

3 种羊奶干酪成熟期间蛋白质降解的研究

张 富 新

(陕西师范大学 食品工程系, 陕西 西安 710062)

[摘 要] 对 3 种羊奶干酪成熟期间蛋白质降解的研究表明, 鲜干酪成熟期间 pH 较高, 化学成分变化不大, 整个成熟期间蛋白质降解较少。半硬质干酪和硬质干酪成熟初期蛋白质降解较快, 后期缓慢, 主要形成氨基酸和短肽。总游离氨基酸随成熟期延长逐渐增加, 主要是 Ser, Glu, Pro, Ala, Val, Met, Leu 和 Lys。

[关键词] 食品科学; 羊奶干酪; 蛋白质降解

[中图分类号] TS252.53

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)06-039-04

干酪是一种发酵乳制品, 具有很高的营养价值, 相当于将奶中蛋白质、脂肪浓缩 10 倍左右^[1]。由于羊奶具有酪蛋白胶粒和乳脂肪球较小的特点, 用其加工的干酪组织结构细腻, 滋味浓郁, 并且经过发酵后羊奶膻味大大降低, 在许多方面都优于牛奶干酪, 深受欧美国家消费者青睐^[2]。

全世界有羊奶干酪 400 余种^[2], 由于所用的原料和加工方法不同, 目前还没有统一的分类方法。Martin^[3]将世界上优质羊奶干酪归纳为 4 类: 不经发酵的鲜干酪(Fresh cheeses); 经乳酸菌发酵和表面生长菌落, 在 15~20 d 内食用的软质干酪(Soft cheeses); 轻微压榨, 经 30~60 d 发酵成熟的半硬质干酪(Semihard cheeses); 经长时间发酵成熟的硬质干酪(Hard cheeses)。4 类干酪在质地、风味、营养成分上有较大的差异, 其中蛋白质降解起着关键性的作用^[1,4]。目前国外对干酪成熟过程的研究主要集中在蛋白质降解方面, 许多研究表明^[1,3], 干酪中蛋白质降解产物对干酪质量有重要的影响。我国的干酪生产正处于起步阶段, 有关干酪的研究还比较少^[4,5]。因此, 本研究就羊奶鲜干酪、半硬质和硬质成熟期间蛋白质的降解进行研究, 以期为我国羊奶干酪的生产提供理论参数。

1 材料与方法

1.1 羊奶干酪的制备^[3~5]

鲜干酪(Fresh cheeses): 选健康奶山羊鲜奶为原料, 经 65 °C, 30 min 巴氏杀菌, 冷却至 32~35

°C, 添加 0.15 g/L 的 CaCl₂ 和 8 mL/L 羔羊凝乳酶(效价 1:120 000), 在 33 °C 保温 45 min, 待乳凝固后用干酪刀切成 1 cm³ 的凝块, 搅拌 15 min 后排乳清, 然后添加 25 g/kg 的食盐, 在 1 kPa 下压榨 2 h。

半硬质干酪(Semihard cheeses): 在鲜干酪加工的基础上, 添加 10 mL/L 的乳酸菌发酵剂(Streptococcus Lactis: Streptococcus Cremoris = 2:1) 发酵 15 min, 添加 CaCl₂ 和羔羊凝乳酶。在 1.5 kPa 下压榨 30 min。

硬质干酪(Hard cheeses): 在半硬质干酪加工的基础上, 添加 20 mL/L 的乳酸菌发酵剂, 最后在 2.5 kPa 下压榨 3 h。

以上 3 种干酪在不涂膜包装的条件下, 放入 8~12 °C, 相对湿度为 90% 的发酵间分别成熟 15, 60, 90 d。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 理化指标测定 pH 用 Sabry^[6]的方法; 总固体(TS)、蛋白质(Pro)、脂肪(Fat)、灰分(Ash)、食盐(NaCl)按 GB 5009.46-85 方法。

1.2.2 蛋白质降解产物的测定 总氮(TN)用半微量凯氏定氮法; pH 4.6 水溶性氮(WSN)、120 g/kg 三氯乙酸氮(TCA-N)和 50 g/kg 磷钨酸氮(PTA-N)按杨宝进^[5]和 FOX^[7]方法测定; 游离氨基酸(FAA)用 121-MB 型氨基酸自动分析仪测定。

2 结果与分析

2.1 羊奶干酪成熟期间物理化学变化

由表 1 可见, 鲜干酪在整个成熟期间 pH 较高,

[收稿日期] 2001-03-13

[基金项目] 陕西省自然科学基金资助项目(691043)

