

乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物工艺条件优化及其对抗氧化活性影响

丛珊滋^{1,2}, 曹雨佳¹, 张欣欣¹, 李冠龙^{1,2}, 刘晓兰^{1,2*}, 胡楠^{1,2*}

(1. 齐齐哈尔大学 食品与生物工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省玉米深加工理论与技术重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要: 该文以玉米蛋白水解物为原料, 以鼠李糖乳杆菌 YY-15 和发酵乳杆菌 YY-16 为发酵菌株, 通过单因素试验和响应面试验优化发酵条件, 并对发酵后玉米蛋白水解物的体外抗氧化能力和氨基酸含量进行分析评价。结果表明, 两株乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的最佳发酵工艺为菌种体积比 3:1, 玉米蛋白水解物浓度 20.50%, 接种量 4%, 果葡糖浆添加量 5%, 发酵温度 39.5 °C, 发酵时间 24 h。在该条件下, 发酵后玉米蛋白水解物的体外 DPPH 自由基、羟自由基和超氧阴离子自由基三者清除能力的 IC₅₀ 值分别为 0.227、0.200、12.851 mg/mL, Fe²⁺ 螯合能力的 IC₅₀ 为 1.856 mg/mL, 与发酵前相比分别提高了 50.65%、34.64%、6.41%、41.36%。

关键词: 玉米蛋白水解物; 鼠李糖乳杆菌; 发酵乳杆菌; 协同发酵; 抗氧化活性

Optimization of Technological Conditions and Antioxidant Activity of Corn Protein Hydrolysates Fermented by Lactic Acid Bacteria

CONG Shanzi^{1,2}, CAO Yujia¹, ZHANG Xinxin¹, LI Guanlong^{1,2}, LIU Xiaolan^{1,2*}, HU Nan^{1,2*}

(1. College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China;
2. Heilongjiang Key Laboratory of Corn Deep Processing Theory and Technology, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China)

Abstract: In this paper, corn protein hydrolysates (CPH) were fermented by *Lactobacillus rhamnose* YY-15 and *Lactobacillus fermentum* YY-16. The fermentation conditions were optimized by a single factor test and a response surface test, and then the antioxidant capacity and amino acid content of CPH after fermentation were analyzed and evaluated. The results showed that the optimal fermentation process of CPH by both strains was as follows: strain ratio of 3:1, CPH concentration of 20.50%, inoculation amount of 4%, fructose syrup addition amount of 5%, fermentation temperature at 39.5 °C, and fermentation time of 24 h. Under these conditions, the IC₅₀ values of three scavenging activities of DPPH radical *in vitro*, hydroxyl radical and superoxide anion radical of fermented CPH were 0.227, 0.200, and 12.851 mg/mL, respectively, and the IC₅₀ value of Fe²⁺ chelating ability was 1.856 mg/mL. After fermentation, they increased by 50.65%, 34.64%, 6.41%, and 41.36%, respectively.

Key words: corn protein hydrolysates; *Lactobacillus rhamnose*; *Lactobacillus fermentum*; cooperative fermentation; antioxidant activity

引文格式:

丛珊滋, 曹雨佳, 张欣欣, 等. 乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物工艺条件优化及其对抗氧化活性影响[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(5): 152-162.

CONG Shanzi, CAO Yujia, ZHANG Xinxin, et al. Optimization of Technological Conditions and Antioxidant Activity of Corn Protein Hydrolysates Fermented by Lactic Acid Bacteria[J]. Food Research and Development, 2024, 45(5): 152-162.

基金项目: 黑龙江省省属高等学校基本科研业务项目(135409414); 黑龙江省玉米深加工理论与技术重点实验室开放课题项目(SPKF202009)

作者简介: 丛珊滋(1988—), 女(汉), 讲师, 博士, 研究方向: 发酵工程。

*通信作者: 刘晓兰(1962—), 女(汉), 教授, 博士, 研究方向: 发酵工程; 胡楠(1986—), 男(汉), 副教授, 博士, 研究方向: 食品生物技术。

玉米蛋白水解物(corn protein hydrolysates, CPH)是玉米蛋白经蛋白酶酶解后得到的低分子量寡肽混合物,其氨基酸种类多,能够满足人体日常所需,促进人体健康。玉米蛋白水解物具有多种生物活性,如抑制血管紧张素转换酶活性、抗氧化、解酒护肝、抗疲劳等^[1]。然而,在玉米蛋白水解物的制备过程中,存在生物活性释放程度低、味苦等问题^[1-2],极大地影响了其发展。

发酵可以较好地解决玉米蛋白水解物目前加工中存在问题。玉米蛋白水解物通过发酵可以进一步分解其中的大分子蛋白,增强其生物活性,而且发酵过程中产生的风味物质可中和玉米蛋白水解物原有的苦味,使产品的口感更柔和,容易被消费者接受。随着人们健康意识的增强,发酵产品的市场需求也在逐渐扩大,特别是益生菌发酵产品备受消费者的青睐。益生菌可以定殖于人体内,从多方面改善人体健康状况,如促进营养物质的消化吸收、改善胃肠道菌群微环境、调节免疫力、抗氧化、减轻内毒素等^[3]。乳酸菌是目前常被应用于食品工业中的益生菌,乳酸菌发酵可以提高食品的营养价值、抑制有害菌的繁殖^[4],改善原料的风味,如保加利亚乳杆菌可以去除牛奶的生臭味,并产生微弱的香味^[5],增强保藏性。乳酸菌常用的发酵形式主要是单一菌种发酵或混合菌种发酵^[6]。与单一菌种发酵相比,混合菌种发酵更具优势,一是益生菌活性更高,发酵效果更好,这是由于微生物之间可以相互利用代谢产物或交换信号分子,从而相互促进生物转化,产生更好的发酵效果;二是复合的微生物菌群对外界环境更具耐受力^[7]。在发酵乳的生产中常用嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌协同发酵,菌株之间可以互利共生,在发酵过程中,可以利用彼此的代谢产物来促进各自的生长^[8]。杭锋等^[9]发现混合乳酸菌间存在协同作用,互相促进,使得生长繁殖速度显著增加,并且混合菌种发酵的产品酸度是单一菌种发酵的2倍,同时还延迟了酸化现象。基于乳酸菌在发酵食品中的优点,科研人员对其发酵蛋白水解物的能力做了相关研究。Oliveira等^[10]发现酪蛋白酶解物对酸奶中嗜热链球菌的生长具有明显的促进作用。张根生等^[11]研究发现含金属硫的蛋白鸡蛋水解物有利于动物双歧杆菌和嗜酸乳杆菌生长,且混合菌种发酵增殖效果优于单一菌种发酵。段旭昌等^[12]利用乳酸菌发酵法改良甲鱼蛋白酶解液的风味,发现大部分的苦味氨基酸被转化,使甲鱼酶解液的整体风味得到了明显改善。方磊等^[13]利用嗜酸乳杆菌制备发酵大豆蛋白肽,发现其能增强小鼠机体的免疫力和抗疲劳能力。目前,国内外关于乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的研究报道较少。

本研究利用课题组前期从野生果实表皮上筛选出的鼠李糖乳杆菌 YY-15(*Lactobacillus rhamnose* YY-15)和发酵乳杆菌 YY-16(*Lactobacillus fermentum* YY-16)

为发酵菌株,以玉米蛋白水解物为发酵原料,通过单因素试验和响应面试验优化发酵工艺参数,并对发酵后产品的氨基酸和抗氧化能力进行分析,旨在为玉米蛋白水解物在食品领域的开发和利用开辟新的途径。

