不同类型凝乳酶对Halloumi奶酪品质影响的研究

陈 菲，张佳雪，尉 磊，张瑞瑞，美合日阿依·艾买提，钱 浩，孙芳芳*

新疆石河子花园乳业有限公司，新疆石河子 820000

摘 要：[目的]深入探讨动物源性、植物源性及微生物源性凝乳酶在Halloumi奶酪生产过程中的凝乳活性差异。[方法]通过在Halloumi奶酪生产中分别添加不同类型凝乳酶，综合分析所得产品的蛋白水解活力、产率、质构特性、挥发性风味物质、常规理化指标以及游离脂肪酸含量。[结果]动物源性凝乳酶展现出最低的蛋白水解活力和最高的产率；在动物源性凝乳酶作用下制得的Halloumi奶酪在脂肪和蛋白质的保留方面表现更佳；在质构特性分析中，该Halloumi奶酪硬度、咀嚼性和胶着性均处于适中水平。此外，动物源性凝乳酶制得的Halloumi奶酪中游离脂肪酸总量最高，植物源性凝乳酶制得的次之，微生物源性凝乳酶制得的最低。3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪共检测出22 种风味物质，其中微生物源性凝乳酶制得的Halloumi奶酪风味物质种类最为丰富。[结论]不同类型凝乳酶制得的Halloumi奶酪在挥发性风味化合物方面展现出各自的特色。本研究揭示了动物源性凝乳酶在Halloumi奶酪生产中的独特作用，且微生物源性凝乳酶有望代替动物源性凝乳酶，试验结果可为不同类型凝乳酶的应用提供理论依据。

关键词：凝乳酶；Halloumi奶酪；工艺；风味化合物；感官评价

文章编号：1671–4393（2025）08–0102–10　　DOI:10.12377/1671–4393.25.08.16

0 引言

在加工过程中，奶酪（亦称“干酪”或“芝士”）通过发酵剂、凝乳酶和微生物作用，乳中的蛋白质被分解为小肽、氨基酸等小分子物质，这些物质易于人体吸收，赋予奶酪独特的风味和质构特性，因此，奶酪被誉为“奶黄金”[1]。我国国标《GB5420—2021 食

作者简介：陈 菲（1998–），女，新疆伊犁人，硕士，研究方向为奶酪加工；
张佳雪（1996–），女，新疆奎屯人，硕士，研究方向为奶酪加工；
尉 磊（1998–），男，甘肃天水人，硕士，研究方向为奶酪加工；
张瑞瑞（1986–），女，新疆石河子人，本科，研究方向为酸奶及奶酪加工；
美合日阿依·艾买提（2004–），女，新疆阿克苏人，维吾尔族，研究方向为奶酪加工；
钱 浩（1989–），男，新疆石河子人，硕士，研究方向为乳制品加工。
*通信作者：孙芳芳（1992–），女，新疆石河子人，硕士，中级工程师，研究方向为乳制品加工。

中国乳业编辑部阅读

品安全国家标准 干酪》[2]规定，乳和/（或）乳制品中的蛋白质在凝乳酶或其他适当的凝乳剂的作用下凝固或部分凝固后（或直接使用凝乳后的凝乳块为原料），添加或不添加发酵菌种、食用盐、食品添加剂、食品营养强化剂，排出或不排出（以凝乳后的蛋白质凝块为原料时）乳清，经发酵或不发酵等工序制得的固态或半固态产品。Halloumi奶酪为塞浦路斯传统乳制品[3]，该产品以其独特的香气、富有弹性的质地、紧密无空隙的结构、易于切片的特性以及高营养价值，深受地中海及多数欧洲地区消费者青睐[4]。

Lteif等[5]研究预测，在未来几年内，Halloumi奶酪的市场份额将进一步增长。生产奶酪离不开凝乳酶，凝乳酶是奶酪加工过程中促使牛乳凝固的核心酶类，其具备的凝乳活性及蛋白水解活力，对于奶酪的产量、质构及风味特征具有至关重要的影响[6]。凝乳酶分为动物源性凝乳酶（AC）、植物源性凝乳酶（PC）、微生物源性凝乳酶（MC）[7]。AC[8]最早发现于未断奶小牛的胃中，其具备的凝乳活性和蛋白水解活力是奶酪生产中形成特定质构及风味的关键因素，因此被广泛应用于奶酪制造业。PC包括无花果蛋白酶、菠萝蛋白酶等[9]，其凝乳活性高，但其制得的奶酪口感略苦。MC[10]具备低成本生产及资源节约的优势。张富新等[11]研究不同凝乳酶在奶酪生产中的应用效果发现，小牛皱胃酶与羔羊皱胃酶在奶酪生产过程中展现出最优的凝乳活性，其次是毛霉凝乳酶和胃蛋白酶，而木瓜蛋白酶与无花果蛋白酶的凝乳活性相对较弱。传统凝乳酶已无法适应奶酪制造业的需求。开发新型凝乳酶资源是乳制品研究的热点，寻找合适来源的凝乳酶能显著提升奶酪品质和控制成本。

奶酪的品质受多种因素的综合影响，其主要评价指标涵盖风味、质构以及成熟期蛋白水解代谢特征。在这些因素中，凝乳酶的类型被认为是关键性因素。本研究比较分析了市场上常见的AC、PC和MC在Halloumi奶酪生产过程中的应用效果，重点评估了不同凝乳酶对Halloumi奶酪产率、质构特性、理化指标以及挥发性风味化合物组成的影响，以期为Halloumi奶酪生产过程中凝乳酶的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

