

热处理对牛乳美拉德反应程度及挥发性成分的影响

依胜男, 芦晶, 逢晓阳, 郝莉雨, 张书文*, 吕加平*

(中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193)

摘要:以原料乳及不同热处理程度的15种牛乳样品为研究对象,通过分析典型美拉德产物糠氨酸和5-羟甲基糠醛的含量以反映不同热处理牛乳的美拉德反应程度,同时采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, SPME-GC-MS)和电子鼻解析不同热处理的牛乳中挥发性成分的变化规律。结果表明:热处理程度越大,美拉德反应越剧烈,美拉德产物糠氨酸和5-羟甲基糠醛的含量在热处理温度高于120℃或热处理时间高于15s时急剧增加。电子鼻通过主成分分析可知,热处理时间相同时,不同热处理温度的牛乳样品间气味差异显著。SPME-GC-MS结果表明:120℃/5s和120℃/15s热处理的牛乳风味相近,且热处理强度越大,风味物质种类增加越多,其中醛类、酮类和酯类相对含量增加明显,部分酸类相对含量明显减少。本实验明确不同热处理方式对牛乳美拉德反应程度及其对牛乳风味的影响,具实际生产指导意义。

关键词:热处理;美拉德反应;糠氨酸;电子鼻;顶空固相微萃取-气相色谱-质谱

Effect of Heat Treatment on Maillard Reaction Degree and Volatile Components of Milk

YI Shengnan, LU Jing, PANG Xiaoyang, HAO Liyu, ZHANG Shuwen*, LÜ Jiaping*

(Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: The Maillard reaction degree of 15 heat-treated milks were evaluated by determining the production of two typical Maillard reaction products, furosine and 5-hydroxymethyl furfural. The change of volatile compounds in the treated samples were investigated by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) and electronic nose technology (E-nose). An untreated sample was used as a control. The results showed that greater degree of heat treatment could result in higher degree of Maillard reaction, and the production of furosine and 5-hydroxymethylfurfural increased sharply when the heat treatment temperature was higher than 120℃ or the heat treatment time was longer than 15 s. Principal component analysis (PCA) of the E-nose data showed significant odor differences between samples treated at different temperatures for the same duration. GC-MS results showed that the flavor of heat-treated milk at 120℃/5 s and 120℃/15 s was similar to each other, and as the intensity of heat treatment increased, the number of newly formed flavor substances increased significantly, and the relative contents of aldehydes, ketones and esters increased significantly. On the other hand, the relative contents of some acids significantly dropped. This study corroborated the effect of different heat treatments on the Maillard reaction degree and flavor of milk, which could also provide guidance for milk production.

Keywords: heat treatment; Maillard reaction; furosine; electronic nose; headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200622-295

中图分类号: TS252.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2021)14-0009-07

引文格式:

依胜男, 芦晶, 逢晓阳, 等. 热处理对牛乳美拉德反应程度及挥发性成分的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(14): 9-15.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200622-295. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2020-06-22

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项(2018YFC1604301; 2018YFD0400900); 国家自然科学基金面上项目(31871834)

第一作者简介: 依胜男(1994—)(ORCID: 0000-0002-4094-8854), 女, 硕士, 研究方向为食品科学。E-mail: 1295152333@qq.com

*通信作者简介: 张书文(1983—)(ORCID: 0000-0002-0064-2236), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为乳品加工。

E-mail: zswcaas@hotmail.com

(C)1994-2021 China Academic Electronic Journal Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

E-mail: kjdairy@126.com

YI Shengnan, LU Jing, PANG Xiaoyang, et al. Effect of heat treatment on Maillard reaction degree and volatile components of milk[J]. Food Science, 2021, 42(14): 9-15. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx.1002-6630-20200622-295. <http://www.spkx.net.cn>

牛乳是生活中不可或缺的营养来源之一,其营养成分及其活性成分高达2 300多种^[1]。牛乳中钙和蛋白质有益于人体的生长发育,且钙磷比适当,更易被人体吸收。并且,牛乳中的乳脂肪、乳糖和维生素等其他物质组分同样易被人体吸收^[2]。此外,还有种类繁多的生物活性成分。乳中生物活性物质具有各种不同的作用和功能,包括维持和提升机体免疫系统、内分泌等系统的良好运转,以及激发各种抗菌物质、酶类和活性肽等的生物活性^[3]。

生鲜乳中含有大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌等有害菌,且牛乳是多种微生物的优良繁殖场所,为保证乳制品的生物安全性,在加工过程或饮用前生鲜乳常需进行杀菌处理。牛乳杀菌方式主要分为热杀菌和冷杀菌。热处理是乳品加工中最主要的杀菌方式^[4]。热处理会导致牛乳发生多种理化反应,如美拉德反应、乳糖异构化以及蛋白变性等。在美拉德反应过程中,不同阶段会生成各不相同的复杂产物,且多数产物为潜在有害物质。随热处理程度的增加,产物含量会不同程度地增加^[5]。糠氨酸(furosine, FRS)、丙烯酰胺是初级反应的标志产物。5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethyl-furfuralaldehyde, 5-HMF)、羧甲基赖氨酸均为美拉德反应中中级产物^[6]。5-HMF与FRS生成的阶段不同,其含量明显不同,且含量的增加速率存在显著差别。在美拉德反应前期,FRS的产生速率更高,而反应后期,5-HMF产生速率更高。

