

不同复合菌发酵的澳洲坚果酸奶冷藏期间理化、活菌数和抗氧化性的变化

袁芳¹, 徐梦云¹, 伊婉璐¹, 王春艳¹, 韦美晴¹, 黄明珍¹, 李志红¹, 李丽^{2,3*}, 吕荣华², 罗丹², 谢丽红²

(1. 广西民族师范学院农业与生物学院, 广西崇左 532200) (2. 广西壮族自治区农业科学院, 广西果蔬贮藏与加工新技术重点实验室, 广西南宁 530007) (3. 广西果蔬产业技术创新中心, 广西南宁 530007)

摘要: 筛选适宜的复合发酵菌种对提升坚果类植物基酸奶品质具有重要意义。为了探讨不同菌种复配对澳洲坚果酸奶冷藏期间品质的影响, 本研究评估了嗜热链球菌 (St)/保加利亚乳杆菌 (Ld) 分别与干酪乳杆菌 (Lc)、嗜酸乳杆菌 (La)、植物乳杆菌 (Lp)、鼠李糖乳杆菌 (Lr) 复配后, 对澳洲坚果酸奶在 4 °C 冷藏 21 d 期间理化品质、活菌数和抗氧化活性的影响。结果表明, Ld/St/La 组酸奶的可滴定酸 (TA) 含量最高, 冷藏中后期 pH 值最低 (4.2~4.4); Ld/St/Lp 组在贮藏第 21 天的初始黏度较低, 其余组黏度较为稳定; Ld/St/La 组乳酸杆菌数量最高, 冷藏期间始终超过 7.42×10^8 CFU/mL, Ld/St/Lc 和 Ld/St/La 组嗜热链球菌数量在冷藏后期更高; Ld/St/La 组的总酚与黄酮含量以及 DPPH、OH 清除能力和 FRAP 值均表现最优, Ld/St 基础上添加 Lc、Lp、Lr 也提高了冷藏中后期的抗氧化能力。感官评价结果显示, Ld/St/Lc 和 Ld/St/Lr 组评分最高。综上, Ld/St/La 组合在提升酸度、益生菌活性及抗氧化能力方面优势显著; Ld/St/Lc 和 Ld/St/Lr 组合感官最佳但抗氧化性稍逊。该研究为澳洲坚果酸奶菌种筛选与工艺优化提供理论基础。

关键词: 澳洲坚果酸奶; 发酵剂; 冷藏; 理化品质; 活菌数; 抗氧化性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.5.0342

The Effects of Different Compound Bacteria Fermentation on the Physicochemical Properties, Viable Bacteria Count and Antioxidant Activity of Macadamia Yogurt During Refrigeration

YUAN Fang¹, XU Mengyun¹, YI Wanlu¹, WANG Chunyan¹, WEI Meiqing¹, HUANG Mingzhen¹, LI Zhihong¹, LI Li^{2,3*}, LYU Ronghua², LUO Dan², XIE Lihong²

(1.College of Agriculture and Biology,Guangxi Minzu Normal University, Chongzuo 532200, China) (2.Guangxi Key Laboratory of Fruit and Vegetable Storage-processing Technology, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China) (3.Guangxi Fruit and Vegetable Industry Technological Innovation Center, Nanning 530007, China)

Abstract: Selecting appropriate composite fermentation strains is important for improving the quality of nut-based yogurt. To investigate the effects of mixed starter cultures on the quality of macadamia nut yogurt during refrigerated storage, combinations of *Streptococcus thermophilus* (St) and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Ld) with *Lactocaseibacillus casei* (Lc), *Lactobacillus acidophilus* (La), *Lactiplantibacillus plantarum* (Lp), *Lactocaseibacillus rhamnosus* (Lr) were evaluated. Changes in physicochemical properties, viable bacteria count, antioxidant capacity, and sensory characteristics were monitored during 21 d of storage at 4 °C. The results showed that the Ld/St/La group had the highest titratable acidity (TA) and the lowest pH value (from 4.2 to 4.4) during the middle and later stages of refrigerated storage. The Ld/St/Lp group had the lowest shear viscosity on day 21 of storage, whereas the viscosities of the other groups remained stable. The Ld/St/La group had the highest viable count of *Lactobacillus*, which exceeded 7.42×10^8 CFU/mL during refrigeration, and the Ld/St/Lc and Ld/St/La groups had higher numbers of *Streptococcus thermophilus* during the late stage of storage. The Ld/St/La group also had the highest total phenolic and flavonoid contents, as well as the strongest DPPH and OH scavenging abilities and the highest FRAP value. The

收稿日期: 2026-03-07; 修回日期: 2026-04-30; 接受日期: 2026-05-09

基金项目: 广西科技计划项目 (桂科 AB24010106); “垒台”行动计划-广西科技创新平台计划 (桂科 LT2600640044); 广西农业科学院基本科研业务专项 (桂农科 2026YT155, 桂农科 2026YT156); 广西青年科技人才托举工程 (GXYES2025210); 科技先锋队“强农富民”“六个一”专项行动 (桂农科盟 202615)

作者简介: 袁芳 (1986-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: yf2018yuyu@126.com

通讯作者: 李丽 (1983-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: lili@gxaas.net

addition of Lc, Lp, and Lr to the Ld/St combination also improved the antioxidant capacity during the middle and later stages of refrigerated storage. In the sensory evaluation, the Ld/St/Lc and Ld/St/Lr groups received the highest scores. In conclusion, the Ld/St/La combination had significant advantages in enhancing acidity, viable cell activity, and antioxidant capacity, whereas the Ld/St/Lc and Ld/St/Lr combinations had the best sensory properties but slightly lower antioxidant capacity. This study provided a theoretical basis for strain selection and process optimization of macadamia nut yogurt.