生牛乳，新疆丰瑞源畜牧有限公司。

AC（酶活力890 IMCU/g）、发酵剂（乳酸乳球菌乳亚种、乳脂乳球菌），北京多爱特生物科技有限公司；MC（酶活力20 000 IMCU/g），中诺生物科技发展江苏有限公司；菠萝蛋白酶（酶活力20 000 IMCU/g），重庆骄王天然产物股份有限公司。

未加碘食用盐，新疆宏达盐业有限责任公司；氯化钙，江苏科伦多食品配料有限公司；九氟戊酸、正庚烷（色谱纯）、磷酸二氢钠、三氯乙酸、磷酸氢二钠、干酪素、碳酸钠、Folin试剂，上海麦克林生化科技股份有限公司；乙腈、甲醇（色谱纯），赛默飞世尔科技公司；蒸馏水，屈臣氏集团；盐酸，天津市科密欧化学试剂有限公司；盐酸（分析纯），成都市科隆化学品有限公司；氨水（分析纯）、乙醚（分析纯）、石油醚（色谱纯）、乙醇95%（分析纯）、氢氧化钠（优级纯）、无水碳酸钠（分析纯）、氢氧化钾（分析纯），成都市科隆化学品有限公司；无水乙醇（色谱纯）、甲苯（色谱纯），诺尔施科技有限责任公司；无水硫酸钠（分析纯），成都市科隆化学品有限公司/上海沪试实验室器材股份有限公司；氯化钠（分析纯）、乙酰氯（分析纯），上海安谱实验科技股份有限公司；异辛烷（色谱纯），福晨（天津）化学试剂有限公司；硫酸氢钠，天津永晟精细化工有限公司；酪氨酸，中国食品药品检定研究院。

1.2 仪器与设备

超纯水机，上海和泰仪器有限公司；电子天平，上海舜宇恒平科学仪器有限公司；电热恒温水槽，上海一恒科学仪器有限公司；pH计，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；气相色谱仪（7890A-5975C），安捷伦科技有限公司；箱式电阻炉（HYS-B-SJ-006），济南精密科学仪器仪表有限公司；电热鼓风干燥箱（HYS-B-SJ-008），上海博讯实业有限公司医

中国乳业杂志网版权

疗设备厂；电热恒温水浴锅（HYS-B-SJ-001），北京市永光明医疗仪器有限公司；凯氏定氮仪（HYS-A-019），丹麦福斯（Foss）公司；液相色谱仪，赛默飞世尔科技公司；紫外-可见分光光度计（UV1800），日本岛津公司；水浴锅（DZKW-4），北京中兴伟业仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 3 种凝乳酶蛋白水解活力测定

供试品溶液：各取3 种凝乳酶约500 mg，分别置于15 mL离心管中，加1 mL蒸馏水分散样品，加5 mL 1.2%干酪素溶液，于35 ℃水浴10 min，加0.44 mol/L三氯乙酸溶液5 mL，继续35 ℃水浴10 min，离心，取1 mL滤液，置于10 mL离心管中，加5 mL 0.55 mol/L碳酸钠溶液、1 mL Folin试剂，于40 ℃水浴10 min，将线性系列溶液依次于紫外-可见分光光度计波长660 nm处测定吸光值，以酪氨酸浓度为横坐标、吸光值为纵坐标，进行线性回归，外标法计算供试品中酪氨酸含量[12]。

1.3.2 Halloumi奶酪制作工艺

生牛乳65 ℃灭菌30 min，降温至33±1 ℃，加入发酵剂与氯化钙溶液，菌种活化约30 min；分别加入AC、PC、MC，凝乳约30 min，凝乳切割，加热排乳清，压榨成型，在乳清溶液中热烫1 h（90～95 ℃），风干冷却后盐浸（3%氯化钠溶液），沥干表面水分真空包装，于4 ℃冷藏。

1.3.3 Halloumi奶酪产率测定

准确记录各原料质量以计算Halloumi奶酪产率。根据公式（1）计算：

$$产率(\%)=\frac{m}{M}\times 100\%$$

式中：m为排乳清后的新鲜Halloumi奶酪质量；M为原料质量。

1.3.4 Halloumi奶酪常规理化指标测定

根据《GB 5009.5—2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》方法一，采用凯氏定氮法测定3 种凝乳酶制得Halloumi奶酪的蛋白质含量；根据《GB 5009.6—2016 食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》方法一，采用索氏提取法测定3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪的脂肪含量；根据《GB 5009.3—2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定》方法一，采用直接干燥法测定3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪的水分含量；根据《GB 5009.4—2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定》方法一，采用食品中总灰分的测定方法测定3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪的灰分含量。

1.3.5 Halloumi奶酪质构特性测定

检测方法：全质构分析（TPA）。样品制备方法：用直径12 mm圆形打孔器制备高度约20 mm的圆柱形样品，4 ℃保存4 h以上，5 min内检测完毕。测试具体参数：探头类型P36；测试前速度2 mm/s，测试速度1 mm/s，测试后速度1 mm/s，触发力5 g；下压距离2 mm。分别测定Halloumi奶酪的硬度、黏性、弹性、咀嚼性、胶着性、内聚性和回复性等指标。

