

复合酶解对巴旦木乳理化稳定性及感官品质的影响

黄 云,刘 坤,潘文杰,郑召君,刘元法

(江南大学 食品学院,江苏 无锡 214122)

摘要:旨在为具有良好稳定性的巴旦木乳的开发提供参考,以脱皮巴旦木仁为原料,采用风味蛋白酶与菠萝蛋白酶复合酶解制备巴旦木乳,考察不同酶添加量和酶配比下巴旦木乳理化稳定性及感官品质的变化。结果表明:与未酶解的巴旦木乳相比,酶解可有效改善巴旦木乳的物理稳定性、氧化稳定性及风味和滋味,且复合酶解的效果优于单一酶解的;当酶添加量为 0.2%、风味蛋白酶与菠萝蛋白酶质量比为 3:1 时效果最佳,此条件下复合酶解后巴旦木乳的动力学稳定性指数为 0.63,分层程度最低,平均粒径较小,Zeta 电位绝对值最大[(24.15 ± 0.74) mV],浊度最小(17 134.55 ± 196.12),乳液均一,物理稳定性良好,过氧化值和硫代巴比妥酸反应物含量显著降低,氧化稳定性方面展现出显著的优势,而且苦味值较低,鲜味值、甜味值和鲜味丰富度值较高。综上,适度的复合酶解能够显著改善巴旦木乳的理化稳定性和风味口感,可用于生产“清洁标签”巴旦木乳产品。

关键词:巴旦木乳;复合酶解;物理稳定性;氧化稳定性;感官品质

中图分类号:TS205;TS275.4

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2025)06-0123-11

Effect of composite enzymatic hydrolysis on the physicochemical stability and sensory quality of almond-based milk

HUANG Yun, LIU Kun, PAN Wenjie, ZHENG Zhaojun, LIU Yuanfa

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: To provide a reference for the development of almond-based milk with good stability, a combination of flavor protease and bromelain was employed for enzymatic hydrolysis of peeled almond kernel to prepare almond-based milk, and the physicochemical stability and sensory quality of almond-based milk were investigated under different enzyme dosage and enzyme ratio. The results revealed that compared with non-enzymatically hydrolyzed almond-based milk, enzymatic hydrolysis substantially enhanced the physical stability and oxidative stability, as well as the taste and flavor of almond-based milk, and the effect of composite enzymatic hydrolysis was better than single enzymatic hydrolysis. Optimal effects was observed at an enzyme dosage of 0.2% and mass ratio of flavor protease to bromelain 3:1. Under these conditions, Turbiscan stability index of composite enzymatic hydrolysis almond-based milk was calculated as 0.63, exhibiting the lowest degree of stratification. Moreover, the almond-based milk exhibited a lower average particle size, a highest Zeta potential absolute value of (24.15 ± 0.74) mV, a minimal turbidity value of (17 134.55 ± 196.12), the emulsion was uniform with good physical stability, and the peroxide value and content of thiobarbituric acid reactive substances decreased significantly, highlighting significant improvements in terms of oxidation stability. In addition, under these conditions,

the bitterness taste value was lower, while the values of umami, sweetness and umami richness were higher. In summary, appropriate composite enzymatic hydrolysis can significantly improve the physicochemical stability, flavor and taste of almond-based milk, and can be used in the production of "clean label" almond-based milk products.

收稿日期:2024-03-22;修回日期:2025-02-10

基金项目:山东省重点研发计划项目(2021CXGC010808);
“十四五”国家重点研发计划项目(2021YFD2100300)

作者简介:黄 云(1999),女,硕士研究生,研究方向为油脂
与植物蛋白(E-mail)huangyun16m@163.com。

通信作者:刘元法,教授,博士(E-mail)yfliu@jiangnan.
edu.cn。

Key words: almond – based milk; composite enzymatic hydrolysis; physical stability; oxidative stability; sensory quality

在倡导低碳生活以及绿色标签食品飞速发展的背景下,植物基食品为消费者提供了更多可行性,有助于促进健康和生态可持续发展。植物乳不含乳糖、乳蛋白以及胆固醇,长期以来备受素食主义者和乳糖不耐受人群的青睐^[1]。相较于传统植物饮料,坚果乳以其出色的口感、风味和营养深受消费者喜爱。巴旦木是我国重要的木本油料,其与核桃、榛子和腰果并称为世界四大坚果。巴旦木具有较高的营养价值^[2],其种仁富含优质的油脂和蛋白质,其种仁油中不饱和脂肪酸占比达 90% 以上^[3],能够降低人体血液中的低密度脂蛋白胆固醇,对高血压、心脏病的发生具有一定的预防作用^[4]。此外,巴旦木种仁中含有多种微量营养成分^[5],其中较为丰富的维生素 E 能中和代谢产生的自由基,具有显著的抗氧化功效^[6]。

与其他植物种子(如大豆、核桃等)制成的植物乳相似,巴旦木乳存在水包油乳液体系不稳定的问题,常出现絮凝、聚结和奶油化等现象^[7]。这些问题不仅会导致产品质量和感官品质下降,还会缩短其保质期,从而限制了消费者对产品的接受度。为了解决这些问题,生产者通常会在植物乳中,特别是在坚果类植物乳中,添加外源乳化剂或稳定剂以提高乳液的稳定性^[8]。然而,外源添加剂的使用可能带来健康问题^[9]。另外,消费者更趋向于选择天然无添加剂的产品。鉴于此,当前亟需开发一种无需外源添加剂且具备良好稳定性的巴旦木乳产品。

植物蛋白是一种天然食品乳化剂,其表面含有非极性疏水性基团和极性亲水性基团,能够在油水界面起到稳定作用^[10]。然而,巴旦木蛋白多以球蛋白的形式存在,球蛋白因多肽链折叠紧密,疏水性氨基酸侧链位于分子内部,且其紧凑和高度聚集的状态通常无法形成良好的界面层,因此乳化性能差^[11]。酶解是一种被广泛接受并应用于改变蛋白质理化特性的方法^[12],酶解过程中,蛋白质被分解成肽,这些肽由于具有两性亲和性,在油水界面上迅速吸附,形成具有优异物理稳定性的乳液液滴^[13]。同时,当具有抗氧化活性的酶解产物被吸附到界面上时,它们可以充当物理防御屏障,通过清除自由基和螯合金属来保护乳液液滴免受氧化的影响。这种机制不仅可使得乳液体系具备良好的物理稳定性,

