刘巨龙, 郭勇, 李子强, 等. 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳质构和风味的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(2): 84−93. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010212
LIU Julong, GUO Yong, LI Ziqiang, et al. Effects of Neutral Protease on the Texture and Flavor of High-protein Fermented Milk[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(2): 84−93. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010212

·研究与探讨·

中性蛋白酶对高蛋白发酵乳质构和风味的影响

刘巨龙[1,2], 郭　勇[1,+], 李子强[1], 李树森[1,2], 刘　洋[1], 孙二娜[1], 沈齐若男[1], 王月娇[1], 王辰元[1,2,*]
（1.蒙牛高科乳制品（北京）有限责任公司, 北京 101107;
2.内蒙古蒙牛乳业（集团）股份有限公司, 内蒙古呼和浩特 011500）

摘　要: 为探究不同来源中性蛋白酶对高蛋白发酵乳质构特性和风味物质的影响，从而改善高蛋白发酵乳的口感、风味和饮用体验。本研究将两种不同来源的中性蛋白酶 ADMIL（AD）和 Galaya smooth（GS）分别按照 0.02% 和 0.012% 的质量添加量加入蛋白质含量为 6 g/100 g 的高蛋白酸奶发酵基料中，42 ℃ 发酵完毕后，对成品粘度、强度硬度、摩擦系数、持水力等质构表征进行检测，同时检测了两种酶对高蛋白发酵乳风味物质的改变情况。结果显示，与未添加蛋白酶的对照样相比，AD 酶解样和 GS 酶解样的粘度分别下降了 8.9%、5.3%，凝胶强度均降低 42.1%，硬度分别降低 33.3% 和 41.7%，粒径和摩擦系数降低。持水力略微降低，但无显著差异（$P>0.05$）。感官评测结果显示，添加中性蛋白酶优化了高蛋白发酵乳的饮用体验。进一步的挥发性物质检测分析发现，两组酶解发酵乳风味物质含量和种类有一定程度的增加，其中 AD 酶样品中正戊酸、羟基丙酮、丁酸、2-羟基-3-戊酮、仲丁醇、肉豆蔻酸、苯甲酸、2,3-戊二酮、(+)-柠檬烯、3-羟基-2-丁酮等化合物浓度有明显提升，GS 酶组中正戊酸、丁酸浓度有明显提升，总体看 AD 酶解样的风味提升效果更显著。综上所述，中性蛋白酶可以降低高蛋白发酵乳粘度、粒径和摩擦系数的效果，对产品风味有显著提升效果，具备较大的应用潜力。

关键词: 中性蛋白酶, 高蛋白酸奶, 质构, 风味物质, ADMIL 蛋白酶, 摩擦系数
中图分类号: TS252.42　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)02−0084−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010212　　本文网刊:

Effects of Neutral Protease on the Texture and Flavor of High-protein Fermented Milk

LIU Julong[1,2], GUO Yong[1,+], LI Ziqiang[1], LI Shusen[1,2], LIU Yang[1], SUN Erna[1], SHEN Qiruonan[1], WANG Yuejiao[1], WANG Chenyuan[1,2,*]
（1.Mengniu Hi-tech Dairy (Beijing) Co., Ltd., Beijing 101107, China;
2.Inner Mongolia Mengniu Dairy Industry (Beijing) Co., Ltd., Hohhot 011500, China）

Abstract: The objective of this study was to investigate the effects of neutral proteases from different sources on the textural properties and flavor compounds of high-protein fermented milk, so as to improve the taste, flavor, and drinking experience of high-protein fermented milk. In this study, two neutral proteases—ADMIL (AD) and Galaya smooth (GS)—were added at mass concentrations of 0.02% and 0.012%, respectively, to a high-protein yogurt base with a protein content of 6 g/100 g. After fermentation at 42 ℃, the final products were characterized for textural properties including viscosity, gel strength, hardness, friction coefficient, and water-holding capacity, while changes in flavor compounds induced by the two enzymes were also analyzed. Results showed that compared with the control sample without protease addition, the AD-treated and GS-treated samples exhibited decreases in viscosity by 8.9% and 5.3%, respectively, a 42.1%

收稿日期: 2025−01−21　　+并列第一作者
作者简介: 刘巨龙（1978−）, 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 乳品工艺与营养, E-mail: liujulong@mengniu.cn。
郭勇（1997−）, 男, 硕士, 研究方向: 乳品工艺与营养, E-mail: guoyong1@mengniu.cn。
*** 通信作者:** 王辰元（1989−）, 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 乳品工艺与营养, E-mail: wangchenyuan@mengniu.cn。

reduction in gel strength, and decreases in hardness by 33.3% and 41.7%, respectively. Particle size and friction coefficient were also reduced, while water-holding capacity slightly decreased with no significant difference (P>0.05). Sensory evaluation indicated that the addition of neutral proteases improved the drinking experience of high-protein fermented milk. Further analysis of volatile compounds revealed an increase in the content and variety of flavor compounds in both enzyme-treated samples. Among them, the concentrations of flavor compounds such as n-pentanoic acid, hydroxyacetone, butyric acid, 2-hydroxy-3-pentanone, sec-butanol, myristic acid, benzoic acid, 2,3-pentanedione, (+)-limonene, and 3-hydroxy-2-butanone were significantly increased in the AD-treated sample. In the GS-treated sample, the concentrations of n-pentanoic acid and butyric acid were significantly increased. The AD-treated sample showing a more pronounced flavor enhancement. In conclusion, neutral proteases effectively reduced the viscosity, particle size, and friction coefficient of high-protein fermented milk, significantly improved its flavor, and demonstrated substantial application potential.

Key words: neutral protease; high-protein yogurt; texture; flavor substances; ADMIL protease; friction coefficient

发酵乳是指以生牛(羊)乳或乳粉为原料，杀菌后接种乳酸菌进行发酵而获得的酸度增加且粘度变高的乳制品[1]。近年来，随着消费者对营养健康需求的逐渐增加，蛋白质含量成为了衡量酸奶产品营养价值的重要指标，传统发酵乳蛋白含量通常在 2.8~3.0 g/100 g 之间，高蛋白发酵乳虽未有统一的定义，但一般指蛋白质含量高于 4 g/100 g 的发酵乳。目前市售的高蛋白酸奶大多通过膜浓缩技术或直接添加蛋白粉来提高蛋白含量[2−3]。高蛋白酸奶虽然具备更高的营养价值，但通常其质构不够细腻、口感粗糙并伴有少量蛋白结块，严重影响了消费者的消费体验[4−5]。因此，如何改善发酵乳质构及口感已成为高蛋白发酵乳开发方面的重要热点问题。

