

薄壳山核桃多肽复合益生元酸奶的 研制及其体外降血糖性能

翟茂廷, 谢雪妮, 薛慧, 蒋桥辉, 吴梵, 杨梦雪, 许英杰, 郭宇星, 刘琛*
(南京师范大学食品与制药工程学院, 江苏南京 210000)

摘要: 为开发一款具有潜在降血糖功能的风味酸奶, 该试验筛选出两株具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的乳酸菌, 并对其益生特性的研究, 并将降糖能力强的鼠李糖乳杆菌 NSD-1 (*Lactobacillus rhamnosus* NSD-1) 和植物乳杆菌 NSD-2 (*Lactobacillus plantarum* NSD-2) 与商业发酵剂联合发酵酸奶, 以菊粉、低聚果糖和薄壳山核桃多肽添加量为单因素, 通过响应面试验优化酸奶制备工艺, 以 α -葡萄糖苷酶抑制率为考察指标确定最佳配比。结果显示, 鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 抑制率分别为 $(57.91\pm 2.64)\%$ 和 $(71.20\pm 1.22)\%$, 并表现出较好的益生性能。酸奶最佳工艺配方为菊粉 1.0%, 低聚果糖 0.6%, 薄壳山核桃多肽 0.06%, 其 α -葡萄糖苷酶抑制率为 53.72%。与普通酸奶相比, 薄壳山核桃多肽复合益生元酸奶的酸度、持水力以及 α -葡萄糖苷酶抑制率显著提高。

关键词: 薄壳山核桃多肽; α -葡萄糖苷酶; 益生元; 酸奶; 糖尿病

Development and *in vitro* Hypoglycemic Function of Pecan Polypeptide Complex Prebiotic Yogurt

ZHAI Maoting, XIE Xueni, XUE Hui, JIANG Qiaohui, WU Fan, YANG Mengxue, XU Yingjie,
GUO Yuxing, LIU Chen*

(College of Food and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210000, Jiangsu, China)

Abstract: In order to develop a flavored yogurt with potential hypoglycemic function, two strains of *Lactobacillus* with α -glucosidase inhibitory activity were first screened through tests, and their probiotic properties were studied. Then, the yogurt was fermented in combination with commercial starter and *Lactobacillus rhamnosus* NSD-1 and *Lactobacillus plantarum* NSD-2 which had strong hypoglycemic ability. Response surface test was conducted to optimize the preparation process of yogurt with inulin, fructooligosaccharide, and pecan polypeptide as single factor, and the optimal ratio was determined by α -glucosidase inhibition rate. The results showed that *Lactobacillus rhamnosus* NSD-1 and *Lactobacillus plantarum* NSD-2 had good α -glucosidase inhibitory activity, with inhibition rates of $(57.91\pm 2.64)\%$ and $(71.20\pm 1.22)\%$, respectively, and they showed good probiotic properties. The optimal process formula of yogurt was as follows: inulin of 1.0%, fructooligosaccharides of 0.6%, pecan polypeptide of 0.06%, and α -glucosidase inhibition rate of 53.72%. Compared with those of ordinary yogurt, the acidity, water retention, and α -glucosidase inhibition rate of pecan polypeptide complex prebiotic yogurt were significantly improved.

Keywords: pecan polypeptide; α -glucosidase; prebiotic; yogurt; diabetes mellitus

引文格式:

翟茂廷, 谢雪妮, 薛慧, 等. 薄壳山核桃多肽复合益生元酸奶的研制及其体外降血糖性能[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(6): 96-105.

ZHAI Maoting, XIE Xueni, XUE Hui, et al. Development and *in vitro* Hypoglycemic Function of Pecan Polypeptide Complex Prebiotic Yogurt[J]. Food Research and Development, 2025, 46(6): 96-105.

基金项目: 江苏省林业科技创新与推广项目(LYKJ[2022]12); 国家自然科学基金面上项目(32372355); 内蒙古乳业技术研究院有限责任公司科研项目(100803-2023-KY-00314); 中国食品科学技术学会食品科技基金——雅培食品营养与安全专项科研基金项目(2021-F02)

作者简介: 翟茂廷(2003—), 女(汉), 本科, 研究方向: 食品科学与工程。

*通信作者: 刘琛(1973—), 女(汉), 高级实验师, 研究方向: 焙烤食品工艺、食品加工技术、营养学。

糖尿病是一种以高血糖为主要特征的代谢性疾病,可能引起多种并发症,对肾脏、心脏等具有慢性损害^[1]。Wang等^[2]证实 α -葡萄糖苷酶的抑制剂能有效延缓葡萄糖的吸收,因此,对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用被认为是控制糖尿病的有效策略。如今的降血糖药物多为人工合成的化合物会引起多种副作用^[3],例如治疗糖尿病首选的双胍类药物在长时间、大剂量使用后会导​​致患者出现恶心、呕吐等不良反应^[4]。因此,在日常生活中预防糖尿病尤为重要。近年来,食源性多肽因其能够通过抑制葡萄糖释放、提高胰岛素敏感性发挥降糖作用而备受关注^[5]。

核桃多肽是核桃饼粕经蛋白酶酶解后制备而成的一种生物活性物质,具有极高的营养价值。与核桃蛋白相比,核桃多肽具有更好的乳化性和胃肠消化稳定性,可更好地被人体消化吸收,还具有抗氧化、抗癌等多种生物活性^[6]。李丽等^[7]证明核桃多肽具有降糖作用;Hou等^[8]发现从核桃多肽中分离纯化出的肽段LP-5具有抗炎、抗氧化和降糖活性;杜侃莹^[9]证实核桃多肽可显著降低II型糖尿病小鼠空腹血糖值。目前,市面上的核桃多肽产品多为多肽乳饮料^[10-11],在酸奶中的应用较少。

多项研究表明益生菌在改善炎症、降糖降脂、缓解代谢综合症等方面均有较强能力^[12-19]。益生元是一类经人体口腔、胃和小肠消化后调节肠道菌群的有益食品组分,菊粉和低聚果糖是常见的益生元^[20-22],具有降血糖、修复肠道屏障损伤等作用^[23-25]。近年来,益生元在食品工业中被广泛应用,通过添加益生元,可强化酸奶的营养功效。目前,有关薄壳山核桃多肽复合益生元对酸奶降糖能力影响的研究较少,将薄壳山核桃多肽复合菊粉、低聚果糖添加到酸奶中,以期提高酸奶的降糖能力。

因此,本研究首先筛选出两株具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性的乳酸菌,并对其进行益生特性研究,再将降糖能力强的两种菌株与商业发酵剂联合发酵酸奶,将菊粉、低聚果糖作为益生元和薄壳山核桃多肽同时添加到酸奶中,开发一种具有潜在降血糖功能的多肽复合益生元酸奶,为拓宽薄壳山核桃多肽的应用范围提供科学理论依据,为酸奶的功能化转型提供产品思路。

