

超高压前处理提升植物乳杆菌发酵梨汁的风味品质

张平¹, 阮征¹, 李沛生^{1,2*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆帕米尔高原生物资源与生态重点实验室, 新疆喀什 844000)

摘要: 本研究旨在探究超高压和巴氏杀菌前处理对植物乳杆菌在梨汁中增殖代谢情况以及对发酵梨汁风味品质的影响。对发酵过程中梨汁的活菌数、pH 值及总糖总酸含量进行测定, 利用静态-顶空固相微萃取 (HS-SPME) 和气质联用 (GC-MS) 分析梨汁发酵前后的挥发性风味化合物的变化, 并对发酵前后的梨汁进行风味感官评价。相比于热处理, 超高压前处理能更好地保持梨汁原有的风味, 且杀菌梨汁的刺激性更小。两种前处理方式对发酵梨汁中挥发性风味物质的影响差异显著 ($p < 0.05$), 经植物乳杆菌发酵后, 超高压前处理梨汁中挥发性醇、酯、烷酮的含量分别增加了 36.47%、95.43%、80.00%, 挥发性烯烃、醛的含量分别减少了 7.56%、27.00%; 巴氏杀菌前处理梨汁中挥发性醇、酯、烯烃的含量分别增加了 63.83%、25.67%、17.82%, 醛的含量减少了 4.08%, 烷酮从未检出增至 0.90 mg/L。相比于巴氏杀菌前处理发酵梨汁, 超高压前处理发酵梨汁中挥发性醇、酯和烯烃的含量均更高 ($p < 0.01$), 而挥发性醛和烷酮的含量均更低 ($p < 0.05$), 这使得超高压前处理发酵梨汁更具新鲜气息。

关键词: 植物乳杆菌; 发酵梨汁; 挥发性风味物质; 超高压处理; 巴氏杀菌

文章编号: 1673-9078(2021)12-230-239

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.12.0290

Improving the Flavor Quality of Fermented Pear Juice with *Lactobacillus plantarum* by Ultra-high Pressure Pretreatment

ZHANG Ping¹, RUAN Zheng¹, LI Biansheng^{1,2*}

(1. College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. College of Life and Geographic Sciences, Key Laboratory of Biological Resources and Ecology of Pamirs Plateau in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Kashi University, Kashi 844000, China)

Abstract: This study aimed to explore the effects of ultra-high pressure pretreatment and pasteurization pretreatment on the proliferation and metabolism of *Lactobacillus plantarum* in pear juice as well as the flavor quality of fermented pear juice. The number of viable bacteria, pH value, total sugar and total acid content of pear juice during the fermentation process were determined. The changes in the volatile flavor compounds of the pear juice before and after fermentation were examined by static-headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), then sensory evaluation on the flavor of pear juice was carried out before and after fermentation. Compared with heat treatment, the ultra-high pressure pretreatment could better preserve the original flavor of pear juice and led to less irritation of sterilized pear juice. The effects of the two pretreatment methods on the volatile flavor compounds in fermented pear juice were significantly different ($p < 0.05$). After the fermentation with *Lactobacillus plantarum*, the contents of volatile alcohols, esters, and alkanones in the fermented pear juice pretreated by ultra-high pressure increased by 36.47%, 95.43% and 80.00%, respectively, while the contents of volatile olefins and aldehydes decreased by 7.56% and 27.00%, respectively. Pasteurization pretreatment made the fermented pear juice having increased contents of volatile alcohols, esters, and olefins (by 63.83%, 25.67% and 17.82%, respectively), a decreased content of aldehydes (by 4.08%), and an

引文格式:

张平,阮征,李沛生.超高压前处理提升植物乳杆菌发酵梨汁的风味品质[J].现代食品科技,2021,37(12):230-239,+300

ZHANG Ping, RUAN Zheng, LI Biansheng. Improving the flavor quality of fermented pear juice with *Lactobacillus plantarum* by ultra-high pressure pretreatment [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(12): 230-239, +300

收稿日期: 2021-03-18

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0400400)

作者简介: 张平 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工保藏, E-mail: 1595602518@qq.com

通讯作者: 李沛生 (1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品加工保藏, E-mail: febsli@scut.edu.cn

increased content of alkanones (from 0 to 0.90 mg/L). Compared with the fermented pear juice pretreated by pasteurization, the fermented pear juice with an ultra-high pressure pretreatment had higher ($p<0.01$) contents of volatile alcohols, esters and olefins, and lower ($p<0.05$) contents of volatile aldehydes and alkanones. The ultra-high pressure pretreatment makes the fermented pear juice pretreated fresher.

Key words: *Lactobacillus plantarum*; fermented pear juice; volatile flavor compounds; ultra-high pressure process; pasteurization

近年来,受素食主义流行,乳糖不耐受、高胆固醇、乳蛋白过敏患者增多等影响,非乳基发酵越来越受欢迎^[1-2]。果汁被认为是开发非乳制品益生菌饮料的理想基质,因为果汁中含有维生素、有机酸和多酚等活性物质^[3],同时其高含量的糖和其它营养素有助于益生菌的生长^[4]。以果汁作为载体,快速通过胃部恶劣酸性环境,还能提高益生菌的活性^[2]。用于发酵果汁的益生菌多为乳酸菌,它们通常被认为是安全无毒的,无致病性、致癌性,已在世界范围内被公认为“Generally Recognized as Safe (GRAS)”等级的食品微生物^[5]。

乳酸菌发酵不仅能提升果汁营养价值、延长货架期,还能赋予其独特的风味,这使得发酵果汁备受消费者的青睐。植物乳杆菌发酵枣汁能增加芳香化合物,并减少导致不愉快气味的硫有机化合物的产生^[6]。鼠李糖乳杆菌和木葡糖醋酸杆菌共同发酵的龙眼汁与对照组相比,苦味游离氨基酸含量显著降低,而酮和个别挥发性成分的总量增加,果汁的整体风味得到提升^[7]。石榴汁经植物乳杆菌作用后,醇、酮和烯烃、萜烯和苯衍生物的含量增加,花香和水果味更浓郁^[8]。果汁中的风味化合物至少上百种,乳酸菌对这些化合物的代谢及自身产生的新物质都会改变果汁的风味品质,这其中的作用机理仍需深入研究。

