

# 发酵稀奶油工艺优化及脂肪酸组成分析

唐诗宇, 杨 宽, 蔡丽莎, 何林枫, 李珊珊, 曾 珍, 李 诚

(四川农业大学 食品学院, 四川 雅安 625000)

**摘要:**采用乳酸乳球菌乳脂亚种、干酪乳杆菌、植物乳杆菌植物亚种混合发酵稀奶油,以模糊数学感官评分和酸度为指标,通过单因素试验和正交试验优化发酵工艺,同时分析稀奶油发酵前后常规理化指标和乳酸菌数,利用气相色谱-质谱联用仪分析稀奶油发酵前后脂肪酸组成的变化。结果表明:稀奶油最佳发酵条件为发酵温度35℃、发酵时间10h、接种量3%、菌种比例为乳酸乳球菌乳脂亚种与干酪乳杆菌、植物乳杆菌植物亚种菌液体积比1:1.5:0.5,所制备的发酵稀奶油感官品质较好,蛋白质含量1.36%、脂肪含量36.54%、pH 4.57、酸度67.05 °T、乳酸菌数 $2.7 \times 10^8$  CFU/mL;稀奶油发酵前后脂肪酸组成种类不变,共检测出18种脂肪酸,主要以肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸和油酸为主,发酵后己酸、辛酸、癸酸含量增加,从而使发酵稀奶油香气更浓郁。

**关键词:**发酵;稀奶油;工艺优化;脂肪酸

中图分类号:TS252.9;TQ646 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)04-0128-05

## Optimization of fermentation of cream and its fatty acid composition

TANG Shiyu, YANG Kuan, CAI Lisha, HE Linfeng, LI Shanshan,  
ZENG Zhen, LI Cheng

(Food College, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625000, Sichuan, China)

**Abstract:**The cream was fermented by the mixture of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*. Using fuzzy mathematics sensory score and acidity as indicators, the fermentation process was optimized through single factor experiment and orthogonal experiment, and the physicochemical indexes and the number of lactic acid bacteria of cream before and after fermentation were analyzed. Moreover, the changes of fatty acid composition were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The results showed that the best fermentation conditions of cream were obtained as follows: fermentation temperature 35 °C, fermentation time 10 h, inoculation volume 3%, strain volume ratio of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* to *Lactobacillus casei* to *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* 1:1.5:0.5. The fermented cream prepared had better sensory quality, and its protein content, fat content, pH, acidity and lactic acid bacteria number were 1.36%, 36.54%, 4.57, 67.05 °T and  $2.7 \times 10^8$  CFU/mL respectively. The fatty acid composition of cream before and after fermentation unchanged, and a total of 18 fatty acids were detected, mainly myristic acid, palmitic acid, stearic acid and oleic acid. The contents of capric acid, caproic acid and caprylic acid in the fermented cream increased to provide more aroma.

**Key words:**fermentation; cream; process optimization; fatty acid

收稿日期:2020-06-24;修回日期:2020-12-23

基金项目:四川省重点研发项目(2018NZ0033)

作者简介:唐诗宇(1992),女,硕士研究生,研究方向为油脂加工(E-mail)80937230@qq.com。

通信作者:李 诚,教授(E-mail)lichenglcp@163.com。

稀奶油作为脱脂牛奶的副产品,是从牛奶中分离的脂肪含量较高的部分。稀奶油中含有磷脂、糖脂、类胡萝卜素<sup>[1-2]</sup>,还含有许多对于人体有益的脂肪酸,如部分短链脂肪酸、 $\alpha$ -亚麻酸、二十碳五烯酸<sup>[3-5]</sup>。相较于人造奶油,稀奶油价格偏高,商家为了降低成本大多使用人造奶油,但人造奶油部分产

