

一种涂抹型核桃奶酪的研制

田洋^{1,2,3}, 周艳^{1,2}, 赵存朝^{1,2,3}, 史崇颖¹, 陶亮^{1,2,3}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201) (2. 国家辣木加工技术研发专业中心, 云南昆明 650201)
(3. 云南省生物大数据重点实验室, 云南昆明 650201)

摘要: 本研究以去皮核桃仁为原料, 研究奶酪制作工艺, 开发一种发酵涂抹型核桃奶酪。以感官评分、游离氨基酸为参考指标, 筛选最适的酶解工艺条件; 单因素试验结合响应面优化, 研究发酵时间和奶油、乳清蛋白、蔗糖添加量对奶酪凝乳的影响, 确定核桃奶酪工艺。结果表明: 添加脂肪酶 Palatase 20000 L、风味蛋白酶 (添加比列为 1:2, 添加量为 0.2%) 复合酶解核桃乳时酶解效果最好, 感官评分最高, 游离氨基酸质量分数为 (764±44) mg/100 g; 响应面优化结果显示乳清蛋白、奶油、蔗糖的添加量分别为 1.56%、0.81%、6.37%, 发酵时间 24 h 时, 核桃奶酪感官评分达到最高 (90.5 分)。比较核桃发酵前后部分风味物质的含量差异, 发现核桃奶酪中的游离氨基酸和游离脂肪酸含量均显著提高, 其中游离氨基酸总量由发酵前的 279.97 mg/kg 增加到 1262.02 mg/kg, 对产品独特风味的形成贡献率较高。此工艺制备的核桃奶酪风味十足, 营养价值高, 具有较佳的感官品质, 可为核桃产业的综合开发提供参考。

关键词: 核桃; 奶酪; 发酵; 酶解; 工艺优化

文章篇号: 1673-9078(2020)01-169-177

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.024

Development of A Walnut Smear Cheese

TIAN Yang^{1,2,3}, ZHOU Yan^{1,2}, ZHAO Cun-chao^{1,2,3}, SHI Chong-ying¹, TAO Liang^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(2. National Research Center for Moringa Processing Technology, Kunming 650201, China)

(3. Yunnan Key Laboratory of Biological Big Data institute, Kunming 650201, China)

Abstract: In this work, peeled walnut kernel was used as raw material to study the cheese processing technology and develop a new vegetable-based cheese. Using sensory evaluation and free amino acid content as reference indexes, the optimum enzymatic hydrolysis conditions were selected. The effects of fermentation time and the addition of cream, whey protein and sucrose on curd milk were studied by single factor experiment combined with response surface optimization. The fermentation technology of walnut cheese was further studied. The results showed that: lipase Palatase 20000 L addition, flavor protease complex enzymatic hydrolysis (addition ratio was 1:2, addition amount was 0.2%), walnut milk had the best enzymatic hydrolysis effect and the highest sensory score. The content of free amino acid of the hydrolysate was (764±44) mg/100 g. Response surface optimization results showed that the sensory score of walnut was the highest (90.5) when the amount of whey protein, cream, sucrose and fermentation time were 1.56%, 0.81%, 6.37%, 24 hours, respectively. The content of free amino acids and free fatty acids in walnut cheese increased significantly after fermentation. The total content of free amino acids increased from 279.97 mg/kg to 1262.02 mg/kg, which played an important role in the formation of unique flavor of walnut cheese. The walnut cheese prepared by this technology had full flavor, high nutritional value and good sensory quality, which can provide reference for the comprehensive development of walnut industry.

Key words: walnut; cheese; fermentation; enzymatic hydrolysis; process optimization

核桃 (*Juglans Regia* L.) 又名胡桃、羌桃、万岁子, 系胡桃科核桃属植物, 是世界四大干果之一^[1]。

收稿日期: 2019-08-09

基金项目: 热作技术试验示范与服务支持 (18190001); 农业部国家木薯产业技术体系专项资金资助 (CARS-11-YNSJ); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才 (2018HB040); 校企合作专项 (KX14201705); 重大科技专项计划 (2018Z1001-1); 博士科研启动费 (A2002457)

作者简介: 田洋(1982-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能食品

通讯作者: 陶亮(1987-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 乳品科学

2017 年中国核桃种植面积超过 6000 万亩, 产量超过 330 万 t^[2]。近年来, 核桃产量不断攀升, 但精深加工产品严重不足, 市场消耗量低, 核桃价格大幅度下跌, 严重制约核桃产业健康发展。核桃具有较高的营养价值, 含有 20%~25% 的优质蛋白^[3], 8 种必需氨基酸含量合理, 谷氨酸和精氨酸的含量较高^[4], 人体消化率可达 87%^[5]; 油脂含量达 60%~75%, 其中不饱和脂肪酸占 90% 以上, 尤其是油酸、亚油酸及亚麻酸含量较高, 具有防止高血脂、冠心病、辅助改善记忆等功效

[6], 开发利用价值较高。

奶酪也叫干酪, 是以鲜奶为原料, 经杀菌后, 添加发酵剂和凝乳酶使乳凝固, 然后排除乳清、压榨成型后发酵成熟制得的高蛋白乳制品^[7]。植物蛋白优劣共存, 相较于动物蛋白, 有传统蛋白质含量高、脂肪质量优、不含乳糖、粗纤维、维生素与矿物质含量丰富等优点, 在环保可持续、动物福利等大环境下, 国内外植物蛋白替代乳悄然兴起。目前, 国内外已有利用植物蛋白进行部分或完全替代乳蛋白制备干酪的研究^[8-10], 大豆因其蛋白含量高、营养价值全面的被应用于奶酪的制备, 且研究对其凝乳工艺、制备条件等进行了创新和优化^[11]。与此同时, 核桃蛋白质也具有较高的泡沫稳定性、凝胶特性、乳化特性等适合奶酪加工的特性^[12,13], 并且核桃油脂可为奶酪提供特殊的香味和营养, 但国内外关于核桃奶酪的研究鲜有报道。因此, 本研究以核桃仁为主要原料, 采用酶解结合发酵法探究核桃蛋白凝乳工艺条件, 制备新型核桃奶酪, 为核桃精深加工奠定一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜去种皮核桃仁, 云南摩尔农庄生物科技开发有限公司; 奶油, 青岛雀巢有限公司; 乳清蛋白, 江苏豪蓓特食品有限公司; 脂肪酶 MER、脂肪酶 Palatase 20000 L、风味蛋白酶, 诺维信(中国)生物技术有限公司; 中性蛋白酶、风味蛋白酶 Flavourzyme 500 MG, 索莱宝生物科技有限公司。

