

DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.033436

引用格式:洋洋,策里格尔,张志刚,等.基于辅助发酵剂制备传统奶豆腐的风味特性研究[J].食品与发酵工业,2023,49(11):93-101. YANG Yang, CE Ligeer, ZHANG Zhigang, et al. Flavor characteristics of traditional Hurood based on auxiliary starter [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(11): 93-101.

基于辅助发酵剂制备传统奶豆腐的风味特性研究

洋洋¹, 策里格尔¹, 张志刚¹, 孙立山², 双全^{1*}

1(内蒙古农业大学 食品科学与工程学院, 内蒙古 呼和浩特, 010018) 2(正蓝旗长虹乳制品厂, 内蒙古 呼和浩特, 027200)

摘要 以奶豆腐中分离的乳酸菌为研究对象, 筛选出产酸能力强、风味良好、发酵时间短的乳酸菌, 并对其发酵酸度、发酵终点时间和质构特性进行测定, 确定传统奶豆腐辅助发酵剂菌株的配比组合。再通过辅助发酵剂的单因素和正交试验, 确定传统奶豆腐的最优生产工艺, 分析成品风味特性的研究。研究筛选出产酸能力强、风味良好、发酵时间短的乳酸菌 4 株, 菌株 D655、686、NDF9-3 和 MN1-7。经 16S rDNA 序列检测分析, 上述菌株分别被鉴定为泡菜乳球菌 (*Lactococcus kimchii*)、植物乳杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*)、乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactici*) 和粪肠球菌 (*Enterococcus faecium*)。2 种最优组合的 3 株菌配比发酵试验结果表明, 最佳组合为 D655:686:NDF9-3=5:2:3。将该组合作为辅助发酵剂, 并以产品弹性、酸度与感官评分为指标进行工艺优化, 最佳辅助发酵剂的添加量 3%、发酵温度 25℃、排乳清温度 65℃, 此时的奶豆腐弹性 (0.92 ± 0.05) g、酸度 (70 ± 1.2) °T、感官评分为 (83 ± 0.2) 分。试验组的风味物质均高于对照组, 酸类物质在风味中占主体地位, 其次为醇类、脂类、烷烃类、醛类以及其他。综上所述, 试验组风味较好, 具有浓郁的奶香味, 呈现传统乳制品特色。

关键词 奶豆腐; 菌株配比; 单因素试验; 正交试验; 风味特性

传统奶豆腐, 蒙语“胡乳达”, 是传统游牧民族的一种即食性传统乳制品, 是人类公认的可提供人体所需蛋白的重要来源^[1]。传统奶豆腐独特风味, 可以直接食用或者制成拔丝奶豆腐, 也可泡在奶茶中食用^[2]。风味来源主要与氨基酸代谢、分解有关, 其次与原料乳的乳糖、脂肪和蛋白质含量有关。牛奶的蛋白质被氧化或水解, 产生氨基酸与其他风味物质, 增加悦人的奶香^[3]。其风味还与发酵菌株特性、原料乳中酶的含量息息相关^[4]。传统奶豆腐是利用自身携带和环境微生物发酵, 具有一定的地域特色^[5-6]。

辅助发酵剂是一种复合型菌株或单一菌株发酵剂, 发酵过程中添加单一或混合的益生菌菌种, 有利于产品感官品质的提升^[7]。ZARAVELA 等^[8]研究发现添加辅助发酵剂可以改善传统羊奶酪品质特性。添加辅助发酵剂的试验组明显发现 pH 值的下降速率加快, 在发酵过程中加入辅助发酵剂的产品菌量也出现了显著的上升趋势^[9]。ZHOU 等^[10]研究发现添加辅助发酵剂试验组的发酵时间大大缩短, 并提高了产品中菌株的潜在风味品质特性。罗天淇等^[11]研究同样也发现, 添加辅助发酵剂对发酵时间与产酸速率

有明显的提高。

本试验是采用辅助混合菌株发酵传统奶豆腐, 通过单因素、正交试验进而改善产品的感官品质与风味, 因此选取优势乳酸菌进行发酵传统奶豆腐的技术至关重要, 本研究为了进一步探究辅助发酵剂对传统奶豆腐的影响并且为传统乳制品的加工与发展提供参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试菌株, 内蒙古农业大学民族特色乳制品实验室, 菌株编号分别为 D655、686、NDF10-4、NDF9-3、CH3-1、MN1-1、MN1-4、MN1-5、MN1-7, 9 株菌。原料乳, 内蒙古农业大学益得乳制品厂。对照组样品, 商店市售的传统奶豆腐。MRS 固体培养基、液体培养基, 脱脂乳培养基。

1.2 仪器与设备

DHP-9052 电热恒温培养箱, 上海一恒科技有限公司; HH-6 数控精密恒温水浴锅, 上海福玛实验有限公司; FDU-2200 真空冷冻干燥机, 日本 Eyela 公司; TA.XT Express 质构仪, 英国 StableMicroSystem 公司;

第一作者: 博士研究生 (双全教授为通信作者, E-mail: shuangquan@imau.edu.cn)

基金项目: 内蒙古自然科学基金项目 (2021MS03059); 锡林郭勒盟科技计划项目 (202117)

收稿日期: 2022-08-25, 改回日期: 2022-09-28

7820 紫外分光光度计, 美国 Agilent 公司; XL30 电子舌, 日本 Insent 公司; 7890B-5977B 气相色谱-质谱联用, 美国 Agilent 公司; PEN3 电子鼻, 德国 Airsense 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 传统奶豆腐的制备

