

# 发酵核桃乳研究现状及展望

秦 明, 贾英民\*

(北京工商大学食品与健康学院, 北京 100048)

**摘要:** 发酵核桃乳作为一种植物蛋白发酵乳, 具有一定的营养优势和来源优势, 未来发展前景广阔。但是, 目前发酵核桃乳也存在着一些需要重点关注的问题, 如发酵菌种类过于单一、关于发酵前后营养成分和功能性的探讨过少等。本文围绕发酵核桃乳, 重点总结发酵菌株的选择、发酵工艺研究、发酵过程中营养物质转化及功能性发酵核桃乳的研究现状, 并对发酵核桃乳今后的研究重点提出建议, 以期对发酵核桃乳的研究与产品开发提供参考。

**关键词:** 发酵核桃乳, 乳酸菌, 营养成分, 发酵, 功能性

## Research Status and Prospect of Fermented Walnut Milk

QIN Ming, JIA Ying-min\*

(School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** Fermented walnut milk, as a fermented drink of plant protein, has certain nutritional advantages and source advantages. However, there are also some problems that need to be paid more attention to, such as too single species of fermentation strain, too little research on nutrition and function during fermentation. This paper summarizes the key content of the current research on fermented walnut milk, including the screening of strains, the research of fermentation process, the conversion of main nutrients in the fermentation process and the current problems of fermented walnut milk. In order to provide reference for the research and product development of fermented walnut milk, some suggestions are also put forward for the future research of fermented walnut milk.

**Key words:** fermented walnut milk; *Lactobacillus*; nutrients; fermentation; functionality

中图分类号: TS252.54

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)14-0354-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.14.057

引文格式: 秦明, 贾英民. 发酵核桃乳研究现状及展望[J]. 食品工业科技, 2020, 41(14): 354-360.

核桃(*Juglans regia L.*)属胡桃科(*Juglandaceae*)核桃属(*Juglans L.*)<sup>[1]</sup>, 是世界重要坚果, 我国核桃产量占世界总产量的48%, 居世界第一。核桃中的核桃壳一般用来制作活性炭, 核桃青皮可入药, 核桃仁则主要用来榨油及制作核桃饮品<sup>[2]</sup>, 核桃仁中含有4%的水, 15%的蛋白质, 65%的脂肪和14%的碳水化合物(其中7%为膳食纤维), 核桃仁中18种氨基酸齐全, 8种必需氨基酸的含量合理, 多不饱和脂肪酸也较高(占总脂肪酸的72%), 其中大多数为 $\alpha$ -亚麻酸(14%)和亚油酸(58%)<sup>[3-4]</sup>, 且其不含胆固醇<sup>[5]</sup>, 更有一些研究表明摄取核桃仁后人体内总胆固醇含量、LDL/HDL比率显著下降<sup>[6]</sup>; 目前, 核桃类饮品中接受度最高的为核桃露, 它是将核桃仁与水经磨浆、调配、均质、杀菌等工艺制成的饮品, 核桃露的出现极大的提高了核桃类加工产品的市场占有量, 提升了核桃类产品的经济效益, 以“六个核桃”为例, 截至2018年, 公司产品总销量87.4万吨, 总销售收入81.4亿元, 位居国内植物蛋白行业产值第一。发酵核桃乳是一种以核桃为原料, 经磨浆、发酵、后熟

等步骤制得的乳酸菌发酵植物蛋白饮品。乳酸菌(lactic acid bacteria, LAB)是一类能利用可发酵碳水化合物产生大量乳酸的革兰氏阳性菌的统称, 它通过产生有机酸(主要是乳酸)引起原料快速酸化, 同时产生各类香气化合物和营养成分。这种过程可以延长食品的保质期, 防止有害微生物的侵袭, 同时达到改善质地, 提升风味的目的<sup>[7]</sup>。在以往研究中, 乳酸菌制成的发酵饮品多是以酸奶为主的。但由于素食主义者和乳糖不耐人群对发酵饮品需求的日益增加, 以发酵豆乳、发酵核桃乳等为对象的植物发酵乳相关研究应运而生。

发酵核桃乳分为纯核桃发酵乳和添加牛奶的发酵核桃乳两种。敬思群<sup>[8]</sup>、夏君霞等<sup>[9]</sup>以核桃仁为原料, 经磨浆、均质、杀菌等工艺制作核桃乳, 并向其中接种乳酸菌, 研制出了纯核桃发酵乳, 更适合乳糖不耐和素食主义者的消费习惯; 李彬<sup>[10]</sup>、郑晓霞等<sup>[11]</sup>用核桃仁辅以牛奶, 经乳酸菌发酵制成的则为核桃酸奶饮料。近年来, 发酵核桃乳研究主要集中在纯核桃发酵乳。研究发现, 核桃乳经发酵后, 储藏稳定性

收稿日期: 2019-10-10

作者简介: 秦明(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物, E-mail: qinmingofficial@163.com。

\* 通讯作者: 贾英民(1961-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: jiayingmin@btbu.edu.cn。

基金项目: 北京市科技计划课题(Z181100009318005)。

更高<sup>[12]</sup>且香气丰富<sup>[13]</sup>。且由于乳酸菌的生长代谢,核桃饮品中的糖分会降低<sup>[14]</sup>,脂肪和蛋白质等大分子物质也会部分分解为更易吸收、功能活性较强的小分子<sup>[15]</sup>,如必需氨基酸、亚油酸、亚麻酸等;乳酸菌的产酸、产香特性使饮品具有浓郁的核桃香味和发酵香味的同时<sup>[10]</sup>也使产品抑菌性提高,发酵核桃乳解决了核桃露存在的一些问题,丰富了核桃加工产品的种类,提升了核桃加工产品的功能活性,具有很大的发展潜力。

