

发芽辣木籽凝乳酶在鲜食干酪加工中的应用

杨妍¹, 张瑞², 丁井杰¹, 张璐¹, 王雪峰^{1*}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201)

(2. 山东滨州市检验检测中心, 山东滨州 256600)

摘要:以商用小牛皱胃酶为对照,用发芽辣木籽凝乳酶加工鲜食干酪,分别通过感官、营养成分、功能特性(拉伸性、融化性、油脂析出性)、总色差、游离脂肪酸等指标进行比较分析,结果表明:两者所加工干酪在感官、得率、蛋白含量、总色差 ΔE 值上无显著差异($P>0.05$),发芽辣木籽凝乳酶加工干酪脂肪质量分数为17.71%,显著低于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$);发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的功能特性中融化性和拉伸长度为14.50 mm和30.40 cm,显著优于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$)。发芽辣木籽凝乳酶加工干酪游离脂肪酸总含量与小牛皱胃酶加工干酪无显著性差异($P>0.05$),发芽辣木籽凝乳酶加工干酪组分中的亚油酸质量分数为1.68%,显著高于小牛皱胃酶加工干酪。该研究表明发芽辣木籽凝乳酶在一定程度上可替代小牛皱胃酶应用于鲜食干酪的加工制作,为发芽辣木籽凝乳酶在干酪加工中的应用提供了重要参考价值。

关键词:发芽辣木籽凝乳酶;小牛皱胃酶;鲜食干酪;功能特性;游离脂肪酸

文章编号:1673-9078(2025)01-65-73

DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.1.1433

Application of Milk-clotting Enzyme from Germinated *Moringa oleifera* Seed in Fresh Cheese Processing

YANG Yan¹, ZHANG Rui², DING Jingjie¹, ZHANG Lu¹, WANG Xuefeng^{1*}

(1.School of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(2. Shandong Binzhou City Inspection and Testing Center, Binzhou 256600, China)

Abstract: Using commercial calf rennet as the control, fresh cheese was processed with milk-clotting enzyme from germinated moringa seed. The sensory attributes, nutrient components, functional properties (stretchability, melting, oil precipitation), total color difference, free fatty acids and other indicators were compared and analyzed. The results showed that there was no significant difference in sensory attributes, yield, protein content and total color difference ΔE value between the two processed cheeses ($P>0.05$). The fat content of the cheese processed with milk-clotting enzyme from germinated moringa seed was 17.71%, which was significantly lower than that of processed cheese with calf rennet ($P<0.05$). The meltability and tensile length of the processed cheese obtained with milk-clotting enzyme from germinated moringa seed were 14.50 mm and 30.40 cm, respectively, which were significantly better than those of calf rennet processed cheese ($P<0.05$). There was no significant difference in the

引文格式:

杨妍,张瑞,丁井杰,等.发芽辣木籽凝乳酶在鲜食干酪加工中的应用[J].现代食品科技,2025,41(1):65-73.

YANG Yan, ZHANG Rui, DING Jingjie, et al. Application of milk-clotting enzyme from germinated *Moringa oleifera* seed in fresh cheese processing [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(1): 65-73.

收稿日期:2023-11-30

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(32360562);云南省农业联合专项重点项目(202101BD070001-013);云南省科协第三届青年科技人才托举工程项目(2022-2024)

作者简介:杨妍(1999-),女,硕士研究生,研究方向:乳制品科学,E-mail:1365563405@qq.com

通讯作者:王雪峰(1986-),男,博士,副教授,研究方向:食品蛋白质资源利用与乳品科学方面的研究,E-mail:364135728@qq.com

total content of free fatty acids between the two types of processed cheese ($P>0.05$). The mass fraction of linoleic acid in the processed cheese prepared with milk-clotting enzyme from germinated moringa seed was 1.68%, which was significantly higher than that of the processed cheese prepared with calf rennet. This study showed that the milk-clotting enzyme from germinated moringa seed can replace calf rennet to a certain extent in the processing of fresh cheese, which provides an important reference value for the application of milk-clotting enzyme from germinated moringa seed in cheese processing.

Key words: Germinated *Moringa oleifera* seed; calfrennet; non-fermented cheese; functional characteristic; free fatty acids

凝乳酶 (Chymosin) 又名肾素, 最早的凝乳酶为发现于未断奶的犊牛第四胃黏膜中的小牛皱胃酶。小牛皱胃酶的生物学功能是酶解 κ - 酪蛋白释放酪蛋白巨肽, 酪蛋白巨肽发生聚合并借助乳中游离的钙离子, 使乳中的酪蛋白胶束发生改变促使牛乳凝固^[1]。在奶酪加工工艺中, 凝乳酶起着非常关键的作用, 它对奶酪的风味有很大的影响^[2]。凝乳酶来源广泛, 涵盖了动、植、微等各类, 然而, 在实际的商业运用上, 由于其独有的性能, 小牛皱胃酶的应用已经变得极为普遍^[3]。甘伯中等^[4]研究得出小牛皱胃酶的热稳定性较好, 在 40~55 °C 时酶活保持稳定; 姜锋等^[5]研究发现, Ca^{2+} 和 Fe^{2+} 离子的存在能够有效增强小牛皱胃酶的凝乳活力。现如今凝乳酶的需求量在不断增加, 因为人民生活水平的不断提高, 奶酪市场快速发展, 对奶酪的产量与质量提出了更高的要求, 从而促进了对凝乳酶的需求。然而, 在国内, 动物源凝乳酶的年产量却相当有限。当前的市场环境中, 小牛皱胃凝乳酶的产量显得尤为关键。据最新统计数据, 这种酶的实际生产量只能覆盖市场需求的大约 20% 到 30%。这一比例远远低于预期需求, 导致了供需之间的紧张关系愈发明显^[6]。动物源凝乳酶由于酶源不稳定、价格昂贵、且受种族、饮食 (素食)、宗教 (如犹太教、伊斯兰教) 的限制, 极大的阻碍了干酪行业的发展。鉴于干酪需求量的日益增长, 为了满足市场的旺盛需求, 我们迫切地需要寻找新的凝乳酶替代品。由于植物凝乳酶种类多, 成本低廉且来源广泛, 以及发展潜力巨大, 因此植物源凝乳酶成为国内外研究人员关注的热点。有研究成功地从洋蓟花、番木瓜、姜根茎中提取植物凝乳酶, 并且成功应用于奶酪的生产加工^[7]; 陶亮等^[8]研究得出, 贯筋藤蛋白酶具有凝乳作用并可应用于水牛乳饼加工; Mazorra-Manzano 等^[9]发现从猕猴桃中提取的凝乳酶在奶酪生产中的巨大应用潜力。对于非成熟型干酪, 具有较好 MCA/PA 比的植物源凝乳酶凝制作的干酪具有较好的品质特性, 但它们在工业规模上的产量仍然很低。建立能够商业

