

不同发酵时间奶酪光谱学性质的差异性分析

徐楠, 李文云, 吴青青, 张余*, 陈志宏

(滁州学院生物与食品工程学院, 滁州 239000)

摘要: **目的** 探究发酵时间对奶酪产品营养组分和光谱学性质的影响规律。**方法** 采用理化分析、质构、紫外光谱、核磁共振、红外光谱等技术, 对不同发酵期的2种奶酪产品(25 d和50 d)的主要组分和光谱学性质进行了分析比较。**结果** 与25 d奶酪相比, 50 d奶酪产品中的水分、脂肪、蛋白质及可溶性糖含量呈显著降低($P<0.01$), 而硬度、咀嚼性呈极显著增加($P<0.01$)。傅里叶变换红外光谱法分析表明2种奶酪的吸收峰存在差异, 与蛋白质结构有关。核磁共振法分析表明发酵初期奶酪的自由水大量流失, 后期以结合水为主。此外, 不同溶剂提取液的紫外-可见吸收光谱法分析结果表明分级提取法下乙酸乙酯提取液中存在吸收峰差异, 与 α 、 β -不饱和酸、酯或酰胺等物质有关, 而分别提取法下石油醚提取液存在吸收峰差异, 与风味物质饱和醛类化合物有关。**结论** 不同发酵期奶酪的光谱性质具有差异性, 可以作为评价奶酪发酵期的特征指标。

关键词: 发酵时间; 奶酪; 光谱性质; 差异性

Difference analysis of spectral properties of cheese at different fermentation times

XU Nan, LI Wen-Yun, WU Qing-Qing, ZHANG-Cuan*, CHEN Zhi-Hong

(School of Bio and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou 239000, China)

ABSTRACT: Objective To study the influence rule of fermentation time on nutritional components and spectroscopic properties of cheese products. **Methods** The main components and spectroscopic properties of 2 kinds of cheese products (25 day and 50 day) in different fermentation periods were analyzed and compared by physical and chemical analysis, texture, ultraviolet spectrum, nuclear magnetic resonance, infrared spectrum. **Results** Compared with 25 day cheese, the content of water, fat, protein and soluble sugar in 50 day cheese products decreased significantly ($P<0.01$), while the hardness and chewiness increased significantly ($P<0.01$). The analysis results of Fourier transform infrared spectrum showed that the absorption peaks of the 2 kinds of cheeses were different, which was related to the structure of protein. The analysis results of nuclear magnetic resonance analysis showed that the free water of cheese was largely lost in the early stage of fermentation, and the bound water was dominant in the later stage. In addition, the analysis results of ultraviolet visible absorption spectra of different solvent extracts showed that there were differences in absorption peaks in ethyl acetate extracts by hierarchical extraction method, which were related to α , β -unsaturated acids, esters or amides, while there were differences in absorption peaks in petroleum ether extracts by separate extraction methods, which were related to saturated

基金项目: 安徽省大学生创新创业训练计划项目(S202010377124)、滁州学院大学生创新创业训练计划项目(2020CXXL124)

Fund: Supported by the Anhui Province Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (S202010377124), and the Chuzhou University Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (2020CXXL124)

*通信作者: 张余, 博士, 教授, 主要研究方向为食品化学与营养学、膳食蛋白方向的研究。E-mail: zhangchuan2005@126.com

*Corresponding author: ZHANG Cuan, Ph.D, Professor, School of Bio and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou 239000, China. E-mail: zhangchuan2005@126.com

aldehydes of flavor substances. **Conclusion** The spectral properties of cheese in different fermentation periods are different, which can be used as a characteristic index for evaluating cheese fermentation period.

KEY WORDS: fermentation time; cheese; spectral properties; difference

0 引言

奶酪(chess), 也称干酪, 是畜牧业发达地区一种常见的传统发酵乳制品, 可分为新鲜奶酪和发酵奶酪^[1]。奶酪营养丰富, 富含蛋白质(20%~45%)、脂肪(40%左右)、矿物质和维生素^[2]。研究表明, 长期食用奶酪, 不仅可以补充人体所需营养组分和热量, 还具有降低血清胆固醇^[3]、提供天然不饱和脂肪酸^[4]、维持人体肠道内的菌群稳定平衡^[5]等功效。

奶酪是一种以蛋白质分子为骨架, 脂肪、糖类、水分等小分子填充其中的凝胶。不同的原料、工艺及发酵条件会使奶酪形成不同的口感、质地和风味。其中微生物活动、营养成分变化及其风味产生是一个动态的渐进过程。在其发酵过程中, 在内源蛋白酶及微生物的作用下, 蛋白质会逐渐发生水解, 形成肽、氨基酸等小分子物质, 使奶酪的网状凝胶结构受到破坏, 表面水分向内部迁移, 水分含量趋于稳定, 奶酪的质地会变得柔软^[6]。此外, 在酶和微生物作用下, 脂肪的水解使得奶酪中游离脂肪酸含量增加, 游离脂肪酸的氧化及其产物, 与蛋白质的水解产物间也可以相互作用, 进而产生各种挥发性物质, 从而形成奶酪独特的风味^[7]。因此, 奶酪的发酵条件、发酵时间是影响奶酪质地和风味的主要因素, 生产中常常以发酵时间作为奶酪是否发酵完成的标志。