Key words: macadamia nut yogurt; starter culture; refrigeration; physicochemical properties; viable cell count; antioxidant activity

植物基酸奶是以豆类、谷物或坚果乳、浆代替牛奶,经乳酸菌发酵形成具有酸香风味、稠厚口感的酸奶类产品,因其健康、环保逐渐成为乳制品的替代品^[1,2]。澳洲坚果(*Macadamia integrifolia*)原产于澳大利亚,截至2023年,广西澳洲坚果种植面积已超过6万 hm^2 ,在我国南方省市有大面积种植^[3],其营养密度极高,蛋白含量6.98%~9.81%^[4],还含膳食纤维与多酚等活性物质^[5],具备开发高端植物基发酵产品的潜力。然而,澳洲坚果的产业现状还是以初加工为主,缺乏精深加工技术,加工转化率低,开发澳洲坚果植物基酸奶能提升其市场附加值。

与传统动物乳制品中的酪蛋白相比,坚果乳体系中蛋白网络形成的凝胶较弱,且乳酸菌在坚果乳中可能出现生长慢、产酸不足、风味不佳以及在冷藏期间活菌力不足、品质下降等问题^[6]。在澳洲坚果植物基酸奶体系中,不同乳酸菌复合发酵组合的菌种适配性是否存在显著差异;这些差异是否会进一步影响酸奶在冷藏贮藏期间的酸度、活菌存活、质构流变、抗氧化功能及感官品质稳定性还不明确。而不同菌种在产酸、活菌力和功能特性上有差异,因此,菌种的选择在坚果类植物基酸奶发酵工艺中尤为重要。

嗜热链球菌(*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, St)和保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, Ld)是传统发酵酸奶中的经典组合,St的主要作用是产生有机酸,而Ld则主要负责酸奶的风味、香气和质地,两者复配能够完成酸奶的制作^[7]。为了改善植物基酸奶的感官品质、保持较高的活乳酸菌数量和生物学功能,通常在酸奶中添加其它乳酸菌,比如干酪乳杆菌(*Lactocaseibacillus casei*, Lc)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*, La)、植物乳杆菌(*Lactiplantibacillus plantarum*, Lp)、鼠李糖乳杆菌(*Lactocaseibacillus rhamnosus*, Lr)等^[7,8]。St、Ld和Lc、La、Lp、Lr等组成的不同培养物混合培养时,各乳酸菌的后酸化作用不同,以及各菌种之间存在的共生或拮抗现象使微生物在酸奶发酵及冷藏过程中的生长情况会发生不同的变化,从而影响酸奶冷藏期间的活性物质含量、活菌力、感官品质的变化^[9,10]。近年来的植物基酸奶研究也更强调了菌种分工和优势互补,使用不同菌种复合发酵提升酸奶冷藏期间的生物活性和理化性质,这在腰果酸奶^[8]、南瓜籽酸奶^[11]、豆奶和杏仁酸奶^[12]等也已有相关的研究,但澳洲坚果酸奶的研究还未见报道。

本研究在St/Ld复合菌种基础上,分别添加Lc、La、Lp、Lr组成不同的发酵剂,并应用于澳洲坚果酸奶发酵,分析不同发酵剂对澳洲坚果酸奶在冷藏期间理化特性、活菌数及抗氧化能力变化的影响,为坚果类植物基酸奶菌种优化与产品开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

澳洲坚果(桂热1号)产自于广西岑溪市,其干燥之后的坚果仁中蛋白含量8.26%、脂肪含量73.60%;德氏乳杆菌保加利亚亚种(VIP(L)1155)(活菌数 5.26×10^6 CFU/mL)、嗜热链球菌(VIP(L)11246)(活菌数 6.33×10^6 CFU/mL)、干酪乳杆菌(VIP(L)13002)(活菌数 5.2×10^6 CFU/mL)、植物乳杆菌(VIP(NG)13002)(活菌数 5.38×10^6 CFU/mL)、嗜酸乳杆菌(VIP(NG)1208)(活菌数 5.49×10^6 CFU/mL)、鼠李糖乳杆菌(VIP(L)13004)(活菌数 5.47×10^6 CFU/mL)等菌种购于信阳市中检计量生物科技有限公司;MRS和M17肉汤、MRS和M17琼脂购于杭州百思生物技术有限公司;没食子酸(Gallic acid, GAE)纯度99%、芦丁(Rutin, RE)纯度98%、6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸(Trolox)纯度99%、1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH)购于麦克林化学试剂有限公司,其余化学试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

YXQ.L-70型立式压力蒸汽灭菌器,鸡西市辰丰医疗器械制造有限公司;SW-CJ-2F型双人双面净化工作台,

上海苏净实业有限公司; HWS-80B 型恒温恒湿培养箱, 杭州旌斐仪器科技有限公司; 3-18kS 型冷冻离心机, 德国 Sigma 公司; UV759CRT 紫外可见分光光度计, 上海佑科仪器仪表有限公司; DHR-2 型旋转流变仪, 美国 TA 仪器公司; FJ200-S 型数显高速均质机, 上海力辰邦西仪器科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 发酵剂和酸奶的制备

(1) 菌种发酵液的制备: 参考 Zahrani 等^[12]的方法稍作修改, 将 100 μL 的 St 菌液接种到 10 mL 无菌 M17 液体培养基 (含 0.5% (m/V) 乳糖) 中, 其余菌株分别取 100 μL 菌液接种到 10 mL 无菌 MRS 肉汤 (含 0.5% (m/V) 乳糖) 中, 然后各菌种在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48 h, 经过对数期培养, 获得不同菌种的发酵液。

(2) 澳洲坚果植物奶的制备: 将 100 g 澳洲坚果按照 1:10 (m/V) 的比例于 25 $^{\circ}\text{C}$ 的纯水中浸泡 12 h 后, 按照料液比 10:15 (m/V) 加入蒸馏水高速绞碎, 浆液通过两层棉纱布过滤, 再加入 5% (m/m) 的细砂糖到滤液中, 搅拌至细砂糖溶解, 在 10 000 r min^{-1} 的条件下均质 5 min, 获得澳洲坚果植物奶 (总酚含量 22.51 $\mu\text{g GAE}\cdot\text{g}^{-1}$), 并将其放在 1~4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱冷藏, 于 3 d 内制作植物基酸奶。

(3) 澳洲坚果植物基酸奶的制作: 把均质好的坚果奶分装到酸奶杯里, 85 $^{\circ}\text{C}$ 温度下水浴 15 min 进行巴氏杀菌后与各发酵剂按照一定比例混合制备酸奶。发酵剂参考 Shori 等^[8]的方法由各菌种发酵液按照活菌数比例混合而成, 具体比例经过预实验确定, 预实验中发现 Ld 与 St 活菌数量为 1:1~1:2 时, 感官评分较高, 所以固定 Ld/St 活菌数为 1:1, 在此基础上分别添加与 Ld 或 St 活菌数相同的其他乳酸菌, 最终确定的方案如下: Ld/St (1:1)、Ld/St/Lc (1:1:1)、Ld/St/La (1:1:1)、Ld/St/Lp (1:1:1)、Ld/St/Lr (1:1:1), 发酵剂中各菌液的活菌数比例固定, 再调整各发酵剂中的总活菌数为 10^6 CFU/mL。在预实验中以感官评分为指标, 通过正交试验对发酵剂总添加量、发酵温度和发酵时间三个因素进行优化, 确定最终的发酵工艺为 98.5 mL 新鲜巴氏灭菌澳洲坚果奶添加 1.5% (V/V) 发酵剂混匀, 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 8 h, 发酵结束后酸奶放入冷水浴中 1 h 停止发酵。酸奶在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下冷藏 21 d, 分别在第 1、7、14、21 d 取样测定相关指标。

