

蛋白谷氨酰胺酶与发酵剂对核桃酸奶品质的影响

尹新雅, 李梦瑶, 李呵呵, 朱玲, 张晖, 王立

Effects of Protein-glutaminase and Starter Cultures on the Quality of Walnut-based Yogurt

YIN Xinya, LI Mengyao, LI Hehe, ZHU Ling, ZHANG Hui, and WANG Li

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023100214>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

菊粉对合生元酸奶质构、流变学特性和微观结构的影响

Effect of Inulin on the Texture, Rheological Properties, and Microstructure of Synbiotic Yogurt

食品工业科技. 2023, 44(1): 72-77 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030241>

转谷氨酰胺酶对鲤鱼肌原纤维蛋白乳化活性和凝胶特性的影响

Effect of Transglutaminase on the Emulsifying Activity Index and Gel Properties of Common Carp Myofibrillar Protein

食品工业科技. 2019, 40(6): 126-130,278 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.06.021>

添加谷氨酰胺转氨酶对凝固型酸奶品质的影响

Effect of Adding Glutamine Transaminase on the Quality of Set-style Yogurt

食品工业科技. 2022, 43(11): 83-95 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021090097>

超声处理对转谷氨酰胺酶交联乳清分离蛋白的结构特性和凝胶保水性的影响

Effect of Ultrasound Treatment on Structural Properties and Gel Water Holding Capacity of Transglutaminase-Catalyzed Whey Protein Isolate

食品工业科技. 2019, 40(1): 77-81 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.01.014>

不同添加量的双孢蘑菇粉对酸奶流变学和质构特性的影响

Effects of Different Addition of *Agaricus bisporus* Powders on Rheological and Textural Properties of Yogurt

食品工业科技. 2024, 45(9): 54-61 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023050009>

淀粉酶、谷氨酰胺转氨酶及黄原胶对燕麦-小麦混合粉面团流变特性的影响

Effect of Amylase, Glutamine Aminotransferase and Xanthan Gum on Rheological Properties of Oat-Wheat Mixed Flour Dough

食品工业科技. 2021, 42(2): 52-57 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040167>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

尹新雅, 李梦瑶, 李呵呵, 等. 蛋白谷氨酰胺酶与发酵剂对核桃酸奶品质的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(18): 128–137. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100214

YIN Xinya, LI Mengyao, LI Hehe, et al. Effects of Protein-glutaminase and Starter Cultures on the Quality of Walnut-based Yogurt[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(18): 128–137. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100214

· 生物工程 ·

蛋白谷氨酰胺酶与发酵剂对核桃酸奶品质的影响

尹新雅, 李梦瑶, 李呵呵, 朱 玲*, 张 晖*, 王 立
(江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘 要: 选用核桃仁为原料, 制浆后利用蛋白谷氨酰胺酶对其水解, 通过调配、均质、灭菌及发酵制备凝固型核桃酸奶。通过对其发酵特性、理化指标及微观形态等方面的分析, 研究蛋白谷氨酰胺酶 (protein glutaminase, PG) 作用条件和 5 种直投式发酵剂 (I~V) 对核桃酸奶品质的改善效果, 并将最佳条件下的核桃酸奶与牛乳酸奶对比。结果表明, 相较未酶解的核桃乳, 酶解后核桃乳制备的酸奶在发酵特性与质构参数方面得到有效改善, 其中添加量 0.2% (1.35 U/g)、水解 40 min 为最佳酶解条件, 所制得的核桃酸奶 pH 为 4.3, 酸度为 55°T, 硬度达到 85.30 g, 稠度为 583.96 g·s。采用发酵剂 I 制备的核桃酸奶酸度最高, 且在储存期 21 d 内的变化幅度小, 而其他发酵剂制备的酸奶出现了不同程度的分层和沉淀。采用发酵剂 I 发酵的酸奶具有更好的粘弹性, 且凝胶网络结构更为致密, 而发酵剂 IV 和 V 发酵的酸奶表观粘度、G' 和 G'' 较小, 凝胶结构更为松散。此外, 采用发酵剂 I 制备的核桃酸奶在储存期内的活菌数始终高于 10^6 CFU/mL。虽然与牛乳酸奶相比, 核桃酸奶在稠度、持水力及乳清析出率方面仍有待改善, 但总体来说, PG 酶解改善了核桃酸奶的凝乳效果, 采用发酵剂 I (保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌) 制备出的酸奶品质得到提升, 整体评价较好。

关键词: 核桃酸奶, 蛋白谷氨酰胺酶, 发酵特性, 质构特性, 流变特性, 微观结构

中图分类号: TS252.42

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)18-0128-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100214

本文网刊:



Effects of Protein-glutaminase and Starter Cultures on the Quality of Walnut-based Yogurt

YIN Xinya, LI Mengyao, LI Hehe, ZHU Ling*, ZHANG Hui*, WANG Li

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

Abstract: Walnut kernels, selected as the raw material, underwent hydrolysis with protein-glutaminase (PG) following pulping. This process laid the foundation for producing set-type walnut yogurt, involving steps such as blending, homogenization, sterilization, and fermentation. The study investigated the impact of protein-glutaminase and five distinct starter cultures labeled I–V on the quality of walnut yogurt. This was evaluated by examining the yogurt's fermentation characteristics, physicochemical indicators, and microstructure. Furthermore, walnut yogurt developed under these optimal conditions was compared to traditional milk yogurt to assess its quality and characteristics. The findings revealed a significant improvement in the fermentation characteristics and textural parameters of yogurt fermented by walnut milk following enzymatic hydrolysis compared to non-enzymatic walnut milk. The optimal conditions were identified as 0.2% enzyme concentration and a 40-minute reaction time, with the pH, acidity, hardness, and consistency of walnut yogurt being 4.3, 55°T, 85.30 g, and 583.96 g·s, respectively. Walnut yogurt developed using starter culture I exhibited the highest

收稿日期: 2023-10-27

基金项目: 云南省重大科技专项计划“生物种业和农产品精深加工重大专项”(202102AE090055); 新疆维吾尔自治区重大科技专项(2022A02009-3)。

作者简介: 尹新雅 (1999–), 女, 硕士研究生, 研究方向: 谷物健康食品研究与加工, E-mail: 184581169@qq.com。

* 通信作者: 朱玲 (1985–), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 碳水化合物资源开发与利用, E-mail: zhuling@jiangnan.edu.cn。

张晖 (1966–), 女, 博士, 教授, 研究方向: 粮油深加工与功能食品, E-mail: zhanghui@jiangnan.edu.cn。

acidity level, maintaining minimal fluctuation over a 21-day storage period. In contrast, yogurts prepared with alternative starter cultures demonstrated varying degrees of stratification and sedimentation. The yogurt fermented with culture I showed superior viscoelastic properties, presenting a denser gel network. Conversely, yogurts fermented with cultures IV and V displayed reduced apparent viscosity, lower values of G' (storage modulus), and G'' (loss modulus), along with a looser gel structure. Additionally, walnut yogurt produced with starter culture I maintained bacterial counts exceeding 10^6 CFU/mL throughout the storage duration. Despite walnut yogurt requiring further refinement in aspects such as consistency, water-holding capacity, and whey release rate compared to milk yogurt, the overall impact of PG was positive, enhancing the gelation quality of walnut yogurt. The yogurt prepared with starter culture I (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) was notably improved, receiving favorable overall assessments.