品的基料油中含有反式脂肪酸<sup>[6]</sup>。人体摄入过多的反式脂肪酸会引发心血管疾病<sup>[7]</sup>、损伤大脑神经系统<sup>[8]</sup>、影响学习记忆能力等<sup>[9]</sup>。近年来,随着人民生活水平的提高,受经济全球化的影响,人们的饮食结构也因外来饮食文化的影响在不断地改变,稀奶油及其制品开始受到越来越多国人的认可与青睐<sup>[10]</sup>,但其风味很大程度上影响了消费者的购买欲。用乳酸菌发酵稀奶油可在一定程度上改善稀奶油的风味,但市面上可见的发酵稀奶油制品较少。稀奶油的工业化生产多依赖于国外技术,市售稀奶油及其制品也大多是进口商品,国产稀奶油制品少且品种单一<sup>[11]</sup>。为此,本研究以乳酸乳球菌乳脂亚种、干酪乳杆菌和植物乳杆菌植物亚种发酵稀奶油,同时研究稀奶油发酵前后常规理化性质、脂肪酸组成的变化,以期丰富国产发酵稀奶油的品种,为我国发酵稀奶油生产加工提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

稀奶油(英国 Pritchitts 公司生产的 Millac(蓝风车)稀奶油);乳酸乳球菌乳脂亚种(*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, CICC 20279);干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*, CICC 20277);植物乳杆菌植物亚种(*Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, CICC 20406)。

MRS 培养基;无水乙醚、石油醚、浓硫酸、氢氧化钠、异辛烷、甲醇、氢氧化钾、乙醇、硼酸、氨水等,均为分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

SW-CJ-1FD 超净工作台,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;ZWY-2102C 型恒温培养振荡器,上海智城分析仪器公司;RE-52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;Agilent 7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪,美国 Agilent Technologies 公司。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 稀奶油发酵工艺

工艺流程为:

稀奶油→接种→发酵→冷藏后熟→成品

↑

菌种活化

(1)菌种活化:将菌种接种至 MRS 液体培养基中,于 37℃ 下培养 24 h 活化,反复 2~3 次至活菌数达到  $10^8$  CFU/mL。

(2)接种:接种过程在超净工作台中进行,菌液加入到稀奶油中充分搅拌,使二者尽量混合均匀。

(3)发酵:将接种完成后的稀奶油放入恒温培养箱,按试验方案设定相应的时间、温度进行恒温发酵。

(4)冷藏后熟:将发酵后的稀奶油放入 4℃ 冰箱内,放置 24 h。

### 1.2.2 稀奶油发酵条件优化

采用单因素试验分别研究发酵温度、发酵时间、接种量、菌种比例对发酵稀奶油感官评分和酸度的影响。研究各单因素时的固定水平为发酵温度 37℃、发酵时间 12 h、接种量 3%、菌种比例 1:1:1(乳酸乳球菌乳脂亚种与干酪乳杆菌、植物乳杆菌植物亚种菌液体积比,下同)。

选取单因素试验中适宜的发酵温度、发酵时间、接种量和菌种比例,选用  $L_9(3^4)$  正交试验表,以感官评分为指标优化稀奶油发酵工艺条件。

### 1.2.3 品质分析

#### 1.2.3.1 感官评定

本试验采用模糊数学感官评定法。评定小组由 10 人组成,均为食品专业人员;以色泽、气味、滋味、组织状态 4 个方面综合评价发酵稀奶油的感官品质,4 个评价指标权重分别为 0.2、0.3、0.3、0.2;每项指标都分为较差、一般、优秀 3 个等级进行评分,具体评分标准见表 1。

表 1 感官评定等级标准

项目	I 级优秀(90 分)	II 级一般(75 分)	III 级较差(60 分)
色泽	色泽自然均匀,呈乳白色至乳黄色	色泽不均,或带有浅灰色	色泽灰暗,表面有异常变色或污点
气味	酸味自然柔和并具有较浓郁的奶香味	酸味不够柔和,奶香味较淡	酸味过重,几乎无奶香味,或有硫味、腥味等其他异味
滋味	酸味适宜且有甜味或奶油香味	酸味不柔和,奶香味寡淡	有苦味、涩味或其他不良滋味
组织状态	组织细腻,表面光滑干燥,无结块或颗粒状	组织较均匀,有少量乳清析出	有大量乳清析出,有颗粒状凝块

