

奶豆腐发酵期间挥发性风味组分变化及其感官品质分析

宫俐莉¹, 王 蓓^{1,2,*}, 王绒雪¹, 王 娟², 曹雁平², 孙宝国²

(1.北京市食品风味化学重点实验室(北京工商大学), 北京 100048;

2.北京市食品添加剂工程技术研究中心(北京工商大学), 北京 100048)

摘 要: 采用固相微萃取结合气相色谱-质谱联用法对实验室自制奶豆腐发酵期间挥发性风味物质进行分析, 并对成品奶豆腐与牧民自制奶豆腐的感官品质进行比较。结果表明: 发酵期间共检出66种挥发性风味化合物, 其中发酵初期(2~4 h)检测到45种, 以脂肪酸类物质为主; 发酵中期(4~8 h)检测到27种, 以醇类、酮类物质为主; 发酵后期(8 h~成品)检测到44种, 以酮类、芳香族类物质为主。感官评价结果表明实验室自制奶豆腐较牧民自制奶豆腐口感更细腻, 奶香味更浓郁; pH 4.6含氮量测定结果也进一步验证了该结论。

关键词: 实验室自制奶豆腐; 挥发性风味组分; 固相微萃取; 气相色谱-质谱联用法; 感官评价

Changes in Volatile Flavor Compounds during the Fermentation of Laboratory-Made Hurood and Its Sensory Evaluation

GONG Lili¹, WANG Bei^{1,2,*}, WANG Rongxue¹, WANG Juan², CAO Yanping², SUN Baoguo²

(1. Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Beijing Engineering and Technology Research Center of Food Additives, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) were used to analyze the volatile flavor compounds of laboratory-made hurood during different fermentation stages. Sensory evaluation was conducted on huroods made in our laboratory and by herdsman. A total of 66 volatile flavor compounds were identified during different fermentation periods, of which 45 were detected during the initial period (2–4 h) with the dominance of fatty acids, 27 were detected during the middle period (4–8 h) with alcohols and ketones being the predominant ones, and 44 were detected during the late period (from 8 h to the end), the predominant being ketones and benzenes. Sensory evaluation demonstrated that compared with that made by herdsman, the laboratory-made hurood tasted more delicate, and was richer in milk flavor. The results of pH 4.6 soluble nitrogen quantification also confirmed this conclusion.

Key words: laboratory-made hurood; volatile flavor compounds; SPME; GC-MS; sensory evaluation

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201724013

中图分类号: TS252.53

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2017)24-0081-06

引文格式:

宫俐莉, 王蓓, 王绒雪, 等. 奶豆腐发酵期间挥发性风味组分变化及其感官品质分析[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 81-86.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201724013. <http://www.spkx.net.cn>

GONG Lili, WANG Bei, WANG Rongxue, et al. Changes in volatile flavor compounds during the fermentation of laboratory-made hurood and its sensory evaluation[J]. Food Science, 2017, 38(24): 81-86. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201724013. <http://www.spkx.net.cn>

近年来, 国人的饮食结构受国外影响不断变化, 其中乳制品逐渐成为消费热点。除常规液态乳、酸乳的消费逐渐增加外, 具有较高营养价值的乳制品如干酪和黄油制品的消费也呈上升趋势^[1]。而在我国众多种类的传统

乳制品中, 内蒙古奶豆腐凭借其历史悠久、风味独特的特点, 在我国传统乳制品加工历史上占有重要地位。

奶酪的风味成分是其产品质量的重要体现。我国酸凝奶酪与西方传统奶酪相比, 由于未经长时间后熟

收稿日期: 2016-11-04

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31201392)

作者简介: 宫俐莉(1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品风味化学。E-mail: btbu_gll@126.com

*通信作者: 王蓓(1981—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为乳制品风味。E-mail: wangbei@th.btbu.edu.cn

过程, 强烈风味物质产生的较少, 风味相对柔和, 符合国人对奶酪的消费习惯, 且其制作成本相对较低, 因而非常适合我国奶酪市场的发展需要^[2]。目前, 国外对于不同种类奶酪加工制备过程中挥发性风味物质已开展较多研究, Francisco等^[3]应用固相微萃取(solid phase micro extraction, SPME)结合气相色谱-质谱联用技术(gas chromatograph-mass spectrometer, GC-MS)动态监测了西班牙软质奶酪发酵期间4个阶段(发酵1、30、60、90 d)的挥发性物质; Michael等^[4]应用动态顶空结合GC-MS、香气稀释分析与嗅闻技术分析瑞士格鲁耶尔奶酪的重要风味及异味组分; Mara等^[5]应用GC-MS分析技术研究了米纳斯奶酪成熟期间的风味物质变化。而国内有关奶酪的研究起步较晚, 近年来对于我国传统奶酪的研究主要集中在品质控制^[6]、生产工艺优化^[7]以及微生物多样性分析^[8]等方面, 徐幸等^[9]采用偏最小二乘回归法分析乳扇在贮藏期间挥发性物质与感官特性的关系, 高鑫等^[10]研究了发酵剂用量对硬质蒙古干酪风味变化的影响, 肖芳等^[11]对内蒙古锡盟地区传统奶皮子和奶豆腐的加工工艺进行了调查, 以期进一步研制开发工业化生产民族传统乳制品。而对于传统奶酪的挥发性风味物质, 尤其是在发酵、成熟过程中风味物质动态变化的相关研究工作^[12-15], 仍需进一步开展。

