酸豆奶生产工艺的 3 个关键因素:奶粉添加量(A)、白砂糖添加量(B)、发酵时间(C),设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,试验因素与水平见表 3。黑豆浆按比例添加乳糖或番茄汁制成发酵基质,并按正交试验组合加入相应的奶粉和白砂糖,接入黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂,发酵不同时间后,以产品感官评价为考察指标,确定最佳生产方案。

1.7 检测项目和方法

1.7.1 黑豆酸豆奶的感官评价

参考 GB/T 30885—2014《植物蛋白饮料 豆奶和豆奶饮料》中的感官要求,对黑豆酸豆奶的组织状态、色泽、口感、风味感官指标进行综合评分,总分为 100 分,参评人员为 10 人,取平均分为总感官评分,评分标准见表 4。

表 3 黑豆酸豆奶发酵工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表
Table 3 Factor level table of $L_9(3^4)$ orthogonal test for production technology of black soybean yogurt

试验水平	试验因素		
	A 奶粉添加量 /%	B 白砂糖添加量 /%	C 发酵时间 /h
1	2	2	12
2	4	4	18
3	6	6	24

表 4 黑豆酸豆奶感官评分标准
Table 4 Criteria of sensory evaluation for black soybean yogurt

项目	评分等级	评分标准	感官评分 /分
组织状态 (30 分)	好	质地均匀, 呈乳液状, 组织细腻, 无分层现象	25~30
	中	质地较均匀, 有微量沉淀	12~24
	差	质地不均匀, 有明显分层	< 12
色泽 (20 分)	好	色泽均匀, 呈淡枣红色, 有光泽	16~20
	中	色泽局部不均匀	8~15
	差	色泽不均匀, 有絮状物	< 8
口感 (30 分)	好	口感清爽, 酸度适中	25~30
	中	酸味淡, 口感一般	12~24
	差	酸味或甜味过重, 口感差	< 12
风味 (20 分)	好	有豆香和乳酸发酵产品特有的香味	16~20
	中	香味稍淡无异味, 无豆香和奶香味	8~15
	差	气味不协调, 有不良气味	< 8

1.7.2 黑豆酸豆奶营养成分的测定

将黑豆以最优工艺条件发酵成黑豆酸豆奶后, 送交福建省农业科学院中心试验室分析黑豆酸豆奶中水分、蔗糖、还原糖、蛋白质、粗纤维、粗灰分、淀粉、氨基酸等物质的含量。水分的测定依据 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》; 蔗糖的测定依据 GB 5009.8—2016《食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定》; 还原糖的测定依据 GB 5009.7—2016《食品安全国家

标准 食品中还原糖的测定》; 蛋白质测定依据 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》; 粗纤维的测定依据 GB/T 5009.10—2003《植物类食品中粗纤维的测定》; 灰分的测定依据 GB 5009.4—2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》; 淀粉的测定依据 GB 5009.9—2016《食品安全国家标准 食品中淀粉的测定》; 维生素 C 含量的测定依据 GB 5009.86—2016《食品安全国家标准 食品中抗坏血酸的测定》; 氨基酸的测定依据 GB 5009.124—2016《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》。

1.7.3 黑豆酸豆奶低温贮藏稳定性研究

将黑豆以最优工艺条件发酵成黑豆酸豆奶后, 置入 4 °C 冰箱冷藏保存, 每天取冷藏的黑豆酸豆奶检测理化 and 微生物指标。检测时取黑豆酸豆奶 1 mL, 用无菌水梯度稀释至 10^{-7} , 取各稀释度的悬浊液 0.1 mL, 分别均匀涂布于 MC 培养基平板上, 置于 37 °C 恒温培养 48 h 后统计乳酸菌活菌数。用 pH 计测定发酵液的 pH, 参照 GB 5009.239—2016《食品安全国家标准 食品酸度的测定》测定酸度(T), 连续测定 5 d。不同处理设 3 个重复。

