

热休克处理应用于直投式发酵剂对酸奶品质改善作用的研究

叶聪艳^{1,2}, 单科开^{1,2}, 田启远^{1,2}, 王晓萌^{1,2}, 曾小群^{1,2*}, 潘道东^{1,2}, 廉立伟³

(1.浙江省动物蛋白食品精深加工技术重点实验室, 浙江 宁波 315832; 2.宁波大学 食品与药学院, 浙江 宁波 315832; 3.宁波市牛奶集团有限公司, 浙江 宁波 315033)

摘要: 为研究热休克处理应用于直投式发酵剂对酸奶品质的改善作用, 通过保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌制备直投式发酵剂, 比较3种菌的热休克处理实验组与未热休克处理对照组在冷冻干燥后的存活率及酸奶发酵性能。结果显示: 热休克处理组发酵剂存活率极显著增加, 酸奶 pH 下降速度显著加快($P<0.01$), 双乙酰、乙醛含量均显著升高($P<0.05$), 蛋白质、活菌数含量均显著提升($P<0.01$), 且使用经热休克处理制备发酵剂生产的酸奶在感官评价上优于未热休克处理组。结果表明, 在冷冻干燥前进行热休克处理可以提高直投式发酵剂中乳酸菌的存活率、产酸产香等发酵性能, 改善酸奶的风味和品质, 为提升酸奶发酵剂的品质提供了一种新的方法。

关键词: 热休克处理; 冷冻干燥; 酸奶发酵; 酸奶品质; 发酵性能

中图分类号: TS252.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2020) 02-0021-07

酸奶是以牛奶为原料, 加入保加利亚乳杆菌与嗜热链球菌等微生物, 经过发酵后得到的营养丰富的乳制品^[1]。酸奶发酵过程中, 会产生多种维生素、脂肪酸和活性肽等生物活性成分, 具有促进矿物质吸收、降三高、缓解乳糖不耐症、调节肠道菌群平衡等保健作用^[2]。乳酸菌在乳中生长繁殖, 除产生大量乳酸而致乳凝固外, 还会产生许多风味物质, 如双乙酰、乙醛、丁二酮、乙酸乙酯等。双乙酰是酸奶重要的产香物质, 能赋予酸奶良好的奶油香味, 即使极微量也会使酸奶风味得到很大的提高^[3]。乙醛是酸奶中最具有代表性的芳香物质, 其含量对酸奶风味具有重要影响^[4]。这些风味物质的含量和种类影响了产品的适口性^[5]。

酸奶发酵剂的好坏对酸奶品质有重要影响^[6], 根据发酵剂物理形态, 可将其分为液体发酵剂、冷冻发酵剂和干燥发酵剂^[7]。其中, 干燥发酵剂中的直投式发酵剂因运输及储藏成本低、活菌数高(可达到 $10^{12}\sim 10^{19}$ CFU $\cdot$ g⁻¹)、接种操作简单方便、保质期长并且可以有效降低菌种污染与退化等显著优点^[8], 在生产中被广泛使用。然而在制作直投式发

酵剂过程中, 经常会出现菌体死亡, 致使后续发酵过程中发酵力不足, 影响最终产品质量等问题。大量研究表明, 热休克可以引起微生物的应激反应, 提高微生物抵御恶劣环境的能力^[9]。汪晓筠等^[10]将大鼠左冠状动脉经热休克预处理后, 动态监测血流动力学指标及各项生化指标, 发现热休克预处理对大鼠在体 MIRI 具有保护作用。Wu 等^[11]在同源 DNA 探针筛选草鱼热休克蛋白 *Hsp90* 基因的实验中, 发现热休克处理后的 *CiHsp90* 在组织中表达出更高水平。Chang 等^[12]将大肠杆菌在冷冻干燥处理前, 进行 42~47 °C 热休克处理, 发现菌株的耐受性显著增强。本实验的前期研究表明, 嗜酸乳杆菌经 45 °C 热休克处理 30 min, 添加冻干保护剂进行冷冻干燥, 乳酸菌存活率(92.8%)比未热休克处理的对照组(71.98%)提高了 28.9%^[13], 但热休克预处理对直投式酸奶发酵剂的发酵性能及生产的酸奶品质的影响尚未可知。

本实验将热休克预处理后冷冻干燥的直投式发酵剂应用于酸奶发酵, 研究热休克处理对发酵剂活菌数、发酵酸奶 pH、感官评分、活菌数、双

收稿日期: 2019-06-05.