在确定接种的菌株后,发酵前的杀菌方式是影响发酵果汁风味品质的主要因素。果汁制备过程中,果皮中携带的微生物容易混进果汁,可能造成果汁微生物污染,因此在制备发酵果汁前需要先进行杀菌处理。传统上,果汁在微生物发酵前通过热处理进行巴氏灭菌,但由于温度过高,会造成营养、色泽及风味的损失^[1,9]。超高压处理是一种非热杀菌技术,在灭活腐败和致病微生物的同时,几乎不影响果汁的感官品质和营养价值^[10-11]。已有诸多文献报道了超高压和热处理果汁的挥发性风味物质和物化特性^[12-15],然而这两种杀菌方式对果汁在发酵过程中风味品质的影响少有被评估。本文选取梨作为发酵原料,其较高含量的碳水化合物为乳酸菌的增殖代谢提供有利条件,且发酵后的梨汁有较好的营养和感官品质^[16]。菌种则采用生长活性强,且能提高果汁风味品质的植物乳杆菌。通过测定植物乳杆菌发酵梨汁前后的活菌数、pH值及总糖、总酸和挥发性风味物质,探究超高压处理和巴氏

杀菌对植物乳杆菌生长代谢情况和发酵梨汁风味品质的影响,以期加工生产高品质乳酸菌发酵果汁提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

市售蜜梨 (*Pyrus pyrifolia*),选择成熟度合适、无明显缺陷的果品;植物乳杆菌 (*L. plantarum*) LP115,杜邦·丹尼斯克公司。

1.2 仪器与设备

UUPF/5L/800 MPa 型 HPP 处理设备,包头科发高压科技有限责任公司; BSH-2 数显恒温水浴锅,江阴市保利科研器械有限公司; 7890B-7000C 三重四级杆气质联用仪,安捷伦公司; 手动进样柄,美国 Supelco 公司; 萃取头 (65 μm , PDMS/DVB), 美国 Supelco 公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

梨汁制备:梨洗净,去除果核,迅速榨汁后过 100 目纱布,得到鲜榨梨汁 (FJ),待测指标;每 150 mL FJ 分装于 250 mL 洁净无菌锥形瓶中,硅胶塞密封,将果汁迅速加热至 80 $^{\circ}\text{C}$,水浴保温 10 min,流水冷却至 40 $^{\circ}\text{C}$,得到巴氏杀菌梨汁 (PJ);将 FJ 用塑封袋进行真空包装,于 400 MPa 保压 15 min 处理得到超高压处理梨汁 (UHPJ),无菌操作下,每 150 mL UHPJ 分装于 250 mL 洁净无菌锥形瓶中。

前处理对发酵梨汁风味品质的影响:植物乳杆菌分别接种于 PJ 和 UHPJ 中,初始活菌数约为 7.00 lg CFU/mL,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱静置发酵 48 h。取 0 h、3 h、6 h、12 h、24 h、48 h 时的样品,测定活菌数、pH 值及总酸总糖含量,分析对比鲜榨梨汁 (FJ)、未发酵巴氏杀菌梨汁 (PJ) 和发酵 24 h 的巴氏杀菌前处理梨汁 (F-PJ)、未发酵超高压前处理梨汁 (UHPJ) 和发酵 24 h 的超高压前处理梨汁 (F-UHPJ) 中的挥发性风味物质,并进行风味感官评价。

1.3.2 活菌数及常见理化指标的测定

活菌数:参照 GB 4789.2-2016,采用稀释平板计

数法进行测定, 每组 3 个平行; pH 值: 参照 GB/T 10468-1989, 用 pH 计在室温下直接测定发酵液的 pH, 每组 3 个平行; 总酸: 参照 GB/T 12456-2008, 采用酸碱滴定法进行测定, 每组 3 个平行; 总糖: 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[17], 测定发酵液的 OD₅₄₀ 值, 每组 3 个平行。

1.3.3 挥发性风味化合物的测定

采用顶空固相微萃取 (HS-SPME) 法: 将固相微萃取头 (PDMS/DVB 65 μm) 在气相色谱的进样口老化, 老化温度为 250 °C, 载气体积流量为 1.20 mL/min, 老化时间为 1 h。准确移取 10 mL 样品于 20 mL 螺口进样瓶中, 加入 3.00 g NaCl, 促进香气成分的挥发^[18], 加入 1 μL 内标物环己酮^[19], 用聚四氟乙烯隔垫密封, 45 °C 环境下于磁力搅拌器中平衡 20 min。平衡后将 SPME 萃取头通过隔垫插入进样瓶 1 cm, 推出纤维头, 使其置于样品瓶顶空吸附 40 min, 随后取出萃取头,

立即插入 GC 仪的进样口, 插入深度为 2 cm, 推出纤维头, 解析 5 min, 同时启动仪器收集数据。

气相色谱 (GC) 条件: DB-5MS 毛细管色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度 250 °C, 载气为 He (纯度 99.999%), 流速 1.93 mL/min。不分流进样。升温程序: 起始温度为 40 °C, 保持 3 min 后以 4 °C/min 的速度升温至 120 °C, 再以 6 °C/min 的速度升温至 240 °C, 保持 9 min。

质谱 (MS) 条件: 电子轰击电离 (EI), 电子能量为 70 eV, 离子源温度为 230 °C, 接口温度为 230 °C, 质量扫描范围为 *m/z* 35~500。

1.3.4 风味感官评价

感官评价小组由 10 名事先经过培训的食品专业人员组成 (22~30 岁, 男女均等), 评价指标及描述见表 1。每项指标的评分分值范围为 0~10 分。

表 1 梨汁及发酵梨汁风味感官评价指标、定义的分值

Table 1 Definitions, reference and score of the sensory attributes of flavor for pear juice and fermented pear juice

指标	说明	分值范围
酸味	与柠檬酸溶液相关的基本味觉因子	0~10
甜味	由天然或人造物质 (如蔗糖或阿斯巴甜) 的稀水溶液产生的一种基本味道	0~10
涩味	口腔皮层或粘膜表面收缩、拉紧或起皱的一种复合感觉	0~10
醋味	酸、涩、略带刺激性的, 与醋有关	0~10
酒味	轻微刺激的, 类似酒精的, 与醇类物质有关	0~10
花香	与花香有关的甜的, 轻盈的, 淡淡的香味	0~10
果香	梨汁中芳香化合物的混合香气	0~10
发酵味	辛辣的, 甜的, 微酸的, 或发酵水果中类似酵母/酒精的芳香	0~10
刺激性	口腔或鼻腔内的一种尖锐的, 甚至是令人讨厌的身体穿透性的感觉	0~10
总体愉悦度	可接受的, 让人愉悦的食物感觉	0~10

