

Mozzarella

干酪成熟过程中风味等 品质特性评价及乳清利用研究

马 玲 著

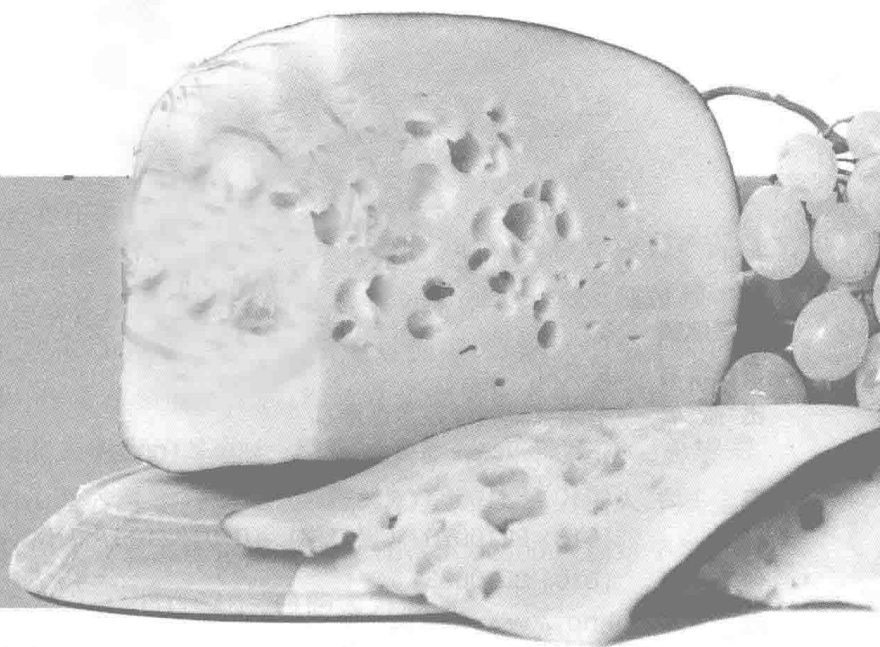


中国农业科学技术出版社

Mozzarella

干酪成熟过程中风味等 品质特性评价及乳清利用研究

马 玲 著



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

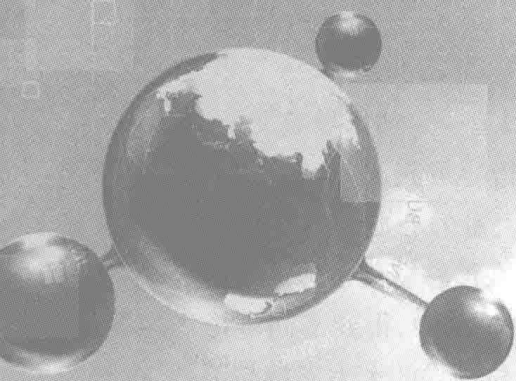
Mozzarella 干酪成熟过程中风味等品质特性评价及乳清利用研究 / 马玲著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2014. 5

ISBN 978 - 7 - 5116 - 1621 - 0

I. ①M… II. ①马… III. ①干酪 - 品质特性 - 评价 IV. ①TS252.53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 075887 号

- | | |
|-------|---|
| 责任编辑 | 徐 毅 |
| 责任校对 | 贾晓红 |
| 出 版 者 | 中国农业科学技术出版社
北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081 |
| 电 话 | (010) 82106631 (编辑室)
(010) 82109702 (发行部) (010) 82109709 (读者服务部) |
| 传 真 | (010) 82106631 |
| 网 址 | http://www.castp.cn |
| 经 销 | 各地新华书店 |
| 印 刷 | 北京富泰印刷有限责任公司 |
| 开 本 | 787mm × 1092mm 1/16 |
| 印 张 | 8 |
| 字 数 | 150 千字 |
| 版 次 | 2014 年 5 月第一版 2014 年 5 月第一次印刷 |
| 定 价 | 20.00 元 |



