

乳清饮料酒研制及其风味物质研究

宗绪岩^{1,2}, 李 丽^{1,2}, 罗惠波^{1,2}, 边名鸿^{1,2}, 付 涛¹, 江文涛^{1,2}

(1. 四川理工学院生物工程学院, 四川 自贡 643000; 2. 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川 自贡 643000)

摘 要:为了更好的利用干酪加工行业的副产物乳清, 选择不同的酒用酵母, 按不同比例接种后进行发酵生产乳清饮料酒, 对发酵液进行理化指标、感官评价、气相色谱-质谱联用分析。结果表明: 乳清饮料酒的最佳生产工艺为添加蔗糖至 12% 固形物, 接种酵母 B 至 1.5×10^7 个/mL, 28℃ 主发酵 5~7 天, 15℃ 后发酵 20 天; 乳清饮料酒中酒精度 7%~8%, 色泽黄绿, 清透, 奶香浓郁, 酒香突出, 口味协调。

关键词: 发酵; 理化指标; 感官评价; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: TS252.9

文献标识码: A

引 言

乳清是生产干酪的副产品, 是从牛乳中分离出来的总固形物含量为 6.0%~6.5% 的浅黄色液体, 含有鲜乳中近一半的营养成分, 具有较高的营养价值。一般每生产 1 kg 干酪可得到 9kg 乳清^[1]。全世界每年生产干酪和干酪素所产生的乳清约为 9000×10^4 t, 其数量之大是相当可观的^[2]。近些年来, 乳清被主要用作提取乳糖, 制作乳清粉和浓缩乳清蛋白粉等^[3], 而世界上仍有大量的乳清等待利用。乳清营养丰富, 其蛋白质氨基酸组成接近母乳成分, 是一种易吸收, 高营养的蛋白质源^[4], 此外还含有人体代谢所必需的多种矿物质和维生素, 具有完全的营养功效^[5]。随着人们营养意识的增强和现代乳品工业的发展, 奶酪的需求量日益增大, 乳清的大量排出如果不能被有效利用, 不仅是资源的浪费, 而且会对环境造成严重的污染, 所以本试验研究利用乳清废液作为主要原料, 经酵母菌和乳酸菌混合发酵得到了乳清饮料酒, 该产品特点是低酒度, 高营养, 色泽黄绿, 奶香浓郁, 酒香突出, 口味和谐, 是与白酒、啤酒、葡萄酒等风格不同的一种营养饮品。

1 材料与设备

1.1 试验原料及药品

乳清: 实验室自制; 蔗糖: 购自本地超市。

葡萄糖、氢氧化钠、硫酸铜、盐酸、酒石酸钾钠、次甲基蓝、亚铁氰化钾、二氯甲烷、焦亚硫酸钾均为分析纯。

酵母 A、酵母 B、酵母 C 均为斜面酵母, 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室提供。

1.2 主要仪器与设备

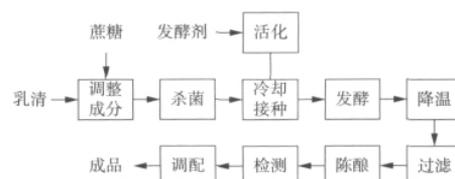
数显 pH 测定仪 PHS-2, 上海绿宇生物科技有限公司; 气相色谱质谱联用仪 GC6890N, 美国安捷伦科技公司; 生物显微镜 Nikon ECLIPSE 55i, 日本尼康公司; 生化培养箱 LRH-250, 上海齐欣科学仪器有限公司; 超净工作台 SW-CJ-1F, 苏州集团空气技术有限公司; RE52-3 旋转蒸发器, 苏州江东精密仪器有限公司。

2 试验方法

2.1 酵母的活化

将实验室保存的纯种酵母于无菌条件下接种于 PDA 斜面培养基上, 28℃ 活化 24h~48h。

2.2 工艺流程



采用现代酶凝后熟法生产契达干酪后排除的乳清,

收稿日期: 2011-10-14

基金项目: 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室开放基金项目(NJ2010-12); 四川理工学院科技项目(2010XJKR002)

