

# 基于CATA和GC-MS-O的不同牧场牛奶感官特性及香气活性物质分析

韩颖颖<sup>1</sup>, 王亚东<sup>1</sup>, 韩兆盛<sup>1</sup>, 王蓓<sup>1\*</sup>, 付翠霞<sup>2</sup>, 赵爽<sup>2</sup>, 乔琳雅<sup>2</sup>, 姚欢<sup>2,\*</sup>

(1.北京工商大学食品与健康学院, 北京 100048; 2.君乐宝乳业集团有限公司, 河北 石家庄 050221)

**摘要:** 采用勾选所有适合项 (check-all-that-apply, CATA) 法、顶空-箭型固相微萃取-气相色谱-质谱法以及气相色谱-质谱-嗅闻联用技术对影响4个牧场牛奶感官差异的挥发性风味物质进行分析。CATA问卷结果显示, 奶香味、奶油味、香甜味、奶腥味、塑料味、蒸煮味、金属味在4个牛奶样品中具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 且一牧最受参与者喜欢, 三牧和四牧的喜好度评分较低。4个牧场牛奶样品通过嗅闻得到14种气味强度不低于1的香气活性物质。基于偏最小二乘回归分析将感官数据、香气活性物质以及牛奶样品进行关联, 结果显示: 一牧奶香味和奶油味较为突出, 与2-庚酮、丁酸、癸酸、己酸等化合物相关性强; 二牧具有香甜味, 这可能与柠檬烯的浓度有关; 三牧的金属味、塑料味、奶腥味突出, 与1-辛烯-3-醇有关。四牧与蒸煮味有关, 该气味特征主要来自己醛和苯乙烯。

**关键词:** 牧场; 勾选所有适合项; 香气活性物质; 气相色谱-质谱-嗅闻联用技术

## Analysis of Sensory Characteristics and Aroma-Active Substances of Milk from Different Farms Using Check-All-That-Apply and Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Olfactometry

HAN Haoying<sup>1</sup>, WANG Yadong<sup>1</sup>, HAN Zhaosheng<sup>1</sup>, WANG Bei<sup>1\*</sup>, FU Cuixia<sup>2</sup>, ZHAO Shuang<sup>2</sup>, QIAO Linya<sup>2</sup>, YAO Huan<sup>2,\*</sup>

(1. School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Junlebao Dairy Group Co. Ltd., Shijiazhuang 050221, China)

**Abstract:** In this study, the check-all-that-apply (CATA) method, headspace solid phase microextraction (HS-SPME)-Arrow combined with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry (GC-MS-O) were used to analyze volatile flavor substances that affect the sensory differences among milk from four pastures. The results of the CATA questionnaire showed that milky aroma, creamy aroma, fragrant and sweet aroma, milky aroma, plastic odor, cooked odor and metallic odor were significantly different among the four milk samples ( $P < 0.05$ ), and milk from pasture I were the most preferred by respondents, and the preference scores of milk from pastures III and IV were lower. Totally 14 aroma-active substances with an aroma intensity greater than or equal to 1 were obtained from the four milk samples through olfactometry. Using partial least squares regression analysis (PLSR), correlation analysis among sensory data, aroma-active substances and milk samples was conducted. The results showed that milky and creamy aroma from pasture I were prominent, which was strongly correlated with 2-heptanone, butanoic acid, decanoic acid, and hexanoic acid. Milk from pasture II showed a fragrant and sweet aroma, which may be related to the concentration of limonene. Milk from pasture III had prominent metallic, plastic, and milky odors, which may be related to 1-octene-3-alcohol. Milk from pasture IV had a cooked odor, which mainly came from hexanal and styrene.

**Keywords:** pasture; check-all-that-apply; aroma-active compounds; gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230228-252

中图分类号: TS252.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 01-0143-07

收稿日期: 2023-02-28

基金项目: 河北省科技厅农业高质量发展关键共性技术攻关专项 (20321201D)

第一作者简介: 韩颖颖 (1998—) (ORCID: 0000-0003-1174-7639), 女, 硕士, 研究方向为乳制品风味。

E-mail: hanhaoying2021@163.com

\*通信作者简介: 王蓓 (1981—) (ORCID: 0000-0001-5407-7810), 女, 教授, 博士, 研究方向为乳制品分子感官组学及智能感官大数据分析。E-mail: wangbei@th.btbu.edu.cn

姚欢 (1989—) (ORCID: 0009-0009-7538-2297), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为乳品研发。

E-mail: yaohuan@jlby.com

引文格式:

韩颖颖, 王亚东, 韩兆盛, 等. 基于CATA和GC-MS-O的不同牧场牛奶感官特性及香气活性物质分析[J]. 食品科学, 2024, 45(1): 143-149. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230228-252. <http://www.spkx.net.cn>

HAN Haoying, WANG Yadong, HAN Zhaosheng, et al. Analysis of sensory characteristics and aroma-active substances of milk from different farms using check-all-that-apply and gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry[J]. Food Science, 2024, 45(1): 143-149. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230228-252. <http://www.spkx.net.cn>

近年来规模化牧场已成为生产主体, 牛奶的规模化生产能够保证奶牛、饲料、技术等的一致性, 但不同地区的环境因素仍会造成牛奶中脂肪、蛋白质等品质指标存在差异<sup>[1]</sup>, 进而导致不同牧场牛奶之间的风味差异。牛奶风味是决定消费者购买与否的重要因素之一。目前关于牛奶风味的研究大多集中在不同杀菌方式的比较方面<sup>[2]</sup>, 对于不同地区牧场牛奶风味差异的研究较少。