1.8 数据分析

利用 DPS 软件进行数据处理分析, 采用 Tukey 多重比较方差分析方法对数据进行比较, 结果表示为平均值±标准误^[24]。

2 结果与分析

2.1 黑豆酸豆奶发酵剂的选择

从植物乳杆菌 FJAT-7926、干酪乳杆菌 FJAT-7928 和嗜热链球菌 FJAT-7927 中选择合适菌株作为黑豆酸豆奶发酵剂。生产中可使用单一菌种作为发酵剂, 也可使用混合发酵剂。由表 5 可知, 不同菌株处理所发酵的黑豆酸豆奶均呈现良好的凝乳效果, 但单菌株作为发酵剂所发酵出的黑豆酸豆奶感官评分总体低于混合发酵剂。嗜热链球菌 FJAT-7927 和干酪乳杆菌 FJAT-7928 按体积比 1:1 作为混合发酵剂, 与其他处理相比, 发酵的黑豆酸豆奶酸度适中, 风味最佳, 感官评分显著高于其他处理组 ($P < 0.05$), 故选择作为黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂。

表 5 不同菌株组合对黑豆酸豆奶感官品质的影响
Table 5 Effects of different combinations of lactic acid bacteria strains on the sensory qualities of black soybean yogurt

试验号	植物乳杆菌 FJAT-7926	嗜热链球菌 FJAT-7927	干酪乳杆菌 FJAT-7928	感官评价	感官评分
1	1	0	0	口味偏甜, 酸味不足	75.5±1.1 ^c
2	0	1	0	口味平淡, 酸味不足	71.3±1.2 ^d
3	0	0	1	酸度适中, 口感带涩	76.1±1.0 ^c
4	1	1	0	口味平淡, 酸味不足	76.5±0.9 ^c
5	1	0	1	酸度适中, 香味不足	80.9±0.9 ^b
6	0	1	1	酸度适中, 风味最佳	86.8±1.2 ^a

注: a~c: 同列数据上的不同小写字母表示 Tukey 多重比较差异显著 ($n=10, P < 0.05$)。

2.2 黑豆酸豆奶中乳糖和番茄汁添加量的选择

豆乳的组成与牛乳不同, 缺少乳酸菌能利用的乳糖, 维生素、葡萄糖含量少, 只含有一定量的蔗糖、水苏糖和棉籽糖^[23,25], 故须添加有助于乳酸菌发酵的营养因子。由表 6 可知, 不同处理均呈现良好的凝乳效果, 不添加乳糖或番茄汁时, 所发酵的酸豆奶酸味不足, 添加适当的乳糖或番茄汁, 对豆乳产酸有促进作用, 但添加量超过一定范围时, 口感过酸, 尤其添加番茄汁的处理口味均偏酸。所有处理中, 当不添加番茄汁、乳糖添加量为 2% 时, 黑豆酸豆奶凝乳良好, 酸甜适口, 风味最佳, 感官评分显著高于其他处理组($P<0.05$), 因此, 以 2% 乳糖添加量作为后续工艺的参数。

表 6 乳糖或番茄汁添加量对黑豆酸豆奶感官品质的影响
Table 6 Effects of additions of lactose or tomato juice on the sensory qualities of black soybean yogurt

试验号	乳糖 /%	番茄汁 /%	感官评价	感官评分
1	0	0	凝乳良好, 酸味不足	74.7±1.0 ^c
2	0	2	凝乳良好, 口味偏酸	75.3±1.4 ^c
3	0	4	凝乳良好, 口味过酸	66.5±1.1 ^{de}
4	2	0	凝乳良好, 酸甜适中, 风味最佳	87.3±1.2 ^a
5	2	2	凝乳良好, 口味过酸	70.5±1.0 ^{cd}
6	2	4	凝乳良好, 口味过酸	64.7±1.2 ^{ef}
7	4	0	凝乳良好, 口味偏酸	81.1±1.4 ^b
8	4	2	凝乳良好, 口味偏酸	73.8±1.5 ^c
9	4	4	凝乳良好, 口味过酸	60.6±1.2 ^f