此外,牛乳热处理会导致原料乳风味发生很大改变,牛乳热加工程度不同,其风味变化程度不同。热处理过程伴随多种理化反应,如乳蛋白间的酪蛋白与乳清蛋白的交联^[7],乳脂肪会发生氧化反应^[8],乳糖与蛋白发生美拉德反应和焦糖化反应^[9],发生这些理化反应会改变牛乳风味物质的组成,甚至产生生鲜乳本身没有的不良风味^[10]。

本实验旨在探究不同热处理程度对牛乳美拉德反应程度以及挥发性成分形成的影响,以期对牛乳热处理工艺改进提供一定参考。本实验拟通过测定乳中美拉德反应的典型产物,即FRS和5-HMF的含量变化研究美拉德反应的进程,结合电子鼻技术探究不同牛乳样品间的风味差异,采用固相微萃取-气相色谱-质谱(solid phase microextraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry, SPME-GC-MS)联用法检测乳样的挥发性成分及其差别。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

生鲜乳 北京三元绿荷牧场。FRS、5-HMF(均为色谱纯) 美国Sigma公司;2-甲基-3-庚酮、硫酸钾和硫酸铜混合片 北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器与设备

PEN3型便携式电子鼻传感器 德国Airsense公司;HP6890/5975C GC-MS联用仪、1260超高效液相色谱(ultra-high performance liquid chromatography, UPLC)、ZORBAXSB反相高效液相色谱柱 美国安捷伦科技公司;57308 PDMS手动SPME装置、2 cm-50/30 μm 二乙烯基苯(divinylbenzene, DVB)萃取纤维头 美国Supelco公司;UHT杀菌机 日本Powerpoint International公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备

实验乳样品分16组,以原料乳为对照样品,其余15组样品采用不同温度和时间组合的热处理作为加热组。实验通过中试设备UHT杀菌机控制热处理时间和温度以完成牛乳样品的制备。每个温度在设定温度的2 $^{\circ}\text{C}$ 波动。样品收集后将其于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存以供后续分析。样品1、2、3、4、5号分别在75、90、105、120、135 $^{\circ}\text{C}$ 进行热处理反应5 s,样品6、7、8、9、10号分别在75、90、105、120、135 $^{\circ}\text{C}$ 进行热处理反应15 s,样品11、12、13、14、15号分别在75、90、105、120、135 $^{\circ}\text{C}$ 进行热处理反应30 s。

1.3.2 牛乳FRS含量的测定

参考文献[11-14]采用HPLC测定方法并进行修改。取2.00 mL试样,置于带密封的耐热试管中,加入6.00 mL的10.6 mol/L的盐酸溶液,混匀。向试管中缓慢通入高纯度氮气1~2 min,密闭试管,然后将其置于烘箱中,在110 $^{\circ}\text{C}$ 加热水解24 h。加热约1 h后,轻摇试管。加热结束后,将试管从干燥箱中取出,冷却后过滤,保留滤液供测定。凯氏定氮法测定保留滤液中的蛋白含量。吸取试样,水解待测溶液于凯氏定氮消化管中,加入硫酸钾和硫酸铜混合片和10.00 mL浓硫酸,于420 $^{\circ}\text{C}$ 消化90 min至溶液澄清后,转入凯氏定氮仪进行蒸馏、测定,并计算水解液中蛋白质的含量。水解液中FRS含量以样品质量分数计,数值以每100 g蛋白质中所含质量表示,按式(1)计算:

$$W = \frac{C \times D}{M} \times 100 \quad (1)$$

式中: W 为样品中FRS含量/(mg/100 g); C 为UPLC测得的样品水解液中FRS质量浓度/($\mu\text{g/mL}$); D 为测定时样品溶液的稀释倍数(4); M 为样品水解液中蛋白质质量浓度/(mg/mL)。

1.3.3 牛乳5-HMF含量的测定

参照NY/T 1332—2007《乳与乳制品中5-羟甲基糠醛含量的测定 高效液相色谱法》^[15]中5-HMF检测方法。除去样品中的蛋白质沉淀后,滤液中的5-HMF经反相高效液相色谱柱分离,用紫外检测器在284 nm波长处检测,外标法定量。实验以甲醇-水(15:85, V/V)进行等度洗脱15 min,流速1 mL/min。5-HMF含量按式(2)计算:

$$X = \frac{A_i \times C_s \times V}{A_s \times m} \quad (2)$$

式中: X 为试样中5-HMF的含量/(mg/kg); A_i 为试样中5-HMF的峰面积; A_s 为标准工作液中5-HMF的峰面积; C_s 为标准工业液中5-HMF的质量浓度/($\mu\text{g/mL}$); V 为试样最终定容体积/mL; m 为试样质量/g。

1.3.4 电子鼻测定牛乳风味

取2.00 mL不同热处理程度的牛乳放置于电子鼻专用的玻璃瓶中,封盖后室温平衡30 min,用电子鼻测定样品间气味的差异。电子鼻采用顶空进样方式,每个样品重复4次,筛选3个理想结果作为平行组,载气为空气,流速为300 mL/min。顶空获取时间为60 s,延滞180 s,选取48~52 s较平稳的阶段进行信息采集,用仪器自带软件完成主成分分析(principal component analysis, PCA)步骤。

1.3.5 牛乳挥发性风味物质的测定

取2.00 mL牛乳装于顶空瓶中,密封、待测。吹扫条件:温度50 $^{\circ}\text{C}$ 、平衡20 min、吸附15 min、氮吹流量50 mL/min。

