

干酪质构与风味控制技术研究进展

罗洁¹ 任发政¹ 王紫薇² 郭慧媛³

(1. 中国农业大学北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 北京 100083;

2. 中国农业大学教育部功能乳品重点实验室, 北京 100083; 3. 食品质量与安全北京实验室, 北京 100083)

摘要: 干酪是富含蛋白质和钙的高营养价值乳制品,是发达国家的膳食主体,也是乳品科学研究的热点。干酪的质构与风味特征是评价干酪品质的综合指标,改善干酪的质构和风味,并解析其形成机制是干酪研究的重点与难点。本文通过分析原料乳质量、凝乳、成熟、盐渍、拉伸和浓缩工艺,以及低脂和低盐干酪加工技术等环节,全面解析了干酪质构与风味特征的影响因素。本文论述了如调控凝乳方式、利用辅助发酵剂加速干酪特征风味形成、基因修饰技术加速干酪成熟等关键控制技术,并提出了调节钙离子以精准调控凝乳、阐明体细胞对干酪质构和风味的影响等未来干酪科学研究方向,为我国干酪的品质改善和工业化提供参考。

关键词: 干酪; 质构; 风味; 控制技术

中图分类号: TS252.51 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2016)01-0190-12

Advances in Control Technology of Cheese Quality and Texture

Luo Jie¹ Ren Fazheng¹ Wang Ziwei² Guo Huiyuan³

(1. *The Innovation Centre of Food Nutrition and Human Health, China Agricultural University, Beijing 100083, China*

2. *Key Laboratory of Functional Dairy, China Agricultural University, Beijing 100083, China*

3. *Beijing Laboratory of Food Quality and Safety, Beijing 100083, China*)

Abstract: Cheese is a high nutritional dairy product which is rich in protein and calcium. Moreover, cheese is the dietetic mainbody in developed countries, as well as the research hotspot of dairy science. Cheese texture and flavor characteristics are the aggregative indicators of cheese quality. How to improve the texture and flavor of cheese and analyze its forming mechanism are always the emphasis and difficulty of cheese research. By analyzing the steps such as the quality of raw milk, the processing of coagulation, ripening, brining, stretching and concentrating, as well as the processing technology of low fat and low salt cheese, the article comprehensively reveals the key impact factors of the texture and flavor characteristics of cheese. In addition, the article reviews the key mature control technology of cheese processing, such as the regulation of coagulation methods, the use of the adjunct cultures to accelerate the formation of the cheese characteristic flavor, and the genetic modification technology to accelerate the ripening of cheese, etc. Moreover, the article puts forward the research direction of the development of cheese, such as the regulation of calcium to precisely control the curds texture, as well as the effect of somatic cells on the texture and flavor of cheese, and so on. In conclusion, the article aims to provide a reference for quality improvement and industrialization of cheese in China.

Key words: cheese; texture; flavor; control technology

收稿日期: 2015-12-01 修回日期: 2015-12-20

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD12B08)

作者简介: 罗洁(1987—),女,博士后,主要从事乳品加工研究,E-mail: lizyj925@hotmail.com

通信作者: 任发政(1962—),男,教授,博士生导师,主要从事乳品科学与加工研究,E-mail: renfazheng@263.net

引言

干酪是牛乳经凝乳并排出部分乳清而制成的新鲜或发酵成熟的产品。干酪富含钙及蛋白质等营养成分,且经过乳酸菌及酶的作用,蛋白质、脂肪、乳糖等大分子在成熟过程中分解产生如活性多肽等营养物质,并有效缓解了乳糖不耐症,被誉为“奶黄金”^[1]。因此,干酪成为发达国家的膳食主体,提供膳食钙的70%,蛋白质的25%,占发达国家全部乳品消耗量的60%^[2],是乳品工业的核心产品,也是乳品科学研究的热点。

目前,全球有近千种干酪,种类繁多多样,其中干酪的特征质构与风味是区分干酪种类的关键指标^[3];不同的加工工艺与技术形成不同的质构与风味;此外,干酪作为美食也蕴含丰富的文化,是消费者文化消费和嗜好性选择的重要品质指标^[4]。干酪的质构和风味特征是评价干酪品质的综合指标,如何解析干酪质构和风味特征的形成机制,从而改善干酪的质构和风味,成为乳品科学攻克的重点与难点。

随着消费者饮食结构的调整及对干酪营养价值认识的深化,我国的人均干酪消费量也日渐增加。干酪产业被列入国家中长期食品发展规划,来自凯度消费的数据显示,中国干酪消费多年来保持在20%左右的年均增长率^[5],干酪占全部乳制品的比例从2000年的0.2%剧增到2014年的8%,干酪已走进百姓日常饮食中。但是我国干酪产业起步晚,加工技术落后,基础研究缺乏,所生产的干酪品种单一,干酪仍严重依赖进口。本文通过分析原料乳质量、凝乳与成熟工艺等环节,全面解析干酪质构与风味特征的影响因素,阐述成熟的关键控制技术,提出未来干酪科学研究方向,旨在为我国干酪的品质改善和工业化生产提供参考。

1 原料乳质量是干酪质构与风味形成的基础

原料乳的组成随着季节的变化而变化,乳中的脂肪、蛋白质、钙、盐含量及微生物与体细胞数量对干酪凝乳时的凝胶强度、脱水缩合率、得率、质构及风味特征等均影响显著^[6]。

1.1 乳脂肪

乳脂肪以脂肪球的形式分散于酪蛋白形成的凝胶网络中,脂肪含量、粒径及聚集形态都会影响凝胶中的分布状态。一定的脂肪含量有助于乳清的排出,脂肪含量增加后脂肪会阻碍乳清的排放,而脂肪含量过高易发生脂肪上浮,流失于乳清中^[7]。此外,与小脂肪球相比,大脂肪球形成的凝胶网络孔隙

较大^[8-9]。小脂肪球在凝胶网络中以结构填充物的形式存在,由小脂肪球形成的酶凝胶,其弹性模量较大脂肪球的略高,而酸凝胶的弹性模量则随着脂肪球粒径的增加而增加^[10]。在特定的脂肪含量下,小脂肪球在酪蛋白矩阵中产生的孔隙数量较多,具有更高的持水能力和酶含量,因此制得的干酪水分含量较高,熔化性也较好^[11-12],而大脂肪球在凝胶网络中以结构破坏物的形式存在。此外,研究发现脂肪球在凝乳过程中发生聚集,且脂肪球的聚集程度随着脂肪球粒径的增加而显著增加,而凝乳时间也随着牛乳中脂肪球粒径的增加而显著滞后^[13]。另一方面,脂肪含量降低,干酪成熟时蛋白质水解程度也显著降低,同时硬度增加,熔化性及油脂析出性显著降低^[14],这主要与 β -酪蛋白的水解程度有关^[15-16]。此外,用富集大脂肪球的牛乳所做的干酪孔隙大但数量少,成熟过程中游离脂肪酸含量增加显著^[17]。

1.2 乳蛋白

乳蛋白是干酪质构的主要构成物质,其水解产生的氨基酸及小分子物质是风味特征的主要贡献者。原料乳中蛋白质的含量直接决定凝乳凝胶的强度和结构^[18]。蛋白质含量增加导致凝胶形成过程中蛋白质间相互作用增加,从而形成更具弹性的蛋白质网络,干酪得率显著增加^[19],同时显著影响硬度、弹性、熔化性及油脂析出性等^[20]。此外,酪蛋白粒径大小也会影响凝乳时凝胶网络的致密程度和蛋白质与脂肪的分布状态,从而影响干酪的质构^[21-22]。近年来研究报道,蛋白质的组分也会影响凝胶结构,Bonfatti等^[23]发现原料乳中 κ -酪蛋白B型的增加会导致干酪得率的增加。

另外,原料乳中蛋白质和脂肪的比例也影响凝乳时间^[24],并且随着蛋白质与脂肪比例的增加,干酪中水分、蛋白质、钙、磷含量及水分回收率、弹性都显著上升,而非脂固形物中的水分含量、干基中的脂肪含量、盐浓度、脂肪回收率及油脂析出性显著下降^[25-27]。因此,选择合适的蛋白质与脂肪比例对干酪凝胶结构的形成以及干酪质构至关重要。

1.3 体细胞

体细胞是乳中天然存在的物质。正常情况下,牛乳中存在一定数量随泌乳而脱落的上皮细胞以及白细胞;当牛乳房受到感染时,大量免疫细胞进入乳房以消除感染,此时分泌在乳汁中的体细胞数就会增加^[28]。

