

应用卡地干酪青霉水解乳清中蛋白质的研究

吴霜, 李文钊, 张京津

(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 主要研究了卡地干酪青霉 (*P. camemberti*) 对乳清中蛋白质的水解作用。通过测定水解产物游离氨基酸 (FAA) 含量, 比较霉菌添加量、pH 值、水解时间对乳清中蛋白质水解度的影响, 实验发现较佳的水解条件为: 接种量 0.5%, pH 6, 发酵 2 d。

关键词: 卡地干酪青霉; 水解; 游离氨基酸

中图分类号: TS252.9; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)04-0028-03

Hydrolysis of Whey Protein by *P. camemberti*

WU Shuang, LI Wen-zhao, ZHANG Jing-jin

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The hydrolysis of protein in whey by *P. camemberti* was primarily studied. The effect of inoculating size, pH value and the reaction time on the hydrolysis were investigated by determining the free amino acid (FAA) content. The optimal Inoculating size, pH value and the fermentation time were 0.5%, 6 and 2 d, respectively.

Key words: *P. camemberti*; hydrolysis; FAA

乳清是生产干酪、干酪素等的副产品, 一般每生产 1 kg 干酪会产生 9 kg 乳清。全世界每年生产干酪和干酪素所产生的乳清约为 9000 万吨, 数量相当可观。乳清具有较高的营养价值, 约含粗蛋白质 1%、粗脂肪 0.3%~0.4%、总糖 3%~5%, 此外还含有矿物质和多种维生素。目前, 大量乳清被作废水被排掉, 这不仅浪费了营养资源, 降低了企业经济效益; 而且乳清中乳糖会消耗水中的溶解氧, 会造成环境污染。因此合理开发利用乳清资源已成为急待解决的问题^[1]。

乳清的研究与利用中, 关于其风味物质的报道相对较少, 而干酪及其风味制品逐渐受到人们的青睐。在干酪生产过程中, 典型的 Camembert 干酪发酵成熟获得饱满的干酪风味大约需要 1~6 月。在成熟期间, 卡地干酪青霉 (*P. camemberti*) 中的孢子将蛋白质水解形成不同大小的肽类、氨基酸, 将油脂转换成游离脂肪酸而产生 Camembert 干酪特有的味道^[2,3]。本试验以乳清为原料, 利用卡地干酪青霉的孢子水解乳清中蛋白质, 生成干酪风味物质氨基酸, 变废为宝, 为干酪风味物质开发研究打基础^[4]。

1 材料与方法

1.1 主要原料与试剂

收稿日期: 2006-12-13

作者简介: 吴霜 (1981-), 女, 在读硕士研究生, 农产品贮藏与加工工程专业

乳清粉 (市售, 高蛋白牛头牌乳清粉 CNF, 蛋白质 34.0%, 脂肪 1.25%, 水份 4.0%); 卡地干酪青霉 (*P. camemberti*) 菌株 (天津科技大学菌种室)。

1.2 主要仪器设备

T-1000 型电子天平 (江苏常熟双杰测试仪器厂); 电子精密天平 (奥豪斯 (上海) 公司); 电热恒温水浴锅 (江苏常熟医疗器械厂); 电热鼓风干燥箱 (天津市实验仪器厂); 电热恒温培养箱 (天津市中环实验电炉有限公司); 电炉 (天津市华光氙灯厂)。

1.3 方法

1.3.1 乳清溶液的制备

称取乳清粉 200 g, 量取蒸馏水 1000 mL 混合, 适当加热, 使乳清粉充分溶解于水中, 冷却后即制成含 20% 乳清粉的乳清。

1.3.2 测定方法

乳清中游离氨基酸含量的测定: 甲醛滴定法^[5], 吸取相同的 2 份样品溶液 10.0 mL, 置于 2 只烧杯中, 其中 1 份加入中性红指示剂 3 滴, 用标准氢氧化钠溶液 (0.1 mol/L) 滴定至琥珀色为终点, 此时可用 pH 计测定其 pH 值为 8.2; 另 1 份加入百里酚酞指示剂 3 滴和中性甲醛 20 ml, 静置 1 min 后, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定至淡蓝色, 此时用 pH 计测定, pH 值为 9.2。

游离氨基酸含量按如下公式计算:

$$FAA\% = \frac{N \times (V_2 - V_1) \times 0.014}{w} \times 100$$

FAA%-游离氨基酸的百分含量; V_2 -百里酚酞做指示剂时消耗的 NaOH 的体积, mL; V_1 -中性红做指示剂时消耗的 NaOH 的体积, mL; N -标准 NaOH 的摩尔浓度, mol/L; 0.014-氮的毫克当量; w -样品量。

