

格氏乳球菌 DZ 发酵黄油的工艺优化及品质分析

刘丹丹¹, 徐佳薇¹, 谷祥瑞¹, 于玺², 钱磊³, 张业尼^{1*}

(1. 天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300392) (2. 山东德正乳业股份有限公司, 山东威海 264400)
(3. 天津农学院农学与资源环境学院, 天津 300392)

摘要: 目前, 兼具高活菌数、独特风味与优良营养品质的新型发酵黄油备受市场关注。为了开发此类产品, 以水牛乳来源的格氏乳球菌 DZ 为发酵剂, 探究发酵工艺及活菌回添技术对产品品质的影响。通过单因素及响应面试验优化发酵黄油工艺, 并在最佳参数下分析 3% 发酵稀奶油回添对产品品质的影响。经工艺优化确定最佳条件为接种量 3%、37 °C、16 h, 所得黄油丁二酮含量 33.93 mg·kg⁻¹, 9 点快感评分感官评分 7.85 分。采用 3% 回添工艺, 产品活菌数达 3.05×10⁹ CFU/mL, 模糊数学综合感官评分 94.6 分。电子舌与 GC-MS 分析显示, 发酵黄油酸味(5.80)、鲜味(8.07)、浓厚感(9.66)显著增强, 关键风味物质 2,3-丁二酮(6 188.24 μg·kg⁻¹) 和 2,3-戊二酮(4 660.37 μg·kg⁻¹) 含量远超未发酵及市售样品, 酯类、内酯类化合物大幅提升。脂肪酸分析发现, 发酵使共轭亚油酸从 0.55% 升至 0.77%, α-亚麻酸从 0.85% 升至 1.03%, 棕榈酸从 28.18% 降至 24.94%。综上, 利用该菌株结合优化工艺及回添技术可制备优质发酵黄油, 为功能性发酵乳制品开发提供理论依据。

关键词: 格氏乳球菌; 发酵黄油; 工艺优化; 回添工艺; 风味物质; 脂肪酸; 活菌数

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.5.0396

Process Optimization and Quality Analysis of Butter Fermented with *Lactococcus garvieae* DZ

LIU Dandan¹, XU Jiawei¹, GU Xiangrui¹, YU Xi², QIAN Lie³, ZHANG Yeni^{1*}

(1.College of Food Science and Bioengineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China)

(2.Shandong Dezheng Dairy Co. Ltd., Weihai 264400, China)

(3.College of Agronomy and Resources Environment, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China)

Abstract: Currently, great attention has been paid to novel fermented butter possessing high viable bacterial counts, unique flavor, and excellent nutritional quality in the market. To develop such a product, *Lactococcus garvieae* DZ derived from buffalo milk was used as a starter culture, and the effects of fermentation process and viable bacteria back-addition technology on product quality were investigated. The fermentation process of butter was optimized by single-factor and response surface experiments, and the effect of adding 3% fermented cream back on product quality was analyzed under the optimal parameters. The optimal conditions were determined as follows: inoculum size of 3%, temperature of 37 °C, and time of 16 h. Under these conditions, the diacetyl content of the obtained butter was 33.93 mg·kg⁻¹, and the sensory score by the 9-point hedonic scale was 7.85. Using the 3% back-addition process, the viable bacterial count of the final product reached 3.05×10⁹ CFU/mL, and the sensory score by fuzzy mathematics comprehensive evaluation was 94.6. Analysis by electronic tongue and GC-MS revealed that the sourness (5.80), umami (8.07), and richness (9.66) of the fermented butter were significantly enhanced. The contents of key flavor compounds, 2,3-butanedione (6 188.24 μg·kg⁻¹) and 2,3-pentanedione (4 660.37 μg·kg⁻¹), were much higher than those in non-fermented and commercial samples, and the levels of esters and lactones were greatly increased. Fatty acid analysis showed that fermentation increased the content of conjugated linoleic acid from 0.55% to 0.77% and α-linolenic acid from 0.85% to 1.03%, while the proportion of palmitic acid decreased from 28.18% to 24.94%. In conclusion, high-quality fermented butter can be prepared using this bacterial strain combined with the optimized process and back-addition technology, which provides a theoretical basis for the development of functional fermented dairy products.

Key words: *Lactococcus garvieae*; fermented butter; process optimization; back-adding process; flavor compounds; fatty acids; viable

收稿日期: 2026-03-13; 修回日期: 2026-05-01; 接受日期: 2026-05-09

基金项目: 天津市科技计划项目 (23ZYCGSN00870、24ZYCGSN00070); 甘肃省科技计划项目 (24CXNH009); 甘肃省中央引导地方科技发展资金项目 (24ZYQH006); 天津市蔬菜现代农业产业技术体系创新团队 (ITTVRS2024016); 天津市大学生创新创业项目 (202610061118; 202610061018)

作者简介: 刘丹丹 (1999), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性乳制品开发, E-mail: liudandan20001013@163.com

通讯作者: 张业尼 (1984), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 功能性乳制品开发, E-mail: zhangyeni@tjau.edu.cn

count

黄油是典型的油包水型乳制品,因浓郁的奶香和独特的质构特性备受消费者青睐。根据加工工艺不同,黄油分为甜性黄油和发酵黄油^[1]。发酵黄油因在加工过程中引入乳酸菌发酵,不仅赋予产品复杂的酸香风味,还改善涂抹性与质构特性^[2],在高端烘焙与餐饮市场中占据重要地位。发酵黄油的风味品质与营养价值高度依赖于发酵菌株在特定基质中的代谢活性,乳酸菌通过分解乳脂肪和蛋白质,产生丁二酮、短链脂肪酸、酯类等特征风味物质,同时其代谢产物赋予额外的益生功能^[3]。

目前,国际上欧美等发达国家已构建起成熟的发酵黄油产业链,其核心竞争力在于对专用发酵剂的系统性研发与精准应用,研究已深入到通过特定菌株或复合菌群增强香气层次、赋予健康附加功能的层面^[4,5]。相比之下,我国高品质发酵黄油市场长期依赖进口商业发酵剂,缺乏本土特色菌株及配套发酵工艺,核心困境在于自主发酵剂开发的系统性滞后,导致产品风味单一、同质化严重。国内现有研究多集中于对成品风味的解析或发酵工艺的模仿,未能深入探讨如何利用特异性菌株实现风味的定向调控,核心菌种仍未摆脱对商业菌株的依赖^[6,7]。因此,突破对进口发酵剂的技术依赖,开发适配黄油高脂体系的本土发酵菌株,系统研究其发酵工艺对终产品品质的影响机制,对提升我国乳品深加工产业的差异化竞争力具有重要意义。

本研究采用自主筛选的格氏乳球菌 DZ (*Lactococcus garvieae* DZ) 作为发酵菌株,该菌株具有良好的高脂环境适应性及发酵性能。接菌量、发酵温度与发酵时间是影响乳酸菌代谢活性及风味物质生成的关键因素,响应面法被广泛应用于食品发酵工艺的优化研究^[8]。针对传统发酵黄油离心分离过程中活菌随酪乳流失、削弱产品益生功能的工业化痛点,引入“发酵稀奶油回添”工艺,以期在离心分离后对产品进行活菌强化,在不影响理化稳定性的前提下有效补偿活菌数量,实现风味与功能的协同提升。

为此,本研究通过单因素实验与响应面法优化发酵工艺,系统比较未发酵黄油、优化工艺发酵黄油、发酵回添黄油及市售发酵黄油在感官品质、滋味轮廓、挥发性风味成分及脂肪酸组成等方面的差异,旨在明确该菌株的最优发酵工艺参数,验证回添工艺在提升活菌数的同时维持产品品质的可行性,进而揭示发酵工艺对黄油营养与风味品质的调控机制,以期为开发具有本土特色和高附加值的功能性发酵黄油产品提供科学依据与技术支持。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

格氏乳球菌 DZ (*Lactococcus garvieae* DZ),由本实验室从水牛生牛乳中分离、鉴定并保藏;水牛生牛乳,购自佛山市南海区鲜禾木食品店;新鲜稀奶油(脂肪含量约 40%),山东德正乳业股份有限公司;丁二酮标准品($\geq 99\%$)、邻苯二胺,上海源叶生物科技有限公司;甲醇、正己烷(色谱纯),赛默飞世尔科技(中国)有限公司;2,4,6-三甲基吡啶($\geq 99\%$),上海阿拉丁生化科技股份有限公司。其余试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器与设备

TSQ 9610、TSQ 9000 气相色谱-质谱联用仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;SA402B 味觉分析系统,日本 INSENT 公司;固相微萃取手柄、50/30 μm DVB/CAR/PDMS 固相微萃取头,美国 Supelco 公司。LS170 色差仪,深圳市林上科技有限公司;TA.XT plus 质构仪,英国 Stable Micro Systems 公司;FlexA-200 酶标仪,杭州奥盛仪器有限公司;Elmasonic P 超声波清洗机,艾尔玛(中国)有限公司;D1012U 微量高速离心机,大龙兴创实验仪器(北京)股份公司。

1.3 方法

1.3.1 技术路线与样品制备

1.3.1.1 发酵剂制备

将格氏乳球菌 DZ 于 MRS 培养基中活化后,以 3% (V/V) 接种量转接至 MRS 培养基,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 16 h,离心收集菌体,经无菌生理盐水洗涤后重悬,制得高密度发酵剂(活菌数约 10^{10} CFU/mL),4 $^{\circ}\text{C}$ 贮存备用。

1.3.1.2 不同工艺黄油样品的制备

未发酵黄油：稀奶油于 4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min，分离上层黄油；下层乳清相再次离心后合并两次所得黄油层，作为未发酵黄油对照。

发酵黄油：按优化后工艺参数（接菌量 3%、发酵温度 37 ℃、发酵时间 16 h）接入发酵剂，37 ℃发酵 16 h 后，4 ℃后熟 12 h。发酵稀奶油按上述方法离心分离并合并黄油层，即为发酵黄油样品。