还增强了其抗氧化能力,从而延长了产品的保质期并提升了其品质。

当前,植物乳体系中酶解应用的相关报道较为匮乏,对酶解工艺的研究也多聚焦于单一酶的使用。在酶的选用上,风味蛋白酶同时具有内切酶和外切酶的活性,能够水解风味前体物质,释放出风味物质。而菠萝蛋白酶(内切酶)能降低乳液在储存时的凝聚和沉淀现象,延长产品保质期^[14]。此外,内切酶和外切酶相结合的酶解方式能生成更多多样化的产物,增加底物利用价值与产物功能特性。但在植物乳体系中,蛋白质及其复合酶解物对整体稳定性和风味的影响研究仍十分少见。基于此,本研究采用风味蛋白酶与菠萝蛋白酶复合对巴旦木乳进行酶解,深入探究不同酶添加量和酶配比对巴旦木乳物理稳定性、氧化稳定性以及感官品质的影响,以期为具有良好稳定性和口感风味的“清洁标签”巴旦木乳产品的开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

脱皮巴旦木仁,天猫超市;风味蛋白酶(F,酶活 ≥ 500 U/g)、1,1,3,3-四乙氧基丙烷(TEP),Sigma-Aldrich 有限公司;菠萝蛋白酶(B,酶活 $\geq 1\ 200$ GDU/g),百灵威科技有限公司;磷酸、盐酸、无水乙醇、氯化亚铁、硫氰酸铵、三氯乙酸、硫代巴比妥酸(TBA)均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

ME204E/02 电子分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)公司;中短波红外干燥设备,圣泰科红外科技有限公司;Sorvall LYNX4000 离心机,美国赛默飞世尔公司;SHZ-82A 恒温水浴振荡器,精达仪器制造有限公司;HHS-11-1 电热恒温水浴锅,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;ZG-15 高压均质机,均高生物科技有限公司;UV-2008 紫外可见分光光度计,尤尼柯上海仪器有限公司;Zetasizer Nano ZS 纳米粒度及 Zeta 电位仪,英国马尔文公司;Discovery HR-3 流变仪,美国 TA 仪器公司;Turbiscan 稳定性分析仪,法国 Formulacion 公司;Heracles II 快速气相色谱电子鼻,法国 Alpha MOS

S. A 有限公司; SA402B 味觉分析系统, 日本 Insent 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 巴旦木仁基本成分的测定

水分含量的测定, 参考 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》第一法直接干燥法; 蛋白质含量的测定, 参考 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》第一法凯氏定氮法; 脂肪含量的测定, 参考 GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》第一法索氏抽提法。

1.2.2 巴旦木乳的制备

挑选无污染、无霉变、颗粒饱满的脱皮巴旦木仁, 去除碎果、劣果后, 称取一定量的巴旦木仁, 平铺于托盘中, 于 100 ℃ 红外干燥设备中加热 20 min。将红外热处理后的巴旦木仁与提前预热至 50 ℃、12 倍体积(以巴旦木仁质量计)的超纯水置于破壁机中磨浆 2 次。然后按一定的酶添加量和酶配比添加风味蛋白酶和菠萝蛋白酶, 于 50 ℃ 水浴恒温振荡器中酶解 1 h。将酶解后的巴旦木乳升温至 95 ℃, 灭酶 10 min, 采用 0.075 mm(200 目)筛过滤除去巴旦木乳中不溶性物质, 之后在均质压力 40 MPa 下均质 2 次, 将均质后的巴旦木乳在 65 ℃ 下杀菌 30 min, 冷却至室温, 得巴旦木乳。

1.2.3 复合酶解对巴旦木乳物理稳定性的影响

1.2.3.1 对动力学稳定性的影响

参照朱盼盼等^[15]的方法并略作修改测定动力学稳定性指数(TSI)。取 20 mL 左右的巴旦木乳置于 Turbiscan 稳定性分析仪专用的透明圆柱形玻璃瓶中, 静置 10 min 以适应扫描环境温度, 然后于 35 ℃ 下扫描 2 h, 每 60 s 扫描 1 次。TSI 值越小, 说明乳液体系越稳定。以透射光强信号的变化反映样品是否发生絮凝、聚结、上浮或者沉淀。

1.2.3.2 对粒径和 Zeta 电位的影响

将巴旦木乳用去离子水稀释至呈澄清透明状, 涡旋使其分散均匀, 使用 Zetasizer Nano ZS 纳米粒度及 Zeta 电位仪测定其颗粒粒径和 Zeta 电位。

1.2.3.3 对浊度的影响

参考 Wang 等^[16]的方法并作适当修改测定巴旦木乳的浊度。取一定量巴旦木乳, 用磷酸缓冲溶液(10 mmol/L, pH 7.0)稀释 50 倍, 以磷酸缓冲溶液为空白对照, 在 600 nm 处测定吸光度, 每组样品测定 3 次。按式(1)计算巴旦木乳的浊度(x)。

$$x = \frac{2.302 \times A \times V}{I} \quad (1)$$

式中: A 为吸光度; V 为稀释倍数; I 为光路差, m。

1.2.3.4 对表观黏度的影响

使用 Discovery HR-3 流变仪测定巴旦木乳的表观黏度。测定条件: 选用直径 40 mm 的锥形板, 板间距 1 000 μm , 温度恒定为 25 ℃, 剪切速率 0.1 ~ 100 s^{-1} 。

1.2.4 复合酶解对巴旦木乳氧化稳定性的影响

1.2.4.1 过氧化值的测定

参考 Maqsood 等^[17]的方法并稍作修改, 利用分光光度法测定巴旦木乳的过氧化值(PV)。将 50 μL 巴旦木乳添加到 2.35 mL 体积分数为 75% 乙醇、50 μL 的氯化亚铁溶液(20 mmol/L, 溶于体积分数为 3.5% HCl 中)和 50 μL 体积分数为 30% 的硫氰酸铵中并充分混合, 静置 3 min 后, 取上清液, 测定其在 500 nm 处的吸光度(A_{500})。吸光度增加代表脂质氧化初级产物的生成。

1.2.4.2 硫代巴比妥酸反应物(TBARS)含量的测定

参考 Fioramonti 等^[18]的方法并稍作修改测定巴旦木乳 TBARS 含量。取 0.1 mL 巴旦木乳并使用超纯水将其稀释 10 倍, 然后加入到 2 mL TBA 试剂[由质量浓度为 15 g/mL 三氯乙酸和 0.375 g/mL TBA(溶于 0.25 mol/L HCl 中)组成]中, 充分混合后, 置于沸水浴中 15 min, 取出冷却至室温, 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 使用紫外可见分光光度计分别测定其在 532 nm 和 580 nm 处吸光度。计算 532 nm 和 580 nm 处吸光度差值, 代入根据 TEP 制备的标准曲线方程中, 计算样品中 TBARS 含量, 结果以每毫升巴旦木乳中所含丙二醛(MDA)质量计。