发酵时间不仅可以作为奶酪产品的分类依据, 也是影响奶酪风味和质地的主要原因。因此, 对不同发酵时间奶酪理化功能性质、风味物质组成的变化规律的研究显得尤为重要。目前国内研究主要集中在干酪的色泽^[8]、生产工艺^[9]及不同比例添加量凝乳酶和添加剂对奶酪品质的影响^[10]等方面。国外对干酪加工理论、加工工艺和产品特性研究得较为全面深入, 对干酪成熟期变化的研究也比较系统, 主要通过理化性质^[11]、质构^[12]、风味^[13]、感官指标^[14]等变化对干酪成熟程度进行判定。但对不同发酵时间干酪的理化指标、质构特性及光谱学特性间的相关性及差异性的研究较少。此外, 光谱学分析技术包括紫外、红外技术, 不仅可用于分析物质的结构和组成^[15], 也具有快速便捷的优势, 在快速检测和在线检测方面应用广泛^[16], 但将其用于奶酪发酵时间方面的研究较少。

本研究以不同发酵时间(25 d、50 d)的奶酪为研究对象, 采用质构仪、核磁共振法(nuclear magnetic resonance, NMR)、傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectrometry, FTIR)、紫外-可见光谱法(ultraviolet visible absorption spectrometry, UV-vis)等对不同发酵时间干酪的

流变特性、水分状态分布以及光谱特性进行分析比较, 初步探讨不同发酵时间干酪的理化性质、流变特性以及光谱特性的变化规律, 以期于干酪的生产发展以及奶酪品质的快速判定提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜牛乳, 购自滁州当地养牛场。

发酵剂(青岛凯麦森食品科技有限公司); 凝乳酶(20000 U/g, 南宁庞博生物工程有限公司); 食盐(食品级, 中盐榆林盐化有限公司); 氯化钙(食品级, 河南万邦实业有限公司); 溴化钾(分析纯, 天津天光光学仪器有限公司); 磷酸盐、蒽酮、氯化亚锡(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 主要仪器设备

FTIR-7600 型傅里叶变换红外光谱仪(天津天光光学仪器有限公司); UV-1900i 型紫外分光光度计(日本岛津仪器有限公司); ESH31 型水分测定仪(上海舜宇恒平科学仪器有限公司); TA.XTExpress C 型质构仪(上海保圣实业发展有限公司); Rapid N cube 型杜马斯燃烧仪(德国Elementar 有限公司); L500 型离心机(纽迈电子科技有限公司); LRHS-200F-II 型恒温恒湿培养箱(广州瑞丰试验设备有限公司); MeSOMR23-06OV-I 型核磁共振氢谱仪(纽迈电子科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 奶酪加工工艺

鲜牛乳→巴氏杀菌→冷却→加发酵剂→加氯化钙^[17]→发酵→加凝乳酶→静置凝乳→凝乳切割→静置→搅拌→升温排乳清→堆积→压榨成型→盐渍→保存^[18]。

工艺要点:

(1)巴氏杀菌: 65 °C, 20 min, 杀菌后冷却至 29 °C;

(2)发酵剂用量: 1 g/L, 氯化钙用量: 0.2 g/L;

(3)发酵条件: 29 °C, 30 min;

(4)凝乳酶用量: 0.4 g/L, 凝乳时间: 50 min 左右;

(5)切乳后静置: 5~10 min, 缓慢搅拌: 5 min;

(6)排乳清条件: 37 °C, 10 min;

(7)压榨: 连续 6 h, 每 2 h 上下颠倒一次, 同时, 压榨压力增加 1~2 kg;

(8)盐渍: 在 15%~18%食盐溶液中浸渍 3~4 h。

1.3.2 理化组分测定

水分采用 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品

中水分的测定》,直接干燥法;蛋白质采用GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》,燃烧法;粗脂肪采用GB 5009.6—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》,索氏提取法;总酸采用GB 12456—2021《食品安全国家标准 食品中总酸的测定》,酸碱指示剂滴定法(结果以乳酸计);可溶性糖采用蒽酮-硫酸法测定^[19]。

1.3.3 质构分析

将不同发酵期奶酪如图1所示,均分为4等份,作为待测样品。测前样品在室温下放置1 h,每组样品均测定3次,得到奶酪的硬度、弹性、咀嚼性等指标^[20]。参数设置:选择探头型号P36R,触发电负载25 kg,测定速度1.0 mm/s,压缩比25%^[21]。

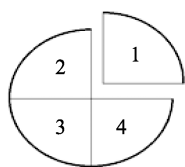


图1 奶酪质构测定取样图

Fig.1 Sampling diagram of cheese texture determination

1.3.4 水分分布状态测定

采用核磁共振法测定。样品放入永磁射频线圈的中心位置,进行 T_2 采集,测定横向弛豫时间 T_2 ,通过核磁共振应用分析软件进行反演得到 T_2 反演谱^[22]。

CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill)脉冲序列参数为:谱仪频率=23 MHz,采样带宽=100 kHz,90°脉宽=11 μ s,180°脉宽=39 μ s,射频延时=0.08 ms,模拟增益=20,数字增益=2,前置放大器增益=2,重复采样次数=12,回波时间=0.513 ms,回波个数=5000。

样品预处理:用打孔器取奶酪中心部位,得到一直径为1.5 cm,高为3.5 cm的圆柱形样品,具体取样图如图2所示。

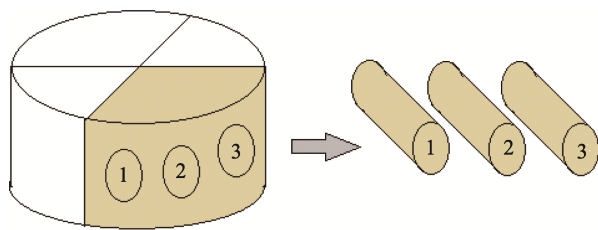


图2 奶酪水分分布分析取样图

Fig.2 Sampling diagram of cheese moisture distribution analysis

1.3.5 光谱性质分析

(1)紫外-可见吸收光谱

样品预处理:称取经索氏提取法脱脂后的奶酪样品0.5 g,按料液比1:20 (g/mL)加入提取溶剂10 mL,静置浸提30 min,低速离心(1000 r/min)15 min后,取上清液过滤,得到提取液^[23-24]。