1.3.2 TA 含量和 pH 测定

分别采用 GB 5413.34-2010 和 GB 5009.237-2016 的方法测定酸奶的 TA 含量和 pH 值, TA 含量以乳酸%表示。

1.3.3 酸奶黏性的测定

使用配有直径为 40 mm 平行板的流变仪在温度为 25 $^{\circ}\text{C}$, 剪切速率 0.1~200 s^{-1} 下测定酸奶的黏度。

1.3.4 乳酸菌活细胞计数

参考 GB 4789.35-2016 的方法测定乳酸菌活细胞数, 将酸奶稀释液分别涂布于培养嗜热链球菌的 M17 和培养乳酸杆菌的 MRS 琼脂平板上, 所有平板均在 37 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 48 h 进行计数, 嗜热链球菌和乳酸杆菌数以 CFU/mL 计。

1.3.5 酸奶抗氧化性质测定

水提物的制备: 参考 Li 等^[13]的方法, 称取酸奶样品 5 g 加入 40 mL 蒸馏水, 均质后在 45 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴 10 min, 再用 0.1 mol L^{-1} 的 HCl 溶液将 pH 校准至 4.0, 混合物继续 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min 后在 4 000 r min^{-1} 条件下离心 20 min, 取上清液, 用 0.1 mol L^{-1} 的 NaOH 溶液调节 pH 至 7.0, 再次离心 10 min, 取上清液定容至 50 mL, 此为酸奶水提物样液, 用于总酚和黄酮含量以及抗氧化能力的测定。

(1) 总酚含量的测定: 参考 Yangilar 等^[14]的方法稍作修改, 取 0.5 mL 上述样液, 加入 1 mL 福林酚试剂, 充分摇匀, 再加入 2 mL 质量分数为 5% Na_2CO_3 溶液, 摇匀后用蒸馏水定容至 10 mL, 室温下避光显色 1 h, 于 760 nm 处测定吸光值, 用 GAE 做标准曲线, 做三次平行实验, 取平均值, 结果以 $\mu\text{g GAE}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

(2) 黄酮含量的测定: 参考 Yangilar 等^[14]的方法稍作修改, 取 0.6 mL 上述样液和 0.18 mL 质量分数为 5% 亚硝酸钠溶液于试管中, 加入 3.00 mL 蒸馏水, 振荡混匀, 静置 6 min 后加入 0.36 mL 质量分数为 10% 六水合氯化铝溶液, 再振荡混匀, 室温条件下反应 5 min 后加入 1.20 mL 1 mol L^{-1} 的氢氧化钠溶液, 最后加 0.66 mL 蒸馏水补足至 6.00 mL, 在波长 510 nm 处测定吸光值, 用 RE 做标准曲线, 做三次平行实验, 取平均值, 结果以 $\mu\text{g RE}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

(3) 铁离子还原能力 (FRAP): 参考 Shori 等^[8]的方法稍作修改, 取 0.4 mL 上述提取液, 加入 5.6 mL FRAP 工作液, 混匀后于暗室反应 30 min, 于 593 nm 波长下定吸光值, 用 Trolox 做标准曲线, 做三次平行实验, 取平

均值, 结果用 Trolox 当量 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

(4) DPPH 清除率: 参考 Yangilar 等^[14]的方法稍做修改进行测定, 0.4 mL 上述提取液和 1%盐酸-甲醇溶液分别加入 5.6 mL 的 $70\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ DPPH 甲醇溶液配制, 振荡均匀后于暗室中反应 30 min, 以体积分数为 1%盐酸-甲醇溶液调零, 于 515 nm 下测定其吸光值, 做三次平行实验, 取平均值, 结果以%计。

(5) 羟自由基 (OH) 清除率的测定: 参考 Yangilar 等^[14]的方法进行测定, 分别吸取 1.5 mL 的 $0.75\ \text{mmol}\ \text{L}^{-1}$ 邻菲罗啉和 1.5 mL 的 pH=7.4 PBS 缓冲液于试管中, 充分混匀后吸取 1 mL 的 $0.75\ \text{mmol}\ \text{L}^{-1}$ 硫酸亚铁溶液于试管中, 向试管中加入上述水提物 1 mL, 再加入 1 mL 质量分数为 0.01%的过氧化氢溶液, 混匀置于 37 °C 水浴锅中反应 30 min, 反应结束后在波长 536 nm 处测定各管的吸光度为 A_1 ; 其中阴性对照试验用 1 mL 体积分数为 1%盐酸-甲醇代替样品溶液, 吸光度值记为 A_0 ; 阳性对照试验用 1 mL 体积分数为 1%盐酸-甲醇代替样品溶液, 同时用蒸馏水代替过氧化氢溶液, 测定吸光度记为 A_2 , 按公式 (1) 计算。

$$S_{OH}=\frac{A_1-A_0}{A_2-A_0}\times 100\%$$

(1)

式中:

S_{OH} ——OH 清除率;

A_1 ——样品反应的吸光值;

A_2 ——阳性对照管的吸光值;

A_0 ——阴性对照管的吸光值;

做三次平行实验, 取平均值, 结果以%计。

1.3.6 酸奶感官评定

选择 12 名年龄 20~35 岁之间且经过食品感官培训的人员, 按照以下评价表对酸奶的色泽、组织形态、气味、滋味进行评价打分, 满分为 100 分 (表 1)。色泽、组织形态、气味、滋味的分数权重由指标的离散程度确定, 感官人员对其评分的离散性越大, 权重越重。为了检验感官评分表的可信度, 样品采用随机编号, 基于 12 名评委对样品色泽、组织形态、气味、滋味的评价结果, 对评委间一致性进行分析和重复性检验, 结果显示评委之间的评分以及每个评委对重复样品的评分差异不显著 ($P<0.05$), 说明该评分表可信度高。

表 1 澳洲坚果酸奶感官评价表

Table 1 Sensory evaluation for Australian nut yogurt		
项目	特征	分值/分
色泽 (20 分)	色泽均匀一致, 呈乳白色, 有光泽	16~20
	色泽均匀一致, 呈乳白色, 但色泽较暗	10~15
	色泽灰暗, 不均匀	0~9
组织状态 (20 分)	组织细腻, 质地均匀, 黏度适中, 无乳清析出	16~20
	组织较细腻, 质地较均匀, 有少量乳清析出	10~15
	组织粗糙, 质地不均匀, 有较多乳清析出	0~9
气味 (30 分)	具有浓郁的澳洲坚果酸奶香味, 无任何异味	21~30
	坚果酸奶发酵香味不浓, 无异味	11~20
	无坚果发酵香气或有不愉悦的气味	0~10
滋味 (30 分)	酸甜适中, 无不良滋味	21~30
	过酸或过甜, 无不良滋味	11~20
	滋味异常	0~10