1 材料与方法

1.1 菌种与样品

鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnose* YY-15,保藏号 CGMCC NO.26821)、发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum* YY-16,保藏号 CGMCC NO.26822);保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心;玉米蛋白水解物干粉:黑龙江省玉米深加工理论与技术重点实验室自制。

1.2 主要试剂

MRS 肉汤培养基、MRS 固体培养基:北京索莱宝科技有限公司;果葡糖浆 F55(55% 果糖,40% 葡萄糖,5% 低聚糖):湖北千凤香食品有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH)、菲罗嗪:生工生物工程(上海)有限公司;硫酸亚铁、过氧化氢、水杨酸:天津市科密欧化学试剂有限公司。所用试剂均为分析纯。

1.3 仪器与设备

恒温培养摇床(ZWY-211B):上海智城分析仪器制造有限公司;隔水式恒温培养箱(GSP-9270MBE):上海博迅实业有限公司;喷雾干燥器(B-290):瑞士 BUCHI 公司;超净台(SW-CJ-2FD):苏净安泰空气技术有限公司;全自动高压灭菌器(XS-500):日本 KAGOSHIMA 公司;多功能酶标仪(EnSpire):珀金埃尔默仪器有限公司;全自动氨基酸分析仪(1-8900):日本日立公司。

1.4 试验方法

1.4.1 菌种的活化

分别挑取 1~2 环保藏的菌株 YY-15 与 YY-16 转接于 MRS 肉汤培养基中,37℃培养 24 h。分别吸取 0.1 mL 菌液至 20 mL MRS 肉汤培养基中,37℃培养 12 h,连续活化 2~3 次,作为种子培养液,备用。

1.4.2 试验工艺流程

CPH 干粉→溶解→添加碳源→灭菌→接菌→发酵→成品。

操作要点如下。

溶解:将 CPH 和去离子水按一定料液比(g/L)进行混合。

灭菌:将 CPH 溶液在 121℃、30 min 条件下进行灭菌处理。

接菌:在无菌环境中,将活化后的菌株 YY-15 与 YY-16 按照一定体积比接种到玉米蛋白水解物溶液中,体系中初始活菌数约为 10⁶ CFU/mL。

1.4.3 抗氧化活性的测定

抗氧化活性参考刘玥等^[14]的方法,测定乳酸菌协

同发酵玉米蛋白水解物发酵前后对 DPPH 自由基、 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 的清除能力和 Fe^{2+} 螯合能力,并计算 IC_{50} 值。

1.4.4 总酸的测定

根据 Hu 等^[15]的方法进行总酸测定,结果以乳酸计。

1.4.5 乳酸菌活菌数的测定

根据 Hu 等^[16]的方法进行乳酸菌活菌计数。

1.4.6 氨基酸的测定

采用全自动氨基酸分析仪,利用酸水解法测定氨基酸含量。

1.4.7 感官评价

感官评价小组由 10 名食品专业人员组成,乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的感官评价标准见表 1。

表 1 乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的感官评价标准

Table 1 Sensory evaluation standard of CPH fermented by lactic acid bacteria

评定项目	评分标准	感官评分
组织状态(20)	混浊度均匀一致、无分层、无沉淀	16~20
	混浊度稍差,有细微絮状物	10~<16
	有较多沉淀和絮状物	5~<10
	有大量沉淀和絮状物	0~<5
口感(20)	苦味较小,酸味适口	16~20
	苦味较大,略有酸味或酸味较大	5~<16
	苦味重,无酸味	0~<5
气味(20)	酸香味,香气协调,无明显异味	16~20
	酸味不明显,稍有异味	5~<16
	整体香味不协调	0~<5
色泽(20)	浅棕色	16~20
	棕色	5~<16
	深褐色	0~<5
喜好程度(20)	非常喜欢	16~20
	喜欢	5~<16
	不喜欢	0~<5

1.4.8 单因素试验

基础发酵条件:菌株 YY-15 与 YY-16 体积比 3:1,玉米蛋白水解物浓度 20%(质量体积比),接种量 4%(体积分数),果葡糖浆添加量 4%(体积分数),发酵温度 37℃,发酵时间 24 h。

以乳酸菌发酵玉米蛋白水解物中的活菌数、总酸含量(以乳酸计)、感官评分以及 DPPH 自由基清除能力(蛋白浓度 1 mg/mL)为指标,分别对菌种体积比(1:0、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、0:1)、接种量(1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%)、果葡糖浆添加量(1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%)、发酵时间(16、20、24、28、32、36、40、44、48 h)、发酵温度(35、37、39、41、43℃)和 CPH 浓度(10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%)进行

单因素试验。

1.4.9 响应面试验

在单因素试验的基础上,选取发酵温度、接种量、CPH 浓度和果葡糖浆添加量为自变量,以乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物对 DPPH 自由基清除能力为响应值,设计四因素三水平的响应面试验。响应面试验设计因素与水平见表 2。

表 2 响应面试验设计因素与水平

Table 2 Factors and levels of response surface test design

水平	因素			
	X_1 发酵温度/℃	X_2 接种量/%	X_3 CPH 浓度/%	X_4 果葡糖浆添加量/%
-1	37	3	10	4
0	39	4	20	5
1	41	5	30	6

1.5 数据处理

利用 Design-Expert version 8.0.6 软件进行 Box-Behnken 试验设计。使用 Office 2021 对数据及图片进行处理,SPSS Statistics 20.0 对结果进行单因素方差分析(ANOVA),当 $P<0.05$ 时表明数据间存在显著差异。

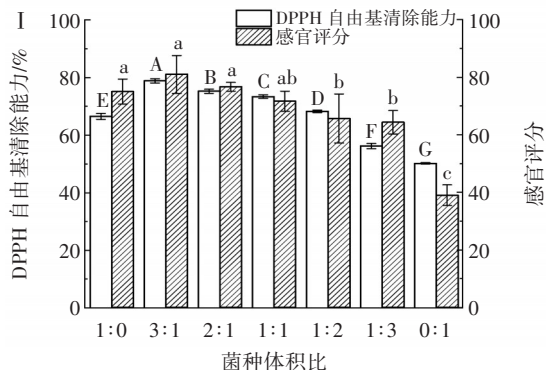
2 结果与分析

2.1 乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物单因素试验

2.1.1 菌种体积比对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响

在 CPH 浓度 20%、果葡糖浆添加量 4%、接种量 4%、发酵温度 37℃、发酵时间 24 h 的发酵条件下,研究菌株 YY-15 和 YY-16 不同体积比对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物影响,结果如图 1 所示。

鼠李糖乳杆菌和发酵乳杆菌是食品发酵中常用的菌株,也是具有较强益生性和稳定遗传性的益生菌^[17]。在发酵食品中,乳酸菌表现出其重要发酵特性和生理功能的前提是完成菌体的大量增殖。因此,在乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物过程中,需将乳酸菌活菌数作为重要考察指标。