宁波大学学报(理工版) 网址: <http://journal.g.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(41406165, 41641052); 浙江省公益技术研究计划(LGN19C200011); 浙江省教育厅项目(Y201941438)。

第一作者: 叶聪艳(1995—), 女, 浙江丽水人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 食品微生物。E-mail: 870749825@163.com

*通信作者: 曾小群(1982—), 女, 四川仁寿人, 博士/副教授, 主要研究方向: 发酵食品加工。E-mail: zxqun3447@126.com

乙酰、乙醛、蛋白质含量及货架期的影响,揭示热休克处理对直投式发酵剂发酵性能和酸奶品质的改善作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)和嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*, ATCC4356)保存于宁波大学食品与药学学院畜产品加工实验室。

巴氏杀菌乳,内蒙古伊利实业集团股份有限公司;可溶性淀粉、 NaHSO_3 、碘、KI、 NaHCO_3 、三氯乙酸(TCA)、邻苯二胺、硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、浓盐酸、酪蛋白、酒石酸钾钠($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、NaOH 溶液、双乙酰分析纯,索莱宝生物科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

DKS-26 电热恒温水浴锅、HWS 智能型恒温恒湿培养箱,宁波江南仪器厂;LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;Infinite 200 酶标仪,瑞士 TECAN 公司;H2050R-2 台式高速冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;ALPHA 1-4 LD plus 冷冻干燥机,德国 Christ Goema 有限责任公司;凯达酸奶发酵冷藏柜,烟台凯达电器有限公司;pH 计,梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 直投式发酵剂的制备

(1)菌种活化与扩大培养。将保存于 -40°C 的保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌以质量分数1%的接种量加入MRS液体培养基中,保加利亚乳杆菌和嗜酸乳杆菌的培养液置于 37°C 恒温培养箱,嗜热链球菌培养液置于 43°C 恒温培养箱,均培养12 h。用接种环蘸取活化的菌种接入斜面培养基的试管中,斜面培养1~2 d,挑取生长好的斜面培养基放入冰箱保存。用接种环分别挑取斜面上菌种接入100 mL MRS 液体培养基中,分别在上述温度培养12 h后,将培养液以质量分数1%的接种量分别转移至200 mL MRS 培养液中培养24 h。

(2)菌种处理方法。将菌液分别倒入10 mL 离心管,按照是否热休克处理和有无冻干保护剂进行处理(表1)。

表1 各菌种分组及处理情况

处理 方式	发酵剂组别			是否热 休克处理	有无冻干 保护剂(10% 葡萄糖)
	保加利亚 乳杆菌	嗜热 链球菌	嗜酸 乳杆菌		
①	A1	B1	C1	+	+
②	A2	B2	C2	+	—
③	A3	B3	C3	—	+
④	A4	B4	C4	—	—

注:“+”表示有该项处理,“—”表示无该项处理。

表1中,处理方式①、②为热休克处理组,③、④为未进行热休克处理的对照组;A、B、C分别表示保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌、嗜酸乳杆菌。A1、B1、C1、A2、B2、C2 培养液放入恒温水浴锅中,置于 45°C 水浴热休克处理30 min。将各组全部培养液在 4°C , $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,除上清液,获得沉淀菌体,再用蒸馏水洗涤,再次离心,如此反复洗涤3次,收集菌体。将标有A2、B2、C2、A4、B4、C4的离心管中加入1 mL 0.9%的生理盐水,标有A1、B1、C1、A3、B3、C3的离心管中加入1 mL 10%的葡萄糖。

冷冻干燥。将各组菌体沉淀的离心管均用封口膜包好,在膜上戳几个小孔,放入 -80°C 冰箱中预冷冻12 h后,置于真空冷冻干燥机中进行冷冻干燥24 h(真空度9 Pa,冷凝温度 -49°C)。将用于酸奶发酵的菌粉称量,记录每组菌粉的质量,并将菌粉置于 -40°C 冰箱保藏。

(3)直投式发酵剂存活率计算。冷冻前的菌液分别逐级稀释后涂布平板,将保加利亚乳杆菌和嗜酸乳杆菌平板 37°C 培养,嗜热链球菌平板 43°C 培养,48 h后进行菌落平板计数。冻干后的菌粉用1 mL 0.9%的生理盐水复水,再进行第2次计数,