为了掌握发酵核桃乳未来的发展趋势,更好的丰富植物发酵乳产业,提升核桃类产品市场占有量。本文综述发酵核桃乳相关国内外文献,探讨其发酵菌株的选择、发酵工艺的优化及发酵过程中营养物质的转化等研究内容及进展,并对研究现状进行总结和分析,以期对未来发酵核桃乳深入研究提供参考。

## 1 发酵菌种的选择及应用

乳酸菌属于厌氧菌和兼性厌氧菌,乳酸菌接入核桃乳后会利用其中的发酵性糖类产生能量、乳酸以及一些还原性产物,但由于不同乳酸菌对核桃乳中的糖类等碳源、蛋白质、肽等氮源和其他营养因子利用程度不同,产生的代谢产物也各有差异,因此,发酵菌种的选择在一定程度上决定着发酵核桃乳的品质和口感,也是目前发酵核桃乳研究的最主要因素之一。已报道的用于发酵核桃乳的菌种(表1)有乳杆菌属(*Lactobacillus*)菌种15种,包括保加利亚乳杆菌(*L.bulgaricus*)、植物乳杆菌(*L.plantarum*)、植物乳杆菌亚种(*L.plantarum* subsp.*Plantarum*)嗜酸乳杆菌(*L.acidophilus*)、食果糖乳杆菌(*L.fructivorans*)、双发酵乳杆菌(*L.Double fermentation*)、短乳杆菌(*L.brevis*)、戊糖乳杆菌(*L.pentosus*)、发酵乳杆菌(*L.fermentum*)、德氏乳杆菌乳酸亚种(*L.delbrueckii* subsp.*Lactis*)、瑞士乳杆菌(*L.helveticus*)、哈尔滨植物乳杆菌(Harbin *L.plantarum*)、鼠李糖乳杆菌(*L.rhamnosus*)、干酪乳杆菌(*L.casei*)、副干酪乳杆菌(*L.paracasei*)、球菌属4种,包括戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)、乳酸片球菌(*P.acidilacticii*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)、意大利肠球菌(*Enterococcus italicicus*),另外还有食窦魏斯氏菌(*Weissella cibaria*)和欺诈骗珠菌(*Leuconostoc fallax*)。目前应用最广的菌种是嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌,它们也是牛乳中最主要应用的菌种;而其他应用菌株则是各研究者们从不同原料中筛选所得,筛选主要依据为酸度、pH、活菌数等生化指标及感官评价。如张加敏等<sup>[16]</sup>通过研究菌株在纯核桃乳中的生长活力、产酸特性及感官性能,筛选出了适宜发酵核桃乳的干酪乳杆菌05-20和植物乳杆菌07-191;赵娟娟等<sup>[17]</sup>从发酵面包、白芥丝、泡菜、酸菜中分离到14株乳杆菌,经核桃乳发酵产酸特性初筛,确定鼠李糖乳杆菌、副干酪乳杆菌、食窦魏斯氏菌、干酪乳杆菌四株菌适合发酵核桃乳;张洪礼等<sup>[18]</sup>通过pH、酸度及感官评定分析,从9株乳酸菌中筛选出嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌进行核桃乳的发酵。随

着研究的深入,学者们发现,两种适用于核桃乳发酵的单一菌种混合发酵后会出现“共生现象”(symbiosis)<sup>[22]</sup>,这能更好地保证核桃乳的稳定性和发酵性能,从此混菌发酵液逐渐成为首选方法。如敬思群等<sup>[19]</sup>发现利用保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌在1:1比例下共同发酵核桃乳,发酵结束时活菌数可达到 $7.9 \times 10^8$  CFU/mL,产品凝固状态及感官评价良好。张洪礼等<sup>[18]</sup>研究发现,应用嗜酸乳杆菌和植物乳杆菌1:1复配发酵的核桃乳营养价值及感官评分明显优于相同发酵条件下保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌混菌发酵的核桃乳,表明核桃乳发酵最适菌种仍需深入研究。除应用单菌或两种菌混菌发酵外,也有采用多菌种共同发酵的例子,如夏君霞等<sup>[9]</sup>采用丹尼斯克复合益生菌进行发酵,Cui等<sup>[20]</sup>直接将含丰富菌种的开菲尔粒投入核桃乳发酵,但由于开菲尔粒中菌种复杂,因此,其中各菌种活菌数与其他研究相比较低,同时此研究分析了不同菌种在核桃乳中的存活比例,并发现乳杆菌属在核桃乳中的存活能力比其他类型菌种稍强。乳酸菌的筛选在一定程度上能改善发酵核桃乳的品质和营养价值,是改良发酵核桃乳产品的方法之一,但目前针对发酵核桃乳筛选菌株的研究并未有探讨其功能性的研究,参考其他发酵豆乳研究中的菌种筛选,未来可以从生物可及性<sup>[21]</sup>、降胆固醇能力<sup>[22]</sup>、降血压血脂能力<sup>[23]</sup>、抑菌能力<sup>[24-25]</sup>等方面入手,有针对性地筛选菌株应用于未来发酵核桃乳相关研究中。