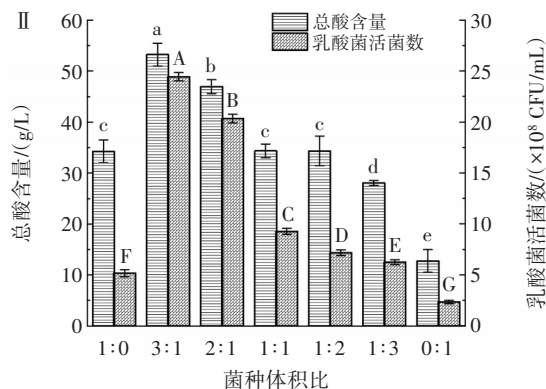


图1 菌种体积比对乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的影响

Fig.1 Effect of strain ratio on CPH fermented by lactic acid bacteria

由图1可以看出,各试验组在发酵24 h后乳酸菌活菌数均能达到 10^8 CFU/mL以上,表明菌株YY-15和YY-16能够较快适应玉米蛋白水解物的发酵环境,从而快速完成菌体增殖。与单一菌种发酵相比,混合菌种发酵中的乳酸菌活菌数均显著提高($P<0.05$)。当菌株YY-15与YY-16体积比为3:1时,发酵后乳酸菌活菌数达到最大值,为 2.4×10^9 CFU/mL,是菌株YY-15、YY-16单一菌种发酵的3.73倍和9.49倍,可见,菌株YY-15和YY-16具有一定的共生性,可以相互促进生长。混合菌种发酵可以有效提高发酵液中水解酶的含量,并且弥补了单一菌种发酵产生胞外酶系不全面的缺点,对发酵基质营养转化效率更高,提高发酵效率^[18]。

本研究中鼠李糖乳杆菌和发酵乳杆菌具有相似的生长条件,其均能利用相似的底物进行发酵。尹彦洋等^[19]研究了鼠李糖乳杆菌和嗜酸乳杆菌的共生关系,发现两株菌具有相似的生长条件,均能利用单糖进行发酵。鼠李糖乳杆菌的终端产物乳酸可以缩短嗜酸乳杆菌的发酵时间,嗜酸乳杆菌可降解蛋白质产生多种氨基酸,为鼠李糖乳杆菌提供氮源,说明二者具有良好的共生发酵能力。但是目前对于鼠李糖乳杆菌和发酵乳杆菌的相互作用机制报道较少。

鼠李糖乳杆菌属于同型乳酸发酵菌株,其终产物大部分为L-乳酸,发酵乳杆菌是专性异型乳酸发酵菌株,代谢产物较为丰富,除乳酸外,还产生乙醇、乙酸和二氧化碳等其他物质^[20]。Driehuis等^[21]最早将同型乳酸发酵和异型乳酸发酵两类菌株结合使用,结果发现混合菌种发酵相比于布氏乳杆菌单独发酵的乳酸含量明显增加。本研究中,当菌株YY-15与YY-16体积比为3:1时,发酵24 h后乳酸菌活菌数和总酸含量均达到最大值,显著高于两株菌单独发酵的总酸含量($P<0.05$),与Driehuis等^[21]报道结果一致。使用两种类型

的乳酸菌混合发酵,可以使其优势结合,同型乳酸发酵菌可以控制前期发酵,抑制杂菌生长;专性异型乳酸发酵菌在发酵后期会产生更多的风味物质,赋予产品独特的风味^[22],在感官评价结果中也验证了这一说法,并且当菌株YY-15与YY-16体积比为3:1时,感官评分最高,为81.00。当菌种体积比为1:1~1:3时,乳酸菌活菌数和总酸含量随YY-16添加量的增加而降低,这可能是由于YY-16添加量过多,形成了优势菌群,抑制YY-15的生长,两株菌的共生平衡被打破。综合考虑,选择鼠李糖乳杆菌YY-15和发酵乳杆菌YY-16菌种体积比为3:1进行后续的发酵试验。

2.1.2 接种量对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响

在菌株YY-15与YY-16体积比为3:1、CPH浓度20%、果葡糖浆添加量4%、发酵温度37℃、发酵时间24 h的发酵条件下,研究不同接种量对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响,结果如图2所示。

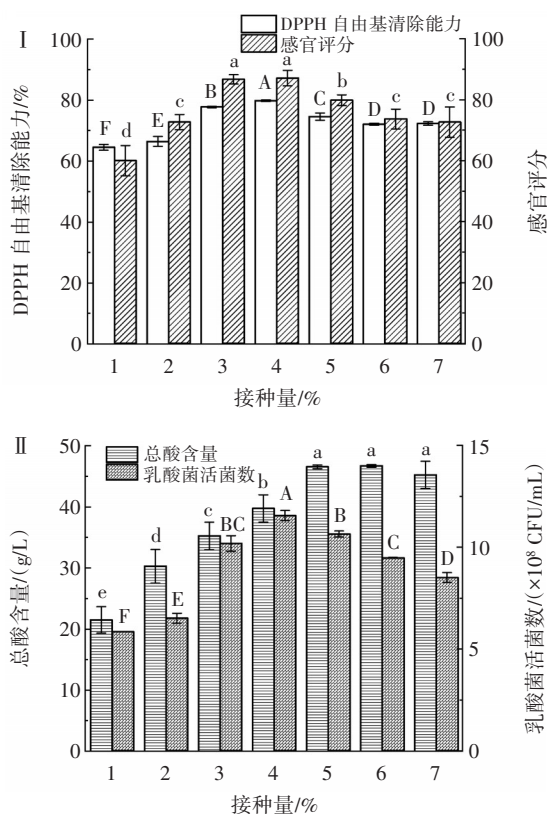


图2 接种量对乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的影响

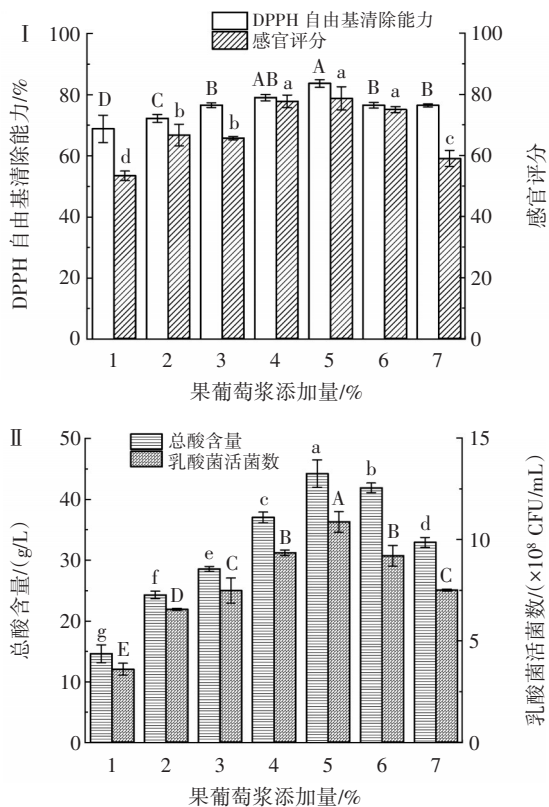
Fig.2 Effect of inoculation amount on CPH fermented by lactic acid bacteria