研究发现,体细胞数增加会导致凝乳时间显著滞后,凝乳速率降低,所形成的凝块的硬度也降低^[29-30]。研究认为这与乳酸菌活性受白细胞产生

的抑菌物质抑制有关。但是矛盾的是,也有研究报道称体细胞中的组织蛋白酶 D 具有与胃蛋白酶类似的酶切作用,随着体细胞数量的增加,组织蛋白酶 D 释放到牛乳中,加速对 κ -酪蛋白的酶切,可以加速酪蛋白巨肽的释放^[31]。因此,体细胞数量对干酪凝乳的影响尚未阐明,可能与体细胞所带的酶的种类及活性密切相关。此外,随着原料乳体细胞数增大,损失于乳清中的脂肪和蛋白质含量随之增大,凝块的含水量也增加^[32-33]。

体细胞对干酪风味特征的影响主要体现在以下几方面:①体细胞通过提高乳中血纤维蛋白溶酶、脂酶等酶活性及释放自身的胞内酶^[29],增加干酪体系中酶的浓度,影响成熟过程中的蛋白质、脂肪水解水平^[34],从而改变最终干酪中的风味物质浓度^[35-36]。研究表明,体细胞数量增加导致苦味肽含量的增加是干酪产生异味的原因之一^[37]。②体细胞改变干酪的微环境,如抑制微生物活性、改变水分等成分的含量等。③体细胞改变干酪的终产品水分含量进而改变干酪体系的极性,从而影响风味物质的感知,改变干酪风味特征^[38]。

1.4 微生物

原料乳中存在致病菌、霉菌、酵母菌、乳酸菌、嗜冷菌、芽孢、孢子等微生物,这些微生物在运输和储藏过程中发生增殖进而影响干酪品质。包括致病菌在内的微生物一般能通过热杀菌的方式来控制,但嗜冷菌能在温度接近 0℃ 时生长,且其产生的耐热性酶即使在牛乳进行热处理后仍然存在活性,这些微生物及酶在成熟过程中通过影响蛋白质水解而影响干酪的质构和风味^[39]。

此外,在以美国为主的一些国家,消费者喜欢由未灭菌原料乳制作的干酪,认为其具有更丰富的风味和口感。但是由于未经灭菌,干酪的安全性存在一定风险。从 1949 年开始,美国及加拿大都规定未经巴氏杀菌的牛乳所制作的软质及半软质干酪在跨州(省)销售前必须储存 60 d 以上^[40]。但是,研究表明只延长储藏期不足以完全除去干酪中李斯特菌、沙门氏菌及大肠杆菌等致病菌^[41]。近年来,欧盟国家出于卫生角度,考虑禁止未灭菌干酪的生产,要求所有原料乳进行强制巴氏灭菌^[42]。2015 年 7 月,美国食品药品监督管理局联合加拿大宣布重新对未灭菌干酪进行健康风险评估。因此,用未灭菌原料乳生产的干酪的质构与风味存在多样性与可变性,其安全性有待进一步评估。

2 凝乳是决定干酪特征质构的关键步骤

凝乳是酪蛋白胶束在酶、酸或热诱导的作用下

交联形成凝乳凝胶的网状结构,进而影响干酪的特征质构^[18]。凝乳被认为是干酪生产的第一步,也是最重要的一步。

2.1 凝乳方式

依据凝乳过程中酪蛋白胶束稳定性破坏的原理不同,酪蛋白聚集凝乳可分为酸化诱导形成的酸凝乳、凝乳酶作用诱导形成的酶凝乳,以及酸化与凝乳酶共同作用诱导形成的酸酶共促凝乳,如图 1 所示。

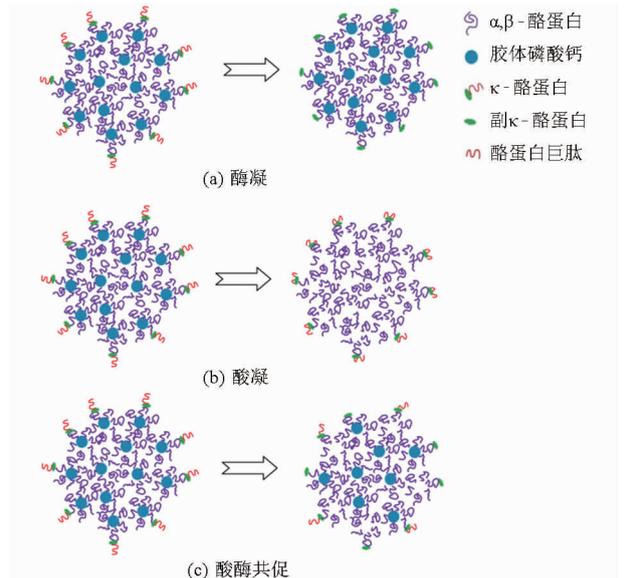


图 1 凝乳机制示意图

Fig. 1 Diagrams of milk gelation mechanism

2.1.1 酶凝乳

酶凝乳原理如图 1a 所示,酪蛋白胶束通过表面带负电荷的毛发层产生空间位阻作用,使得胶束结构得以稳定存在,而凝乳酶通过特异性地水解 κ -酪蛋白肽链的 Phe105 和 Met106 之间的肽键,释放含亲水 C 端的酪蛋白巨肽,降低了胶束的稳定性,使凝块形成^[43-44]。

凝乳酶对凝胶速率、凝块得率以及成熟期质构和风味的形成均有重要影响,高效的凝乳酶应具有高凝乳活性和低非特异蛋白水解活性^[45]。凝乳酶按来源不同,可分为动物源凝乳酶、植物源凝乳酶和微生物源凝乳酶,其中动物源小牛皱胃酶的应用最为广泛。

2.1.2 酸凝乳

酸凝乳机理是利用微生物发酵或添加食用酸使原料乳 pH 值下降从而诱导酪蛋白胶束聚集(图 1b),这也是我国牧区主要采用的干酪凝乳形式。由于缺乏酶类,其成熟过程中蛋白质的降解不够彻底,不利于其风味的形成,因此常应用于无需过长成熟期的新鲜干酪的生产中,如农家干酪就是典型的酸凝干酪。酸凝胶的质构较酶凝胶脆弱,预热温度、酸化温度和时间等都会影响酸凝胶型干酪的流变学特性和

质构特征^[46]。近年来有学者将转谷氨酰胺酶作为蛋白固化剂,通过限制凝乳初始阶段的蛋白网络重排,降低乳清排出量,从而增加酸凝胶的硬度,改善酸凝胶质构^[47]。

2.1.3 酸酶共促凝乳

酸酶共促凝乳方式被广泛地应用于传统的酸凝型夸克干酪、奶油干酪等的生产中^[48]。在牛乳酸化至一定 pH 值时,加入少量凝乳酶,使酸化与凝乳酶共同作用诱导凝乳形成,即酸酶共促凝乳(图 1c)。Liu 等^[49]通过构建量化的酸与凝乳酶作用理想模型,比较了不同酸化与酶解凝乳的流变与结构学性质,将酸酶共促凝乳分为酸凝型凝胶、酶凝型凝胶及酸破坏型酶凝胶;并发现通过调节酸化剂与凝乳酶浓度,结合不同的原料配比,可实现干酪特定凝乳质构的控制^[49]。

2.2 凝乳条件

凝乳前的灭菌温度、凝乳温度、凝乳及排乳清时的 pH 值、凝乳酶添加量、钙离子含量及排乳清的程度均显著影响凝胶的质构,其中影响牛乳凝时间的主要因素如图 2 所示。首先,高温处理会引起乳清蛋白的变性,变性的乳清蛋白和酪蛋白之间会发生相互作用,从而改变凝块结构,增加凝乳时间和凝块含水量,降低凝块强度^[50]。其次,凝乳的温度和 pH 值都会影响凝乳酶的活性,从而影响干酪的凝胶质构特性。由于疏水作用对温度敏感,因此改变凝乳温度可能会改变酪蛋白的疏水作用,进而影响凝胶的强弱^[51]。此外,随着凝乳酶含量的增加,蛋白水解程度增强,干酪质构变软,苦味程度也增强^[52-53]。