作者简介: 宗绪岩(1976-) 男, 黑龙江人, 讲师, 博士, 主要从事食品生物化学及发酵过程控制与监测方面的研究(E-mail) suse62651@139.com

其固有糖分主要为乳糖,但达不到发酵所需的糖度,故采用外加糖源的发酵方式。

取 500mL 乳清液分装于 1000mL 锥形瓶中,外加蔗糖至总糖达到 12%,在 60℃ 灭菌 30min 冷却到 36~38℃,然后添加不同量的三种酵母进行发酵,使发酵液中酵母数分别达到 1.0×10^7 个/mL、 1.5×10^7 个/mL 和 2.0×10^7 个/mL,并编号为 A-1、A-2、A-3、B-1、B-2、B-3、C-1、C-2 和 C-3。按 50mg/L 的添加量加入焦亚硫酸钾,抑制杂菌生长,在发酵期间,温度控制在 28℃,持续发酵 5~7 天。待前期主发酵结束后,用虹吸法或者直接过滤出乳清发酵液,以防止酵母自溶现象,再把乳清发酵液温度降到 15℃,维持 20 天的后发酵。

2.3 理化指标测定方法

(1) 总糖的测定 用手持糖度计折射仪进行测定,测定次数为 $n=3$,取其平均值。

(2) pH 的测定 采用 PHS-2 型酸度计对发酵液进行测定,测定次数为 $n=3$,取其平均值。

(3) 酒精度的测定 蒸馏—比重法^[6]。

2.4 香味成分测定

样品的预处理:取酒 100mL 放入分液漏斗内,分别加入 100mL、50mL、50mL 的二氯甲烷分别萃取 1h,合并有机相,在萃取时,每 5~10 min,摇匀。用 RE52-3 旋转蒸发器在 40℃ 下浓缩至 5mL,无水硫酸钠脱水,浓缩至 1mL,供 GC-MS 分析。

分析条件:毛细管柱 J&W 122-7062 DB-WAX 60.0m \times 250 μ m \times 0.25 μ m;进样口温度 250℃,起始温度 50℃,不保留,以 6℃/min 升至 160℃,以 20℃/min 升至 230℃,载气 He,检测器温度 250℃,恒流 1.0mL/min;电离方式 EI,电离电压 70eV,MS 四级杆 150℃,离子源 230℃;进样量:1 μ L。

2.5 感官质量评价

请 10 位专业人士进行评级打分^[7]。

评定项目:色泽 1~15 分;澄清透明 1~15 分;滋味 1~35 分;气味 1~20 分;形态 1~15 分;总分 100 分。

3 结果与分析

3.1 不同发酵剂及其用量对酒体理化指标的影响

通过测定发酵酒液的各项理化指标及感官评价确定最适的发酵剂,其测定结果见表 1。

主发酵过程中,pH 值有所降低,酵母作用活跃,总糖变化明显,说明主发酵期间糖的利用效率高,这是出酒的主要阶段。在后发酵阶段中,糖的利用率降低,酒精度数有所下降,这是正常现象,因为随着醇类转化为酸、酯、醛等风味物质,乙醇将被消耗一部分,这是呈香呈味物质的形成过程。对比上表数据分析酵母 A-3 的糖利用率高,酵母 B-2 次之,而酵母 B-2 的产酒率高,并且比较稳定,故选取酵母 B-2 较好。