[作者简介] 张富新(1962-), 男, 陕西武功人, 副教授, 博士。主要从事食品加工工艺研究。

并且变化不大。半硬质干酪和硬质干酪成熟初期pH迅速下降,成熟后期趋于稳定。这是因为半硬质和硬质干酪在生产中添加乳酸菌发酵剂,乳酸菌产生的降解乳糖酶可使干酪中残存的乳糖分解产生乳酸,使pH降低。但在成熟后期,干酪中残余的少量乳糖已基本耗尽^[3],因此不会引起pH较大的变化。

表 1 3 种羊奶干酪成熟期间的物理化学变化

Table 1 Physicochemical changes for three types of goat cheeses during ripening							
种类 Type	时间/d Time	pH	TS/ (g · kg ⁻¹)	Fat/ (g/kg ⁻¹)	Pro/ (g · kg ⁻¹)	A sh/ (g · kg ⁻¹)	NaCl/ (g · kg ⁻¹)
Fresh	1	6.73	430.0	498.1	359.1	72.3	18.1
	7	6.75	427.1	501.0	361.1	73.1	19.3
	15	6.79	426.5	502.1	360.3	74.0	20.1
Semi-hard	1	5.73	462.0	521.0	352.3	68.9	17.3
	15	5.31	479.1	528.1	361.3	69.1	17.5
	30	5.23	491.3	531.0	356.7	69.0	18.1
	60	5.25	502.3	529.3	358.7	70.1	18.0
Hard	1	5.76	543.9	525.9	355.0	68.3	15.3
	15	5.56	586.0	540.8	354.7	66.6	15.5
	30	5.52	600.2	540.6	350.8	66.7	16.2
	60	5.47	636.0	538.7	348.9	68.2	16.8
	90	5.46	641.5	538.0	358.1	69.3	16.6

注: TS, Fat, Pro, A sh 和 NaCl 的量指占干物质的含量。
Note: The amount of TS, Fat, Pro, A sh and NaCl means their proportion to that of dry material.

在鲜干酪成熟期间, TS, Fat, Pro, A sh, NaCl 含量变化不大, 但半硬质和硬质干酪中, 因压榨强度不同, 硬干酪 TS 含量高于半硬质干酪, 也明显高于鲜干酪。3 种干酪中 Pro 含量相近, A sh 和 NaCl 含量无较大变化。由于加工工艺的差别, 鲜干酪和半硬质干酪中 Fat 含量稍高于鲜干酪。这与 Martin^[3] 的研究结果一致。

2.2 羊奶干酪成熟期间含氮组分的变化

干酪成熟期间含氮物质的变化是衡量蛋白质降解的主要指标, 对干酪的质量有重要的影响。3 种羊奶干酪成熟期间 W SN, TCA-N 和 PTA-N 的变化见表 2。

表 2 3 种羊奶干酪成熟期间含氮组分的变化

Table 2 Chengs in N fractions for three types of goat cheeses during ripening						
类型 Type	时间/d Time	W SN / (g · kg ⁻¹)	TCA -N		PTA -N	
			占总氮含量/ (g · kg ⁻¹)	占水溶性 氮含量/(g · kg ⁻¹)	占总氮含量/ (g · kg ⁻¹)	占三氯乙酸氮 含量/(g · kg ⁻¹)
			The amount of TN	The amount of W SN	The amount of TN	The amount of TCA -N
Fresh	1	143.2	18.3	127.8	4.6	251.3
	7	201.7	31.0	153.7	8.3	267.7
	15	221.5	35.4	159.8	9.5	268.4
Semi-hard	1	131.5	29.1	221.3	9.8	336.8
	15	241.6	94.0	389.1	33.0	351.1
	30	283.2	152.3	557.8	58.8	386.1
	60	331.7	181.8	548.1	71.1	391.1
Hard	1	128.3	28.7	223.7	9.0	313.6
	15	216.7	58.5	270.0	19.4	331.6
	30	225.3	101.7	451.4	34.5	339.2
	60	246.7	121.4	492.1	41.4	341.0
	90	261.7	141.3	540.0	49.3	348.9

从表 2 可以看出, 随着干酪成熟期延长, 蛋白质降解越多, 3 种羊奶干酪成熟初期蛋白质降解速度越快, 鲜干酪成熟第 1 天时 W SN 为 143.2 g/kg, 成熟第 7 天时增加到 201.7 g/kg, 半硬质和硬质干酪分别由成熟第 1 天的 131.5 和 128.3 g/kg 增加到第 15 天的 241.6 和 216.7 g/kg。但在成熟后期蛋白质降解趋于稳定。TCA-N 和 PTA-N 也有类似的规律。

