

干酪制备中的皱胃酶性质

张国农 卢蓉蓉 林金资

(食品学院)

摘要 研究了制备干酪过程中皱胃酶的主要性质,主要是 CaCl_2 浓度、温度、pH 值对皱胃酶的活性有显著影响。

主题词 干酪;皱胃酶;活力

中图分类号 TS201.25

0 前 言

选用适当的凝乳酶是干酪制造工艺中一个关键的因素。实际生产中的凝乳酶,有单一品种,也有混合品种(如:皱胃酶/猪胃蛋白酶)。目前的商业酶,大多数已被微生物凝乳酶和皱胃酶/猪胃蛋白酶等混合性的动物蛋白酶取代。凝乳酶代用品的用量虽有增加,但皱胃酶仍不失为最优的凝乳酶。实验表明,干酪的质量与使用的凝乳酶的种类有如下顺序关系:皱胃酶(最优) $>$ M. miehei 粗制酶 $>$ M. pusillus 粗制酶 $>$ 牛胃蛋白酶 $>$ 猪胃蛋白酶。为了生产优质的干酪,最适宜的凝乳酶还是皱胃酶。我国畜牧业每年宰杀数以百万的犊牛,若皱胃能充分利用,则不需使用其他凝乳酶代用品。因此,有必要对皱胃酶的一些性质进行研究。

1 材料与方 法

1.1 主要原料与仪器

1.1.1 原料 牛乳 无锡市乳品厂 皱胃酶 无锡轻工大学(自制)

1.1.2 菌种 乳酸链球菌 无锡轻工大学
乳脂链球菌 中科院上海工业微生物研究所
乳酸链球菌丁二酮亚种 无锡轻工大学
保加利亚乳杆菌 无锡轻工大学

1.1.3 仪器 冷冻干燥仪 Vitris Consol 24 型
差热扫描分析仪 Perkin Elmer DSC 7 型

1.2 实验方法

1.2.1 皱胃酶的提取与精制 犊牛皱胃 \rightarrow 清洗 \rightarrow 细切 \rightarrow 浸提(3次) \rightarrow 过滤澄清 \rightarrow 吸取

收稿日期: 1996-05-13

上清液透析→取上清液冷冻干燥→皱胃酶→密封、低温保藏

1.2.2 皱胃酶活力测定 取100ml原料乳于烧杯中,水浴加热至35℃后加入10ml 1%的皱胃酶食盐溶液,迅速搅拌均匀,准确记录开始加入酶溶液直到乳凝固所需的时间,按下式计算活力:

$$\text{活力} = \frac{\text{供试乳数量}}{\text{皱胃酶量}} \times \frac{2400(\text{s})}{\text{凝乳时间}(\text{s})}$$

2400s 为测定凝乳酶活力时所规定的时间(即40min)。

1.2.3 干酪制备工艺 原料乳→净化→加热杀菌→冷却→添加发酵剂、CaCl₂等→加皱胃酶→凝乳→切割→乳清排除→装模→压榨→盐渍→成熟→包装→冷藏→成品

2 结果讨论

2.1 CaCl₂ 浓度对皱胃酶活力的影响

CaCl₂ 浓度对皱胃酶活力有显著影响,随着 CaCl₂ 加入量的增加,皱胃酶活力也增加,在 0.03%~0.10% 范围内两者呈线性关系。见图 1。干酪制备过程中,原料乳因季节的变化或加热杀菌而引起乳中可溶性钙的减少,所以必须加入适量的 CaCl₂。这不仅可调节酶的用量,还可有效缩短凝乳时间,提高得率并使酪蛋白保持适宜的硬度和弹性。