根据以下公式计算冻干后存活率:

$$\text{冻干存活率}(\%) = \frac{\text{冻干后单位体积样品活菌数}(\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1})}{\text{冻干前单位体积样品活菌数}(\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1})} \times 100\%.$$

1.3.2 酸奶发酵

发酵阶段。将巴氏杀菌乳吸取到4个200 mL玻璃瓶中,加入质量分数6%白砂糖混合^[14]。将表1相同处理方式的各组按2:3:1(质量比)的保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌进行混合^[15],得以下4种发酵剂的组合方式。A1、B1、C1为实验

组 1(热休克处理+10%葡萄糖), A3、B3、C3 为对照组 1(正常培养+10%葡萄糖), A2、B2、C2 为实验组 2(热休克处理+不加保护剂), A4、B4、C4 为对照组 2(正常培养+不加保护剂), 4 种组合的直投式发酵剂分别用于发酵酸奶。将各组合加入 1 mL 0.9%的生理盐水复水后, 在 43 °C 下发酵酸奶至凝乳。将发酵好的凝固酸奶保藏到 4 °C 冰箱中后熟 24 h 后, 对酸奶进行感官评价, 并测量酸奶中的 pH 值、活菌数、双乙酰、乙醛、蛋白质的含量及货架期的品质, 用以比较热休克处理应用于直投式发酵剂对酸奶品质的影响。

1.3.3 酸奶各种指标的评价

(1)感官评价. 取各酸奶样品 20 mL 分别装于一次性品尝杯中, 从样品外观、口感和滋味三方面进行评定, 各项指标满分为 10 分。由受过专业训练的 10 位品评员进行品评打分, 他们完全理解感官特性, 熟知酸奶的评价标准。酸奶的具体评分标准见表 2。

表 2 酸奶样品感官评价的指标和评分标准

感官特性	特性描述及评分标准/分			
	0~2	3~6	7~10	
外观	表观黏稠	搅拌不黏稠	搅拌粘稠度一般	搅拌感觉黏稠
	拉丝	无拉丝	拉丝不明显	拉丝明显
口感	光滑度	有颗粒感	有少许颗粒感	无颗粒感
	粘稠度	粘稠度很稀	粘稠度一般	很黏稠
滋味和	奶油感	没有奶油感	奶油感一般	奶油感丰富
气味	酸度	酸度过弱	酸度一般	酸度强烈

(2)pH 值测定. 从发酵开始, 每隔 2 h 取 2 mL 酸奶样品, 用 pH 计测定酸奶样品的 pH 值。

(3)活菌数测定. 采用平板计数法, 将酸奶样品逐级稀释后, 涂布平板, 37 °C 培养 48 h 后进行菌落计数。

(4)双乙酰含量的测定. 取 50 g 酸奶样品加入 100 mL 去离子水稀释混匀, 常温下 3 000 r·min⁻¹, 离心 10 min, 得酸奶上清液。采用邻苯二胺比色法进行双乙酰含量测定^[16]。精确配制质量浓度为 0、5、10、15、20、25、30、35、40 mg·L⁻¹ 的双乙酰溶液, 制作双乙酰标准曲线。测定每个样品吸光度, 每个组做 3 次, 取平均值, 根据标准曲线计算出每个样

品中双乙酰含量。

(5)乙醛含量测定. 取上述(4)酸奶上清液 10 mL, 采用碘滴定法测定乙醛含量^[17]。用量筒取 2 mL 现配的 1%NaHSO₃ 溶液倒入 250 mL 三角瓶中, 加入酸奶上清液 10 mL 摇匀, 室温下放置 1 h, 再加入 1%淀粉溶液 1 mL, 用现配的 0.1 mol·L⁻¹ 碘液滴定至终点(淡蓝紫色, 0.5 min 内不褪色)。然后加入 20 mL 1 mol·L⁻¹ 的 NaHCO₃ 溶液, 将溶液震荡 0.5 min(蓝色溶液褪去), 用碘液滴定至终点(淡蓝紫色), 记录消耗的碘标准溶液体积。同时用去离子水做空白对照实验。

按以下公式计算乙醛含量:

酸奶中乙醛的质量浓度(mg·L⁻¹)=

$$(V_2 - V_1) \times C \times 0.022 \times 106 / 10,$$

式中, V₁ 为空白组消耗的碘标准溶液体积, mL; V₂ 为样品所消耗的碘标准溶液体积, mL; C 为碘标准溶液的浓度, mol·L⁻¹; 0.022 为乙醛化学反应的基本单位, g; 10 为样品称样量, mL。

(6)蛋白质测定. 取上述(4)的酸奶上清液 3 mL, 根据双缩脲法测定蛋白质含量。同时配制质量百分数分别为 0、10%、20%、30%、40%、50% 的标准蛋白溶液, 绘制标准曲线。根据标准曲线和样品在 A540 nm 数值计算各组酸奶的蛋白质含量。

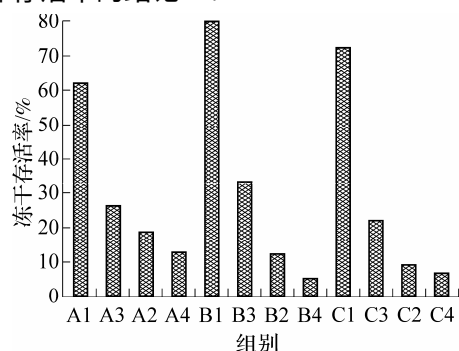
1.3.4 酸奶货架期

后熟结束, 将酸奶在 4 °C 冰箱放置 7 d, 检测酸奶的 pH 值, 并再次对酸奶进行感官评价。

2 结果与分析

2.1 热休克处理提高菌体存活率

各组菌种冻干存活率如图 1 所示。加入质量分数 10%葡萄糖作冻干保护剂, 能显著提高保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌的冻干存活率。且热休克处理+10%葡萄糖处理后, 菌存活率显著高于只加冻干保护剂, 也高于未经热休克处理的对照组。将各菌种按照是否添加保护剂, 对热休克处理前后的菌种冻干存活率分别进行对比, 结果显示, 保加利亚乳杆菌的冻干存活率分别提高了 144.13%、50.56%, 嗜热链球菌的冻干存活率分别提高了 146.87%、175.22%, 嗜酸乳杆菌的冻干存活率分别提高了 238.11%、33.33%, 进一步验证了本实验前期研究中发现的热休克处理能明显提高

菌体存活率的结论^[13]

(1)保加利亚乳杆菌

A1: 热休克+10%葡萄糖; A2: 热休克+无保护剂; A3: 未热休克+10%葡萄糖; A4: 未热休克+无冻干保护剂.

(2)嗜热链球菌

B1: 热休克+10%葡萄糖; B2: 热休克+无保护剂; B3: 未热休克+10%葡萄糖; B4: 未热休克+无冻干保护剂.

(3)嗜酸乳杆菌

C1: 热休克+10%葡萄糖; C2: 热休克+无保护剂; C3: 未热休克+10%葡萄糖; C4: 未热休克+无冻干保护剂.

图1 热休克处理和保护剂对3种菌种存活率的影响

2.2 酸奶的感官评价

酸奶的感官评价分别从外观、口感、滋味和气味方面进行(图2). 酸奶在经过热休克处理后, 酸度下降, 且加入10%葡萄糖作为冻干保护剂后, 酸奶变得更加光滑细腻. 在进行热休克处理的同时添加保护剂, 虽然酸奶的酸度并未降低, 但粘度却显著低于其他组. 这可能是由于酸奶在发酵过程中, 发酵菌会先以葡萄糖为代表的单糖为底物, 通过糖酵解途径产生大量的ATP, 为发酵菌的生长代谢提供能量. 酸奶经过后熟过程, 风味增强, 且乳糖在糖酵解过程中生成丙酮酸, 丙酮酸在丙酮酸脱羧酶作用下合成乙醛, 而乳酸菌利用乳糖、柠檬酸生成丙酮酸, 根据酶的作用最终生产双乙酰^[18]. 热休克处理可能使糖酵解作用增强, 产生的丙酮酸含量增多, 使乙醛和双乙酰含量增加, 最终导致酸奶风味更浓郁. 由此可见, 菌种热休克处理提高了酸奶的风味.