Key words: walnut yogurt; protein glutaminase; fermentation properties; textural properties; rheological properties; microstructure

植物酸奶不含乳糖和胆固醇,能满足牛乳过敏、环保及动物保护等人群的需求,近年来市场份额呈向上发展趋势。核桃酸奶作为一种创新型植物酸奶,营养价值高,是蛋白质、不饱和脂肪酸与磷脂的良好来源。谷蛋白是核桃蛋白的主要成分,然而该蛋白含有大量酰胺基团,溶解性较差^[1],易受环境因素影响而变性,导致核桃乳体系经加热、高压等加工后因破乳引发体系失稳,或在发酵中因出现蛋白沉淀、脂肪上浮的分层现象而无法形成凝乳均匀的凝固型酸奶。蛋白质谷氨酰胺酶(protein glutaminase, PG)来源于一种由日本科学家从土壤中分离出的产 PG 酶的菌株,可特异性水解蛋白中的酰胺基、改善蛋白质的溶解性及乳化等功能特性、有效提高乳体系的稳定性,在食品工业中极具发展潜力^[2-3]。研究表明,PG 酶可明显提高小麦面筋的溶解性,且不改变蛋白分子量,使其形成稳定的高内相乳液^[4]。燕麦蛋白、大豆蛋白经 PG 酶处理后溶解性和乳化性皆得到改善^[5-6]。PG 酶还具有改善风味的作用,譬如可明显降低豌豆蛋白的豆腥味和苦味^[7]。此外,有学者已将 PG 酶用于牛乳酸奶加工中。Miwa 等^[8]发现,PG 酶可使无脂和低脂酸奶的凝胶网络结构变得更加致密,表面的析水率降低;Wu 等^[9]发现 PG 酶改善了凝固型脱脂酸奶的质地(硬度、稠度、持水力)和感官特性。然而,有关 PG 酶脱酰胺改善核桃酸奶品质的报道却较少。

发酵剂的选择关乎核桃酸奶的发酵特性,适合在核桃乳基质中生长繁殖的乳酸菌可以缩短核桃酸奶抵达发酵终点的时间,同时提高产酸量^[10]。此外,T/WSJD 12-2020《植物蛋白饮料 植物酸奶》规定,植物酸奶中的乳酸菌活菌数需要达到 10^6 CFU/mL。直投式发酵剂是经高效浓缩而成,具备活菌含量高、防止菌种污染和老化、适合长期保藏等优势^[10]。不同原料的植物乳体系中适合生长的菌种不同,因此需要对发酵剂进行针对性筛选,以改善酸奶品质。马文艺等^[10]从 6 种不同直投式发酵剂中筛选出了适合豌豆蛋白的发酵剂,优化了豌豆酸奶的风味;林浩鹏等^[11]研究发现在 9 种商品发酵剂中,7 菌发酵出的核桃酸奶具有更加优良的品质。

目前,植物酸奶大多为植物原料和动物乳、奶粉等混合发酵而成,缺乏有关纯植物基酸奶的研究。本文以核桃仁为原料,采用蛋白质谷氨酰胺酶和 5 种商业发酵剂制备了凝固型核桃酸奶,根据理化、流变、微观结构及感官评价,筛选出最佳酶解条件和发酵剂种类。同时,将最佳条件下制得的产品与牛乳酸奶比较,进一步评价其品质改善效果,以寻求未来突破的方向,为促进核桃资源利用拓展新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

核桃仁 摩尔农庄生物科技有限公司;酸奶发酵剂 I (2 菌,保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌) 丹尼克斯;酸奶发酵剂 II (5 菌,嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌等) 昆山佰生优生物科技有限公司;酸奶发酵剂 III (10 菌,嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌等)、酸奶发酵剂 IV (30 菌,保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、乳双歧杆菌等)、酸奶发酵剂 V (50 菌,保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、乳双歧杆菌等) 青岛优比特生物技术有限公司;蛋白谷氨酰胺酶(673 U/g) 日本天野酶制剂株式会社;白砂糖、纯牛奶 市售;MRS 固体培养基 北京陆桥技术股份有限公司。

CR21GIII 冷冻离心机 日本 Hitachi 公司;AH-2010 均质机 上海多宁生物科技股份有限公司;JG3521.888 酸奶发酵机 施威朗电器(深圳)有限公司;BMJ-250C 电热恒温培养箱 上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;FD100A 高压蒸汽灭菌锅 厦门致微仪器有限公司;TA.XTPlus 质构仪 英国 SMS 公司;MCR301 旋转流变仪 奥地利安东帕有限公司;SU8100 电子显微镜 日立高新技术(上海)国际贸易有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 酸奶制备工艺

1.2.1.1 核桃酸奶的制备 磨浆:将脱皮核桃仁与水按照 1:3 榨汁磨浆,磨浆时间为 4 min(2 min/次),得到核桃乳。

酶解、离心:添加蛋白质谷氨酰胺酶(PG)0.1%~0.3%(0.67~2.02 U/g)于核桃乳中,在温度 60 ℃ 下酶解 15~65 min;随后 95 ℃ 灭酶 2 min,冷却后在

2000 r/min 的转速下离心 5 min。

调配、均质、灭菌:取上层液体加入 8% 蔗糖,搅拌均匀后于 20 MPa 下均质 2 次;之后在 65 ℃ 下灭菌 30 min。

接种:待冷却至 40 ℃ 左右,接种发酵剂 I~V,接种量为 0.2%(w/v)。

发酵:发酵温度为 42 ℃,时间为 6~8 h,所得酸奶在 4 ℃ 下保藏 12 h。

1.2.1.2 牛乳酸奶的制备 在市售纯牛奶中加入 8% 蔗糖后,通过 65 ℃ 灭菌 30 min,待冷却后接种 0.2% 发酵剂 I,在 42 ℃ 下发酵 8 h,所得酸奶在 4 ℃ 下保藏 12 h。

1.2.2 PG 酶解条件的筛选

1.2.2.1 PG 酶添加量的筛选 将添加量为 0.1%, 0.2%, 0.3%(0.67、1.35、2.02 U/g)的 PG 酶分别加入核桃乳中,在 60 ℃ 下酶解 40 min。后续步骤按照 1.2.1.1。

1.2.2.2 PG 酶水解时间的筛选 将 0.2%(1.35 U/g)添加量的 PG 酶加入核桃乳中,分别在 60 ℃ 下水解 15、40、65 min。后续步骤按照 1.2.1.1。

未经 PG 酶水解的核桃乳会因均质和灭菌导致体系分层,无法进行后续发酵。

1.2.3 pH 的测定 pH 的测定通过 pH 计完成。

1.2.4 酸度的测定 根据 GB 5009.239-2016《食品安全国家标准 食品中酸度的测定》。

1.2.5 质构特性测定 根据马文艺等^[10]的方法,使用 Texture Expert Exceed 数据分析软件分析核桃酸奶的质构特性,并从中得到以下 4 种参数:硬度、稠度、内聚性和黏聚指数。每个样品进行 6 次平行测定。

1.2.6 持水力测定 持水力的测定基于 Levy 等^[12]的方法,称取 15 g 核桃乳于 50 mL 离心管中发酵 6 h,并于 4 ℃ 中保藏 12 h 以上,于 4 ℃、4000 r/min 下离心 10 min。称取析出的乳清重量,并通过如下公式计算持水力:

$$\text{持水力}(\%) = \left(\frac{W_2 - W}{W_1 - W} \right) \times 100$$

其中, W 代表离心管的重量(g); W₁ 代表样品的总重(g); W₂ 代表离心去除乳清后的样品重量(g)。每个样品进行 6 次平行测定。

1.2.7 乳清析出率测定 乳清析出率的测定基于 Miwa 等^[13]的方法。称取 15 g 核桃乳于直径为 5 cm 的发酵盒中发酵 6 h,于 4 ℃ 下冷藏 12 h 后取出,将盒子倾斜 45°,小心吸出乳清并称重,并通过下式计算乳清析出率:

$$\text{乳清析出率}(\%) = \left(1 - \frac{W_2 - W}{W_1 - W} \right) \times 100$$

其中, W 代表离心管的重量(g); W₁ 代表样品的

总重(g); W₂ 代表离心去除乳清后的样品重量(g)。每个样品进行 6 次平行测定。

1.2.8 流变学特性测定 根据 Huang 等^[14]的方法,直径为 40 mm 的平板,板间隙为 1 mm,在 0.1% 的恒定应变下,在 0.1~100 Hz 范围内对样品进行频率扫描。粘度通过剪切扫描测定,剪切速率的范围设为 0.01~100 s⁻¹。所有样品在 25 ℃ 下进行测量,每个样品平行测定 3 次。