从干酪类型来看, 鲜干酪整个成熟期间蛋白质降解速度较慢, 这是由于成熟时间较短和生产中没有添加乳酸菌的缘故^[3]。半硬质和硬质干酪蛋白质降解速度明显高于鲜干酪, 尤其是 TCA-N 和 PTA-N

N 变化较大。半硬质干酪蛋白质降解速度快于硬质干酪,特别是 PTA-N 增加速度较快,成熟 60 d 时,半硬质干酪 PTA-N 达 71.1 g/kg (391.1 g/kg),而硬质干酪仅为 41.4 g/kg (341.0 g/kg),说明半硬质干酪成熟后期主要产生小分子含氮化合物,这主要

与干酪中残存乳酸菌产生的蛋白酶、肽酶有关^[8]。

2 3 羊奶干酪成熟期间 FAA 的变化

3 种羊奶干酪成熟期间 FAA 的变化情况列于表 3。

表 3 3 种羊奶干酪成熟期间 FAA 变化

Table 3 FAA changes for three types of goat cheeses during ripening

mg · kg⁻¹

FAA	鲜干酪 Fresh cheese		半硬质干酪 Semi-hard cheese			硬质干酪 Hard cheese			
	1 d	15 d	1 d	30 d	60 d	2 d	30 d	60 d	90 d
A sp	38.7	41.7	58.6	63.3	83.1	42.3	51.1	73.3	91.4
Thr	-	21.3	13.3	21.1	31.1	-	10.3	3.4	3.7
Ser	101.3	81.7	133.2	113.0	102.8	108.3	132.2	161.1	157.4
Glu	62.3	71.3	108.4	131.0	162.0	112.2	91.7	151.2	271.1
Pro	141.0	133.5	173.2	201.1	223.3	141.3	141.2	183.3	282.4
Gly	10.3	9.8	17.4	23.2	38.7	11.0	12.3	3.7	22.3
A la	121.2	132.2	153.3	201.2	271.1	121.2	212.3	262.4	221.7
Cys	4.3	5.7	12.3	31.3	3.2	2.3	9.2	18.7	31.3
V al	81.0	91.3	141.0	213.2	283.3	91.3	89.3	241.7	282.4
M et	41.3	48.3	73.2	93.4	112.3	81.1	101.1	162.3	231.7
I leu	38.8	32.3	53.4	31.0	53.1	21.1	8.3	21.7	31.2
L eu	121.1	137.3	171.0	221.2	281.1	101.7	112.3	189.3	148.4
T yr	4.6	21.3	21.3	51.0	81.7	12.3	46.7	71.1	201.7
P he	51.3	71.1	61.3	93.5	121.3	48.3	53.2	93.2	164.5
L ys	123.1	152.3	131.1	101.3	131.7	112.3	129.2	158.9	121.7
H is	19.7	37.1	21.1	41.2	71.4	21.3	18.3	31.7	51.1
A rg	27.3	41.1	28.3	31.2	52.2	31.2	21.4	41.1	72.4
Total	987.3	1129.3	1371.4	1662.2	2103.4	1059.2	1240.1	1868.1	2387.3

由表 3 可以看出,干酪成熟期间总 FAA 随成熟期延长逐渐增加,其中 Ser, Glu, Pro, A la, V al, M et, L ys 为蛋白质降解生成的主要 FAA,与 Sabry^[6]报道的 Stilton 干酪中主要 FAA 变化规律类似。从单一氨基酸变化规律来看,并不是所有的 FAA 在成熟期间都逐渐增加,一些氨基酸(如半硬质干酪中的 I leu 和 L ys,硬质干酪中的 L eu 和 L ys 等)随成熟期延长,有时降低有时升高,这说明干酪成熟期间 FAA 处于动态平衡状态,或者是乳酸菌产生的脱氨基酸作用的酶、脱羧酶及一些转氨基酸侧链酶将所产生的氨基酸转化为胺、 α -酮酸和其他氨基酸,或者是 FAA 作为乳酸菌生长物质被利用^[6]。

从干酪类型看,硬质干酪成熟期间所产生的 FAA 也有差别,同一成熟时间半硬质干酪比硬质干酪 FAA 含量高,这主要与干酪含水量和乳酸菌有关^[4,8]。

3 讨 论

3 1 干酪成熟期间蛋白质降解产物的评价

干酪中残存的凝乳酶不仅作用于 κ -酪蛋白,而且还作用于 α_1 -、 α_2 -和 β -酪蛋白形成小分子肽类,这些肽类进一步被干酪中残存乳酸菌产生的肽酶继续降解形成更小的肽及氨基酸^[8]。蛋白质降解后,可溶性组分增加,因此,干酪浸出物中氮组分的数量和种类常作为干酪成熟过程中蛋白质降解的标志^[5]。衡量干酪成熟期间蛋白质降解方法很多^[1],如蛋白质降解肽在溶剂沉淀剂中的溶解性、活性官能团的监测、层析和电泳方法等。本研究采用 pH4.6 W SN, 120 g/kg TCA-N, 50 g/kg PTA-N 以及 FAA 来评价 3 种羊奶干酪成熟期间蛋白质的降解特性。至于其他方法,还有待于进一步研究。