2.3 酸奶发酵过程pH的变化

pH是酸奶产品的重要理化指标, 直接影响酸奶的品质. 由图3可知, 在发酵开始2h内, 牛奶中的菌体处于延滞期, 生长较慢, 产酸含量少; 在发酵2h后, 酸奶中菌体处于对数期, 菌数快速增加, 产酸含量增多, pH降低快速. 在酸奶发酵2h以内, 热休克+冻干保护剂组酸奶的pH下降最快, 从6.83

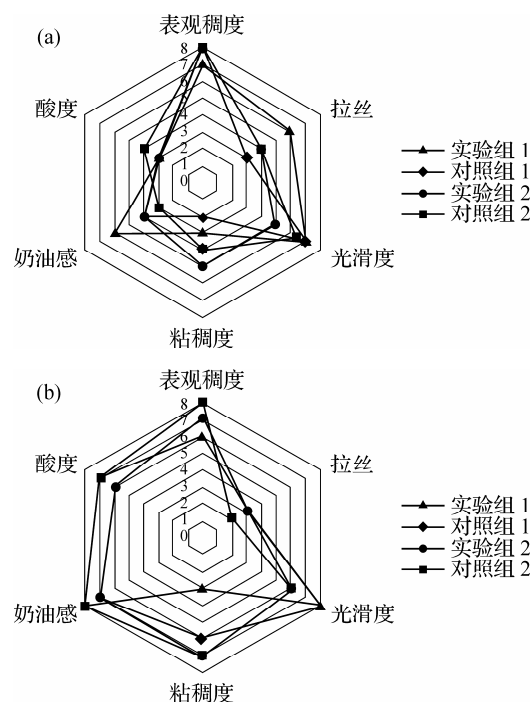
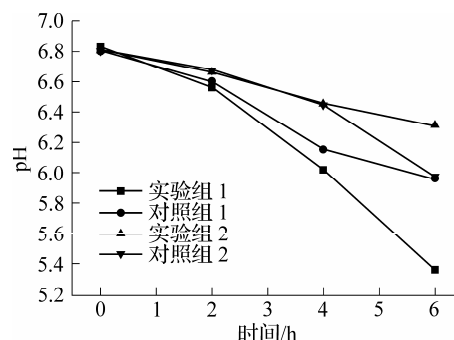


图2 酸奶发酵结束(a)和后熟结束(b)的感官评价直观图



实验组1: 热休克处理+10%葡萄糖; 对照组1: 正常培养+10%葡萄糖; 实验组2: 热休克处理+不加保护剂; 对照组2: 正常培养+不加保护剂.

图3 各组酸奶发酵6h过程中的pH值变化

降至5.86 ($P<0.01$). 热休克+无冻干保护剂组的pH值从6.81下降至6.67 ($P<0.01$). 在发酵6h过程中, 各组酸奶的pH值都呈现下降趋势.

酸奶后熟1周后, 实验组1、对照组1、实验组2、对照组2的pH分别为3.99、4.16、4.04、4.20. 实验组1酸奶发酵剂的后酸化能力最强, 表明热休克处理结合冻干保护剂能提高酸奶的后酸化能力, 有研究表明, 酸奶pH在4.00~4.25之间口感最佳^[19]. 以上结果表明, 热休克处理结合冻干保护剂能提高酸奶发酵剂的产酸特性. pH下降可能是因为糖酵解过程中, 酸奶会利用乳糖等二糖与多糖, 在酶

的作用下生成乳酸等酸性物质。由于酸奶的各组发酵剂处理方式的不同, 其产酸能力不同, 导致酸奶 pH 的变化差异。

2.4 酸奶发酵结束各项指标检测

2.4.1 酸奶中的活菌数

酸奶中乳酸菌数量会直接影响产品品质。作为对人体营养与健康有益的酸奶, 产品中必须含有并保持一定量的乳酸菌活菌数^[20]。不同发酵剂发酵的酸奶中乳酸菌活菌数在发酵 6 h 时, 差异极显著($P<0.01$)。酸奶活菌数如图 4(a)所示, 各组活菌数均符合 GB-19302-2010《发酵乳》中对乳酸菌活菌数高于 1×10^6 CFU·mL⁻¹ 的要求^[21]。实验组 1 菌数比对照组 1 多 9×10^8 CFU·mL⁻¹, 实验组 2 菌数比对照组 2 多 6.1×10^9 CFU·mL⁻¹, 说明热休克处理的酸奶发酵剂在发酵酸奶时能产生更多乳酸菌, 进一步表明热休克处理提高了酸奶的品质。

