

特色褐色风味发酵乳的研制及与市售产品的风味分析

刘玲, 付佳宁, 于梓涵, 王嫱
(沈阳农业大学食品学院, 辽宁沈阳 110866)

摘要: 褐色风味发酵乳是利用美拉德反应制备的新型发酵乳, 不同品牌风味差异较大。该研究以鲜牛乳、葡萄糖、脱脂乳粉、榛蘑为原料自制褐色发酵乳, 响应面试验确定最佳生产工艺; 并采用GC-MS分析发酵乳的挥发性成分, 电子舌技术分析自制与市售褐色风味乳的风味构成和差异。结果表明, 褐色发酵乳的最佳发酵工艺为鲜牛乳87%、无水葡萄糖6%、脱脂乳粉1.25%、褐变温度94 °C、发酵13 h、榛蘑添加量1.75%; GC-MS分析褐色风味发酵乳挥发性风味物质主要为烃类、酯类、美拉德反应产物; 电子舌分析得到不同发酵乳的鲜味、咸味和酸味有差异, 其中酸味差异最显著。这些结果说明褐变后成分差异和发酵菌种决定了发酵乳风味。

关键词: 褐色风味发酵乳; 榛蘑; 美拉德反应; 风味

中图分类号: TS 252.54 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-9989(2023)01-0056-06

DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2023.01.045

Preparation of Special Brown Flavor Fermented Milk and Flavor Analysis with Products on the Market

LIU Ling, FU Jianing, YU Ziyin, WANG Qiang

(College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Brown flavor fermented milk (BFFM) is a new type of flavor yogurt produced by Maillard reaction, the flavor of different brands of BFFM varies considerably. In this study, fresh milk, anhydrous glucose, skim milk powder and *Armillarielle mella* are used as the main materials to produce BFFM, and the optimal fermentation conditions are determined by response surface test. GC-MS is used to analyze the main volatile components of the original BFFM, and the electronic tongue technology is used to analyze the main flavor components and flavor differences between the self-made *Armillarielle mella* BFFM and the similar kinds of yoghurt sold in the market. The results show that the best fermentation conditions are 87% fresh milk, 6% anhydrous glucose, 1.25% skim milk powder, browning temperature 94 °C, fermentation time 13 hours and *Armillarielle mella* 1.75%. The results of GC-MS show that the volatile flavor compounds of BFFM are mainly hydrocarbons and esters which are caused by hydrolysis and oxidation of milk fat, and followed Maillard reaction products; By electronic tongue analysis, the main taste flavors of BFFM are umami, saltiness and sourness, the sourness is the most prominent in them.

收稿日期: 2022-07-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31571796)。

作者简介: 刘玲(1973—), 女, 博士, 教授, 研究方向为食品质量控制。



These results indicate that the main flavor of BFFM is determined by the brown milk compounds and fermentation strain.

Key words: brown flavor fermented milk; *Armillarielle mella*; Maillard reaction; flavor

0 引言

风味发酵乳是在普通发酵乳的基础上通过添加其他可食用物质进行调味处理而形成，与传统发酵乳的区别主要在风味及色泽方面^[1]，产生挥发性风味物质的能力是评价发酵剂应用于发酵乳制品生产的基本参数^[2-3]。风味发酵乳具有营养丰富、抗微生物、抗胃肠感染、抗癌和降低血清胆固醇等多种功能^[4]。褐色发酵乳是一类应用乳蛋白和还原糖进行美拉德反应，形成褐色并发酵出麦芽酚香气的新型风味乳^[5-6]。该发酵乳有一定的焦香味，但市售的产品之间口味差异较大，色泽也不一致。本研究首先研制一款添加食用菌的新型褐色发酵乳，用以丰富褐色发酵乳的产品，然后对自制及市售褐色发酵乳进行风味差异分析。