近年来，国内外学者对于高蛋白体系的质构优化已有一定进展。如梁佳祺等[6] 通过优化蛋白粉、变性淀粉和琼脂的比例提升了高蛋白酸奶的质构稳定性。李星岩等[7] 使用海藻酸丙二醇酯、果胶、大豆多糖和羧甲基纤维素钠的复配稳定剂，制备的发酵乳显著降低了乳清析水分层或蛋白聚集的现象。上述研究主要是利用稳定剂的添加来改善发酵乳质构，但并不能改善高蛋白发酵乳的感官问题。从机制上分析，高蛋白发酵乳的口感粗糙主要是由于蛋白质含量的升高导致的粘稠度增加，降低蛋白质结构特性有利于改善其口感[4]。水解蛋白酶是一类能将蛋白质水解为小分子肽的酶，其来源包括枯草芽孢杆菌、米曲霉菌和白色链酶菌等微生物以及部分动物胰腺，水解蛋白酶可分为酸性蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶。其中中性蛋白酶最适 pH 在 6.5~7.5，更适合牛乳的 pH 环境[8]。中性蛋白酶处理酪蛋白后不仅能降低其粘度，还能产生更多的活性肽成分[9]。同时，中性蛋白酶处理还能对体系的风味产生有利作用，比如鸡蛋经中性蛋白酶处理后其酶解液的蛋腥味得到了显著抑制[10]。

目前中性蛋白酶主要应用于功能肽制备、啤酒生产以及香精香料生产中，但其在发酵乳中的应用研究比较有限，对于高蛋白发酵乳体系的质构、风味和口感的影响还未见报道。本研究选择了两种不同微生物来源的中性蛋白酶：分离自镰刀菌的中性蛋白酶 Galaya Smooth 和分离自多粘芽孢杆菌的中性蛋白酶 ADMIL。本文以这两种蛋白酶为研究对象，研究其对于高蛋白发酵乳质构及风味的影响，重点研究对比两种中性蛋白酶对高蛋白酸奶的粘度、硬度强度、粒径、摩擦系数、持水力及风味物质等指标的影响。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

生牛乳(蛋白含量≥3.2 g/100 mL)　蒙牛高科乳制品(北京)有限责任公司；白砂糖　中粮糖业控股股份有限公司；酸奶发酵剂(Premium 1，含嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌的组合复配)、丝氨酸内切蛋白酶 Galaya smooth(镰刀菌来源)，酶活力 6000 U　诺和新元公司；中性蛋白酶 ADMIL(多粘芽孢杆菌来源，酶活力 5000 U)　日本 Oenon 公司；BCA 蛋白检测试剂盒、彩虹预染蛋白 Marker　10~180 kDa，上海碧云天生物技术有限公司；考马斯亮蓝 R-25、上样缓冲液　美国 Amresco 公司。

EASYCREAM PRO 离心除菌机　美国 SPX 公司；Pilot Plant P&F UF 超滤膜设备　瑞典利乐公司；APV-1000 板式杀菌机、BIOFLO115 发酵罐　日本岩井公司；Ystral 平滑泵　德国 Ystral 公司；FE28 pH 检测仪　瑞士梅特勒公司；MCR302e 流变仪、T-PTD200 摩擦学模块　奥地利安东帕公司；TA-XT plus TPA 质构分析仪　中国超技仪器有限公司；Synergy H7 酶标仪、Bio-rad 电泳装置、Chemi doc™ XRS 凝胶成像系统　美国 Biotek 公司；TDU 热解吸装置　德国 Gerstel 公司；7890A-7000 气相色谱串联三重四极杆质谱(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)、DB-WAX 色谱柱(30 mm×0.25 mm×0.25 μm)　美国 Agilent 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　酸奶制备工艺　参照崔艳伟等[4] 的方法并稍作修改。

离心除菌：使用孔径为 100~120 目的滤网去除生牛乳其中的尘埃等杂质，再使用离心机 25 ℃，5000 r/min 离心去除生牛乳中非乳细胞和微生物。

膜浓缩：在低于 10 ℃ 条件下，使用超滤膜过滤

设备对过滤完毕的牛乳进行二倍浓缩, 获得蛋白质含量 6.1 g/100 mL 的高蛋白浓缩牛奶 171 kg, 用于制备“冷萃”酸奶, 装入混料罐。

化料: 在浓缩牛奶中加入 9 kg 白砂糖, 开启搅拌混料 5 min。

预巴氏杀菌、均质及杀菌: 将搅拌均匀的物料泵送进巴氏杀菌线 65 ℃ 预巴氏杀菌, 随后进入均质机 200 bar(低压 40, 高压 160)下进行一次均质, 最后将料液送入板式杀菌机中 95 ℃ 高温杀菌 5 min。

接种: 将高温杀菌完毕的物料降温至 42 ℃, 添加 14.4 g 发酵剂 Premium 1, 搅拌混合 5 min。

分罐: 将接种完毕后的发酵基料进行分罐, 对照罐、GS 酶解罐和 AD 酶解罐, 每罐 60 kg。

加酶: 对照样不添加酶, 于 42 ℃ 下正常启动发酵, GS 罐加入 Galaya smooth 蛋白酶 7.2 mL, AD 罐加入 ADMIL 蛋白酶 12 mL, 同样在 42 ℃ 下启动发酵。

破乳: 当罐中发酵乳的 pH 达到 4.6 时, 开启搅拌桨, 破乳 5 min。

打冷灌装: 破乳完毕后将料液泵送平滑泵, 平滑开度 5%, 打冷温度 10 ℃, 进行灌装。

1.2.2 pH 的检测 使用 pH 检测仪对样品进行 pH 检测。

1.2.3 粘度检测 使用安东帕 MCR302e 流变仪对样品的粘度进行检测, 设定剪切速率 γ 为 64 1/s, 温度设定为 10 ℃。

1.2.4 质构特性检测 强度及硬度的检测方法: 使用 TPA 质构分析仪, 配 TA11/1000 标准圆柱状探头, 测试前速度、测试速度及测试后速度均为 0.5 mm/s, 冲压深度为 10 mm, 时间 10 s, 触发力 0.1 g。

1.2.5 粒径检测 参考张丽静等[10] 的方法并进行修改。测试前用水将酸奶稀释 10 倍, 将酸奶稀释液滴加至样品池中, 使样品池遮光率达到 50%, 1000 r/min 下连续测量 5 次, 样品和水的折射率分别为 1.46 和 1.33。

1.2.6 摩擦系数检测 使用安东帕的流变仪, 参考之前的文献方法, 应用三板球摩擦系数检测模块进行检测[11]。过程参数设置振荡应变扫描的角频率为 ω=10 rad/s, 应变幅值为 γ=0.001%, 法向力变动范围在 0.01~1 N, 温度设定为 10 ℃。

1.2.7 持水力检测 参照 ABDEL-HAMID 等[12] 的方法, 采用离心法测定样品持水力。取 20 g 发酵乳样品于 50 mL 离心管中(空离心管的重量记为 W_0, 总重量记为 W_1), 4000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 称量剩余质量 W_2, 计算持水力:

$$持水力(\%) = (W_2-W_0)/(W_1-W_0)\times 100$$

1.2.8 感官评测 由 34 位来自研发中心的专业感官测试人员(年龄 25~45 岁, 男女各 17 位), 按照统一的感官评价标准对样品进行评定, 具体评分标准见表 1。

1.2.9 挥发性化合物的测定 参考 Liu 等[13] 的方法检测样品挥发性物质, 略有更改。采集方法为动态顶空采样: 取发酵乳样品 45 g, 添加超纯水 45 g 和 NaCl 27 g 混合均匀后倒入 250 mL 的动态顶空瓶中, 加入 10 μL (0.816 μg/μL) 2-甲基-3-庚酮, 在 40 ℃ 下恒温搅拌 20 min, 速度 800 r/min, 然后用氮气(纯度为 99.9992%)以 100 mL/min 的流速吹扫 50 min, 将样品的挥发物吸收到插在顶空瓶上方的 Tenax TA 玻璃热脱附管中。在放入热解吸装置进行分析之前, 将管干燥 10 min 以除去水分。一个样品测三次平行。