以相应试剂为空白参比,进行基线校正。将提取液在200~500 nm 波长范围扫描,得到与之对应的紫外-可见吸收光谱。

提取溶剂:石油醚、乙酸乙酯、丙酮、蒸馏水^[23]。

提取方式:分级浸提(1份样品,依次用上述4种溶剂浸提)和分别浸提(4份样品,分别用上述4种溶剂浸提)。

(2)傅里叶变换红外光谱分析

样品处理:取1 mg样品与100 mg纯KBr混合,研细均匀,置于模具中,用压片装置制成透明片剂后测定^[25]。

测定范围4000~600 cm^{-1} ,累计扫描6次,分辨率为4 cm^{-1} ,用Excel软件绘制傅里叶变换红外光谱图。

1.4 数据处理

采用Excel及DPS 9.01数据处理软件进行单因素实验统计分析,采用Duncan检验法进行方差分析;每组实验数据均测定3次,结果表示为平均值 \pm 标准差。

2 结果与分析

2.1 发酵时间对奶酪主要营养成分的影响

不同发酵时间奶酪的主要营养成分分析结果如表1所示。结果显示,随发酵时间的延长,50 d 奶酪的水分、脂肪、蛋白质以及可溶性糖含量呈极显著降低($P<0.01$),其中以可溶性糖的降低最为明显,降低幅度达39.73%,其次是水分(降低27.53%)、脂肪(降低14.31%)、蛋白质(降低5.43%)。发酵期间,总酸含量呈极显著增加($P<0.01$),增幅达50.49%,这与发酵期间乳糖转变为乳酸有关。而导致脂肪含量显著降低的主要原因在于脂肪酶的脂解作用产生了游离脂肪酸,其中短链脂肪酸具有强烈的特征风味。此外,发酵期间,蛋白质及其水解产物会进一步降解成为风味和滋味物质,从而导致蛋白质总量呈现一定降低。

发酵期间,奶酪水分含量的降低主要缘于奶酪表面游离水分的蒸发。此外,发酵期间奶酪酸度的显著增加,会导致蛋白质的水合作用降低,释放部分游离水,在NaCl的渗透压下,干酪中自由水向外迁移并蒸发也是水分降低的主要原因^[26]。

表1 不同发酵时间奶酪中主要营养成分($n=3$)
Table 1 Main nutritional components in cheese at different fermentation times ($n=3$)

营养成分	发酵时间		变化幅度/%
	25 d	50 d	
水分/%	25.35 \pm 0.34 ^A	18.37 \pm 0.06 ^B	-27.53
脂肪/%	45.41 \pm 0.61 ^A	38.91 \pm 0.82 ^B	-14.31
蛋白质/%	37.05 \pm 0.45 ^A	35.04 \pm 0.18 ^B	-5.43
总酸/%	4.10 \pm 0.15 ^B	6.17 \pm 0.14 ^A	+50.49
可溶性糖/%	2.24 \pm 0.06 ^A	1.35 \pm 0.03 ^B	-39.73

注:表中各非水组分含量均为干基含量,不同大写字母表示存在极显著差异($P<0.01$)。

2.2 发酵时间对奶酪质构性质的影响

不同发酵时间奶酪质构性质分析结果如表 2 所示。结果显示,随发酵时间的延长,奶酪的硬度、胶黏性以及咀嚼性均呈极显著增加($P<0.01$)。其中咀嚼性的增加程度最为明显,增加幅度达 122.69%,其次是胶黏性(增加 120.36%)、硬度(增加 102.82%)、内聚性(增加 8.82%),奶酪弹性的差异不显著($P>0.05$)。这与发酵期间奶酪中脂肪的水解有关,脂肪水解为游离脂肪酸,游离脂肪酸的含量增加也影响奶酪的弹性^[27]。硬度增加的主要原因与奶酪水分的损失有关。

发酵期间,奶酪内聚性的增加主要反应的是酪蛋白分子间交结合力的增加。此外,奶酪中酪蛋白的紧密结合以及乳糖代谢,乳酸菌产生的胞外黏性物质的积累^[27],都会导致奶酪的黏附性极显著增强。此外,发酵期间奶酪水分的散失、脂肪含量降低(表 1),都会导致蛋白质分子间相互作用加强,形成更加致密的网状蛋白结构,因此具有更高的硬度和内聚性^[26]。

表 2 不同发酵时间奶酪的质构特性($n=3$)
Table 2 Texture characteristics of cheese at different fermentation times ($n=3$)

质构指标	发酵时间		变化幅度/%
	25 d	50 d	
硬度/g	15.63±0.48 ^B	31.70±0.76 ^A	+102.82
内聚性	0.68±0.01 ^b	0.74±0.01 ^a	+8.82
弹性	0.87±0.01 ^a	0.88±0.01 ^a	+1.15
胶黏性	10.61±0.29 ^B	23.38±0.39 ^A	+120.36
咀嚼性	9.21±0.26 ^B	20.51±0.3 ^A	+122.69