1.3.5 数据分析

采用 Graph Pad Prism 8.0.2 分析 pH、总糖和总酸的均值和偏差。在利用 NIST14 质谱数据库检索的基础上, 结合 C₇-C₃₀ 正构烷烃系列外标的保留指数对化合物进行定性; 选择匹配度大于 85 的物质作为有效的香气成分, 按峰面积归一化进行相对定量, 按式 (1) 计算挥发性风味物质的含量。通过仪器所配置的 Nist 08.LIB 和 Nist 08s.LIB 谱库进行自动检索, 结合相似度并参考有关文献色谱保留指数进行定性, 采用内标法半定量计算各香气成分的含量。

$$\text{香气成分含量} / (\text{mg} / \text{L}) = \frac{\text{组分峰面积} \times \text{内标物质量} (\text{mg})}{\text{内标物峰面积} \times \text{样品量} (\text{L})} \quad (1)$$

2 结果与分析

2.1 超高压和巴氏杀菌前处理梨汁对植物乳

杆菌增殖代谢的影响

图 1 反映了超高压和巴氏杀菌前处理对植物乳杆菌发酵梨汁时的活菌数、pH 值及总糖总酸含量的影响。发酵期间, 植物乳杆菌生长良好, 两种前处理的发酵梨汁各指标的变化趋势一致。接种后的 0~3 h 为迟缓期, 植物乳杆菌适应梨汁的酸性环境, 仅有少部分开始生长繁殖; 3~6 h, 菌种开始大量利用梨汁中的糖、氨基酸等物质进行增殖代谢, 进入对数生长期; 6~12 h, 由于营养物质消耗以及代谢产物累积, 菌种增长速度开始减慢; 12~24 h, 菌种增殖速度继续减慢, 并逐渐进入稳定期, 24 h 左右, 活菌数达到最大值 9.72 lg CFU/mL (超高压处理) 和 8.91 lg CFU/mL (巴氏杀菌); 24 h 后, 生存环境恶化及营养物质限制导致菌种生长迟缓或衰退, 活菌数逐渐下降。整个发酵过程中, 不同杀菌前处理的发酵梨汁总酸和总糖含量无显

著差异, 相对应的两条折线图基本重合。最终总糖还剩约 10 g/100 g, 总糖利用率较低 (10.26%), 这可能与接种量较小、鲜梨汁的酸度较高等有关, 一定程度上限制了植物乳杆菌对梨汁中总糖的消耗。发酵 6 h 后, 超高压前处理梨汁的活菌数始终略高于巴氏杀菌前处理梨汁, 这可能是因为超高压处理更好地保留了梨汁原有的营养, 更利于植物乳杆菌的生长。据报道, 相比于热处理, 超高压处理果汁的糖组成与鲜果汁更接近, 更利于乳杆菌耗糖产酸^[7]。另外, 超高压处理会增加原料中游离氨基酸的总量, 可以促进乳酸菌的生长^[20]。还有研究者发现, 经超高压处理后, 饮料中多酚氧化酶、过氧化物酶、脂肪氧合酶等酶的活性降低, 间接促进了酚类化合物的释放, 而一定浓度的酚会减轻乳酸菌的氧化应激, 更利于其增殖^[21-22]。超高压前处理梨汁的 pH 值始终略低于巴氏杀菌前处理梨汁, 这是由于超高压作用能促进弱酸的电离平衡向生成 H⁺ 的方向进行^[23], 李俊芳^[24]也得出相同结论, 经超高压杀菌处理后, 桑葚发酵饮料的 pH 值显著下降 ($p < 0.05$)。

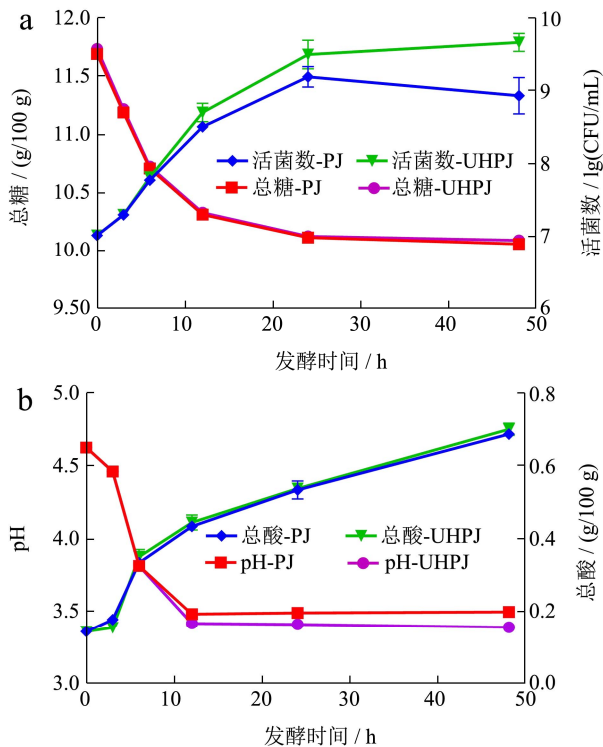


图1 超高压和巴氏杀菌前处理对植物乳杆菌发酵梨汁活菌数和理化变化的影响

Fig.1 Effect of ultra-high pressure and pasteurization pretreatment on viable count and physicochemical changes of pear juice fermented by *L. plantarum*

注: PJ 为巴氏杀菌前处理梨汁, UHPJ 为超高压前处理梨汁。

2.2 超高压处理和巴氏杀菌对植物乳杆菌发

酵梨汁中挥发性风味物质的影响

由图 2 可知, FJ 的出峰数量要多于 PJ, 而少于 UHPJ, 说明巴氏杀菌使鲜榨梨汁中的挥发性化合物数量减少, 而超高压处理则利于梨汁中挥发性风味物质的生成。热处理作用于其它果汁也有类似的结果, Perez-Cacho 等^[25]报道了橙汁经热处理后, 由于一系列复杂的化学反应而导致化合物的损失, 最终影响橙汁的香气; Wang 等^[26]研究了超高温瞬时杀菌和巴氏杀菌对西瓜汁香气的影响, 两种热处理使检测到的挥发性物质种数从原来的 27 种分别减至 21 种、22 种。经植物乳杆菌发酵 24 h, 超高压处理梨汁和巴氏杀菌梨汁的挥发性风味物质总峰面积和总峰数均增加, 前者的总峰面积增量更大, 而后者的总峰数增量更大。两种前处理梨汁的色谱图中保留时间 5~10 min 对应的峰面积显著减少, 而保留时间 15~30 min 对应的峰面积显著增加, 说明植物乳杆菌发酵能显著改变梨汁中挥发性风味物质的分布。