牛奶的感官评价方法主要有定量描述分析 (quantitative descriptive analysis, QDA) 法、勾选所有适合项 (check-all-that-apply, CATA) 法等。QDA法是牛奶中最常用的感官分析方法<sup>[3]</sup>, 但QDA法评价步骤复杂、培训时间长, 并不能从感官和喜好度的角度了解消费者对牛奶的感知。据报道, CATA法是收集有关消费者对食品/饮料产品感官特征感知的信息的快速可靠的方法<sup>[4]</sup>, 提供的信息与训练有素的评估人员使用描述性分析获得的信息相似<sup>[5]</sup>。Yang Yang等<sup>[6]</sup>采用QDA法和CATA法对7种市售棕色酸奶(5种低温和2种常温)进行感官评价, 两者均能有效区分褐色酸奶的感官性质且分类结果一致, 其中焦糖味和棕色的得分和使用频率在两种方法中都是最高的。目前, CATA法已被用于酸奶<sup>[6]</sup>、奶酪<sup>[7]</sup>、乳品甜点<sup>[8]</sup>、冰淇淋<sup>[9]</sup>等多种乳制品的感官属性分析中, 但关于牛奶感官评价的报道却很少。

牛奶基质复杂, 其中的挥发性风味物质浓度较低<sup>[10]</sup>, 顶空固相微萃取 (headspace solid-phase microextraction, HS-SPME) 技术因其具有选择性高、灵敏度高、无需溶剂、样品量低及检测快速的特点常用于牛奶中挥发性化合物的萃取<sup>[11]</sup>。近年来的应用实践发现, 顶空-箭型固相微萃取 (HS-SPME-Arrow) 的萃取头萃取涂层的厚度得到提高, 萃取体积相较于SPME有所提高, 更适用于挥发性化合物浓度较低的样品检测<sup>[12]</sup>。因此可将HS-SPME-Arrow结合气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 技术应用于乳制品挥发性风味物质的研究中。而GC-MS只是一种间接测量挥发性化合物的方法, 不能够单独分析香气活性化合物, 气相色谱-嗅觉 (gas chromatography-olfactometry, GC-O) 测定法<sup>[13]</sup>可用于表征食物样品的气味活性, 即使用人的鼻子作为探测器, 与气相色谱相结合感知气味化合物, 能够更加直观地确定具有香气活性的风味组分, 从而更有效地从大量挥发性化合物中识

别出香气活性物质, 该方法已普遍用于各类食品风味的研究<sup>[14-15]</sup>。

本研究以4个不同感官特性牧场的牛奶为研究对象, 采用CATA法、GC-MS以及GC-MS-O联用技术研究了牛奶的感官特征和挥发性风味物质。采用单因素方差分析、对应分析 (correspondence analysis, CA) 和偏最小二乘回归 (partial least squares regression, PLSR) 等方法, 分析影响不同牧场牛奶感官差异的香气活性化合物, 以期为实际乳品工业中的牛奶感官品质的控制提供进一步的理论参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

从河北的6个牧场获取6份牛奶样品, 通过初步感官评价 (数据未显示) 筛选出4种感官差异较大的牛奶样品, 分别标记为一牧、二牧、三牧、四牧 (表1)。

表1 来自4个牧场的牛奶样品信息  
Table 1 Information about milk samples from four pastures

牧场名称	产地	质量分数/%			
		乳蛋白	乳脂肪	乳糖	非脂乳固体
一牧	河北省石家庄市鹿泉区	3.35	3.89	4.62	8.71
二牧	河北省保定市正阳县	3.41	3.77	4.82	8.87
三牧	河北省邯郸市威县	3.36	3.90	4.55	8.86
四牧	河北省承德市围场县	3.32	3.69	4.47	8.87

正构烷烃 (C<sub>7</sub>~C<sub>30</sub>, 色谱纯) 美国o2si smart solutions公司; 2-甲基-3-庚酮 (色谱纯) 美国Sigma公司; 二氯甲烷、乙酸、丁酸、己酸、辛酸、壬酸、癸酸、十二酸、苯乙酮、1-辛烯-3-醇、己醛、癸醛、2-庚酮、苯乙烯、柠檬烯 (均为分析纯) 北京化学试剂公司; 氦气 (纯度99.99%) 北京氮普北分公司。

### 1.2 仪器与设备

7890B-5977A型GS-MS联用仪、DB-WAX型毛细管柱 (60 m×0.25 mm, 0.25 μm)、SPME Arrow 1.10 mm: DVB/Carbon WR/PDMS萃取头 美国Agilent公司; 7890B-ODP3 GC-O仪 德国Gerstel公司; HH系列数显恒温水浴锅 金坛市科析仪器有限公司; BILON-XH-D漩涡混合器 上海比朗仪器制造有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 挥发性风味物质的提取

利用SPME-Arrow萃取头进行风味化合物的萃取，并对提取工艺参数进行优化。经优化后的条件：10 g样品置于40 mL的顶空瓶中，向其中加入1 g氯化钠提高萃取效率，并向其中添加1  $\mu$ L质量浓度为0.816 mg/mL的2-甲基-3-庚酮作为内标。在45  $^{\circ}$ C水浴锅中平衡20 min后，利用SPME-Arrow的萃取头吸附30 min，在GC-MS中解吸5 min。

#### 1.3.2 GC-MS条件

色谱条件：DB-WAX型毛细管柱（60 m $\times$ 0.25 mm，0.25  $\mu$ m），以氦气作为载气，设置恒定流速1.2 mL/min。升温程序：起始柱温为40  $^{\circ}$ C，以4  $^{\circ}$ C/min升温到230  $^{\circ}$ C，维持2 min。采用不分流模式。