注:同一行不同小写字母表示存在显著差异($P<0.05$),不同大写字母表示存在极显著差异($P<0.01$),相同字母表示无显著性差异($P>0.05$)。

2.3 发酵时间对奶酪中水分的分布状态的影响

核磁共振分析结果如表 3 所示。其中,横向弛豫时间(T_2)越长,水分活跃度越高,流动性越强,所受束缚力越小,与样品中其他成分相互作用力弱^[28]。将弛豫峰进行积分得到对应的弛豫峰面积(A),弛豫峰面积越大,水分含量越高。 T_{21} (0.1~1 ms)、 T_{22} (1~10 ms)、 T_{23} (100~1000 ms)分别对应结合水、不易流动水和自由水 3 种水的存在状态^[29]。

奶酪的核磁共振分析结果表明,储存 25 d 后,随着水分不断散失,奶酪中的糖类、蛋白质等非水成分会紧密结合,使结合水所受束缚力不断增强,水分活度降低^[30]。储藏至 50 d 时,结合水 T_{21} 横向弛豫时间稳定不变,表明 50 d 奶酪内部结合水活跃度低,所受束缚力强,处于相对稳定状态。而结合水 A_{21} 含量变化呈减少趋势。则表明奶酪水分流失,内部组织结构受到破坏,结合水所包含的部分邻

近水、多层水结合能力相对较弱,易转化为不易流动水 T_{22} ,导致结合水含量降低。不易流动水 T_{22} 储藏至 50 d 时,横向弛豫时间左移, A_{22} 含量降低,说明奶酪储存 25 d 后,不易流动水受奶酪内部束缚力较小,水分活跃度高,状态不稳定,易转化为结合水和自由水^[31],此外,部分 T_{23} 自由水转化为不易流动水,有效遏制不易流动水降低的幅度。主要存在于奶酪表面的自由水 T_{23} 在储藏至 50 d 时,横向弛豫时间左移, A_{23} 大幅度降低,表明储存 25 d 后,自由水受奶酪内部受内部束缚力小,水分活跃度高及流动性强,一部分流失到外部环境中,部分自由水向不易流动水和结合水区域迁移。

表 3 不同发酵时间奶酪弛豫时间及峰面积信息($n=3$)
Table 3 Relaxation time and peak area information of cheese at different fermentation times ($n=3$)

相关参数	发酵时间		变化幅度/%
	25 d	50 d	
T_{21} /ms	0.45±0.17	0.43±0.17	-5.45
A_{21}	952.52±100.20	513.22±45.25	-46.12
T_{22} /ms	17.15±6.15	16.61±4.86	-3.15
A_{22}	456.59±159.91	275.48±77.50	-39.67
T_{23} /ms	10216.71±1238.68	9009.74±2192.11	-11.81
A_{23}	0.39±0.49	0.72±0.63	+84.13

注: T: 表示横向弛豫时间; A: 表示峰面积; 21: 结合水; 22: 不易流动水; 23: 自由水。

2.4 发酵时间对奶酪光谱特性的影响

2.4.1 奶酪提取液紫外-可见吸收光谱分析

4 种不同极性溶剂的奶酪提取液在 200~500 nm 范围的扫描图谱及相关信息如图 3 和表 4 所示。根据“相似相溶”的原理,奶酪中及其在发酵期间形成的各种物质组分在不同溶剂中溶解进而体现在相应的紫外-可见光谱图中。

4 种溶剂的极性大小为: 石油醚<乙酸乙酯<丙酮<水。在分级提取中,发酵 25 d 和 50 d 奶酪水提取液的紫外-可见吸收光谱图完全重合,无明显差异[图 3(1)]。

不同发酵时间奶酪在同一提取法下相同溶剂提取时,其特征峰位置无显著差异,而吸收强弱有明显差异,表明同一种提取方法相同溶剂所提取的化学成分相同,而提取效果有差异^[32]。如采用分级提取法(表 4),25 d 奶酪和 50 d 奶酪经石油醚、丙酮、蒸馏水提取后,分别在 226 和 271、346、221 nm 附近出现相同吸收峰,其中 226 nm 的吸收峰是位于羧酸或酰胺类物质分子骨架上的杂原子出现共轭效应引起,271 nm 处吸收峰是由饱和醛类化合物引起的,随极性增大而消失;341 nm 附近出现的吸收峰,是由于酪中的非共轭发色基团如羰基等造成的;223 nm 处的吸收峰与

董欣等^[33]报道的氨基酸在紫外-可见吸收光谱的吸收波长范围一致, 因此可能是苯丙氨酸的存在引起。此外, 采用分别提取法(表 4), 25 d 奶酪和 50 d 经乙酸乙酯、丙酮、蒸馏水提取后, 分别在 310、330、274 nm 附近出现相同吸收

峰, 其中 310 nm 是由 α 、 β -不饱和醛酮经过 π - π^* 跃迁, 吸收波长红移引起的。273 nm 处的吸收可能是由于奶酪中的芳香族氨基酸—酪氨酸^[33]引起的, 而吸光值差异表明不同发酵时间奶酪的该氨基酸含量不同。

