

不同菌种组合 Mozzarella 干酪成熟过程中水溶性提取液的抑菌及抗氧化活性研究

马玲¹, 彭登峰¹, 李慧¹, 王晓闻¹, 刘会平²

(1. 山西农业大学食品科学与工程学院, 山西太谷 030801)

(2. 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 为研究不同的菌种组合及不同的成熟期对 Mozzarella 干酪成熟过程中形成的水溶性抑菌、抗氧化物质的影响, 采用无菌蒸馏水作为提取溶剂, 采用滤纸片法对水溶性提取液抑制大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、霉菌以及酵母的特性进行了测定。同时对提取液在体外对 DPPH 自由基的清除率、提取液的还原力进行了测定, 提取液对老鼠体内的抗氧化特性也进行了测定。结果表明: 提取液的抑菌、抗氧化效果随菌种、成熟时间的不同而不同, 对细菌的抑制效果好于真菌。AB+LH 组合 Mozzarella 干酪在成熟 60 d 时提取液的抑菌效果均好于其它组合 Mozzarella 干酪, 成熟 40 d 的 AB+LA 组合 Mozzarella 干酪提取液对 DPPH 清除率最大为 67.76%, 成熟 50 d 的 AB 组合 Mozzarella 干酪提取液的还原力最大为 1.23, 提取液在小鼠体内也具有一定的抗氧化活性。

关键词: Mozzarella 干酪; 提取液; 抑菌; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2015)8-103-109

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.018

Effect of Different Ripening Stages on Antibacterial and Antioxidant Activity of Water-soluble Extracts from Mozzarella Cheese with Various Strains

MA Ling¹, PENG Deng-feng¹, LI Hui¹, WANG Xiao-wen¹, LIU Hui-ping²

(1. College of Food Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

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

Abstracts: In order to determine the influence of various starter strains and ripening periods on the formation of antibacterial and antioxidant materials in water-soluble extracts for Mozzarella cheese, activities of antibacterial for *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, yeast and mould were detected by filter paper dispersion method. DPPH scavenging rate, reducing power in vitro and the antioxidant in vivo were also investigated. The results indicated: the antibacterial and antioxidant property of extracts changes with strains and ripening stages exhibited stronger inhibition against bacteria than fungi, extracts of cheese with AB+LH ripening 60 days showed higher bacterial inhibition than the other cheeses, cheese with AB+LA ripening 40 days demonstrated highest scavenging rate of DPPH and the inhibition value was 67.76%, cheese with AB ripening 50 days displayed greatest reducing power of 1.23, the extracts also have antioxidant in vivo.

Key words: Mozzarella cheese; extracts; antibacterial; antioxidant

干酪成熟过程中的蛋白质特别是酪蛋白(主要包括 α_{s1} 、 α_{s2} 、 β 、 κ 酪蛋白), 在经过牛奶中固有的纤溶酶、残留的凝乳酶和发酵剂和非发酵剂微生物产生的蛋白分解酶的作用下可形成一系列可溶性生物活性肽, 这些肽非常易于被人体消化吸收, 而其中一部分多肽具有抑菌、ACE 抑制和抗氧化的功能^[1-3]。近年来有关干酪中来源于酪蛋白生物活性肽的生理功能引起了国内外学者的广泛关注和研究。Pritchard 发现,

收稿日期: 2014-04-16

基金项目: 山西省科技攻关资助项目 (20110311001-4)

作者简介: 马玲 (1980-), 男, 在读博士, 讲师, 研究方向: 生物资源与功能食品

不同来源的 Cheddar 干酪其提取液的抑菌、抗氧化、ACE 抑制特性不同, 而提取液中不同分子量的肽类其功能特性也不同^[4]。Rizzello 研究发现, 不同原料奶、不同发酵剂、不同加工技术和成熟期的意大利干酪中水溶性提取物对革兰氏阳性和阴性菌具有很广的抑菌谱, 最低抑菌浓度为 20~200 $\mu\text{g/mL}$, 并对相应抑菌肽的氨基酸序列做了分析^[5]。Meira 等对巴西南部乌拉圭的牛奶干酪水溶性生物活性肽的抗氧化、抑菌和降血压功能进行了研究, 发现 Roquefort 干酪水溶性提取液具有很高的抗氧化和 ACE 抑制特性, 不同类型 Feta 干酪的抗氧化活性 (ABTS) 为 32%~45%, 所有干酪水溶性提取液具有很高的 ACE 抑制活性^[1]。国内