嗜热链球菌 (CICC 6063); 植物乳杆菌 (CICC 20264); 干酪乳杆菌 (CICC 20252); 副干酪乳杆菌 (CICC 192210) 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心。

1.2 仪器与设备

JNL-50 胶体磨, 廊坊市恒诺机械有限公司; SRH60-70 高压均质机, 上海申鹿均质机有限公司; HJJ-6 水浴恒温电动搅拌器, 常州华奥仪器制造有限公司; HPX-9272ME 恒温培养箱, 上海博讯实业有限公司; SOPB-10 酸度计, 赛多利斯科学仪器北京有限公司; Agilent HP1100 氨基酸自动分析仪, 安捷伦科技(中国)有限公司; QP2010 气相色谱-质谱分析仪(配有 AOC-20 自动进样器), 日本 Shimadzu 公司。

1.3 方法

1.3.1 工艺设计

(1) 工艺流程:

核桃仁打浆→核桃乳→水浴 (50~60 °C) →酶解→配料→均质→杀菌 (85 °C、30 min) →冷却 (45 °C) →发酵→冷藏后熟 (0~2 °C 24 h) →切割包装→成品

(2) 操作要点:

①核桃浆: 利用 80~120 目的胶体磨对核桃仁进行磨浆, 料液比 1:2 (W/V), 每 kg 循环磨浆 5 min 后备用。

②酶解: 选择适当的蛋白酶在最适的酶解条件下酶解 2~4 h, 使核桃大分子蛋白和脂肪降解, 改变其蛋白、脂肪特性, 提高风味。

③均质: 采用二次均质对核桃浆进行均质, 先在 5~6 MPa 均质压力下均质 5 min; 再在 25~35 MPa 的更高压强下均质 10 min。

④杀菌: 选择在 85 °C 条件下杀菌 30 min, 既要保证充分杀菌, 又不能对核桃蛋白造成过度变性, 以免影响奶酪的质地及风味。

⑤发酵: 添加总体积的 6% 复合发酵剂 (嗜热链球菌: 植物乳杆菌: 干酪乳杆菌: 副干酪乳杆菌 1:1:1:1) 选择在适宜温度下发酵, 进一步促进奶酪凝块的形成及产酸产香。

⑥冷藏: 0~2 °C 冷藏 24 h, 低温贮藏使奶酪后熟成型。

1.3.2 核桃奶酪酶解工艺条件研究

1.3.2.1 脂肪酶、蛋白酶筛选与组合研究

以感官评分为参考指标, 研究脂肪酶 (脂肪酶 Palatase 20000 L、脂肪酶 MER) 对核桃奶酪品质的影响; 以感官评分、游离氨基酸含量为指标研究蛋白酶 (中性蛋白酶、复合蛋白酶、风味蛋白酶) 对核桃奶酪的品质影响。同时研究两种酶组合后的综合效果对奶酪品质的影响。

1.3.2.2 酶添加量的确定

以核桃乳酶解液的感官评分及游离氨基酸含量为指标, 添加脂肪酶 Palatase 20000 L、风味蛋白酶, 研究酶添加量对核桃奶酪品质的影响。

1.3.3 核桃奶酪发酵工艺研究

以感官评分为指标, 考察乳清蛋白添加量、奶油添加量、蔗糖添加量、发酵时间对奶酪品质的影响, 确定响应面优化最佳因素水平。利用响应面 Box-Behnken 的中心组合试验, 以 A 发酵时间、B 乳清蛋白添加量、C 奶油添加量以及 D 蔗糖添加量为自变量, 以核桃奶酪感官分为响应值, 通过响应面实验优化核桃奶酪最佳工艺配方。

1.3.4 产品质量

1.3.4.1 感官评定

表 1 核桃奶酪的感官评分标准

Table 1 Sensory scoring criteria for walnut cheese

| 项目 | 评分标准 |
|------------|-------------------------------|
| 色泽 (25分) | 乳白色 (17~25分) |
| | 乳白色, 色泽较灰暗 (9~16分) |
| | 乳白色, 色泽暗淡 (0~8分) |
| 滋味 (25分) | 酸甜适中, 有奶酪和核桃发酵特有的滋味 (17~25分) |
| | 较酸, 有奶酪和核桃发酵特有的滋味 (9~16分) |
| | 酸味弱, 具有较弱的奶酪和核桃发酵特有的滋味 (0~8分) |
| 气味 (25分) | 有核桃发酵香味, 醇香浓郁 (17~25分) |
| | 有核桃发酵香味, 醇香较浓 (9~16分) |
| | 轻微核桃发酵香味, 醇香不浓郁。(0~8分) |
| 组织状态 (25分) | 凝固性好, 均匀细腻 (17~25分) |
| | 凝乳较软, 质地均匀 (9~16分) |
| | 凝乳较软, 质地不均匀、有裂痕 (0~8分) |