1.2.9 乳酸菌活菌数的测定 根据 GB 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定》。

1.2.10 显微结构观察 参考 Chen 等^[15]的方法,将核桃酸奶凝胶切成 10 mm×5 mm×5 mm 的凝乳块,加入 2.5% 戊二醛溶液,于 4 ℃ 浸泡 12 h 以上。之后,用 0.1 mol/L、pH 7.2 的 PBS 缓冲液冲洗 6 次,再于 4 ℃ 下浸泡 15 min。采用乙醇(25%~100%)梯度脱水 15 min,其中 100% 乙醇脱水 2 次(15 min/次)。再用乙酸异戊酯与无水乙醇的等体积混合溶液浸泡 15 min,最后用 100% 乙酸异戊酯浸泡 15 min。冻干,采用离子溅射仪镀金,在电压为 5.0 kV 的条件下观察显微结构并拍照。

1.2.11 感官评价 参考斯梦等^[16]的方法,选取 10 名同学对凝固型核桃酸奶打分。计算过程中分别去除每项指标的最大和最小值,然后计算剩余分数的平均值,感官评分见表 1。

表 1 核桃酸奶的感官评定标准
Table 1 Sensory rating standard of set-type walnut yogurt

指标(分)	标准	分值(分)
颜色(20)	白色略带淡黄,颜色均一	16~20
	白色略带黄色,颜色略均一	11~15
	白色偏黄,颜色不均一	6~10
	深黄色	0~5
滋味(20)	酸甜适宜,无异味	16~20
	偏酸或偏甜	11~15
	过酸或过甜	6~10
	无味或异味	0~5
气味(20)	核桃的醇香及发酵后的独特酸味,无不愉快气味	16~20
	核桃发酵香气略淡,无不愉快气味	11~15
	缺乏核桃香气和发酵后的独特酸味,略有杂味	6~10
	酸味重或其他杂味	0~5
组织状态(40)	细腻、稳定,无分层、无沉淀,表面未析出乳清	31~40
	较为均匀细腻,略有分层,表面略微析出乳清	21~30
	不稳定,质地较为脆弱、分层较为明显,体系析出较多乳清	11~20
	不稳定,质地脆弱、分层明显,表面析出非常多的乳清	0~10

1.3 数据处理

借助 origin 软件作图,采用 SPSS 22(IBM, 美国)进行单因素方差统计分析, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 酶解条件的确定

2.1.1 酶添加量的确定 不同 PG 酶添加量的核桃酸奶在发酵期的不同时段内 pH 及酸度变化不同。由图 1 的 pH 变化曲线可知,8 h 发酵结束后,3 种核桃酸奶的 pH 皆小于 4.5,且 0.2% PG 酶处理的核桃乳 pH 相对更低。由图 2 可知,前 1 h 的发酵速率差距不大,而 1~2 h 内,0.3% PG 酶处理的核桃乳发酵速率更快;2 h 后,0.2% PG 酶处理的核桃乳发酵速率加快,且上升幅度较大,这说明乳酸菌的活性增加,提高了产酸速率;4 h 后,3 种核桃乳的发酵速率都有所减慢。在发酵终点(8 h),0.2% PG 酶处理的核桃酸奶的酸度比其他两种样品高,0.3% PG 酶处理的核桃酸奶酸度最低。这说明 0.2% PG 酶处理的核桃乳体系更适合乳酸菌繁殖产酸。

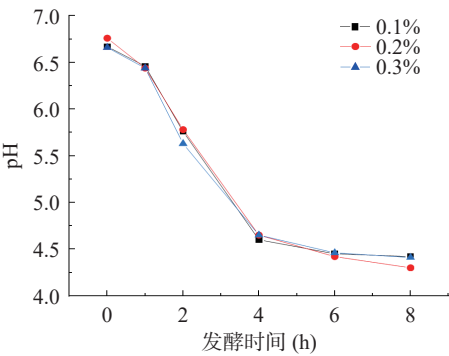


图 1 PG 酶添加量对核桃酸奶 pH 的影响
Fig.1 Effects of the addition of PG on the pH of walnut yogurt during fermentation

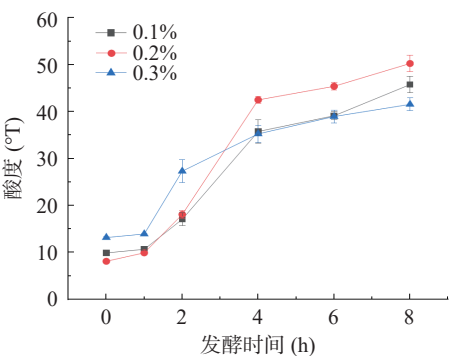


图 2 PG 酶添加量对核桃酸奶酸度的影响
Fig.2 Effects of the addition of PG on the acidity of walnut yogurt during fermentation

不同添加量的 PG 酶对核桃酸奶的质构特性影响不同,主要从硬度、稠度、内聚性和黏性指数 4 个方面表征,它们可以反映固体酸奶的凝胶强弱、内部紧实程度^[10]。本研究结果表明,不加 PG 酶的核桃乳在高压均质、灭菌受热时会导致蛋白质变性,出现破乳现象,从而无法发酵成体系均匀稳定的酸奶,因此没有相关数据。只有加入 PG 酶的核桃乳才能发酵成凝固型核桃酸奶。由表 2 可知,三种核桃酸奶的质构参数由大到小依次为 0.2%>0.3%>0.1%,均有显

著性差异($P<0.05$)。说明核桃酸奶的质构与 PG 酶添加量关系密切,0.2% PG 酶处理的核桃酸奶凝乳效果更好,具有较好的质地;而 0.1% PG 酶处理的核桃酸奶的硬度最小,凝乳效果不好,质构特性最差。这可能因为 PG 酶添加较少时,对底物的作用不充分;而随着添加量的加大,PG 酶的作用位点增多,对谷蛋白的脱酰胺度增强,脱酰胺后的蛋白质拥有更加灵活的构象^[7],使得蛋白质更容易吸附在界面上并进行展开,可溶性蛋白含量由此得到提高^[5]。这也是 PG 酶解后核桃蛋白能稳定地存在于核桃乳中而不是沉淀的原因。而过多的 PG 酶会在脱酰胺的同时水解更多肽链,增加疏水多肽,进而降低蛋白溶解性,导致凝胶质地变弱^[9,17-18]。

表 2 PG 酶添加量对核桃酸奶质构特性的影响
Table 2 Effects of the addition of PG on the textural characteristics of walnut yogurt

添加量	硬度(g)	稠度(g·s)	内聚性(g)	黏性指数(g·s)
0.1%	69.05±0.50 ^c	511.33±1.52 ^c	-10.24±0.25 ^a	-20.78±0.33 ^a
0.2%	85.30±0.30 ^a	583.96±0.94 ^a	-19.53±0.15 ^c	-25.68±0.23 ^c
0.3%	74.81±0.07 ^b	532.56±0.51 ^b	-15.06±0.05 ^b	-24.68±0.17 ^b

注:不同小写字母表示数据差异显著, $P<0.05$;表3~表6同。

2.1.2 酶解时间的确定 PG 酶的不同处理时间对核桃酸奶发酵期内的 pH 和酸度影响不同。核桃酸奶的 pH 变化如图 3 所示,在 8 h 发酵结束后,酶解时