1 材料与方​​法

1.1 材料与设备

全脂牛乳:内蒙古伊利实业集团股份有限公司;低聚果糖、菊粉:南京优能生物科技有限公司;薄壳山核桃饼粕:江苏省农业科学院;婴儿粪便样品:采集自江苏省南通市如皋市0~6个月婴儿;清酒乳杆菌 NNU-1、罗伊氏乳杆菌 FB4、瑞士乳杆菌 NNU-2、副干酪乳酪杆菌 FB1:南京师范大学畜产功能食品实验室保藏;4-

硝基苯基-D-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside,PNPG)、 α -葡萄糖苷酶(0.2 U/mL):美国Sigma公司;甲苯、乙酸乙酯、氯仿、琼脂:国药集团化学试剂有限公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS):北京索莱宝科技有限公司;中性蛋白酶(100 U/mg)、碱性蛋白酶(200 U/mg)、牛胆盐、牛血清蛋白:上海源叶生物科技有限公司;MRS肉汤:青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。以上试剂均为分析纯。

聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)仪:日本Takara公司;Fielda-650D超声波细胞破碎仪:江苏波场智能科技股份有限公司;SPARK 20M多功能酶标仪:瑞士Tecan公司。

1.2 试验方法

1.2.1 具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性乳酸菌的筛选

1.2.1.1 乳酸菌的分离纯化

将粪便样品按一定浓度梯度稀释后涂布于MRS固体培养基上,于37℃培养。用无菌接种环挑取形态学上存在明显差异的菌株,对其进行分离纯化并鉴定。

1.2.1.2 发酵上清液的制备

参照闫芬芬等^[26]的方法稍作修改。将活化两次的乳酸菌按体积比2.0%接种至MRS液体培养基中,37℃培养至稳定期,6 000×g离心10 min,收集上清液即为发酵上清液(cell fermentation supernatant,CFS)。

1.2.1.3 乳酸菌 α -葡萄糖苷酶抑制率测定

参照Chen等^[27]的方法稍作修改:使用酶标仪于波长405 nm处检测反应液吸光度。以阿卡波糖为阳性对照,抑制率(Y ,%)计算公式如下。

$$Y = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{阳性}} - A_{\text{阴性}}} \right) \times 100$$

式中: $A_{\text{阴性}}$ 为添加PBS和 Na_2CO_3 的吸光度; $A_{\text{阳性}}$ 为等量缓冲液代替样品的吸光度; $A_{\text{空白}}$ 为等量缓冲液代替 α -葡萄糖苷酶的吸光度; $A_{\text{样品}}$ 为含有样品反应体系的吸光度。

1.2.2 乳酸菌益生特性研究

1.2.2.1 乳酸菌酸耐受性测定

参考聂紫玉等^[28]的方法稍作修改。将活化两次的乳酸菌按体积比2.0%接种至MRS液体培养基中,37℃培养至稳定期,6 000×g离心10 min,收集的菌体分别重悬于pH值为3.0、4.0、5.0培养基中,于37℃静置培养,第0.5、1.0、2.0 h收集菌液,根据GB 4789.2—2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行平板计数,计算存活率(C ,%)公式如下。

$$C = \frac{\lg N_1}{\lg N_0} \times 100$$

式中: N_1 为经过耐受处理条件下的活菌数,CFU/mL; N_0 为正常MRS肉汤培养基中的活菌数,CFU/mL。

1.2.2.2 乳酸菌胆盐耐受性测定

参考 Tang 等^[29]和王明芳等^[30]的方法稍作修改。收集菌体分别重悬于胆盐浓度为 0.50、0.75、1.00、1.50 g/L 的 MRS 液体培养基中,于 37 °C 静置培养,第 0.5、1.0、2.0 h 收集菌液,根据 GB 4789.2—2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行平板计数,计算存活率计算公式同 1.2.2.1。

1.2.2.3 乳酸菌表面疏水性、自凝聚能力的测定

参照周钦育等^[31]的方法稍作修改。于波长 600 nm 处测量菌悬液吸光值,再取 3 mL 的菌悬液分别与 1 mL 二甲苯、氯仿和乙酸乙酯混合,室温下放置 10 min 后混匀,静置 20 min 测定水相吸光度,疏水性(S,%)计算如下。

$$S = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A_0 为初始吸光度; A_1 为与试剂混匀后吸光度。

参考何杉杉等^[32]和 Mallappa 等^[33]的方法稍作修改。试管中加入 4 mL 菌悬液,于室温静置 1~5 h 后各吸取 1 mL 上层溶液测其吸光度,自凝聚性(Z,%)计算如下。

$$Z = \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A_0 为 0 h 吸光度; A_t 为 t 时刻吸光度。

1.2.3 薄壳山核桃多肽的制备

称取 5 g 薄壳山核桃饼粕用蒸馏水配制成底物浓度 5% 的溶液,加入 4% 的蛋白酶[碱性蛋白酶:中性蛋白酶=3:1(质量比)],55 °C 下酶解 4 h,每 30 min 将 pH 值调节至最佳酶解 pH 值,将酶解液 pH 值调节至 7.0 后立即沸水浴 10 min 以失活蛋白酶,8 000×g 离心 10 min 后,收集上清液冷冻干燥,得到薄壳山核桃多肽,于-20 °C 保存备用。

1.2.4 酸奶加工工艺优化

1.2.4.1 发酵剂制备

将 0.2% 商业发酵剂及 5% 鼠李糖乳杆菌 NSD-1 (*Lactobacillus rhamnosus* NSD-1)和植物乳杆菌 NSD-2 (*Lactobacillus plantarum* NSD-2) 1:1(体积比)接种于 30 mL 灭菌奶中,于 42 °C 发酵至凝乳作为后续试验组的发酵剂,4 d 内保存备用。

1.2.4.2 酸奶制备工艺流程

全脂牛乳→调配→均质→灭菌→冷却→接种→发酵→冷藏后熟→成品。

1.2.4.3 酸奶制备单因素试验

1) 菊粉添加量的优化

向 30 mL 牛奶中分别按 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 加入菊粉,添加 0.02% 薄壳山核桃多肽,2% 低聚果

糖,7% 白砂糖,10% 发酵剂,于 42 °C 发酵 5 h,转入 4 °C 后熟 18 h,测定 α-葡萄糖苷酶抑制率。

2) 低聚果糖添加量的优化

向 30 mL 牛奶中分别按 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5% 加入低聚果糖,添加 0.02% 薄壳山核桃多肽,1% 菊粉,7% 白砂糖,10% 发酵剂,于 42 °C 发酵 5 h,转入 4 °C 后熟 18 h,测定 α-葡萄糖苷酶抑制率。

3) 薄壳山核桃多肽添加量的优化

向 30 mL 牛奶中分别按 0%、0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、0.10% 加入薄壳山核桃多肽,添加 2% 低聚果糖,1% 菊粉,7% 白砂糖,10% 发酵剂,于 42 °C 发酵 5 h,转入 4 °C 后熟 18 h,测定 α-葡萄糖苷酶抑制率。