原料乳→过滤→自然发酵→酸乳→添加辅助发酵剂→加热→去除脂肪→切割搅拌→加热排乳清→压缩成型→传统奶豆腐。

1.3.2 辅助发酵剂菌株的初筛、复筛

将 9 株乳酸菌分别接种至 MRS 肉汤培养基, 37 ℃ 24 h 恒温培养, 接种 3 代。随后将 MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) 肉汤菌液接种至灭菌的脱脂乳培养基中发酵至凝乳状态。将发酵脱脂乳按 3% (体积分数) 接种至自然发酵的全脂牛奶中 25 ℃ 进行发酵, 通过凝乳性、产酸、产香、排乳清能力及奶香味等对菌株进行筛选, 经过初筛选后得到的优势菌株, 测定其脱脂乳中生长能力与单菌株发酵奶豆腐的质构特性。

生长能力: 将菌株活化 2 代, 按 3% (体积分数) 接种至脱脂乳培养基中 25 ℃ 培养条件下, 测定 0、3、6、9、12、24 h 酸度, 测定方法参照 GB 5009.239—2016《食品安全国家标准食品酸度的测定》, 酚酞指示剂法测定酸度值。

质构特性: 将单一菌株发酵奶豆腐, 用质构仪进行测定硬度、弹性、内聚性、咀嚼性、胶着度和回复性。

1.3.3 辅助发酵剂菌株鉴定

将复筛得到的菌株活化 3 代后委托上海凌恩生物科技有限公司进行 PCR 扩增及测序分析, 结果在 NCBI 基因数据库中进行 BLAST 比对, 分析菌株的同源性, 用 MEGA5.0 软件 NJ 法构建系统发育树。

1.3.4 辅助发酵剂最佳配比

将试验筛选出的菌株进行 1:1 复配, 按体积分数 3% 的接种量接种至灭菌全脂牛奶中, 25 ℃ 发酵。当 pH 4.6 时达发酵终点制作奶豆腐, 并测定奶豆腐酸度和质构。筛选出发酵时间短、酸度适中、质构适宜的菌株配比比例进行配比。按配比比例进行奶豆腐发酵, 测定发酵时间、酸度及质构, 最终确定传统奶豆腐辅助发酵剂的菌株配比, 进行后续试验。

1.4 传统奶豆腐工艺优化实验

1.4.1 单因素实验设计

根据辅助发酵剂添加量、发酵温度和排乳清温度

进行单因素试验, 研究不同因素对奶豆腐品质的影响。以酸度、弹性和感官评分为指标, 进行正交试验确定传统奶豆腐的最佳工艺流程。

(1) 发酵剂添加量单因素试验: 发酵剂分别以 1%、2%、3%、4% 和 5% (体积分数) 的比例接入灭菌的全脂牛奶中, 发酵温度为 25 ℃、排乳清温度为 65 ℃ 进行试验, 确定传统奶豆腐发酵剂添加量。

(2) 发酵温度单因素试验: 选择 21、23、25、27、29 ℃ 为发酵温度进行产品发酵, 发酵剂添加量为 3% (体积分数), 排乳清温度为 65 ℃, 确定传统奶豆腐发酵温度。

(3) 排乳清温度单因素试验: 以 55、60、65、70、75 ℃ 为排乳清温度, 发酵剂添加量 3%, 发酵温度 25 ℃, 确定传统奶豆腐排乳清温度。

(4) 传统奶豆腐感官评定: 本试验感官评定是由 9 名接受过训练的感官人员进行打分, 评定指标按照感官评分评定表对传统奶豆腐评定。

1.4.2 正交试验设计

在 1.4.1 试验结果上, 以传统奶豆腐的酸度、弹性、感官评分为指标。设计以发酵剂添加量、发酵温度与排乳清温度为工艺试验变量因素, 按 4 因素 3 水平进行 $L_9(3^4)$ 正交试验设计见表 1。

表 1 传统奶豆腐工艺优化正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal test factor level table of Hurood process optimization

水平 序号	因素 A(辅助发酵剂添加量)	B(发酵温度)	C(排乳清温度)
1	1	1	1
2	1	2	3
3	1	3	2
4	2	1	3
5	2	2	2
6	2	3	1
7	3	1	2
8	3	2	1
9	3	3	3

1.5 传统奶豆腐风味特性

滋味: 采用电子舌测定, 参考丛艳君等^[12]的方法进行修改。称取待测样品 5 g, 置于 100 mL 超纯水中, 进行超声处理, 使其充分溶解, 将其 5 500 r/min, 离心 15 min 取上清液过滤, 进行测定。

气味: 采用电子鼻测定, 参考田佳乐^[13]的方法进行修改。取 5.0 g 干燥样品置于顶空瓶中, 密封, 利用装有 10 个便携式电子鼻传感器装置进行检测, 记录 1 min 内的响应。

1.5.1 样品准备

取 3 g 样品加入 20 mL 顶空瓶中, 加盖密封进行测定。

1.5.2 SPME 条件

纤维萃取头: 50/30 μm DVB/CARonPDMS; 温度: 50 $^{\circ}\text{C}$; 时间: 振荡 15 min, 萃取 30 min; 振荡速度: 250 r/min; 解析时间: 5 min; GC 循环时间: 50 min。

1.5.3 GC-MS 条件

色谱柱: DB-wax (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm); 进样温度 260 $^{\circ}\text{C}$; 载气 He (99.999%); 流量 1 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min, 以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 220 $^{\circ}\text{C}$, 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2.5 min; 接口温度 260 $^{\circ}\text{C}$; 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 四级杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 电离方式: EI⁺, 70 eV; 扫描方式: 全扫描; 质量范围 20 ~ 400。

1.6 数据统计与分析

数据分析汇总使用 Excel 进行统计。SPSS 21 软件对数据显著性分析及数据表示方法。统计结果的可视化采用 Origin 2021 进行实现。

2 结果与分析

2.1 辅助发酵剂菌株的筛选

发酵性能、发酵风味良好的菌株作为辅助发酵剂重要特性^[14], 同样也影响产品的品质特性^[15]。由表 2 可知, 凝乳性最佳的菌株是 D655 与 NDF9-3, 菌株 CH3-1、MN1-5、MN1-7 的凝乳性较差。产酸能力最佳的为 D655、NDF9-3、CH3-1、MN1-4、MN1-7, 其余菌株凝乳能力不及以上 5 株菌。