注: a~f: 同列数据上不同小写字母表示 Tukey 多重比较差异显著 ($n=10, P<0.05$)。

2.4 黑豆酸豆奶生产工艺研究

正交试验结果见表 7。由极差分析和方差分析可知, 影响黑豆酸豆奶感官品质的主次因素顺序为: 白砂糖添加量>发酵时间>奶粉添加量, 其原因是白砂糖能调节黑豆酸豆奶的酸甜平衡, 而奶粉的添加量对黑豆酸豆奶品质的影响较小。从 k 值分析可知, 奶粉添加量第 2 水平 4% 和第 3 水平 6% 对黑豆酸豆奶感官评价无显著差异, 为降低生产成本, 奶粉选择第 2 水平 4% 的添加量, 因此确定最佳因素配方为 $A_2B_3C_1$, 此最优组合为表 7 试验号 6, 其感官评分为 87.6, 显著高于其他处理组($P<0.05$), 故无需再进行验证, 选择 $A_2B_3C_1$ 作为最佳发酵工艺组合, 即奶粉添加量为 4%, 白砂糖添加量为 6%, 发酵时间为 12 h。并将此参数结果用于后续试验的黑豆酸豆奶工艺技术参数, 考察此工艺条件下黑豆酸豆奶营养品质。

表 7 黑豆酸豆奶正交试验结果与分析

Table 7 Results and analysis of orthogonal test of black soybean yogurt

试验号	A 奶粉添加量/%	B 白砂糖添加量/%	C 发酵时间/h	感官评分
1	1	1	1	67.3±1.9 ^d
2	1	2	2	72.9±1.3 ^{cd}
3	1	3	3	72.6±1.9 ^{cd}
4	2	1	2	66.4±1.6 ^d
5	2	2	3	69.7±1.7 ^{cd}
6	2	3	1	87.2±1.1 ^a
7	3	1	3	66.6±1.5 ^d
8	3	2	1	74.4±1.2 ^{bc}
9	3	3	2	80.7±0.9 ^b
k_1	70.9 ^b	66.8 ^c	76.3 ^a	
k_2	74.4 ^a	72.3 ^b	73.3 ^b	
k_3	73.9 ^a	80.1 ^a	69.6 ^c	
极差 R	3.5	13.4	6.7	
最优水平	A_2	B_3	C_1	
因素主次	$B>C>A$			

注: a~d: 同列数据上不同小写字母表示 Tukey 多重比较差异显著 ($n=10, P<0.05$)。

2.5 黑豆酸豆奶一般营养成分

按表 7 中黑豆酸豆奶最佳发酵工艺组合 $A_2B_3C_1$ 发酵的酸豆奶色泽均匀一致, 因其保留黑豆表皮, 呈淡枣红色, 凝乳状态良好, 具有浓厚的组织和黏稠细腻的口感, 无液体析出和分层现象, 无正常视力可见外来杂质, 具有黑豆的自然香味和乳酸菌发酵制品特有的滋味和气味, 无明显豆腥味, 滑爽可口, 酸甜适中, 符合 GB/T 30885—2014 对产品的感官要求。经检测, 黑豆酸豆奶的水分含量为 (88.53±0.56)%、蔗糖含量为 (3.53±0.20) g/100 g、还原糖含量为 (2.03±0.18) g/100 g、粗纤维含量为 (0.53±0.03)%、粗灰分含量为 (0.36±0.04) g/100 g、淀粉含量为 (2.83±0.15)%、维生素含量为 (0.91±0.03) mg/100 g, 其蛋白质含量为 (2.13±0.21) g/100 g, 高于 GB/T 30885—2014 中发酵豆奶饮料蛋白质 ≥ 1.0 g/100 g 的要求。

2.6 黑豆酸豆奶发酵前后氨基酸含量的变化

黑豆酸豆奶发酵前后氨基酸含量的变化见表 8, 除色氨酸未能检测出, 黑豆酸豆奶发酵前后氨基酸种类齐全, 均含有 17 种氨基酸, 其中 7 种为人体必需氨基酸。蛋白质营养价值的优劣是以必需氨基酸的组成为衡量指标, 联合国粮食及农业组织/世界卫生组织 (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization,