1.3.6 Halloumi奶酪游离脂肪酸含量测定

根据《GB 5009.168—2016食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》中外标法处理样品。色谱参考条件：毛细管色谱柱，聚二氰丙基硅氧烷强极性固定相，柱长100 m，内径0.25 mm，膜厚0.2 μm；进样器温度270 ℃；检测器温度280 ℃。程序升温：初始温度100 ℃，持续13 min；100～180 ℃，升温速率10 ℃/min，保持6 min；180～200 ℃，升温速率1 ℃/min，保持20 min；200～230 ℃，升温速率4 ℃/min，保持10.5 min。载体：氮气；分流比100∶1；进样体积1.0 μL。

1.3.7 Halloumi奶酪挥发性风味化合物测定

采用顶空固相微萃取富集方法，取样品3 g，置于20 mL顶空瓶中，密封。（1）气相色谱：条件色谱柱，DB-5Q（30 m×0.25 mm，0.25 μm）；升温程序：初始温度50 ℃，保持5 min；以5 ℃/min升至100 ℃，再以10 ℃/min升至240 ℃，保持5 min，共计17 min；进样口温度200 ℃，分流比10∶1；顶空进样，平衡温度90 ℃，平衡时间30 min；进样

中国乳业线上阅读

量1 000 μL；载气He（＞99.999%），流速0.8 mL/min。（2）质谱条件电离方式：电子轰击电离源（EI）；电离能量70 eV；传输线温度250 ℃；离子源温度230 ℃，四级杆温度150 ℃；监测方式：全扫描（Scan），扫描范围30～500 amu。

1.3.8 感官评价

建立12 人的感官评价小组，表1为评价标准，在室温条件下对Halloumi奶酪进行感官评价。

表 1 感官评价标准

指标	评分标准	分值（分）
色泽（20 分）	表面淡黄色，颜色分布不均，无光泽	0 ~ 7
	表面乳白色，色泽分布均匀，稍有色泽	8 ~ 13
	乳白色，色泽分布均匀，有光泽	14 ~ 20
组织状态（20 分）	无弹性，组织松散，外形松散无规则	0 ~ 7
	稍有弹性，组织紧密，外形较为规则	8 ~ 13
	富有弹性，组织排列紧密，外形规则有型	14 ~ 20
滋味（20 分）	苦味重，异味明显	0 ~ 7
	微苦，异味一般	8 ~ 13
	正常滋味，无其他异味	14 ~ 20
口感（20 分）	无弹性，粘牙，渣感明显	0 ~ 7
	略有弹性，不沾牙，稍有渣感	8 ~ 13
	富有弹性，柔软细腻	14 ~ 20
香气（20 分）	无奶香味，有其他非奶酪香气	0 ~ 7
	奶香味较淡，稍有杂质及异味，无后香	8 ~ 13
	奶香味浓郁纯正，后香长	14 ~ 20

2 结果与分析

2.1 3 种凝乳酶蛋白水解活力分析

在奶酪生产过程中，凝乳酶的选择至关重要。理想的凝乳酶应具备高凝乳活性，同时其蛋白水解活力需保持较低水平，需在短时间内将奶酪中的蛋白水解，以获得较多风味，并确保奶酪的高产率、避免苦味肽产生[13]。如表2所示，凝乳酶蛋白水解活力最高的为PC（1 220.3 U/g），最低的为AC（27.7 U/g）。因此，AC能有效减少苦味肽的生成，使Halloumi奶酪具有更好的风味。

表 2 3 种凝乳酶蛋白水解活力

样品名称	凝乳酶蛋白水解活力（U/g）
AC	27.7
PC	1 220.3
MC	514.2

2.2 3 种凝乳酶对 Halloumi 奶酪产率的影响

以5 000 g生牛乳为原料分别加入3 种凝乳酶，经过最适工艺加工制得Halloumi奶酪，分别测定产率。由表3可知，AC制得的Halloumi奶酪产率为（12.60±0.001）%，MC制得的Halloumi奶酪产率为（11.43±0.002）%，PC制得的Halloumi奶酪产率为（12.29±0.002）%，即AC制得的Halloumi奶酪产率最高，PC次之，MC最低。

表 3 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪产率

类型	新鲜 Halloumi 奶酪质量（g）	原料质量（g）	产率（%）
AC 制得的 Halloumi 奶酪	629.95±5.65	5 000	12.60±0.001
MC 制得的 Halloumi 奶酪	571.75±9.48	5 000	11.43±0.002
PC 制得的 Halloumi 奶酪	614.25±8.07	5 000	12.29±0.002

2.3 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪常规理化指标测定

3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪常规理化指标如表4所示，AC制得的Halloumi奶酪的脂肪含量较高（26.87%），与PC、MC制得的Halloumi奶酪脂肪相比有显著差异（$P<0.05$）；MC制得的Halloumi奶酪蛋白质含量较PC制得的Halloumi奶酪有显著差异（$P<0.05$）；三者之间的水分含量无显著差异（$P>0.05$）；AC与MC制得的Halloumi奶酪灰分存在显著差异（$P<0.05$），与PC制得的Halloumi奶酪无显著