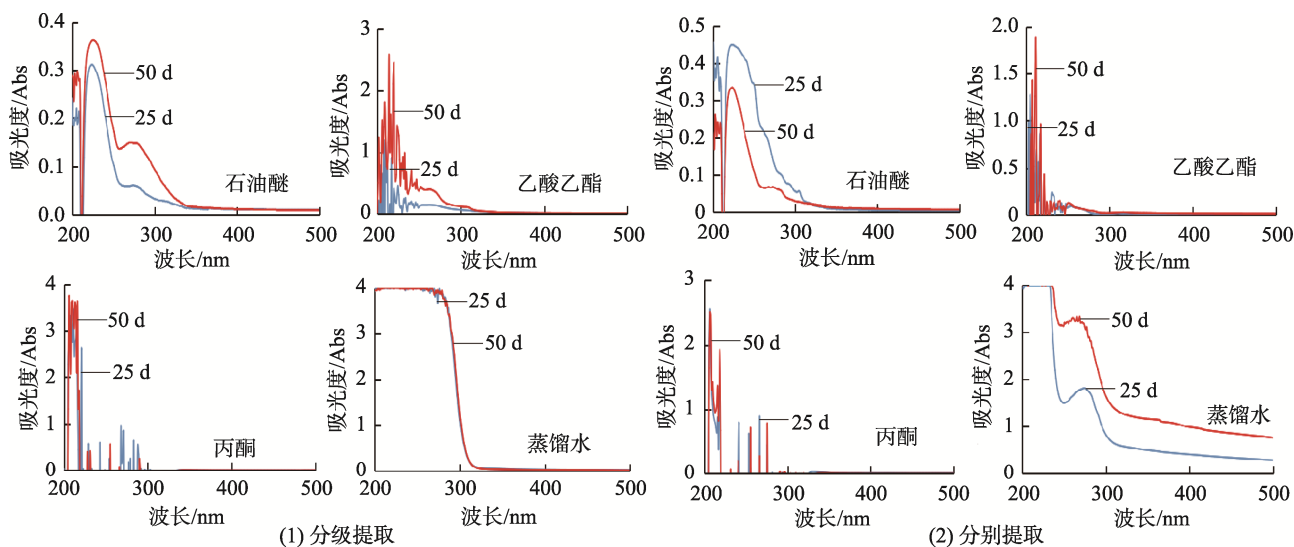


图 3 奶酪不同溶剂提取液的紫外-可见吸收光谱图

Fig.3 UV-vis absorption spectrum of cheese extracts with different solvents

表 4 奶酪提取液紫外-可见吸收光谱分析结果

Table 4 UV-vis absorption spectrum analysis results of cheese extracts

提取方式	样品	提取溶剂	吸收峰 λ /nm	吸光值/Abs
(1) 分级提取	25 d	石油醚	224、274	0.312、0.061
		乙酸乙酯	263	0.143
		丙酮	341	0.002
		蒸馏水	223	4.000
	50 d	石油醚	226、271	0.362、0.150
		乙酸乙酯	/	/
		丙酮	346	0.003
		蒸馏水	221	4.000
(2) 分别提取	25 d	石油醚	223	0.450
		乙酸乙酯	310	0.014
		丙酮	330	0.003
		蒸馏水	274	1.817
	50 d	石油醚	223、273	0.335、0.067
		乙酸乙酯	316	0.027
		丙酮	343	0.001
		蒸馏水	273	3.18

注: /表示紫外-可见吸收光谱图中无吸收峰、吸光值。

此外, 25 d 奶酪和 50 d 奶酪在分级提取法乙酸乙酯提取液、分别提取法石油醚提取液中得到不同的特征吸收峰, 且各吸收峰之间也存在明显差异。如在分级提取法乙酸乙酯提取液中, 25 d 奶酪较 50 d 奶酪在 263 nm 出现一处特征吸收, 推测是由于 α, β -不饱和酸、酯或酰胺 $n-\pi^*$ 跃迁引起; 而在分别提取法石油醚提取液中, 50 d 奶酪较 25 d 奶酪在 273 nm 有一处吸收峰[图 3(2)]。273 nm 吸收峰与脂肪酸分解产生的饱和醛类化合物有关, 其非极性溶剂中有精细结构, 随极性增大而消失。

2.4.2 发酵时间对奶酪傅里叶变换红外光谱性质的影响

将 2 种不同发酵期奶酪在 4000~600 cm^{-1} 范围扫描, 得到对应的红外可见光谱图信息, 观察 25 d 和 50 d 奶酪的红外光谱, 发现 2 种发酵期奶酪谱图整体轮廓相似(图 4), 此外, 在某些波数范围也存在明显差异(表 5)。

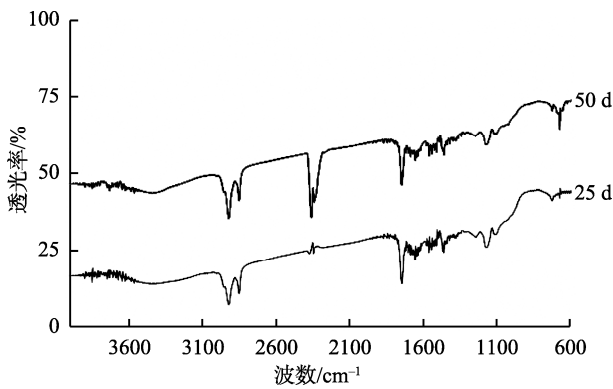


图 4 不同发酵时间奶酪的傅里叶变换红外光谱图

Fig.4 Fourier transform infrared spectroscopy charts of cheese at different fermentation times

不同发酵时间奶酪均在 3421、2852、1743、1654、1458、1166、721 和 669 cm^{-1} 附近显示相似的特征峰。其中 3421 cm^{-1} 处的吸收峰是 N-H 和 O-H 伸缩振动重叠^[34]引起的, 2852、1743、1458、1166 cm^{-1} 分别为脂肪中 CH_2 的对称伸缩振动、 $\text{C}=\text{O}$ ^[35]伸缩振动、 $-\text{CH}_2$ 弯曲振动、C-O 伸缩振动引起的特征吸收峰; 而由 NH_2 和酰胺 I 带 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动^[36]、酰胺 V 带氨基 N-H 面外弯曲振动分别在 1654、669 cm^{-1} 形成蛋白质特征吸收峰; 721 cm^{-1} 的吸收峰是由长链烷基 CH_2 面内摇摆振动造成, 这与舒友琴等^[37]、王梅^[38]、刘唤等^[39]研究结果一致。

