

16
影响胃蛋白酶凝乳作用因素的研究

蒋爱民 杨军志* 岳田利 徐怀德 王淑莉

(西北农业大学食品科学系, 陕西杨陵 712100)

摘 要 探讨了反应温度、滴定酸度、胃蛋白酶添加量、 CaCl_2 加入量等因素对胃蛋白酶凝乳作用的影响规律, 确定了用胃蛋白酶生产干酪时的主要工艺参数, 反应温度 39°C , 滴定酸度 24 T, CaCl_2 加入量 0.015%, 加酶量随酶活而定。

关键词 胃蛋白酶, 凝乳, 凝乳酶, 干酪, 酶活

中图分类号 TS252.53, TS201.25

传统的酶法干酪加工时所用凝乳酶为小牛皱胃酶, 其数量有限, 价格昂贵。动物性胃蛋白酶取自成年动物(如猪、牛等)的胃, 因其来源广, 成本较低, 故国外该酶在干酪生产中已得到了一定程度的应用^[1]。但国内还未见用胃蛋白酶作为皱胃酶代用品生产干酪的系统研究报道。本研究旨在探讨影响胃蛋白酶凝乳作用的因素, 研究其规律, 确定出基本工艺参数, 为胃蛋白酶在干酪生产中的应用提供依据。

1 原辅料和方法

原料乳为质量符合干酪生产要求的牛乳^[2]。胃蛋白酶, 西安生化制药厂生产的药剂, 去糖衣后用蒸馏水配成 1% 的酶液, 过滤待用。

参照金世琳提供的方法^[2], 用 75°C 15 s 的杀菌乳测定。新鲜乳分别经 0, 65, 75, 85, 95°C , 煮沸杀菌 30 min, 冷却至 45°C 左右, 用 0.1 mol/L HCl 溶液调酸至 22 T, 再加入 0.01% 的 CaCl_2 , 置 $39 \pm 1^\circ\text{C}$ 水浴保温, 加入 0.05% 的胃蛋白酶, 观察记录凝固的速度和凝块的质量。

反应温度、酸度、酶量及 CaCl_2 加入量。根据单因素实验, 初步确定各因素的取值范围, 再用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交实验, 确定各因素对乳凝块质量的影响程度及基本工艺参数。

2 结果与分析

2.1 酶活及酶量

酶活测定结果表明, 该胃蛋白酶的活力为 552。皱胃酶和胃蛋白酶都是酸性蛋白酶, 具有许多相似的特性, 但其 pH 活性曲线图有很大差异。pH 值较高时, 皱胃酶比胃蛋白酶有较大的比活性^[3]。酶的凝乳能力除与酶的种类和作用条件有关外, 还与酶的纯度和保藏方法有关。本实验所用酶是口服胃蛋白酶片, 纯度低是导致凝乳能力低的主要原因。

酶活一定时, 酶对凝乳速度和量的影响则取决于加酶量, 在 100 mL 乳中加入不同量的 1% 的胃蛋白酶液。结果(图 1)表明, 当加酶量低于 0.1 mL (0.001%) 时, 牛乳不能形

收稿日期: 1995-03-24

* 现工作单位: 陕西宴友思食品集团公司

成凝块。随着加酶量的增加,乳的凝固速度加快,形成的凝乳亦越结实,且富有弹性。当加酶量超过 1.3 mL(0.013%)时,凝块形成过快,未能充分搅拌已形成不均匀凝块,甚至出现硬块,导致凝乳不均匀,凝块粗糙,结着性降低,且乳清排出不彻底。