化生产的植物凝乳酶 (高活性比) 对于未来推进奶酪工业规模生产具有相当重要的意义^[10]。

干酪 (Cheese), 基本是以牛乳为原料经过凝乳酶的凝乳作用, 以及排除乳清后制成的新鲜或发酵成熟的食品^[11]。干酪被誉为理想的功能食品, 有人称之为“奶黄金”, 因为干酪能促进人体消化功能且营养价值高^[12]。干酪在成熟的过程中, 其蛋白质经过水解后会生成多种生物活性肽, 如降压肽、抗氧化肽、神经肽、抗增殖肽、抗菌肽^[13]等。凝乳酶是保证干酪质量的重要因素, 在干酪生产过程对其品质特性具有重要作用, 是奶酪生产过程中的核心酶类^[14]。目前, 凝乳酶的来源呈现多元化, 主要包括动物源、植物源、微生物源以及通过基因工程手段生产的凝乳酶。

辣木 (*Moringa oleifera*) 是生长于热带和亚热带多年生的热带落叶乔木^[15]。这种植物不仅具有药用价值, 还是一种营养丰富 (高蛋白质、高钙、高维生素) 的食材^[16], 实现了药食两用的完美结合。研究表明不同部位的辣木有不同的营养特点: 辣木籽中蛋白质和粗脂肪含量高, 其质量分数约为 37.8% 和 40.12%^[17,18]。本课题组的前期研究发现, 辣木籽粗提物中含有凝乳酶因其以脱脂乳作为底物时展现出了显著的凝乳活性, 并且已有其他研究从辣木籽中提取凝乳酶的报道^[19]。利用这种凝乳酶加工制成的干酪产品品质上乘, 深受好评。本课题组前期对辣木籽进行发芽处理, 实验得出发芽辣木籽中的蛋白酶活性整体提高, 特别是其蛋白酶的凝乳活性增加较为显著^[20]进一步对发芽辣木籽蛋白酶中的凝乳成分进行分离鉴定, 鉴定了其功能成分为半胱氨酸蛋白酶, 最适温度和 pH 值分别为 60 °C 和 4.0, 该蛋白酶因其耐酸耐高温等优点, 在乳制品中具有很大的应用前景^[21]。实验以市售小牛皱胃酶加工的干酪作为对照并从发芽辣木籽中提取凝乳酶成分, 将其应用于鲜食干酪的加工中并进行感官、营养成分、功能特性比较分析, 为发芽辣木籽凝乳酶在干酪中的应用奠定基础。

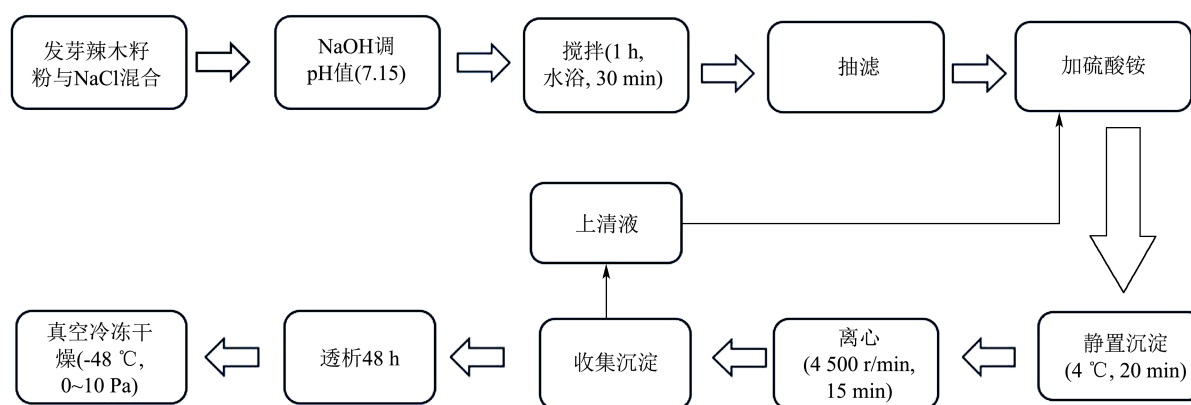


图1 发芽辣木籽凝乳酶的提取工艺

Fig.1 Extraction technology of germinated *Moringa oleifera* seed rennet

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 实验材料

辣木籽, 丽江喜马拉雅生物科技有限公司; 小牛皱胃酶, 购于 Clerici 凝乳酶进口于意大利科莱里奇公司。

1.1.2 主要试剂

甲醇, 赛默飞世尔科技有限公司; 溴甲酚绿, 天津市瑞金特化学品有限公司; 氢氧化钠、甲基红、硫酸铵、氯化钠以上试剂, 均采购于天津市风船化学试剂科技有限公司; 石油醚, 广东省精细化学品工程技术研究开发中心; 正己烷, 上海星可高纯溶剂有限公司; 硫酸铜, 天津市致远化学试剂有限公司; 柠檬酸, 深圳市富晟生物科技有限公司; 盐酸, 川东化工有限公司; 硫酸钾, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司; 五水合硫酸铜, 广东光华科技股份有限公司; 所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