GC条件:DB-WAX色谱毛细管柱(30.00 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm),起始温度设定为40 $^{\circ}\text{C}$,持续3 min后,以5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温到200 $^{\circ}\text{C}$,再以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温到230 $^{\circ}\text{C}$ 保持3 min,载气为氦气,恒定流速1.2 mL/min,进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$,压力706.7 kPa。分流比1:1。

MS条件:电子电离源,电子能量70 eV,传输线温度280 $^{\circ}\text{C}$,离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$,四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$,溶剂延迟3 min,质量扫描范围 m/z 55~500。

1.4 数据处理

实验数据使用SPSS 8.5软件进行统计处理。电子鼻采用PCA进行处理。在NIST标准质谱库中自动检索各组分质谱数据,并通过挥发性风味物质与内标物2-甲基-3-庚酮粒子流的强度进行相对定量。

2 结果与分析

2.1 不同热处理程度的牛乳美拉德反应产物

2.1.1 牛乳FRS含量

表1 不同热处理程度FRS含量的变化

Table 1 Change of furosine contents at different heat treatment levels

时间/s	FRS含量/(mg/100 g)				
	75 $^{\circ}\text{C}$	90 $^{\circ}\text{C}$	105 $^{\circ}\text{C}$	120 $^{\circ}\text{C}$	135 $^{\circ}\text{C}$
原料乳	3.89				
5	17.4 $\pm$ 2.4 ^{ab}	23.8 $\pm$ 1.9 ^{ab}	32.4 $\pm$ 0.7 ^{ab}	61.7 $\pm$ 1.5 ^{ac}	153.6 $\pm$ 7.0 ^{ad}
15	24.6 $\pm$ 0.2 ^{bc}	27.4 $\pm$ 0.9 ^{bc}	38.9 $\pm$ 5.0 ^{bc}	67.7 $\pm$ 0.7 ^{bc}	166.8 $\pm$ 13.8 ^{bd}
30	25.3 $\pm$ 1.8 ^{bc}	28.9 $\pm$ 1.3 ^{bc}	39.2 $\pm$ 3.7 ^{bc}	111.8 $\pm$ 7.2 ^c	255.3 $\pm$ 19.7 ^d

注:同行不同小写字母表示差异极显著($P<0.01$);同列不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

如表1所示,本实验原料乳中的FRS含量3.89 mg/100 g明显低于其他热处理乳样品。当热处理时间相同时,不同热处理温度样品间差异极显著($P<0.01$)。当热处理时间为5、15 s且温度低于120 $^{\circ}\text{C}$ 时,FRS含量增加速率较缓慢,但当温度由120 $^{\circ}\text{C}$ 升高到135 $^{\circ}\text{C}$ 时,FRS含量增加2~3倍。当热处理时间为30 s,且温度低于105 $^{\circ}\text{C}$ 时,FRS含量增加缓慢,但当温度升高到120 $^{\circ}\text{C}$ 时,FRS含量开始大幅增加。当加热温度升高到135 $^{\circ}\text{C}$ 时,不同加热时间5、15、30 s的FRS含量分别为153.6、166.8、255.3 mg/100 g。在均低于105 $^{\circ}\text{C}$ 的相同温度时,不同热处理时间的样品差异不大。当热处理温度为120 $^{\circ}\text{C}$ 时,热处理时间分别为5、15、30 s的样品中,FRS含量分别为61.7、67.7、111.8 mg/100 g。因此,热处理120 $^{\circ}\text{C}/5$ s和120 $^{\circ}\text{C}/15$ s的样品中FRS含量差异不大,但120 $^{\circ}\text{C}/30$ s处理的样品差异显著,且120 $^{\circ}\text{C}/30$ s处理样品显著低于135 $^{\circ}\text{C}/5$ s的条件超高温瞬时灭菌(ultra-high temperature instantaneous sterilization, UHT)样品中FRS含量,其对应关系为:111.8 mg/100 g<153.6 mg/100 g。FRS含量与美拉德反应程度密切相关,是美拉德反应的初级阶段产物,美拉德反应与加热的温度和时间密切相关。加热温度越高或加热时间越长,美拉德反应的程度会越剧烈,形成的美拉德产物中FRS含量会越高,但当热处理温度高于120 $^{\circ}\text{C}$ 或热处理时间高于20 s时,FRS含量会急剧增加。

FRS是美拉德反应过程中乳糖和赖氨酸反应的产物^[16]。FRS含量可反映牛乳中赖氨酸的热损伤程度以及牛乳的热加工程度^[17]。除了在热处理过程中,FRS含量随热处理强度的增大而增加外,在贮藏过程中,随贮藏时间延长和温度升高,FRS含量也持续增加^[18]。除原料乳和巴氏杀菌乳外,其他多种热处理程度的牛乳中的FRS含量存在较大差异,并风味物质种类有一定重叠。Lorenzen^[19]发现,不同热加工牛乳的FRS含量存在明显差别,且同

种牛乳间FRS含量也存在较大差别,热处理强度越大,FRS含量越高。低温巴氏杀菌乳中含量为4~14 mg/100 g,长货架期(extended shelf life, ESL)巴氏杀菌乳中含量为1~260 mg/100 g,灭菌乳中含量为250~440 mg/100 g^[20-22]。