表 2 菌株发酵特性

Table 2 Fermentation characteristics of strains

供试菌株	凝乳性	产酸	产香	风味	排乳清能力
D655	+++	+++	+++	+++	+++
686	++	++	+++	++	+++
NDF9-3	+++	+++	+++	+++	+++
NDF10-4	++	++	++	++	++
CH3-1	-	+++	++	-	-
MN1-1	++	+++	++	-	++
MN1-4	++	++	++	++	+++
MN1-5	-	++	++	++	+++
MN1-7	-	+++	++	++	+++

注: - : 差; + : 一般; ++ : 良好; +++ : 佳。

由图 1 可知, 各菌株发酵后的 pH 值与凝乳时间具有显著性差异, 9 株菌株中 MN1-1 与 MN1-7 的 pH 分别为 4.75, 与 4.98, 其次为 D655, 其余菌株的酸度值均较低。MN1-1 与 MN1-7、D655 的菌株具有较强的产酸性能。凝乳时间最长的为 NDF10-4 与 CH3-1。

菌株凝乳时间体现菌株的生长与产酸速率^[16], 凝乳时间短则可以说明菌株的生长与产酸较强。本试验是用来选取发酵传统奶豆腐辅助发酵的菌株, 时间不宜过长且需发酵风味良好, 否则影响产品质量。最终表 2 与图 1 综合分析, 根据发酵性能初步筛选菌株 D655、686、NDF9-3 和 MN1-7 进行后续试验。

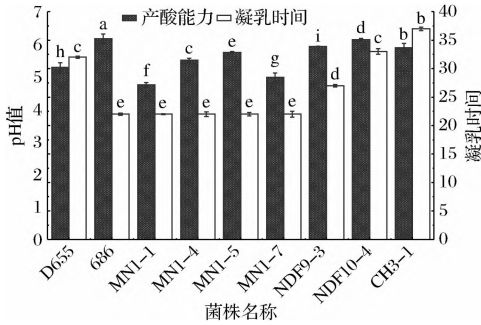


图 1 菌株发酵酸度与凝乳时间

Fig. 1 Fermentation acidity and curdling time of strains

注: 同列字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$); 同列字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$) (下同)。

2.2 辅助发酵剂的复筛

发酵过程中的乳酸菌菌株, 延缓有害物的生长、降低亚硝酸盐还可增加风味^[17]。4 株菌在脱脂乳中的生长能力如图 2 所示, 在发酵初期 4 株菌的酸度变化无显著差异。发酵 3 h 后菌株 D655 与菌株 686 的酸度增长较快, 发酵中期菌株 D655 与菌株 MN1-7 的酸度增长较快、菌株 MN1-7 的发酵速度缓慢, MN1-7 发酵趋势呈先上涨后下降, 发酵 24 h 时酸度最大的为菌株 D655 (65 $^{\circ}\text{T}$)。

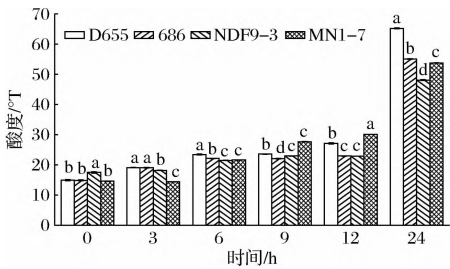


图 2 脱脂乳中恒温培养菌株在不同时间酸度变化

Fig. 2 Changes in acidity of strains cultured at a constant temperature in skimmed milk at different times

由图 3 可知, 单菌株 MN1-7 发酵奶豆腐的硬度最大, 其次分别是菌株 686、D655 与 NDF9-3。

质构是传统奶豆腐在研发与工艺研究的重点考虑测定因素之一, 质构中的硬度与其他指标也相应代表在制作时内部结构的改变影响着整体的测定结果^[18]。

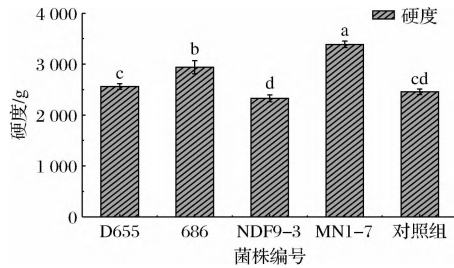


图3 单菌株辅助发酵传统奶豆腐质构特性

Fig. 3 Single strain assisted fermentation of
Hurood texture characteristics

注:对照组是市售的传统奶豆腐。

2.3 辅助发酵剂菌株鉴定分析

测定结果在 NCBI 中的 GenBank 数据库中进行 BLAST, 选取参考菌株进行同源性比对, 各菌株与参考菌株的同源性均达到 89% 及以上。结果如表 3、图 4 所示, 比对发现菌株 D655 与泡菜乳球菌 (*Lactococcus kimchii*) 属于同一分支并且同源性达到 95%; 菌株 686 与植物乳杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*) 植物乳杆菌属于同一分支, 同源性高达 100%; 菌株 MN1-7 与粪肠球菌 (*Enterococcus faecium*) 属于同一分支同源性为 89%; 菌株 NDF9-3 与乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactici*) 属于同一分支同源性为 100%。

表3 四株乳酸菌 16S rDNA 基因序列分析结果

Table 3 Results of 16S rDNA gene sequence analysis of
four lactic acid bacteria strains

菌株	参考菌株	序列大小/bp	覆盖率/%	同源性/%
D655	<i>Lactococcus kimchii</i> S-43 MG576055	1 482	97.94	95
686	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM20174	1 474	97.73	100
MN1-7	<i>Enterococcus faecium</i> KY490552	1 441	99.24	89
NDF9-3	<i>Pediococcus acidilactici</i> DSM 20284	1 492	93.55	100

