

云南槟榔江水牛乳马苏里拉干酪加工工艺优化 及其功能特性分析

张璐¹, 朱薪¹, 高光文¹, 范葵蓉¹, 廖梦莲¹, 王雅熙¹, 段志高¹, 王雪峰^{1,2*}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201)

(2. 云南省畜产品加工工程技术研究中心, 云南昆明 650201)

摘要: 该实验以干酪的感官评分和拉伸性为评价指标, 研究凝乳酶添加量、发酵终点 pH 值、凝乳温度、热烫温度对云南槟榔江水牛乳马苏里拉干酪的影响, 结合响应面法确定干酪的最优工艺, 进一步对所得马苏里拉干酪的营养成分、功能特性进行评价。结果表明: 云南槟榔江水牛乳马苏里拉干酪最优工艺为, 凝乳酶添加量为 0.5 mg/mL, 发酵终点 pH 值为 5.7, 凝乳温度为 45 °C, 热烫温度为 80 °C。基于最优工艺制作出的槟榔江水牛乳马苏里拉干酪感官评分为 90.18, 拉伸性为 64.83 cm, 与预测值接近, 且显著高于黑白花牛乳所制干酪感官评分 (64.52) 和拉伸性 (27.33 cm) ($P<0.05$)。槟榔江水牛乳干酪的蛋白 (24.12 g/100 g)、水分 (52.59 g/100 g) 和脂肪 (20.98 g/100 g) 含量、得率 (11.28%)、融化性 (33.07 mm)、油脂析出性 (17.00 mm) 等均显著高于黑白花牛乳干酪 ($P<0.05$)。研究结果表明, 槟榔江水牛乳比普通黑白花牛乳更适合马苏里拉干酪的制作, 且制作的干酪具有良好的感官、营养和功能特性。因此, 槟榔江水牛乳马苏里拉干酪可有效满足消费者对健康/美味乳制品的需求, 也为槟榔江水牛乳的商业化应用提供新思路。

关键词: 槟榔江水牛乳; 马苏里拉干酪; 加工工艺; 功能特性

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.10.1608

Optimization of Processing Technology and Functional Characteristics Analysis of Yunnan *Bos Bubalus* Milk Mozzarella Cheese

ZHANG Lu¹, ZHU Xin¹, GAO Guangwen¹, FAN Guirong¹, LIAO Menglian¹, WANG Yaxi¹, DUAN Zhigao¹,
WANG Xuefeng^{1,2*}

(1.College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(2.Yunnan Livestock Products Processing Engineering Technology Research Center, Kunming 650201, China)

Abstract: The experiment was conducted to study the effects of rennet addition, fermentation endpoint pH, curd temperature and hot blanching temperature on Yunnan *Bos bubalus* milk mozzarella cheese, the sensory score and stretchability of the cheese were used as the evaluation indexes, and to determine the optimal process of the cheese by combining with the response surface methodology, and to further evaluate the nutrient composition and functional properties of the resultant mozzarella cheese. The results showed that the optimal process for Yunnan *Bos bubalus* milk mozzarella cheese was 0.5 mg/mL rennet addition, fermentation endpoint pH value is 5.7, 45 °C curdling temperature and 80 °C stretching temperature. The sensory score was 90.18 and stretchability was 64.83 cm of mozzarella cheese made from *Bos bubalus* milk based on the optimal process was close to the predicted values and significantly higher ($P<0.05$) than the sensory score (64.52) and stretchability (27.33 cm) of cheese made from black and white flower cow milk. The protein (24.12 g/100 g), moisture (52.59 g/100 g) and fat (20.98 g/100 g) contents, yield (11.28%), meltability (33.07 mm), and fat precipitation (17.00 mm) of *Bos bubalus* milk cheeses were significantly higher than that of black and white calf milk cheeses ($P<0.05$). The research results indicate that *Bos bubalus* milk is more suitable for mozzarella cheese making than normal black and white flower cow milk. The resulting cheese has good organoleptic, nutritional and functional characteristics. Therefore, *Bos bubalus* milk mozzarella cheese can

收稿日期: 2024-07-15; 修回日期: 2024-08-21; 接受日期: 2024-08-21

基金项目: 国家自然科学基金地区项目 (31960462); 云南省基础研究计划面上项目 (2019FB052); 云南省农业联合专项重点项目 (202101BD070001-013); 云南省青年科技人才托举工程项目

作者简介: 张璐 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 乳品科学, E-mail: 2528383462@qq.com

通讯作者: 王雪峰 (1986-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品蛋白质资源利用与乳品科学, E-mail: 364135728@qq.com

effectively meet consumers' demand for healthy and delicious dairy products, and also provide new ideas for the commercial application of *Bos bubalus* milk.

Key words: *Bos bubalus* milk; mozzarella cheese; processing technology; function characteristics

干酪富含蛋白质、多肽、钙、磷和多种维生素,被誉为“奶黄金”^[1]。其含有的益生菌,可对肠道菌群起调节作用,有助于维护和改善健康^[2]。马苏里拉干酪是一种源自意大利的美食和瑰宝,其口感非常细腻,入口即化,因其加热后具有良好的拉伸性,常被用于制作披萨、沙拉、意面等各种美食,已成为全球生产应用最为广泛的干酪^[3]。因历史原因和饮食习惯的差异,中国的干酪市场长期以来并未得到充分发展,直到 21 世纪以来,随着人民物质生活水平的提高和逐渐多元化的饮食结构,奶酪才慢慢成为中国消费者餐桌上的新宠^[4]。目前马苏里拉干酪主要依赖进口,且价格昂贵,难以普及,因此结合国内丰富的奶源资源,成功开发出适合中国消费者口味的马苏里拉干酪产品迫在眉睫。