发酵回添黄油：按 3% (m/m) 比例向发酵黄油中回添未经离心的发酵稀奶油（活菌数约 1.09×10¹¹ CFU/mL），充分混匀，4 ℃后熟 12 h，即为发酵回添黄油样品。

1.3.2 发酵工艺优化试验设计

1.3.2.1 单因素试验设计

分别考察接菌量（1%、2%、3%、4%、5%）、发酵温度（31、34、37、40、43 ℃）和发酵时间（8、12、16、20、24 h）对黄油丁二酮含量和感官评分的影响，以确定各因素的适宜范围。

1.3.2.2 响应面优化试验设计

响应面法（RSM）是一种整合了建模与优化的统计技术，能够高效评估主效应、二次效应以及因子间的交互作用，从而确定最优工艺参数^[9]。在单因素试验结果的基础上，采用 Box-Behnken 设计，以接菌量（A）、发酵温度（B）、发酵时间（C）为自变量，以丁二酮含量（Y₁）和感官评分（Y₂）为响应值，进行三因素三水平优化试验。因素水平设计见表 1。

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

水平	A 接菌量/%	B 发酵温度/℃	C 发酵时间/h
-1	2	34	12
0	3	37	16
1	4	40	20

1.3.3 丁二酮含量测定

参照李妍等^[10]的邻苯二胺比色法，针对黄油高脂特性优化前处理。样品经萃取剂（饱和 NaCl-无水乙醇=1:1，V/V）提取后，于 335 nm 处测定吸光度，根据标准曲线计算含量，结果以 mg·kg⁻¹ 表示。

1.3.4 感官评定方法

1.3.4.1 工艺优化阶段

采用 9 点快感评分法，由 10 名经过培训的评价员参照表 2 标准对样品的整体风味喜好程度进行评分。

表 2 感官评分标准

Table 2 Sensory evaluation standards

评分	描述
9	非常喜欢，香气浓郁，风味极佳
8	很喜欢，香气明显，风味良好
7	喜欢，香气适中，风味协调
6	稍喜欢，香气略淡，风味尚可
5	普通，与原料黄油相似
4	稍不喜欢，香气较弱，风味略差
3	不喜欢，香气不足，风味不协调
2	很不喜欢，香气差，有异味
1	非常不喜欢，香气极差，异味明显

1.3.4.2 回添工艺验证阶段

采用模糊数学综合评价法，由 12 名评价员按表 3 标准对色泽、香气、口感、组织状态评分。统计各因素在各等级的评价人数，经归一化处理得到隶属度向量，构建模糊综合评价矩阵 T。权重集 X={0.20, 0.40, 0.20, 0.20}，评语集 K={90, 70, 50, 20}，计算综合评得分 W=K×(X×T)。

表3 感官评价标准

Table 3 Sensory evaluation standards

项目	评分标准	评分/分
色泽 (20 分)	色泽不均匀, 呈不自然的白色或暗沉, 有斑点或霉点	0~40
	色泽基本均匀, 但颜色偏白或过黄, 缺乏光泽	41~60
	色泽均匀, 呈自然的淡黄色, 有光泽	61~80
	色泽均匀、明亮, 呈诱人的乳黄色, 质感纯粹	81~100
香气 (40 分)	有臭味、酒味、氧化哈喇味等不良气味	0~40
	奶香微弱或有轻微异味, 发酵酸味过重或刺鼻	41~60
	无不良异味, 具有愉悦的发酵乳风味和纯正的黄油香气, 协调	61~80
	具有独特、丰富、和谐的乳香、酸香和黄油香气	81~100
口感 (20 分)	口感过硬或过软, 非常粘牙, 颗粒感粗糙。	0~40
	硬度略有不适, 不够细腻, 有轻微颗粒感。	41~60
	硬度适中, 口感细腻, 入口易融化。	61~80
	硬度完美, 口感极其细腻、丝滑, 入口即化。	81~100
组织状态 (20 分)	组织松散、破碎, 有明显乳清析出或大量气孔。	0~40
	状态基本完整, 但表面不够光滑, 有少量缺陷。	41~60
	状态完整, 表面光滑, 组织紧密, 无乳清析出。	61~80
	状态非常完整、致密均匀, 表面极其光滑润泽。	81~100

1.3.5 活菌计数

参照 GB 4789.35-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 乳酸菌检验》规定的方法进行活菌计数, 结果以 CFU/mL 表示。

1.3.6 电子舌测定

准确称取 5.0 g 黄油样品于 100 mL 容量瓶, 蒸馏水定容, 50 °C 超声提取 30 min。提取液经 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液过 0.45 μm 滤膜, 滤液于 4 °C 保存待测。采用日本 INSENT 公司 SA402B 味觉分析系统对样品进行滋味分析。每个样品设置 3 次生物学重复, 系统自动记录各传感器相对电位值作为滋味强度。

1.3.7 挥发性风味物质测定

准确称取 2.0 g 黄油样品于 20 mL 顶空瓶中, 加入 2 μL 10 mg·L⁻¹ 的 2,4,6-三甲基吡啶作为内标, 迅速密封。60 °C 平衡 30 min, 用 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头顶空吸附 40 min, 于 GC 进样口 250 °C 解吸 5 min。

采用 TSQ 9000 GC-MS, 配备 HP-5MS 毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm)。色谱条件: 40 °C 保持 3 min, 以 5 °C·min⁻¹ 升至 150 °C, 再以 10 °C·min⁻¹ 升至 250 °C 保持 5 min; 载气为高纯氦气 (≥99.999%), 恒流模式, 流量 1.0 mL·min⁻¹; 分流比 10:1。质谱条件: 电子轰击离子源 (EI), 离子源温度 230 °C, 传输线温度 280 °C, 全扫描模式, 质量扫描范围 *m/z* 35~500。

挥发性化合物基于保留时间及 NIST 21、Wiley 8 谱库比对定性 (匹配度≥85%)。采用内标法定量, 以目标物与内标峰面积比值计算浓度, 结果以 μg·kg⁻¹ 表示。每个样品平行测定 3 次。

1.3.8 脂肪酸组成测定

参考张玉莹^[11]的方法并稍作调整, 采用三氟化硼甲酯化法结合气相色谱进行分析。

准确称取 0.1 g 黄油样品于 10 mL 离心管中, 加 2 mL 正己烷溶解, 涡旋 2 min。加 2 mL 0.5 mol·L⁻¹ 氢氧化钾-甲醇溶液, 涡旋混匀后于 65 °C 水浴中皂化反应 30 min。冷却后加 2 mL 14% 三氟化硼-甲醇溶液, 继续于 65 °C 水浴中甲酯化反应 3 min。冷却至室温后加 2 mL 正己烷和 2 mL 饱和氯化钠溶液, 涡旋后静置分层, 取上层有机相, 经无水硫酸钠干燥, 过 0.22 μm 滤膜, 转移至棕色样品瓶待测。

采用 TSQ 9610 GC-MS, 配 DB-FFAP 毛细管色谱柱 (60 m×0.25 mm×0.25 μm)。进样口温度 250 °C, 载气为高纯氦气 (流量 1.0 mL·min⁻¹), 进样量 1 μL, 分流比 10:1。升温程序: 初始 50 °C 保持 2 min, 以 10 °C·min⁻¹ 升至 180 °C, 再以 5 °C·min⁻¹ 升至 240 °C 保持 10 min。质谱条件: 电子轰击离子源 (EI, 70 eV), 离子源温度 230 °C, 传输线温度 250 °C, 扫描范围 *m/z* 40~600。

使用 Xcalibur 软件处理数据, 化合物经 NIST 21 和 Wiley 275 谱库鉴定 (匹配度>80%)。采用面积归一化法计算各脂肪酸相对含量, 结果以相对百分含量 (%) 表示。每个样品平行测定 3 次。

1.4 数据分析

所有实验重复 3 次, 结果以平均值±标准差表示。采用 Design-Expert 13 进行响应面分析, SPSS 进行方差分析 (ANOVA), Tukey HSD 法进行多重比较 ($P<0.05$ 为差异显著)。图表绘制使用 Origin 2021。

2 结果与讨论

2.1 发酵工艺优化

2.1.1 单因素试验

2.1.1.1 接菌量对发酵黄油品质的影响

接菌量是影响乳酸菌发酵工艺的关键因素, 接菌量过低会导致菌体数量不足、代谢产物生成量少, 接菌量过高则会引起菌体间营养竞争加剧, 影响产品品质。为考察接菌量对发酵黄油品质的影响, 本研究设置 1%、2%、3%、4%、5% 共 5 个接菌量水平进行单因素试验, 结果如图 1 所示。

从图 1 可知, 随着接菌量的增加, 丁二酮含量和感官评分均呈先上升后趋于稳定的趋势。当接菌量为 3% 时, 丁二酮含量 ($32.69 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和感官评分 (7.60 分) 均达到最高。当接菌量从 1% 增至 3% 时, 丁二酮含量从 $26.56 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 显著上升至 $32.69 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 接菌量超过 3% 后, 丁二酮含量趋于稳定甚至略有下降, 感官评分也随之降低。这可能是由于接菌量过高导致菌体间营养竞争加剧, 代谢途径发生改变, 对风味物质的积累产生负面影响^[12]。类似的现象在黄精刺梨复合酵素发酵中亦有报道, 接种量过高同样导致感官品质下降^[13]。因此, 选择接菌量 2%、3%、4% 进行下一步响应面优化试验。

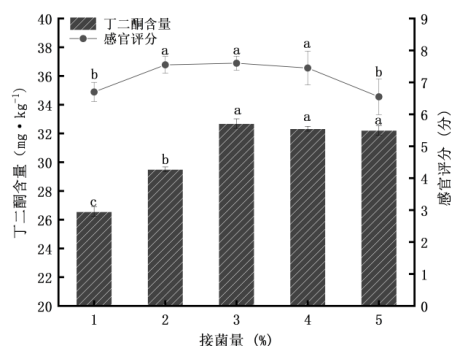


图 1 接菌量对发酵黄油丁二酮含量和感官评分的影响

Fig.1 Effect of inoculation amount on diacetyl content and sensory score of fermented butter

