

现代物理化学实验方法 在混合乳干酪品质分析上的应用

林金资 陈 峰 无锡轻工业学院食品科学与工程系 214036

摘 要 对部分豆乳替代牛乳的混合乳干酪进行了微观显微结构和宏观质构分析,并由此分析了影响混合乳干酪品质的因素。扫描电子显微镜显示的两种干酪的照片表明,纯牛乳干酪具有纤细、致密的网状结构,而混合乳干酪的显微结构较为疏松,包含大小不一的空穴,加热变性后的大豆球蛋白粘附于纤维状酪蛋白分子束结构上。此外,差热扫描分析仪对皱胃酶的热分析表明,粗制皱胃酶的热变性温度约在 95℃ 左右。酶的热变性-失活实验表明,皱胃酶含耐热和不耐热两部分,在 81℃ 时,其失活速度分别是 $6.33 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 和 1.6675 s^{-1} 。

关键词 物化方法 干酪 品质分析

1 材料和方法

1.1 原料

新鲜牛乳(由无锡市乳品厂提供)

脱皮大豆粉和高温变性大豆粉(张家港儿童食品厂提供)

皱胃酶(自制)

1.2 菌种 复合发酵剂 WXS1-3(无锡轻工业学院食工系)

1.3 主要仪器和设备

ZF60 型自分离磨浆机

15MR-8TBA 15 型均质机

ISI-SX-40 型扫描电子显微镜

Vitris Consol 24 型冷冻干燥机

Perkin Elmer DSC7 型差热扫描分析仪

材料试验仪(LLOYD Material Test Machine)

1.4 方法

1. 皱胃酶的制备:粗制皱胃酶^[1]经透析袋反复多次滤去 CaCl_2 后,冷冻干燥得絮状粉末皱胃酶,密封冷藏备用。

2. 混合乳干酪的制备:将分别测好可溶性固形物含量的牛乳和豆奶按不同比例的固形物含量配比混合,均质。混合乳干酪制作工艺同切达干酪^[2]。

3. 质构测试:本实验使用材料质构仪进行混合乳干酪质构分析(简称 TPA Texture Profile Analysis)。压缩探头的直径为 1.13 cm,压缩、拉伸速度为 20 mm/min,压缩深度为 1.0 cm(变形率为 50%),满程载头压力为 50 N,操作温度为 20℃,样品为 $2.0 \times 2.0 \times 2.0 \text{ cm}^3$ 。对混合乳凝乳的质构测试部分操作条件改动如下:拉伸速度 50 mm/min,压缩深度 2.2 cm(变形率 70%),满程载头为 1 N。

4. 扫描电子显微镜的操作条件及样品制备:所有进行电子扫描摄影(简称 SEM Scanning Electron Microscopy)的样品均需经切片,戊二醛固定,有机溶剂脱水、脱脂肪后进行冷冻干燥,然后样品喷涂金属薄膜。操作参数为 15 kV 电压,放大 480 倍,扫描电子显微摄影(SEM)与透射电子显微摄影(TEM Transmission Electron Microscopy)相比,具有样品制备简单、迅捷的特点,同时它具有较深的焦距,能提供表面清晰的三维图,是研究微观结构的有效方法。

5. 温度-酶活力试验:将一定量的酶溶液置于一定温度下(如 81℃)分别间隔一段时间取出一部分酶液,于 30℃ 下保温 30 min,然后

测酶活力单位。

2 结果和讨论

2.1 皱胃酶性质研究及其对凝乳的影响

在目前干酪生产工艺中,小牛皱胃酶仍被认为是一种重要和标准的凝乳酶。与其他皱胃酶代用品,如:猪胃蛋白酶、无花果蛋白酶、微小毛霉蛋白裂解酶等相比,前者在干酪得率,干酪的风味上仍具有一定的优势。对皱胃酶性质的专题研究和综述是相当多的,如 CaCl_2 、温度、pH 值对皱胃酶的影响,及酶的凝乳效果和降解酪蛋白的作用等。表 1 和表 2 分别列出 CaCl_2 和 pH 值对酶活力的影响。