GC-MS是常用分析挥发性嗅感风味物质的方法，在乳品风味分析中使用广泛^[7-8]。BOTTIROLI R等^[9]采用HS-SPME/GC-MS对乳糖水解乳中的风味成分进行分析，发现在4种温度下，呈现23类不同风味物质，美拉德反应程度决定了风味物质的含量。本研究进一步采用电子舌技术分析发酵乳中的味感。近年来电子舌技术进行食品分析的研究日益广泛。陈晨浩等^[10]利用GC-MS与电子感官技术对发芽黑麦茶风味物质进行了分析；代良超等^[11]利用电子舌结合理化特性对百香果食用品质进行主成分分析及聚类分析；汤海青等^[12]采用电子舌结合多元统计，在风味特征评价的基础上分析料酒品质并归类；WEI Z B等^[13]用伏安电子舌监测型酸乳在发酵、后熟和贮藏过程中的特征；YIN T J等^[14]使用远程电子舌系统用于蜂蜜植物来源的鉴定；MARTÍN-VERTEDOR D等^[15]利用电子舌预测橄榄和盐水溶液中的总酚和煮熟的缺陷等，可见电子舌技术结合传统方法来分析食品风味成为味感鉴评的重要方式。本研究采用HS-SPME技术结合GC-MS分析褐色风味发酵乳的挥发性风味物质，同时利用电子舌技术比较市售和自制褐色风味发酵乳的口味差异，为市售褐色风味发酵乳的风味比较提供依据，为进一步研制新型营养发酵

乳提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲜牛乳、脱脂乳粉、白砂糖、榛蘑、4种褐色风味发酵乳(品牌为“蒙牛”“木兰花”“辉山”和“大双八”)：市售；自制菌粉：包含嗜热链球菌、保加利亚乳杆菌、嗜醇乳杆菌、植物乳杆菌；其他所用化学试剂均为化学纯。

1.2 仪器与设备

DHG-9070A电热恒温鼓风干燥箱：上海精宏实验设备公司；CR21N高速冷冻离心机：日本日立株式会社；TU-1810型紫外可见分光光度计：北京普析有限责任公司；YC-300L型医用冷藏箱：中科美菱设备有限公司；7890A-5975C气相色谱-质谱联用仪：安捷伦科技有限公司；SA402B型电子舌：日本Insent公司；九阳L18-Y68破壁机：九阳股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 褐色风味发酵乳制备工艺 纯牛乳→预热至60~70 °C→混入原料→搅拌、溶解→94 °C保温5 h褐变→冷却至42 °C左右→接种→42 °C发酵→冷却至6~10 °C→破乳→加入稳定剂→搅拌均匀→冷藏、后熟。

1.3.2 褐变指数测定 依照VINA S Z等^[16]的方法略作修改。取4 g样品，加入4 mL 95%乙醇溶液，混合均匀后，振荡10 min，以5000 r/min离心15 min，取上层清液，以蒸馏水为对照组，在420 nm处测定紫外吸光度值。平行测定3次，取平均值。

1.3.3 榛蘑添加量 将野生干榛蘑用纯净水冲洗至无异物，室温晾干，破壁机粉碎，过30目筛制成粉。原料乳中分别加入1.25%、1.50%、1.75%、2.0%、2.25%的榛蘑粉，搅拌均匀，放入烘箱中94 °C保温褐变，同时以无添加榛蘑的样品为对照原味发酵乳，平行3次试验。

1.3.4 感官评价标准 采取得分制，随机筛选20人作为感官评价者，对不同配方的榛蘑褐色发酵乳打分。从色泽、风味、酸甜比、黏稠度和组织状态五方面进行评定，每一项20分，共计100分。

1.3.5 GC-MS分析

1.3.5.1 GC条件 载气为氦气，流速为1.0 mL/min，进样方式为不分流进样，进样口温度为240 °C。程序升温的起始温度为40 °C，保持3 min；以10 °C/min梯度升温到140 °C，保持5 min，然后以9 °C/min梯度升温到230 °C，保持5 min。