2 结果与讨论

2.1 卡地干酪青霉的生长曲线绘制

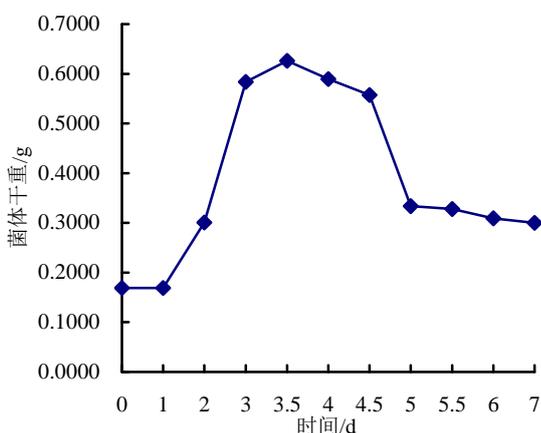


图1 卡地干酪青霉生长曲线

从卡地干酪青霉生长曲线可看出, 菌种在第 1 d 处于生长的延滞期; 第 2 d 开始到第 3 d 处于生长对数期, 此时菌体干重迅速增长, 符合固体斜面培养基中的现象, 即菌落不断长大; 第 3.5 d 开始到第 4.5d, 是卡地干酪青霉的生长稳定期, 此时菌体干重没有明显变化; 从第 5 d 开始, 菌种处于生长衰亡期, 个体死亡速度超过新生速度, 菌体干重也呈下降趋势。因此, 试验接种的最佳时期应选择第 2 d、第 3 d。

2.2 单因素实验

2.2.1 接种量对 FAA 含量的影响

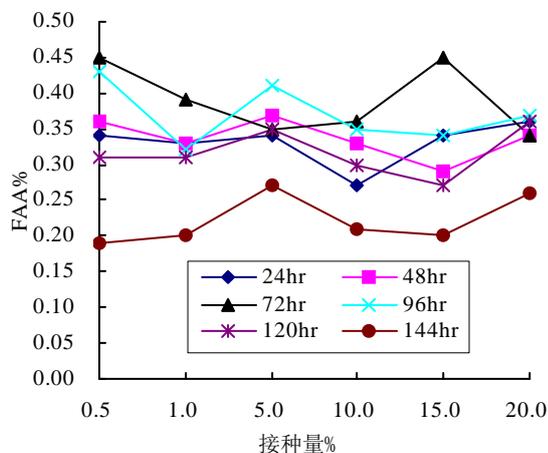


图2 接种量对 FAA%的影响

由图 2 可知接种量不同的发酵液中游离氨基酸的

含量变化不是十分明显, 但接种量为 0.5%, 5%, 15% 时游离氨基酸含量略微高于其它接种量的数值, 这是因为在适宜的接种量下, 卡地干酪青霉可产生一定数量的生物蛋白酶, 有效分解蛋白质, 得到游离氨基酸。因此, 在以后的正交试验中, 可以考虑接种量为 0.5% 和 5% 和 15% 三个水平值。

2.2.2 pH 值对 FAA 含量的影响

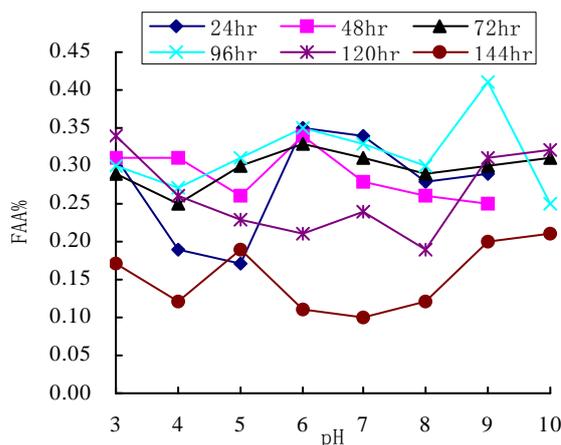


图3 pH 对 FAA%的影响

由图 3 可知 pH 值不同的发酵液中游离氨基酸的含量变化各有不同, 24 h 曲线中 pH 值为 6、7、8 时游离氨基酸含量较高; 48 h 曲线中 pH 值为 6 时游离氨基酸含量较高; 72 h 曲线中 pH 值为 6 时游离氨基酸含量较高; 因此可分析出 pH 值在 6、7、8、9 时乳清发酵液中的游离氨基酸含量都较理想。这是由于 pH 在 6、7、8 时适宜卡地干酪青霉的生长, 在此条件下卡地干酪青霉可最大限度的产生生物蛋白酶, 有效分解蛋白质, 生成游离氨基酸。因此, 在以后的正交因素试验中, 可以考虑 pH 值为 6、7、8 三个水平值。

