

含有干酪乳杆菌的再制干酪的特性分析

王静波¹, 任发政¹, 郑丽敏², 陈尚武^{1*}

(1.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 教育部、北京市功能乳品重点实验室, 北京 100083; 2.中国农业大学信息与电气工程学院, 北京 100083)

摘要: 对含有活性干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)的再制干酪进行了质构、风味和蛋白质水解情况的分析。通过电子鼻对 4 ℃、贮藏 30 d 内的再制干酪进行风味分析, 表明干酪在贮藏期间由于干酪乳杆菌的作用使干酪的风味发生了变化, 同时, 通过 pH4.6 可溶性氮和 5% 磷钨酸可溶性氮的测定结果表明, 30 d 的贮藏期间, 蛋白质发生了水解。尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳显示干酪乳杆菌促进再制干酪蛋白质多肽发生了一定程度的降解。

关键词: 风味; 质构; 活性乳酸菌再制干酪, 蛋白质水解

中图分类号: TS 252.53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-9989(2009)12-0071-05

Characterization of processed cheese with viable *Lactobacillus casei*

WANG Jing-bo¹, REN Fa-zheng¹, ZHENG Li-min², CHEN Shang-wu^{1*}

(1.Key Laboratory of Function Dairy Ministry of Education and Beijing City, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083; 2.College of Information and Electrical Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083)

Abstract: Analysis of flavor and hydrolyzation of *Lactobacillus casei* bio-processed cheese was studied in this paper. The results of electronic nose showed that flavor trait profile of the bio-cheese was changed during storage at 4 ℃ for 30 d due to the active *L. casei*, pH4.6 soluble nitrogen (pH4.6 SN) and 5% phosphotungstic acid soluble nitrogen (PTA-SN) assays showed that the soluble protein nitrogen of the processed cheese was increased. Urea-PAGE confirmed that protein hydrolyzation was occurring.

Key words: flavor profile; texture; bio-processed cheese; protein hydrolyzation

通常条件下再制干酪是一种风味稳定的产品, 这主要是因为再制干酪的主要成分及风味可通过不同的生产工艺进行调节, 而且, 在再制干酪的生产过程中由于高温剪切, 原干酪中存在的微生物及酶^[1]失去生理活性, 所以, 其风味在贮藏期间

不会发生变化。在本研究中通过对再制干酪的传统工艺改进, 添加了活性干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*), 使再制干酪成为活性乳酸菌再制干酪。目前, 尚不知活性乳酸菌对该类型干酪的风味特性在贮藏过程中产生何种影响。因此, 本研究的目

收稿日期: 2009-04-23

* 通讯作者

基金项目: 科技部十一五支撑计划项目(2006BAD04A06); 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2008AA10Z310)。

作者简介: 王静波(1984—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术和干酪加工技术。

的是通过相关指标的测定,研究活性乳酸菌再制干酪贮藏期的电子鼻^[2-3]风味变化特征。

1 实验材料

E-Nose-1000 电子鼻: 中国农业大学; KDY-9830 凯氏定氮仪; DK-8B 型电热恒温水槽: 上海精宏实验设备有限公司; FA/JA 型电子天平: 精确到 0.001 g; TMS-PRO 型质构仪: 美国 FTC 公司; 德国 Stephen 型干酪融化锅; Hitachi

S-3400N 扫描电镜: 日本日立公司; 国产高速冷冻离心机。

2 实验方法

2.1 富含活性乳酸菌的再制干酪的基本工艺流程

本研究所用再制干酪基本流程如图 1 所示。其中在加热乳化剪切工艺后直接成型冷却后包装为传统工艺,进入降温保温后添加乳酸菌,再行成型冷却包装为本研究采取的新工艺。

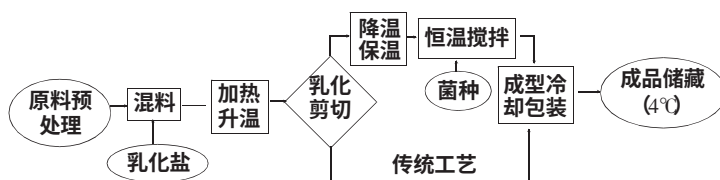


图 1 再制干酪基本流程

本实验采用的再制干酪配方如下: 契达干酪(成熟度 10~12 个月)65%, 黄油 10%, 乳化盐 3%, 水 20%, 卡拉胶 0.5%, 白砂糖 1%, 食盐 0.5%。