1.2.5 复合酶解对巴旦木乳感官品质的影响

1.2.5.1 对风味特征的影响

采用快速气相色谱电子鼻进行巴旦木乳风味特征的测定。取 5 g 巴旦木乳于 10 mL 棕色顶空进样瓶中, 在设定条件下进行电子鼻分析。分析条件: 载气为合成干燥空气, 流速 150 mL/min; 顶空产生时间 600 s, 产生温度 60 ℃; 注射体积 2 mL, 速度 2 mL/s; 获取时间 120 s, 延滞时间 240 s。

1.2.5.2 对滋味的影响

采用 SA402B 味觉分析系统进行巴旦木乳滋味的测定。参考 Valente 等^[19]的方法, 安装前将电子

舌传感器和参比电极在活化溶液中活化 24 h,并用参比溶液校准。将 50 mL 巴旦木乳转移到塑料进样杯中,分别测定其酸味(SRS)、苦味(BIT)、涩味(AST)、苦味回味(ATB)、涩味回味(ATA)、鲜味(UMI)、鲜味丰富度(RHS)、咸味(STS)和甜味(SWS)的味觉值。测定条件:采样周期 1 s,数据采集时间 30 s。使用基准液作为清洁溶液,并且在每次样品测量前将传感器清洁 120 s。

1.2.6 数据统计与分析

所有实验均重复 3 次,结果以“平均值 $\pm$ 标准偏差”表示,使用 SPSS 软件(IBM SPSS Statistics 25)对实验数据进行统计分析,Duncan 法检验分析显著性差异($p < 0.05$)。采用 Microsoft Excel 进行数据整理,用 Origin 2022、SIMCA 14.1 软件进行绘图。

2 结果与讨论

2.1 巴旦木仁的基本成分

巴旦木仁的基本成分如表 1 所示。

表 1 巴旦木仁基本成分

Table 1 The basic composition of almond kernel

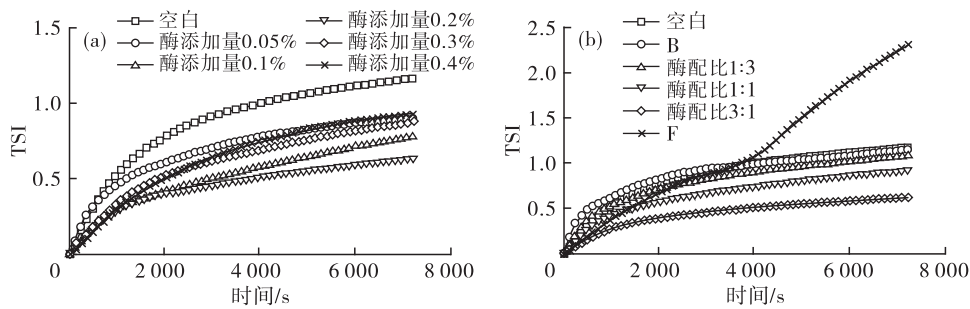
成分	含量/%
水分	5.53 ± 0.06
脂肪	52.17 ± 0.07
蛋白质	20.81 ± 0.15

由表 1 可看出,巴旦木仁脂肪含量为(52.17 ± 0.07)%,蛋白质含量为(20.81 ± 0.15)%,水分含量为(5.53 ± 0.06)%。

2.2 复合酶解对巴旦木乳物理稳定性的影响

2.2.1 动力学稳定性

基于 Turbiscan 稳定性分析仪的动力学实验是一种用于测量静置条件下样品中颗粒迁移和相互作用引起的多种光散射的方法^[20],通过这种方法可以监测巴旦木乳在储存过程(仪器升温模拟加速储存环境)中的物理稳定性。不同酶添加量(以巴旦木干基蛋白质质量计)和酶配比(风味蛋白酶与菠萝蛋白酶质量比)对巴旦木乳动力学稳定性的影响见图 1。



注:研究酶添加量时,酶配比为 3:1;研究酶配比时,酶添加量为 0.2%。下同

Note: When studying the effect of enzyme dosage, the ratio of flavor protease to bromelain is 3:1; when studying the effect of enzyme ratio, the enzyme dosage is 0.2%. The same below

图 1 不同酶添加量和酶比对巴旦木乳动力学稳定性的影响

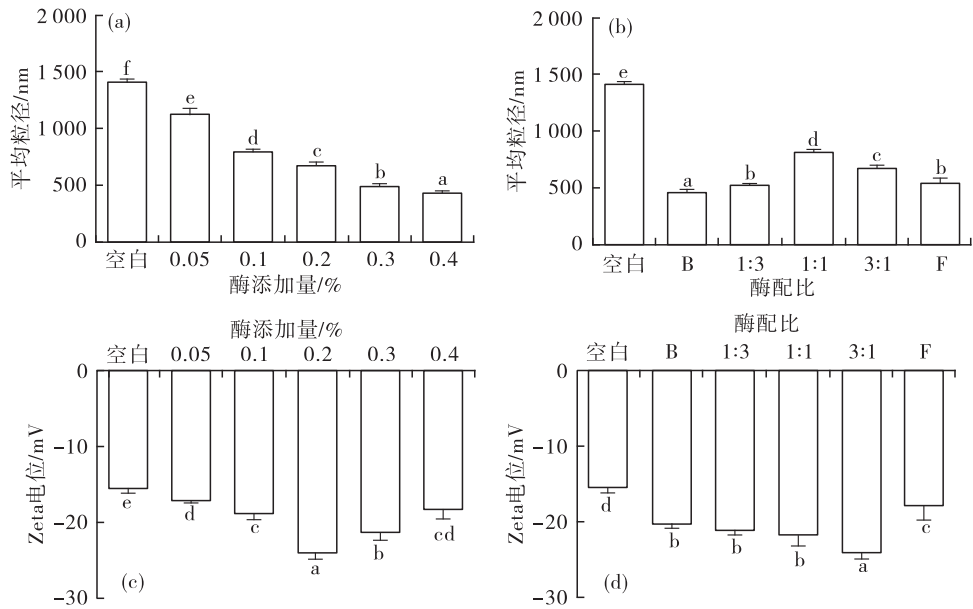
Fig. 1 Effects of different enzyme dosage and enzyme ratio on the TSI of almond-based milk

由图 1 可知,随着扫描时间的延长,不同酶添加量和酶配比巴旦木乳的 TSI 整体上升,表明巴旦木乳的稳定性呈逐渐降低的趋势。由图 1a 可知,空白组(未经酶解)巴旦木乳的 TSI 显著高于复合酶解后的巴旦木乳,通过透射光强的变化情况发现空白组巴旦木乳顶部出现油脂上浮、底部出现大量沉淀现象,显示出较高的分层程度和较差的动力学稳定性。随着酶添加量的增加,巴旦木乳 TSI 呈现先减小后增大的趋势,扫描 2 h 时,酶添加量为 0.2% 的巴旦木乳的 TSI 最低(0.63),其物理稳定性最佳,底部仅出现少量沉淀,分层程度达到了最低水平。随着酶添加量增加,酶解过程中暴露的疏水位点可促进蛋白质与疏水性界面的相互作用,有助于提高乳液的稳定性并防止颗粒的聚集;

