

doi:10.12301/spxb202300008

文章编号:2095-6002(2023)06-0052-13

引用格式:杨万龄,沈兴旺,崔凤怡,等.蓝纹牦牛干酪成熟特性及其风味分析[J].食品科学技术学报,2023,41(6):52-64.



YANG Wanling, SHEN Xingwang, CUI Fengyi, et al. Analysis of ripening characteristics and flavor analysis of blue style-yak milk cheese[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023,41(6):52-64.

蓝纹牦牛干酪成熟特性及其风味分析

杨万龄¹, 沈兴旺², 崔凤怡², 王光强², 宋馨², 杨昞津²,
熊智强², 张汇², 艾连中², 夏永军^{2,*}

(1.上海开放大学公共管理学院,上海 200433;2.上海理工大学健康科学与工程学院/
上海食品微生物工程技术研究中心,上海 200093)

摘要:牦牛乳具有高蛋白、高脂肪的营养特性以及较好的抗疲劳等功能特性。然而,由于牦牛乳产量较低,且产地分散,其在干酪产品开发等精深加工方面研究较少。采用娄地青霉为次级发酵剂,开发蓝纹牦牛干酪,并对其成熟特性以及风味物质进行分析。研究结果显示,娄地青霉能够在牦牛干酪中迅速生长,促进蛋白质的降解并形成大量的多肽、氨基酸等。牦牛干酪成熟末期游离氨基酸,尤其是鲜味氨基酸含量显著升高($P < 0.05$)。利用 SPME-GC/MS 技术在牦牛干酪中共检测出 53 种风味物质。正交偏最小二乘分析(OPLS-DA)分析显示,与成熟初期相比,蓝纹牦牛干酪风味物质构成在成熟末期发生显著变化,挥发物总含量显著增加($P < 0.05$)。牦牛干酪中酯类风味物质主要以脂肪甲酯类为主,且在成熟后期(25、46 d)含量相对稳定;脂肪酸类化合物含量在成熟中期最高,但是在成熟末期显著降低($P < 0.05$);酮类化合物尤其是甲基酮类,在成熟后期含量显著增加($P < 0.05$)。2-壬酮、2-庚酮、辛酸甲酯、2-戊酮、癸酸乙酯、癸酸甲酯、己酸、2-辛酮、丁酸等风味化合物是蓝纹牦牛干酪的主要风味物质。研究表明,娄地青霉能够良好地促进牦牛干酪的成熟,且对牦牛干酪的营养特性以及特征风味的形成具有显著影响。研究结果旨在为我国牦牛乳等特色乳品的深加工奠定理论基础,同时为我国特色乳品产业发展提供参考。

关键词:牦牛乳;干酪;娄地青霉;成熟特性;风味

中图分类号: TS252.1; TS252.53

文献标志码: A

牦牛(*Bos grunniens*)主要分布于青海、西藏以及川南等高海拔地区。牦牛因其独特的高原生存环境和地域适应性,产奶量远低于奶牛,但奶的品

质却优于其他品种。牦牛乳中蛋白质含量显著高于荷斯坦牛、黄牛等品种,且脂肪含量较高,这使得牦牛乳的干物质含量较高^[1];此外,牦牛乳中含

收稿日期:2023-01-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(32272364);国家杰出青年科学基金项目(32025029);上海市教育委员会科研创新计划项目(2101070007800120);上海市科技兴农项目(2022-02-08-00-12-F01102);中国食品科学技术学会食品科技基金-伊利健康科学基金项目(2021-Y06)。

Foundation: National Natural Science Foundation of China (32272364); National Natural Science Foundation of Outstanding Youth Program of China (32025029). Shanghai Education Committee Scientific Research Innovation Projects (2101070007800120); Project of Shanghai for Agriculture Advance by Science and Technology (2022-02-08-00-12-F01102); The Food Science and Technology Foundation of CIFST-Yili Foundation of Health Science (2021-Y06).

第一作者:杨万龄,女,副教授,主要从事食品卫生与营养学方面的研究。

*通信作者:夏永军,男,教授,博士,主要从事食品生物技术方面的研究。

有丰富的活性肽、维生素、钙、锌等营养成分,尤其是维生素C^[2]。牦牛乳还具有良好的抗疲劳、调节免疫以及缓解骨质疏松等功能特性,这与牦牛乳中含有丰富的共轭亚油酸、低聚糖、活性肽等成分有关^[3-4]。

牦牛乳丰富的营养特性使其在乳制品加工方面具有良好的优势,主要用来加工鲜奶、酸奶、酥油、奶茶、奶皮、奶渣等乳制品。牦牛乳干物质含量较高,酪蛋白含量丰富,使其在酸奶等乳制品中有着良好的应用前景。然而,由于脂肪含量较高,牦牛发酵乳制品存在质地较硬、膻味较重等问题。为提高产品质量,许多学者通过采用复合菌种、复配乳等多种方法对牦牛发酵乳品质进行改善^[5]。目前,我国对牦牛乳的产品深加工研究整体落后于牛乳,大多是传统牦牛乳制品的延伸,并没有很好地展现出牦牛乳的特色以及经济价值。

蓝纹干酪又称青纹干酪,是以娄地青霉(*Penicillium roqueforti*)为次级发酵剂的霉菌内部成熟的一种干酪,因其里面有美丽的蓝色或绿色的大理石花纹而享有盛誉,有着悠久的食用历史。意大利北部伦巴底的古冈左拉干酪(*Gorgonzola cheese*)是第一个文献记录的蓝纹干酪(公元879年)。蓝纹干酪的主要特点是在成熟过程中,娄地青霉通过 β -氧化途径水解脂肪生成甲基酮,使干酪形成强烈的风味^[6]。研究表明,甲基酮是蓝纹干酪最突出的挥发性风味成分,其相对含量占总体风味成分的50%~70%^[2]。一般来说,甲基酮的主要风味特征是果香味、霉变味和花香味等,其中2-庚酮会使干酪风味表现出明显的辛辣味^[7-8]。由于娄地青霉的存在,蓝纹干酪中蛋白和脂肪的降解比其他干酪更为剧烈和彻底。

牦牛乳中钙离子和非脂乳固体含量均高于荷斯坦牛乳,使其在原制干酪加工以及得率方面可能具有更好的优势^[9]。Zhang等^[10]研究表明,牦牛乳中酪蛋白胶束较小,在凝乳酶作用下能够快速形成酪蛋白凝胶,具有较高的弹性模量,能够形成更加均匀的凝胶。目前对牦牛干酪的研究较少,主要是研究乳酸菌等细菌发酵剂制备的半硬质或硬质切达干酪,考察发酵剂、制备工艺对成熟过程中干酪蛋白降解、风味等成熟特性的影响,而对娄地青霉等霉菌成熟的蓝纹牦牛干酪研究未见报道,霉菌发酵剂对牦牛乳中蛋白质的降解以及干酪风味形成的影响仍不清晰^[11]。与细菌成熟牦

牛干酪相比,娄地青霉能否有效缩短蓝纹牦牛干酪的成熟时间,娄地青霉对牦牛中蛋白质的降解特性有何不同,是否会显著影响牦牛干酪的特征风味。基于这些问题,本研究拟考察娄地青霉对牦牛干酪蛋白质降解以及风味物质合成的影响,利用统计学分析阐明蓝纹牦牛干酪的成熟特性,希望为新型牦牛干酪的开发以及牦牛乳的高值化加工奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

干酪发酵剂[娄地青霉发酵剂(PV LYO 10 D)和凝乳酶(Marzyme 150 MG)],丹尼斯克中国有限公司;新鲜牦牛乳采购自青海地区,由高原之宝公司提供;氯化钙、氯化钠、硫酸、磷钨酸、无水硫酸钠、氢氧化钾、 NH_4HCO_3 、甲醇、甲酸等均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;2-甲基-3-庚酮(色谱纯),上海源叶生物科技有限公司;萃取头(50/30 μm DVB/CAR/PDMS),赛默飞世尔科技公司;氨基酸混合标准溶液(Type AN-2、Type B),日本Wako公司。

1.2 仪器与设备

VAT-70型干酪槽,德国KLT公司;FOSS 8400型全自动凯氏定氮仪,瑞典FOSS型分析仪器有限公司;3-18K型冷冻离心机,德国Sigma公司;WNB7-45型快速升温水浴锅,德国Mettler有限公司;L-8900型全自动氨基酸分析仪,日本Hitachi有限公司;7890B-7000D型气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦公司。