表 1 CaCl_2 浓度对酶活力的影响

$\text{CaCl}_2\%$	0.03	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12
相对活力%	22.8	35.5	44.2	60.7	73.3	100

注: pH=6.52 T=38.5℃

表 2 pH 值对酶活力的影响

pH 值	6.5	6.4	6.3	6.2	6.1	6.0	5.9	5.8
相对活力%	34.0	53.0	67.1	70.8	81.1	77.9	99.1	100

注: $\text{CaCl}_2=0.08\%$ T=39℃

另外,一般认为,皱胃酶的凝乳速度在 41℃ 左右时是最高的,在超过 50℃ 时则活力单位大大降低。为此我们测定了温度对皱胃酶失活的影响,如下表 3,图 1。

表 3 81℃ 下加热时间与酶相对活力

时间(s)	0	20	40	60	110	180
相对活力%	100	66.7	33.3	25	22.2	17.4

表 1 和表 2 表明,增加 CaCl_2 和 H^+ 浓度能提高凝乳活力。这种现象根据 DLVO 理论可以解释为:由于正离子加入,削弱了双电层的厚度,降低了负电位,促进凝乳过程。另一种可能是正离子影响了 Phe-met 肽键周围的正电荷,改变 K-酪蛋白的构型,使之有利于皱胃酶的作用,加快凝乳过程。

从表 3、图 1 中看出,粗制皱胃酶(至少含有两种组分)的热失活是一个双相过程,即皱胃酶中含有不同的耐热部分,其中不耐热的

部分在同样温度下失活较快,其速度常数是 -1.6675 S^{-1} ,而耐热部分在同样温度下缓慢失活。其速度常数是 $-6.33 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$,实验同时表明,在 81℃ 加热 300 s 后,皱胃酶不再具有再生活力。在 81℃ 时,耐热部分约占酶总活力的 29%,不过需要指出的是,加热的温度、加热时间和加热方式均会影响酶的双相特性。

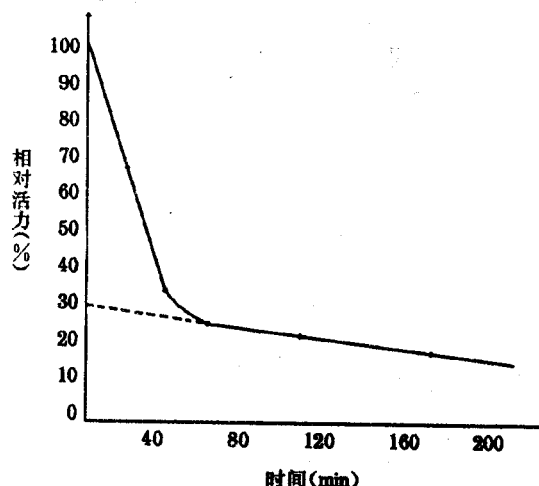


图 1 在 81℃ 下皱胃酶失活程度与时间的关系

差热扫描热分析(简称 DSC Differential Scanning Calorimeter)对于研究球状蛋白的热变性温度非常有效。从图 2 看出,在 90~101℃ 之间,有两种蛋白的热变性峰值,分别在约 95℃ 和 100℃,这表明皱胃酶中至少含有两种蛋白,而其中一种较为耐热。在另一项凝胶电泳实验中,我们只看到一条谱带。由此可见,差热扫描热分析对估计蛋白质的纯度也有一定作用。