2.2 再制干酪的风味测定

由于干酪乳杆菌的代谢及菌体释放各类酶的作用^[4],再制干酪在贮藏期间的风味可能会发生改变,因此,由电子鼻对干酪的风味进行测定,通过得到的指纹图谱即可看出干酪在贮藏期间风味是否发生了改变。

实验条件为: 取样品 1 cm³, 检测温度 40 ℃, 检测时间 300 s, 标准空气流速 3 L/min, 每种样品做 5 个平行^[5]。以未添加干酪乳杆菌的干酪作对照。

2.3 pH4.6 可溶性氮(SN)的测定

对干酪的可溶性氮进行测定是考察干酪中的蛋白是否发生水解的重要指标。随着贮藏时间的延长及微生物的作用,干酪的蛋白质会发生不同程度的水解,通过可溶性氮与总氮的百分比就可看出蛋白的水解程度,通常认为, pH4.6 SN 表示蛋白水解的广度,而 5% TCA SN 表示蛋白水解的深度^[6-7]。

取 0.75 g 干酪加入 25 mL pH4.6 醋酸盐缓冲液,充分研磨,再用 25 mL pH4.6 醋酸盐缓冲液充分洗涤,将悬浊液离心(4000 r/min, 20 min),取上清液定量移入到硝化管内,进行凯氏定氮,以占干酪总氮量的质量分数表示^[8]。以未添加干酪乳杆菌的干酪作对照。

2.4 5% 磷钨酸可溶性氮(PTA SN)的测定

在提取 pH4.6 可溶性氮的上清液中取出 20 mL,加入 1 g 磷钨酸,沉淀 1 h,过滤,取滤液

定量移入到硝化管内,进行凯氏定氮,以占干酪总氮量的质量分数表示^[8-9]。以未添加干酪乳杆菌的干酪作对照。

2.5 尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白水解

采用尿素凝胶电泳法对干酪在贮藏期间的蛋白水解情况进行分析。各溶液配制方法如下^[8,10-11]:

分离胶的配制(定容至 1 L): Tris46 g, 浓盐酸 4 mL, 丙烯酰胺 120 g, 甲叉双丙烯酰胺 5 g, 尿素 360 g, 过硫酸胺 0.4 g, TEMED0.5 mL。

浓缩胶的配制(定容至 1L): Tris7.5 g, 浓盐酸 4 mL, 丙烯酰胺 40 g, 尿素 360 g, 甲叉双丙烯酰胺 2 g, 过硫酸胺 0.4 g, TEMED0.5 mL。

样品缓冲液的配制: 浓缩胶(含 6 mol/L 尿素, 0.1 mol/L 巯基乙醇), 痕量溴酚蓝。

电泳样品的制备: 取 pH4.6 可溶性氮离心的沉淀 0.1 g 与样品缓冲液 3.5 mL 混合,充分溶解后沸水浴加热 5 min, 10000 r/min 离心 1 min, 冷冻保存。

样品点样后,采用恒压电泳,电压为 160 V,电泳结束(约 4 h)后,染色 1.5 h 后脱色过夜。以未添加干酪乳杆菌的干酪作对照。

2.6 贮藏期间干酪的质构测定

将再制干酪于 4 ℃ 冰箱中贮藏,每 5 d 对样品进行质构测定,测定室温(19±3) ℃,样品温度(10±0.5) ℃。质构仪探头测试速度为 1.0 mm/s,压缩时间为 5 s,探头类型 P/5,进行二次压缩^[12-13]。以未添加干酪乳杆菌的干酪做对照。