2.4.2 双乙酰和乙醛含量

品质优良酸奶必须具备良好的风味, 而双乙酰和乙醛是酸奶中重要的挥发性风味物质^[22]。酸奶中双乙酰和乙醛含量在合适区间才能产生良好风味, 当双乙酰含量与乙醛含量比值在 1 左右, 风味更佳^[23]。乙醛最适质量浓度应在 $10\sim 30$ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 即使酸奶中双乙酰含量很小, 也会大大改善酸奶风味^[24]。如图 4(b)所示, 各组酸奶中双乙酰质量浓度在 $15\sim 26$ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 如图 4(c)所示, 各组酸奶中乙醛质量浓度在 $22\sim 28$ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。通过比较发现, 实验组 1 双乙酰质量浓度比对照组 1 高 8.03 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P<0.05$), 实验组 2 比对照组 2 高 1.67 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P<0.05$); 实验组 1 乙醛质量浓度比对照组 1 高 7.33 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.05$), 实验组 2 比对照组 2 高 2.39 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.05$), 实验组 1 的双乙酰含量与乙醛含量的比值最接近 1。以上结果表明, 热休克处理结合保护剂能增加酸奶在发酵过程中产生的风味物质。

2.4.3 酸奶中蛋白质含量

酸奶中蛋白质含量如图 4(d)所示, 实验组 1 的蛋白质质量浓度最高, 比对照组 1 高 0.58 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P<0.01$), 实验组 2 比对照组 2 的蛋白质质量浓度高 0.38 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 表明热休克处理结合冻干保护剂能提高酸奶的蛋白质含量, 这可能与热休克处理后的蛋白质水解度增大, 以及发酵后菌体蛋白含

量增多有关。经热休克处理的品质优于其他组的酸奶, 可能与菌种和其数量有关。酸奶在发酵过程中, 乳酸菌会产生细菌蛋白使蛋白质提高, 热休克处理能使蛋白的菌种大量繁殖, 最终酸奶的蛋白质含量升高。

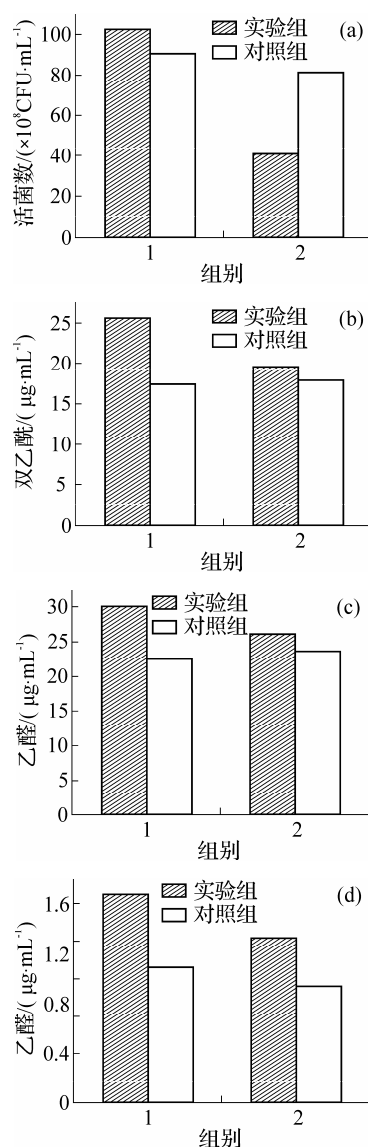


图4 热休克处理实验组与未热休克处理对照组发酵酸奶活菌数(a)、双乙酰(b)、乙醛(c)、蛋白质含量(d)的比较

3 结论与讨论

本实验在酸奶直投式发酵剂冷冻干燥前进行热休克处理, 提高了发酵剂乳酸菌的存活率、产酸产香等发酵性能, 改善了酸奶的风味和品质。热休克处理组菌种存活率高于对照组, 可能是因为热休克处理可以引起应激反应, 如形成玻璃化、组成