在鲜榨梨汁中共检出 21 种挥发性风味物质, 包括 9 种醇、5 种酯、4 种醛和 4 种烯烃 (表 2), 其中醇类挥发物含量最高 (49.69%), 其次是酯 (28.09%) 和烯烃 (19.68%)。大部分挥发物与梨汁之前的研究一致^[27-29], 新检出 4 种醇: 芳樟醇、L-薄荷醇、正戊醇和环己醇, 这种差异与梨的品种、成熟条件和香气提取方法等因素有关。鲜榨梨汁经前处理杀菌后, 其挥发性物质的种类和含量均发生变化, 但相比于巴氏杀菌前处理梨汁, 超高压前处理梨汁与鲜榨梨汁中挥发性风味物质的分布更相似 (图 3)。巴氏杀菌显著降低了梨汁中醇和烯烃的含量, 分别从初始的 6.44 mg/L 和 2.55 mg/L 降至 0.94 mg/L 和 1.72 mg/L, 另外, 醇类物质种类数也从 6 降至 3。醇可作为其它芳香化合物的溶剂, 对果汁的整体香气有显著的贡献, 而烯烃则可以赋予果汁独特的香气^[8,30]。因此, 挥发性风味化合物种类和数量的减少证实了巴氏杀菌对果汁风味的感官有负面影响。这一结果与多数现有文献一致, Lu 等^[31]发现热处理过程中, 甘蔗汁中大多数气味宜人的挥发性化合物都会丢失; Yang 等^[32]从热处理的西瓜汁中检出 5 种主要异味化合物, 其中辛醇、二异丙基二硫醚和 2-癸烯醛被鉴定为最关键的异味化合物; An 等^[33]报道了热杀菌使荔枝汁中 15 种化合物的气味活性值增加, 其中二甲基硫醚、甲硫醇、二甲基二硫醚、二甲基三硫醚和 2,4-二硫戊烷表现为煮熟白菜、马铃薯、大蒜、洋葱和硫磺味, 这些物质对荔枝汁的整体香气有显著负面效应。相比之下, 超高压处理的果汁基本不会产生异味物质, 能较好地保留新鲜果汁原有

的风味。与热杀菌相比,超高压前处理的猕猴桃汁与新鲜猕猴桃汁在 15 种主要香气成分的分布上更相似,因为高压环境能抑制酯类、醇类等香气成分的挥发^[34],类似的结果也出现在超高压处理的桑椹汁中,其挥发性成分的含量高于新鲜桑椹汁,且新检出 8 种醇、2 种酯和 2 种烯烃^[35]。

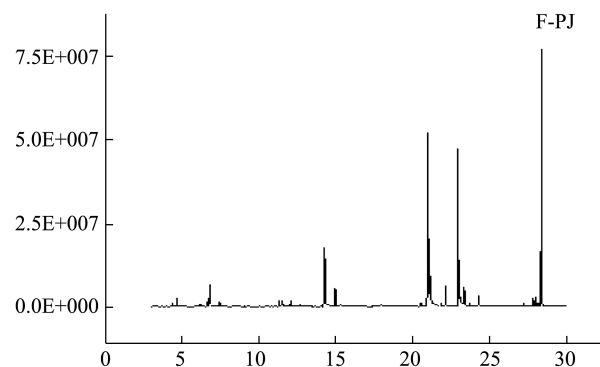
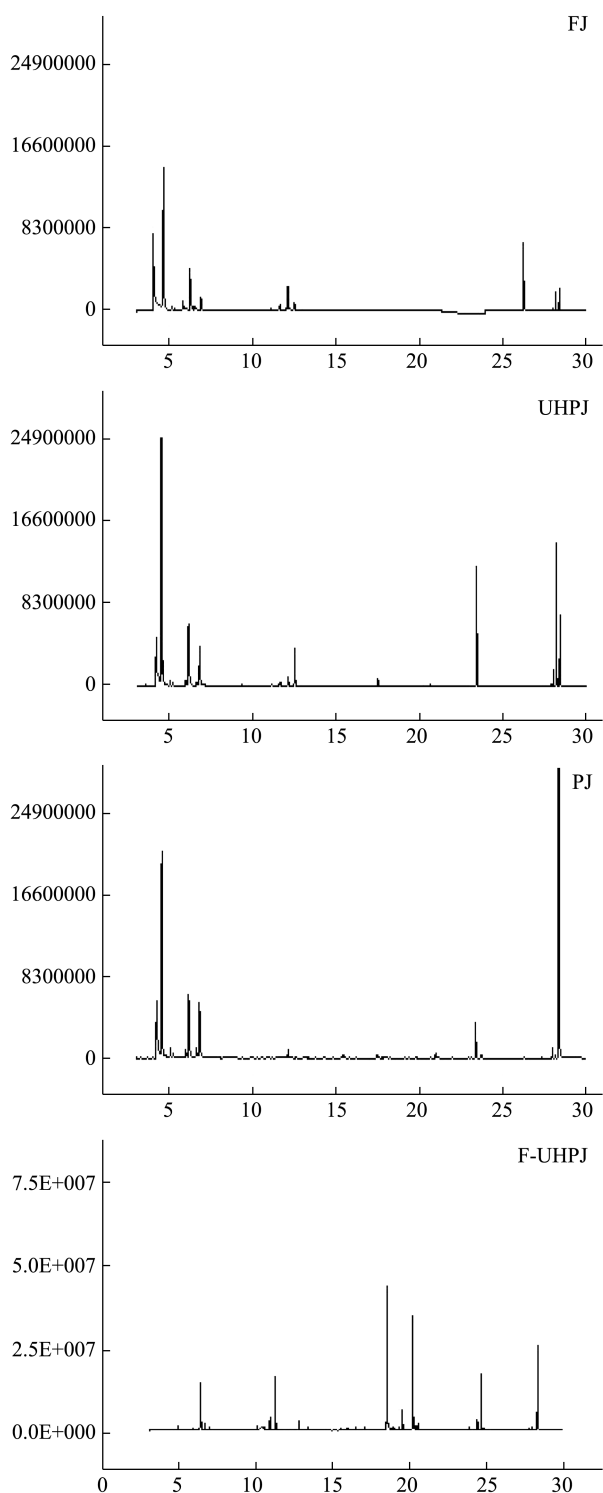


