

新型稀奶油-大豆分离蛋白香基的制备

彭雨露, 吴淑蒙, 金亚美, 徐学明, 徐丹*

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为了丰富奶味香基蛋白源营养种类、降低成本并增强其风味强度, 选用大豆分离蛋白部分替代稀奶油构建复合体系, 采用两种不同的酶法结合乳酸菌发酵法, 开发新型奶味香基, 同时对两款香基的感官特性、主要代谢物和风味物质进行分析。结果表明, 一步酶法结合发酵制备的香基具有较高水平的游离脂肪酸和中长链挥发性酸, 并因此呈现出刺激性的酸败味等不良风味; 而两步酶法结合发酵制备的香基积累了更高含量的多肽和氨基酸, 短链挥发性酸以及 3-羟基-2-丁酮、苯甲醛、糠醛、 δ -十二内酯等重要挥发性风味物质, 并获得更高的感官评价分数, 更适于制备新型稀奶油-大豆分离蛋白复合风味香基。

关键词: 奶味香基; 挥发性风味化合物; 蛋白酶; 脂肪酶; 乳酸菌

中图分类号: TS 252.54 文章编号: 1673-1689(2024)02-0047-08 DOI: 10.12441/spyswjs.20220228002

Study on the Preparation of Novel Milk Flavor with Cream and Soy Protein Isolate

PENG Yulu, WU Shumeng, JIN Yamei, XU Xueming, XU Dan*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: To enrich protein nutrition types, reduce cost and enhance flavor of the current milk flavors, soybean protein isolate was used to partially replace cream to build a mixed substrate. Two novel milk flavors were developed based on the mixed substrate by fermentation in combination with two different enzymatic hydrolysis methods. Meanwhile, the organoleptic properties, main metabolites, and volatile compounds were determined for the two milk flavors. The results showed that the flavor prepared by one-step enzymolysis combined with fermentation was more associated with higher levels of free fatty acids and medium-long chain volatile acids, which led to rancid and astringent flavor; while the flavor prepared by two-step enzymolysis combined with fermentation accumulated higher concentrations of polypeptides and amino acids, short-chain volatile acids, 3-hydroxy-2-butanone, benzaldehyde, furfural, and δ -dodecanone, which led to higher sensory evaluation score and regarded as the proper method to prepare the novel cream-soybean protein isolate flavor.

Keywords: milk flavor, volatile compounds, protease, lipase, lactic acid bacteria

收稿日期: 2022-02-28 修回日期: 2022-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001617)。

* 通信作者: 徐丹(1989—), 女, 博士, 讲师, 助理研究员, 主要从事食品微生物与发酵食品等研究。E-mail: xudan1717@163.com

稀奶油因其风味价值广受人们喜爱,在菜式、甜点和烘焙食品中应用广泛,但成本较高,蛋白源物质匮乏,风味物质的种类和含量还具有改善的潜力,同时过多食用稀奶油也会引起胆固醇摄入量、肥胖等问题。因此在丰富奶油蛋白源物质的同时,需对奶油进行进一步增香处理,减少奶油用量并在提高营养价值的同时获得更好的风味。

目前奶味香基的制备大多采用乳脂作为原料或底物,近年来也有研究者尝试添加乳清和奶粉的方法来提高蛋白质含量^[1],但仍存在着成本相对较高和蛋白质种类单一的缺点。大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)是以大豆为原料生产的一种优质植物蛋白,营养全面,脂肪含量低,氨基酸种类全面、含量丰富,并具有增钙、降胆固醇等功效^[2-3]。将SPI作为蛋白质底物添加到奶油中是一种创新尝试,具有制备新型奶味香基的潜力。

随着消费者对天然健康食品的日益青睐及国家监管部门对香精等食品添加剂的控制日趋严格,在奶味香基的制备方法中,生物法是改善香基品质及风味的一条可靠途径。生物法主要包括发酵工程技术和酶工程技术^[4],微生物发酵法除了丰富和提高基质香味之外,还可以带来一些有益的健康属性(如降低胆固醇)^[5]。而蛋白酶、脂肪酶的酶解作用可以降解底物获得更多的肽、氨基酸和脂肪酸等,不仅提高了食品的营养价值,还可以提供呈味组分、风味物质以及风味前体物质,尤其是短链脂肪酸可以赋予食品更好的感官特性^[6];此外,蛋白酶解物还可以有效促进乳酸菌生长,大大缩短发酵时间,促进产酸产香^[7]。目前大多用单一的发酵工程技术或酶工程技术来制备奶味香基,两者单独使用时都存在着各自的不足,前者的缺点在于香气强度不高,香气产率较低;而后的不足在于香气类型单一,易产生不良风味。

作者将SPI加入稀奶油中作为蛋白源底物,将植物蛋白与动物蛋白相结合,构建全新复合底物体系,丰富稀奶油的蛋白质组成,提高蛋白质含量,拓展奶味香基的营养价值以及风味和口感类型。SPI部分替代稀奶油能够进一步降低香基的生产成本,并且拓宽SPI的利用渠道,延伸产业链,提高经济效益。此外,SPI的水解物还可以促进乳酸菌生长,产酸产香,节约时间成本。在此基础上,作者将两种最为常见的酶法:一步法(底物中同时添加蛋白酶和