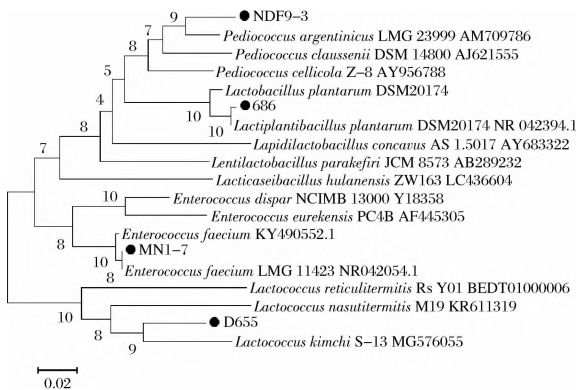


图4 基于 16S rDNA 序列的 4 株筛选菌株的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of four selected strains based
on 16S rDNA sequence

2.4 辅助发酵剂配比优化

由图 5-a 可知, 产酸能力最快的为 D655: MN1-7 与 D655: NDF9-3 组合, 由图 5-b 可知, 试验组 D655: 686 和 D655: NDF9-3 组合质构最接近对照组且最优, 因此选择 D655: 686 和 D655: NDF9-3 组合进行后续试验, 具体复配方式如表 4 所示。

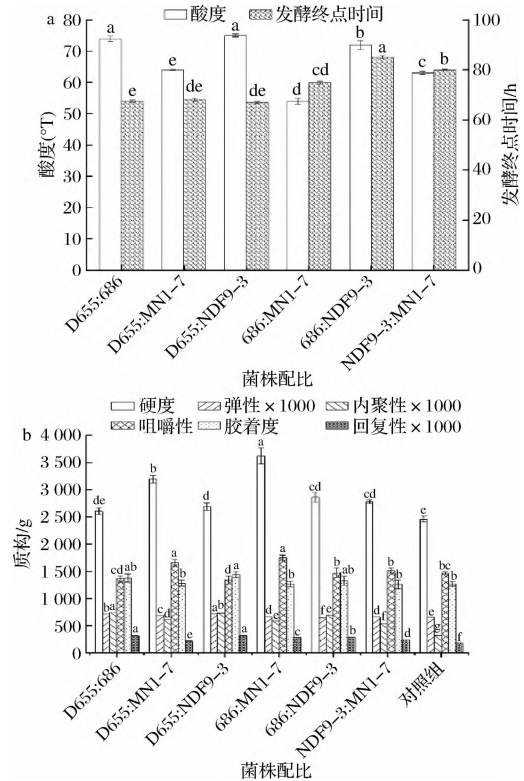


图5 双菌复配发酵酸度及发酵终点时间及质构

Fig. 5 The acidity, end point, and texture of fermentation of
bi-strain fermentation

表4 D655: 686: NDF9-3 菌株复配及比例

Table 4 Strain compound and proportion (D655:686: NDF9-3)

编号	a	b	c	d	e	f
复配比例 (D655:686: NDF9-3)	1:1:1	5:3:2	5:2:3	6:2:2	6:3:1	6:1:3

由图 6 可知, 复配 c 组的产酸能力适中, 成熟时间最快, 且质构数据中硬度最小, 弹性、回复性和内聚性最大, 咀嚼度显著小于对照组, 胶着度最小。综合分析选择菌株配比最佳为 D655: 686: NDF9-3 = 5: 2: 3。

2.5 传统奶豆腐制作工艺优化

2.5.1 辅助发酵剂对传统奶豆腐的影响

由图 7-a 可知, 随着辅助发酵剂的添加, 奶豆腐的弹性与感官评分总体呈先上升后下降的趋势, 当添加量为 3% 时感官评分最佳。图 7-b 可知, 随着发酵温度的上升, 酸度、弹性和感官评分均呈先上升后下

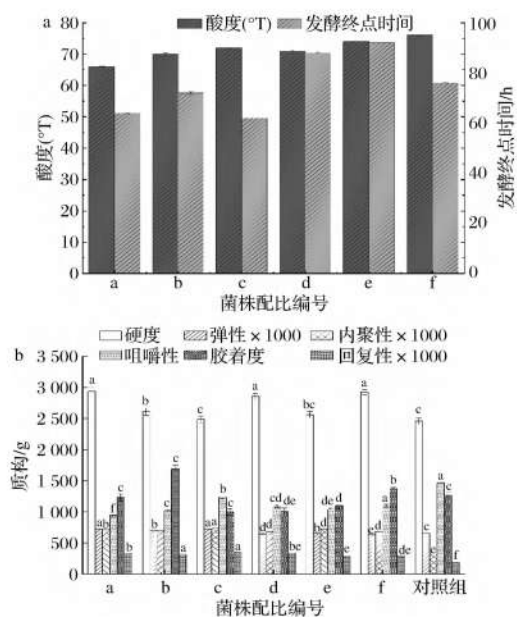


图6 菌株复配发酵酸度及发酵终点时间及质构
Fig.6 The acidity, end point and texture of fermentation of strain compound fermentation

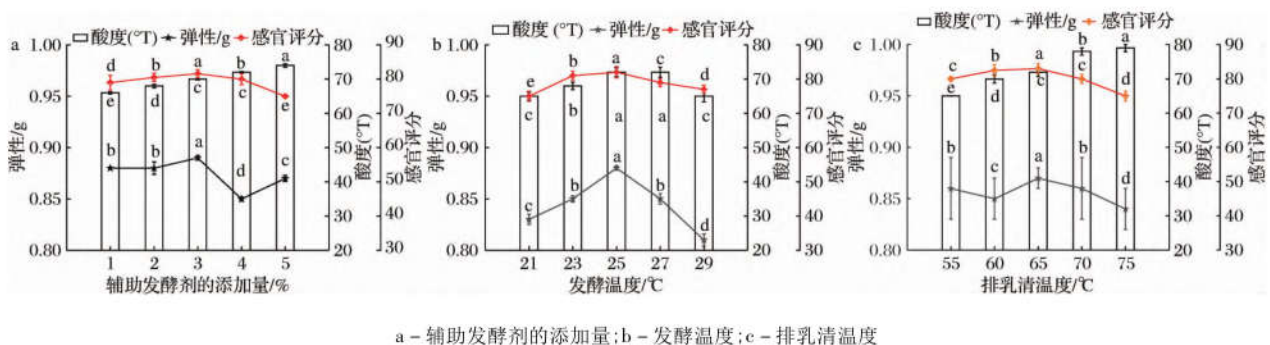


图7 不同辅助发酵剂的添加量、发酵温度、排乳清温度对传统奶豆腐质量的影响

Fig.7 Effect of different auxiliary starter additives, fermentation temperature and whey discharge temperature on the quality of traditional Hurood