GC-MS 采用程序升温, 起始温度设置为 35 ℃, 保持 3 min, 以 3 ℃/min 的速率将温度升至 80 ℃, 保持 1 min, 以 10 ℃/min 的速率将温度升至 230 ℃, 保持 5 min, 最后以 10 ℃/min 速率升温至 250 ℃, 保持 3 min 结束。载气为超高纯度氮气, 汽化室温度 250 ℃, 不分流进样。MS 条件: 电离方式 EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 ℃, 质量扫描范围 35~500 m/z, 发射电流 100 μA, 检测电压 1.4 kV, 无溶剂延迟。

使用质谱法对化合物进行鉴定。用 NIST 17 质谱检索程序库对质谱峰进行比较, 并通过计算线性保留指数确认已识别的化合物。用一系列正烷烃(C8~C20)得到了各挥发性化合物的线性保留指数。风味化合物扫描使用 Aroma office odor database 风味数据库(德国 Gestel 公司)对检出的化合物进行匹配并确定其风味描述, 该数据库中含有超过 110000 个风味化合物及其风味属性词条, 可以自动

表 1 搅拌型发酵乳感官评分标准

Table 1 Sensory evaluation standards for stirred fermented milk

类别	指标	评分标准		
		17~20分	12~16分	0~11分
外观	色泽	呈乳白色或微黄色	颜色偏黄	异常颜色
	乳清析出	产品表面无乳清析出	产品表面存在少量乳清析出	产品表面有大量乳清析出
质地	组织状态	组织细腻、均匀, 风味发酵乳具有添加成分特有的组织状态。勺子背面无颗粒和块状物	组织细腻、均匀, 风味发酵乳具有添加成分特有的组织状态。勺子背面有少于10个颗粒、块状物	勺子背面的颗粒、块状物多于10个
风味	饮用品尝	具有浓郁的发酵乳风味	具有正常的发酵乳风味	没有正常发酵乳的风味或有不良风味

匹配其化合物的风味。

1.2.10　SDS-PAGE 电泳　发酵乳的样品前处理及蛋白质 SDS-PAGE 电泳方法参考包艳青[14] 的方法，略有更改。

前处理：取不同发酵时期的发酵乳样品各 1 mL，冰浴保存。在离心管中加 200 μL 的裂解液（纯水∶蛋白酶裂解液∶磷酸酶裂解液=50∶1∶1），3 粒玻璃珠以及冰浴的样品 500 μL，继续冰浴。进行超声处理：60 W 10 kHz 超声 9 s 后暂停 9 s，持续 1 min 30 s。4 ℃ 12000 r/min 离心 20 min 取上清液。

蛋白浓度检测：按照 BCA 试剂盒说明书配制 BCA 混合溶液。取 96 孔板，在盖板上做好标记，每个样品三个平行，先在孔板中加入 2 μL 的样品上清液，然后加入 200 μL AB 混合液。按照试剂盒说明书进行标准曲线的加样。盖好盖板，放入烘箱，37 ℃ 孵育 30 min。孵育完毕后使用酶标仪检测 562 nm 的吸光度，根据结果制作标准曲线并计算各样品的蛋白浓度，使用裂解液调节每组样品的蛋白浓度以保持一致。

蛋白变性：将缓冲液加入样品中（每 100 μL 的样品加入 25 μL 的缓冲液）盖好盖子，100 ℃ 金属浴 10 min。

电泳：制备浓度 5% 的浓缩胶，12% 分离胶。吸取 20 μL 样品上样，Marker 上样 5 μL。电泳条件：初始电压 80 V，约 30 min，样品进入分离胶后，电压调至 110 V，1 h，在样品距凝胶底部 1 cm 左右时停止电泳。将电泳完毕的胶置于考马斯亮蓝染液中染色，1 h 后在脱色液中脱色 12 h。将已脱色完的凝胶放到 Chemi doc™ XRS 凝胶成像系统，通过调整曝光时间和应用模式的选择，获取电泳图像。

1.3　数据处理

使用 SPSS 18.0 数据处理软件对实验数据进行单因素方差分析，$P<0.05$ 表示具有显著性差异，使用 GraphPad prism 9.0 软件做图。热图由 Tbtools 绘制；偏最小二乘判别分析（PLS-DA）、聚类分析及 VIP 值采用 SIMCA 14.1（MKS Instruments AB，MA，USA）进行。

2　结果与分析

2.1　中性蛋白酶对高蛋白酸奶发酵的影响

发酵过程中对三组样品的 pH 进行定时检测，结果如图 1。添加中性蛋白酶的两组样品，AD 酶解样和 GS 酶解样，在发酵乳过程中 pH 下降速度均快于对照组，在 5.5 h，对照样及两个酶解样品的 pH 分别是 4.62、4.51 和 4.59。AD 酶解样最先到达 4.6 的破乳 pH，推测是由于添加蛋白酶后产生了更多的游离氨基酸和小分子肽等水解产物，这些物质作为氮源促进了乳酸菌的发酵产酸[15−16]。

2.2　中性蛋白酶对高蛋白发酵乳质构的影响

2.2.1　粘度检测　三组样品的粘度检测结果如表 2 所示。贮藏期内的第 2 d，与对照样 1642 mPa·s 的粘度相比，两组酶解样品粘度均更低，粘度分别下降了 8.9% 和 5.3%，但无显著性差异。贮藏期内的第 14 d，AD 酶解样粘度显著低于对照样和 GS 酶解样（$P<0.05$）。保质期末第 28 d，两组酶解样的粘度显著低于对照组（$P<0.05$），粘度分别是对照样粘度的 68.9% 和 78.6%。发酵乳粘度降低与蛋白质结构变化有关，蛋白酶作用于酪蛋白并使其水解，水解后生成多肽或氨基酸从而导致酪蛋白三级结构被破坏，酪蛋白是形成凝胶网络结构的主要蛋白质对体系粘度起主要贡献，因此整个发酵乳凝胶体系粘度降低[9]。

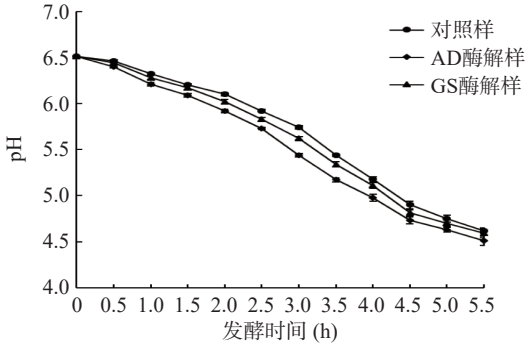


图 1　中性蛋白酶对高蛋白酸奶发酵的影响

Fig.1　Effect of proteases on the fermentation of high-protein yogurt

表 2　中性蛋白酶对高蛋白发酵乳粘度的影响

Table 2　Effect of proteases on the viscosity of high-protein fermented milk

贮藏时间（d）	对照样	AD酶解样	GS酶解样
2	1642±42^{a}	1496±17^{a}	1555±55^{a}
14	1496±45^{a}	1024±48^{b}	1451±76^{a}
28	1955±79^{a}	1348±39^{b}	1537±38^{b}