中国乳业线上阅读

差异（$P>0.05$）。AC、MC更适于奶酪加工，此外使用AC能较好保存牛乳中的营养素（包括脂肪和蛋白质）。

表 4 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪常规理化指标

理化指标	AC 制得的 Halloumi 奶酪	PC 制得的 Halloumi 奶酪	MC 制得的 Halloumi 奶酪
脂肪（%）	26.87 ± 2.01^{a}	21.50 ± 0.01^{bc}	22.79 ± 1.90^{c}
蛋白质（%）	23.23 ± 0.04^{a}	22.33 ± 0.21^{b}	23.47 ± 0.47^{ac}
水分（%）	53.23 ± 0.15^{a}	53.23 ± 0.15^{ab}	47.70 ± 0.10^{c}
灰分（%）	2.50 ± 0.10^{a}	2.60 ± 0.10^{ab}	2.70 ± 0.12^{b}

注：同一行上标同字母代表差异不显著（$P>0.05$），同一行上标不同字母代表差异显著（$P<0.05$），下同

2.4 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪质构特性测定

奶酪的质构特性包括硬度、弹性、咀嚼性等指标，这些指标与奶酪成分、结构和分子间作用力等密切相关[14]。奶酪的质构特性对其口感影响深远，不同凝乳酶对奶酪的质构特性有不同影响。如表5所示，3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪在咀嚼性、胶着性有显著差异（$P<0.05$），在弹性、内聚性和回复性差异不显著（$P>0.05$）。其中AC制得的Halloumi奶酪硬度、咀嚼性、胶着性适中；MC制得的Halloumi奶酪硬度最小、弹性最差、咀嚼性不佳、胶着性较差。AC和PC制得的Halloumi奶酪硬度差异不显著（$P>0.05$），MC制得的Halloumi奶酪分别与AC和PC制得的Halloumi奶酪硬度有显著差异（$P<0.05$）。

2.5 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪游离脂肪酸含量测定

3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪中共检测出33 种游离脂肪酸，其中SCFA 2 种、MCFA 4 种、LCFA 27 种（图1～3）。通常长链脂肪酸对奶酪风味贡献有限，主要作为前体；而短链和中链偶数碳脂肪酸因感知阈值低，会直接影响奶酪风味[15]。

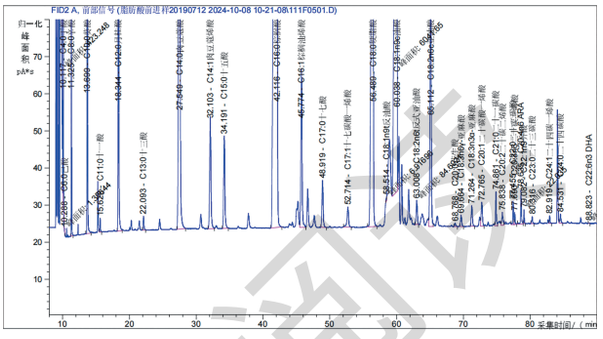


图 1 AC 制得的 Halloumi 奶酪游离脂肪酸含量测定图谱

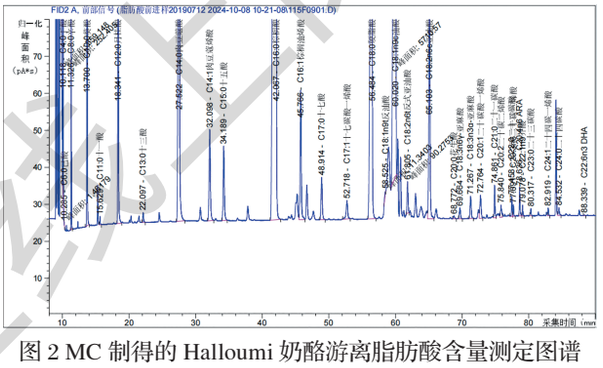


图 2 MC 制得的 Halloumi 奶酪游离脂肪酸含量测定图谱

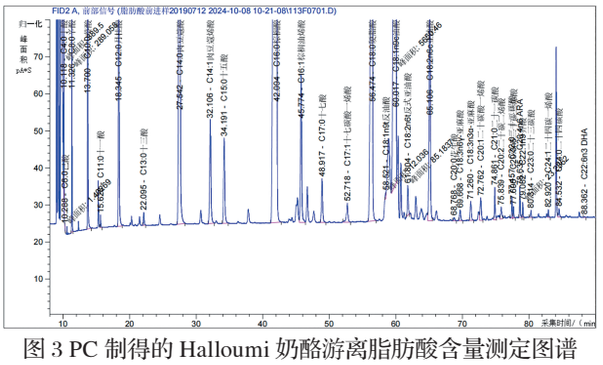


图 3 PC 制得的 Halloumi 奶酪游离脂肪酸含量测定图谱

如表6所示，3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪中

表 5 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪质构特性

类型	硬度（g）	弹性（cm）	咀嚼性	胶着性	内聚性	回复性（g）
AC 制得的 Halloumi 奶酪	462.74 ± 24.70^{a}	0.920 ± 0.020^{a}	330.52 ± 32.32^{a}	366.70 ± 17.81^{a}	0.840 ± 0.015^{a}	0.340 ± 0.012^{a}
MC 制得的 Halloumi 奶酪	315.75 ± 27.00^{b}	0.910 ± 0.010^{a}	243.83 ± 14.22^{b}	268.68 ± 19.09^{b}	0.850 ± 0.010^{a}	0.340 ± 0.006^{a}
PC 制得的 Halloumi 奶酪	501.18 ± 16.22^{ac}	0.920 ± 0.015^{a}	396.55 ± 21.24^{c}	429.67 ± 16.17^{c}	0.860 ± 0.015^{a}	0.320 ± 0.020^{a}