1.3.5.2 MS条件 采用王嫱^[17]的方法。质谱采用EI电离的方式，电子轰击能量为70 eV，离子源温度为230 °C，扫描范围为30~450 amu，发射电流为100 μA，检测电压为1.4 kV。

1.3.6 电子舌分析 采用冯媛等^[18]的方法并稍作修改。电子舌以1次/s的速率收集传感器电信号，每组样品平行测定5次，取最后3次稳定的数据，对发酵乳的风味进行分析。由电子舌自带的分析软件将传感器电势值转化成味觉值，最后3次测得味觉值取平均值(X)和标准偏差(SD)。

1.4 工艺优化试验

1.4.1 单因素试验 在基础反应条件下分别加入不同浓度葡萄糖(2%~10%)，脱脂乳粉(0.50%~1.50%)，榛蘑粉(1.25%~2.25%)，菌粉(1.0%~3.0%)，保温褐变时间2~6 h，褐变温度90~98 °C，42 °C恒温发酵11~15 h。根据单因素试验指标筛选自制褐色风味发酵乳的主要影响因子。

1.4.2 响应面试验设计优化工艺条件 根据单因素试验得到的结果，选择4个显著差异的因素为自变量，以感官评分为响应值，使用Design-expert 8.0.6软件进行响应面设计和分析。

1.5 数据处理与统计分析

采用Excel 2013、Design-expert 8.0.6软件和Origin 2018软件进行数据处理并作图，SPSS 17.0软件进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 响应面试验结果

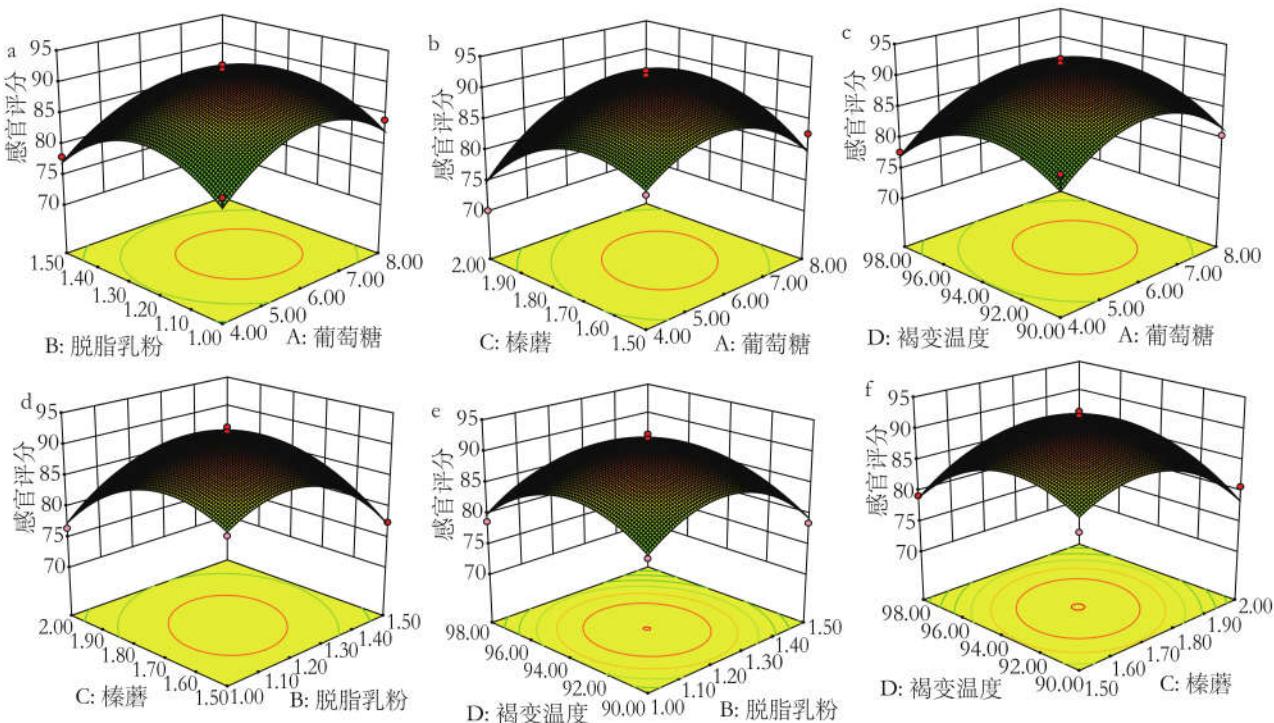
2.1.1 响应面设计及试验结果分析 根据单因素试验得到显著性差异的4个主要因素：葡萄糖、脱脂乳粉、榛蘑和不同褐变温度，以这4个因素建立响应面试验设计，感官评分(百分制)为评价因子。由Design-expert 8.0.6分析软件设计的响应面结果见表1。这4个要素添加量为适中浓度时，感官评分呈现分值较高的情况；从褐变指数上看，随着葡萄糖添加量和褐变温度的升高，风味乳的褐变指数上升、颜色加深；对照没有添加榛蘑的样品，颜色变化并无显著差异($P < 0.05$)。

