

杀菌方法对牛乳中特征香气物质的影响

韩兆盛¹, 王姣¹, 王亚东¹, 康志远^{2,3}, 王世杰², 姚欢^{2,3}, 王蓓^{1*}, 孟繁宇¹

¹北京工商大学食品与健康学院 北京 100048

²石家庄君乐宝乳业有限公司 石家庄 050221

³威县君乐宝乳业有限公司 河北邢台 054700

摘要 超高温瞬时杀菌法(UHT)、巴氏杀菌法和浸入式杀菌技术(INF)等是应用较为广泛的牛乳杀菌方法,本研究利用溶剂辅助风味蒸发法(SAFE)对生牛乳和 3 类杀菌乳中挥发性风味组分差别进行研究,结果表明:从 4 种牛乳中共检出挥发性香气物质 48 种,包括脂肪酸类 11 种、酮类 5 种、醛类 6 种、含硫化合物 2 种、酯类 6 种、醇类 5 种、芳香及杂环类化合物 13 种。在此基础上结合阈值进一步确定了上述风味组分的香气活性值(OAV)。4 种牛乳样品中共有 23 种 OAV 值大于 1 的关键风味化合物,其中十六酸甲酯、2-壬酮和己醛等对牛乳整体风味的贡献度较大。基于偏最小二乘回归(PLS)对 4 种牛乳中关键风味组分和牛乳感官特征之间的相关性进行分析,结果表明:INF 乳和巴氏杀菌乳的感官特征更为相似,具有较强奶香味与甜味,其对应的化合物为 2-壬酮、2(5H)-呋喃酮和乙酸丁酯。UHT 乳的感官特征为具有蒸煮味、浓厚感较强。该感官特征与二甲基砷、二甲基硫、2-乙基-1-己醇和 2-十三酮等组分相关性较大。此外,生牛乳风味组分相对较少。

关键词 牛乳风味; 巴氏杀菌; 超高温瞬时杀菌; 浸入式杀菌; 溶剂辅助风味蒸发法

文章编号 1009-7848(2022)11-0368-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.11.038

牛乳中含有丰富的蛋白质、脂肪和氨基酸等营养成分,营养丰富,然而,极易受微生物污染,因此原料牛乳经过收集、运输及贮存后,对其进行有效灭菌,是生产加工前一项必不可少的步骤^[1-3]。目前,超高温瞬时杀菌(Ultra-high temperature instantaneous sterilization, UHT)和巴氏杀菌是应用比较广泛的两种牛乳杀菌方式^[4]。巴氏杀菌一般是在 72~85 °C 温度范围,持续杀菌 15 s 来达到杀菌的目的^[5]。UHT 杀菌技术则是将牛乳快速加热到 135~140 °C,杀菌 3~4 s 来达到灭菌的一种方法^[6]。浸入式杀菌技术(Infusion technology, INF)是一种新型的牛乳热杀菌技术,该技术直接将牛乳与蒸汽进行混合而杀菌,杀菌温度高达 143~158 °C,杀菌时间短至 0.1 s 左右^[7]。其杀菌温度较 UHT 高,而杀菌时间更短。目前,国内外关于 INF 乳中风味物质的研究较少,因而确定 INF 杀菌方法对牛乳风味的影响,对牛乳杀菌方法的改进与创新具有重要意义。

牛乳作为一种组成复杂的胶体,其化学成分受热处理的影响较大,特别是加热后风味物质的改变会直接影响牛乳的感官品质^[8]。牛乳制品的挥发性风味物质种类繁多,而其含量较低,在杀菌过程中易发生改变的特性使牛乳风味物质的研究变得更加复杂。溶剂辅助风味蒸发法(Solvent assisted flavor evaporation, SAFE)是利用高真空泵维持高真空状态和利用液氮营造低温环境来萃取食品中挥发性风味组分的一种萃取方法。该萃取技术具有回收率高,可萃取吸附更多的极性风味物质和精准定量等诸多优势。SAFE 因具有高真空的特点而被用于高沸点或难挥发性物质的萃取,萃取得到的成分没有“煮熟”味,香气物质自然真实^[9],尤其适合提取液态乳制品等食品中的挥发性成分^[10]。关于利用 SAFE 法萃取牛乳风味的相关研究已有较多报道,如:艾娜丝等^[11]对比了 SDE 与 SAFE 来分析全脂巴氏乳的挥发性成分;刘南南等^[12]利用 SAFE-GC-MS 分析酸牛奶挥发性成分;Kirsch 等^[13]利用 SAFE 萃取母乳中的风味化合物,并进行了定性、定量分析。

本研究以 SAFE 这一风味萃取技术,结合气相色谱-质谱联用(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)为研究方法,对原料乳在进

收稿日期: 2021-11-16

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1604305);河北省重点研发计划项目(20321201D,205676108H)

第一作者: 韩兆盛,女,硕士生

通信作者: 王蓓 E-mail: wangbei@th.btbu.edu.cn

行不同杀菌工艺处理后的风味物质的变化情况进行分析,同时结合感官评定试验和统计学方法,研究不同杀菌方法对牛乳风味组分与感官品质的影响。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

生牛乳、巴氏杀菌乳、INF 乳和 UHT 乳均来自于君乐宝提供的相同乳源的同一批次牛乳。生牛乳中蛋白质质量分数为 3.38%、脂肪质量分数为 3.35%、乳糖质量分数为 4.64%,pH 值为 6.66。

正构烷烃 (C7~C24, 色谱纯级), 美国 o2si smart solutions 公司;2-甲基-3-庚酮(色谱纯级), sigma 公司;氮气(纯度 99.999%), 北京氮普北分公司;二氯甲烷(色谱纯级), 北京化学试剂公司。

1.2 仪器与设备

DB-WAX 型毛细管柱 (60 m×0.25 mm, 0.25 μm), 美国 Agilent 公司;7890B-5977A 型气相色谱-质谱联用仪, 美国 Agilent 公司;氮吹仪, 天津奥特塞恩斯仪器有限公司;SAFE 装置, 德国 Glasblaserei Bahr 公司。