脂肪酶进行酶解获得最终产品)和两步法(底物先经蛋白酶作用,再经脂肪酶作用获得最终产品),与发酵法相结合制备得到两种不同的稀奶油-SPI复合风味香基,与目前用单一的发酵法或酶法所制备奶味香基相比,能够兼具酶法和生物法的优点。目前人们对奶味香基的研究主要集中在工艺的优化、菌酶种类的筛选、风味物质的测定和对比等方面^[1-4],并未对风味形成与主要代谢物变化建立系统的分析。本研究旨在探究2种酶法与发酵法结合所制备得到的香基其感官、主要代谢物和风味物质的差异,并建立三者之间的联系,以此来探讨酶技术和发酵技术最优的结合。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

稀奶油:雀巢(中国)有限公司;SPI:临沂松山生物制品有限公司;风味蛋白酶(50 000 U/g):上海怡竹生物科技有限公司;Palatase 20 000L(20 000 U/g)脂肪酶:诺维信(中国)生物技术有限公司;所有其他化学品和分析标准品:国药化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

Primo R 型台式离心机:美国加利福尼亚州赛默飞世尔科技公司;超净工作台:上海博讯实业有限公司;PQX 型多段可编程恒温培养箱:浙江宁波东南仪器有限公司;DV3T 型黏度计:美国 Brookfield 公司;UltraScan Pro1166 型色差仪:美国 Hunter Lab 公司;FE20 型 pH 计:上海梅特勒仪器有限公司;DKZ 型电热恒温振荡水浴锅:上海一恒科技有限公司;KQ-300DE 型数控超声波清洗器:江苏昆山市超声仪器有限公司;Agilent 1100 型高效液相色谱仪:美国安捷伦科技有限公司;GC-2030AF 型气相色谱仪、QP2010 Plus Ultra 系统气相色谱-质谱联用仪:日本岛津公司。

1.3 实验菌种、培养基与菌种生长条件

本研究使用的乳酸菌菌株是从传统奶酪中分离的干酪乳杆菌 *Lactobacillus casei*,由江南大学食品学院提供。该菌株在 30 °C 于 MRS 培养基中厌氧培养,在接种到样品中之前,以接种体积分数 2% 在 MRS 液体培养基中进行 2 次 16~20 h 的传代培养。

1.4 实验方法

1.4.1 两种不同酶解方法与发酵结合得到的稀奶油-SPI 复合风味香基的制备 稀奶油和 SPI 以质量比 7:1 混合,充分搅拌,90 °C 灭菌 15 min,然后冷

却至室温得到底物。如图 1 所示,一步酶法结合发酵得到的香基制备时在底物中同时加入 1.5×10^7 CFU/g(稀奶油-SPI 混合底物)的干酪乳杆菌、质量分数 0.1% 的蛋白酶(风味蛋白酶)和质量分数 0.1% 的脂肪酶(Palataase 20000L),30 ℃ 恒温培养 6 h,90 ℃ 灭菌 15 min 得到最终样品。在制备两步酶法结合发酵得到的香基时,首先在底物中接种浓度为 1.5×10^7 CFU/g 的干酪乳杆菌,同时加入质量分数为 0.1% 的蛋白酶,30 ℃ 培养 12 h,90 ℃ 灭菌 15 min,冷却至 45 ℃ 后再加入质量分数为 0.1% 的脂肪酶,45 ℃ 水解 3 h,90 ℃ 灭菌 15 min,得到最终样品。其中,奶油与 SPI 添加比例、酶制剂的选择、菌、酶添加量、发酵与酶解的时间和温度均基于生产商指南与实验室前期感官评价工作确定。尤其是两种不同酶法与发酵法结合制备香基时温度、时间的不同,即分别为 6 h(30 ℃)和 12 h(30 ℃)+3 h(45 ℃),均基于感官评价选择经优化后的最佳工艺条件。两种不同方法均选择最佳风味条件下的样品进行进一步主要代谢物和风味的测定与探讨。

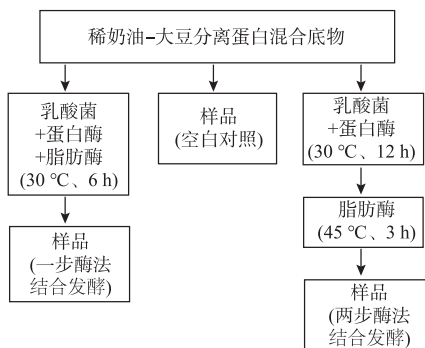


图 1 2 种不同酶法与发酵法结合制备稀奶油-SPI 复合风味香基流程图

Fig. 1 Process flow chart for the preparation of cream-SPI mixed flavor by fermentation in combination with two different enzymatic hydrolysis methods