图2 超高压和巴氏杀菌前处理植物乳杆菌发酵梨汁风味物质总离子流色谱图变化情况

Fig.2 Changes of total ion flow chromatogram of flavoring substances in pear juice treated with ultra-high pressure and pasteurization pretreatment

注: FJ 为鲜榨梨汁, PJ 为未发酵巴氏杀菌前处理梨汁, UHPJ 为未发酵超高压前处理梨汁, F-PJ 为发酵的巴氏杀菌前处理梨汁, F-UHPJ 为发酵的超高压前处理梨汁。

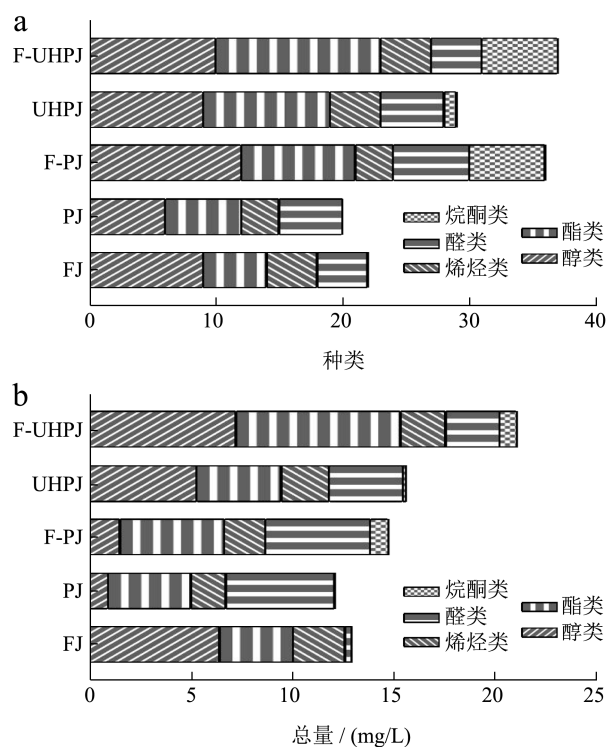


图3 超高压处理和巴氏杀菌对梨汁中风味物质种类和总量的影响

Fig.3 Effects of ultra-high pressure process and pasteurization on the types and total amount of flavor substances in pear juice

注: FJ 为鲜榨梨汁, PJ 为未发酵巴氏杀菌前处理梨汁, UHPJ 为未发酵超高压前处理梨汁, F-PJ 为发酵的巴氏杀菌前处理梨汁, F-UHPJ 为发酵的超高压前处理梨汁。

表2 超高压和巴氏杀菌前处理对梨汁中挥发性风味物质种类和含量的影响

Table 2 Effects of ultra-high pressure and pasteurization pretreatment on the types and contents of volatile flavor compounds in pear

		juice				
风味物质		FJ	PJ	F-PJ	UHPJ	F-UHPJ
醇类	芳樟醇	0.28	0.03	0.08	0.32	0.68
	新戊二醇	1.13	0.11	0.13	0.98	1.53
	1-己醇	1.26	-	-	-	0.97
	1-辛醇	0.29	-	-	-	0.24
	正戊醇	0.42	-	-	-	0.58
	5-甲基-1,5-己二烯醇	-	-	0.02	-	-
	2-环己烯-1-醇	2.12	0.49	0.53	1.22	1.76
	己烷-2-醇	-	-	-	-	0.18
	环己醇	0.25	-	-	0.27	0.34
	L-薄荷醇	0.47	-	-	0.59	0.72
	4,4-二甲基环己烯醇	-	0.02	0.02	-	-
	2-甲基-6-庚烯-1-醇	-	-	0.04	-	-
	1-甲基环己醇	-	-	0.10	-	-
	(9,12)-十四碳烯-1-醇	-	-	0	0.84	-
	α -松油醇	-	0.06	0.07	-	-
	2-甲基-1-丁醇	-	0.23	0.32	-	-
	顺-3-壬烯-1-醇	0.22	-	-	-	-
	9,12-十八碳二烯醇	-	-	-	0.67	-
	异胡薄荷醇	-	-	-	0.24	-
	黑檀醇	-	-	-	0.18	0.26
丁香油酚	-	-	0.20	-	-	
3-甲基-6-(甲硫基)-己二烯-3-醇	-	-	0.03	-	-	
酯类	2-甲基丁酸内酯	-	-	-	0.06	0.10
	丁酸乙酯	1.65	1.71	1.63	1.51	1.65
	2-甲基丁基乙酸酯	0.24	0.25	0.45	0.35	0.4
	2-甲基-2-乙基丁酸乙酯	-	-	-	0.24	0.25
	3-甲基戊基甲酸酯	-	-	1.37	-	1.34
	甲酸庚酯	-	-	-	0.07	0.08
	己酸乙酯	-	0.28	0.62	0.15	0.52
	苯乙酸乙酯	-	-	0.09	0.02	0.15
醛类	己醛	0.04	2.91	0.94	0.17	-
	2-己烯醛	0.12	0.78	0.16	1.27	-
	反式-2-己烯醛	0.13	1.05	0.34	0.61	-
	庚二烯醛	0.04	0.58	-	0.33	-
	辛烯醛	-	-	-	-	0.13
	苯乙醛	-	-	1.34	-	1.15
	壬醛	-	0.08	-	1.27	-
	2,2-二甲基-4-辛烯醛	-	-	1.41	-	-
	反式-2,4-癸二烯醛	-	-	0.98	-	1.05
	13-十四碳醛	-	-	-	-	0.32

续表 2

风味物质		FJ	PJ	F-PJ	UHPJ	F-UHPJ
烯烃类	茴香烯	0.14	-	-	0.13	0.10
	D-柠檬烯	1.01	0.84	0.99	0.95	0.91
	β -月桂烯	0.18	0.05	0.05	0.17	0.12
	α -法尼烯	1.22	0.83	0.98	1.13	1.10
烷酮类	1-庚氧庚烷	-	-	0.05	-	0.04
	甲基庚烯酮	-	-	-	0.17	-
	2-壬酮	-	-	0.28	-	0.30
	2-十一烷酮	-	-	0.15	-	0.10
	1-氟十二烷	-	-	-	-	-
	甲基壬基甲酮	-	-	0.17	-	0.15
	2-十三烷酮	-	-	0.08	-	0.10
	1,2-15,16-二环氧十六烷	-	-	0.17	-	0.16

注: FJ 为鲜榨梨汁, PJ 为未发酵巴氏杀菌前处理梨汁, UHPJ 为未发酵超高压前处理梨汁, F-PJ 为发酵的巴氏杀菌前处理梨汁, F-UHPJ 为发酵的超高压前处理梨汁。