注: 图中不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同。

2.1.1.2 发酵温度对发酵黄油品质的影响

温度是影响乳酸菌发酵工艺的关键因素, 温度过高或过低均会导致菌体活力降低, 从而影响发酵黄油品质^[14]。为确定适宜的发酵温度, 本研究分别考察了 31、34、37、40、43 °C 五个温度条件下的发酵效果, 结果如图 2 所示。

从图 2 可知, 随着发酵温度的升高, 丁二酮含量和感官评分均呈先上升后下降的趋势。当发酵温度为 37 °C 时, 丁二酮含量 ($35.52 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和感官评分 (6.82 分) 均达到峰值。从 31 °C 升至 37 °C 时, 丁二酮含量从 $29.62 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 显著上升; 温度超过 37 °C 后, 丁二酮含量开始下降。这可能是由于温度对菌体代谢和酶活性的综合影响: 37 °C 时菌体产丁二酮的相关酶系活性达到最优; 温度过低 (31~34 °C) 时酶活性不足; 温度过高 (40~43 °C) 时则可能导致酶蛋白变性失活或菌体过早衰老, 丁二酮含量下降, 感官品质也随之降低^[15]。类似的现象在发酵乳制品研究中亦有报道, 温度偏离最适范围同样会导致丁二酮含量和感官评分显著下降^[16]。因此, 选择发酵温度 34、37、40 °C 进行下一步响应面优化试验。

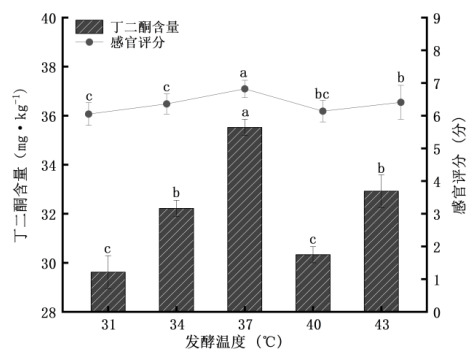


图 2 发酵温度对发酵黄油丁二酮含量和感官评分的影响

Fig.2 Effect of fermentation temperature on diacetyl content and sensory score of fermented butter

2.1.1.3 发酵时间对发酵黄油品质的影响

发酵时间是影响乳酸菌代谢产物积累的重要因素，时间过短会导致代谢不充分，时间过长则可能引起产物分解转化。为确定最佳发酵时间，本研究分别考察了 8、12、16、20、24 h 五个时间点的发酵效果，结果如图 3 所示。

从图 3 可知，随着发酵时间的延长，丁二酮含量和感官评分均呈先上升后下降的趋势。当发酵时间为 16 h 时，丁二酮含量（35.52 mg·kg⁻¹）和感官评分（7.45 分）均达到最高。当发酵时间从 8 h 延长至 16 h 时，丁二酮含量从 33.63 mg·kg⁻¹ 逐渐上升；发酵时间超过 16 h 后，丁二酮含量开始下降。这可能是由于丁二酮作为中间代谢产物，在发酵前期不断积累，达到峰值后继续延长发酵时间则可能被菌体进一步分解或转化^[17]。因此，选择发酵时间 12、16、20 h 进行下一步响应面优化试验。

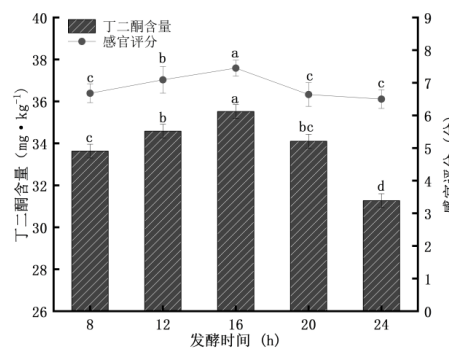


图 3 发酵时间对发酵黄油丁二酮含量和感官评分的影响

Fig.3 Effect of fermentation time on diacetyl content and sensory score of fermented butter

2.1.2 响应面优化试验

2.1.2.1 模型建立与方差分析

根据 Box-Behnken 设计原理，以接菌量 (A)、发酵温度 (B)、发酵时间 (C) 为自变量，以丁二酮含量 (Y₁) 和感官评分 (Y₂) 为响应值，进行 17 组试验，结果见表 4。

表 4 响应面试验设计及结果

Table 4 Design and results of response surface experiment					
试验组	A	B	C	Y ₁ 丁二酮含量/(mg·kg ⁻¹)	Y ₂ 感官评价 (分)
1	-1	-1	1	28.21±0.60	6.80±0.95
2	1	-1	0	29.62±0.32	6.70±0.86
3	-1	1	0	29.03±0.14	7.50±0.78
4	1	1	0	31.75±0.86	7.05±0.90
5	-1	0	-1	30.92±0.50	7.30±0.92

6	1	0	-1	31.39±0.31	6.75±0.98
7	-1	0	1	28.09±0.23	6.70±0.67
8	1	0	1	31.39±0.16	6.85±0.94
9	0	-1	-1	30.09±0.40	6.90±0.52
10	0	1	-1	31.51±0.21	7.10±0.77
11	0	-1	1	28.21±0.18	6.50±0.75
12	0	1	1	31.16±0.37	6.90±0.70
13	0	0	0	34.58±0.20	7.85±0.71
14	0	0	0	34.34±0.48	7.80±0.63
15	0	0	0	33.40±0.25	7.85±0.85
16	0	0	0	33.40±0.13	7.90±0.97
17	0	0	0	33.63±0.39	8.00±0.88

采用 Design-Expert 13 对表 4 数据进行多项式回归拟合, 得到丁二酮含量 (Y_1) 和感官评分 (Y_2) 与接菌量 (A)、发酵温度 (B)、发酵时间 (C) 的二次回归方程:

$$Y_1=33.87+0.99A+0.91B-0.63C+0.32AB+0.71AC+0.38BC-2.00A^2-2.21B^2-1.41C^2$$

$$Y_2=7.88-0.08A+0.17B-0.14C-0.16AB+0.18AC+0.05BC-0.37A^2-0.42B^2-0.60C^2$$

对两个模型进行方差分析, 结果见表 5。

表 5 响应面模型方差分析

Table 5 Analysis of variance for response surface models

方差来源	平方和		自由度		均方		F 值		P 值		显著性	
	Y_1	Y_2	Y_1	Y_2	Y_1	Y_2	Y_1	Y_2	Y_1	Y_2	Y_1	Y_2
模型	71.81	3.88	9	9	7.98	0.430 6	36.36	100.89	<0.000 1	<0.000 1	***	***
A	7.81	0.052 8	1	1	7.81	0.052 8	35.58	12.37	0.000 6	0.009 8	***	***
B	6.68	0.227 8	1	1	6.68	0.227 8	30.44	53.38	0.000 9	0.000 2	***	***
C	3.2	0.151 2	1	1	3.2	0.151 2	14.6	35.44	0.006 5	0.000 6	**	***
AB	0.422 6	0.105 6	1	1	0.422 6	0.105 6	1.93	24.75	0.207 8	0.001 6	ns	**
AC	2	0.122 5	1	1	2	0.122 5	9.12	28.7	0.019 4	0.001 1	*	**
BC	0.582 4	0.01	1	1	0.582 4	0.01	2.65	2.34	0.147 3	0.169 7	ns	ns
A^2	16.92	0.580 3	1	1	16.92	0.580 3	77.12	135.98	<0.000 1	<0.000 1	***	***
B^2	20.6	0.747 2	1	1	20.6	0.747 2	93.86	175.07	<0.000 1	<0.000 1	***	***
C^2	8.43	1.56	1	1	8.43	1.56	38.41	365.6	0.000 4	<0.000 1	***	***
残差	1.54	0.029 9	7	7	0.219 5	0.004 3	-	-	-	-	-	-
失拟项	0.312 4	0.006 9	3	3	0.104 1	0.002 3	0.340 3	0.398 6	0.798 7	0.762 1	ns	ns
纯误差	1.22	0.023	4	4	0.306	0.005 8	-	-	-	-	-	-
总和	73.35	3.91	16	16	-	-	-	-	-	-	-	-

注: ***差异极其显著 ($P<0.001$); **差异高度显著 ($P<0.01$); *差异显著 ($P<0.05$); ns 差异不显著。

方差分析表明, 两模型 P 值均 $<0.000\ 1$, 达极其显著水平; 失拟项 P 值分别为 0.798 7 和 0.762 1, 均 >0.05 , 不显著。丁二酮模型 $R^2=0.979\ 1$, 感官评分模型 $R^2=0.992\ 4$, 均 >0.9 ; 两模型校正系数 (Radj^2) 与预测系数 (Rpre^2) 的差值均 ≤ 0.2 (丁二酮含量模型: $\text{Radj}^2=0.952\ 1$, $\text{Rpre}^2=0.905\ 8$; 感官评分模型: $\text{Radj}^2=0.982\ 5$, $\text{Rpre}^2=0.962\ 6$)。此外, 两模型变异系数 (CV) 分别为 1.5% 和 0.904 8% (均 $<10\%$), 信噪比分别为 16.124 1 和 27.666 9 (均 >4)。上述指标表明, 两模型拟合优度高, 误差小, 信噪比良好, 能精准反映各因素与响应值之间的关系, 可用于发酵黄油工艺的分析与优化。

由回归系数显著性检验可知:

对于丁二酮含量 (Y_1), 一次项 A、B 及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 均达极其显著水平 ($P<0.001$); 一次项 C 达高度显著水平 ($P<0.01$); 交互项 AC 达显著水平 ($P<0.05$)。各因素影响程度依次为: 接菌量 (A) $>$ 发酵温度 (B) $>$

发酵时间 (C)。

对于感官评分 (Y_2)，一次项 A 、 B 、 C 及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 均达极其显著水平 ($P<0.001$)；交互项 AB 、 AC 达高度显著水平 ($P<0.01$)。各因素影响程度依次为：发酵时间 (C) > 发酵温度 (B) > 接菌量 (A)。