表 1 乳清发酵液理化指标测定结果

| | 主发酵结束 | | | 后发酵结束 | | |
|-----|-------|------|-------|-------|------|-------|
| | pH | 总糖/% | 酒精度/° | pH | 总糖/% | 酒精度/° |
| A-1 | 3.7 | 8.60 | 7.5 | 4.2 | 7.10 | 5.5 |
| A-2 | 3.8 | 8.40 | 7.1 | 4.0 | 7.03 | 5.8 |
| A-3 | 4.0 | 8.00 | 7.0 | 4.1 | 7.55 | 4.0 |
| B-1 | 4.2 | 8.73 | 7.4 | 4.4 | 8.11 | 4.8 |
| B-2 | 4.5 | 8.27 | 7.7 | 4.3 | 6.75 | 5.5 |
| B-3 | 4.4 | 8.30 | 5.5 | 4.1 | 7.34 | 5.4 |
| C-1 | 3.6 | 8.90 | 5.5 | 4.2 | 8.12 | 5.5 |
| C-2 | 3.7 | 9.13 | 6.0 | 4.3 | 8.67 | 5.0 |
| C-3 | 4.0 | 9.74 | 7.1 | 4.3 | 9.32 | 4.4 |

3.2 酒体感官评价结果

本试验对不同的发酵剂及其不同的添加量进行了研究,以期确定最佳的发酵剂,使酒体在色、香、味、形等方面都能呈现较好的状态。

不同酵母对酒体的影响见表 2。

表 2 不同试验组乳清饮料酒的感观评分

| 编号 | 色 | 香 | 味 | 形 | 得分 |
|-----|---------|-----------|--------|-----------------|----------------|
| A-1 | 淡黄色,略浑浊 | 酒香、奶香清淡 | 略涩,酵母味 | 少许白色漂浮物,少许沉淀,较稠 | 60.3 \pm 4.6 |
| A-2 | 黄绿色,略透明 | 奶香清淡,酒香突出 | 微甜,略涩 | 少许白色漂浮物,少许沉淀,较稠 | 67.5 \pm 5.4 |
| A-3 | 淡黄色,略浑浊 | 酒香突出,奶香清淡 | 略涩,酵母味 | 较多白色漂浮物,较多沉淀,较稠 | 61.1 \pm 4.3 |
| B-1 | 黄绿色,略透明 | 酒香清淡,奶香浓郁 | 略涩,苦味 | 较多白色漂浮物,较多沉淀,较稠 | 67.9 \pm 5.2 |
| B-2 | 黄绿色,略透明 | 奶香浓郁,酒香突出 | 微甜,协调 | 少许白色漂浮物,较多沉淀,较稠 | 71.3 \pm 2.0 |
| B-3 | 淡黄色,略浑浊 | 酒香突出,奶香清淡 | 略涩,酵母味 | 较多白色漂浮物,较多沉淀,较稠 | 67.8 \pm 3.5 |
| C-1 | 淡黄色,略浑浊 | 酒香、奶香清淡 | 略涩 | 少许白色漂浮物,较多沉淀,较稠 | 64.6 \pm 3.5 |
| C-2 | 黄绿色,略透明 | 奶香清淡,酒香突出 | 微甜,略涩 | 较多白色漂浮物,较多沉淀,较稠 | 65.4 \pm 4.1 |
| C-3 | 淡黄色,略浑浊 | 酒香突出,奶香清淡 | 略涩,苦味 | 少许白色漂浮物,较多沉淀,较稠 | 59.4 \pm 3.3 |

随着发酵剂的增加,酒香越发突出,但不同的酵母和添加量的多少都会影响酒体的乳香风味。对比三种发酵酒液,在品种上,酵母 A 发酵后,奶香清淡,有酵母

的涩口感,香味不纯正,沉淀少,说明酵母 A 的凝聚性弱,出现自溶现象;酵母 B 发酵后,酒体呈黄绿色,较清亮,奶香和酒香味都比较突出,味微甜,整体和谐,沉淀

较多,酵母凝聚性较好;酵母C发酵后,酒香突出,有甜味,沉淀较多,凝聚性较好,但奶香清淡,有杂味;综合分析比较,酵母B凝聚性好,乳清酒液色、香味和谐,对酒体质量呈正因素影响。在酵母用量上,酵母A随着添加量的增加,酒香逐渐突出,但A-3有酵母味,影响口感的纯正,出现自溶现象;酵母B随着添加量的增加,酒香突出,但B-3奶香有所减淡;酵母C随着添加量的增加,在酒香上有所促进,但酒体比较浑浊,口感不纯