质谱条件：电子电离（electron ionization, EI）源，电子能量70 eV；进样口温度250  $^{\circ}$ C，离子源温度230  $^{\circ}$ C，四极杆温度150  $^{\circ}$ C；全扫描模式，质量扫描范围 $m/z$  35~350。

#### 1.3.3 GC-MS-O条件

采用配备嗅觉检测端口的GC-MS。高纯氮气（99.99%）作为GC-O分析的载气。嗅闻口与质谱仪进样分流比1:1，嗅闻口和传输线的温度分别保持在230  $^{\circ}$ C和250  $^{\circ}$ C，在检测口通入湿润的空气。其他条件同1.3.2节GC-MS条件。由4名有牛奶感官经验的小组成员进行，针对牛奶香气物质对评价员进行额外12 h培训（每周3 h，共4周）。嗅闻时，实时记录香气化合物出现的时间、气味特征以及气味强度（aroma intensity, AI）。参考文献方法<sup>[16-17]</sup>并进行调整，将AI分5个等级，分别以0、1、2、3、4分的形式表示香气强度，“0”表示未识别到任何气味，“1”表示可以准确识别气味但持续时间短，“2”表示能快速识别气味且持续时间长，“3”表示能准确快速识别气味且持续时间较长，“4”表示能准确快速识别气味且持续时间更长。如果2个及其以上的小组成员感知到气味，就确定一个香气活性物质。

#### 1.3.4 定性定量分析

采用NIST 14谱库、计算化合物的保留指数（retention index, RI）与文献中的保留指数进行对比以及比对嗅闻结果对牛奶中化合物进行定性分析。RI计算：将正构烷烃 $C_7\sim C_{30}$ 与牛奶在相同的色谱条件下得出GC保留时间，根据公式计算待测物 $i$ 的RI（ $t_n < t_i < t_{n+1}$ ）：

$$RI = 100 \times n + \frac{100(t_i - t_n)}{t_{n+1} - t_n}$$

式中： $n$ 为碳原子数； $t_n$ 为碳原子数为 $n$ 的正构烷烃的保留时间； $t_{n+1}$ 为碳原子数为 $n+1$ 的正构烷烃的保留时间； $t_i$ 为样品 $i$ 的保留时间。

定量分析：内标半定量法，根据化合物及内标化合物峰面积比值计算各挥发性组分的浓度。对嗅闻得到的

香气活性物质进行内标标准曲线法（内标为2-甲基-3-庚酮）精确定量。

#### 1.3.5 感官评价

从北京工商大学学生中招募到50名未经培训的消费者（18名男性和32名女性，年龄19~25岁）完成CATA问卷（图1）。实验开始前，每个参与者都签署了一份知情同意书，参与者均具有长期饮用牛奶的习惯（每周至少5次）。并对招募的消费者评价员进行实验所需的流程介绍以及感官评价等基本知识培训。

性别:	年龄:	日期:	样品编号:
1.以下描述词中,您认为哪些适用于描述该样品(多选,在对应的方格中打√)			
<b>外观</b>			
<input type="checkbox"/> 流动性好	<input type="checkbox"/> 流动性较差	<input type="checkbox"/> 挂壁有颗粒	<input type="checkbox"/> 挂壁无颗粒
<b>气味</b>			
<input type="checkbox"/> 奶香味	<input type="checkbox"/> 奶油味	<input type="checkbox"/> 香甜味	<input type="checkbox"/> 回味-奶香味
<input type="checkbox"/> 奶腥味	<input type="checkbox"/> 氧化味	<input type="checkbox"/> 塑料味	<input type="checkbox"/> 蒸煮味
<input type="checkbox"/> 金属味	<input type="checkbox"/> 纸板味		
<b>滋味</b>			
<input type="checkbox"/> 涩味	<input type="checkbox"/> 回味-涩味	<input type="checkbox"/> 甜味	<input type="checkbox"/> 回味-甜味
<b>口感</b>			
<input type="checkbox"/> 寡淡	<input type="checkbox"/> 醇厚	<input type="checkbox"/> 颗粒感	<input type="checkbox"/> 细腻
2.总体而言,您对该样品的喜好如何			
<input type="checkbox"/> 极不喜欢	<input type="checkbox"/> 很不喜欢	<input type="checkbox"/> 不喜欢	<input type="checkbox"/> 谈不上喜欢不喜欢
<input type="checkbox"/> 有点喜欢	<input type="checkbox"/> 喜欢	<input type="checkbox"/> 很喜欢	<input type="checkbox"/> 极喜欢

图1 CATA问卷示例

Fig. 1 Example of CATA questionnaire

CATA问卷中的感官属性在文献[18-19]及实验室感官评价专家小组讨论确定的基础上，再由10名消费者集体讨论，根据样品本身的属性以及参与者的语言习惯对描述词进行调整后最终确定。在回答完每个评估样本的CATA问题后，参与者还需要使用1~9分的享乐量表对样品的总体喜爱程度进行评分。

将4份15 mL的牛奶样品置于30 mL的品评杯中。样本随机3位数编码呈送给参与者。期间还提供了无盐饼干和瓶装净水清洁口腔。

#### 1.4 数据处理

采用单因素方差分析比较GC-MS测得的挥发性风味物质的半定量及精确定量结果，并采用Tukey事后比较法进行统计学分析（以 $P < 0.05$ 表示差异显著）。CATA数据以感官属性的频率表示，通过具有显著差异的气味描述词进行CA，将气味属性的频率和4个牛奶样本之间的相关性可视化。使用PLSR，以探索CATA气味感官属性（频率）与香气活性物质之间的关系。利用IBM SPSS Statistics 23、SIMCA 14及Origin 2018等软件进行数据处理及图像绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 牛奶样品的感官分析