1.4 数据处理及分析

统计分析采用 SPSS 软件 (19.0 版), 使用 Duncan 法比较平均值之间的差异显著性。不同字母表示统计学显著性 ($P<0.05$), 采用 origin 2017 作图。

2 结果与分析

2.1 澳洲坚果酸奶冷藏期间 TA 含量和 pH 值的变化

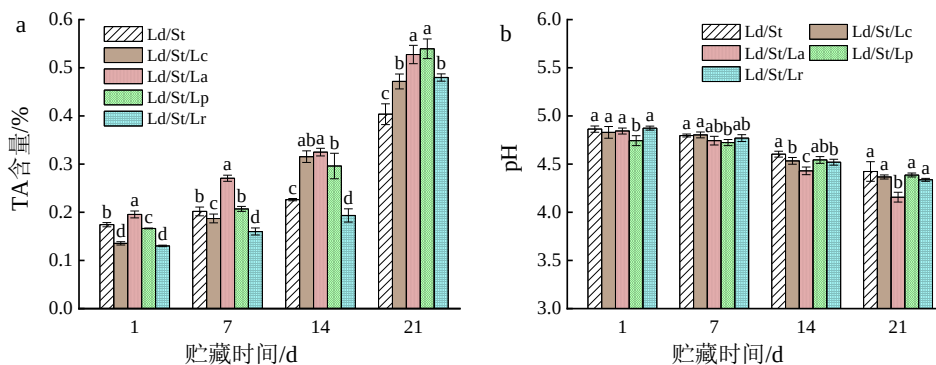


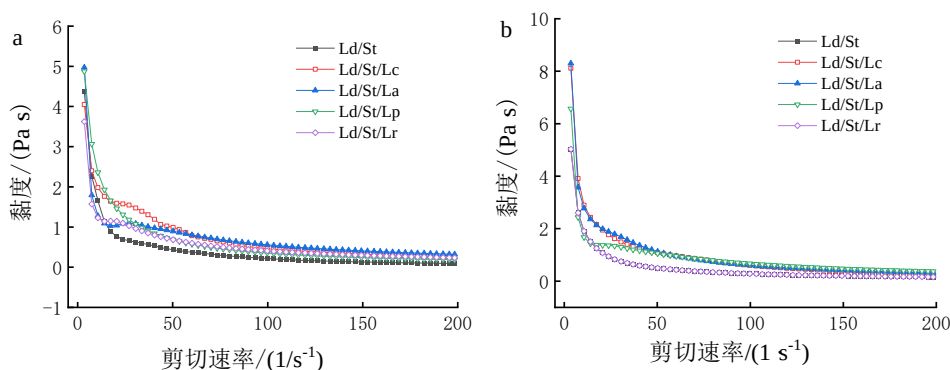
图 1 不同复合菌种发酵的澳洲坚果酸奶在冷藏期间的 TA 含量和 pH 值

Fig.1 TA and pH of macadamia nut yogurt fermented with different mixed-strain cultures during refrigerated storage

注: a 图为 TA 含量和 b 图为 pH 值, 图中字母 a, b, c, d 表示同一天指标的差异性, 不同字母表示差异显著, 下同。

酸奶的 pH 值影响产品的理化性质和酸感, 澳洲坚果酸奶 pH 值在冷藏期间维持在 4.2~4.8 之间, 且所有样品的 TA 含量随着冷藏时间的延长而逐渐增加 (图 1a), pH 则逐渐下降 (图 1b), 整体上 TA 含量和 pH 成负相关, 澳洲坚果酸奶的 TA 含量在 0.14%~0.54% 之间, 低于腰果酸奶 (0.45%~0.10%), 这是由于腰果中的碳水化合物含量更高, 可以供乳酸菌代谢产生更多的乳酸。Shori 等^[9]的研究中采用 St、Ld 和 Lc、La、Lp、Lr 等组成的发酵剂制成的酸奶在冷藏期间 pH 维持在 4.2~4.5 之间, 且随着冷藏时间延迟持续下降, 但比本研究中酸奶的下降幅度低, 说明不同类型酸奶之间的后酸化程度有差异。在冷藏结束时, TA 含量显著高于初始含量, pH 则显著低于初始样品 ($P < 0.05$), 这是由于乳酸菌的后酸化作用, 冷藏过程乳酸菌利用酸奶中残存的碳水化合物继续产酸^[10,15]。Ld/St/La 发酵产酸最多, 并在整个冷藏期间都显著高于对照 ($P < 0.05$), 在第 21 天 TA 含量达到 0.54%, 比对照高 35%, 且对应的 pH 值在贮藏 14 d 和 21 d 显著低于对照 ($P < 0.05$), 这是由于酸性物质解离出氢离子降低样品的 pH 值。Ld/St 基础上添加 Lc 和 Lp 发酵的酸奶在贮藏后期 (14~21 d) 的 TA 含量显著高于对照 ($P < 0.05$), 但 pH 却与对照无显著差异 ($P > 0.05$); Ld/St 基础上添加 Lr 发酵的酸奶在冷藏的 1~14 d 内 TA 含量低于对照, 第 21 天时显著高于对照, 而 pH 值只在第 14 天比对照低 0.08, 其余冷藏期间与对照无显著差异 ($P > 0.05$), 这说明发酵剂在酸奶冷藏期间的产酸能力与其菌种组成有关系, 同时酸奶的 pH 值响应 TA 含量的变化情况也与发酵剂组成有关。

2.2 澳洲坚果酸奶冷藏期间的流变特性



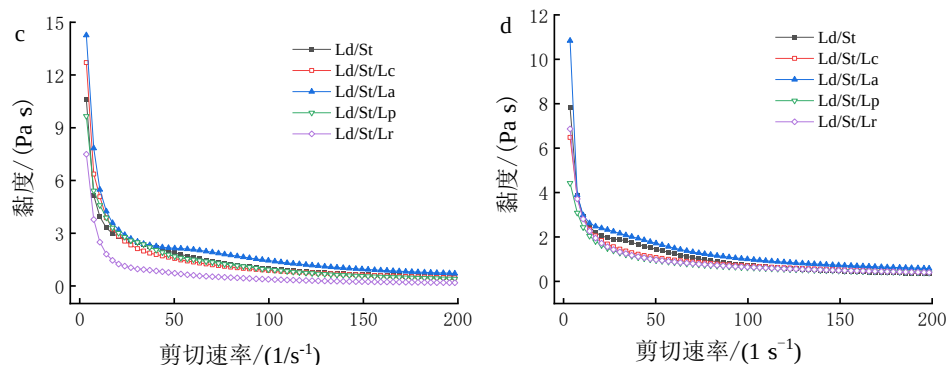


图2 不同复合菌种发酵的澳洲坚果酸奶在冷藏期间的黏度

Fig.2 Viscosity of macadamia nut yogurt fermented with different mixed-strain cultures refrigerated storage