由图2可知,随着接种量的增加,乳酸菌活菌数和DPPH自由基清除能力呈现先上升后下降的趋势。原因可能是接种量过低,乳酸菌产生胞外酶分解底物的

速率不能满足乳酸菌大量增殖的需求;或是接种量过高,鼠李糖乳酸菌生长代谢旺盛,产生大量的乳酸,使发酵液 pH 值迅速降低,抑制发酵乳酸菌的生长,延长发酵时间,最终导致乳酸菌活菌数和 DPPH 自由基清除能力降低。当接种量为 4% 时,乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的乳酸菌活菌数达到最大值,为 1.15×10^9 CFU/mL,同时,DPPH 自由基清除能力和感官评分也达到最大,与陈莹艳^[23]的研究结果相似。总酸含量随接种量的增加呈先持续升高后趋于平缓的趋势,当接种量大于 5% 后总酸含量略有下降,各组间无显著性差异($P>0.05$)。结合感官评分结果可知,总酸积累不足,发酵产品的口感寡淡,风味不明显,难以掩盖 CPH 的苦味;总酸含量过高,亦会使发酵酸味过浓,影响其他风味,导致感官品质下降。综合判断,选取接种量 3%、4%、5% 进行后续响应面优化试验。

2.1.3 果葡糖浆添加量对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响

在菌株 YY-15 与 YY-16 体积比 3:1、CPH 浓度 20%、接种量 4%、发酵温度 37 °C、发酵时间 24 h 的发酵条件下,研究不同果葡糖浆添加量对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响,结果如图 3 所示。



I. DPPH 自由基清除能力和感官评分; II. 总酸含量和乳酸菌活菌数。不同大小写字母分别表示同一指标差异显著($P<0.05$)。

图3 果葡糖浆添加量对乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的影响

Fig.3 Effect of fructose syrup addition on CPH fermented by lactic acid bacteria

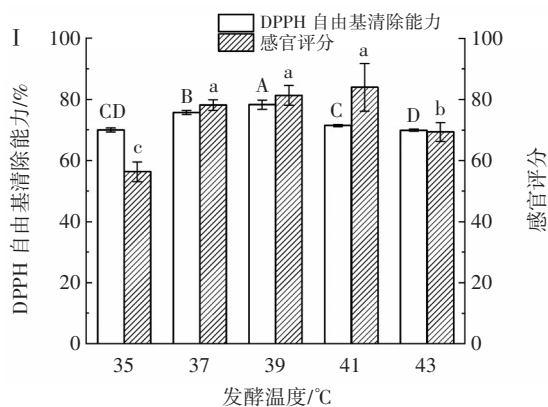
微生物生长过程中,既需碳源作为活动能量,又要氮源构成自己的细胞结构。玉米蛋白水解物中可溶性肽含量高,可以满足发酵氮源的需要。本研究中玉米蛋白水解物由于进行了去淀粉的处理,因此碳源含量较低,为保证发酵顺利进行,需要补充碳源。果葡糖浆是一种发酵行业常用的碳源补充剂,由于其中含有不同比例的果糖、葡萄糖和低聚糖,将其应用于发酵食品中不仅可以补充碳源,还可以改善产品的口感和功能性。

由图 3 可以看出,随着果葡糖浆添加量的增加,总酸含量和乳酸菌活菌数呈先上升后下降趋势,均在果葡糖浆添加量为 5% 时达到最高值。果葡糖浆添加量过少,乳酸菌生长所需能量不足,致使增殖能力下降,产酸过少,风味不足;果葡糖浆的渗透压高于双糖,添加过多则会导致细菌的细胞壁破裂,同时也会使酸甜比失调,口感过于甜腻。当果葡糖浆添加量为 4%~6% 时,乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的酸甜适中,质地均匀,无分层和沉淀,感官评分较高。DPPH 自由基清除能力的变化规律与乳酸菌活菌数呈正相关,原因可能是由于乳酸菌自身具有一定的抗氧化能力,乳酸菌的数量增加,从而增强了发酵液的抗氧化能力;或是由于乳酸菌数量增加,发酵液中的蛋白酶含量增加,使发酵底物水解速度加快,更多的寡肽游离出来,增强了发酵液的抗氧化能力。由图 3 可知,果葡糖浆添加量对 DPPH 自由基清除能力的影响较小,但具有显著性差异。综合考虑,选取果葡糖浆添加量为 4%、5%、6% 进行后续优化试验。

2.1.4 发酵温度对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响

在菌株 YY-15 与 YY-16 体积比为 3:1、CPH 浓度 20%、接种量 4%、果葡糖浆添加量 5%、发酵时间 24 h 的发酵条件下,研究不同发酵温度对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响,结果如图 4 所示。

发酵温度偏高或偏低都会导致细胞生长代谢速率下降,影响发酵速度和产酸能力,不利于乳酸菌的生长^[24]。由图 4 可以看出,发酵温度对乳酸菌活菌数的影响较大,当发酵温度为 35~39 °C 时,随着发酵温度的



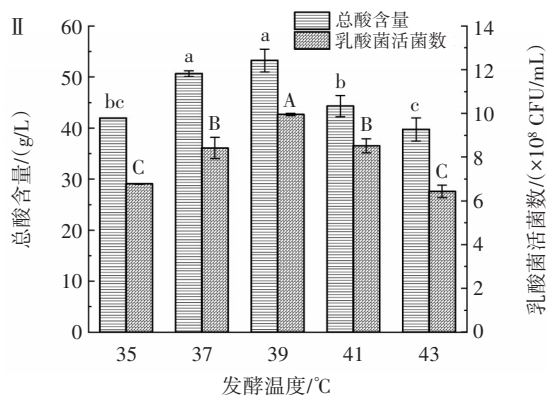


图4 发酵温度对乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的影响

Fig.4 Effect of fermentation temperature on CPH fermented by lactic acid bacteria

升高,乳酸菌活菌数显著上升,并在发酵温度为 39 °C 时乳酸菌活菌数达到最大值,为 9.8×10^8 CFU/mL,继续升高发酵温度时,乳酸菌活菌数开始下降;总酸含量、DPPH 自由基清除能力与乳酸菌活菌数的变化规律相似。感官评分方面,除 35 °C 和 43 °C 时的感官评分较低外,发酵温度在 37~41 °C 范围内的感官评分差异不显著 ($P > 0.05$)。发酵乳杆菌可在 45 °C 以内的发酵温度下生长,其最适生长温度为 41~42 °C,而鼠李糖乳杆菌的最适生长温度为 37 °C,发酵温度过高时细胞内酶的催化能力会大大降低,甚至会导致其丧失催化活性,从而影响菌株的正常生长^[25]。综合考虑,选取发酵温度为 37、39、41 °C 进行后续响应面优化试验。

2.1.5 CPH 浓度对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响

在菌株 YY-15 与 YY-16 体积比为 3:1、接种量 4%、果葡糖浆添加量 5%、发酵温度 39 °C、发酵时间 24 h 的发酵条件下,研究不同 CPH 浓度对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响,结果如图 5 所示。

在发酵体系中,底物的浓度直接影响乳酸菌的发酵能力。与高分子蛋白相比,CPH 是经酶解后得到的

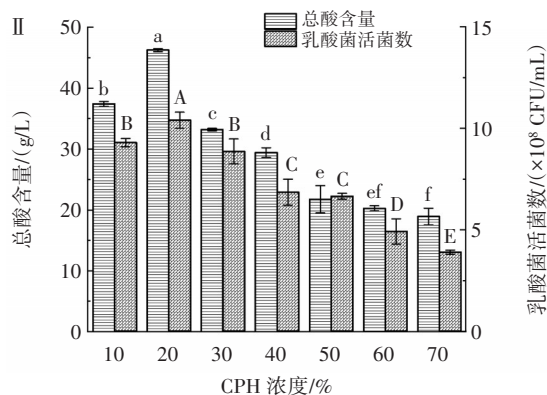


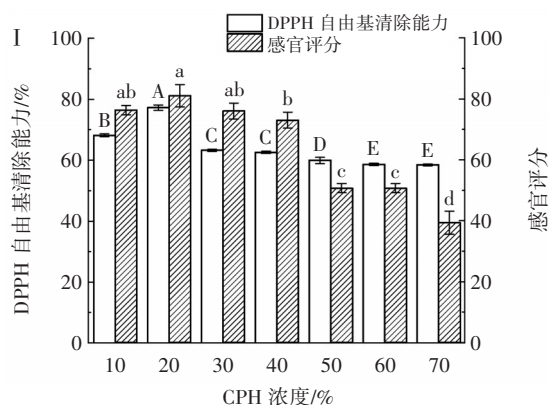
图5 CPH 浓度对乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的影响