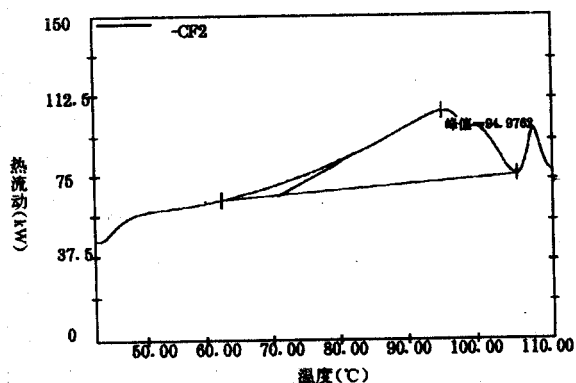


图 2 皱胃酶 DSC 图

2.2 混合乳中不同大豆蛋白及其不同含量对凝胶强度的影响

影响混合乳凝胶强度的因素不仅有大豆球蛋白的含量,其是否变性的状态也可以影响凝胶强度。实验结果如表 4。

表 4 不同豆乳含量及不同性质的大豆球蛋白对混合乳凝胶强度的影响

豆乳添加量%	0	10	15	18	20	25	30 以上
$\Delta F_m \times 10^{-2}$ (N) ^a	22.50	10.56	10.72	10.69	9.00	5.83	不凝
$\Delta F_m \times 10^{-2}$ (N) ^b	28.99	10.90	7.63	6.10	4.58	4.75	不凝

a: 添加未变性大豆球蛋白

b: 添加高温变性大豆球蛋白

从表 4 可以看出: 添加部分豆乳会对凝胶强度产生很大影响, 强度将大大削弱。这种趋势在豆乳添加到 20% 后变慢, 到 30% 以后产生不凝的现象, 很可能是此时有足够的球蛋白吸附在变性酪蛋白胶束周围, 产生了“空间障碍”。另外, 变性后的大豆球蛋白结构伸展, “覆盖”的面积大大增加, 因而“空间障碍”作用比未变性的大豆球蛋白大, 因此, 前者影响酪蛋白网络的形成比后者强, 导致混合乳凝胶强度下降更快。

2.3 显微结构分析

图 3 表明, 纯牛奶干酪具有纤细, 致密的网状结构。这是由于 K-酪蛋白在受到皱胃酶的裂解作用而失去保护酪蛋白胶束后, 胶束内部的 α -酪蛋白、 β -酪蛋白由于“钙桥”作用而形成的均一的“纤维元”的结果。显然, 具有很大键能的离子键的交联作用是主要的, 因而, 蛋白质分子间能排列得紧密, 分子空穴均一。在宏观上反映为与混合乳干酪相比具有较大的硬度(见表 4)。图 4 表明, 在添加大豆蛋白后, 干酪失去了纤细、紧密的结构, 出现一种粗糙, 有不均匀空穴的网状结构。同时发现, 大小不等的大豆球蛋白之间的作用, 其机理既不同于纯酪蛋白分子间的作用, 也区别于大豆蛋白质在酸凝聚或钙凝结时的作用机制, 可能是疏水键和范德华力

共同作用的结果。K-酪蛋白水解后, 胶束表面电荷减少, 其内部疏水键暴露, 与热变性后的大豆球蛋白所伸展开的疏水部分结合, 形成疏水区域; 同时, 部分未与水结合的极性基团或非极性基团间也可能存在的范德华力, 但是这两种力较离子键键能都是比较小的, 因而大豆球蛋白不能稳定地与酪蛋白结合。另外, 两种结构不一的蛋白质所形成的空间位阻现象也不容忽视, 这可能是产生大小空穴的主要原因。分子间较弱的力容易受外力的影响, 宏观上表现为硬度下降。但是, 对这一假设我们尚缺乏直接有力的证据。