FAO/WHO)提出,理想蛋白质模式食品中必需氨基酸与总氨基酸的比值应大于40%^[26]。黑豆酸豆奶发酵后,必需氨基酸约占总氨基酸含量的41%,表明黑豆酸豆奶中的必需氨基酸种类齐全,含量较高,适宜人体生理的营养需要。总体上,经乳酸菌发酵后,不同种类氨基酸的含量呈现不同幅度的下降趋势。其中,赖氨酸含量由204.78 mg/100 g下降至186.84 mg/100 g,谷氨酸含量由369.77 mg/100 g下降至348.27 mg/100 g,分别下降了8.76%和5.81%,差异显著($P<0.05$),说明微生物在黑豆浆中生长时消耗部分氨基酸。而必需氨基酸、非必需氨基酸和氨基酸总量在发酵前后并未产生显著变化($P>0.05$)。

表8 黑豆酸豆奶发酵前后的氨基酸含量
Table 8 Amino acid content of black soybean yogurt fermented by lactic acid bacteria

氨基酸	发酵前	发酵后
苏氨酸	104.88±2.57 ^a	103.38±2.51 ^a
蛋氨酸	33.04±1.04 ^a	32.34±0.96 ^a
缬氨酸	138.50±5.00 ^a	135.43±4.10 ^a
异亮氨酸	109.57±2.27 ^a	107.15±3.43 ^a
亮氨酸	214.68±5.38 ^a	210.88±4.66 ^a
苯丙氨酸	131.72±4.10 ^a	130.03±4.98 ^a
赖氨酸	204.78±4.60 ^a	186.84±4.12 ^b
必需氨基酸总量	937.17±18.70	906.05±22.95
天门冬氨酸	232.31±5.56 ^a	228.75±5.32 ^a
丝氨酸	135.83±5.19 ^a	135.09±2.84 ^a
谷氨酸	369.77±4.51 ^a	348.27±4.50 ^b
甘氨酸	72.72±2.39 ^a	71.09±2.80 ^a
丙氨酸	95.59±4.53 ^a	91.48±2.71 ^a
组氨酸	66.56±0.79 ^a	65.20±2.45 ^a
精氨酸	109.41±2.14 ^a	108.11±3.59 ^a
酪氨酸	76.52±3.01 ^a	75.24±3.39 ^a
脯氨酸	167.49±4.42 ^a	164.13±5.01 ^a
胱氨酸	9.17±0.34 ^a	8.54±0.20 ^a
非必需氨基酸总量	1335.37±22.88	1295.90±25.78
氨基酸总量	2272.54±41.31	2201.95±47.13

注: a~b: 同行数据上不同小写字母表示 Tukey 多重比较差异显著 ($n=3, P<0.05$)。

2.7 黑豆酸豆奶低温贮藏稳定性研究

黑豆酸豆奶在4℃条件下保存5d活菌数、pH和酸度的变化见表9,干酪乳杆菌FJAT-7928和嗜热链球菌FJAT-7927的总活菌数在5d内维持在 $4.13\times 10^8\sim 5.07\times 10^8$ CFU/mL,不

同储存天数之间活菌数差异不显著($P>0.05$)。整个储存期乳酸菌活菌数均高于GB 7107—2015《食品安全国家标准 饮料》中活菌型的产品乳酸菌数应不小于 10^6 CFU/mL的标准。pH在3.97~4.05之间,滴定酸度在62.83~63.80 T之间,不同储存天数之间差异不显著($P>0.05$)。结果表明低温储存期内,产品的活菌数、pH和酸度相对稳定。

3 结论与讨论

我国黑豆资源丰富,种植地域分布广阔,药食兼用,是具有中国特色的黑色食品^[27]。利用我国的资源优势,以植物性原料代替动物乳,予以适合的乳酸菌发酵,研发豆类酸奶产品,是近年来谷物加工领域的研究新方向^[19]。乳酸菌发酵的谷物产品不仅能保留原料本身的营养,更增添了益生功能。本研究对豆类乳酸菌发酵产品的发酵菌剂选择、配料的添加、发酵时间生产工艺关键参数进行了探索,最终确定了其生产工艺,生产出凝固型黑豆酸豆奶符合GB/T 30885—2014的感官要求和营养要求。