本研究主要采用SPME-GC-MS对实验室自制奶豆腐不同发酵时间的挥发性风味组分进行分析研究, 结合感官评价、pH 4.6含氮量测定, 深入分析奶豆腐组分与感官品质之间存在的关系, 同时与牧民自制奶豆腐进行比较, 并在此基础上对重要风味组分的可能来源及其对奶豆腐风味的贡献特征进行讨论, 以期为我国传统奶酪制品的生产与开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料乳 北京三元食品股份有限公司; 植物乳杆菌I-4发酵剂(蛋白酶活力为 $(0.65 \pm 0.18) \times 10^4$ U/mL) 本实验室保藏; 奶酪商业发酵剂(瑞士乳杆菌与德式乳杆菌乳酸亚种混合菌) 德国汉森公司; 牧民自制奶豆腐成品 内蒙古锡林郭勒盟市场。

1.2 仪器与设备

SPME装置手柄、固定搭载装置、50/30 μ m DVB/CAR/PDMS萃取头 美国Supelco公司; 7890B-5975C型GC-MS联用仪 美国Agilent公司; DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器 河南予华仪器有限公司; 全自动凯氏定氮仪(KjelFlexK-360蒸馏仪, Switzerland; 配置DL15滴定仪, 体积为20 mL、分辨率为1/10 000的滴定

管, DG115-SC电极, 电位分辨率0.1 mV; 自动程序消解系统AIM600)、AL204电子天平(可读性1 mg/0.1 mg) 瑞士Buchi公司。

1.3 方法

1.3.1 实验室自制奶豆腐制作工艺及取样

工艺参照内蒙古地区传统奶豆腐的制作方法: 原料乳 $\rightarrow 63^\circ\text{C}$ 灭菌30 min $\rightarrow$ 灭菌乳降温至 30°C 左右 $\rightarrow$ 加入发酵剂(植物乳杆菌I-4发酵剂和奶酪商业发酵剂按照质量比2:1的比例混合) $\rightarrow$ 搅拌均匀 $\rightarrow 37^\circ\text{C}$ 自然发酵10 h $\rightarrow$ 酸凝乳块 $\rightarrow$ 切割 $\rightarrow$ 升温搅拌 $\rightarrow$ 排乳清 $\rightarrow$ 静置堆积 $\rightarrow$ 压榨成型 $\rightarrow 4^\circ\text{C}$ 贮存7 d后作为成品进行风味组分的测定。

取样: 分别取 37°C 发酵2、4、6、8、10 h及 4°C 贮存7 d后的实验室自制奶豆腐成品和牧民自制的奶豆腐成品3.0 g装入SPME萃取瓶, 封口待检测。

1.3.2 SPME-GC-MS条件

将3.0 g待测奶豆腐样品装入15 mL萃取瓶中, 置于 50°C 水浴中平衡30 min, 然后将老化好的纤维萃取头插入萃取瓶中进行萃取。萃取结束后取出萃取头, 插入GC汽化室中进行GC-MS分析, 为保证实验结果的稳定性, 每个萃取条件重复实验3次。

GC条件: 采用DB-WAX毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m), 载气为He, 流速为1 mL/min。色谱柱升温程序为: 起始柱温 35°C , 保持3 min, 以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 升到 100°C , 保持3 min, 然后以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 升到 150°C , 最后以 $8^\circ\text{C}/\text{min}$ 升到 230°C , 保持3 min。不分流进样。

MS条件: 电子电离源, 电子能量70 eV, 离子源温度 230°C , 四极杆温度 150°C , 扫描模式全扫描, 质量扫描范围 m/z 20~350。

1.3.3 挥发性风味组分分析

数据处理由GC-MS化学工作站完成, 化合物经检索与NIST 11谱库相互匹配, 列出匹配度大于80的结果, 再通过 $\text{C}_6\sim\text{C}_{30}$ 正构烷烃的GC保留时间计算保留指数, 比对其在文献中的保留指数, 对所得化合物进行定性分析。

保留指数测定方法: 在色谱条件相同的情况下, 以一系列正构烷烃($\text{C}_6\sim\text{C}_{30}$)作为标准进行GC-MS分析, 并根据下式计算待测物的保留指数:

$$\text{RI} = 100 \times n + \frac{100(t_i - t_n)}{t_{n+1} - t_n}$$

式中: RI为保留指数; n 为碳原子数; t_n 为碳原子数为 n 的正构烷烃的保留时间; t_{n+1} 为碳原子数为 $n+1$ 的正构烷烃的保留时间; t_i 为样品 i 的保留时间。

1.3.4 奶豆腐成品成分检测

对实验室自制奶豆腐、牧民自制奶豆腐进行主要成分检测。脂肪含量测定采用哥特里-罗兹法; 蛋白质含量测定参照GB/T 5511—2008《谷物和豆类 氮含量测定和粗蛋白质含量计算 凯氏法》中的微量凯氏定氮法; 水分