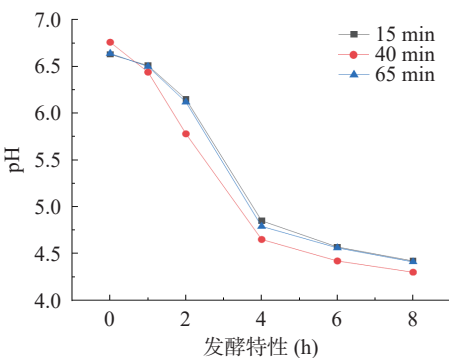


图 3 PG 酶作用时间对核桃酸奶 pH 的影响
Fig.3 Effects of treatment time of PG on the pH of walnut yogurt during fermentation

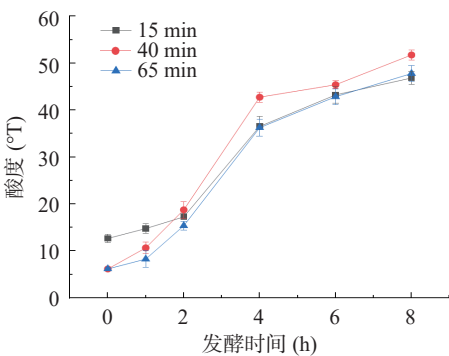


图 4 PG 酶作用时间对核桃酸奶酸度的影响
Fig.4 Effects of treatment time of PG on the acidity of walnut yogurt during fermentation

间为 15、65 min 的核桃酸奶 pH 相差不大,而酶解 40 min 的核桃酸奶 pH 最低,并且在 1~4 h 内,其 pH 下降最快,说明乳酸菌活性增强,产酸速度增快,有利于在更短的时间内达到发酵终点(pH 4.5)。由图 4 可知,3 种核桃乳在前 1 h 内的酸度变化不明显,而 1~4 h 内,3 种核桃乳的酸度大幅上升,酶解时间为 40 min 的样品酸度升高速率最快。当发酵时间达到 8 h,3 种酸奶的酸度由大到小的次序是 40 min>65 min>25 min,这说明 PG 酶处理 40 min 的核桃乳更适合作为乳酸菌生长繁殖的基底。

3 种酶解时间下,核桃酸奶的硬度越大,稠度、内聚性和黏性指数的绝对值也越大。由表 3 可知,随着 PG 酶处理时间的延长,核桃酸奶的硬度和稠度先增大后减小。其中,PG 酶处理 40 min 的样品硬度和稠度最大,说明其形成的凝胶强度更高,网络结构更为致密。PG 酶处理 15 min 的样品质构特性次之,而酶解 60 min 的核桃酸奶质构特性最差。结合不添加 PG 酶的核桃乳无法发酵出酸奶来看,PG 酶作用后核桃酸奶的质构特性得到明显改善,但处理时间过短或过长均不利于核桃酸奶的质构特性。一方面,这可能因为 15 min 的作用时间太短,酶解不充分;随着时间的推移,在 40 min 时 PG 酶对核桃蛋白的适度水解达到平衡点^[17]。另一方面,PG 酶可特异性水解蛋白质谷氨酰胺上的酰胺基,将其转变为羧基,通过减少分子内与分子间的氢键,增强了蛋白质分子间的静电排斥,可有效提高蛋白质的溶解性^[2]。40 min 过后,可能由于 PG 酶酶解时间过长,导致大部分核桃蛋白脱酰胺,增加了核桃蛋白中带负电荷的羧基基团数量以及它们之间的电荷排斥,进而使核桃蛋白解离度增大而聚集性减弱^[9],因此酸奶凝胶质地变差。

表 3 PG 酶处理时间对核桃酸奶质构特性的影响
Table 3 Effects of the treatment time of PG on the textural characteristics of walnut yogurt

酶解时间(min)	硬度(g)	稠度(g·s)	内聚性(g)	黏性指数(g·s)
15	75.86±0.16 ^b	503.59±1.50 ^b	-15.48±0.24 ^b	-23.54±0.35 ^b
40	85.30±0.30 ^a	583.96±0.94 ^a	-19.53±0.15 ^c	-25.68±0.23 ^c
65	42.71±0.54 ^c	256.79±0.21 ^c	-13.47±0.39 ^a	-13.80±0.66 ^a

2.2 发酵剂的筛选

2.2.1 发酵剂对核桃酸奶发酵特性的影响 T/WSJD 12-2020《植物蛋白饮料 植物酸奶》中要求,植物酸奶的 pH ≤ 4.5,酸度 ≥ 30°T^[10]。在核桃乳中接种相同添加量的发酵剂 I~V 进行发酵,观察核桃酸奶的状态并测定其发酵特性。发酵期间 pH 变化曲线见图 5。由图 5 可知,发酵剂 I 在发酵期间 pH 下降最快,其次是发酵剂 II,虽然发酵剂 III、IV、V 在 2 h 后活性明显提升,但整体发酵速率相对较慢。这可能和菌种对糖度、糖的种类等方面的适应能力和活性有关。由于核桃中主要的糖分是蔗糖、葡萄糖等二糖,不含乳糖^[16];若菌种缺乏分解相应二糖的酶系或这一能力

有限,均会导致其生长缓慢或产酸少^[19]。另外,有报道称不同乳酸菌对糖度的耐受度不同,相对高添加量的蔗糖产生的渗透压可能会使其生长和产酸减慢^[20]。发酵剂 I 号和 II 号发酵剂在核桃乳中适应期短,能够快速繁殖,将糖分转换成乳酸,另外 3 种发酵剂需要经过一段适应期才能适应核桃乳体系,开始产酸。当发酵时间为 6 h 时,发酵剂 I 和 II 的 pH 皆小于 4.5,略低于发酵剂 III、IV、V,说明发酵剂 I 和 II 可以更快达到发酵终点(pH 4.5)。发酵 6 h 时,5 种酸奶的发酵速率均变得平缓。由图 6 可知,在发酵期间,发酵剂 I 和 II 的发酵速率始终快于发酵剂 III、IV、V;发酵 8 h 后,发酵剂 II~V 制作的核桃酸奶总酸度接近(在 47°T 左右),而发酵剂 I 制备的核桃酸奶总酸度最高,达到 55°T。

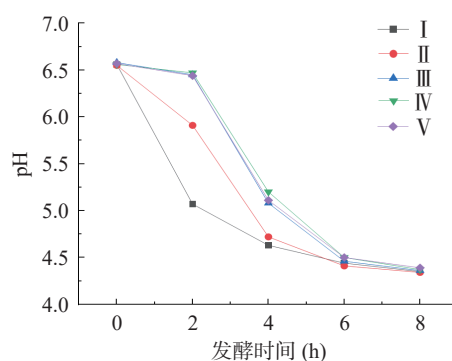


图 5 发酵剂对核桃酸奶 pH 的影响

Fig.5 Effects of starter culture on the pH of walnut yogurt during fermentation

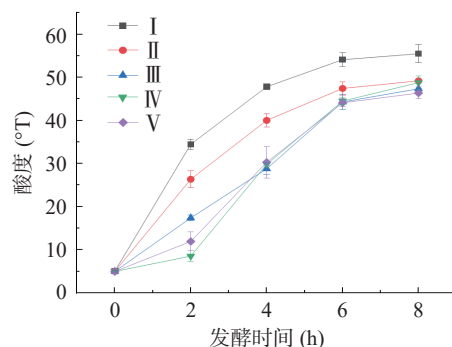


图 6 发酵剂对核桃酸奶酸度的影响

Fig.6 Effects of starter culture on the acidity of walnut yogurt during fermentation