2.1.2.2 各因素交互作用分析

为直观展示各因素两两之间的交互作用对丁二酮含量的影响，绘制了三维响应面图和等高线图，结果如图 4、图 5、图 6 所示。

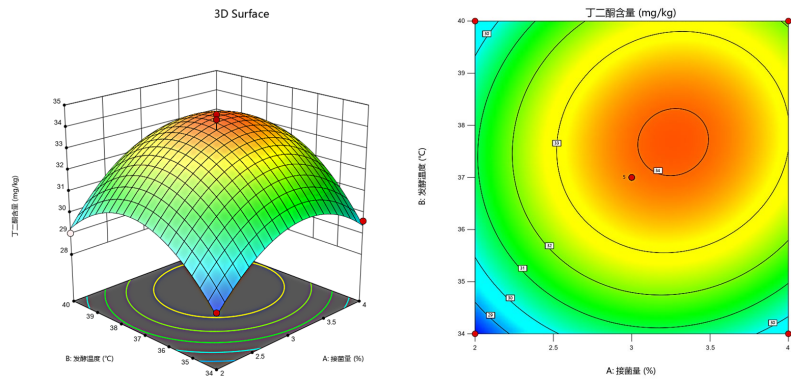


图 4 接菌量与发酵温度交互作用对丁二酮含量影响的响应面图和等高线图

Fig.4 Response surface and contour plots for the effect of interaction between inoculation amount and fermentation temperature on diacetyl content

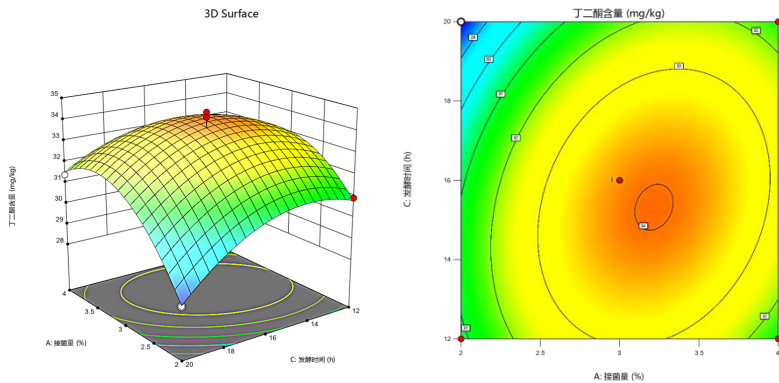


图 5 接菌量与发酵时间交互作用对丁二酮含量影响的响应面图和等高线图

Fig.5 Response surface and contour plots for the effect of interaction between inoculation amount and fermentation time on diacetyl content

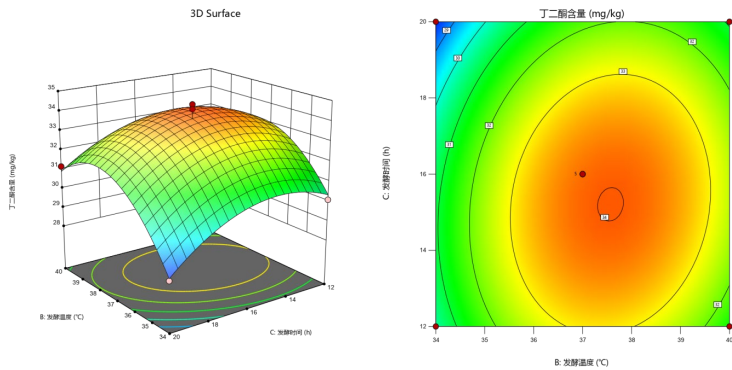


图 6 发酵温度与发酵时间交互作用对丁二酮含量影响的响应面图和等高线图

Fig.6 Response surface and contour plots for the effect of interaction between fermentation temperature and fermentation time on diacetyl content

从图 4~图 6 可以看出,对于丁二酮含量, AC 项的响应曲面较陡峭,等高线图呈椭圆形,说明二者的交互作用显著;而 AB 项和 BC 项的响应曲面趋于平缓,等高线图也更加接近圆形,由此说明 AB 和 BC 项对丁二酮含量的交互作用不显著,该结果与方差分析相一致。

为直观展示各因素两两之间的交互作用对感官评分的影响,绘制了三维响应面图和等高线图,结果如图 7、图 8、图 9 所示。

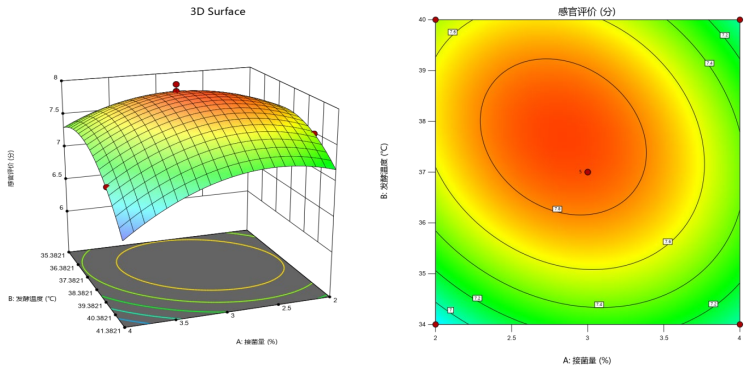


图 7 接种量与发酵温度交互作用对感官评分影响的响应面图和等高线图

Fig.7 Response surface and contour plots for the effect of interaction between inoculation amount and fermentation temperature on sensory score

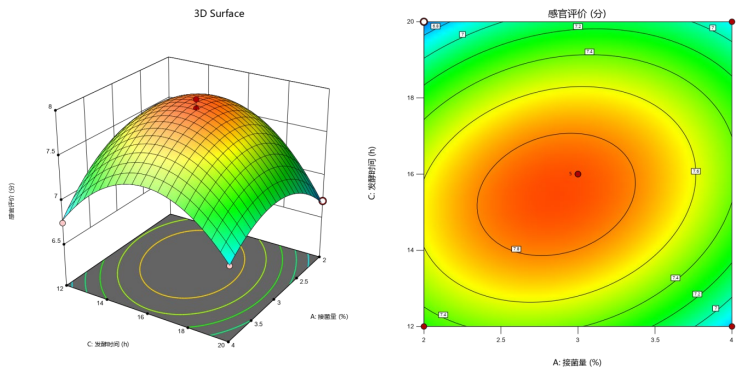


图 8 接种量与发酵时间交互作用对感官评分影响的响应面图和等高线图

Fig.8 Response surface and contour plots for the effect of interaction between inoculation amount and fermentation time on sensory score

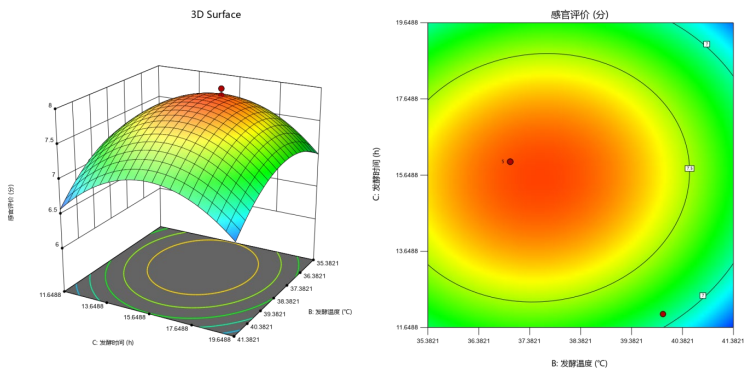


图 9 发酵温度与发酵时间交互作用对感官评分影响的响应面图和等高线图

Fig.9 Response surface and contour plots for the effect of interaction between fermentation temperature and fermentation time on sensory score

从图 7~图 9 可以看出,对于感官评分, AB 项和 AC 项的响应曲面均较陡峭,等高线图呈椭圆形,说明二者

的交互作用高度显著；而 *BC* 项的响应曲面趋于平缓，等高线图也更加接近圆形，由此说明 *BC* 项对感官评分的交互作用不显著，该结果与方差分析相一致。

2.1.2.3 最佳工艺条件确定与验证

通过 Design-Expert 13 对两个响应值进行多目标协同优化。在权重分配上，综合考虑丁二酮含量作为反映乳酸菌代谢活性和发酵黄油特征风味形成能力的关键定量指标，以及感官评分作为直接反映消费者接受度的综合评价指标，两者对于发酵黄油品质均具有同等重要性。因此，将丁二酮含量与感官评分的权重均设为 0.5（即各占 50%），采用期望函数法（Desirability Function）进行同步最大化优化，得到最佳发酵工艺参数：接菌量 3.05%、发酵温度 37.58℃、发酵时间 15.49 h。对应丁二酮含量与感官评分预测值分别为 34.06 mg·kg⁻¹ 和 7.90 分。为便于实际生产，将工艺条件调整为接菌量 3%、发酵温度 37℃、发酵时间 16 h。经验证实验，丁二酮含量与感官评分均值分别为 33.93 mg·kg⁻¹ 和 7.85 分，与预测值相对误差<5%，表明模型可靠，优化工艺稳定可行。

2.2 回添工艺验证结果

2.2.1 活菌计数分析

活菌计数结果显示，按 3%比例回添发酵稀奶油后，于回添后立即取样分析，发酵回添黄油成品的活菌数达到 3.05×10⁹ CFU/mL。结果表明，回添工艺能够有效补偿离心过程中损失的活菌，使成品获得较高的初始活菌数。

2.2.2 模糊数学感官评价分析

为评价回添工艺对产品感官品质的影响，采用模糊数学综合评价法对两种黄油样品进行感官评定：未回添发酵黄油（样品 A）和回添 3%发酵稀奶油的发酵黄油（样品 B）。由 12 名评价员按表 3 标准对样品的色泽、香气、口感、组织状态四项指标进行分级评价。分级标准分为四个等级：V₁（优异，81~100 分）、V₂（良好，61~80 分）、V₃（一般，41~60 分）、V₄（差，0~40 分）。统计每项指标各等级的评价人数，结果如表 6 所示。