含量测定参照GB 5009.3—2016 《食品中水分的测定》中的干燥法。

1.3.5 感官评定

本实验感官评定部分邀请10名从事食品研究、有一定感官评定经验的人员组成评定小组,实验前对其进行感官评定的指标和注意事项的培训。每次评定由每个评定员单独进行,相互不接触,样品评定之间用纯净水漱口。按照表1的评价标准对奶豆腐的感官品质进行评分。评定采用100分制,评定项目包括色泽、滋味、气味、组织状态。

表1 评分标准

Table 1 Criteria for sensory evaluation

项目	特征	分数
外观色泽 (10分)	色泽呈乳白色或乳黄色,均匀	7~10
	色泽略有不均一	4~6
	表面色泽变化明显,颜色不均匀	0~3
滋味 (45分)	奶香味浓郁、丰富	11~15
	奶香味平淡	6~10
	奶香微弱,无奶香味	0~5
	有令人愉悦酸味	7~10
	可接受酸味	4~6
	有异常酸味过重	0~3
	在口中延长时间较长	7~10
	在口中延长时间较短	4~6
	无奶味延长	0~3
	明显异味	—5~0
气味 (30分)	例:苦味	—5~0
	香气浓郁,风味良好	11~15
	香气强度一般	6~10
	香气微弱,无奶香	0~5
	具有令人愉悦酸味	7~10
组织状态 (15分)	质地均匀,光滑,呈半柔软且富有弹性	11~15
	质地基本均匀,稍软或稍硬,组织较细腻	6~10
	组织状态粗糙,较硬,易碎	0~5

1.3.6 样品pH 4.6可溶性氮含量的测定

蛋白质的分解量通过pH 4.6可溶性氮的含量来测定,方法采用Fox等^[16]的方法加以改进。准确称取3.0 g奶豆腐,加入25 mL pH 4.6的醋酸盐缓冲溶液,充分搅拌,再用25 mL缓冲溶液充分冲洗,将悬浮液倒入离心管中定容至50 mL,4 000 r/min离心20 min,取上清液移入凯氏消化瓶消化,然后进行凯氏定氮,结果以每毫升样品溶液中氮元素的质量表示。

2 结果与分析

2.1 SPME-GC-MS检测结果

不同发酵时间的奶豆腐及成品的挥发性风味成分SPME-GC-MS检测结果见表2。

表2 不同发酵时间奶豆腐及成品的挥发性风味分析
Table 2 Volatile compounds detected during different fermentation stages of hurood