1.3 方法

1.3.1 牛乳中风味组分萃取 1 000 mL 圆底烧瓶用于收集废液, 并稳定在 40 ℃的恒温水浴锅中; 500 mL 圆底烧瓶用于收集萃取液, 置于-196 ℃液氮的冷阱中。整个 SAFE 装置需要维持在 10⁻⁶ 的真空度下进行, 并且循环水浴的温度保持在 50 ℃。待 SAFE 装置的真空度和水浴温度都稳定后, 将 200 mL 牛乳和 200 μL 内标物 2-甲基-3-庚酮 (0.816 mg/mL) 混匀后倒入 SAFE 装置的分液漏斗中, 打开滴液漏斗活塞, 缓慢滴加, 萃取过程中保证真空泵的压力处于稳定状态。待滴液漏斗中剩余少量牛乳时, 停止萃取, 关闭真空泵, 压力逐渐释放。将萃取液移至 250 mL 分液漏斗中, 同时用重蒸后的 50 mL 二氯甲烷分 3 次进行萃取得到有机相, 用 100 mL 圆底烧瓶接收有机相后, 将圆底烧瓶置于 50 ℃水浴锅中, 用 Vigreux 柱精馏浓缩后进行氮吹至 200 μL, 然后取 1 μL 萃取液进行 GC-MS 分析。试验重复 3 次取其平均值。

1.3.2 GC-MS 分析方法

1.3.2.1 GC 条件 使用 DB-WAX 毛细管柱。色

谱柱的升温程序为: 初始柱温 40 ℃, 维持 2 min, 以 7 ℃/min 升温到 75 ℃; 再以 2 ℃/min 升到 150 ℃; 最后以 5 ℃/min 升到 230 ℃, 保持 2 min。载气 (氮气) 的流速为 1.2 mL/min, 采用不分流模式。

1.3.2.2 MS 条件 进样口温度设置为 250 ℃, 离子源温度为 230 ℃, 四极杆温度为 150 ℃; 采用全扫描模式, 质量扫描范围为 *m/z* 35~350; 电子电离 (Electron ionization, EI) 源, 电子能量为 70 eV。

1.4 定性、定量分析

1.4.1 定性分析 利用 4 种方法来定性化合物: 质谱库检索 (MS)、保留指数 (RI)、嗅闻 (O) 和标准化合物 (S)。

1.4.1.1 质谱库检索 (MS) 在 NIST14 谱库中进行化合物的检索与分析。

1.4.1.2 保留指数 (RI) 将通过公式计算得出的保留指数 (RI) 值与文献中的保留指数值进行对比确认化合物。保留指数的计算方法为: 在相同的色谱条件下测定系列正构烷烃 C7~C24 与牛乳样品, 从而得到保留时间, 再根据计算公式可求出待测化合物的 RI 值 ($t_n < t_i < t_{n+1}$)。

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

式中, RI——待测化合物的保留指数; t_i ——待测化合物 *i* 的保留时间, min; t_n ——碳原子数为 *n* 的正构烷烃的保留时间, min; t_{n+1} ——碳原子数为 *n*+1 的正构烷烃的保留时间, min。

1.4.1.3 气相色谱-嗅闻 (Gas chromatography-olfactometry, GC-O) 将气相色谱与嗅探系统相结合, 用于嗅闻气味活性成分。取 1 μL 的萃取液注射到气相色谱, 为了避免气味物质的遗漏与损失, 由 4 名通过专业培训的小组成员进行嗅闻, 嗅闻人员记录嗅闻得到的味道、强度以及时间。如果有两位或两位以上成员嗅闻到气味, 则可以确定嗅闻到气味的时间。然后将嗅闻结果与该化合物的标准品进行对比, 进一步确定化合物的气味。

1.4.1.4 标准化合物 (S) 取一系列牛奶风味化合物的标准化合物进行 GC-MS 测定, 并与在同一 GC-MS 条件下测定的牛奶样品中的化合物进行对比, 当标准化合物和牛奶样品中的化合物均在同一时间被检测到, 则可判断出两者为同一种化合物。

1.4.2 定量分析 根据风味化合物与内标化合物的峰面积之比等于其含量之比来计算得出各化合物的含量。

1.5 感官评价

由 11 位专业感官评价成员组成的感官评价小组针对 4 种牛乳的奶香味(前味)、奶香味(后味)、入口甘甜、回味甘甜、口感浓厚程度和蒸煮味这 6 个感官属性进行了感官评价,评价属性及标准见表 1^[14-15]。生牛乳的所有牛乳样品尝时均在口中停留 5 s 后吐出,并依次用 0.7% 的无菌生理盐水、清水漱口清洁口腔。

1.6 数据处理

本研究采用 SIMCA 14.1 进行偏最小二乘回归(Partial least squares, PLS)分析;所有表格绘制采用 Excel 2019 进行处理。

2 结果与分析

2.1 杀菌方法对风味成分的影响

牛乳中的挥发性化合物的含量较低种类较少,很难对其进行全面的检测,因此本研究采用 SAFE 能够萃取到更多的风味化合物。应用 GC-MS 和 GC-O 对生牛乳、巴氏杀菌乳、INF 乳和 UHT 乳这 4 种牛乳进行测定与分析。在 4 种牛乳中共检测出 48 种挥发性风味化合物,其中嗅闻检测得到 30 种,主要为酸类、酮类、醛类等化合物。在 4 种牛乳样品中,UHT 乳中检测得到的风味化合物的种类和含量最多,其次是 INF 乳和巴氏杀菌乳,最后是生牛乳。图 1 展示了牛乳中各类风味化合物的含量,其中 4 种牛乳样品中含量最高的均是酸类组分,其次是酯类组分或芳香及杂环类化合物,含量较小的是醛类、酮类和醇类组分。此外,不同杀菌方法对应的各类化合物含量有所差别,因而杀菌方式对牛乳风味有一定影响,接下来对表 2 中各类物质分别讨论。

2.1.1 脂肪酸类化合物 牛乳中约 98% 的脂肪酸以三酰基甘油的形式存在,必须通过脂肪酶或加工应激释放才能形成香气化合物。牛乳中的许多关键香味和风味来自于牛乳脂肪中的短链(C4~C5)和中链(C6~C10)脂肪酸^[16],脂肪酸不仅是芳香成分,而且是甲基酮、醇、内酯、醛和酯形成的前体^[17]。生牛乳和 3 种杀菌方式的分析结果表明生