注：同行不同字母表示有显著性差异（$P<0.05$），表3~表7同。

2.2.2　中性蛋白酶对高蛋白发酵乳硬度及强度的影响　进一步对三组样品保质期末的强度和硬度进行了检测（表 3）。可以看到，与对照样相比，两组酶解样品强度及硬度显著降低（$P<0.05$）。在凝胶强度上，两组酶解样显著低于对照样，均是对照样的 57.9%。硬度上，对照样为 3.6，AD 酶解样只有对照样的 66.7%，GS 酶解样则为 58.3%。Amani 等[17] 研究发现具备高蛋白水解活性的菌株制得的发酵乳硬度及持水力更低，与使用蛋白酶作用发酵乳类似，均是由于酪蛋白胶束水解后，蛋白网络结构受到破坏，导致凝胶强度下降。

表 3　中性蛋白酶对高蛋白发酵乳强度和硬度的影响

Table 3　Effect of different proteases on the texture of high-protein fermented milk

质构指标	对照样	AD酶解样	GS酶解样
强度	1.9±0.2^{a}	1.1±0.1^{b}	1.1±0.2^{b}
硬度	3.6±0.3^{a}	2.4±0.1^{b}	2.1±0.3^{b}

2.2.3 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳粒径的影响 粒径作为发酵乳颗粒度特性的重要表征，检测结果如表 4，和对照样相比，添加蛋白酶的两组酶解样粒径显著降低（$P<0.05$）。添加中性蛋白酶降低发酵乳粘度的同时，也减小发酵乳的粒径。粒径相关参数与颗粒度呈显著正相关[18]，更小的粒径即意味着更小的颗粒度。

表 4 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳粒径的影响

Table 4 Effect of proteases on the particle size of high-protein fermented milk

贮藏时间(d)	对照样	AD酶解样	GS酶解样
2	36.9±0.3^a	23.1±0.2^b	24.6±0.2^b
14	35.0±0.2^a	24.3±0.2^b	24.2±0.1^b
28	36.0±0.3^a	23.9±0.2^b	23.7±0.1^b

2.2.4 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳摩擦系数的影响 顺畅度作为影响饮用体验的重要指标之一，同样也是发酵乳质构好坏的重要主观评判依据。相比于难以仪器检测并用客观指标衡量的顺畅感，摩擦系数则是近年来应用于食品饮料饮用体验的理化表征要素。应用安东帕公司的三板球摩擦学检测模块（一种模拟人类舌头特性的合适的弹性垫），对三组样品的摩擦系数进行了检测，结果如图 2。可以看到，在相同的滑动速度下，添加蛋白酶的发酵乳有着比未添加蛋白酶的发酵乳更低的摩擦系数。在发酵乳体系下摩擦系数越低代表口感更细腻，这进一步证明了中性蛋白酶处理能带来更好的发酵乳质构。

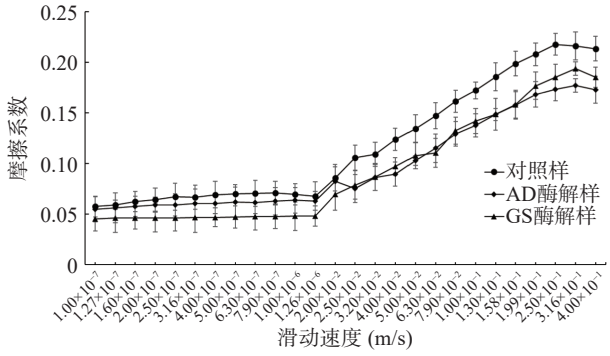


图 2 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳摩擦系数的影响

Fig.2 Effect of proteases on the friction coefficient of high-protein fermented milk

2.2.5 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳持水力的影响 持水力作为发酵乳质构稳定的一大衡量标准，能体现发酵乳保持水分的能力[19]，检测结果如表 5 所示。

表 5 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳持水力的影响

Table 5 Effect of proteases on the water holding capacity of high-protein fermented milk

贮藏时间(d)	对照样	AD酶解样	GS酶解样
2	98.96±0.1^a	98.49±0.2^a	98.83±0.3^a
14	98.78±0.1^a	97.82±0.2^a	98.23±0.2^a
28	98.36±0.1^a	97.01±0.3^a	97.83±0.4^a

与先前研究发现蛋白水解会降低发酵乳持水力的现象相同，和对照样相比，使用两种蛋白酶处理后的发酵乳，持水力均有一定程度的下降[20]。这是由于蛋白水解导致酪蛋白胶束解聚，形成的小分子肽段无法维持凝胶网络的完整性，从而降低了对水分的束缚能力[17]。

2.3 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳蛋白组成的影响

使用 SDS-PAGE 电泳方法对三组样品的发酵基料、发酵 3 h 和发酵 6 h 三个不同发酵时期的料液进行处理及分析。结果如图 3 所示。

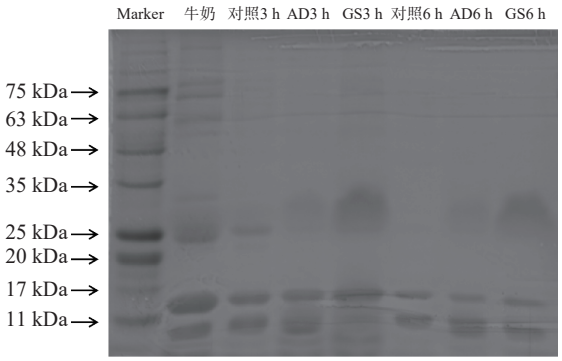


图 3 SDS-PAGE 分析不同发酵时期的蛋白组成

Fig.3 Analyze the protein composition of different fermentation stages by SDS-PAGE

发酵 6 h 后，与发酵前相比各发酵样品蛋白质分子量逐渐变小，表明发酵导致了蛋白质的分解。与对照样相比，AD 组和 GS 组在 25~35 kDa 范围的蛋白质含量有显著增加，表明两种酶的酶解蛋白产物主要集中在该区域。与发酵 3 h 相比，发酵 6 h 后 AD 组与 GS 组在 25~35 kDa 范围的酶解产物并无显著增加。对应图 1 中的发酵曲线，发酵 6 h 时样品 pH< 4.5，两种中性酶在 pH<5 时会失活（参照生产厂商提供的数据），因此这也说明两种中性蛋白酶已失活，主要的酶解反应在发酵 6 h 内已经完成。

整体看，两组酶解样的条带表现存在差异，GS 酶的酶解产物明显高于 AD 酶，这与两种酶的酶切位点差异有关：蛋白酶 ADMIL 特异性识别并切割 κ-酪蛋白上的特定肽键，而 Galaya Smooth 作为一种丝氨酸内切酶，广泛切割酪蛋白（κ-酪蛋白、α-酪蛋白、β-酪蛋白）及乳清蛋白，因此 GS 酶可作用于更多乳蛋白质，酶解产物更多。

2.4 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳感官评分的影响

进一步对三组发酵乳进行了感官评测，结果如表 6，可以看到，在保质期初，AD 酶解样的感官评分

表 6 中性蛋白酶对高蛋白发酵乳感官评分的影响

Table 6 Effect of proteases on sensory evaluation of high-protein fermented milk

感官评分	对照样	AD酶解样	GS酶解样
D2	14.7±0.7^b	16.6±0.8^a	16.3±1.2^a
D28	13.3±0.9^b	14.7±1.0^a	12.7±1.1^c