表1 响应面试验结果

试验号	因素				感官评分/分
	葡萄糖/% A	脱脂乳粉/% B	榛蘑/% C	褐变温度/°C D	
1	1(8)	1(1.5)	0(1.75)	0(94)	80.5
2	0(6)	1	0	-1(90)	78.5
3	0	0(1.25)	0	0	92.75
4	1	0	0	1(98)	78.5
5	0	-1(1)	1(2)	0	76.5
6	0	0	0	0	90.25
7	0	0	1	1	85.25
8	0	-1	0	-1	82
9	0	0	1	-1	80.75
10	-1(4)	0	-1(1.5)	0	82
11	-1	1	0	0	78
12	-1	-1	0	0	80.75
13	0	1	1	0	80
14	0	-1	0	1	78.75
15	0	0	0	0	92.75
16	1	0	-1	0	82.75
17	0	0	0	0	92
18	0	0	0	0	91.75
19	0	0	-1	1	79.25
20	0	0	-1	-1	82.5
21	-1	0	0	1	77.75
22	0	-1	-1	0	84.25
23	1	-1	0	0	84
24	1	0	0	-1	80.5
25	-1	0	1	0	70
26	0	1	-1	0	77.5
27	0	1	0	1	76.5
28	-1	0	0	-1	83.25
29	1	0	1	0	81.5

2.1.2 响应面优化 各因素间相互作用的响应面的变化情况如图1所示，当葡萄糖、脱脂乳粉、榛蘑、褐变温度4个因素中任意2个变量为0时，感官评分受到另外2个变量的影响，响应面随着4个因素变量的增加呈先升高后降低的趋势，表明了4个因素均在数值范围内得到了最佳的响应值，4因素的交互作用的曲线变化均呈极显著($P < 0.01$)。

2.1.3 最佳条件的确定及验证试验 对模型进行优化得到自制褐色风味发酵乳的最佳参数为：葡萄糖6%、脱脂乳粉1.25%、榛蘑1.75%、褐变温度94 °C。经验证试验平均得分为92.5分，预测值为92.16分，实际测量值与预测的结果相接近，制作出的产品色泽良好，具有焦糖特征风味，酸甜平衡，质地呈奶油状，黏稠度适宜。同时，由于高温下美拉德反应可能产生有害成分，因此应尽量



注：a. 脱脂乳粉与葡萄糖；b. 棕榈与葡萄糖；c. 褐变温度与葡萄糖；d. 棕榈与脱脂乳粉；e. 褐变温度与脱脂乳粉；f. 褐变温度与棕榈。

图1 各因素交互作用对感官评分影响的响应面图

考虑糖分的类型和褐变程度^[19]。

2.2 挥发性风味物质的分析与比较

2.2.1 嗅感物质的GC-MS分析 采取HS-SPME结合GC-MS分析自制发酵乳的挥发性嗅感风味物质(表2)，共检出36种挥发性化合物，其中烃类有9种、醇类有2种、酯类有12种、酸类有7种、杂环类有4种、酮类有2种。烃类和酯类含量较高，各占全部的26.93%和26.89%，酯类化合物主要源于