通过对不同发酵时间奶酪红外光谱图分析, 发现 2 个样品在以下 4 个波数位置的吸收峰存在差异, 分别是 1560 cm^{-1} 处 N-H 弯曲振动, 2279 cm^{-1} 处风味物质炔烃类 $\text{C}\equiv\text{C}$ 伸缩振动; 2923 cm^{-1} 饱和 C-H 键的反对称伸缩振动, 以及 2358 cm^{-1} 处铵盐 N-H 伸缩振动。

其中, 2923、2279 cm^{-1} 的吸收峰较弱, 不特征, 无实际鉴定价值。而 1560 cm^{-1} 则是由 25 d 奶酪中蛋白质的肽键($-\text{CO}-\text{NH}-$)的吸收引起的强吸收峰, 蛋白质的肽键属于仲酰胺, N-H 弯曲振动与 C-N 伸缩振动发生耦合作用, 形成酰胺 II 带吸收, 这与文献测定的蛋白质吸收峰相似^[40]。此外, 2358 cm^{-1} 是 50 d 奶酪里一组中强度的肩峰, 推测存在胺, 胺的碱性较强, 易与酸形成铵盐, 成盐后, 分子中的氨基转化为铵离子。叔铵盐因有了 N-H 键基团而在氢键区 2358 cm^{-1} 出现吸收峰^[41]。这两处由氨基引起的特征吸收都与蛋白质的二级结构密切相关^[38], 与宋思远^[42]研究结果一致, 这表明可能是由于不同发酵期奶酪蛋白质结构不同造成的差异。

表 5 不同发酵时间奶酪的傅里叶变换红外光谱信息

Table 5 Fourier transform infrared spectroscopy information of cheese at different fermentation times

波数范围/ cm^{-1}	吸收峰/ cm^{-1} 及透光率/%				可能的相关基团
	25 d		50 d		
	吸收峰	透光率	吸收峰	透光率	
1500~400	669	41.912	669	64.350	N-H、 $=\text{C}-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2$ 、C-N、C-O、 C-O-C、C-C、 $-\text{CH}_3$ 、O-H
	721	41.054	719	70.342	
	1166	25.967	1172	59.165	
	1458	24.269	1458	55.830	
2000~1500	1560	24.334	1652	54.046	N-H、N=O、C=C、C=O
	1654	21.901	1745	46.081	
2500~2000	1743	14.105			C \equiv C、N-H、P-H
	2279	25.831	2358	35.670	
4000~2500	2852	10.784	2852	41.012	$-\text{CH}_2$ 、N-H、O-H
	2923	7.249	3421	43.322	
	3421	13.994			

3 结论

随着发酵时间的延长,50 d 较 25 d 奶酪的总酸含量呈极显著增加($P<0.01$),而发酵至 50 d 时,水分、蛋白质、脂肪、可溶性糖含量分别降至 18.37%、35.04%、38.91%、1.35%,呈极显著降低($P<0.01$)。其中总酸含量的增加与发酵过程中的糖酵解有关,而其他组分的降低与蛋白质水解、脂肪酶解等一系列生化反应有关。此外,50 d 奶酪质构特性、水分分布均发生一定变化,但在可接受范围之内。通过紫外-可见吸收光谱测定不同溶剂提取液,不同发酵时间奶酪分级提取液乙酸乙酯提取液在 263 nm 处吸收峰存在差异,与 α 、 β -不饱和酸、酯、酰胺等物质有关,而分别提取法石油醚提取液在 273 nm 处吸收峰存在差异,与发酵产生风味物质—饱和醛类化合物有关。此外,傅里叶变换红外光谱中不同发酵期奶酪的特征吸收主要在 1560、2279、2358、2923 cm^{-1} 存在差异,其中在 2358、2923 cm^{-1} 处是由氨基引起的蛋白质相关峰,进一步表明不同发酵期奶酪间蛋白质结构存在差异,说明不同发酵期奶酪的光谱学特性存在显著差异性,可以作为区分奶酪不同发酵期的依据。