主要是通过酪蛋白或乳清蛋白的酶解而获得抑菌或具有一定抗氧化活性的功能肽。董晓斌等研究得出, 10%乳清蛋白复原乳在 37 °C、初始 pH 6.8、接种量 4% 条件下发酵 24 h, 其产物对 DPPH 自由基的清除率为 66.95%^[6]。毛学英等发现, 碱性蛋白酶酶解产物清除 DPPH 自由基活力显著高于其它酶的酶解产物, 第 7 h 酶解产物的清除活力显著高于其它水解时间点的样品, 其水解度、三氯乙酸氮溶解指数和蛋白质回收率均较高, 且酶解产物中短肽段的含量较高^[7]。郁晓盼等优化了凝乳酶水解牛乳酪蛋白制备抗氧化肽的最佳酶解工艺条件, 在最佳条件下酶解液对 DPPH 清除率为 79.41%^[8]。海芹等采用胰蛋白酶在合适的条件下对干酪素酪蛋白进行水解, 经超滤获得了分子质量 <3000 u 的对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有很强的抗菌作用的组分^[9]。

然而对不同菌种组合下 Mozzarella 干酪水溶性提取液的抑菌和抗氧化特性鲜有报道, 本研究特别加入瑞士乳杆菌作为发酵剂, 此外, 本研究还对提取液的体内抗氧化特性进行了研究, 为阐明不同菌种及不同成熟期 Mozzarella 干酪水溶性提取液的功能特性提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 原料

新鲜牛乳, 来源于山西农业大学牧站, 密度 1.030g/mL, 干物质 11.05%, 蛋白含量 3.03%, 酪蛋白含量 2.27%, 将脂肪标准化至 3.0%, 使 C/F (酪蛋白:脂肪)=0.76。

1.2 菌种

Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus* (唾液链球菌嗜热亚种) A、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (保加利亚乳杆菌德氏亚种) B、*Lactobacillus acidophilus* (嗜酸乳杆菌) LA、*Lactobacillus helveticus* (瑞士乳杆菌) LH, 山西农业大学食品科学与工程学院畜产品实验室保存。

大肠杆菌(*E.coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、酵母菌(*yeast*)和黑曲霉(*mould*), 来源于山西农业大学食品科学与工程学院食品质量与安全实验室。

1.3 试剂

三氯乙酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、无水甲醇, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 氯化铁、铁氰化钾

(K₃Fe(CN)₆), 天津市化学试剂三厂; 二苯代苦味酰肼自由基(DPPH)、D-半乳糖, Sigma 公司; 凝乳酶 Stamix 1150, CHR HANSEN 生产, 活力为 15000 RU/g。

1.4 主要仪器设备

自制干酪槽(加工量为 2 L), 干酪刀, 干酪模具, 培养皿。SHB-III 循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; TDL-台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; 电热恒温水浴锅, 上海医疗器械五厂; 电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱, 上海新苗医疗器械制造有限公司; HPP-9272 电热恒温培养箱, 北京东联哈尔仪器制造有限公司; 单式真空包装机, 温州市鼎力包装机械制造有限公司; 超净工作台, 北京东联哈尔仪器制造有限公司; 756 紫外-可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司。

1.5 试验方法

1.5.1 Mozzarella 干酪的制作

原料乳过滤、标准化(脂肪标准化到 3.0%, 使 C/F=0.76)→巴氏杀菌(63 °C, 30 min)→冷却(至 36 °C)→加发酵剂(发酵 30 min 左右)→调整酸度(取 10 mL 牛奶加入 1~2 滴酚酞溶液, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定来测定酸度, 酸度要在 21~22 T, 如果酸度不够要加入乳酸调整酸度)→加凝乳酶(添加由 1% 食盐水配成的 1% 的凝乳酶溶液)→凝乳(30 min 左右)→切割→加热收缩(温度由 36 °C 缓慢升到 38 °C)→排乳清(pH 值 6.3)→堆酿(pH 值 5.25)→加盐揉合(加盐量为 1.8%)→热烫、拉伸→冷却→真空包装→成熟(4 °C)

干酪 AB 为加入 1% 由 A:B=1:1 组成的混合发酵剂所制成的干酪, 干酪 AB+LA 为加入 1% (A+B):LA=1:1 混合发酵剂所制成的干酪, 干酪 AB+LH 为加入 1% (A+B):LH=1:1 混合发酵剂所制成的干酪。按原料乳量的 1% 加入 A 和 B 组成的混合发酵剂, 比例 1:1, 记为干酪 AB; 按原料乳量 0.5% 加入 A 和 B 组成的混合发酵剂和 0.5% LA 的发酵剂, 记为干酪 AB+LA。按原料乳量 0.5% 加入 A 和 B 组成的混合发酵剂和 0.5% LH 的发酵剂, 记为干酪 AB+LH。