1.4.2 黏度测定 使用黏度计测定样品黏度,测定温度为 25 ℃,测定时间为 180 s。

1.4.3 色度测定 色差仪进行测定。

1.4.4 可滴定酸和 pH 测定 滴定酸度(以乳酸百分比计)根据官方分析化学家协会(AOAC)920.124 测定,以酚酞作为指示剂,0.1 mol/L 的氢氧化钠标准溶液用于中和滴定,用 pH 计测定。

1.4.5 感官评定 参考 Xu 等的方法,对样品进行感官评价^[8]。感官评价小组由 20 名经过培训的成员

(10 位男性和 10 位女性,年龄 20~25 岁)组成。以 10 分制对每种感官属性进行打分。

1.4.6 有机酸测定 取 1 g 奶油样品并用超纯水稀释至 25 mL,25 ℃ 振荡 1 h,10 000 g 离心 30 min,收集上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,使用高效液相色谱仪进行测定。色谱柱:Aminex HPX-87H(300 mm×7.8 mm×9 μm);流动相:0.008 mol/L 的 H₂SO₄;流量:0.6 mL/min;检测器波长:210 nm;柱温:50 ℃;进样量:10 μL。

1.4.7 多肽相对分子质量测定 取 1 g 奶油样品并用超纯水定容至 25 mL,25 ℃ 振荡 1 h,10 000 g 离心 30 min 后收集上清液并用 0.22 μm 滤膜过滤,采用凝胶排阻高效液相色谱法测定。色谱柱:TSKgel 2 000 SWXL(300.0 mm×7.8 mm);柱温:30 ℃;检测波长:220 nm;流动相:乙腈-水-三氟乙酸,体积比为 40:60:0.1;流量:0.5 mL/min。

1.4.8 游离氨基酸测定 取 1 g 奶油样品并用质量分数 5% 的三氯乙酸定容至 25 mL,常温超声 20 min 后静置 2 h,10 000 g 离心 30 min 后进行微孔过滤,色谱条件按照 Zhou 等设定^[9]。

1.4.9 游离脂肪酸测定 参照 Bao 等的方法进行游离脂肪酸的测定^[6],略有改动。取 5 g 奶油样品与 1 mL 2.5 mol/L 的 H₂SO₄ 和 5 mL 内标物(质量浓度 500.0 mg/L 的 C_{19:0} 乙醚溶液)振荡混合 1 min,0 ℃ 下 10 000 g,离心 10 min,静置 1 h,收集上清液并转移至含有 3 g 无水 Na₂SO₄ 的离心管中,加入 10 mL 正己烷,同样条件下离心后取上清液。用 3 mL 正己烷-乙醚(体积比 1:1)平衡氨丙基分离小柱,将 1 mL 上清液过柱,再用 2 mL 正己烷-乙醚(体积比 1:1)过柱 2 次以洗脱三酰甘油酯,然后用 2 mL 含有质量分数 2% 甲酸的乙醚溶液过柱并收集滤液,氮气吹扫浓缩样品。之后加入 3 mL BF₃-乙醚和甲醇(体积比 1:3),置于 70 ℃ 水浴回流反应 5 min,冷却后加入 3 mL 正己烷萃取,振荡,吸取上层正己烷相并用气相色谱分析。载气为氦气,流量为 1.2 mL/min。程序升温条件如下:165 ℃ 保持 10 min,以 7.4 ℃/min 升温至 200 ℃,保持 22 min。

1.4.10 挥发性风味物质测定 采用固相微萃取(SPME)与气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对挥发性化合物进行测定。取 5 g 样品于 20 mL 顶空小瓶中,60 ℃ 水浴平衡 20 min。将老化后的萃取头(PDMS/DVB)插入小瓶顶部空间吸附萃取 40 min,

之后将其插入气相色谱进样口,解吸 9 min。按照 Xi 等的方法进行色谱和质谱条件的设定^[10]。挥发性化合物通过与 NIST 图库中的质谱进行比较并根据 Vandendool 等的方法^[11]计算保留指数(RI)来进行鉴定,同时,以 2-辛醇为内标采用半定量的方式计算挥发性化合物的含量。

1.4.11 数据分析 所有实验均至少重复 3 次,结果表示为平均值±标准差。采用 SPSS 19.0 进行统计分析,运用方差分析法(ANOVA)的 Duncan’s 法评估显著性差异,显著性水平设为 $P<0.05$ 。采用 Origin 2018 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 风味香基的基本特性与感官评价

如表 1 所示,与对照组相比,一步酶法组和两步酶法组的黏度都显著上升,但两者之间无显著性差异。在色度方面, L^* 代表亮度指数,0 为黑色,100 为白色; a^* 表示红绿的颜色指数,正值越大代表颜色越红,负值越小代表颜色越绿; b^* 表示黄蓝的颜色指数,正值越大代表色泽越黄,负值越小表明色泽越蓝。可以看出,对照组与处理组在色度上皆无显著性差异。