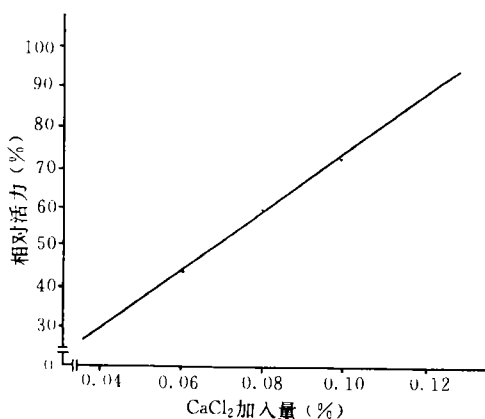


图 1 CaCl₂ 含量对皱胃酶活力的影响

2.2 pH 值对皱胃酶活力的影响

pH 值对皱胃酶活力亦有显著影响,在 pH 5.8~6.8 范围内,皱胃酶活力随 pH 上升而下降,在 pH 6.0~6.3 之间,酶活力下降较为平缓,在 pH 6.4 左右下降较快,见图 2。根据前人的研究皱胃酶的最适 pH 在 5.0

~5.5 之间,这表明皱胃酶可能含有两个以上的活性中心,而根据图 2 的曲线判断,在 pH 6.3~6.4 之间很可能是活性部位某一质子移变基团的 pKa 值。因此,当 pH>6.4 时,酶变成未加质子的非活性,导致活力降低。实验同时证明,牛乳在 pH<6.0 加皱胃酶后,凝块收缩加剧,有大量乳清析出;而在 pH>6.7 时,牛乳凝乳困难,甚至不凝。因此,对牛乳来讲,酸度调整在 pH 6.1~6.2 较为适宜。

2.3 温度对皱胃酶活力的影响

图 3 表明,皱胃酶在 41℃ 左右活性最强,活性与温度呈典型的钟罩形 2 次曲线关系。图 4 的皱胃酶热变性-失活曲线表明,皱胃酶的失活是一个双相过程,即皱胃酶含有不同的耐热部分,其中不耐热的部分在同样温度下失活较快,其速度常数是 -1.6675s^{-1} ,而耐热部分在相同温度下缓慢失活,其速度常数是 $-6.33 \times 10^{-2}\text{s}^{-1}$ 。实验结果同时显示:在 81℃ 时,酶的耐热部分约占酶的总活力的 29% 左右。需要指出的是,加热温度、加热时间和加热方式(如微波加热或在低 pH 值下)都会影响酶的双相特性。一般而言,温度升高,则耐热部分的比例下降。

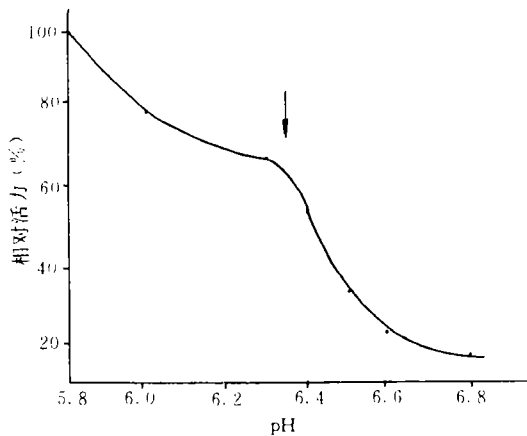


图2 pH对皱胃酶活力的影响

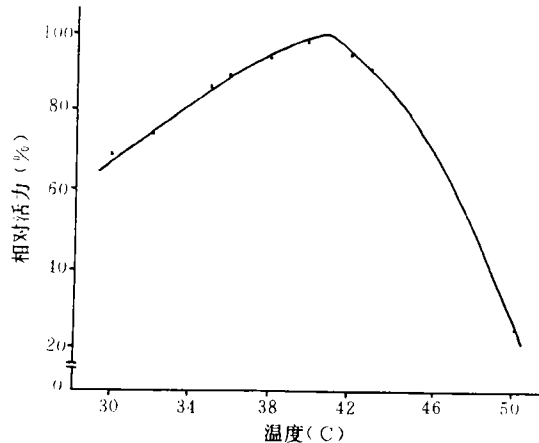


图3 温度对皱胃酶活力的影响

2.4 皱胃酶热稳定性的研究

研究皱胃酶的热稳定性对于选择干酪制造工艺中的加热温度具有一定意义。在干酪凝乳阶段,温度不高,酶是稳定的,然而在融化干酪的制造过程中,高温会使酶的活性受到损害。运用差热扫描分析技术研究皱胃酶热稳定性未见报道。图4和图5的差热扫描分析(DSC)结果说明:在本实验中制备的酶至少含有两种成分,其变性温度分别在95°C和100°C左右。但在凝胶电泳实验中,无法区分两者,只能检测一条谱带,这一方面说明两种成分(很可能是两种酶蛋白)性质接近,另一方面也说明DSC在检测物质纯度上的作用。