序号	物质名称	化学式	CAS号	保留指数		相对含量/%							
				计算值	文献值 ^[17]	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	成品	对照样品	
醇类													
1	乙醇	C ₂ H ₆ O	64-17-5	906	930	3.75	10.78	15.74	13.99	15.93	5.17	24.6	
2	丙醇	C ₃ H ₈ O	71-23-8	1 023	1 045	—	0.28	—	0.45	—	—	0.32	
3	3-甲基-1-丁醇	C ₅ H ₁₂ O	123-51-3	1 202	1 230	2.67	0.77	1.61	—	2.37	3.98	3.99	
4	3-甲基-2-丁烯-1-醇	C ₅ H ₁₀ O	556-82-1	1 321	1 340	—	—	0.21	—	0.73	—	—	
5	己醇	C ₆ H ₁₄ O	111-27-3	1 342	1 354	—	—	0.31	0.52	0.43	0.7	—	
6	2-乙基己醇	C ₈ H ₁₈ O	104-76-7	1 440	1 486	—	1.07	0.73	1.98	0.7	1.25	—	
7	2,3-丁二醇	C ₄ H ₁₀ O ₂	513-85-9	1 560	1 572	0.25	—	—	—	—	0.42	0.06	
8	呋喃甲醇	C ₅ H ₆ O ₂	98-00-0	1 636	1 652	—	—	—	—	—	0.28	—	
9	苯甲醇	C ₇ H ₈ O	100-51-6	1 845	1 862	—	0.28	—	0.45	—	0.17	0.04	
10	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O	60-12-8	1 881	1 896	—	—	—	—	—	0.24	0.6	
种类小计						3	5	5	5	5	8	6	
相对含量小计						6.67	13.18	18.6	17.39	20.16	12.21	29.61	
酯类													
11	丙酮	C ₃ H ₆ O	67-64-1	792	814	—	9.46	10.78	9.02	9.99	2.5	2.94	
12	2,3-丁二酮	C ₄ H ₆ O ₂	431-03-8	998	1 000	0.55	9.81	14.89	22.89	30.57	8.73	2.51	
13	2-甲基-3-庚酮	C ₈ H ₁₆ O	13019-20-0	1 086	1 139	—	—	—	—	—	2.36	—	
14	2-庚酮	C ₇ H ₁₄ O	110-43-0	1 136	1 180	0.21	2.58	2.29	5.38	5.11	6.59	6.17	
15	3-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	513-86-0	1 261	1 276	—	3.26	3.3	4.68	3.72	4.75	4.52	
16	4-羟基-2-丁酮	C ₄ H ₈ O ₂	590-90-9	1 280	1 298	—	0.51	—	—	—	—	—	
17	环己酮	C ₆ H ₁₀ O	108-94-1	1 306	1 356	0.31	—	—	—	—	—	—	
18	2-壬酮	C ₉ H ₁₈ O	821-55-6	1 376	1 384	—	0.2	0.21	0.5	0.57	1.43	1.31	
19	2-十一酮	C ₁₁ H ₂₂ O	112-12-9	1 588	1 590	—	—	—	—	—	0.26	0.3	
种类小计						3	6	5	5	5	7	6	
相对含量小计						1.07	25.82	31.47	42.47	49.96	26.62	17.75	
脂肪酸类													
20	乙酸	C ₂ H ₄ O ₂	64-19-7	1 422	1 438	1.47	0.51	0.64	0.96	0.76	6.3	7.54	
21	丁酸	C ₄ H ₈ O ₂	107-92-6	1 601	1 618	3.01	—	—	—	—	1.36	1.05	
22	戊酸	C ₅ H ₁₀ O ₂	109-52-4	1 713	1 729	1.01	—	0.22	—	0.31	—	—	
23	己酸	C ₆ H ₁₂ O ₂	142-62-1	1 820	1 836	1.83	—	—	1.49	—	4.16	5.97	
24	辛酸	C ₈ H ₁₆ O ₂	124-07-2	1 989	2 022	3.90	—	—	—	—	0.26	2.57	
25	壬酸	C ₉ H ₁₈ O ₂	112-05-5	2 035	2 054	2.32	—	—	—	1.5	0.46	—	
26	癸酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	334-48-5	2 240	2 268	4.15	—	—	—	—	—	1.28	
种类小计						7	1	2	2	3	5	5	
相对含量小计						17.69	0.51	0.86	2.45	1.07	12.54	18.41	
醛类													
27	戊醛	C ₅ H ₁₀ O	110-62-3	876	904	—	—	—	—	—	0.13	—	
28	己醛	C ₆ H ₁₂ O	66-25-1	1 066	1 086	1.74	1.41	1.13	—	0.31	0.49	0.64	
29	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	124-19-6	1 379	1 388	0.88	0.75	0.61	0.54	—	0.85	0.25	
30	呋喃甲醛	C ₅ H ₄ O ₂	98-01-1	1 422	1 448	—	—	—	—	—	2.42	0.09	
31	癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	112-31-2	1 469	1 501	0.79	—	—	—	—	—	—	
32	苯甲醛	C ₇ H ₆ O	100-52-7	1 491	1 531	0.37	0.58	0.46	0.55	0.6	1.02	—	
种类小计						4	3	3	2	2	5	3	
相对含量小计						3.78	2.74	2.2	1.09	0.91	4.91	0.98	
酯类													
33	乙酸乙酯	C ₄ H ₈ O ₂	141-78-6	874	886	0.30	—	1.35	—	1.2	—	1.32	
34	乙酸戊酯	C ₇ H ₁₄ O ₂	628-63-7	1 175	1 201	—	—	—	—	—	0.66	—	
35	己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	123-66-0	1 223	1 234	0.25	—	—	—	—	—	0.43	
36	己酸-2-苯乙酯	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	6290-37-5	1 487	1 499	—	—	—	2.07	—	—	0.14	
37	2-羟基丙酸乙酯	C ₅ H ₁₀ O ₃	687-47-8	1 490	1 535	—	0.34	0.25	0.23	—	—	—	
38	癸酸乙酯	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	110-38-3	1 629	1 631	—	0.27	0.72	—	—	—	0.32	
39	γ-丁内酯	C ₄ H ₆ O ₂	96-48-0	1 637	1 645	0.29	0.2	—	—	—	—	—	