酸奶的后酸化会导致保质期短、风味不良和酸味,这将影响酸奶的品质和消费者喜爱度^[21]。分别对 5 种酸奶在储藏期间 pH 和酸度进行检测,以确定二者的变化,如果酸奶的酸度下降过多,则说明乳酸菌在储藏期内仍持续产酸。由图 7 和图 8 可知,在 0~21 d 内,发酵剂 IV 制备的核桃酸奶 pH 和酸度变化最明显,这体现在其 pH 从第 0 d 的 4.4 降到第 21 d 的 4.15,酸度从 47°T 升高到 63°T。发酵剂 I 的 pH 和酸度略有变化,pH 从 4.3 降到 4.23,酸度由 55°T 上升到 60°T。发酵剂 II、III 和 V 的 pH 和酸度在储存期内变化不明显,但酸度欠缺,这就无法提供酸奶

典型的“酸味”。由此可见, I 更适合作为核桃酸奶的发酵剂。

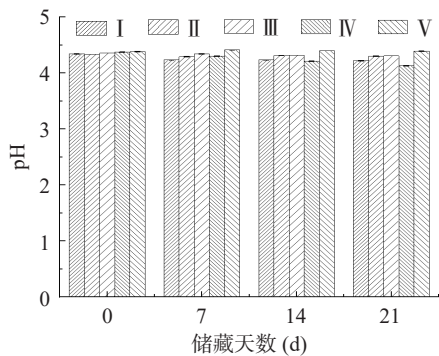


图 7 发酵剂对核桃酸奶储藏期 pH 的影响
Fig.7 Effects of starter culture on the pH of walnut yogurt during storage

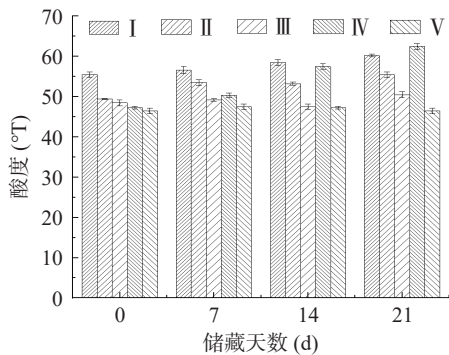


图 8 发酵剂对核桃酸奶储藏期酸度的影响
Fig.8 Effects of starter culture on the acidity of walnut yogurt during storage

2.2.2 发酵剂对核桃酸奶质构特性的影响 不同发酵剂对核桃酸奶的质构特性影响不同。由表 4 可知, 由发酵剂 I 制备的核桃酸奶硬度和稠度最大, 其次分别是发酵剂 III 和 II, V 的硬度最小, 这与它们的内聚性和黏聚指数绝对值的变化趋势相同, 且表现出显著性差异($P<0.05$)。说明发酵剂 I 不仅能够制备出凝乳效果较好的核桃酸奶, 而且相比于其他样品, 有更高的稠度, 这有益于核桃酸奶的品质优化。

表 4 不同发酵剂对核桃酸奶质构特性的影响
Table 4 Effects of starter culture on the textural characteristics of walnut yogurt

发酵剂	硬度(g)	稠度(g·s)	内聚性(g)	黏性指数(g·s)
I	89.85±0.51 ^a	567.44±0.44 ^a	-18.63±0.11 ^c	-23.68±0.23 ^d
II	87.14±0.07 ^b	563.86±0.40 ^b	-17.99±0.12 ^{bc}	-17.40±0.36 ^{ab}
III	85.38±0.34 ^b	554.26±1.90 ^c	-17.45±0.28 ^{bc}	-20.54±0.35 ^c
IV	82.59±0.20 ^c	525.18±0.21 ^c	-15.12±0.04 ^a	-16.37±0.10 ^a
V	79.34±0.22 ^d	547.41±0.23 ^d	-15.89±0.18 ^a	-15.03±0.21 ^a

2.2.3 发酵剂对核桃酸奶流变性质的影响 不同发酵剂对核桃酸奶流变学特性的影响如图 9 所示。所有样品的表观粘度均随剪切速率的增加呈下降趋势。表观黏度(图 9a)在 0.01~1 s⁻¹ 之间明显下降, 表现出非牛顿流体的特征, 并在 1 s⁻¹ 之后趋于平稳。

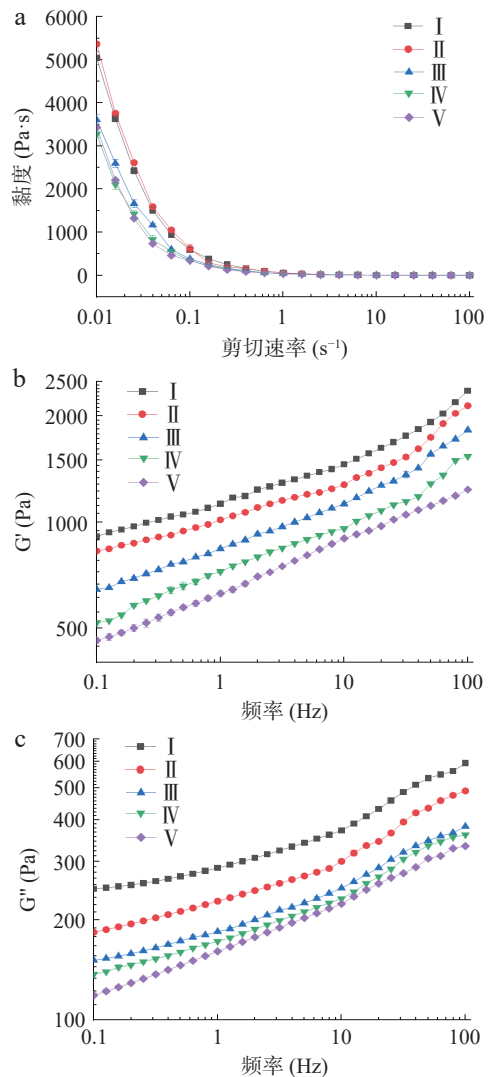


图 9 核桃酸奶的流变学特性
Fig.9 Rheological properties of walnut yogurts
注: a. 表观黏度; b. G'(储存模量); c. G''(损耗模量)。

这是因为分子或颗粒运动或排列的方向打破了布朗运动产生的随机效应, 导致剪切变稀^[22]。随着剪切速率的增加, 酸奶中分子的运动逐渐朝着稳定的方向, 表观粘度平稳。发酵剂 I 制备的核桃酸奶初始表观粘度(5047 Pa·s)与 II(5367 Pa·s)相近, 而随着剪切速率的增加, 发酵剂 II 的表观黏度逐渐低于发酵剂 I, 说明其凝胶网络结构在剪切作用下破坏程度更大。发酵剂 III、IV、V 的表观黏度远小于发酵剂 I 和 II, 表明在发酵剂中, 并不是菌的数量、种类越多, 发酵出的酸奶品质越好。

为了进一步探究核桃酸奶的凝胶网络交联的强度, 分别测定了 5 种样品的粘弹性响应, G'(储存模量)和 G''(损耗模量)分别代表样品内部结构的弹性特征和粘性特征, 用于间接模拟口腔咀嚼并反映酸奶的质地^[23]。如图 9b 和图 9c 可见, 5 种核桃酸奶的 G'远大于 G'', 说明它们表现出弹性特征, 具有类似固体的性质^[24-25]。在相同的频率下, G'和 G''的大小顺序为 I > II > III > IV > V。这可能与不同乳酸菌对核桃