EPED-ESL-10TH 超纯水机, 南京易普易达科技发展有限公司; HH-6 数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司; FW-200 高速万能粉碎机, 北京中兴伟业仪器有限公司; FD-1A-50 真空冷冻干燥机, 上海比朗仪器制造有限公司; DHG-9070A 电热鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; GNP-9160 隔水式恒温培养箱, 宁波江南仪器厂; L580R 高速冷冻离心机, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; 78-2JJ-1 磁力搅拌器, 常州澳华仪器有限公司; DHS-20A 卤素水分测定仪, 上海箐海仪器有限公司; GJB1000-60 均质

机, 常州市均质机械有限公司; TA.XTPlus 质构仪, 英国 Stable Micro System; HYP-308 消化炉, 上海纤检仪器有限公司; SHB-III A 循环水式真空泵, 北京中兴伟业仪器有限公司; SCQ-9201B 超声波提取仪, 上海声彦超声波仪器有限公司; SKD-100 全自动凯氏定氮仪, 上海沛欧分析仪器有限公司; SE206 脂肪测定仪, 阿尔瓦仪器。

1.3 实验方法

1.3.1 辣木籽发芽实验

首先选择外观性能优良的辣木籽放入发芽盘中并加适量的水浸泡 24 h。接着, 我们将辣木种子移至铺有滤纸的发芽盘中, 然后将发芽盘置于恒温培养器中, 该培养器的温度设定为 27 °C, 湿度要求大于 70%, 每日三次通风, 当辣木籽长出叶片 (1~2 cm) 时, 选择长势优良的发芽辣木籽放入 50 °C 的鼓风干燥箱, 使辣木籽的含水量质量分数降至 5% 以下。完成烘干后, 我们使用高速万能粉碎机辣木籽进行粉碎处理。最后, 将粉碎后的辣木籽置于 -40 °C 条件下保存, 以备后续使用。

1.3.2 发芽辣木籽凝乳酶的制备

将粉碎完全的发芽辣木籽粉按照 Wang 等^[22]实验得到的辣木籽凝乳酶提取流程进行发芽辣木籽凝乳酶的提取: 利用盐提结合硫酸铵分级沉淀法提取发芽辣木籽凝乳酶。将发芽辣木籽粉与一定摩尔浓度的 NaCl 溶液 (0.3 mol/L) 按照 1:10 的比例混合搅拌进行盐提, 缓慢加入硫酸铵至饱和度达到 40%~50%, 溶解完全后将其进行沉淀静置, 离心, 透析, 真空冷冻干燥, 于 -80 °C 下进行保存。发芽辣木籽凝乳酶具体的提取工艺流程如图 1。

1.3.3 鲜食干酪的制作

鲜食干酪的制作参照马苏里拉干酪的制作并进行相应改进^[23], 作过程如下: 对原料乳进行预处理, 65℃、18~20 MPa 的条件下进行均质, 71~73℃巴氏杀菌 15 s, 冷却至 38~42℃, 添加柠檬酸使 pH 值降至 5.1~5.2, 酸化 10 min; 酸化完成后加入凝乳酶, 搅拌均匀, 添加 CaCl₂ 协助凝乳, 凝乳时间 10 min; 将乳块均匀切割, 在乳清水中成熟; 采用物理挤压排出乳清水, 加入 2 wt.% 的盐水进行热烫拉伸 (85~90℃); 将制作好的干酪冷却至室温, 装入密封袋于 4℃ 冷藏。操作流程如图 2。

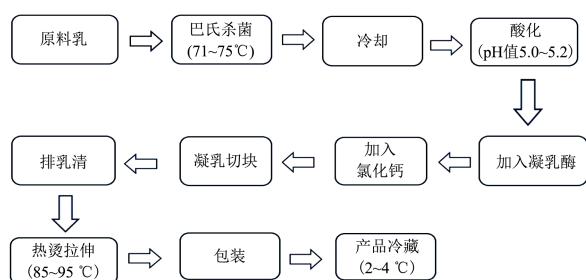


图 2 鲜食干酪的制作

Fig.2 Production of fresh cheese

1.3.4 干酪得率的计算

准确记录所使用的各原料质量以便计算干酪得率。根据赵赛楠等^[24]的方法进行干酪得率的计算:

$$R = \frac{m}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R——得率, %;

m——干酪的质量, g;

M——原料总质量, g。

1.3.5 感官评价

建立一个 10 人的感官评定小组, 表 1 为评分标准, 在室温条件下对制得的干酪进行感官评价。

1.3.6 干酪的常规理化指标测定

按照国标, 用直接干燥法、凯氏定氮法、索氏抽提法、总灰分测定法分别测定两种由不同凝乳酶加工而成的干酪的水分、蛋白质、脂肪以及灰分含量。

1.3.7 干酪热烫拉伸性能测定

采用传统的测定方法^[25]: 将干酪样品切成大小相近的形状后于室温下放置 30 min, 以适应周围环境的条件。将样品放入烘箱进行干燥处理 (100℃, 20 min) 后用玻璃棒进行拉伸性能测定。在拉伸过