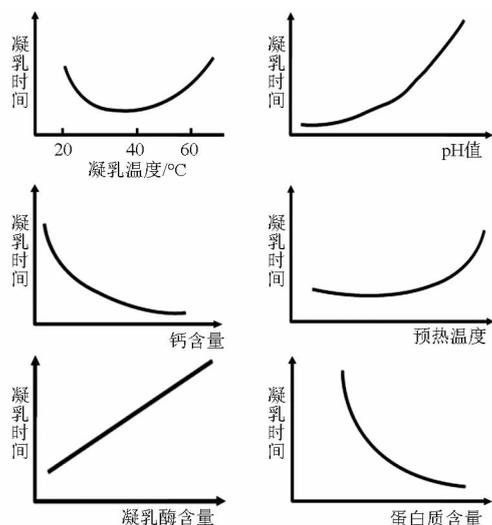


图 2 影响牛乳酶凝乳时间的主要因素

Fig. 2 Principal factors affecting rennet coagulation time of milk

2.2.1 酸化条件

凝乳 pH 值的调控主要利用微生物发酵或直接

酸化法降低原料乳的 pH 值。

干酪发酵剂可分为细菌发酵剂和霉菌发酵剂。霉菌发酵剂一般用于一些特殊品种干酪的生产,而含乳酸菌的发酵剂是绝大多数干酪生产工艺的必要条件。乳酸菌在干酪生产中的作用主要是^[54]:①酸化,通过将牛乳中的乳糖分解为乳酸,创造低酸度的环境,促进酪蛋白凝块脱水,排除乳清;此外,酸化还能提高凝乳酶的凝乳活力,并抑制包括致病菌在内的其它有害微生物的生长。②产胞外多糖,增加干酪持水率。③水解蛋白质,形成干酪的特定质构及风味。干酪发酵剂应选择发酵能力强,产酸较快,有适当蛋白质水解性的菌株,以形成具有良好品质的干酪^[55]。另外,不同种类的干酪需根据其工艺特点对发酵剂进行特异性选择,如 Mozzarella 干酪由于其特殊的热水拉伸工艺,需选择嗜热发酵剂,此发酵剂在高温下仍能维持一定活力^[56]。此外,干酪中存在除了发酵剂以外的微生物,统称为次级发酵剂^[57],主要作用于干酪成熟过程。

发酵剂对凝乳的影响主要与产酸速率相关。产酸弱的发酵剂会延长凝乳及排乳清时间,延长生产周期,而产酸过快会导致酪蛋白形成的凝块松软,持水率低,从而降低干酪产率,并影响成熟时干酪 pH 值,进而影响干酪的风味^[58]。此外研究表明,发酵剂对乳糖的不完全发酵所产生的半乳糖的积累是导致干酪褐变的主要原因^[59]。另外,不同发酵剂所产的胞外多糖对干酪的持水率也有显著影响^[60]。

2.2.2 钙离子浓度

钙在乳中以螯合钙(胶体磷酸钙)和游离钙两种形式存在。在干酪加工工艺中,一般采用直接添加钙离子、调节 pH 值以溶解胶体磷酸钙或添加盐离子螯合胶体磷酸钙等方法以降低或补充钙离子。

凝乳时添加钙离子对干酪的质构特征影响显著。有研究认为,在影响 Mozzarella 干酪熔化性和流动性的因素中,钙离子的作用超过 50%^[61]。随着钙离子含量的增加,凝乳时间缩短,凝胶硬度增加^[62],而干酪的熔化性和黏性下降^[63]。通过共聚焦显微镜对凝乳微观结构观察发现,由于添加钙离子后牛奶迅速凝固,细小的蛋白颗粒不能向聚集点靠近,因而酪蛋白胶束细小,连接较弱,这可能是添加钙离子造成 Mozzarella 干酪拉伸效果较差的原因^[64]。但过高的钙离子含量会导致凝乳时间增加^[65]。相反,降低钙离子含量使制得的干酪质构较软,弹性和粘性模量降低,而熔化性和拉伸性增加^[63, 66]。在酸处理条件下,胶体磷酸钙溶解,酪蛋白胶束交联减弱而暴露的磷酸丝氨酸残基间斥力上升,导致酪蛋白胶束发生絮凝,形成较弱的凝胶结

构^[67]。综上,钙离子浓度对酪蛋白胶束结构及凝胶结构的形成至关重要。

2.2.3 排乳清条件

凝乳形成的凝块在切割或搅拌等机械破坏下脱水缩合,排出乳清。凝乳的切割时间一般由凝块 pH 值来判定,在一定范围内随着切割时间的滞后,凝乳硬度相应增加,干酪水分含量及产率也相对增加^[68]。通过控制脱水缩合的程度可以控制干酪的水分含量,进而影响干酪成熟时的速率、程度和稳定性(水分含量越高,干酪成熟得越快,但稳定性下降)^[69]。此外,凝块排出大部分乳清后需要进行堆叠,堆叠过程中乳酸菌利用凝乳中残留的乳糖发酵产酸,造成凝胶的蛋白质网络收缩,也是为了乳清排出。当凝块经过排乳清达到一定水分含量及预设的 pH 值时,凝块与乳清发生分离,放置在特定的模型中铸型后,进一步排出乳清。对半硬质及硬质干酪来说,如 Cheddar 干酪,铸型通常是采用压榨法,即将干酪凝块均匀地放在模具中,用压板或干酪压榨机把凝块颗粒压制成型以使凝块中的乳清进一步排出。压榨时间、压榨温度及压榨压强对干酪的组分、质构特性、流变特性和微观结构均有显著影响^[70]。

乳清排出的程度主要受以下因素的影响:①凝块切割的大小。凝块越小,乳清排出量越大,且凝块大小与干酪的得率呈正相关^[71]。②在一定范围内,

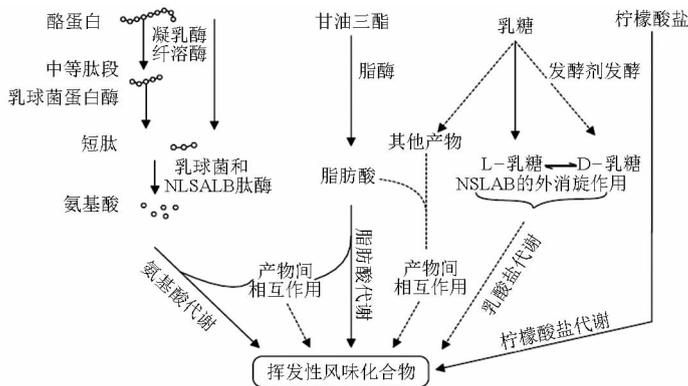


图3 干酪成熟过程中的生化反应

Fig. 3 General overview of biochemical pathways which operate in cheese during ripening

在成熟过程中,蛋白质首先降解成肽段,然后在微生物酶的作用下产生游离氨基酸。游离氨基酸本身就是重要的风味化合物,如精氨酸与苦味有关,而脯氨酸、丝氨酸、天冬酰胺则与干酪的甜味相关^[77]。接着,氨基酸经过转氨、脱氢、脱羧基等作用进一步降解,产生风味化合物,如苯甲酸、苯乙醇、甲硫醇、3-甲基丁醛等^[78]。干酪的脂肪主要由甘油三酯构成,成熟过程中,甘油三酯在脂酶的作用下水解产生甘油二酯、单甘酯、甘油以及游离脂肪酸。其中游离

排乳清时的 pH 值与乳清排出量呈负相关^[72]。③在一定范围内,钙离子浓度与乳清排出量正相关^[73]。④在一定范围内,蒸煮温度与乳清排出量正相关。⑤搅拌速度。降低切割时的凝块强度和增加干酪加工中的搅拌速度都会打碎完整凝块,使得乳清中小凝块碎末和脂肪的损失增加^[74]。⑥在一定的蛋白质浓度下,脂肪会阻碍凝块的脱水缩合,但如果蛋白质含量过高,则会导致凝块过硬而无法收缩^[75]。

3 成熟是形成干酪特征风味和调控质构的关键步骤

干酪成熟是指在一定条件下干酪主要乳成分(如脂肪、蛋白质及碳水化合物等)在微生物和酶的作用下分解并发生某些生化反应,从而形成干酪特有风味、质构和组织状态的过程。干酪成熟过程中质构及风味的变化主要受干酪成分、干酪中微生物及酶的活性、成熟环境的共同影响。

3.1 风味形成

干酪风味的形成是一个复杂且动态变化的过程,主要包括蛋白质水解和氨基酸代谢、脂肪分解和游离脂肪酸代谢、残存乳糖酵解和乳酸盐代谢等,主要过程如图3所示^[76]。这些初级生化反应与多种次级反应共同作用,使干酪在成熟过程中得以形成适宜的风味和质构。

脂肪酸是风味和芳香化合物的前体物质,代谢后可生成甲基酮、内酯和酯类等风味化合物^[79]。原料乳中约98%的乳糖在排乳清时排出,而残留的乳糖在干酪成熟过程中在发酵剂等微生物的作用下代谢成乳酸,另一部分转化成丁二酮、3-羟基-2-丁酮、乙醛和乙酸等风味化合物,这些物质参与形成酸味的特征风味^[80]。