对感官评定结果采用“ $f$  函数法”<sup>[12-13]</sup>进行二次处理,避免因权重分布均匀或评价结果差异较大的情况下引起的双峰值,甚至多峰值的情况。

#### 1.2.3.2 常规理化指标测定

酸度,参照 GB 5009.239—2016(酚酞指示法)测定;蛋白质含量,参照 GB 5009.5—2016(凯氏定

氮法)测定;脂肪含量,参照 GB 5009.6—2016(碱水解法)测定。各组重复3次,求平均值。

### 1.2.3.3 乳酸菌数测定

参照 GB 4789.35—2016 测定稀奶油乳酸菌数。

### 1.2.3.4 脂肪酸组成分析

稀奶油和发酵稀奶油采用碱水解法提取脂肪,采用 GB 5009.168—2016 中酯交换法对样品进行甲酯化,随后进行 GC-MS 分析。

GC 条件:HP-5MS 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);载气为 He,流速 1 mL/min;进样量 1 μL,进样口温度 250℃,不分流进样;检测器温度 280℃;升温程序为起始温度 40℃,保持 2 min,以 10℃/min 升至 180℃,保持 2 min,以 4℃/min 升至 250℃保持 10 min。

MS 条件:EI 离子源,电子能量 70 eV,离子源温度 230℃,采用全扫描模式,质量扫描范围 50~550,接口温度 250℃。

对采集的质谱图利用 NIST11.L 谱图库进行检索,根据匹配度来确定未知化合物,匹配度大于 80 予以报道,采用面积归一化法对脂肪酸进行定量分析。

### 1.2.4 数据处理方法

用 Origin2018 软件对数据进行处理和作图,用 SPSS statistic22.0 软件对数据进行统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 稀奶油发酵工艺单因素试验

#### 2.1.1 发酵温度对稀奶油感官评分和酸度的影响 (见图 1)

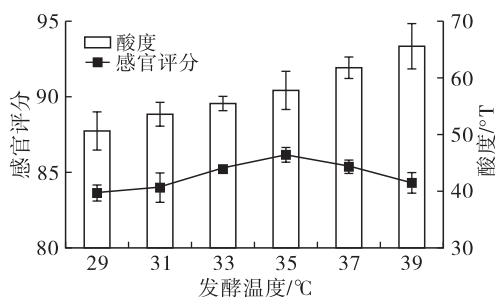


图 1 不同发酵温度对稀奶油感官评分和酸度的影响

从图 1 可知:随着发酵温度的升高,稀奶油的酸度逐渐升高,发酵温度为 33℃时,酸度为 55.572 °T,达到美国农业部对发酵稀奶油酸度不小于 0.5% (55.56 °T) 的要求;从感官评分结果来看,在发酵温度 35℃时稀奶油感官评分最高,其次是 33℃与 37℃。综合酸度要求和感官评分,选取 33、35、37℃进行正交试验。

#### 2.1.2 发酵时间对稀奶油感官评分和酸度的影响 (见图 2)

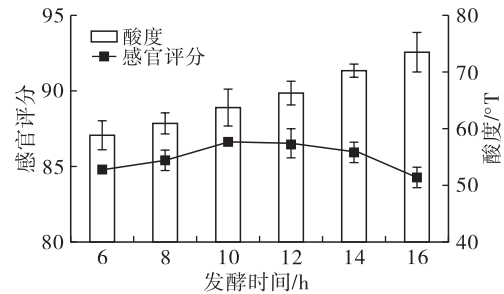


图 2 不同发酵时间对稀奶油感官评分和酸度的影响

从图 2 可知:稀奶油的酸度随发酵时间的延长而增加,当发酵时间超过 14 h 时,发酵稀奶油有明显乳清析出且出现结块,酸味偏重不够柔和。结合感官评分结果,选定 10、12、14 h 进行正交试验。