程中, 密切关注并记录干酪的拉伸长度。最后, 使用尺子对拉伸长度进行精确测量, 并记录下每个样品的拉伸长度数据。

表 1 感官评定标准

Table 1 Sensory evaluation standards

指标	评分标准	分值/分
组织状态 (20分)	无弹性, 可塑性差, 质地不均匀, 外形不完整规则	0~7
	略有弹性, 有可塑性, 质地较为均匀, 外形较完整规则	8~13
	有弹性, 软硬适度, 质地均匀紧密, 外形规则完整	14~20
口感 (20分)	制品过硬或过软, 口感粗糙,	0~7
	制品较软或较硬, 口感较细嫩,	8~13
	制品软硬度适宜, 口感柔软细腻,	14~20
滋味 (20分)	苦涩, 酸味重	0~7
	滋味良好, 稍有酸涩味	8~13
	有干酪特有的滋味, 无酸涩味	14~20
色泽 (20分)	微黄色, 色泽不均匀, 无光泽	0~7
	乳白色, 色泽略差, 稍有光泽	8~13
	乳白色, 色泽均匀、有光泽	14~20
香气 (20分)	几乎无干酪醇香伴有杂质和异味	0~7
	奶香味较淡, 稍有杂质和异味, 无后香	8~13
	奶香味浓郁纯正, 留有后香,	14~20

1.3.8 干酪融化性和油脂析出性测定

使用 Schreiber 实验^[26]方法并进行改良, 在准备实验之前, 首先在干酪上选择一个直径为 17.6 mm×7 mm 的圆柱体作为样本, 并将样品室温下放置 30 min 后, 把样本放入烤箱中 (100℃, 1 h) 在室温条件下将样品继续静置 30 min。接下来, 使用量规测量干酪的直径, 该直径值代表了干酪的溶解能力。此外, 还需测量滤纸上覆盖的干酪下方油环的直径, 这一指标反映了油脂的析出情况。为了保证测量的准确性, 以 0.01 mm 的精度进行测量, 并且对两个样本进行多次重复测试, 最终取其平均值以获取更准确的结果。通过这样的方法, 可以有效评估干酪的融化性和油脂含量。

1.3.9 干酪色差测定

利用分光色差计测得两种酶所制定的干酪样品的色差。通过综合考虑白度 (L^*)、红度 (a^*)、黄度 (b^*) 值, 计算出总色差 (ΔE), $\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$, 全方位体现两种凝乳酶加工干酪表面色度或内部构造的误差, 进而更确切地对

比两种干酪间的色度偏差,有利于找到色差的缘由,制订科学合理的可接纳误差范畴^[27]。

1.3.10 游离脂肪酸含量测定

用气相色谱仪结合乙酰氯-甲醇甲酯化技术,对干酪中的游离脂肪酸进行分离与检测。首先,加入 3 mL 正己烷和 0.8 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶并称取干酪样品 0.3 g 进行甲酯化。在超声波水浴中充分混合 1 h 后,在室温下静置 30 min 后进行离心(3 000 r/min, 10 min)后用微滤膜过滤以进一步净化。最后,使用气相色谱仪来测定脂肪酸的含量^[28]。参考王红燕^[29]的方法,对样品进行预处理,使用面积归一化法测定游离脂肪酸的种类和含量。

1.3.11 数据处理

收集整理实验数据用 Excel 2019 软件、统计分析用 SPSS 25、作图用 Origin 2019。并且所有实验重复三次。

2 结果与分析

2.1 两种凝乳酶加工的干酪得率分析

对两种凝乳酶加工的干酪得率进行测定,结果如表 2 所示。

表 2 两种凝乳酶加工干酪得率

Table 2 Yield of cheese prepared by two kinds of rennet

凝乳酶类型	原料/g	干酪/g	得率/%
发芽辣木籽凝乳酶	500	60.78 ± 2.56 ^a	12.15 ± 0.51 ^a
小牛皱胃酶	500	62.88 ± 3.68 ^a	12.58 ± 0.73 ^a

注:表中同一列字母不同表示差异显著 $P < 0.05$ 。

以 500 g 黑白花牛奶为原料,分别加入两种凝乳酶,经过最适工艺加工制作成干酪,由表 2 可知,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的得率为 12.15%,小牛皱胃酶加工干酪的得率为 12.58%,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的得率与小牛皱胃酶加工干酪无显著差异 ($P > 0.05$),小牛皱胃酶所制得的干酪得率略高于发芽辣木籽凝乳酶加工干酪,造成这一现象的原因可能在于相比于小牛皱胃酶干酪,发芽辣木籽凝乳酶的凝乳速度相对较慢从而导致所形成的乳凝块质地不够坚硬,有研究表明在排出乳清时,质地不够坚硬比较松软的乳凝块会造成较大的损失,因为在凝乳切割过程中松软的乳凝块更容易发生破裂^[29]。赵秀玲^[30]研究了不同凝乳酶在干酪中的应用,结果表明,无花果蛋白酶和木瓜蛋白酶这两种植物

凝乳酶的得率最低,分别为 9.24% 和 9.20%,均低于发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的得率。

2.2 两种凝乳酶加工干酪感官评价结果分析

两种凝乳酶加工干酪分别经过感官评价小组的评分数据统计,结果见图 3。感官评价得分的平均值分别为:发芽辣木籽酶加工干酪为 78.24 分,小牛皱胃酶加工干酪 80.56 分。发芽辣木籽凝乳酶加工干酪有弹性,软硬适度,质地均匀紧密,外形规则完整,口感柔软细腻,有干酪特有的滋味,无酸涩味,乳白色,色泽均匀、有光泽。

由图 3 可知,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪在色泽分数上略高于小牛皱胃酶加工干酪,小牛皱胃酶加工干酪在香气和口感方面的分数要略高于发芽辣木籽凝乳酶加工干酪,但在滋味和组织状态上两者并无显著差异。干酪感官评价结果表明:在非发酵型干酪的制作中,发芽辣木籽凝乳酶可在一定程度上替代小牛皱胃酶。