前言

2003年9月,作者在攻读山西农业大学农产品加工与贮藏工程专业畜产品加工原理与技术硕士学位时,师从刘会平教授,进行了“Mozzarella干酪成熟过程中挥发性风味物质形成及变化规律”的研究,在学习研究过程中,逐渐认识到干酪的营养、功能及未来发展,为此,作者在参加工作后,继续在该领域潜心研究。在查阅有关该领域最新研究动态及前人研究的基础上,进行了大量科学试验,并汇总成书。本书得到了刘会平教授的山西省科委攻关项目(021180)、天津市引进人才基金项目(20080420)与天津市科委农业成果转化项目(08ZHNZNC02500)、杨珍平副教授的山西省科技攻关计划项目(20110311001-4)的大力资助。

本书收录了作者关于“Mozzarella干酪成熟过程中风味等品质特性评价”的部分成果,有些成果已经在《中国农业科学》《核农学报》《食品科学》《食品研究与开发》《乳业科学与技术》《中国乳品工业》等学术刊物上发表。

本书的主要内容包括:Mozzarella干酪成熟过程中的品质特性简介,Mozzarella干酪成熟过程中蛋白降解、色泽、感官评分、质构及菌群变化的分析,Mozzarella干酪成熟过程中挥发性风味化合物的分析,Mozzarella干酪成熟过程中形成的水溶性抗氧化、抑菌物质,Mozzarella干酪加工排除乳清的利用,包括乳清的发酵、乳清饮料及乳清在干酪中的应用,该书对评价干酪成熟过程中的品质变化、干酪成熟过程

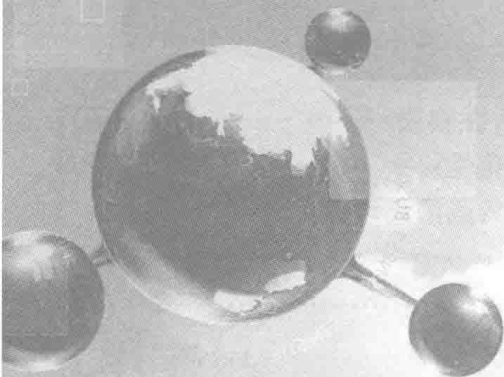
中的生物活性的提取、分析,乳清的利用研究均具有一定的指导意义。

本书是在导师刘会平教授亲切关怀与悉心指导下完成的。十多年来,导师无论在生活上,还是在学业上、工作上,都倾注了大量的心血,他科学严谨的治学态度、活跃超前的学术思维、求真务实的学术作风,在潜移默化中深深地影响了学生,使学生受益匪浅、终生难忘。在试验设计与实施过程中,得到了同事杨华副教授、朱迎春副教授的鼎力相助;也得到了食品学院各位领导的大力支持与帮助,在此一并表示最衷心的感谢!

限于作者水平有限,加之编写时间仓促,书中难免有不妥和疏漏之处,敬请广大同行在使用过程中批评指正。

马 玲

2014年03月10日



目录

第一章	Mozzarella 干酪及成熟过程中的品质特性	(1)
第一节	Mozzarella 干酪	(1)
第二节	Mozzarella 干酪的成熟	(6)
第三节	干酪成熟过程中风味的形成	(11)
第四节	Mozzarella 干酪成熟过程中质构、微观结构的变化	(30)
第五节	干酪成熟过程中的生物活性物质	(34)
第六节	乳清的利用	(36)
第二章	Mozzarella 干酪成熟过程中理化、微生物等指标分析	(38)
第一节	Mozzarella 干酪成熟过程中的蛋白水解	(38)
第二节	Mozzarella 干酪成熟过程中 pH 值、色泽、感官评价的变化	(42)
第三节	Mozzarella 干酪成熟过程中菌群的变化	(46)
第四节	Mozzarella 干酪成熟过程中质构、微观结构的变化	(47)
第三章	Mozzarella 干酪成熟过程中挥发性风味物质的分析	(52)
第一节	Mozzarella 干酪成熟过程中的挥发性风味化合物	(54)
第二节	挥发性风味化合物变化及原因	(61)
第三节	影响 Mozzarella 干酪成熟过程中风味形成的因素	(65)