中国乳业编辑部

表 6 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪游离脂肪酸含量

序号	游离脂肪酸	AC 制得的 Halloumi 奶酪（g/100 g）	MC 制得的 Halloumi 奶酪（g/100 g）	PC 制得的 Halloumi 奶酪（g/100 g）
1	C4：0 丁酸	0.372 0 ± 0.007 0^{a}	0.298 0 ± 0.001 0^{b}	0.318 0 ± 0.007 0^{c}
2	C6：0 己酸	0.028 6 ± 0.000 7^{a}	0.029 3 ± 0.000 3^{a}	0.028 3 ± 0.001 7^{a}
3	C8：0 辛酸	0.215 0 ± 0.004 0^{a}	0.162 0 ± 0.000 3^{b}	0.186 0 ± 0.005 0^{c}
4	C10：0 葵酸	0.495 0 ± 0.007 0^{a}	0.353 0 ± 0.002 0^{b}	0.427 0 ± 0.010 0^{c}
5	C11：0 十一酸	0.012 6 ± 0.000 2^{a}	0.007 2 ± 0.000 1^{b}	0.010 7 ± 0.000 2^{c}
6	C12：0 月桂酸	0.580 1 ± 0.008 4^{a}	0.395 6 ± 0.002 4^{b}	0.502 7 ± 0.012 0^{c}
7	C13：0 十三酸	0.019 1 ± 0.000 3^{a}	0.012 5 ± 0.000 2^{b}	0.016 3 ± 0.000 3^{c}
8	C14：0 肉豆蔻酸	1.814 6 ± 0.025 4^{a}	1.382 7 ± 0.008 1^{b}	1.583 6 ± 0.038 9^{c}
9	C14：1 肉豆蔻烯酸	0.247 1 ± 0.002 5^{a}	0.192 5 ± 0.001 3^{b}	0.214 3 ± 0.004 2^{c}
10	C15：0 十五酸	0.189 9 ± 0.002 6^{a}	0.143 8 ± 0.000 9^{b}	0.164 4 ± 0.004 0^{c}
11	C16：0 棕榈酸	5.985 0 ± 0.081 6^{a}	4.950 0 ± 0.025 4^{b}	5.215 3 ± 0.126 0^{c}
12	C16：1 棕榈油烯酸	0.312 4 ± 0.004 9^{a}	0.238 5 ± 0.008 6^{b}	0.273 0 ± 0.006 3^{c}
13	C17：0 十七酸	0.097 5 ± 0.001 6^{a}	0.084 2 ± 0.000 2^{bc}	0.085 1 ± 0.001 9^{bc}
14	C17：1 十七碳酸一烯酸	0.054 1 ± 0.001 4^{a}	0.044 9 ± 0.000 5^{bc}	0.046 7 ± 0.000 7^{bc}
15	C18：0 硬脂酸	1.836 3 ± 0.022 9^{a}	1.698 5 ± 0.008 4^{b}	1.613 0 ± 0.038 5^{c}
16	C18：1n9t 反油酸	0.003 8 ± 0.000 1^{a}	0.006 7 ± 0.000 5^{b}	0.005 9 ± 0.000 4^{c}
17	C18：1n9c 油酸	3.338 0 ± 0.022 3^{a}	3.024 0 ± 0.008 4^{b}	2.930 1 ± 0.066 8^{c}
18	C18：2n6t 反式亚油酸	0.052 3 ± 0.004 1^{a}	0.049 3 ± 0.000 3^{a}	0.047 3 ± 0.002 5^{a}
19	C18：2n6c 亚油酸	0.477 1 ± 0.007 0^{a}	0.407 0 ± 0.009 9^{bc}	0.418 8 ± 0.009 2^{bc}
20	C20：0 花生酸	0.006 5 ± 0.000 1^{a}	0.005 4 ± 0.000 1^{b}	0.005 6 ± 0.000 1^{c}
21	C18：3n6 γ – 亚麻酸	0.020 2 ± 0.000 3^{a}	0.018 5 ± 0.000 2^{b}	0.017 7 ± 0.000 2^{c}
22	C18：3n3 α – 亚麻酸	0.038 1 ± 0.000 7^{a}	0.039 6 ± 0.000 4^{b}	0.033 1 ± 0.000 7^{c}
23	C20：1 二十碳酸一烯酸	0.049 1 ± 0.000 9^{a}	0.044 3 ± 0.000 1^{b}	0.042 8 ± 0.000 8^{c}
24	C21：0 二十一碳酸	0.039 0 ± 0.000 2^{ab}	0.037 6 ± 0.001 3^{ab}	0.035 4 ± 0.001 0^{c}
25	C20：2 二十碳二烯酸	0.022 1 ± 0.001 1^{a}	0.020 8 ± 0.000 2^{a}	0.021 6 ± 0.001 7^{a}
26	C22：0 二十二碳酸	0.024 7 ± 0.000 4^{a}	0.019 8 ± 0.000 2^{b}	0.021 9 ± 0.001 5^{c}
27	C20：3n6 二十碳三烯酸	0.011 7 ± 0.000 5^{a}	0.010 0 ± 0.000 1^{b}	0.010 8 ± 0.000 7^{ab}
28	C20：4n6 ARA	0.041 1 ± 0.003 3^{a}	0.033 6 ± 0.000 1^{bc}	0.032 9 ± 0.001 6^{bc}
29	C22：1n9 芥酸	0.011 7 ± 0.000 6^{a}	0.009 6 ± 0.000 1^{a}	0.010 3 ± 0.001 8^{a}
30	C23：0 二十三碳酸	0.009 7 ± 0.001 1^{a}	0.008 4 ± 0.000 1^{a}	0.008 7 ± 0.000 6^{a}
31	C24：1 二十四碳一烯酸	0.008 3 ± 0.000 2^{a}	0.008 2 ± 0.000 3^{ac}	0.007 9 ± 0.000 2^{c}
32	C24：0 二十四碳酸	0.014 0 ± 0.000 1^{a}	0.011 4 ± 0.000 2^{b}	0.012 3 ± 0.000 3^{c}
33	C22：6n3 DHA	0.000 7 ± 0.000 1^{a}	0.000 7 ± 0.000 4^{ac}	0.000 8 ± 0.000 1^{c}
总含量		16.408 9 ± 0.200 6^{a}	13.762 1 ± 0.062 1^{b}	14.351 6 ± 0.350 0^{c}