表 1 感官评价标准

序号	属性	评价标准
1	奶香味(前味)	牛乳原本具有的奶香味的强度
2	奶香味(后味)	品尝结束后,残留奶香味的强度大小
3	入口甘甜	牛乳本身甘甜味的强度
4	回味甘甜	品尝结束后,残留甘甜味的强度大小
5	口感浓度程度	稀奶油在口中的浓厚感觉
6	蒸煮味	巴氏杀菌牛乳煮沸冷却 3 min 后的气味

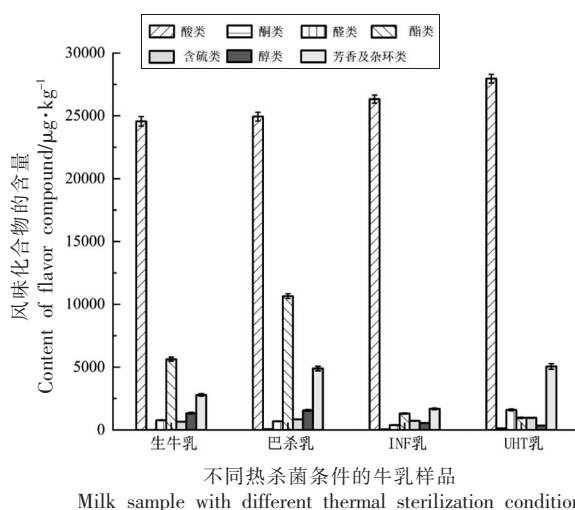


图 1 不同热杀菌条件下牛乳中化合物含量的变化图
Fig.1 Changes of compound content in milk under different thermal sterilization conditions

牛乳共检测出 11 种脂肪酸类化合物,巴氏杀菌乳中 8 种,INF 乳中 9 种,UHT 乳中 11 种,其中除了长链脂肪酸和丙酸外,均能嗅闻得到,因此脂肪酸类化合物对牛乳风味贡献较大。此外,值得注意的是不同牛乳样品中丁酸、己酸等具有较低阈值的中短碳链脂肪酸含量相差较大。这些中短碳链的脂肪酸在低浓度时具有奶香味,而含量过高时则会呈现出较强酸臭气味,是牛乳中关键挥发性风味组分。4 种牛乳样品中 UHT 乳中脂肪酸总含量最高(27 962.86 $\mu\text{g}/\text{kg}$),其丁酸和己酸的含量明显高于其它两种杀菌工艺。说明了随着杀菌处理强度的增加,牛乳中脂肪酸总含量随之增加。然而,巴氏杀菌乳和 INF 乳中的脂肪酸类化合物含量差

表2 4种牛乳样品中挥发性风味化合物定量结果
Table 2 Quantitative results of volatile compounds in four kinds of milk samples

化合物	RI 值	嗅闻结果	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$				定性方法 ^a
			生牛乳	巴杀乳	INF 乳	UHT 乳	
酸类							
乙酸	1 449	醋酸味	273.02 ± 9.86	366.38 ± 14.26	289.08 ± 8.95	242.14 ± 7.12	MS, RI, O, S
丙酸	1 526	酸臭味	50.26 ± 2.28		58.62 ± 3.52	27.79 ± 2.61	MS, RI, S
丁酸	1 637	汗臭味	88.97 ± 3.22		33.90 ± 1.08	228.67 ± 7.98	MS, RI, O, S
己酸	1 846	腐酸味	729.28 ± 28.19	380.76 ± 9.61	304.49 ± 9.81	1 298.12 ± 38.62	MS, RI, O, S
庚酸	1 918	酸臭味	127.91 ± 5.02	183.55 ± 6.75		234.49 ± 6.28	MS, RI, O, S
辛酸	2 050	油脂味	1 299.65 ± 38.93	1 748.11 ± 37.91	1 077.44 ± 27.16	1 656.68 ± 39.87	MS, RI, O, S
壬酸	2 171	腐臭味	1 045.54 ± 35.11	1 395.82 ± 33.85	429.92 ± 19.52	884.07 ± 21.60	MS, RI, O, S
癸酸	2 279	腐臭味	3 152.30 ± 64.25	1 615.91 ± 45.87	1 171.04 ± 29.71	1 773.61 ± 41.36	MS, RI, O, S
十四酸	2 716		1 627.98 ± 41.18	1 766.11 ± 38.49	884.36 ± 28.29	124.87 ± 3.24	MS, RI, S
十六酸	2 928		15 609.70 ± 124.46	17 485.00 ± 165.23	22 081.30 ± 187.88	21 141.10 ± 166.81	MS, RI
9-癸酸	2 356		552.12 ± 23.53			351.32 ± 16.58	MS, RI, O
种类总计	11		11	8	9	11	
含量总计			24 567.73	24 941.64	26 330.13	27 962.86	
酮类							
2-庚酮	1 182	肥皂水味				38.47 ± 3.06	MS, RI, O, S
2-壬酮	1 390	奶香味		21.42 ± 1.78	35.58 ± 4.62	31.03 ± 2.52	MS, RI, O, S
2-十一酮	1 598	果香		29.81 ± 3.41		19.79 ± 0.89	MS, RI, O, S
2-十三酮	1 813	花香		20.45 ± 3.09	18.15 ± 2.91	27.99 ± 2.13	MS, RI, O, S
2-十五酮	2 041		16.89 ± 2.04			18.58 ± 1.54	MS, RI, S
种类总计	5		1	3	2	5	
含量总计			16.89	71.68	53.73	135.86	
醛类							
己醛	1 035	青草味	161.12 ± 10.59	100.56 ± 5.26	63.11 ± 4.89		MS, RI, O, S
辛醛	1 273					64.07 ± 2.42	MS, RI, S
壬醛	1 382	油腊味	618.38 ± 21.05	478.05 ± 20.15	328.70 ± 15.02	252.17 ± 14.59	MS, RI, O, S
癸醛	1 485	肥皂味		108.53 ± 5.49			MS, RI, O, S
十二醛	1 711	脂肪味				1 136.42 ± 42.06	MS, RI, O, S
十四醛	1 924	脂肪味				143.55 ± 7.25	MS, RI, O
种类总计	6		2	3	2	4	
含量总计			779.50	687.15	391.80	1 596.21	
酯类							
乙酸丁酯	887			150.60 ± 4.56	125.58 ± 4.02	47.38 ± 3.09	MS, RI, S
十四酸甲酯	2 034		30.09 ± 1.68			20.80 ± 1.88	MS, RI