#### 2.1.3 接种量对稀奶油感官评分和酸度的影响 (见图 3)

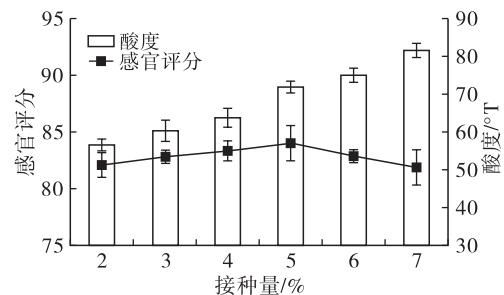
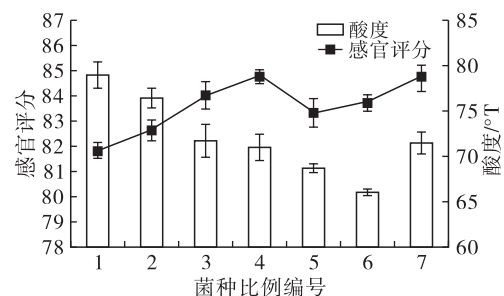


图 3 不同接种量对稀奶油感官评分和酸度的影响

从图 3 可知:随接种量的增加,发酵稀奶油的酸度增加;当接种量超过 5%,感官评分下降,发酵稀奶油酸味过重,组织不均匀,出现结块现象并伴随乳清析出。综合考虑酸度要求和感官评分结果,选取接种量 3%、4% 和 5% 进行正交试验。

#### 2.1.4 菌种比例对稀奶油感官评分和酸度的影响 (见图 4)



注:1~7 表示菌种比例分别为 0.5:1:1.5、0.5:1.5:1、1:0.5:1.5、1:1.5:0.5、1.5:0.5:1、1.5:1:0.5、1:1:1。

图 4 不同菌种比例对稀奶油感官评分和酸度的影响

从图 4 可知,菌种比例为 1.5:0.5:1 和 1.5:1:0.5 的稀奶油酸度相较于其他菌种比例偏低,这可能是由于乳酸乳球菌乳脂亚种对于产酸帮助不大。综合

酸度和感官评分结果,选择菌种比例 1:0.5:1.5、1:1:1、1:1.5:0.5 进行正交试验。

## 2.2 稀奶油发酵工艺正交试验

在单因素试验基础上,以发酵温度、发酵时间、

接种量和菌种比例为考察因素,以感官评分为指标进行  $L_9(3^4)$  正交优化试验。正交试验设计方案与结果见表 2,正交试验方差分析见表 3。

表 2 正交试验设计方案与结果

试验号	A 发酵温度/°C	B 发酵时间/h	C 接种量/%	D 菌种比例	感官评分
1	33	10	3	1:0.5:1.5	84.57
2	33	12	4	1:1:1	83.38
3	33	14	5	1:1.5:0.5	81.42
4	35	10	4	1:1.5:0.5	86.50
5	35	12	5	1:0.5:1.5	79.08
6	35	14	3	1:1:1	84.98
7	37	10	5	1:1:1	81.07
8	37	12	3	1:1.5:0.5	84.77
9	37	14	4	1:0.5:1.5	79.27
$k_1$	83.123	84.047	84.773	80.973	
$k_2$	83.520	82.410	83.050	83.143	
$k_3$	81.703	81.890	80.523	84.230	
R	1.817	2.157	4.250	3.257	

由表 2 可看出,影响感官评分的各因素主次顺序为  $C > D > B > A$ ,即接种量对感官评分影响最大,其次为菌种比例、发酵时间和发酵温度。经过极差分析得到最佳因素水平组合为  $A_2B_1C_1D_3$ ,即发酵温度 35 °C、发酵时间 10 h、接种量 3%、菌种比例 1:1.5:0.5。

表 3 正交试验方差分析

变异来源	平方和	均方	F	P
发酵温度	16.510	8.255	2.477	0.112
发酵时间	22.761	11.380	3.414	0.055
接种量	82.255	41.127	12.339	0.000
菌种比例	49.472	24.736	7.421	0.004