牛奶凝固是干酪生产中的重要步骤,凝乳酶在此过程中起着重要作用^[5]。自古以来,小牛皱胃酶就被世界各地用于干酪的制作,被认为是奶酪制造中最好的牛奶凝固剂^[6]。小牛皱胃酶是一种具有凝乳作用的酸性天冬氨酸蛋白酶^[7],可专一地切割 κ -酪蛋白(κ -CN)中 Phe105-Met106 段的肽键,从而使被 κ -CN 包裹的 α -CN 和 β -CN 释放,同时在钙离子的作用下发生凝结形成凝块^[8]。中国水牛乳资源丰富,是全球第三大水牛养殖国家^[9]。云南水牛乳产量在中国排名第二,槟榔江水牛乳更是云南省独有的,作为一种高产水牛群体,其产奶量是本地其他水牛产量的 2.2 倍^[10]。槟榔江水牛乳的平均乳脂率、乳蛋白率、乳糖率和总固形物率均高于荷斯坦奶牛乳,其中乳蛋白和乳脂含量约为荷斯坦牛乳的 1.2 和 2.1 倍^[11],也表明槟榔江水牛乳是一款营养价值丰富且具有很大加工潜力的牛乳。尽管槟榔江水牛乳具有独特的品质和高营养价值,但目前市场上的产品种类相对单一,缺乏高端产品的支持。为了满足消费者对高品质乳品的需求,我们需要进一步加大研发力度,开发更多具有创新性和差异化的高端产品。槟榔江水牛乳中含有大量的 κ -CN, κ -CN 位于胶束表面,对酪蛋白胶束的稳定性有着重要作用。将其用于干酪加工,可以加速凝乳酶的酶促反应,有利于降低干酪生产过程中凝乳酶的用量,从而节省制作成本^[12]。槟榔江水牛乳马苏里拉干酪可有效满足人们对高品质乳品的需求,促进我国水牛乳产业深加工技术的进步。

该实验以云南槟榔江水牛乳为研究对象,利用小牛皱胃酶进行马苏里拉干酪的制作,以干酪感官和拉伸性指标为评价指标,通过单因素实验并结合响应面分析凝乳酶酶添加量、发酵终点 pH 值、凝乳温度、热烫温度 4 个因素对马苏里拉干酪的影响,以确定槟榔江水牛乳马苏里拉干酪的最优工艺。进一步与普通黑白花牛乳制作的马苏里拉干酪的品质(感官、得率、基本理化指标、功能特性)进行对比评价,评价槟榔江水牛乳制作马苏里拉干酪的优势,为槟榔江马苏里拉工业化的生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

水牛乳,腾冲市巴福乐槟榔江水牛良种繁育有限公司;黑白花牛乳,云南腾冲艾爱摩拉牛乳业有限责任公司;小牛皱胃酶,深圳市富晟生物科技有限公司;发酵剂:丹尼斯克(中国)有限公司;食品级 CaCl_2 ,河南万邦实业有限公司。三氯乙酸,上海宏瑞化工有限公司;浓硫酸,上海裕纳化工有限公司。硼酸、甲基红、冰乙酸,天津市凤船化学试剂科技有限公司;亚甲基蓝,天津市光复精细化工研究所;无水乙醚、石油醚,广东省精细化学品工程技术研究开发中心。

HH-M6 六孔水浴锅,江苏新春兰科学仪器有限公司;PHSJ-4F pH 计,上海锦锚工业科技有限公司;DHG201-0 电热鼓风干燥箱,江苏新春兰科学仪器有限公司;GJB1000-60 均质机,常州市均质机械有限公司;HYP-308 消化炉,上海纤检仪器有限公司;SX-4-10 马弗炉,沈阳市节能电炉厂。

1.2 实验方法

1.2.1 马苏里拉干酪的制备

参照 Zhang 等^[13]的方法,并稍作修改。将新鲜水牛乳进行巴氏杀菌($63\text{ }^{\circ}\text{C}$, 30 min),冷却至 $38\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$,

加入发酵剂（3 mg/mL），至发酵终点 pH 值后加入氯化钙和凝乳酶，凝乳至 pH 值=5.3 结束，将凝乳切割成 1 cm³ 小块，50 ℃ 水浴排乳清。最后，80 ℃ 热烫拉伸，不断的拉伸折叠、塑形、冷却后便可形成马苏里拉干酪。

1.2.2 单因素实验

在发酵终点 pH 值=5.7，凝乳温度 45 ℃，热烫温度 80 ℃ 的条件下，研究凝乳酶添加量（0.3、0.5、0.7、0.9 mg/mL）对马苏里拉干酪感官和拉伸性的影响。在凝乳酶添加量 0.5 mg/mL，凝乳温度 45 ℃，热烫温度 80 ℃，研究发酵终点 pH 值（5.5、5.6、5.7、5.8、5.9）对马苏里拉干酪感官和拉伸性的影响。在凝乳酶添加量 0.5 mg/mL，发酵终点 pH 值为 5.7，热烫温度 80 ℃ 的条件下，研究凝乳温度（35、40、45、50、55 ℃）对马苏里拉干酪的感官和拉伸性影响。在凝乳酶添加量 0.5 mg/mL，发酵终点 pH 值为 5.7，凝乳温度 45 ℃ 的条件下，研究热烫温度（70、75、80、85、90 ℃）对马苏里拉干酪感官和拉伸性的影响。

1.2.3 响应面实验

基于单因素实验的结果，选取对于酪风味发酵乳影响显著的三个因素（凝乳酶添加量、发酵终点 pH 值、热烫温度），使用 Design-Expert 8.0 中的 Box-Behnken 设计优化实验。以感官评定分数（R1）、拉伸性（R2）为响应值，针对发酵终点 pH 值（A）、凝乳酶添加量（B）、热烫温度（C）进行 3 因素 3 水平的响应曲面分析实验，响应面实验因素水平见表 1。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels table of response surface experiment			
水平	因素		
	发酵终点 pH 值	凝乳酶添加量/(mg/mL)	热烫温度/℃
-1	5.6	0.3	75
0	5.7	0.5	80
1	5.8	0.7	85

1.2.4 感官评定

采用小组评定方式，选 10 名经过训练的感官评定人员组成评定小组（男女各 5 名），从干酪的组织状态、口感、滋味、外观和气味五个方面进行评价感官评定，并取 10 人评分的平均值，评定标准见表 2。

表 2 马苏里拉干酪感官评定标准

Table 2 Sensory evaluation criteria for mozzarella cheese		
指标	评分标准	评分
组织状态（20 分）	无弹性，不能回弹，切面粗糙且有较多颗粒状气泡	（0~7）
	稍有弹性，回弹较差，切面有较少颗粒状气泡	（8~13）
	弹性较好，回弹较好，切面均匀无颗粒状气泡	（14~20）
口感（20 分）	过于松软、粘稠或过硬，有明显的颗粒感	（0~7）
	稍有松软粘稠或干硬，无颗粒感	（8~13）
	软糯细腻且具有一定的层次感	（14~20）
滋味（20 分）	有强烈的酸涩感，咸味过重或过淡	（0~7）
	有轻微的酸味	（8~13）
	无酸涩味，咸度适中	（14~20）
外观（20 分）	色泽呈微黄色，表面有较多的杂质或深色斑点，无光泽	（0~7）
	色泽呈乳白色，表面有较少的杂质或深色斑点，稍有光泽	（8~13）
	色泽呈乳白色，表面光滑有光泽，无杂质或深色斑点	（14~20）
气味（20 分）	无奶香味或伴有一定的异味	（0~7）
	奶香味较淡	（8~13）
	有浓郁的奶香味	（14~20）