1.2.4.4 响应面优化试验

在单因素试验基础上,采用 Box-Behnken 中心组合设计原理,选取菊粉添加量(A)、低聚果糖添加量(B)、薄壳山核桃多肽添加量(C)为主要考察因素,以酸奶 α-葡萄糖苷酶抑制率为响应值,进行三因素三水平分析。采用 Design-Expert 13 对该试验进行数据处理分析。

表 1 响应面试验因素水平

Table 1 Factors and levels of response surface test

水平	因素		
	A 菊粉 添加量/%	B 低聚果糖 添加量/%	C 薄壳山核桃多肽 添加量/%
-1	0.5	0	0.04
0	1.0	0.5	0.06
1	1.5	1.0	0.08

1.2.5 酸奶品质分析

1.2.5.1 酸奶酸度测定

参考 GB 5009.239—2016《食品安全国家标准 食品酸度的测定》和肖英^[34]的方法对后熟 18 h 的酸奶进行酸度测定。

1.2.5.2 酸奶活菌数测定

结合 GB 4789.35—2023《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》和王雪杭等^[35]的方法进行酸奶活菌数测定。

1.2.5.3 酸奶持水力测定

参考 Gilbert 等^[36]的方法稍作修改。取酸奶样品 10 g,4 000×g 离心 10 min,弃上清液,离心管倒置 10 min 后立即称质量,持水力(C,%)计算公式如下。

$$C = \frac{M_0}{M_1} \times 100$$

式中: M_0 为离心沉淀物质量,g; M_1 为样品质量,g。

1.2.5.4 乳清析出量测定

参考王鑫磊等^[37]的方法稍作修改。称取离心管质量,倒入 5~8 mL 酸奶于离心管中,称取离心管与酸奶

质量。4 000×g 离心 10 min,除去上清液后称取酸奶与离心管质量。乳清析出率(R ,%)计算公式如下。

$$R = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

式中: M_0 为离心管质量,g; M_1 为离心管与酸奶质量,g; M_2 为除去上清后酸奶与离心管质量,g。

1.2.5.5 酸奶蛋白质含量测定

参考周艳星等^[38]的方法,采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。

1.3 数据处理

每组试验为3个平行,通过 Excel 2019 整理数据,利用 SPSS 26.0 进行显著性分析,采用 GraphPad Prism 8 进行图的绘制,响应面优化试验数据采用 Design-Expert 13 进行分析。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌 α -葡萄糖苷酶抑制率分析

乳酸菌 α -葡萄糖苷酶抑制率试验结果见表 2。

表 2 乳酸菌 α -葡萄糖苷酶抑制率

Table 2 α -Glucosidase inhibition rate by *Lactobacillus*

菌株	CFS 的 α -葡萄糖苷酶抑制率/%
植物乳杆菌 NSD-2	71.20±1.22 ^a
清酒乳杆菌 NNU-1	12.14±2.18 ^d
罗伊氏乳杆菌 FB4	55.57±2.73 ^b
鼠李糖乳杆菌 NSD-1	57.91±2.64 ^b
瑞士乳杆菌 NNU-2	11.24±1.55 ^d
副干酪乳酪杆菌 FB1	49.38±1.58 ^c

注:同列不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

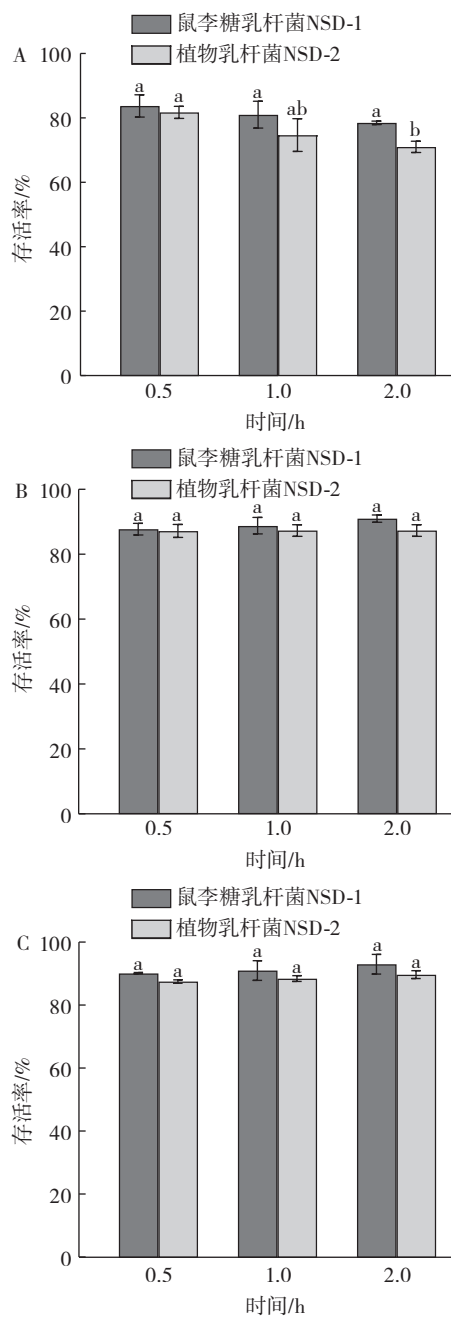
由表 2 可知,6 株乳酸菌具有不同的 α -葡萄糖苷酶抑制作用,其中植物乳杆菌 NSD-2 和鼠李糖乳杆菌 NSD-1 的 CFS 表现出更好的抑制率,分别为(71.20±1.22)%和(57.91±2.64)%,优于王姬宇^[39]研究中植物乳杆菌 Zhang-LL 的抑制率(56.91±0.08)%和鼠李糖乳杆菌 GG 的抑制率(53.26±0.11)%。乳酸菌较高的 α -葡萄糖苷酶抑制率有助于降低血糖浓度,在后续试验中,对 α -葡萄糖苷酶抑制率较高的两种乳酸菌进行益生特性研究。

2.2 乳酸菌益生特性分析

2.2.1 乳酸菌酸耐受性

乳酸菌酸耐受性测定结果见图 1。

由图 1A 可知,鼠李糖乳杆菌 NSD-1 在 pH3.0 中孵育 2.0 h 后存活率为(78.5±0.57)%,与王雅丽等^[40]研究中鼠李糖乳杆菌 HCS01-013 的存活率 88.85% 相似;植物乳杆菌 NSD-2 的存活率为(71.05±1.77)%,优于梁竞一等^[41]研究中植物乳杆菌 LPL04 的存活率