目前,研究的豆类酸奶产品多是去皮加工,而黑豆皮是一味中药,将黑豆带皮磨浆加工产品既保留了黑豆皮的营养价值,产品呈淡枣红色,别具特色,还避免了资源浪费和污染。目前国内酸豆奶发酵微生物多为嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌混合发酵剂^[13,28-30]。而研究表明,干酪乳杆菌可利用大豆糖源和大豆脂肪酸达到与葡萄糖酸内酯相媲美的凝乳能力,引起大豆质感及风味的变化^[31]。韩璞等^[32]发现,相对于嗜酸乳杆菌La1、瑞士乳杆菌AS 1.1877^T、德氏乳杆菌保加利亚亚种DR、植物乳杆菌AS 1.2986、罗伊氏乳杆菌、嗜热链球菌St3和格式链球菌而言,干酪乳杆菌AS 1.62在豆乳中的繁殖力最强,乳酸菌活菌数最高,凝乳时间最短,产品组织状态最佳。而且干酪乳杆菌FJAT-7928还具有较强耐胃酸和胆盐能力,能保持一定浓度的活菌数顺利通过胃到达肠道并定肠,发挥益生作用^[33]。嗜热链球菌是酸奶中主要的风味物质产生菌,将其与干酪乳杆菌相结合,作为黑豆酸豆奶乳酸菌发酵剂,目前仍鲜见报道。本研究选择干酪乳杆菌FJAT-7928和嗜热链球菌FJAT-7927按体积比1:1作为混合发酵剂,以黑豆浆质量为基准,添加2%乳糖、4%奶粉、6%白砂糖,于37℃混合发酵12h所得黑豆酸豆奶经测定,氨基酸种类齐全,营养丰富,蛋白质含量为 (2.13 ± 0.21) g/100 g,高于GB/T 30885—2014中发酵豆奶饮料蛋白质的要求(≥ 1.0 g/100 g),低于GB 19302—2010《食品安全国家标准 发酵乳》酸乳的蛋白质含量的要求(≥ 2.9 g/100 g)。这是由于标准中酸乳的生产原料是生牛(羊)乳或奶粉,而黑豆浆的蛋白质含量不及牛(羊)乳制品,所以发酵成品蛋白质含量达不到酸乳的指标。乳酸菌活菌数、酸度和pH的变化是保存过程中重要的参数,在一定程度上间接反映发酵液微生物的生长、代谢产

物生成及产品口味的情况。本产品在 4 °C 低温条件下贮存 5 d, 其乳酸菌活菌数含量、pH 和酸度均保持稳定。

此外, 本研究黑豆酸豆奶发酵前后氨基酸总量未产生显著变化。这与邵齐等^[34]利用乳酸菌发酵芒果浆, 发酵前后氨基酸总量同样无显著变化的结果一致, 而杨冲等^[35]采用乳酸菌发酵南丰蜜桔汁, 发酵后氨基酸总量减少 13.9%, 刘欣等^[36]用 8 种乳酸菌发酵荔枝汁-大豆蛋白, 发酵后氨基酸总量下降了 26.31%, 菅田田等^[37]以麸皮和高酸海棠果为原料, 利用乳酸菌进行发酵后麸皮汁氨基酸含量增加 27.5%。乳酸菌发酵植物原料前后氨基酸总量的不

同变化趋势可能与乳酸菌种类、培养基特性等相关。

黑豆酸豆奶属于植物性酸奶, 是黑豆浆深加工产品中的发酵类制品, 具备了酸奶黏稠顺滑的口感。同时, 酸奶中的乳酸菌不仅可以有益于人体胃肠道, 增强人体免疫力, 提升产品的附加值, 还能作为生物防腐剂, 抑制病原微生物的生长, 极大地延长了豆浆的保质期^[38]。与动物性酸奶相比, 植物性酸奶的最突出优点是无胆固醇, 具有广阔的市场前景。本研究从应用的角度研究了黑豆酸豆奶加工和储存过程中的重要参数, 旨在为该类产品的扩大生产, 提升植物性酸奶的质量提供理论支撑。