可滴定酸度和 pH 可以反映样品的性质,并且与产品的发酵、蛋白水解和脂解水平有关。处理组中的可滴定酸度明显高于空白对照,这一方面归因于从蛋白质中降解的肽和氨基酸的积累,它们可以作为干酪乳杆菌的营养物质,从而促进其生长和产酸^[12];另一方面是由于脂肪分解形成游离脂肪酸。与两步酶法组相比,一步酶法组的酸度较低,这主要是因为乳酸菌、蛋白酶和脂肪酶共同添加时,脂肪水解生成的大量游离脂肪酸抑制干酪乳杆菌生长产酸^[13]。pH 降低的趋势与滴定酸增加的趋势是一致的,这主要是由乳酸浓度和溶解在水相中的离解型脂肪酸的浓度决定的。两步酶法组的 pH 较一步酶法组低的原因可能是前者实验中乳酸菌生长代谢更为旺盛,积累了更高质量浓度的乳酸,而乳酸电离生成 H^+ 能力比游离脂肪酸强;并且脂肪酶酶解产生的脂肪酸多溶于乳脂中,只有少数中短链脂肪酸会溶于水相^[13]。

图 2 显示了 3 组样品的感官评价结果。两组处理组的干酪味显著高于对照组且差异较小,而两步酶法组表现出较高的酸味和发酵香味属性,一步酶法组的刺激性酸败味最为明显。总体来说,两步酶法组的感官评价最佳。

表 1 奶油样品的基本特性

Table 1 Characteristics of cream samples

样品	黏度/(mPa·s)	色度			可滴定酸(乳酸) 质量分数/(mg/g)	pH
		L^*	a^*	b^*		
空白对照	88.70±5.45 ^b	88.54±0.96 ^a	0.82±0.03 ^a	14.38±0.43 ^a	0.13±0.00 ^c	7.00±0.01 ^a
一步酶法结合发酵	865.15±48.30 ^a	88.43±0.47 ^a	0.79±0.02 ^a	14.29±0.17 ^a	1.94±0.08 ^b	5.81±0.01 ^b
两步酶法结合发酵	890.60±15.03 ^a	88.75±0.19 ^a	0.81±0.05 ^a	14.42±0.28 ^a	2.15±0.05 ^a	5.21±0.01 ^c

注:一行内不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

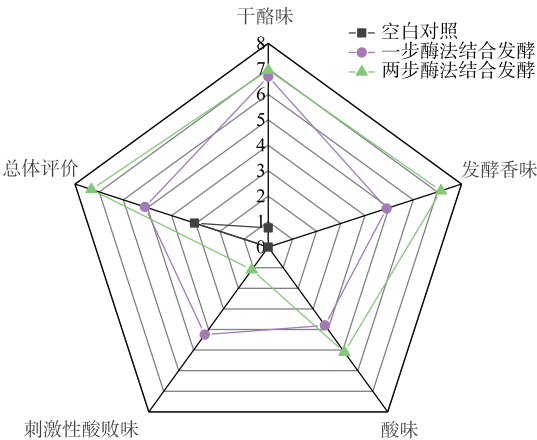


图 2 奶油样品感官评价

Fig. 2 Sensory evaluation of cream samples

2.2 有机酸

有机酸可以作为风味物质或风味前体物质参与代谢活动。由表 2 可以看出,两步酶法组的乳酸浓度较一步酶法组更高,这与 pH 的结果一致,进一步证明脂肪酶和蛋白酶、乳酸菌共同添加,抑制了蛋白酶的水解和乳酸菌的增殖代谢活动。一步酶法组中的乙酸质量分数高于两步酶法组,这是因为乙酸不仅可以由糖酵解和柠檬酸代谢途径产生,还可以通过酮类和醛类的氧化生成^[14],而一步酶法组由于较长的脂肪酶解时间可能积累了更为丰富的游离脂肪酸并被代谢生成醛类、酮类等。两步酶法组的柠檬酸质量分数较低,可能是由于更多地代谢转化为 3-羟基-2-丁酮等挥发性风味化合物^[14]。与对照

组相比,两组处理组中均可以观察到苹果酸的消耗以及丁二酸的积累。

表 2 奶油样品的有机酸质量分数

Table 2 Mass Concentration of organic acids in cream samples

单位:mg/g

样品	乳酸	乙酸	柠檬酸	苹果酸	丁二酸
空白对照	0.13±0.00 ^c	—	0.99±0.08 ^b	1.64±0.05 ^a	3.82±0.00 ^c
一步酶法结合发酵	5.06±0.01 ^b	1.59±0.00 ^a	1.23±0.02 ^a	0.85±0.04 ^c	4.53±0.01 ^b
两步酶法结合发酵	6.18±0.02 ^a	1.47±0.01 ^b	0.76±0.02 ^c	1.06±0.03 ^b	5.05±0.04 ^a

注:“—”代表未检出;一行内不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.3 多肽相对分子质量

蛋白降解为肽类和氨基酸不仅可以增强营养价值也可以提高香基的风味品质。为了解香基的蛋白质水解情况,作者对其的多肽相对分子质量进行了测定。色谱图主要分为 4 个峰区:相对分子质量大于 10 000 的蛋白质区(I 区),相对分子质量为 1 000~10 000 的大相对分子质量肽和多肽区(II 区),相对分子质量为 180~1 000 的小肽区(III 区)和相对分子质量小于 180 的氨基酸区(IV 区)。