1.5.2 Mozzarella 干酪水溶性提取液的制备^[4-5]

分别准确称取不同菌种组合的 Mozzarella 干酪各 30 g, 然后加入 100 mL 无菌蒸馏水, 充分研磨后放置在 40 °C 的水浴中以 100 r/min 搅拌 1 h, 弃去上层脂肪和下层干酪小球, 然后以 4000 r/min 离心 30 min, 上清液用旋转蒸发器减压浓缩呈黏稠状, 用少量无菌蒸馏水溶解即为水溶性提取液。

1.5.3 抑菌性试验^[10-14]

提取液抑菌能力的测定采用滤纸片法。取供试菌种,活化后用无菌水配成含菌数 10^6 cfu/mL 的菌悬液,震荡均匀。无菌操作。取 1 mL 各种菌悬液,与相应固体培养基制成含菌平皿。用打孔器打成直径为 6 mm 的圆形滤纸片,灭菌,放入提取液中浸泡 2 h,然后置于含菌平皿。等距 4 片, 37°C 培养 24 h,测定抑菌圈直径,取平均值作为结果。

1.5.4 Mozzarella 干酪水溶性提取液对 DPPH 清除能力的测定

DPPH·(1,1-苯基-2-苦肟自由基)清除能力方法参照 Yamaguchi 等^[15-17]的报道略作改进。样液为水溶性提取液, DPPH 浓度为 0.125 mM。在试管中分别加入 0.5 mL 样液和 1 mL DPPH 溶液充分振荡后放于暗处在室温下反应 30 min,然后于 517 nm 处测定吸光值。并测 0.5 mL 样液加 1.5 mL 甲醇的吸光值作对照,用 1 mL DPPH 溶液加等体积的甲醇作空白,测定时用无水甲醇调零。按照下列公式计算样品对 DPPH 的清除能力。

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}/\% = \left(1 - \frac{A - A_b}{A_0}\right) \times 100$$

注: A -样液与 DPPH 试剂混合液的吸光值; A_b -样液与空白溶剂混合液的吸光值; A_0 -DPPH 试剂与空白溶剂混合液的吸光值。

1.5.5 Mozzarella 干酪水溶性提取液还原能力的测定^[15-16]

取水溶性提取液各 1 mL,分别加入 0.2 mL 磷酸缓冲液(PBS, pH 6.6, 0.2 mol/L)和 0.5 mL 1% (m/V) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 于试管中,混匀,在 50°C 水浴中反应 20 min,用流水速冷,而后加入 1 mL 的三氯乙酸(10%, m/V)混匀,在 3000 r/min 下离心 10 min,取上清液 1.5 mL,加 0.2 mL 新配的 FeCl_3 (0.1%, m/V)和 3 mL 蒸馏水摇匀后,以蒸馏水调零,在 700 nm 处检验溶液的吸光度。溶液的吸光度越高,还原能力越强。

1.5.6 提取液的体内抗氧化活性^[18-19]

来自于山西医科大学健康的昆明种雌性小鼠 110 只,初始体重 20~25 g,随机分成 11 组,即正常对照组,衰老模型组,不同成熟期成熟 40 d、50 d、60 d 的 3 种干酪提取液灌胃组 9 组,剂量为 2 mL/d,对照组与衰老模型组给予等量生理盐水。除对照组外,其余各组每 d 颈背部皮下注射 5% D-半乳糖 0.2 mL/d,对照组皮下注射等量的生理盐水。半乳糖与提取液均连续给药 45 d,实验末日禁食 16 h 后摘眼球采血,分离血清,采用羟胺法、DTNB 法和硫代巴比妥酸法分别测定血清组织中 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量。

1.6 数据处理

采用 Excel 作图,采用 SPSS 软件进行方差分析和多重比较,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与讨论