丁酸、辛酸、癸酸含量有显著差异（$P<0.05$），己酸赋予奶酪一定的辛辣味，在组间无显著性差异（$P>0.05$）。以上4 种短链脂肪酸含量在3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪中较少，因此不具备成熟奶酪的辛辣口感，且其中风味物质相对较少，几乎不含脂肪酸腐败味和强烈的奶酪风味，更易被大众接受。AC制得的Halloumi奶酪总游离脂肪酸含量最高，PC制得的Halloumi奶酪中含量次之，MC制得的Halloumi奶酪中含量最低。3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪中含量较多的均为长链脂肪酸（C16：0棕榈酸、C18：1n9c油酸、C18：0硬脂酸、C14：0肉豆蔻酸），这4 种游离脂肪酸含量在3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪中存在显著差异（$P<0.05$）。棕榈酸、硬脂酸和肉豆蔻酸属于饱和脂肪酸，构成

中国乳业线上阅读

脂肪的基本成分。棕榈酸是一种天然饱和脂肪酸，适量摄入可为人体提供必要能量，其在3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪中检出量最高，分别占各组奶酪总脂肪酸含量的36.47%、35.97%和36.34%。硬脂酸含量：AC制得的Halloumi奶酪（1.836 g/100 g）>MC制得的Halloumi奶酪（1.699 g/100 g）>PC制得的Halloumi奶酪（1.613 g/100 g）。肉豆蔻酸含量最高的为AC制得的Halloumi奶酪，最低的为PC制得的Halloumi奶酪中。不饱和脂肪酸是人体必需的，有维持细胞功能，降低胆固醇，改善血液循环的作用[16]。油酸是3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪中不饱和脂肪酸的主要成分，含量分别为：AC（3.338 0±0.022 3）g/100 g、MC（3.024 0±0.008 4 g/100 g）、PC（2.930 1±0.066 8）g/100 g，各组间存在显著差异（$P<0.05$）。

2.6 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪挥发性风味化合物分析

图4～6分别是PC、MC、AC制得的Halloumi奶酪挥发性化合物色谱图。

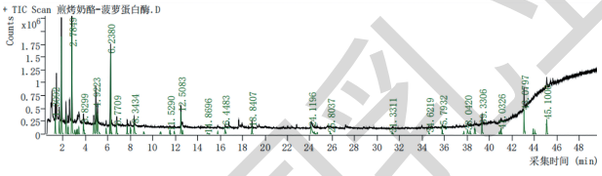


图 4 PC 制得的 Halloumi 奶酪的挥发性化合物色谱图

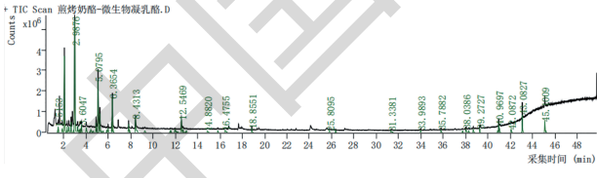


图 5 MC 制得的 Halloumi 奶酪挥发性化合物色谱图

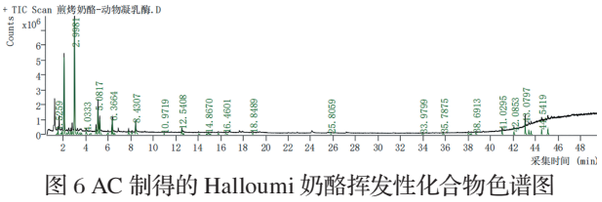


图 6 AC 制得的 Halloumi 奶酪挥发性化合物色谱图

由表7、表8可知，AC制得的Halloumi奶酪检测出20 种挥发性风味物质，其中酮类6 种、烷类3 种、醛类2 种、苯类4 种、炔类1 种、酰胺类1 种、呋喃类1 种、烯类1 种、酸类1 种。PC制得的Halloumi奶酪检测出18 种挥发性风味物质，其中酮类6 种、烷类4 种、醛类2 种、苯类3 种、呋喃类1 种、烯类1 种、酸类1 种。MC制得的Halloumi奶酪检测出21 种挥发性风味物质，其中酮类5 种、烷类3 种、醛类2 种、苯类3 种、呋喃类1 种、烯类1 种、酸类3 种、酯类1 种、癸类1 种、仿类1 种。MC制得的Halloumi奶酪检测出的风味物质数量最多，其次是AC，PC最少。PC制得的Halloumi奶酪中特有的苯乙烯成分，具备香醋与橘香的气味特征，对提升奶酪的风味有积极作用。醛类化合物主要源自脂肪酸代谢过程、氨基酸转氨作用以及Strecker降解反应[17]。AC制得的Halloumi奶酪中特有的苯甲醛化合物赋予其独特坚果香和杏仁香。酮类化合物的生成途径多样，包括热降解、氨基酸降解及微生物代谢等，在3 种Halloumi奶酪样品中均检测出具有热牛奶香气特征的2-壬酮、具有牛奶香味的2-十一酮以及具有果香风味的2-戊酮，该结果与钟玉旺[14]研究结果一致。MC制得的Halloumi 奶酪中特有邻苯二甲酸，庚-4-基异丁酯，酯类化合物在奶酪的整体风味形成中至关重要[18]。综上所述，3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪挥发性风味化合物各具特色。