续表2

序号	物质名称	化学式	CAS号	保留指数		相对含量/%							对照样品
				计算值	文献值 ^[4]	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	成品		
40	4-羟基丁酸乙酯	C ₆ H ₁₀ O ₃	591-81-1	1 650	1 678							0.57	—
	种类小计					2	3	3	2	1	2	4	
	相对含量小计					0.54	1.24	2.32	2.3	1.2	1.23	2.21	
	含硫含氮类												
41	二丙烯二硫	C ₆ H ₁₀ S ₂	2179-57-9	996	1 026	0.97	—	—	—	—	—	—	
42	二丙烯三硫	C ₆ H ₁₀ S ₃	2050-87-5	1 549	1 570	1.13	—	—	—	—	—	—	
43	吡啶	C ₅ H ₅ N	110-86-1	1 273	1 290	—	—	—	1.06	—	—	—	
44	2-甲基吡嗪	C ₅ H ₇ N ₂	109-08-0	1 344	1 379	—	—	—	—	—	1.56	—	
45	2,6-二甲基吡嗪	C ₇ H ₉ N ₂	108-50-9	1 401	1 409	—	—	—	—	—	2.37	—	
46	2,3-二甲基吡嗪	C ₇ H ₉ N ₂	5910-89-4	1 510	1 550	—	—	—	—	—	0.15	—	
47	2-乙基-6-甲基吡嗪	C ₉ H ₁₁ N ₂	13925-03-6	1 558	—	—	—	—	—	—	0.65	—	
48	2,5-二甲基-3-吡嗪	C ₇ H ₉ N ₂	18433-98-2	1 591	—	—	—	—	—	—	0.36	—	
49	2,3,5-三甲基吡嗪	C ₇ H ₉ N ₂	14667-55-1	1 603	—	0.51	—	—	—	—	—	—	
	种类小计					3	0	0	1	0	5	0	
	相对含量小计					2.61	0	0	1.06	0	5.09	0	
	烯烃类												
50	α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	3856-25-5	1 096	—	1.86	—	—	—	—	—	—	
51	β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	127-91-3	1 179	—	2.23	—	—	—	—	—	—	
52	D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	5989-27-5	1 261	1 264	1.26	0.69	—	—	—	—	—	
53	β-水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	555-10-2	1 265	1 278	0.97	—	—	—	—	—	—	
54	苯乙烯	C ₈ H ₈	100-42-5	1 380	1 401	0.95	—	—	—	0.62	—	0.24	
55	2-甲基-1-苯丙烯	C ₁₀ H ₁₂	768-49-0	1 498	1 523	0.75	—	—	—	—	—	—	
56	2,4-二甲基苯乙烯	C ₁₀ H ₁₂	1195-32-0	1 499	—	—	1.28	1.15	0.61	—	—	—	
	种类小计					6	2	1	1	1	0	0	
	相对含量小计					8.02	1.97	1.15	0.61	0.62	0	0.24	
	苯环及其他类												
57	甲苯	C ₇ H ₈	108-88-3	1 022	1 046	2.99	5.51	4.87	6.63	5.72	10.01	2.17	
58	乙苯	C ₈ H ₁₀	100-41-4	1 079	1 104	—	—	—	—	—	0.25	—	
59	邻二甲苯	C ₈ H ₁₀	95-47-6	1 120	—	—	—	—	—	—	0.18	—	
60	对二甲苯	C ₈ H ₁₀	106-42-3	1 164	—	—	—	—	—	—	0.5	0.47	
61	对异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	99-87-6	1 399	1 420	—	1.02	—	—	—	0.17	—	
62	对二氯苯	C ₆ H ₄ Cl ₂	106-46-7	1 581	1 597	—	—	—	—	—	0.3	—	
63	3-甲基-2-丁烯-1-苯	C ₁₁ H ₁₄	4489-84-3	1 590	1 611	—	1.11	—	—	—	—	—	
64	草蒿脑	C ₁₀ H ₁₂ O	140-67-0	1 656	1 662	0.87	0.26	—	—	—	—	—	
65	萘	C ₁₀ H ₈	91-20-3	1 700	1 740	—	0.23	—	—	—	0.19	0.1	
66	茴香脑	C ₉ H ₁₀ O	104-46-1	1 722	1 734	0.47	8.87	9.7	4.27	4.53	1.28	—	
	种类小计					3	6	2	2	2	8	3	
	相对含量小计					4.33	17	14.57	10.9	10.25	12.88	2.74	

注：对照样品为牧民自制奶豆腐成品；—,该物质未检出或者文献中没有查到对应值。

2.1.1 醇类化合物

实验室自制奶豆腐样品在不同发酵阶段共检测出66种风味成分，如表2所示。不同发酵阶段挥发性化合物的种类和相对含量有较大差别，且不同化合物有明显不同的风味特征，发酵初期（2~4 h，下同）以脂肪酸类物质为主；发酵中期（4~8 h，下同）以醇类、酮类物质为主；发酵后期（8 h~成品，下同）以酮类、芳香族类物质为主。

醇类化合物是奶豆腐发酵过程中普遍存在的风味组分物质，其种类由发酵初期的6种，增加到发酵中期的7种，最后在成品中增加至10种。其中代表性物质乙醇主要由乳糖代谢中磷酸戊糖途径生成，在发酵过程中

均被检测到，且随着发酵时间的延长，代谢产物不断累积，乙醇含量逐渐增加^[18]。实验室自制奶豆腐发酵过程中醇类物质的总量（总相对含量，下同）占比在整个发酵过程中从6.67%（发酵2 h）增至20.16%（发酵10 h），成品中醇类物质总量（12.21%）有所降低，是由于奶豆腐后熟过程中酯化反应持续进行而逐渐消耗^[10]。除乳糖代谢这一途径之外，奶豆腐中醇类物质还可能来源于甲基酮还原^[18]、氨基酸代谢、亚油酸及亚麻酸降解^[4]。从种类和总量上来看，发酵中后期均以醇类物质为主。实验室自制成品与牧民自制成品相比较，除乙醇相对含量相差较大外，共同检测到的物质如3-甲基-1-丁醇、2,3-丁二醇、苯甲醇等物质的相对含量相近。实验室自制成品中检测到的苯甲醇、苯乙醇等醇类组分在大部分软质奶酪中都能检测到，这类具有花香味以及玫瑰香味的仲醇和芳香族醇类物质对于奶酪香气轮廓的形成具有重要作用^[9]。

2.1.2 酮类化合物

酮类化合物风味独特，感知阈值低，尤其是甲基酮类物质，是蓝纹奶酪中奶油香气的主要贡献组分^[19]。发酵过程中酮类化合物种类呈增加趋势，总量占比也持续增加，发酵后期达到49.96%。其中丙酮在发酵中后期相对含量较稳定，占10%左右，实验室自制成品中仅有2.5%，推测原因是丙酮较不稳定，在后熟过程中可能进一步反应形成相应的酸和醇。此外，2,3-丁二酮的相对含量在整个发酵过程中占比最高，2,3-丁二酮是二羰基类物质，这类物质来源于乳糖代谢产生的丙酮酸，在一定程度上受乳酸菌活性的影响，具有典型的酸奶气味^[20]。除醇类物质外，发酵中后期的主要挥发性风味物质以酮类为主。检测到的重要挥发性成分以2-甲基-3-庚酮、2-庚酮、2-壬酮等甲基酮类化合物居多，此类物质大多伴有令人愉悦的水果清香及奶油味，可适度改善奶豆腐样品中的奶油香气，是发酵乳制品中重要的风味化合物^[21]，因而对于奶豆腐的感官品质具有重要贡献。