1.2.5 得率的测定

参考赵赛楠等^[14]的方法，根据马苏里拉干酪干酪制作过程中记录的所使用的各种原料的质量来计算干酪

的得率。得率的计算方法见公式(1)。

$$R = \frac{m}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R ——得率(%);

m ——干酪的重量(g);

M ——所使用原料总重量(g)。

1.2.6 马苏里拉干酪基本理化指标的测定

1.2.6.1 水分含量测定

参考 GB 5009.3—2016《食品中水分的测定》。

1.2.6.2 脂肪含量测定

参考 GB 5009.6—2016《食品中脂肪的测定》。

1.2.6.3 蛋白质含量测定

参考 GB 5009.5—2016《食品中蛋白质的测定》。

1.2.6.4 灰分含量测定

参考 GB 5009.4—2016《食品中灰分的测定》。

1.2.7 功能特性的测定

1.2.7.1 水牛乳干酪融化性的测定

参考 Kowalczykr 等^[15]的方法,并稍做修改。取质量相同,直径为 17.6 mm,高为 7 mm 的圆柱形干酪样品,置于铺有滤纸的培养皿中,于室温下平衡 30 min,将其放入 100 ℃的恒温干燥箱 1 h,在室温下回复 30 min,测定融化干酪坍塌直径,测三个值,取平均值,最终所得结果表示干酪的融化性。

1.2.7.2 油脂析出性的测定

参考杨妍等^[16]的方法,利用标准规格的圆形取样器在新鲜干酪样品上准确取下一个圆柱体($d=1.3$ cm, $h=0.7$ cm),置于铺有圆形滤纸的玻璃培养皿中,于室温下平衡 30 min,将其放入 100 ℃的恒温干燥箱中烘烤加热 30 min,在室温下回复 30 min 直至肉眼观察到有油圈形成。用直尺测定不同方向的油圈直径,测三个值,记录并计算平均值,最终所得结果表示干酪的油脂析出性。

1.2.7.3 拉伸性的测定

参考 Sheehan 等^[17]的方法,取质量相同,直径和高均为 2 cm 的圆柱形干酪样品,于室温下平衡 30 min,将其放入 200 ℃的烤箱,加热 5 min 后取出,立即用镊子或叉子将其挑起,垂直上拉,直至干酪断裂为止,测量即将断裂前的拉伸长度,每个样品平行测定 3 次,取平均值,最终所得结果表示干酪的拉伸性。

1.3 数据处理

实验采用 Graphpad Prism 9.0 进行图片绘制,采用 IBM SPSS Statistics 27.0.1 软件进行数据分析,采用 Design-Expert 8.0 软件进行响应面试验设计及分析。实验数据均为三次平行实验的均值。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

由图 1a 所示,不同凝乳酶添加量对马苏里拉干酪感官和拉伸性的影响呈现出先上升后下降的趋势。当凝乳酶添加量为 0.3~0.5 mg/mL 时,随着凝乳酶添加量的增大,凝乳酶的凝乳强度增强^[18],进一步减少了蛋白和脂肪等成分在排乳清过程中的流失,在这个过程中,干酪的风味肽也释放出来^[19],从而提高了干酪品质;当凝乳酶添加量在 0.5~0.9 mg/mL 时,凝乳酶过多滞留在干酪中导致后期蛋白成分被过度水解从而降低干酪的风味和功能特性^[19]。

由图 1b 可知,不同发酵终点 pH 值对马苏里拉干酪感官和拉伸性的影响呈现出先上升后下降的趋势。这是因为逐渐接近干酪中蛋白质的等电点 (pH 值 5.7),酪蛋白中的正负电荷会逐渐趋于平衡,减少了电荷间的相互排斥作用,从而增强了蛋白质分子间的相互作用和键合能力^[20],避免了干酪中的蛋白成分在乳清避免了干酪中的蛋白成分随乳清被排出,使干酪蛋白结构更加稳定且易成形。此外,pH 值对干酪中乳酸菌的代谢活动也有影响。适宜的 pH 值范围可以促进乳酸菌的生长和代谢,产生足够的乳酸来降低干酪的 pH 值,同时避免过度发酵导致干酪结构的破坏^[21]。

由图 1c 可知,不同的凝乳温度对马苏里拉干酪感官和拉伸性的影响呈现出先上升后下降的趋势。凝乳温度是决定凝乳酶活性的重要因素,温度过高或过低,活性均会受到抑制,甚至出现凝乳效果较差或不凝乳的情况,同时产生的风味物质减少,干酪品质下将^[22];接近适宜温度凝乳酶活性逐渐增强,凝乳效果也随之变好^[23]。

由图 1d 可知,不同的热烫温度对马苏里拉干酪感官和拉伸性的影响呈现出先上升后下降的趋势。当热烫温度在 70~80 °C 时,随着热烫温度的升高,促进了凝块的收缩以及乳清的排出,凝乳颗粒变软,使得干酪质地富有弹性^[24];当热烫温度在 80~90 °C 时,热烫温度过高,使得凝乳颗粒过软可塑性降低,蛋白质结合水的能力增强,使得最终的干酪成品质地松软且水分含量较多,从而导致干酪拉伸特性降低^[25]。