如表1所示,75 °C/15 s处理样品中的FRS含量为24.6 mg/100 g,90 °C/15 s处理牛乳样品中的FRS含量为27.4 mg/100 g,测得原料乳中FRS含量为3.89 mg/100 g,2种热处理条件的牛乳中FRS含量分别约为原料乳的6倍和7倍,与迟晓玮^[23]发现牛乳经85 °C/15 s热处理后FRS含量是原料乳对应含量的6倍的结果相似。Elliott^[24]发现,生乳中FRS含量为3~5 mg/100 g,且FRS含量与美拉德反应的第一阶段有关。实验测得UHT样品中FRS含量为153.6 mg/100 g,在Elliott^[24]测得UHT乳中FRS含量56~220 mg/100 g的范围之内。孙琦^[25]发现,热处理137 °C的牛乳中FRS含量显著高于125 °C热处理的样品。实验热处理温度升高到135 °C时,FRS的含量剧增。Lorenzen^[19]发现原料乳和低温巴氏灭菌牛乳中FRS含量的范围均为4~14 mg/100 g,ESL巴氏杀菌乳、UHT直接加热牛乳、UHT间接加热牛乳、灭菌牛乳中FRS含量的范围分别为10~260、16~485、40~430、250~440 mg/100 g。结合研究发现^[23-24],不同牛乳的FRS检测值范围广,数值存在较大差异。

2.1.2 牛乳5-HMF含量

生鲜乳中5-HMF含量很少或不存在,如表2所示,实验在原料乳中未检测到5-HMF。热处理时间相同时,随热处理温度的升高,5-HMF含量呈现不同程度增加的规律,样品间5-HMF含量差异显著($P<0.05$)。当热处理时间相同,且温度低于120 °C时,5-HMF含量呈现小幅增加。当温度由120 °C升高到135 °C时,5-HMF含量急剧增加。热处理时间相同,热处理温度135 °C时,5-HMF含量是120 °C时的2~3倍。当热处理温度相同,温度低于120 °C时,5-HMF增加量不大。当热处理时间由5 s增加到30 s时,热处理温度在75、90、105、120 °C对应的5-HMF增加量分别为0.04、0.04、0.07、0.12 mg/kg。当热处理温度为135 °C时,随热处理时间的延长,5-HMF的增加量变大。当热处理时间由5 s增加到30 s时,5-HMF含量增加量为0.54 mg/kg。Pereda^[2]发现,当热处理温度高于130 °C时,5-HMF的含量才开始急剧增加。

表2 不同热处理程度的5-HMF含量变化

Table 2 Change of 5-HMF contents at different heat treatment levels

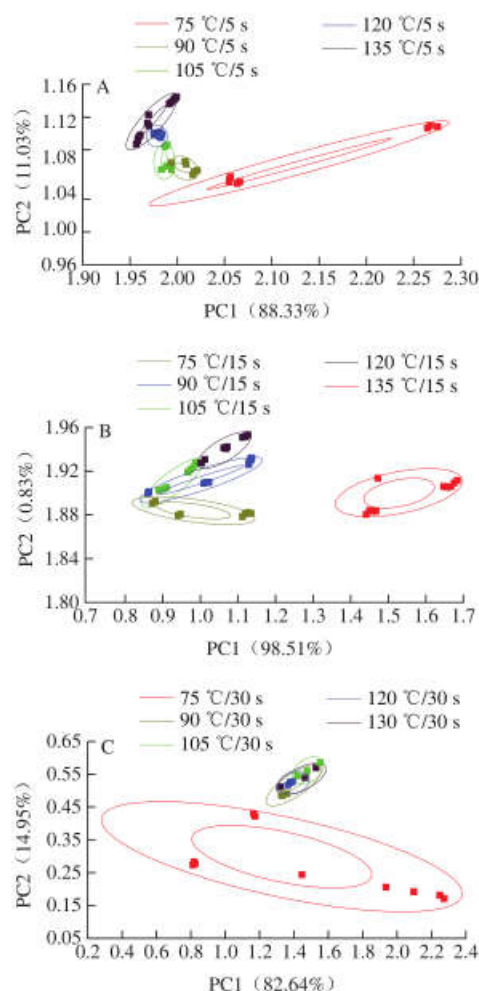
时间/s	5-HMF含量/(mg/100 g)				
	75 °C	90 °C	105 °C	120 °C	135 °C
5	0.17±0.003 ^{ab}	0.20±0.022 ^{ab}	0.30±0.033 ^{ab}	0.44±0.030 ^{bc}	1.11±0.043 ^{cd}
15	0.21±0.005 ^{ba}	0.28±0.048 ^{ba}	0.31±0.058 ^{ba}	0.50±0.089 ^{bc}	1.42±0.072 ^{cd}
30	0.21±0.044 ^{ba}	0.24±0.013 ^{ca}	0.37±0.025 ^{cb}	0.56±0.023 ^{cb}	1.65±0.119 ^{cd}

注:同列不同大写字母表示差异显著($P<0.05$);同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

5-HMF含量与FRS含量增长趋势可反映美拉德反应中占主要进程的特定反应阶段。高萌^[26]同样发现,随热处理温度增高和时间增长,巴氏杀菌乳和UHT乳中5-HMF含量均发生了明显变化,温度越高,时间越长,5-HMF含量越高。实验发现温度升到135 °C时,5-HMF含量急剧增加。因此,热处理温度升高到135 °C时,美拉德反应第1、第2阶段的同时剧烈进行导致FRS和5-HMF的含量均激增。