2.7 贮藏期间干酪乳杆菌活性测定

将含有干酪乳杆菌的再制干酪在 4 ℃ 冰箱贮藏 30 d,取 2 g 干酪于 10 mL 液体 MRS 培养基中



充分震荡使干酪破碎，然后将上述生理盐水转入 190 mL 液体 MRS 培养基中，混合均匀，于 37 ℃ 培养箱中培养 24 h，每 2 h 取样测定溶液在 600 nm 处的 OD 值，以空白培养基调零，同时测定 pH 值。

2.8 干酪乳杆菌的形态观察

通过电镜扫描图片观察干酪乳杆菌在再制干酪中形态是否发生变化。扫描电镜(SEM)样品的制备方法为^[14]：取样→固定→清洗→脱水→脱脂→超临界干燥→断裂→镀膜→电镜观察。

3 结果与讨论

3.1 再制干酪的风味分析

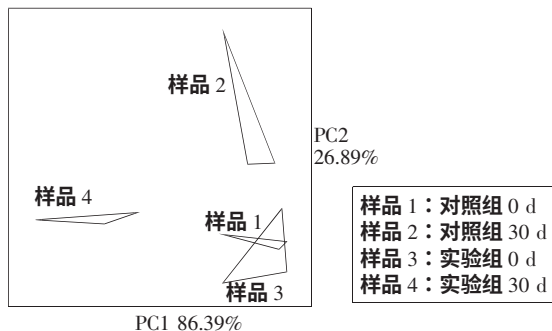


图 2 再制干酪的 PCA 二维图谱

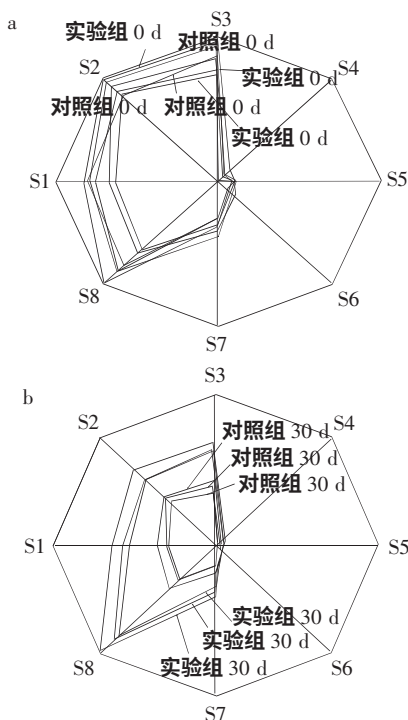


图 3 再制干酪的雷达图谱

图 2 和 3 分别为再制干酪的电子鼻分析图谱。其中图 2 为主成分分析图谱，图 2 为雷达图谱。

主成分分析(Principle component analysis, PCA)是一种多元统计方法，它是将所提取的传感器多

指标的信息进行数据转换和降维，并对降维后的特征向量进行线性分类，最后在 PCA 分析图上显示主要的二维图。当没有或缺乏有关样品信息时，PCA 能迅速浏览所有数据，找出样品间相关联的特征，并从中总结出有关样品的信息。横、纵坐标分别表示在 PCA 转换中得到的第一主成分和第二主成分的贡献率(或权重)，贡献率(或权重)越大，说明主要成分可以较好地反映原来多指标的信息。即如果两个样品在横坐标上的距离越大，说明它们的差异越大；而两个样品在纵坐标上的距离即使很大，但由于第二主成分的贡献率(或权重)很小，那么 2 个样品之间的实际差异也不会很明显^[15]。

由图 2 可知，对照组与实验组在 0 d 时的差别并不显著，两者在横坐标上几乎重合；贮藏 30 d 后，对照组与实验组的差别较显著，在横坐标上出现了较大的差异。另外从图 2 中还可以看出，对照组在 30 d 内的变化不显著，横坐标差别不大，说明未添加干酪乳杆菌的再制干酪在贮藏期间风味未发生大的变化，风味成分较为稳定；实验组贮藏 30 d 后横坐标变化较大，说明其风味成分发生了改变，即干酪乳杆菌对产品的风味产生了一定的影响。

