

# 发酵乳风味及其分析技术研究进展

孙昕萌, 袁惠萍, 赵钜阳\*

(哈尔滨商业大学旅游烹饪学院, 哈尔滨 150028)

**摘要:** 发酵乳制品具有悠久的历史, 富含蛋白质、脂肪、糖类和矿物质等营养物质, 具有调节机体功能、预防和治疗疾病、延长寿命等保健功能功效, 此外因其具有独特的发酵风味及组织状态, 深受消费者欢迎。发酵乳风味是评估其品质的主要指标之一, 乳酸菌在发酵过程中可以生成多种风味化合物, 其中主要包括酸类、酮类、酯类和醛类, 这些化合物的种类和含量均会影响发酵乳的品质。本文主要概述了发酵乳中挥发性风味物质的组成及形成机理, 同时对发酵乳关键风味化合物的分析技术进行了总结, 为发酵乳风味及其品质提高、新产品开发及关键技术工艺升级提供理论基础与依据。

**关键词:** 发酵乳; 风味物质; 分析技术

## Research progress in flavor and analytical technology of fermented milk

SUN Xin-Meng, YUAN Hui-Ping, ZHAO Ju-Yang\*

(School of Tourism and Cuisine, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

**ABSTRACT:** Fermented dairy products have a long history and are rich in protein, fat, sugars, minerals and other nutrients, with the effects of regulating body function, preventing and treating diseases, prolonging life and other health functions. In addition, it has a unique fermentation flavor and tissue state, which is deeply welcomed by consumers. Flavor is one of the main indicators to evaluate the quality of fermented milk. Lactic acid bacteria can produce a variety of flavor compounds in the fermentation process, including acids, ketones, esters and aldehydes. The types and content of these compounds will affect the quality of fermented milk. This paper mainly summarized the composition and formation mechanism of volatile flavor compounds in fermented milk, and summarized the analysis technology of key flavor compounds in fermented milk, which provided theoretical basis and basis for improving the flavor and quality of fermented milk, developing new products and upgrading key technologies.

**KEY WORDS:** fermented milk; flavor compounds; analytical technology

## 0 引言

发酵乳是欧洲、澳大利亚和世界许多其他地方饮食的重要组成部分<sup>[1]</sup>。发酵乳具有改善乳糖不耐受的优势, 同时兼具抗微生物活性、抗胃肠感染活性、抗癌作用和降低

血清胆固醇等多种生理益处<sup>[2-6]</sup>。发酵乳是由于细菌在牛奶中的滋生导致牛奶凝固形成的, 发酵乳产品的特性、味道、质地、成分因所用牛奶的类型、成分及发酵菌的性质和活性而异, 其中发酵乳的风味是评价其产品的重要指标之一, 不同品牌的发酵乳在整体风味上有着较大的差异, 因此有

**基金项目:** 哈尔滨商业大学“青年创新人才”支持计划项目(2019CX23)、哈尔滨商业大学博士科研启动项目(2019DS60)

**Fund:** Supported by the Harbin University of Commerce “Young Innovative Talents” Support Program (2019CX23), and the Harbin University of Commerce Doctoral Research Start Project (2019DS60)

\*通信作者: 赵钜阳, 博士, 主要研究方向为大豆蛋白加工, 烹饪科学。E-mail: zhaojuyang1987@163.com

\*Corresponding author: ZHAO Ju-Yang, Ph.D, Harbin University of Commerce, No.1, Xuehai Street, Songbei District, Harbin 150028, China. E-mail: zhaojuyang1987@163.com

关于发酵乳风味的研究逐渐成为了人们高度关注的热点。研究发现,发酵乳中风味物质的组成及含量受许多因素影响<sup>[6]</sup>,如微生物种类,不同的微生物群活动会产生不同的风味变化,并且随着时间的推移,微生物会通过其酶和代谢活性产生香气化合物。此外热处理和其他侵入性加工技术可导致挥发性风味成分的产生、减少和改变。另一方面,发酵剂在发酵乳风味形成中也起着决定性作用,乳酸菌通过产生的酶类催化一系列反应促使风味化合物和其他代谢产物的积累。乳酸菌株之间的相互作用,也对发酵乳风味具有影响<sup>[7-8]</sup>。在发酵工业中,利用微生物与微生物的互生关系,可以进行混菌发酵。研究表明,化合物的浓度、在不同食品中的阈值、食品的基质、不同化合物的相互作用都会影响化合物对食品的贡献程度。由于风味物质相互作用影响发酵乳的风味,研究这些风味化合物之间的关系,可以更好地了解发酵乳中风味的形成及最终产品感官品质的改善。然而发酵乳中挥发性成分的研究是个复杂的过程,风味分析要求从基质中初步分离出挥发物,同时对原始成分的改变最小。近年来,发酵乳中主要风味物质的检测技术也层出不穷,随着电子鼻、电子舌、气相色谱质谱联用、指纹图谱等检测技术的更进一步发展,能够在发酵乳中鉴定出更多种类的风味化合物。因此有必要对发酵乳中挥发性风味物质的组成、形成机理及相关检测手段进行总结与分析。基于此,本文针对各种发酵乳的主要风味物质及其形成机理和分析技术进行了综述,并对未来发酵乳的风味物质研究发展趋势进行了展望,旨在为发酵乳风味物质研究提供理论依据,并为实际生产提供科学指导。