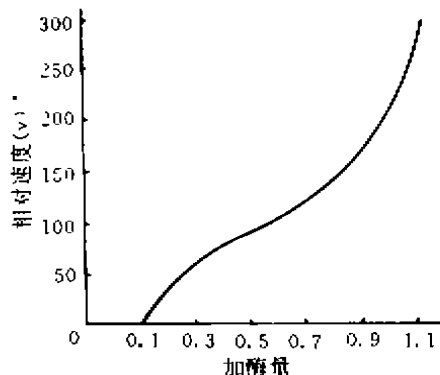


图 1 加酶量对乳凝固速度的影响

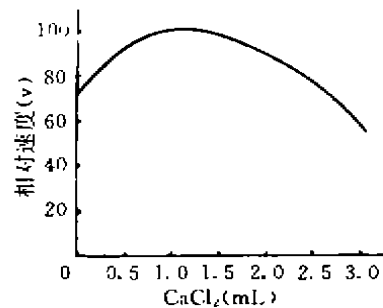


图 2 CaCl_2 对胃蛋白酶凝乳速度的影响

2.2 原料乳的杀菌温度

实验结果表明,乳的凝固速度和凝块质量随原料乳的杀菌温度不同而异。未经杀菌的乳虽凝固速度快,凝块质量好,但易污染,无法保证质量。随着杀菌温度的升高,乳凝固的时间会延长,且凝块变软。原料乳的杀菌温度对胃蛋白酶凝乳作用的影响是通过影响乳中的盐类而实现的。随着杀菌温度的升高,乳中溶解性磷酸钙和柠檬酸钙的溶解度显著降低,影响钙桥的形成,严重时会导致 K-酪蛋白和 β -球蛋白或 α -乳清蛋白分子间形成二硫键,妨碍了乳凝块的形成^[4,5]。当杀菌条件达到 $90^\circ\text{C}/10\text{ min}$ 时,乳的凝固就变得较为困难。因此,在实际生产中可用 $65^\circ\text{C}/30\text{ min}$ 保持式杀菌法或 $75^\circ\text{C}/15\text{ s}$ 高温短时杀菌法,同时加适量 CaCl_2 补充可溶性钙。

2.3 CaCl_2 添加量

CaCl_2 并不直接作用于酪蛋白。胃蛋白酶首先对酪蛋白进行部分水解,切断 K-酪蛋白上的苯丙酰胺-亮酰胺键,成为副 K-酪蛋白和大分子糖肽。由于失去胶体保护作用,副 K-酪蛋白与钙离子形成钙桥而凝固。同时失去 K-酪蛋白保护的 α -酪蛋白及 β -酪蛋白也聚集,最终形成凝乳^[4,6]。但高温杀菌使可溶性钙转变为不溶性钙而沉淀,致使乳凝块变软。因此,为补充 Ca^{2+} 的不足,需添加适量 CaCl_2 。实验结果(图 2)表明,随 CaCl_2 加入量的增加,乳凝固速度加快,凝块变得富有弹性。但加入量超过 0.015% 时,凝固速度又减慢,凝块变得松软。因高浓度的 CaCl_2 会降低 His98-Lys 112 的水解率,阻碍乳的凝固甚至给干酪成品带来苦味,影响质量^[5]。

2.4 反应温度

由图 3 可知, 39°C 时乳的凝固速度最快,这与胃蛋白酶的最适作用温度相吻合。低于 24°C 时,乳形成凝块的时间延长,且凝块松软,排出的乳清少而混浊,压榨时蛋白质损失较多,从而影响成品得率。随着温度的升高,凝乳速度加快,凝块弹性增加。但温度超过 45°C 时凝乳速度变得非常缓慢,甚至无法使乳凝固。但 45°C 并不是胃蛋白酶的致钝温度,其原因有待进一步研究。已知温度对酶促反应的影响在形式上表现为一条钟形曲线。可以看出,图 3 也是一条钟形曲线。因此,温度对胃蛋白酶凝乳速度的影响是符合一般规律的。