最高，平均分达到 16.6 分，而无蛋白酶处理的对照组，评分仅为 14.7，为三组样品中最低。推测是由于对照样没有经过蛋白酶处理，在质构表现上更加粘滞、不够顺滑。

与第 2 d 的评测结果相比，当三组发酵乳保存 28 d 时，由于活性乳酸菌发酵乳的后酸问题，三组发酵乳的感官评测得分均小幅下降。但 AD 酶解样依旧得分最高，平均分 14.7；对照组 13.3 分；GS 酶解样得分最低，为 12.7 分（$P<0.05$），推测是乳清析出和饮用品尝的综合表现不佳。结合保质期初和保质期末的两次感官评测结果来看，在高蛋白牛奶中添加 AD 蛋白酶制得的发酵乳的感官评分最高。

2.5　中性蛋白酶对高蛋白发酵乳风味物质的影响

2.5.1　高蛋白发酵乳的 GC-MS 分析　使用 GC-MS 对三组发酵乳进行了挥发性成分的检测，结果如表 7 所示，共检测到 72 种挥发性化合物，其中酸类化合物 11 种、醛类化合物 10 种、醇类化合物 18 种、酮类化合物 17 种、酯类化合物 4 种、烯烃类化合物 3 种、硫类化合物 1 种、醚类化合物 2 种和杂环化合物 6 种。

表 7　高蛋白发酵乳的挥发性成分

Table 7　Volatile components of high protein fermented milk

化合物名称	CAS	含量（μg/100 g）		
		对照样	GS酶解样	AD酶解样
酸类（11种）				
丙酸	79-09-4	ND	0.275±0.158^{a}	0.314±0.053^{a}
丁酸	107-92-6	0.754±0.055^{c}	2.747±0.797^{b}	5.948±0.555^{a}
正戊酸	109-52-4	0.645±0.052^{c}	2.697±0.774^{b}	5.774±0.415^{a}
庚酸	111-14-8	0.631±0.131^{c}	1.643±0.743^{b}	3.954±1.955^{a}
正壬酸	112-05-0	ND	0.600±0.067^{a}	ND
辛酸	124-07-2	ND	0.484±0.059^{a}	ND
己酸	142-62-1	0.391±0.195^{b}	1.633±0.727^{a}	3.705±1.969^{a}
正癸酸	334-48-5	ND	0.579±0.032^{a}	ND
肉豆蔻酸	544-63-8	ND	ND	5.061±2.609^{a}
冰醋酸	64-19-7	3.790±0.673^{b}	3.843±0.244^{b}	20.588±2.923^{a}
苯甲酸	65-85-0	ND	0.680±0.184^{b}	5.685±0.656^{a}
醛类（10种）				
糠醛	98-01-1	0.239±0.058^{b}	0.254±0.040^{b}	0.505±0.050^{a}
3-甲基-2-丁烯醛	107-86-8	ND	1.140±0.299^{b}	3.284±0.704^{a}
戊醛	110-62-3	0.530±0.152^{a}	ND	0.566±0.135^{a}
丙醛	123-38-6	0.231±0.059^{a}	ND	ND
正辛醛	124-13-0	1.901±0.738^{a}	ND	ND
壬醛	124-19-6	1.777±0.721^{b}	2.376±0.989^{b}	4.254±0.325^{a}
异戊醛	590-86-3	0.638±0.078^{a}	ND	ND
5-甲基呋喃醛	620-02-0	ND	0.164±0.057^{a}	0.156±0.011^{a}
正己醛	66-25-1	1.331±0.337^{a}	0.522±0.116^{b}	1.220±0.079^{a}
2-甲基丁醛	96-17-3	1.762±0.990^{a}	ND	ND
醇类（18种）				
苯甲醇	100-51-6	0.625±0.205^{a}	ND	ND
2-乙基己醇	104-76-7	0.746±0.339^{b}	0.833±0.239^{b}	2.335±0.390^{a}
2-甲基-3-丁烯-2-醇	115-18-4	ND	1.515±0.226^{a}	1.449±0.123^{a}
1-壬烯-3-醇	21964-44-3	0.272±0.068^{a}	ND	ND
葑醇	1632-73-1	ND	0.364±0.090^{a}	ND
2-壬烯-1-醇	22104-79-6	1.761±0.649^{b}	2.710±0.762^{b}	4.248±0.327^{a}
2-甲基-1-十六烷醇	2490-48-4	ND	0.808±0.123^{a}	0.879±0.118^{a}
1-辛烯-3-醇	3391-86-4	0.262±0.065^{a}	ND	ND
3-呋喃甲醇	4412-91-3	0.210±0.039^{b}	0.260±0.060^{b}	0.735±0.085^{a}
异戊烯醇	556-82-1	0.289±0.051^{b}	0.528±0.157^{ab}	0.910±0.229^{a}
丙二醇	57-55-6	0.683±0.280^{a}	ND	ND
2-苯基-2-丙醇	617-94-7	0.323±0.009^{a}	0.289±0.081^{a}	ND
异丙醇	67-63-0	5.171±1.193^{ab}	4.313±0.680^{b}	6.700±1.039^{a}
正丁醇	71-36-3	0.370±0.152^{ab}	0.213±0.068^{b}	0.761±0.109^{a}
3-甲基-3-丁烯-1-醇	763-32-6	0.246±0.006^{b}	0.291±0.059^{ab}	0.654±0.243^{a}
仲丁醇	78-92-2	ND	ND	3.627±1.118^{a}