3.2 质构变化

干酪成熟过程中的质构变化也受微生物学、生

物化学及糖酵解、脂解和蛋白质水解等代谢过程共同作用的影响^[81]。

由于干酪凝胶的主要构成物是酪蛋白胶束,因此干酪成熟过程中的质构变化主要由蛋白质水解引起,具体分为 2 个阶段:首先在成熟初期的 7~14 d,约 20% 的 α_{s1} -酪蛋白被凝乳酶水解成 α_{s1} -I-酪蛋白片段^[82],酪蛋白凝胶网络软化,从新鲜干酪的橡胶性质构软化成更加均一的质构,同时黏性增强^[83]。第 2 阶段,残存的 α_{s1} -酪蛋白和其它酪蛋白不断发生水解,干酪质构发生细微调整,这一阶段主要受蛋白质水解速率及酶浓度(残存凝乳酶和纤溶酶的比例、微生物和次级微生物释放的胞内酶)的影响,盐浓度、pH 值等因素也发挥一定作用^[83]。影响干酪成熟过程中质构形成的主要因素如图 4^[83]所示。

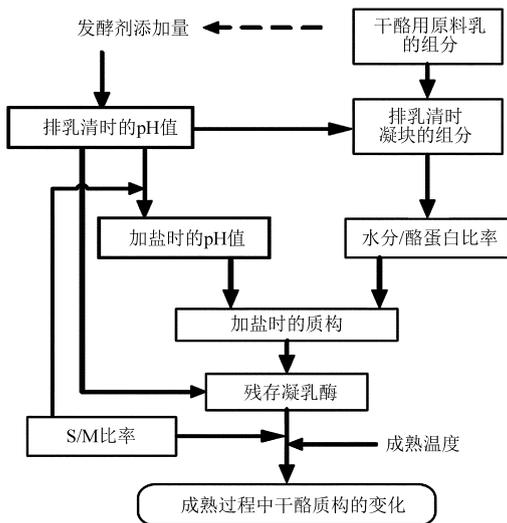


图 4 影响干酪成熟过程中质构形成的主要因素
Fig. 4 Main factors that determine change in texture during ripening

3.3 辅助发酵剂加速特定风味物质的生成

干酪加工中添加的微生物主要为乳酸菌,分为发酵剂乳酸菌和非发酵剂乳酸菌两类。非发酵剂乳酸菌在干酪生产过程中对产酸和凝乳贡献不大,但在成熟过程中对干酪风味的形成以及质构的变化都有重要的影响。因此,它们常被作为辅助发酵剂应用于干酪生产中以提高干酪的品质或加快干酪成熟^[84]。

研究表明,非发酵剂乳酸菌对形成干酪的风味多样性必不可少^[85-86]。非发酵剂乳酸菌主要通过增加相关酶(如蛋白酶 PepS16, 氨肽酶 PepA 和 MAP 等)的浓度加速蛋白质和脂质的代谢从而加速典型风味的形成,同时去除非典型风味物质^[87-88]。其中,嗜温乳酸菌是非发酵剂乳酸菌中对风味贡献最大的成分^[86]。宋君红等^[89]通过定量描述分析发现

78% 的消费者偏爱坚果风味,并在利用气相嗅闻仪(GC-O)发现 3-甲基丁醛为特征物质后,筛选支链氨基酸转移酶 *Lactobacillus rhamnosus* T8 作为辅助发酵剂,使干酪坚果特征风味增强了 2.26 倍。但也有学者认为,添加非发酵剂乳酸菌有可能会分解乳糖导致过度酸化,导致增加乳清排出,从而影响干酪的得率、流变学性质和感官接受度,尤其对长成熟期较长的干酪脂解有一定影响^[90]。加热、高压等处理方法使非发酵剂乳酸菌不能产酸但保留其二级水解和脂类代谢的酶水解作用是改善这一缺陷的必要手段^[90]。另外,益生菌由于具益生功能,因此也被添加至干酪制作中,并被认为能改善干酪的感官特性^[91]。益生菌生长的最适 pH 值与干酪的 pH 值范围(4.8~5.6)接近,菌株能旺盛生长,但由于干酪的储藏期长,因此其在货架期后段的存活能力是益生菌在干酪中应用的难点,选择合适的菌株和微胶囊化方式添加是益生菌干酪发展的重点方向^[92]。

3.4 加速干酪成熟技术

成熟过程中的干酪组要在恒温(0~4℃)、恒湿(80%~90%)的条件下贮存 2~24 个月。长时间贮存导致干酪的生产成本与硬件建设费用极大增加。每吨干酪成熟的储存成本约为 40 元/d。尤其对低水分而成熟期长的干酪(如 Cheddar、Gouda 干酪等)而言,加速干酪成熟不仅具有经济效益,也能减少长成熟期带来的风险。因此,如何在保持干酪风味和质构不受影响的情况下加速干酪的成熟成为研究领域的热点之一。

加速干酪成熟的方法主要包括 6 类^[93-94]:①提高成熟温度,可增加蛋白质分解和脂肪分解,但可能导致脂肪溶出和微生物繁殖从而导致产品缺陷。②高压处理,高压通过增加干酪持水力,释放微生物酶并增加酶活以加快干酪成熟,但其缺点在于对不同种类干酪的效果不一,商业化应用较难实现。此外,有研究表明,高压处理制得的干酪存在弹性上升,易脆性下降等缺陷^[95]。③加入外源酶,如蛋白酶和脂酶,但其稳定性、可利用性及添加方法一直是技术难题。④压榨前加入干酪浆/高水分干酪(含有细菌、酶和协同因子)。⑤加入非发酵剂乳酸菌株等辅助发酵剂,此方法已得到广泛的商业运用,其中,筛选合适的菌株是最关键的技术难题。⑥基因修饰菌株,指采用物理、化学或基因修饰等方法,使乳酸菌不能正常生长,同时仍能保留其蛋白酶和肽酶水解活力。该方法被认为是控制成熟过程中风味产生的最佳手段。隋欣等^[96]通过热激修饰瑞士乳杆菌(*Lactobacillus helveticus*) 6024,增加干酪次级蛋白质水解水平,使成熟 2 个月的干酪可达对照组 3 个月

时的质构和风味特性。

4 其他控制工艺与技术

4.1 盐渍工艺对干酪风味贡献显著

盐腌是干酪制作工艺的关键步骤,不仅直接影响干酪的风味,也影响干酪成熟过程中的水分活度、微生物和酶活力及蛋白质的水解和持水能力等。加盐对干酪凝块质构的影响主要有两方面:钠离子置换钙离子,使得酪蛋白胶束的胶体磷酸钙溶解;引起酪蛋白胶束膨胀,改变酪蛋白胶束间的相互作用力^[97]。

干酪的加盐方式主要有3种^[97]:①干盐法,即直接向切碎的凝块中拌撒干盐。②表面涂盐法,即将盐粒或盐液涂抹于干酪凝块表面,但易造成盐分散不均、表面浓度差异太大的问题。③盐水盐渍法,将干酪凝块浸没在一定浓度的盐水中进行盐渍。盐水盐渍法容易引起干酪表面潮湿、黏滑的表面缺陷,通常采用补充钙离子的方法改善。研究发现,盐水盐渍过程中钙离子会阻碍钠离子向内扩散,减少酪蛋白的结合水含量,从而降低干酪表面塌陷的发生率^[98]。此外,Mozzarella干酪等拉伸型干酪还存在向热烫拉伸水中加盐的方式。不同加盐方式对干酪的水分含量、质构特性和功能特性影响显著^[99-100]。盐渍时间、温度、盐渍时凝块的pH值、盐渍前凝块的盐浓度及水分含量等均影响盐渍时的扩散速率^[101]。

4.2 拉伸工艺赋予干酪独特的质构特征

Mozzarella干酪是Pasta Filata拉伸凝乳干酪中的重要成员,作为比萨饼的专用干酪而闻名于世。由于Pasta Filata干酪生产过程中需将鲜凝乳在热水中揉捏处理,使其具有独特的可塑性,同时赋予成品干酪特有的纤维结构、熔化性和拉伸性^[102]。干酪拉伸前后的蛋白质纤维方向变化如图5所示。拉伸前凝块的酪蛋白胶束处于混乱无序状态,而经过拉伸后的酪蛋白胶束形成具有固定方向的纤维结构。

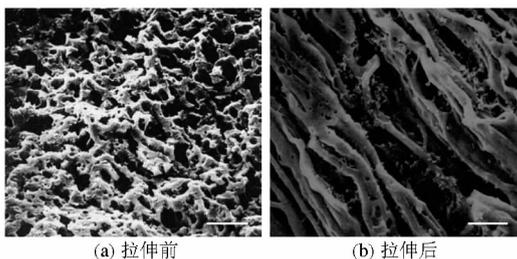


图5 拉伸前后凝块微观结构扫描电镜照片

Fig.5 Microstructure changes of curd before and after stretching using scanning electron microscope