1.3 实验方法

1.3.1 蓝纹牦牛干酪制备工艺流程

蓝纹牦牛干酪制备工艺流程如图1。将新鲜牦牛乳进行巴氏杀菌(65 $^{\circ}\text{C}$, 30 min),冷却至32 $^{\circ}\text{C}$,添加乳酸菌发酵剂(添加量为0.03 g/L),32 $^{\circ}\text{C}$ 发酵120 min。发酵结束后乳酸调节pH值至6.1,添加 CaCl_2 (添加量为0.1 g/L)、凝乳酶(添加量为0.2 g/L),待凝乳后用切刀切割成1 cm^3 的块状,静置3~5 min,搅拌排除乳清。加入食用盐(添加量为2%)、娄地青霉,入模成型(16 $^{\circ}\text{C}$, 12 h),卸模,放入培养箱,进入后期成熟。成熟温度控制程序:1~4 d, 26 $^{\circ}\text{C}$; 5~11 d, 14 $^{\circ}\text{C}$; 12~46 d, 10 $^{\circ}\text{C}$ 。

取样设置:分别在干酪成熟的不同阶段取样,取样时间分别为成熟1、4、7、11、18、25、32、39、46 d。

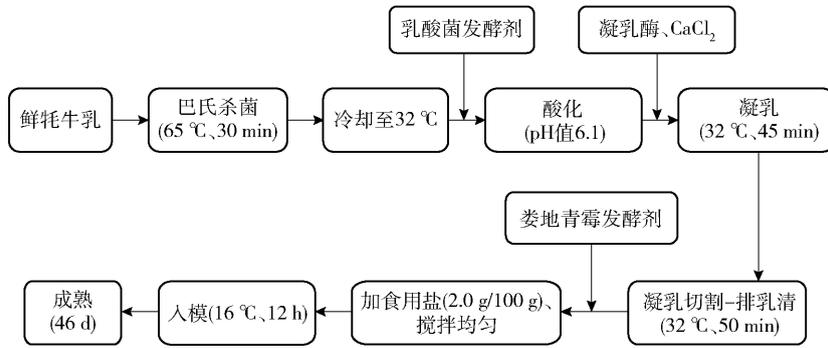


图1 蓝纹牦牛干酪制备工艺流程

Fig. 1 Preparation process of blue style-yak milk cheese

样品取出后迅速分装(约50 g/份),并放置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

1.3.2 牦牛干酪理化指标的测定

1.3.2.1 牦牛干酪蛋白降解特性分析

1) pH 4.6-可溶性氮指标的测定。pH 4.6-可溶性氮(pH 4.6-SN)指标代表干酪蛋白水解广度,表征干酪中的多肽含量,主要基于酪蛋白等电点析出原理测定。检测方法依据 Leclercq-Perlat 等^[12]的方法并略加修改。准确称取5 g 牦牛干酪样品,研磨1 min 后加入45 mL 质量分数为0.9%的NaCl 溶液中混匀。采用HCl(2 mol/L)调整pH 值至4.6,25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴1 h,8 000 r/min 离心20 min。用滤纸过滤取上清液,得到pH 4.6-SN 溶液。用凯氏定氮仪测定溶液含氮量,pH4.6-SN 计算方法见式(1)。

$$\text{pH 4.6-SN} = \frac{\rho_{\text{pH4.6}}}{\rho_{\text{总氮}}} \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中, $\rho_{\text{pH4.6}}$ 表示pH 值为4.6 的溶液上清液含氮量,mg/100 mL; $\rho_{\text{总氮}}$ 表示干酪总含氮量,mg/100 mL。

2) 12% 三氯乙酸-可溶性氮指标的测定。12% 三氯乙酸-可溶性氮(12% TCA-SN)指标代表干酪蛋白水解深度,表征干酪中的小分子肽(2~20 个氨基酸残基)、短肽等含量。精确量取pH 4.6-SN 溶液10 mL,加入等体积的质量分数为24%的三氯乙酸(TCA)溶液,充分混匀,25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴1 h,8 000 r/min 离心20 min。用滤纸过滤取上清液,得到12% TCA-SN 溶液。用凯氏定氮仪测定溶液含氮量,12% TCA-SN 计算方法见式(2)。

$$12\% \text{ TCA-SN} = \frac{\rho_{12\% \text{ TCA}}}{\rho_{\text{总氮}}} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中, $\rho_{12\% \text{ TCA}}$ 表示12% TCA 溶液上清液

含氮量,mg/100 mL; $\rho_{\text{总氮}}$ 表示干酪总含氮量,mg/100 mL。

3) 5% 磷钨酸-可溶性氮指标的测定。5% 磷钨酸-可溶性氮(5% PTA-SN)指标代表干酪蛋白质的二次水解程度,表征在发酵剂肽酶的作用下生成的游离氨基酸含量。精确量取pH 4.6-SN 溶液5 mL,加入3.5 mL 浓度为3.95 mol/L 的 H_2SO_4 和1.5 mL 质量分数为33.3%的磷钨酸溶液(PTA),混合均匀后静置,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,8 000 r/min 离心20 min,得到5% PTA-SN 溶液。取上清液,用凯氏定氮仪测定溶液含氮量,5% PTA-SN 计算方法见式(3)。

$$5\% \text{ PTA-SN} = \frac{\rho_{5\% \text{ PTA}}}{\rho_{\text{总氮}}} \times 100\% \quad (3)$$

式(3)中, $\rho_{5\% \text{ PTA-SN}}$ 表示5% PTA-SN 溶液上清液含氮量,mg/100 mL; $\rho_{\text{总氮}}$ 表示干酪总含氮量,mg/100 mL。

1.3.2.2 游离氨基酸的测定

取1 mL 的5% PTA-SN 溶液,用40% 氢氧化钠溶液调节pH 值为1.7~2.2,经0.22 μm 滤膜过滤后上机(全自动氨基酸分析仪)分析。

1.3.2.3 干酪水分含量的测定

根据GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》测量干酪水分含量,每个样品重复测定3次。

1.3.2.4 干酪pH 值的测定

取10 g 研磨均匀的干酪样品于小烧杯中,加入10 mL 去离子水,充分搅拌,摇匀后用pH 计测量读数,每个样品重复测定3次。

1.3.3 牦牛干酪风味物质的测定

1.3.3.1 样品预处理

萃取头为50/30 μm DVB/CAR/PDMS (1 cm),经过250 $^{\circ}\text{C}$ 老化1 h 后使用。精确称量1 g 研磨的

干酪样品,加入 1 μL 质量浓度为 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 2-甲基-3-庚酮(内标)后迅速搅拌,放入 20 mL 的顶空进样瓶中,50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育,插入萃取头吸附 40 min。

1.3.3.2 GC-MS 分析条件

选用 DB-Wax 毛细管柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm)。程序升温条件:50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 140 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min;以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min;以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 230 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min。以氦气为载气,流速为 1 mL/min。采用 EI 离子源,电子能量为 70 eV,离子源温度为 230 $^{\circ}\text{C}$,质量扫描范围为 30 ~ 500 u。扫描方式:全扫描,调谐文件为标准调谐。GC-MS 测定的挥发性物质数据根据 NIST 11 谱库检索。采用相同的升温程序,以正烷烃 C_6 - C_{25} 为标准,按式(4)计算化合物的保留指数。

$$LRI = 100 \times \left(n + \frac{Rt_x - Rt_n}{Rt_{n+1} - Rt_n} \right) \quad (4)$$

式(4)中, LRI 为保留指数; Rt 为保留时间, min; n 和 $n+1$ 为正构烷烃在未知物流出前后两个阶段中所含有的碳原子数。采用内标法计算各挥发性物质的相对含量。

1.4 数据处理

所有实验均进行 3 次平行测定,测定结果以平均值 \pm 标准偏差表示,用 Origin 软件进行图形分析,用 SPSS 19.0 对实验结果进行统计,采用 ANOVA 程序中的 Duncan 法进行显著性检验, $P < 0.05$ 表示差异显著。采用内标法对挥发性物质进行半定量分析。不同成熟时间样品之间风味物质显著性差异分析采用单因素方差分析,多重检验校正为 FDR, Post-hoc 检验方法为 Tukey-kramer,置信度设置为 0.95。

2 结果与分析

2.1 蓝纹牦牛干酪成熟过程中外观、水分与 pH 值的变化

牦牛乳固形物含量高,具有丰富的营养。肉眼观察显示娄地青霉能够在牦牛乳凝乳块上良好生长。蓝纹牦牛干酪成熟过程外观如图 2。由图 2 可见,成熟 3 d 干酪表面就被娄地青霉完全覆盖,成熟 46 d 后,干酪内部整体呈现乳黄色,内部间隙中娄地青霉生长良好,呈大理石蓝色花纹,说明娄地青霉在牦牛乳基质上生长良好。