脂肪酸等,从而增强乳酸菌的抗冻胁迫^[25-26]. Budin- Verneuil 等^[27]研究发现,乳酸乳球菌 MG1363 在酸耐受反应中,细胞内的丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶等糖酵解关键酶的含量会有所变化,热休克处理乳酸菌后,细胞内乳酸脱氢酶的活力得到一定保护,菌的存活率提高. 康欢^[28]在研究酸奶中风味物质与酶活及感官特性关系中发现,乳酸脱氢酶的活力增强会使酸奶风味物质更佳. 郭清泉等^[15]研究发现,酸奶后酸化的主要原因是保加利亚乳杆菌的细胞膜和细胞壁有保护乳糖酶活性的功能,该过程可用调整菌种比例加以控制. 嗜酸乳杆菌产生的乙醇脱氢酶可将乙醛转化成乙醇,因此由嗜酸乳杆菌生产的酸奶不会有典型的酸奶味,而本实验按一定比例混合 3 种发酵剂投入酸奶发酵中,保证了酸奶的风味. 热休克处理组酸奶黏度和光滑度高于对照组,可能是热休克预处理后,细菌酶对酪蛋白胶束机制作用有增强的结果^[29]. 添加冻干保护剂组的酸奶发酵剂冻干存活率高于未添加冻干保护剂组,是因为在菌体冻干前添加保护剂,菌体与保护基质形成了空间结构,为菌体提供了空间屏障,可避免因细胞膜的粘连、破裂而导致的细胞死亡^[30]. 目前对酸奶的研究主要集中在生产工艺、品质控制等方面,本实验为提升酸奶发酵剂的品质提供了一种新的方法. 后续采用不同预处理方法对直投式发酵剂发酵性能和酸奶品质的影响及其作用机制,正在进一步研究中.

参考文献:

- [1] 熊政委, 王文佳, 温瑞, 等. 响应面法优化菊糖酸奶的发酵工艺[J]. 食品科学, 2014, 35(13):156-160.
- [2] Al-Sheraji S H, Ismail A, Manap M Y, et al. Hypocholesterolaemic effect of yoghurt containing *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4 or *Bifidobacterium longum* BB536[J]. Food Chemistry, 2012, 135(2): 356-361.
- [3] 苏敦, 任发政, 刘松玲, 等. 菌株发酵特性研究及复合酸奶发酵剂的筛选[J]. 中国奶牛, 2017(9):50-57.
- [4] Wells A, Osborne J P. Impact of acetaldehyde- and pyruvic acid-bound sulphur dioxide on wine lactic acid bacteria[J]. Letters in Applied Microbiology, 2012, 54(3):187-194.
- [5] 张一爽, 曲晓军, 崔艳华. 发酵乳中乳酸菌产生的风味物质[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(10):28-32.
- [6] Körzendörfer A, Nöbel S, Jörg H. Particle formation induced by sonication during yogurt fermentation - Impact of exopolysaccharide-producing starter cultures on physical properties[J]. Food Research International, 2017, 97:170-177.
- [7] 刘继业. 直投式乳酸菌发酵剂制备技术的研究及其应用[D]. 泰安: 山东农业大学, 2017.
- [8] Elson C O, Alexander K L. Host-microbiota interactions in the intestine[J]. Digestive Diseases, 2015, 33(2):131-136.
- [9] Krzysztof G, Lesław B L. Application of phytohormones during seed hydropriming and heat shock treatment on sunflower (*Helianthus annuus* L.) chilling resistance and changes in soluble carbohydrates[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2017, 39(5):118-129.
- [10] 汪晓筠, 谢智, 王建新, 等. 热休克预处理对大鼠在体 MIRI 的保护效应[J]. 青海医学院学报, 2012, 33(1):31-34.
- [11] Wu C X, Zhao F Y, Zhang Y, et al. Overexpression of Hsp90 from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) increases thermal protection against heat stress[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2012, 33(1):42-47.
- [12] Chang C H, Chiang M L, Chou C C. The effect of temperature and length of heat shock treatment on the thermal tolerance and cell leakage of *Cronobacter sakazakii* BCRC13988[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 134(3):184-189.
- [13] 何亚婷, 曾小群, 彭刘杨, 等. 热休克预处理结合保护剂对嗜酸乳杆菌的冻干保护作用[J]. 中国食品学报, 2018, 18(7):122-128.
- [14] 陈岑, 韩艳丽, 曹正, 等. 不同直投式酸奶发酵剂发酵性能的比较研究[J]. 中国酿造, 2017, 36(1):126-130.
- [15] 郭清泉, 张兰威, 林淑英. 酸奶发酵机理及后酸化控制措施[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(2):80-83.
- [16] 刘宁宁, 郭红敏, 葛春美, 等. 酸奶中乙醛和双乙酰含量对其风味的影响[J]. 中国食品添加剂, 2012(S1):269-273.
- [17] 吕嘉彬, 李成涛. 酸奶中双乙酰含量的测定方法初探[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(1):21-22; 31.
- [18] Stefania A, Giulia D S, Maria C R, et al. *Streptococcus thermophilus* urease activity boosts *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* homolactic fermentation[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 247: 55-64.
- [19] 包熠莹. 储存温度和时间对酸奶 pH 值影响的研究[J]. 科技创新与应用, 2017(5):79.
- [20] Qu L, Ren J L, Huang L, et al. Antidiabetic effects of