为了提升菌株活性,更好的发挥其在核桃乳中的功能特性,很多研究还会对发酵菌种进行“驯化”。驯化即采用在牛乳中逐步增加核桃乳含量的方法,使乳酸菌能够在100%含量核桃乳中很好的生长。如刘俊果等<sup>[15]</sup>将乳酸菌逐步投入牛奶与核桃乳原浆不同比例的培养基进行培养,同时在每种培养基中添加乳清粉,驯化至第9代时菌种即可用于制作生产发酵剂。张洪礼等<sup>[18]</sup>将待筛选的9株乳酸菌逐步驯化至活菌数 $> 10^6$  CFU/mL后再进行实验,以此发挥菌株的最大潜力。周杏子等<sup>[26]</sup>将乳酸菌经渐进驯化法培养后,产酸量比驯化前提高了50%,活菌数增加至 $(0.32 \pm 0.02) \times 10^8$  CFU/mL,比驯化前提高约17倍。菌种驯化主要针对的是未进行以核桃乳为基料筛选菌种的情况,采用菌种驯化的方法可以提升菌种在核桃乳中的适应性和活性,使其在核桃乳的发酵中更好的发挥作用,因此,在未来研究中,可以选取一些上文中提到的具有降胆固醇、降血脂等功能性的乳酸菌进行驯化,使其能在核桃乳发酵中发挥作用。

菌株接种量的大小在一定范围内直接影响乳酸菌在核桃乳中的定殖,对产酸速度有较大影响。一般来讲,接种量增加时产酸速度会增加,但产酸速度过快,又不利于产品风味物质的形成,会造成香气变差甚至产生异味;且产生的酸性物质过多时会抑制乳酸菌自身生长、繁殖<sup>[9]</sup>,因此,在发酵过程中应选择合适的接种量。一般发酵核桃乳的接种量控制在3%~6%之间<sup>[8-9,20]</sup>,经过发酵及其工艺的优化后,发

表1 核桃乳发酵菌株的选择

Table 1 Selection of fermentation strains in walnut milk

菌种	活菌数(CFU/mL)	酸度(°T)	参考文献
嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌	$0.47\sim8.42\times10^8$	68~105	[8,10~11,15,18~19,26~28]
意大利肠球菌	$3.00\times10^8$	38.5~44.2	[14]
植物乳杆菌亚种	$8.00\times10^8$		[14,28]
植物乳杆菌	$3.23\sim8.2\times10^8$		[16,18,28]
嗜酸乳杆菌	$7.35\times10^7$	60~90	
德氏乳杆菌乳酸亚种,发酵乳杆菌, 食果糖乳杆菌,双发酵乳杆菌, 戊糖乳杆菌,乳酸片球菌	/	<40	[18]
短乳杆菌	/		
戊糖片球菌、欺诈明串珠菌	/	/	[28]
食窦魏斯氏菌	/	40~45	[17]
瑞士乳杆菌	$1.37\times10^8$	/	
哈尔滨植物乳杆菌	$4.50\times10^8$	/	[16]
鼠李糖乳杆菌	$1.07\sim2.67\times10^8$		
副干酪乳杆菌	$2.27\times10^8$	40~45	[16~17]
干酪乳杆菌	$5.87\sim7.83\times10^8$		
开菲尔粒(混合菌种)	乳球菌,乳杆菌和 酵母活菌数分别为 $8.20\times10^7, 1.10\times10^8, 1.00\times10^6$	50~90	[20]

酵核桃乳内活菌数大部分能达到 $10^8$  CFU/mL以上,酸度范围在38~105 °T之间,此范围内可以视为核桃乳成功发酵。综上所述,在发酵核桃乳研究中,菌种的筛选决定着发酵核桃乳的品质和营养价值,而菌种驯化和接种量的优化是保障核桃乳成功发酵的条件之一,在发酵核桃乳研究中,菌种的选择和利用问题是首先要考虑的问题,也是决定发酵核桃乳功能性的决定性因素。

## 2 发酵工艺研究

发酵饮料的技术研究主要集中在菌种和工艺。上文中提到的菌种是发酵产品生产的核心竞争力;而发酵工艺则决定着发酵周期和产品质量。发酵核桃乳的研究也是如此,在选择好适合发酵的菌种后,要在适宜菌种生长的条件下对发酵工艺进行优化,以达到目标发酵产物含量的增加或风味、口感提升的目的,目前发酵核桃乳的工艺优化主要集中于碳源和发酵条件的优化。

### 2.1 碳源的优化

由于碳源是微生物培养和发酵时最重要的营养物质,决定着微生物的存活。因此,在发酵核桃乳工艺优化研究中,碳源优化一般作为首要的优化因素。由于核桃乳自身所含有的碳源较少,无法满足乳酸菌的正常发酵<sup>[14]</sup>,为此通常会外源添加碳源。

碳源优化主要包括碳源种类、比例及碳源添加量的优化,在碳源种类和比例优化方面,夏君霞<sup>[9]</sup>在核桃乳中同时添加葡萄糖和蔗糖,发现当葡萄糖:蔗糖=4:3时,产品的组织状态较好,无析水分层现象,无异味,酸度合适,感官评分最高<sup>[15]</sup>,而超过4:3后,可滴定酸度过大,产品感官评价分数下降,因此,选择葡萄糖:蔗糖=4:3为最后的碳源比例。敬思群<sup>[8]</sup>

在核桃乳中先加入3%的乳糖促进发酵,再加入蔗糖缓和产品酸味,改善了产品的口味。刘俊果等<sup>[15]</sup>在核桃乳中分别添加乳清粉,复合糖原(乳清粉:果葡糖浆=4:6)的和不同浓度的果葡糖浆,发现乳清粉的发酵速度最快,复合糖原居中,果葡糖浆最慢,但由于乳清粉成本较高,因此,选择了复合糖原作为碳源,此时发酵速度适中且成本较低。