然而,酶添加量的进一步增加会促进液滴聚集,表现出“酶解过度”现象,这对巴旦木乳的稳定性产生了不利影响。因此,适度的酶解对于延长巴旦木乳的货架期至关重要。由图 1b 可知,酶解可降低巴旦木乳的 TSI(除单一风味蛋白酶酶解外),相比于单一酶解,复合酶解巴旦木乳的 TSI 总体较低,且随着酶配比的增大,TSI 减小。另外,相比于复合酶解,单一酶解巴旦木乳顶部发生絮凝或聚结,底部出现沉淀。研究发现,在酶添加量为 0.2%、酶配比为 3:1 时,巴旦木乳的 TSI 最低,表现出最佳的动力学稳定性。

2.2.2 粒径与 Zeta 电位

不同酶添加量和酶比对巴旦木乳平均粒径和 Zeta 电位的影响见图 2。



注:不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

图 2 不同酶添加量和酶比对巴旦木乳平均粒径和 Zeta 电位的影响

Fig. 2 Effects of different enzyme dosage and enzyme ratio on the average particle size and Zeta potential of almond-based milk

根据斯托克斯定律,较小的颗粒尺寸和更一致的分布有利于乳液稳定性的提高^[21]。由图 2 可看出,与空白组相比,酶解后制备的巴旦木乳平均粒径显著减小。酶解过程中蛋白质结构被打开,使得蛋白质分子表面活性提高,促进更小的颗粒在油滴表面紧密地排布,降低了乳液的平均粒径^[22]。同时,随着复合酶添加量的增加,酶解更充分,巴旦木乳的平均粒径越来越小,有效地提高了巴旦木乳的稳定性。

一般来说,乳液 Zeta 电位绝对值越大,表明液滴之间的静电斥力越强,有助于减少聚集现象的发生。由图 2 可知,空白组的 Zeta 电位绝对值最小,为 (15.56 ± 0.59) mV,而经酶解处理后巴旦木乳的 Zeta 电位绝对值显著增加。由图 2c 可知,随着酶添加量的增加,巴旦木乳的 Zeta 电位绝对值先增大后减小,在酶添加量为 0.2% 时,巴旦木乳的 Zeta 电位绝对值最大,为 (24.15 ± 0.74) mV。这可能是因为酶解促进了蛋白质结构改变以及可电离基团的界面吸附,导致液滴表面的电荷增加,从而增加了净电荷数量^[23],使 Zeta 电位绝对值增加,而酶添加量超过 0.2% 时,不断减小的粒径增加了颗粒间碰撞的频率,形成新的聚集体,可电离基团再次被掩埋^[24],导致巴旦木乳的 Zeta 电位绝对值下降。从图 2d 可知,随着酶配比的增加,巴旦木乳的 Zeta 电位绝对值增大,另外,复合酶解制备的巴旦木乳的 Zeta 电位绝对值高于单一酶解的,这是因为单一酶解时酶

切位点单一,酶解程度有限,表面电荷的增加程度有限。

2.2.3 浊度

不同酶添加量和酶比对巴旦木乳浊度的影响见图 3。

通常,溶液的浊度与其中颗粒的数量、大小、形状和分布情况密切相关^[25]。从图 3a 可以看出,随着酶添加量的增加,巴旦木乳的浊度呈现先减小后增加的趋势。当酶添加量为 0.2% 时,巴旦木乳的浊度达到最小值 $(17\ 134.55 \pm 196.12)$,这是因为在此条件下蛋白质部分展开,在液滴表面形成紧密的界面膜,同时蛋白质间的静电斥力和空间位阻使得液滴可以维持较小的粒径且分布更加均匀,使巴旦木乳具有最佳的物理稳定性^[26]。当酶添加量超过 0.2% 时,巴旦木乳的浊度上升,这是因为酶添加量超过 0.2% 时巴旦木乳平均粒径和 Zeta 电位绝对值均减小(见图 2a 和图 2c),蛋白质结构进一步展开,较小的蛋白质分子链难以覆盖液滴并维持乳液的相对稳定性,液滴间的平衡被打破,可能絮凝形成新的蛋白质聚集体,从而导致乳液的浊度增大^[27]。这一结果与 Pan 等^[14]的研究结果一致,说明过度酶解会对乳液的均一性产生负面影响,并破坏乳液的物理稳定性。由图 3b 可以看出,随着酶配比的增加,巴旦木乳的浊度减小,在酶配比为 3:1 时,巴旦木乳的浊度达到最低值,表明此条件下复合酶解使得酶解

后形成的蛋白质分子链大小及长度适宜,暴露的可电离基团间的静电斥力大于疏水间相互作用,从而

形成相对稳定的乳液体系。另外,复合酶解巴旦木乳的浊度小于单一酶解的。

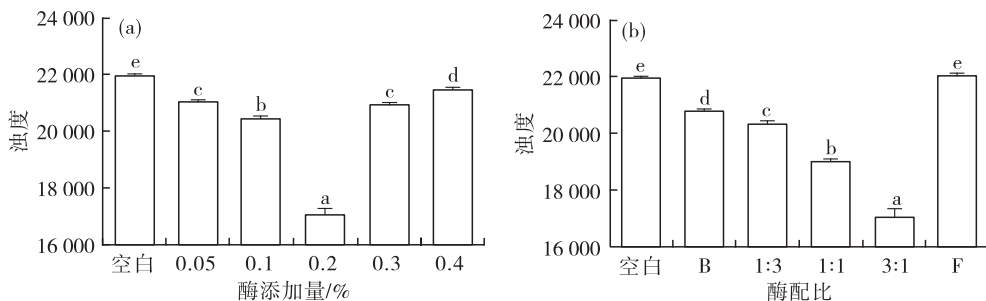


图3 不同酶添加量和酶比对巴旦木乳浊度的影响

Fig. 3 Effects of different enzyme dosage and enzyme ratio on the turbidity of almond-based milk

2.2.4 表观黏度

不同酶添加量和酶比对巴旦木乳表观黏度的

影响见图4。

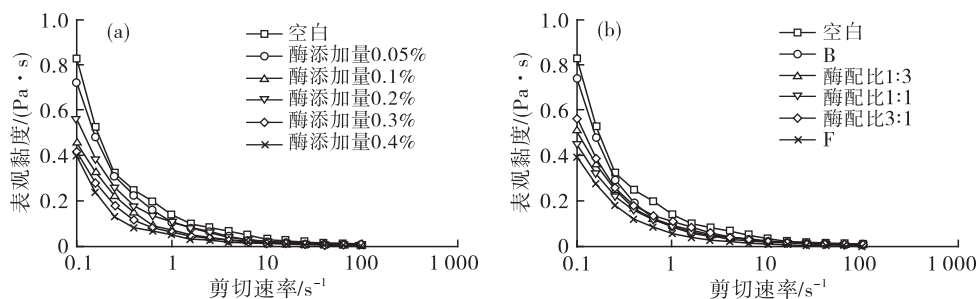


图4 不同酶添加量和酶比对巴旦木乳表观黏度的影响

Fig. 4 Effects of different enzyme dosage and enzyme ratio on the apparent viscosity of almond-based milk