## 1 发酵乳简介

发酵乳是一种以新鲜牛奶为原料加工制成的 pH 较低的乳制品<sup>[8-9]</sup>,含有多种天然微生物,其中包括乳酸菌、酵母菌等。发酵产品的特征、味道、质地、成分和健康特性因所用牛奶的类型及其成分,以及发酵细菌的性质和活性而异<sup>[1]</sup>。经过了微生物的代谢,发酵乳中不仅含有大量乳酸,还会含有乙醇和二氧化碳等物质。目前保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌广泛用于工业生产的发酵乳中<sup>[10-11]</sup>,在这 2 种菌进行发酵的过程中会有单糖生成,而单糖经糖酵解途径可以产生乳酸<sup>[12]</sup>。

## 2 发酵乳中的主要挥发性风味物质

发酵乳独特的风味来源于发酵剂产生的乳酸和牛奶中天然存在的及发酵过程中产生的许多芳香化合物。在酸奶中已鉴定出的多种挥发性化合物,它们来自不同的化学基团,如酸、醇、酮、酯、醛等<sup>[12]</sup>。但并不是所有的风味物质都对其风味起作用,主要是因为各风味物质浓度各异,只有当其浓度超过发酵乳风味阈值时才会起作用,从而影

响发酵乳的主体风味。因此,研究将聚焦在主要风味物质上<sup>[13]</sup>。

### 2.1 酸类化合物

酸类化合物是发酵乳中最丰富的挥发性风味物质,酸类主要有 3 个来源:乳酸代谢、蛋白质分解及脂肪分解<sup>[14-17]</sup>。其中脂肪分解产生的酸类化合物含量最高,其次是乳酸代谢产生的,蛋白质水解产生的酸含量最少。丁酸、己酸、庚酸、辛酸、壬酸和正癸酸等大多数酸类,都是通过脂肪分解产生的;乙酸是由乳酸菌和链球菌等乳酸菌之间的不同反应产生,丙酸来源于丙酸杆菌的乳酸代谢。蛋白质经过初级代谢产生的氨基酸,经过次级代谢产生支链酸,如 2-甲基丙酸。李婷等<sup>[18]</sup>采用固相微萃取结合气相色谱-质谱技术检测分析对照菌株 JD(商业发酵剂)和 6 组复配发酵乳中的挥发性风味物质,检测出包括乙酸、己酸、辛酸及 3-甲基丁酸在内的 17 种酸类物质。高浓度的乙酸带有辛辣及刺激性的气味,对发酵乳口感影响较大;己酸是发酵乳中重要的酸类化合物,具有香甜的干酪香气;辛酸散发出水果和焦糖的香味;辛辣的气味和酸味是 3-甲基丁酸特有的香气,对发酵乳口感影响较大<sup>[19]</sup>。

### 2.2 酮类化合物

发酵乳中产生的酮类对发酵乳具有独特的风味,这些酮类的形成途径是通过氨基酸或不饱和脂肪酸的氧化分解,或是乳酸菌的代谢过程产生的<sup>[20]</sup>。根据 ERKAYA 等<sup>[21]</sup>的报道,丙酮、2-壬酮、2-丁酮等是发酵乳中的主要酮类物质。各种酮类物质相互作用使发酵乳产生独特的风味特征。散发奶油香味的双乙酰是发酵乳中重要风味物质的组成成分,它是一种二酮,来源于发酵过程中牛奶中的柠檬酸盐,发酵乳中双乙酰的典型浓度范围为 0.2~3.0  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[11]</sup>。辛辣、甜味是丙酮独特的香气;2,3-戊二酮的香气特征是带有坚果香的奶油焦糖味<sup>[22-23]</sup>。

### 2.3 酯类化合物

发酵乳制品中酯类的生物合成涉及 2 步过程<sup>[24]</sup>,首先乳脂中存在的甘油酯被脂肪酶水解释放脂肪酸和甘油,脂肪酸和乙醇在酯酶存在的情况下生成酯。酯类存在于各种风味的发酵乳中<sup>[25]</sup>,目前检测结果中的质量分数不高,但对发酵乳的味道有很大贡献<sup>[26]</sup>。发酵乳中的脂肪是酯类物质的主要来源,对其风味影响较大的酯类是甲基酮和内酯,其由短链脂肪酸的进一步转化而得。贺红军等<sup>[27]</sup>发现在普通酸奶和紫薯酸奶中含量最高的酯类物质是丁位辛内酯和丁位壬内酯。丁位辛内酯有温暖的椰子香和花香,丁位壬内酯有坚果、奶油和椰子的香气。

### 2.4 醛类化合物

醛类既是各种氧化风味的来源,也是发酵乳风味重要的组成成分。醛类物质可通过多种途径产生,比如通过脂质

氧化和分解产生<sup>[28]</sup>。醛类化合物的合成途径与发酵菌体自身的各种酶相关<sup>[29]</sup>, 此外, 在乳酸菌发酵中会产生一些中间代谢产物丙酮酸, 丙酮酸也能够合成醛类<sup>[29]</sup>。醛类化合物中含量最丰富的是乙醛, 它是一种双碳醛, 在发酵乳中的浓度为 8~40  $\mu\text{g/mL}$ , 尽管它的含量很低, 但它是发酵乳中酸味和青苹果味的主要来源<sup>[11]</sup>。WANG 等<sup>[30]</sup>研究也发现发酵乳中的乙醛呈现水果香、醚香和青香味。乳酸菌发酵过程、乳糖降解及丙酮酸脱羧相互作用都能够形成乙醛<sup>[31]</sup>; 此外, 乙醛还可以通过中间产物乙酰辅酶 A 的形式生成<sup>[32]</sup>。