正;综合分析,发酵前酵母数达到 $1.5e7$ 个/mL时酒体黄绿透明,自溶现象正常,酒体口感不杂涩。由此得出,在乳清液的发酵中,酵母B按初浓度 $1.5e7$ 个/mL的用量效果较好。

3.3 风味成分测定结果

本项试验中,分别对乳清发酵液的蒸馏液和萃取液用气相色谱质谱联用仪进行测定,检测和分析了其中的风味成分及其组成比例,测定结果见表3。

表3 乳清发酵液主要成分测定结果

| 组 分 | 样品 / % | | | | | | | | |
|---|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | A-1 | A-2 | A-3 | B-1 | B-2 | B-3 | C-1 | C-2 | C-3 |
| 乙醛 8 Acetaldehyde | 0.051 | nd | 0.049 | nd | nd | nd | 0.026 | nd | nd |
| 乙酸乙酯 Ethyl Acetate | 5.836 | nd | 0.03 | 0.183 | 0.055 | 0.075 | 0.069 | 0.048 | 0.028 |
| 1-丙醇 1-Propanol | 0.03 | nd | 0.036 | 0.045 | 0.042 | 0.021 | 0.08 | 0.068 | 0.034 |
| 2-甲基-1-丙醇 2-Methyl-1-Propanol | 0.143 | nd | 0.025 | 1.039 | 0.725 | 0.31 | 0.833 | 0.776 | 0.546 |
| 3-甲基-1-丁醇 3-Methyl-1-Butanol | 1.542 | nd | 1.304 | 6.481 | 3.183 | 1.056 | 5.194 | 3.509 | 2.766 |
| 3-羟基-2-丁酮 3-Hydroxy-2-Butanone | 0.387 | 1.604 | 0.394 | 0.1 | 0.109 | nd | 0.194 | 0.179 | 0.166 |
| 2-羟乙基-2-丙烯酸酯 2-Hydroxyethyl-2-Propenoic acid ester | nd | 1.229 | nd |
| 2-羟基丙酸乙酯 2-Hydroxy Propanoic acid ethyl ester | 0.029 | nd | nd | 0.097 | 0.024 | 0.028 | 0.105 | 0.05 | 0.047 |
| 3-乙氧基-1-丙醇 3-Ethoxy-1-Propanol | 0.018 | nd | nd | nd | 0.02 | nd | nd | nd | 0.022 |
| 1-羟基-2-丙酮 1-Hydroxy-2-Propanone | nd | 1.154 | nd |
| 1,3-二羟基丙酮二聚体 1,3-Dihydroxyacetone Dimer | nd | nd | nd | 0.015 | nd | nd | nd | nd | nd |
| 羟基乙醛 Hydroxy Acetaldehyde | nd | 2.055 | nd |
| 3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮 3-Hydroxy-2-Methyl-4-Pyrone | nd | nd | nd | nd | 0.075 | nd | nd | nd | nd |
| 辛酸乙酯 Octanoic acid ethyl Ester | nd | nd | nd | 0.025 | nd | nd | 0.022 | nd | nd |
| 乙酸 Acetic acid | nd | 6.317 | nd | 0.771 | 0.158 | 0.095 | 0.292 | 0.281 | nd |
| 糠醛 Furfural | nd | 1.8 | nd |
| 甲酸 Formic acid | nd | 12.836 | nd |
| 苯乙醇 Phenylethyl Alcohol | nd | nd | nd | nd | nd | nd | 0.063 | 3.418 | nd |
| 2,3-丁二醇 2,3-Butanediol | 0.071 | 0.188 | 0.043 | 0.396 | 0.064 | nd | 0.095 | 0.091 | 0.228 |
| 苯甲酸 Phenylformic acid | nd | nd | nd | nd | nd | 0.042 | nd | nd | nd |
| 2-甲基丙酸 2-Methyl-Propanoic acid | nd | nd | nd | nd | 0.067 | nd | 0.099 | 0.071 | nd |