表2 褐色风味发酵乳挥发性风味物质GC-MS分析

编号	保留时间/ min	相对峰面 积/%	化合物	种类
1	7.323	1.092	十四烷	烃类
2	7.452	2.841	N-乙酰杂环戊烷	烃类
3	9.070	0.263	戊醇	醇类
4	9.450	6.461	苯乙酸甲酯	酯类
5	9.780	0.648	5-硫代吡喃	杂环类
6	10.197	0.394	戊二烯酸乙酯	酯类
7	10.853	0.599	2,6-二甲基吡啶	杂环类
8	11.018	1.146	苯并噻唑	杂环类
9	11.239	4.016	十八烷	烃类
10	11.527	2.059	苯甲酸酯	酯类
11	12.299	3.520	丙酸乙酯	酯类
12	12.660	0.399	苹果酸	酸类
13	12.734	0.602	十六烷	烃类
14	12.807	4.954	环十二烷	烃类

续表

编号	保留时间/ min	相对峰面 积/%	化合物	种类
15	13.059	1.383	1-丙烯环己烷	烃类
16	13.536	1.962	甲酸辛酯	酯类
17	13.818	2.533	环己烷	烃类
18	14.143	1.901	氨基甲酸苯酯	酯类
19	14.229	0.869	肉豆蔻酸异丙酯	酯类
20	14.345	1.916	2-乙基-3-羟基-4H-吡喃-4-酮	酮类
21	14.535	3.203	4-硝基吡喃	杂环类
22	15.601	2.924	咪唑烷	烃类
23	16.827	2.436	正癸酸	酸类
24	17.985	1.329	乙酸乙酯	酯类
25	18.291	1.368	十二醇	醇类
26	18.457	1.358	异丁酸丁酯	酯类
27	18.616	0.853	邻苯二甲酸乙酯	酯类
28	19.762	1.830	苯甲酸	酸类
29	20.338	2.458	十二烷酸	酸类
30	21.986	3.330	1,2-苯二甲酸-2-甲基丙酯	酯类
31	22.936	1.236	壬二酸	酸类
32	26.269	3.904	十四烷酸	酸类
33	26.551	2.847	邻苯二甲酸二丁酯	酯类
34	26.649	6.587	壬烷	烃类
35	29.143	1.340	十五烷酸	酸类
36	32.121	23.437	六氢-8-羟基-3-甲基-6H-萘啶-6-酮	酮类

乳脂肪酸的水解和微生物代谢作用。酮类化合物占全部挥发性成分的25.35%，主要源于多不饱和脂肪酸的氧化和降解。酸类化合物占13.60%，源于乳酸菌发酵，形成发酵乳特征嗅感风味。美拉德反应生成杂环类化合物，占全部挥发性成分的5.60%，带有麦芽香气味。此外，还检测出少量醇类。

2.2.2 味感物质的电子舌分析 采用主成分分析(PCA)对6种褐色风味发酵乳的电子舌结果进行评价，表3为主成分特征根、贡献率和累积贡献率。PC1的贡献率为73.489%，PC2的贡献率为17.053%，累积贡献率达90.542%，判别指数DI达到99，表明电子舌用于分析发酵乳味感风味区分效果很理想。