### 3 发酵乳中挥发性风味物质形成机理

风味的形成是一个复杂的过程, 涉及各种食物成分的生物化学转化。乳酸菌在发酵食品中的主要功能是通过将碳水化合物发酵成乳酸, 快速酸化食品基质, 从而延长产品的保质期和微生物安全性<sup>[33]</sup>。此外, 大多数乳酸菌具有一系列与风味相关的活性。从微生物的角度来看, 在乳制品发酵过程中, 提供关键酶和驱动风味化合物产生的代谢途径是糖酵解、蛋白质分解和脂肪分解<sup>[13]</sup>(图 1)。

#### 3.1 糖酵解

发酵食品中乳酸菌的主要底物是原料中的糖, 乳糖可以进行同型发酵或异型发酵<sup>[33]</sup>。这取决于乳酸菌的种类、底物和环境条件。同型发酵导致乳酸作为最终产品, 乳酸能够产生令人愉快的酸性味道。同型发酵乳酸菌种包括乳酸乳球菌、嗜热链球菌、片球菌、肠球菌和某些乳酸菌种, 如干酪乳杆菌等; 异型发酵可以作为芳香化合物或者导致芳香前体的形成。异型发酵菌种包括明串珠菌、食道球菌和乳杆菌属, 如短乳杆菌、发酵乳杆菌和罗伊氏乳酸杆菌。在同型发酵过程中, 糖类通过糖酵解途径进行发酵; 通过糖酵解产生乳酸的关键中间体是丙酮酸, 丙酮酸的一部分可转化为各种风味化合物, 如双乙酰和乙偶姻, 这 2 种化合物具有黄油味, 在发酵乳中含量很高。丙酮酸代谢还会产生其他的风味化合物, 如乙醛和乙酸, 乙醛具有发酵乳典型的味道和香气, 乙酸是某些乳制品中的关键风味成分, 但是在较高浓度下会导致异味。在异型发酵中, 通过磷酸酮酶途径进行异型发酵。

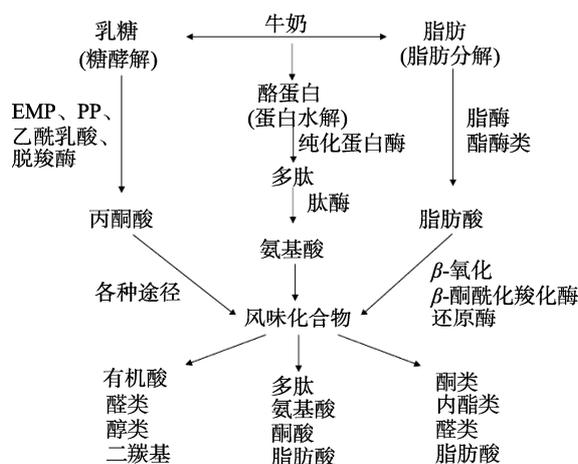
#### 3.2 脂肪分解

脂肪酶或酯酶对乳脂的降解, 导致游离脂肪酸的形成, 这些游离脂肪酸能够作为甲基酮、仲醇、酯类和内酯的前体<sup>[33]</sup>。食物脂类也是芳香化合物的来源, 脂类的水解会释放出游离脂肪酸, 包括短链和中链脂肪酸, 这是大多数发酵乳中的重要芳香化合物, 带有辛辣、酸败的香气。少量的脂肪水解会释放出高浓度的游离脂肪酸, 从而影响风味。脂类水解由脂解酯酶催化, 脂解酯酶是指对不溶于水的长链酰基甘油具有活性的羧酸酯酶。除乳酸外, 大多

数乳酸菌只具有细胞内酯酶。因此, 大多数乳酸菌酯酶在从裂解细胞释放之前不能水解食物脂质。

#### 3.3 蛋白质分解

乳酸菌能够通过氨基酸分解代谢产生许多芳香化合物<sup>[33]</sup>。乳酸菌将蛋白质水解成肽和氨基酸, 从而影响发酵乳的味道。苦味的产生与大的疏水性肽有关, 乳酸菌细胞内释放的肽酶能够加速大疏水肽的水解, 从而减少苦味。乳酸菌还具有氨基酸转化酶, 能够从支链氨基酸, 如亮氨酸; 芳香氨基酸, 如苯丙氨酸; 蛋氨酸和苏氨酸中产生多种芳香化合物<sup>[33]</sup>。氨基酸转化是由氨基转移酶和裂解酶分别催化的蛋氨酸和苏氨酸的转氨作用引发的。在发酵乳成熟过程中发生的蛋白质水解、肽水解和氨基酸转化为芳香化合物的一系列反应的阻碍是转氨作用。转氨需要  $\alpha$ -酮酸作为共底物, 乳酸菌转氨酶的首选酮供体是  $\alpha$ -酮戊二酸。因此, 发酵乳中氨基酸转化为有效的芳香化合物的能力, 可以通过向发酵乳中添加外源性  $\alpha$ -酮戊二酸盐, 或使用经谷氨酸脱氢酶催化产生  $\alpha$ -酮戊二酸盐的转基因乳酸乳杆菌菌株来提高。转氨作用产生的  $\alpha$ -酮酸不是气味物质, 但可以进一步进行不同的酶促反应: 比如还原生成无味的  $\alpha$ -羟羧酸, 或者脱羧生成醛, 醛可以进一步还原为醇, 再或者氧化脱羧生成酰基辅酶 A, 然后生成羧酸。综上所述, 乳酸菌对氨基酸的转化会产生多种芳香化合物, 包括支链酸和醛、芳香醇等<sup>[34]</sup>。