注: 图 a, b, c, d 分别为第 1, 7, 14 和 21 天的黏度。

图2展示了澳洲坚果酸奶在冷藏期间的黏度,随着剪切速率的增加,酸奶黏度降低,表现为剪稀化行为^[16,17],先前的研究表明剪稀化行为可能是由于在高剪切速率下分子内和分子间连接断裂以及蛋白质、脂肪等大分子随着流体的流动而调整方向所致^[16],剪稀化能改善流动性和混合性,从而影响口感和风味释放^[18],黏度大小反应了酸奶内部凝胶网络的结构强度和水结合力。Ld/St/La在整个冷藏期间始终保持了最大的初始黏度,这与其冷藏期间TA含量高有关(图1a),Ld/St的基础上添加Lp、Lc发酵的酸奶在冷藏第7~14d的初始黏度高于对照组,这说明Lp、Lc在冷藏中期增强了酸奶内部分子之间的联结。到冷藏第14天,所有酸奶的初始粘度升高,这与冷藏期间TA增加,酸诱导蛋白凝胶化有关^[18],到第21天,酸奶的初始粘度下降,代表凝胶网络结构变得松散^[19],外观上看酸奶表面有少许乳清析出,但Ld/St/Lp的初始粘度最低,其他发酵组的酸奶在冷藏21d还保持了较好的流变性能。

2.3 澳洲坚果酸奶冷藏期间的乳酸菌数量

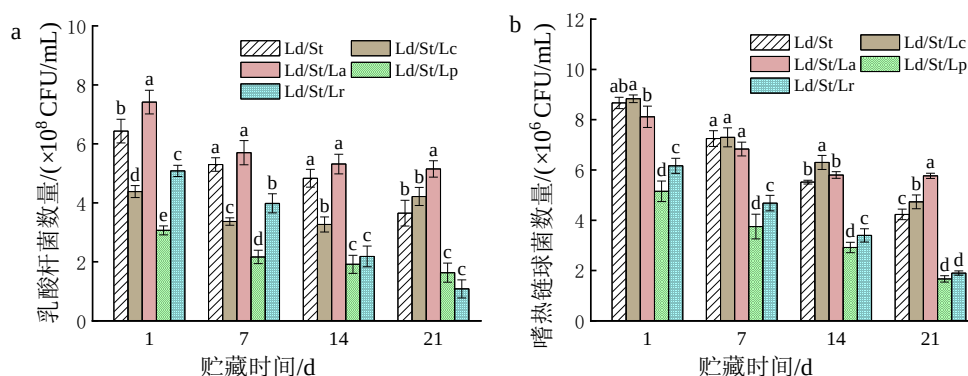


图3 不同复合菌种发酵的澳洲坚果酸奶在冷藏期间的乳酸杆菌和嗜热链球菌数量

Fig.3 The number of *Lactobacillus* and *Streptococcus thermophilus* in Australian macadamia yogurt fermented by different compound strains during refrigeration

注: 图 a, b 分别为乳酸杆菌和嗜热链球菌数量。

从图3可以看出酸奶中的乳酸菌在冷藏期间持续下降,这是由于冷藏期间pH持续下降,酸性增加造成乳酸菌的死亡或者失活,同时冷藏的低温条件抑制了某些乳酸菌的生长^[10,18]。对照组的乳酸杆菌数量从 6.43×10^8 CFU/mL下降到 3.65×10^8 CFU/mL,高于腰果酸奶冷藏期间的乳酸杆菌数量^[9],Ld/St/La发酵的酸奶中乳酸杆菌数量在冷藏期间高于其他发酵剂组合(图3a),维持在 $7.41 \sim 5.15 \times 10^8$ CFU/mL之间,且与对照组差异显著($P < 0.05$),这是由于La具有较高的耐酸性^[7],因此冷藏期间产酸更多(图2a),在Ld/St的基础上添加Lp和Lr并没有增多酸奶中的乳酸杆菌和嗜热链球菌数量,在冷藏第21天的TA含量却显著高于对照组(图2a),说明Ld/St/Lp和Ld/St/Lr的协同产酸能力得到增强。图3b显示,Ld/St/Lc发酵的酸在冷藏第14~21天的嗜热链球菌数量($4.73 \sim 8.83 \times 10^6$ CFU/mL)显著高于($P < 0.05$)Ld/St对照组($4.23 \sim 8.67 \times 10^6$ CFU/mL)。Ld/St/La组的嗜热链球

菌数虽然在贮藏第1 d 低于 Ld/St 组,但由于在冷藏期间活菌数下降相对缓慢,在第21 天显著高于对照组($P<0.05$), Ld/St/Lp 和 Ld/St/Lr 两组发酵剂的酸奶中嗜热链球菌数量在整个冷藏期间显著低于($P<0.05$)其他组。Shori 等^[8]的研究中发现在 Ld/St 的基础上添加 La、Lp 和 Lr 在腰果酸奶冷藏期间增加了嗜热链球菌的总数,但本研究中只有 Lc、La 在冷藏期间对嗜热链球菌数具有一定的保护作用, Lp 和 Lr 并没有达到同样的效果,而 Ld/St/La 组合中总乳酸菌的活性在冷藏期间保持更高,其他组合的复合发酵剂没有显著增加酸奶中的乳酸菌总数,说明乳酸菌株在不同的基质中由于它们的生长速率^[20]和产生乳酸菌所需生长因子的能力不同^[8]导致其存活率存在差异。