表 9 黑豆酸豆奶在低温储存期的活菌数、pH 和酸度
Table 9 Number of viable bacteria, pH and acidity of black soybean yogurt during low temperature storage

项目	储存天数/d				
	1	2	3	4	5
活菌数/(10 ⁸ CFU/mL)	4.67±0.47 ^a	4.43±0.35 ^a	4.33±0.41 ^a	4.13±0.61 ^a	5.07±0.60 ^a
pH	3.98±0.03 ^a	4.02±0.02 ^a	4.01±0.03 ^a	3.97±0.04 ^a	4.05±0.03 ^a
酸度/°T	63.78±0.28 ^a	62.83±0.44 ^a	63.55±0.53 ^a	63.43±0.47 ^a	63.80±0.71 ^a

注: a: 同行数据上不同小写字母表示 Tukey 多重比较差异显著($n=3, P<0.05$)。

参考文献

- [1] 丛建民. 黑豆的营养成分分析研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(4): 262-264.
- [2] 李文斌. 黑豆营养保健功能的研究与产品开发[J]. 食品工程, 2010, 4(10): 7-9.
- [3] 岳爱琴, 杜维俊, 赵晋忠, 等. 不同大豆品种品质分析[J]. 华北农学报, 2005, 20(2), 30-32.
- [4] 蒋梅峰, 朱志昂, 李鹏. 山西小杂粮中营养成分的检测分析[J]. 粮食加工, 2020, 45(4): 67-69.
- [5] 朱学仲, 赵文, 林淑鑫, 等. 黑豆种皮中原花青素的提取和纯化研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(1): 154-160.
- [6] MAZEWSKI C, LIANG K, GONZALEZ ME. Comparison of the effect of chemical composition of anthocyanin-rich plant extracts on colon cancer cell proliferation and their potential mechanism of action using *in vitro*, *in silico*, and biochemical assays [J]. Food Chem, 2018, 242: 378-388.
- [7] SOMAVAT P, KUMAR D, SINGH V. Techno-economic feasibility analysis of blue and purple corn processing for anthocyanin extraction and ethanol production using modified dry grind process [J]. Ind Crops Prod, 2018, 115: 78-87.
- [8] DUARTE LJ, CHAVES VC, NASCIMENTO MVPDS, *et al.* Molecular mechanism of action of pelargonidin-3-O-glucoside, the main anthocyanin responsible for the anti-inflammatory effect of strawberry fruits [J]. Food Chem, 2018, 247: 56-65.
- [9] MIGLIORINI AA, PIROSKI CS, DANIEL TG, *et al.* Red chicory (*Cichorium intybus*) extract rich in anthocyanins: Chemical stability, antioxidant activity, and antiproliferative activity *in vitro* [J]. J Food Sci, 2019, 84(3): 990-1001.
- [10] 高秀娥, 梁雪晴, 刘薇, 等. 黑豆花青素精制及降血糖活性研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(16): 51-56.
- [11] 臧学丽, 陈光, 王刚, 等. 发酵对黑豆营养及活性成分的影响研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(6): 78-81.
- [12] 刘雪飞, 王玉静, 吕艳芳. 复合豆酸奶的研制[J]. 中国酿造, 2006, (5): 72-74.
- [13] 吴君艳. 凝固型大豆酸奶的工艺研究[J]. 农产品加工学刊, 2007, (10): 53-57.
- [14] 贾艳萍, 赵晴. 黑豆酸牛奶的生产工艺研究[J]. 江苏调味副食品, 2009, 26(1): 9-10, 29.
- [15] 孔青, 代志强, 周伟, 等. 红豆酸牛奶的研制[J]. 中国酿造, 2009, (2): 179-181.
- [16] 邢建华, 郭志刚, 刘宽浩, 等. 发酵型黑豆山药饮料研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(1): 246-248.