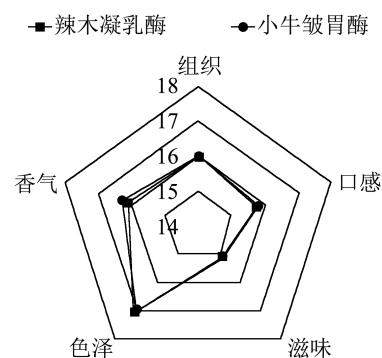


图 3 两种凝乳酶加工干酪的感官评分雷达图

Fig.3 Sensory score radar chart of cheese processed by twokinds of rennet

2.3 两种凝乳酶加工干酪的理化指标结果分析

对两种凝乳酶加工干酪的水分、脂肪、蛋白质含量、灰分的测定结果见表 3。

表 3 两种凝乳酶加工干酪的理化指标 (%)

Table 3 Physicochemical indexes of cheese processed by two rennets

理化指标	小牛皱胃酶加工干酪	发芽辣木籽凝乳酶加工干酪
水分	42.45 ± 0.52 ^a	43.14 ± 0.61 ^a
脂肪	19.79 ± 1.15 ^a	17.71 ± 0.73 ^b
蛋白质	29.92 ± 0.31 ^a	28.14 ± 0.12 ^a
灰分	1.40 ± 0.13 ^a	1.10 ± 0.05 ^a

注:表中同一列字母不同表示差异显著 $P < 0.05$ 。

两种凝乳酶加工干酪的理化指标如表3所示,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的蛋白质含量的质量分数(28.14%)和脂肪含量的质量分数(17.71%)较高,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪相比小牛皱胃酶加工干酪在水分、蛋白质、灰分的含量无显著差异($P>0.05$),脂肪含量显著低于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$),有研究表明,凝乳酶在加热条件下对酪蛋白质的强水解作用,使得蛋白胶束间之间的脂肪更容易被释放出来^[29],因此发芽辣木籽凝乳酶加工干酪相比小牛皱胃酶加工干酪脂肪含量显著低于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$),其原因可能是发芽辣木籽凝乳酶在干酪制作过程中展现出对酪蛋白的强分解能力。

前期本课题组的杨果果等^[31]研究了两种凝乳酶在非发酵干酪中的应用,结果表明辣木籽凝乳酶加工干酪的蛋白质和脂肪的质量分数分别为29.34%和16.71%,与小牛皱胃酶加工干酪在水分含量无显著差异($P>0.05$),且其脂肪含量显著低于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$),其实验结果与本实验结果相似。由此可知,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的基础理化指标与小牛皱胃酶加工干酪以及与辣木籽凝乳酶加工干酪较相似,表明发芽辣木籽凝乳酶加工干酪在营养价值上等同于小牛皱胃酶加工干酪,发芽辣木籽凝乳酶具备较好的开发利用价值。

2.4 两种凝乳酶加工干酪融化性、油脂析出性、拉伸性能分析

对两种凝乳酶加工干酪的功能特性的测定结果见表4。

表4 两种凝乳酶加工干酪的功能特性

干酪类型	融化性/mm	油脂析出性/mm	拉伸性能/cm
发芽辣木籽凝乳酶加工干酪	14.50 ± 0.12 ^a	16.33 ± 0.21 ^a	30.40 ± 1.21 ^a
小牛皱胃酶加工干酪	17.06 ± 0.13 ^b	17.93 ± 0.16 ^a	27.06 ± 0.28 ^b

注:表中同一列字母不同表示差异显著 $P<0.05$ 。

融化性是融化后与融化前奶酪高度的比值,其数值越低说明融化性越好^[32]。从表4可以得出,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的融化性为14.50 mm,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的融化性显著优于小牛皱胃酶加工干酪的融化性($P<0.05$)。

干酪样品的油脂析出性、融化性会随着脂肪含量的降低而相应降低^[33]。发芽辣木籽凝乳酶加工干酪与小牛皱胃酶加工干酪的油脂析出性没有显著性差异($P>0.05$)。干酪融化性、油脂析出性会随着脂肪含量减少而随之降低^[34]。发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的融化性、油脂析出性低于小牛皱胃酶加工干酪,这可能与其水解蛋白质后蛋白质网络结构发生变化,部分脂肪损失有关^[35]。

发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的拉伸长度为30.40 cm,小牛皱胃酶加工的干酪拉伸长度为27.06 cm,相同工艺条件下发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的拉伸长度显著优于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$)。前期杨果果等^[31]研究表明辣木籽凝乳酶加工干酪的拉伸长度为15.95 cm,低于发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的拉伸长度。

综上所述,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的融化性和拉伸性能显著优于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$),其油脂析出性无显著差异($P>0.05$),发芽辣木籽凝乳酶在干酪中的应用具有较大的潜在应用价值。

2.5 两种凝乳酶加工干酪色差分析

两种凝乳酶加工干酪的色差对比结果见表5。 L^* 值为明度指数(L^* 值越小,色泽越暗淡; L^* 值越大,色泽更为优美); a^* 值为红度值, (a^* 值 >0 时,样品趋近于红色; a^* 值 <0 ,颜色趋近于绿色); b^* 值为黄度值(b^* 值 >0 ,样品趋近于黄色; b^* 值 <0 ,样品趋近于蓝色)^[36]。

从表5可以看出,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的 L^* 值和 b^* 值显著高于小牛皱胃酶加工干酪($P<0.05$),两种干酪的 a^* 值和 ΔE 值无显著差异。 L^* 值与干酪的白度存在显著正相关^[37],发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的 L^* 值(80.86)大于小牛皱胃酶加工干酪的 L^* 值(73.08),本实验中发芽辣木籽凝乳酶加工干酪色泽明亮白皙,具有诱人的商品色泽。干酪泛红不受消费者欢迎,2种不同凝乳酶加工的干酪 a^* 值均较低。发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的 b^* 值(14.98)显著高于小牛皱胃酶加工干酪的 b^* 值(12.65),所以发芽辣木籽凝乳酶加工干酪颜色偏黄,其会给消费者营养较丰富的感觉,此结果与陶亮等^[38]的研究结果相似,有利于干酪消费。综上所述,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪与小牛皱胃酶加工干酪相比其色泽更偏白皙和偏黄,但其总色差无显著性差异。