斯托克斯定律表明,较高的体系黏度有助于抑制或者减缓液滴之间相互聚集,阻止液滴发生絮凝,有利于体系的稳定性^[28]。由图4可知,随着剪切速率的增加,巴旦木乳的表观黏度逐渐降低。在剪切速率0.1~10 s⁻¹范围内,巴旦木乳的表观黏度急剧下降,呈现出剪切变稀的特征^[29];当剪切速率大于10 s⁻¹后,巴旦木乳的表观黏度未发生明显变化,呈现牛顿流体性质。与空白组相比,酶解后巴旦木乳的表观黏度减小,这是因为酶能够将巴旦木乳中的蛋白质等大分子聚合物降解为小分子物质,其分子质量减小,原有的网络结构被破坏,从而导致乳液的黏度降低。由图4a可知,除了酶添加量为0.2%外,巴旦木乳的表观黏度与酶添加量呈负相关,酶添加量为0.2%时表观黏度升高的原因可能是酶解后巴旦木蛋白部分展开,多肽链互相交联形成网络结构,与此同时,粒径的减小导致乳液的比表面积增大,加强了颗粒之间的相互作用,从而限制了液滴受到重力或布朗运动的影响而运动,有助于减缓液滴的上浮速度,防止絮凝或聚结的发生。综合流变学特性分析,适度酶解可以增强巴旦木乳的动力学稳定性,尤其在酶加量0.2%、酶配比

3:1时,巴旦木乳表现出良好的稳定性,有利于乳液储存。

2.3 复合酶解对巴旦木乳氧化稳定性的影响

不同酶添加量和酶比对巴旦木乳PV和TBARS含量的影响分别见图5、图6。

上文分析了粒径、表观黏度、动力学稳定性等流变学特性对巴旦木乳物理稳定性的影响。然而除了物理稳定性外,氧化变质也是影响巴旦木乳品质的重要因素。巴旦木乳是由水、蛋白质和脂质构成的胶体体系,其中的脂质和蛋白质极易在环境中发生氧化,导致乳液变质^[30]。由图5可看出,复合酶解巴旦木乳的PV显著低于空白组(除酶添加量0.05%的),且随着酶添加量的增加,巴旦木乳的PV逐渐降低,说明复合酶解对脂质氧化的抑制作用显著。可能的原因是酶解诱导的界面处蛋白质温和聚集可以增加界面层的厚度,为过氧化物和其他氧化剂的攻击提供强大的屏障^[31]。随着酶配比的增加,巴旦木乳PV总体下降,可能是因为酶解过程中生成的巴旦木蛋白肽吸附到油滴表面形成屏障,隔绝了脂滴,有助于清除和抑制自由基产生,从而阻碍了巴旦木乳中的脂质氧化链反应^[32]。

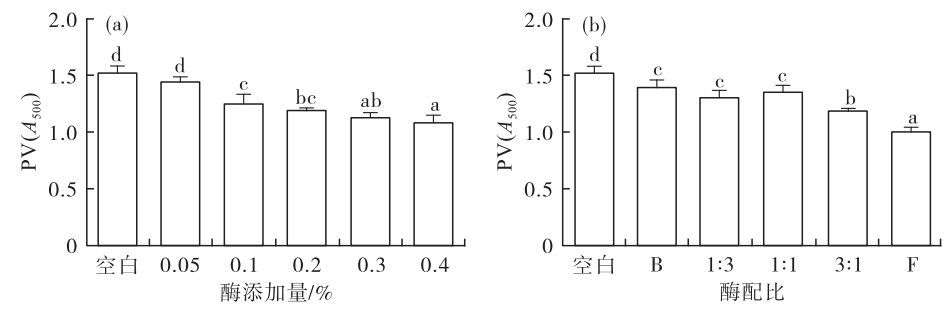


图 5 不同酶添加量和酶比对巴旦木乳 PV 的影响

Fig. 5 Effects of different enzyme dosage and enzyme ratio on the PV of almond – based milk

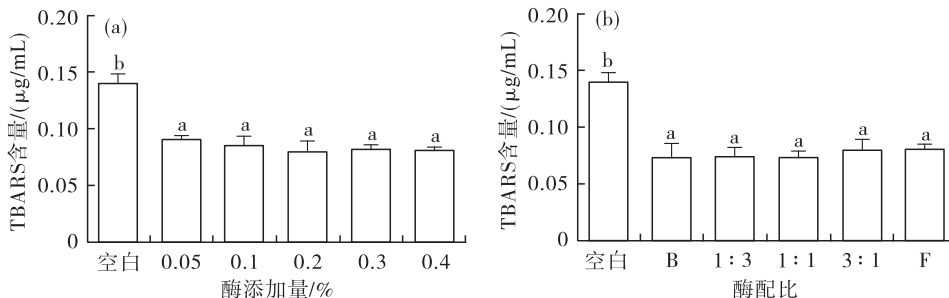


图 6 不同酶添加量和酶比对巴旦木乳 TBARS 含量的影响

Fig. 6 Effects of different enzyme dosage and enzyme ratio on the TBARS content of almond – based milk

由图 6 可看出,与空白组相比,酶解制备的巴旦木乳具有更低的 TBARS 含量,可能是因为酶解能够破坏蛋白质结构,降解生成具有抑制油脂氧化作用的抗氧化肽,从而抑制次级氧化产物的生成^[30]。另外,不同酶添加量和酶配比下巴旦木乳的 TBARS 含量之间无显著差异。

综上,酶解工艺在改善巴旦木乳氧化稳定性方面展现出显著的优势,其原因可能在于蛋白质在界面处的快速吸附和重排,从而形成更紧凑的界面层,防止脂质氧化的发生。

2.4 复合酶解对巴旦木乳感官品质的影响

2.4.1 对风味特征的影响

电子鼻技术是一种区分不同样品之间香气特征差异的有效方法^[33]。图 7 为不同酶解条件下制备

的巴旦木乳的风味特征雷达图。其中,数字 1 和 2 分别指代 DB – 5 色谱柱和 DB – 1701 色谱柱,其所获取的信息为保留时间对应的峰面积。由图 7a 可以看出,空白组与酶解组在 DB – 5 色谱柱上保留时间为 16.35 min 的峰面积以及 DB – 1701 色谱柱上保留时间为 20.62、52.52 min 和 69.07 min 的峰面积存在显著差异,经鉴定其对应的挥发性风味物质分别为 2 – 甲基 – 2 – 丙醇、丙 – 2 – 酮、(E) – 2 – 庚醛,其余保留时间下的响应值均较小且堆叠在一起,说明其对应的挥发性风味成分较为相似,含量较低。由图 7b 可以看出,空白组与酶解组在 DB – 1701 色谱柱上保留时间为 22.83、24.67、52.55 min 的峰面积存在显著差异,经鉴定其对应的挥发性风味物质分别为 2 – 甲基 – 2 – 丙醇、乙腈、环戊酮。