表3 主成分特征根和贡献率

主成分	主成分提取结果		
	特征根	贡献率/%	累积贡献率/%
1	6.614	73.489	73.489
2	1.534	17.053	90.542

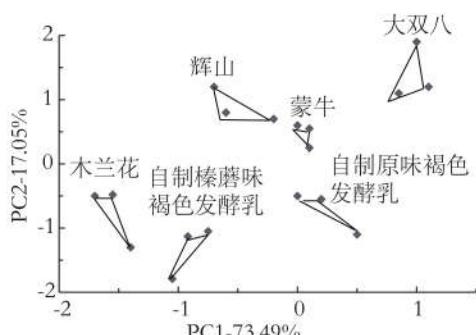


图2 发酵乳电子舌检测结果的PCA分析

将自制褐色发酵乳与市售的4种褐色风味发酵乳比较，如PCA分析所示(图2)，6种发酵乳味感之间没有互相重叠，不同发酵乳之间第一和第二主成分存在明显差异($P<0.05$)，特别是大双八牌和木兰花牌褐色发酵乳，与其他发酵乳的主成分存在较大差异。

不同发酵乳具有风味差异，雷达图反映发酵乳7种味觉值(图3)，其中酸味相差最明显，“大双八”酸味最大，“木兰花”酸味最小，自制原味发酵乳的酸味与“辉山”发酵乳接近。结合主成分分析，可见酸味对于原味发酵乳味感的优势作用，不同品牌的主要味感差别在酸味上。酸味由发酵菌作用底物和产酸量来决定，不同品牌的

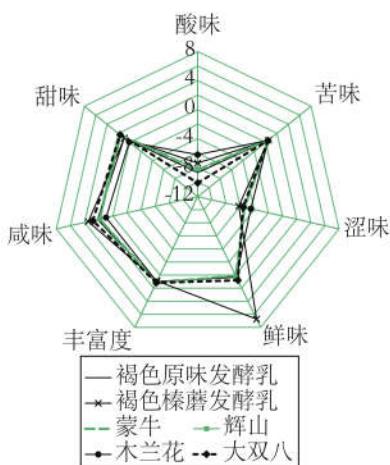


图3 6种发酵乳电子舌检测结果的雷达图

发酵乳中发酵菌种、褐变程度导致的碳氮源残留物是引发酸味差别的主因。同时，这些发酵乳的涩味也存在一定的差异。LI D Y等^[20]研究发现褐色发酵乳中含有43种丰富的代谢物，包括多肽、氨基酸、脂肪酸及相关代谢物、碳水化合物代谢物等。他们认为发酵褐色乳的苦味和涩味可能是由于肽的引入，而甜味和酸味可能是碳水化合物水平变化的结果。

添加了榛蘑的自制褐色发酵乳，其榛蘑的添加是影响风味的重要因素。榛蘑鲜味强、烤香浓郁，与其余5种发酵乳鲜味相差明显($P<0.01$)。6种发酵乳的咸味相比较可知，木兰花品牌咸味低，自制榛蘑风味褐色发酵乳咸味突出。加入榛蘑后发酵乳的酸味也相对减弱。这些风味的变化原因应该是榛蘑中主要的成分氨基酸和脂质对于原来风味的掩蔽和增强作用，说明榛蘑的加入对于改善原有褐色发酵乳的风味具有很大的意义。

3 结论

从自制原味褐色发酵乳中分析出36种挥发性化合物，其中主要嗅感成分为酯类12种、烃类9种、酸类7种。这些风味主要由牛乳脂肪酸的水解、多不饱和脂肪酸的氧化和降解、乳酸菌发酵和美拉德反应引起，其中牛乳脂肪的氧化、水解和微生物的发酵作用是主因。通过各类褐色产品进行味感风味比较，发现最大口味差别是酸味，可见从原味的褐色发酵乳来看，不同品牌中发酵菌种和褐变后乳成分及其占比是形成风味的关键。

在褐色原料乳中添加一定比例的烤制榛蘑粉进行发酵，在保持原味发酵乳的酸味和甜味的基础上，榛蘑的烤香与美拉德褐变反应的增味作用



相叠加，显著地增加了褐色发酵乳的焦香和鲜味。因此在褐色发酵乳中添加一定比例的食用菌，有利于改善褐色发酵乳风味，增加乳制品的营养价值，这将为食用菌在褐色发酵乳中的应用提供新的思路。