如图 3 所示,相较于对照组,两组处理组在 I 区的峰值明显更低,在 II、III 和 IV 区的峰值更高,表明处理组都能不同程度降解蛋白质并积累肽和氨基酸。与一步酶法组相比,两步酶法组在 I 区和 II 区前半部分的峰值更低,而在 II 区后半部分以及 III 和 IV 区的峰值更高,这说明两步酶法组降解蛋白质和大相对分子质量肽更为完全,积累多肽、小肽和氨基酸的效果也更为显著。这一方面是由于其蛋白质水解时间更长,另一方面也是因为蛋白酶和乳酸菌活性没有受到脂肪酶共同添加时带来的抑制影响,能够更好地代谢蛋白质形成肽和氨基酸^[13]。

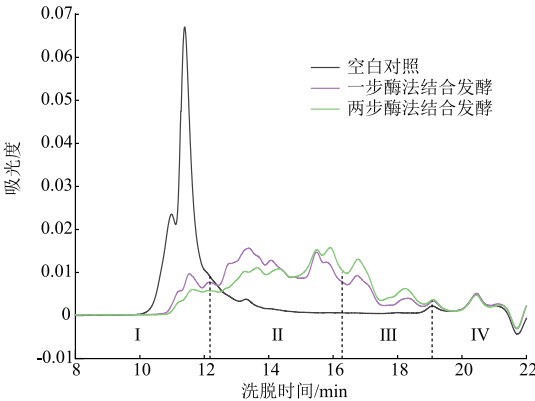


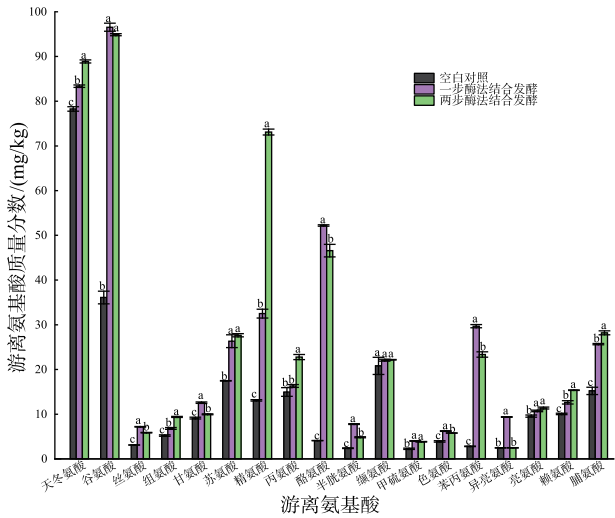
图 3 奶油样品中多肽相对分子质量分布

Fig. 3 Relative molecular weight distribution of peptides in cream samples

2.4 游离氨基酸

游离氨基酸既可以反映产品的蛋白质水解情

况,同时也可以作为合成挥发性风味化合物的重要前体物质^[13]。由图 4 可知,相比于对照组,两组处理组中谷氨酸、精氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸质量浓度显著提高。谷氨酸本身可以作为一种增味剂,它的增加可以减少苦味并影响甜味特性^[15]。两步酶法组与一步酶法组相比,其天冬氨酸、组氨酸、精氨酸、丙氨酸、赖氨酸、脯氨酸质量浓度更高,而丝氨酸、甘氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸的质量浓度则相对较低,这主要是由于菌和酶在消耗代谢时,其特异性、综合性和复杂性所决定的,各种氨基酸转化并不是每个单一氨基酸转化反应的简单加成^[16],氨基酸也会转化成大量的醛类、羧酸类、醇类、胺和吡嗪等化合物^[17-18]。同时,这也与两步酶法组在感官上具有较高的发酵香味属性以及总体评价相符合,因为高浓度的天冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸、脯氨酸对其乳脂味和甜味有着积极影响^[19]。



不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

图 4 奶油样品中游离氨基酸质量浓度

Fig. 4 Free amino acids mass concentration of cream samples

2.5 游离脂肪酸

乳脂是乳香气最重要的来源,乳脂水解生成的

游离脂肪酸能与蛋白质水解以及其他反应的产物形成一定范围的恰当的平衡关系,可获得香基的特征风味^[20]。由图 5 可以看出, $C_{16:0}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{18:0}$ 和 $C_{14:0}$ 是所有样品中最丰富的游离脂肪酸,这与先前报道的研究结果一致^[21]。虽然乳酸菌、蛋白酶和脂肪酶共同添加时脂肪酶会被蛋白酶水解,较低的酶解温度一定程度上也会抑制脂肪酶的活性,但一步酶法组

由于酶解时间较长, 仍旧积累了丰富的游离脂肪酸。然而,在脂肪酶长时间酶解高脂肪体系产生的大量游离脂肪酸中,中短链酸浓度过高会带来刺激性酸味^[14],而具有蜡味、苦味的长链脂肪酸的大量积累,也会对风味有不良影响^[22]。这可能是导致一步酶法组感官评价中刺激性酸败味较高,总体评价也较低的原因。