2.1 提取液对大肠杆菌的抑制作用

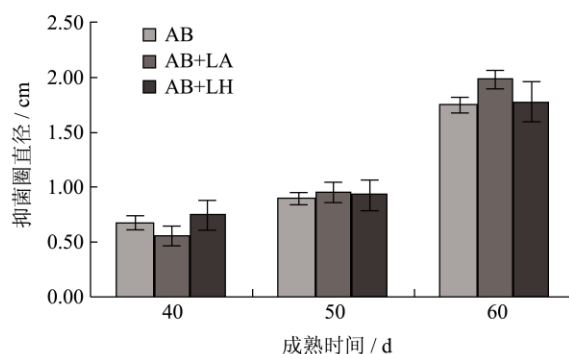


图 1 提取液对大肠杆菌的抑菌效果

Fig.1 Antibacterial of extract for *E. coli*

由图 1 可以看出,不同菌种组合下的 Mozzarella 干酪成熟 40 d、50 d、60 d 时的水提取液对大肠杆菌都有抑制作用,且抑菌圈直径随着成熟时间的延长而增大,在成熟 60 d 时抑菌圈直径达最大,差异达显著水平 ($P < 0.05$)。而 AB+LA 组合 Mozzarella 干酪的抑菌圈直径在成熟 60 d 时大于 AB 和 AB+LH 组合 Mozzarella 干酪,达到 1.98 cm,但三者差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 提取液对枯草芽孢杆菌的抑制作用

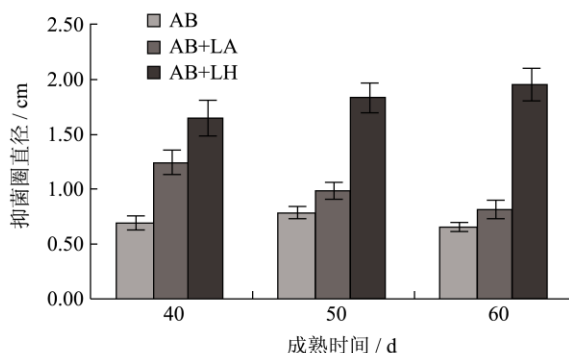


图 2 提取液对枯草芽孢杆菌的抑菌效果

Fig.2 Antibacterial of extract for *Bacillus subtilis*

由图 2 可以看出,AB 组合 Mozzarella 干酪在成熟 40 d、50 d、60 d 时其水提取液对枯草芽孢杆菌的抑制效果变化不大,且其抑菌效果相对较差。而 AB+LA 组合 Mozzarella 干酪在成熟 40 d 时的水提取

液对枯草芽孢杆菌的抑菌效果最好，随着成熟时间的延长抑菌效果下降。AB+LH 组合 Mozzarella 干酪水提取液的抑菌圈直径随着成熟时间的延长而增大，且 AB+LH 组合 Mozzarella 干酪在不同成熟时间抑菌圈直径都显著 ($P<0.05$) 大于 AB 和 AB+LA 组合 Mozzarella 干酪。

2.3 提取液对金黄色葡萄球菌的抑制作用

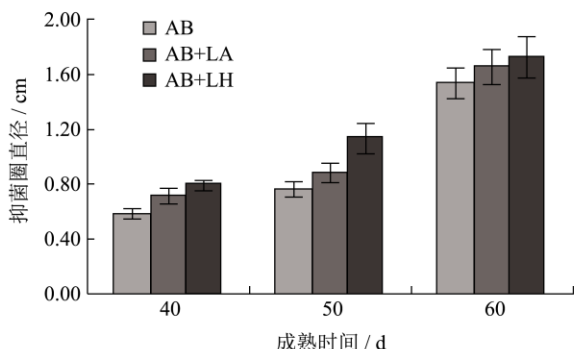


图 3 提取液对金黄色葡萄球菌的抑菌效果

Fig.3 Antibacterial of extract for Staphylococcus aureus

由图 3 可以看出，不同菌种组合下的 Mozzarella 干酪在成熟 40 d、50 d、60 d 时的水提取液对金黄色葡萄球菌都有抑制作用，且抑菌圈直径随着成熟时间的延长而增大，在成熟 60 d 时抑菌圈直径达最大，差异达显著 ($P<0.05$)。而 AB+LH 组合 Mozzarella 干酪的抑菌圈直径在成熟 60 d 时大于 AB 和 AB+LH 组合 Mozzarella 干酪，达到 1.72 cm，但三者之间差异不显著 ($P>0.05$)。