注: EMP 为糖酵解途径, PP 为磷酸戊糖途径。

图 1 导致发酵乳制品风味产生的主要微生物代谢途径  
Fig.1 Primary microbial metabolic pathways leading to the generation of flavor in fermented dairy foods

## 4 发酵乳风味化合物分析技术

发酵乳风味及品质的传统分析方法通常为个别成分分析或者感官评价, 但是人为因素对感官评价的影响很大, 发酵乳整体的风味变化也不能通过个别成分分析反应出

来。目前,发酵乳中的风味物质成分的检测,一般采用指纹图谱技术和复合联用技术,综合考虑各个方法技术的优劣,才能准确、完整地测定挥发性风味物质的成分及组成,得到更加全面的数据对关键风味物质进行分析。因此,下文将对指纹图谱技术和几种复合联用技术做详细综述。

#### 4.1 发酵乳风味物质提取技术

发酵乳中产生异味的化学物质浓度常以 mg/kg 或 ng/kg 存在,因此风味物质的提取技术应尽可能收集到更多的化学物质分子,并且在提取的过程中还要保证不会引入发酵乳制品中没有的挥发物。尽管已经用高效液相色谱、超临界流体萃取、超临界流体色谱和其他分析方法做了一些出色的风味分离工作,但气相色谱技术是最有用的。通常发酵乳制品为液体或固体,在运用气质联用技术时,需要和发酵乳的前处理方法相结合。目前,有许多风味物质提取方法,可以用来在气相色谱分析之前分离和浓缩气味活性化合物。最常用的技术包括固相微萃取、同时蒸馏萃取、顶空固相微萃取。每种样品制备方法都有各自的优点、缺点和偏差。为特定应用选择最合适的方法取决于待测样品的数量、样品的类型、特定的分析物、灵敏度、仪器和设备的成本等。

##### 4.1.1 固相微萃取结合气相色谱-质谱技术

固相微萃取是提取、分离和浓缩挥发性化合物的一种方便有效的技术<sup>[15]</sup>,它具有成本低、溶剂消耗低、灵敏度高、速度快等优点,常用于从发酵食品中提取挥发性风味化合物<sup>[35]</sup>。固相微萃取能够检测低分子量、高挥发性的化合物,例如乙醛、丙酮和 1,3-戊二烯;以及高分子量、高沸点的化合物,例如香草醛、内酯和十二烷基醛<sup>[32]</sup>。靳汝霖<sup>[36]</sup>采用固相微萃取结合气相色谱-质谱法(solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, SPME-GC-MS)结合内标法测定发酵乳中的主要挥发性成分研究结果显示,醇类、酯类、酮类、酸类和醛类是发酵乳中的主要挥发性化合物。DAN 等<sup>[37]</sup>首先通过 SPME 方法把发酵乳中的挥发性化合物分离出来,然后进行 GC-MS 分析,结果发现在嗜热链球菌发酵乳的挥发成分中共鉴定出 53 种挥发性化合物,其中包括 6 种醛类、7 种酸类、9 种醇类、6 种酯类、10 种酮类和 15 种烃类化合物。

##### 4.1.2 同时蒸馏萃取结合气相色谱-质谱技术

同时蒸馏萃取-气相色谱-质谱联用(simultaneous distillation extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, SDE-GC-MS)可以准确分析发酵乳产品的主要风味成分,蒸馏特别适用于具有较高沸点和疏水性的化合物。SDE 的优点在于挥发性成分较少的情况下,水和溶剂能够持续循环利用<sup>[32]</sup>。缺点是由于分析物的热降解,会在样品色谱图中产生伪像峰,这些散发气味的伪像可能被误认为是产生异味的原因<sup>[32]</sup>。王伟君等<sup>[38]</sup>发现挥发性风味物质可通过 SDE 快速分离,利用 SDE-GC-MS 对发酵乳

中的 13 种风味成分进行了鉴定。COSTA 等<sup>[39]</sup>用 SDE 技术检测不同类型的西班牙山羊奶酪的挥发性成分,提取后进行 GC-MS 分析,鉴定出约 50 种成分,它们的化学结构与嗅觉相关,最有助于挥发性风味的化合物是短链脂肪酸、酮类、乙基己酸和乙基月桂酸酯和 1-己醇。

##### 4.1.3 顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱技术

顶空技术主要用于从乳制品中提取挥发性物质。这种技术的优点是操作简单、易于使用、样品不会产生污染、不需要有机溶剂等<sup>[39-41]</sup>。但它缺乏敏感性,通常只提取主要成分,会产生非常差的色谱图。高薇等<sup>[42]</sup>通过该技术分别对来自不同地理位置的 2 种西藏开菲尔粒的发酵乳中挥发性化合物进行检测,并结合挥发性化合物阈值来计算香气活力值(odor activity value, OAV),共有 30 种挥发性化合物被鉴定出来,酸类和醇类在这 2 种发酵乳中含量较高,OAV 分析表明酯类是 2 种发酵乳中最重要的香气贡献化合物,辛酸乙酯是 2 种发酵乳中香气贡献最高的风味物质。LI 等<sup>[43]</sup>研究采用顶空固相微萃取(headspace solid phase microextraction, HS-SPME)分析和预处理的方法分离了新疆发酵骆驼奶中的挥发性化合物成分,并通过气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)进行分析,分别在不同的条件下检测出 133 种具有挥发性的化合物。GU 等<sup>[31]</sup>用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱技术(headspace solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)技术评估了副干酪乳杆菌 IMC502 与传统发酵剂共同发酵的发酵乳中的挥发性代谢物,其中乙醛、二乙酰基、乙酰丁香、丙酮、丁酸和乙酸含量较高,表明它们是与发酵乳风味有关的主要挥发性代谢产物。