在碳源添加量优化方面,目前优化的碳源多为蔗糖,如朱俊玲等<sup>[27]</sup>、李彬<sup>[10]</sup>、郑晓霞等<sup>[11]</sup>制作的添加牛奶的发酵核桃乳从感官评价出发,均确定核桃乳发酵最优蔗糖添加量为7%。而在纯发酵核桃乳方面,周杏子等<sup>[26]</sup>添加1%~6%的蔗糖进行发酵,经正交实验后确定在蔗糖添加量为5%时,发酵核桃乳中活菌数最高。Cui等<sup>[20]</sup>添加3%~10%的蔗糖进行发酵,最终以可滴定酸度和感官评价为指标,确定核桃乳添加8%蔗糖时发酵效果最好。

综合以上研究发现,在发酵核桃乳中常用的碳源为蔗糖,蔗糖口味温和,且不易高温褐变<sup>[10]</sup>,它也是与蛋白质亲和性最高的糖类,能够防止均质处理后已微细化的蛋白质分子聚沉,利于提高产品稳定性<sup>[9]</sup>,虽也有研究添加葡萄糖、乳糖、乳清粉或复合糖原等其他碳源进行发酵,但从适用性和成本考虑,大部分研究均使用蔗糖作为碳源。当碳源在3%~8%的范围内,既能保证发酵的稳定,也能获得较好的口感,而具体的添加量与发酵菌种、目标产物及口味相关。因此,在碳源优化中应根据生化指标,营养指标及感官评价等指标及时调整配比,达到最优搭配。

### 2.2 发酵条件的优化

发酵核桃乳发酵条件的优化主要针对发酵温度及发酵时间。发酵温度的选择通常依据菌种自身的

特性,如以保加利亚乳杆菌及嗜热链球菌为发酵菌种时,发酵温度一般定为这两株菌生长的最适温度,即42℃左右。还有一些研究其发酵温度基本为菌株被筛选出时的温度,如张加敏等<sup>[16]</sup>的研究中利用的13株益生菌,最适温度为37℃左右。张洪礼等<sup>[12]</sup>利用植物乳杆菌及嗜酸乳杆菌发酵核桃乳时发酵温度为42℃。而在Cui等<sup>[21]</sup>的研究中,由于其应用的发酵剂为菌种复杂的开菲尔粒,在综合可滴定酸度和感官评价进行正交实验后,确定其最适发酵温度为30℃。夏君霞等<sup>[9]</sup>也通过以上两种指标进行正交实验判断发酵核桃乳使用的丹尼斯克混合菌剂的最适温度为42℃。因此,在优化发酵温度时,应综合考虑产品风味、生化指标、营养成分及成本,根据实际情况及研究目的选择适宜的发酵温度。

发酵核桃乳的发酵过程通常会在6~8 h内完成。敬思群<sup>[8]</sup>研究发现,发酵核桃乳中菌株对数生长期出现在3 h以后,最高菌数出现在4 h左右( $8.42 \times 10^8$  CFU/mL),4 h以后菌数下降,但酸度增加,最终以感官评价和酸度为指标确定发酵时间为6 h。夏君霞等<sup>[9]</sup>研究发现,6~8 h内,发酵时间越长,产品的可滴定酸度越高,当发酵时间超过8 h,产酸慢慢趋于平衡,这是因为产生的有机酸和代谢产物会抑制益生菌自身的生长代谢。且在8~10 h左右,部分营养指标如脂肪和氨基态氮的含量变化也趋于平缓<sup>[19]</sup>,最终确定发酵时间为8 h。其他研究中,核桃乳发酵时间也多在6~8 h之间,但Cui等<sup>[20]</sup>将含有多菌种的开菲尔粒投入核桃乳,分别发酵9、12、15 h,最终通过可滴定酸度及感官评价确定最优发酵时间为12 h。发酵时间的确定与菌种代谢息息相关,当不同研究之间的发酵条件、应用菌种差别较大时,发酵时间可能会有较大的变化。因此,应综合考虑菌种生长代谢过程、各生化与营养指标与感官评价确定发酵时间。

### 3 核桃乳发酵过程中主要营养物质转化规律

核桃乳经乳酸菌发酵后,原有成分中的蛋白质、脂肪、碳水化合物等大分子营养物质被部分分解,产生小分子肽和氨基酸、脂肪酸、单糖等物质,一方面使饮品更易吸收,另一方面也提升了营养价值,使风味更加丰富。

#### 3.1 蛋白质的降解和小分子氨基态氮的变化

刘俊果等<sup>[15]</sup>研究发现,发酵前核桃乳中蛋白质约为1.50%,而在发酵后下降为约0.50%,下降比例近2/3,说明乳酸菌会利用蛋白质进行繁殖代谢,目前关于乳酸菌如何利用核桃蛋白进行发酵的研究较少,但张加敏等<sup>[16]</sup>测定发现干酪乳杆菌05-20和植物乳杆菌07-191发酵的核桃乳蛋白酶活力较强,说明两株菌在发酵核桃乳过程中分泌了蛋白酶,促进了蛋白质向小分子肽和氨基酸转化,更易于人体的消化吸收,这也说明了不同乳酸菌对蛋白质利用的程度不同。由于核桃乳中的蛋白质在水中的溶解性差,对热极为敏感,在储藏过程中易出现蛋白沉淀及挂壁现象<sup>[12]</sup>,因此,蛋白质的降解增加了乳液的稳定性,使产品货架期相应延长。