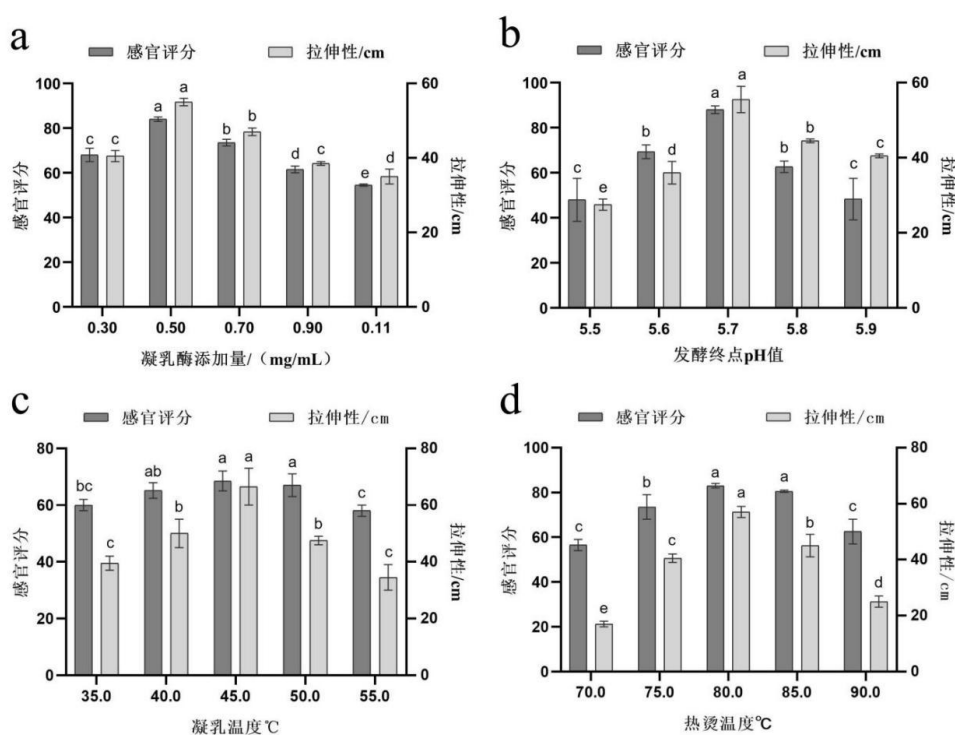


图 1 不同工艺参数对马苏里拉干酪品质的影响

Fig.1 The effect of different process parameters on the quality of mozzarella cheese

注: a: 不同凝乳酶添加量; b: 不同发酵终点 pH 值; c: 不同凝乳温度; d: 不同热烫温度。不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) (下图同)。

2.2 响应面结果及分析

2.2.1 响应面优化

在单因素实验结果基础上,利用 Design-Expert 8.0 软件选取三个影响较大的因素进行响应面实验设计。选取发酵终点 pH 值 (A),凝乳酶添加量 (B),热烫温度 (C) 为自变量,感官评定分数和拉伸性为响应值,进行 3 因素 3 水平的响应面实验分析,根据实验设计制作的干酪进行感官评定和拉伸性的测定,其结果见表 3。

表 3 响应面实验设计与结果

Table 3 Experimental design and results of response surface					
实验号	A	B	C	感官评定/分	拉伸性/cm
1	5.6	0.3	80	68.5	34.5
2	5.8	0.3	80	72.5	43.0
3	5.6	0.7	80	67.0	47.5
4	5.8	0.7	80	78.5	42.0
5	5.6	0.5	75	64.0	33.5
6	5.8	0.5	75	66.5	40.0
7	5.6	0.5	85	68.5	41.5
8	5.8	0.5	85	73.5	46.5
9	5.7	0.3	75	69.0	35.0
10	5.7	0.7	75	68.5	39.5
11	5.7	0.3	85	71.0	42.5
12	5.7	0.7	85	78.5	46.0
13	5.7	0.5	80	93.5	67.5
14	5.7	0.5	80	92.0	65.0
15	5.7	0.5	80	95.5	66.0
16	5.7	0.5	80	93.5	67.5
17	5.7	0.5	80	95.0	67.0

表 4 感官评分回归模型方差分析及模型显著性检验

Table 4 Sensory score regression model, ANOVA and model significance test						
来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	2 149.75	9	238.86	101.26	<0.000 1	***
A 发酵终点 pH 值	66.13	1	66.13	28.03	0.001 1	**
B 凝乳酶添加量	16.53	1	16.53	7.01	0.033 1	*
C 热烫温度	69.03	1	69.03	29.26	0.001 0	**
AB	14.06	1	14.06	5.96	0.044 7	*
AC	1.56	1	1.56	0.66	0.442 5	-
BC	16.00	1	16.00	6.78	0.035 2	*
A ²	706.12	1	706.12	299.34	<0.000 1	***
B ²	366.13	1	366.13	155.21	<0.000 1	***
C ²	692.55	1	692.55	293.59	<0.000 1	***
残差	16.51	7	2.36			
失拟项	8.81	3	2.94	1.53	0.337 4	不显著
纯误差	7.70	4	1.93			
总误差	2 166.26	16				
R ² =0.992 4		R ² Adj=0.982 6				

注：*.差异显著， $P<0.05$ ；**.差异极显著， $P<0.01$ ；***.差异高度显著， $P<0.001$ 。（下表同）。

利用 Design-Expert 8.0 软件对数据进行多元回归拟合，得到干酪的感官评分（R1）对发酵终点 pH 值（A）、凝乳酶添加量（B）、热烫温度（C）的二次多项式回归模拟方差分析表（表 4）。模型 $P<0.01$ ，模型极显著，失拟项 $P>0.05$ ，失拟项不显著，说明该模型具有统计学意义。其中二次多项式方程为：

$$R1=93.90+2.88A+1.44B+2.94C+1.87AB+0.625AC+2BC-12.95A^2-9.33B^2-12.82C^2$$

由表 4 可知，因素 A、C、A²、B²、C² 对感官评分影响极显著（ $P<0.01$ ），B 对感官评分影响显著（ $P<0.05$ ）；交互项 AB、BC 对感官评分影响显著（ $P<0.05$ ）；其他变量的影响不显著（ $P>0.05$ ），说明单因素作用和交

交互作用对感官评分均有显著的影响。此模型的决定系数 $R^2=0.992\ 4$ ，说明模型具有高显著性，而 $R^2\text{Adj}=0.982\ 6$ ，能够解释实验 98.26% 的响应值变异，说明此试验模型与真实数据拟合程度良好，具有实践指导意义，由此可以用该模型来分析和预测马苏里拉干酪感官的最优配方。