第四章	Mozzarella 干酪成熟过程中的生物活性物质	(70)
第一节	Mozzarella 干酪水溶性提取液的抗氧化性	(70)
第二节	Mozzarella 干酪水溶性提取液在模拟胃肠液环境下的 抗氧化性	(73)
第三节	Mozzarella 干酪水溶性提取液的抑菌特性	(76)
第五章	乳清的利用	(78)
第一节	乳清发酵	(78)
第二节	乳清在干酪制作中的应用	(95)
第六章	Mozzarella 干酪的发展	(108)
参考文献		(110)

第一章

Mozzarella 干酪及成熟过程中的品质特性

第一节 Mozzarella 干酪

一、干酪

研究表明，干酪是在公元前 6 000 ~ 7 000 年起源于伊拉克的幼发拉底河和底格里斯河流域，主要以牛、羊乳作为原料。早期的游牧民族在旅行和迁徙的过程中以动物的皮囊装牛羊乳，在行进的过程中由于高温的原因，乳中的乳糖在微生物的作用下开始发酵，乳变开始发生凝固，加上行进过程中的颠簸，分离出凝块和乳清两部分，凝乳块便是干酪产品的雏形。

从 1851 年美国出现第一家干酪加工厂至今，干酪的产量逐年上升，干酪的种类将近 900 种，随着新产品的开发，干酪的种类每年都在增加，产量也在不断扩大，2003 年世界的乳产量为 6 亿 t。目前，发达国家有 1/3 ~ 1/2 的鲜乳用于干酪的生产。干酪号称“乳制品之王”，是世界乳制品贸易最大的乳制品之一。

（一）干酪的概念及种类

FAO/WHO（联合国粮农组织和世界卫生组织）对干酪作了如下的定义：干酪是以乳、稀奶油、脱脂乳或部分脱脂乳、酪乳或这些原料的混合物为原料，经凝乳酶或其他凝乳剂凝乳，并排除部分乳清而制成的新鲜或经发酵成熟的产品。

国际上通常把干酪扩展成三大类，即天然干酪、再制干酪和干酪食品。天然干酪是指以乳、稀奶油、部分脱脂乳、酪乳或混合乳为原料，经凝固后，排出乳清而获得的新鲜或成熟的产品，允许添加天然香辛料以增加香味和滋味。再制干酪是指用一种或一种以上天然干酪，添加食品卫生标准所允许的添加剂（或不加添加剂），经粉碎、混合、加热熔化而制成的产品，含乳固体 40% 以上。此外，

还有下列两条规定：允许添加稀奶油、奶油或乳汁以调整脂肪含量。为了增加香味和滋味，所添加的香料、调味料及其他食品必须控制在乳固体的 1/6 以内。但不得添加脱脂奶粉、全脂奶粉、乳糖、干酪素以及不是来自乳中的脂肪、蛋白质及碳水化合物。干酪食品是指用一种或一种以上的天然干酪或熔化干酪，添加食品卫生标准所规定的添加剂（或不加添加剂），经粉碎、混合、加热熔化而制成的产品，产品中干酪比例须占 50% 以上。此外，还规定：所添加的香料、调味料或其他食品须控制在产品干物质的 1/6 以内。添加的非乳脂肪、蛋白质、碳水化合物不得超过产品的 10%。

按照加工方法的不同，干酪也可分为酸凝干酪和酶凝干酪两种，二者的区别主要在于：在酸和热的作用下，酶凝干酪更富弹性和伸缩性，水分含量少，因此，保质期也较长；酶凝干酪作为鲜食干酪一般需要经过成熟，酸凝干酪则不经成熟。目前，在世界的干酪总产量中，酸凝干酪约占 25%，而酶凝干酪约占 75%。