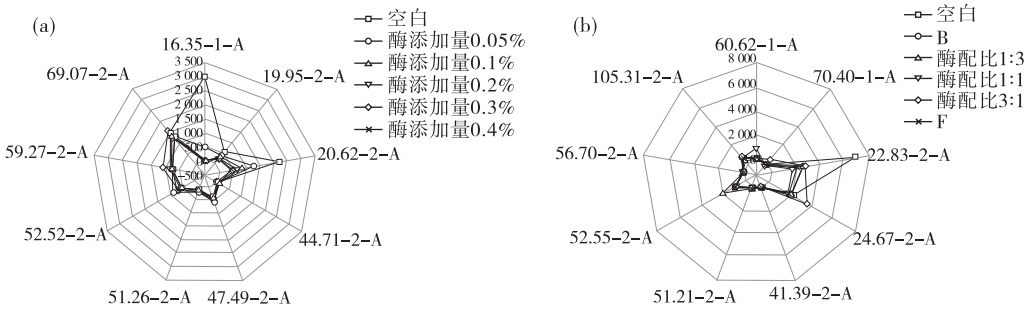


图 7 不同酶添加量和酶配比下制备的巴旦木乳的风味特征雷达图

Fig. 7 Radar charts of volatile flavors in almond – based milk under different enzyme dosage and enzyme ratio

为了进一步区分不同巴旦木乳之间香气轮廓的差异,利用主成分分析 (PCA) 和判别因子分析

(DFA) 对电子鼻特征色谱峰的响应值进行分析,结果分别见图 8、图 9。

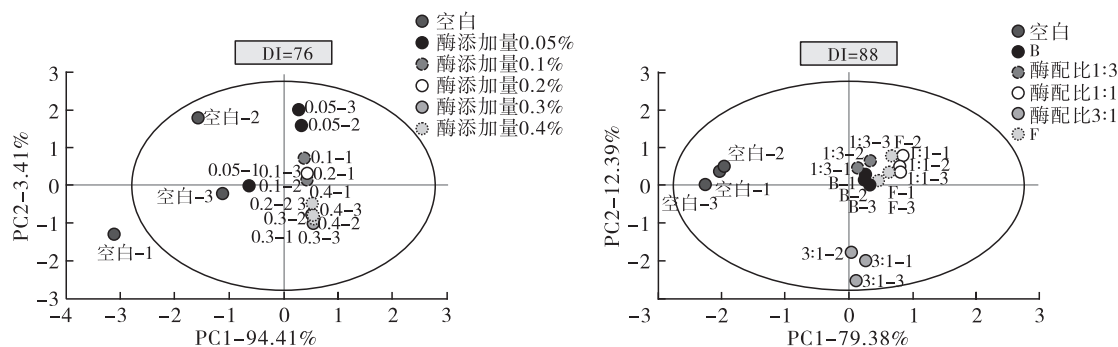


图8 不同酶添加量和酶配比下制备的巴旦木乳的风味特征 PCA

Fig. 8 PCA of volatile flavors in almond-based milk under different enzyme dosage and enzyme ratio

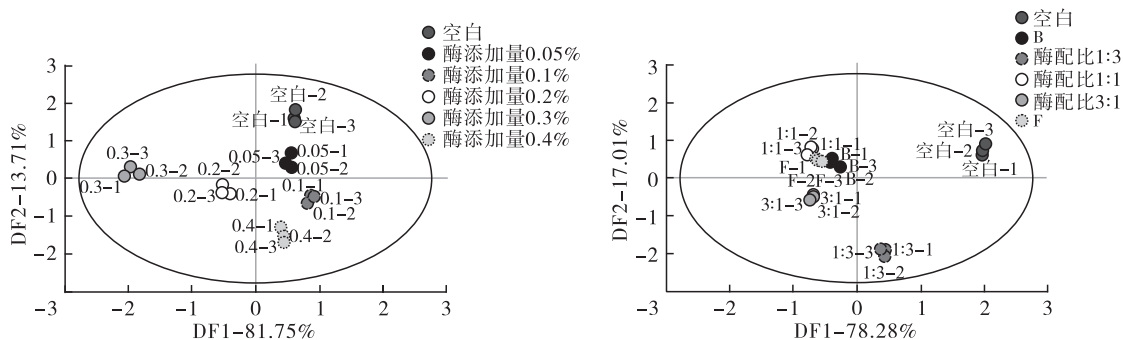


图9 不同酶添加量和酶配比下制备的巴旦木乳的风味特征 DFA

Fig. 9 DFA of volatile flavors in almond-based milk under different enzyme dosage and enzyme ratio

判别指数 (DI) 表示电子鼻软件提供的样品间的判别程度。当 DI 大于 0 时, 表明样本是独立的, 且 DI 越大, 样本间的区分效果越好; DI 在 80 ~ 100 范围内, 表明样本可以被有效区分。由图 8 可看出, 不同酶添加量的巴旦木乳间 DI 为 76, 说明不同酶添加量条件下制备的巴旦木乳可以被区分, 空白组与酶解组的风味区别较大, 但酶解组内仍然存在相似性 (如酶添加量 0.3% 和 0.4% 的)。不同酶配比的巴旦木乳间 DI 为 88, 大于 80, 说明各巴旦木乳是独立的, 且可以被有效区分。不同酶解条件下制备的巴旦木乳的第一主成分 (PC1) 方差贡献率均较大, 说明 PC1 捕获的所有挥发性化合物的大部分变化使不同巴旦木乳之间得以被较好地区分^[34], 较小方差贡献率的 PC2 在判别不同巴旦木乳风味特征上也具有重要意义。

DFA 是在 PCA 的基础上进一步分析电子鼻数据, 以更好地区分巴旦木乳风味特征。从图 9 可看出, 对比 PCA, DFA 可以更好地区分由不同酶添加量制备的巴旦木乳, 然而, 不同酶配比制备的巴旦木乳之间风味接近, 无法被较好地区分。综合 PCA 与 DFA 结果分析, 酶解处理的巴旦木乳与空白组区分明显, 表明酶解处理显著影响了巴旦木乳风味。