#### 4.2 发酵乳风味物质分析检测技术

##### 4.2.1 指纹图谱

指纹图谱技术可视为鉴定以及评价发酵乳品质的依据<sup>[44]</sup>。在分析条件固定时,发酵乳中风味物质的分析结果能够被快速准确地反应出来,依照风味物质的整体性就可以构建指纹图谱。

王丹<sup>[44]</sup>通过指纹图谱对不同比例的发酵乳在发酵期和贮藏期的变化分析,所有的菌株在发酵和贮藏过程中都具有很高的相似性,发酵乳中的关键性物质及风味物质的含量和组成也出现显著性差异。ROSSETTI 等<sup>[45]</sup>从乳制品中分离出的大约 1000 种乳酸菌,分别通过物种特异性聚合酶链反应指纹图谱和聚合酶链反应进行鉴定和分型。通过 M13 生成的聚合酶链反应指纹数据库快速鉴定乳制品乳酸菌,该菌株属于 11 个主要的聚合酶链反应指纹图谱鉴定单位。

##### 4.2.2 气相色谱-质谱联用技术

GC-MS 技术广泛应用在发酵乳主要的风味物质分析及检测方面<sup>[46-47]</sup>。首先用气相色谱法分离发酵乳中的风味物质,然后用质谱法进行检测和分析。通过图谱库的检索

及未知物质数据库的检测来鉴别化合物的种类, 并用标准化的方法来定量风味物质的相对含量<sup>[48]</sup>。GC-MS 技术具有稳定、灵敏度高和动态范围大的优点, 越来越多地用于样品的差异分析。

袁小美等<sup>[49]</sup>运用 GC-MS 技术对发酵乳中氨基甲酸乙酯的分析方法进行验证和优化。葛武鹏等<sup>[50]</sup>利用 GC-MS 技术分析发酵乳中的风味物质, 经检测发现主要的风味物质为 2-羟基-2-丁酮、双乙酰及 2-呋喃甲醇等。SFAKIANAKIS 等<sup>[51]</sup>采用气相色谱-质谱法对发酵乳风味进行分析和鉴定, 结果表明发酵乳主要的挥发性成分是酮类、醛类和羧酸类。LI 等<sup>[52]</sup>采用 GC-MS 对 4 种不同类型哈萨克发酵乳中的挥发性成分进行了鉴定, 结果表明各组之间的主要化学差异是一些关键挥发性成分的合成, 例如辛酸、壬醛和苯甲醇。

#### 4.2.3 气相色谱法/飞行时间质谱

飞行时间质谱技术(time of flight-mass spectrometry, TOF-MS)的特点是分辨率和灵敏度极高并且分析的速度快, 检测范围广泛<sup>[53]</sup>。LI 等<sup>[54]</sup>用飞行质谱超高效液相色谱研究在发酵乳中代谢物图谱的变化, 鉴定了 43 种差异丰富的代谢产物。魏超等<sup>[55]</sup>用 TOF/MS 法分析发酵乳中的德氏乳杆菌, 研究结果表明, 德氏乳杆菌能产生稳定的蛋白质峰群, 运用此方法可为菌种多样性分析提供理论帮助。BOK 等<sup>[56]</sup>用气相色谱/飞行时间质谱数据辨别大多数样品类型(图 2), 图 2 表示在 37 °C 下培养 26 h 后, 以未接种的牛奶作为对照

的 48 种牛奶中乳酸菌的单一和混合培养物。用气相色谱法/飞行时间质谱(gas chromatography/time of flight-mass spectrometry, GC/TOF-MS)分析发酵后每个培养基中存在的挥发性化合物, 然后校准质谱并进一步处理产生的峰列表; 此外, 对样品的相似性进行聚类分析, 确定发酵乳风味物质中一些主要的特征峰, 根据发酵乳中产生的挥发性化合物, 揭示所产生的不同化合物水平之间的关系。

## 5 结束语

目前, 随着风味分析检测技术的更新, 在发酵乳中已鉴定出多种风味化合物, 每种物质的风味特征都不尽相同, 这些风味化合物在发酵乳发酵和贮藏期间风味的形成发挥着重要作用。在今后的研究中, 可运用多组学技术探究发酵乳风味物质的形成机理, 并衍生其他技术检测发酵乳成熟趋势, 例如通过检测发酵乳在早期、中期、晚期及成熟等阶段挥发性及滋味化合物的组成、特征及定量分析, 并结合无偏分析等数学模型, 进一步分析发酵乳风味物质在不同时期内的复杂变化及相关关联, 进而有效实现在线实时监测发酵乳风味品质, 有的放矢地控制发酵乳风味。此外, 发酵乳在加工过程中的特征风味物质变化过程与其主体风味变化的关系目前还尚不明确, 所以还需要进一步探明各种加工过程对发酵乳风味物质种类、含量、生成途径和最终产品品质的影响, 阐明其量效关系, 为发酵乳品质提高、新产品开发及关键技术工艺升级提供理论基础与依据。