2.4 澳洲坚果酸奶冷藏期间的总酚和黄酮含量

澳洲坚果中含有丰富的酚类物质^[21,22],大多以结合态存在,研究表明乳酸菌发酵可以有效释放南瓜子植物乳中的结合态酚类物质或将前体分子转化为富含酚类的衍生物,从而提高酸奶中的总酚含量^[11,18],本研究中发酵前的澳洲坚果植物奶的总酚含量 $22.51 \mu\text{g GAE}\cdot\text{g}^{-1}$,发酵之后冷藏第1 天各发酵组的酸奶中总酚含量均得到提高。从图 4a 和 4b 还可看出,澳洲坚果酸奶的总酚和黄酮含量随着冷藏时间的延长而下降,这是由于酚类和黄酮物质在氧气的作用下持续被氧化所致^[23]。不同发酵剂发酵的酸奶中总酚和黄酮含量有差异, Ld/St/La 发酵的酸奶总酚含量从第1 天的 $33.64 \mu\text{g GAE}\cdot\text{g}^{-1}$ 降至第21 天的 $21.58 \mu\text{g GAE}\cdot\text{g}^{-1}$,黄酮含量从 $1008.17 \mu\text{g RE}\cdot\text{g}^{-1}$ 降为 $248.37 \mu\text{g RE}\cdot\text{g}^{-1}$,在冷藏期间总酚和黄酮含量保持最高且与对照(总酚含量 $28.95\sim 20.93 \mu\text{g GAE}\cdot\text{g}^{-1}$,黄酮含量 $931.37\sim 150.33 \mu\text{g GAE}\cdot\text{g}^{-1}$)差异显著($P<0.05$),在 Ld/St 的基础上增加 Lc 菌种,只在冷藏的第1 天总酚含量显著高于对照($P<0.05$),在 7~21 d 内都显著低于对照,说明添加 Lc 在发酵过程中促进了结合酚的释放,但在冷藏中总酚物质降解更快;而在 Ld/St 的基础上增加 Lp 或 Lr 菌种反而降低了酸奶中的总酚含量,在 Ld/St 的基础上增加 Lc、La、Lp 或 Lr 菌种发酵使酸奶在冷藏的第1、14、21 天黄酮含量显著高于对照,这是由于这些菌株均具有促进黄酮释放的能力,比如 Lc、La、Lp 或 Lr 菌种分别发酵的豆奶和杏仁奶在冷藏的第7~14 d 总酚含量升高^[12]。其主要机制可能与 β -葡萄糖苷酶催化黄酮糖苷去糖基化及黄酮苷元释放增加有关,已有研究表明, Lc、La、Lp 和 Lr 具有较高 β -葡萄糖苷酶活性^[24]。但除了糖苷酶外,乳酸菌还可通过酯酶、脱羧酶和还原酶参与酚类代谢,因此 Lc、Lp 或 Lr 菌株虽然能够促进黄酮糖苷水解、提高黄酮测值,但同时也可能进一步代谢部分非黄酮酚类,导致总酚含量未必同步增加^[25,26]。综上,在 Ld/St 复合菌种中添加 Lc、La、Lp 或 Lr 菌种对酸奶中冷藏期间的总酚和黄酮含量产生不同的影响,其中 Ld/St/La 组酸奶含量最高。

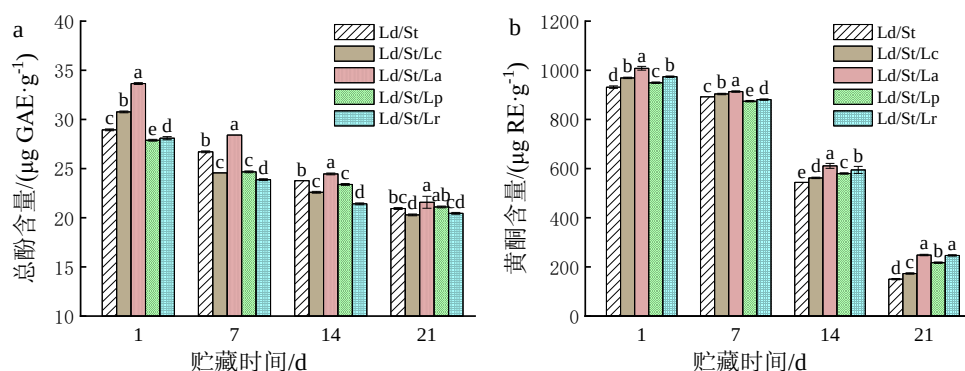


图4 不同复合菌种发酵的澳洲坚果酸奶在冷藏期间的总酚和黄酮含量

Fig.4 Total phenolic and flavonoid contents of Australian macadamia yogurt fermented by different mixed strains during refrigeration

注: 图 a, b 分别为总酚和黄酮含量。

2.5 澳洲坚果酸奶冷藏期间的抗氧化性

从图 5a 可以看出, Ld/St/La 发酵的酸奶 FRAP 值在冷藏第1~7 天保持相对平稳,第7~21 天下降较快,其他发酵剂发酵的酸奶在冷藏第1~7 天内短暂上升后一直下降,在1~7 d 内 FRAP 值与总酚、黄酮的变化趋势不一致(图 4),说明酸奶的抗氧化活性还可能受到其他代谢产物的影响^[27,28]。不同发酵剂对酸奶冷藏期间的 FRAP 值也有不同的影响,对照的 FRAP 值从第1 天的 $248.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 降至第21 天的 $206.10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,添加 Lc 和 La 发酵显著提高了酸奶在整个冷藏期间的 FRAP 值($P<0.05$),而添加 Lp 和 Lr 发酵则在第7~21 d 显著高于对照($P<0.05$),在

冷藏初期低于对照 ($P<0.05$)。

酸奶的 DPPH 和 OH 清除能力在整个冷藏期间都持续下降 (图 5b、5c), 整体上与总酚、黄酮含量成正相关 (图 4)。如图 5b 所示, Ld/St/La 发酵的酸奶在冷藏期间的 DPPH 清除率从 58.33% 降至 24.46%, 且在第 1、14、21 天都显著高于其他发酵剂组 ($P<0.05$), 对照组酸奶在冷藏第 2 天显著高于其他三菌种复合发酵 ($P<0.05$), Ld/St/Lc 和 Ld/St/Lp 只在贮藏初期显著高于对照 ($P<0.05$), 不同发酵剂发酵组的酸奶冷藏中后期 (14~24 d) 的 DPPH 清除能率之间的差值很小。如图 5c 所示, 对照 Ld/St 发酵组酸奶的 OH 清除率为 60.25% 逐渐降至 19.61%, 添加 Lc、La、Lp 或 Lr 菌种发酵能显著提高 OH 清除率 ($P<0.05$), 其中 Ld/St/La 发酵酸奶的 OH 清除率 (68.63~27.45%) 在整个冷藏期间保持最高, 并与其他组差异显著 ($P<0.05$), 其次是 Ld/St/Lc、Ld/St/Lp 或 Ld/St/Lr 发酵组, 说明不同菌种组合对酸奶基质 DPPH 和 OH 清除能力的影响不同, 这是由于不同菌种的代谢产物组成以及释放抗氧化物质的水解酶活性差异所致^[25]。综上, Ld/St/La 组酸奶的 DPPH 和 OH 清除能力整体上最强, 综合 FRAP 值、DPPH 和 OH 清除能力来看, 酸奶的整体抗氧化水平在冷藏的前 14 d 较高, 达到第 21 天时, 由于抗氧化物质的损失, 抗氧化能力也较低。