2.2 不同热处理程度的牛乳挥发性风味成分评价

2.2.1 不同热处理牛乳风味区分度分析



A、B、C热处理时间分别为5、15、30 s。

图1 相同热处理时间不同温度牛乳样品间电子鼻的PCA图

Fig. 1 PCA plots discriminating between milk samples treated at different temperatures from the same duration

电子鼻采用PCA通过提取多指标信息,进而转换和降维数据^[27]。图1是对不同温度且相同热处理时间的样品PCA图,A、B、C为分别在不同温度处理5、15、30 s样品的对比分析,PC1、PC2的总贡献率分别为99.36%、99.34%、97.59%,均大于90%,因此PC1、PC2代表了主要的信息特征,其表明相同热处理时间、不同热处理

温度的样品之间差异显著。如图1A所示,样品之间风味的变化主要体现在PC2上,随加热温度的升高,某种风味物质含量占比逐渐增加。如图1B所示,当加热时间为15 s,温度从75 ℃从上升到90 ℃时,气味的变化主要体现在PC1上,由于其贡献率达到98.51%,所以温度变化引起2个样品之间的风味差异。90 ℃后,随温度的升高,气味变化主要体现在PC2的贡献率逐渐增加。图1C表明,不同温度持续30 s热处理的样品气味差异主要体现在PC2上,除热处理温度75 ℃外,其他样品的气味相近。当温度高于90 ℃时,牛乳气味与热处理温度为75 ℃的牛乳气味存在显著差异。

2.2.2 不同热处理牛乳风味物质种类

表3 GC-MS测定风味物质及其相对含量

Table 3 Flavor substances and their relative contents in heat-treated milks determined by GC-MS

序号	风味物质	质量浓度/(mg/L)				
		原料乳	75 ℃/15 s	120 ℃/5 s	120 ℃/15 s	135 ℃/5 s
1	己醛	9.78	8.77	8.78	5.23	2.01
2	辛醛	—	0.88	1.89	2.08	5.89
3	壬醛	—	0.12	1.57	1.73	5.88
4	2-癸醛	—	—	0.17	0.45	1.88
5	3,5-二甲基苯甲醛	—	0.54	1.22	1.98	2.98
6	2-癸醛	—	3.44	3.98	4.07	5.02
7	庚醛	4.28	3.45	1.88	1.75	—
8	2-庚酮	—	2.88	6.78	8.07	23.14
9	丙酮	—	—	3.78	3.99	8.99
10	2-壬酮	0.36	0.86	2.82	2.88	4.38
11	2-丁酮	—	2.34	5.78	5.92	15.88
12	2-十一烷酮	—	1.99	2.07	2.68	4.19
13	2-十三烷酮	0.23	0.29	0.88	0.98	1.22
14	十三烷	0.48	0.45	0.56	1.28	3.45
15	三十一烷	2.24	1.78	—	—	—
16	1,2,4,5-四甲基苯	—	1.23	1.42	2.23	3.44
17	1,3-环戊二烯	—	—	0.30	0.62	1.88
18	十五烷	2.27	6.78	6.88	10.08	16.89
19	甲苯	15.88	12.36	10.99	8.79	7.89
20	十甲基二十烷	—	—	0.60	1.18	1.58
21	萘	—	—	0.67	0.59	1.67
22	2-甲基十一烷	—	0.91	1.12	1.21	1.87
23	17-十六烷基三十四烷	—	0.25	0.26	0.30	0.32
24	苯	12.89	3.51	—	—	—
25	丁酸	14.39	10.88	9.89	3.78	3.23
26	乙酸	22.67	20.88	15.77	15.09	13.56
27	油酸	10.88	10.78	14.78	16.89	21.34
28	己酸	22.13	10.88	10.98	5.99	3.88
29	十二酸	49.77	32.39	26.89	15.30	14.98
30	辛酸	33.52	26.18	27.15	16.01	6.69
31	壬酸	20.34	11.88	9.90	6.89	3.99
32	肉豆蔻酸	—	5.99	5.48	10.56	18.56
33	异辛酸	—	—	—	—	1.48
34	正癸酸	26.53	9.27	3.77	3.67	2.23
35	苯甲酸	20.88	15.89	12.99	6.79	5.99
36	1-二十七烷醇	—	—	0.54	0.58	1.21
37	1-辛醇	—	—	—	—	0.32

续表3

序号	风味物质	质量浓度/(mg/L)				
		原料乳	75 ℃/15 s	120 ℃/5 s	120 ℃/15 s	135 ℃/5 s
38	乙醚醇	6.77	6.67	5.38	4.09	3.45
39	甲氧基苯酚	18.12	12.79	7.56	7.63	7.18
40	苯酚	8.87	8.08	7.78	7.76	4.18
41	麦芽酚	0.13	0.79	1.88	2.06	4.21
42	乙酸乙酯	—	—	—	—	0.99
43	γ -辛内酯	—	0.08	0.40	0.44	1.23
44	γ -十内酯	3.56	3.22	2.10	1.38	0.19
45	γ -十二内酯	—	0.15	3.88	4.08	7.98
46	丁位癸内酯	0.24	0.41	0.43	0.44	0.69
47	2-糠酸甲酯	0.76	1.09	2.23	3.89	4.33
48	二甲基硫醚	—	0.12	0.33	0.36	1.18
49	甲硫醚	—	—	—	—	0.33