（二）干酪的营养价值

干酪有丰富的营养成分，蛋白质和脂肪的含量相当于原料乳含量的 10 倍左右。干酪中还含有糖类、有机酸，矿物元素钙、磷、钠、钾、镁、铁、锌及维生素 A、胡萝卜素和维生素 B₁、B₂、B₆、B₁₂，烟酸、泛酸、叶酸、生物素等多种营养成分及生物活性物质。干酪中的蛋白质经过发酵后，由于凝乳酶及微生物中蛋白酶的分解作用，形成胨、肽、氨基酸等，非常易于被人体消化吸收，干酪中蛋白质的消化率为 96% ~ 98%，生物学价值极高。其次干酪中含有大量必需氨基酸，与其他动物性蛋白质比较，质优而量多。原料中的乳糖，在干酪制作过程中，大部分转移到乳清中，残留下的乳糖一部分分解成半乳糖和葡萄糖，避免了某些人因体内缺乏乳糖酶饮用牛乳导致的腹泻等乳糖不适症。干酪是补钙的最佳食品，干酪在制作过程中，由于工艺的需要，又添加钙离子，使钙的含量增加，且易被人体吸收。每 100g 牛乳含钙 49mg，而每 100g 干酪含钙 720mg，是牛乳含钙量的 14 倍。干酪中水溶性和脂溶性维生素也相当丰富。每 100g 干酪中约含有维生素 A₁200IU，可满足成人需求量的 30% ~ 40%。正因为干酪富含多种营养成分，又容易消化吸收，而且不易致肥，因此，被营养学家奉为理想的食品，誉之为“奶黄金”、乳业皇冠上的“珍珠”。

二、Mozzarella 干酪

Mozzarella（莫兹瑞拉）干酪是 *Pasta Filata*（帕斯特-费拉特）干酪中的重要成员，起源于意大利。*Pasta Filata* 干酪以其独特的可塑性和干酪凝块在热水中的揉捏处理而成为干酪家族中特殊的成员。这样的处理赋予成品干酪特有的纤维

结构、熔化性和拉丝性。Mozzarella 干酪随着比萨的流行而闻名于世，并被越来越多的消费者所接受。一般的 Mozzarella 干酪属半硬质干酪，水分含量为 47% ~ 48%，其成熟期是 45 ~ 50d。在美国，Mozzarella 干酪的产量仅次于 Cheddar cheese（契达干酪），占天然干酪的 32.8%。

在美国，以水分含量和干物质中脂肪含量为判定标准，将 Mozzarella 干酪分为 4 种，如表 1-1 所示。全脂 Mozzarella 干酪和部分脱脂 Mozzarella 干酪水分含量高（>52%），品质柔软，经常作为新鲜的即食干酪来消费。因为切割性和凝结性较差以及货架期有限，全脂 Mozzarella 干酪很少被用作 Pizza（比萨）的配料成分。相比之下，低水分 Mozzarella 干酪和低水分、部分脱脂的 Mozzarella 干酪水分含量低（一般为 47% ~ 48%），货架期长，质地较硬，切割性好，主要被用作 Pizza 和相关产品的配料。

表 1-1 美国 Mozzarella 干酪的分类标准

类型 Types	水分含量（%） Water contents（%）	FDM（%）
Mozzarella	52 < 水分含量 ≤ 60	≥ 45
低水分 Mozzarella	45 < 水分含量 ≤ 52	≥ 45
低水分、部分脱脂 Mozzarella	45 < 水分含量 ≤ 52	30 ≤ 脂肪含量 < 45
部分脱脂 Mozzarella	52 < 水分含量 ≤ 60	30 ≤ 脂肪含量 < 45

Ferris, S. (1987) Italian type cheeses in the USA

注：FDM 表示 Fat in Dry Material，脂肪占无脂干物质的质量分数

（一）Mozzarella 干酪无盐渍工艺流程

原料乳→杀菌（63℃，30min）→冷却到 36℃→加发酵剂（分别加入不同的菌种组合）→预酸化（至滴定酸度为 21 ~ 22°T）→加凝乳酶（3‰，由 2% 食盐配制 1% 凝乳酶溶液），搅拌→静置、凝乳（30min）→凝块切割→排乳清（pH 值 6.3）→堆酿（pH 值 5.25）→切碎加盐（1.8%）→热烫、拉伸（8%，80℃ 食盐水）→成型→冷却→真空包装→成熟（4℃）

（二）工艺要点

1. 原料乳

原料乳要求色泽风味正常、新鲜、无抗，酸度不得超过 18T，总乳固体含量不低于 11%，不含抗生素和其他杂质。加有抗生素等的原料乳会抑制发酵剂的生长繁殖，进而会影响凝乳要求的酸度，酸度不够凝乳效果不良，最终会影响干酪的组织状态和成熟过程中风味的形成。