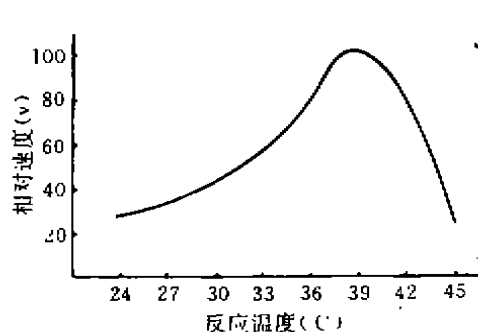


图3 温度对胃蛋白酶凝乳速度的影响

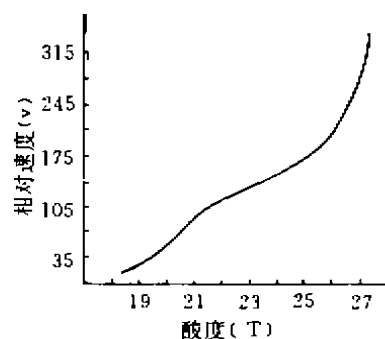


图4 酸度对胃蛋白酶凝乳速度的影响

2.5 酸度

实验表明原料乳酸度与乳的相对凝固速度之间的关系如图4。胃蛋白酶是一种酸性蛋白酶,酸度低于18 T的新鲜乳,如不进行调酸则不能形成凝块。随着酸度的增加,乳凝固的速度加快,乳清排出量增加,凝块弹性增加,质量提高。但酸度超过25 T后,凝块质量开始下降。当酸度达到27 T时,凝乳速度比21 T时快3倍,凝块切面变得粗糙。当酸度超过36 T时,发生絮状沉淀。这是由于随着酸度的增加,酸中和胶粒表面的电荷,蛋白质胶体脱水收缩作用增强,使蛋白质胶粒相互凝集,凝块密度增加,形成粗粒凝块,甚至形成沉淀^[8]。实验结果表明,乳的酸度控制在21~25 T时,乳的凝固速度适宜,凝块质量较好。

2.6 工艺参数优化

正交实验的因素、水平及结果分析分别见表1、表2。

表1 正交实验因素水平表

因素水平	温度(°C) A	酶量(%) B	酸度(T) C	CaCl ₂ (%) D
1	36	0.0025	20	0
2	39	0.0050	22	0.010
3	42	0.0075	24	0.015

由表2极差分析可知,影响胃蛋白酶凝乳速度和质量的最主要因素是反应温度($R=1.8$),其次是酶活及其添加量($R=1.2$)、乳的酸度($R=0.8$)和CaCl₂的添加量。在本次实验范围内优选出的工艺参数为:反应温度39°C;加酶量0.005%;乳的酸度24 T;CaCl₂加入量0.015%。

表2 正交实验结果

实验号	A	B	C	D	评分	实验号	A	B	C	D
1	1	1	3	2	6.0	K ₁	21.5	22.5	24.5	23.5
2	1	2	1	1	7.5	K ₂	27.0	26.0	25.5	24.0
3	1	3	2	3	8.0	K ₃	24.5	24.5	23.0	25.5
4	2	1	2	1	8.5	K ₁	7.2	7.5	8.2	7.8
5	2	2	3	3	9.5	K ₂	9.0	8.7	8.5	8.0
6	2	3	1	2	9.0	K ₃	8.2	8.2	7.7	8.5
7	3	1	1	3	8.0	R	1.8	1.2	0.8	0.7
8	3	2	2	2	9.0					
9	3	3	3	1	7.5					

3 小 结

尽管有研究^[1,2,4~6]指出,胃蛋白酶易受乳 pH 值和钙离子的影响,但本实验结果表明,只要工艺参数合理,并加以严格控制,胃蛋白酶凝乳的速度及质量较好,且其价格低。因此,从凝乳质量和经济角度考虑,胃蛋白酶作为凝乳酶的代用品生产干酪是可行的。

参 考 文 献

- 1 顾瑞霞,申戈.凝乳酶及其代用品.中国乳品工业,1991(1),20~23
- 2 金世琳编.乳与乳制品生产.北京:轻工业出版社,1985.433
- 3 Strauffer Clyde E. Enzyme assays for food scientists. New York:Van Nostrand Reinhold,1989.85~87
- 4 Fennema,Owen R. Food Chemistry. New York,Marcel Dekker,1985.402~406
- 5 顾瑞霞,谢继志.干酪制造和成熟过程中蛋白质水解.中国乳品工业,1992(1),24~28
- 6 Robinson R K. Modern dairy technology. London:Elsevier Applied Science Pub,1986.66~68

Factors Affecting the Coagulum Formation of Pepsin

Jiang Ai'min Yang Junzhi Yue Tianli Xu Huaide Wang Shuli

(Department of Food Science,Northwestern Agricultural University,Yangling,Shaanxi,712100)

Abstract The rules affecting on the coagulum of pepsin by temperature,TepHep (T),the activity and additive amount of pepsin,and the amount of CaCl_2 were discussed, on which the optimum parameters for processing were determined for cheese making with pepsin; temperature 39 C; the additive amount of TepHep (T) 24 T; CaCl_2 0.015%;The additive amount of pepsin depends on the enzyme activity.

Key word pepsin,curd,rennet,cheese,enzyme activity