2.4 提取液对酵母菌的抑制作用

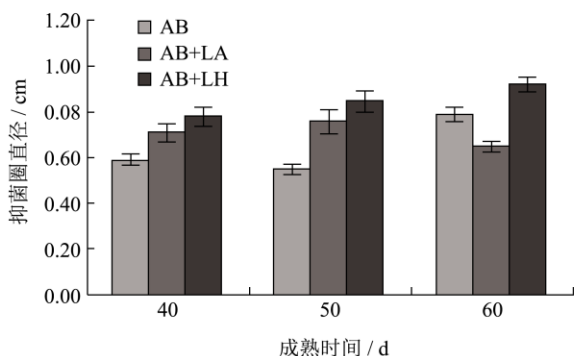


图 4 提取液对酵母菌的抑菌效果

Fig.4 Antibacterial of extract for yeast

由图 4 可以看出，不同菌种组合下的 Mozzarella 干酪在成熟 40 d、50 d、60 d 时的水提取液对酵母菌都有一定抑制作用，但抑菌圈直径较小，说明提取液对酵母菌的抑制效果较差，且抑菌圈直径差异均不显著 ($P>0.05$)。

2.5 提取液对霉菌的抑制作用

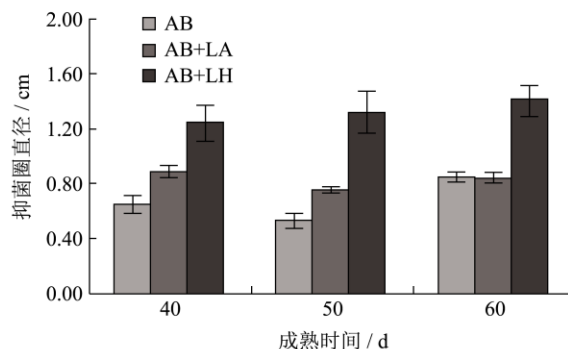


图 5 提取液对霉菌的抑菌效果

Fig.5 Antibacterial of extract for mould

由图 5 可以看出，AB 和 AB+LA 组合 Mozzarella 干酪水提取液对霉菌的抑菌圈直径较小，而 AB+LH 组合 Mozzarella 干酪水提取液对霉菌的抑菌圈直径随着成熟时间的延长而增大，到 60 d 时最大为 1.46 cm。AB+LH 组合 Mozzarella 干酪水提取液对霉菌的抑菌圈直径显著大于同一成熟期另外两种干酪 ($P<0.05$)。本研究发现水溶性提取液对细菌的抑制效果好于真菌，与报道的 Nisin 对革兰氏阳性菌的抑制效果好于革兰氏阴性菌以及霉菌、酵母相似。

2.6 提取液对 DPPH 的清除率

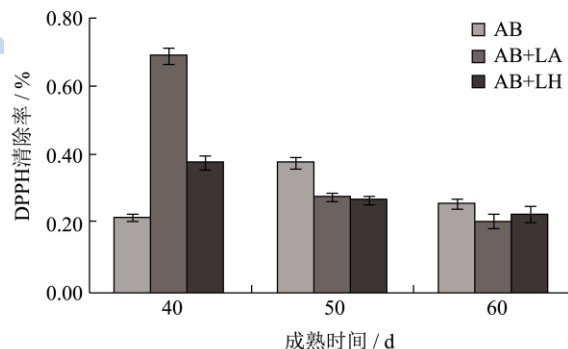


图 6 提取液对 DPPH 的清除率

Fig.6 DPPH scavenging rate of cheese extract

从图 6 分析可知，提取液对 DPPH 均有一定程度的清除，不同菌种组合的 Mozzarella 干酪在不同的成熟期其清除 DPPH 的能力不同。AB 组合 Mozzarella 干酪水提取液对 DPPH 清除率随成熟时间的延长先增大后降低，AB+LH 和 AB+LA 组合 Mozzarella 干酪水提取液对 DPPH 清除率随成熟时间的延长均降低。AB 组合 Mozzarella 干酪水提取液在成熟 50 d 时清除 DPPH 的能力最大为 37.8165%，显著高于其它成熟期提取液对 DPPH 的清除力 ($P<0.05$)。而 AB+LA 和 AB+LH 组合 Mozzarella 干酪水提取液在成熟 40d 时