表 5 两种凝乳酶加工干酪的色差对比

Table 5 Comparison of color difference of cheese processed by two rennets

干酪类型	L* 值	a* 值	b* 值	ΔE
发芽辣木籽酶加工干酪	80.86 ± 2.14 ^a	-0.66 ± 0.14 ^a	14.98 ± 2.35 ^a	13.24 ^a
小牛皱胃酶加工干酪	73.08 ± 2.68 ^b	-0.67 ± 0.05 ^a	12.65 ± 1.73 ^b	12.96 ^a

注: 表中同一列字母不同表示差异显著 P<0.05。

2.6 两种凝乳酶加工干酪的游离脂肪酸结果分析

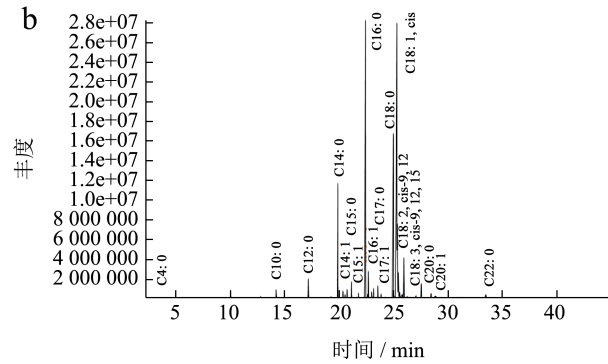
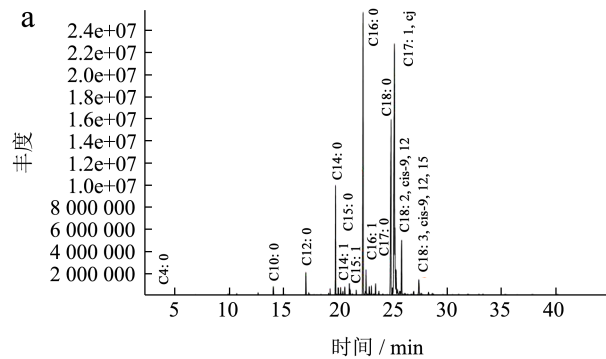


图 4 游离脂肪酸色谱图

Fig.4 Chromatogram of free fatty acids

注: a 为发芽辣木籽凝乳酶加工干酪, b 为小牛皱胃酶加工干酪。

游离脂肪酸是奶酪风味物质的重要组成成分, 在干酪中, 游离脂肪酸是奶酪风味形成的先决条件^[39]。通过测定发芽辣木籽凝乳酶加工干酪和小牛凝乳酶加工干酪中的游离脂肪酸可客观全面的呈现出其中的呈味物质和组成成分。游离脂肪酸色谱图如图 4, 脂肪酸含量及种类结果如表 6 所示。

表 6 不同凝乳酶加工干酪的游离脂肪酸

Table 6 Free fatty acids of cheese processed by different rennets

序号	游离脂肪酸 (FAA)	发芽辣木籽凝乳酶加工干酪/%	小牛皱胃酶加工干酪/%	
1	SCFA (短链脂肪酸) 丁酸 (C4:0) *	0.03 ± 0.002 ^a	0.04 ± 0.008 ^a	
2	MCFA (中链脂肪酸)	癸酸 (羊蜡酸、发酸) (C10:0) *	0.10 ± 0.006 ^a	
3		月桂酸 (C12:0) *	0.24 ± 0.011 ^a	
4		肉豆蔻酸 (C14:0) *	1.57 ± 0.032 ^a	
5	肉豆蔻酸烯酸 (C14:1) **	0.88 ± 0.002 ^a	0.12 ± 0.012 ^b	
6	十五烷酸 (C15:0) *	0.27 ± 0.006 ^a	0.34 ± 0.013 ^a	
7	十五碳烯酸 (C15:1) **	0.35 ± 0.006 ^b	0.45 ± 0.012 ^a	
8	棕榈酸 (C16:0) *	3.86 ± 0.041 ^a	4.71 ± 0.019 ^a	
9	棕榈油烯酸 (C16:1) **	0.52 ± 0.016 ^a	0.68 ± 0.022 ^a	
10	LCFA (长链脂肪酸)	珍珠酸 (C17:0) *	0.18 ± 0.005 ^b	
11		银杏酸 (C17:1) **	/	0.08 ± 0.001
12		硬脂酸 (C18:0) *	4.26 ± 0.050 ^a	5.27 ± 0.093 ^a
13		油酸 (C18:1) **	4.69 ± 0.066 ^b	6.19 ± 0.131 ^a
14		亚油酸 (C18:2) ***	1.68 ± 0.024 ^a	1.32 ± 0.025 ^b
15		顺 9 十八碳三烯酸 (C18:3, cis-9,12,15) ***	0.05 ± 0.002 ^a	0.015 ± 0.003 ^a
16		花生酸 (C20:0) *	/	0.05 ± 0.003
17		花生烯酸 (C20:1) **	/	0.04 ± 0.001
18	山酸 (C22:0) *	/	0.05 ± 0.003	
TFFA (总游离脂肪酸)		18.69 ± 0.253 ^a	21.85 ± 0.482 ^a	