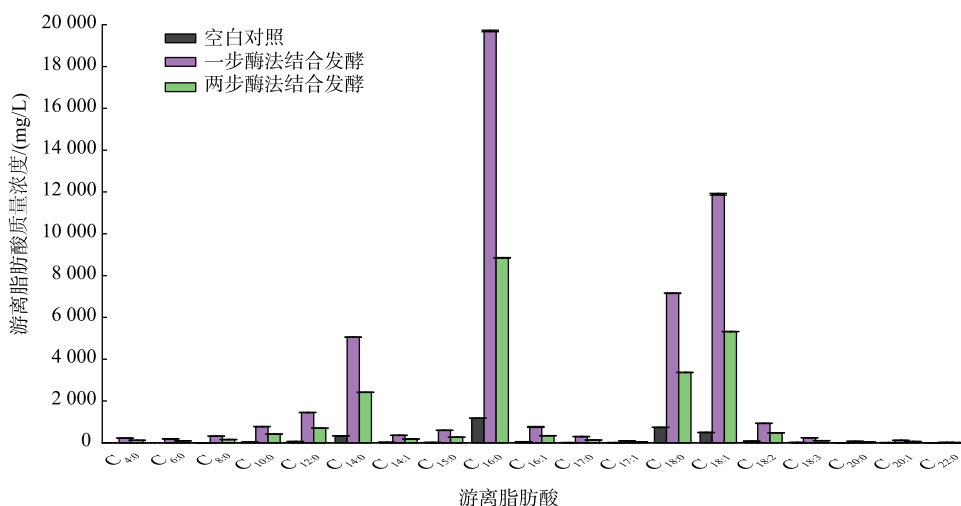


图 5 奶油样品中游离脂肪酸质量浓度

Fig. 5 Free fatty acids mass concentration of cream samples

2.6 挥发性风味化合物

奶味香基中的风味化合物是蛋白质、脂类、糖类和柠檬酸代谢的生物和/或生化转换的结果,它们之间的分解代谢构成复杂的代谢网络,各个途径又相辅相成,互相影响^[23]。采用 SPME-GC-MS 法测定了 3 组样品中的挥发性化合物,空白对照组、一步酶法组、两步酶法组分别共检出 52、56、57 种挥发性物质。图 6 显示了样品中挥发物的相对丰度和分布,颜色代码表示相对丰度,范围从蓝色(低丰度)、白色到红色(高丰度)。

挥发性酸主要在脂解过程中释放,也通过酮、酯、醛的氧化和氨基酸的分解代谢产生^[24]。一步酶法组的中长链挥发性酸质量浓度显著提高,该组中大多数醇类、醛类的质量浓度降低,进一步证明它们更多地代谢转化为挥发性羧酸类物质。乙酸、丁酸和己酸这几种短链挥发酸作为风味的重要贡献者,它们在一步酶法组中的质量浓度显著低于两步酶法组,可能是由于基质和其他风味化合物的综合作用^[21]。

2,3-丁二酮和 3-羟基-2-丁酮主要来自乳糖、柠檬酸和碳酸盐代谢产生的丙酮酸,两者都提供了奶油风味,3-羟基-2-丁酮更是奶酪产品中常见的

强效气味化合物^[13]。两步酶法组中的 3-羟基-2-丁酮含量更高,一方面和该组柠檬酸代谢旺盛的结果相一致,另一方面也说明干酪乳杆菌未受到大量游离脂肪酸的抑制作用,快速增殖,增强了乙偶姻脱氢酶的活性,使得 2,3-丁二酮更多还原成 3-羟基-2-丁酮^[13]。己醛具有典型的豆腥味和草腥味,两组处理组均可以显著降低其浓度。Li 等也研究发现发酵豆奶中己醛含量会显著降低^[25]。苯甲醛、糠醛、 δ -十二内酯作为几种常见的重要芳香物质,可分别赋予产品焦糖杏仁香、杏仁坚果香、椰果香,它们在两步酶法组中含量最高,这可能与该组中乳酸菌的生长代谢活动较为旺盛有关。而两步酶法组在感官评价中表现出较高的酸味和发酵香味属性,这与它高含量的短链挥发性羧酸、3-羟基-2-丁酮、苯甲醛、糠醛、 δ -十二内酯等重要挥发性风味物质密切相关。

3 结 语

作者采用一步酶法和两步酶法结合发酵处理稀奶油-SPI 复合体系,制备出两款新型风味香基。SPI 部分替代稀奶油在降低香基成本的同时,将动物蛋白与植物蛋白相结合,丰富了蛋白质来源的组