表 6 不同发酵黄油感官评价指标统计

Table 6 Statistics of sensory evaluation indicators for butter

样品	色泽				香气				口感				组织状态			
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄
A	8	4	0	0	6	6	0	0	4	4	3	1	7	3	2	0
B	8	2	2	0	7	4	1	0	8	1	2	1	6	5	1	0

根据表 6 的统计结果进行归一化处理，得到模糊综合评价矩阵 *T_A* 和 *T_B*。

$$T_A = \begin{bmatrix} 0.8 & 0.4 & 0 & 0 \\ 0.6 & 0.6 & 0 & 0 \\ 0.4 & 0.4 & 0.3 & 0.1 \\ 0.7 & 0.3 & 0.2 & 0 \end{bmatrix}$$

$$T_B = \begin{bmatrix} 0.8 & 0.2 & 0.2 & 0 \\ 0.7 & 0.4 & 0.1 & 0 \\ 0.8 & 0.1 & 0.2 & 0.1 \\ 0.6 & 0.5 & 0.1 & 0 \end{bmatrix}$$

已知权重集 *X*={0.20, 0.40, 0.20, 0.20}，评语集分值 *K*={90, 70, 50, 20}，按模糊原理 *Y=X×T* 计算评价结果向量，再根据公式 *W=K×Y* 计算综合得分：

$$Y_A = X \times T_A = \{0.62, 0.46, 0.1, 0.02\}$$

$$W_A = K \times Y_A = 93.4$$

$$Y_B = X \times T_B = \{0.72, 0.32, 0.14, 0.02\}$$

$$W_B = K \times Y_B = 94.6$$

回添 3%发酵稀奶油的样品 B 综合评分为 94.6 分，高于未回添样品 A（93.4 分）。从评价等级分布来看，样品 B 在 V₁（优异）等级隶属度由 0.62 提升至 0.72，V₂（良好）等级隶属度由 0.46 降至 0.32，V₃、V₄ 等级无明显劣变。结果表明，回添工艺可使产品感官品质向更高等级集中，有效提升风味协调性与质地接受度，尤其在香气层次与口感细腻度方面表现更优。

2.3 不同工艺黄油的品质分析

2.3.1 电子舌滋味分析

2.3.1.1 主成分分析（PCA）

主成分分析（PCA）通过对原始数据进行降维去噪，在保留主要信息的基础上揭示变量间关系并实现样品综合评价^[18]。为全面比较不同类型黄油的电子舌风味差异，对四种黄油样品的味觉指标进行了主成分分析，结果如图 10 所示。

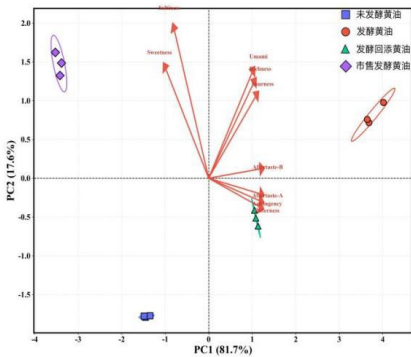


图 10 不同类型黄油电子舌风味的 PCA-Biplot 分析图

Fig.10 PCA-Biplot of Electronic Tongue Flavor Profiles for Different Types of Butter

从图 10 可知，PC1 和 PC2 累计贡献率达 99.3%（PC181.7%，PC 217.6%），能够充分反映不同黄油样品的味觉特征差异。沿 PC1 方向，各样品分布离散，表明该成分为主要区分维度，其中发酵黄油与市售发酵黄油分离最明显，说明二者风味轮廓差异最大。沿 PC2 方向，未发酵黄油与市售发酵黄油相距较远，进一步体现风味结构差异。样品间无重叠，表明四种黄油在感官特征上具有显著区别。

红色箭头分别表示不同味觉因素，其夹角代表因素间的相关性：甜味、咸味、鲜味、浓厚感、酸味及后苦味均分布于 PC1 和 PC2 的正向区域，说明这些因素在黄油样品的整体味觉表达中呈正相关协同关系。甜、咸味与后苦味之间的夹角为钝角，表明二者与后苦味呈负相关，与图 3 中甜味、咸味升高伴随后苦味下降的结果一致；鲜味、浓厚感、酸味与后苦味之间的夹角为锐角，表明它们之间具有正相关关联。

2.3.1.2 线性判别分析（LDA）

线性判别分析（LDA）作为一种有监督的降维技术，能有效捕捉不同类别之间的判别信息^[19]。为进一步验证不同黄油样品之间的滋味差异并建立判别模型，采用线性判别分析对四种黄油样品进行处理，结果如图 11 所示。

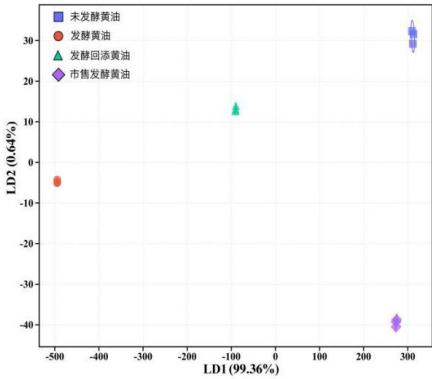


图 11 不同类型黄油电子舌风味的线性判别分析散点图

Fig.11 Linear Discriminant Analysis (LDA) Scatter Plot of Electronic Tongue Flavor for Different Types of Butter

从图 11 可知，主成分 1 和主成分 2 的方差贡献率分别为 99.36%和 0.64%，累计贡献率达 100%，表明前两个主成分已充分覆盖黄油样品的总体变异信息。样本在二维空间中的分布显示：未发酵黄油位于第一象限，市售发酵黄油位于第二象限，发酵黄油位于第三象限，发酵回添黄油位于第四象限。其中，发酵黄油与未发酵黄油在主成分 1 上的投影距离最远，差异最显著；在主成分 2 上亦有分离，表明次要风味维度上仍具区分度。发酵回添黄油与市售发酵黄油在主成分 1 上明显区分，在主成分 2 上也有一定距离，说明两者在滋味构成上具有可辨别的差异。

2.3.1.3 关键滋味属性雷达图分析

雷达图分析法作为一种多指标可视化工具，能够直观展示多个变量在不同样本间的差异与分布特征^[20]。为系统比较四种黄油样品在 9 个味觉指标上的差异，绘制了关键滋味属性雷达图，结果如图 12 所示。

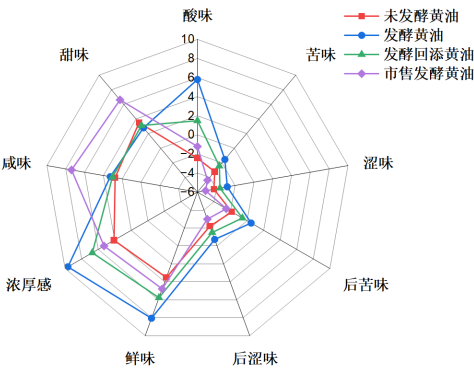


图 12 四种黄油关键滋味属性雷达图

Fig.12 Radar Chart of Key Taste Attributes of Four Butter Samples

从图 12 可知，四种黄油在 9 个味觉指标上呈现明显差异。发酵黄油的酸味、鲜味、浓厚感、后涩味及后苦味较高；市售发酵黄油的咸味与甜味较高，苦味与涩感较低；未发酵黄油与发酵回添黄油的各项指标介于二者之间，其中回添黄油的部分指标接近发酵黄油。

发酵工艺对黄油的滋味轮廓产生系统性影响，其中酸味提升是乳酸菌代谢的直接结果。Barkat 等^[21]研究发现，降低 pH 值有助于提升发酵产品的风味强度。发酵过程显著增强了鲜味与浓厚感，这主要归因于蛋白质与脂肪在酶解过程中产生的呈味物质^[22]。此外，发酵工艺通过自然代谢路径适度提升了咸味的感知强度，协同酸味形成“酸咸香”复合味觉体验，使整体风味更趋醇厚协调。伴随上述风味特征的优化，苦味与涩味亦轻微升高，这为理解发酵过程中风味代谢的复杂机制提供了新的视角。

2.3.2 挥发性风味物质分析

挥发性风味化合物是评价食品质量和消费者接受度的重要特征之一^[23]，其组成和含量与感官特性及产品接受度密切相关^[24]。本研究在 4 类黄油样品中共检测出 61 种挥发性化合物，涵盖酮类、酯类、醇类、脂肪酸、醛类、内酯类等 11 个种类，其 GC-MS 总离子流图见图 13。选取其中 30 种代表性风味物质进行定量分析，结果见表 7。