表5 $L_9(3^4)$ 正交试验结果
Table 5 $L_9(3^4)$ Orthogonal test results

水平序号	因素			弹性/g	酸度/°T	感官评分/分	水平序号	因素			弹性/g	酸度/°T	感官评分/分
	A	B	C					A	B	C			
1	1	1	1	0.90	72	82	最优组合	$A_3B_1C_1$					
2	1	2	3	0.81	68	81	滴定酸度						
3	1	3	2	0.83	66	80.5	K1	68.66	67.78	68.67			
4	2	1	3	0.89	71	77.5	K2	69.89	68.78	67.55			
5	2	2	2	0.82	70	85	K3	68.45	68.56	68			
6	2	3	1	0.87	67	82	R	1.44	1	1.12			
7	3	1	2	0.91	66	80	影响主次	$A > B > C$					
8	3	2	1	0.90	67	83	最优组合	$A_2B_2C_1$					
9	3	3	3	0.92	65	86	感官评分						
弹性							K1	81.17	79.83	82.33			
K1	0.85	0.90	0.89				K2	81.5	83	81.38			
K2	0.86	0.84	0.85				K3	83	82.83	81.5			
K3	0.91	0.87	0.87				R	1.83	3.17	0.95			
R	0.06	0.03	0.02				影响主次	$A > B > C$					
影响主次	$A > B > C$						最优组合	$A_3B_2C_1$					

降的趋势,发酵温度 25 ℃ 时是菌株最适宜的生长温度。温度影响菌株的发酵速率,菌株的代谢产物也会随之发生明显变化,进而影响产品质量^[19]。适宜温度发酵的产品组织状态光滑,感官品质较高^[20]。图 7-c 可知,产品的酸度随着排乳清温度的增加而增加,酸度增加可能是温度升高加速发酵,导致发酵结束后少量营养残余,促使菌株后发酵^[21],使得产品的酸度增大。弹性与感官评分的变化趋势是因为随着温度增高,水分含量减少,质构与风味变差从而会影响感官品质。因此选择 65 ℃ 时排乳清最佳。

2.5.2 传统奶豆腐制作工艺正交试验分析

在单因素的基础上,以辅助发酵剂添加量(A),发酵温度(B)和排乳清温度(C)为影响因素,以弹性、酸度和感官评分为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交设计,正交试验结果见表 5。

在正交试验结果基础上,对 3 组最佳组合进行验证试验。由表 6 可知,感官评分是代表产品的风味、滋味较好。综上结果表明最佳组合为 $A_2B_2C_1$,弹性

表6 正交试验结果验证表

Table 6 Verification table of orthogonal test results

编号	弹性	酸度/ $^{\circ}\text{T}$	感官评分
$A_3B_1C_1$	0.89 ± 0.03^{ab}	68 ± 1.63^a	79 ± 0.5^b
$A_2B_2C_1$	0.92 ± 0.05^a	70 ± 1.20^a	83 ± 0.2^a
$A_3B_2C_1$	0.82 ± 0.03^b	65 ± 1.03^b	76 ± 0.8^c

注:同列字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$); 同列字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

为 0.92 ± 0.05 、酸度为 $(70 \pm 1.2)^{\circ}\text{T}$ 、感官评分为 83 ± 0.2 。即辅助发酵剂的添加量 3%、发酵温度 25°C 、排乳清温度 60°C 。

2.6 辅助发酵剂制备传统奶豆腐

2.6.1 感官评定分析

由图 8 可知, 试验组感官评分指标均高于对照组。试验组整体得分为 84.55 ± 0.65 , 相比市售奶豆腐 (81.56 ± 0.52) 整体提高了 3%。试验组与对照组组织状态差距明显大于其他指标, 说明添加辅助发酵剂对发酵产品的组织状态有显著提高, 可能是发酵剂加速了产酸, 导致 pH 值下降, 胶体磷酸钙的析出加速酪蛋白的聚集使得结构致密^[22], 添加辅助发酵剂利于提高奶豆腐的感官。

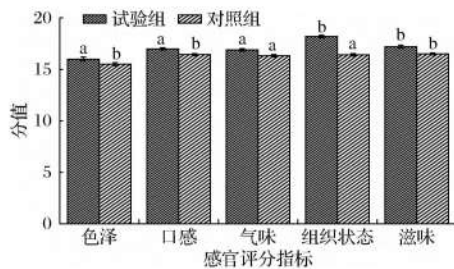


图8 试验组与对照组感官评分对比

Fig. 8 Comparison of sensory scores between the experimental group and the control group

2.6.2 滋味、气味特性

如图 9 所示, 运用电子舌对比添加辅助发酵剂的奶豆腐与市售奶豆腐味道方面的差异。试验组与对照组的酸味、丰富度、回味-B、回味-A、甜味和咸味有显著差异。试验组酸味、丰富度、回味-B、回味-A 和甜味低于对照组是由于两产品在制作过程中的微生物群落不同, 导致发酵产物的不同, 由于对照组的环境微生物大于试验组导致发酵风味过大, 检测时响应值过大。咸味在整体响应值中最大可能是矿物质含量高导致^[23]。