续表 7

化合物名称	CAS	含量(μg/100 g)		
		对照样	GS酶解样	AD酶解样
糠醇	98-00-0	0.210±0.039^{b}	0.254±0.053^{b}	0.678±0.061^{a}
α-松油醇	98-55-5	ND	ND	1.063±0.074^{a}
酮类(17种)				
2-庚酮	110-43-0	0.945±0.238^{b}	0.828±0.237^{b}	2.171±0.599^{a}
甲基庚烯酮	110-93-0	3.560±0.662^{a}	0.920±0.341^{b}	4.611±1.962^{a}
羟基丙酮	116-09-6	0.848±0.295^{b}	ND	2.989±0.143^{a}
环戊酮	120-92-3	0.424±0.172^{a}	ND	ND
二氢-2-甲基-3(2H)-噻吩酮	13679-85-1	0.255±0.089^{a}	ND	ND
3-甲基-2-(5H)-呋喃酮	22122-36-7	2.354±0.059^{a}	0.732±0.380^{b}	1.444±0.603^{ab}
反式-3-戊烯-2-酮	3102-33-8	0.155±0.054^{a}	ND	ND
香叶基丙酮	3796-70-1	1.101±0.265^{b}	0.413±0.189^{c}	1.801±0.259^{a}
橙化基丙酮	3879-26-3	1.085±0.276^{b}	0.487±0.202^{c}	1.811±0.245^{a}
2,3-丁二酮	431-03-8	12.174±2.914^{a}	18.542±5.091^{a}	17.036±1.988^{a}
2(5H)-呋喃酮	497-23-4	0.296±0.104^{b}	0.209±0.040^{b}	1.199±0.067^{a}
2-羟基-3-戊酮	5704-20-1	0.426±0.026^{c}	0.790±0.151^{b}	4.456±1.177^{a}
2,3-戊二酮	600-14-6	1.485±0.201^{b}	1.580±0.187^{b}	10.289±0.717^{a}
丙酮	67-64-1	4.019±1.503^{b}	3.770±0.331^{b}	7.955±2.037^{a}
甲基乙酮	78-93-3	13.368±0.411^{a}	2.266±0.343^{c}	5.329±0.303^{b}
2-壬酮	821-55-6	0.255±0.071^{a}	0.456±0.344^{a}	0.577±0.196^{a}
2-环戊烯酮	930-30-3	0.177±0.029^{a}	0.082±0.052^{a}	ND
酯类(4种)				
棕榈酸甲酯	112-39-0	0.223±0.033^{b}	0.394±0.074^{ab}	0.547±0.131^{a}
乙酸乙酯	141-78-6	0.216±0.015^{b}	0.256±0.045^{b}	0.502±0.043^{a}
氨基甲酸苯酯	622-46-8	1.747±0.322^{a}	ND	ND
邻苯二甲酸二异丁酯	84-69-5	2.983±0.884^{a}	ND	ND
烯烃类(3种)				
3-异丙基-6-亚甲基-1-环己烯	555-10-2	ND	ND	0.379±0.152^{a}
(+)-柠檬烯	5989-27-5	2.555±0.408^{b}	2.960±1.120^{b}	9.568±0.717^{a}
γ-松油烯	99-85-4	0.142±0.031^{b}	0.160±0.014^{b}	0.273±0.035^{a}
硫类(1种)				
二甲基三硫	3658-80-8	0.244±0.059^{a}	0.378±0.147^{a}	0.352±0.244^{a}
醚类(2种)				
二甲基二硫醚	624-92-0	6.889±2.432^{b}	8.686±0.550^{b}	11.804±1.314^{a}
二甲基硫醚	75-18-3	0.365±0.204^{a}	0.233±0.027^{a}	0.171±0.015^{b}
杂环化合物(6种)				
4-甲基吡啶	108-89-4	ND	0.024±0.005^{a}	ND
吡咯	109-97-7	0.197±0.076^{a}	ND	ND
吲哚	120-72-9	ND	0.047±0.018^{a}	ND
2-乙基呋喃	3208-16-0	ND	0.236±0.068^{a}	ND
2-正戊基呋喃	3777-69-3	ND	0.048±0.017^{b}	0.263±0.094^{a}
2,5-二甲基呋喃	625-86-5	ND	0.316±0.032^{a}	ND

注: ND表示未检出。

图 4 显示了两种不同中性蛋白酶处理的高蛋白发酵乳样品和对照样的挥发性物质的含量, 可以看到 3 种发酵乳的挥发性物质中含量最高的均为酮类, 含量最高是 AD 酶解样, 其次是对照样, GS 酶解样最低。在对照样中, 浓度第二高的是醇类物质, 11.168 μg/100 g, 而两个酶解样中酸类化合物浓度排第二, 分别是 15.181 和 51.029 μg/100 g。总体来看, 对比对照样, GS 酶解样醛类、酮类、酯类和杂环化合物物质含量降低, 酸类、醇类、烯烃类、硫类和醚类物质含量增加; AD 酶解样酸类、醛类、醇类、酮类、烯烃类、硫类和醚类化合物含量均增加, 只有酯类和杂环化合物含量降低。AD 酶解样的风味物质含量最高, 其次是对照样, GS 酶解样最低。

酮类化合物是发酵乳中常见且重要的风味物质之一, 一般由脂质氧化或者氨基酸降解产生, 此外发酵过程中的微生物代谢也能产生一定量的酮类化合物[21]。其中 2,3-丁二酮、2,3-戊二酮、丙酮是酸奶中常见的酮类物质, 其中 2,3-丁二酮能为发酵乳带来细

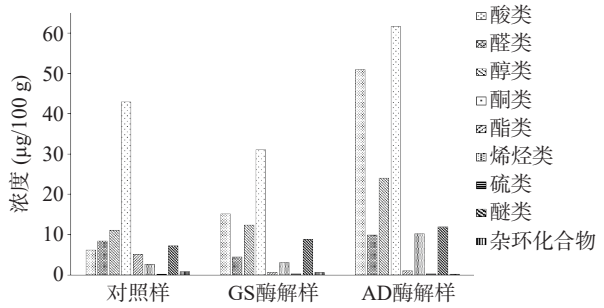


图 4　中性蛋白酶对高蛋白发酵乳挥发性物质含量的影响

Fig.4　Effect of proteases on the content of volatile substances in high-protein fermented milk

腻浓郁的黄油风味，由表 7 可以看到，两个酶解样的 2,3-丁二酮含量均比对照样高，这表明中性蛋白酶水解能为发酵乳带来更多的黄油风味。此外，先前研究发现 2-庚酮和 2-壬酮能够减弱乳制品的刺激性气味[22−24]，AD 酶解样这二者的含量均不同程度地高于对照样。

发酵乳中的酸类物质主要来源于乳酸代谢、蛋白质分解和脂肪分解三个方面，乳制品中酸类化合物起风味作用的主要有冰醋酸、丁酸、已酸、庚酸和辛酸[25]。在表 7 中可以看到，三组发酵乳中，冰醋酸含量最高的是 AD 酶解样，达到 20.588 μg/100 g，显著高于其他两组。丁酸含量从低到高分别是对照样、GS 酶解样和 AD 酶解样，且具有显著差异。两组酶解样的庚酸、己酸和苯甲酸含量也显著高于对照样，三种酸均在 AD 酶解样中含量最高，其次是 GS 酶解样，苯甲酸在对照样中未检出。出现这种情况的原因是因为中性蛋白酶水解蛋白质产生了更多的肽和游离氨基酸，导致更多的氨基酸转化为酸类化合物[20,26]。

2.5.2　高蛋白发酵乳的 PLS-DA 分析　通过 PLS-DA 对三组高蛋白发酵乳进行分析，如图 5 所示，三组样品的三组平行共九个样品分布于四个象限的不同位置，可被明显区分，表明三组高蛋白发酵乳的挥发性物质差异显著。

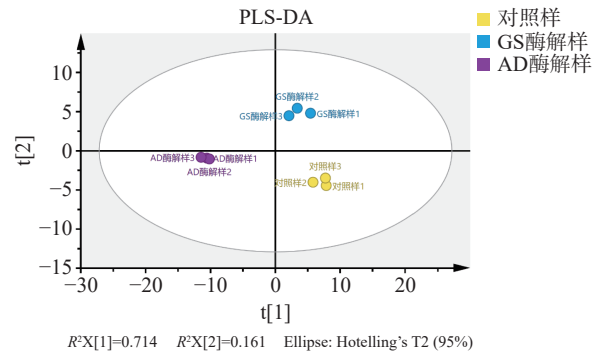


图 5　高蛋白发酵乳挥发性物质的 PLS-DA 分析

Fig.5　PLS-DA analysis of volatile substances in high-protein fermented milk

按照 P<0.05 且 VIP>1 的标准，进一步对比三组高蛋白发酵乳的风味物质成分，如图 6 所示，共获得 12 种差异物质：甲基庚烯酮、邻苯二甲酸二异丁酯、苯甲酸、正辛醛、3-甲基-2-(5H)-呋喃酮、正戊酸、氨基甲酸苯酯、丁酸、2-甲基丁醛、2-甲基-3-丁烯-2-醇、羟基丙酮和 2-羟基-3-戊酮。其中大部分的风味物质酶解样含量高于对照样。