Fig.5 Effect of CPH concentration on CPH fermented by lactic acid bacteria

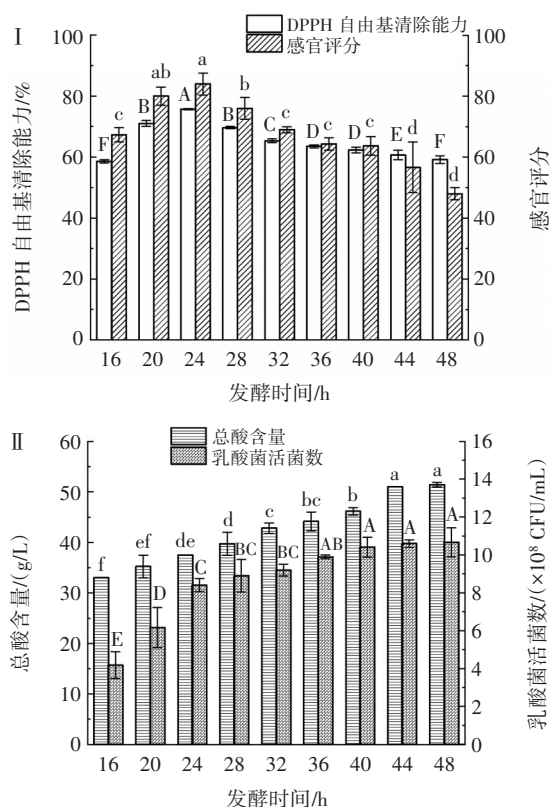
小分子肽类和氨基酸的混合物,可以直接被乳酸菌利用,提高发酵效率。由图 5 可以看出,当 CPH 浓度为 20% 时,乳酸菌活菌数、感官评分、DPPH 自由基清除能力及总酸含量均达到最大值。且随着 CPH 浓度逐渐增大,各指标均呈现下降趋势,这可能是由于过量的 CPH 使菌体细胞内外渗透压升高,致使菌体破裂,从而使乳酸菌活菌数减少。同时,反应体系的黏度增大,整体流动性降低,CPH 与乳酸菌的接触面积变小,物质传递速率下降,降低代谢速率,也会导致 DPPH 自由基清除能力、乳酸菌活菌数和总酸含量的下降。可见,适当浓度的 CPH 具有促进乳酸菌生长的作用。目前,关于蛋白水解物促进乳酸菌生长可能的机制主要有:1)蛋白水解物作为氮源为益生菌的生长提供必需的氨基酸^[26]。2)蛋白水解物可作为益生菌多肽转运系统的促进剂,即蛋白质分子进入益生菌细胞前,先由胞外蛋白酶将其水解成短的多肽片段,才能被发酵菌株吸收利用^[27]。3)蛋白水解物可以提高发酵菌株在酸性环境中的耐受力,保持菌体数量^[28]。但不同的蛋白水解物对菌株生长的促进作用不同,潘芬等^[18]研究发现,豌豆蛋白水解物对鼠李糖乳杆菌、植物乳杆菌和嗜热链球菌未表现出促生长作用,而对保加利亚乳杆菌和双歧杆菌等有明显的促生长作用。玉米蛋白水解物不仅对发酵菌株有一定影响,对发酵产品的品质影响也较大。在较高的 CPH 浓度下,发酵液颜色较深,极大地影响了产品的感官品质。综合考虑,选取 CPH 浓度为 10%、20%、30% 进行后续响应面优化试验。

2.1.6 发酵时间对乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物的影响

在菌株 YY-15 与 YY-16 体积比为 3:1、CPH 浓度 20%、接种量 4%、果葡糖浆添加量 5%、发酵温度 39 °C 的发酵条件下,研究发酵时间对乳酸菌发酵玉米蛋白



水解物的影响,结果如图6所示。



I. DPPH 自由基清除能力和感官评分; II. 总酸含量和乳酸菌活菌数。不同大小写字母分别表示同一指标差异显著 ($P<0.05$)。

图6 发酵时间对乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的影响

Fig.6 Effect of fermentation time on CPH fermented by lactic acid bacteria

发酵时间可以反映乳酸菌发酵的完全程度。发酵时间过短,导致发酵不充分,产品的风味不足;发酵时间过长,乳酸菌大量死亡,乳酸不断累积,使产品口感刺激、品质下降^[27]。由图6可以看出,在发酵过程中,乳酸菌在CPH中长势良好。乳酸菌活菌数在发酵48 h内,呈不断上升的趋势,总酸含量与乳酸菌活菌数表现出一致的变化趋势。而DPPH自由基清除能力则在发酵24 h时达到最大值,为75.73%,之后一直呈下降趋势。结合感官评分结果综合考虑,选择发酵时间24 h进行后续试验。

2.2 乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物响应面优化试验结果

在单因素试验结果的基础上,以DPPH自由基清除能力(Y)为响应值,进行四因素三水平的响应面试验,结果见表3,方差分析见表4。

应用Design-Expert version 8.0.6软件对表3数据进行多元回归拟合,得到的二次多项回归方程为 $Y=79.64+0.25X_1+0.23X_2+0.22X_3+0.31X_4-0.13X_1X_2+0.098X_1X_3+0.83X_1X_4-0.32X_2X_3-2.5\times 10^5X_2X_4-0.089X_3X_4-1.13X_1^2-2.16X_2^2-2.26X_3^2-1.34X_4^2$ 。

表3 乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的响应面试验结果

Table 3 Response surface test results of CPH fermented by lactic acid bacteria

试验号	因素				Y DPPH 自由基清除能力/%
	X_1 发酵温度/ $^{\circ}\text{C}$	X_2 接种量/%	X_3 CPH 浓度/%	X_4 果葡糖浆添加量/%	
1	37	4	30	5	76.33
2	39	4	30	4	75.87
3	41	4	10	5	76.19
4	37	4	10	5	76.29
5	39	4	20	5	78.99
6	39	5	20	4	75.22
7	37	4	20	6	75.47
8	41	3	20	5	75.54
9	39	4	20	5	79.79
10	41	4	20	4	77.22
11	39	4	30	6	76.51
12	37	4	20	4	77.40
13	41	5	20	5	76.86
14	39	5	30	5	75.47
15	39	4	20	5	80.03
16	41	4	20	6	78.61
17	39	4	10	4	75.19
18	39	3	30	5	75.54
19	39	3	20	4	76.01
20	37	3	20	5	75.37
21	39	5	10	5	75.54
22	39	5	20	6	76.51
23	39	3	10	5	74.33
24	41	4	30	5	76.61
25	37	5	20	5	77.22
26	39	4	20	5	79.40
27	39	4	10	6	76.19
28	39	4	20	5	79.99
29	39	3	20	6	77.29