表 2 不同酶及其组合对核桃奶酪感官评分及游离氨基酸含量的影响

Table 2 Effects of different enzymes and their combinations on sensory score and free amino acid content of walnut

| 酶类 | 感官评分/分 | 游离氨基酸质量分数/(mg/100 g) |
|----------------------------|-------------------------|----------------------|
| 脂肪酶 Palatase 20000 L | 76.50±1.8 ^c | / |
| 脂肪酶 MER | 61.70±2.1 ^e | / |
| 风味蛋白酶 | 79.60±1.7 ^c | 741±34 ^b |
| 中性蛋白酶 | 74.40±2.0 ^d | 538±23 ^c |
| 复合蛋白酶 | 82.30±1.1 ^b | 896±36 ^a |
| 脂肪酶 Palatase 20000 L+风味蛋白酶 | 85.80±1.4 ^a | 764±44 ^b |
| 脂肪酶 Palatase 20000 L+复合蛋白酶 | 78.30±0.9 ^c | 869±46 ^a |
| 脂肪酶 Palatase 20000 L+中性蛋白酶 | 82.40±1.6 ^b | 581±31 ^c |
| 脂肪酶 MER+风味蛋白酶 | 76.40±2.3 ^{dc} | 814±41 ^{ab} |
| 脂肪酶 MER+复合蛋白酶 | 74.50±1.7 ^d | 851±27 ^a |
| 脂肪酶 MER+中性蛋白酶 | 70.60±2.1 ^d | 604±37 ^c |

注: 数据为平均值±标准差 (X±SD) (n=3), 同列字母不同表示差异显著, $p<0.05$ 。

参照干酪的食品安全国家标准 GB 5420-2010, 选择 10 名品评员, 5 名男性, 5 名女性, 年龄 20~45 岁。取适量核桃奶酪置于 50 mL 烧杯中, 在自然光下观察色泽和组织状态, 闻其气味, 用温开水漱口, 品尝滋味, 感官评分标准见表 1。根据每个品评员的评分计算平均值为即为感官评分结果。

1.3.4.2 风味成分指标

游离氨基酸 (FAA) 测定参照 GB 5009.124-2016《食品中氨基酸的测定》的方法测定。游离脂肪酸含量测定参考 GB 5009.168-2016《食品中脂肪酸的测定》的方法测定。

1.3.5 数据处理

采用 Excel 2003 对实验数据进行整理, 采用 Graphpad prism 5.0 软件进行作图, 采用 SPSS 19.0 软件对单因素试验数据进行方差分析以及差异显著性分

析, $p<0.05$ 表示差异显著。采用 Expert-Design 8.0.6 统计软件进行响应面优化分析。

2 结果与讨论

2.1 核桃奶酪酶解工艺参数确定

2.1.1 脂肪酶及蛋白酶筛选

酶解是奶酪加工过程及后期成熟过程的关键环节, 其对奶酪凝块形成、产品质地和风味产生重要影响。本试验选择 2 种脂肪酶和 3 种蛋白酶进行酶解工艺研究, 除利用传统奶酪工艺中蛋白水解酶外, 还增加了脂肪酶的使用, 旨在利用核桃中的高脂肪的特点, 通过脂肪的降解形成奶酪的特殊风味。

由表 2 可知两种脂肪酶中脂肪酶 Palatase 20000 L 的作用较高, 其感官评分显著高于脂肪酶 MER, 形成

了优良风味。这主要是由于脂肪酶 Palatase 20000 L 广泛应用于手性拆分、手性醇、酸和脂的合成,具有很高的催化脂肪水解的产生良好风味的能力^[14]。Palatase 20000 L 也已经被成功应用于奶味香精的研究中^[15]。

对于水解蛋白的酶类,复合蛋白酶水解蛋白制备的核桃奶酪风味最好,香气强度最大,滋味饱满,且不存在苦涩味,感官评分达 82.3 分,但其与风味蛋白酶的感官评分无显著差异,同时风味蛋白酶较复合蛋白酶的凝乳时间稍短,且无乳清析出,复合蛋白酶有少量乳清析出,降低了产品成品率,这与周美玉^[16]等研究结果一致。为进一步筛选蛋白酶,对其组合后的奶酪感官品质及游离氨基酸总量进行测定。发现脂肪酶和蛋白水解酶的使用先后顺序对产品感官品质影响不大,两种组合中脂肪酶 Palatase 20000 L 和风味蛋白酶的效果最好,感官评分最高,脂肪酶 Palatase 20000 L 和复合蛋白酶的组合同样稍差,但奶酪中游离氨基酸总量高达 869 mg/100 g,可能是复合蛋白酶的特异水解产生苦味肽,导致产品感官品质下降。故确定最佳的酶组合为脂肪酶 Palatase 20000 L 和风味蛋白酶。

2.1.2 酶添加量筛选

根据酶的特点和产品加工特性确定脂肪酶 Palatase 20000 L、风味蛋白酶的添加比例为 1:2,根据奶酪制作工艺特点及预实验确定脂肪酶酶解时间为 180 min,风味蛋白酶水解时间为 40 min,研究两种酶的最适添加量。

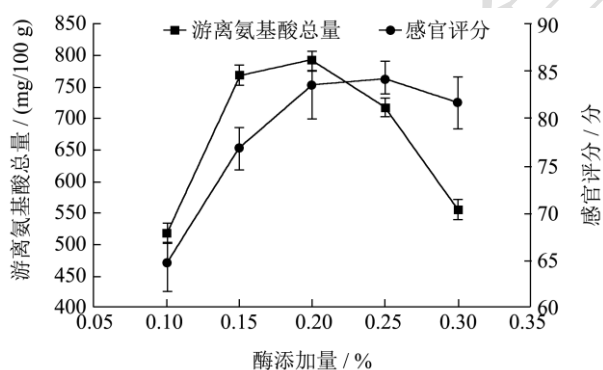


图1 脂肪酶添加量对感官评分的影响

Fig.1 Effect of lipase addition on sensory score

根据实验发现脂肪酶和蛋白水解酶的添加顺序对奶酪的感官品质无显著影响,确定核桃奶酪用酶的添加顺序为先添加脂肪酶 Palatase 20000 L 水解,后添加风味蛋白酶水解,酶添加量对核桃奶酪感官品质和游离氨基酸含量的影响如图 1 所示,随着酶添加量的增加,奶酪的感官评分呈现先上升后下降的趋势,游离氨基酸含量也呈现类似的趋势,不同之处在于酶添加量在 0.2% 时,奶酪的感官评分达到最高,为 86.1 分,添加量在 0.25% 时,游离氨基酸的总量达到最高(764

mg/100 g),但奶酪略有苦味,这可能时奶酪过度水解导致的,但酶添加量为 0.2%,感官评定中未感受到苦味,且游离氨基酸总量与酶添加量在 0.25% 时的组别差异不大,因此确定酶的最适添加量为 0.2%。