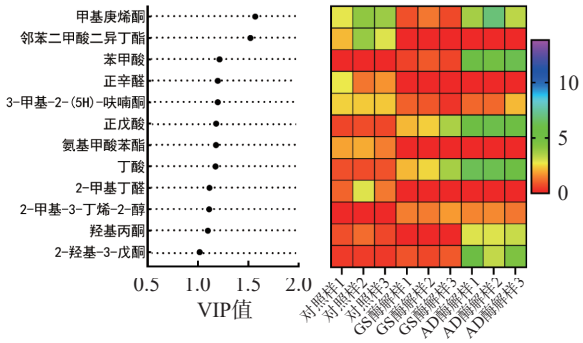


图 6　不同高蛋白发酵乳关键挥发性化合物分析

Fig.6　Analysis of key volatile compounds in different high-protein fermented milks

其中苯甲酸、丁酸和 2-羟基-3-戊酮均对发酵乳的风味表现有着重要作用。苯甲酸是一种芳香酸[27]，仅在两组酶解样中被检测。丁酸是一种短链脂肪酸，常用作食用香料，在发酵乳中能增强乳脂风味[28]，在两组酶解样中的含量显著高于对照样。2-羟基-3-戊酮是发酵乳中重要的芳香族化合物[29]，在 AD 酶解样中含量最高。

2.5.3　高蛋白发酵乳的差异香气成分 OAV 分析　为了进一步对比三组高蛋白发酵乳的挥发性物质对风味呈现的影响，使用 OAV 进行分析，OAV 数值大于 1 时该气味物质被认为对样品的整体气味有显著贡献，值越高表明该物质对整体气味的贡献越大[30]。

表 8　高蛋白发酵乳挥发性物质的差异香气成分 OAV 分析

Table 8　OAV analysis of differential aroma components of volatile substances in high - protein fermented milk

香气成分	CAS	阈值[31]（μg/100 g）	OAV			香气描述
			对照样	AD酶解样	GS酶解样	
二甲基二硫醚	624-92-0	0.03	6.89	11.80	8.69	硫磺味
正戊酸	109-52-4	2.4	0.65	5.77	2.70	奶酪味
羟基丙酮	116-09-6	1000	0.85	2.99	0.00	焦糖味
甲基乙酮	78-93-3	2400	13.37	5.33	2.27	果香味
丁酸	107-92-6	5	0.75	5.95	2.75	干酪味
甲基庚烯酮	110-93-0	5	3.56	4.61	0.92	柑橘味
2-羟基-3-戊酮	5704-20-1	2500	0.43	4.46	0.79	巧克力味
仲丁醇	78-92-2	330	0.00	3.63	0.00	杏味
丙酮	67-64-1	4	4.02	7.95	3.77	果梨味
肉豆蔻酸	544-63-8	1000	0.00	5.06	0.00	脂肪味
苯甲酸	65-85-0	100	0.00	5.69	0.68	香醋味
(+)-柠檬烯	5989-27-5	1600	2.56	9.57	2.96	甜橙味
2,3-戊二酮	600-14-6	0.03	1.49	10.29	1.58	黄油味
3-羟基-2-丁酮	513-86-0	1.4	30.15	72.09	35.55	奶油味

注：香气描述来源于Gestel公司的Aroma office odor database风味数据库中自动匹配结果。

如表 8, 整体来看, 除了香气表现为果香味的甲基已酮外, 表中所列化合物在 AD 酶解样的 OAV 值均高于 GS 组, 并且在具有黄油风味的 2,3-戊二酮 OAV 达到 10.29, 奶油风味的 3-羟基-2-丁酮 OAV 达到 72.09, 说明其脂香风味和酪香风味更强。此外, 羟基丙酮、2-羟基-3-戊酮、仲丁醇、肉豆蔻酸和苯甲酸只有在 AD 酶解样中具备显著呈香效果。类似硫磺不良风味的二甲基二硫醚在 AD 组、GS 组和对照样组的 OAV 均在 1 以上, 这表明 3 组样品中均能感知到该风味成分。AD 酶解样与 GS 酶解样与对照组相比均提升了正戊酸和丁酸的风味水平, 正戊酸和丁酸风味表现为奶酪味和干酪味, 推测中性蛋白酶能够提升发酵乳的酪香风味, 其中 AD 酶的效果要显著强于 GS 酶。

综上所述, 从风味物质总量和呈味物质种类上分析, 与对照组相比中性蛋白酶均能明显提升高蛋白发酵乳的风味, 其中 AD 酶解样品风味表现显著强于 GS 酶解样品, 推测可能与两种酶的酶切位点差异有关, SDS-PAGE 的结果已经表明 AD 酶的特异性更强, 与 GS 酶相比, AD 酶特异性识别并切割 κ-酪蛋白上的特定肽键。现有研究表明 κ-酪蛋白被酶解后可以加速奶酪制作过程中的风味形成, 但其作用机理尚不清楚[32]。目前缺乏关于 κ-酪蛋白及其酶解产物对酸奶风味形成的作用效果, 后续需进一步分析 AD 酶的酶解产物的组成及其对酸奶风味的影响。

3 结论

本研究比较了 ADMIL 和 Galaya Smooth 两种中性蛋白酶对高蛋白发酵乳的影响, 结果表明, 二者均能缩短发酵时间, 降低发酵乳的粘度、硬度、持水力、粒径和摩擦系数, 提升挥发性风味物质的含量和种类, 这一结果与先前研究中蛋白酶影响发酵乳特性的结论相符。其中, AD 酶和 GS 酶在质构改善上效果相近, 但 AD 酶提升风味的效果更显著, 能带来更多酪香、脂香和果香风味物质, 更具有产业应用价值。本研究证明了中性蛋白酶可解决高蛋白发酵乳的品质问题, 为生产提供了技术参考。然而, 在作用机制上, AD 酶对发酵乳蛋白组成与风味表现的相互作用机制尚不明确。后续研究可围绕 AD 酶的酶解产物组成及其对酸奶风味的影响路径做更进一步的研究, 助力提升高蛋白发酵乳的品质和市场竞争力。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 发酵乳: GB 19302-2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010. [Ministry of Health of the People's Republic of China. National food safety standard Fermented milk: GB 19302-2010[S]. Beijing: Standards Press of China, 2010.]

[2] JØRGENSEN C E, ABRAHAMSEN R K, RUKKE E O, et al. Processing of high-protein yoghurt–A review[J]. International Dairy Journal, 2019, 88: 42−59.

[3] BLASI A, VERARDI A. Membrane technology in dairy industry[M]. Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes. Amsterdam: Elsevier, 2024: 57−77.

[4] 崔艳伟, 张筠, 付红岩, 等. 高蛋白酸奶的开发与研究[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(8): 142−146. [CUI Yanwei, ZHANG Yun, FU Hongyan, et al. Development and research of high-protein yogurt[J]. China Food Additives, 2022, 33(8): 142−146.]