(续表2)

化合物	RI 值	嗅闻结果	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$				定性方法 ^a
			生牛乳	巴杀乳	INF 乳	UHT 乳	
十四酸异丙酯	2 063		168.84 ± 5.72	374.41 ± 9.62	141.85 ± 4.89	102.35 ± 5.23	MS, RI
十六酸甲酯	2 251	水果味	2 568.83 ± 66.81	6 694.34 ± 96.31	667.88 ± 21.54	803.00 ± 35.94	MS, RI, O, S
十六酸乙酯	2 288		1 466.78 ± 41.86		378.80 ± 10.64		MS, RI, S
十八酸甲酯	2 445		1 403.12 ± 40.35	3 425.50 ± 77.21			MS, RI
种类总计	6		5	4	4	4	
含量总计			5637.60	10644.85	1314.11	973.53	
含硫化物							
二甲基硫	760	蒸煮味	157.09 ± 5.12	217.63 ± 5.91	210.09 ± 5.47	321.26 ± 7.83	MS, RI, O, S
二甲基砷	1 887	硫磺味	495.71 ± 14.65	627.42 ± 18.29	526.07 ± 18.54	652.30 ± 20.94	MS, RI, O, S
种类总计	2		2	2	2	2	
含量总计			652.80	845.04	736.16	973.56	
醇类							
2-乙基-1-己醇	1 484	玫瑰花香		63.25 ± 4.59	33.04 ± 1.51	68.75 ± 4.42	MS, RI, O, S
(Z)-3-己烯-1-醇	1 389	青草味		154.46 ± 8.45			MS, RI, O
十二醇	1 953	花香味	452.21 ± 18.52	662.93 ± 22.14	523.62 ± 18.65	200.03 ± 9.29	MS, RI, O
十四醇	2 200	椰子味	558.93 ± 23.46	691.98 ± 24.81		84.17 ± 3.46	MS, RI, O
十六醇	2 400		332.48 ± 15.94				MS, RI
种类总计	5		3	4	2	3	
含量总计			1 343.61	1 572.61	556.66	352.90	
芳香及杂环类							
甲苯	1 042	水果甜味	1 071.45 ± 31.25	3 021.74 ± 101.35	557.07 ± 29.88	850.29 ± 34.52	MS, RI, O
苯乙烯	1 254	塑料味				1 420.97 ± 68.27	MS, RI, O, S
对二甲苯	1 119		289.16 ± 6.42	413.95 ± 15.29	235.25 ± 6.24	969.39 ± 42.18	MS, RI
乙苯	1 123		56.80 ± 2.31	113.79 ± 5.91	124.97 ± 3.49	478.94 ± 15.83	MS, RI
柠檬烯	1 200	柠檬味	534.95 ± 24.16	628.77 ± 28.67	132.32 ± 3.21	70.73 ± 3.76	MS, RI, O, S
苯甲醛	1 529	苦杏仁味				42.12 ± 1.96	MS, RI, O, S
4-乙基苯甲醛	1 730				87.01 ± 2.43		MS, RI
呋喃醛	1 466	苦杏仁味				48.60 ± 2.04	MS, RI, O, S
呋喃醇	1 665	焦糖味				39.34 ± 1.56	MS, RI, O
2(5H)-呋喃酮	1 767	奶香味	101.53 ± 6.23	177.23 ± 7.54	168.14 ± 6.51	119.18 ± 6.87	MS, RI, O, S
苯乙酮	1 652				50.77 ± 2.16	50.25 ± 2.73	MS, RI
萘	1 791			56.77 ± 2.49		36.84 ± 0.93	MS, RI
2,6-二叔丁基对甲酚	1 920		733.88 ± 31.89	481.84 ± 21.84	328.66 ± 12.64	929.26 ± 38.12	MS, RI
种类总计	13		6	7	8	12	
含量总计			2 787.77	4 894.09	1 684.19	5 055.91	

别不大,说明两者杀菌程度比较相似。

2.1.2 酮类化合物 酮类化合物通常以甲基酮的形式存在,甲基酮是由脂肪酸氧化降解所产生。甲基酮的生成过程包括脂肪酸(主要从 C6 到 C12)氧化为 β -酮酸,然后 β -酮酸脱羧得到相应的少一个碳原子的甲基酮^[18]。牛乳中常见的甲基酮如 2-庚酮,2-壬酮和 2-十一酮等有助于形成乳制品的独特风味,并且它们具有较低的感知阈值^[19-20]。表 2 中列出了 4 种牛乳样品中的甲基酮类物质,UHT 乳 5 种,巴氏杀菌乳 3 种,INF 乳 2 种,生牛乳 1 种。其中检测得到的酮类化合物中能够被嗅闻得到的有 4 种,主要分布在 UHT 乳中,而生牛乳未检出任何嗅闻化合物,因此酮类组分也是牛乳杀菌过程中产生的关键风味组分。此外,就酮类化合物含量而言,3 种杀菌乳中的酮类总量明显高于生牛乳,其中 UHT 乳中酮类化合物的含量最高,而巴氏杀菌乳与 INF 乳两者间甲基酮含量接近。其中,2-壬酮在 3 类杀菌乳中,含量随着加热强度的增加逐渐加大(巴氏杀菌乳 21.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$,INF 乳 35.58 $\mu\text{g}/\text{kg}$,UHT 乳 31.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$),说明高温会促进 2-壬酮的合成。大部分甲基酮化合物的阈值均较低(如:2-十一酮阈值为 6.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[21]),且大部分具有良好热牛奶味道,其对牛乳的感官品质的提升具有积极作用。