核桃乳发酵后氨基态氮含量明显增加,敬思群等<sup>[19]</sup>研究发现,核桃乳发酵6 h后,氨基态氮含量从原来的1.01%增加至6.90%,氨基态氮的变化可间接说明可溶性蛋白增加及蛋白质向肽、氨基酸的转化,这种变化有利于人体对蛋白质的吸收,提高了蛋白质的利用率。核桃乳经发酵后,氨基酸总含量明显增加(1.62% ± 0.03%到3.15% ± 0.07%),且8种必需氨基酸含量均有不同程度的增加(必需氨基酸总量从0.80% ± 0.2%增加到1.62% ± 0.34%)<sup>[9]</sup>,由此可以看出发酵过程使核桃乳中氨基酸的含量和比例发生了变化。赵娟娟等<sup>[17]</sup>则发现不同菌株发酵产生氨基酸的含量比例不同,副干酪乳杆菌L7发酵后产品氨基酸含量增幅最大,由0.67%提高至1.60%,其中赖氨酸含量提高了5倍,亮氨酸含量提高了1.5倍。核桃乳经发酵后氨基态氮的增加不仅使营养成分更易于吸收,也显著提高了发酵核桃乳的营养价值。

#### 3.2 脂肪的降解及脂肪酸的变化

核桃乳中约含有5%的脂肪,这些含量过高的脂肪容易引起氧化酸败,影响核桃乳的风味和口感<sup>[28]</sup>,且由于密度原因,脂肪含量过高会引起脂肪上浮,使饮品分层,影响产品稳定性。核桃乳经发酵后,脂肪由4.79%降至2.68%<sup>[15,19]</sup>,近一半被降解或利用,提高了乳液的稳定性。陈臣等<sup>[28]</sup>将发酵乳杆菌、戊糖片球菌等五个菌种分别接入核桃乳中进行发酵后发现(表2),油酸含量降低,亚油酸、亚麻酸等多不饱和脂肪酸含量升高,棕榈酸、硬脂酸等饱和脂肪酸含量变化不大。其中,亚油酸、亚麻酸是人体必需脂肪酸,他们是体内合成前列腺素和PGE的必需物质,而PGE有着防治血栓、降血压、促进卵磷脂合成、抗衰老的特殊功效。另外有研究发现用丹尼斯克复合益生菌发酵核桃乳产生了活性物质共轭亚油酸<sup>[9]</sup>,其是亚油酸的一组构象和位置异构体。共轭亚油酸具有清除自由基,增强人体的抗氧化能力和免疫能力,防止动脉粥样硬化等作用。核桃乳中本身含有大量的脂肪及不饱和脂肪酸,除了脂肪转化为脂肪酸外,研究表明亚油酸可以利用微生物产生的亚油酸异构酶或含有该酶的细胞,将亚油酸及其衍生物有选择地转化成共轭亚油酸<sup>[29]</sup>。

#### 3.3 糖类的变化

目前关于发酵核桃乳发酵前后糖类变化的研究较少。仅发现李佳<sup>[14]</sup>系统研究过核桃乳发酵前后糖类含量变化的情况,其在原核桃乳中共检测到5种糖类,分别是果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、棉籽糖,由于在检测中发现核桃乳内的总糖含量过低,因此在发酵前补加了40 g/L的蔗糖。在发酵结束后,蔗糖含量由59.27 g/L降至51.39 g/L,棉子糖含量由0.71 g/L降至0.61 g/L,原含量为0.70 g/L的麦芽糖则全部被消耗,而果糖和葡萄糖两种单糖含量变化不明显。尽管果糖和葡萄糖可以直接供乳酸菌的消耗利用,使其含量降低,但由于蔗糖、麦芽糖和棉籽糖可以被微生物水解成单糖,使单糖的含量升高,因此,发酵前后果糖和葡萄糖的含量变化不大。

表2 乳酸菌发酵对核桃乳中脂肪酸比例的影响

Table 2 Effects of lactobacillus fermentation on fatty ratio in walnut drink

样品	棕榈酸(%)	硬脂酸(%)	油酸(%)	亚油酸(%)	亚麻酸(%)
核桃乳原液	5.72	2.66	24.70	59.18	7.75
植物乳杆菌亚种	5.48	2.65	21.01	60.53	10.33
发酵乳杆菌	5.58	2.67	20.84	60.58	10.23
保加利亚乳杆菌	5.74	2.61	20.73	60.70	10.23
嗜热链球菌	5.71	2.65	20.95	60.53	10.16
戊糖片球菌	5.48	2.59	20.70	60.79	10.43
欺诈明串珠菌	5.52	2.57	20.49	60.98	10.43

注:表中百分比代表某脂肪酸占五种脂肪酸总量的比例。

发酵核桃乳中糖类总量随着发酵和后熟时间而降低,糖类不仅为乳酸菌的生长繁殖提供原料,也会被微生物利用产生单糖和有机酸,一方面会使更易吸收,另一方面有机酸的形成会使发酵核桃乳 pH 降低并使其凝结,也会使其产生独特风味,同时适量的酸度会抑制有害微生物的繁殖,促进胃液分泌和胃肠蠕动,提升机体对各类营养成分的利用率。