2.2 核桃奶酪发酵工艺参数确定

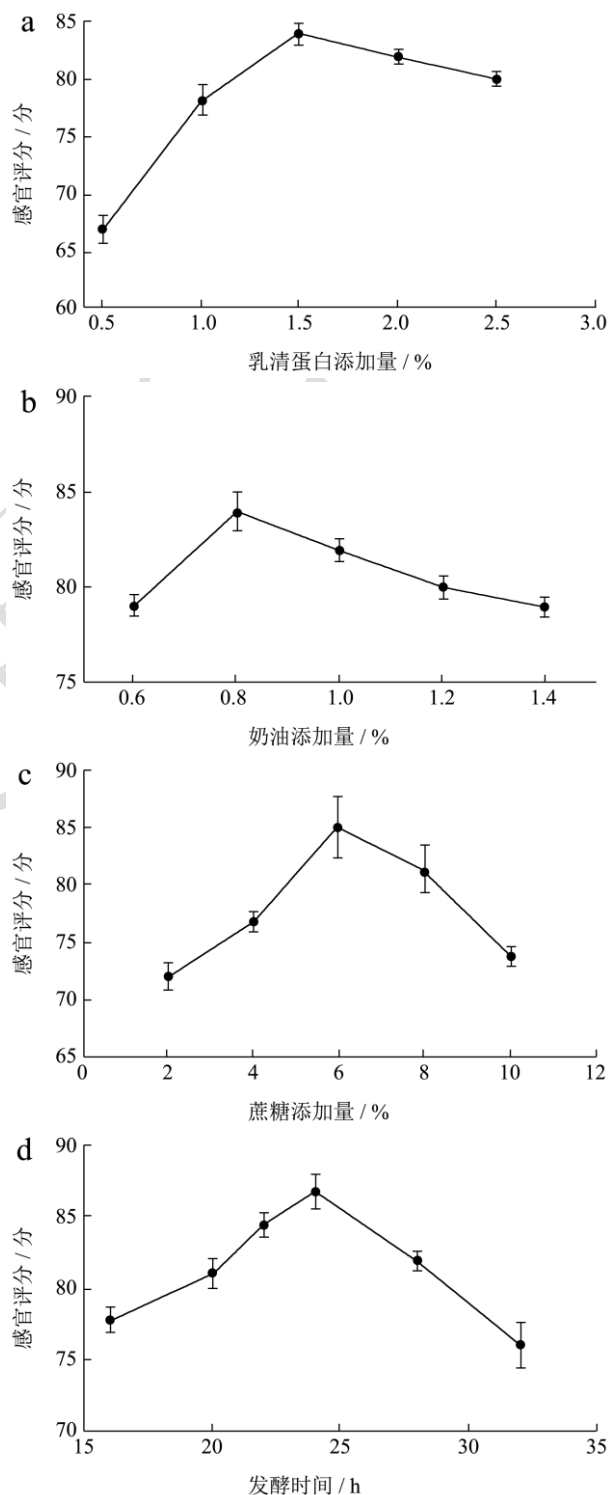


图2 辅料添加与发酵时间对核桃奶酪风味的影响

Fig.2 Effects of additive and fermentation time on walnut cheese flavor

根据核桃奶酪加工工艺及操作要点, 筛选乳清蛋白添加量(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%)、奶油添加量(0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.4%)、蔗糖添加量(2%、4%、6%、8%、10%)、发酵时间(18、20、22、24、26、28 h)对核桃奶酪感官评分的影响, 结果如图2所示。

乳清蛋白属于动物性蛋白, 其具有较好的改善奶酪风味及持水性的能力, 同时具有提高微生物发酵速率作用^[17,18]。由图2a可知, 添加乳清蛋白后, 核桃奶酪的感官评分随乳清蛋白添加量增加而增加, 乳清蛋白添加量在1.5%时, 感官评分最高, 随着乳清蛋白添加量的增加, 奶酪口感逐渐变差, 主要原因是由于乳清蛋白添加量过多可能会掩盖核桃的清香味, 导致奶酪核桃味变淡。因此确定乳清蛋白添加量为1.5%为宜。

由图2b可知, 奶酪的感官评分随着奶油添加量的增加呈现先上升后下降, 最终趋于平缓的趋势。当奶油添加量在0.8%时, 奶酪的感官评分最高, 达到84.0分, 随后感官评分降低, 这说明添加少量的奶油可以改善核桃奶酪的感官特性, 奶油添加过多增加了奶酪的油腻感, 口感变差, 因此确定奶油添加量为0.8%。苏蔚莹等研究表明当淡奶油添加量过少时, 酸奶口感较稀、粗糙; 当淡奶油添加量过多时, 酸奶风味被削弱, 风味较差, 与本实验结果类似^[19]。

蔗糖作为甜味料, 对奶酪的口感和风味有着重要影响, 同时蔗糖的添加量也会影响微生物的发酵, 进而影响奶酪的酸度及组织状态。从图2c可知, 奶酪感官评分随蔗糖添加量的增加呈现先上升后下降的趋势, 且不同添加量下, 感官评分区分度较高, 当蔗糖添加量较少时, 甜酸味不明显、组织状态发软, 添加量过多, 甜味拮抗了奶酪的发酵酸香味, 导致产品过甜且组织状态变差。当蔗糖添加量在6%时, 感官评分达到最高, 为最适添加量。

以感官评分(包括凝乳时间和酸度)为指标考察发酵时间对核桃奶酪品质的影响。预实验发现, 相较于菌种添加量, 发酵时间对奶酪的产品质量影响更大。发酵时间太短, 酸度不够, 形不成凝乳, 但随着发酵时间的增长, 酸度太大, 酸乳则会出现明显的异味^[20], 由图2d可知, 发酵时间对感官评分的影响较大, 发酵时间在18~28 h的区段内, 随着发酵时间的延长, 奶酪的感官评分呈现先上升后下降的趋势, 超过24 h后感官评分开始降低。杨永龙等人所述, 发酵产生的乳酸量增多, 虽然风味有所增加, 但产酸过多会使凝乳收缩过度, 乳清析出过多, 生产的凝块粗糙、松散、