干酪的热烫拉伸过程是一个复杂的由无序到有序的过程,拉伸温度、机械剪切处理为酪蛋白胶束形成固定方向的纤维结构提供能量。热烫拉伸通常需要在热水(55~90℃)中进行,拉伸温度影响酪蛋白网络的分布状态^[103],同时可能影响干酪成熟时发酵剂菌株及凝乳酶的活性^[104]。较高的拉伸温度能促进副酪蛋白以更多的疏水键交联,并影响酪蛋白与胶体磷酸钙的交联程度,从而使干酪形成更具弹性、致密的结构^[103]。另外,机械剪切拉伸的强度越强,所形成的干酪结构越致密。

此外,在热烫拉伸过程添加盐以置换钙离子,可增强酪蛋白亲水性并改善干酪的质构^[100]。另有研究表明,在Mozzarella干酪热烫拉伸过程中添加3%的柠檬酸钠,能削弱酪蛋白间的相互作用,显著改善干酪的熔化性^[105]。

4.3 浓缩工艺增强干酪特征风味

乳清是干酪生产的副产物,生产1L干酪能够产生9L乳清,因而充分利用乳清进行深加工具有良好的经济效益和产业价值^[106]。乳清干酪加工工艺的关键步骤为浓缩乳清超滤,以除去多余水分,改善干酪风味与质构。浓缩工艺多采用超滤浓缩技术,能截留乳清中的蛋白质、脂肪及矿物质,同时除盐、杀菌,延长干酪保质期。此外闪蒸也是浓缩的常用手段,而高温加热过程中会发生焦糖化和美拉德反应,增强干酪特征风味。但研究显示,当乳清总固形物浓缩过度时会导致制得的乳清干酪产生异味,质地粗糙^[107]。

4.4 低脂、低盐干酪质构与风味的改善技术

4.4.1 低脂干酪加工技术

随着人们健康意识的增强,消费者对低脂食品的需求不断增长,低脂干酪的市场也随之扩大。但是,低脂干酪由于脂肪含量降低,因而干酪的得率及其功能特性大受影响,易出现质构过硬、易破裂、难以咀嚼等质构缺陷^[108]。另外,减脂干酪为了达到全脂干酪的质构,通常会提高干酪的水分含量。因此,减脂干酪类似极性体系而全脂干酪类似非极性体系。由于大多数的风味物质为非极性,因而脂肪在干酪体系中扮演着携带风味物质的角色。因此,干酪的体系改变会影响风味物质的分配系数,从而影响其释放,改变其阈值^[109]。如低脂Cheddar干酪被发现缺少黄油味、奶油味或焦糖味,而易出现肉汤味^[110]。因此,如何改善低脂干酪的品质成为近来干酪领域的研究热点。

目前,改善低脂干酪品质的方法主要包括:①改进干酪生产工艺,如增加凝乳酶含量、降低热烫拉伸温度^[111]等,Hu等^[112]采用在添加凝乳酶的同时添

加谷氨酰胺转氨酶的方法,显著提高了低脂干酪的蛋白质和脂肪回收率(分别增加 7% 和 12%)。②使用辅助发酵剂,促进成熟过程中蛋白质的水解,改善低脂干酪的品质缺陷^[113]。③使用脂肪替代物。脂肪替代物分为脂肪替代品和脂肪模拟物。脂肪替代品包括以脂肪为基质的油脂和合成的大分子,在一定程度上能模拟脂肪分子的口感和风味,但消费者接受程度较低^[114]。脂肪模拟物主要是天然蛋白质和碳水化合物的衍生物,它们通过结合多余的水分改善低脂干酪的质构,提高干酪得率,同时能够替代脂肪填充在酪蛋白凝胶网络中,降低酪蛋白胶束的致密程度,从而进一步改善干酪的质构^[114]。其中,多糖是应用最广泛的脂肪模拟物,燕麦 β -葡聚糖浓缩物、黄耆胶、瓜尔豆胶、卡拉胶和果胶都被报道能改善低脂干酪品质,模拟全脂干酪的质构^[115-118]。

4.4.2 低盐干酪加工技术

盐浓度会显著影响干酪的水分含量和融化性等特性^[101]。根据世界卫生组织的推荐,健康成人的每日钠盐推荐摄入量需低于 2.4 g 钠,或低于 6 g 氯化钠^[119]。天然干酪中的钠含量约为 1.5 g/100 g(干酪),除高盐的 Feta 或 Domiati 干酪(约 4 g/100 g)外,即使摄入大量的干酪,所摄入的氯化钠含量也非常有限。尽管这样,国外的奶酪厂商们也为特定人群开发了低盐干酪。但低盐干酪通常存在过酸、过苦的风味缺陷,且伴随着由于过度蛋白水解引起的较软和黏糊的质构问题^[97]。因此,目前通常采用添加氯化钾的方法替换一部分(25%~40%)钠盐^[120]。也有文献报道显示,过高浓度的钾盐(质量分数大于 1%)会导致干酪产生苦味,有研究提出通过补充少量风味调节剂肌苷酸二钠来缓解这一问题^[121]。最新研究报道称,采用超滤原料乳和高压处理的方法也能缓解由于低钠离子浓度导致的干酪风味和质构缺陷^[122]。

5 研究展望

5.1 调节钙离子浓度以实现凝乳质构的精准控制

凝块质构是干酪质构的基础。目前的研究多围绕原料乳成分及凝乳条件展开,对钙离子在凝乳过程中的调控作用研究较少。未来可以通过研究钙离

子在凝乳两个阶段的溶解性和有效浓度变化情况,阐明钙离子浓度与凝块结构的构效关系,实现对凝乳质构的精准控制。

5.2 利用附属发酵剂开发满足消费者风味喜好的干酪

我国的人均干酪消费量与发达国家相比差距巨大,且主要以西餐厅和快餐厅中的消费为主。干酪没有被中国消费者广泛接受的很大原因是其风味不符合中国人的传统饮食习惯与口味。因此,开发适合中国人风味喜好的干酪是解决国内干酪消费的关键之一。筛选特定的非发酵剂乳酸菌以加速典型风味的形成,是研发符合消费者喜好风味特征干酪的技术方向。

5.3 基因修饰菌株技术加速成熟

在保持干酪风味和质构特征不受影响的情况下加速干酪成熟不仅具有经济效益,也能减少长成熟期带来的风险。基因修饰菌株是加速成熟的最有效方法,但目前工业化生产中还未广泛应用。筛选合适的菌株及修饰等方法未来加速成熟技术研究的

5.4 细化研究体细胞对干酪质构和风味的影响

体细胞数是表征牛乳感染乳房炎的重要指标,欧盟标准原料乳中体细胞数不得超过 40 万个/mL,而我国目前对原料乳中的体细胞数还没有相关规定。体细胞的数量会导致乳中酶含量及活性的变化,而酶的含量及活性对干酪成熟过程中蛋白质与脂肪的水解影响至关重要。但是现有研究未对体细胞的来源及酶组成进行分类,因此得到的研究结果结论不一。未来可以通过细化体细胞来源、酶的种类、活性,以研究其对干酪质构和风味的影响。

6 结束语

干酪的质构和风味特征是评价干酪品质的综合指标,通过全面解析影响干酪质构与风味特征的因素可知,凝乳和成熟是影响干酪质构和风味的决定性步骤,原料乳质量、盐渍与拉伸、浓缩等工艺对质构的形成和风味的产生具有显著影响。干酪特征质构与风味的控制技术研究对我国干酪的品质提升和工业化生产意义重大。

参 考 文 献

- 1 Walther B, Schmid A, Sieber R, et al. Cheese in nutrition and health [J]. Dairy Science and Technology, 2008, 88(4-5): 389-405.
- 2 中国奶业年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2014.
- 3 Johnson M, Lucey J. Major technological advances and trends in cheese [J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(4): 1174-1178.