50名参与者通过CATA问卷对牛奶样品的感官属性进行勾选，表2显示了4个牛奶样本的22个感官属性描述词的使用频次，包括10个气味、4个滋味、4个口感和

4个外观。其中描述气味的奶香味、奶油味,描述滋味的甜味,描述口感的醇厚以及描述外观的流动性好为参与者勾选最多的描述词,而气味描述词纸板味,滋味描述词回味-涩味、口感描述词颗粒感和外观描述词流动性差则是勾选频率最低的。由表3可知,4个牧场牛奶样品喜好度评分均存在显著差异( $P<0.05$ )。以上表明参与者倾向于使用奶香味、奶油味、甜味变量描述牛奶样品的风味,它们是牛奶中普遍存在的风味属性,也是消费者所喜爱的风味属性。

表2 由参与者( $n=50$ )为4个牧场牛奶样品选择的属性的频次  
Table 2 Frequency of sensory attributes selected by participants ( $n=50$ ) for milk samples from four pastures

感官特征	感官描述词	一牧	二牧	三牧	四牧	总数
气味	奶香味***	42	36	23	29	130
	奶油味***	42	39	21	28	130
	香甜味*	12	21	9	17	53
	回味-奶香味	33	27	24	24	108
	奶腥味*	5	7	14	11	37
	氧化味*	1	1	2	5	13
	塑料味**	0	3	10	5	18
	蒸煮味*	5	10	15	16	46
	金属味***	2	1	18	7	28
	纸板味	1	1	4	3	12
滋味	涩味*	5	9	6	10	58
	回味-涩味	5	7	8	10	30
	甜味	18	21	11	13	63
	回味-甜味	12	15	6	7	40
口感	寡淡	9	6	10	16	41
	醇厚*	24	25	13	18	80
	颗粒感	1	3	1	0	5
	细腻	20	20	19	20	79
外观	流动性好	36	44	45	45	170
	流动性较差	2	1	3	3	9
	挂壁有颗粒**	5	19	5	9	58
	挂壁无颗粒	18	25	33	24	100

注:根据Cochran's Q检验,\*.  $P<0.05$ , 差异显著; \*\*.  $P<0.01$ , 差异极显著; \*\*\*.  $P<0.001$ , 差异高度显著。

表3 参与者( $n=50$ )对4个牧场牛奶样品整体喜好度评分  
Table 3 Overall preference scores of participants ( $n=50$ ) for milk samples from four pastures

样品	一牧	二牧	三牧	四牧
平均值	6.46±0.56 <sup>a</sup>	6.10±0.38 <sup>b</sup>	4.56±0.49 <sup>d</sup>	5.12±0.61 <sup>c</sup>

注:同行不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

此外,根据Cochran's Q-test,在10个气味属性中,50位参与者能够显著区分4个牛奶样品中的7个气味属性,分别为奶香味、奶油味、香甜味、奶腥味、塑料味、蒸煮味、金属味,在回味-奶香味、氧化味和纸板味的气味属性上没有显著差异。利用CA将7个气味属性与来自4个牧场的牛奶样品之间的关系可视化(图2)。CA的结果显示F1和F2的总解释量为96.25%。一牧牛奶样本位于第2象限,与奶油味和奶香味CATA变量呈正相关,且喜好度评分最高(表3)。二牧位于第3象限,与香甜味有关。三牧则位于第1象限,其喜好度评分最低,与金

属味、塑料味呈正相关,而四牧位于第4象限,与奶腥味、蒸煮味、氧化味等不愉快的气味有较强的相关性。综上所述,4个牧场牛奶样品感官差异明显,未经训练的小组成员可以很好地将其进行区分。

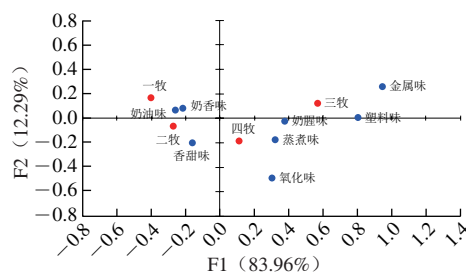


图2 CA中样品与感官属性对称关联图

Fig. 2 Symmetric correlation between samples and sensory attributes in correspondence analysis

## 2.2 4个牧场牛奶风味物质的GC-MS分析

采用HS-SPME-Arrow-GC-MS初步分析造成4个牧场牛奶样品感官差异的挥发性风味物质,图3A清楚地显示了4个牧场牛奶样品的挥发性风味物质数量,共鉴定出37种挥发性物质,包括酸类11种、酮类3种、醇类11种、醛类6种、酯类2种以及萜烯类2种、含硫化合物1种和酚类物质1种。一牧和二牧的风味物质比三牧和四牧多,4个样品被检测出17种相同的成分。将4个样品中风味物质的种类通过含量进行比较,如图3B所示。可以看出,一牧牛奶样品风味物质释放含量明显高于其他3个牧场,三牧和四牧样本间的差异相对较小。其中一牧的酸类和酮类物质含量最高,牛奶中的酸类物质来源于脂肪分解、乳糖和氨基酸的降解<sup>[20-21]</sup>,而牛奶中的挥发性脂肪酸一般是指含偶数碳的中短链脂肪酸,如丁酸、己酸、辛酸等。此外,酸类除了能够作为挥发性物质外,还是酮类化合物的前体物质<sup>[22]</sup>,酮类主要由热加工过程中的脂肪降解和游离脂肪酸经氧化为 $\beta$ -酮酸后脱羧反应产生<sup>[23]</sup>。二牧中的醛类化合物含量在4个样品中最高,牛奶中的醛类化合物主要来源于脂肪酸代谢、氨基酸转氨作用或Strecker降解<sup>[24]</sup>。醇类和酯类在所有样品中均较少,牛奶中的醇类物质可能来源于化学降解,也可能是由于微生物的活动产生的,醇类的风味阈值较醛类高,因此对风味的影响较醛类物质低<sup>[25]</sup>。