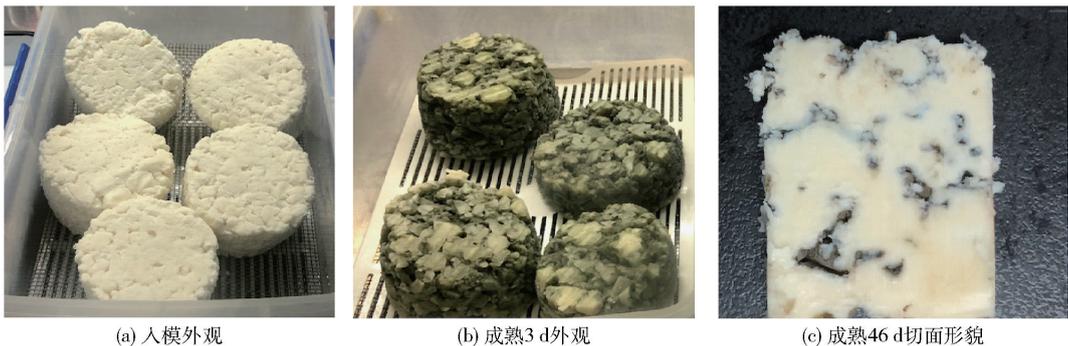


图 2 蓝纹牦牛干酪外观及切面形貌

Fig. 2 Appearance and cross-sectional morphology of blue style-yak milk cheese

水分含量和 pH 值对干酪的质构和口感有较大影响,实验结果如图 3。由图 3 可见,干酪在成熟过程中水分含量逐渐减少,这是由于干酪自身水分蒸发以及微生物生长消耗所致。在干酪成熟初期,成熟温度较高,水分含量下降速率较快;随着成熟温度降低,干酪表层被娄地青霉菌丝体包裹,水分蒸发作用受到阻碍,干酪的水分含量在成熟的中后期减少变缓。最终干酪样品水分含量稳定到 29.25% 左右,与蓝纹干酪变化趋势类似^[13]。牦牛干酪成熟初期,娄地青霉快速生长,释放的蛋白质水解酶水解蛋白产生 NH_4^+ ,中和消耗掉了一

部分乳酸菌产生的乳酸,使得干酪体系的 pH 值快速上升。随着干酪成熟温度降低,微生物代谢速率降低,pH 值逐渐稳定在 6.83 左右,接近中性,可以缓解干酪的酸味。

2.2 蓝纹牦牛干酪成熟过程中蛋白质降解指标变化

干酪成熟过程中蛋白质降解程度可用水溶性氮(ASN)含量占总氮(TN)的质量比来表示。蛋白质降解程度是评估干酪成熟最重要的指标之一,蓝纹牦牛干酪成熟过程中蛋白质降解指标的变化情况见图 4。由图 4 可知,牦牛干酪在成熟初期蛋白降解迅

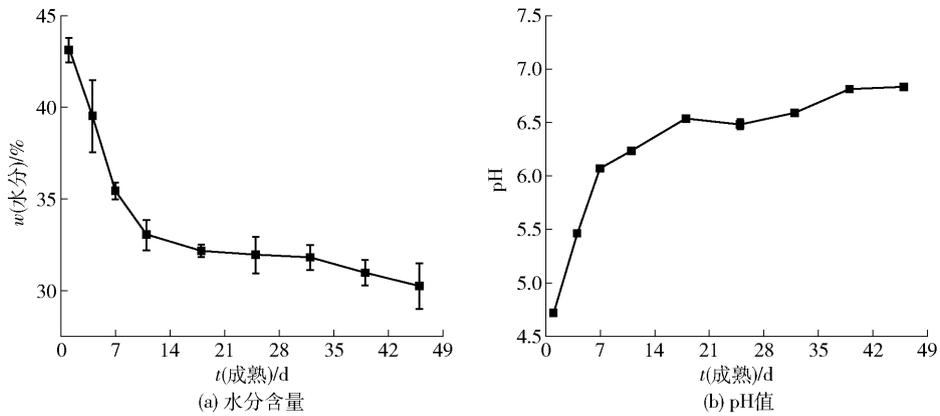


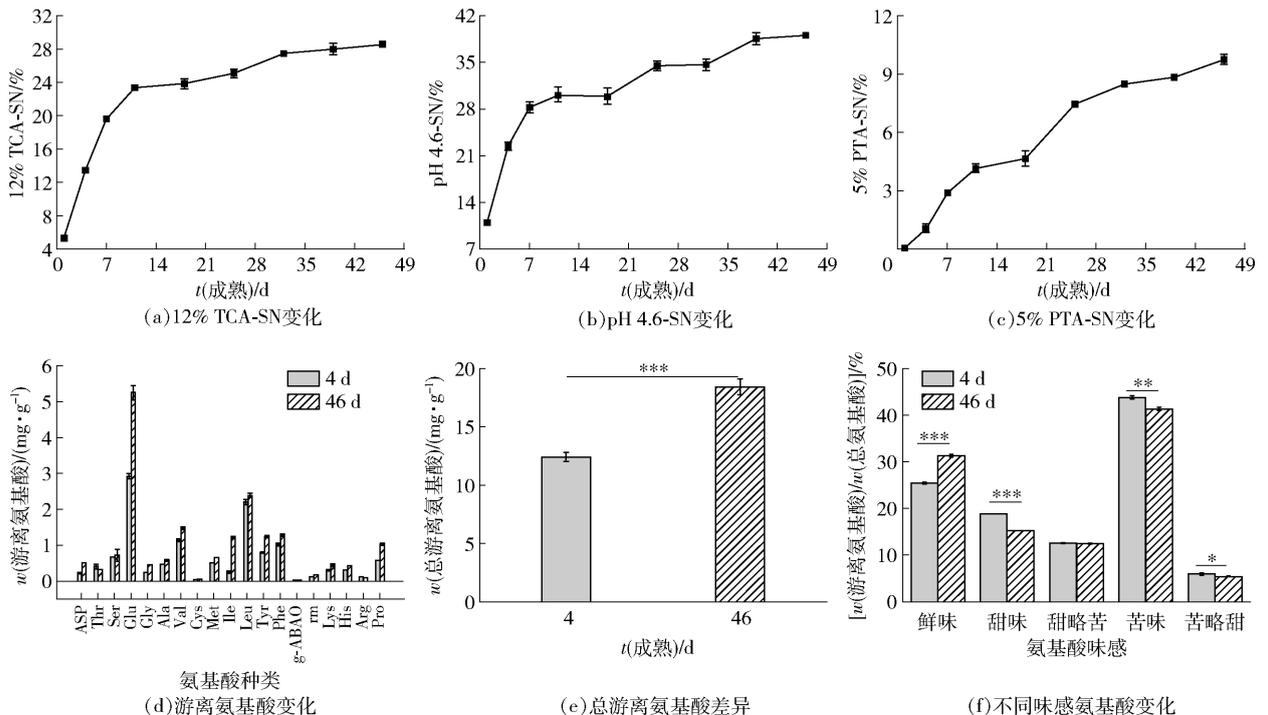
图3 蓝纹牦牛干酪水分含量和 pH 值的变化

Fig. 3 Changes in moisture and pH of blue style-yak milk cheese

速,随后上升趋势变缓。成熟 4 d 时,12% TCA-SN 为 5.17%,到成熟末期(46 d)时达到 28.56% [图 4(a)];而 pH 4.6-SN 由 10.96% 上升到 39.09% [图 4(b)];5% PTA-SN 在 1 d 时含量极低,随着成熟时间延长持续升高,到成熟 46 d 达到 9.75% [图 4(c)]。Masotti 等^[14]研究表明,Strachitunt 干酪(一种意大利蓝纹牛乳干酪)成熟 75 d 后,TCA-SN、PTA-SN 分别仅有 11.59%、3.47%,低于蓝纹牦牛干酪,说明娄地青霉对牦牛乳蛋白的降解程

度更好,有利于干酪的快速成熟,这也有利于提高原制干酪的安全性,避免环境微生物污染^[15]。一般来说,pH 4.6-SN 和 12% TCA-SN 分别代表蛋白水解的广度及深度。5% PTA-SN 代表蛋白质的二次水解程度,5% PTA-SN 是发酵剂肽酶的作用结果。本研究结果表明,蓝纹牦牛干酪在乳酸菌和娄地青霉的作用下蛋白质迅速降解,形成大量的多肽、氨基酸等,由此改善了干酪的质地与口感^[16]。