A. pH3.0; B. pH4.0; C. pH5.0。不同小写字母表示组内差异显著($P<0.05$)。

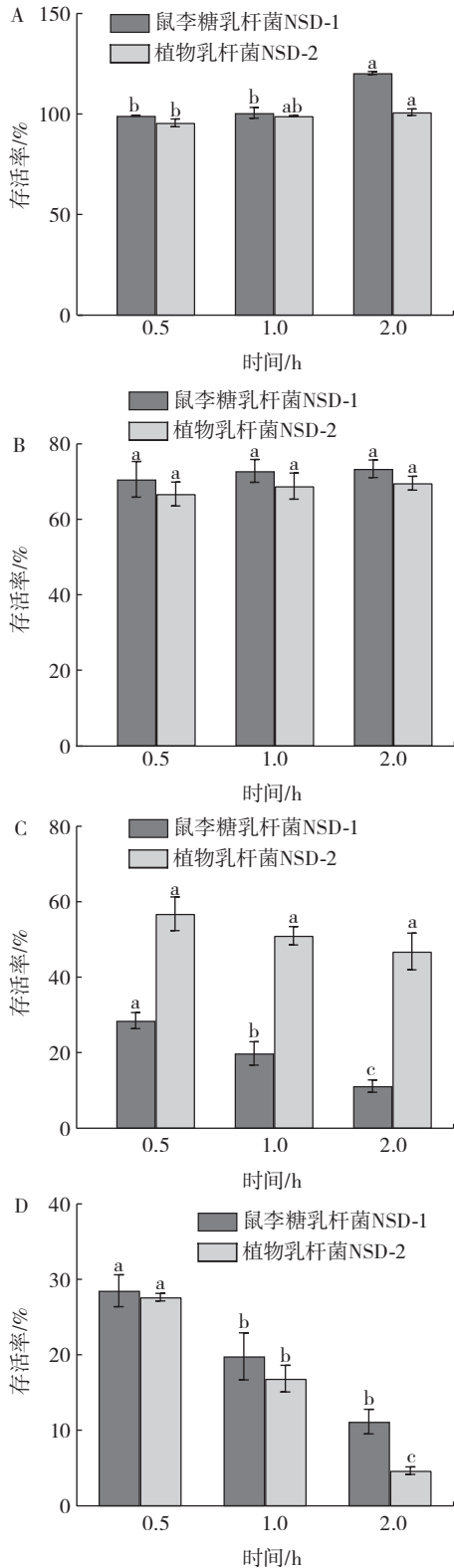
图 1 不同 pH 值条件下鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 存活率

Fig.1 Survival rates of *Lactobacillus rhamnosus* NSD-1 and *Lactobacillus plantarum* NSD-2 under different pH conditions

(69.04±2.16)%。由图 1 B 和图 1 C 可知,鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 在 pH4.0 和 5.0 中均有较强耐受性,随时间改变存活率无显著变化($P>0.05$)。综上,鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 表现出较强的酸耐受性,表明菌株在经胃部酸性环境后仍具有较高活性,可到达肠道发挥作用^[42]。

2.2.2 乳酸菌胆盐耐受性

乳酸菌胆盐耐受性测定结果见图 2。



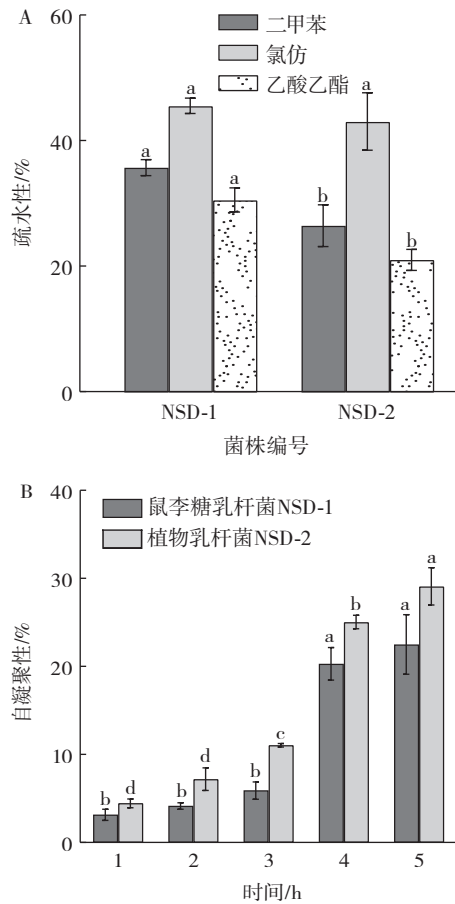
A. 胆盐浓度 0.50 g/L; B. 胆盐浓度 0.75 g/L; C. 胆盐浓度 1.00 g/L; D. 胆盐浓度 1.50 g/L。不同小写字母表示组内差异显著 ($P < 0.05$)。
图 2 不同胆盐浓度条件下鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 存活率

Fig.2 Survival rates of *Lactobacillus rhamnosus* NSD-1 and *Lactobacillus plantarum* NSD-2 under different bile salt concentrations

由图 2 可知,乳酸菌的存活率随胆盐浓度的增大而降低。胆盐浓度为 1.00 g/L 时,鼠李糖乳杆菌 NSD-1 的存活率随孵育时间的增加显著下降,而植物乳杆菌 NSD-2 的存活率无显著变化 ($P > 0.05$),植物乳杆菌 NSD-2 孵育 2 h 后存活率达 $(46.85 \pm 4.88)\%$,与徐晶晶等^[43]的研究中植物乳杆菌 M678 的存活率 $(47.24 \pm 1.06)\%$ 相似。这表明植物乳杆菌 NSD-2 具有较好的胆盐耐受性,在一定程度上可消除胆盐胁迫所带来的影响,进入肠道后可保持较高活性,有助于其在肠道内定植。

2.2.3 乳酸菌表面疏水性、自凝聚能力

乳酸菌表面疏水性、自凝聚能力的测定结果见图 3。



A. 表面疏水性; B. 自凝聚性。不同小写字母表示组内差异显著 ($P < 0.05$)。
图 3 鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 的疏水性和自凝聚性

Fig.3 Hydrophobicity and autoagglutination of *Lactobacillus rhamnosus* NSD-1 and *Lactobacillus plantarum* NSD-2