### 3.4 香气成分的变化

香气成分的种类和含量影响饮品的风味和营养价值,是饮品研究中的重要考察指标之一。发酵核桃乳中有机酸、脂肪酸等营养成分含量的增减在一定程度上会改变物质的香气成分,李佳在研究中发现,未发酵核桃乳中共有 47 种香气物质<sup>[14]</sup>,其中主要为醇类和醛类物质,含量较高的为正己醇(14.52%)和正己醛(13.92%),醛类物质是不饱和脂肪酸氧化后的产物,主要呈现生味和油脂味,这种异味即使加热也难以去除<sup>[30]</sup>。但在核桃乳中加入意大利肠球菌和植物乳杆菌共同进行发酵后,醛类含量从 19.13% 降到 1.12%,醛类种类也相应减少,说明乳酸菌发酵在一定程度可以减少核桃乳的生味和油脂味,改善风味。同时乳酸菌的产酸、产香特性使风味物质种类增加近 50%,酮类、酸类、醇类化合物含量呈明显增加的趋势<sup>[10]</sup>,酮类主要增加的物质是乙偶姻,主要表现出清香、脂香和甜香,是乳制品发酵后的特征香气物质;酸类主要增加的为己酸,主要呈椰肉油气味;醇类主要为具有芳香气味的正己醇,其含量的增加可能是由于乳酸菌在脂肪代谢过程中在乙醇脱氢酶的作用下生成。因此,发酵在一定程度上改善了核桃乳的风味,使其口感更加丰富,适口性更强。

## 4 发酵核桃乳功能性成分研究

功能性食品是目前食品产业发展的主流,现今发酵核桃乳的发展主要集中在提高发酵性能和菌种筛选的研究上,而对特定活性成分提升的研究较少。现对发酵核桃乳中的功能性成分进行总结,以期对其未来研究提供参考。

目前发酵核桃乳的功能活性研究主要集中于抗氧化活性研究,如周杏子等<sup>[26]</sup>发现发酵核桃乳具有明显的抗氧化活性,发酵核桃乳( $C = 0.988 \text{ g/mL}$ )对 DPPH 自由基的清除率、羟基自由基的清除率和总抗

氧化能力分别相当于质量浓度为  $(0.46 \pm 0.02)$ 、 $(6.32 \pm 0.17)$  和  $(0.21 \pm 0.02) \text{ mg/mL}$  的抗坏血酸溶液,且其抗氧化活性远高于相同质量浓度的苹果多酚提取物。目前发酵核桃乳的抗氧化活性机理还不完全清楚,但发酵核桃乳中的核桃肽含量的增加可能是其抗氧化活性提升的原因之一,如有研究<sup>[31]</sup>发现模拟胃肠消化制备的脱脂核桃粗蛋白水解物(DWMSP)具有抗氧化性且具有改善大脑神经元功能障碍的功能<sup>[32]</sup>,因此,可参照 Aguilar 等<sup>[33]</sup>对植物乳杆菌发酵牛乳产生的肽的研究方法,采用肽的分级定量,SDS-PAGE 等方式追踪探讨发酵核桃乳中小分子肽与抗氧化活性的关系,以此为依据优化提升营养价值。另一个可能则是发酵核桃乳中多酚含量的提升促进了抗氧化活性的增加,如 Sina 等<sup>[34]</sup>发现,核桃中含有包括阿魏酸、香草酸、香豆酸、丁香酸、杨梅素和胡桃醌等的酚类有机酸,这些有机物具有很高的抗氧化生理活性,但目前研究较少,可以在之后的研究中有针对性的检测和监控发酵核桃乳中相应活性成分含量变化,分析探讨其与抗氧化性的关系。

除抗氧化活性外,目前关于发酵核桃乳功能性的研究几乎没有。但发酵核桃乳中具有一些潜在的功能活性成分非常值得进一步探究,如核桃乳中含有较高含量的谷氨酸和亚油酸,其分别是  $\gamma$ -氨基丁酸<sup>[35]</sup> 及共轭亚油酸的合成前体。 $\gamma$ -氨基丁酸是中枢神经系统中很重要的抑制性神经递质,它能促进脑的活化性,健脑益智,具有良好的降血压功效;共轭亚油酸也是具有清除自由基,防止动脉粥样硬化等作用的活性物质。在其他发酵植物蛋白饮品研究中已有对  $\gamma$ -氨基丁酸或共轭亚油酸含量提升的研究。如韩昱姝等<sup>[36]</sup>在泡菜汁中筛选高产  $\gamma$ -氨基丁酸的乳酸菌,并在含有 0.50% L-谷氨酸钠的牛奶中发酵, $\gamma$ -氨基丁酸终产量可达  $1.68 \text{ mg/mL}$ ; Song 等<sup>[37]</sup>以赤小豆乳为基料,筛选出产  $\gamma$ -氨基丁酸含量最高的鼠李糖乳杆菌并进行发酵优化,研究发现,添加 1.44% 半乳糖,2.27% 谷氨酸钠和 0.20% 吡哆醇可以使  $\gamma$ -氨基丁酸产量增加 22.40 倍,因此,未来可以考虑选取适宜的菌种筛选方法和发酵工艺来进行富含  $\gamma$ -氨基丁酸发酵核桃乳的研制。在共轭亚油酸方面,目前有研究发现乳酸菌中的嗜酸乳杆菌可以大大提高共轭亚油酸的产量<sup>[29]</sup>, Haraguchi 等<sup>[25]</sup>则利用植物乳杆菌发酵豆浆,共轭亚油酸产量达到  $29.83 \mu\text{g/mL}$ 。但