2.2.3 发酵时间对 FAA 含量的影响

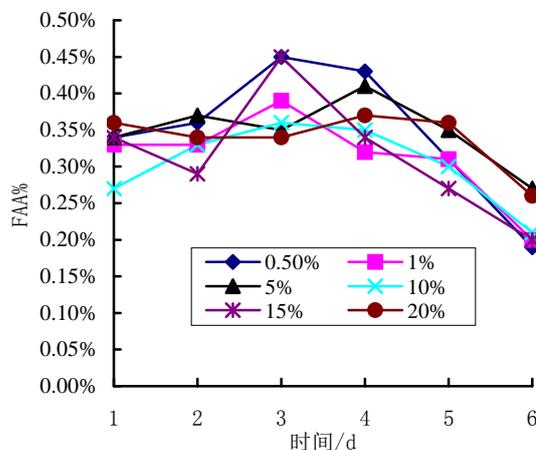


图4 时间对不同接种量乳清中 FAA%的影响

由图4可看出,在第3 d和第4 d之间,发酵液中的游离氨基酸含量变化明显,接种量不同的乳清发酵液中的游离氨基酸含量分别在2 d中达到最大值,同样也是因为在此期间内,发酵乳清的环境适宜生物蛋白酶的产生和有效分解蛋白质。依照此图可确定最佳培养时间定为第3 d和第4 d。

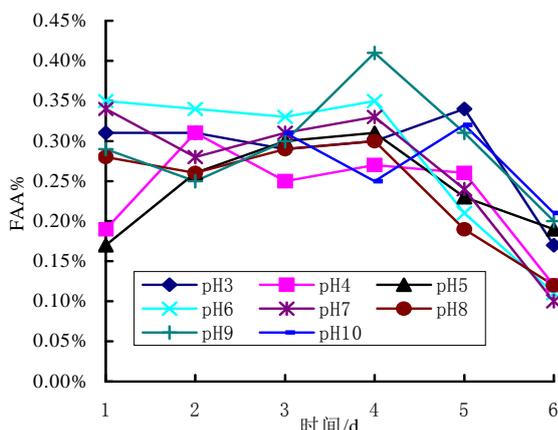


图5 时间对不同 pH 值乳清中 FAA% 的影响

由图 5 可看出培养时间在第 2 d、第 3 d 和第 4 d 时,不同 pH 值的发酵液中游离氨基酸依次达到最大值,这是因为在此期间卡地干酪青霉进入生长对数期,适宜的环境使其产生蛋白酶,因此游离氨基酸含量达到最大值。此后由于 pH 值的变化,必然使蛋白酶的水解受到限制,脂肪无法分解为游离氨基酸,因此游离氨基酸的含量也相应的降低。依照图 5,最佳培养时间可定为第 2 d、第 3 d 和第 4 d。

2.3 正交试验优化乳清的发酵条件

以单因素实验所确定的接种量、pH 值、培养时间为主要考察因素作正交实验,因素水平见表 1,正交结果见表 2。

表 1 三因素三水平的取值

水平	接种量/%	pH	培养时间/d
- 1	0.5	6	2
0	1	7	3
1	5	8	4

表 2 FAA% 的正交结果

编号	A	B	C	空白	FAA%
1	1	1	1	1	0.38
2	1	2	2	2	0.37
3	1	3	3	3	0.30
4	2	2	3	1	0.31
5	2	3	1	2	0.32
6	2	1	2	3	0.40
7	3	3	2	1	0.31
8	3	1	3	2	0.37
9	3	2	1	3	0.37
K ₁	1.05	1.15	1.07	1.00	
K ₂	1.03	1.05	1.08	1.06	
K ₃	1.05	0.93	0.98	1.07	
极差R	0.02	0.22	0.10	0.07	
最优因素	A1	B1	C2		

由表 2 知,接种量为 0.5% 和 5% 时游离氨基酸含量的影响相同,为了节约成本以达到最佳利润值,选择接种量为 0.5% 较为理想,最佳组合为 A₁B₁C₂。考虑到实际生产中的生产效率问题,选择培养时间选择 2 d 较为合理,也即组合为 A₁B₁C₁ 的生产效率较高。

3 结论

通过对卡地干酪青霉发酵乳清的研究,确定了卡地干酪青霉发酵乳清的接种量、pH 值和发酵时间的最佳组合为:发酵时间 2 d、接种量为 0.5%、pH 值为 6。

参考文献

[1] 马俪珍,张秀红等.乳清的营养价值及乳清饮料的研究现状[J].中国乳品工业,1999,27(5)

[2] Barry A. L. Technology of cheese making [M], Sheffield Academic Press, 1999,4(2): 61-66

[3] Scott R. Cheese making practice [M]. Aspen Publishers Inc, 1998.

[4] 郭本恒.干酪[M].化学工业出版社,2003.10

[5] 马丽珍.混合乳干酪的工艺研究[J].山西农业大学学报,1998

(上接第32页)

[6] 于佳,袁翠美,马文秀等.富士苹果多酚氧化酶特性研究[J].中国野生植物资源,18(4):13-16.

[7] 李合生.植物生理生化试验原理和技术, [M]北京:高等

教育出版社, 2000, .164-168、195-197.

[8] 高俊凤.植物生理学试验指导[M]北京:世界图书出版社, 1998. 140-142.