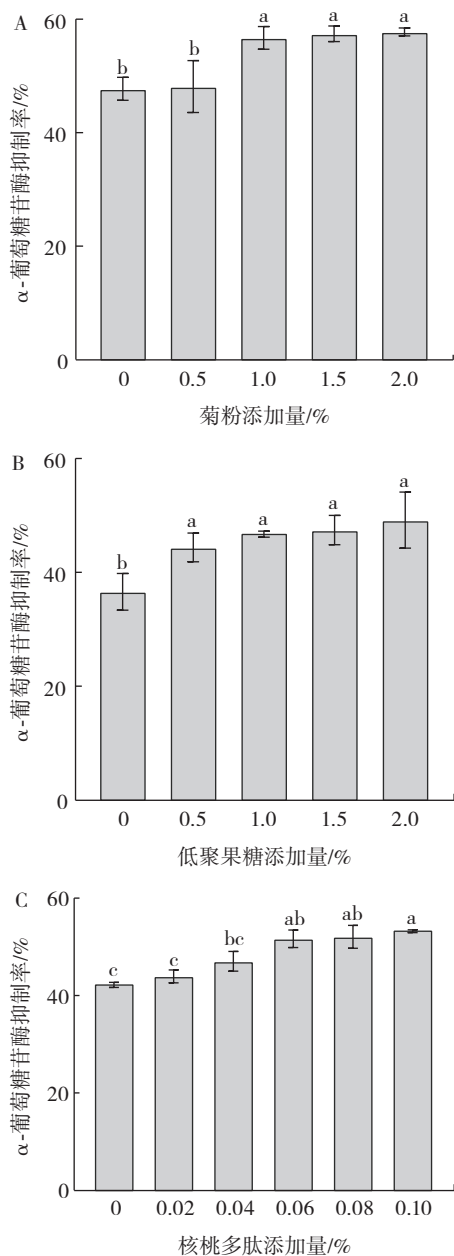
由图 3A 可知,乳酸菌对二甲苯和氯仿的疏水性强于对乙酸乙酯的疏水性。在二甲苯中,鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 的疏水性分别为 $(35.7 \pm 1.27)\%$ 和 $(26.45 \pm 3.32)\%$,优于李珊珊等^[44]的研究中鼠李糖乳杆菌的疏水性 15% 和梁竟一等^[41]的研究中植物乳杆菌 D1 的疏水性 $(11.79 \pm 0.18)\%$ 。由图 3B 可知,菌株的自凝聚性随孵育时间的增长而增加。

孵育 5 h 后,植物乳杆菌 NSD-2 的自凝聚性达(29.1±2.12)%,优于郝锐^[45]的研究中植物乳杆菌 T1 的自凝聚性 18.84%。通常,拥有高疏水性和自凝聚性的菌株对细胞具有强黏附性,结果显示,鼠李糖乳杆菌 NSD-1 和植物乳杆菌 NSD-2 具有较强的黏附能力,更有利于其在肠道中的定植,调节肠道菌群^[46]。

2.3 酸奶加工工艺优化试验

2.3.1 酸奶制备单因素试验

酸奶制备单因素试验结果见图 4。



A. 菊粉添加量;B. 低聚果糖添加量;C. 薄壳山核桃多肽添加量。不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 4 不同添加物条件下酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率

Fig.4 α -Glucosidase inhibition rate of yogurt under different additive conditions

由图 4 A 可知,菊粉添加量为 1.0% 时,酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率达(56.73±2.01)%。当添加量达 2.0% 时,酸奶对 α -葡萄糖苷酶抑制率最高。但菊粉添加量大于 1.0% 后,对酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率无显著影响($P=0.690 > 0.05$),考虑到经济因素,在后续试验中选择菊粉添加量为 0.5%、1.0%、1.5%。

由图 4 B 可知,低聚果糖添加量在 0.5% 时,酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率达(44.39±2.54)%。当添加量达 2.0% 时,酸奶对 α -葡萄糖苷酶抑制率最高。但低聚果糖添加量大于 0.5% 后,对酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率无显著影响($P=0.351 > 0.05$),考虑到经济因素,在后续试验中选择低聚果糖添加量为 0%、0.5%、1.0%。

由图 4 C 可知,薄壳山核桃多肽添加量在 0.06% 时,酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率达(51.67±1.81)%。当添加量达 0.10% 时,酸奶对 α -葡萄糖苷酶抑制率最高。分析可知,薄壳山核桃多肽添加量对酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率有显著影响($P=0.002 < 0.05$),但添加量在大于 0.06% 后,对酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率无显著影响($P=0.589 > 0.05$),因此在后续试验中选择薄壳山核桃多肽添加量为 0.04%、0.06%、0.08%。

2.3.2 响应面优化试验

2.3.2.1 响应面试验设计

响应面试验设计及结果见表 3。

表 3 酸奶响应面试验设计与结果

Table 3 Design and results of response surface test for yogurt

序号	A 菊粉添加量/%	B 低聚果糖添加量/%	C 薄壳山核桃多肽添加量/%	α -葡萄糖苷酶抑制率/%
1	0.5	0	0.06	42.88
2	1.5	0	0.06	46.72
3	0.5	1.0	0.06	46.23
4	1.5	1.0	0.06	47.12
5	0.5	0.5	0.04	37.78
6	1.5	0.5	0.04	40.55
7	0.5	0.5	0.08	43.68
8	1.5	0.5	0.08	43.46
9	1.0	0	0.04	40.33
10	1.0	1.0	0.04	40.96
11	1.0	0	0.08	40.60
12	1.0	1.0	0.08	47.92
13	1.0	0.5	0.06	53.61
14	1.0	0.5	0.06	56.38
15	1.0	0.5	0.06	54.03
16	1.0	0.5	0.06	54.43
17	1.0	0.5	0.06	54.21

2.3.2.2 模型的建立及显著性分析

根据表 3 的结果,利用 Design-Expert 13 进行二元回归方程拟合和方差分析。回归方程为 $Y=54.53+0.910 0A+1.46B+2.00C-0.736 9AB-0.748 1AC+1.67BC-4.94A^2-3.86B^2-8.22C^2$ 。响应面模型方差分析见表 4。

表4 回归方程的方差分析

Table 4 Analysis of variance of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	567.45	9	63.05	57.04	<0.000 1	***
A	6.62	1	6.62	5.99	0.044 2	*
B	17.12	1	17.12	15.49	0.005 6	**
C	32.14	1	32.14	29.07	0.001	**
AB	2.17	1	2.17	1.97	0.203 7	
AC	2.24	1	2.24	2.03	0.197 7	
BC	11.22	1	11.22	10.15	0.015 4	*
A ²	102.81	1	102.81	93.02	<0.000 1	***
B ²	62.68	1	62.68	56.71	0.000 1	***
C ²	284.78	1	284.78	257.66	<0.000 1	***
残差	7.74	7	1.11			
失拟项	3.11	3	1.04	0.894 9	0.517	
纯误差	4.63	4	1.16			
总和	575.19	16				

注:***表示影响高度显著($P<0.001$);**表示影响极显著($P<0.01$);*表示影响显著($P<0.05$)。

由表4分析知,模型 P 值 $<0.000 1$,该模型高度显著。失拟项 $P=0.517 0>0.05$,不显著,表明理论与实际较为拟合。通过交互项和单项之间的显著水平判断出3个单因素影响能力的顺序为 $C>B>A$,即薄壳山核桃多肽添加量对 α -葡萄糖苷酶抑制率最为显著。变异系数为 $2.26\%<5\%$,说明试验的精确度和重复性较高,且可信度较高。复相关系数 $R^2=0.986 5, R^2_{Adj}=0.969 3$,表明此模型预测效果较佳。

2.3.2.3 各因素交互作用的响应面分析

响应面变化情况和等高线稀疏程度可直观反映菊粉添加量(A)、低聚果糖添加量(B)、薄壳山核桃多肽添加量(C)之间的交互作用对酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率的影响。各因素交互作用对薄壳山核桃多肽酸奶 α -葡萄糖苷酶抑制率影响的响应面见图5。