从表 3 可知,在各个影响因素中,接种量和菌种比例对感官评分影响极显著 ( $P < 0.01$ ),发酵温度和发酵时间对感官评分影响不显著。方差分析结果显示各因素对于感官评分影响的主次顺序是  $C > D > B > A$ ,与极差分析结果一致。

采用表 2 得出的最佳发酵条件发酵稀奶油,并在此工艺条件下进行 3 次重复性验证试验,得到发酵稀奶油的感官评分分别为 86.45、86.75、86.80,平均值为 86.67。

## 2.3 稀奶油发酵前后常规理化指标(见表 4)

从表 4 可以看出:发酵后稀奶油的脂肪含量和蛋白质含量下降,稀奶油发酵前后脂肪含量均大于 10%,符合 GB 19646—2010 对稀奶油脂肪含量大于等于 10% 的要求;发酵后稀奶油的酸度增加至 67.05 °T,大于 55.56 °T,符合美国农业部对发酵稀

奶油的酸度要求。发酵后稀奶油的乳酸菌数为  $2.7 \times 10^8$  CFU/mL,满足 GB 19302—2010 对发酵乳乳酸菌数大于等于  $1 \times 10^6$  CFU/mL 的要求。

表 4 稀奶油发酵前后理化指标测定结果

样品	蛋白质含量/ (g/100 g)	脂肪含量/ (g/100 g)	pH	酸度/°T
发酵前	2	38	6.70	18.69
发酵后	1.36	36.54	4.57	67.05

## 2.4 稀奶油发酵前后脂肪酸组成与含量对比(见表 5)

由表 5 可知,发酵前后稀奶油中共检测出 18 种脂肪酸。对比未发酵稀奶油,发酵后并没有增加稀奶油脂肪酸的种类,均以肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸和油酸为主;其中,棕榈酸含量最高,发酵前后的含量分别是 29.94% 和 29.37%,这与霍文莉<sup>[14]</sup>的研究结果相似。Ylimaz - Ersan<sup>[3]</sup> 研究显示稀奶油中含有丁酸,其含量在乳酸菌发酵后有一定增长,同时稀奶油中还含有  $\alpha$ -亚麻酸和顺-11,14,17-二十碳三烯酸,但本研究中未检出上述 3 种脂肪酸,这可能是使用的原料不同造成的差异。

发酵前稀奶油的中链脂肪酸含量为 5.05%,发酵后中链脂肪酸含量达到 5.15%,相较于未发酵稀奶油,发酵后稀奶油中的中链脂肪酸含量增加 1.98%。己酸、辛酸、癸酸和月桂酸均具有较强的挥发性,可赋予奶油独特的脂香<sup>[15]</sup>,发酵后稀奶油中己酸、辛酸、癸酸含量的增加可以让稀奶油香气更浓郁。发酵前稀奶油中饱和脂肪酸含量为 70.15%,

单不饱和脂肪酸含量为 27.80%，多不饱和脂肪酸含量为 1.78%；发酵后，饱和脂肪酸含量降至 69.73%，单不饱和脂肪酸含量增加到 28.22%，多不饱和脂肪酸含量为 1.80%，变化不大。