醇被认为是果汁芳香成分中的主要化合物, 是葡萄糖降解和氨基酸分解代谢的常见终端产物^[36]。在 5 组样品中共检出 22 种醇, 其中 17 种为不饱和醇, 其风味比饱和醇更强烈。 α -松油醇、2-甲基-1-丁醇和 4,4-二甲基环己烯醇仅在巴氏杀菌前处理梨汁中检出, 而 9,12-十八碳二烯醇、异胡薄荷醇、黑檀醇和 9,12-十四碳烯-1-醇仅在超高压前处理梨汁中检出, 表明这些成分特定于加工的梨汁, 其主要由萜烯和其它前体化合物经一系列水合、脱水反应而形成^[25]。经前处理杀菌后, 鲜榨梨汁中的醇类物质总量均降低, 但热处理影响更显著, 这与其它果汁加工时的情况相同^[37-38]。梨汁中醇类化合物减少是因为热处理和超高压处理加速了醇类物质的代谢转化, 首先, 醇和有机酸进行酯化反应, 导致其含量减少, 对应酯类化合物含量增加; 其次, 醇还可转化成其它物质, 例如 D-柠檬烯和芳樟醇在受热条件下发生氧化反应, 生成具有松节油香气的 α -松油醇, 该物质的含量在果汁中升高, 则标志着果汁开始陈化、新鲜度降低^[39]。经植物乳杆菌发酵后, 超高压和巴氏杀菌前处理梨汁中醇的种类和含量均增加, 前者增加的多为不饱和醇, 而后者增加的多为饱和醇。这说明超高压前处理梨汁能促进植物乳杆菌生成饱和醇, 降解不饱和醇。

挥发性酯类由短链游离酸与醇酯化形成, 对梨汁的香气有重要贡献, 已有研究表明酯类含量增加可进一步提升发酵果汁的香味^[40]。经超高压、巴氏杀菌前处理后, 鲜榨梨汁中酯类物质的总量从初始的 3.64 mg/L 分别增至 4.16 mg/L 和 4.09 mg/L, 对应的种类数从 5 分别增至 10 和 6。鲜榨梨汁中原有的酯含量经超高压前处理后变化不明显, 新增的酯类中 2-甲基-2-

乙基丁酸乙酯的含量最高, 达到 0.24 mg/L。超高压前处理后的梨汁中酯类含量增加, 可能是由于超高压促进了果汁中相关酶的活化。Pei 等^[41]发现, 与未经处理的哈密瓜汁相比, 400 MPa 静水压处理后, 新增了 3 种酯, 而在静水压为 500 MPa 时继续新增 4 种酯。经植物乳杆菌发酵后, 超高压和巴氏杀菌前处理梨汁中均检出新的酯类化合物, 但原有的物质含量变化较小, 酯总量的增加主要来自新生成的 3-甲基戊基甲酸酯, 该物质与丁酸乙酯在发酵梨汁中的含量显著高于其它酯 ($p < 0.01$)。

醛类物质不稳定, 在微生物的作用下易被降解, 高浓度的醛是引起果汁不良风味的主要物质, 其与消费者的可接受度之间呈明显的负相关关系^[42]。超高压处理和巴氏杀菌前处理均使鲜榨梨汁中的醛含量显著增加, 从初始的 0.33 mg/L 分别增至 2.65 mg/L 和 5.39 mg/L, 热处理后醛含量的增加与感官评价中梨汁的蒸煮味增强相对应。经植物乳杆菌发酵后, 巴氏杀菌梨汁和超高压处理梨汁中的醛含量均下降, 后者的变化更显著。发酵 24 h 后, 巴氏杀菌梨汁中原有的 5 种醛仅有 2 种未检出, 新增 3 种醛; 而超高压处理梨汁中原有的 5 种醛均未被检出, 新增 4 种醛, 这说明超高压处理比热处理更能促进植物乳杆菌代谢梨汁中原有的醛, 生成新的醛。

在 5 组样品中共检出 4 种烯烃: D-柠檬烯、 β -月桂烯、 α -法尼烯和茴香烯, 前处理杀菌后, 鲜榨梨汁中 4 种烯烃的含量均降低, 其中茴香烯在巴氏杀菌梨汁中未检出。萜烯类物质均含有不饱和键, 其稳定性受温度的影响大, 易发生氧化还原反应。如梨汁中的 D-柠檬烯经热处理易被氧化为氢过氧化物, 该氢过氧

化物经过进一步反应形成了其他风味化合物,如香芹酮、 α -松油醇和松油烯-4-醇等^[43]。相比之下,超高压处理对烯烃类物质的影响则小很多,对应梨汁中烯烃总量仅降低了约10%。另外,果汁中烯烃含量的变化还与高静水压的大小相关,Zhang等^[37]发现当高静水压力为400 MPa时,3-萜烯、 β -月桂烯和异松油烯的浓度不断升高,但压力超过400 MPa时,这3种烯烃的浓度逐渐降低。经植物乳杆菌发酵后,巴氏杀菌梨汁和超高压处理梨汁中烯烃含量的变化情况相反,前者略升高,后者略降低。

烷酮类物质往往提供果味、草本和香蕉香气^[44]。鲜榨梨汁中不含烷酮,经超高压前处理后,检出一种新的烷酮类物质-甲基庚烯酮,含量为0.17 mg/L,而在巴氏杀菌梨汁中未检出该物质,这种差异可能是梨汁中的蛋白质在高压条件下的聚合、折叠所导致的^[45]。由于甲基庚烯酮具有很强化学的反应能力,在植物乳杆菌的作用下被降解,未在发酵的超高压前处理梨汁中检出。植物乳杆菌发酵后,巴氏杀菌梨汁和超高压处理梨汁中烷酮的种类数分别增加了6和5,两者的烷酮种类完全相同,含量略有差异。发酵梨汁中2-壬酮的含量显著高于其它5种烷酮,该化合物有花、水果、油和草药的香气,Chen等^[7]在鼠李糖乳杆菌和木葡糖醋酸杆菌共发酵的雪莲果、荔枝和龙眼的混合果汁中也新检出高浓度的2-壬酮。