- 4 Everett D W, Auty M A. Cheese structure and current methods of analysis [J]. *International Dairy Journal*, 2008, 18(7): 759 – 773.
- 5 何丹琳. 奶酪在中国的好时光来了 [EB/OL]. 2015 – 11 – 09. <http://www.jiemian.com/corticle432044.html>.
- 6 Fox P. *Fundamentals of cheese science* [M]. London: Springer Science & Business Media, 2000.
- 7 Rudan M A, Barbano D M, Kindstedt P S. Effect of fat replacer on chemical composition, proteolysis, functionality, appearance, and yield of reduced fat Mozzarella cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 1998, 81(8): 2077 – 2088.
- 8 Michalski M C, Michel F, Sainmont D, et al. Apparent ζ -potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2002, 23(1): 23 – 30.
- 9 Michalski M C, Camier B, Gassi J Y, et al. Functionality of smaller vs control native milk fat globules in Emmental cheeses manufactured with adapted technologies [J]. *Food Research International*, 2007, 40(1): 191 – 202.
- 10 Michalski M, Cariou R, Michel F, et al. Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels [J]. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85(10): 2451 – 2461.
- 11 Fauquant C, Briard-Bion V, Leconte N, et al. Membrane phospholipids and sterols in microfiltered milk fat globules [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2007, 109(12): 1167 – 1173.
- 12 Briard V, Leconte N, Michel F, et al. The fatty acid composition of small and large naturally occurring milk fat globules [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2003, 105(11): 677 – 682.
- 13 罗洁. 乳脂肪球的聚集特性与机制研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- 14 Mistry V V. Low fat cheese technology [J]. *International Dairy Journal*, 2001, 11(4): 413 – 422.
- 15 van Hekken D, Park Y, Tunick M. Effects of reducing fat content on the proteolytic and rheological properties of Cheddar-like caprine milk cheese [J]. *Small Ruminant Research*, 2013, 110(1): 46 – 51.
- 16 Bogenrief D D, Olson N F. Hydrolysis of beta-casein increases Cheddar cheese meltability [J]. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 1995, 50(12): 678 – 682.
- 17 O'mahony J A, Auty M A E, Mcsweeney P L H. The manufacture of miniature Cheddar-type cheeses from milks with different fat globule size distributions [J]. *Journal of Dairy Research*, 2005, 72(3): 338 – 348.
- 18 Lucey J. Formation and physical properties of milk protein gels [J]. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85(2): 281 – 294.
- 19 Guinee T, O'kennedy B, Kelly P. Effect of milk protein standardization using different methods on the composition and yields of Cheddar cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89(2): 468 – 482.
- 20 Posthumus G, Booy C, Klijn C. The relation between the protein content of milk and cheese yield [J]. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 1964, 18: 155 – 164.
- 21 Logan A, Leis A, Day L, et al. Rennet gelation properties of milk: influence of natural variation in milk fat globule size and casein micelle size [J]. *International Dairy Journal*, 2015, 46: 71 – 77.
- 22 Logan A, Day L, Pin A, et al. Interactive effects of milk fat globule and casein micelle size on the renneting properties of milk [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2014, 7(11): 3175 – 3185.
- 23 Bonfatti V, Cecchinato A, Di Martino G, et al. Effect of κ -casein B relative content in bulk milk κ -casein on Montasio, Asiago, and Caciotta cheese yield using milk of similar protein composition [J]. *Journal of Dairy Science*, 2011, 94(2): 602 – 613.
- 24 Sturaro A, De Marchi M, Zorzi E, et al. Effect of microparticulated whey protein concentration and protein-to-fat ratio on Caciotta cheese yield and composition [J]. *International Dairy Journal*, 2015, 48: 46 – 52.
- 25 Guinee T, Mulholland E, Kelly J, et al. Effect of protein-to-fat ratio of milk on the composition, manufacturing efficiency, and yield of Cheddar cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(1): 110 – 123.
- 26 Sundar R, Upadhyay K. Effects of standardization of buffalo milk for casein/fat ratio on Mozzarella cheese composition and cheese making efficiency [J]. *Indian Journal of Dairy Science*, 1990, 43(4): 588 – 597.
- 27 任星环, 任发政, 雷蕾. 原料乳中蛋白质与脂肪比例对 Mozzarella 干酪品质的影响 [J]. *中国乳品工业*, 2004, 32(5): 16 – 19.
Ren X H, Ren F Z, Lei L. Effect of ration of protein to fat in raw milk on quality of Mozzarella cheese [J]. *China Dairy Industry*, 2004, 32(5): 16 – 19. (in Chinese)
- 28 陈树兴, 赵胜娟, 石宝霞, 等. 体细胞数对半硬质山羊奶干酪品质影响的研究 [J]. *食品科学*, 2008, 29(2): 54 – 58.
Chen S X, Zhao S J, Shi B X, et al. Study on effects of somatic cell count on properties of semi-hard goat cheese [J]. *Food Science*, 2008, 29(2): 54 – 58. (in Chinese)
- 29 Mazal G, Vianna P, Santos M, et al. Effect of somatic cell count on Prato cheese composition [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(2): 630 – 636.
- 30 Politis I, Ng-Kwai-Hang K. Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulating properties of milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 1988, 71(7): 1740 – 1746.
- 31 Kaminogawa S, Mizobuchi H, Yamauchi K. Comparison of bovine milk protease with plasmin [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1972, 36(12): 2163 – 2167.
- 32 Cooney S, Tiernan D, Joyce P, et al. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type cheese [J]. *Journal of Dairy Research*, 2000, 67(2): 301 – 307.

- 33 Barbano D, Rasmussen R, Lynch J. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield [J]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(2): 369–388.
- 34 Larsen L B, Mcsweeney P, Hayes M, et al. Variation in activity and heterogeneity of bovine milk proteases with stage of lactation and somatic cell count [J]. *International Dairy Journal*, 2006, 16(1): 1–8.
- 35 Bansal B K, Hamann J, Grabowski N T, et al. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis [J]. *Journal of Dairy Research*, 2005, 72(12): 144–152.
- 36 Rogers S, Mitchell G. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. VI: Cheddar cheese and skim milk yoghurt [J]. *Australian Journal of Dairy Technology*, 1994, 49(2): 70–74.
- 37 Kelly A. Effect of plasmin and somatic cell enzymes on proteolysis in aseptic starter and rennet free model cheeses [J]. *Milchwissenschaft*, 1999, 54(5): 249–252.
- 38 Grandison A S, Ford G D. Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of Cheddar cheese [J]. *Journal of Dairy Research*, 1986, 53(4): 645–655.
- 39 Sørhaug T, Stepaniak L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1997, 8(2): 35–41.
- 40 Beuvoir E, Buchin S. Raw milk cheeses [J]. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2004(1): 319–345.
- 41 Altekruze S F, Timbo B, Mowbray J C, et al. Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: sanitary manufacturing practices protect consumers [J]. *Journal of Food Protection*, 1998, 61(10): 1405–1407.
- 42 Szabolcs E. Evaluating the benefits and risks of organic raw milk cheese. Challenges in the production of organic cheeses mad from raw milk [D]. Aarhus: Aarhus University, 2014.
- 43 Dalgleish D G. Proteolysis and aggregation of casein micelles treated with immobilized or soluble chymosin [J]. *Journal of Dairy Research*, 1979, 46(4): 653–661.
- 44 Jacob M, Jaros D, Rohm H. Recent advances in milk clotting enzymes [J]. *International Journal of Dairy Technology*, 2011, 64(1): 14–33.
- 45 Kumar A, Grover S, Sharma J, et al. Chymosin and other milk coagulants: sources and biotechnological interventions [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2010, 30(4): 243–258.
- 46 Lucey J, Singh H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review [J]. *Food Research International*, 1997, 30(7): 529–542.
- 47 Ercili-Cura D, Lille M, Legland D, et al. Structural mechanisms leading to improved water retention in acid milk gels by use of transglutaminase [J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 30(1): 419–427.
- 48 陈娜, 刘显庭, 丁庆波, 等. 凝乳方式对奶油干酪品质的影响 [J]. *农业工程学报*, 2013, 29(2): 287–291.
Chen N, Liu X T, Ding Q B, et al. Effects of coagulation methods on quality of cream cheese [J]. *Transactions of the CSAE*, 2013, 29(2): 287–291. (in Chinese)
- 49 Liu X, Zhang H, Wang F, et al. Rheological and structural properties of differently acidified and renneted milk gels [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(6): 3292–3299.
- 50 Lucey J A, Tamehana M, Singh H, et al. Effect of heat treatment on the physical properties of milk gels made with both rennet and acid [J]. *International Dairy Journal*, 2001, 11(4): 559–565.
- 51 Horne D, Banks J. Rennet-induced coagulation of milk [J]. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2004(1): 47–70.
- 52 Dave R I, McMahon D J, Oberg C J, et al. Influence of coagulant level on proteolysis and functionality of mozzarella cheeses made using direct acidification [J]. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86(1): 114–126.
- 53 Kindstedt P S, Yun J J, Barbano D M, et al. Mozzarella cheese: impact of coagulant concentration on chemical composition, proteolysis, and functional properties [J]. *Journal of Dairy Science*, 1995, 78(12): 2591–2597.
- 54 Cogan T M, Hill C. Cheese starter cultures [M] // Fox P F. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Chapman & Hall, 1993: 193–255.
- 55 雷蕾. 发酵剂和凝乳酶对比萨专用 Mozzarella 干酪品质影响研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- 56 Coppola S, Villani F, Coppola R, et al. Comparison of different starter systems for water-buffalo Mozzarella cheese manufacture [J]. *Le Lait*, 1990, 70(5–6): 411–423.
- 57 Beresford T P, Fitzsimons N A, Brennan N L, et al. Recent advances in cheese microbiology [J]. *International Dairy Journal*, 2001, 11(4): 259–274.
- 58 Lucey J, van Vliet T, Grolle K, et al. Properties of acid casein gels made by acidification with glucono- δ -lactone. 1. Rheological properties [J]. *International Dairy Journal*, 1997, 7(6): 381–388.
- 59 Johnson M E, Olson N. Nonenzymatic browning of Mozzarella cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 1985, 68(12): 3143–3147.
- 60 Perry D B, McMahon D J, Oberg C J. Effect of exopolysaccharide-producing cultures on moisture retention in low fat Mozzarella cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 1997, 80(5): 799–805.
- 61 Joshi N, Muthukumarappan K, Dave R. Modeling rheological characteristics and calcium content of Mozzarella cheese [J]. *Journal of Food Science*, 2004, 69(3): FEP97–FEP101.