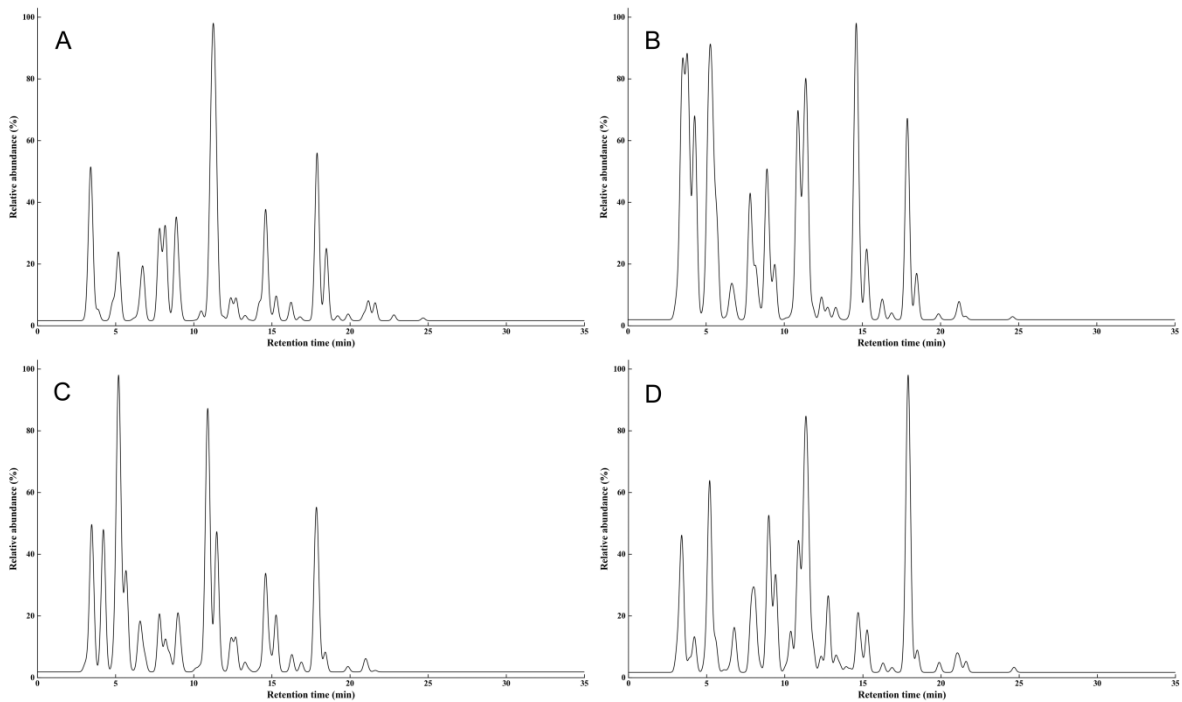


图 13 四种黄油样品 GC-MS 总离子流图

Fig.13 Total Ion Chromatogram of Four Butter Samples by GC-MS

注：A、B、C、D 分别代表未发酵黄油、发酵黄油、发酵回添黄油、市售发酵黄油。

表 7 不同工艺黄油样品中主要挥发性风味物质含量

Table 7 Contents of main volatile flavor compounds in butter samples with different processing technologies								
类别	序号	化合物	RT/min	未发酵黄油/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	发酵黄油/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	发酵回添黄油/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	市售发酵黄油/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	气味特征
酮类	1	2-庚酮	8.171 4	1 481.74 $\pm$ 178.30 ^a	1 659.60 $\pm$ 240.96 ^a	803.40 $\pm$ 78.94 ^b	1 528.02 $\pm$ 68.54 ^a	奶油味、果香、皂味
	2	2-壬酮	12.384 5	348.67 $\pm$ 53.34 ^c	593.34 $\pm$ 80.69 ^b	898.03 $\pm$ 161.61 ^a	393.35 $\pm$ 70.28 ^c	奶油味、果香、脂肪味
二酮类	3	2,3-丁二酮	4.271 2	ND	6 188.24 $\pm$ 278.52 ^a	2 911.15 $\pm$ 342.97 ^b	943.81 $\pm$ 45.91 ^c	黄油味、奶油味、焦糖味
	4	2,3-戊二酮	5.375	ND	4 660.37 $\pm$ 417.66	ND	ND	黄油味、焦糖味、奶油味
羟基酮	5	3-羟基-2-丁酮	5.679 5	ND	2 389.94 $\pm$ 124.86	2 219.50 $\pm$ 224.69	ND	奶油味、黄油味、甜香
醛类	6	己醛	6.775 8	324.85 $\pm$ 36.55 ^b	347.48 $\pm$ 30.44 ^b	124.55 $\pm$ 9.85 ^c	779.90 $\pm$ 155.11 ^a	青草味、脂肪味
	7	壬醛	11.883 7	63.07 $\pm$ 6.88 ^c	339.79 $\pm$ 26.82 ^b	40.70 $\pm$ 4.82 ^c	655.35 $\pm$ 10.38 ^a	脂肪味、柑橘味、玫瑰味
芳香醛	8	苯甲醛	10.312 6	ND	ND	ND	861.87 $\pm$ 117.72	杏仁香、櫻桃香
酯类	9	甲酸乙酯	3.115 2	22.32 $\pm$ 3.31 ^c	420.25 $\pm$ 39.48 ^a	117.00 $\pm$ 19.09 ^b	379.47 $\pm$ 33.77 ^a	果香、醚香
	10	乙酸乙酯	3.825 2	ND	6 736.62 $\pm$ 923.83	ND	ND	果香、甜香、清新
	11	丙酸乙酯	4.988 5	115.57 $\pm$ 22.31 ^b	301.74 $\pm$ 43.97 ^a	52.98 $\pm$ 7.44 ^c	311.77 $\pm$ 8.40 ^a	果、甜香、朗姆酒香
	12	丁酸乙酯	6.490 9	126.64 $\pm$ 10.41 ^c	211.21 $\pm$ 11.19 ^b	640.91 $\pm$ 53.70 ^a	139.74 $\pm$ 19.47 ^c	果香、菠萝味、甜香
	13	乳酸乙酯	8.902 2	ND	358.44 $\pm$ 21.75	ND	ND	奶油味、果香、甜香
	14	辛酸乙酯	13.204 2	101.62 $\pm$ 12.18 ^c	430.16 $\pm$ 63.55 ^a	210.90 $\pm$ 34.29 ^b	417.82 $\pm$ 35.33 ^a	果香、花香、奶油味
	15	癸酸乙酯	16.824 3	65.70 $\pm$ 5.70 ^d	189.52 $\pm$ 12.30 ^b	226.10 $\pm$ 15.94 ^a	152.61 $\pm$ 23.50 ^c	果香、脂肪味
醇类	16	1-丁醇	5.194 6	404.07 $\pm$ 33.40 ^c	1 637.05 $\pm$ 159.68 ^b	479.69 $\pm$ 47.98 ^c	2 081.17 $\pm$ 196.17 ^a	醇香、甜香
	17	1-己醇	8.953 7	1 546.49 $\pm$ 238.57 ^b	3 833.97 $\pm$ 197.73 ^a	1 111.89 $\pm$ 95.76 ^b	4 233.99 $\pm$ 828.65 ^a	花香、青草味、果香
	18	1-辛醇	12.776 6	386.37 $\pm$ 34.69 ^c	454.04 $\pm$ 79.75 ^c	816.89 $\pm$ 152.23 ^b	1 917.30 $\pm$ 83.48 ^a	脂肪味、柑橘味、花香
脂肪酸	19	乙酸	5.201 3	736.20 $\pm$ 91.91 ^d	4 354.32 $\pm$ 353.47 ^b	5 662.94 $\pm$ 620.99 ^a	2 673.57 $\pm$ 138.23 ^c	醋酸味
	20	丁酸	7.824 5	1 603.18 $\pm$ 108.04 ^b	3 673.07 $\pm$ 102.49 ^a	914.26 $\pm$ 123.88 ^c	1 532.43 $\pm$ 109.53 ^b	奶酪味、酸臭味、黄油味
	21	3-甲基丁酸	9.411 4	ND	1 577.97 $\pm$ 161.80	ND	2 243.24 $\pm$ 269.35	奶酪味、汗味
	22	己酸	11.428 5	2 079.27 $\pm$ 417.74 ^c	7 418.06 $\pm$ 1 050.72 ^b	3 181.75 $\pm$ 201.15 ^a	3 197.08 $\pm$ 175.59 ^b	奶酪味、山羊味、脂肪味
	23	辛酸	14.605	1 971.89 $\pm$ 156.90 ^b	7 062.42 $\pm$ 1 396.43 ^a	2 407.79 $\pm$ 231.89 ^b	1 351.61 $\pm$ 94.51 ^b	奶酪味、蜡味、油脂味
	24	癸酸	17.892 3	1 917.20 $\pm$ 64.61 ^b	5 570.59 $\pm$ 1 127.09 ^a	3 193.95 $\pm$ 65.12 ^b	6 655.48 $\pm$ 1 328.66 ^a	蜡味、油脂味、奶味
	25	二甲基硫醚	3.282 1	34.64 $\pm$ 1.44 ^c	88.77 $\pm$ 11.19 ^a	41.73 $\pm$ 2.66 ^{bc}	51.29 $\pm$ 1.64 ^b	卷心菜味、硫磺味
内酯类	26	γ -己内酯	10.892 4	ND	5 602.67 $\pm$ 636.57 ^a	5 184.69 $\pm$ 972.13 ^a	3 244.51 $\pm$ 165.64 ^b	椰子香、奶油香
	27	δ -己内酯	11.210 4	4 292.94 $\pm$ 611.37 ^b	2 239.51 $\pm$ 151.60 ^c	ND	5 942.58 $\pm$ 778.32 ^a	椰子香、奶油香
	28	γ -辛内酯	14.877 5	82.10 $\pm$ 5.88 ^d	225.88 $\pm$ 19.75 ^c	344.94 $\pm$ 15.04 ^b	537.32 $\pm$ 97.53 ^a	椰子香、奶油香
	29	δ -辛内酯	15.294 9	455.30 $\pm$ 48.53 ^d	2 109.58 $\pm$ 67.52 ^a	1 342.77 $\pm$ 53.74 ^b	1 094.23 $\pm$ 21.21 ^c	椰子香、奶油香、甜香
	30	δ -癸内酯	18.420 4	1 039.44 $\pm$ 179.15 ^b	1 517.30 $\pm$ 182.02 ^a	434.68 $\pm$ 34.93 ^c	585.75 $\pm$ 44.28 ^c	桃子香、奶油香、椰子香

注：“ND”表示未检出，同行不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ），下表同。

通过对表 7 中挥发性物质的系统分析，可揭示两个层面的品质差异：首先，发酵工艺本身对黄油风味构成的丰富度和典型风味的形成具有决定性作用^[25]；其次，实验室发酵与商业化生产在风味塑造上存在显著不同的侧重点。

未发酵黄油风味谱最为简单，种类与浓度均显著低于发酵样品。其风味短板体现在：核心标志物 2,3-丁二酮与 3-羟基-2-丁酮未检出；贡献奶酪风味的短链脂肪酸（丁酸 1 603 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、乙酸 736 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、己酸 2 079 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）含量最低；果香酯类（甲酸乙酯 22 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、丙酸乙酯 116 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、丁酸乙酯 127 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）普遍偏低。风味主要依赖 δ -己内酯（4 293 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）的椰奶香，整体风味单一。Şengül 等^[26]同样发现，不含发酵剂的样品中未检测到 2,3-丁二酮。