2.7 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪感官评价

对3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪进行感官评价，评价数据统计结果如图7所示。

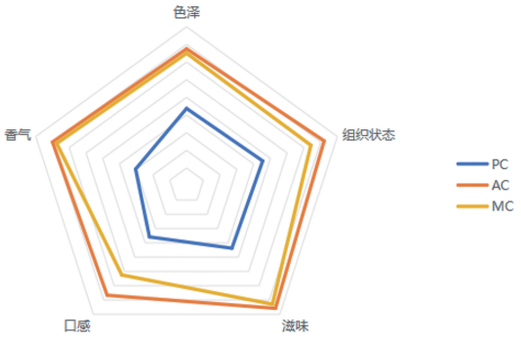


图 7 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪感官评价

经比较发现，PC制得的Halloumi奶酪的色泽、香气、口感、滋味及组织状态均劣于AC和MC制得

中国乳业线上阅读

表 7 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪挥发性风味化合物分析

编号	挥发性风味化合物	挥发性风味化合物含量（%）		
		AC 制得的 Halloumi 奶酪	PC 制得的 Halloumi 奶酪	MC 制得的 Halloumi 奶酪
1	丙酮	3.37	15.62	4.97
2	2– 丁酮	2.45	12.02	67.49
3	二氯甲烷	65.09	89.27	/
4	3– 甲基 – 壬烷	/	/	3.39
5	癸烷	1.89	/	5.99
6	4，6– 二甲基十一烷	/	4.97	/
7	2– 戊酮	2.75	19.15	4.67
8	三氯甲烷	100.00	100.00	/
9	氯仿	/	/	100.00
10	甲苯	2.27	/	/
11	乙醛	2.53	/	/
12	己醛	/	12.62	3.66
13	乙苯	5.99	13.35	7.78
14	2– 甲氧基呋喃	21.91	29.71	44.73
15	1，3– 二甲基苯	21.24	42.75	26.70
16	2– 庚酮	11.80	78.75	27.18
17	十二烷	/	8.39	/
18	1– 癸	/	/	5.98
19	1– 十二炔	2.69	/	/
20	苯乙烯	/	13.47	16.06
21	1，3，5，7– 环辛四烯	13.46	/	/
22	2– 壬酮	4.45	21.22	9.80
23	2– 十一烷酮	1.12	6.99	/
24	安息香醛	/	/	2.30
25	苯甲醛	1.30	/	/
26	2– 羟基间苯二甲醛	/	5.75	/
27	2– 十一酮	/	/	2.99
28	正十六烷酸	8.41	19.29	11.28
29	正癸酸	/	/	1.20
30	苯甲酸	/	/	3.21
31	4– 吡啶甲酰胺	1.99	/	/
32	邻苯二甲酸，庚 –4– 基异丁酯	/	/	1.81
33	对苯二甲酸二丁酯	/	/	4.06

注：“/”为不含有标识

的Halloumi奶酪。具体而言，PC制得的Halloumi奶酪组织状态粗糙，孔隙较大，且口感带有轻微苦味。而AC和MC制得的Halloumi奶酪的色泽、香气和滋味相似，但AC和MC制得的Halloumi奶酪口感和组织状态更佳。综上所述，在Halloumi奶酪的生产过程中，AC和MC具有相似的加工效果，且MC在一定程度上可替代AC。

3 结论

本研究比较AC、PC和微MC在Halloumi奶酪加工中的效果。结果显示，AC在口感和质地上更胜一筹，但MC因其可持续性和成本效益成为潜在替代品。尽管如此，MC在实际应用中仍需技术改进。

中国乳业线上阅读

表 8 3 种凝乳酶制得的 Halloumi 奶酪挥发性风味化合物分析

序号	种类	AC 制得的 Halloumi 奶酪		PC 制得的 Halloumi 奶酪		MC 制得的 Halloumi 奶酪	
		数量	相对含量	数量	相对含量	数量	相对含量
1	酮类	6	25.94	6	153.75	5	49.61
2	烷类	3	166.98	4	202.63	3	76.87
3	醛类	2	3.83	2	18.37	2	5.96
4	炔类	1	2.69	/	/	/	/
5	苯类	4	29.50	3	56.10	3	34.48
6	酰胺	1	1.99	/	/	/	/
7	呋喃	1	21.91	1	29.71	1	44.73
8	烯类	1	13.46	1	13.47	1	16.06
9	酸类	1	8.41	1	19.29	3	15.69
11	酯类	/	/	/	/	2	5.87
12	癸类	/	/	/	/	1	5.98
13	仿类	/	/	/	/	1	100.00

PC在特定传统奶酪制作中有所应用，但其造成的苦味和产量因素限制了工业应用[19]。本研究初步探讨了3 种凝乳酶制得的Halloumi奶酪风味变化，旨在为凝乳酶的开发提供参考。未来研究应优化MC的生产，提高其活性和稳定性，探索新型PC的提取方法，并开发复合型凝乳酶产品，推动奶酪制造业发展。

参考文献

[1] 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.