为更直观地分辨4个牛奶样品间的差异,基于其风味物质的定性定量结果,对样品进行主成分分析(principal component analysis, PCA)(图3C),PC1和PC2分别解释了55.6%和29.3%的方差,两个PC总方差贡献大于80%,可以基本反映样品整体信息。不同样品在PC1上有较大差异。三牧和四牧在PC1上投影较近,挥发性风味物质较为相似,一牧、二牧则与上述两个样品相距较远,表明挥发性风味物质差别较大。与一牧相关的挥发性物质最多,均存在PC1的负轴上,如中短链脂肪酸、2-庚酮、壬醛等。而二牧与3-己醇、辛醇、糠醛、苯

乙烯、苯甲酸等物质距离较近。三牧和四牧与2-戊醇、柠檬烯、己醛、苯乙酮等挥发性物质聚集在一起。其中乙酸、丁酸、己酸、辛酸、癸酸、己醛、柠檬烯、苯乙烯在韩兆盛等<sup>[26]</sup>的研究中也有发现,因此,这可能是造成牛奶感官差异的风味物质。

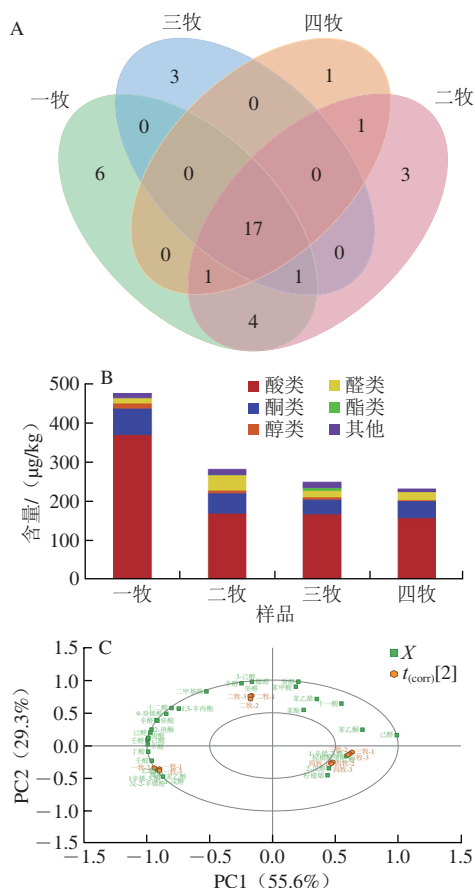


图3 4个牧场牛奶挥发性风味化合物种类及含量的Venn (A)、柱状 (B) 和PCA (C) 图

Fig.3 Venn diagram (A), bar plot (B) and PCA plot (C) of types and contents of volatile flavor compounds in milk samples from four pastures

### 2.3 4个牧场牛奶香气活性物质的GC-MS-O分析

基于GC-MS从牛奶样品中共鉴定出37种挥发性风味物质,为进一步确定引起4个牧场牛奶样品感官差异的主要香气活性物质,本研究进一步采用GC-MS-O技术从中分析出AI≥1的14种气味活性物质,并通过标准曲线计算这些香气活性物质在牛奶中的精确含量(表4),其中包括酸类7种(乙酸、丁酸、己酸、辛酸、壬酸、癸酸、十二酸)、酮类2种(2-庚酮和苯乙酮)、醛类2种(己醛和癸醛)、醇类1种(1-辛烯-3-醇)以及萜烯类2种(柠檬烯和苯乙烯)。

为更清晰地了解4个牧场牛奶样品香气活性物质浓度的异同,对4个牧场牛奶样品的14种香气活性物质的精确定量结果进行热图和层次聚类分析,结果如图4所示。横向代表不同样品间的浓度差异,纵向聚类结果代表14种成分间的浓度差异关系,热图颜色由蓝至红反映各成分浓度由低至高。4个牧场牛奶样品热图聚类分析结果显示,一牧牛奶样品聚为第一类,说明一牧牛奶样品的香气活性物质分布不同于其他3个牧场,这主要与其短链脂肪酸含量显著高于其他3个牧场有关(P<0.05)。它们分别为乙酸(AI=1.5, 63.55 μg/kg)、丁酸(AI=2, 22.31 μg/kg)、己酸(AI=2, 51.06 μg/kg)、辛酸(AI=2.5, 125.55 μg/kg)、壬酸(AI=1.5, 8.79 μg/kg)、癸酸(AI=2.5, 72.21 μg/kg),这些脂肪酸广泛存在于牛奶中,其中丁酸在低浓度下具有较为浓郁的奶香味<sup>[27]</sup>,此外,苯乙酮(AI=1, 24.82 μg/kg)在一牧中的含量也最高,苯乙酮由苯基丙氨酸的β-氧化形成酮酸后经脱羧生成<sup>[28]</sup>,且苯乙酮与奶酪的香气强度呈正相关<sup>[29]</sup>。二牧聚为第二类,其中的十二酸(AI=1, 27.72 μg/kg)和柠檬烯(AI=2.5, 20.26 μg/kg)含量显著高于其他牧场(P<0.05),这可能是引起差异的主要香气活性物