2.1.3 醛类化合物 醛类主要来自于不饱和脂肪酸的氧化和氨基酸的微生物降解(转氨化后脱羧)或通过 Strecker 降解^[22]。戊醛和庚醛等部分醛类还可能来源于光氧化。当牛乳受到光照时,光照和氧气与乳脂中的不饱和脂肪酸三酰甘油发生反应,形成各种羰基化合物,从而产生油脂氧化味道^[23]。此外,醛类还可以通过醇脱氢酶还原为醇或通过醛脱氢酶氧化为羧酸^[23]。表 2 显示:有 6 种醛类化合物在生牛乳和 3 种杀菌方式的牛乳样品被检测到,其中生牛乳 2 种,巴氏杀菌乳 3 种,INF 乳 2 种,UHT 乳 4 种。检测到的醛类化合物大部分都能被嗅闻到,其中己醛和壬醛作为牛乳中重要的醛类物质,大多具有青草和果木香气^[24],其在巴氏杀菌乳和 INF 乳中均能被嗅闻到,而且其含量在这两类乳中相近,所以巴氏杀菌乳和 INF 乳的风味特征较为相似。随着杀菌强度的增加,己醛和壬醛的含量普遍降低,说明杀菌温度的增加可能会导

致中短碳链的醛类发生进一步反应而损失。此外,长链醛类如十二醛和十四醛仅在杀菌强度较高的 UHT 乳检测得到,可能是高温下乳脂肪进一步氧化的产物。醛类化合物是牛乳中常见的风味化合物,尤其存在于热处理后的牛乳中,其具有的油脂味道带给牛乳独特的风味感受^[25]。

2.1.4 酯类化合物 通常游离脂肪酸和短链脂肪醇通过酯化反应会形成酯类化合物,甲酯类和乙酯类是牛奶中常见的酯类物质^[26]。酯类物质具有果香、清甜的味道,对提高乳制品风味层次和感官品质产生积极作用^[27-28]。由表 2 可知:在酯类化合物中仅有十六酸甲酯被嗅闻得到,并且其含量明显高于其它酯类,十六酸甲酯在巴氏杀菌乳中其含量较高,可能是较温和的杀菌条件更有助于十六酸甲酯的存在。在检测到的酯类化合物中仅有乙酸丁酯这一短链酯类被检出,其它被检出的多为长链酯类,其中十四酸异丙酯和十六酸甲酯均存在于 4 种牛乳中。酯类化合物一般具有水果气味,如乙酸丁酯和十六酸甲酯具有水果味,十四酸甲酯具有蜂蜜味,酯类一般能赋予牛乳较好的感官特征。

2.1.5 含硫化合物 含硫化合物是牛乳蛋白质(如 β -乳球蛋白和乳脂球膜蛋白)在高温下变性降解为含硫氨基酸(如半胱氨酸和蛋氨酸),进而含硫氨基酸被氧化或者 Strecker 降解所产生的^[29-30]。蛋白质水解产生的多肽和氨基酸可以催化生成 α -酮酸,然后脱羧生成醛,醛最终脱氢生成醇, α -酮酸的降解也会产生甲烷硫醇,随后氧化形成含硫化合物^[31]。由表 2 可知:4 种牛乳中能检测到二甲基硫和二甲基砷这两种含硫化合物,并且这两种含硫化合物均能够被嗅闻得到。其中,二甲基硫具有蒸煮味,二甲基亚砷具有硫磺味和大蒜味。UHT 乳中的含硫化合物总量明显高于另外 3 种牛乳,说明杀菌强度越大越易形成含硫化合物,这类组分也是造成 UHT 乳中蒸煮味的主要原因。

2.1.6 醇类化合物 醇类物质通常是由醛类通过酶作用或物理作用所产生,其中仲醇可能是由相应的甲基酮酶还原而成^[32]。醇类物质由于阈值较高^[33],对牛乳的整体风味贡献较小。由表 2 可知:有 4 种醇类化合物能够被嗅闻得到,就其含量而

言,生牛乳和巴氏杀菌乳中醇类的总含量会稍微高于INF乳和UHT乳,可能原因是醇类在加热过程中会发生微小的损失。长链醇类(如十二醇和十四醇)的含量随着杀菌温度的增加而减少,可能是高温会使醇类化合物损失或者转化为其它物质。UHT乳中醇类化合物的种类和含量较其它3种牛乳来说相对较低,因此醇类物质在UHT乳中呈现的味道较弱,对牛乳香气的贡献度较小^[32]。

2.1.7 芳香及杂环类化合物 生牛乳和3类杀菌乳中共检测出13种芳香及杂环类化合物。生牛乳6种,巴氏杀菌乳7种,INF乳8种,UHT乳12种。由上述检测结果可知:共有7种芳香及杂环类化合物能够通过嗅闻得到,UHT乳中芳香及杂环类化合物的种类和含量明显高于另外3种牛乳。其中4种牛乳中均有柠檬烯,这与Contarini等^[34]检测的结果一致,柠檬烯作为牛乳中主要的萜烯烃化合物,是从奶牛食用的植物混合物中提取得到^[7]。苯甲醛、呋喃醛和呋喃醇仅在UHT乳中检测到,可能会引起UHT乳中出现苦杏仁味。

2.2 牛乳中主要香气化合物组分的香气活性值(Odor activity value, OAV)分析

牛乳中风味化合物的嗅觉强度与化合物的浓度和气味阈值密切相关,因此OAV值作为挥发性风味化合物浓度与阈值的比值,能够清晰的展现出风味化合物的气味强度,并且表示出挥发性化合物的风味对于牛乳整体风味的贡献程度。OAV值大于1说明该化合物对牛乳的整体风味贡献较大;OAV值小于1说明该化合物对牛乳的整体风味有辅助贡献。OAV值越大说明该化合物对牛乳整体风味的贡献率就越大,反之亦然。

将表2中检测得到的风味化合物进行OAV分析,其中OAV>1的物质见表3。生牛乳中OAV值大于10的化合物主要有十六酸甲酯、十六酸乙酯、己醛、壬醛、十二醇和二甲基硫,上述化合物主要具有水果味、青草味、油脂味、花香和蒸煮味,这些气味的相互作用构成了生牛乳的主要风味。巴氏杀菌乳中,OAV值大于10的化合物主要有十六酸甲酯、壬醛、2-壬酮、十二醇、乙酸丁酯和二甲基硫,这些风味化合物能够赋予牛乳水果味、油脂味、奶香味、花香和蒸煮味。INF乳中,OAV值大于10的化合物主要有己醛、壬醛、癸醛、2-壬酮、十