由图 4(d)可知,蓝纹牦牛干酪成熟过程中共检



* 表示组间数据差异显著($P < 0.05$), ** 表示组间数据差异较显著($P < 0.01$), *** 表示组间数据差异极显著($P < 0.001$)。

图4 蓝纹牦牛干酪成熟过程中蛋白质降解分析

Fig. 4 Analysis of protein degradation during maturation of blue style-yak milk cheese

测到19种游离氨基酸,其中谷氨酸(Glu)含量最高,其次为亮氨酸和缬氨酸。3种氨基酸质量的总和超过总游离氨基酸质量的50%,且其含量随着成熟时间的延长呈递增趋势,其中,Glu含量从2.93 mg/g(4 d)增加至5.26 mg/g(46 d)。牦牛干酪成熟后总游离氨基酸含量显著高于成熟初期,这与5% PTA-SN测定结果一致[图4(e)],表明蓝纹牦牛干酪富含游离氨基酸,具有丰富的营养。按照氨基酸的呈味特性,对测定的游离氨基酸进行分类,结果显示,蓝纹牦牛干酪成熟末期鲜味氨基酸的含量显著升高,而甜味、苦味以及苦略甜三类氨基酸含量显著降低[图4(f)]。与Danish蓝纹干酪相比,蓝纹牦牛干酪中鲜味氨基酸,如Glu含量占总氨基酸比例更高,而成熟过程中苦味氨基酸如Leu含量没有大量生成^[17]。与蓝纹牛乳干酪相比,蓝纹牦牛干酪中游离氨基酸含量更高,含量较高的氨基酸均为Glu、Leu等^[18]。游离氨基酸含量的分布与酪蛋白的水解路径密切相关,包括蛋白酶、多肽酶以及氨肽酶等多种酶解作用。Leu、Phe和Val是由 α s1酪蛋白占主导地位水解产生,而具有甜味的脯氨酸(Pro)与 β 酪蛋白水解有关^[19]。本研究利用娄地青霉制备的蓝纹牦牛干酪游离氨基酸含量高于蓝纹牛乳干酪,具有更加丰富的营养特性。

2.3 蓝纹牦牛干酪风味物质分析

2.3.1 风味物质总体变化分析

风味是干酪品质的关键构成因子。蓝纹牦牛干酪中挥发性物质测定结果如表1。由表1可知,采用GC-MS法共检测出53种挥发性物质,其中醇类14种,有机酸类9种,酯类14种,醛类3种,酮类有13种。图5为蓝纹牦牛干酪成熟过程中风味物质含量的变化。图5结果显示,与成熟1 d相比,成熟25 d和46 d样品的风味物质总含量显著增加,成熟中后期的成熟温度较低,因此,25 d和46 d干酪样品的风味物质总量并没有显著差异[图5(a)]。成熟25 d样品中有机酸类风味物质含量显著高于46 d样品;酯类风味物质含量在两组间没有显著性差异,然而,成熟46 d样品中酮类化合物的含量显著高于25 d样品[图5(b)]。这说明成熟末期(46 d)牦牛干酪的风味物质组成与成熟中期(25 d)存在一定差异,尤其是有机酸、醛类以及酮类风味物质,这其中娄地青霉可能起着重要的作用。娄地青霉在干酪成熟过程中能够分泌多种脂肪酶,

促进脂肪降解来源的风味物质合成^[20]。

2.3.2 蓝纹牦牛干酪成熟过程中风味成分变化分析

干酪成熟过程存在非常复杂的微生物催化以及化学性反应,氨基酸、脂肪酸以及糖类代谢产物在微生物等的作用下产生多种多样的风味物质。成熟中的干酪成分变化是一个动态过程,随着时间的延长,干酪中蛋白质和脂肪的降解产物迅速增加,而乳糖等糖类成分含量迅速减少,这也会影响干酪整体风味特征的变化。图6为牦牛干酪在成熟1、25 d以及46 d风味成分的变化情况。OPLS-DA分析结果显示,3组干酪样品风味物质组成有显著差异,能够得到良好的区分[图6(a)]。进一步通过堆叠图分析显示,与成熟1 d样品相比,成熟25、46 d两组样品的风味物质组成有着显著的差异,其中化合物et3(辛酸甲酯)、ke4(2-壬酮)以及ke2(2-庚酮)在牦牛干酪成熟过程中相对含量最高,占比达到50%左右[图6(b)]。气泡丰度图分析也有类似的结果,酮类化合物和酯类化合物在牦牛干酪成熟中后期(25、46 d)占比最高,对整体风味特征有着明显的影响。醇类化合物al2(甲醇)、al4(3-甲基-1-丁醇)等化合物在成熟初期(1 d)相对含量最高,而随着成熟时间延长,相对含量迅速下降;有机酸类化合物ac1(丁酸)、ac4(己酸)、ac5(辛酸)等组分在成熟中期(25 d)相对含量最高,成熟末期(46 d)相对含量迅速降低,而酮类化合物相对含量迅速升高[图6(c)]。蓝纹牦牛干酪成熟过程中有机酸类物质降低、甲基酮与甲酯类化合物含量升高,使得干酪的风味特征发生明显改变;而在Strachitunt干酪中短链有机酸类风味物质含量占比最高,其次为酯类和甲基酮类化合物^[14]。风味物质的变化对蓝纹牦牛干酪的风味特征有显著影响。丁酸、己酸、辛酸等有机酸类化合物具有刺激性的气味,如酸味、脂肪味、奶酪味以及肥皂味等风味特征;2-壬酮、2-庚酮等甲基酮类化合物具有果味、甜味、奶酪味等风味特征。这说明酪蛋白、乳脂肪等成分的降解产物在娄地青霉作用下,经过 β -氧化等反应转化为酮类、酯类成分,从而赋予牦牛干酪特有的风味^[6]。蓝纹牦牛干酪成熟后期短链脂肪酸含量减少能够降低干酪的辛辣刺激风味,而甲基酮类物质的升高使得蓝纹牦牛干酪的风味特征明显区别于细菌成熟的牦牛硬质干酪^[21]。

2.3.3 蓝纹牦牛干酪成熟过程中风味物质差异分析

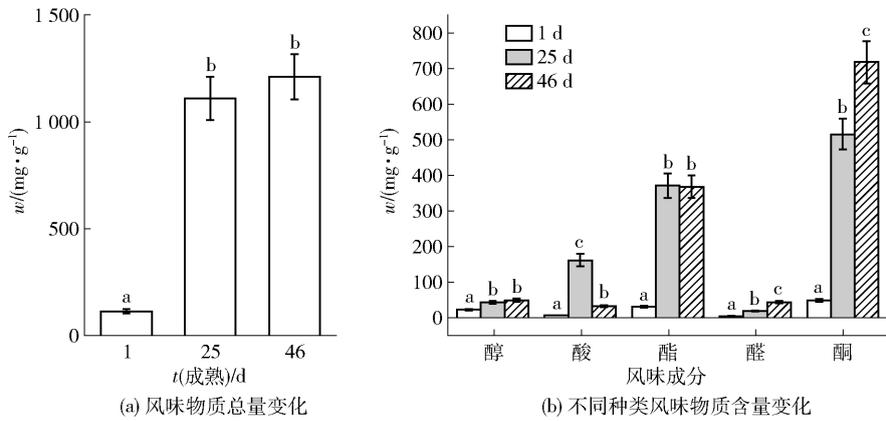
对牦牛干酪中醇、酸、酯以及酮等主要风味物质

表1 蓝纹牦牛干酪风味物质变化

Tab. 1 Changes of flavor components during ripening of blue style-yak milk cheese