表4 14种嗅闻得到的香气活性物质的AI及精确定量

Table 4 Aroma intensity and precise quantification of 14 aroma-active substances identified by olfactometry

香气活性物质	气味描述	AI				标准曲线	含量/(μg/kg)			
		一牧	二牧	三牧	四牧		一牧	二牧	三牧	四牧
2-庚酮	果香味、奶香味	2	2.5	0	0	$y=1.278 7x-0.414 1$	$61.72 \pm 0.27^b$	$62.05 \pm 0.13^a$	—	—
柠檬烯	果香味、清甜味、柠檬味	1	2.5	1.5	1.5	$y=1.670 4x-0.166 0$	$12.62 \pm 0.08^b$	$20.26 \pm 0.16^a$	$8.11 \pm 0.02^d$	$11.57 \pm 0.12^c$
苯乙烯	橘香味、塑料味、甜香味	1	0.5	2	2.5	$y=1.849 1x-0.083 7$	$4.45 \pm 0.03^b$	$7.83 \pm 0.20^a$	$7.79 \pm 0.07^c$	$4.39 \pm 0.01^b$
己醛	青草味、脂肪味、汗味	0.5	1	2	1.5	$y=0.197 3x+0.068 6$	$35.72 \pm 0.59^c$	$46.74 \pm 0.52^b$	$52.89 \pm 0.13^a$	$51.66 \pm 0.23^a$
1-辛烯-3-醇	蘑菇味、泥土味	0	0	2	0	$y=1.338 1x+0.645 9$	—	—	$41.55 \pm 0.12$	—
乙酸	酸味	1.5	1	1	1	$y=0.173 4x-0.044 3$	$63.55 \pm 2.04^a$	$38.89 \pm 1.09^b$	$34.60 \pm 0.19^c$	$36.95 \pm 0.73^{bc}$
癸醛	花香味、肥皂味	0	1	1	0	$y=0.850 7x-0.285 9$	—	$30.92 \pm 0.24^b$	$36.06 \pm 0.08^a$	—
丁酸	奶香味、奶油味	2	1	0.5	0.5	$y=0.695 3x-0.083 9$	$22.31 \pm 0.55^a$	$16.70 \pm 0.03^b$	$11.69 \pm 0.01^d$	$13.89 \pm 0.05^c$
苯乙酮	香甜味、清香味、杏仁味	1	1	1	1	$y=2.583 5x+0.014 2$	$24.82 \pm 0.31^a$	$1.40 \pm 0.01^d$	$13.84 \pm 0.28^c$	$16.34 \pm 0.06^b$
己酸	奶油味、奶香味	2	2	1	1	$y=0.866 3x-0.036 9$	$51.06 \pm 0.86^c$	$39.93 \pm 0.84^b$	$23.68 \pm 0.20^c$	$23.83 \pm 1.06^c$
辛酸	奶酪味、奶油味、奶香味	2.5	2	1.5	1	$y=0.977 9x-0.075 8$	$125.55 \pm 2.36^a$	$82.92 \pm 1.06^b$	$43.96 \pm 0.51^c$	$38.60 \pm 0.46^d$
壬酸	奶酪味、奶油味、奶香味	1.5	1.5	1	1	$y=1.000 1x+0.002 3$	$8.79 \pm 0.50^a$	$3.87 \pm 0.29^b$	$2.27 \pm 0.07^c$	$2.09 \pm 0.09^c$
癸酸	奶酪味、油脂味、果香味	2.5	2	1	1	$y=1.861 5x-0.075 0$	$72.21 \pm 0.62^a$	$68.87 \pm 0.36^b$	$39.56 \pm 0.07^c$	$35.59 \pm 1.00^d$
十二酸	椰子油味、脂肪味	1	1	0.5	0.5	$y=1.500 2x+0.090 5$	$24.70 \pm 0.18^b$	$27.72 \pm 0.39^a$	$13.85 \pm 0.77^d$	$15.67 \pm 0.28^c$

注: 0.未嗅闻到; 一.未检测到; 同行不同字母表示差异显著(P<0.05)。

质, 萜烯类化合物通常具有水果味、草本味或树脂味<sup>[30]</sup>, Fernandez-Garcia等<sup>[29]</sup>报道了法国高原地区采集的牛奶中萜烯类浓度均高于平原地区。因此4个牧场牛奶样品间萜烯类物质浓度的差异可能是由于地区不同。三牧和四牧聚为第3类, 表示其香气活性物质分布整体上没有显著差异, 这与两者的香气活性物质含量普遍偏低有关。但从表4的定量结果可以得出己醛(AI=2, 52.89  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )和癸醛(AI=1, 36.06  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )在三牧中的含量均最高, 醛类化合物在低浓度时, 会产生令人愉悦的草本气味<sup>[31]</sup>, 且1-辛烯-3-醇是嗅闻得到唯一的醇类物质且仅在三牧中出现, 它具有典型的蘑菇香气, 超过适当的浓度水平, 会使牛奶有金属味<sup>[27]</sup>。以上聚类结果与图3C结果一致, 表明这14种香气活性物质是引起4个牧场牛奶感官差异的主要贡献者。