- XING JH, GUO ZG, LIU KH, *et al.* Study on fermented black bean and yam beverage [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2012, 40(1): 246–248.
- [17] 时静, 邓红. 黑豆花生复合保健饮料配方的研发[J]. *山西农业科学*, 2018, 46(10): 1726–1729.
- SHI J, DENG H. Research and development of compound health beverage formula of black bean and peanut [J]. *J Shanxi Agric Sci*, 2018, 46(10): 1726–1729.
- [18] 郭德军, 阮长青, 孔令梅. 凝固型黑豆酸豆奶工艺的研究[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2002, 14(3): 76–79.
- GUO DJ, RUAN CQ, KONG LM. Study on the solidifying black soy-yogurt technology [J]. *J Heilongjiang Bayi Agric Univ*, 2002, 14(3): 76–79.
- [19] 刘芸, 刘波, 朱育菁, 等. 黑豆酸豆奶发酵微生物鉴定与发酵特性研究[J]. *福建农业学报*, 2011, 26(3): 450–456.
- LIU Y, LIU B, ZHU YJ, *et al.* Identification and characteristics of lactic acid bacteria for black soybean yoghurt fermentation [J]. *J Fujian Agric Sci*, 2011, 26(3): 450–456.
- [20] 刘爱萍, 陈尚武, 苗颖, 等. 绿豆酸豆奶发酵工艺的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(2): 108–111.
- LIU AIP, CHEN SW, MIAO Y, *et al.* Study on fermented process of mung bean yoghurt [J]. *Food Sci*, 2007, 28(2): 108–111.
- [21] 刘香英, 田志刚, 范杰英, 等. 大豆品种籽粒品质与酸豆奶品质相关性研究[J]. *东北农业科学*, 2016, 41(4): 100–105.
- LIU XY, TIAN ZG, FAN JY, *et al.* Study on correlation between soybean varieties quality and soy yogurt quality [J]. *J Northeast Agric Sci*, 2016, 41(4): 100–105.
- [22] 杨杨, 王冰, 石彦国, 等. 酸浆豆腐后熟过程中风味物质的形成途径分析[J]. *食品科学*, 2021, 42(20): 152–159.
- YANG Y, WANG B, SHI YG, *et al.* Analysis of the formation pathway of flavor substances in tofu coagulated with fermented tofu whey during ripening [J]. *Food Sci*, 2021, 42(20): 152–159.
- [23] 贾士杰, 生庆海. 发酵乳及新型发酵剂的研究概述[J]. *中国奶牛*, 2000, (3): 45–48.
- JIA SJ, SHENG QH. Fermented milk and research overview of the new type of starter cultures [J]. *China Dairy Cattle*, 2000, (3): 45–48.
- [24] 唐启义. DPS 数据处理系统 [M]. 北京: 科学出版社, 2016.
- TANG QY. DPS data processing system [M]. Beijing: Science Press, 2016.
- [25] 乔支红, 张海鹏, 钱伟, 等. 布丁豆腐发酵菌种的选择[J]. *食品工程*, 2007, (1): 46–49.
- QIAO ZH, ZHANG HP, QIAN W, *et al.* Research on the selection of strains for pudding bean curd [J]. *Food Eng*, 2007, (1): 46–49.
- [26] 郭如鑫, 王有琼, 张重权, 等. 辣木蛋白质与氨基酸组成分析及营养评价[J]. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2020, 35(2): 324–331.
- GUO RX, WANG YQ, ZHANG ZQ, *et al.* Protein and amino acid composition analysis and nutritional evaluation of *Moringa oleifera* Lam [J]. *J Yunnan Agric Univ (Nat Sci)*, 2020, 35(2): 324–331.
- [27] 袁利鹏, 杨君, 赖来展, 等. 黑大豆营养功能及开发豆皮生物色素的探讨[J]. *农产品加工学刊*, 2009, (1): 49–52.
- YUAN LP, YANG J, LAI LZ, *et al.* Nutritional functions of black soybean and suggestions on exploiting soybean pigment [J]. *Process Agric Prod*, 2009, (1): 49–52.
- [28] 卫雅芳, 姜忠丽, 毛红蓉. 以牛乳和大豆乳为原料混合发酵酸乳的研究[J]. *粮食与食品工业*, 2003, (3): 34–36.
- WEI YF, JIANG ZL, MAO HQ. Study on yogurt made by milk and soybean milk [J]. *Cere Food Ind*, 2003, (3): 34–36.