2.4.2 对滋味影响

不同酶添加量和酶配比条件下巴旦木乳不同滋味的测定结果分别见表 2 和表 3。其中, 酸味和咸味的无味点分别为 -13 和 -6, 而其余滋味的无味点均为 0。若样品的味觉值低于无味点, 则该滋味对于评估指标不具备有效性^[35]。

由表 2、表 3 可知, 空白组与酶解组在苦味、苦味回味、鲜味丰富度上存在显著差异。这可能是因为在酶解过程中发生了复杂的化学反应, 导致味觉特征的差异性。然而, 酶解组内样品的滋味整体较为相似, 其中: 不同酶解条件下巴旦木乳的甜味值最大, 为 11 左右; 鲜味值和鲜味丰富度值次之, 为 8 左右; 苦味值为 7 左右, 而酸味、涩味、苦味回味、涩味回味和咸味的味觉值均低于无味点, 说明这 5 种滋味不是巴旦木乳的味觉指标。

从表 2 还可以看出, 随着酶添加量的增加, 巴旦木乳的苦味值及甜味值下降。这可能是由于蛋白质酶解会降解产生苦味物质的前体物质或干扰苦味物质的生成, 从而减少苦味的感知。同时, 酶解还可能影响糖类物质的结构, 促进更多糖类物质的降解, 使其在口腔中的传导速度或感知机制发生改变, 进而影响最终的口感表现。此外, 酶解组中, 在酶添加量为 0.2% 时, 鲜味值和鲜味丰富

度值最高,这可能与酶解过程中鲜味氨基酸的增加和苦味氨基酸的减少有关^[36]。由表 3 还可以看出,风味蛋白酶的添加有利于鲜味丰富度的提高。当酶配比为 3:1 时,巴旦木乳具有较低的苦味值,较高的鲜味值、鲜味丰富度值和甜味值,呈现口感丰富的特点。

表 2 不同酶添加量对巴旦木乳滋味的影响

Table 2 Effects of different enzyme dosage on the taste of almond – based milk

味觉值	空白	酶添加量 0.05%	酶添加量 0.1%	酶添加量 0.2%	酶添加量 0.3%	酶添加量 0.4%
SRS	-21.52 ± 0.00 ^a	-21.36 ± 0.12 ^{abc}	-21.27 ± 0.16 ^c	-21.52 ± 0.04 ^{ab}	-21.32 ± 0.11 ^{bc}	-21.49 ± 0.06 ^{ab}
BIT	11.08 ± 0.00 ^c	7.62 ± 0.25 ^b	7.22 ± 0.25 ^{ab}	7.12 ± 0.29 ^a	6.87 ± 0.25 ^a	6.85 ± 0.26 ^a
AST	-0.41 ± 0.00 ^c	-0.38 ± 0.04 ^c	-0.50 ± 0.06 ^b	-0.53 ± 0.07 ^b	-0.77 ± 0.06 ^a	-0.82 ± 0.04 ^a
ATB	0.86 ± 0.00 ^c	-0.56 ± 0.08 ^b	-0.74 ± 0.09 ^a	-0.80 ± 0.07 ^a	-0.84 ± 0.09 ^a	-0.83 ± 0.08 ^a
ATA	-0.15 ± 0.00 ^c	-0.19 ± 0.01 ^b	-0.19 ± 0.02 ^b	-0.19 ± 0.01 ^b	-0.24 ± 0.01 ^a	-0.23 ± 0.01 ^a
UMI	8.15 ± 0.00 ^a	8.22 ± 0.02 ^{ab}	8.17 ± 0.04 ^a	8.27 ± 0.05 ^b	8.18 ± 0.06 ^a	8.21 ± 0.06 ^{ab}
RHS	9.65 ± 0.00 ^c	8.37 ± 0.19 ^{ab}	8.82 ± 0.17 ^b	8.86 ± 0.10 ^b	8.82 ± 0.38 ^b	8.24 ± 0.58 ^a
STS	-13.82 ± 0.00 ^b	-13.63 ± 0.07 ^c	-14.02 ± 0.08 ^a	-13.74 ± 0.02 ^{bc}	-13.77 ± 0.09 ^b	-13.75 ± 0.06 ^b
SWS	12.13 ± 0.00 ^b	11.58 ± 0.47 ^{ab}	11.42 ± 0.72 ^{ab}	11.29 ± 0.43 ^{ab}	10.83 ± 0.61 ^a	10.75 ± 0.49 ^a

注:每行不同字母表示组别间具有显著性差异($p < 0.05$)。下同
Note:Different letters in each row indicate significant differences between groups ($p < 0.05$). The same below

表 3 不同酶比对巴旦木乳滋味的影响

Table 3 Effects of different enzyme ratio on the taste of almond – based milk

味觉值	空白	B	酶配比 1:3	酶配比 1:1	酶配比 3:1	F
SRS	-21.52 ± 0.00 ^a	-21.34 ± 0.06 ^c	-21.32 ± 0.06 ^c	-21.52 ± 0.06 ^a	-21.52 ± 0.04 ^a	-21.42 ± 0.00 ^b
BIT	11.08 ± 0.00 ^c	7.16 ± 0.15 ^{ab}	6.95 ± 0.19 ^{ab}	6.81 ± 0.16 ^a	7.12 ± 0.29 ^{ab}	7.18 ± 0.20 ^b
AST	-0.41 ± 0.00 ^b	-0.42 ± 0.06 ^{ab}	-0.47 ± 0.12 ^{ab}	-0.48 ± 0.01 ^{ab}	-0.53 ± 0.07 ^{ab}	-0.54 ± 0.03 ^a
ATB	0.86 ± 0.00 ^b	-0.67 ± 0.10 ^a	-0.75 ± 0.07 ^a	-0.80 ± 0.07 ^a	-0.80 ± 0.07 ^a	-0.80 ± 0.06 ^a
ATA	-0.15 ± 0.00 ^c	-0.17 ± 0.02 ^{bc}	-0.17 ± 0.01 ^{bc}	-0.20 ± 0.02 ^a	-0.19 ± 0.01 ^{ab}	-0.20 ± 0.02 ^a
UMI	8.15 ± 0.00 ^a	8.24 ± 0.03 ^c	8.21 ± 0.03 ^{bc}	8.25 ± 0.05 ^c	8.27 ± 0.05 ^c	8.17 ± 0.02 ^{ab}
RHS	9.65 ± 0.00 ^c	7.87 ± 0.26 ^a	8.57 ± 0.04 ^c	8.18 ± 0.22 ^b	8.86 ± 0.10 ^d	10.62 ± 0.12 ^f
STS	-13.82 ± 0.00 ^a	-12.85 ± 0.13 ^b	-12.94 ± 0.11 ^b	-12.67 ± 0.14 ^c	-13.74 ± 0.02 ^a	-13.70 ± 0.03 ^a
SWS	12.13 ± 0.00 ^b	11.23 ± 0.25 ^a	11.03 ± 0.33 ^a	10.97 ± 0.39 ^a	11.29 ± 0.43 ^a	11.59 ± 0.34 ^{ab}