有渣感^[21], 混合发酵剂产酸能力较强, 随时间的进一步延长, 及菌种基数的增加, 奶酪酸度增加, pH值过低, 导致奶酪质地太硬、口感粗糙, 有乳清析出。因此确定最佳发酵时间为24 h。

2.3 响应面试验

2.3.1 响应面试验设计

在单因素试验的基础上, 选择乳清蛋白添加量、奶油添加量、蔗糖添加量、发酵时间4个因素, 采用响应面试验设计, 进行4因素3水平试验, 试验因素水平见表3。

表3 响应面优化实验的因素及水平

Table 3 Factors and levels of response surface optimized experiments

| 水平 | 因素 | | | |
|----|----------|-------------|-----------|-----------|
| | A 发酵时间/h | B 乳清蛋白添加量/% | C 奶油添加量/% | D 蔗糖添加量/% |
| -1 | 22 | 1 | 0.6 | 4 |
| 0 | 24 | 1.5 | 0.8 | 6 |
| +1 | 26 | 2 | 1.0 | 8 |

利用 Design-Expert 8.0.6 软件对响应面实验设计结果如表4所示。

2.3.2 回归模型建立及方差分析

建立核桃奶酪感官评分与A发酵时间(h)、B乳清蛋白添加量(%)、C奶油添加量(%)、D蔗糖添加量(%)的二次方程模型为:

$$Y=86.36+2.22A+1.17B+0.092C+3.38D-1.4AB+0.48AC+1.17AD+4.75BC+1.67BD+2.4CD-10.68A^2-8.97B^2-9.12C^2-10.33D^2。$$

根据试验结果进行方差分析(见表5)。

由表5方差分析可知, 二次回归模型的 F 值=26.36, $p<0.0001<0.01$, 表明回归模型显著; 失拟性检验 F 值=1.15, $p=0.4833>0.05$, 失拟项不显著, 说明模型可以接受, 即表明所选核桃奶酪感官评分二次回归模型可用于预测设定的参数, 即可用于评估奶酪的感官评分。模型的确定系数 $R^2=0.9635$, 调整系数 $R^2_{Adj}=0.9269$, 说明该模型能解释 92.69% 响应值的变化, 因而拟合度较好。综上所述, 回归模型拟合程度良好, 试验误差小, 能够准确的分析和预测核桃奶酪感官评分, 说明实验操作可信度高, 具有一定的实践指导意义。由回归系数显著性表明, 在所取因素水平范围内, 各因素对核桃奶酪感官评分影响的顺序为: D 蔗糖添加量(%)>A 发酵时间(h)>B 乳清蛋白添加量(%)>C 奶油添加量(%)。

表4 响应面分析方案及结果

Table 4 Response surface analysis and results

| 编号 | 影响因素 | | | | 感官评分值/分 |
|----|----------|-------------|-----------|-----------|------------|
| | A 发酵时间/h | B 乳清蛋白添加量/% | C 奶油添加量/% | D 蔗糖添加量/% | |
| 1 | 24 | 2 | 0.8 | 4 | 63.90±1.12 |
| 2 | 26 | 1.5 | 0.6 | 6 | 68.30±1.06 |
| 3 | 22 | 2 | 0.8 | 6 | 66.40±2.3 |
| 4 | 24 | 1 | 0.6 | 6 | 70.60±1.23 |
| 5 | 24 | 1 | 0.8 | 4 | 61.30±1.34 |
| 6 | 24 | 1.5 | 0.8 | 6 | 85.90±1.87 |
| 7 | 24 | 1.5 | 0.6 | 4 | 65.80±1.65 |
| 8 | 22 | 1.5 | 1 | 6 | 62.30±0.96 |
| 9 | 26 | 1.5 | 0.8 | 8 | 70.60±1.52 |
| 10 | 24 | 2 | 1 | 6 | 76.20±2.09 |
| 11 | 24 | 1.5 | 0.8 | 6 | 87.90±2.16 |
| 12 | 24 | 1.5 | 0.8 | 6 | 83.20±0.86 |
| 13 | 24 | 2 | 0.8 | 8 | 74.60±1.09 |
| 14 | 24 | 1.5 | 0.8 | 6 | 85.90±1.36 |
| 15 | 26 | 2 | 0.8 | 6 | 70.30±0.98 |
| 16 | 24 | 1.5 | 0.8 | 6 | 88.90±1.32 |
| 17 | 24 | 1.5 | 0.6 | 8 | 69.60±0.85 |
| 18 | 22 | 1.5 | 0.8 | 4 | 63.20±2.33 |
| 19 | 26 | 1.5 | 0.8 | 4 | 63.90±1.54 |
| 20 | 22 | 1.5 | 0.8 | 8 | 65.20±1.39 |
| 21 | 24 | 1 | 0.8 | 8 | 65.30±1.57 |
| 22 | 22 | 1 | 0.8 | 6 | 61.10±1.16 |
| 23 | 24 | 1.5 | 1 | 8 | 73.60±1.31 |
| 24 | 24 | 1 | 1 | 6 | 64.90±2.18 |
| 25 | 24 | 1.5 | 1 | 4 | 60.20±1.02 |
| 26 | 26 | 1 | 0.8 | 6 | 70.60±0.76 |
| 27 | 24 | 2 | 0.6 | 6 | 62.90±0.99 |
| 28 | 26 | 1.5 | 1 | 6 | 66.80±0.85 |
| 29 | 22 | 1.5 | 0.6 | 6 | 65.70±1.62 |