3 2 pH 对蛋白质降解的影响

干酪成熟期间蛋白质降解是一个极其复杂的生物化学过程,这一过程实际上是在凝乳酶和乳酸菌酶作用下完成的^[1]。因此,酶活性的高低对蛋白质的降解至关重要。pH 是影响酶活性的主要因素之一。

据报道^[10], pH 为 5.0~6.5 时羔羊凝乳酶活性最高, 当 pH 大于 6.5 后活性迅速降低。Visser^[11]也报道乳酸菌蛋白酶在 pH 为 6.0 左右时, 具有较高的活性。本研究中, 鲜干酪生产中未添加乳酸菌, pH 较高, 同时也缺乏乳酸菌蛋白酶和肽酶, 不利于蛋白质的降解。因此, 鲜干酪成熟期间蛋白质降解较少, 至于半硬质和硬质干酪之间的差别, 主要是两种干酪中水分含量不同所致。

3.3 蛋白质降解产物与风味的关系

蛋白质降解产物与干酪的风味有重要关系。Visser^[11]发现, β 酪蛋白水解产生的肽具有苦味, 并

且进一步证明这种苦肽是 β 酪蛋白羧端形成的 193~209 肽段。但一些 FAA 能使干酪形成好的风味, Aston^[12]发现干酪的风味主要存在水溶性氮中, 通过凝胶渗透和超滤技术对水溶性氮研究表明, 这些风味物质是一些分子质量小于 1 000 u 的小分子化合物, 特别是 Met 和 Leu 尤为重要。Martin^[3]也强调 FAA 与风味的关系。本研究中, 虽然蛋白质降解产生的游离氨基酸较低, 但 Met 和 Leu 所占比例较高, 通过品评, 随干酪成熟期延长, 干酪风味纯正, 滋味浓郁, 说明 FAA 对干酪风味形成有重要的作用。

[参考文献]

- [1] Fox P F. Proteolysis during cheese manufacture and ripening[J]. J Dairy Sci, 1989, 72: 1379- 1400
- [2] Young W P. 山羊奶干酪加工进展[J]. 左福元译. 四川畜牧兽医, 1994, (增刊): 73- 76
- [3] Martin-Hernandez M C, Jurez M. Biochemical characteristics of three types of goat cheese[J]. J Dairy Sci, 1992, 75: 1747- 1752
- [4] 张富新, 李建文. 羊奶干酪成熟期间理化和生化特性研究[J]. 西北农业大学学报, 1996, 24(6): 79- 82
- [5] 杨宝进. 不同凝乳酶制作羊奶干酪效果的研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 1999
- [6] Sabry M, Fox P F. Studies on the ripening of stilton cheese: Proteolysis[J]. Food Chem, 1987, 25: 13- 29
- [7] Fox P F. Cheese: chemistry, physics and microbiology, general aspects[M]. U K London: Elsevier Appl Sci Publ, 1992
- [8] Visser F M W. Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavor development in Gouda cheese[J]. Neth Milk Dairy J, 1977, 31: 247- 253
- [9] Grappin R. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening, A review [J]. J Dairy Sci, 1985, 68: 531- 540
- [10] 武永厚. 山羊凝乳酶提取技术及部分特性的研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 1999
- [11] Visser S. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavor, A overview[J]. J Dairy Sci, 1993, 76: 329- 350
- [12] Aston J. Contribution of the components of the water-soluble fraction to flavor of Cheddar cheese[J]. N Z J Dairy Sci Technol, 1986, 21: 229- 234

Studies on protein degradation of three types of goat cheeses during ripening

ZHANG Fu-xin

(Department of Food Engineering, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

Abstract: The study on protein degradation of three types of goat cheeses during ripening showed that fresh cheese had higher pH value, the chemical composition demonstrated no significant changes and the protein degradation was smaller in the whole ripening periods. The protein degradation of the semi-hard and hard cheeses was faster during the primary ripening and then slowed down, and its components were mainly amino acid and smaller peptides. Total FAA content was increased with ripening period prolonged, mainly composed of Ser, Glu, Pro, Ala, Val, Met, Leu and Lys.

Key words: food science; goat cheese; protein degradation