由图5可知,曲面图弧度变化越陡峭,等高线越密集且呈椭圆形或马鞍形时,表示两因素之间交互作用越显著。由图5B可知,BC的等高线呈椭圆形,表明BC具有显著交互作用($P=0.015 4<0.05$)。根据Design-Expert 13分析得最佳配方的理论结果为菊粉添加量 1.033% ,低聚果糖添加量 0.607% ,薄壳山核桃多肽添加量 0.063% 时,此条件下酸奶的 α -葡萄糖苷酶抑制率为 54.861% 。根据实际生产过程中的操作情况与参数状可确定菊粉添加量为 1.0% ,低聚果糖添加量为 0.6% ,薄壳山核桃多肽添加量为 0.06% 为最佳的配

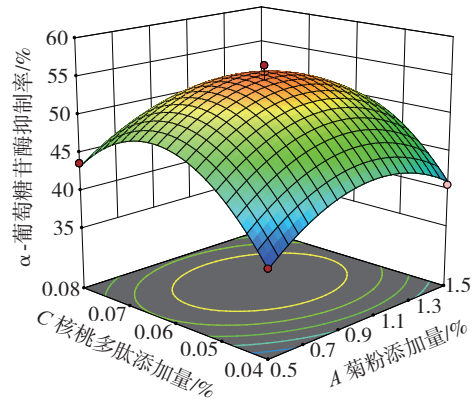
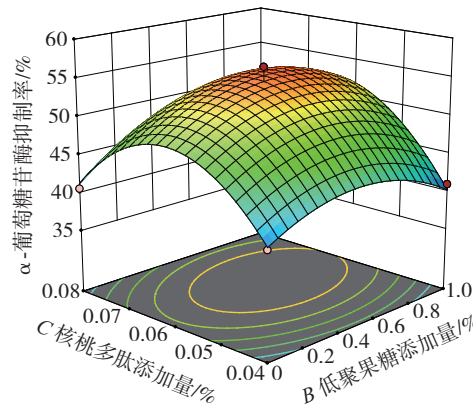
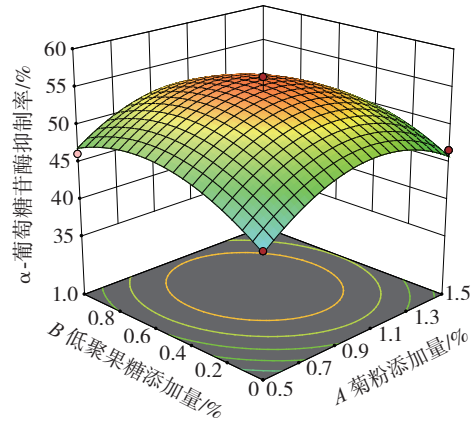


图5 各因素交互作用对薄壳山核桃多肽酸奶 α -葡萄糖苷酶抑制率影响的响应面

Fig.5 Response surface of interaction of various factors on α -glucosidase inhibition rate of pecan polypeptide yogurt

方。对最佳条件进行试验验证, α -葡萄糖苷酶抑制率达 53.72% ,接近理论值。

2.4 酸奶品质分析

酸奶常规理化和微生物指标见表5。

表5 酸奶常规理化和微生物指标

Table 5 Routine physicochemical and microbial indexes of yogurt

项目	蛋白质/(g/100 g)	酸度/°T	持水力/%	乳清析出/%	乳酸菌数/(CFU/g)	酵母/(CFU/g)	霉菌/(CFU/g)
薄壳山核桃多肽酸奶	2.78±0.21 ^a	98.39±0.28 ^a	76.02±1.11 ^a	23.98±1.11 ^b	(6.50±0.71)×10 ^{7a}	未检出	未检出
原味酸奶	2.53±0.14 ^a	89.32±1.42 ^b	68.19±4.17 ^b	31.81±4.17 ^a	(3.7±0.71)×10 ^{7a}	未检出	未检出
国标要求	≥2.3	≥70			≥1×10 ⁶	≤100	≤30

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

由表5可知,薄壳山核桃多肽酸奶的蛋白质含量为(2.78±0.21)g/100g;酸度达(98.39±0.28)°T;乳酸菌数符合GB 19302—2010《食品安全国家标准 发酵乳》。Lin等^[47]的研究表明,酸奶的持水力指标在一定程度上可反映酸奶的质地和保水性能。薄壳山核桃多肽酸奶的持水力达(76.02±1.11)%,显著高于原味酸奶,说明薄壳山核桃多肽和益生元的添加可能有助于酸奶持水力的维持,有较好的保水性能。酸奶的乳酸菌数为(6.50±0.71)×10⁷CFU/g,比标准GB 19302—2010《食品安全国家标准 发酵乳》所规定的多1个数量级,说明添加薄壳山核桃多肽和益生元对于酸奶乳酸菌数的维持有较好作用。

3 结论

本研究筛选出的鼠李糖乳杆菌NSD-1和植物乳杆菌NSD-2,具有较高α-葡萄糖苷酶抑制活性和较好的益生性能,将其联合商业发酵剂进行酸奶发酵,同时添加菊粉、低聚果糖和薄壳山核桃多肽制作出一款具有潜在降血糖功能的多肽复合益生元酸奶。当酸奶的菊粉添加量为1.0%,低聚果糖添加量为0.6%,薄壳山核桃多肽添加量为0.06%时,酸奶的α-葡萄糖苷酶抑制率最高为53.72%;乳酸菌活菌数为(6.50±0.71)×10⁷CFU/g;酸度较高且持水力较好,分别为(98.39±0.28)°T和(76.02±1.11)%。本研究可为薄壳山核桃多肽的应用探索新途径,也为功能性酸奶的开发提供新的思路。

参考文献:

[1] 程之梁,张钰龙,杨涵,等. 益生菌及其代谢产物调控胰高血糖素样肽-1缓解2型糖尿病的研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(12): 292-303.
CHENG Zhiliang, ZHANG Yulong, YANG Han, et al. Probiotics and their metabolites alleviate type 2 diabetes mellitus by regulating glucagon-like peptide-1: A review of recent research[J]. Food Science, 2024, 45(12): 292-303.

[2] WANG J, WU T, FANG L, et al. Anti-diabetic effect by walnut (*Juglans mandshurica* Maxim.)-derived peptide LPLLR through inhibiting α-glucosidase and α-amylase, and alleviating insulin resistance of hepatic HepG2 cells[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 69: 103944.

[3] KEHINDE B A, SHARMA P. Recently isolated antidiabetic hydrolysates and peptides from multiple food sources: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(2): 322-340.

[4] 向玉芳,孙辉,陈月,等. 2型糖尿病降糖药不良反应及联合用药情况分析[J]. 中国药物警戒, 2022, 19(3): 313-316.
XIANG Yufang, SUN Hui, CHEN Yue, et al. Medication safety and combined medication in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Chinese Journal of Pharmacovigilance, 2022, 19(3): 313-316.