序号	化合物	代码	鉴定方法*	保留指数	$w/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$		
					0 d	25 d	46 d
1	2-戊醇	al1	MS, RI	1 296	0.18 ± 0.02 ^a	2.61 ± 0.27 ^b	8.92 ± 0.33 ^c
2	甲醇	al2	MS, RI	563	3.81 ± 0.09 ^a	6.31 ± 0.65 ^b	11.95 ± 1.35 ^c
3	异丙醇	al3	MS, RI	915	0.00 ^a	3.32 ± 0.32 ^c	1.59 ± 0.47 ^b
4	3-甲基-1-丁醇	al4	MS, RI	1 217	9.59 ± 0.72 ^b	5.84 ± 0.29 ^a	6.31 ± 1.42 ^a
5	2-辛醇	al5	MS, RI	1 425	0.22 ± 0.04 ^a	10.26 ± 1.17 ^b	0.29 ± 0.03 ^a
6	乙醇	al6	MS, RI	917	0.11 ± 0.01 ^c	0.08 ± 0.01 ^b	0.00 ^a
7	2-庚醇	al7	MS, RI	1 322	2.63 ± 0.25 ^a	3.17 ± 0.44 ^a	11.03 ± 0.81 ^b
8	2-壬醇	al8	MS, RI	1 538	1.77 ± 0.08 ^a	3.76 ± 0.38 ^b	6.62 ± 0.47 ^c
9	苯乙醇	al9	MS, RI	1 950	1.20 ± 0.07 ^a	2.19 ± 0.21 ^c	1.52 ± 0.04 ^b
10	1-戊醇	al10	MS, RI	1 258	0.89 ± 0.04 ^b	1.12 ± 0.05 ^c	0.00 ^a
11	2-甲基-1-丙醇	al11	MS, RI	1 095	0.69 ± 0.04 ^c	0.42 ± 0.01 ^b	0.25 ± 0.02 ^a
12	1-辛烯-3-醇	al12	MS, RI	1 367	0.62 ± 0.02 ^b	1.67 ± 0.04 ^c	0.40 ± 0.08 ^a
13	1-壬醇	al13	MS, RI	1 673	0.80 ± 0.09 ^b	1.79 ± 0.09 ^c	0.15 ± 0.01 ^a
14	2-乙基-1-己醇	al14	MS, RI	1 469	0.69 ± 0.03 ^c	0.24 ± 0.11 ^b	0.00 ^a
15	丁酸	ac1	MS, RI	1 621	0.67 ± 0.06 ^a	30.56 ± 4.11 ^c	5.68 ± 0.37 ^b
16	3-甲基丁酸	ac2	MS, RI	1 126	0.75 ± 0.05 ^a	6.93 ± 0.82 ^c	2.59 ± 0.14 ^b
17	2-甲基丁酸	ac3	MS, RI	1 059	0.00 ^a	7.04 ± 0.41 ^c	2.72 ± 0.32 ^b
18	己酸	ac4	MS, RI	1 839	1.56 ± 0.12 ^a	45.38 ± 4.77 ^c	10.47 ± 1.15 ^b
19	辛酸	ac5	MS, RI	2 053	1.64 ± 0.11 ^a	33.91 ± 3.68 ^c	7.84 ± 0.58 ^b
20	正癸酸	ac6	MS, RI	2 387	0.00 ^a	21.16 ± 1.85 ^c	1.37 ± 1.08 ^b
21	乙酸	ac7	MS, RI	1 446	0.06 ± 0.01 ^a	4.59 ± 0.24 ^c	1.29 ± 0.07 ^b
22	戊酸	ac8	MS, RI	1 112	0.11 ± 0.02 ^a	8.92 ± 0.63 ^c	0.66 ± 0.12 ^b
23	3-丁烯酸	ac9	MS, RI	1 751	1.13 ± 0.06 ^b	3.19 ± 0.41 ^c	0.00 ^a
24	丁酸甲酯	et1	MS, RI	993	1.22 ± 0.04 ^a	41.67 ± 5.49 ^b	38.80 ± 2.86 ^b
25	己酸甲酯	et2	MS, RI	1 193	3.07 ± 0.42 ^a	12.85 ± 0.48 ^c	6.68 ± 0.57 ^b
26	辛酸甲酯	et3	MS, RI	1 404	14.36 ± 1.24 ^a	238.73 ± 20.48 ^b	235.12 ± 22.13 ^b
27	己酸异戊酯	et4	MS, RI	1 451	0.33 ± 0.02 ^a	2.11 ± 0.06 ^c	0.99 ± 0.06 ^b
28	丁酸乙酯	et5	MS, RI	1 037	0.00 ^a	4.59 ± 0.61 ^b	6.56 ± 0.78 ^c
29	癸酸甲酯	et6	MS, RI	1 593	0.28 ± 0.02 ^a	37.34 ± 3.92 ^c	7.77 ± 1.16 ^b
30	丁酸 3-甲基丙酯	et7	MS, RI	1 282	0.09 ± 0.01 ^b	0.11 ± 0.02 ^c	0.00 ^a
31	丁酸 1-甲基丁酯	et8	MS, RI	1 205	0.00 ^a	4.07 ± 0.14 ^c	1.36 ± 0.54 ^b
32	己酸乙酯	et9	MS, RI	1 227	9.48 ± 0.57 ^c	2.11 ± 0.08 ^b	0.43 ± 0.03 ^a
33	丁酸 3-甲基丁酯	et10	MS, RI	1 276	1.57 ± 0.08 ^a	2.80 ± 0.34 ^b	2.43 ± 0.10 ^b
34	壬酸甲酯	et11	MS, RI	1 589	0.28 ± 0.01 ^a	0.94 ± 0.05 ^b	2.11 ± 0.08 ^c
35	丙酸甲酯	et12	MS, RI	919	0.05 ± 0.01 ^a	3.30 ± 0.22 ^c	0.08 ± 0.01 ^b
36	癸酸乙酯	et13	MS, RI	1 642	0.00 ^a	17.15 ± 2.36 ^b	64.92 ± 4.54 ^c
37	乙酸甲酯	et14	MS, RI	839	0.54 ± 0.03 ^b	3.40 ± 0.23 ^c	0.00 ^a
38	癸醛	ad1	MS, RI	1 467	2.66 ± 0.32 ^a	7.16 ± 0.59 ^b	3.16 ± 0.43 ^a
39	3-甲基-丁醛	ad2	MS, RI	912	1.34 ± 0.07 ^b	1.02 ± 0.07 ^a	2.60 ± 0.14 ^c
40	2-壬烯醛	ad3	MS, RI	1 541	0.00 ^a	10.34 ± 1.72 ^b	37.57 ± 2.81 ^c
41	2-戊酮	ke1	MS, RI	989	2.49 ± 0.55 ^a	36.10 ± 2.35 ^b	142.54 ± 12.37 ^c
42	2-庚酮	ke2	MS, RI	1 180	28.40 ± 2.28 ^a	188.33 ± 10.16 ^b	175.75 ± 15.59 ^b
43	2-辛酮	ke3	MS, RI	1 305	0.59 ± 0.05 ^a	4.75 ± 0.27 ^b	37.13 ± 2.61 ^c
44	2-壬酮	ke4	MS, RI	1 386	14.38 ± 0.85 ^a	218.83 ± 17.84 ^b	235.28 ± 16.77 ^b
45	2-十一烷酮	ke5	MS, RI	1 593	0.65 ± 0.05 ^a	17.85 ± 6.33 ^b	39.61 ± 4.88 ^c
46	丙酮	ke6	MS, RI	812	1.31 ± 0.12 ^a	36.16 ± 3.97 ^b	65.24 ± 5.63 ^c
47	3-甲基-2-戊酮	ke7	MS, RI	1 106	0.00 ^a	0.13 ± 0.03 ^b	0.81 ± 0.03 ^c
48	4-苯基-2-丁酮	ke8	MS, RI	1 862	0.00 ^a	4.41 ± 0.58 ^b	13.57 ± 1.34 ^c
49	2-癸酮	ke9	MS, RI	1 488	0.00 ^a	0.46 ± 0.03 ^b	3.03 ± 0.18 ^c
50	2-己酮	ke10	MS, RI	1 049	0.17 ± 0.01 ^a	0.58 ± 0.08 ^b	2.03 ± 0.08 ^c
51	2-十二烷酮	ke11	MS, RI	1 714	0.00 ^a	5.93 ± 0.91 ^c	0.68 ± 0.02 ^b
52	3-辛酮	ke12	MS, RI	1 260	0.49 ± 0.04 ^b	0.32 ± 0.03 ^a	1.21 ± 0.04 ^c
53	2-丁酮	ke13	MS, RI	899	0.15 ± 0.01 ^b	0.76 ± 0.12 ^c	0.00 ^a