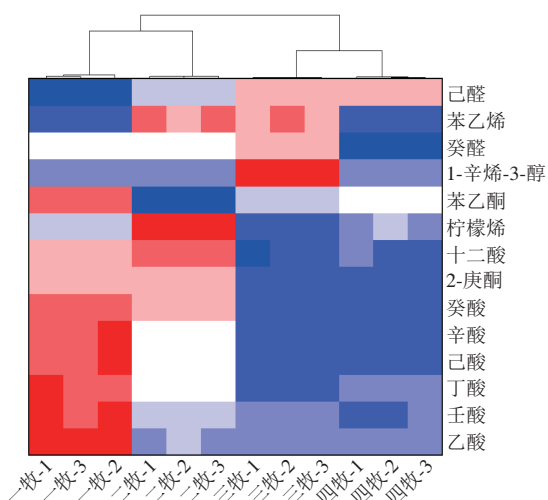


图4 不同牛奶样品14种香气活性物质浓度聚类热图

Fig. 4 Clustering heatmap of 14 aroma-active substances in different milk samples

#### 2.4 牛奶样品香气活性物质与感官特性的相关性分析

基于PLSR的模型分析气味CATA变量(Y变量)与香气活性物质(X变量)之间的相关性。PLSR结果如图5所示。仅使用样本间差异显著的气味CATA变量进入模型。双组分 $R^2_{\text{cum}}$ 值在0.630~0.807之间,  $R^2_{\text{Y}}$ (cum)值在0.788~0.968之间。PLSR模型中的 $Q^2$ 值用于揭示气味属性(Y变量)和化合物(X变量)之间的相关性。结果显示: 一牧奶香味和奶油味较为明显, 这是令人愉悦的气味特征, 与短链脂肪酸类化合物, 如丁酸、己酸、辛酸、癸酸以及2-庚酮等相关性较大, 艾娜丝等<sup>[32]</sup>在分析全脂巴氏乳挥发性成分中得到了相似的结果; 二牧具有香甜味, 与柠檬烯相关性较大, 也是令人愉悦的气味; 三牧具有塑料味、奶腥味、金属味的气味特性, 其中金属味与1-辛烯-3-醇相关性较大, 与潘明慧等<sup>[27]</sup>的研究结果一致。四牧的蒸煮味较强, 与苯乙烯、己醛的相关性

较大, 在Hedegaard等<sup>[19]</sup>对3种不同脂肪酸组分的牛奶的研究中同样也发现蒸煮味与己醛高度相关。此外, 三牧和四牧喜好度评分较低, 己醛、苯乙烯、1-辛烯-3-醇与其有较大的相关性, 这些物质可能是令人不愉快的气味来源。

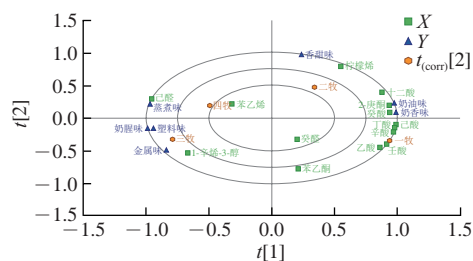


图5 4个牧场牛奶的感官属性与香气活性物质PLSR分析

Fig. 5 PLSR analysis of sensory properties and major aroma-active substances in milk samples from four pastures

### 3 结论

本实验旨在揭示引起不同牧场牛奶感官差异的化合物。基于CATA问卷和GC-MS-O结果, 采用PLSR分析可以得到, 一牧最受小组成员喜欢, 其奶香味和奶油味较为突出, 与2-庚酮、丁酸、癸酸、己酸等化合物相关性强; 二牧具有香甜味, 这可能与柠檬烯的浓度有关; 三牧和四牧的喜好度评分较低, 其中三牧与金属味、塑料味、奶腥味相关性较强, 与1-辛烯-3-醇有关; 四牧和蒸煮味有关, 该气味特征主要来自己醛和苯乙烯。此研究为牛奶生产商和产品开发者提供了有关感官质量和未经培训的牛奶感官评价参与者接受度的重要信息, 可为牛奶品质标准的建立提供参考。

#### 参考文献:

- JENKINS T C, MCGUIRE M A. Major advances in nutrition: impact on milk composition[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(4): 1302-1310. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1.
- 王象欣, 张秋梅, 魏雪冬, 等. 不同类型热处理方式对牛乳品质的影响[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(4): 20-23. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2019.04.004.
- PURI R, KHAMRUI K, KHETRA Y, et al. Quantitative descriptive analysis and principal component analysis for sensory characterization of Indian milk product *cham-cham*[J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(2): 1238-1246. DOI:10.1007/s13197-015-2089-4.
- ARES G, BARREIRO C, DELIZA R, et al. Application of a check-all-that-apply question to the development of chocolate milk desserts[J]. Journal of Sensory Studies, 2010, 25: 67-86. DOI:10.1111/j.1745-459X.2010.00290.x.
- JAEGER S R, CADENA R S, TORRES-MORENO M, et al. Comparison of check-all-that-apply and forced-choice Yes/No question formats for sensory characterisation[J]. Food Quality and Preference, 2014, 35(2): 32-40. DOI:10.1016/j.foodqual.2014.02.004.