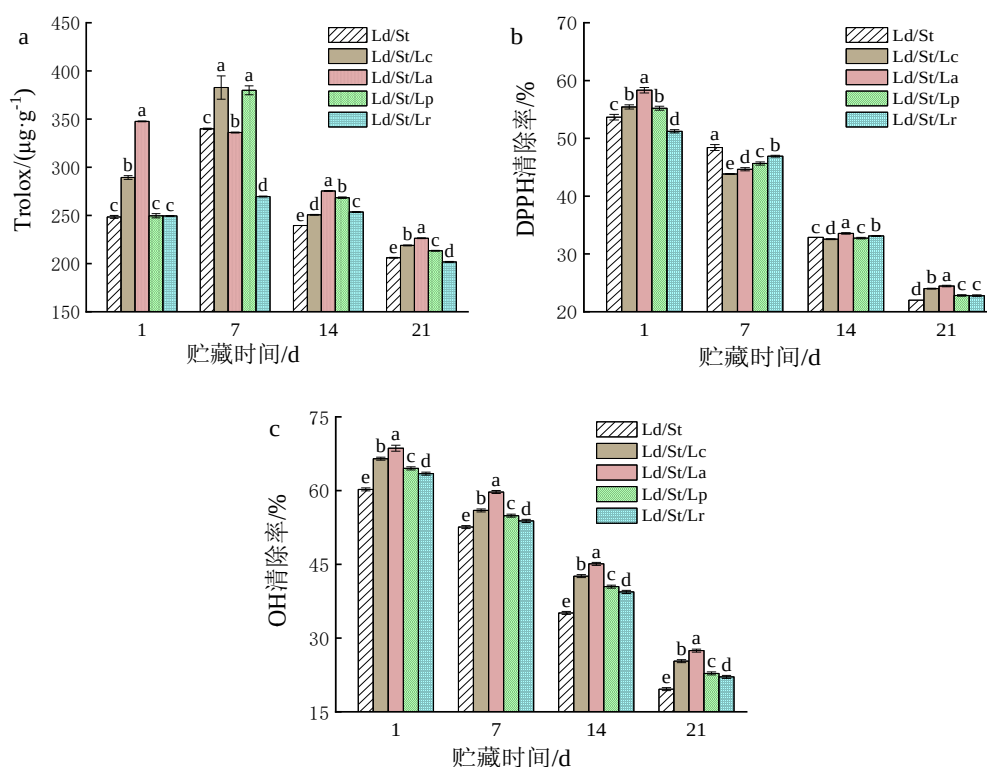


图 5 不同复合菌种发酵的澳洲坚果酸奶在冷藏期间的 FRAP 值 (a)、DPPH (b) 和 $\cdot$ OH (c) 清除率

Fig.5 FRAP (a), DPPH (b) and $\cdot$ OH (c) scavenging activities of Australian macadamia yogurt fermented by different mixed strains during refrigeration

注: 图 a, b, c 分别为 FRAP 值、DPPH 和 OH 清除率。

2.6 澳洲坚果酸奶冷藏期间的感官评分

影响感官评分的主要因素有外观色泽、状态、口感、酸甜度和香气等, 如图 6 所示, 在冷藏第 1~7 天, 澳洲坚果酸奶的感官评分升高, 这是由于在这个阶段酸奶的质地改善, 粘弹性达到较佳的状态, 同时酸度适度增加, 酸甜可口, 坚果香气浓郁。在第 7~21 天综合观感评分缓慢下降, 主要原因是酸度在缓慢增加, 部分评价人员认为酸奶在冷藏后期口感过酸, 且酸奶在冷藏后期出现少许水析出现象。在整个冷藏期间, 感官评分最高的分别是 Ld/St/Lc 和 Ld/St/Lr 组酸奶, 感官评分最高分别达到 93.7 分和 92.0 分, 主要表现在酸味更柔和、质地更均匀且黏度适中, 其余组的酸奶在感官上无显著差异, 在 Ld/St 基础上添加 Lc、Lr 发酵的腰果酸奶也同样是在质构方面的评价更高, 在色泽、气味方面并无明显变化^[10], 说明在 Ld/St 基础上增加/Lc、Lr 菌种能改善澳洲坚果酸奶的综合感官品质。

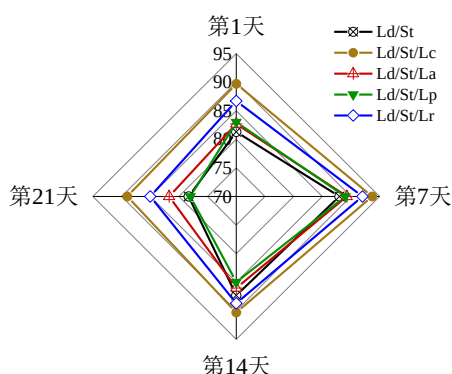


图6 不同复合菌种发酵的澳洲坚果酸奶在冷藏期间的感官评分雷达图

Fig.6 Radar chart of sensory scores of Australian macadamia yogurt fermented by different mixed strains during refrigeration

3 结论

本研究表明,不同复合发酵菌种 Ld/St、Ld/St/Lc、Ld/St/La、Ld/St/Lp、Ld/St/Lr 显著影响澳洲坚果酸奶在 4 °C 冷藏 21 d 期间的品质变化,且菌种差异与酸化特性、活菌存活、酚类物质积累、抗氧化活性及感官品质之间存在明显关联。总体上,TA 与 pH 呈负相关,适度酸化有利于凝胶结构形成和黏度保持,但冷藏后期持续后酸化会降低质构稳定性和感官品质;总酚和黄酮含量与 DPPH、OH 清除能力整体呈正相关,说明酚类物质是抗氧化活性的重要贡献成分,而 FRAP 与总酚、黄酮变化趋势总体一致但前期并非完全同步,提示抗氧化活性还可能受其他代谢产物影响。不同菌种组合的作用特点存在明显差异。其中,Ld/St/La 组表现出更强的产酸能力、更高的乳酸杆菌存活率以及更高的总酚、黄酮含量和抗氧化活性,说明其与澳洲坚果乳基质具有较好的适配性,在提升产品功能品质方面优势最为突出。Ld/St/Lc 和 Ld/St/Lr 组虽在活菌数和抗氧化活性方面不及 Ld/St/La 组,但感官评分最高,表明其更有利于形成较柔和的酸味、较均匀的质地和较好的综合接受度。Ld/St/Lp 组对冷藏中后期抗氧化活性有一定促进作用,但整体优势不明显。综上,Ld/St/La 更适合用于提高澳洲坚果酸奶的活菌活性和抗氧化功能,而 Ld/St/Lc 和 Ld/St/Lr 更适合用于改善感官品质。本研究可为澳洲坚果酸奶发酵剂筛选及产品开发提供参考依据,未来可以进一步探究不同发酵剂在澳洲坚果发酵中的代谢物质组成及风味形成规律。