为了更好地观察和分析再制干酪在贮藏期间的风味特征，又进行了样品的电子鼻传感器信号数据的雷达图分析。雷达图是将 8 个传感器间隔 45 度均匀的分布在圆周上，将每个传感器的最大响应值取出并标识，形成雷达图。从图 3a 中可以看到，对照组与实验组在传感器上的分布是交错的，说明这时实验组与对照组的风味差别并不明显，这与 CA 二维图谱是一致的，并且图谱主要集中在 S1、S2、S3 和 S8 这 4 个传感器上；而图 3b 中，虽然图谱仍主要集中在 S1、S2、S3 和 S8 这 4 个传感器上，但是对照组与实验组在各个传感器上的分布区域发生了变化，且差异显著，这说明经过 30 d 的冷藏，两者的风味发生了改变。

3.2 再制干酪贮藏期间可溶性氮的变化

将再制干酪于 4 ℃ 冰箱中贮藏，每隔 5 d 对干酪中 pH 4.6 SN 和 PTA SN 进行测定，测定结果如图 4 所示。

从图 4 可知，对照组的 pH4.6 SN 曲线变化较为平缓，PTA SN 曲线呈上升趋势，实验组二者均为上升趋势，说明实验组中的蛋白质无论是深度还是广度上都发生了水解。

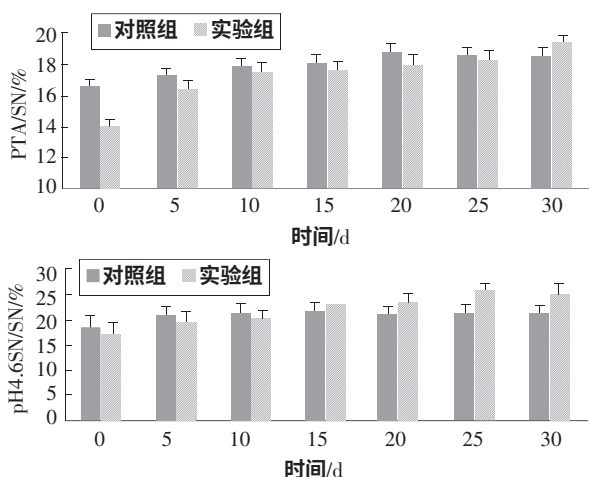
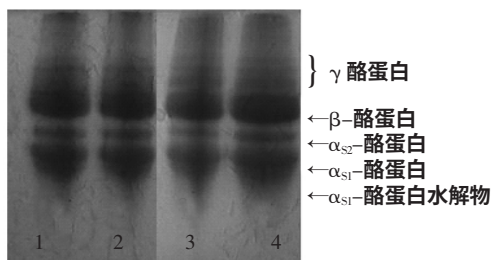


图 4 再制干酪贮藏期间 pH4.6 SN 和 PTA SN 变化

3.3 尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白水解

再制干酪的尿素凝胶电泳图谱如图 5 所示。



注：样品 1 对照组 0 d，样品 2 对照组 30 d，样品 3 实验组 0 d，样品 4 实验组 30 d。

图 5 蛋白质尿素-聚丙烯酰胺凝胶电泳图

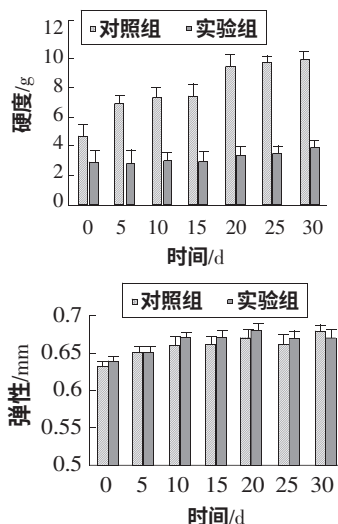


图 5 再制干酪贮藏期间的质构分析

从图 5 可知，经过 30 d 的冷藏后，对照组的蛋白基本未发生水解，而实验组的蛋白质发生了少量的水解，发生水解的蛋白主要是 α_{s1} 酪蛋白，由于贮藏时间较短，水解物含量较少。