表5 回归模型的方差分析和失拟性分析

Table 5 Analysis of variance and misalignment of regression model

| 方差源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 | 显著性 |
|-----------|---------|-----|--------|-------|----------|-----|
| 模型 | 1970.39 | 14 | 140.74 | 26.36 | < 0.0001 | ** |
| A-发酵时间 | 58.96 | 1 | 58.96 | 11.04 | 0.005 | ** |
| B-乳清蛋白添加量 | 35.02 | 1 | 35.02 | 6.56 | 0.0226 | * |
| C-奶油添加量 | 0.10 | 1 | 0.1 | 0.019 | 0.8926 | |
| D-蔗糖添加量 | 137.36 | 1 | 137.36 | 25.73 | 0.0002 | ** |
| AB | 7.84 | 1 | 7.84 | 1.47 | 0.2456 | |
| AC | 0.90 | 1 | 0.9 | 0.17 | 0.6872 | |
| AD | 5.52 | 1 | 5.52 | 1.03 | 0.3264 | |

转下页

| 接上页 | | | | | | | |
|----------------|---------|----|--------|--------|----------|----|--|
| BC | 90.25 | 1 | 90.25 | 16.9 | 0.0011 | ** | |
| BD | 11.22 | 1 | 11.22 | 2.10 | 0.1691 | | |
| CD | 23.04 | 1 | 23.04 | 4.32 | 0.0567 | | |
| A ² | 740.44 | 1 | 740.44 | 138.69 | < 0.0001 | ** | |
| B ² | 522.10 | 1 | 522.1 | 97.79 | < 0.0001 | ** | |
| C ² | 539.71 | 1 | 539.71 | 101.09 | < 0.0001 | ** | |
| D ² | 692.72 | 1 | 692.72 | 129.75 | < 0.0001 | ** | |
| 残差 | 74.74 | 14 | 5.34 | | | | |
| 失拟项 | 55.51 | 10 | 5.55 | 1.15 | 0.4833 | | |
| 纯误差 | 19.23 | 4 | 4.81 | | | | |
| 总和 | 2045.13 | 28 | | | | | |

注: **为极显著 ($p < 0.01$); *为显著 ($p < 0.05$); $R^2 = 0.9635$; $R^2_{Adj} = 0.9269$ 。

2.3.3 最佳条件的确定和回归模型的验证

根据此回归方程,通过响应面法得到最优核桃奶酪工艺条件为发酵时间 24.22 h、乳清蛋白添加量为 1.56%、奶油添加量 0.81%、蔗糖添加量 6.37%,此条件下感官评分达到 86.90。根据响应面拟合的最佳条件,进行 3 次平行验证实验,同时为方便实际操作及参数设定,经调整后确定核桃奶酪工艺条件为:发酵时间 24 h,乳清蛋白添加量 1.56%、奶油添加量 0.81%、蔗糖添加量 6.37%。在上述最佳条件下进行验证实验,得到核桃酸奶粉冻干粉的感官评分值为 90.5 分,与理论值接近。

2.4 产品部分风味物质

奶酪风味物质的形成是一个复杂和多化学反应的过程,不仅有化学反应,还包括菌种内部的生化反应^[22],而酶解和发酵法是制备天然奶酪风味剂的主要方法^[16]。酶解产品香型较为单调^[23],发酵产品香气弱,且耗时长^[24]。植物基核桃奶酪采用发酵法与酶法结合,即添加了脂肪酶、蛋白水解酶,又结合微生物发酵提高了奶酪感官品质及呈香强度。其中游离脂肪酸和游离氨基酸对奶酪影响较大。

2.4.1 游离脂肪酸含量比较

脂肪酶是一种特殊的酯酶,能水解三酰甘油酯为脂肪酸、二酰甘油酯、单酰甘油酯及甘油,其天然底物一般是不溶于水的长链脂肪酸酰基酯,特点是在油水界面起催化作用,发生酯类化合物的水解、醇解、酸解、酯交换及合成等,同时也可促进风味前体物质(游离脂肪酸)的降解和风味物质的生成。

脂肪酸对奶酪风味形成及提高产品功能品质具有重要作用,同时具有显著的健康生理意义^[25,26]。由表 6 可知,核桃奶酪相较于核桃在脂肪酸含量方面产生了很大的变化,本试验仅对具有代表性五种脂肪酸进

行了测定,饱和脂肪酸棕榈酸和硬脂酸,单不饱和脂肪酸油酸,多不饱和脂肪酸亚油酸和 α -亚麻酸。核桃奶酪中 5 种游离脂肪酸含量均较核桃浆高,且棕榈酸、硬脂酸和油酸差异显著($p < 0.05$),分别提高 0.96、1.61、0.26 倍。差异变化呈现饱和脂肪酸>单不饱和脂肪酸>多不饱和脂肪酸的趋势,表明甘油脂的脂肪酸不饱和程度越高,脂肪酶对其的催化活性越大。核桃奶酪较核桃浆风味品质显著提高可能与游离脂肪酸含量的变化有关,添加的脂肪酶 Palatase 20000 L 及微生物代谢酶促使油脂发生了水解、酰基转移、酯化、酯交换等反应,并产生副产物^[27],形成了奶酪的特殊香味,对核桃奶酪风味形成贡献较大。

表 6 核桃奶酪脂肪酸含量对比 (%)

Table 6 Comparison of fatty acids in walnut cheese (%)

| 脂肪酸种类 | 检测方法 | 样品名称 | |
|---------------|------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | 核桃浆 | 核桃奶酪 |
| 十六烷酸(棕榈酸) | GB 5009.168-2016 | 2.78±0.74 ^b | 5.45±1.24 ^a |
| 十八烷酸(硬脂酸) | | 0.78±0.34 ^b | 2.03±0.65 ^a |
| 油酸 | | 6.72±1.89 ^b | 8.49±2.03 ^a |
| 亚油酸 | | 17.76±2.49 ^a | 19.34±3.01 ^a |
| α -亚麻酸 | | 1.95±0.88 ^a | 2.49±1.01 ^a |