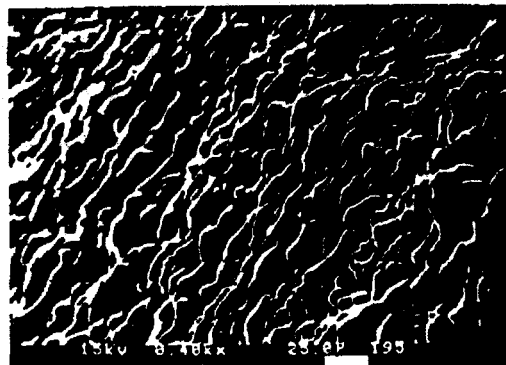


图 3 纯牛乳干酪显微结构

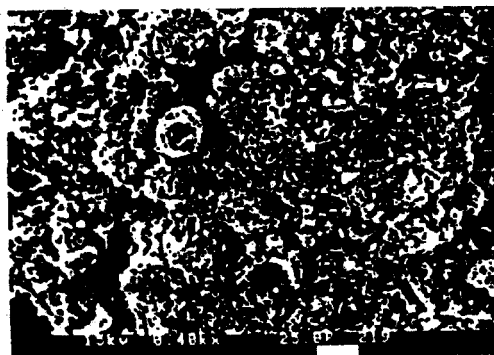


图 4 混合乳干酪显微结构

2.4 质构分析

根据 Bourne 对物质质构参数的定义^[3], 目前已有比较有效的方法来客观评价产品的品质。实验表明, 从质构参数所获得的结果与感官评定的结果具有相似性。表 4 表明, 混合乳干酪的硬度与蛋白质、脂肪、水分的关系, 其值低于纯牛乳干酪, 这与我们通过电镜所得到的解释是一致的。

表 4 混合乳干酪质构测试参数

样品	蛋白质%	脂肪%	水分%	硬度 H(N)
1	22.63	24.40	48.26	1.68
2	21.19	23.90	41.38	2.49
3	19.25	19.74	51.50	2.17
4	21.25	27.34	44.61	1.65
5	23.69	27.14	44.60	2.40

同时,多元线性回归方程表明:

$$H = 7.3380 + 0.1341\text{Pro} - 0.5188\text{Fat} - 0.0926\text{Water}$$

显然硬度与蛋白质有正相关关系,而与脂肪、水分具有负相关关系。从大豆蛋白质的功能性质上,我们知道,大豆蛋白质的持水能力大于酪蛋白,因此,持水能力的提高就降低了混合乳干酪的硬度。当然,也有可能有其他因素影响硬度参数。如下实验公式^[5]:

$$H = -3.25 + 0.216\text{Pro} - 0.0588\text{Fat} - 0.00540\text{Water} - 1.00\text{NaCl} + 0.0665\text{pH}$$

但我们发现,在所涉及的因素中,其正负相关性是一致的。

总之,引入一些现代物化方法对于产品的品质分析是十分有效的。通过对混合乳干酪的品质分析,我们认为,尽管混合乳干酪尚未能达到纯牛乳干酪的品质,但还是可以接受。

参考文献

- 1 盛延岭等. 皱胃酶的提取. 天津轻工业学院食工系.
- 2 张建兵. 混合乳干酪的工艺研究. 无锡轻工业学院食工系, 1991.
- 3 "Texture Profile Analysis" by Malcolm C. Bourne-Ford Technology. July, 1978, 62~66.
- 4 正交设计法. 石油化学工业出版社, 1976.
- 5 Textural Analysis of Cheese by A. H. chen J. W. Larkin C. S. Clark. W. E. Irwin. Journal of Pastry Science. Vol 62: 901~907.

茶多酚(TPP)对 8 种致病菌最低抑制浓度的研究

董金甫 安徽省食品科技中心 230061

李瑶卿 安徽大学生物系

洪绍梅 安徽省食品酿酒公司

摘 要 用滤纸园片法和牛津杯法研究了茶多酚 3 种浓度溶液(1%、0.5%、0.2%)对 12 种细菌、2 种酵母、4 种霉菌 3 大类微生物的抑制作用。发现在此条件下,对伤寒沙门氏杆菌等 8 种致病菌有明显的抑制作用,确定茶多酚对金黄色葡萄球菌、普通变形杆菌、伤寒沙门氏杆菌、志贺氏痢疾杆菌、铜绿色假单胞杆菌、枯草杆菌、口腔变异链球菌、大肠埃希氏杆菌 8 种致病菌的最低抑制浓度分别为 0.08%、0.01%、0.03%、0.04%、0.08%、0.08%、0.1%、0.1%。由结果推断茶多酚不失是一种良好的天然抗菌剂,可添加于食品和药物中。

关键词 茶多酚 致病菌 滤纸园片法 牛津杯法 抗菌剂

Abstract The writers have made reserches on the inhibition effect of tea-polyphenols solution with 3 different concentrations (1%, 0.5%, 0.2%) on three types of microorganisms including twelve kinds of germs, 2 kinds of yeasts and 4 kinds of molds by means of filter paper disks and the method of Oxford-cup tests. Under such conditions, we find that 8 kinds of pathogenetic bacteria, such as Salmonella typhi,