2.3 超高压和巴氏杀菌前处理对植物乳杆菌发酵梨汁风味感官评价的影响

由图4可知,未发酵超高压处理梨汁和鲜榨梨汁的每个感官指标的得分很接近,说明超高压前处理较好地保留了梨汁的原有风味,这与Laboissiere等^[46]用超高压处理百香果汁的结论一致,鲜果汁与超高压果汁的感官特性高度相似。未发酵巴氏杀菌梨汁与鲜榨梨汁的风味差异明显,结合图3,由于热处理使酯类化合物和烷酮类化合物增加,梨汁的果香、花香、刺激性及发酵的气味变浓。经植物乳杆菌发酵24 h后,巴氏杀菌梨汁和超高压处理梨汁的酒味和涩味几乎没有变化,而酸味均明显增强,甜味明显减弱,最终二者的酸甜味感差异不大;巴氏杀菌梨汁和超高压处理梨汁的发酵气味均增强,但前者的变化幅度明显高于后者;超高压处理的果香和花香比巴氏杀菌梨汁更浓,这得益于超高压保留了梨汁中的茴香烯。综上,发酵后的超高压前处理梨汁的风味感官特性优于巴氏杀菌前处理梨汁,超高压处理可作为发酵梨汁较好的前处理杀菌方式。

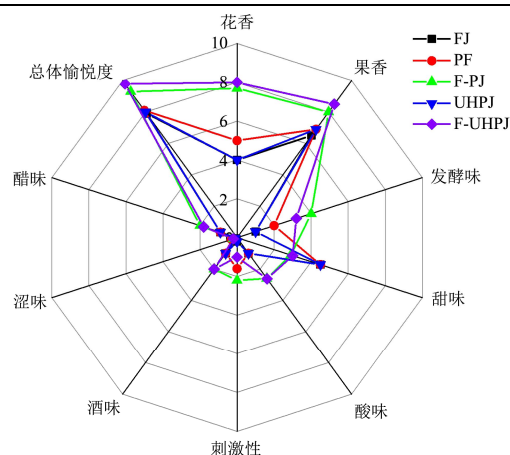


图4 超高压和巴氏杀菌前处理对梨汁(发酵和未发酵)风味感官评价的影响

Fig.4 Effect of ultra-high pressure and pasteurization pretreatment on sensory evaluation of pear juice(fermented and unfermented) flavor

注: FJ 为鲜榨梨汁; PJ 为未发酵巴氏杀菌前处理梨汁; UHPJ 为未发酵超高压前处理梨汁; F-PJ 为发酵的巴氏杀菌前处理梨汁; F-UHPJ 为发酵的超高压前处理梨汁。

3 结论

3.1 超高压前处理发酵梨汁的风味品质优于巴氏杀菌前处理发酵梨汁。超高压和巴氏杀菌前处理的梨汁活菌数、pH值及总酸总糖含量的变化情况差异很小,每个指标对应的两条曲线基本重合。在鲜榨梨汁中共检出22种挥发性风味物质,总含量为12.96 mg/L,经超高压前处理后,挥发性风味物质增至29种,总含量增至15.66 mg/L ($p < 0.05$);经巴氏杀菌前处理后,挥发性风味物质减至20种,总含量减至12.14 mg/L。

3.2 热处理使梨汁中醛含量显著增加 ($p < 0.01$),是产生蒸煮味、刺激性气味的主要原因,同时醇的减少和酯的增加赋予了梨汁更浓郁的花果香和发酵气息;相比于巴氏杀菌,超高压前处理对梨汁中挥发性醇和醛的影响显著减弱,较大程度地保留了鲜榨梨汁原有的风味。经植物乳杆菌发酵后,超高压和巴氏杀菌前处理梨汁中醇类、酯类化合物含量均显著增加 ($p < 0.01$),但这两类物质在前者中比在后者中的含量高44.33%。另外,超高压前处理发酵梨汁中保留了茴香烯,烯烃的留存率达93.28%。这使得超高压前处理发酵梨汁的花果香更浓,更具新鲜气息。综上,超高压前处理能显著改变植物乳杆菌发酵梨汁中挥发性风味物质的分布,提升发酵梨汁的风味品质,可以替代传统热杀菌,应用于发酵饮料的研制。

参考文献

- [1] Prado F C, Parada J L, Pandey A, et al. Trends in non-dairy probiotic beverages [J]. Food Research International, 2008, 41(2): 111-123
- [2] Kumar B V, Vijayendra S V N, Reddy O V S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review [J]. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 2015, 52(10): 6112-6124
- [3] Durazzo A, Lucarini M, Novellino E, et al. Fruit-based juices: focus on antioxidant properties-Study approach and update [J]. Phytotherapy Research, 2019, 33(7): 1754-1769
- [4] Patel A R. Probiotic fruit and vegetable juices-recent advances and future perspective [J]. International Food Research Journal, 2017, 24(5): 1850-1857
- [5] Widyastuti Y, Rohmatussolihat R, Febrisiantosa A. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation [J]. Food and Nutrition Sciences, 2014, 5(4): 435-442
- [6] Cai W C, Tang F X, Zhao X X, et al. Different lactic acid bacteria strains affecting the flavor profile of fermented jujube juice [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(9): e14095
- [7] Chen H L, Xiao G S, Xu Y J, et al. High hydrostatic pressure and co-fermentation by *Lactobacillus rhamnosus* and *Gluconacetobacter xylinus* improve flavor of yacon-litchi-longan juice [J]. Foods, 2019, 8(8): 308-322
- [8] Di Cagno R, Filannino P, Gobbetti M. Lactic acid fermentation drives the optimal volatile flavor-aroma profile of pomegranate juice [J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 248: 56-62
- [9] Rodriguez H, Curiel J A, Landete J M, et al. Food phenolics and lactic acid bacteria [J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 132(2-3): 79-90
- [10] Yang Y J, Xia Y J, Wang G Q, et al. Effect of mixed yeast starter on volatile flavor compounds in Chinese rice wine during different brewing stages [J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 78: 373-381
- [11] Li X, Farid M. A review on recent development in non-conventional food sterilization technologies [J]. Journal of Food Engineering, 2016, 182: 33-45
- [12] Zhao L, Wang Y, Hu X, et al. Korla pear juice treated by ultrafiltration followed by high pressure processing or high temperature short time [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 65: 283-289
- [13] Gonzalez-Cebrino F, Garcia-Parra J, Ramirez R. Aroma profile of a red plum puree processed by high hydrostatic pressure and analysed by SPME-GC/MS [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 33: 108-114
- [14] Gomez-Maqueo A, Ortega-Hernandez E, Serrano-Sandoval S N, et al. Addressing key features involved in bioactive extractability of vigor prickly pears submitted to high hydrostatic pressurization [J]. Journal of Food Process Engineering, 2020, 43(1): 11
- [15] Cao X M, Cai C F, Wang Y L, et al. The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2018, 45: 169-178
- [16] Zierer B, Schieberle P, Granvogl M. Aroma-active compounds in bartlett pears and their changes during the manufacturing process of bartlett pear brandy [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(50): 9515-9522
- [17] Park E Y, Luh B S. Polyphenol oxidase of kiwifruit [J]. Journal of Food Science, 1985, 50(3): 678-684
- [18] Zierler B, Siegmund B, Pfannhauser W. Determination of off-flavour compounds in apple juice caused by microorganisms using headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 520(1-2): 3-11
- [19] 郭莉,吴厚玖,王华,等.贮藏过程中夏橙汁香气成分变化[J].食品科学,2011,32(22):293-297
- GUO Li, WU Houjiu, WANG Hua, et al. Analysis of aromatic components in valencia orange juice during storage [J]. Food Science, 2011, 32(22): 293-297
- [20] Liu C, Ji W, Jiang H, et al. Comparison of biochemical composition and non-volatile taste active compounds in raw, high hydrostatic pressure-treated and steamed oysters *Crassostrea hongkongensis* [J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128632-128639
- [21] Torres B, Tiwari B K, Patras A, et al. Stability of anthocyanins and ascorbic acid of high pressure processed blood orange juice during storage [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(2): 93-97
- [22] Kaşıkçı M, Bağdatlıoğlu N. High hydrostatic pressure treatment of fruit, fruit products and fruit juices: a review on phenolic compounds [J]. Journal of Food & Health Science, 2016, 2(1): 27-39
- [23] Stippel V M, Delgado A, Becker T M. Ionization equilibria at high pressure [J]. European Food Research and Technology, 2005, 221(1-2): 151-156
- [24] 李俊芳.桑椹发酵饮料发酵工艺及超高压处理对其品质影响的研究[D].镇江:江苏大学,2016
- LI Junfang. Studies on fermentation technology of fermented