[2] 食品安全国家标准 干酪:GB 5420–2021[S].中国标准出版社,2021.

[3] Ayyash M M，Sherkat F，Francis P，et al.The effect of sodium chloride substitution with potassium chloride on texture profile and microstructure of Halloumi cheese[J].Journal Dairy Science，2011，94（1）：37–42.

[4] Walther B，Schmid A，Sieber R，et al.Cheese in nutrition and health[J].Dairy Science & Technology，2008，88（4–5）：389–405.

[5] Lteif L，Olabi A，Baghdadi O K，et al.The characterization of the physicochemical and sensory properties of full–fat，reduced–fat，and low–fat ovine and bovine Halloumi[J].Journal of Dairy Science，2009；92（9）：4135–4145.

[6] Early R，张国农.乳制品生产技术[M].北京：中国轻工业出版社，2002.

[7] 朱玉英，王存芳.凝乳酶的发展及其在奶酪生产中的应用[J].乳业科学与技术，2015，38（4）：25–28.

[8] 杨祥，宋朝阳，曹磊，等.动物源凝乳酶的研究进展[J].食品与发酵科技，2021，57（2）：134–140，145.

[9] Jacob M，Jaros D，Rohm H.Recent advances in milk clotting enzymes[J].International Journal of Dairy Technology，2011，64（1）：14–33.

[10] 曾祺，张志国.微生物凝乳酶研究进展[J].中国乳品工业，2019，47（3）：30–36.

[11] 张富新，顾熟琴.不同凝乳酶在干酪生产中应用效果的研究[J].食品工业科技，2003（7）：20–22.

[12] 苏永红.不同凝乳酶对干酪凝乳性能的影响[J].乳业科学与技术，2012，35（2）：4–6.

[13] 李柳，郑喆，吴凤玉，等.甲醇芽孢杆菌凝乳酶的重组表达及其结构特性[J].食品科学，2019，40（22）：39–46.

[14] 钟玉旺.基于辣木籽凝乳酶的水牛乳干酪加工工艺优化及其品质特性分析[D].昆明：云南农业大学，2023.

[15] 石永祺.牦牛乳硬质干酪成熟过程中脂肪含量对干酪品质及脂肪降解的影响[D].兰州：甘肃农业大学，2020.

[16] 陈晓珊，吴改转，李东，等.青刺果凝乳酶对发酵型干酪质构特性及主要风味物质的影响[J].食品与发酵工业，2025，51（3）：333–342.

[17] Whetstine M E C，Drake M A，Broadbent J R，et al.Enhanced nutty flavor formation in Cheddar Cheese made with a Malty Lactococcus lactis adjunct culture[J].Journal of Dairy Science，2006，89（9）：3277–3284.

[18] Yildiz G，Rababah T M，Feng H.Ultrasound–assisted cutting of cheddar，mozzarella and Swiss cheeses – Effects on quality attributes during storage[J].Innovative Food Science and Emerging Technologies，2016，37：1–9.

[19] Ben Amira A，Besbes S，Attia H，et al.Milk–clotting

中国乳业线上阅读

properties of plant rennets and their enzymatic，rheological，and sensory role in cheese making：A review[J].International Journal of Food Properties，2017，20（sup1）：S76–S93.

Research on the Effects of Different Types of Chymosin on the Quality of Halloumi Cheese

CHEN Fei，ZHANG Jiaxue，YU Lei，ZHANG Ruirui，Meiheriayi Aimaiti，QIAN Hao，SUN Fangfang*

Xinjiang Shihezi Garden Dairy Co.，Ltd.，Shihezi Xinjiang 820000

Abstract：[Objective]To deeply explore the differences in coagulation performance among animal-derived，plant-derived and microbial-derived chymosin during the production of Halloumi cheese.[Method]By adding different types of chymosin respectively in the production of Halloumi cheese，the proteolytic activity，yield，texture characteristics，volatile flavor substances，conventional physicochemical indicators and free fatty acid content of the obtained products were comprehensively analyzed.[Result]Animal-derived chymosin exhibited the lowest proteolytic activity and the highest yield.Halloumi cheese produced under the action of animal-derived chymosin performed better in the retention of fat and protein.In the analysis of texture characteristics，the hardness，chewiness and adhesiveness of this Halloumi cheese were all at a moderate level.In addition，the total amount of free fatty acids in Halloumi cheeses produced from animal-derived chymosin was the highest，followed by plant-derived chymosin，and the lowest from microbial-derived chymosin .A total of 22 flavor substances were detected in Halloumi cheeses made from three types of chymosin，among which the flavor substances in Halloumi cheese made from microbial-derived chymosin were the most diverse.[Conclusion]Halloumi cheeses processed from different types of chymosin exhibited their own characteristics in terms of flavor substances.This study revealed the unique role of animal-derived chymosin in the production of Halloumi cheese，and microbial-derived chymosin was expected to replace animal-derived chymosin.The experimental results could provide a theoretical basis for the application of different types of chymosin.

Keywords：chymosin；Halloumi cheese；process；flavor substances；sensory evaluation

中国乳业线上阅读