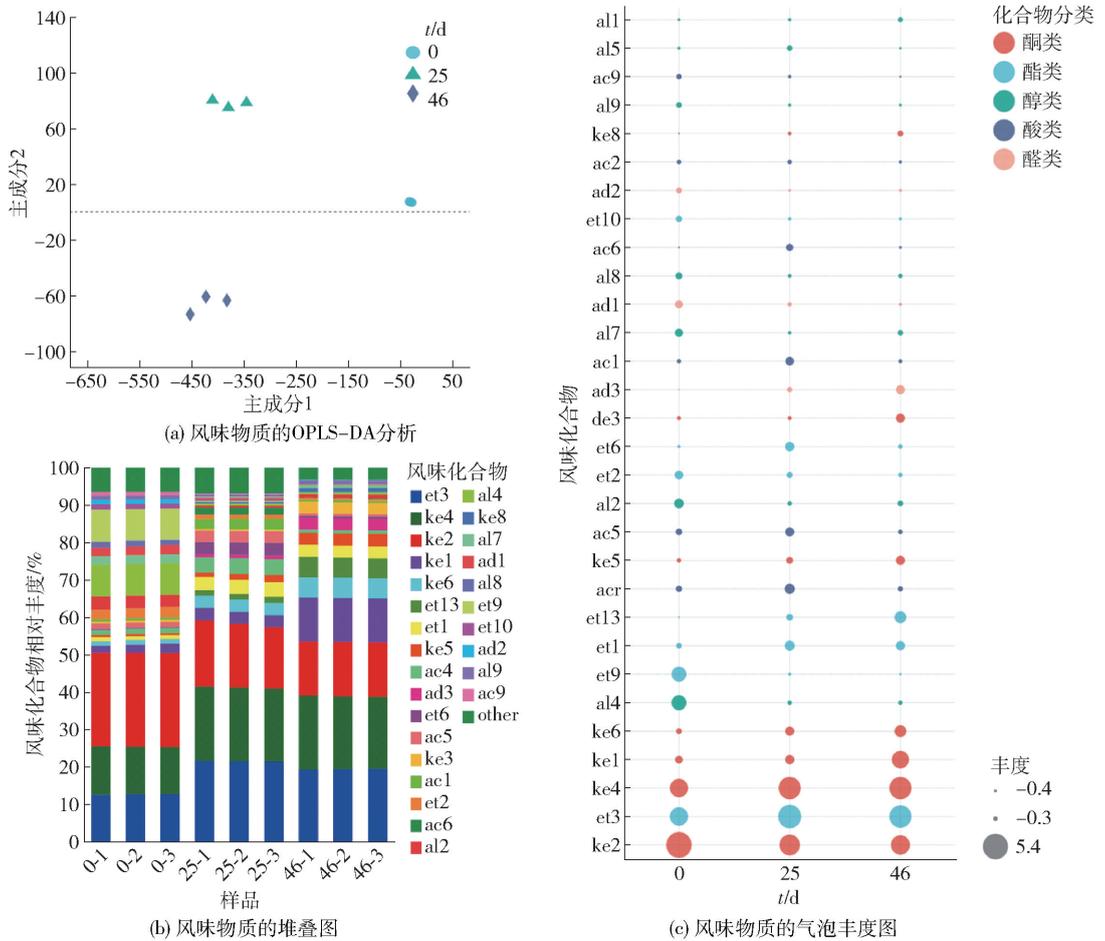
MS,挥发性物质通过MS数据鉴定;RI,挥发性物质通过标样进行鉴定,并与数据库进行对比(<http://webbook.nist.gov/>)。不同上标字母表示不同成熟时间样品之间挥发性物质相对含量差异显著($P < 0.05$)。



不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$)。

图5 蓝纹牦牛干酪成熟过程中风味物质总体变化

Fig. 5 Overall changes in flavor substance of blue style-yak milk cheese



图(b)中样品尾号1、2、3表示3个平行样品编号

图6 蓝纹牦牛干酪成熟过程中风味物质组成分析

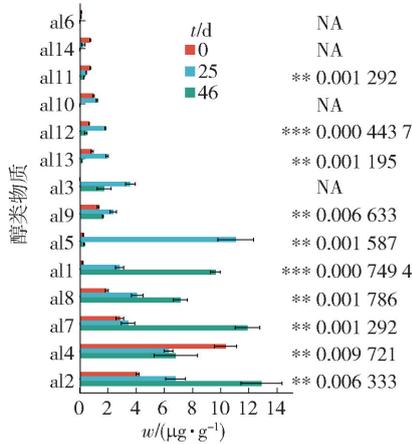
Fig. 6 Analysis of flavor composition of blue style-yak milk cheese

进行了差异分析,结果如图7。在醇类化合物中,牦牛干酪成熟初期(1 d)大部分醇类化合物含量较低,含量最高的3种分别为al2、al4和al7(2-庚醇),其

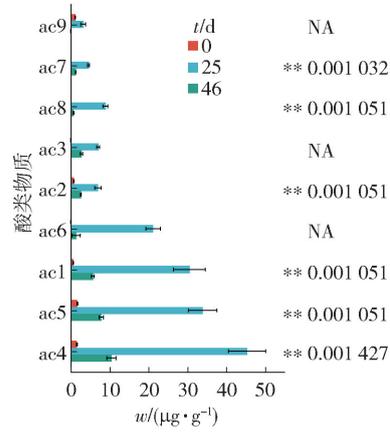
中al4含量最高,达到 $9.59 \mu\text{g/g}$;随着成熟时间的延长,醇类化合物的含量逐渐上升,尤其是al2、al1(2-戊醇)和al7等化合物。醇类化合物al5(2-辛

醇)在成熟中期(25 d)含量迅速增加($10.26 \mu\text{g/g}$),然而在成熟末期(46 d)含量迅速下降($0.29 \mu\text{g/g}$) [图7(a)].醇类化合物阈值较高,使得其对牦牛干酪风味贡献可能较小,然而醇类化合物可与脂肪酸进一步生成风味酯。醇类物质的生成与脂肪酸、氨基酸的代谢相关,如氨基酸经转氨反应生成 α -酮酸, α -酮酸进一步降解生成醛,醛还原为醇。

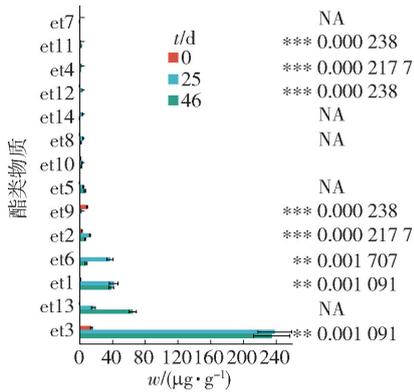
图7(b)显示,牦牛干酪成熟初期有机酸类化合物含量均较低,然而在成熟中期(25 d)所有有机酸类化合物含量均显著升高,其中ac4、ac5、ac1以及ac6(正癸酸)等4种有机酸含量最高。在成熟末期(46 d)有机酸类化合物的含量显著下降,相对含量最高的依次为ac4、ac5、ac1,其中ac4由 $45.38 \mu\text{g/g}$ (25 d)下降至 $10.47 \mu\text{g/g}$ (46 d),下降了76.93%,



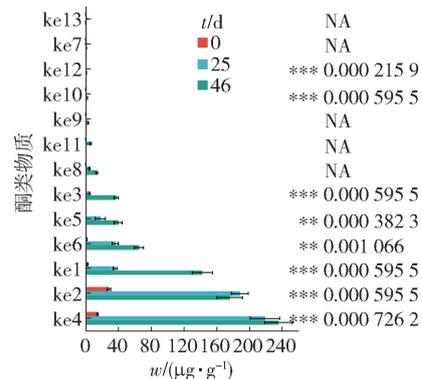
(a) 醇类化合物



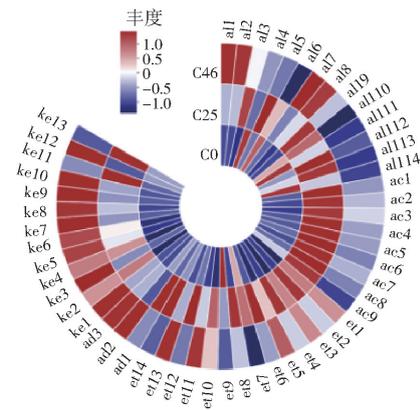
(b) 酸类化合物



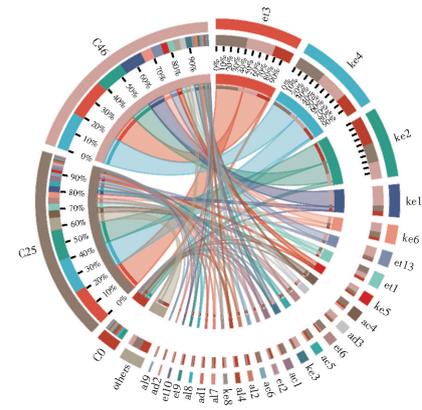
(c) 酯类化合物



(d) 酮类化合物



(e) 风味物质圆圈热图



(f) 风味物质相对丰度Circos图

NA 表示组间差异不显著; ** 表示组间差异较显著($P < 0.01$), *** 表示组间差异极显著($P < 0.001$)。

图7 蓝纹牦牛干酪成熟过程中风味物质组成显著性分析

Fig. 7 Analysis of difference of flavor components in blue style-yak milk cheese

有效地降低了蓝纹牦牛干酪的刺激性风味;在 Strachitunt 蓝纹干酪中,ac1(丁酸)、ac4(己酸)含量最高,对干酪的刺激性风味贡献较大^[14]。蓝纹牦牛干酪成熟过程中发酵剂所产生的脂肪酶会水解乳脂肪,生成大量短链脂肪酸(C_2 - C_{12}),而到成熟后期,脂肪酸经过 β -氧化等系列生化反应生成大量酮类化合物,导致有机酸类化合物含量显著下降。酸类化合物香气阈值低,且具有各自显著的特征风味,对干酪风味贡献较大^[22]。此外,短链脂肪酸还是酮、醇、酯等挥发性风味物质的前体。酸类物质主要由脂类水解、乳糖代谢以及蛋白质分解所形成的脂肪酸、氨基酸、乳酸等进一步代谢生成。