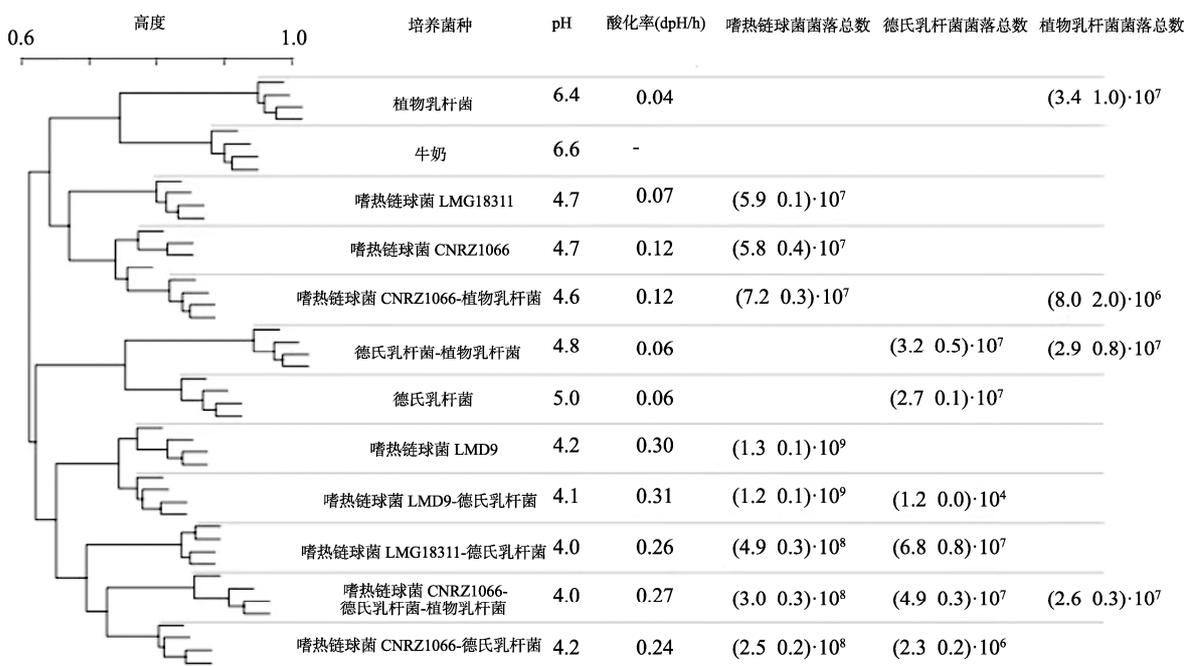


图 2 利用 GC/TOF-MS 分析产生的质量峰轮廓对样品的相似性进行聚类分析

Fig.2 Cluster analysis of the similarity of samples using the mass peak profile generated by GC/TOF-MS analysis