3.4 再制干酪贮藏期间的质构变化

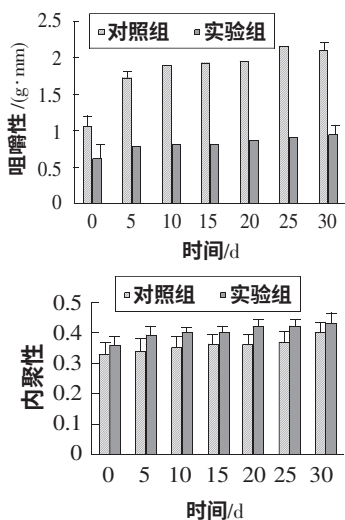
再制干酪于 4℃ 冰箱中贮藏 30 d，每 5 d 对其进行质构测定，分析干酪在贮藏期间的硬度、弹性、内聚性和咀嚼性的变化，测定结果如图 6 所示。

由图 6 可知，在贮藏期间，对照组的硬度和咀嚼性升高，发生了显著性变化，实验组的硬度变化趋势平缓，无显著性差异。对照组与实验组的弹性和内聚性没有显著性差异。

3.5 干酪乳杆菌在再制干酪贮藏期间的活性分析

将含有干酪乳杆菌的再制干酪在 4℃ 冰箱贮存 30 d，测定干酪中菌体的生长曲线与产酸曲线，测定结果如图 7 所示。

从图 7 可知，经过 30 d 的冷藏，菌体的迟滞期为 6 h，菌体的活力略有下降(贮藏前的迟滞期为 2~4 h)，但是并不显著。说明干酪乳杆菌在干酪中能够保持较好的活力，这是因为再制干酪的酸度较适合菌体的生长，干酪中的蛋白质、脂肪为菌体提供了良好的营养物质，再制干酪中的盐分较



低，这也是菌体能够长期存活并保持活力的原因。

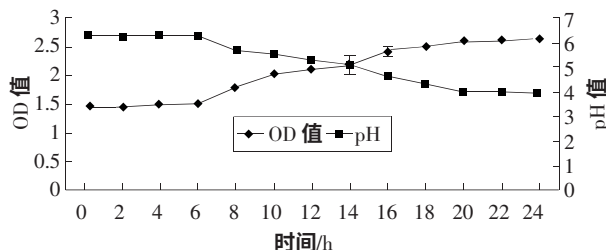


图 7 干酪乳杆菌在再制干酪贮藏期间的活性分析

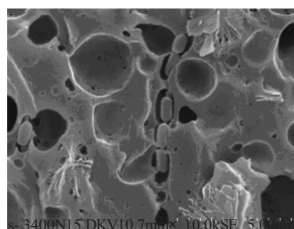


图 8 干酪乳杆菌电镜扫描图



3.6 贮藏期间干酪乳杆菌的形态观察

图8为干酪乳杆菌在再制干酪中保存30d的电镜扫描图片,从图8中可以看到,干酪乳杆菌在贮藏期间的形态未发生变化,仍为短杆状,呈链状生长。

4 结论

干酪乳杆菌的代谢活动使干酪的风味发生改变,蛋白质水解。30d内,可溶性氮(包括pH4.6 SN和PTA SN)含量上升,说明干酪中的蛋白质在深度和广度上发生了水解。但是由于贮藏时间太短,水解产物较少,通过电泳图谱只能看出 α_{s1} 酪蛋白发生了水解。

贮藏期间对照组与实验组的硬度和咀嚼性缓慢上升,实验组的硬度与咀嚼性低于对照组,具有显著性差异;弹性和内聚性变化不大,差异不显著。

干酪乳杆菌在干酪中贮藏30d,活菌数的数量级未发生变化,菌体的活力下降,迟滞期由4~6h延长至10h。通过电镜观察,菌体状态未发生改变,仍为短杆状。

参考文献:

- [1] Fox P F, Wallace J M. Formation of flavour compounds in cheese[J]. Advances in Applied Microbiology,1997,45:17-85
- [2] 芦筱菲,郑丽敏,贾宗艳,等.电子鼻对干酪识别的数据预处理和特征提取[J].计算机应用,2007,27:65-67
- [3] 张晓敏,朱丽敏,张捷,等.采用电子鼻评价肉制品中的香精质量[J].计算机应用,2008,24:175-178
- [4] Hannon J A, Kilcawley K N, Wilkinson M G, et al. Flavour precursor development in Cheddar cheese due to lactococcal starters and the presence and lysis of Lactobacillus helveticus[J]. International Dairy Journal,2007,17:316-327
- [5] 芦筱菲,郑丽敏,张晓梅,等.电子鼻技术在干酪识别上的应用[J].乳品加工,2008,(6):52-55
- [6] Fox P F, Guinee T P, Cogan T M, et al. Fundamentals of cheese science[M]. Gaithersburg Maryland:Aspen Publishers,2000
- [7] Rudan M A, Barbano D M, Guo M R, et al. Effect of the modification of fat particle size by homogenization on composition, proteolysis, functionality and appearance of reduced fat Mozzarella cheese[J]. Journal of Dairy Science, 1998,81(8):2065-2076
- [8] Yun J J, Kiely L J, Barband D M. Mozzarella cheese: Impact of cooking temperature on chemical composition, proteolysis and functional properties[J]. Journal of Dairy Science,1993,76(12):3664-3673
- [9] 董莹.不同体细胞原料对契达干酪品质的影响[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2006
- [10] Andrews A T. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins[J]. Journal of Dairy Research, 1983,50:45-55
- [11] 郑小平,陈有容,郭本恒.尿素-SDS-PAGE显示干酪成熟过程中酪蛋白降解生成的小分子多肽[J].乳业科学与技术,2002,(2):7-9
- [12] Awad R A, Abdel-Hamid L B, Ei-Shabrawy S A, et al. Texture and microstructure of block type processed cheese with formulated emulsifying salt mixtures[J]. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie,2002,35(1):54-61
- [13] Bowland E L, Foegeding E A. Small strain oscillatory shear and microstructural analyses of a model processed cheese[J].Journal of Food Science,2001,84:2372-2380
- [14] Gastaldi M E, Cuq J L. Influence of pH on protein interactions and micro structure of processed cheese[J]. Journal of Dairy Science,1997,80:1487-1489
- [15] 张晓敏,朱丽敏,张捷,等.采用电子鼻评价肉制品中的香精质量[J].农业工程学报,2008,24(9):175-178

食事传递

Food Info



六款粗食法赶走流感病毒(3)

豆腐老姜糖水作为辅助:姜是较为热门的抗流感食材,这款老姜糖水更加入健康的豆腐,感觉有点像姜汁豆腐花。材料:硬豆腐适量,姜适量,冰糖适量。制法:将豆腐切粒,加入老生姜片及冰糖煮成糖水即可。豆腐内含石膏,有清热生津之效,并可助退热,老姜则可以中和豆腐的寒凉性质。豆腐含有优质蛋白质,姜则有抗炎、抗菌功效,对抗流感有帮助,惟煮成糖水饮用的话,糖尿病患者需小心摄取。

橄榄萝卜茶功效直接:有说此偏方主治感冒,并适用于流行性感、上呼吸道感染、咽喉炎、扁桃腺炎及支气管炎等。材料:橄榄250克,萝卜500克。制法:将橄榄与萝卜以水煎,代茶饮用。橄榄润燥利咽,能解痧毒,可以消除风热感冒征状;萝卜则清热凉血,但体质偏寒者需调节分量。橄榄含不饱和脂肪酸,对心脏有益,其多酚类抗氧化营养素则对抗流感有直接功效;萝卜在蔬菜中的维生素C含量偏高,建议同时食用,以吸收纤维。