对 DPPH 清除率最大, 分别达到 67.7571%、37.0184%, 显著高于其它成熟期 ($P < 0.05$)。

2.7 提取液还原能力的测定

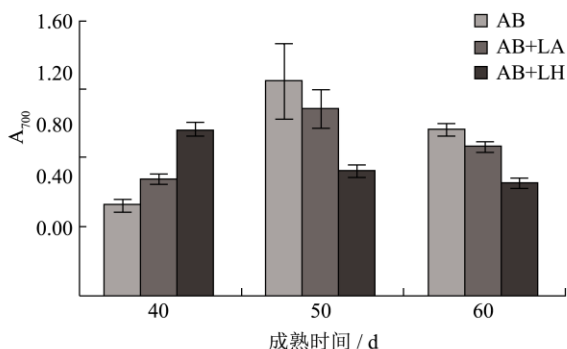


图 7 提取液还原能力的测定

Fig.7 Determination for reducing capacity of cheese extract

从图 7 分析可知, 不同的菌种组合 Mozzarella 干酪的水提取液在不同的成熟期其还原能力不同。AB 组合 Mozzarella 干酪水提取液的还原能力随成熟时间的延长先增大后降低, 与对 DPPH 清除率的变化一致。AB+LA 组合 Mozzarella 干酪水提取液的还原能力随成熟时间的延长先增大后降低。AB+LH 组合 Mozzarella 干酪水提取液的还原能力随成熟时间的延长降低。成熟 50 d 时 AB 组合干酪水提取液的还原能力最大为 1.228。成熟 50 d 时 AB 和 AB+LA 组合 Mozzarella 干酪提取液还原力显著高于其它成熟期 ($P < 0.05$), 而 AB+LH 组合 Mozzarella 干酪在整个成熟过程中提取液的还原力差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.8 提取液对小鼠体内 MDA、SOD、GSH-Px

含量的影响

表 1 不同菌种组合干酪水溶性提取液对小鼠 MDA(nmol/ml) 含量的影响

成熟期	40 d	50 d	60 d
对照		231.6±19.67 ^b	
模型		283.43±22.17	
AB	266.41±23.82	251.73±16.34 ^a	271.24±20.04
AB+LA	246.41±21.82 ^a	261.32±21.33	281.01±22.12
AB+LH	272.89±25.08	238.10±22.12 ^b	285.07±26.57

注: a 表示与模型组比较差异显著 ($P < 0.05$), b 表示与模型组比较差异极显著 ($P < 0.01$), 下同。

表 2 不同菌种组合干酪水溶性提取液对小鼠 SOD(U/ml) 含量的影响

Table 2 Effect of cheese extract on content of SOD in plasma of mice

成熟期	40d	50d	60d
对照		381.6±29.35 ^b	
模型		303.43±32.28	
AB	316.41±26.91	350.09±26.36 ^b	321.24±31.11
AB+LA	365.41±30.26 ^b	331.52±31.15	320.01±32.60
AB+LH	345.47±31.17 ^a	358.13±28.52 ^b	324.07±28.71

表 3 不同菌种组合干酪水溶性提取液对小鼠 GSH-Px (U/ml) 含量的影响

Table 3 Effect of cheese extract on content of GSH-Px in plasma of mice

成熟期	40d	50d	60d
对照		171.52±24.33	
模型		153.21±21.73	
AB	189.38±17.25 ^a	159.73±14.24	191.33±21.13 ^a
AB+LA	206.24±23.28 ^b	173.28±20.26	160.62±18.92
AB+LH	162.39±21.14	148.10±19.37	181.17±22.14

由表 1~3 可以看出, 与正常对照组相比, 衰老模型组小鼠血清中 MDA 含量极显著升高 ($P < 0.01$), 而 SOD 含量极显著降低 ($P < 0.01$)、GSH-Px 含量降低但差异不显著 ($P > 0.05$)。成熟 50 d 的 AB 菌种组合干酪、成熟 40 d 的 AB+LA 菌种组合干酪提取液组与衰老模型组相比 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$), 而成熟 50 d 的 AB+LH 菌种组合干酪提取液组 MDA 含量极显著低于衰老模型组 ($P < 0.01$)。成熟 50 d 的 AB 菌种组合干酪、成熟 40d 的 AB+LA 菌种组合干酪、成熟 50 d 的 AB+LH 菌种组合干酪的水溶性提取液组与模型组相比 SOD 含量极显著升高 ($P < 0.01$)。成熟 40 d 的 AB+LH 菌种组合干酪的水溶性提取液组与模型组相比 SOD 含量显著升高 ($P < 0.05$)。说明特定菌种组合、成熟特定时间干酪的水溶性提取液对衰老小鼠血清中的 SOD 活性具有增强作用。成熟 40 d、60 d 的 AB 菌种组合干酪的水溶性提取液组与模型组比较 GSH-Px 含量显著升高 ($P < 0.05$), 而成熟 40 d AB+LA 菌种组合干酪的水溶性提取液组与模型组相比 GSH-Px 含量极显著升高 ($P < 0.01$)。

研究报道乳清蛋白发酵后形成的乳清蛋白肽和酪蛋白酶解后形成的酪蛋白肽具有体内抗氧化活性^[18-19], 本研究中提取液的成分也是在发酵剂和凝乳酶的作用下形成的肽类物质, 其在小鼠体内具有一定的