表4 回归响应面模型方差分析

Table 4 Variance analysis for regression response surface model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	63.18	14	4.51	9.58	<0.000 1
X_1 发酵温度	0.73	1	0.73	1.55	0.233 8
X_2 接种量	0.63	1	0.63	1.33	0.267 6
X_3 CPH 浓度	0.56	1	0.56	1.20	0.292 2
X_4 果葡糖浆添加量	1.12	1	1.12	2.38	0.144 8
X_1X_2	0.072	1	0.072	0.15	0.702 7
X_1X_3	0.038	1	0.038	0.082	0.779 4
X_1X_4	2.75	1	2.75	5.83	0.030 0
X_2X_3	0.41	1	0.41	0.087	0.365 7

续表 4 回归响应面模型方差分析

Continue table 4 Variance analysis for regression response surface model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
X_2X_4	2.50×10^9	1	2.50×10^9	5.31×10^9	0.999 9
X_3X_4	0.032	1	0.032	0.067	0.798 9
X_1^2	8.28	1	8.28	17.58	0.000 9
X_2^2	30.13	1	30.13	63.94	<0.000 1
X_3^2	33.19	1	33.19	70.45	<0.000 1
X_4^2	11.56	1	11.56	24.54	0.000 2
残差	6.60	14	0.47		
失拟项	5.82	10	0.58	2.99	0.151 0
纯误差	0.78	4	0.19		
总和	69.78	28	20		

注： $P<0.05$ 表示影响显著； $P<0.01$ 表示影响极显著。

由表 4 可以看出,该方程的相关系数 R^2 为 0.905 5,说明模型拟合程度良好,可用于分析和预测。模型的 F 值为 9.58, $P<0.01$,极显著;失拟项 $P=0.151\ 0>0.05$,不显著;调整复相关系数 $R^2_{Adj}=0.810\ 9$,说明该模型的回归方程能够反映实际情况,可以用回归方程对试验结果进行分析和预测。一次项 X_1 (发酵温度)、 X_2 (接种量)、 X_3 (CPH 浓度)和 X_4 (果葡糖浆添加量)影响不显著;二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 、 X_4^2 均处于极显著水平,说明其对响应值的影响较大;交互项 X_1X_4 处于显著水平,说明发酵温度和果葡糖浆添加量之间存在交互作用,且对 DPPH 自由基清除能力的影响较大。

经 Design-Expert version 8.0.6 软件工艺优化,最优发酵工艺参数为发酵温度 39.34 ℃、接种量 4.04%、CPH 浓度 20.45%、果葡糖浆添加量 5.16%,模型预测此条件下的 DPPH 自由基清除能力可达 79.69%。结合实际情况,将优化后的方案适当调整为发酵温度 39.5 ℃、接种量 4%、CPH 浓度 20.50%、果葡糖浆添加量 5%,在此条件下进行验证试验,3 次验证试验得到的 DPPH 自由基清除能力为 80.89%,总酸含量为 55.65 g/L,乳酸菌活菌数为 2.66×10^9 CFU/mL,感官评分为 89.5,与预测值较为接近,说明模型预测准确度较高,利用响应面分析优化乳酸菌发酵工艺是可行的。

2.3 乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物对氨基酸种类及其含量的影响

氨基酸种类及其含量与成品的风味、营养和感官品质相关。乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物发酵前后的氨基酸含量结果如表 5 所示。

由表 5 可以看出,乳酸菌协同发酵玉米蛋白水解物发酵前后均检测到 16 种氨基酸,其中发酵前的总氨基酸含量为 76.48 g/100 g,发酵后的总氨基酸含量为 58.00 g/100 g,经乳酸菌发酵后总氨基酸含量下降了 24.16%。大部分乳酸菌具有多种氨基酸营养缺陷性,

表 5 乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的氨基酸含量

Table 5 Amino acid content of CPH fermented by lactic acid bacteria

名称	发酵前/(g/100 g)	发酵后/(g/100 g)
天冬氨酸(Asp)	4.57	3.61
苏氨酸(Thr)	2.71	2.03
丝氨酸(Ser)	4.02	3.00
谷氨酸(Glu)	17.66	13.65
甘氨酸(Gly)	1.89	1.48
丙氨酸(Ala)	6.23	4.40
缬氨酸(Val)	3.42	2.61
甲硫氨酸(Met)	1.79	1.29
异亮氨酸(Ile)	2.92	2.21
亮氨酸(Leu)	13.16	9.60
酪氨酸(Tyr)	3.70	2.31
苯丙氨酸(Phe)	4.46	3.38
赖氨酸(Lys)	0.99	0.97
组氨酸(His)	1.40	1.28
精氨酸(Arg)	1.94	1.30
脯氨酸(Pro)	5.62	4.88
总氨基酸	76.48	58.00
必需氨基酸(essential amino acids, EAA)	29.45	22.09
非必需氨基酸(non-essential amino acids, NEAA)	47.03	35.91
支链氨基酸(branched chain amino acid, BCAA)	19.50	14.42
芳香族氨基酸(aromatic amino acids, AAA)	8.16	5.69
苦味氨基酸(bragg amino acids, BAA)	27.70	20.39

在发酵过程中,乳酸菌分泌的胞外蛋白酶会水解原料中的蛋白质和多肽,产生氨基酸,满足乳酸菌的生长代谢,保障发酵的顺利进行^[28]。苏能能等^[29]利用植物杆菌发酵桑葚浆,其游离氨基酸总量下降了 78.30%。但双歧杆菌发酵的果汁中,与发酵前相比,各游离氨基酸含量均有提升^[30],可见游离氨基酸的代谢规律与菌种有着密切的关系。总氨基酸含量的减少还与挥发性成分有关。氨基酸可进一步通过转氨、脱羧、裂解等转化为醛类、醇类等风味物质^[31]。根据乳酸菌的代谢作用,氨基酸可以形成发酵产品的风味前体物质,从而赋予发酵液特殊的发酵香味。李汴生等^[32]研究发现,5 种果蔬汁经发酵后游离氨基酸总量减少,挥发性风味物质种类及醇酯类物质含量增加,说明在发酵过程中发生了氨基酸降解,这也是产生风味物质的重要途径。

2.4 体外抗氧化能力结果分析

氧化作用是自然界普遍发生的化学反应,在生物体中起着重要作用。生命活动的氧化代谢过程伴随着

自由基的产生,如羟自由基、超氧阴离子自由基等。虽然人体有抗氧化防御系统,但这些系统并不能完全有效地抵御或修复氧化损伤,如果不及时清除自由基,则会对机体造成伤害,引发疾病^[33]。因此,具有高抗氧化活性的食品受到人们的高度重视,体外抗氧化能力的测定已成为评价功能食品的重要指标之一。乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的体外抗氧化活性见表6。

表6 乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的体外抗氧化活性

Table 6 Antioxidant activity of CPH fermented by lactic acid bacteria *in vitro*

组别	IC ₅₀ 值/(mg/mL)			
	DPPH 自由基清除能力	·OH 清除能力	·O ₂ ⁻ 清除能力	Fe ²⁺ 螯合能力
发酵前	0.460	0.306	13.728	3.165
发酵后	0.227	0.200	12.851	1.856