[5] 李思楠,王萌,余钧,等. 基于体外模拟消化探究白芸豆多肽降糖活性[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(3): 292-297.
LI Sinan, WANG Meng, YU Jun, et al. Based on the *in vitro* digestion to explore the white kidney bean polypeptide hypoglycemic activity[J]. Journal of food and fermentation industry, 2025, 51(3): 292-

297.

[6] 张子杰,田益玲,夏君霞,等. 核桃多肽结构表征及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2024, 45(9): 1-8.
ZHANG Zijie, TIAN Yiling, XIA Junxia, et al. Structural characterization and antioxidant activity of walnut peptides[J]. Food Science, 2024, 45(9): 1-8.

[7] 李丽,黄雪梦,杨璐嘉,等. 采用2种降糖模型考察核桃蛋白及多肽的降糖作用[J]. 食品科技, 2017, 42(4): 218-221.
LI Li, HUANG Xuemeng, YANG Lujia, et al. Comparison of blood glucose model of *Saccharomyces cerevisiae* and animal[J]. Food Science and Technology, 2017, 42(4): 218-221.

[8] HOU W Y, ZHAO F R, FANG L, et al. Walnut-derived peptides promote autophagy *via* the activation of AMPK/mTOR/ULK1 pathway to ameliorate hyperglycemia in type 2 diabetic mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(8): 3751-3765.

[9] 杜侃莹. 核桃多肽降血糖功能效果研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017.
DU Kanying. Study on hypoglycemic effect of walnut polypeptide [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017.

[10] 梁丽,朱俊龙,刘国艳,等. 一种枸杞风味核桃多肽乳的制备工艺研究[J]. 中国食品工业, 2023(22): 90-96.
LIANG Li, ZHU Junlong, LIU Guoyan, et al. Study on preparation technology of a kind of *Lycium barbarum* flavor walnut polypeptide milk[J]. China Food Industry, 2023(22): 90-96.

[11] 张薇,王小婷,胡选生. 核桃多肽酸乳饮料的研制[J]. 商洛学院学报, 2022, 36(2): 34-38, 55.
ZHANG Wei, WANG Xiaoting, HU Xuansheng. Development of walnut peptide yogurt beverage[J]. Journal of Shangluo University, 2022, 36(2): 34-38, 55.

[12] 马文龙,胡琳琳,康文丽,等. 基于肠道微生态的益生菌和益生元改善产后肥胖研究综述[J]. 食品科学, 2024, 45(3): 335-347.
MA Wenlong, HU Linlin, KANG Wenli, et al. A review of the role of probiotics and prebiotics in improving postpartum obesity based on intestinal microecology[J]. Food Science, 2024, 45(3): 335-347.

[13] 左一帆,肖萌,苏香萍,等. 副干酪乳杆菌润肠通便及调节肠道菌群作用[J]. 食品工业科技, 2024, 45(21): 329-337.
ZUO Yifan, XIAO Meng, SU Xiangping, et al. Effect to intestinal microbiota regulation and laxative function to *Lactobacillus paracasei*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(21): 329-337.

[14] 董奇奇,张怡琳,游春苹. 肠道微生物及其代谢产物对血脑屏障的影响及益生菌干预措施研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 353-360.
DONG Qiqi, ZHANG Yilin, YOU Chunping. Research progress in effects of gut microbiota and their metabolites on the blood-brain barrier and interventions by probiotics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(22): 353-360.

[15] 中国食品科学技术学会益生菌分会. 益生菌功效性研究与评价的科学综述[J]. 中国食品学报, 2023, 23(5): 444-455.
Probiotics Branch of China Society of Food Science and Technology. A scientific review of research and evaluation of probiotics efficacy[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(5): 444-455.

[16] 周丽免,赵雯,刘伟贤,等. 益生菌调节肠道菌群改善功能性消化不良研究进展[J]. 中国食品学报, 2023, 23(8): 417-427.
ZHOU Limian, ZHAO Wen, LIU Weixian, et al. Research progress of probiotics regulating intestinal flora to improve functional dyspepsia[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(8): 417-427.