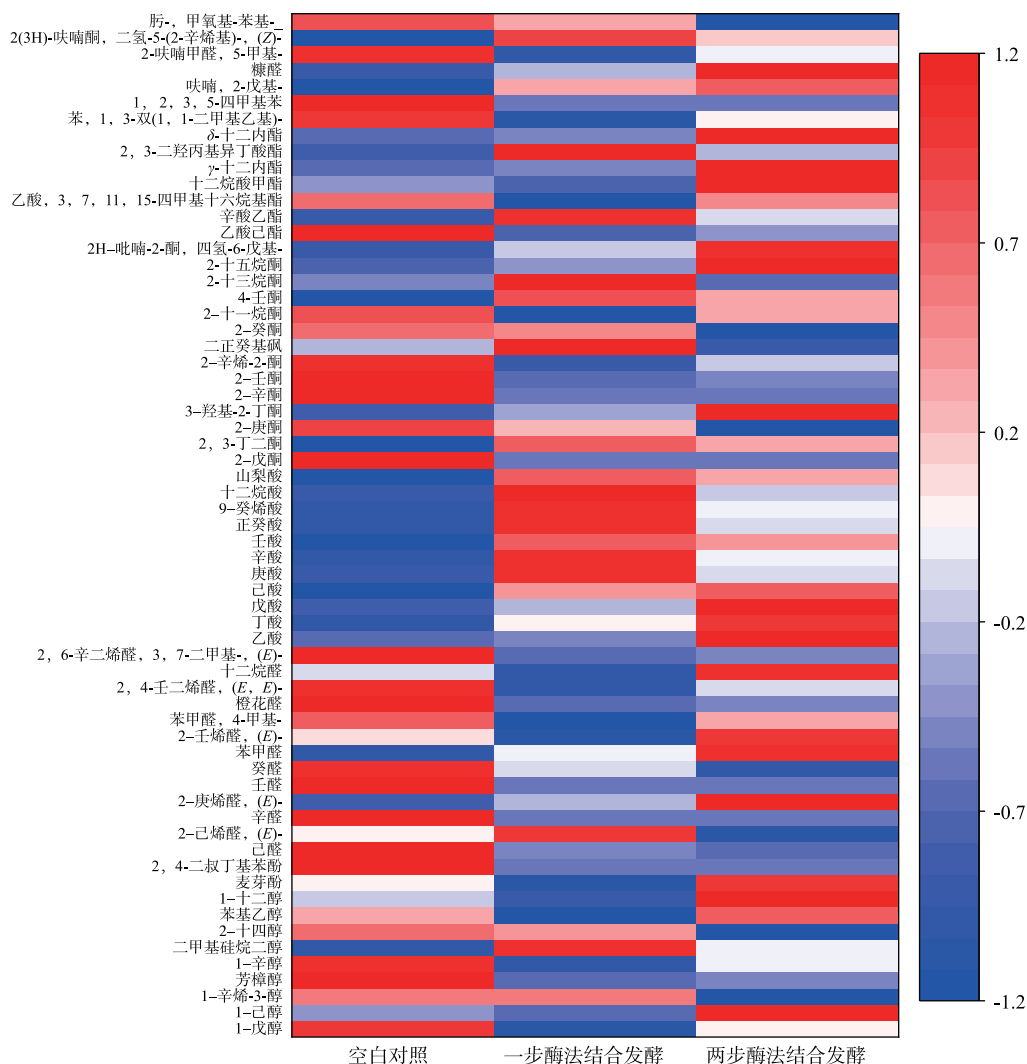


图6 奶油样品中挥发性风味物质热图

Fig. 6 Heat map of volatiles in cream samples

成和含量,提高了香基的营养价值和风味类型,此外,酶法与发酵法相结合的方式克服了单一法制备香基时的不足。同时,目前针对奶味香基在风味与主要代谢物之间的联系鲜有系统的分析。而本研究结果表明,不同酶法结合发酵制备的香基在感官、主要代谢物、挥发性风味物质上都存在明显不同。具体表现为,前者具有较高含量的游离脂肪酸和中

长链挥发性酸,导致其刺激性酸败味较高;而后者则积累了更高质量浓度的多肽和氨基酸、短链挥发性羧酸以及3-羟基-2-丁酮、苯甲醛、糠醛、 δ -十二内酯等重要挥发性风味物质,这可能与其旺盛的乳酸菌代谢活动相关,也使其获得更高的风味评价。总体来说,两步酶解法结合发酵法是制备新型稀奶油-SPI复合风味香基的最佳方法。

参考文献:

- [1] 林伟锋,周艳,鲍志宁,等. 蛋白酶和脂肪酶对稀奶油-乳清体系发酵特性及风味的影响[J]. 食品科学,2018,39(16):140-146.
LIN W F, ZHOU Y, BAO Z N, et al. Effect of protease and lipase on fermentation characteristics and flavor of cream and whey mixture[J]. **Food Science**, 2018, 39(16): 140-146. (in Chinese)
- [2] CHEN L, CHEN J S, REN J Y, et al. Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2011, 59(6): 2600-2609.