[5] 徐红华, 李荣华. 酪蛋白与乳清蛋白比例对酸奶凝胶性质的影响[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(6): 22−25. [XU Honghua, LI Ronghua. Impact of different casein to whey protein ratios on yogurt gel properties[J]. China Dairy Industry, 2011, 39(6): 22−25.]

[6] 梁佳祺, 张书文, 马春丽, 等. 高蛋白酸奶复配稳定剂的响应面法优化[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(7): 46−49. [LIANG Jiaqi, ZHANG Shuwen, MA Chunli, etal. Optimization of response surface method for high protein yogurt compound stabilizer[J]. China Dairy Industry, 2019, 47(7): 46−49.]

[7] 李星岩, 杨畅, 高飞, 等. 食品添加剂对饮用型高蛋白酸奶质构的改善[J]. 食品工业, 2019, 40(5): 24−28. [LI Xingyan, YANG Chang, GAO Fei, et al. Texture improvement of high protein drinking yogurt by food additives[J]. The Food Industry, 2019, 40(5): 24−28.]

[8] PANGBURN M K, WALSH K A. Thermolysin and neutral protease. Mechanistic considerations[J]. Biochemistry, 1975, 14(18): 4050−4054.

[9] 亓艺洁. 蛋白酶辅助乳酸菌发酵水解酪蛋白制备抗氧化肽的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2021. [QI Yijie. Study on protease-assisted fermentation of casein by lactic acid bacteria to prepare antioxidant peptides[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2021.]

[10] 张丽静, 华欲飞, 张彩猛, 等. 蛋白质含量对搅拌型大豆酸奶质构、流变特性和微观结构的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(24): 118−124. [ZHANG Lijing, HUA Yufei, ZHANG Caimeng, et al. Effects of protein content on the texture, rheological properties and microstructure of stirred soy yogurt[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(24): 118−124.]

[11] SONNE A, BUSCH-STOCKFISCH M, WEISS J, et al. Improved mapping of in-mouth creaminess of semi-solid dairy products by combining rheology, particle size, and tribology data[J]. LWT - Food Science and Technology, 2014, 59(1): 342−347.

[12] ABDEL-HAMID M, HAMED A M, WALKER G, et al. Yogurt fortified with various protein hydrolysates: Texture and functional properties[J]. Food Chemistry, 2024, 461: 140861.

[13] LIU Chen, YANG Ping, WANG Haili, et al. Identification of odor compounds and odor-active compounds of yogurt using DHS, SPME, SAFE, and SBSE/GC-O-MS[J]. LWT, 2022, 154: 112689.

[14] 包艳青. 不同发酵时期酸马奶中乳清蛋白的分离及差异蛋白的初步研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014. [BAO Yanqing. The preliminary research on the isolation and differential protein of whey protein in koumiss different fermentation period[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2014.]

[15] OLIVEIRA M N, SODINI I, REMEUF F, et al. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria[J]. International Dairy Journal, 2001, 11(11−12): 935−942.

[16] 张清丽. 酪蛋白活性肽对乳酸菌生长代谢及酸乳发酵影响

的研究[D]. 广州：华南理工大学, 2011. [ZHANG Qingli. Studies on the influence of casein-derived bioactive peptides on lactic acid bacteria metabolism and yoghurt fermentation[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011.]

[17] AMANI E, ESKANDARI M H, SHEKARFOROUSH S. The effect of proteolytic activity of starter cultures on technologically important properties of yogurt[J]. Food Science & Nutrition, 2017, 5(3): 525−537.

[18] KRZEMINSKI A, WOHLHÜTER S, HEYER P, et al. Measurement of lubricating properties in a tribosystem with different surface roughness[J]. International Dairy Journal, 2012, 26(1): 23−30.

[19] 高奇, 张国农, 解国富. 凝胶型酸奶的制备及其质量评价体系的建立[J]. 中国乳品工业, 2006(1): 17−20,31. [GAO Qi, ZHANG Guonong, XIE Guofu. Preparation of gel yoghurt and establishing methods of its quality evaluating system[J]. China Dairy Industry, 2006(1): 17−20,31.]

[20] 曲杜娟, 赵强忠, 赵谋明. 乳清蛋白中性蛋白酶酶解物对酸奶发酵的促进作用及其对酸奶品质的影响研究[J]. 食品科技, 2009, 34(10): 59−63. [QU Dujuan, ZHAO Qiangzhong, ZHAO Mouming. Study on the promotion of whey protein hydrolysate by Neutrase for yogurt fermentation and its effect on yogurt quality[J]. Food Science and Technology, 2009, 34(10): 59−63.]

[21] CHENG Hefa. Volatile flavor compounds in yogurt: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2010, 50(10): 938−950.

[22] GAN H H, YAN B N, LINFORTH R S T, et al. Development and validation of an APCI-MS/GC–MS approach for the classification and prediction of Cheddar cheese maturity[J]. Food Chemistry, 2016, 190: 442−447.

[23] DUAN Wenhui, GUAN Qijie, ZHANG Huiling, et al. Improving flavor, bioactivity, and changing metabolic profiles of goji juice by selected lactic acid bacteria fermentation[J]. Food Chemistry, 2023, 408: 135155.

[24] CHEN Chen, ZHOU Wenya, YU Haiyan, et al. Characterization of major odor-active compounds responsible for nutty flavor in Cheddar cheese according to Chinese taste[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2021, 36(2): 171−181.

[25] ZANNOU O, KELEBEK H, SELLI S. Elucidation of key odorants in Beninese Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) infusions prepared by hot and cold brewing[J]. Food Research International, 2020, 133: 109133.

[26] 常旭龙, 周青霞, 马文聪, 等. 不同发酵剂发酵酸奶的风味及理化特性的研究[J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 263−271. [CHANG Xulong, ZHOU Qingxia, MA Wencong, et al. Research on the flavor and physicochemical characteristics of yogurt fermented by different starter cultures[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 263−271.]

[27] YILDIZ A, ERDOGAN S, SAYDUT A, et al. High-performance liquid chromatography analysis and assessment of benzoic acid in yogurt, ayran, and cheese in Turkey[J]. Food Analytical Methods, 2012, 5(3): 591−595.

[28] 郝秋月, 岳旭良, 樊凡, 等. 发酵乳风味物质生成机制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(20): 157−166. [HAO Qiuyue, YUE Xuliang, FAN Fan, et al. Research progress on the formation mechanism of flavor substances in fermented milk[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(20): 157−166.]

[29] COSTA M F, PIMENTEL T C, GUIMARAES J T, et al. Impact of prebiotics on the rheological characteristics and volatile compounds of Greek yogurt[J]. LWT, 2019, 105: 371−376.

[30] LIU Huan, HUI Teng, ZHENG Xiaochun, et al. Characterization of key lipids for binding and generating aroma compounds in roasted mutton by UPLC-ESI-MS/MS and Orbitrap Exploris GC[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131723.

[31] VAN GEMERT L J. Compilation of odour threshold values in air and water[J]. Odour Thresholds, 2011.

[32] MILESI M M, MCSWEENEY P L H, HYNES E R. Impactof chymosin- and plasmin-mediated primary proteolysis on thegrowth and biochemical activities of lactobacilli in miniature cheddar-type cheeses[J]. Journal of Dairy Science, 2008, 91(9): 3277−3290.