注: * 为饱和脂肪酸, ** 为单不饱和脂肪酸, *** 为多不饱和脂肪酸, 表中同一列字母不同表示差异显著 (P<0.05)。

两种凝乳酶加工干酪的游离脂肪酸测定结果见表6。由表6可知,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪共检测出14种游离脂肪酸,小牛皱胃凝乳酶加工干酪共检测出18种游离脂肪酸。发芽辣木籽凝乳酶加工干酪总游离氨基酸(Total Free Amino Acid, TFFA)含量的质量分数为18.69%,小牛皱胃酶加工干酪TFFA含量的质量分数为21.85%,两种凝乳酶制作的干酪在总游离氨基酸(TFFA)含量上并无显著差异($P < 0.05$)。游离脂肪酸在不同链长的分类下,长链脂肪酸的含量最高,中链脂肪酸次之,短链脂肪酸含量最低。其中发芽辣木籽凝乳酶加工干酪组分中的肉豆蔻酸烯酸(C14:1)、亚油酸(C18:2)显著高于小牛皱胃酶加工干酪组,其中亚油酸是人体不能体内自己合成需要从外获得摄取的必需脂肪酸^[40]。

发芽辣木籽凝乳酶加工干酪和小牛皱胃酶加工干酪中饱和脂肪酸含量>单不饱和脂肪酸含量>多不饱和脂肪酸含量。不饱和脂肪酸是一种重要的人体必需氨基酸,它能保证细胞的正常生理活动、降低血中胆固醇、改善血液循环等^[41]。检测出的多不饱和脂肪酸中,以亚油酸为最高,且发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的亚油酸含量的质量分数(1.68%)显著高于小牛皱胃酶加工干酪的亚油酸含量的质量分数(1.32%),其含量越高说明产品营养品质越好^[42]。在单不饱和脂肪酸中,油酸的含量占据主导地位^[43,44],而在饱和脂肪酸中,棕榈酸和硬脂酸的含量相对较高。有研究表明棕榈酸和油酸含量较高时有利于风味的形成,二者的含量对干酪风味有较大影响^[45,46]。不仅如此,油酸对降胆固醇、降血糖、调节血脂有明显促进作用^[47]。棕榈酸在不过量摄入的情况下,作为天然饱和脂肪酸也能为机体提供能量^[48]。综上所述,发芽辣木籽凝乳酶在提升干酪营养价值和优化风味方面具有一定的潜力。

3 结论

通过对发芽辣木籽凝乳酶加工干酪和小牛皱胃酶加工干酪的感官、营养成分、功能特性、色差、游离脂肪酸等指标进行比较分析。两者所加工干酪在感官、得率、蛋白含量、总色差和水分含量上无显著差异,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪融化性和拉伸长度显著优于小牛皱胃酶加工干酪。发芽辣木籽凝乳酶加工干酪的 L^* 值和 b^* 值显著高于小牛皱胃酶加工干酪,发芽辣木籽凝乳酶加工干酪与小牛皱胃酶加工干酪相比其色泽更偏白皙和偏黄。发芽辣

木籽凝乳酶加工干酪检测出14种游离脂肪酸,亚油酸含量显著高于小牛皱胃酶加工干酪。发芽辣木籽凝乳酶在干酪的功能特性、营养价值和风味方面有一定的改善作用,该研究表明发芽辣木籽凝乳酶在一定程度上可替代小牛皱胃酶应用于鲜食干酪的加工制作,为发芽辣木籽凝乳酶在鲜食干酪中的应用提供一定的科学依据。

参考文献

- [1] 刘显庭,张昊,郭慧媛,等.凝乳酶在干酪生产中的应用[J].中国乳业,2013,133(1):54-57.
- [2] LIBURDI K, SPINELLI S E, BENUCCI I, et al. A preliminary study of continuous milk coagulation using *Cynara cardunculus* flower extract and calf rennet immobilized on magnetic particles [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 157-164.
- [3] 刘佟,崔艳华,张兰威,等.凝乳酶的研究进展[J].中国乳品工业,2011,39(8):40-43.
- [4] 甘伯中,纪银莉,丁福军.苜蓿巴小牛皱胃酶的制备及其部分性质的探讨[J].中国乳品工业,2007,12:13-15,41.
- [5] 姜峰,张兰威.我国凝乳酶特性及其替代品的研究现状[J].食品研究与开发,2003,6:3-6.
- [6] JACOB M, JAROS D, ROHM H. Recent advances in milk clotting enzymes [J]. International Journal of Dairy Technology, 2010, 64(1): 14-33.
- [7] LOPIERO A R, PUGLISI I, PETRONE G. Characterization of the purified actinidin as a plant coagulant of bovine milk [J]. European Food Research and Technology, 2011, 233(3): 517-524.
- [8] 陶亮,苏科巧,殷秋兰,等.一种贯筋藤凝乳剂加工的水牛奶乳饼[J].中国乳品工业,2015,43(10):22-26.
- [9] MAZORRA-MANZANO A M, PEREA-GUTIERREZ C T, LUGO-SANCHEZ E M, et al. Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts [J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 1902-1907.
- [10] BENAMIRA A, BESBESS, ATTIA H, et al. Milk-clotting properties of plant rennets and their enzymatic, rheological, and sensory role in cheese making: A review [J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20: S76-S93.
- [11] 司阔林,闫清泉,吴政,等.干酪中生物活性化合物的产生及生理功能的研究进展[J].食品工业,2022,43(10):244-249.
- [12] 崔旭海.姜汁豆奶干酪成熟特性和功能性变化的研究[J].中国乳业,2009,2:48-52.
- [13] 焦品凯,刘振民,苏米亚,等.干酪中的生物活性肽及其作用[J].中国乳品工业,2019,47(4):41-46.
- [14] 厄尔利.乳制品生产技术[M].北京:中国轻工业出版社,2002.