二醇、乙酸丁酯、十六酸甲酯和二甲基硫,主要具有水果味、青草味、油脂味、奶香味、花香和蒸煮味。UHT乳中,OAV值大于10的化合物主要有壬醛、2-壬酮、十二醇、十六酸甲酯、二甲基硫和苯乙烯,这些风味化合物主要呈现出水果味、塑料味、油脂味、奶香味、花香和蒸煮味,这些风味对UHT乳的整体风味具有较大影响。

虽然理论上而言,OAV值大于1的化合物一般都能被嗅闻到,但是实际由于嗅闻过程中存在嗅觉疲劳等原因,并不是所有OAV值大的化合物都能被嗅闻得到,如辛醛和2-十五酮。此外,由于食品体系组成复杂,而阈值测定过程中大多选择水、油等简单基质作为其测定体系,因而实际阈值与测定阈值间还存在一定差别,因此会存在OAV值小于1的化合物能够嗅闻到的现象,如乙酸和2-庚酮。

2.3 感官评价和偏最小二乘(PLS)分析

PLS分析适用于样品数量少而相关自变量较多的情况,为了能够找到不同杀菌方式牛乳的关键香气成分,采用偏最小二乘对牛乳的感官特征与风味化合物进行分析。由感官评价小组针对4种牛乳的奶香味(前味)、奶香味(后味)、入口甘甜、回味甘甜、口感浓厚程度和蒸煮味这6个感官属性进行了感官评价。利用偏最小二乘分析将4种牛乳的感官评价结果与风味化合物结合起来,对两者之间的相关性进行进一步分析。由图2可知:巴氏杀菌乳和INF乳的关键风味组分和感官特征较为相似,其甜味和奶香味(前味)均较浓郁,上述感官属性和挥发性化合物2-壬酮、2(5H)-呋喃酮、乙酸丁酯等相关性较大;UHT乳的蒸煮味和浓厚程度较为明显,该感官特征和UHT乳中的含硫化合物和甲基酮类化合物相关性较大,如二甲基硫、二甲基硫、2-乙基-1-己醇、2-十三酮等;而生牛乳的每个感官属性强度都相对较淡,与上述3类杀菌乳有较大的区别。生牛乳的感官属性与长链的脂肪酸、醇、酯等化合物相关性较大,如十六醇、十六酸乙酯和癸酸等。

3 结论

本研究通过SAFE萃取了4种不同杀菌方式的牛乳,经GC-MS和GC-O进行测定与分析后得

表 3 牛乳中化合物的 OAV 值
Table 3 OAV values of compounds in milk

化合物	阈值/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	气味 ^a	OAV 值			
			生牛乳	巴杀乳	INF 乳	UHT 乳
己醛	10 ^[35]	青草味	16.11	10.06	6.31	
辛醛	7 ^[35]	柑橘味 ^[35]				9.29
壬醛	8 ^[35]	油脂、霉腐味	77.30	59.76	41.09	31.52
癸醛	3 ^[36-37]	肥皂味		36.18		
2-壬酮	1 ^[35]	奶香味		36.93	61.34	53.50
2-十一酮	6 ^[21]	果香				3.60
2-十五酮	7 ^[35]		2.41	2.92	2.59	2.65
2-乙基-1-己醇	12 ^[35]	玫瑰花香		5.50	2.87	5.98
(Z)-3-己烯-1-醇	70 ^[35]	青草味		2.21		
十二醇	16 ^[35]	花香味	28.26	41.43	32.73	12.50
己酸	225 ^[35]	汗臭味	3.24	1.69	1.35	5.77
辛酸	910 ^[35]	酸臭味	1.43	1.92	1.18	1.82
癸酸	2 200 ^[35]	腐臭味	1.43	0.73	0.53	0.81
乙酸丁酯	10 ^[35]	水果味 ^[35]		15.06	12.56	4.74
十六酸甲酯	10 ^[35]	水果味	256.88	669.43	66.79	80.30
十六酸乙酯	5 ^[35]	水果味 ^[35]	293.36		0.26	
二甲基硫	10 ^[35]	蒸煮味	15.71	21.76	21.01	32.13
二甲基砷	180 ^[35]	硫磺味	2.75	3.49	2.92	3.62
甲苯	527 ^[35]	水果甜味	2.03	5.73	1.06	1.61
苯乙烯	65 ^[35]	塑料味				21.86
柠檬烯	200 ^[35]	柠檬味	2.67	3.14	0.66	0.35
4-乙基苯甲醛	40 ^[35]	苦杏仁味 ^[35]			2.18	
呋喃醇	25 ^[35]	焦糖味				1.57

注：气味来源于嗅闻结果。

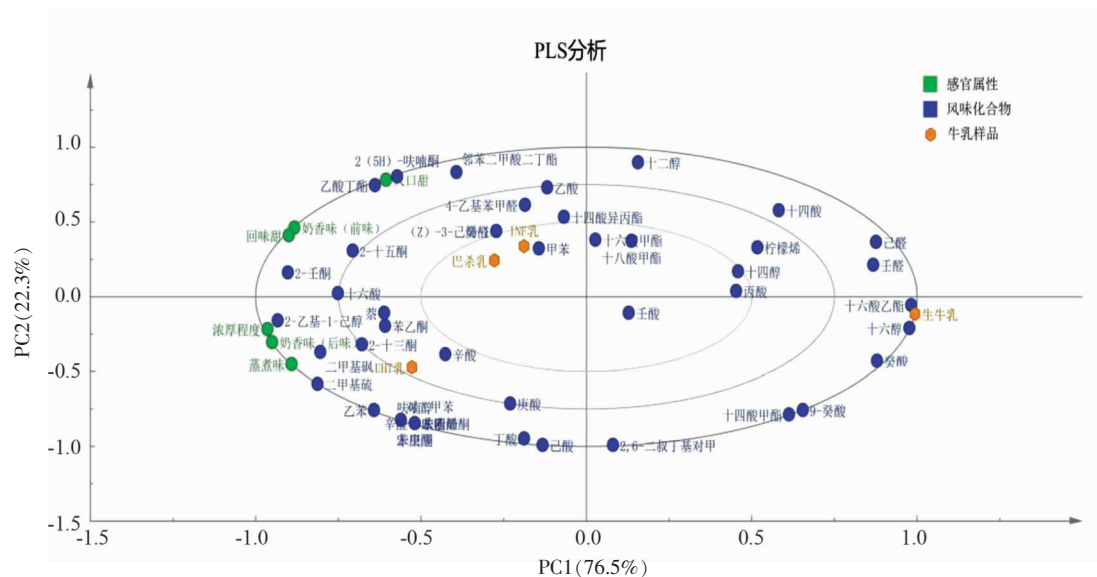


图 2 4 种牛乳样品的感官属性与特征风味组分偏最小二乘分析 (PLS)