抗氧化性与前人的结果相似。另外,研究表明,干酪成熟过程中以及蛋白酶解过程产生的肽只有在特定的水解程度下才表现出抗氧化等功能特性,酶解不够或过度其产物的抗氧化活性都不是最高^[20-22]。不同成熟期干酪中蛋白质水解程度不同,本研究发现特定菌种组合 *Mozzarella* 干酪在成熟特定时间体外抗氧化活性高于其它成熟期,也进一步证明这一结果。不同菌种组合 *Mozzarella* 干酪水溶性提取液的抑菌能力和抗氧化活性随成熟期、菌种的组合不同而不同,可能因不同乳酸菌所产生的胞内、胞外蛋白酶、肽酶对蛋白质的水解广度和深度随成熟时间的不同有所不同,也可能与不同的菌种组合其产生酶系的量以及酶的释放方式与作用方式不同有关,也可能与提取液的组成及提取液中的菌群组成有关。M.A 从 *Armada* 干酪中分离到 31 株乳酸菌,其中的 4 株菌在排除有机酸和过氧化氢后经扩散法试验表明对指定的其它 14 株菌有抑制作用^[23]。也有研究发现发酵食品及干酪中分离到的发酵剂和非发酵剂菌种具有一定的抗氧化活性^[21,24]。本研究尽管没有对提取液中的肽类和氨基酸的组成情况进行研究,也没有对提取液中的菌群组成进行分析,但不同菌种组合不同成熟期干酪提取液中抗氧化活性不同,结合前人的研究结果,表明不同菌种组合不同成熟期干酪提取液中存在肽类和氨基酸,而且肽类的组成及氨基酸的疏水程度存在差异,提取液中的菌群的组成也不尽相同,具体的情况需要进一步做细致、深入的研究。

3 结论

不同菌种组合的 *Mozzarella* 干酪在不同的成熟期其水溶性提取液抑菌效果不同,对细菌的抑制效果好于真菌。AB+LH 组合 *Mozzarella* 干酪在成熟 60 d 时水溶性提取液的抑菌效果均好于其它组合 *Mozzarella* 干酪,成熟 40 d 的 AB+LA 组合 *Mozzarella* 干酪水溶性提取液对 DPPH 清除率最大为 67.76%,成熟 50 d 的 AB 组合 *Mozzarella* 干酪水溶性提取液的还原力最大为 1.23,提取液也具有体内抗氧化活性。

参考文献

- [1] Stela Maris Meister Meira, Daniel Joner Daroit, Virginia Etges Helfer. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay [J]. *Food Research International*, 2012, 48: 322-329
- [2] Iván López Expósito, Isidra Recio. Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins [J]. *International Dairy Journal*, 2006, 16: 1294-1305
- [3] Hannu Korhonen. Milk-derived bioactive peptides: from science to applications [J]. *Journal of Functional Foods*, 2009: 177-187
- [4] Stephanie Rae Pritchard, Michael Phillips, Kasipathy Kailasapathy. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese [J]. *Food Research International*, 2010, 43: 1545-1548
- [5] C G Rizzello, I Losito, M Gobetti, et al. Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties [J]. *J Dairy Sci*, 2005, 88: 2348-2360
- [6] 董晓斌,付丽丽,朴珊善,等.发酵乳清蛋白制取抗氧化肽的研究[J].*食品科学*,2011,32(11):172-175
DONG Xiao-bin, FU Li-li, PIAO Shan-shan, et al. Study on the anti-oxidative capability of the fermentation product of the whey protein by probiotics [J]. *Food Science*, 2001, 32(11): 172-175
- [7] 毛学英,吴思嘉,范金波,等.牦牛乳酪蛋白酶解产物清除 DPPH 自由基活性分析[J].*现代食品科技*,2004,24(7):624-626
MAO Xue-ying, WU Si-jia, FAN Jin-bo, et al. Scavenging activity of enzymatic hydrolysate of yak casein on DPPH radical [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2007, 24(7): 624-626
- [8] 郁晓盼,赵肖蓉,牟光庆.酪蛋白抗氧化肽的制备及初步分离[J].*食品科技*,2011,36(5):29-31
YU Xiao-pan, ZHAO Xiao-rong, MOU Guang-qin. Preparation and preliminary separation of antioxidant peptide from casein [J]. *Food Technology*, 2011, 36(7): 29-31
- [9] 李海芹,李兴民,杜艳.酪蛋白酶解产物中抗菌肽的初步研究[J].*食品与发酵工业*,2006,32(3):147-148
LI Hai-qin, LI Xing-min, DU Yan. Primary studies on antimicrobial peptides from casein hydrolysates [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2006, 32(3): 147-148
- [10] 冯翠萍,许昱舟,王将.姬松茸多肽质量指纹图谱分析及功能研究[J].*中国食品学报*,2011,11(2):216-220
FENG Cui-ping, WANG Yu-zhou, WANG Jiang. The mass fingerprint analysis and function of *agaricus blazei murill* polypeptides [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2011, 11(2): 216-220
- [11] 薛培宇,代永刚,南喜平,等.响应面法优化酪蛋白抗菌肽的制备工艺[J].*食品科技*,2011,36(1):5-8
XUE Pei-yu, DAI Yong-gang, NAN Xi-ping, et al. Optimization of the preparation technology of antibacterial peptides from casein by response surface methodology [J]. *Food Science and Technology*, 2011, 36(1): 5-8
- [12] 赵玲,曹荣,刘淇,等.南极磷虾酶解多肽的抑菌活性[J].*渔业*