由表 7 发现, 试验组与对照组在 W5S (对氮氧化物敏感)、W6S (对氢敏感)、W3S (对甲烷) 有差异显著 ($P < 0.05$), 说明试验组与对照组发酵后产生的氮

氧化合物、氢化物、烷烃物质有明显的不同, 说明辅助发酵剂对奶豆腐气味有较大影响。

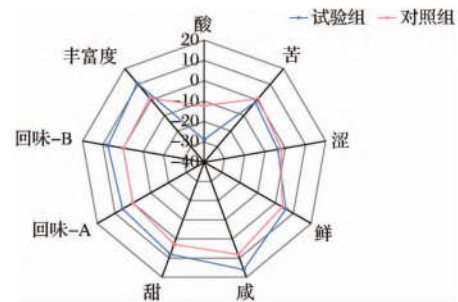


图9 试验组与对照组电子舌响应值雷达图

Fig. 9 Radar chart of response values of electronic tongue in experimental group and control group

表7 试验组与对照组气味差异性分析

Table 7 Difference analysis of smell between test group and control group

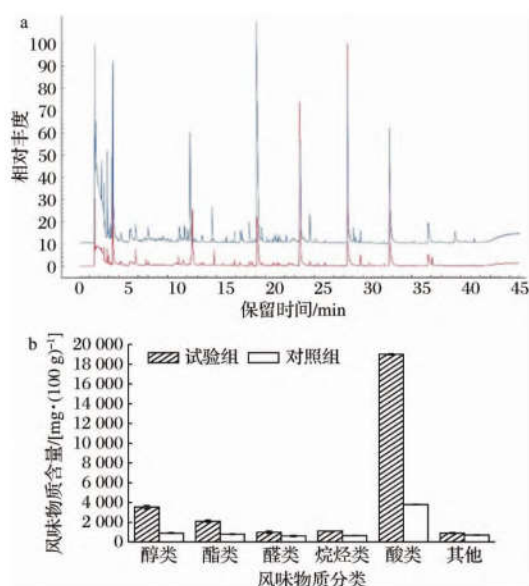
指标	试验组	对照组	P 值
W1C	0.85 ± 0.00	0.86 ± 0.00	0.216
W5S	1.08 ± 0.00	1.14 ± 0.00	0.005
W3C	0.90 ± 0.00	0.89 ± 0.00	0.578
W6S	1.19 ± 0.00	1.21 ± 0.00	0.001
W5C	0.93 ± 0.00	0.93 ± 0.01	0.268
W1S	1.41 ± 0.04	1.41 ± 0.01	0.830
W1W	0.64 ± 0.01	0.67 ± 0.00	0.062
W2S	1.44 ± 0.00	1.43 ± 0.00	0.580
W2W	0.87 ± 0.00	0.87 ± 0.00	0.106
W3S	1.31 ± 0.00	1.34 ± 0.01	0.000

2.6.3 风味特征

采用 GC-MS 分别对试验组与对照组奶豆腐进行挥发性风味物质测定, 试验组共检测出 52 种风味物质, 对照组检测出 42 种风味物质。由图 10-a 可知, 试验组中的风味物质分离较好, 物种丰富。

将被测的试验组与对照组数据结果进行化学物质分类, 由图 10-b 可知, 试验组的风味物质均高于对照组, 说明辅助发酵剂有助于产品风味的提高。酸类物质在风味中占主体地位, 其次为醇类、酯类、烷烃类、醛类及其他。酸类是传统奶豆腐的重要风味物质。由图 10-b 可知, 试验组总酸含量为 $18\,923\text{ mg}/100\text{ g}$, 主要为苯甲酸、丁酸、异丁酸、戊酸、庚酸、辛酸, 对照组的总酸含量为 $3\,006.709\text{ mg}/100\text{ g}$ 。不同的酸类物质给奶豆腐带来了不同风味, 研究表明辛酸与癸酸的含量影响产品的奶香味, 二者含量越高奶香越浓郁^[24-25]。辛酸有助于人体的消化吸收^[26], 进而提高奶豆腐的营养价值。

试验组共检测到 10 种醇类物质, 总量为



a - 总离子流图; b - 风味化学物质分类及含量

图 10 试验组与对照组的 GC-MS 总离子流图与风味化学物质分类及含量

Fig. 10 GC-MS total ion chromatogram and classification and content of flavor chemicals in test group and control group

注: 蓝色 - 对照组; 红色 - 试验组。

3 137.76 mg/100 g, 对照组共检测到 6 种醇类, 总量为 973.2 mg/100 g。试验组的醇类物质含量较高, 可能是试验组的脂肪酸、氨基酸含量大于对照组, 醇类物质是由脂肪氧化或脂肪酸发生降解得到的一类风味物质, 具有甜香或香蕉香气^[27]。试验组共检测到 11 种酯类物质, 总量为 2 001.476 mg/100 g, 对照组为 404.977 4 mg/100 g。脂类物质可以分解产生芳香物质, 在高温条件下挥发性较强且具有独特的奶香味^[28]。试验组共检测到 7 种醛类物质, 总量为 1 118.717 mg/100 g, 对照组总量为 293.07 mg/100 g。被检测到的醛类物质中乙醛含量较多占主体, 赵建新等^[29]研究发现乙醛对风味影响较大。醛类物质主要是由氨基酸的降解生产, 是发酵乳中具有重要地位的风味物质^[24]。

3 结论

本文对传统奶豆腐发酵技术进行改善, 复配适合生产传统奶豆腐的菌株进行试验。对 9 株实验室供试菌株进行凝乳性、产酸、产香、风味以及排乳清能力与发酵 24 h 的 pH 值与凝乳时间为初步筛选, 筛选出 4 株发酵特性较好的菌株分别为: D655、686、NDF9-3 与 MN1-7。验证菌株发酵能力, 发现菌株 D655 的产