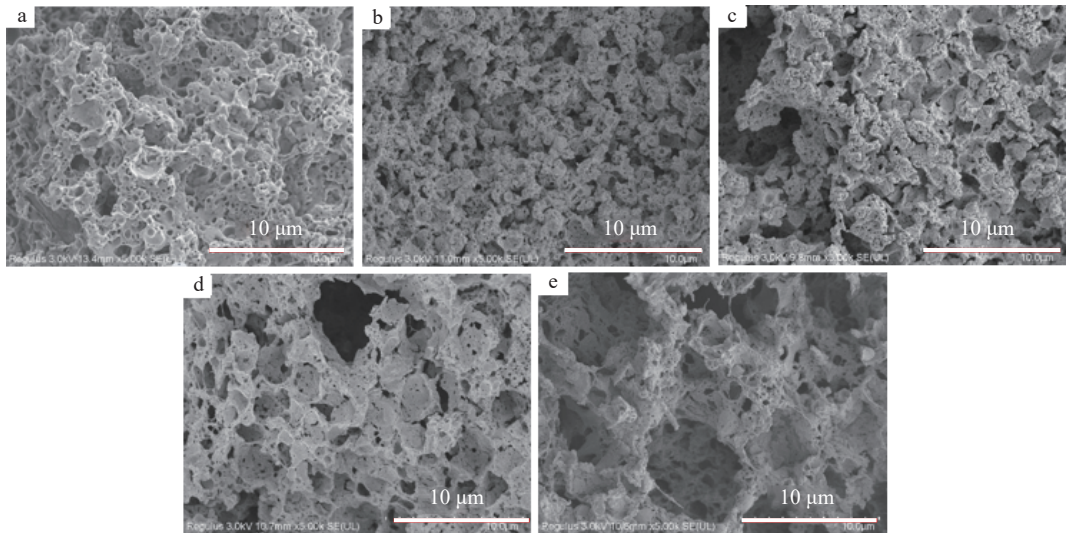


图 10 发酵剂对核桃酸奶微观结构的影响

Fig.10 Effects of starter culture on the microstructure of walnut yogurt

注: a. I; b. II; c. III; d. IV; e. V。

乳中营养物质的不同代谢作用有关,大分子蛋白含量较高会有助于凝胶食品表现出粘弹性行为^[26]。如果酸奶内部水分含量较高,导致样品表现出较弱的粘弹性;或者,发酵剂菌种组成较多,互相之间竞争营养成分,所产生的代谢产物可能会干扰凝胶网络的形成^[26]。

2.2.4 发酵剂对核桃酸奶微观结构的影响 不同发酵剂制备的核桃酸奶在 5000 倍下的电镜扫描图见图 10。由图 10a 和图 10b 可知,发酵剂 I、II 的凝胶网状结构的孔隙整体较小且较为致密,网孔整体分布也较为均匀。图 10c 和图 10d,发酵剂 III 的结构较为致密,发酵剂 IV 的网络结构松散、存有较多空洞;图 10e 中,发酵剂 V 的网络结构最为疏松,孔径大且分布不均。凝胶网络结构的致密情况与蛋白质相互作用有关,蛋白质相互作用弱,会导致凝胶网络在形成过程中交联度差^[27]。这也解释了发酵剂 III、IV、V 的弹性和粘性模量偏低的原因,进一步佐证这 3 种发酵剂制备的核桃酸奶凝胶性能较差。由此, I 更有利于发酵质地较好的核桃酸奶,这与上述质构及流变特性分析结果一致。

2.2.5 发酵剂在核桃酸奶中的活菌数 由表 5 可知,在 0~21 d 内,发酵剂 I 和 II 制备的核桃酸奶活菌数始终超过 1×10^6 CFU/mL。发酵剂 III 和 IV 制备的核

桃酸奶分别从第 7 和 14 d 开始,乳酸菌数就已经减少到了 1×10^6 CFU/mL 以下,而发酵剂 V 在第 0 d 的活菌数只有 9.5×10^5 CFU/mL,不符合团体标准的规定。这可能是因为菌的种类越多,不同菌之间会发生竞争作用,而营养物质有限,所以导致弱势菌的数量较少。由此,发酵剂 I 更适合作为核桃酸奶的发酵剂。

2.2.6 感官评价 图 11 为不同发酵剂制得的核桃酸奶外观。根据颜色、滋味、气味、组织状态对 5 种发酵剂制备的核桃酸奶进行感官评价,对应分数如表 6 所示。发酵剂 I、IV 制备的样品在颜色方面的得分显著高于发酵剂 II、III、V。I 在滋味上的得分最高,其次是 II,这与乳酸菌活性有关,当其可适应发酵基质并生长繁殖,则会产生酸奶的特征滋味“酸味”,与体系中残留糖产生的“甜味”相互配合,贡献了酸甜的滋味。I 的气味得分最高,但与其他 4 种酸奶得分无显著性差异($P>0.05$)。组织状态的评价结果显示, I 的得分最高,口感更醇厚,且与 II、III、IV、V 具有显著性差异($P<0.05$)。III、IV、V 分别发生了明显的分层,上层凝乳较好,但下层比较稀薄、颗粒感明显。可见,不同发酵剂对核桃酸奶的感官特性影响不同,主要影响核桃酸奶的滋味、颜色和组织状态,对气味的影响较小。III、IV、V 的乳酸菌种类

表 5 不同发酵剂发酵产品的活菌数(CFU/mL)

Table 5 Bacterial counts of walnut yogurt fermented with different starter cultures (CFU/mL)

发酵剂	0 d	7 d	14 d	21 d
I	5.0×10^{6b}	2.8×10^{6b}	1.7×10^{6b}	1.2×10^{6b}
II	6.5×10^{6a}	3.0×10^{6a}	2.1×10^{6a}	1.5×10^{6a}
III	3.0×10^{6d}	6.8×10^{5d}	3.5×10^{5d}	4.7×10^{4d}
IV	3.2×10^{6c}	1.5×10^{6c}	8.0×10^{5c}	4.8×10^{5c}
V	9.5×10^{5e}	8.5×10^{5d}	7.2×10^{5c}	5.2×10^{5c}

表 6 5 种发酵剂制备的核桃酸奶的感官评分

Table 6 Sensory rating of walnut yogurt prepared with 5 starter cultures

样品	颜色(分)	滋味(分)	气味(分)	组织状态(分)
I	15.67 ± 0.58^a	18.00 ± 1.00^a	14.67 ± 1.15^a	28.33 ± 1.53^a
II	13.33 ± 1.53^{bc}	15.33 ± 0.58^{ab}	11.00 ± 1.73^a	23.33 ± 2.08^b
III	12.67 ± 0.58^c	13.00 ± 3.46^b	9.67 ± 1.15^a	22.67 ± 1.53^b
IV	15.00 ± 0.00^{ab}	14.67 ± 0.58^{ab}	10.33 ± 0.58^a	19.67 ± 2.08^c
V	12.40 ± 1.40^c	12.00 ± 1.73^b	9.33 ± 4.16^a	16.67 ± 2.31^c