- 科学进展,2011,32(4):112-114
ZHAO Ling, CAO Rong, LIU Qi, et al. Antibacterial activity of polypeptide from antarctic krill enzymatic hydrolysis [J]. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(4): 112-114
- [13] 宗绪岩,李丽,罗惠波,等.啤酒糟蛋白水解物对金黄色葡萄球菌抑菌能力研究[J].食品与机械,2012,28(1):108-112
ZONG Xu-yan, LI L, LUO Hui-bo, et al. Antibacterial activity of staphylococcus aureushydrolyzed from brewers spent grains protein [J]. Food and Machinery, 2012, 28(1): 108-112
- [14] 黄小炯,区子弃,王琴.银杏抗菌蛋白的提取及其抗菌性研究[J].食品工业科技,2008,10:139-142
HUANG Xiao-jiong, OU Zhi-bian, WANG Qin. Study on extract of antibacterial protein from ginkgo biloba [J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 10: 139-142
- [15] 吕喜茹,郭亮,常明昌,等.姬松茸多糖抗氧化作用[J].食用菌学报,2010,1(17):69-71
LV Xi-ru, GUO Lliang, CHANG Ming-chang, et al. Antioxidant of agaricus blazei murill polysaccharide [J]. ACTA Edulis Fungi, 2010, 1(17): 69-71
- [16] 王辉.绞股蓝乙酸乙酯提取物有效成分的分离及生物活性研究[D].山西农业大学,2010
WANG Hui. Research of separation and bioactivity for effective ingredients extracted with ethyl acetate from gynostemma [D]. Shan xi Agricultural University, 2010
- [17] Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T atal. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl [J]. Biosci., Biotechnol., Biochem., 1998, 6: 1200-1204
- [18] 包怡红,李锐达,梁雪,等.乳清蛋白肽对衰老小鼠抗氧化能力的影响[J].营养学报,2010,32(3):239-241
BAO Yi-hong, LI Rui-da, LIANG X et al. Effect of whey protein peptides on antioxidant abilities in aged mice [J]. ACTA Nutrimenta SINICA, 2010, 32(3): 242-244
- [19] 陈东平,牟广庆.酪蛋白肽对小鼠抗氧化酶作用的研究[J].营养学报,2010,32(3):242-244
CHEN Dong-ping, MOU Guang-qing. Effect of casein peptides antioxidative enzymes in mice [J]. ACTA Nutrimenta SINICA, 2010, 32(3): 242-244
- [20] Pritchard S R, Phillips M, Kailasapathy K. Identification of bioactive peptides in commercial cheddar cheese [J]. Food Research International, 2010, 43: 1545-1548
- [21] Gupta A, Mann B, Kumar R, Sangwan R B. Antioxidant activity of cheddar cheeses at different stages of ripening [J]. International Journal of Dairy Technology, 2009, 62(3): 339-347
- [22] Kilcawley K N, Nongonierma A B, Hannon J A, Doolan I A, Wilkinson M G. Evaluation of commercial enzyme systems to accelerate cheddar cheese ripening [J]. International Dairy Journal, 2012, 26: 50-57
- [23] M A Herreros, H Sandoval, L González, et al. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from armada cheese (a Spanish goats' milk cheese) [J]. Food Microbiology, 2005, 22: 455-459
- [24] Shengyu Li, Yujuan Zhao, Li Zhang, et al. Antioxidant activity of Lactobacillus plantarum strains isolated traditional Chinese fermented foods [J]. Food Chemistry, 2012, 135: 1914-1919