图7(c)显示,牦牛干酪中酯类化合物主要有 et3、et13(癸酸乙酯)、et1(丁酸甲酯)、et6(癸酸甲酯)等。大部分酯类化合物在成熟中后期含量显著上升,其中 et3 含量最高,且在成熟中后期含量较稳定,质量比达到 235.12 $\mu\text{g/g}$ 左右。酯类化合物是干酪中重要的呈香物质,大部分来自酸和醇的酯化反应。牦牛干酪成熟中后期产生了多种甲酯类化合物,这可能与前体物甲醇的合成有关,这与蓝纹牛奶干酪具有一定差异^[23]。酯类化合物具有果香和花香,更重要的是,在蓝纹干酪中酯类化合物还能够显著减弱酸类化合物所带来的酸败味与刺激风味,平衡干酪的整体风味^[24]。

图7(d)显示,牦牛干酪成熟初期产生的酮类化合物非常少,主要有 ke2、ke4、ke1(2-戊酮)等。在成熟中后期酮类化合物的合成显著增强,ke4、ke2、ke1、ke6(丙酮)等酮类化合物的含量显著提高,其中 ke4 含量最高,质量比达到 235.28 $\mu\text{g/g}$,其次为 ke2,这两种酮类化合物的含量在干酪成熟中后期无显著差异。然而,ke1、ke6、ke5(2-十一烷酮)、ke3(2-辛酮)等化合物在成熟末期含量要显著高于成熟中期。甲基酮类化合物的阈值较低,多通过脂肪酸氧化、脱羧而来,在干酪风味形成的过程中发挥着至关重要的作用^[25]。2-壬酮、2-庚酮等甲基酮类化合物来源于亚油酸等不饱和脂肪酸的氧化反应,其形成与娄地青霉菌有很大的关系,能够赋予牦牛干酪以花香、果香、草药香以及霉腐香气,对干酪风味形成具有积极作用,是蓝纹干酪等霉菌成熟干酪具有的独特风味物质^[26-27]。2-戊酮具有果香以及轻微的乳样香气,也是牦牛干酪成熟后期的主要风味物质^[28]。这与 Wolf 等^[23]的研究结果类似,奇数碳(C_3 - C_9)的甲基酮类化合

物是 Argentinean 蓝纹干酪中的主要酮类物质,其含量与组成对蓝纹干酪独特的风味有着重要的作用。

图7(e)、(f)展示了牦牛干酪在成熟过程中风味物质的变化以及贡献。结果显示,与成熟前期相比,牦牛干酪成熟末期酮类化合物的合成大幅度提升,而成熟中期是有机酸类化合物合成的活跃时期,相对含量最高的 et3、ke4、ke2、ke1 等化合物主要在成熟中后期合成。发酵剂种类以及原料乳营养组成会显著影响干酪的风味特征。牛婕等^[29]研究表明,牦牛干酪成熟 90 d 后主要以酸和醇类物质为主,仅检测出 2-庚酮等 4 种酮类化合物,总含量不到风味物质含量的 10%。张心予等^[21]研究表明,牦牛半硬质干酪主要特征风味物质为丁酸丁酯、丁酸、2-丁酮以及 1-丁醇等化合物。霍尚蕾等^[30]对细菌成熟 180 d 牦牛干酪风味进行研究也表明,酯类和部分甲基酮类化合物是特征挥发性物质。这表明,与细菌成熟干酪相比,娄地青霉对蓝纹牦牛干酪的风味物质组成影响非常明显,且蓝纹牦牛干酪的风味特征与牦牛硬质干酪具有显著差异^[31]。Ben 等^[32]对 6 种市售蓝纹干酪的风味物质进行了对比分析,结果表明不同地域的蓝纹干酪风味物质组成有一定差异,但是主要以酮类、酯类和醇类化合物为主,其中酮类化合物含量最高,含量排序依次为 2-庚酮、2-戊酮、2-丁酮,而这与蓝纹牦牛干酪的主要酮类化合物有所不同。娄地青霉的加入显著提高了牦牛干酪中甲酯类、甲基酮类风味物质的合成能力,使得其整体风味特征与其他干酪有着显著的区别。此外,牦牛乳营养成分含量与普通牛乳有较大差异,尤其是乳脂肪含量,因此在成熟过程中对风味也有着重要的影响。

3 结论

牦牛乳是一种具有优良营养特性的特色乳品种,虽然产量较低,但是其丰富的营养以及多种功能特性对丰富我国乳品市场有着重要的作用。牦牛乳的高干物质含量和高钙含量尤其适合制备干酪产品,然而目前对牦牛干酪的研究较少。因此,本研究以娄地青霉为发酵剂,开发了蓝纹牦牛干酪,并对其成熟特性以及特征风味物质进行研究。蓝纹牦牛干酪成熟过程中蛋白质降解程度较高,能够形成大量多肽以及氨基酸;此外,蓝纹牦牛干酪的风味物质组

成具有显著特征,2-壬酮、2-庚酮、2-戊酮、辛酸甲酯、己酸等风味化合物是牦牛干酪的主要风味物质。在蓝纹牦牛干酪成熟过程中,甲基酮类物质含量显著增加,酯类物质含量相对稳定,而脂肪酸类物质含量在成熟末期显著降低。本研究表明,娄地青霉非常适合制备牦牛干酪产品,有着成熟周期短、营养丰富等特点。娄地青霉发酵剂能够快速促进牦牛干酪的成熟,并且在成熟过程中能够迅速形成生长优势。蓝纹牦牛干酪在风味特征、蛋白降解等成熟特性方面与牦牛硬质干酪以及牛奶蓝纹干酪有着显著区别。本研究旨在为牦牛乳的精深加工奠定技术基础。

参考文献:

- [1] 代安娜,杨具田,丁波,等. 牦牛乳组分及功能特性研究进展[J]. 动物营养学报, 2022, 34(6): 3443 - 3453.
DAI A N, YANG J T, DING B, et al. Research progress on components and functional characteristics of yak milk [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(6): 3443 - 3453.
- [2] ZHANG W, CAO J L, WU S Z, et al. Anti-fatigue effect of yak milk powder in mouse model [J]. Dairy Science and Technology, 2015, 95(2): 245 - 255.
- [3] LI X T, ZHANG J, KONG X L, et al. Yak (*Bos grunniens*) milk improves bone mass and microarchitecture in mice with osteoporosis [J]. Journal of Dairy Science, 2022, 105(10): 7878 - 7890.
- [4] ZHANG W, WU S Z, CAO J L, et al. A preliminary study on anti-hypoxia activity of yak milk powder *in vivo* [J]. Dairy Science Technology, 2014, 94(6): 633 - 639.
- [5] 沈兴旺,李婉麒,赵创谦,等. 高品质牦牛发酵乳的成熟特性[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(20): 40 - 45.
SHENG X W, LI W Q, ZHAO C L, et al. Study on maturation characteristics of high-quality yak yogurt [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(20): 40 - 45.
- [6] BARS D L, GRIPON J C. Role of *Penicillium roqueforti* proteinases during blue cheese ripening [J]. Journal of Dairy Research, 1981, 48: 479 - 487.
- [7] SONGUL C, ENGIN G, HAYALOGLU A A, et al. Chemical and microbiological status and volatile profiles of mouldy Civil cheese, a Turkish mould-ripened variety [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2012, 47(11): 2405 - 2412.
- [8] AND S S, COTTENCEAU G. Current knowledge of soft cheeses flavor and related compounds [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(12): 4825 - 4836.
- [9] ZHANG J, YANG M, CAI D Y, et al. Composition, coagulation characteristics, and cheese making capacity of yak milk [J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(2): 1276 - 1288.
- [10] ZHANG Y, REN F Z, WANG P J, et al. The influence of yak casein micelle size on rennet-induced coagulation properties [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 101(1): 327 - 333.
- [11] 刘瑶,乔海军,贾志龙,等. 气相色谱-离子迁移谱结合化学计量学分析成熟时间对牦牛乳干酪挥发性风味物质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(17): 265 - 272.
LIU Y, QIAO H J, JIA Z L, et al. Effect of ripening time on volatile flavor compounds of yak milk cheese based on GC-IMS and chemometrics analysis [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(17): 265 - 272.
- [12] LECLERCQPERLAT M N, OUMER A, BUONO F, et al. Behavior of *Brevibacterium linens* and *Debaryomyces hansenii* as ripening flora in controlled production of soft smear cheese from reconstituted milk: protein degradation [J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83(8): 1674 - 1683.
- [13] BELEN F A, RUASMADIEDO P, ALONSO L, et al. Microbial, chemical and sensorial variables of the Spanish traditional blue-veined Cabrales cheese, as affected by inoculation with commercial *Penicillium roqueforti* spores [J]. European Food Research Technology, 2006, 222(3/4): 250 - 257.
- [14] MASOTTI F, CATTANEO S, STUKNYTE M, et al. Composition, proteolysis, and volatile profile of Strachitunt cheese [J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(3): 1679 - 1687.
- [15] 杨贞耐,张健. 干酪质量安全问题与控制技术[J]. 食品科学技术学报, 2015, 33(6): 11 - 17.
YANG Z N, ZHANG J. Research advances and development trends in cheese safety and quality control [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 33(6): 11 - 17.
- [16] DIEZHANDINO I, FERNANDEZ D, GONZALEZ L, et al.