注: —,未检出。

如表3所示,原料乳中检测到25种风味物质,75 ℃/15 s中检测到39种风味物质,120 ℃/5 s、120 ℃/15 s中检测到43种风味物质,在135 ℃/5 s中检测到46种风味物质。可见,牛乳通过热处理产生很多种风味物质,主要包括酯类、硫化物及挥发性酮类、醛类和烷烃类物质,如二甲基硫醚、 γ -辛内酯、 γ -十二内酯、2-丁酮、2-庚酮、辛醛、壬醛、2-甲基十一烷等。原料乳中25种风味物质,包括酸类9种、烷烃类5种、醇酚类4种、酯类3种、酮类2种和醛类2种。75 ℃/15 s热处理牛乳39种风味物质,包括酸类10种、烷烃类8种、醛类6种、酮类5种、酯类5种、醇酚类4种和醚类1种。120 ℃/5 s和120 ℃/15 s样品中同样检测到43种风味物质,包括酸类10种、烷烃类9种、醛类7种、酮类6种、醇酚类5种、酯类5种和醚类1种。135 ℃/5 s样品中检测到46种风味物质,包括酸类11种、烷烃类9种、醛类6种、酮类6种、醇酚类6种、酯类6种和醚类2种,其中己酸、壬醛、辛酸、2-癸醛、十三烷、癸酸等均具有较强的挥发性,是牛乳中风味物质中的重要成分。

此外,酸类在生鲜乳和热处理后牛乳中种类最多,但含个别酸类的相对成分存在较大差别。随热处理强度的增加,部分酸类的相对含量明显降低,如丁酸、乙酸、己酸和辛酸等,其中己酸和丁酸具有偏酸的奶油味,在原料奶中含量最高,120 ℃/5 s和120 ℃/15 s中己酸和丁酸的相对含量接近,略低于75 ℃/15 s处理条件的对应含量。辛酸具有花香味和酒味,与其他牛乳相比,135 ℃/5 s中多了异辛酸。种类最多的物质其次是烷烃类,但烷烃类对牛乳风味的影响较小,大部分烷烃类物质无较特殊风味。

随热处理程度增加,酮类、醛类和酯类的相对含量明显增加,其同样是构成牛乳特征风味的主要物质,随热处理温度的升高,酮类化合物的相对含量明显增加,135 ℃/5 s处理酮类相对含量最大。2-庚酮具有油脂味,随热处理强度的增加,牛乳的油脂味也逐渐增加,且

135 °C/5 s处理牛乳中2-庚酮的相对含量明显高于其他3种热处理的牛乳。2-丁酮具有果香味、甜味和轻微的乳样香味。苯甲醛对乳整体良好风味的形成有重要作用,呈苦杏仁香味和焦味,有果香、坚果香韵。壬醛能表现出新鲜味。己酸乙酯有果香。硫化物是在热处理过程中产生的不好的风味物质,生鲜乳中不含有硫化物。本实验共检测到2种硫化物:二甲基硫醚和甲硫醚。二甲基硫醚在热处理后产生,其含量随热处理程度增大而逐渐增多,135 °C/5 s中的相对含量明显高于其他条件热处理的牛乳。甲硫醚只在135 °C/5 s中检测到。相比于75 °C/15 s热处理的牛乳,135 °C/5 s的牛乳含有更高浓度的美拉德反应化合物,如3,5-二甲基苯甲醛,导致牛乳中的蒸煮味更重。 $C_3 \sim C_9$ 的甲基酮对加热牛乳的香气有重要影响。实验的UHT样品中发现的酮主要包括2-庚酮、2-壬酮、2-十一烷酮、2-三苯甲酮等。甲基酮天然存在于牛乳中,但是热处理过程中牛乳脂肪降解,饱和脂肪酸的 β -氧化可以增强甲基酮的形成^[28]。酯是形成超高温灭菌牛乳最重要的化合物。内酯与气味、风味密切相关,极低的内酯含量可以赋予新鲜牛乳良好的风味。牛乳加热后,脂肪酸中发生了一系列化学反应以形成酯类等物质。牛乳中的一些酮酸和羟基在加热后会形成内酯,这也会影响加热产品的香气。如果内酯含量太高,则形成难闻的气味^[29-30]。

牛乳风味的形成除了自身形成的风味外,在加工阶段中原料奶的一些酶发生了酶促反应,从而形成了独特的风味。此外,加工过程的热处理步骤为产品中产生复杂风味物质^[31-32]的理化反应提供条件为牛乳因加工方式的不同而产生特殊风味的主要原因。其中,牛乳热处理过程中风味变化的关键与美拉德反应、脂质降解过程,乳脂蛋白、乳清蛋白和乳脂小球膜中其他蛋白质的热变性有关^[33]。在热处理过程中,乳蛋白中的乳糖和氨基发生的美拉德反应会产生诸如含氮化合物、麦芽酚和二乙酰基的风味化合物。牛乳热处理过程中的脂质降解会产生甲基酮等^[28]。Urbach^[34]发现牛乳中风味物质主要包括2类,其一是烃、醛、酮、醇、酸、酯、内酯等简单组分;其二是包括呋喃和噻吩及其衍生物的含氧、氮、硫的杂环化合物。研究初期,由于检测技术的局限性,生鲜乳中检测到7种风味物质,热处理后则检测到15种风味物质^[35]。但随着科技的发展与检测技术的提升,SPME-GC-MS的检测方法为样品中风味物质的分离和鉴别提供了很大的帮助,可以较大程度地分离和鉴别牛乳的挥发性风味物质。王万厚等^[36]通过SPME-GC-MS测得原料乳的50种风味物质,其中酸类物质种类最多,且相对含量较大的结论与实验结果一致,实验测得牛乳样品中酸类物质的种类最多,且热处理程度不同,相对含量有所变化。此外,UHT样品中风味物质的种类比原料乳