- Lactobacillus casei* fermented yogurt through reshaping gut microbiota structure in type 2 diabetic rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(48): 12696-12705.
- [21] GB 19302-2010. 食品安全国家标准发酵乳[S].
- [22] 耿明雪, 刘小鸣, 赵建新, 等. 基于组学及感官评价的酸奶风味研究[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(7):250-257.
- [23] Bottazzi V, Dellaglio F. Acetaldehyde and diacetyl production by *Streptococcus thermophilus* and other lactic streptococci[J]. Journal of Dairy Research, 1967, 34(2):109-113.
- [24] Brina J B W. 发酵食品微生物学[M]. 2版. 徐岩, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 2001:213-245.
- [25] le Marrec C, Bon E, Lonvaud F A. Tolerance to high osmolality of the lactic acid bacterium *Oenococcus oeni* and identification of potential osmoprotectants[J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 115(3): 335-342.
- [26] Michaud M R, Benoit J B, Lopez M G, et al. Metabolomics reveals unique and shared metabolic changes in response to heat shock, freezing and desiccation in the Antarctic midge, *Belgica antarctica*[J]. Journal of Insect Physiology, 2008, 54(4):645-655.
- [27] Budin-Verneuil A, Pichereau V, Auffray Y, et al. Proteome phenotyping of acid stress-resistant mutants of *Lactococcus lactis* MG1363[J]. Proteomics, 2007, 7(12): 2038-2046.
- [28] 康欢. 酸奶中风味物质与酶活及感官特性关系的初探[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013.
- [29] Aryana K J, McGrew P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics[J]. LWT - Food Science and Technology, 2007, 40(10): 1808-1814.
- [30] 杨辉, 闫晓哲, 杜姣姣, 等. 响应面法优化乳酸菌冻干保护剂配方[J]. 陕西科技大学学报, 2018, 36(2):31-38.

Effect of heat shock treatment on the improvement of yogurt quality by directed vat starter

YE Congyan^{1,2}, SHAN Kekai^{1,2}, TIAN Qiyuan^{1,2}, WANG Xiaomeng^{1,2}, ZENG Xiaoqun^{1,2*},
PAN Daodong^{1,2}, LIAN Liwei³

(1.Key Laboratory of Animal Protein Food Processing Technology of Zhejiang Province, Ningbo 315832, China;

2.College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China;

3.Ningbo Milk Group Co., Ltd., Ningbo 315033, China)

Abstract: The current study was designed to investigate the effect of heat shock treatment on the quality of yogurt by direct vat starter (DVS, containing *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus acidophilus*). The survival rate of DVS after lyophilization and its fermentation performance for yogurt were examined. The results showed that the DVS survival rate, the contents of diacetyl and acetaldehyde, the concentration of protein, and the viable bacteria number ($P<0.01$) in yogurt in the heat shock treatment group increased significantly, compared with the control group. The pH of yogurt significantly decreased, compared with the control group. The sensory evaluation, the survival rate of lactic acid bacteria, the acid production, flavor and quality of yogurt prepared by DVS were all superior in the heat shock treatment group than those in the control group. This study provides a new method to prepare DVS for better quality of yogurt by heat shock treatment prior to lyophilization.

Key words: heat shock treatment; freeze-drying; yogurt fermentation; yogurt quality; fermentation ability

(责任编辑 章践立)