发酵黄油风味物质显著提升。关键风味物质被大量合成：2,3-丁二酮（6 188 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）与 3-羟基-2-丁酮（2 389 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）赋予核心黄油奶油特征；2,3-戊二酮（4 660 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ）丰富焦甜香气。主体风味酸强度剧增：乙酸

(4 354 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、丁酸 (3 673 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、己酸 (7 418 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、辛酸 (7 062 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、癸酸 (5 571 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 等贡献强烈奶酪、果酸和蜡质风味。酯类谱全面优化: 乙酸乙酯 (6 737 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、乳酸乙酯 (358 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、辛酸乙酯 (430 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 等高浓度存在, 构建了复杂的果香-奶酪香-奶油香平衡。内酯谱发生有利转变: γ -己内酯 (5 602 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 与 δ -辛内酯 (2 110 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 提供了饱满乳脂甜香。Feng 等^[27] 研究报道, 副干酪乳杆菌 RH5 发酵可显著提升黄油中酸类、酮类、酯类与内酯类等化合物的含量与多样性。

发酵回添黄油的风味谱呈规律性的“中间态”, 成功引入发酵黄油中大部分关键风味物质, 但浓度介于二者之间: 如 2,3-丁二酮 (2 911 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、3-羟基-2-丁酮 (2 220 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、己酸 (3 182 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、 γ -己内酯 (5 185 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 等。表明该工艺能系统性提升风味基线, 实现补偿活菌与增强风味双重目标。

市售发酵黄油呈现以醇类、内酯和长链成分为主导, 核心风味物质 2,3-丁二酮 (944 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 显著低于实验室发酵产品, 且 2,3-戊二酮与 3-羟基-2-丁酮未检出。但市售产品通过其他成分构建风味特色: 醇类 (1-丁醇 2 081 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、1-己醇 4 234 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、1-辛醇 1 917 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 带来醇厚感; δ -己内酯 (5 943 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和 γ -辛内酯 (537 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 带来椰奶甜香; 癸酸 (6 655 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 与 3-甲基丁酸 (2 243 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 贡献蜡质干酪味。醛类 (己醛、壬醛、苯甲醛) 含量较高, 可能增添青草坚果香韵, 但过量积累可能带来氧化异味^[28]。反观实验室深度发酵黄油, 以高浓度二酮类、羟基酮、中短链脂肪酸及果香酯类为鲜明特征, 指向强烈典型的发酵黄油风味, 更接近传统感官期待。

2.3.3 脂肪酸组成分析

膳食脂肪的生理效应与其脂肪酸组成密切相关, 不同脂肪酸在人体内具有迥异的生理功能: 适量中短链饱和脂肪酸可快速供能, 但过量长链饱和脂肪酸与心血管疾病风险相关; 单不饱和脂肪酸有助于调节血脂; 多不饱和脂肪酸及其衍生物参与免疫调节等关键过程^[29]。为从分子营养学层面揭示发酵工艺对黄油品质的优化作用, 本研究对四种黄油样品中 41 种脂肪酸进行了系统分析, 结果如表 8 所示。

表 8 不同工艺黄油样品中游离脂肪酸的组成及相对含量

Table 8 Composition and Relative Contents of Free Fatty Acids in Butter Samples with Different Processing Technologies						
序号	脂肪酸	RT/min	未发酵黄油/%	发酵黄油/%	发酵回添黄油/%	市售发酵黄油/%
1	肉豆蔻酸	14.74	10.30±0.28 ^b	11.44±0.14 ^a	10.84±0.30 ^a	9.08±0.18 ^c
2	十五烷酸	15.82	1.08±0.01 ^b	1.27±0.03 ^a	1.19±0.02 ^a	0.92±0.01 ^c
3	棕榈酸	17.07	28.18±0.14 ^b	24.94±0.48 ^d	26.41±0.02 ^c	30.62±0.21 ^a
4	十七烷酸	18.14	0.65±0.01 ^c	0.74±0.01 ^a	0.68±0.01 ^b	0.54±0.02 ^d
5	硬脂酸	19.38	11.14±0.04 ^a	9.91±0.18 ^c	10.73±0.09 ^b	11.49±0.15 ^a
6	十九烷酸	20.46	ND	0.06±0.00 ^a	0.05±0.00 ^a	0.04±0.00 ^b
7	花生酸	21.5	0.180±0.01 ^b	0.21±0.00 ^a	0.19±0.00 ^b	0.15±0.00 ^c
8	二十一烷酸	22.62	0.03±0.00 ^b	0.04±0.00 ^a	0.03±0.00 ^b	0.02±0.00 ^c
9	山嵛酸	23.74	0.08±0.00 ^b	0.09±0.00 ^a	0.08±0.00 ^a	0.07±0.00 ^c
10	二十三烷酸	24.87	0.02±0.00 ^b	0.02±0.00 ^a	0.02±0.00 ^b	ND
11	木蜡酸	25.97	0.05±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a	0.05±0.00 ^a	0.04±0.00 ^a
12	辛酸	7.88	1.31±0.02 ^c	1.78±0.03 ^a	1.53±0.02 ^b	1.02±0.02 ^d
13	壬酸	8.92	0.02±0.00 ^b	0.03±0.00 ^a	0.02±0.00 ^a	0.02±0.00 ^c
14	癸酸	10.18	2.43±0.04 ^c	3.15±0.04 ^a	2.91±0.04 ^b	2.02±0.00 ^d
15	十一烷酸	11.33	0.01±0.00 ^c	0.02±0.00 ^a	0.02±0.00 ^b	0.012±0.00 ^d
16	月桂酸	12.48	3.18±0.05 ^b	3.87±0.05 ^a	3.62±0.08 ^a	2.63±0.06 ^c
17	十三烷酸	13.63	0.08±0.00 ^a	0.10±0.00 ^a	0.09±0.00 ^a	0.07±0.00 ^b
18	丁酸	3.28	3.13±0.02 ^c	4.89±0.02 ^a	4.02±0.05 ^b	2.55±0.08 ^d
19	异丁酸	3.5	0.08±0.00 ^c	0.14±0.00 ^a	0.11±0.00 ^b	0.06±0.00 ^d
20	戊酸	4.15	0.05±0.00 ^b	0.08±0.00 ^a	0.07±0.00 ^b	0.04±0.00 ^c
21	己酸	5.32	2.06±0.05 ^c	3.03±0.05 ^a	2.56±0.05 ^b	1.76±0.03 ^d
22	庚酸	6.47	0.03±0.00 ^a	0.05±0.00 ^a	0.04±0.00 ^b	0.02±0.00 ^c

现代食品科技			Modern Food Science and Technology			2027, Vol.43, No.5
23	肉豆蔻油酸	14.4	0.84±0.01 ^c	1.10±0.02 ^a	0.99±0.02 ^b	0.70±0.01 ^d
24	十五碳烯酸	15.44	0.12±0.00 ^b	0.17±0.00 ^a	0.14±0.00 ^a	0.09±0.00 ^c
25	棕榈油酸	16.7	2.27±0.04 ^c	2.85±0.05 ^a	2.49±0.04 ^b	1.88±0.05 ^d
26	十七碳烯酸	17.82	0.35±0.01 ^c	0.45±0.01 ^a	0.41±0.00 ^b	0.26±0.00 ^d
27	反油酸	18.68	0.44±0.02 ^b	0.37±0.01 ^b	0.40±0.00 ^b	0.67±0.00 ^a
28	油酸	18.98	23.56±0.14 ^a	20.42±0.47 ^b	21.55±0.29 ^b	24.76±0.52 ^a
29	顺-异油酸	19.07	1.25±0.03 ^c	1.47±0.02 ^a	1.34±0.01 ^b	1.04±0.03 ^d
30	反式异油酸	19.26	2.73±0.05 ^b	2.40±0.04 ^c	2.56±0.05 ^b	3.82±0.05 ^a
31	二十碳烯酸	21.29	0.15±0.00 ^c	0.19±0.00 ^a	0.17±0.00 ^b	0.12±0.00 ^d
32	芥酸	23.47	0.08±0.00 ^c	0.10±0.00 ^a	0.09±0.00 ^b	0.06±0.00 ^d
33	神经酸	25.54	0.04±0.00 ^c	0.05±0.00 ^a	0.04±0.00 ^b	0.03±0.00 ^d
34	反亚油酸	19.91	0.12±0.00 ^b	0.09±0.00 ^d	0.10±0.00 ^c	0.18±0.00 ^a
35	亚油酸	20.19	2.80±0.08 ^b	3.29±0.06 ^a	3.04±0.06 ^b	2.19±0.02 ^c
36	共轭亚油酸	20.41	0.55±0.00 ^c	0.77±0.02 ^a	0.67±0.01 ^b	0.40±0.01 ^d
37	γ -亚麻酸	20.85	0.08±0.00 ^b	0.10±0.00 ^a	0.09±0.00 ^a	0.06±0.00 ^c
38	α -亚麻酸	21.12	0.85±0.02 ^c	1.03±0.02 ^a	0.93±0.01 ^b	0.65±0.02 ^d
39	二十碳二烯酸	22.37	0.05±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.06±0.00 ^b	0.04±0.00 ^c
40	二十碳三烯酸	22.75	0.06±0.00 ^b	0.08±0.00 ^a	0.07±0.00 ^a	0.05±0.00 ^a
41	花生四烯酸	23.18	0.18±0.00 ^b	0.22±0.00 ^a	0.20±0.00 ^a	0.14±0.00 ^c