- [29] 邢建华, 侯巧芝, 李锟, 等. 黑豆红枣发酵饮料的研制[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(23): 10182–10183, 10251.
- XING JH, HOU QZ, LI K, *et al.* Beverage preparation of black soybean and red jujube fermentation [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2008, 36(23): 10182–10183, 10251.
- [30] 郜宗茂. 发酵绿豆奶饮料的加工工艺和营养分析[J]. *安徽农业技术师范学院学报*, 2001, 15(2): 52–53.
- GAO ZM. Processing technology and nutritional analysis of fermented mung bean milk beverage [J]. *J Anhui Agrotech Teach Coll*, 2001, 15(2): 52–53.
- [31] NAVEED A, LI L, YANG XQ, *et al.* Survivability and growth effects of three lactobacillus cultures on texture and flavor aspects of soymilk [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2008, 24(4): 301–308.
- [32] 韩璞, 田洪涛, 苑社强, 等. 发酵大豆乳优良乳酸菌菌种的筛选及其发酵性能的研究[J]. *现代食品科技*, 2009, 25(3): 282–285.
- HANG P, TIAN HT, YUAN SQ, *et al.* Characterization and screening of a strain of lactic acid bacteria for soybean milk fermentation [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2009, 25(3): 282–285.
- [33] 刘芸, 曹宜, 刘波, 等. 植物蛋白发酵乳酸菌对模拟胃肠道环境的耐受性研究[J]. *福建农业学报*, 2013, 28(7): 709–713.
- LIU Y, CAO Y, LIU B, *et al.* Tolerance of lactic acid bacteria strains for phytoprotein yoghurt fermentation to simulated gastrointestinal environments [J]. *J Fujian Agric Sci*, 2013, 28(7): 709–713.
- [34] 邵齐, 彭珍, 熊涛. 乳酸菌发酵对芒果浆理化指标、营养成分和风味物质的影响[J]. *饮料工业*, 2017, 20(5): 43–48.
- SHAO Q, PENG Z, XIONG T. Effects of lactic acid bacteria on physical-chemical properties, nutritional components and flavor compounds of mango slurry [J]. *Beverage Ind*, 2017, 20(5): 43–48.
- [35] 杨冲, 彭珍, 熊涛. 南丰蜜洁汁乳酸菌发酵过程中品质的变化[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(11): 1–5, 11.
- YANG C, PENG Z, XIONG T. Quality changes of Nan Feng orange juice during lactic acid bacteria fermentation [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, 39(11): 1–5, 11.
- [36] 刘欣, 刘芸, 陈梅春, 等. 8 种乳酸菌发酵荔枝汁—大豆蛋白的氨基酸代谢特征研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(23): 106–113.
- LIU X, LIU Y, CHEN MC, *et al.* Study on amino acid metabolism characteristics of litchi juice-soybean protein fermented by eight lactic acid bacteria [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(23): 106–113.
- [37] 菅田田, 屈磊, 马学明, 等. 麸皮高酸海藻果饮料的研制[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(12): 115–119.
- JIAN TT, QU L, MA XM, *et al.* Preparation of wheat bran and high acid crabapple fruit beverage [J]. *Food Ferment Ind*, 2016, 42(12): 115–119.
- [38] 王水泉, 包艳, 董喜梅, 等. 植物乳杆菌的生理功能及应用[J]. *中国农业科技导报*, 2010, 12(4): 49–55.
- WANG SQ, BAO Y, DONG XM, *et al.* Physiological function and application of *Lactobacillus plantarum* [J]. *J Agric Sci Technol*, 2010, 12(4): 49–55.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介



刘芸, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为农业微生物应用。
E-mail: 61231280@qq.com

阮传清, 博士, 副研究员, 主要研究方向为农业微生物应用。
E-mail: ruanchuanqing@163.com