- Microbiological, physico-chemical and proteolytic changes in a Spanish blue cheese during ripening (Valdeón cheese) [J]. *Food Chemistry*, 2015, 168(S): 134 – 141.
- [17] MANE A, CIOCIA F, BECK T K, et al. Proteolysis in Danish blue cheese during ripening [J]. *International Dairy Journal*, 2019, 97: 191 – 200.
- [18] 刘雅楠, 王青华, 赵征. 蓝纹干酪成熟期间氨基酸的变化研究[J]. *中国乳品工业*, 2008, 36(1): 4 – 7.
LIU Y N, WANG Q H, ZHAO Z. Variety of free amino acid of blue cheese ripening [J]. *China Dairy Industry*, 2008, 36(1): 4 – 7.
- [19] POVEDA J M, CABEZAS L, MCSWEENEY P L H. Free amino acid content of Manchego cheese manufactured with different starter cultures and changes throughout ripening [J]. *Food Chemistry*, 2004, 84(2): 213 – 218.
- [20] MASE T, MATSUMIVA Y, MATSUURA A. Purification and characterization of *Penicillium roqueforti* IAM 7268 lipase [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1995, 59: 329 – 330.
- [21] 张心予, 张兰俊, 张玉, 等. 促成熟牦牛乳半硬质(切达)干酪成熟特性及挥发性风味物质变化研究[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(20): 169 – 175.
ZHANG X Y, ZHANG L J, ZHANG Y, et al. Changes of ripening characteristics and volatile flavor compounds of accelerate-ripening yak milk semi-hard (Cheddar) cheese [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(20): 169 – 175.
- [22] KENDIRCI P, SALUM P, BAS D, et al. Production of enzyme-modified cheese (EMC) with ripened white cheese flavour: II-effects of lipases [J]. *Food and Bioproduct Processing*, 2020, 122: 230 – 244.
- [23] WOLF I V, PEROTTI M C, ZALAZAR C A. Composition and volatile profiles of commercial Argentinean blue cheeses [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(2): 385 – 393.
- [24] MOIO L, PIOMBINO P, ADDEO F. Odour-impact compounds of Gorgonzola cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 2000, 67: 273 – 285.
- [25] VOIGT D D, CHEVALIER F, QIAN M C, et al. Effect of high-pressure treatment on microbiology, proteolysis, lipolysis and levels of flavour compounds in mature blue-veined cheese [J]. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 2010, 11(1): 68 – 77.
- [26] TEKIN A, HAVALOGLU A H. Understanding the mechanism of ripening biochemistry and flavour development in brine ripened cheeses [J]. *International Dairy Journal*, 2023, 137: 105508.
- [27] CARON T, PIVER M L, ANNE-CLAIRE PERON A C, et al. Strong effect of *Penicillium roqueforti* populations on volatile and metabolic compounds responsible for aromas, flavor and texture in blue cheeses [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 354: 109174.
- [28] COLLINS Y F, MCSWEENEY P L H, 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.
- [29] 牛婕, 甘伯中, 乔海军, 等. 牦牛乳软质干酪成熟期挥发性风味成分分析 [J]. *食品科学*, 2010, 18: 278 – 282.
NIU J, GAN B Z, QIAO H J, et al. Analysis of volatile compounds in Yak's milk soft cheese during ripening [J]. *Food Science*, 2010, 18: 278 – 282.
- [30] 霍尚蕾, 乔海军, 贾志龙, 等. 基于 HS-GC-IMS 和化学计量学分析牦牛乳干酪成熟过程中挥发性风味物质的变化 [J]. *食品与发酵科技*, 2022, 58(4): 1 – 7.
HUO S L, QIAO H J, JIA Z L, et al. HS-GC-IMS and chemometrics based analysis of volatile flavor compounds variation in yak milk cheese at ripening process [J]. *Food and Fermentation Science & Technology*, 2022, 58(4): 1 – 7.
- [31] 赵华, 郑喆, 张曼, 等. 解淀粉芽孢杆菌 GSBa-1 凝乳酶对羊奶干酪成熟特性的影响 [J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(4): 74 – 84.
ZHAO H, ZHENG Z, ZHANG M, et al. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* GSBa-1 rennet on ripening properties of goat milk cheese [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(4): 74 – 84.
- [32] BEN L J, DELAHUNTY C M, SHEEHAN J, et al. Relationships between sensory attributes and the volatile compounds, non-volatile and gross compositional constituents of six blue-type cheeses [J]. *International Dairy Journal*, 2003, 13(6): 481 – 494.

Analysis of Ripening Characteristics and Flavor of Blue Style-Yak Milk Cheese

YANG Wanling¹, SHEN Xingwang², CUI Fengyi², WANG Guangqiang², SONG Xin²,
YANG Yijin², XIONG Zhiqiang², ZHANG Hui², AI Lianzhong², XIA Yongjun^{2,*}

(1. School of Public Administration, Shanghai Open University, Shanghai 200433, China;

2. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology/
Shanghai Engineering Research Center of Food Microbiology, Shanghai 200093, China)

Abstract: Yak milk has nutritional properties of high protein and high fat content, and has good functional activities, such as anti-fatigue. However, due to the low production of yak milk and the scattered production area, there was limited research on the development of cheese products and other deep processing aspects. *Penicillium roqueforti* (*P. roqueforti*) was used as a secondary starter to develop blue style-yak milk cheese, and its ripening characteristics and flavor characteristics were analyzed. Results showed that *P. roqueforti* could grow rapidly in yak milk cheese, promoted the degradation of proteins, and formed a large number of peptides, amino acids, etc. The content of free amino acids, especially unami amino acids, was significantly increased at the end of yak milk cheese maturity ($P < 0.05$). SPME-GC/MS analysis showed that a total of 53 flavor components were detected in yak milk cheese. OPLS-DA analysis revealed that compared with the early stage of ripening, the composition of flavor components in yak milk cheese at the end of ripening was significantly different, and the total content was significantly increased ($P < 0.05$). The volatile aliphatic esters in yak milk cheese were mainly methyl esters, and the content was relatively stable in end stage (25 d, 46 d) of ripening. The content of volatile fatty acid was highest in the middle stage of ripening, but significantly decreased at the end of ripening ($P < 0.05$). The concentration of volatile aliphatic ketones, especially methyl ketones, increased significantly in the end ripening stages ($P < 0.05$). 2-Nonanone, 2-heptane, methyl octanoate, 2-pentanone, ethyl caprate, methyl caprate, caproic acid, 2-octanone, butyric acid and other volatile compounds were quantitatively dominant flavor components of blue style-yak milk cheese. The study showed that *P. roqueforti* could promote the ripening of yak milk cheese, which could significantly affect the nutrition and flavor characteristics of yak milk cheese. The research aimed to lay a theoretical foundation for the deep processing of characteristic dairy products such as yak milk in China, and provide reference for promoting the development of China's characteristic dairy deep processing industry.

Keywords: yak milk; cheese; *Penicillium roqueforti*; ripening characteristics; flavor

(责任编辑:叶红波)