参考文献

- [1] 武爱群. 奶酪的营养价值及国内消费市场培育研究[J]. 食品安全导刊, 2018, (21): 166-167.
WU AIQ. Research on nutritional value of cheese and cultivation of domestic consumption market [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, (21): 166-167.
- [2] 刘一凡. 中国奶酪市场现状及趋势分析[J]. 中国乳业, 2020, (4): 54-56.
LIU YF. Analysis of the current situation and trend of Chinese cheese market [J]. China Dairy, 2020, (4): 54-56.
- [3] 顾春华, 刘煜, 王建军, 等. 奶酪的营养价值及奶酪中生物活性肽的研究进展[J]. 食品安全导刊, 2021, (20): 186-189.
GU CH, LIU Y, WANG JJ, *et al.* The nutritional value of cheese and the research progress of bioactive peptides in cheese [J]. Chin Food Saf Magaz, 2021, (20): 186-189.
- [4] 李志国, 宗学醒, 闫清泉, 等. 奶酪风味形成的研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2019, 42(1): 51-54.
LI ZG, ZONG XX, YAN QQ, *et al.* Research progress of cheese flavor formation [J]. J Dairy Sci Technol, 2019, 42(1): 51-54.
- [5] 蔡琳飞, 李键, 陈炼红. 我国奶酪产品研究现状及分析[J]. 中国乳品工业, 2015, 43(7): 42-44, 48.
CAI LF, LI J, CHEN LH. Research status and analysis of cheese products in China [J]. China Dairy Ind, 2015, 43(7): 42-44, 48.
- [6] 石永祺, 梁琪, 宋雪梅, 等. 脂肪含量对牦牛乳硬干酪质构、流变和微观结构的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(20): 14-19.
SHI YQ, LIANG Q, SONG XM, *et al.* Effect of fat content on texture, rheology and microstructure of yak milk hard cheese [J]. Food Sci, 2020, 41(20): 14-19.
- [7] 徐振丽, 陈计峦, 裴龙英, 等. 奶酪风味及芳香物质研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(12): 181-184.
XU ZL, CHEN JL, PEI LY, *et al.* Research progress of cheese flavor and aromatic substances [J]. China Cond, 2019, 44(12): 181-184.
- [8] 樊继鹏, 张建强, 李浩, 等. 抑制常温贮藏干酪褐变的方法研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(1): 204-212.
FAN JP, ZHANG JQ, LI H, *et al.* Study on methods of inhibiting browning of cheese stored at room temperature [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2014, 14(1): 204-212.
- [9] 董进, 刘会平, 陈琴, 等. 贮存期对常温保存再制奶酪品质的影响[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(9): 26-30.
DONG J, LIU HP, CHEN L, *et al.* Effect of storage period on the quality of processed cheese stored at room temperature [J]. China Dairy Ind, 2012, 40(9): 26-30.
- [10] 周雨. 西藏牦牛软质鲜奶酪加工工艺优化及其品质测定[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(2): 60-64.
ZHOU Y. Processing technology optimization and quality determination of Tibetan yak soft fresh cheese [J]. China Dairy Ind, 2021, 49(2): 60-64.
- [11] ASHKEZARY MR, BONANNO A, TODARO M, *et al.* Effects of adding solid and molten chocolate on the physicochemical, antioxidant, microbiological, and sensory properties of ewe's milk cheese [J]. J Food Sci, 2020, 85(3): 556-566.
- [12] SOODAM K, ONG L, POWELL IB, *et al.* Effect of calcium chloride addition and draining pH on the microstructure and texture of full fat Cheddar cheese during ripening [J]. Food Chem, 2015, 181: 111-118.
- [13] SEKBAN H, TARAKCI Z. Effects of different starter cultures on the ripening characteristics of golot cheese [J]. Nutr Food Sci, 2021, 51(4): 664-676.
- [14] MILORADOVIC Z, TOMIC N, KLJAJEVIC N, *et al.* High heat treatment of goat cheese milk, the effect on sensory profile, consumer acceptance and microstructure of cheese [J]. Foods, 2021, 10(5): 1-12.
- [15] MARGOLIES BJ, BARBANO DM. Determination of fat, protein, moisture, and salt content of Cheddar cheese using mid-infrared transmittance spectroscopy [J]. J Dairy Sci, 2018, 101(2): 924-933.
- [16] 谢玉荣, 李强, 王娇. 红外光谱技术在食品检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(22): 7773-7778.
XIE YR, LI Q, WANG J. Application of infrared spectroscopy in food inspection [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(22): 7773-7778.
- [17] LAMBROS S, EFROSINI A, GOLFO M. Use of sweet sheep buttermilk in the manufacture of reduced-fat sheep milk cheese [J]. Int Dairy J, 2021, 120: 1-11.
- [18] ZHENG XC, SHI XW, WANG B. A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 1-17.
- [19] 由继红, 董春光, 史晓昆. 小麦叶片可溶性糖含量测定方法的研究[J]. 实验室科学, 2021, 24(2): 27-29, 33.
YOU JH, DONG CG, SHI XK. Study on the determination method of soluble sugar content in wheat leaves [J]. Lab Sci, 2021, 24(2): 27-29, 33.
- [20] 吴姝宓. 乳清奶酪酥饼的加工工艺及其品质功能特性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018.
WU SM. Study on the processing technology and quality and functional characteristics of whey cheese shortbread [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2018.
- [21] 赵赛楠. Halloumi 凝块与热烫工艺及低盐贮藏对 Halloumi 干酪品质的影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2019.
ZHAO SN. Effects of Halloumi clots and blanching technology and low salt storage on the quality of Halloumi cheese [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2019.
- [22] 宋珊珊, 耿阳阳, 冯涛池, 等. 基于低场核磁共振分析与成像探究贮藏