- mulberry beverage and effects of high hydrostatic pressure treatment on its quality [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2016
- [25] Perez-Cacho P R, Rouseff R. Processing and storage effects on orange juice aroma: a review [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(21): 9785-9796
- [26] Wang Y B, Li W, Ma Y, et al. Effect of thermal treatments on quality and aroma of watermelon juice [J]. Journal of Food Quality, 2018, 2018: 1-7
- [27] Perestrelo R, Silva C, Silva P, et al. Differentiation of fresh and processed fruit juices using volatile composition [J]. Molecules, 2019, 24(5): 974-993
- [28] Chen J L, Yan S J, Feng Z S, et al. Changes in the volatile compounds and chemical and physical properties of Yali pear (*Pyrus bertschneideri* Rehd) during storage [J]. Food Chemistry, 2006, 97(2): 248-255
- [29] Andreu-Sevilla A J, Carbonell-Barrachina A A, Lopez-Nicolas J M, et al. Sensory quality, volatile compounds and color of pear juice treated with beta-cyclodextrin [J]. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2011, 70(3-4): 453-460
- [30] Wang L B, Luo W Q, Sun X X, et al. Changes in flavor-relevant compounds during vine ripening of tomato fruit and their relationship with ethylene production [J]. Horticulture Environment and Biotechnology, 2018, 59(6): 787-804
- [31] Wang L, Deng W L, Wang P, et al. Degradations of aroma characteristics and changes of aroma related compounds, PPO activity, and antioxidant capacity in sugarcane juice during thermal process [J]. Journal of Food Science, 2020, 85(4): 1140-1150
- [32] Yang X, Yang F, Liu Y, et al. Identification of key off-flavor compounds in thermally treated watermelon juice via gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry, aroma recombination, and omission experiments [J]. Foods, 2020, 9(2): 227-244
- [33] An K, Liu H, Fu M, et al. Identification of the cooked off-flavor in heat-sterilized lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) juice by means of molecular sensory science [J]. Food Chemistry, 2019, 301: 125282-125290
- [34] Zhao Y, Wang P, Zhan P, et al. Aroma characteristics of cloudy kiwifruit juices treated with high hydrostatic pressure and representative thermal processes [J]. Food Research International, 2021, 139: 109841-109840
- [35] Wang F, Du B L, Cui Z W, et al. Effects of high hydrostatic pressure and thermal processing on bioactive compounds, antioxidant activity, and volatile profile of mulberry juice [J]. Food Science and Technology International, 2017, 23(2): 119-127
- [36] Rickard C. Response to "Health risks of genetically modified foods" from Dona and Arvanitoyannis (2009) in critical reviews in Food Science Nutrition (49:164-175) [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2010, 50(1): 85-91
- [37] Zhang W T, Dong P, Lao F, et al. Characterization of the major aroma-active compounds in Keitt mango juice: comparison among fresh, pasteurization and high hydrostatic pressure processing juices [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 215-222
- [38] Cheng C X, Jia M, Gui Y, et al. Comparison of the effects of novel processing technologies and conventional thermal pasteurisation on the nutritional quality and aroma of mandarin (*Citrus unshiu*) juice [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 64: 102425-102435
- [39] 林雯雯. 超声处理对鲜榨橙汁香气物质的影响及其机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015
- LIN Wenwen. Effect of ultrasound on aroma compounds of freshly-squeezed orange juice and its mechanism [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015
- [40] Takase H, Sasaki K, Kiyomichi D, et al. Impact of *Lactobacillus plantarum* on thiol precursor biotransformation leading to production of 3-sulfanylhexan-1-ol [J]. Food Chemistry, 2018, 259: 99-104
- [41] Pei L Y, Li J, Xu Z L, et al. Effect of high hydrostatic pressure on aroma components, amino acids, and fatty acids of Hami melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus naud*) juice [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(3): 1394-1405
- [42] Melgarejo P, Calin-Sanchez A, Vazquez-Araujo L, et al. Volatile composition of pomegranates from 9 Spanish cultivars using headspace solid phase microextraction [J]. Journal of Food Science, 2011, 76(1): 114-120
- [43] Bi S, Sun S, Lao F, et al. Gas chromatography-mass spectrometry combined with multivariate data analysis as a tool for differentiating between processed orange juice samples on the basis of their volatile markers [J]. Food Chemistry, 2020, 311(May1): 125913.1-125913.15
- [44] Bryant R J, Mcclung A M. Volatile profiles of aromatic and non-aromatic rice cultivars using SPME/GC-MS [J]. Food Chemistry, 2011, 124(2): 501-513