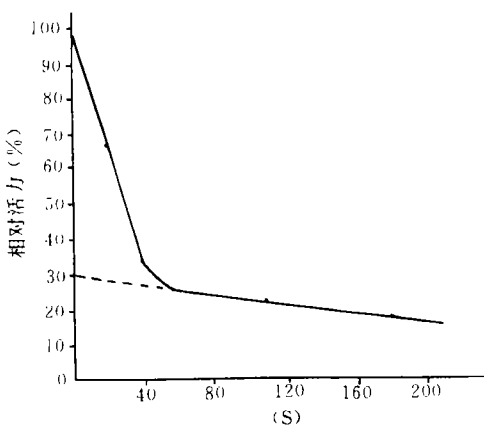


图4 皱胃酶在81°C下失活试验

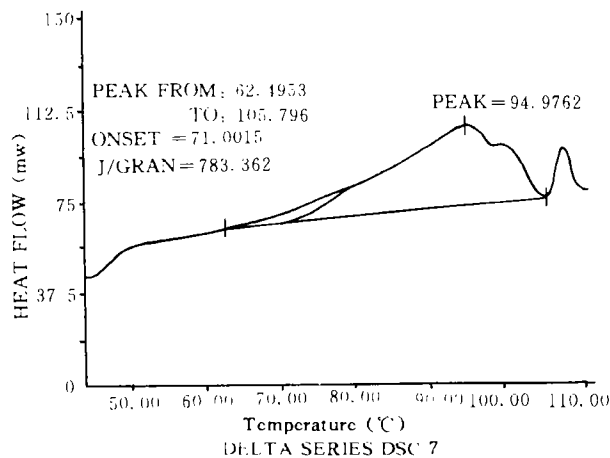


图5 皱胃酶变性温度的测定(DSC检测)

3 结论

在制备干酪的实验过程中,研究了影响皱胃酶活力的诸多因素,主要是CaCl₂浓度、pH值、温度等,同时用差热扫描分析方法对皱胃酶的热稳定性进行了研究。结果表明,CaCl₂浓度在0.03%~0.10%内,皱胃酶活力随CaCl₂加入量的增加而增加;pH在6.1~6.2范围内,酶活较为适宜;皱胃酶在41°C左右活性最强。这些在实际操作时加以控制,就能生产出

理想的产品。

参 考 文 献

- 1 Scott R. Cheesemaking Practice. 2nd edn. Elsevier Applied Science Publishers
- 2 乳品工业手册. 轻工业出版社, 1987
- 3 Olson N F. Trends in Cheese Manufacture. J. D. Science. 1981, (6):1063~1069
- 4 王 璋编译. 食品酶学. 轻工业出版社, 1990
- 5 Fox P F. Cheese. Chemistry Physics and Microbiology. Elsevier Applied Science Publishers. 1982, 1
- 6 顾瑞霞. 凝乳酶及其代用品. 轻工业出版社, 1992
- 7 Berridge N J. Some Observations on the Determination of the Activity of Rennet. The Analyst, 1952, 77
- 8 Friedenthal M, Silmer E, Koster A. Rennet Action on Skim Milk. J. D. Sci. 1979, 68:342~345
- 9 Fox P F. Developments in Dairy Chemistry. Applied Science Publishers LTD. 1982

Rennet Properties in Cheese Preparation

Zhang Guonong Lu Rongrong Lin Jinzi

(School of Food Science & Technology)

Abstract The major properties of cheymosin used in cheese preparation are studied. calcium concentration, temperature and pH value have remarkable influences on the enzyme activity.

Subject-words Cheese; Chymosin; Activity