利用 Design-Expert 8.0 软件对数据进行多元回归拟合，得到干酪的拉伸性 (R2) 对发酵终点 pH 值 (A)、凝乳酶添加量 (B)、热烫温度 (C) 的二次多项式回归模拟方差分析表 (表 5)。模型 $P<0.01$ ，模型极显著，失拟项 $P>0.05$ ，失拟项不显著，说明该模型具有统计学意义。其中二次多项式方程为：

$$R2=66.60+1.81A+2.5B+3.56C-3.5AB-0.375AC-0.25BC-12.61A^2-12.24B^2-13.61C^2$$

由表 5 可知，因素 B、C、A2、B2、C2 对干酪拉伸性影响极显著 ($P<0.01$)；交互项 AB 对感官评分影响显著 ($P<0.01$)；其他变量的影响均不显著 ($P>0.05$)，说明单因素作用和交互作用对感官评分均有显著的影响。 R^2 为模型的决定系数，此模型 $R^2=0.993\ 9$ ，表明模型具有高显著性； $R^2\text{Adj}=0.986\ 0$ ，表明该模型能够解释实验 98.60% 的响应值变异，说明此试验模型与真实数据的拟合程度良好，具有实践指导意义，由此可以用该模型来分析和预测马苏里拉干酪拉伸性的最优配方^[26]。

表 5 拉伸性回归模型方差分析及模型显著性检验

Table 5 Analysis of variance and significance test of stretch regression model						
来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	2 552.24	9	283.58	125.94	<0.000 1	***
A 发酵终点 pH 值	26.28	1	26.28	11.67	0.011 2	*
B 凝乳酶添加量	50.00	1	50.00	22.20	0.002 2	**
C 热烫温度	101.53	1	101.53	45.09	0.000 3	***
AB	49.00	1	49.00	21.76	0.002 3	**
AC	0.562 5	1	0.5625	0.2498	0.632 5	-
BC	0.250 0	1	0.2500	0.1110	0.748 7	-
A ²	669.79	1	669.79	297.45	<0.000 1	***
B ²	630.55	1	630.55	280.02	<0.000 1	***
C ²	780.21	1	780.21	346.49	<0.000 1	***
残差	15.76	7	2.25			
失拟项	11.06	3	3.69	3.14	0.1491	不显著
纯误差	4.70	4	1.17			
总误差	2 568.00	16				
$R^2=0.993\ 9$		$R^2\text{Adj}=0.986\ 0$				

我们通过响应面等高线图的倾斜程度可以研究发酵终点 pH 值、凝乳酶添加量、热烫温度三个因素对响应值的影响，同时通过观察响应面等高线图和 3D 图的曲面陡峭程度，其反应出两个因素间的交互作用强弱^[23]。由图 2 所示，在感官评分中，发酵终点 pH 值、凝乳酶添加量和热烫温度的变化趋势相似，均引起先增后减的变化。响应面 3D 图所示，各因素交互作用的对感官评分影响均呈抛物曲面分布，且发酵终点 pH 值和凝乳酶添加量的交互作用 (图 2a) 与凝乳酶添加量和热烫温度的交互作用 (图 2c) 的 3D 曲面均比发酵终点 pH 值和热烫温度的交互作用 (图 2b) 的 3D 曲面更陡峭，表明在感官评分中，发酵终点 pH 值和凝乳酶添加量的交互作用与凝乳酶添加量和热烫温度的交互作用比发酵终点 pH 值和热烫温度的交互作用强^[27]。发酵终点 pH 值和凝乳酶添加量的交互作用 (图 2a) 与凝乳酶添加量和热烫温度的交互作用 (图 2c) 的等高线均呈现显著椭圆形，表明两个因素的交互作用对干酪的感官评分影响显著 ($P<0.05$)。发酵终点 pH 值和热烫温度的交互作用 (图 2b) 等高线均呈现显著圆形，表明其交互作用对感官评分影响不显著 ($P>0.05$)^[28]。

由图 3 所示，当发酵终点 pH 值一定时，随着凝乳酶添加量或热烫温度的增加，拉伸性呈先增后减趋势变化。同理当凝乳酶添加量不变时，拉伸性随其他两个因素的增加呈先增后减的趋势；当热烫温度不变时，拉伸性随其他两个因素的增加呈先增后减的趋势。发酵终点 pH 值和凝乳酶添加量的交互作用 (图 3a) 等高线呈现显著椭圆形，而发酵终点 pH 值和热烫温度的交互作用 (图 3b) 和凝乳酶添加量和热烫温度的交互作用 (图 3c) 的等高线均呈现显著圆形，说明发酵终点 pH 值和凝乳酶添加量的交互作用对拉伸性的影响显著

($P<0.05$)，而发酵终点 pH 值和热烫温度的交互作用和凝乳酶添加量和热烫温度的交互作用对拉伸性的影响不显著 ($P>0.05$) [29]。在拉伸性的 3D 图中可以看出，凝乳酶添加量的变化趋势与发酵终点 pH 值相比更加明显。热烫温度的变化趋势比凝乳酶添加量明显，说明热烫温度对干酪拉伸性的影响更显著[30]。

为进一步准确确定最优配方，使用 Design-Expert 10.0.1 软件，以感官评分最大，拉伸性 50~93.5 cm 为优化目标。软件结果显示，马苏里拉干酪的最优制作工艺为：发酵终点 pH 值为 5.7，凝乳酶添加量 0.52 mg/mL，热烫温度 80 ℃，在此条件下，模型预测的最大感官评分为 94.32，拉伸性为 66.983 cm。