注:同行字母不同表示差异显著, $p < 0.05$ 。

2.4.2 游离氨基酸含量比较

风味物质含量是评估奶酪品质的重要指标,风味物质很多是由短链肽、小分子肽以及游离氨基酸形成的,其中游离氨基酸中,芳香族氨基酸和支链氨基酸对风味的影响较大^[28]。由表 7 可知,核桃浆经酶解、发酵制成核桃奶酪后氨基酸的含量发生了显著改变,其游离氨基酸总量由 279.97 mg/kg 增加到 1262.02 mg/kg,其中谷氨酸、缬氨酸、亮氨酸、赖氨酸和精氨酸的含量均超过了 100 mg/kg,属于主体氨基酸。氨基酸是奶酪中不同挥发性风味物质重要的前体物质

[29,30], 在脱氨酶、脱羧酶、转氨酶和裂解酶的作用下, 它们可以通过不同途径转化, 进一步降解后形成新的风味物质, 奶酪中检测到的所有种类游离氨基酸含量均提高, 这也是奶酪风味形成的重要原因。

核桃奶酪中的芳香族氨基酸、风味氨基酸、必需氨基酸总量分别为 97.41 mg/kg、399.85 mg/kg、601.58 mg/kg, 分别较核桃浆提高 7.46 倍、2.26 倍、6.72 倍, 芳香族氨基酸是花香物质和酚香物质, 提高比例最高, 对形成奶酪风味物质贡献率最高。

表 7 核桃奶酪制备前后游离氨基酸含量比较 (mg/kg)

Table 7 Comparison of total free amino acids in walnut cheese

| 氨基酸种类 | 样品名称 | |
|------------|------------|-------------|
| | 核桃浆 | 核桃奶酪 |
| ASP 天门冬氨酸★ | 36.51±0.48 | 78.94±1.08 |
| THR 苏氨酸◆ | 42.40±1.31 | 69.26±1.28 |
| SER 丝氨酸★ | 25.98±1.01 | 64.82±0.78 |
| GLU 谷氨酸★ | 34.66±0.96 | 110.17±2.31 |
| GLY 甘氨酸★ | 5.66±0.34 | 28.34±0.23 |
| ALA 丙氨酸★ | 13.82±0.21 | 78.04±0.81 |
| CYS 胱氨酸 | 5.35±0.27 | 46.49±0.37 |
| VAL 缬氨酸◆ | 12.76±1.07 | 109.02±0.49 |
| MET 蛋氨酸◆ | 2.44±0.11 | 39.61±0.56 |
| ILE 异亮氨酸◆ | 4.98±0.14 | 53.31±0.64 |
| LEU 亮氨酸◆ | 7.25±0.34 | 144.2±1.97 |
| TYR 酪氨酸▲ | 4.97±0.35 | 19.34±0.24 |
| PHE 苯丙氨酸▲◆ | 6.55±0.78 | 78.07±1.00 |
| HIS 组氨酸◆ | 12.82±1.17 | 52.42±0.56 |
| LYS 赖氨酸◆ | 3.98±0.30 | 147.72±0.98 |
| ARG 精氨酸 | 53.97±1.96 | 102.73±1.76 |
| PRO 脯氨酸★ | 5.87±0.09 | 39.54±0.56 |
| 芳香族氨基酸 | 11.52 | 97.41 |
| 风味氨基酸 | 122.50 | 399.85 |
| 必需氨基酸 | 77.92 | 601.58 |
| 游离氨基酸总量 | 279.97 | 1262.02 |

注: 色氨酸因水解未检测到; ▲芳香族氨基酸; ★风味氨基酸; ◆必需氨基酸。

3 结论

3.1 核桃奶酪的加工中酶的使用为脂肪酶 Palatase 20000 L: 风味蛋白酶是 1:2, 添加量为 0.2%。核桃奶酪的辅料添加量为乳清蛋白 1.56%、奶油 0.81%、蔗糖 6.37%, 发酵时间为 24 h。加工的奶酪产品香气浓郁, 滋味厚重, 粘弹性好, 是一种适合中国人口味的植物奶酪。

3.2 经过酶解、发酵后, 奶酪产品中游离脂肪酸和游

离氨基酸变化明显, 其含量显著提高, 脂肪酸差异变化的影响顺序呈现饱和脂肪酸>单不饱和脂肪酸>多不饱和脂肪酸的趋势, 核桃奶酪中游离氨基酸总量为 1262.02 mg/kg, 为发酵前样品的 4.51 倍。脂肪酸、氨基酸作为风味物质的前体物质, 经进一步的水解、氧化形成核桃奶酪特殊风味, 后期可进一步探究奶酪挥发性风味物质的组成及形成机制。

3.3 核桃奶酪以植物蛋白为主要原料, 区别于动物源的奶酪产品, 具有一定的新颖性, 营养价值更高, 具有一定的市场前景。

参考文献

- [1] 任娇艳, 史传超, 常博, 等. 核桃蛋白的分离制备及其酶解物的抗氧化特性[J]. 现代食品科技, 2019, 35(3): 118-124
REN Jiao-yan, SHI Chuan-chao, CHANG-Bo, et al. Separation and preparation of walnut protein and antioxidant properties of its enzymatic hydrolysates [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35 (3): 118-124
- [2] 苏为耿, 蒲成伟, 阚欢, 等. 云南 6 种核桃栽培品种果实特性与营养成分分析[J]. 粮食与油脂, 2018, 31(4): 68-71
SU Wei-geng, PU Cheng-wei, KAN-Huan, et al. Fruit characteristics and nutrient composition analysis of six walnut cultivars in Yunnan [J]. Grain and Oil, 2018, 31 (4): 68-71
- [3] 李汉洋, 李建杰, 王帅, 等. 核桃多肽的抗氧化活性及其分子量氨基酸组成特性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(13): 1-7
LI Han-yang, LI Jian-jie, WANG Shuai, et al. Antioxidant activity, molecular weight and amino acid composition of walnut polypeptide [J]. Food Industry Science and Technology, 2018, 39(13): 1-7
- [4] 王帅, 戴连漪, 库雪晶, 等. 核桃营养组成与保健功能研究进展[J]. 中国酿造, 2016, 35(6): 30-34
WANG Shuai, DAI Lian-yi, KU Xue-jing, et al. Advances in nutrient composition and health function of walnuts [J]. Brewing in China, 2016, 35 (6): 30-34
- [5] LI Jing, WANG Ji, LIU Chunlei et al. Protein hydrolysates from changbai mountain walnut (maxim.) boost mouse immune system and exhibit immunoregulatory activities [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018: 4576561
- [6] Albert C M, Gaziano J M, Willett W C, et al. Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death in the physicians' health study [J]. Archives of Internal Medicine, 2002, 162(12): 1382-1387
- [7] 李玉竹. 天然奶酪 VS 再制干酪[J]. 食品与健康, 2017, 8: 62-63