2. 杀菌

用于制作干酪的原料乳只能用温和的热处理的方法进行杀菌，一般常用的有

63℃、30min 和 72℃、15s 两种处理方法。热处理的目的主要是：杀灭原料乳中的有害菌和致病菌，从而保证产品的安全；排除原料乳中的氧，同时，杀菌降低乳中的氧化还原电位，有利于兼性厌氧发酵剂乳酸菌更好的生长繁殖；钝化原料乳中的酶；杀菌过程中适度的乳清蛋白变性并与酪蛋白结合，有利于后续凝块的凝结和干酪的产率提高；高温处理不利于干酪凝块的形成，同时，高温杀菌处理后干酪的风味也会下降，因而一般干酪制作过程中对原料乳不采用高温的热杀菌方法。

3. 加发酵剂

将杀菌后的原料乳冷却至 36℃，接种乳酸菌发酵剂，接种量为 0.5% ~ 1% (2.3×10^6 cfu)，搅拌均匀。加入发酵剂的主要目的是为了给凝乳酶的凝乳创造一个合适的环境，除直接酸化干酪加入量较大外，发酵剂的加入量一般很小。发酵剂发酵产酸有以下作用：提高凝乳酶的凝乳性能，促进干酪凝块的持水性和促进乳清的排出，在干酪成熟的后期抑制干酪中有害微生物的生长繁殖，影响干酪的硬度、风味等品质，因而发酵剂的选择和加入量必须符合要求，否则，干酪最终的品质会过酸或风味不良。乳酸菌胞内有蛋白分解酶、肽酶，细胞存活时，它们只在胞内进行蛋白分解活动，乳酸菌死亡后，乳酸菌细胞内的酶释放到基质环境中，分解凝乳酶降解形成的多肽至小肽和氨基酸，而这些物质特别是氨基酸对干酪风味的形成至关重要。

4. 加凝乳酶

预酸化 30min，当滴定酸度达 21°T 时，加入由 2% 食盐水配制的 1% 的凝乳酶溶液，缓慢搅拌 5min，静置 35min 左右。加凝乳酶，为了增加凝乳酶的活力，一般用 2% 的食盐水将其溶解，然后静置，通过测定凝乳酶的活力来决定酶的加入量，干酪品种不同加入的酶量也有区别，加入酶量过多，凝乳速度快，干酪的硬度增大，加入量小，则凝块松散，干酪的硬度不够、风味欠缺。加入凝乳酶后缓慢搅拌，以使酶和乳充分混合，然后在 36℃ 下保持 30min。在凝乳过程中发生两个过程，首先是牛乳中的酪蛋白在凝乳酶的作用下分解为副酪蛋白，然后在钙离子的作用下凝结。所以，当牛乳中的钙离子含量不足时，凝乳就变得困难，有时需要特别添加一定量的氯化钙。

5. 切割、搅拌、热缩

当凝乳形成后，为了排除乳清，要进行切割，一般采用专用的干酪刀切成很小的正方体小块。然而正确的切割时间判断很重要，一般当凝乳达到一定的硬度，凝乳挑起时断面光滑、乳清透亮就可进行切割。用奶酪刀切割成 1.7cm^3 的小方块，在 36℃ 下静置 5min，再缓慢搅拌 10 ~ 15min，将温度在 15min 内升至 38℃，并进行缓慢搅拌，以促进凝块的收缩。

6. 排乳清

当乳清的 pH 值达到 6.3 时,即可分批少量排除乳清,并缓慢搅拌以进一步排出乳清,影响乳清排除的重要因素为温度、切割后产酸速度及压力、搅拌速度和持续的时间。当大批乳清排除完毕后,凝块的 pH 值达到 5.25 时即可进行堆酿,在此过程中应不断搅拌,防止凝乳表面变硬,同时,为了进一步排出剩余的少量乳清,每隔 15min,将凝块上下翻转一次,堆酿的时间为 80min。