从气相色谱质谱联用仪测定结果可以看出 酵母的发酵液中 3-羟基-2-丁酮的含量较低; 3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮尽在 B-2 中存在; 且 B-2 中不含乙醛、2-羟乙基-2-丙烯酸酯、1-羟基-2-丙酮、1,3-二羟基丙酮二聚体、羟基乙醛、辛酸乙酯、糠醛、甲酸、苯乙醇、苯甲酸等物质。乳清发酵液中含有多种成分, 各风味成分的相互作用形成了乳清饮料酒特有的香气和味道。这些物质的含量多与少可能是造成 B-2 同其他样品风味差别的因素, 差别产生的具体原因还需进一步研究。

4 结 论

本试验利用酵母 A、酵母 B、酵母 C 对传统干酪副产物乳清进行联合发酵, 成功地获得了乳清低度酒。考察了不同发酵剂、不同接种量等因素对乳清酒发酵液口味的影响, 确定了乳清酒的最佳发酵工艺条件: 以酵母 B 接种至酵母数 1.5×10^7 个/mL 进行发酵, 外加糖至总糖含量为 12%, 主发酵时间是 5~7 天, 后发酵时间 20 天。乳清酒发酵液的酒精度达到 7%~8%, 色泽黄绿, 清透, 具有醇正、和谐的乳香及酒香, 口味协调, 酒体醇厚。

利用生产干酪的副产物——乳清发酵, 生产营养丰富的饮料酒, 不仅是资源的开发再利用, 也是企业产业

链的扩展, 保护环境的一大举措。另外, 高营养的乳清产品日益收到人们的重视, 乳清废液的开发利用, 也将发展到一个新的高度。通过本试验的研究得出了生产乳清饮料酒的可行性生产工艺, 对乳制品的开发起了一定的参考作用。

参 考 文 献:

- [1] 齐海萍, 胡文忠, 范圣第. 乳清多肽酒的开发[J]. 食品工业科技, 2006(5): 133-135.
- [2] 郭本恒. 现代乳品加工学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [3] 尤玉如, 何光华, 刘士旺. 乳清生物发酵及其制品的研究[J]. 浙江科技学院学报, 2006, 18(3): 192-196.
- [4] Warner E A, Kanekanian A D, Andrews A T. Bioactivity of milk proteins: 1. Anticariogenicity of whey proteins[J]. International Journal of Dairy Technology, 2001, 54(4): 151-153.
- [5] 田道正彰, 陈广杰. 乳清矿物质的开发与应用[J]. 中国乳品工业, 1990, 18(4): 187-189.
- [6] 蔡定域. 酿酒工业分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [7] 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.

Study on Development and Flavor Substance of Whey Beverage Wine

ZONG Xu-yan^{1,2}, LI Li^{1,2}, LUO Hui-bo^{1,2}, BIAN Ming-hong^{1,2}, FU Tao¹, JIANG Wen-tao^{1,2}

(1. School of Biotechnology Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China;

2. Liquor Making Biological Technology & Application of Key Laboratory of Sichuan Province, Zigong 643000, China)

Abstract: In order to make better use of whey which is by-product of cheese processing industry, whey beverage wine is fermented with different wine yeasts and different proportions. Physicochemical index, sensory evaluation, gas chromatography-mass spectrometry of the fermentation liquid are analyzed. The results indicate that best whey beverage wine production technology is adding sucrose to 12% solids, inoculating yeast B to 1.5×10^7 /mL, keeping main fermentation at 28°C for 5~7 days, post-fermentation at 15°C for 20 days. Whey beverage wine is yellow, clear, rich creamy, highlight bouquet, harmonious taste. Alcohol content of whey beverage wine is 7% to 8%.

Key words: fermentation; physicochemical index; sensory evaluation; gas chromatography-mass spectrometry