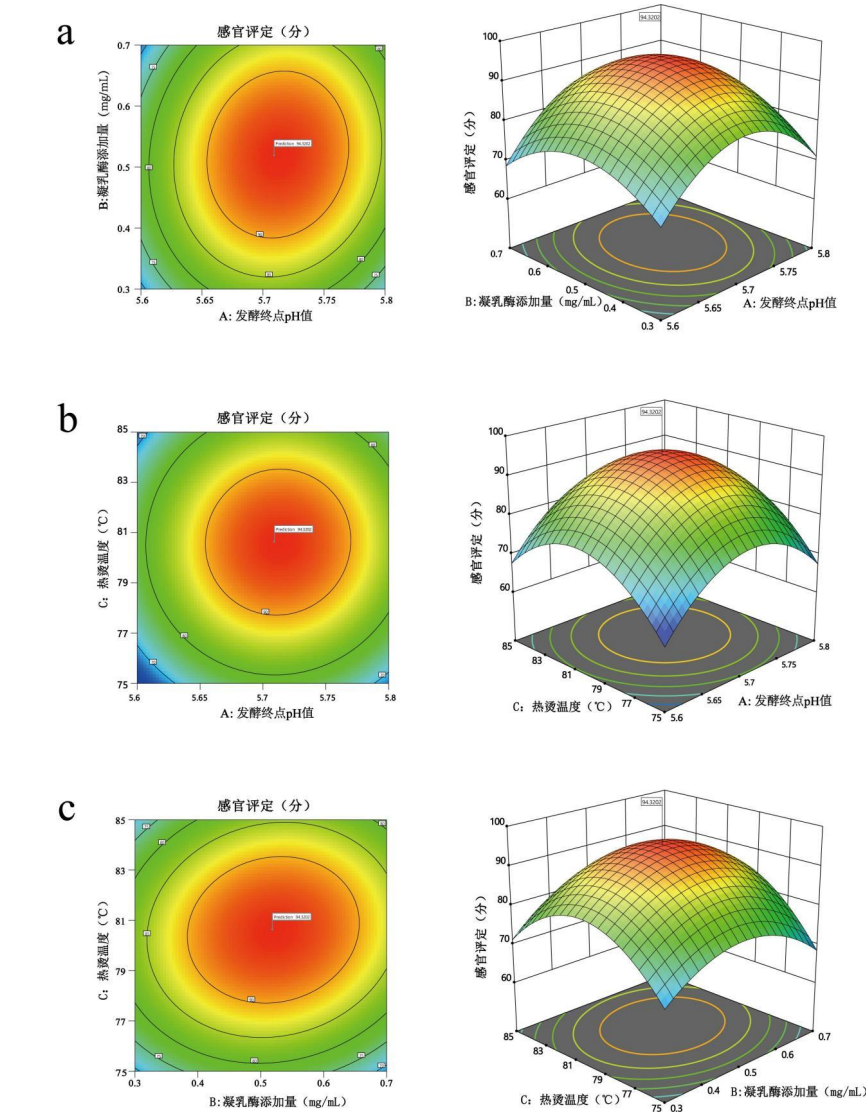
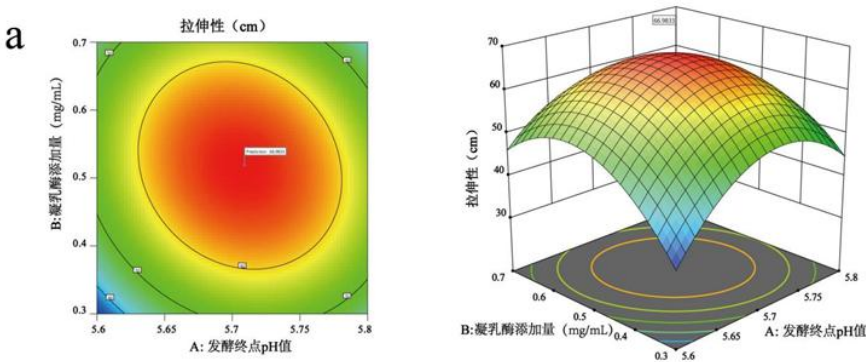


图 2 各因素交互作用对马苏里拉干酪感官评分的响应曲面和等高线图

Fig.2 Response surface and contour map of the interaction of various factors on the sensory score of mozzarella cheese



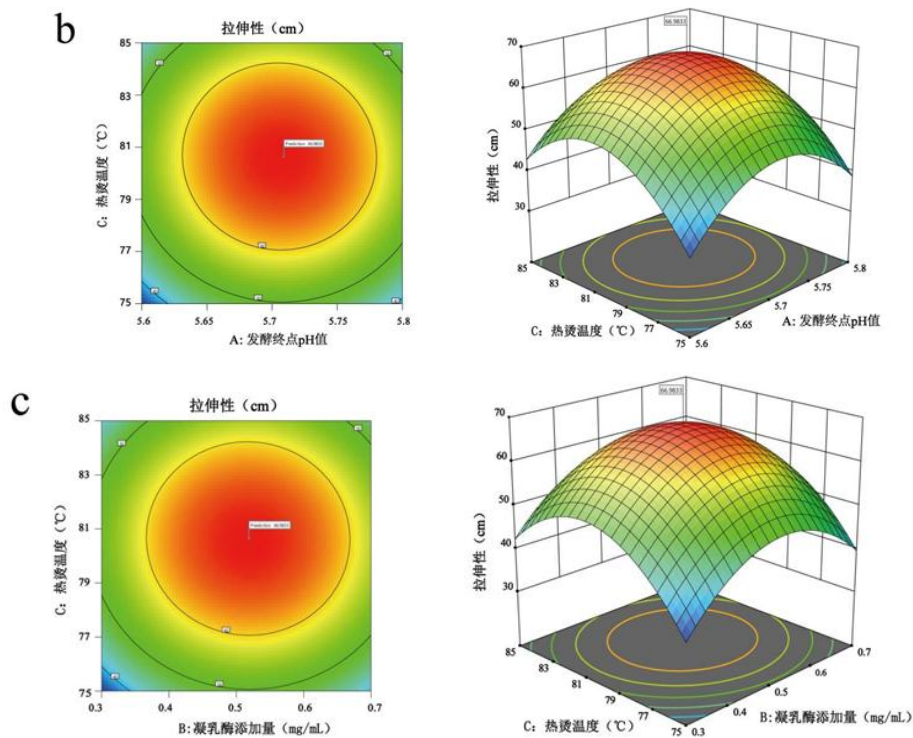


图 3 各因素交互作用对马苏里拉干酪拉伸性的响应曲面和等高线图

Fig.3 Response surface and contour map of the interaction of various factors on the stretchability of mozzarella cheese

2.2.2 验证实验

根据软件预测结果，取发酵终点 pH 值为 5.7，凝乳酶添加量 0.5 mg/mL，热烫温度 80 ℃为条件进行三次重复实验，制得的干酪色泽雪白、质感均匀富有弹性、表面平滑有光泽、能闻到浓郁的奶香味，得到的产品感官评分为 94.15，拉伸性为 64.83 cm，与模型预测结果接近，表明基于该响应面模型分析优化水牛乳马苏里拉干酪加工工艺的方法有效可行。

2.3 不同原料乳制作干酪感官评定结果分析

槟榔江水牛乳和黑白花牛乳两种原料乳制作干酪产品图及感官评分结果见图 4。水牛乳制作干酪平滑有光泽，呈现出奶酪正常的乳白色感官评分 90.18；黑白花牛乳制作的干酪色泽偏黄，表面有些许的白色斑点，感官评分 64.52。水牛乳制作的干酪在组织状态、气味、咀嚼感、风味、外观的分数均高于黑白花牛乳制作的干酪。两种干酪的感官结果表明：槟榔江水牛乳比黑白花牛乳更适合用于马苏里拉干酪的制作。