多25种,甲基酮、 γ -十二内酯和 δ -癸内酯等影响UHT乳风味的酮和酯种类明显增加。Lee等^[37]发现,由于加热时间、温度的差异,UHT牛乳和高温短时间巴氏杀菌法牛乳的风味物质及其含量差异很大,导致感官形成很大差异。杨楠等^[38]采用乙醚萃取了原料乳和巴氏杀菌乳中的风味物质,并用GC-MS法测定出原料乳的46种风味物质,主要由 $C_8 \sim C_{20}$ 的酮类、烷烃、烷酸和酯类组成;在加热温度65 °C、时间30 min的巴氏杀菌乳中,共鉴定出69种物质,除上述物质外还含有醛类、酯类和烯类等物质。本实验发现,135 °C/15 s热处理样品较其他热处理程度的样品所含酯类数量增加,且相对含量明显增高。酯类在滋味和气味的形成中发挥重要的作用,低含量的酯类会使牛乳产生好的风味,但高含量的酯类,会使牛乳产生不良的气味^[30]。

3 结论

本实验基于原料乳处理时的3个时间5、15、30 s与5个温度75、90、105、120、135 °C,探究了不同热处理程度对牛乳美拉德反应程度和风味物质及其含量的影响。结果表明,美拉德反应产物FRS和5-HMF含量均随热处理时间延长和温度升高而有不同程度的增多。热处理温度高于120 °C或时间高于15 s时,美拉德产物含量急剧增加。可见,随热处理温度升高及时间的延长,美拉德反应程度加大,当热处理温度升高到135 °C时,美拉德反应程度明显加剧。电子鼻结果表明,热处理时间相同时,不同热处理温度的牛乳气味差异显著。此外,SPME-GC-MS测得120 °C/5 s和120 °C/15 s的热处理样品风味物质种类和相对含量相近。热处理程度越大,产生的风味物质越多,其中部分醛类、酮类和酯类的相对含量显著增加。本实验可为探究不同热处理程度的牛乳风味物质和美拉德反应程度提供参考依据。

参考文献:

- [1] 杨怀谷,郑楠,王加启.巴氏杀菌乳和超高温灭菌乳营养价值及卫生安全对比研究[J].中国乳业,2016(7): 62-67. DOI:10.3969/j.issn.1671-4393.2016.07.020.
- [2] PEREDA J. Heat damage evaluation in ultra-high pressure homogenized milk[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(7): 1974-1979. DOI:10.1016/j.foodhyd.2009.02.010.
- [3] 倪晓宇.巴氏杀菌乳和灭菌乳在不同温度条件下品质变化的差异[J].中国乳业,2014(4): 62-67. DOI:10.3969/j.issn.1671-4393.2016.07.020.
- [4] 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. DOI:10.1016/j.foodcont.2012.09.035.
- [5] 杨晓倩,刘小鸣,周鹏.前表面荧光法在牛奶美拉德反应检测中的应用[J].食品工业科技,2012, 33(16): 157-160. DOI:10.1406/cnki.spkj.2012.16.040.