2.1.3 脂肪酸类化合物

脂肪酸类化合物对于奶酪的风味具有重要的影响，不仅因为它们本身是风味物质，同时也是其他风味物质（如甲基酮、醇、酯等）的前体物质^[22]。通常来说奶酪中脂肪酸类化合物的来源主要有3种：一是原料乳中固有的，如丁酸；二是通过发酵剂中微生物代谢产生，如丙酸；三是发酵过程中乳脂肪或氨基酸降解产生^[23]。由表2可知，除乙酸外，实验室自制奶豆腐中脂肪酸类化合物的种类和相对含量在不同发酵阶段及成品中都相对较少，这是因为奶豆腐属于新鲜奶酪，成熟时间短，乳脂肪未被及时大量分解生成脂肪酸所导致。在发酵初期，发酵菌种代谢产酸共同作用，检测到乙酸等挥发酸相对含量较大；而到发酵中后期，由于酸性物质（丙酮酸、

柠檬酸、乳酸等)累积造成的高酸性环境抑制了菌种的代谢^[24],导致乙酸在发酵乳中占比增长趋于平缓。这也解释了实验室自制奶豆腐成品与牧民自制奶豆腐成品中脂肪酸类物质总量均明显高于发酵阶段的现象。奶豆腐成品中挥发性较强的偶数、短碳链脂肪酸相对含量较少,使奶豆腐样品相较西方奶酪风味更柔和,更接近国人口味。

2.1.4 醛类化合物

奶酪中醛类化合物主要来自于脂肪酸代谢的中间产物,大部分的醛类化合物阈值较低,一般具有青草味和霉腐味^[25],因而其含量一旦超过阈值就会产生令人不愉快的气味,对奶豆腐感官品质产生不利影响。在整个发酵期间奶豆腐中检测到的醛类化合物包括戊醛、己醛、壬醛、呋喃甲醛、苯甲醛,醛类化合物化学性质比较活泼,属于不稳定的中间体化合物,在后熟过程中易被进一步还原成相应的酸和醇^[26]。

2.1.5 酯类化合物

奶酪中短链的酯类化合物具有极低的阈值(10^{-9} 级),能够赋予奶酪特殊的酯香(类似花果香),因而中、短碳链的脂肪酸乙酯具有较大的风味贡献潜力,是奶酪制品的特征风味组分^[19]。通常而言,乳制品中酯类化合物来源主要有2种:一是脂肪酸与醇类发生酯化反应,二是乙醇与甘油酯发生酯交换反应^[27]。奶豆腐制作工艺中的排乳清环节可除去牛乳中大部分乳脂,从而使对应生成的脂肪酸及相应酯类物质的相对含量较少。实验室自制成品奶豆腐中检测到的乙酸乙酯、己酸乙酯、癸酸乙酯等酯类物质的混合物被称为黄油酯^[27],具有浓郁奶香风味,对于奶酪香气轮廓的形成具有重要的意义,也是乳制品中的特征风味组分。

2.1.6 含硫含氮类化合物

奶豆腐发酵期间检测出的含硫含氮类化合物随发酵时间的不同而略有变化,由于该类化合物阈值极低(10^{-9} 级),因而其对奶酪风味贡献也较大。发酵初期检测到的二丙烯二硫、二丙烯三硫是乳制品中常见含硫化合物甲硫基丙醛和甲硫醇的氧化产物,其具有一定的奶臭味、蒸煮味^[25],对整体特征香气轮廓的形成具有较大贡献。

此外吡嗪、吡啶这类含氮化合物也是实验室自制奶豆腐中的重要风味物质,该类化合物主要来源于乳蛋白中的还原糖与氨基酸发生的美拉德反应^[22]。奶豆腐中检测得到2-甲基吡嗪、二甲基吡嗪、三甲基吡嗪等组分主要与奶豆腐切割后升温搅拌排乳清的工艺有关,该类化合物常见于卡门贝尔奶酪、切达奶酪、艾曼塔尔奶酪中^[20],吡嗪类化合物对奶豆腐中烘烤香风味的形成具有重要作用^[28]。

2.1.7 烯烃、苯环及其他类化合物

实验室自制奶豆腐发酵过程中烯烃类化合物在发酵

初期检测到较多,由于它们的高芳香阈值,因此对整体风味的贡献较小。芳香族类化合物以甲苯为主,在整个发酵过程及2种成品中均检测到,且相对含量较高。甲苯具有一定的果仁味、杏仁味及苦涩味^[29]。这类组分大部分阈值也较高,对于奶豆腐风味轮廓的贡献也相对较小。