从表 8 可知, 经格氏乳球菌深度发酵后, 黄油脂肪酸谱发生重塑: 短链脂肪酸丁酸 (4.89%) 与己酸 (3.03%) 大幅提升, 贡献浓郁乳酪风味; 中链脂肪酸辛酸 (1.78%)、癸酸 (3.15%) 及月桂酸 (3.87%) 协同增加, 增强风味饱满度。尤为重要的是, 发酵过程富集多种功能性脂质: 共轭亚油酸提升 40% 至 0.77%, α -亚麻酸增至 1.03%, 亚油酸 (3.29%)、 γ -亚麻酸 (0.10%) 及花生四烯酸 (0.22%) 均显著增加。类似地, 发酵稀奶油工艺生产的酥油中多不饱和脂肪酸和 α -亚麻酸含量亦显著更高^[30]。副干酪乳杆菌发酵同样可显著富集奶油中的共轭亚油酸、油酸等具有抗突变和抗癌特性的脂肪酸^[31]。同时, 与健康风险关联更强的长链饱和脂肪酸棕榈酸比例从 28.18% 降至 24.94%。

发酵回添黄油的脂肪酸谱呈现稳定的“中间值”特征, 关键指标(丁酸 4.02%、共轭亚油酸 0.67%、棕榈酸 26.41%) 均介于未发酵与发酵黄油之间。证实该工艺不仅有效补偿了流失的活性微生物, 还能以可预测的方式将产品品质提升至理想中间水平。

市售发酵黄油在在标志发酵风味的核心指标上表现最弱: 辛酸 (1.02%)、丁酸 (2.55%)、癸酸 (2.02%) 及己酸 (1.76%) 均为最低, 导致其风味强度不足。在营养功能性层面, 其共轭亚油酸 (0.41%)、 α -亚麻酸 (0.65%) 及系列多不饱和脂肪酸含量全面落后。市售样品的反油酸 (0.67%) 与反式异油酸 (3.82%) 含量最高, 且其棕榈酸比例高达 30.63%, 这可能指向其不同的菌种选择或出于保质期考虑的工艺处理。反观实验室发酵黄油, 其还富含肉豆蔻油酸 (1.10%)、十五碳烯酸 (0.17%)、神经酸 (0.05%) 等多种具有特殊生理潜益的脂肪酸, 这些成分在市售产品中含量显著偏低。

3 结论

本研究以自主筛选的水牛乳来源的格氏乳球菌 DZ 为发酵剂, 通过响应面法确立了最佳发酵工艺参数。在此基础上, 创新性地引入发酵稀奶油回添工艺, 有效解决了传统离心工艺导致活菌大量流失的技术难题, 实现了发酵黄油高活菌数保留与优良感官品质的协同统一。

通过系统比较发现, 该菌株在优化发酵条件下展现出卓越的风味形成能力。与未发酵及市售产品相比, 发酵黄油在酸味、鲜味、浓厚感等滋味维度上显著增强, 2,3-丁二酮、2,3-戊二酮等关键风味物质及多种酯类、内酯类化合物均呈爆发式增长, 形成了强烈而典型的发酵风味特征。市售产品则呈现以醇类、内酯类为主导的不同风味构成, 反映出菌种与工艺差异对风味塑造路径的根本性影响。

在营养品质层面, 发酵工艺显著重塑了黄油的脂肪酸组成。功能性脂肪酸共轭亚油酸、 α -亚麻酸、亚油酸及

花生四烯酸等均实现显著富集,而棕榈酸等长链饱和脂肪酸比例相应降低,实现了风味提升与营养优化的双重目标。回添黄油的脂肪酸谱呈现稳定的中间值特征,表明该工艺能够以可预测的方式实现产品品质的系统性调控。

综上,利用格氏乳球菌 DZ 结合优化的发酵与回添工艺,为制备高活菌数、风味浓郁、营养功能俱佳的优质发酵黄油提供了可行路径。本研究不仅挖掘了水牛乳来源的乳酸菌在高端乳制品中的应用潜力,也为功能性发酵乳制品的工艺创新提供了理论依据与技术参考。需要指出的是,关于发酵回添黄油在储藏期间活菌数的动态变化及货架期稳定性,后续将在不同温度、时间及包装条件下开展系统研究。

参考文献

- [1] 雷韵洁.黄油风味物质探究与酶法改性技术研究[D].武汉:武汉轻工大学,2025.
- [2] CINIVIZ M, YILMAZ-ERSAN L. Comprehensive characterization of butter fermented with region-specific starter cultures [J]. International Dairy Journal, 2026, 172: 106453.
- [3] WANG Y, HAN J, WANG D X, et al. Research update on the impact of lactic acid bacteria on the substance metabolism, flavor, and quality characteristics of fermented meat products [J]. Foods, 2022, 11(14): 2090.
- [4] SILVA T, PIRES A, GOMES D, et al. Sheep's Butter and Correspondent Buttermilk Produced with Sweet Cream and Cream Fermented by Aromatic Starter, Kefir and Probiotic Culture [J]. Foods, 2023, 12(2): 331.
- [5] TEIXEIRA M F B, SILVA S P M, DOMINGOS-LOPES M F P, et al. Production of low-cholesterol butter with *Lactocaseibacillus paracasei* immobilized in calcium-alginate beads [J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133419.
- [6] 李扬,李妍,李栋,等.基于 ROAV 和嗅闻技术分析乳脂的关键风味化合物[J].食品科学,2023,44(6):262-267.
- [7] 肖琳,苟中军,邹滢,等.酶解与发酵工艺改善黄油风味研究[J].食品与发酵科技,2023,59(5):71-75+103.
- [8] SOPACUA E, HAPSARI A, SETIAWAN A D, et al. Literature review on response surface methodology (RSM) application in the fermentation of food products [J]. AIP Conference Proceedings, 2023, 2596: 050007.
- [9] ARTEGAGA-CABRERA E, RAMÍREZ-MÁRQUEZ C, SÁNCHEZ-RAMÍREZ E, et al. Advancing optimization strategies in the food industry: From traditional approaches to multi-objective and technology-integrated solutions [J]. Applied Sciences, 2025, 15(7): 3846.
- [10] 李妍,邢慧敏,邵亚东,等.发酵乳中丁二酮和乙醛含量检测方法探讨[J].食品与发酵工业,2008,3:157-159.
- [11] 张玉莹.发酵黄油增香菌株的分离及其风味特性的初步研究[D].武汉:武汉轻工大学,2025.
- [12] CHEN X, WEI Z, FENG Z, et al. Large-scale fermentation of *Lactiplantibacillus pentosus* 292 for the production of lactic acid and the storage strategy based on molasses as a preservative [J]. BMC Microbiology, 2025, 25: 125.
- [13] 常云鹤,李青雅,王雪,等.黄精刺梨复合酵素发酵工艺的优化及其体外抗氧化活性分析[J/OL].现代食品科技,1-14[2026-03-10].
- [14] 王梦松.发酵稀奶油产品中脂质变化及其对风味形成的影响[D].银川:宁夏大学,2023.
- [15] 赵玲.丁二酮产生菌的选育及代谢控制发酵研究[D].大连:大连理工大学,2008.
- [16] SARHIR S T, BELKHOUS R, BOUSETA A, et al. An optimization approach on the determination of volatile composition, bioactive compounds and sensory properties of lben: Effect of fermentation conditions, starter system and substrate composition [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 125: 105778.
- [17] MARTINEAU B, HENICK-KLING T. Formation and degradation of diacetyl in wine during alcoholic fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* strain EC1118 and malolactic fermentation with *Leuconostoc oenos* strain MCW [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1995, 46(4): 442-448.
- [18] 邓明军,肖光雄,黎峰,等.晾晒烟种质资源农艺与化学性状的遗传多样性分析[J].农业研究与应用,2026,39(2):211-221.
- [19] THARWAT A, GABER T, IBRAHIM A, et al. Linear discriminant analysis: A detailed tutorial [J]. AI Communications, 2017, 30(2): 169-190.
- [20] DING H, WANG Z Y, HAN J Y, et al. Egg nutriomics: Bridging comprehensive profiling and precision modulation of bioactive nutrient factors in eggs [J]. Foods, 2026, 15(8): 1330.
- [21] BARKAT A, YASMIN K K, HAMID M, et al. Production of ingredient type flavoured white enzyme modified cheese [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56(4): 1683-1695.
- [22] LIU Y, BAYINBATE B, BADAR I H, et al. Microbial metabolites and taste receptor mechanisms: A systems view of fermented food flavor [J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 164: 105240.

- [23] 郭敏婷,陈淇,丁洁,等.老香黄贮藏过程中微生物群落与挥发性风味物质的变化[J].中国食品学报,2026,26(1):362-372.
- [24] 邹文惠,潘飞,易俊洁,等.基于机器学习研究乳酸菌发酵石榴汁的风味品质差异形成机制[J].食品工业科技,2025,46(15):36-48.
- [25] 刘景,徐振波.发酵黄油风味代谢及风味相关研究进展[J].中国乳品工业,2023,51(9):41-46+64.
- [26] ŞENGÜL M, AKGÜL H İ, ÜRKEK B. The aroma profile of butter produced using different starter cultures [J]. Mljekarstvo, 2024, 74(2): 131-141.
- [27] FENG J, XUE J, ZHANG Y, et al. Impact of *Lactocaseibacillus paracasei* RH5 fermentation on flavor of butter: insights from GC-MS, GC-IMS and E-nose analysis [J]. Lwt, 2026, 240: 118944.
- [28] CONG Y, LEI Y, XIAO Y, et al. Lipidomics and flavouromics assessment of the effects of enzyme modification on butter composition [J]. Food Chemistry, 2025, 470: 142655.
- [29] BENJAMIN S, SPENER F. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits [J]. Nutrition & Metabolism, 2009, 6(1): 36.
- [30] EWE J A, LOO S Y. Effect of cream fermentation on microbiological, physicochemical and rheological properties of *L. helveticus*-butter [J]. Food Chemistry, 2016, 201: 29-36.
- [31] ZŁOCH M, RAFIŃSKA K, SUGAJSKI M, et al. *Lactocaseibacillus paracasei* as a modulator of fatty acid compositions and vitamin D₃ in cream [J]. Foods, 2022, 11(11): 1659.