7. 加盐

加盐可以促进乳清的进一步排放,控制干酪的水分含量及最终的硬度,同时,由于盐的高渗透压作用可以抑制腐败微生物的生长、抑制发酵剂乳酸菌的增长,而且盐含有调节酶活力的作用,为干酪的风味形成和适当的咸味的形成有很重要的作用。由于不同种类的干酪对风味、硬度等的要求不同,通常加盐量也不同,通常加盐量为干酪中水分的 2%~8%。

加盐有以下 4 种方法。

(1) 凝块加盐法,将一定量的食盐加入切碎的干酪凝块中,搅拌均匀再压榨成型,使盐分均匀地分布在干酪的内部,但由于凝块的凝胶特性,盐分散不是很均匀。

(2) 表层加盐法,将盐涂布或撒落在压榨成型的干酪表面,依靠干酪的水分将盐溶解并借助于浓度梯度的差势将食盐带入干酪内部,这种方法往往造成干酪表面和内部的盐含量不均一,表面高而内部低。

(3) 盐水浸泡法,将压榨成型的干酪浸入一定浓度的食盐水中,在浸泡过程中,干酪吸入盐分同时进一步排出水分,这种方法有利于食盐的快速渗透,但由于长时间在水中浸泡,干酪的凝块会变得松散、外形发黏。

(4) 混合法,即干盐法和湿盐法混合,如在 Mozzarella 干酪中加盐就是混合的方法,先加入干酪重量 1.8% 的干盐,然后将加盐的凝块在 8% 的食盐水中热汤拉伸。

8. 热烫、拉伸

将加盐后的凝块放在 80℃ 左右 8% 的盐水,保持水温不变,此时干酪凝块可拉成丝状。这一过程有利于干酪的纤维状结构的形成、良好的熔化性和拉伸性的形成。

9. 冷却、包装

将干酪装入模具,放入 5~10℃ 的水中使其硬化。然后进行真空包装,在 4℃ 下贮藏,一般经 45~50d 成熟。

第二节 Mozzarella 干酪的成熟

Mozzarella 干酪的成熟是一个缓慢而复杂的过程,在成熟过程中,干酪中的蛋白质、脂肪和碳水化合物在微生物所产生酶的作用下进行分解并发生化学反应,从而形成了一系列的风味化合物, Mozzarella 干酪也形成了其特有的质地和组织状态,不同的品种成熟的温度和湿度不同,成熟的时间也不同。成熟过程中干酪基质生物化学的变化主要与一系列的酶有关,不同的干酪由于其使用的菌系不同而不同,单一菌株发酵剂用洁净乳生产的干酪由于其中的非发酵剂微生物缺少而口味平淡,相反用复合菌株制作的干酪风味强烈而浓厚。干酪成熟的酶系包括:蛋白酶作用于蛋白质产生肽类,肽酶作用于肽类而释放氨基酸,脱羧酶作用于氨基酸而产生胺类,转氨酶作用于氨基酸而产生酮酸,脱氨酶作用于氨基酸而产生酮酸,转氨酶作用于酮酸而产生乙醛。

成熟过程中的温度对成熟的进行意义重大,温度的控制间接控制微生物的生长和生物化学反应的速度,低温会降低凝块中微生物的生长和生化反应的速度,高温会促进这些反应,但任意提高温度表面上会加快干酪成熟的进度,可能在高温下形成一些不良的风味物质,在 10℃ 成熟的干酪绝不会和在 4℃ 下成熟的干酪产生同样的风味和香气。凝乳的 pH 值也影响微生物的生长和生化反应的速度,干酪成熟的初期,伴随发酵剂的缓慢生长,乳糖进一步被代谢为乳酸, pH 值达最小值,之后随着干酪中中性及碱性物质的生成, pH 值又上升。这一变化过程影响干酪基质中的酶活性,进而影响干酪风味及品质的形成。

一、Mozzarella 干酪成熟过程发生的变化

干酪中风味的形成是复杂且相当慢的过程,包含了乳成分的不同化学和生化的改变,已确定 3 个主要途径:乳糖或柠檬酸的变化(糖酵解或丙酮酸代谢)、脂肪的变化(脂解)和酪蛋白的变化(蛋白水解)。