酸能力最强, 其次为 686、MN1-7、NDF9-3, 单菌株发酵奶豆腐发现 4 株菌均可用于发酵生产奶豆腐。经过 16S rDNA 检测, D655、686、NDF9-3 与 MN1-7 分别检测为泡菜乳球菌 (*Lactococcus kimchii*)、植物乳杆菌 (*Lactiplantibacillus plantarum*)、乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactici*) 与粪肠球菌 (*Enterococcus faecium*)。对 4 株菌进行配比发酵, 测其酸度、发酵终点时间与质构特性得到最佳组合为 D655:686:NDF9-3 = 5:2:3。经单因素试验最终确定辅助发酵剂的添加量 3%、发酵温度 25 ℃、排乳清温度 65 ℃。此时试验组的奶豆腐品质最佳。GC-MS 其结果显示, 试验组的风味物质均高于对照组, 说明辅助发酵剂有助于产品风味的提高。酸类物质在风味中占主体地位, 其次为醇类、脂类、烷烃类、醛类以及其他。本研究进一步探究了辅助发酵剂对传统奶豆腐的影响, 同时为传统乳制品的加工与发展提供参考价值。

参 考 文 献

- [1] MACHADO-FRAGUA M D, STRUIJK E A, CABALLERO F F, et al. Dairy consumption and risk of falls in 2 European cohorts of older adults [J]. *Clinical Nutrition*, 2020, 39 (10): 3 140 - 3 146.
- [2] 肖芳, 朱建军, 张红梅, 等. 内蒙古锡盟地区传统奶皮子和奶豆腐的加工工艺调查 [J]. *中国乳品工业*, 2016, 44 (11): 35 - 37.
- [3] XIAO F, ZHU J J, ZHANG H M, et al. Processing is of of Wrum and fermented milk curd in Xilingol league of Inner Mongolia [J]. *China Dairy Industry*, 2016, 44 (11): 35 - 37.
- [4] MARILLEY L, CASEY M G. Flavours of cheese products: Metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 90 (2): 139 - 159.
- [5] ZHANG J, ZHANG X, ZHANG L, et al. Potential probiotic characterization of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Inner Mongolia "Hurood" cheese [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 24 (2): 225 - 235.
- [6] 赵红霞, 李应彪. 奶豆腐在不同温度贮藏条件下的变化研究 [J]. *乳业科学与技术*, 2009, 32 (6): 275 - 277; 281.
- [7] ZHAO H X, LI Y B. Study on the hurood changes at different storage temperatures [J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2009, 32 (6): 275 - 277; 281.
- [8] 娜布其. 蒙古族传统奶食文化探析 [J]. *语文学刊*, 2010 (21): 131 - 132.
- [9] NA B Q. An analysis of Mongolian traditional milk culture [J]. *Journal of Language and Literature Studies*, 2010 (21): 131 - 132.
- [10] MOUSSAID S, BOUHLAL O, BENALI A, et al. Technological characterization of indigenous lactic acid bacteria from Moroccan camel milk for their potential use as starter or adjunct culture [J]. *Folia Microbiologica*, 2021, 66 (5): 761 - 774.
- [11] ZARAVELA A, KONTAKOS S, BADEKA A V, et al. Effect of adjunct starter culture on the quality of reduced fat, white, brined goat cheese: Part I. Assessment of chemical composition, proteolysis, lipolysis, texture and sensory attributes [J]. *European Food Research*