## 参考文献

- [1] CHANDAN RC, GANDHII A, SHAH NP. Yogurt: Historical background, health benefits, and global trade-science direct [J]. *Yogurt Health Dis Prev*, 2017, 11(2): 3–29.
- [2] BOURRIE B, WILLING BP, COTTER PD. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 647.
- [3] CHEN M, YE X, SHEN D, *et al.* Modulatory effects of gut microbiota on constipation: The commercial beverage yakult shapes stool consistency [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2019, 25(3): 475–477.
- [4] GARCÍA-BURGOS M, MORENO-FERNÁNDEZ J, ALFÉREZ MJM, *et al.* New perspectives in fermented dairy products and their health relevance [J]. *J Funct Foods*, 2020, 72: 104059.
- [5] 徐华益. 白首乌发酵乳的制备及其抗氧化功效特性的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2020.  
XU HY. Study on preparation and antioxidant properties of Baishouwu fermented milk [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2020.
- [6] 俞本杰. 发酵乳中增香乳酸菌的筛选及其产香机制研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2020.  
YU BJ. Screening of aroma enhancing lactic acid bacteria from fermented milk and study on aroma producing mechanism [D]. Shanghai: Shanghai University of Applied Technology, 2020.
- [7] RIZZOLI R, BIVER E. Effects of fermented milk products on bone [J]. *Calcified Tissue Int*, 2017, 102: 489–500.
- [8] 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.  
WANG Y. Development and main flavor analysis of brown flavor fermented milk [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019.
- [9] TEIXEIRA J, ETDS CARAMÊS, BAPTISTA DP, *et al.* Rapid adulteration detection of yogurt and cheese made from goat milk by vibrational spectroscopy and chemometric tools [J]. *J Food Compos Anal*, 2020, 96: 103712.
- [10] ARYANA KJ, OLSON DW. A 100-year review: Yogurt and other cultured dairy products [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(12): 9987–10013.
- [11] DAS K, CHOUDHARY R, THOMPSONWITRICK KA, *et al.* Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt [J]. *LWT*, 2019, 108: 69–80.
- [12] FANG X, GUO LW, CHEN H, *et al.* Characteristics of volatile flavor components in traditional fermented yak milk produced in different ecoregions of the Qinghai-Tibetan plateau [J]. *J Dairy Sci*, 2020, 103(1): 191–200.
- [13] MCAULIFFE O, KILCAWLEY KN, STEFANOVIC E, *et al.* Symposium review: Genomic investigations of flavor formation by dairy microbiota [J]. *J Dairy Sci*, 2019, 102(1): 909–922.
- [14] CHIOFALO B, ZUMBO A, COSTA R, *et al.* Characterization of Maltese goat milk cheese flavour using SPME-GC/MS [J]. *South Afr J Anim Sci*, 2004, 34(1): 176–180.
- [15] XU Z, CHEN J, SHI X, *et al.* Characteristic physicochemical indexes and flavor compounds in Xinjiang Kazak cheese during ripening [J]. *Food Biosci*, 2020, 35: 100586.
- [16] 郑华军. 保加利亚乳酸杆菌工业生产菌株 2038 的基因组学分析[D]. 上海: 复旦大学, 2010.  
ZHENG HJ. Genomic analysis of industrial *Lactobacillus bulgaricus* strain 2038 [D]. Shanghai: Fudan University, 2010.
- [17] BATISTA AL, SILVA R, CAPPATO LP, *et al.* Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour [J]. *J Funct Foods*, 2017, 38: 242–250.
- [18] 李婷, 田佳乐, 刘洋, 等. 基于 SPME-GC-MS 与电子鼻技术分析发酵乳中的挥发性风味物质[J/OL]. 食品与发酵工业: 1–12. [2020-07-01]. <https://doi-org-s.webvpn.hrbcu.edu.cn/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023457>
- LI T, TIAN JL, LIU Y, *et al.* Analysis of volatile flavor compounds in fermented milk based on SPME-GC-MS and electronic nose technology [J/OL]. *Food Ferment Ind*: 1–12. [2020-07-01]. <https://doi-org-s.webvpn.hrbcu.edu.cn/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023457>
- [19] COSTA MF, PIMENTEL TC, GUIMARAES JT, *et al.* Impact of prebiotics on the rheological characteristics and volatile compounds of Greek yogurt [J]. *Lebensm Wissensch Und Technol*, 2019, 105: 371–376.
- [20] TAMIME AY, DEETH HC. Yogurt: Technology and biochemistry [J]. *J Food Prot*, 1980, 43(12): 939–977.
- [21] ERKAYA T, ŞENGÜL M. Comparison of volatile compounds in yoghurts made from cows', buffaloes', ewes' and goats' milks [J]. *Int J Dairy Technol*, 2011, 64(2): 240–246.
- [22] 葛武鹏, 李元瑞, 陈瑛, 等. 牛羊奶挥发性风味物质固相微萃取 GC/MS 分析[J]. 农业机械学报, 2008, (11): 64–69, 75.  
GE WP, LI YR, CHEN Y, *et al.* Solid phase microextraction GC/MS analysis of volatile flavor compounds in milk yogurt [J]. *J Agric Mach*, 2008, (11): 64–69, 75.
- [23] 丹彤, 包秋华, 孟和毕力格, 等. 发酵乳风味物质乙醛、双乙酰的合成途径及其调控机制[J]. 食品科技, 2012, 37(7): 75–79.  
DAN T, BAO QH, MENG HBLG, *et al.* Synthesis and regulation mechanism of acetaldehyde and diacetyl in fermented milk [J]. *Food Sci Technol*, 2012, 37(7): 75–79.
- [24] MOINEAU-JEAN A, RAYMOND Y, SABIK H, *et al.* Effect of manufacturing processes and storage on aroma compounds and sensory properties of yoghurt [J]. *Int Dairy J*, 2020, 105: 104662.
- [25] CHENG HF. Volatile flavor compounds in yogurt: A review [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2010, 50(10): 938–950.
- [26] 梁琪, 张卫兵, 张炎, 等. 百合酸奶的挥发性风味物质成分分析[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 99–104, 107.  
LIANG Q, ZHANG WB, ZHANG Y, *et al.* Analysis of volatile flavor compounds in Baihe yogurt [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(16): 99–104, 107.
- [27] 贺红军, 邹慧, 孙宁, 等. 紫薯酸奶和普通酸奶挥发性风味物质差异性研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(8): 225–230.  
HE HJ, ZOU H, SUN N, *et al.* Study on the difference of volatile flavor compounds between purple potato yogurt and ordinary yogurt [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2014, 30(8): 225–230.
- [28] 陈娟, 李键, 唐俊妮, 等. 川西高原牧区传统发酵牦牛酸奶挥发性风味成分的分析[J]. 食品工业科技, 2016, (14): 59–62.  
CHEN J, LI J, TANG JN, *et al.* Analysis of volatile flavor components of traditional fermented yak yogurt in western Sichuan plateau pastoral area [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2016, (14): 59–62.
- [29] DELGADO FJ, GONZALEZ-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 Chem*, 2010, 118(1): 182–189.
- [30] WANG J, SHENG K. Far-infrared and microwave drying of peach [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2006, 39(3): 247–255.
- [31] GU YX, LI X, XIAO R, *et al.* Impact of *Lactobacillus paracasei* IMC502 in coculture with traditional starters on volatile and non-volatile metabolite profiles in yogurt [J]. *Process Biochem*, 2020, 99: 61–69.
- [32] MARSILI R. Encyclopedia of dairy sciences [M]. Pittsburgh: Academic Press, 2011.