- 62 Lucey J, Fox P. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review [J]. *Journal of Dairy Science*, 1993, 76(6): 1714–1724.
- 63 Pastorino A, Ricks N, Hansen C, et al. Effect of calcium and water injection on structure-function relationships of cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86(1): 105–113.
- 64 李丽丽, 任发政, 曹雪, 等. Ca^{2+} 对 Mozzarella 干酪凝乳形成及微观结构的影响 [J]. *农业机械学报*, 2009, 40(5): 124–129.
Li L L, Ren F Z, Cao X, et al. Effects of Ca^{2+} on the formation and structure of milk gel of Mozzarella cheese [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2009, 40(5): 124–129. (in Chinese)
- 65 Hatel R S, Reuter E. Effect of soluble salts on properties of rennet coagulated milk [M] // International Dairy Federation. *Milk the vital force*. Netherlands: Springer, 1986: 57–57.
- 66 Joshi N, Muthukumarappan K, Dave R. Effects of reduced-calcium, test temperature and storage on stretchability of part-skim mozzarella cheese [J]. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2004, 59(1): 60–65.
- 67 Choi J, Home D, Lucey J. Effect of insoluble calcium concentration on rennet coagulation properties of milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(6): 2612–2623.
- 68 Johnson M, Chen C, Jaeggi J. Effect of rennet coagulation time on composition, yield, and quality of reduced-fat Cheddar cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84(5): 1027–1033.
- 69 Fox P, Uniacke-Lowe T, McAweeney P, et al. *Chemistry and biochemistry of Cheese* [M] // Fox P F, McSweeney P L H. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, London: Springer, 2015: 499–546.
- 70 范金波, 夏琳婧, 周素珍, 等. 压榨工艺对干酪品质的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(7): 23–28.
Fan J B, Xia L J, Zhou S Z, et al. Effects of pressing parameters on cheese quality [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2014, 40(7): 23–28. (in Chinese)
- 71 Bynum D, Olson N. Influence of curd firmness at cutting on yield and recovery of milk constituents [J]. *Journal of Dairy Science*, 1982, 65(12): 2281–2290.
- 72 Soucie W G, Chen W S, Witte V C, et al. Adjusting pH to synerese and separating from whey solution [M]. Google Patents, 1989.
- 73 Casiraghi E, Peri C, Piazza L. Effect of calcium equilibria on the rate of syneresis and on the firmness of curds obtained from milk UF retentates [J]. *Milchwissenschaft*, 1987, 42(4): 232–235.
- 74 Everard C, O'callaghan D, Mateo M, et al. Effects of cutting intensity and stirring speed on syneresis and curd losses during cheese manufacture [J]. *Journal of Dairy Science*, 2008, 91(7): 2575–2582.
- 75 Talens C, O'callaghan D, Everard C, et al. Evaluation of an improved tracer method to monitor cheese curd syneresis at varying milkfat levels in a cheese vat [J]. *Milchwissenschaft*, 2009, 64(2): 161–164.
- 76 Mcsweeney P. Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview [J]. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2004, 1: 347–360.
- 77 Izco J M, Torre P. Characterisation of volatile flavour compounds in Roncal cheese extracted by the 'purge and trap' method and analysed by GC–MS [J]. *Food Chemistry*, 2000, 70(3): 409–417.
- 78 Marilley L, Casey M. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 90(2): 139–159.
- 79 Alewijn M, Sliwinski E, Wouters J. Production of fat-derived (flavour) compounds during the ripening of Gouda cheese [J]. *International Dairy Journal*, 2005, 15(6): 733–740.
- 80 Molimard P, Spinnler H. Review: compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: origins and properties [J]. *Journal of Dairy Science*, 1996, 79(2): 169–184.
- 81 Collins Y F, Mcsweeney P L, Wilkinson M G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge [J]. *International Dairy Journal*, 2003, 13(11): 841–866.
- 82 Creamer L K, Olson N F. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese [J]. *Journal of Food Science*, 1982, 47(2): 631–636.
- 83 Lawrence R, Creamer L, Gilles J. Texture development during cheese ripening [J]. *Journal of Dairy Science*, 1987, 70(8): 1748–1760.
- 84 Crow V, Curry B, Christison M, et al. Raw milk flora and NSLAB as adjuncts [J]. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2002, 57(2): 99–105.
- 85 Coolbear T, Crow V, Harnett J, et al. Developments in cheese microbiology in New Zealand—use of starter and non-starter lactic acid bacteria and their enzymes in determining flavour [J]. *International Dairy Journal*, 2008, 18(7): 705–713.
- 86 Montel M C, Buchin S, Mallet A, et al. Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 177: 136–154.
- 87 de Angelis M, Gobbetti M. Stress responses of lactobacilli [M]. Effie Tsakalidou, Konstantions Papadimitrion. *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*. London: Springer, 2011: 219–249.
- 88 Bove C G, Angelis M D, Gatti M, et al. Metabolic and proteomic adaptation of *Lactobacillus rhamnosus* strains during growth under cheese-like environmental conditions compared to de Man, Rogosa, and Sharpe medium [J]. *Proteomics*, 2012, 12(21): 3206–3218.