- [3] LI D, ZHAO X H. Limited deamidation of soybean protein isolates by glutaminase and its impacts on the selected properties[J]. **International Journal of Food Properties**, 2012, 15(3): 638-655.
- [4] 汪薇, 赵文红, 白卫东, 等. 乳酸菌发酵制备天然奶味香精的研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(10): 191-195.
WANG W, ZHAO W H, BAI W D, et al. Production of natural milk flavor fermented by *Lactobacillus* [J]. **Food and Fermentation Industries**, 2010, 36(10): 191-195. (in Chinese)
- [5] KIM Y, YOON S, SHIN H, et al. Isolation of the cholesterol-assimilating strain *Pediococcus acidilactici* LRCC5307 and production of low-cholesterol butter[J]. **Food Science of Animal Resources**, 2021, 41(2): 300-311.
- [6] BAO Z N, XIONG J A, LIN W F, et al. Profiles of free fatty acids, free amino acids, and volatile compounds of milk bases fermented by *Lactobacillus casei* GBHM-21 with different fat levels[J]. **CyTA – Journal of Food**, 2016, 14(1): 10-17.
- [7] 赵强忠, 黄丽华, 陈碧芬, 等. 大豆分离蛋白酶解产物对自制酸奶品质的影响[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2019, 47(3): 85-92.
ZHAO Q Z, HUANG L H, CHEN B F, et al. Influences of soybean protein isolate hydrolysate on the quality of laboratory prepared yoghurt[J]. **Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition)**, 2019, 47(3): 85-92. (in Chinese)
- [8] XU W, YU G, XUE C H, et al. Biochemical changes associated with fast fermentation of squid processing by-products for low salt fish sauce[J]. **Food Chemistry**, 2008, 107(4): 1597-1604.
- [9] ZHOU Y Q, WU S M, PENG Y L, et al. Effect of lactic acid bacteria on mackerel (*Pneumatophorus japonicus*) seasoning quality and flavor during fermentation[J]. **Food Bioscience**, 2021, 41: 100971.
- [10] XI J Z, XU D, WU F F, et al. Effect of Na₂CO₃ on quality and volatile compounds of steamed bread fermented with yeast or sourdough[J]. **Food Chemistry**, 2020, 324: 126786.
- [11] VAN DEN DOOL H, KRATZ P D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography[J]. **Journal of Chromatography A**, 1963, 11: 463-471.
- [12] GÄNZLE M G, VERMEULEN N, VOGEL R F. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough [J]. **Food Microbiology**, 2007, 24(2): 128-138.
- [13] 鲍志宁. 干酪乳杆菌 GBHM-21 鉴定、中试制备及发酵技术研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2015.
- [14] 周艳. 生物法制备稀奶油-乳清复合风味乳基的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [15] KILCAWLEY K N, WILKINSON M G, FOX P F. A novel two-stage process for the production of enzyme-modified cheese[J]. **Food Research International**, 2006, 39(5): 619-627.
- [16] VAN DE BUNT B, BRON P A, SIJTSMA L, et al. Use of non-growing *Lactococcus lactis* cell suspensions for production of volatile metabolites with direct relevance for flavour formation during dairy fermentations[J]. **Microbial Cell Factories**, 2014, 13: 176.
- [17] ZULJAN F A, MORTERA P, ALARCÓN S H, et al. Lactic acid bacteria decarboxylation reactions in cheese[J]. **International Dairy Journal**, 2016, 62: 53-62.
- [18] ARDÖ Y. Flavour formation by amino acid catabolism[J]. **Biotechnology Advances**, 2006, 24(2): 238-242.
- [19] ALI B, KHAN K Y, MAJEED H, et al. Imitation of soymilk-cow's milk mixed enzyme modified cheese: their composition, proteolysis, lipolysis and sensory properties[J]. **Journal of Food Science and Technology**, 2017, 54(5): 1273-1285.
- [20] FIRL N, KIENBERGER H, RYCHLIK M. Validation of the sensitive and accurate quantitation of the fatty acid distribution in bovine milk[J]. **International Dairy Journal**, 2014, 35(2): 139-144.
- [21] SAMET-BALI O, AYADI M A, ATTIA H. Traditional Tunisian butter: physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction[J]. **LWT—Food Science and Technology**, 2009, 42(4): 899-905.
- [22] OMAR K A, GOUNGA M E, LIU R J, et al. Effects of microbial lipases on hydrolyzed milk fat at different time intervals in flavour development and oxidative stability[J]. **Journal of Food Science and Technology**, 2016, 53(2): 1035-1046.
- [23] SARHIR S T, AMANPOUR A, BOUSETA A, et al. Fingerprint of aroma-active compounds and odor activity values in a traditional Moroccan fermented butter “Smen” using GC-MS-Olfactometry [J]. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2021, 96: 103761.
- [24] SAHINGIL D, HAYALOGLU A A, SIMSEK O, et al. Changes in volatile composition, proteolysis and textural and sensory properties of white-brined cheese: effects of ripening temperature and adjunct culture[J]. **Dairy Science & Technology**, 2014, 94(6): 603-623.
- [25] LI C C, LI W, CHEN X H, et al. Microbiological, physicochemical and rheological properties of fermented soymilk produced with exopolysaccharide (EPS) producing lactic acid bacteria strains[J]. **LWT—Food Science and Technology**, 2014, 57(2): 477-485.