参考文献

- [1] 余盖文.植物基酸奶挥发性成分的形成途径、生物转化与发酵调控[D].无锡:江南大学,2025.
- [2] 张晓悦,何杉,季国志,等.传统酸奶与植物基酸奶加工工艺与品质对比分析[J].中国乳品工业,2025,53(7):44-50.
- [3] 张涛,宋海云,涂行浩,等.澳洲坚果油脂性状在广西不同产地间的稳定性及差异性分析[J].中国粮油学报,2025,40(5):135-143.
- [4] 马尚玄,胡小静,付稼榕,等.云南西双版纳不同澳洲坚果品种果实品质特性及综合评价[J].中国南方果树,2024,53(6):68-75+82.
- [5] 张丞,张弘,苏建荣,等.五倍子单宁对澳洲坚果鲜食果仁的保鲜效果[J].食品科学,2025,46(14):311-320.
- [6] ZHAI J, ZHUANG Y, SUN L, et al. Nutritional health aspects and functional properties of nut yogurt: Future perspectives [J]. Food Chemistry: X, 2025, 25: 102102.
- [7] GU Y, LI X, CHEN H, et al. Evaluation of FAAs and FFAs in yogurts fermented with different starter cultures during storage [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2021, 96: 103666.
- [8] 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, 2022, 153: 112482.
- [9] SHORI A B, ALBALAWI A, AL ZAHIRANI A J, et al. Microbial analysis, antioxidant activity, and sensory properties of yoghurt with different starter cultures during storage [J]. International Dairy Journal, 2022, 126: 105267.
- [10] GHOLAMHOSSEINPOUR A, HASHEMI S M B, SAFARI F, et al. Impact of ultrasonicated *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and *Lactiplantibacillus plantarum* AF1 on the safety and bioactive properties of stirred yoghurt during storage [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2024, 102: 106726.
- [11] WADEESIRISAK K, MUSIGAMART N, PANTOA T, et al. Biochemical composition and functional properties of pumpkin (*Cucurbita*

- sp.) seed yogurt: a functional plant-based product [J]. Applied Food Research, 2025, 5(2): 101388.
- [12] AL ZAHIRANI A J, SHORI A B. Viability of probiotics and antioxidant activity of soy and almond milk fermented with selected strains of *probiotic Lactobacillus spp* [J]. LWT, 2023, 176: 114531.
- [13] LI K, DUAN Z, ZHANG J, et al. Growth kinetics, metabolomics changes, and antioxidant activity of probiotics in fermented highland barley-based yogurt [J]. LWT, 2023, 173: 114239.
- [14] YANGILAR F. Determination of antioxidant capacity, citric acid, phenolic compounds, physicochemical and sensory properties of pepino marmalade yogurts enriched with erythritol and amaranth flour at different concentrations [J]. Food Science and Biotechnology, 2023, 32(4): 531-542.
- [15] THAKUR N, SHARMA R, THAKUR A. Optimization of lyophilized microencapsulated phenolic extract concentration for enrichment of yoghurt and effect on chemical parameters, bioactive compounds, antioxidant activity and sensory quality under storage [J]. South African Journal of Botany, 2022, 151: 413-422.
- [16] WU J, LIN Y, ZENG Z, et al. Steam-exploded laminaria japonica polysaccharide improved set yogurt quality: Based on flavor, storage stability and dynamic in vitro digestive properties [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2025, 100: 103933.
- [17] NAIBAHO J, BUTULA N, JONUZI E, et al. The roles of brewers' spent grain derivatives in coconut-based yogurt-alternatives: microstructural characteristic and the evaluation of physico-chemical properties during the storage [J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 1195-1204.
- [18] DHAR P, SANGHVI G, SINGH R, et al. Emerging trends in plant-based yogurt: Novel raw materials, bio-functionality, stability, and sustainability perspectives – A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 166: 105402.
- [19] GAO Y, LI R, PAN J, et al. Effects of egg white on the texture, physicochemical properties and sensory characteristics of double protein yogurt during storage [J]. Gels, 2025, 11(11): 865
- [20] KARAGÖL M A, TARAKÇI Z, TEKIN A, et al. Effect of probiotic lactobacilli on protein hydrolysis, volatilomics, texture and sensory properties of buffalo yogurt: A comparative study [J]. International Dairy Journal, 2026, 173: 106470.
- [21] 杜丽娟,陶汝青,周葵,等.不同品种澳洲坚果的矿物质、氨基酸、多酚含量及抗氧化活性分析及品质评价[J].食品工业科技,2025,46(19):273-286.
- [22] 徐文婷,付稼榕,马尚玄,等.不同包装和贮藏温度的澳洲坚果果仁贮藏品质及货架期预测[J].食品科学,2024,45(16):232-243.
- [23] P. R. PEREIRA E, FERREIRA B M, FREIRE L, et al. Enhancing the functionality of yogurt: Impact of exotic fruit pulps addition on probiotic viability and metabolites during processing and storage [J]. Food Research International, 2024, 196: 115057.
- [24] ÁVILA M, HIDALGO M, SÁNCHEZ-MORENO C, et al. Bioconversion of anthocyanin glycosides by Bifidobacteria and Lactobacillus [J]. Food research international, 2009, 42(10): 1453-1461.
- [25] ZHAO X, TANG F, CAI W, et al. Effect of fermentation by lactic acid bacteria on the phenolic composition, antioxidant activity, and flavor substances of jujube-wolfberry composite juice [J]. LWT, 2023, 184: 114884.
- [26] MUÑOZ R, DE LAS RIVAS B, RODRÍGUEZ H, et al. Food phenolics and Lactiplantibacillus plantarum [J]. International Journal of Food Microbiology, 2024, 412: 110555.
- [27] AYDAR E F, TUTUNCU S, OZCELIK B. Plant-based milk substitutes: bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 70: 103975.
- [28] SHORI A B. Proteolytic activity, antioxidant, and α -Amylase inhibitory activity of yogurt enriched with coriander and cumin seeds [J]. LWT, 2020, 133: 109912.