- [33] THIERRY A, POGAI T, WEBER M, *et al.* Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications, second edition [M]. Hoboken: Wiley Online Books, 2019.
- [34] MARTÍNEZ-CUESTA MDC, PELÁEZ C, REQUENA T. Methionine metabolism: Major pathways and enzymes involved and strategies for control and diversification of volatile sulfur compounds in cheese. [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2013, 53(4): 366–385.
- [35] CHUIJIAO LIU, YANG Q, LINFORTH R, *et al.* Modifying Robusta coffee aroma by green bean chemical pre-treatment [J]. *Food Chem*, 2019, 272: 251–257.
- [36] 靳汝霖. SPME-GC-MS 法分析不同比例保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌混合发酵对发酵乳风味的影响[C]. 第十二届益生菌与健康国际研讨会, 2017.
- JIN RL. SPME-GC-MS analysis of the effects of different proportions of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* mixed fermentation on the flavor of fermented milk [C]. The 12th international symposium on probiotics and health, 2017.
- [37] DAN T, WANG D, JIN RL, *et al.* Characterization of volatile compounds in fermented milk using solid-phase microextraction methods coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(4): 2488–2500.
- [38] 王伟君, 李延华, 张兰威, 等. SDE-GC-MS 法测定发酵乳中风味物质 [J]. *食品科学*, 2008, (6): 332–334.
- WANG WJ, LI YH, ZHANG LW, *et al.* Determination of flavor compounds in fermented milk by SDE-GC-MS [J]. *Food Sci*, 2008, (6): 332–334.
- [39] COSTA R, DUGO P, MONDELLO L. Sampling and sample preparation techniques for the determination of the volatile components of milk and dairy products [J]. *Compr Sampl Sample Prep*, 2012, 46(24): 43–59.
- [40] 杨艳, 潘亨琴, 贺银菊, 等. 气质联用技术在发酵食品风味分析中的研究进展[J]. *广州化工*, 2019, 47(9): 30–31, 50.
- YANG Y, PAN HQ, HE YJ, *et al.* Research progress of GC-MS in flavor analysis of fermented food [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2019, 47(9): 30–31, 50.
- [41] SUN C, WANG R, WANG T, *et al.* Primary evaluation of nine volatile N-nitrosamines in raw red meat from Tianjin, China, by HS-SPME-GC-MS [J]. *Food Chem*, 2020, 310: 125945.
- [42] 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.
- GAO W, ZHANG LW. Analysis of volatile flavor compounds in Tibetan kefir fermented milk [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(3): 183–188.
- [43] LI N, ZHENG FP, CHEN HT, *et al.* Identification of volatile components in Chinese Sinkiang fermented camel milk using SAFE, SDE, and HS-SPME-GC/MS [J]. *Food Chem*, 2011, 129(3): 1242–1252.
- [44] 王丹. 发酵乳中挥发性风味物质的测定及其色谱指纹图谱分析[D]. 内蒙古: 内蒙古农业大学, 2017.
- WANG D. Determination and chromatographic fingerprint analysis of volatile flavor compounds in fermented milk [D]. Inner Mongolia: Inner Mongolia Agricultural University, 2017.
- [45] ROSSETTI L, GIRAFFA G. Rapid identification of dairy lactic acid bacteria by M13-generated, RAPD-PCR fingerprint databases [J]. *J Microbiol Meth*, 2005, 63(2): 135–144.
- [46] FANALI C, UTCZAS M, DUGO P, *et al.* Chemical analysis of food: Techniques and application [M]. Pittsburgh: Academic Press, 2020.
- [47] MURGIA A, SCANO P, CACCIABUE R, *et al.* GC-MS metabolomics comparison of yoghurts from sheep's and goats' milk [J]. *Int Dairy J*, 2019, 96: 44–49.
- [48] 李安, 邢军, 马龙, 等. GC-MS 比较三种发酵乳的挥发性化合物[J]. *中国乳品工业*, 2020, 48(2): 12–17.
- LI A, XING J, MA L, *et al.* Comparison of volatile compounds in three kinds of fermented milk by GC-MS [J]. *China Dairy Ind*, 2020, 48(2): 12–17.
- [49] 袁小美, 金尉, 陈娟. 发酵乳中氨基甲酸乙酯的测定[J]. *农产品加工*, 2017, (2): 53–55.
- YUAN XM, JIN W, CHEN J. Determination of ethyl carbamate in fermented milk [J]. *Agric Prod Proc*, 2017, (2): 53–55.
- [50] 葛武鹏, 李元瑞, 陈瑛, 等. 牛、羊乳及其制品的脂肪酸组成分析[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2008, (7): 173–178.
- GE WP, LI YR, CHEN Y, *et al.* Analysis of fatty acid composition of cow, goat milk and its products [J]. *J Northwest A & F Univ (Nat Sci Ed)*, 2008, (7): 173–178.
- [51] SFAKIANAKIS P, TZIA C. Flavour profiling by gas chromatography-mass spectrometry and sensory analysis of yoghurt derived from ultrasonicated and homogenised milk [J]. *Int Dairy J*, 2017, 75: 120–128.
- [52] LI S, LI YD, DU ZX, *et al.* Impact of NSLAB on Kazakh cheese flavor [J]. *Food Res Int*, 2021, 144: 110315.
- [53] 刘晓艳, 白卫东, 曾晓房, 等. 气相色谱-飞行时间质谱法分析柠檬果皮精油挥发性风味成分[J]. *香料香精化妆品*, 2018, (4): 1–5, 16.
- LIU XY, BAI WD, ZENG XF, *et al.* The volatile flavor components of lemon peel oil were analyzed by gas chromatography time-of-flight mass spectrometry [J]. *Flavor Frag Cosmetics*, 2018, (4): 1–5, 16.
- [54] LI DY, ZHENG Y, KWOK LY, *et al.* Metabolic footprinting revealed key biochemical changes in a brown fermented milk product using *Streptococcus thermophilus* [J]. *J Dairy*, 2020, 103(3): 2128–2138.
- [55] 魏超, 代晓航, 郭灵安, 等. 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法分析天然牦牛酸奶中的德氏乳杆菌[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(14): 4522–4528.
- WEI C, DAI XH, GUO LA, *et al.* Analysis of *Lactobacillus delbrueckii* in natural yak yogurt by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(14): 4522–4528.
- [56] BOK FD, JANSSEN P, BAYJANOV JR, *et al.* Volatile compound fingerprinting of mixed-culture fermentations [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(17): 6233–6239.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

## 作者简介



孙昕萌, 硕士研究生, 主要研究方向为烹饪科学。

E-mail: 948888966@qq.com



赵钜阳, 博士, 主要研究方向为大豆蛋白加工, 烹饪科学。

E-mail: zhaojuyang1987@163.com