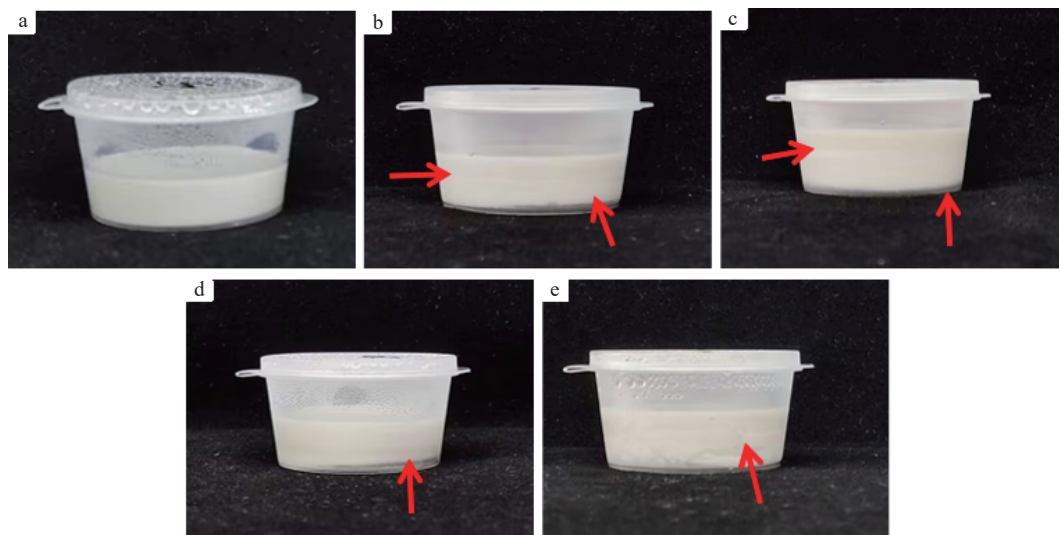


图 11 5 种核桃酸奶的实物图

Fig.11 Real images of walnut yogurts fermented by five starter cultures

注: a. I; b. II; c. III; d. IV; e. V。

虽然多于 I,但是它们在核桃乳体系中的生长繁殖状况、产酸和凝乳效果并不理想,导致样品各项指标偏低。因此,发酵剂 I 制备的核桃酸奶感官评价最佳。

2.3 核桃酸奶与牛乳酸奶的对比

为进一步评价 PG 酶和发酵剂 I 对核桃酸奶的品质改善效果,将其与牛乳酸奶进行对比,以寻求需深入研究的方向。

2.3.1 核桃酸奶与牛乳酸奶的凝胶性质 用市售纯牛奶按照相同的条件接种、发酵,分别测定并对比了核桃酸奶与牛乳酸奶的 0, 7, 14, 21 d 的硬度、稠度、持水力和乳清析出率,如图 12 所示。图 12a 和图 12b 反映出,在 0~21 d 内,牛乳酸奶和核桃酸奶的硬度相差不大,但是牛乳酸奶的稠度却大于核桃酸奶(相差 20 g·s 左右)。这可能与不同蛋白质的功能特性及糖

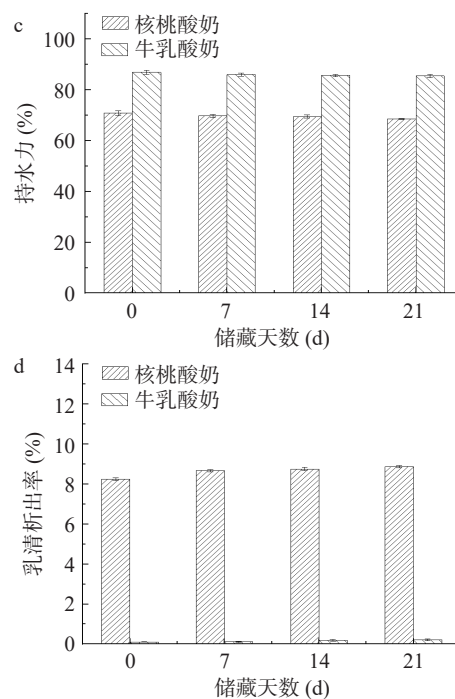
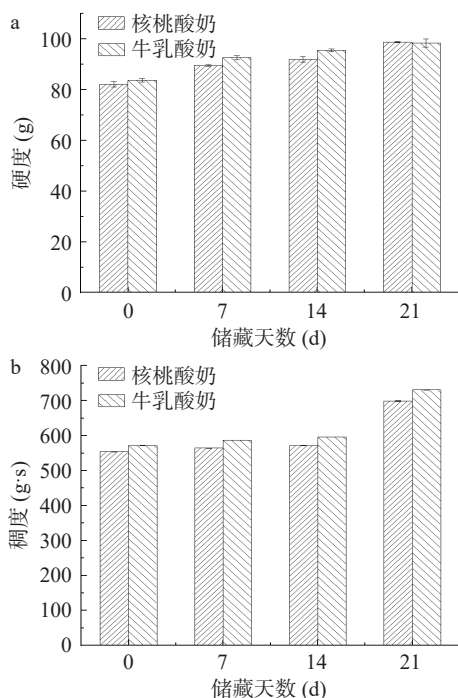


图 12 核桃酸奶与牛乳酸奶的凝胶特性

Fig.12 Gel characteristics of of walnut yogurt and cow yogurt

的种类有关,酪蛋白是牛乳中的主要蛋白质,具有良好的溶解性和胶凝性,且牛乳中存在乳糖,更容易被乳酸菌利用,可发酵出更细腻、稠度更高的酸奶^[28]。

如图 12c 和图 12d,持水力和乳清析出率是评价凝固型酸奶品质的重要指标。酸奶的持水力越高,析水率越低,说明酸奶的凝胶网络结构越致密、稳定性越高,对水分子的束缚作用越强^[28]。乳清析出率也反映了凝胶网络的稳定性。如果凝胶结构弱化,就会导致蛋白分子发生重排,进而引发酸奶内部结构对水的截留能力降低,因此乳清会在自然状态下从凝胶表面析出^[29-30]。核桃酸奶在 0~21 d 内持水力从 70% 下降到 68%,而牛乳酸奶在相同时间内持水力始



终保持在 85%~86%, 优于核桃酸奶。核桃酸奶在 0~21 d 内, 乳清析出率从 8.20% 增加到 8.83%, 而牛乳酸奶的乳清析出率在 0.1% 以下。与未添加 PG 酶的核桃乳无法发酵成酸奶相比, 上述结果说明 PG 酶处理能一定程度改善核桃蛋白的溶解度, 促进其形成凝胶, 但核桃酸奶凝胶网状结构对水的束缚能力仍然较弱。因此, 仍需探索乳清析出的影响因素及降低核桃酸奶乳清析出率的方法。

2.3.2 核桃酸奶与牛乳酸奶的微观结构 核桃酸奶与牛乳酸奶在 5000 倍下的电镜扫描图见图 13。核桃酸奶相比于牛乳酸奶, 网络结构显得更加粗糙, 且孔隙尺寸相对较大。牛乳酸奶的网络结构更加致密, 且孔隙更小、分布更加均匀。报道指出致密的网络结构有利于对水分子的束缚^[31], 这也进一步解释了核桃酸奶的持水力低于牛乳酸奶, 而乳清析出率高于牛乳酸奶的原因。