- [6] 鄂来明, 王薇, 宋戈, 等. HPLC法测定乳品中的糠氨酸[J]. 中国乳品工业, 2008, 36(8): 51-52. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2008.08.013.
- [7] DONATO L, GUYOMARC H F, AMIOT S, et al. Formation of whey protein/ κ -casein complexes in heated milk: preferential reaction of whey protein with κ -casein in the casein micelles[J]. International Dairy Journal, 2007, 17(10): 1161-1167. DOI:10.1016/j.idairyj.2007.03.011.
- [8] LI Y, WANG W, MENG Y, et al. Effects of preheat on the flavor and texture properties of yoghurt made of reconstituted milk[J]. Advance Journal of Food Science and Technology, 2015, 7(2): 81-87. DOI:10.19026/ajfst.7.1271.
- [9] VAN BOEKEL M A J S. Effect of heating on Maillard reactions in milk[J]. Food Chemistry, 1998, 62(4): 403-414. DOI:10.1016/S0308-8146(98)00075-2.
- [10] VAZQUEZ-LANDAUVERDE P A, VELAZQUEZ G, TORRES J A, et al. Quantitative determination of thermally derived off-flavor compounds in milk using solid-phase microextraction and gas chromatography[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88(11): 3764-3772. DOI:10.3168/jds.s0022-0302(05)73062-9.
- [11] Liquid milk: determination of acid-soluble β -lactoglobulin content-reverse-phased HPLC method: ISO International Standard 13875:2005[S/OL]. [2021-05-31]. https://air.unimi.it/handle/2434/12303#_YLR_IvkybwM.
- [12] Milk and milk products-determination of furosine content-ion-pair reverse-phase high-performance liquid chromatography method: ISO 18329:2004[S/OL]. [2021-05-31]. <https://www.iso.org/standard/33420.html>.
- [13] BOITZ L I, MAYER H K. Analytical assessment of the intense heat load of whipping cream, coffee cream, and condensed milk at retail in Austria and Germany[J]. Dairy Science and Technology, 2016, 96(17): 677-692. DOI:10.1007/s13594-016-0295-0.
- [14] SCHMIDT A, BOITZ L I, MAYER H K. A new UHPLC method for the quantitation of furosine as heat load indicator in commercial liquid milk[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2017, 56(3): 104-109. DOI:10.1016/j.jfca.2016.12.014.
- [15] 全国畜牧业标准化技术委员会. 乳与乳制品中5-羟甲基糠醛含量的测定 高效液相色谱法: NY/T 1332—2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007: 3-5.
- [16] RENTERGHEM R V, BLOCK J D. Furosine in consumption milk and milk powders[J]. International Dairy Journal, 1996, 6(4): 371-382. DOI:10.1016/0958-6946(95)00060-7.
- [17] 冯婉莹, 刘结容, 郑学殷, 等. UPLC-Q-TOF/MS法测定液态乳中的糠氨酸[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(6): 48-50. DOI:1001-2230(2019)06-0048-03.
- [18] MENDOZA M R, OLANO A Í, VILLAMIEL M. Chemical indicators of heat treatment in fortified and special milks[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(8): 2995-2999. DOI:10.1021/jf040406l.
- [19] LORENZEN P C. A survey of the quality of extended shelf life (ESL) milk in relation to HTST and UHT milk[J]. International Journal of Dairy Technology, 2011, 64(2): 166-178. DOI:10.1111/j.1471-0307.2010.00656.x.
- [20] JEANSON S. Characterization of the heat treatment undergone by milk using two inhibition ELISAs for quantification of native and heat denatured α -lactalbumin[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(6): 2249-2254. DOI:10.1021/jf9809232.
- [21] BIRLOUEZARAGON I. A rapid fluorimetric method to estimate the heat treatment of liquid milk[J]. International Dairy Journal, 1998, 8(9): 771-777. DOI:10.1016/S0958-6946(98)00119-8.
- [22] MAYER H K. RP-HPLC analysis of furosine and acid-soluble β -lactoglobulin to assess the heat load of extended shelf life milk samples in Austria[J]. Dairy Science and Technology, 2010, 90(4): 413-428. DOI:10.1051/dst/2010014.
- [23] 迟晓玮. 乳品中糠氨酸定量分析及热处理对糠氨酸含量影响的研究[D]. 淄博: 山东理工大学, 2012: 33-35.
- [24] ELLIOTT A J. Heat-induced and other chemical changes in commercial UHT milks[J]. Journal of Dairy Research, 2005, 72(4): 442-446. DOI:10.1017/S002202990500138X.
- [25] 孙琦. 牛乳热加工特性及其盐类平衡的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012: 28-30.
- [26] 高萌. 不同热处理条件及货架期对牛乳中5-HMF生成量的影响及热杀菌工艺参数的确定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012: 26-27.
- [27] ALI Z, THEAKER B J. Detection of bacterial contaminated milk by means of a quartz crystal microbalance based electronic nose[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2003, 71(1): 155-161. DOI:10.1023/A:1022274419166.
- [28] JO Y, BENOIST D M, BARBANO D M, et al. Flavor and flavor chemistry differences among milks processed by high temperature, short time or ultra-pasteurization[J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(5): 3812-3828. DOI:10.3168/jds.2017-14071.
- [29] HOLLAND R, LIU S Q, CROW V, et al. Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavour: milk fat hydrolysis, alcoholysis and esterification[J]. International Dairy Journal, 2005, 15(6): 711-718. DOI:10.1016/j.idairyj.2004.09.012.
- [30] 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 Science, 2016, 99(11): 8665-8679. DOI:10.3168/jds.2015-10773.
- [31] BARBANO D M, MA Y, SANTOS M V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(3): 15-19. DOI:10.3168/jds.s0022-0302(06)72360-8.
- [32] AL-ATTABI Z, ARCY B R, DEETH H C. Volatile sulfur compounds in pasteurised and UHT milk during storage[J]. Dairy Science and Technology, 2014, 94(3): 241-253. DOI:10.1007/s13594-013-0157-y.
- [33] TROISE A D, FIORE A, COLANTUONO A, et al. Effect of olive mill wastewater phenol compounds on reactive carbonyl species and Maillard reaction end-products in ultrahigh-temperature-treated milk[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(41): 1092-1100. DOI:10.1021/jf503329d.
- [34] URBACH G. The flavour of milk and dairy products II cheese: contribution of volatile compounds[J]. International Journal of Dairy Technology, 1997, 50(3): 79-89. DOI:10.1111/j.1471-0307.1997.tb01743.x.
- [35] FREDRICH J E, ACREE T E. Gas chromatography olfactometry (GC/O) of dairy products[J]. International Dairy Journal, 1998, 8(3): 235-241. DOI:10.1016/S0958-6946(98)80002-2.
- [36] 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): 36-50. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2012.04.009.
- [37] LEE A P, BARBANO D M, DRAKE M A. The influence of ultra-pasteurization by indirect heating versus direct steam injection on skim and 2% fat milks[J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(3): 1688-1701. DOI:10.3168/jds.2016-11899.
- [38] 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. DOI:10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2007.01.009.