[17] AZHAR M A, MUNAIM M S A, et al. Viability and gastrointestinal

- tolerance of commercial probiotic products[J]. International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences, 2020, 9(3): 117-121.
- [18] ZHANG X F, GUAN X X, TANG Y J, et al. Clinical effects and gut microbiota changes of using probiotics, prebiotics or synbiotics in inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis[J]. European Journal of Nutrition, 2021, 60(5): 2855-2875.
- [19] 刘瑞芳, 赵华, 史红娟, 等. 益生菌与2型糖尿病心血管疾病的研究进展[J]. 医学信息, 2019, 32(18): 29-31.
LIU Ruifang, ZHAO Hua, SHI Hongjuan, et al. Advances in research on probiotics and cardiovascular diseases in type 2 diabetes[J]. Journal of Medical Information, 2019, 32(18): 29-31.
- [20] CARDOSO B B, AMORIM C, SILVÉRIO S C, et al. Novel and emerging prebiotics: Advances and opportunities[J]. Advances in Food and Nutrition Research, 2021, 95: 41-95.
- [21] 赖鲸慧, 祝元婷, 陈媛, 等. 乳酸菌代谢低聚果糖/菊粉途径及机理的研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(9): 364-372.
LAI Jinghui, ZHU Yuanling, CHEN Yuan, et al. Recent progress in understanding metabolic pathways and mechanisms of fructooligosaccharides/inulin by lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2022, 43(9): 364-372.
- [22] HAN Y Z, ZHOU C C, XU Y Y, et al. High-efficient production of fructo-oligosaccharides from inulin by a two-stage bioprocess using an engineered *Yarrowia lipolytica* strain[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 173: 592-599.
- [23] 孙艳波, 颜敏茹, 徐亚麦. 菊粉的生理功能及其在乳制品中的应用[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(8): 43-44.
SUN Yanbo, YAN Minru, XU Yamai. Physiological function of inulin and being used in dairy[J]. China Dairy Industry, 2005, 33(8): 43-44.
- [24] ABRAMS S A, HAWTHORNE K M, ALIU O, et al. An inulin-type fructan enhances calcium absorption primarily via an effect on colonic absorption in humans 1, 2[J]. The Journal of Nutrition, 2007, 137(10): 2208-2212.
- [25] CANI P D, KNAUF C, IGLESIAS M A, et al. Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor[J]. Diabetes, 2006, 55(5): 1484-1490.
- [26] 闫芬芬, 史佳鹭, 李娜, 等. 具有 α -葡萄糖苷酶和二肽基肽酶IV抑制作用降糖益生菌的筛选[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 152-158.
YAN Fenfen, SHI Jialu, LI Na, et al. Screening for potential novel probiotic *Lactobacillus* strains with high dipeptidyl peptidase IV and α -glucosidase inhibitory activity[J]. Food Science, 2019, 40(20): 152-158.
- [27] CHEN P, ZHANG Q X, DANG H, et al. Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and α -glucosidase inhibitory activity[J]. Food Control, 2014, 35(1): 65-72.
- [28] 聂紫玉, 吴艳阳, 王增光, 等. 植物源益生乳酸菌的筛选及其特性[J]. 食品科学, 2022, 43(18): 143-151.
NIE Ziyu, WU Yanyang, WANG Zengguang, et al. Screening and characterization of plant-derived probiotic lactic acid bacteria[J]. Food Science, 2022, 43(18): 143-151.
- [29] TANG W, LI C, HE Z G, et al. Probiotic properties and cellular antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibetan kefir grains[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2018, 10(3): 523-533.
- [30] 王明芳, 陈雨澜, 张雪玲, 等. 人源分离长双歧杆菌长亚种的体外益生特性分析[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 155-162.
WANG Mingfang, CHEN Lilan, ZHANG Xueling, et al. Probiotic Characteristics of Human-Residential *Bifidobacterium longum* subsp. longum Strains[J]. Food Science, 2024, 45(2): 155-162.
- [31] 周钦育, 许喜林, 赵珊, 等. 婴儿肠道源格氏乳杆菌的安全性评价及益生特性[J]. 食品科学, 2021, 42(16): 61-68.
ZHOU Qinyu, XU Xilin, ZHAO Shan, et al. Safety evaluation and probiotic properties of *Lactobacillus gasseri* isolated from intestinal tract of infants[J]. Food Science, 2021, 42(16): 61-68.
- [32] 何杉杉, 王晓蕊, 彭禹熙, 等. 雪莲菌中乳酸菌的益生特性[J]. 食品科学, 2022, 43(2): 210-216.
HE Shanshan, WANG Xiaorui, PENG Yuxi, et al. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Tibetan kefir grain[J]. Food Science, 2022, 43(2): 210-216.
- [33] MALLAPPA R H, SINGH D K, ROKANA N, et al. Screening and selection of probiotic *Lactobacillus* strains of Indian gut origin based on assessment of desired probiotic attributes combined with principal component and heatmap analysis[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 105: 272-281.
- [34] 肖英. 酸奶制品的酸度控制[J]. 中国食品添加剂, 2009(4): 150-154.
XIAO Ying. Control on acidity of yogurt[J]. China Food Additives, 2009(4): 150-154.
- [35] 王雪杭, 李瑞东, 蒋云龙, 等. 植物乳杆菌胞外多糖协同鱼明胶改善低脂酸奶奶质特性[J]. 食品科学, 2023, 44(10): 73-81.
WANG Xuehang, LI Ruidong, JIANG Yunlong, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* exopolysaccharide combined with fish gelatin on the quality characteristics of low-fat yogurt[J]. Food Science, 2023, 44(10): 73-81.
- [36] GILBERT A, RIOUX L E, ST-GELAIS D, et al. Studying stirred yogurt microstructure using optical microscopy: How smoothing temperature and storage time affect microgel size related to syneresis[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(3): 2139-2152.
- [37] 王鑫磊, 王萌, 闫春晓, 等. 马乳酒样乳杆菌 ZW3 对酸奶奶味及质构的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 119-123.
WANG Xinlei, WANG Meng, YAN Chunxiao, et al. Effect of *Lactobacillus kefirifaciens* ZW3 on the texture and flavor characteristics of yogurt[J]. Food Science, 2022, 43(10): 119-123.
- [38] 周艳星, 侯敢, 陈泳诗, 等. 乳制品饮料中蛋白质含量测定方法的比较分析[J]. 食品安全导刊, 2021(9): 101-103.
ZHOU Yanxing, HOU Gan, CHEN Yongshi, et al. Comparative analysis of determination methods of protein in dairy drinks[J]. China Food Safety Magazine, 2021(9): 101-103.
- [39] 王姬宇, 刘慧, 张红星, 等. 植物乳杆菌 Zhang-LL 抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究[J]. 北京农学院学报, 2018, 33(4): 108-112.
WANG Jiyu, LIU Hui, ZHANG Hongxing, et al. Study of inhibitory effect of *Lactobacillus plantarum* Zhang-LL on α -glucosidase activity[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2018, 33(4): 108-112.
- [40] 王雅丽, 李雪龙, 余萍, 等. 具有降血压功能乳酸菌的筛选及其益生作用[J]. 中国酿造, 2022, 41(10): 130-133.
WANG Yali, LI Xuelong, YU Ping, et al. Screening of lactic acid bacterium with blood pressure lowering function and its probiotic effect[J]. China Brewing, 2022, 41(10): 130-133.
- [41] 梁竞一, 胡子毅, 王伟军, 等. 抗幽门螺旋杆菌乳酸菌的筛选与益生特性评价[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 140-148.
LIANG Jingyi, HU Ziyi, WANG Weijun, et al. Screening of lactic acid bacteria with anti-*Helicobacter pylori* activity and evaluation of their probiotic characteristics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(20): 140-148.
- [42] 蒙月月, 陆婧婧, 占萌, 等. 植物乳杆菌 KLDS 1.0318 产酸、耐酸、耐胆盐能力及其免疫特性研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(15): 70-76.

- MENG Yueyue, LU Jingjing, ZHAN Meng, et al. Study on the acid producing ability, acid and bile salt tolerance of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0318 and its immunologic properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(15): 70-76.
- [43] 徐晶晶, 于俊娟, 严浩东, 等. 母婴来源植物乳杆菌的体外益生特性及安全性评价[J/OL]. 食品与发酵工业, 1-12. [2024-05-11] <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.038354>.
- XU Jingjing, YU Junjuan, YAN Haodong, et al. *In vitro* probiotics and safety evaluation of *Lactobacillus plantarum* of maternal and infant origin [J/OL]. Food and Fermentation Industry, 1-12. [2024-05-11] <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.038354>.
- [44] 李姗姗, 张俊娟, 杨雪娟, 等. 益生乳杆菌的筛选研究[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(5): 4-8.
- LI Shanshan, ZHANG Junjuan, YANG Xuejuan, et al. Screening of potential probiotic bacteria from *Lactobacilli* strains[J]. China Dairy Industry, 2012, 40(5): 4-8.
- [45] 郝锐. 一株植物乳杆菌的分离鉴定及其益生效能研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2022.
- HAO Rui. Isolation and identification of a *Lactobacillus plantarum* and study on its probiotics[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2022.
- [46] RINKINEN M, WESTERMARCK E, SALMINEN S, et al. Absence of host specificity for *in vitro* adhesion of probiotic lactic acid bacteria to intestinal mucus[J]. Veterinary Microbiology, 2003, 97(1/2): 55-61.
- [47] LIN Y, XU Q L, LI X M, et al. *Tremella fuciformis* polysaccharides as a fat substitute on the rheological, texture and sensory attributes of low-fat yogurt[J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 1061-1070.

责任编辑:张璐
收稿日期:2024-09-23