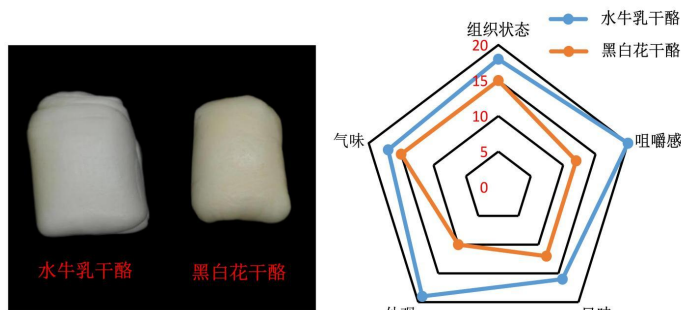


图 4 两种原料乳制作干酪感官雷达图和产品图

Fig.4 Sensory radar images and product images of cheese made from two types of raw milk materials

2.4 两种原料乳制作干酪得率分析

如图 5 所示，分别以槟榔江水牛乳和黑白花牛乳为原料，经过最优工艺制作成干酪，槟榔江水牛乳马苏里拉干酪的得率为 11.28%，黑白花牛乳制作马苏里拉干酪的得率为 7.78%，二者存在着显著性差异($P<0.001$)，造成这一结果的原因可能是：水牛乳的蛋白质、脂肪、灰分等成分高于黑白花牛乳，较高含量的酪蛋白使水牛乳在干酪制作过程中拥有更好的凝乳效果，在排乳清过程中营养成分损失较少^[31]。水牛乳制作干酪的得率高于黑白花牛乳，也高于贾丽丽等^[32]使用牛乳制作的 Malatya 干酪得率（10.90%），略低于杨果果等^[33]使用水牛乳制作的非发酵型干酪得率（12.76%）。

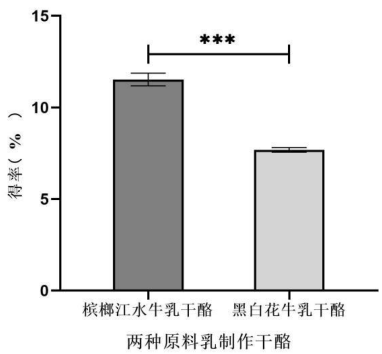


图 5 两种原料乳制作干酪得率

Fig.5 Yield of cheese from two raw milks

注：***表示差异高度显著（ $P<0.001$ ）。

2.5 两种原料乳制作干酪的基本理化指标结果分析

两种原料乳制作的干酪常规理化指标如表 6 所示，水牛乳所制作的干酪相比黑白花牛乳制作的干酪在水分、灰分、脂肪、蛋白质个方面均具有显著差异($P<0.05$)。水牛乳制作的干酪拥有较高的灰分（2.21 g/100 mg）、脂肪（20.98 g/100 mg）和蛋白（24.12 g/100 mg），显著高于黑白花牛乳所制干酪（ $P<0.05$ ），营养价值较高。造成这一结果的原因可能是：水牛乳的蛋白质、脂肪、灰分等成分高于黑白花牛乳，较高含量的酪蛋白使水牛乳在干酪制作过程中拥有更好的凝乳效果，在排乳清过程中营养成分损失较少^[34]。黑白花牛乳制作的干酪水分含量高于水牛乳制作的干酪，因此造成其质地较松软粘稠，口感和风味差。

表 6 两种原料乳制作干酪基本理化指标（g/100 g）

Table 6 Conventional physical and chemical indexes of cheese made from two raw milk materials (g/100 g)

原料	水分	灰分	脂肪	蛋白质
水牛乳干酪	52.59±0.50 ^a	2.12±0.02 ^a	20.98±0.10 ^a	24.12±0.01 ^a
黑白花牛乳干酪	59.38±0.26 ^b	1.85±0.14 ^b	15.61±0.03 ^b	20.61±0.02 ^b

注：不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

2.6 两种原料乳制作干酪的功能特性结果分析

拉伸性、融化性和油脂析出性是评价干酪品质的重要功能特性，且拉伸性是决定马苏里拉干酪品质的重要原因之一^[35]。两种原料乳制作的干酪功能特性比较见图 6。水牛乳制作的马苏里拉干酪与黑白花牛乳制作的马苏里拉干酪在油脂析出性、融化性和拉伸性三个方面均具有显著差异（ $P<0.05$ ）。其中水牛乳干酪的拉伸性（64.83 cm）要优于黑白花牛乳干酪（27.33 cm），主要是因为黑白花干酪在制作过程中乳清未充分排出导致干酪内部水分含量过高，质地松散，从而降低了干酪的拉伸性，也表明水牛乳比黑白花牛乳更适合用于马苏里拉干酪加工。二者的拉伸性均高于杨果果等^[33]使用水牛乳制作的非发酵型干酪的拉伸性（20.95 cm）。

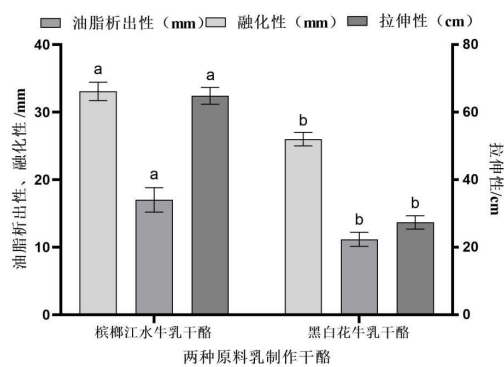


图 6 两种原料乳制作干酪功能特性

Fig.6 Functional characteristics of cheese made from two raw milk materials

注：不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

3 结论

该实验优化了槟榔江水牛乳马苏里拉干酪的加工工艺，最佳工艺为：凝乳温度为 45 ℃，发酵终点 pH 值为 5.7，凝乳酶添加量为 0.5 mg/mL，热烫温度为 80 ℃。在此条件下，所得干酪具有良好的拉伸特性、较好的组织状态和光泽，且香气浓郁。其在脂肪和蛋白等营养成分，融化性和油脂析出性等功能特性方面均优于黑白花牛乳所制干酪，该研究为云南槟榔江水牛乳马苏里拉干酪的加工应用提供参考，有望推动槟榔江水牛乳产业的发展。同时也应进一步研究槟榔江水牛乳干酪的长期稳定性及其在不同应用场景中的表现，以实现其在更广泛领域的应用。

参考文献

[1] BANSAL V, MISHRA K S. Reduced-sodium cheeses: Implications of reducing sodium chloride on cheese quality and safety [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(2): 733-758.