Fig.2 The relationship between sensory properties and key aroma components of four milk samples analyzed by the partial least squares analysis (PLS)

到48种香气物质, 嗅闻得到30种化合物。其中2-壬酮(奶香味)、己醛(青草味)和壬醛(油脂味)作为牛乳中的关键风味组分香气特征较为明显。对样品中风味组分的OAV分析结果表明: OAV值较高的组分有十六酸甲酯、己醛、壬醛、癸醛、2-壬酮、十二醇、乙酸丁酯、二甲基硫和苯乙烯, 具有的水果、青草味、油脂味、奶香味和花香味对牛乳的整体风味贡献较大。最后PLS结果表明巴氏杀菌乳和INF乳的风味特征较为接近, 都具有浓郁的奶香味与甜味, 且与之对应的化合物为2-壬酮、2(5H)-呋喃酮、乙酸丁酯。UHT乳中的蒸煮味较强烈、口感也相对更加浓厚, 对该类牛乳风味贡献较大的组分为二甲基砷、二甲基硫、2-乙基-1-己醇和2-十三酮等。本研究通过对不同杀菌方式的牛乳进行化合物种类和含量、感官评价和PLS等的分析, 旨在得出不同杀菌方式牛乳的异同点及消费者偏好, 为研究出更多口感良好、符合消费者口味的牛乳提供依据。

参 考 文 献

- [1] PEREIRA P C. Milk nutritional composition and its role in human health[J]. *Nutrition*, 2014, 30(6): 619-627.
- [2] VISIOLI F, STRATA A. Milk, dairy products, and their functional effects in humans: A narrative review of recent evidence[J]. *Advances in Nutrition*, 2014, 5(2): 131-143.
- [3] CLAEYS W L, CARDOEN S, DAUBE G, et al. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits[J]. *Food Control*, 2013, 31(1): 251-262.
- [4] BIRLOUEZ-ARAGON I, SABAT P, GOUTI N. A new method for discriminating milk heat treatment[J]. *International Dairy Journal*, 2002, 12(1): 59-67.
- [5] 史密特. 现代乳品加工与质量控制[M]. 任发政, 韩北忠, 罗永康, 等译. 北京: 中国农业大学出版社, 2006: 87-153.
- [6] SMIT G. Dairy processing improving quality[M]. REN F Z, HAN B Z, LUO Y K, et al translate. Beijing: China Agricultural University Press, 2006: 87-153.
- [7] 王象欣, 张秋梅, 魏雪冬, 等. 不同类型热处理方式对牛乳品质的影响[J]. *中国乳品工业*, 2019, 47(4): 20-23.
- [8] 崔殿文, 杨铭铎. 牛乳及其制品的气味成分[J]. *中国乳品工业*, 1987, 15(5): 212-225.
- [9] 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.
- [10] BENDALL J G. Aroma compounds of fresh milk from New Zealand cows fed different diets[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(10): 4825-4832.
- [11] 艾娜丝, 张晓梅, 仝令君, 等. SDE与SAFE分析全脂巴氏乳挥发性成分[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(10): 109-112.
- [12] 刘南南, 郑福平, 张玉玉, 等. SAFE-GC-MS分析酸牛奶挥发性成分[J]. *食品科学*, 2014, 35(22): 150-153.
- [13] KIRSCH F, HORST K, ROHRIG W, et al. Tracing metabolite profiles in human milk: Studies on the odorant 1,8-cineole transferred into breast milk after oral intake[J]. *Metabolomics*, 2013, 9(2): 483-496.
- [14] 迟雪露, 宋铮, KHALMETOV M, 等. 脱脂纯牛奶感官评价与电子鼻分析相关性研究[J]. *精细化工*, 2018, 35(6): 998-1003.
- CHEN X L. UHT technologies for dairy products[J]. *Food and Nutrition in China*, 2012, 18(9): 40-44.