2.2 实验室自制奶豆腐与牧民自制奶豆腐比较分析

2.2.1 组成成分分析

表3 实验室自制奶豆腐与牧民自制奶豆腐成品的成分检测
Table 3 Proximate composition of huorood made in our laboratory and by herdsman

样品	脂肪质量 分数/%	蛋白质质量 分数/%	水分质量 分数/%	pH 4.6含氮量/ (μg/mL)
实验室自制奶豆腐成品	37.44±4.43	39.06±1.24	22.60±2.16	240
牧民自制奶豆腐成品	41.17±1.36	33.01±2.31	18.53±3.21	182

由表3可知,实验室自制奶豆腐蛋白质含量较高,质量分数达39.06%;脂肪含量与牧民自制成品较相近,占40%左右;水分含量较大,可能与实验室自制奶豆腐后熟时间较短,而牧民自制奶豆腐放置时间长、环境相对干燥有关。根据pH 4.6含氮量结果,实验室自制奶豆腐成品所含可溶性小肽含量较高,这是由于其选用的发酵剂菌株为筛选后的高产菌株,蛋白酶酶解活力较高。食源性小分子多肽具有良好的营养价值、生理活性和风味活性。某些多肽还可呈现酸、甜、苦、咸、鲜中2种及以上的味道。目前,在奶酪等发酵食品和其他食物中都已分离鉴定出鲜味肽和浓厚感肽^[30]。

2.2.2 感官评价结果分析

表4 感官评价实验结果
Table 4 Results of sensory evaluation

项目	样品	得分	描述
外观色泽 (10分)	实验室自制	8.50±1.34	色泽呈乳白色或乳黄色,均匀
	牧民自制	6.00±2.56	色泽略有不均一
	实验室 自制	14.50±4.55	奶香味浓郁、丰富
		7.00±1.02	有令人愉悦酸味
滋味 (45分)	实验室 自制	8.00±1.86	在口中延长时间较长
		0	无其他特殊滋味
	牧民自制	11.00±3.18	奶香味浓郁、丰富
		4.00±1.20	可接受酸味
	实验室 自制	5.00±2.11	在口中延长时间较短
		0	无其他特殊滋味
气味 (30分)	实验室 自制	14.00±3.53	香味浓郁,风味良好
		7.50±2.48	具有令人愉悦酸味
	牧民自制	0	无其他特殊滋味
		11.00±3.25	香味浓郁,风味良好
	实验室 自制	5.50±1.03	可接受酸味
		0	无其他特殊滋味
组织状态 (15分)	实验室自制	22.00±5.44	质地均匀,光滑, 呈半柔软且富有弹性
	牧民自制	18.00±3.58	质地基本均匀,稍软或稍硬, 组织较细腻

由表4可知,实验室自制奶豆腐在奶香味(气味、滋味)方面均得到了较高分,其奶香味浓郁,层次丰富且留香时间较长,色泽较均匀、稳定,表面光滑富有弹性,视觉效果较好。而牧民自制奶豆腐在外观方面色泽略有不均,质地稍显粗糙,颗粒感明显,有小碎块,口感方面奶香味较浓郁但酸味稍重,不如实验室自制奶豆腐成品品质细腻。这是由于牧民自制产品的制作环境较为不稳定,而实验室发酵条件相对来说控制更严格,不仅使用经筛选的高产发酵剂菌株,且整个发酵过程、后熟环境较稳定,样品受外界因素影响小,更容易表现原品质。

3 结 论

奶豆腐是我国传统酸凝奶酪中较为典型的一类产品,通过SPME-GC-MS对不同发酵阶段奶豆腐挥发性风味组分的研究结果表明,发酵初期以脂肪酸类物质为主;发酵中期以醇类、酮类物质为主;发酵后期以酮类、芳香族类物质为主。不同发酵阶段所含的主要挥发性风味成分种类、相对含量差别较大。与牧民所制成品相比,实验室自制奶豆腐成品的醇类、脂肪酸类物质总量偏少,酮类物质总量偏多,推测这与牧民传统的生产工艺有关;结合感官评定及pH 4.6可溶性含氮量测定结果,由于实验室发酵过程较稳定,条件控制更优,因而实验室自制奶豆腐成品在口感上更细腻,在质地上更均一,奶香味更浓郁。

参考文献:

- [1] 白文娟, 吴守允, 闭秋华, 等. 广西南宁市场流行干酪的质量特性与评价[J]. 食品科学, 2013, 34(1): 97-100.
- [2] 陈历俊, 姜铁民. 我国乳品行业现状与发展趋势探讨[J]. 食品科学技术学报, 2013, 34(4): 1-5. DOI:10.3969/j.issn.2095-6002.2013.04.001.
- [3] DELGADO F J, GONZÁLEZ-CRESPO J, CAVA R, et al. Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening[J]. Food Chemistry, 2010, 118: 182-189. DOI:10.1016/j.foodchem.2009.04.081.
- [4] RYCHLIK M, BOSSET J O. Flavour and off-flavour compounds of Swiss Gruyere cheese evaluation of potent odorants[J]. International Dairy Journal, 2001, 11(11): 895-901. DOI:10.1016/S0958-6946(01)00108-X.
- [5] NOGUEIRA M C L, LUBACHEVSKY G, RANKIN S A. A study of the volatile composition of Minas cheese[J]. LWT-Food Science and Technology, 2005, 38: 555-563. DOI:10.1016/j.lwt.2004.07.019.
- [6] 罗洁, 任发政, 王紫薇, 等. 干酪质构与风味控制技术研究进展[J]. 农业机械学报, 2016, 47(1): 190-201; 208. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2016.01.025.
- [7] 蔡琳飞, 李健, 陈炼红. 我国奶酪产品研究现状及分析[J]. 中国乳品工业, 2015, 42(7): 42-44; 48. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2015.07.009.
- [8] 王娟, 张铭霞, 曹雁平, 等. DNA指纹图谱技术在奶酪发酵菌群中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(8): 395-399. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.08.074.
- [9] 徐幸, 舒平, 张晓鸣. 偏最小二乘回归分析乳扇在贮藏期间挥发性物质与感官特性的关系[J]. 现代食品科技, 2016, 32(12): 1-8.
- [10] 高鑫, 张亮, 李博. 发酵剂用量对硬质蒙古干酪风味变化的影响[J]. 中国酿造, 2015, 34(8): 77-81. DOI:10.11/j.issn.0254-5071.2015.08.016.
- [11] 肖芳, 朱建军, 张红梅, 等. 内蒙古锡盟地区传统奶皮子和奶豆腐的加工工艺调查[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(11): 35-37. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2016.11.009.
- [12] 马艳丽, 曹雁平, 郑福平, 等. 奶酪的风味组分研究进展[J]. 中国乳品工业, 2013, 41(5): 36-39. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2013.05.010.
- [13] 马玲, 徐静, 宗学醒, 等. 酸凝干酪成熟过程中挥发性风味物质的分析[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(3): 23-26. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2009.03.006.
- [14] 刘文俊, 张和平. 发酵乳中的主要风味物质及其代谢合成途径和关键功能基因[J]. 中国科技论文, 2016, 11(12): 1391-1397. DOI:10.3969/j.issn.2095-2783.2016.12.015.
- [15] 马艳丽, 曹雁平, 杨贞耐, 等. SPME-GC-MS检测不同中西方奶酪的挥发性风味物质及比较[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 103-107.
- [16] FOX P F. Proteinases in dairy technology[J]. Neth Milk Dairy Journal, 1981, 35(1): 233-241.
- [17] HAVEMOSE M S, JUSTESEN P, BREDIE W L P, et al. Measurement of volatile oxidation products from milk using solvent-assisted flavour evaporation and solid phase microextraction[J]. International Dairy Journal, 2007, 17(7): 746-752. DOI:10.1016/j.idairyj.2006.09.008.
- [18] 赵丹, 杜仁鹏, 刘鹏飞, 等. 代谢组学在乳酸菌发酵食品研究中的应用[J]. 中国农学通报, 2015, 31(8): 240-244. DOI:10.11924/j.issn.1000-6850.casb14100101.
- [19] DIEZHANDINO A I, FERNÁNDEZ D, GONZÁLEZ L, et al. Microbiological, physico-chemical and proteolytic changes in a Spanish blue cheese during ripening (Valdeón cheese)[J]. Food Chemistry, 2015, 168: 134-141. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.07.039.
- [20] 李良. 乳酸乳球菌发酵稀奶油过程中甲基酮的合成代谢调控[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015: 11-13.
- [21] 吴爽, 朱科学, 郭晓娜, 等. SPME-GC-MS分析谷朊粉酶解物 Maillard反应产物的风味成分[J]. 食品工业科技, 2013, 34(8): 161-165; 178.
- [22] TERZIĆ-VIDOJEVIĆ A, TONKOVIĆ B K, LEOŠ PAVUNC A, et al. Evaluation of autochthonous lactic acid bacteria as starter cultures for production of white pickled and fresh soft cheeses[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 68(1): 298-306. DOI:10.1016/j.lwt.2015.03.050.
- [23] 吴娜, 王锡昌, 陶宁萍, 等. 动物源食品中脂质氧化降解产物检测的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(10): 3042-3046.
- [24] SURIYAPHAN O, DRAKE M, CHEN X Q, et al. Characteristic aroma components of British farmhouse Cheddar cheese[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49: 1382-1387. DOI:10.1021/jf001121l.
- [25] FERNANDEZ-GARCIA E, CARBONELL M, GAVA P, et al. Evolution of the volatile components of ewes raw milk Zamorano cheese. Seasonal variation[J]. International Dairy Journal, 2004, 14(8): 701-711. DOI:10.1016/j.idairyj.2003.12.011.
- [26] 刘景, 孙克杰, 郭本恒. 成品发酵乳主要风味物质与风味指标的相关性研究[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(12): 15-19. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2011.12.004.
- [27] 王蓓. 酶法制备天然牛奶风味基料及牛奶香精的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009: 52-55.
- [28] 静玮, 苏子鹏, 刘义军, 等. HS-SPME/GC-MS测定澳洲坚果焙烤香气成分[J]. 食品工业, 2016, 37(9): 241-245.
- [29] 孙宝国, 刘玉平. 食用香料手册[M]. 北京: 中国石化出版社, 2004: 99-101.
- [30] 韩富亮, 郭安鹊, 王华, 等. 食源性鲜味肽和浓厚感肽的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(23): 314-320. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201523057.