[2] COELHO. M C, XAVIER F M, SILVA C C G. Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: from starter cultures to probiotic Functions [J]. Foods, 2022, 11(15): 2276-2276.

[3] PISCOPO A, MINCIONE A, SUMMO C, et al. Influence of the Mozzarella Type on Chemical and Sensory Properties of “Pizza Margherita”[J]. Foods, 2024, 13(2): 209.

[4] 王淼,姜康巍.我国新鲜奶酪研究进展综述[J].中国乳业,2020,11:73-74.

[5] LEITE B R D C, TRIBST A A L, OLIVEIRA D M M, et al. Characterization of rennet-induced gels using calf rennet processed by high pressure homogenization: Effects on proteolysis, whey separation, rheological properties and microstructure [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2014, 26: 517-524.

[6] 马忠仁,李明生,乔自林,等.一种小牛凝乳酶制备的新工艺[J].西北民族大学学报(自然科学版),2010,31(4):68-70+79.

[7] LIU X F, WU Y F, GUAN R F, et al. Advances in research on calf rennet substitutes and their effects on cheese quality [J]. Food Research International, 2021, 149: 110704.

[8] WEHAIDY H R, ABDEL N M A, KHOLIF A M M, et al. The catalytic and kinetic characterization of Bacillus subtilis MK775302 milk clotting enzyme: comparison with calf rennet as a coagulant in white soft cheese manufacture [J].Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2023, 21(1): 61-61.

[9] 张曦予,李全阳.广西水牛乳研究与开发现状概述[J].乳业科学与技术,2021,44(3):55-59.

[10] 覃李坤.不同温热环境下槟榔江水牛产奶性能及乳成分的相关分析[D].昆明:云南农业大学,2023.

[11] 张永云,张颖,王绍卿,等.槟榔江水牛、摩拉水牛和荷斯坦牛乳成分比较分析[J].中国奶牛,2012,7:24-26.

[12] 裴昱博,于淼,张国芳,等.水牛奶营养物质及其制品研究现状[J].食品工业科技,2024,45(18):344-354.

[13] ZHANG L, WU G, LI D, et al. Isolation and identification of milk-clotting proteases from Prinsepia utilis Royle and its application in cheese processing [J]. Food Research International, 2024, 183: 114225.

- [14] 赵赛楠,李佳栋,齐国俊,等.牛羊乳的比例对 Halloumi 干酪得率及品质的影响[J].食品研究与开发,2019,40(18):12-17.
- [15] KOWALCZYK M M, KOTOWSKA N, TARAPATA J, et al. The effect of coagulant type and refrigerated storage on texture and functional properties of low-moisture mozzarella cheese and pizza cheese analogues [J]. International Dairy Journal, 2024, 155: 105974.
- [16] 杨妍,张瑞,丁井杰,等.发芽辣木籽凝乳酶在鲜食干酪加工中的应用[J].现代食品科技,2025,41(1):65-73.
- [17] SHEEHAN J J, GUINEE P T. Effect of pH and calcium level on the biochemical, textural and functional properties of reduced-fat Mozzarella cheese [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(2): 161-172.
- [18] 李春梅,王剑飞,于丽斌,等.帕马森干酪加工工艺对产品品质的影响[J].中国乳品工业,2019,47(8):61-64.
- [19] 李子怡,马茜,李坤林,等.山羊奶 Mozzarella 干酪工艺筛选及生物活性肽测定[J].中国奶牛,2023,4:33-38.
- [20] 刘同吉,王艺会,薛瑞,等.贝莱斯芽孢杆菌 YH-1 凝乳酶对切达干酪成熟特性及生物活性的影响[J].食品与发酵工业,2024,50(8):8-17.
- [21] MONTEIRO R R, TAVARES D Q, KINDSTEDT P S, et al. Effect of pH on microstructure and characteristics of cream cheese [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(2): 51-55.
- [22] SIÇRAMAZ H, AYAR A. Coagulation temperature and smoking time determine product quality and shelf life of the acid-heat coagulated Circassian cheese [J]. Food Science Nutrition, 2023, 11(10): 6164-6177.
- [23] 宋朝阳.黄粉虫凝乳酶的凝乳特性及其对 Cheddar 干酪成熟的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2022.
- [24] 周颖喆.热烫拉伸对马苏里拉奶酪理化及功能特性的影响[D].无锡:江南大学,2015.
- [25] 尹南锟.Mozzarella 干酪加工工艺的优化研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2015.
- [26] 曾小峰,颜蜜,盖智星,等.羊肚菌酶解工艺优化及酶解液挥发性风味物质分析[J].食品工业科技,2025,46(4):147-154.
- [27] 蔡静,张景怡,叶润,等.双水相提取小蓟多酚工艺优化及其生物活性研究[J].北方园艺,2024,11:88-96.
- [28] 李欣欣,刘大军,陈畅,等.基于模糊数学评定与响应面法优化酸黄瓜工艺研究[J].中国调味品,2024,49(6):119-125.
- [29] 薛建娥,王英翰,洪金明,等.响应面优化核桃蛋白的提取及性质研究[J].食品工业,2024,45(5):49-54.
- [30] 袁秀丽,刘晨丽.功能性酸奶复合益生菌菌株筛选及发酵工艺优化[J].中国食品添加剂,2024,35(5):1-12.
- [31] FANGMEIER, MICHELE, KEMERICH, et al. Effects of cow, goat, and buffalo milk on the characteristics of cream cheese with whey retention [J]. Food Science and Technology, 2019, 39(S1): 122-128.
- [32] 贾丽丽,王家棚,李嘉欣,等.牛羊乳比例对 *Malatya* 干酪成熟品质及抗氧化特性的影响[J].食品科学,2023,44(22):64-73.
- [33] 杨果果,钟玉旺,李天强,等.两种凝乳酶加工的非发酵型干酪品质特性比较分析[J].食品与发酵工业,2024,50(14):151-160.
- [34] VARGAS A S, RUIZLÓPEZ I I, AMADORESPEJO G G, et al. Use of high-intensity ultrasound and micellar casein concentrate addition for improving whey *Ricotta* cheese production [J]. International Journal of Dairy Technology, 2024, 77(2): 518-531.
- [35] GONÇALVES C M, CARDARELLI R H. Effect of the stretching temperature on the texture and thermophysical properties of Mozzarella cheese [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020, 44(9): 14703.