目前少有以核桃乳为底物进行发酵提升共轭亚油酸产量的研究的先例,可以以此为参考,筛选菌种,优化发酵,强化发酵核桃乳的功能性。

此外,发酵核桃乳还可以效仿其他植物蛋白饮品的研究思路,向其中添加维生素、矿物质、氨基酸、益生元等<sup>[38]</sup>来增强饮品的功能性。由于植物蛋白中可溶性碳水化合物浓度较低<sup>[39]</sup>,因此,大部分乳酸菌在其中活性受到限制,添加益生元可以提升乳酸菌活性,调节肠道,是目前发酵植物蛋白饮品发展趋势之一<sup>[40]</sup>。Devi 等<sup>[24]</sup>就将核桃和其他谷物共同以益生菌发酵,制成了新型合生元饮品,有效的增加了益生菌在其中的活性。Rinaldoni 等<sup>[41]</sup>在超滤豆奶中加入菊粉、Chavan 等<sup>[42]</sup>在果汁中加入混合发芽的谷类、Rossana 等<sup>[43]</sup>研制出由谷物,大豆和葡萄混合制成的酸奶类饮料都使益生菌更好的发挥作用,增强了胃肠功能和免疫系统,影响血糖水平和改善血浆脂质,强化了产品的营养特性。这对纯核桃乳发酵有一定启示,益生元等膳食补充剂在适宜的配比下可能会改善核桃发酵乳的理化性质与营养成分,提升益生菌的活性,增强核桃发酵乳的功能性。

## 5 总结与展望

核桃仁营养成分丰富,且我国核桃产量居世界第一,因此,其作为饮品原料具有很好的发展前景,目前核桃露是市场份额最高的核桃产品,为更好的发挥核桃的营养特性,提升饮品的消化吸收能力和乳液储存稳定性,发酵核桃乳应运而生。发酵核桃乳目前常用发酵菌种为保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌,发酵温度大多为42℃左右,发酵时间6~8 h,接种量3%~6%。发酵后的核桃乳,糖类、蛋白质及脂肪部分被分解为单糖及有机酸、氨基酸和脂肪酸,既更易被人体吸收,提升了营养价值,也增强了乳液稳定性。此外,发酵后的核桃乳香气成分及抗氧化活性增加,增强其营养特性与风味,提升了植物蛋白饮品的价值。但是,发酵核桃乳也存在着一些未来需要重点关注的问题:核桃乳发酵菌种类过于单一,主要应用的仍为嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌,而筛选菌种时大多仅关注酸度和感官评价,因此,在未来更应该考虑筛选使发酵核桃乳营养成分和功能活性提升的菌种;关于发酵核桃乳发酵前后营养成分和功能性的探讨过少,促进人体健康的机制尚不清楚,这也是发酵核桃乳在国内外受关注程度较低的原因之一<sup>[44]</sup>。因此,需要对发酵核桃乳营养成分变化进行全面的分析,并参考其他类发酵乳产品对于乳酸菌营养代谢相关的研究<sup>[45]</sup>,有针对性的筛选菌种、进行工艺优化,深入挖掘其功能性,为打造核桃类健康食品,形成发酵核桃乳产业打下坚实基础。

## 参考文献

- [1] 傅本重,邹路路,朱洁倩,等.中国核桃生产现状与发展思路[J].江苏农业科学,2018,18(46):5~8.
- [2] 黄黎慧,黄群,孙术国,等.核桃的营养保健功能与开发利用[J].粮食科技与经济 2009,34(4):48~50.
- [3] 郝艳宾,王克建,王淑兰,等.几种旱实核桃坚果中蛋白

- 质、脂肪酸组成成分分析[J].食品科学,2002(10):123~125.
- [4] Calvo P, Lozano M, Espinosa M, et al. In-vitro evaluation of the availability of  $\Omega$ -3 and  $\Omega$ -6 fatty acids and tocopherols from microencapsulated walnut oil [J]. Food Research International, 2012, 48(1):316~321.
- [5] 李敏,刘媛,孙翠,等.核桃营养价值研究进展[J].中国粮油学报,2009,24(6):166~170.
- [6] Iwamoto M, Imaizumi K, Sato M, et al. Serum lipid profiles in Japanese women and men during consumption of walnuts [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2002, 56(7):629~637.
- [7] Leroy F, De Vuyst L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food ferm.
- [8] 敬思群.乳酸菌发酵核桃乳的研究[J].食品与发酵工业,2006(07):157~160.
- [9] 夏君霞,李喜层,赵慧博,等.益生菌发酵纯核桃乳的工艺研究[J].现代食品科技,2018,34(07):175~180.
- [10] 李彬.核桃乳酸饮料的工艺研究[J].食品科学,2003(04):90~93.
- [11] 郑晓霞,张慧芳,罗文健,等.核桃发酵乳的制备工艺研究[J].农产品加工,2016(06):23~26.
- [12] 左锋,关琛,董洋洋,等.提高全脂核桃乳稳定性生产工艺研究[J].农产品加工(学刊),2014(16):22~24.
- [13] 张文静,魏琳,袁唯.带种皮核桃乳饮料的研制[J].食品工业,2018,39(07):50~54.
- [14] 李佳.发酵核桃乳乳酸菌的筛选、鉴定及性能研究[D].河北科技大学,2016.
- [15] 刘俊果,畅天狮,张桂,等.发酵型核桃乳饮料的研制[J].食品科技,2000(04):47~48.
- [16] 张加敏,赵丽娜,李晨,等.发酵核桃乳优良益生菌的筛选及蛋白酶活力的测定[J].食品科技,2017,42(10):2~6.
- [17] 赵娟娟,吴荣荣,程书梅.发酵型核桃乳生产专用乳杆菌的选育[J].中国酿造,2017,36(06):107~110.
- [18] 张洪礼,徐素云,彭邦远,等.核桃粕发酵乳菌种筛选及发酵条件优化研究[J].中国酿造,2016,35(09):180~184.
- [19] 敬思群,李桂荣,陈晓平.乳酸菌发酵核桃乳工艺及物性学研究[J].中国乳业,2005(04):52~56.
- [20] Cui X, Chen S, Wang Y, et al. Fermentation conditions of walnut milk beverage inoculated with kefir grains [J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 50(1):349~352.
- [21] Rui X, Xing G, Zhang Q, et al. Protein bioaccessibility of soymilk and soymilk curd prepared with two *Lactobacillus plantarum* strains as assessed by in vitro gastrointestinal digestion [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 38: 155~159.
- [22] Aarti C, Khusro A. Functional and technological properties of exopolysaccharide producing autochthonous *Lactobacillus plantarum* strain AAS3 from dry fish based fermented food [J]. LWT, 2019, 114:108387.
- [23] Zhang X, Wu Y, Wang Y, et al. The protective effects of probiotic-fermented soymilk on high-fat diet-induced hyperlipidemia and liver injury [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 30:220~227.
- [24] Devi S M, Ramaswamy A M, Halami P M. In situ production