如表6所示,乳酸菌发酵玉米蛋白水解物发酵前后均能够有效清除 DPPH 自由基、·OH、·O₂⁻和提高 Fe²⁺螯合能力。发酵前玉米蛋白水解物的 DPPH 自由基清除能力、·OH 清除能力、·O₂⁻清除能力、Fe²⁺螯合能力的 IC₅₀ 值分别为 0.460、0.306、13.728、3.165 mg/mL; 发酵后的 DPPH 自由基清除能力、·OH 清除能力、·O₂⁻清除能力、Fe²⁺螯合能力的 IC₅₀ 值分别为 0.227、0.200、12.851、1.856 mg/mL。与发酵前相比,分别提高了 50.65%、34.64%、6.41%、41.36%,说明玉米蛋白水解物经过乳酸菌发酵相较于发酵前具有更好的抗氧化活性。

崔宁等^[34]研究表明,玉米蛋白水解物是良好的供氢体,也是 Fe²⁺螯合剂,能通过抑制芬顿(Fenton)反应而减少羟基的生成,提高对自由基的清除能力,从而消除自由基对机体造成的氧化损伤。乳酸菌在细胞呼吸过程和生存环境中会产生过多的活性氧,而乳酸菌抵抗氧胁迫的能力较弱。过量的活性氧和自由基会攻击蛋白质、脂肪和核酸,从而加速微生物的衰老和死亡^[35]。玉米蛋白水解物具有较强的抗氧化能力和自由基清除能力,可以帮助乳酸菌在发酵过程中抵抗氧胁迫,为其提供良好的生长环境,结果表明,玉米蛋白水解物有利于乳酸菌的生长代谢。

乳酸菌通过螯合 Fe²⁺来阻止脂质过氧化生成·OH,从而降低脂质化合物氧化的速度。Li 等^[36]对瑞士乳杆菌的胞外多糖探究,发现其表现出较强的 Fe²⁺螯合能力,IC₅₀ 值可达 1.45 mg/mL。乳酸菌发酵玉米蛋白水解物具有良好的金属螯合能力,可以减少·OH 的产生,抑制过氧化物的产生。同时,乳酸菌发酵玉米蛋白水解物经过发酵后暴露出能提供电子的氨基酸和小肽,这些小分子化合物更容易与自由基结合,随着具有抗氧化活性的小分子肽浓度的增加,与自由基结合的机会变大,因此乳酸菌发酵玉米蛋白水解物对自由基

的清除能力逐渐提高。乳酸菌在发酵过程中会产生超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)来清除·OH 和 H₂O₂,而 SOD 能直接降低活性氧自由基的毒性,并阻止活性氧自由基向·OH 转变^[37]。刘洋等^[38]对发酵乳杆菌、乳酸乳球菌、嗜酸乳杆菌和瑞士乳杆菌 4 株乳酸菌的体外抗氧化能力测定发现,乳酸菌清除·OH 的活性物质主要存在于菌体细胞表面以及代谢产物中而非胞内。除此之外,乳酸菌可以分泌阿魏酸酯酶(ferulic acid esterase, FAE),它能够促进植物细胞壁中阿魏酸(ferulic acid, FA)的生成,FA 是一种强抗氧化剂^[39]。总之,乳酸菌发酵玉米蛋白水解物抗氧化能力提升的原因是多种抗氧化物质的综合作用。

3 结论

本研究利用鼠李糖乳杆菌和发酵乳杆菌协同发酵玉米蛋白水解物,通过单因素和响应面试验优化其发酵工艺,得到最佳发酵工艺参数为 YY-15:YY-16=3:1 (体积比),CPH 浓度 20.50%,接种量 4%,果葡糖浆添加量 5%,发酵温度 39.5 °C,发酵时间 24 h,在此条件下,乳酸菌发酵玉米蛋白水解物的 DPPH 自由基清除能力为 80.89%,总酸含量为 55.65 g/L,乳酸菌活菌数为 2.66×10⁹ CFU/mL,感官评分为 89.5。在发酵过程中,玉米蛋白水解物能为乳酸菌提供低氧胁迫环境,有利于乳酸菌的生长。并且鼠李糖乳杆菌和发酵乳杆菌混合发酵可以相互促进,菌体增殖效果优于单一菌株发酵。乳酸菌发酵可明显提升玉米蛋白水解物的抗氧化能力,并可以促进氨基酸的转化,降低苦味氨基酸的含量,增强了产品的功能性和品质。

参考文献:

- [1] WU J Q. Advances in the production and functional properties of corn protein peptides[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, 512(1): 012089.
- [2] 王晓杰, 刘晓兰, 石彦国. 玉米肽的酶法糖基化修饰及产物溶解性的研究[J]. 中国油脂, 2019, 44(11): 70-74.
WANG Xiaojie, LIU Xiaolan, SHI Yanguo. Enzymatic glycosylation of corn peptide and solubility of glycosylated product[J]. China Oils and Fats, 2019, 44(11): 70-74.
- [3] 潘杰, 刘来浩, 牟建伟. 肠道菌群与人类健康研究进展[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2021, 36(4): 337-365.
PAN Jie, LIU Laihao, MU Jianwei. Research progress of gut microbiota and human health[J]. Journal of Shandong Normal University (Natural Science), 2021, 36(4): 337-365.
- [4] 尹胜利, 杜莹, 徐晨. 乳酸菌的研究现状及其应用[J]. 食品科技, 2012, 37(9): 25-29.
YIN Shengli, DU Jian, XU Chen. Advances in the research and application of *Lactobacillus*[J]. Food Science and Technology, 2012, 37(9): 25-29.
- [5] HEYMAN M. Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases[J]. Journal of the American College of Nutrition, 2000, 19(sup2): 137S-146S.