- [6] YANG Y, YANG M, SUO H, et al. Application of check-all-that-apply and quantitative descriptive analysis in sensory evaluation of brown yogurt[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 18: 209-214. DOI:10.1016/j.foodqual.2015.02.003.
- [7] TORRES F R, ESMERINO E A, CARR B T, et al. Rapid consumer-based sensory characterization of requeijao cremoso, a spreadable processed cheese: performance of new statistical approaches to evaluate check-all-that-apply data[J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(8): 6100-6110. DOI:10.3168/jds.2016-12516.
- [8] BRUZZONE F, VIDAL L, ANTUNEZ L, et al. Comparison of intensity scales and CATA questions in new product development: sensory characterisation and directions for product reformulation of milk desserts[J]. Food Quality and Preference, 2015, 44: 183-193. DOI:10.1016/j.foodqual.2015.04.017.
- [9] DOOLEY L, LEE Y S, MEULLENET J F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping[J]. Food Quality and Preference, 2010, 21(4): 394-401. DOI:10.1016/j.foodqual.2009.10.002.
- [10] 艾娜丝, 仝令君, 张晓梅, 等. 全脂乳与脱脂乳挥发性风味成分对比分析[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(11): 1-6. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2016.11.001.
- [11] LORENZO-PARODI N, KAZIUR W, STOJANOVIC N, et al. Solventless microextraction techniques for water analysis[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2019, 113: 321-331. DOI:10.1016/j.trac.2018.11.013.
- [12] KREMSER A, JOCHMANN M A, SCHMIDT T C J A, et al. PAL SPME Arrow: evaluation of a novel solid-phase microextraction device for freely dissolved PAHs in water[J]. 2016, 408(3): 943-952. DOI:10.1007/s00216-015-9187-z.
- [13] SONG H L, LIU J B. GC-O-MS technique and its applications in food flavor analysis[J]. Food Research International, 2018, 114: 187-198. DOI:10.1016/j.foodres.2018.07.037.
- [14] SCHEFFLER L, SAUERMAN Y, ZEH G, et al. Detection of volatile metabolites of garlic in human breast milk[J]. Metabolites, 2016, 6(2): 18. DOI:10.3390/metabo6020018.
- [15] LI C, AL-DALALI S, WANG Z, et al. Investigation of volatile flavor compounds and characterization of aroma-active compounds of water-boiled salted duck using GC-MS-O, GC-IMS, and E-nose[J]. 2022, 386: 132728. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132728.
- [16] MA L J, GAO M M, ZHANG L Q, et al. Characterization of the key aroma-active compounds in high-grade Dianhong tea using GC-MS and GC-O combined with sensory-directed flavor analysis[J]. Food Chemistry, 2022, 378: 132058. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132058.
- [17] 庄志雄, 张雁, 邓媛元, 等. 烫漂及喷雾干燥对甜玉米挥发性风味化合物的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 274-282. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220819-232.
- [18] 刘立, 李代禧, 余华星, 等. 国内外五种著名全脂牛奶感官评价分析及其电子鼻、电子舌甄别初探[J]. 食品与发酵科技, 2014, 50(5): 90-96. DOI:10.3969/j.issn.1674-506X.2014.05-023.
- [19] HEDEGAARD R V, KRISTENSEN D, NIELSEN J H, et al. Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(2): 495-504. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72112-9.
- [20] VAGENAS G, ROUSSIS I G. Fat-derived volatiles of various products of cows', ewes', and goats' milk[J]. International Journal of Food Properties, 2012, 15(3): 665-682. DOI:10.1080/10942912.2010.498542.
- [21] ZAREBA D, ZIARNO M, OBIEDZINSKI M. Volatile profile of non-fermented milk and milk fermented by *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*[J]. International Journal of Food Properties, 2012, 15(5): 1010-1021. DOI:10.1080/10942912.2010.513024.
- [22] PAN M H, TONG L J, CHI X L, et al. Comparison of sensory and electronic tongue analysis combined with HS-SPME-GC-MS in the evaluation of skim milk processed with different preheating treatments[J]. Molecules, 2019, 24(9): 1650. DOI:10.3390/molecules24091650.
- [23] 张国农, 顾敏锋, 李彦荣, 等. SPME-GC/MS测定再制干酪中的风味物质[J]. 中国乳品工业, 2006(9): 52-56. DOI:10.3969/j.issn.1001-2230.2006.09.014.
- [24] VAZQUEZ-LANDAVERDE 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.
- [25] 胡珍. 牛奶风味活性物质的研究进展[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2011, 27(3): 183.
- [26] 韩兆盛, 王姣, 王亚东, 等. 杀菌方法对牛乳中特征香气物质的影响[J]. 中国食品学报, 2022, 22(11): 368-378. DOI:10.16429/j.1009-7848.2022.11.038.
- [27] 潘明慧, 曹宏芳, 王彩云, 等. 国内外典型常温纯牛奶的风味品质分析[J]. 中国食品学报, 2022, 22(5): 271-281. DOI:10.16429/j.1009-7848.2022.05.029.
- [28] 张列兵, 丁华, 程涛. 干酪的成熟、风味与微生物及其酶的关系[J]. 中国乳品工业, 1995(2): 89-93.
- [29] FERNADEZ-GARCIA E, CARBONELL M, GAYA P, et al. Evolution of the volatile components of ewes raw milk Zamorano cheese. Seasonal variation[J]. International Dairy Journal, 2004, 14(8): 701-711. DOI:10.1016/j.idairyj.2003.12.011.
- [30] ADDIS M, PINNA G, MOLLE G, et al. The inclusion of a daisy plant (*Chrysanthemum coronarium*) in dairy sheep diet: 2. Effect on the volatile fraction of milk and cheese[J]. Livestock Science, 2006, 101(1/2/3): 68-80. DOI:10.1016/j.livprodsci.2005.09.009.
- [31] MOIO L, RILLO L, LEDDA A, et al. Odorous constituents of ovine milk in relationship to diet[J]. Journal of Dairy Science, 1996, 79(8): 1322-1331. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(96)76488-3.
- [32] 艾娜丝, 张晓梅, 仝令君, 等. SDE与SAFE分析全脂巴氏乳挥发性成分[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(10): 109-112; 5. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2016.10.027.