of pediocin PA-1 like bacteriocin by different genera of lactic acid bacteria in soymilk fermentation and evaluation of sensory properties of the fermented soy curd [J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(11):3325-3332.

[25] Haraguchi Y, Goto M, Kuda T, et al. Inhibitory effect of Lactobacillus plantarum Tennozu-SU2 and Lactococcus lactis subsp. lactis BF1 on Salmonella Typhimurium and Listeria monocytogenes during and post fermentation of soymilk [J]. LWT, 2019, 102:379-384.

[26] 周杏子, 王子娜, 曾红胜, 等. 核桃发酵乳的制备工艺及抗氧化活性研究 [J]. 北京林业大学学报, 2013, 35(05): 139-143.

[27] 朱俊玲, 卢智, 李强, 等. 凝固型核桃发酵酸乳的研制 [J]. 食品工业, 2005(03): 56-57.

[28] 陈臣, 李艳, 卞德华. 核桃仁与发酵核桃乳中脂肪酸 GC 法的甲酯化条件优化及含量测定 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(13):314-320.

[29] 陈佳, 邓源喜, 许晖, 等. 共轭亚油酸的生物合成以及在食品业中的应用 [J]. 赤峰学院学报(自然科学版), 2017, 33(11):27-28.

[30] 刘志强, 王珍辉. 酶法脱除大豆腥味因子研究 [J]. 食品工业科技, 2003(05): 17-18.

[31] Feng L, Peng F, Wang X, et al. Identification and characterization of antioxidative peptides derived from simulated in vitro gastrointestinal digestion of walnut meal proteins [J]. Food Research International, 2019, 116:518-526.

[32] Feng L, Wang X, Peng F, et al. Walnut Protein Hydrolysates Play a Protective Role on Neurotoxicity Induced by d-Galactose and Aluminum Chloride in Mice [J]. Molecules, 2018, 23(9):2308.

[33] Aguilar-Toalá J E, Santiago-López L, Peres C M, et al. Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific Lactobacillus plantarum strains [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(1):65-75.

[34] COSMULESCU S N, TRANDAFIR I, ACHIM G, et al. Phenolics of Green Husk in Mature Walnut Fruits [J]. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2010, 38(1):53.

(上接第 353 页)

与生物技术学报, 2014, 33(8):785-792.

[44] Li X, Bi J, Chen Q, et al. Texture improvement and deformation inhibition of hot air-dried apple cubes via osmotic pretreatment coupled with instant control pressure drop (DIC) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 101:351-359.

[45] Wang J, Mujumdar A S, Deng L Z, et al. High-humidity hot air impingement blanching alters texture, cell-wall

[35] Ohmori T, Tahara M, Ohshima T. Mechanism of gamma-aminobutyric acid (GABA) production by a lactic acid bacterium in yogurt-sake [J]. Process Biochemistry, 2018, 74:21-27.

[36] 韩显妹, 李永转, 胡凤山, 等. 一株高产  $\gamma$ -氨基丁酸乳酸菌的筛选及应用 [J]. 中国酿造, 2017, 36(12):72-75.

[37] Song H Y, Yu R C. Optimization of culture conditions for gamma-aminobutyric acid production in fermented adzuki bean milk [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26(1): 74-81.

[38] Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, et al. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications [J]. Foods, 2019, 8(3):92.

[39] Fazilah N F, Ariff A B, Khayat M E, et al. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt [J]. Journal of Functional Foods, 2018, 48:387-399.

[40] Kandylis P, Pissaridi K, Bekatorou A, et al. Dairy and non-dairy probiotic beverages [J]. Current Opinion in Food Science, 2016, 7:58-63.

[41] Rinaldoni A N, Campderros M E, Pérez Padilla A. Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltrated soy milk concentrate added with inulin [J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 45(2):142-147.

[42] Chavan M, Gat Y, Harmalkar M, et al. Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume [J]. LWT, 2018, 91:339-344.

[43] Coda R, Lanera A, Trani A, et al. Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: Microbiology, texture, nutritional and sensory properties [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 155(3):120-127.

[44] Tiurikova I, Peresichnyi M. Prospects Of Using Walnut In Technologies Of Drinks [J]. Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology, 2015, 19(2):39-50.

[45] Liu S. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 83(2):115-131.

polysaccharides, water status and distribution of seedless grape [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 194:9-17.

[46] Barthlott W, Mail M, Bhushan B, et al. Plant surfaces: Structures and functions for biomimetic innovations [J]. Nano-micro Letters, 2017, 9(2):23.

[47] 蒋跃明, 段学武. 我国果蔬采后生理学进展 [J]. 热带亚热带植物学报, 2019, 27(5):558-564.

**北大核心期刊, 轻工优秀期刊  
投稿热线: 010 - 87244116    QQ: 1787000719**