- [6] WU C Y, LI T L, QI J, et al. Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 122: 109064.
- [7] KUSZNIEREWICZ B, ŚMIECHOWSKA A, BARTOSZEK A, et al. The effect of heating and fermenting on antioxidant properties of white cabbage[J]. Food Chemistry, 2008, 108(3): 853-861.
- [8] SIEUWERTS S, MOLENAAR D, VAN HIJUM S A F T, et al. Mixed-culture transcriptome analysis reveals the molecular basis of mixed-culture growth in *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(23): 7775-7784.
- [9] 杭锋, 陈卫. 益生乳酸菌的生理特性研究及其在发酵果蔬饮料中的应用[J]. 食品科学技术学报, 2017, 35(4): 33-41.
HANG Feng, CHEN Wei. Research of beneficial lactic acid bacteria and its application for fermented fruit and vegetable juices[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 35(4): 33-41.
- [10] OLIVEIRA M N, SODINI I, REMEUF F, et al. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria[J]. International Dairy Journal, 2001, 11(11/12): 935-942.
- [11] 张根生, 王璇, 韩冰, 等. 含金属硫蛋白鸡蛋水解物对两种乳酸菌体外生长的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 99-104, 132.
ZHANG Gensheng, WANG Xuan, HAN Bing, et al. Effect of metallothionein egg hydrolysates on the growth of two lactic acid bacteria *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(4): 99-104, 132.
- [12] 段旭昌, 徐怀德, 李志成, 等. 乳酸菌发酵法改良甲鱼蛋白酶解液风味的影响[J]. 中国食品学报, 2004, 4(4): 39-42.
DUAN Xuchang, XU Huaide, LI Zhicheng, et al. A study on improving flavor of turtle protein enzymatic hydrolyzate by *Lactobacillus* fermentation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2004, 4(4): 39-42.
- [13] 方磊, 张瑞雪, 魏颖. 发酵大豆蛋白肽增强小鼠机体免疫力及抗疲劳能力[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(12): 146-150.
FANG Lei, ZHANG Ruixue, WEI Ying. Fermented soybean protein peptide enhances immunity and anti-fatigue ability of mice[J]. Cereals & Oils, 2022, 35(12): 146-150.
- [14] 刘玥, 刘晓兰, 郑喜群, 等. 复合蛋白酶水解玉米谷蛋白产物的抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 141-145.
LIU Yue, LIU Xiaolan, ZHENG Xiquan, et al. Antioxidant activity of hydrolysate from corn glutelin by protamex[J]. Food & Machinery, 2015, 31(1): 141-145.
- [15] HU N, LEI M, ZHAO X L, et al. Analysis of microbiota in Hainan Yucha during fermentation by 16S rRNA gene high-throughput sequencing[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020, 44(7): e14523.
- [16] HU N, LEI M, ZHAO X L, et al. Analysis of the microbial diversity and characteristics of fermented blueberry beverages from different regions[J]. Foods, 2020, 9(11): 1656.
- [17] 敖晓琳, 蒲彪, 蔡义民, 等. 发酵乳杆菌及其益生特性研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(2): 121-127.
AO Xiaolin, PU Biao, CAI Yimin, et al. Research progress of *Lactobacillus fermentum* and its probiotic characteristics[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2015, 34(2): 121-127.
- [18] 潘芬, 杨敏, 刘梦阳, 等. 豌豆蛋白酶解产物促进益生菌生长活性研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(2): 27-36.
PAN Fen, YANG Min, LIU Mengyang, et al. Growth-stimulating effects of pea protein hydrolysates on probiotics[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(2): 27-36.
- [19] 尹彦洋, 罗爱平, 李施, 等. 两种乳杆菌协同发酵牛骨粉促钙转化的工艺研究[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 178-183.
YIN Yanyang, LUO Aiping, LI Shi, et al. Optimization of symbiotic fermentation of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus* for calcium transformation in bovine bone powder[J]. Food Science, 2009, 30(21): 178-183.
- [20] 李志鹏. 同型异型发酵乳酸菌添加剂及浓度对玉米-苜蓿混合青贮效果的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
LI Zhipeng. Effects of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria additives and concentrations on the quality of corn-alfalfa mixed silage[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2022.
- [21] DRIEHUIS F, OUDE ELFERINK S J W H, VAN WIKSELAAR P G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria[J]. Grass and Forage Science, 2001, 56(4): 330-343.
- [22] 任婷婷, 岳田利, 魏欣, 等. 益生菌发酵苹果浆工艺优化及发酵前后挥发性风味成分分析[J]. 食品科学, 2019, 40(8): 87-93.
REN Tingting, YUE Tianli, WEI Xin, et al. Process optimization for production of fermented apple pulp with probiotics and analysis of volatile flavor components before and after fermentation[J]. Food Science, 2019, 40(8): 87-93.
- [23] 陈莹艳. 含抗氧化肽玉米酸奶的研制及其功能性研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2021.
CHEN Yingyan. Development of corn yogurt containing antioxidant peptides and its functional research[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2021.
- [24] 欧阳佳, 兰雪花, 李清明, 等. 复合乳酸菌发酵淮山工艺优化研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(20): 119-123.
OUYANG Jia, LAN Xuehua, LI Qingming, et al. Study on the optimization of compound *Lactobacillus* fermentation in yam[J]. Food Research and Development, 2020, 41(20): 119-123.
- [25] 刘慧. 现代食品微生物学[M]. 2版. 北京: 中国轻工业出版社, 2011.
LIU Hui. Modern food microbiology[M]. 2nd ed. Beijing: China Light Industry Press, 2011.
- [26] FILANNINO P, AZZI L, CAVOSKI I, et al. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 163(2/3): 184-192.
- [27] 李彤, 彭珍, 熊涛. 乳酸菌发酵对复合豆乳饮料营养成分、香气成分及抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(4): 111-118.
LI Tong, PENG Zhen, XIONG Tao. Effects of lactic acid bacteria on nutritional components, aroma components and antioxidant activity of compound soybean milk[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(4): 111-118.
- [28] ROBITAILLE G, LAPOINTE C, LECLERC D, et al. Effect of pepsin-treated bovine and goat caseinomacropeptide on *Escherichia coli* and *Lactobacillus rhamnosus* in acidic conditions[J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(1): 1-8.
- [29] 苏能能, 关倩倩, 彭珍, 等. 乳酸菌发酵对桑葚浆品质及抑菌性能的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(9): 117-124.
SU Nengneng, GUAN Qianqian, PENG Zhen, et al. Effects of lactic acid bacteria on quality and antibacterial properties of mulberry puree[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(9): 117-124.
- [30] NKHATA S G, AYUA E, KAMAU E H, et al. Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through

- activation of endogenous enzymes[J]. Food Science & Nutrition, 2018, 6(8): 2446-2458.
- [31] 高芳, 包亚莉, 华晓青, 等. 乳酸菌对发酵肉制品抑菌作用及风味特征的影响研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(9): 194-201.
GAO Fang, BAO Yali, HUA Xiaoqing, et al. Lactic acid bacteria: A review of their inhibitory effect on harmful microbes and effect on flavor characteristics of fermented meat products[J]. Food Science, 2023, 44(9): 194-201.
- [32] 李汴生, 卢嘉懿, 阮征. 植物乳杆菌发酵不同果蔬汁风味品质研究[J]. 农业工程学报, 2018, 34(19): 293-299.
LI Biansheng, LU Jiayi, RUAN Zheng. Favor quality of different fruit and vegetable juices fermented by *Lactobacillus plantarum*[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2018, 34(19): 293-299.
- [33] 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 Xin, LIU Yun, CHEN Meichun, et al. Study on amino acid metabolism characteristics of litchi juice-soybean protein fermented by eight lactic acid bacteria[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(23): 106-113.
- [34] 崔宁, 刘晓兰, 李冠龙, 等. 玉米谷蛋白水解物对乙醇诱导损伤LO2细胞的保护作用[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(6): 52-57.
CUI Ning, LIU Xiaolan, LI Guanlong, et al. Protective effect of corn glutenin hydrolysate on ethanol induced injury of LO2 cells[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(6): 52-57.
- [35] 杨郁荭, 白明. 乳酸菌抗氧化机理的初步探讨[J]. 中国乳业, 2011(7): 68-73.
YANG Yuhong, BAI Ming. Preliminary study on antioxidant mechanism of lactic acid bacteria[J]. China Dairy, 2011(7): 68-73.
- [36] LI W, JI J, RUI X, et al. Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus helveticus* MB2-1 and its functional characteristics *in vitro*[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 59(2): 732-739.
- [37] KWAW E, MA Y K, TCHABO W, et al. Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic - acid - fermented mulberry juice[J]. Food Chemistry, 2018, 250: 148-154.
- [38] 刘洋, 郭宇星, 潘道东. 4种乳酸菌体外抗氧化能力的比较研究[J]. 食品科学, 2012, 33(11): 25-29.
LIU Yang, GUO Yuxing, PAN Daodong. Comparative antioxidant activity of four species of lactic acid bacteria *in vitro*[J]. Food Science, 2012, 33(11): 25-29.
- [39] 陈姗. 乳酸菌发酵乳中抗氧化肽活性及序列结构的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
CHEN Shan. Study on activity and sequence structure of antioxidant peptides in *Lactobacillus* fermented milk[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2018.

加工编辑:张昱
收稿日期:2023-10-27