- 过程中板栗水分迁移对其质构变化的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24): 44-49.
- SONG SS, GENG YY, FENG TC, *et al.* Based on low-field NMR analysis and imaging, the influence of water migration on texture changes of chestnut during storage was explored [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2020, 41(24): 44-49.
- [23] 丁聪, 陈俊, 何亚骏, 等. 瑶药心叶紫金牛紫外-可见光谱分析[J]. 广州化工, 2020, 48(2): 87-88, 100.
- DING C, CHEN J, HE YJ, *et al.* Ultraviolet-visible spectrum analysis of *Ardisia foetida* [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2020, 48(2): 87-88, 100.
- [24] 梁爽, 陆红宇. 猴耳环不同药用部位的紫外-可见光谱鉴别研究[J]. 广州化工, 2019, 47(19): 83-85, 93.
- LIANG S, LU HY. Identification of different medicinal parts of monkey earring by UV-vis spectrum [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2019, 47(19): 83-85, 93.
- [25] 邵月华, 邵忠松. 傅里叶红外光谱法对海参品质的研究[J]. 食品工业, 2018, 39(9): 179-180.
- SHAO YH, SHAO ZS. Study on the quality of sea cucumber by Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Food Ind*, 2018, 39(9): 179-180.
- [26] ONG L, INCECCO PD, PELLEGRINO L, *et al.* The effect of salt on the structure of individual fat globules and the microstructure of dry salted Cheddar cheese [J]. *Food Biophys*, 2020, 15(10): 85-96.
- [27] 白建, 薛建娥. 黑豆乳添加量对 Mozzarella 奶酪成熟过程中品质的影响[J]. 中国酿造, 2021, 40(2): 154-158.
- BAI J, XUE JE. The effect of the amount of black bean milk on the quality of Mozzarella cheese during ripening [J]. *China Brew*, 2021, 40(2): 154-158.
- [28] 宋伟, 李冬坤, 乔琳, 等. 对不同含水量粳稻谷 T₂ 峰面积和 MRI 图像的定量分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(22): 4529-4538.
- SONG W, LI DS, QIAO L, *et al.* Quantitative analysis of T₂ peak area and MRI image of japonica rice valley with different water content [J]. *China Agric Sci*, 2015, 48(22): 4529-4538.
- [29] VOGT SJ, SMITH JR, SEYMOUR JD, *et al.* Assessment of the changes in the structure and component mobility of Mozzarella and Cheddar cheese during heating [J]. *J Food Eng*, 2015, 150: 35-43.
- [30] CHEN YY, MACNAUGHTAN W, JONES P, *et al.* The state of water and fat during the maturation of Cheddar cheese [J]. *Food Chem*, 2020, 303: 1-8.
- [31] 吴政, 逢晓阳, 芦晶, 等. 基于核磁共振技术分析奶酪在真空干燥中的水分迁移及货架期品质变化规律[J]. 中国乳品工业, 2020, 48(9): 25-29, 36.
- WU Z, PANG XY, LU J, *et al.* Analysis of water migration and shelf-life quality change of cheese during vacuum drying based on NMR technology [J]. *China Dairy Ind*, 2020, 48(9): 25-29, 36.
- [32] 柳贤福, 曹瑞, 覃日宏, 等. 壮药白苞萹的紫外-可见光谱分析[J]. 中国民族民间医药, 2018, 27(21): 43-46.
- LIU XF, CAO R, QIN RH, *et al.* Ultraviolet-visible spectrum analysis of *Artemisia alba* [J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*, 2018, 27(21): 43-46.
- [33] 董欣, 王丽燕. 氨基酸紫外光谱的再测定[J]. 德州学院学报, 2015, (2): 44-46.
- DONG X, WANG LY. Re-determination of ultraviolet spectrum of amino acids [J]. *J Dezhou Univ*, 2015, (2): 44-46.
- [34] 魏巧燕, 欧全宏, 时有明, 等. 葡萄干的傅里叶变换红外光谱鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40(S1): 63-64.
- WEI QY, OU QH, SHI YM, *et al.* Identification of raisins by Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2020, 40(S1): 63-64.
- [35] 安冉, 刘刚, 欧全宏, 等. 香樟树叶老化的傅里叶红外光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(1): 47-48.
- AN R, LIU G, OU QH, *et al.* Study on leaf aging of *Cinnamomum camphora* by Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2018, 38(1): 47-48.
- [36] ONG L, PAX AP, ONG A, *et al.* The effect of pH on the fat and protein within cream cheese and their influence on textural and rheological properties [J]. *Food Chem*, 2020, 332: 1-25.
- [37] 舒友琴, 张贺凡, 胡平. 利用红外光谱法检测奶粉中的淀粉掺伪[J]. 现代牧业, 2021, 5(2): 31-35.
- SHU YQ, ZHANG HF, HU P. Detection of starch adulteration in milk powder by infrared spectroscopy [J]. *Mod Anim Husbandry*, 2021, 5(2): 31-35.
- [38] 王梅. 傅里叶变换红外光谱法分析乳制品的成分[J]. 分析测试技术与仪器, 2016, 22(3): 165-168.
- WANG M. Fourier transform infrared spectroscopy to analyze the composition of dairy products [J]. *Anal Test Technol Instrum*, 2016, 22(3): 165-168.
- [39] 刘唤, 章肇敏, 徐德利, 等. FTIR 在婴幼儿配方乳粉中的鉴别研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(21): 158-161.
- LIU H, ZHANG ZM, XU DL, *et al.* Identification of FTIR in infant formula milk powder [J]. *Food Res Dev*, 2017, 38(21): 158-161.
- [40] 刘海静, 许长华, 李伟明, 等. 基于红外指纹图谱的螺旋藻品质分析和蛋白含量测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(4): 977-981.
- LIU HJ, XU CH, LI WM, *et al.* Quality analysis and protein content determination of *Spirulina platensis* based on infrared fingerprint [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2013, 33(4): 977-981.
- [41] 孟令芝, 龚淑玲, 何永炳, 等. 有机波谱分析[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2016.
- MENG LZ, GONG SL, HE YB, *et al.* Organic spectral analysis [M]. Wuhan: Wuhan University Press, 2016.
- [42] 宋思远. 中红外光谱技术对液态乳中掺入非蛋白氮物质检测的研究[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2013.
- SONG SY. Study on the detection of non-protein nitrogen in liquid milk by mid-infrared spectroscopy [D]. Shijiazhuang: Hebei University of Science & Technology, 2013.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



徐楠, 主要研究方向为食品科学与工程。

E-mail: chzuxunan@126.com



张余, 博士, 教授, 主要研究方向为食品化学与营养学、膳食蛋白方向的研究。

E-mail: zhangchuan2005@126.com