- [15] 鲁志成,梁少华,马传国.影响油脂脱臭效果因素的分析与探讨[J].中国油脂,2003,11:22-25.
- [16] 张能荣.辣木的成分和药理[J].办公自动化,2018,23(2):17-21,55.
- [17] 张邦.发酵构树饲料对肉兔生产性能、血液指标和肠道健康的影响[D].洛阳:河南科技大学,2022.
- [18] 朱艳琴.基于代谢组学及转录组学对不同生境的辣木叶化学多样性研究[D].昆明:昆明理工大学,2021.
- [19] TAJALSIR A E, EBRAHEEM A S A, ABDALLAH A M, et al. Partial purification of milk -clotting enzyme from the seeds of *Moringa oleifera* [J]. Microbiol Biotechnol Food Sci, 2014, 4(1): 58-62.
- [20] WANG X F, HE L, ZHAO Q, et al. Protein function analysis of germinated *Moringa oleifera* seeds, and purification and characterization of their milk-clotting peptidase [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 171: 539-549.
- [21] WANG X F, SHI Y N, CHEN Y, et al. Comparative proteome analysis of matured dry and germinating *Moringa oleifera* seeds provides insights into protease activity during germination [J]. Food Research International, 2020, 136: 109332-109332.
- [22] WANG X F, ZHAO QHE L, et al. Milk-clotting properties on bovine caseins of a novel cysteine peptidase from germinated *Moringa oleifera* seeds [J]. Journal of Dairy Science, 2022, 105(5): 3770-3781.
- [23] 张建强.酸化剂对LMPS-Mozzarella干酪品质的影响及其工艺优化[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2009.
- [24] 赵赛楠,李佳栋,齐国俊,等.牛羊乳的比例对Halloumi干酪得率及品质的影响[J].食品研究与开发,2019,40(18):12-17.
- [25] 王崧瑀.山药淀粉作为乳化盐在再制干酪中的应用[D].天津:天津科技大学,2018.
- [26] 李开鑫,纪晓宇,王芳.天然Mozzarella干酪和再制Mozzarella干酪理化特性和功能特性的比较[J].食品科学,2018,39(13):55-60.
- [27] 徐吉祥,楚炎沛.色差计在食品品质评价中的应用[J].现代面粉工业,2010,3:3.
- [28] 于华宁,吴申懋,杭锋,等.市售进口Camembert干酪的游离脂肪酸和挥发性风味物质对比研究[J].乳业科学与技术,2017,40(5):16-22.
- [29] 王红燕.贯筋藤蛋白酶对水牛奶Mozzarella干酪品质的影响[D].昆明:云南农业大学,2016.
- [30] 赵秀玲.不同种凝乳酶在牛奶干酪生产中应用效果的研究[J].中国乳品工业,2009,37(4):24-28.
- [31] 杨果果,钟玉旺,李天强,等.两种凝乳酶加工的非发酵型干酪品质特性比较分析[J].食品与发酵工业,2024,50(14):151-160.
- [32] 姚凯勇,陈诚,刘晨星.发酵黄酒糟饲喂奶牛对马苏里拉奶酪品质的影响[J].中国奶牛,2023,3:1-6.
- [33] 唐辉.水牛乳Mozzarella干酪的工艺探索与品质分析[D].南宁:广西大学,2009.
- [34] 李红娟,王祎,刘燕,等.热烫拉伸融化过程对Mozzarella干酪品质、分子间作用力及微观结构的影响[J].食品科学,2020,41(3):30-36.
- [35] JOHNSONME, CHENCM, JAEGGI J J. Effect of rennet coagulation time on composition, yield, and quality of reduced-fat cheddar cheese [J]. Journal of Dairy Science, 2001, 84(5): 1027-103
- [36] SHIH M C, KUO C C, CHIANG W C. Effects of drying and extrusion on color, chemical composition, antioxidant activities and mitogenic response of spleen lymphocytes of sweet potatoes [J]. Food Chemistry, 2009, 117(1): 114-121.
- [37] 陶亮,苏科巧,杨丽婷,等.即食火夹乳饼产品开发及其质量研究[J].中国乳品工业,2015,43(3):25-28,61.
- [38] 陶亮,潘新杰,林竟,等.牛奶乳饼加工工艺优化及其营养成分分析[J].食品科学,2017,38(6):221-228.
- [39] 李丹阳.*Streptococcus thermophilus* S10发酵不同基料代谢组学的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2020.
- [40] 刘秋雷,杨燎,刘硕,等.多不饱和脂肪酸代谢与动脉粥样硬化的关系[J].中国动脉硬化杂志,2023,31(10):891-900.
- [41] 范淑玲,王美英.GC-MS法分析成熟切达干酪游离脂肪酸组分及含量[J].食品研究与开发,2008,5:122-123.
- [42] GURR M. Biological properties of some cow's milk fat components [J]. Li Piol Technol, 1997, 9(3): 70-73.
- [43] 李宇辉,王俊钢,刘成江,等.产脂肪酶乳酸菌对新疆传统奶酪脂肪酸及风味的影响[J].农业工程报,2022,38(6):319-329.
- [44] 肖梦林,宋金鞠,魏光强,等.牦牛奶Mozzarella奶酪的工艺及品质研究[J].中国乳品工业,2022,50(2):25-30.
- [45] ATTAIE R, RICHTERR L. Formation of volatile free fatty acids during ripening of Cheddar-like hard goat cheese [J]. Journal of Dairy Science, 1996,79(5): 717-724
- [46] WIJESUNDERA C, DRURY L, MUTHUKU-MARAPPAN K, et al. Flavour development and the distribution of fat globule size and shape in Cheddar-type cheese made from skim milk homogenized with AMF or its fraction [J]. Australian Journal of Dairy Technology, 1998, 53(2): 101-107.
- [47] 艾对,张富新,李延华,等.顶空固相微萃取-气质联用法分析羊乳和牛乳中挥发性化合物[J].食品与发酵工业,2014,40(10):189-193.
- [48] 徐冉.如何挑选食用油[J].双足与保健,2016,5:42-44.