3 结 论

本研究系统地考察了不同酶添加量和酶配比下风味蛋白酶与菠萝蛋白酶复合酶解对巴旦木乳物理稳定性、氧化稳定性及感官品质的影响。结果表明:与未经酶解和单一酶解相比,复合酶解可有效改善巴旦木乳的物理稳定性、氧化稳定性及风味和滋味。在复合酶添加量 0.2%、酶配比 3:1 条件下,巴旦木乳 TSI 最低,为 0.63,动力学稳定性最佳,Zeta 电位绝对值最大[(24.15 ± 0.74) mV],浊度最小(17 134.55 ± 196.12),相比其他复合酶添加量和酶配比下表观黏度略有升高,PV 和 TBARS 含量降低,且苦味值较低,鲜味值、鲜味丰富度值和甜味值较高。综上,适度的复合酶解能够显著改善巴旦木乳的理化稳定性和风味口感,为生产稳定的“清洁标签”巴旦木乳及其他植物乳饮料提供了重要的参考依据。

参考文献:

[1] HU X, MCCLEMENTS D J. Development of plant – based adipose tissue analogs: Freeze – thaw and cooking stability of high internal phase emulsions and gelled emulsions[J/OL]. Foods, 2022, 11 (24): 3996 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.3390/foods11243996>.

[2] PAUL A A, KUMAR S, KUMAR V, et al. Milk analog: Plant based alternatives to conventional milk, production, potential and health concerns[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2020, 60(18): 3005 – 3023.

[3] ZAMANY A J, SAMADI G R, KIM D H, et al. Comparative study of tocopherol contents and fatty acids composition in twenty almond cultivars of Afghanistan[J]. J Am Oil Chem Soc, 2017, 94(6): 805 – 817.

[4] DE SOUZA T S P, DIAS F F G, KOBLITZ M G B, et al. Effects of enzymatic extraction of oil and protein from almond cake on the physicochemical and functional

- properties of protein extracts[J]. Food Bioprod Process, 2020, 122: 280 – 290.
- [5] BANJANIN T, NIKOLIC D, USLU N, et al. Physicochemical properties, fatty acids, phenolic compounds, and mineral contents of 12 Serbia regional and commercial almond cultivars[J/OL]. J Food Process Preserv, 2021, 45(1): 15015 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15015>.
- [6] OUZIR M, BERNOUSSI S E, TABYAOUI M, et al. Almond oil: A comprehensive review of chemical composition, extraction methods, preservation conditions, potential health benefits, and safety[J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2021, 20(4): 3344 – 3387.
- [7] PATRA T, RINNAN Å, OLSEN K. The physical stability of plant – based drinks and the analysis methods thereof[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2021, 118: 106770 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106770>.
- [8] JESKE S, ZANNINI E, ARENDT E K. Evaluation of physicochemical and glycaemic properties of commercial plant – based milk substitutes[J]. Plant Foods Hum Nutr, 2017, 72(1): 26 – 33.
- [9] CHASSAING B, KOREN O, GOODRICH J K, et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome[J]. Nature, 2015, 519: 92 – 96.
- [10] KIM W, WANG Y, SELOMULYA C. Dairy and plant proteins as natural food emulsifiers[J]. Trends Food Sci Technol, 2020, 105: 261 – 272.
- [11] LI S, CHU S, LU J, et al. Molecular and structural properties of three major protein components from almond kernel[J/OL]. J Food Process Preserv, 2018, 42(3): e13536 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13536>.
- [12] VOGELSANG – O'DWYER M, SAHIN A W, ARENDT E K, et al. Enzymatic hydrolysis of pulse proteins as a tool to improve techno – functional properties[J/OL]. Foods, 2022, 11(9): 1307 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.3390/foods11091307>.
- [13] CASTELLANI O F, MARTÍNEZ E N, AÑÓN M C. Amaranth globulin structure modifications induced by enzymatic proteolysis[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(11): 5624 – 5629.
- [14] PAN W, ZHENG Z, LI P, et al. Effects of enzymatic modification on the stability of cashew – based milk[J]. Food Funct, 2023, 14(17): 7946 – 7958.
- [15] 朱盼盼, 牛晓涛, 王雪, 等. 利用 Turbiscan 多重光散射技术研究常温液体奶酪的稳定性[J]. 光谱学与光谱分析, 2022, 42(11): 3415 – 3422.
- [16] WANG W, WANG R, YAO J, et al. Effect of ultrasonic power on the emulsion stability of rice bran protein – chlorogenic acid emulsion[J/OL]. Ultrason Sonochem, 2022, 84: 105959 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105959>.
- [17] MAQSOOD S, BENJAKUL S. Comparative studies of four different phenolic compounds on *in vitro* antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince[J]. Food Chem, 2010, 119(1): 123 – 132.
- [18] FIORAMONTI S A, RUBIOLO A C, SANTIAGO L G. Characterisation of freeze – dried flaxseed oil microcapsules obtained by multilayer emulsions[J]. Powder Technol, 2017, 319: 238 – 244.
- [19] VALENTE N I P, RUDNITSKAYA A, OLIVEIRA J A B P, et al. Cheeses made from raw and pasteurized cow's milk analysed by an electronic nose and an electronic tongue[J/OL]. Sensors (Basel), 2018, 18(8): E2415 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.3390/s18082415>.
- [20] POLISELI – SCOPEL F H, HERNÁNDEZ – HERRERO M, GUAMIS B, et al. Sterilization and aseptic packaging of soymilk treated by ultra high pressure homogenization[J]. Innov Food Sci Emerg Technol, 2014, 22: 81 – 88.
- [21] DEGNER B M, CHUNG C, SCHLEGEL V, et al. Factors influencing the freeze – thaw stability of emulsion – based foods[J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2014, 13(2): 98 – 113.
- [22] WANG J, WANG T, YU G, et al. Effect of enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsification properties of rice bran albumin and globulin fractions[J/OL]. LWT – Food Sci Technol, 2022, 156: 113005 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113005>.
- [23] DIAS F F G, DE MOURA BELL J M L N. Understanding the impact of enzyme – assisted aqueous extraction on the structural, physicochemical, and functional properties of protein extracts from full – fat almond flour[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2022, 127: 107534 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107534>.
- [24] WANG S, LIU X, ZHAO G, et al. Protease – induced soy protein isolate (SPI) characteristics and structure evolution on the oil – water interface of emulsion[J/OL]. J Food Eng, 2022, 317: 110849 [2024 – 03 – 22]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110849>.
- [25] GRUPPI A, DERMIKI M, SPIGNO G, et al. Impact of