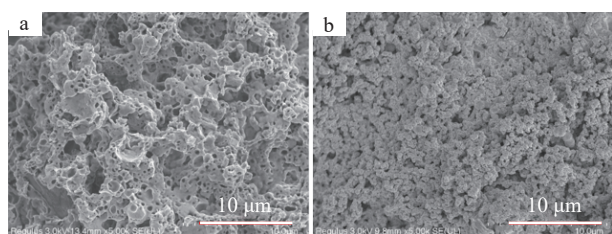


图 13 核桃酸奶与牛乳酸奶的微观结构

Fig.13 Microstructures of walnut yogurt and cow yogurt

注: a. 核桃酸奶; b. 牛乳酸奶。

3 结论

核桃乳中蛋白质溶解性较差, 易在加热、高压均质、发酵过程中破乳或变性, 且因缺乏乳糖, 无法制备出品质优良的酸奶。本文对核桃蛋白进行适度酶解, 并通过筛选适合在核桃乳中生长的直投式发酵剂以改善核桃酸奶的酸度、质构、流变特性、微观结构及感官评价。研究发现: PG 酶水解核桃乳, 可改善核桃酸奶的酸度及质构特性, 最佳酶解条件为添加量 0.2%(1.35 U/g), 作用时间 40 min; 发酵剂 I 可以赋予核桃酸奶较佳的理化特性、流变特性、活菌数, 且样品感官评价较好; 与牛乳酸奶相比, 经适度酶解及发酵剂 I 制备的植物基核桃酸奶有着与其相似的硬度、稠度, 但是持水力和乳清析出率略逊色, 因此仍需探索其他改善核桃酸奶品质的方法。总之, 通过适度 PG 酶处理及发酵剂 I 发酵制备出的核桃酸奶酸甜可口, 适合素食主义、牛乳过敏等人群食用。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] KONG X Z, ZHANG L N, LU X, et al. Effect of high-speed shearing treatment on dehulled walnut proteins[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 116: 108500.
- [2] ZHANG G Q, MA S J, LIU X, et al. Protein-glutaminase: Research progress and prospect in food manufacturing[J]. *Food Bioscience*, 2021, 43: 101314.
- [3] CHEN X, FU W Y, LUO Y C, et al. Protein deamidation to produce processable ingredients and engineered colloids for emerging food applications[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, 20(4): 3788–3817.
- [4] MA S J, LIU X, ZHOU J W, et al. Characterization of high internal phase emulsions stabilized by protein glutaminase-deamidated wheat gluten[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2023, 179: 114622.
- [5] ZHONG Q J, SONTAG S T, SALOVAARA H, et al. Oat protein solubility and emulsion properties improved by enzymatic deamidation[J]. *Journal of Cereal Science*, 2015, 64: 126–132.
- [6] JIANG Y Q, WANG Z J, HE Z Y, et al. Effect of heat-induced aggregation of soy protein isolate on protein-glutaminase deamidation and the emulsifying properties of deamidated products[J]. 2022, 154: 112328.
- [7] FANG L Y, XIANG H, SUN-WATERHOUSE D X, et al. Enhancing the usability of pea protein isolate in food applications through modifying its structural and sensory properties via deamidation by glutaminase[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68: 1691–1697.
- [8] MIWA N, YOKOYAMA K, WAKABAYASHI H, et al. Effect of deamidation by protein-glutaminase on physicochemical and functional properties of skim milk[J]. *International Dairy Journal*, 2010, 20(6): 393–399.
- [9] WU J J, DAI T, LIN R Y, et al. Effect of protein-glutaminase on the texture, rheology, microstructure and sensory properties of skimmed set-type yoghurt[J]. *Food Chemistry*, 2023, 429: 136831.
- [10] 马文艺, 李兴飞, 刘军, 等. 制浆工艺和发酵剂分别对豌豆浆风味和豌豆酸奶品质的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(20): 188–193. [MA W Y, LI X F, LIU J, et al. The effects of pulping process and starter on the flavor of pea milk and the quality of pea yogurt respectively[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(20): 188–193.]
- [11] 林浩鹏, 刘亚琼, 梁梦帆, 等. 商品发酵剂对凝固型核桃酸奶品质的影响研究[J]. *中国乳品工业*, 2020, 48(4): 61–64. [LIN H P, LIU Y Q, LIANG M F, et al. Study on the effect of commercial starter on the quality of solidified walnut yoghurt[J]. *China Dairy Industry*, 2020, 48(4): 61–64.]
- [12] LEVY R, OKUN Z, DAVIDOVICH-PINHAS M, et al. Utilization of high-pressure homogenization of potato protein isolate for the production of dairy-free yogurt-like fermented product[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 113: 106442.
- [13] MIWA N, NIO N, SONOMOTO K. Effect of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on the textural and microstructural properties of set yoghurt[J]. *International Dairy Journal*, 2014, 36(1): 1–5.
- [14] HUANG K, LIU Y Y, ZHANG Y, et al. Formulation of plant-based yoghurt from soybean and quinoa and evaluation of physicochemical, rheological, sensory and functional properties[J]. *Food Bioscience*, 2022, 49: 101831.
- [15] CHEN B F, ZHAO X J, CAI Y J, et al. Incorporation of modified okara-derived insoluble soybean fiber into set-type yogurt: structural architecture, rheological properties and moisture stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 137: 108413.
- [16] 斯梦, 孔祥珍, 张彩猛, 等. 不同糖类和蛋白质浓度对核桃乳发酵及其感官特性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(21):

- 111–117. [SI M, KONG X Z, ZHANG C M, et al. Effects of sugar varieties and protein concentration on fermentation and sensory characteristics of fermented walnut milk[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(21): 111–117.]
- [17] 孙乾. 改性对核桃谷蛋白结构表征及功能特性的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2019. [SUN Q. Effects of modification on structural characterization and functional properties of walnut glutenin[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University.]
- [18] ZHAO J, BHANDARI B, GAIANI C, et al. Physicochemical and microstructural properties of fermentation-induced almond emulsion-filled gels with varying concentrations of protein, fat and sugar contents[J]. *Current Research in Food Science*, 2021, 4: 577–587.
- [19] 李锋, 华欲飞. 应用不同类型的大豆蛋白制备大豆酸奶[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(3): 61–64. [LI F, HUA Y F. Different types of soy protein were used to prepare soy yogurt[J]. *Journal of Wuxi University of Light Industry*, 2004, 23(3): 61–64.]
- [20] 韩芸娇, 梁玲, 邱雯雯, 等. 费氏丙酸杆菌与乳酸菌混合发酵酸奶研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(3): 96–103. [HAN Y J, LIANG L, QIU W W, et al. Studies on fermented yogurt using *Propionibacterium freudenreichii* and *Lactobacillus*[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2017, 17(3): 96–103.]
- [21] SHORI A B, ALJOHANI G S, AL-ZAHRANI A J, et al. Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp.[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 153: 112482.
- [22] GHARAIE Z, AZIZI M H, BARZEGAR M, et al. Gum tragacanth oil/gels as an alternative to shortening in cookies: Rheological, chemical and textural properties[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 105: 265–271.
- [23] CUI H T, LI J, XU X Y, et al. Enzymatic interesterification of beef tallow/coconut oil blends to produce a superior margarine base stock[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2021, 57(2): 908–919.
- [24] MASALOVA I, KAPIAMBA F, TSHILUMBU N, et al. Shear stability of highly concentrated emulsions[J]. *Colloid Journal*, 2018, 80(1): 54–58.
- [25] KLOST M, RIBES G G, DRUSCH S. Enzymatic hydrolysis of pea protein; Interactions and protein fractions involved in fermentation induced gels and their influence on rheological properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105793.
- [26] XU X Y, CUI H T, YUAN Z H, et al. Effects of different combinations of probiotics on rheology, microstructure, and moisture distribution of soy materials-based yogurt[J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(7): 2820–2830.
- [27] 吴俊霞, 程建明, 薛峰. 枸杞大豆蛋白植物基酸奶理化性质研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(10): 193–198. [WU J X, CHENG J M, XUE F. Physicochemical properties of plant-based yogurt prepared by wolfberry and soy protein[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023, 49(10): 193–198.]
- [28] 韩永佳. 功能型酸奶的理化特性、抗氧化活性及微观结构的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2016. [HAN Y J. Functional of yogurt on the physicochemical properties, antioxidant activity, and microstructure were studied[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2016.]
- [29] MIELE N A, CABISIDAN E K, BLAIOTTA G, et al. Rheological and sensory performance of a protein-based sweetener (MNEI), sucrose, and aspartame in yogurt[J]. *International Dairy Journal*, 2017, 100(12): 9539–9550.
- [30] GILBERT A, RIOUX L E, ST-GELAIS D, et al. Characterization of syneresis phenomena in stirred acid milk gel using low frequency nuclear magnetic resonance on hydrogen and image analyses[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 106: 105907.
- [31] JØRGENSEN C E, ABRAHAMSEN R K, RUKKE E O, et al. Processing of high-protein yoghurt—a review[J]. *International Dairy Journal*, 2019, 88: 42–59.