- LI Yu-zhu. Natural cheese VS processed cheese [J]. Food and Health, 2017, 8: 62-63
- [8] 黄东旭,姜亦超,胡新新,等.以大豆为主要原料制备新鲜豆乳干酪的工艺研究[J].食品工业,2017,38(9):99-103
HUANG Dong-xu, JIANG Yi-chao, HU Xin-xin, et al. Study on the technology of preparing fresh soybean cheese with soybean as main raw material [J]. Food Industry, 2017, 38(9): 99-103
- [9] 吴晓菊,张志强.不同制备条件对开心果干酪的品质影响[J].新疆畜牧业,2018,33(3):25-29
WU Xiao-ju, ZHANG Zhi-qiang. Effects of different preparation conditions on the quality of pistachio cheese [J]. Xinjiang Animal Husbandry, 2018, 33(3): 25-29
- [10] 李德海,孙常雁,孙莉婕,等.松仁奶酪生产工艺及其感官评定研究[J].食品科学,2009,30(2):50-53
LI De-hai, SUN Chang-yan, SUN Li-jie, et al. Production technology and sensory evaluation of pine nut cheese [J]. Food Science, 2009, 30(2): 50-53
- [11] 王旭峰. CaSO₄ 诱导大豆分离蛋白乳状液凝胶性质影响因素的研究[D].无锡:江南大学,2017
WANG Xu-feng. CaSO₄ induced the influence of factors on the gel properties of soy protein isolate emulsion [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017
- [12] Mao X Y, Hua Y F. Chemical composition, molecular weight distribution, secondary structure and effect of NaCl on functional properties of walnut (*Juglans regia* L) protein isolates and concentrates [J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(8): 1473-1482
- [13] 宫学斌,王婷婷,宫俊杰,等.核桃加工及综合利用研究进展[J].中国果菜,2018,38(3):17-20
GONG Xue-bin, WANG Ting-ting, GONG Jun-jie, et al. Progress in walnut processing and comprehensive utilization [J]. Chinese Fruits and Vegetables, 2018, 38 (3): 17-20
- [14] 王蓓.酶法制备天然牛奶风味基料及牛奶香精的研究[D].无锡:江南大学,2009
WANG Bei. Enzyme preparation of natural milk flavor base and milk flavor [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009
- [15] 刘晓艳,成坚,徐晓飞.非水体系脂肪酶催化生成奶味香精的研究[J].食品工业科技,2007,28(4):191-193
LIU Xiao-yan, CHENG Jian, XU Xiao-fei. Study on the production of milk flavor by lipase catalyzed by non aqueous system [J]. Food Industry Technology, 2007, 28(4): 191-193
- [16] 周美玉,傅亮,赵燕楠.蛋白酶辅助发酵结合脂肪酶解法制备天然奶酪风味剂[J].中国乳品工业,2016,44(4):13-16
ZHOU Mei-yu, FU Liang, ZHAO Yan-nan. Preparation of natural cheese flavoring agent by protease-assisted fermentation combined with lipase hydrolysis [J]. China Dairy Industry, 2016, 44(4): 13-16
- [17] 赵强忠,赵谋明,冯立科,等.不同酪蛋白水解物对低脂发酵乳发酵参数的影响[J].食品与发酵工业,2007,5:133-136
ZHAO Qiang-zhong, ZHAO Mou-ming, FENG Li-ke, et al. Effects of different casein hydrolysates on fermentation parameters of low-fat fermented milk [J]. Food and Fermentation Industry, 2007, 5: 133-136
- [18] Yazici F, Akgun A. Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural, and sensory properties of strained yoghurt [J]. Journal of Food Engineering, 2004, 62(3): 245-254
- [19] 苏蔚莹,蔡舒轶,薛雯婧,等.果味希腊酸奶工艺研究[J].安徽农学通报,2018.
SU Wei-ying, CAI Shu-yi, XUE Wen-jing, et al. Study on the technology of fruit-flavored Greek yoghurt [J]. Anhui Agricultural Bulletin, 2018
- [20] 毕广萍,吴秀丽.发酵条件对红枣鲜奶酪制备效果及品质的影响[J].粮食流通技术,2016,6(11):84-87
BI Guang-ping, WU Xiu-li. Effects of fermentation conditions on the preparation and quality of fresh cheese from jujube [J]. Grain Circulation Technology, 2016, 6(11): 84-87
- [21] 杨永龙,任宪峰,张杰,等.蓝纹奶酪生产工艺及质量控制[J].中国食物与营养,2011,17(11):40-43
YANG Yong-long, REN Xian-feng, ZHANG Jie, et al. Production process and quality control of blue cheese [J]. Food and Nutrition of China, 2011, 17(11): 40-43
- [22] 郭本恒.现代乳品手册[M].北京:化学工业出版社,2004: 335-336
GUO Ben-heng. Modern Dairy Handbook [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 335-336
- [23] Kilcawley K N, Wilkinson M G, Fox P F. Enzyme-modified cheese-chemistry physics and microbiology [J]. International Dairy Journal, 1998, 8(1):1-10
- [24] 汪薇,赵文红,白卫东,等.乳酸菌发酵制备天然奶味香精的研究[J].食品与发酵工业,2010,10:191-195
WANG Wei, ZHAO Wen-hong, BAI Wei-dong, et al. Study on the preparation of natural milk flavor by lactic acid bacteria fermentation [J]. Food and Fermentation Industry, 2010, 10: 191-195

(下转第 21 页)