- 89 宋君红, 张晓莹, 郭慧媛, 等. 辅助发酵剂对切达 (Cheddar) 干酪坚果风味的影响 [J]. 中国奶牛, 2015(2): 29-32.
Song J H, Zhang X Y, Guo H Y, et al. Effects of adjunct cultures on the nutty flavor of Cheddar cheese [J]. China Dairy Cattle, 2015(2): 29-32. (in Chinese)
- 90 Gobbetti M, De Angelis M, Di Cagno R, et al. Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening [J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 45(2): 167-178.
- 91 Plessas S, Bosnea L, Alexopoulos A, et al. Potential effects of probiotics in cheese and yogurt production: a review [J]. Engineering in Life Sciences, 2012, 12(4): 433-440.
- 92 王一博, 张昊, 郭慧媛, 等. 益生菌干酪的研究进展 [J]. 中国乳业, 2012(12): 46-49.
Wang Y B, Zhang H, Guo H Y, et al. Research progress of probiotic cheese [J]. China Dairy, 2012(12): 46-49. (in Chinese)
- 93 Azarnia S, Robert N, Lee B. Biotechnological methods to accelerate Cheddar cheese ripening [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2006, 26(3): 121-143.
- 94 Law B A. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technology [J]. International Dairy Journal, 2001, 11(4): 383-398.
- 95 Saldo J, Sendra E, Guamis B. High hydrostatic pressure for accelerating ripening of goat's milk cheese: proteolysis and texture [J]. Journal of Food Science, 2000, 65(4): 636-640.
- 96 隋欣, 陈历俊, 任发政. 热激修饰瑞士乳杆菌对 Cheddar 干酪成熟的影响 [J]. 农业机械学报, 2009, 40(10): 135-139.
Sui Xi, Chen L J, Ren F Z. Effects of heat-shock *Lactobacillus helveticus* on Cheddar cheese ripening [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(10): 135-139. (in Chinese)
- 97 Guinee T. Salting and the role of salt in cheese [J]. International Journal of Dairy Technology, 2004, 57(2-3): 99-109.
- 98 Luo J, Pan T, Guo H, et al. Effect of calcium in brine on salt diffusion and water distribution of Mozzarella cheese during brining [J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(2): 824-831.
- 99 Paulson B M, McMahon D J, Oberg C J. Influence of sodium chloride on appearance, functionality, and protein arrangements in nonfat Mozzarella cheese [J]. Journal of Dairy Science, 1998, 81(8): 2053-2064.
- 100 Rowney M K, Roupas P, Hickey M W, et al. Salt-induced structural changes in 1-day old Mozzarella cheese and the impact upon free oil formation [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(9): 809-816.
- 101 Pastorino A, Hansen C, McMahon D J. Effect of salt on structure-function relationships of cheese [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(1): 60-69.
- 102 Kindstedt P, Caric M, Milanovic S. Pasta-filata cheeses [J]. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, 2004(2): 251-277.
- 103 郭媛. 加工工艺对 Mozzarella 干酪融化品质的影响 [D]. 北京: 中国农业大学, 2010.
- 104 Costabel L, Pauletti M, Hynes E. Proteolysis in Mozzarella cheeses manufactured by different industrial processes [J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90(5): 2103-2112.
- 105 罗洁, 王芳, 任发政, 等. 乳化盐对 Mozzarella 干酪功能特性的影响 [J]. 农业机械学报, 2011, 42(8): 138-142.
Luo J, Wang F, Ren F Z, et al. Effects of emulsifying salts on functionality of Mozzarella cheese [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(8): 138-142. (in Chinese)
- 106 闫文杰, 崔建云, 任发政. 乳清干酪的研制 [J]. 中国酿造, 2010, 29(9): 173-174.
Yan W J, Cui J Y, Ren F Z. Preparation of whey cheese [J]. China Brewing, 2010, 29(9): 173-174. (in Chinese)
- 107 Malcata F X, Macedo A, Pintado M. Technology, chemistry and microbiology of whey cheeses: review [J]. Food Science and Technology International, 2001, 7(2): 105-116.
- 108 Guinee T P, Auty M A, Fenelon M A. The effect of fat content on the rheology, microstructure and heat-induced functional characteristics of Cheddar cheese [J]. International Dairy Journal, 2000, 10(4): 277-288.
- 109 Kim M, Drake S, Drake M. Evaluation of key flavor compounds in reduced and full fat Cheddar cheese using sensory studies on model systems [J]. Journal of Sensory Studies, 2011, 26(4): 278-290.
- 110 Broadbent J R, Brighton C, McMahon D, et al. Microbiology of Cheddar cheese made with different fat contents using a *Lactococcus lactis* single-strain starter [J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(7): 4212-4222.
- 111 Dave R, Sharma P, Muthukumarappan K. Effects of starter culture and coagulating enzymes on viscoelastic behavior and melt of Mozzarella cheese [J]. Journal of Food Science, 2003, 68(4): 1404-1410.
- 112 Hu Y N, Ge K S, Jiang L, et al. Effect of transglutaminase on yield, compositional and functional properties of low-fat Cheddar cheese [J]. Food Science and Technology Research, 2013, 19(3): 359-367.
- 113 Drake M, Boylston T, Spence K, et al. Improvement of sensory quality of reduced fat Cheddar cheese by a *Lactobacillus* adjunct [J]. Food Research International, 1997, 30(1): 35-40.
- 114 Drake M, Swanson B. Reduced- and low-fat cheese technology: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 1995, 6(11): 366-369.

- 9 Gan N Q, Cai R X, Lin Z X. Determination of ascorbic acid based on ascorbic acid oxidase oscillation reaction [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 466(2): 257–260.
- 10 Wang J, Yang S T, Cai R X, et al. A new method for determination of uric acid by the lactic acid-acetone- BrO_3^- - Mn^{2+} - H_2SO_4 oscillating reaction using the analyte pulse perturbation technique [J]. *Talanta*, 2005, 65(3): 799–805.
- 11 Gao J Z, Ren J, Yang W, et al. Kinetic determination of hydroquinone by a Belousov–Zhabotinskii oscillating chemical reaction [J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2002, 520(1–2): 157–161.
- 12 Gao J Z, Ren J, Yang W, et al. Determination of caffeine using oscillating chemical reaction in a CSTR [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 32(3): 393–400.
- 13 王二丹, 鲁利利, 张泰铭, 等. 非线性化学群集成分分析及同时测定掺杂在羊奶中的牛奶和马奶含量 [J]. *高等学校化学学报*, 2015, 36(6): 1052–1060.
Wang Erdan, Lu Lili, Zhang Taiming, et al. Nonlinear chemical analysis of thron components and simultaneous determining contents of cow and mare milks mixed with goat milk [J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2015, 36(6): 1052–1060. (in Chinese)
- 14 Zhang T M, Liang Y Z, Yuan B, et al. Determining method and conditional factors of electrochemical fingerprint of Chinese traditional medicine [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2007, 52(16): 2190–2202.
- 15 Zhang J, Qiao J X, Zhang T M, et al. Nonlinear electrochemical fingerprint and system similarity as well as their applications in authenticity identification and quality evaluation of soya sauce [J]. *The Journal of Food Technology*, 2014, 106: 189–200.
- 16 Fang X Q, Zhang T M, Zhao Z, et al. Application of nonlinear chemical fingerprinting to identification, evaluation and clinical use of *Glycyrrhiza* [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2010, 55(26): 2937–2944.
- 17 Tikhonova L P, Zakrevskaya L N, Yatisimirskii K B. Catalytic determination of ruthenium based on an oscillating chemical reaction [J]. *Journal Analytical Chemistry*, 1978, 33(3): 1991–1996.
- 18 Yatisimirskii K B, Strizhak P E, Ivaschenko T S. Potential of chaotic chemical systems in nanotrace analysis based on the Belousov–Zhabotinskii reaction (BrO_3^- -malonic acid-ferroin) determination of manganese (II) [J]. *Talanta*, 1993, 40(8): 1227–1232.
- 19 方贤安, 安从俊, 刘义, 等. Ag^+ 离子的 BZ 振荡反应动力学研究 [J]. *武汉大学学报*, 1994, 25(2): 100–104.
Fang Xian'an, An Congjun, Liu Yi, et al. Kinetic study of Ag^+ BZ chemical oscillatory [J]. *Journal of Wuhan University*, 1994, 25(2): 100–104. (in Chinese)
- 20 Zhang T, Zhao Z, Fang X, et al. Determining method, conditional factors, traits and applications of nonlinear chemical fingerprint by using dissipative components in samples [J]. *Science China Chemistry*, 2012, 55(2): 285–303.
- 21 张娟, 钟俊辉, 王志沛, 等. 利用非线性化学指纹图谱法测定啤酒中乙醇含量 [J]. *分析化学*, 2014, 42(4): 559–564.
Zhang Juan, Zhong Junhui, Wang Zhipai, et al. Determination of alcohol content in beer by nonlinear chemical fingerprint technique [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2014, 42(4): 559–564. (in Chinese)

(上接第 201 页)

- 115 Volikakis P, Biliaderis C G, Vamvakas C, et al. Effects of a commercial oat- β -glucan concentrate on the chemical, physico-chemical and sensory attributes of a low-fat white-brined cheese product [J]. *Food Research International*, 2004, 37(1): 83–94.
- 116 Rahimi J, Khosrowshahi A, Madadlou A, et al. Texture of low-fat Iranian white cheese as influenced by gum tragacanth as a fat replacer [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(9): 4058–4070.
- 117 Oliveira N M, Dourado F Q, Peres A M, et al. Effect of guar gum on the physicochemical, thermal, rheological and textural properties of green edam cheese [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2011, 4(8): 1414–1421.
- 118 Wang F, Liu X, Hu Y, et al. Effect of carrageenan on the formation of rennet-induced casein micelle gels [J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 36: 212–219.
- 119 Kaplan N M. The dietary guideline for sodium; should we shake it up? No [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, 71(5): 1020–1026.
- 120 Gomes A, Cruz A, Cadena R, et al. Manufacture of low-sodium Minas fresh cheese: effect of the partial replacement of sodium chloride with potassium chloride [J]. *Journal of Dairy Science*, 2011, 94(6): 2701–2706.
- 121 Grummer J, Bobowski N, Karalus M, et al. Use of potassium chloride and flavor enhancers in low sodium Cheddar cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(3): 1401–1418.
- 122 Ozturk M, Govindasamy-Lucey S, Jaeggi J, et al. Low-sodium Cheddar cheese: effect of fortification of cheese milk with ultrafiltration retentate and high-hydrostatic pressure treatment of cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 2015, 98(10): 6713–6726.