- CHI X L, SONF Z, KHALMETOV M, et al. Study on correlation between sensory evaluation and electronic nose sensors analysis of skimmed milk[J]. *Fine Chemicals*, 2018, 35(6): 998–1003.
- [15] 刘立, 李代禧, 余华星, 等. 国内外五种著名全脂牛奶感官评价分析及其电子鼻、电子舌甄别初探[J]. *食品与发酵科技*, 2014, 50(5): 90–96.
- LIU L, LI D X, YU H X, et al. Evaluation of five kinds of whole milk domestic and abroad based on sensory and electronic nose, electronic tongue [J]. *Sichuan Food and Fermentation*, 2014, 50(5): 90–96.
- [16] HEKKEN D L VAN, IANDOLA S, TOMASULA P M, et al. Short communication: Volatiles in microfluidized raw and heat-treated milk – sciencedirect[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(10): 8819–8824.
- [17] PAN D D, WU Z, PENG T, et al. Volatile organic compounds profile during milk fermentation by *Lactobacillus pentosus* and correlations between volatiles flavor and carbohydrate metabolism [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(2): 624–631.
- [18] HAWKE J C. The formation and metabolism of methyl ketones and related compounds[J]. *Journal of Dairy Science*, 1966, 33(2): 225–243.
- [19] LICON C C, MENDOZA J H D, MAGGI L, et al. Optimization of headspace sorptive extraction for the analysis of volatiles in pressed ewes' milk cheese[J]. *International Dairy Journal*, 2012, 23(1): 53–61.
- [20] FERNANDEZ-GARCA E, CARBONELL M, GAYA 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.
- [21] WANG J, YANG Z J, WANG Y D, et al. The key aroma compounds and sensory characteristics of commercial Cheddar cheeses [J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(7): 7555–7571.
- [22] OCAK E, JAVIDIPOUR I, TUNCTURK Y. Volatile compounds of van herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species[J]. *Journal of Food Science & Technology*, 2015, 52(7): 4324–4332.
- [23] ZHANG L, MI S, LIU R B, et al. Evaluation of volatile compounds in milks fermented using traditional starter cultures and probiotics based on odor activity value and chemometric techniques [J]. *Molecules*, 2020, 25(5): 1129–1148.
- [24] 孙宝国. 食用香料手册[M]. 北京: 中国石化出版社, 2004: 94–128.
- SUN B G. Handbook of edible spices[M]. Beijing: China Petrochemical Press, 2004: 94–128.
- [25] 王万厚, 母智深. UHT热处理对牛奶中风味物质的影响[J]. *中国乳品工业*, 2012, 40(4): 36–38.
- WANG W H, MU Z S. Effect of UHT heat treatment on flavor compounds in milk [J]. *China Dairy Industry*, 2012, 40(4): 36–38.
- [26] 杨楠, 张兰威. 加热对牛奶中风味物质的影响[J]. *东北农业大学学报*, 2007, 38(1): 39–43.
- YANG N, ZHANG L W. Effects of heating treatment on flavors of milk [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2007, 38(1): 39–43.
- [27] ZHANG X M, AI N S, WANG J, et al. Lipase-catalyzed modification of the flavor profiles in recombined skim milk products by enriching the volatile components [J]. *Journal of Dairy Ence*, 2016, 99(11): 8665–8679.
- [28] HOLLAND R, LIU S Q, CROW V L, et al. Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavour: Milk fat hydrolysis, alcoholysis and esterification [J]. *International Dairy Journal*, 2005, 15(6–9): 711–718.
- [29] JANSSON T, JENSEN S, EGGERS, N, et al. Volatile component profiles of conventional and lactose-hydrolyzed UHT milk – A dynamic headspace gas chromatography–mass spectrometry study [J]. *Dairy Science & Technology*, 2014, 94(4): 311–325.
- [30] DATTA N, ELLIOTT A J, PERKINS M L, et al. Ultra-high-temperature (UHT) treatment of milk: Comparison of direct and indirect modes of heating [J]. *Aust J Dairy Technol*, 2002, 57(3): 211–227.
- [31] SINGH T K, DRAKE M A AND CADWALLADER K R. Flavor of cheddar cheese: A chemical and sensory perspective [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2003, 2(4): 166–189.
- [32] ZHANG S, YANG R J, ZHAO W, et al. Influence of pulsed electric field treatments on the volatile compounds of milk in comparison with pasteurized processing [J]. *Journal of Food Ence*, 2011, 76(1): 127–132.
- [33] 范文来, 徐岩. 白酒 79 个风味化合物嗅觉阈值测定 [J]. *酿酒*, 2011, 38(4): 80–84.

- FAN W L, XU Y. Determination of odor thresholds of volatile aroma compounds in baijiu by a forced-choice ascending concentration series method of limits[J]. *Liquor Making*, 2011, 38(4): 80–84.
- [34] CONTARINI G, POVOLO M, LEARDI R, et al. Influence of heat treatment on the volatile compounds of milk [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1997, 45(8): 3171–3177.
- [35] BURDOCK G A. *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*[M]. Boca Raton: Crc Press, 2005: 496–1895.
- [36] AVERBECK M, SCHIEBERLE P H. Characterisation of the key aroma compounds in a freshly reconstituted orange juice from concentrate [J]. *European Food Research and Technology*, 2009, 229(4): 611–622.
- [37] AVERBECK M, SCHIEBERLE P. Influence of different storage conditions on changes in the key aroma compounds of orange juice reconstituted from concentrate [J]. *European Food Research & Technology*, 2011, 232(1): 129–142.
- [38] GIRI A, OSAKO K, OHSHIMA T. Identification and characterisation of headspace volatiles of fish miso, a Japanese fish meat based fermented paste, with special emphasis on effect of fish species and meat washing [J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(2): 621–631.

Effect of Sterilization Methods on Characteristic Aroma Compounds in Milk

Han Zhaosheng¹, Wang Jiao¹, Wang Yadong¹, Kang Zhiyuan^{2,3}, Wang Shijie²,
Yao Huan^{2,3}, Wang Bei^{1*}, Meng Fanyu¹

¹*School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048*

²*Shijiazhuang Junlebao Dairy Co. Ltd., Shijiazhuang 050221*

³*Weixian Junlebao Dairy Co. Ltd., Xingtai 054700, Hebei*

Abstract Ultra-high temperature (UHT) instantaneous sterilization, pasteurization and infusion (INF) technology are commonly used in milk sterilization. In this study, solvent assisted flavor evaporation (SAFE) method was used to study the difference of volatile flavor components in raw milk and three kinds of sterilized milk. The results showed that there were 48 volatile compounds were detected in four kinds of milk, including 11 fatty acids, 5 ketones, 6 aldehydes, 2 sulfur compounds, 6 esters, 5 alcohols, 13 aromatic and heterocyclic compounds. On this basis, the odor activity value (OAV) of the above flavor components was further determined by combining with the threshold. There were 23 key flavor compounds with OAV greater than 1 in the four milk samples, among which hexadecanoic acid, methyl ester, 2-nonanone and hexanal contributed more to the overall flavor of milk. Partial least squares (PLS) regression was used to analyze the correlation between the key flavor components and the sensory characteristics of four kinds of milk. The results showed that the sensory characteristics of INF milk and pasteurized milk were more similar, with strong milk flavor and sweet flavor, and the corresponding compounds were 2-nonanone, 2 (5H)-furanone and butyl acetate. The sensory characteristics of UHT milk were cooking flavor and strong sense, which were highly correlated with dimethyl sulfone, dimethyl sulfur, 2-ethyl-1-hexanol and 2-tridecanone. In addition, the flavor components of raw milk were relatively less.

Keywords milk flavor; pasteurization; ultra-high temperature instantaneous sterilization; infusion technology; solvent assisted flavor evaporation