- and Technology, 2021, 247(9):211–225.
- [9] MA S Y, CAO J, LILIU R L, et al. Effects of *Bacillus coagulans* as an adjunct starter culture on yogurt quality and storage [J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(7):7466–7479.
- [10] ZHOU T T, HUO R, KWOK L Y, et al. Effects of applying *Lactobacillus helveticus* H9 as adjunct starter culture in yogurt fermentation and storage [J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(1):223–235.
- [11] 罗天淇, 蔡森, 张敏, 等. 辅助发酵菌株对发酵乳品质的影响 [J]. 乳业科学与技术, 2019, 42(3):1–8.
- LUO T Q, CAI M, ZHANG M, et al. Effects of adjuvant starter cultures on the quality of fermented milk [J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2019, 42(3):1–8.
- [12] 丛艳君, 易红, 郑福平. 基于电子舌技术不同超声处理时间的奶酪滋味区分 [J]. 食品科学, 2015, 36(6):114–118.
- CONG Y J, YI H, ZHENG F P. Discriminating the taste of cheese under different ultrasonic treatment durations by using electronic tongue [J]. Food Science, 2015, 36(6):114–118.
- [13] 田佳乐. 不同复配比例酸奶发酵剂的筛选及其发酵特性研究 [D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2021.
- TIAN J L. Study on the screening and fermentation characteristics of yogurt starters with different compound proportions [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2021.
- [14] 如意. 酸马奶发酵剂菌株筛选及其发酵特性的研究 [D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2021.
- RU Y. Screening of starter culture for koumiss processing and study on its fermentation characteristics [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2021.
- [15] 张俊, 王炳文, 赵保堂, 等. 甘南传统牦牛酸奶来源抗氧化性乳酸发酵菌株的筛选 [J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(15):74–80.
- ZHANG J, WANG B W, ZHAO B T, et al. Antioxidative lactic acid fermenting strains screening from traditional yak yogurt in Gan-nan [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(15):74–80.
- [16] 杨博, 柏吉, 靳亚梅, 等. 新疆地区驴乳源优良乳酸菌发酵剂的筛选及菌株益生特性 [J]. 食品科学, 2022, 43(2):224–232.
- YANG B, BAI J, JIN Y M, et al. Screening of lactic acid bacteria from donkey milk in Xinjiang for use as starter culture and their probiotic characteristics [J]. Food Science, 2022, 43(2):224–232.
- [17] 王馨. 用于发酵工程的乳酸菌筛选及复配菌剂研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2021.
- WANG X. Screening of lactic acid bacteria used in fermentation engineering and engineering and research on compound bacteria [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2021.
- [18] 杨动听. 发酵乳杆菌 ZJUIDS06 与植物乳杆菌 ZY08 降胆固醇机制初探及其在 Monterey Jack 干酪中的应用 [D]. 杭州:浙江大学, 2021.
- YANG D T. Preliminary exploration of mechanisms for the cholesterol-lowering effects of *Lactobacillus fermentum* ZJUIDS06 and *Lactobacillus plantarum* ZY08 and the application in Monterey jack cheese [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2021.
- [19] 韦明明. 番茄酸汤发酵过程分析及混菌发酵工艺研究 [D]. 南京:南京农业大学, 2016.
- WEI M M. Analysis of tomato sour soup during fermentation process and study on the mixed culture fermentation technology for tomato sour soup [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
- [20] YANG S S, YAN D L, ZOU Y T, et al. Fermentation temperature affects yogurt quality: A metabolomics study [J]. Food Bioscience, 2021, 42:101104.
- [21] 刘静, 李湘利, 朱九滨, 等. 芡实黄豆复合发酵乳酸饮料的工艺优化及抗氧化性研究 [J]. 食品科技, 2017, 42(12):116–120.
- LIU J, LI X L, ZHU J B, et al. Process optimization and oxidation resistance of *Euryale ferox* and soybean compound fermented lactic beverage [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(12):116–120.
- [22] 巨智勇. 影响干酪质地的因素 [J]. 国外畜牧学(草食家畜), 1989(1):47–49.
- JU Z Y. Factors affecting cheese texture [J]. Grass-Feeding Live-stock, 1989(1):47–49.
- [23] 杨续金, 侯燕军, 呼斯乐, 等. 凝固型绵羊酸奶的发酵特性及活菌数变化 [J]. 食品科学, 2021, 42(20):69–74.
- YANG X J, HOU Y J, HU S L, et al. Fermentation properties of set yogurt made from sheep milk and changes in viable bacterial count during cold storage [J]. Food Science, 2021, 42(20):69–74.
- [24] MADRUGA M S, STEPHEN ELMORE J, DODSON A T, et al. Volatile flavour profile of goat meat extracted by three widely used techniques [J]. Food Chemistry, 2009, 115(3):1081–1087.
- [25] 刘梅森, 何唯平, 赖敬财, 等. 奶粉脂肪酸与乳制品风味关系研究 [J]. 中国乳品工业, 2008, 36(2):13–15.
- LIU M S, HE W P, LAI J C, et al. Study on the relationship between the fat acid of milk powder and the flavor of dairy product [J]. China Dairy Industry, 2008, 36(2):13–15.
- [26] 乌日汗, 包连胜, 包秀萍, 等. 科尔沁地区食用酸马奶发酵过程中挥发性风味物质的动态变化研究 [J]. 中国乳品工业, 2019, 47(8):10–16.
- WU R H, BAO L S, BAO X P, et al. Dynamic changes of volatile flavor compounds during the fermentation of koumiss for food therapy in horqin area [J]. China Dairy Industry, 2019, 47(8):10–16.
- [27] 牛婕, 甘伯中, 乔海军, 等. 牦牛乳软质干酪成熟期挥发性风味成分分析 [J]. 食品科学, 2010, 31(18):278–282.
- NIU J, GAN B Z, QIAO H J, et al. Analysis of volatile compounds in yak s milk soft cheese during ripening [J]. Food Science, 2010, 31(18):278–282.
- [28] 马艳丽, 曹雁平, 杨贞耐, 等. SPME-GC-MS 检测不同中西方奶酪的挥发性风味物质及比较 [J]. 食品科学, 2013, 34(20):103–107.
- MA Y L, CAO Y P, YANG Z N, et al. Comparative analysis of volatile compounds in different cheese samples by SPME-GC-MS [J]. Food Science, 2013, 34(20):103–107.
- [29] 赵建新, 陈洁, 田丰伟, 等. 中温发酵酸乳的挥发性风味成分与感官特性的研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(12):69–73.
- ZHAO J X, CHEN J, TIAN F W, et al. Study on sensory attributes and volatile flavoured compounds of middle-temperature fermented yogurts [J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(12):69–73.

Flavor characteristics of traditional Hurood based on auxiliary starter

YANG Yang¹, CE Ligeer¹, ZHANG Zhigang¹, SUN Lishan², SHUANG Quan¹

¹ (College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

² (Zhenglan Banner Changhong Dairy Factory, Hohhot 027200, China)

ABSTRACT Taking lactic acid bacteria isolated from Hurood as the research object, the lactic acid bacteria with strong acid producing ability, good flavor, and short fermentation time were screened, then the fermentation acidity, fermentation end time, and texture characteristics were determined to confirm the matching combination of traditional Hurood assisted starter strains. The optimal production technology of traditional Hurood was selected by single factor and orthogonal experiment of auxiliary starter. The results showed that there were four strains of lactic acid bacteria with strong acid producing ability, good flavor, and short fermentation time. After 16S rDNA sequence analysis, strains D655, 686, NDF9-3, and MN1-7 were identified as *Lactococcus kimchii*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, and *Enterococcus faecium* respectively. The results of the fermentation experiment showed that the optimal combination was D655:686:NDF9-3=5:2:3, which was used as the auxiliary fermentation agent. The product elasticity, acidity and sensory score were used as the indexes to optimize the process. The optimal supplemental amount of auxiliary starter was 3%, fermentation temperature was 25 °C, and whey temperature was 65 °C, while the Hurood elasticity was (0.92 ± 0.05) g, acidity was (70 ± 1.2) °T, and sensory score was (83 ± 0.2) . The flavor substances in the experimental group were higher than those in the control group, while acids were the main flavor substances, followed by alcohols, lipids, alkanes, aldehydes, and others. In summary, the experimental group had better flavor with strong milk flavor as the traditional dairy products.

Key words Hurood; strain ratio; single factor test; orthogonal test; flavor profile