参考文献：

- [1] 张晨.褐色酸奶的制备工艺及理化特性研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2018.
- [2] 高薇,张兰威.西藏开菲尔发酵乳中挥发性风味物质分析[J].食品研究与开发,2020,41(3):183-188.
- [3] AGHLARA A, SHUHAIMI M, YAZID A M M, et al. Characterization of headspace volatile flavor compounds formed during kefir production: application of solid phase microextraction[J]. International Journal of Food Properties,2009,12(4):808-818.
- [4] 孙昕萌,袁惠萍,赵矩阳.发酵乳风味及其分析技术研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(15):6111-6117.
- [5] 李义恒,王莹,王启慧,等.甘肃省褐色酸乳工艺发展现状及问题[J].乳业科学与技术,2019,42(2):40-44.
- [6] JIA W, LIU Y Y, SHI L, et al. Integrated metabolomics and lipidomics profiling reveals beneficial changes in sensory quality of brown fermented goat milk[J]. Food Chemistry,2021,364(2):130378.
- [7] CHI X L, SHAO Y W, PAN M H, et al. Distinction of volatile flavor profiles in various skim milk products via HS-SPME-GC-MS and E-nose[J]. European Food Research and Technology,2021,247(6):1539-1551.
- [8] LOLLI V, DALL'ASTA M, CALIGIANI A, et al. Detection of cyclopropane fatty acids in human breastmilk by GC-MS[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022,107(12):104379.
- [9] BOTTIROLI R, TROISE A D, APREA E, et al. Understanding the effect of storage temperature on the quality of semi-skimmed UHT hydrolyzed-lactose milk: an insight on release of free amino acids, formation of volatiles organic compounds and browning[J]. Food Research International, 2021,141(1):110120.
- [10] 陆晨浩,王曦如,仲梦涵,等.基于GC-MS和电子感官技术分析发芽对黑麦茶风味的影响[J].食品科学,2020,41(10):192-197.
- [11] 代良超,肖猛,彭毅秦,等.基于电子舌和理化特征分析成熟度对百香果食用品质的影响[J].食品与发酵科技,2020,56(2):27-32.
- [12] 汤海青,顾晓俊,陈祖满,等.基于电子舌的料酒味觉特征辨识与定量分析[J].核农学报,2020,34(5):1054-1060.
- [13] WEI Z B, ZHANG W L, WANG Y W, et al. Monitoring the fermentation, post-ripeness and storage processes of set yogurt using voltammetric electronic tongue[J]. Journal of Food Engineering,2017,203:41-52.
- [14] YIN T J, YANG Z W, MIAO N, et al. Development of a remote electronic tongue system combined with the VMD-HT feature extraction method for honey botanical origin authentication[J]. Measurement,2021,171(3):108555.
- [15] MARTÍN-VERTEDOR D, RODRIGUES N, MARXÍM G, et al. Impact of thermal sterilization on the physicochemical-sensory characteristics of Californian-style black olives and its assessment using an electronic tongue[J]. Food Control,2020,117:107369.
- [16] VINA S Z, CHAVES A R. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage[J]. Food Chemistry,2006,94(1):68-74.
- [17] 王婧.褐色风味发酵乳的研制及主要风味分析[D].沈阳:沈阳农业大学,2019.
- [18] 冯媛,赵洪雷,曲诗瑶,等.海鲶鱼汤烹制过程中风味特性的变化[J].食品科学,2020,41(8):202-207.
- [19] HAN Z H, GAO J X, LI J Q, et al. Mitigation of 3-deoxyglucosone and 5-hydroxymethylfurfural in brown fermented milk via an alternative browning process based on the hydrolysis of endogenous lactose[J]. Food Function, 2019,10(4):2022-2029.
- [20] LI D Y, ZHENG Y, KWOK L Y, et al. Metabolic footprinting revealed key biochemical changes in a brown fermented milk product using *Streptococcus thermophilus*[J]. Journal of Dairy Science,2020,103(3):2128-2138.