表 5 稀奶油发酵前后脂肪酸组成与含量 %

脂肪酸	发酵前	发酵后
己酸 C6:0	2.04 ± 0.10	2.05 ± 0.01
辛酸 C8:0	1.45 ± 0.02	1.47 ± 0.03
癸酸 C10:0	3.60 ± 0.01	3.68 ± 0.02
十一烷酸 C11:0	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.03
月桂酸 C12:0	4.96 ± 0.03	4.93 ± 0.06
十三烷酸 C13:0	0.17 ± 0.02	0.15 ± 0.03
肉豆蔻酸 C14:0	14.06 ± 0.02	14.02 ± 0.01
肉豆蔻烯酸 C14:1	1.59 ± 0.03	1.65 ± 0.02
十五烷酸 C15:0	2.47 ± 0.02	2.48 ± 0.04
棕榈酸 C16:0	29.94 ± 0.08	29.37 ± 0.04
棕榈油酸 C16:1	2.59 ± 0.02	2.62 ± 0.02
十七烷酸 C17:0	0.62 ± 0.03	0.66 ± 0.02
硬脂酸 C18:0	10.60 ± 0.04	10.63 ± 0.01
反油酸 C18:1n9t	1.21 ± 0.03	1.19 ± 0.07
油酸 C18:1n9c	22.41 ± 0.04	22.76 ± 0.04
亚油酸 C18:2n6c	1.74 ± 0.03	1.76 ± 0.01
花生酸 C20:0	0.18 ± 0.01	0.21 ± 0.03
顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸 C20:5n3	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01

### 3 结论

本试验利用乳酸乳球菌乳脂亚种、干酪乳杆菌、植物乳杆菌植物亚种混合发酵稀奶油，通过单因素试验和正交试验优化得到最佳发酵条件为：发酵温度 35℃，发酵时间 10 h，接种量 3%，菌种比例为乳酸乳球菌乳脂亚种与干酪乳杆菌、植物乳杆菌植物亚种菌液体积比 1:1.5:0.5。所制备的发酵稀奶油感官品质较好，蛋白质含量 1.36%、脂肪含量 36.54%、pH 4.57、酸度 67.05 °T、乳酸菌数  $2.7 \times 10^8$  CFU/mL。稀奶油发酵前后脂肪酸组成不变，共检测出 18 种脂肪酸，以肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸和油酸为主；发酵稀奶油中己酸、辛酸、癸酸含量增加，

从而使发酵稀奶油的香气更浓郁。

### 参考文献：

- [1] 阚建全, 谢笔钧. 食品化学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008.
- [2] 顾瑞霞. 乳与乳制品的生理功能特性[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000: 329 - 339.
- [3] YILMAZ - ERSAN L. Fatty acid composition of cream fermented by probiotic bacteria[J]. Mljekarstvo, 2013, 63 (3): 132 - 139.
- [4] EKINCI F Y, OKUR O D, ERTEKIN B, et al. Effects of probiotic bacteria and oils on fatty acid profiles of cultured cream[J]. Eur J Lipid Sci Tech, 2008, 110(3): 216 - 224.
- [5] ERKAYA T, ÜRKEK B, DOĞRÜ, et al. Probiotic butter: stability, free fatty acid composition and some quality parameters during refrigerated storage [J]. Int Dairy J, 2015, 49: 102 - 110.
- [6] 李昌模, 张钰斌, 李帅, 等. 反式脂肪酸生成机理的研究[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(7): 141 - 146.
- [7] 谢上才, 江力勤. 反式脂肪酸对心血管的危害及机制的研究进展[J]. 心血管病防治, 2016, 16(2): 134 - 139.
- [8] 张甜甜. 反式脂肪酸对大鼠神经系统损伤及其机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2018.
- [9] 孔正桥. 反式脂肪酸对小鼠学习记忆的影响及其机制的研究[D]. 济南: 山东大学, 2017.
- [10] 李玉霞, 申屠竹良. 酸奶油的生产[J]. 中国乳品工业, 2000, 28(4): 25 - 26.
- [11] 陈兵, 陈绍祜, 曹正, 等. 2017 年国际奶业形势分析与展望[J]. 中国奶牛, 2018(4): 50 - 60.
- [12] 戈早川. 论如何正确利用食品感官质量模糊评判的结果向量[J]. 食品科学, 1993, 14(2): 3 - 8.
- [13] 陈晓玲, 王璋, 许时婴. 应用模糊数学评价微胶囊化桔油的感官品质[J]. 食品科学, 2004, 25(6): 104 - 107.
- [14] 霍文莉. 内蒙古锡盟不同地区传统奶油制品脂肪酸组成的比较研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- [15] 梁钻好. 超高压处理对黄油物理特性及挥发性风味物质的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.