(一) 糖酵解

乳糖酵解后产生乳酸。乳酸直接影响干酪的口感。尤其是不含其他风味成分的新鲜干酪。与其他生化反应相比,乳糖代谢生成乳酸的反应对干酪风味的影响很小。

(二) 蛋白水解

干酪成熟期间发生的 3 个最基本的生化反应中,蛋白水解是最复杂也是最重

要的一种；它主要影响质构，包括硬度、流变性、黏结性、断裂性、延展性、熔化性、乳化性，还影响干酪的风味。在水解不利的情况下也会产生苦味肽，这是奶酪的一个共同的风味缺陷。马玲等人研究了 Mozzarella 奶酪和模拟奶酪成熟过程中蛋白水解性的变化，研究表明：蛋白质降解产物与奶酪的风味形成有重要关系。

（三）脂肪水解

脂肪对干酪风味的影响表现在 3 个方面：脂肪经过脂肪酶的脂解作用，产生的脂肪酸尤其是短链脂肪酸有强烈和特征风味。在有的品种中，脂肪酸还会转化成其他的芳香组分，例如，甲基酮和内酯；脂肪酸尤其是多不饱和脂肪酸被氧化后会产生各种具有强烈风味的不饱和醛，导致臭败风味缺陷。干酪中氧化还原作用较低，所以，脂肪氧化很少发生；脂肪作为一种溶剂，可以溶解从脂肪、蛋白质和乳糖中产生的芳香组分，还可能吸收环境中的组分从而导致不良风味的产生。

二、Mozzarella 干酪成熟过程中主要的酶

Mozzarella 干酪中的一些风味物质，包括乳酸、二乙酸和甲基酮，都是在菌的代谢下生成的。还有一些风味物质则是通过化学反应而生成的。如某些氨基酸和不同的羰基化合物，尤其是二乙酸、乙二醛或甲基乙二醛等二羰基化合物都是通过 Maillard 反应和 Strecker 反应而生成。大部分的风味物质都是在酶的作用下而产生的，这些酶包括牛乳中的固有酶，如血纤维蛋白溶酶和脂解酶；添加的酶，如凝乳酶。发酵剂产生的酶以及干酪表面喷洒的真菌产生的酶。

（一）凝乳酶

凝乳酶是干酪制造过程中的主要酶类，传统的方法是从小牛或羔羊的胃中提取，由于干酪产量的不断上升，提取方法获得的酶供应不足，寻求凝乳酶的替代品很迫切，微生物转基因法生产的凝乳酶应运而生，而且生产干酪的品质评价很好。

添加在原料乳中的凝乳酶大部分在 Mozzarella 干酪制作过程中丢失于乳清中或在热缩与热烫拉伸过程中失活，只有 6% ~ 20% 的凝乳酶残留在干酪中，经高温处理的干酪品种中凝乳酶的残留量几乎为零。凝乳酶的蛋白水解性弱，凝乳阶段凝乳酶仅作用于 κ -酪蛋白，对 α s-酪蛋白、 β -酪蛋白不水解，但在干酪的成熟阶段可促进这些蛋白质的水解，特别是 α s-酪蛋白的水解。在 Cheddar（契达）和 Gouda（哥达）干酪的研究中证实了干酪在成熟时，残留的凝乳酶具有蛋白水解活力。

1. 凝乳酶的类型

用于干酪生产的凝乳酶有动物蛋白酶、微生物蛋白酶和植物蛋白酶，在干酪的商业化生产中，最常使用的是前两者。动物蛋白酶中，鸡胃蛋白酶是最不常用的商业凝乳酶，因为它蛋白水解性大，促使 α -酪蛋白和 β -酪蛋白过分水解，导致风味缺陷（苦味）和结构缺陷（松软，油腻）的产生。猪胃蛋白酶对 pH 值大于 6.6 时，十分敏感，在干酪生产时，很容易失活。在干酪成熟时，蛋白水解力减弱。牛胃蛋白酶可能是最令人满意的，好品质的小牛皱胃酶包含了近 10% 的牛胃蛋白酶，一些商业用的皱胃酶包含了近 50% 的牛胃蛋白酶，其蛋白水解的特异性类似于皱胃酶，在干酪产量和品质方面有令人满意的结果。从微生物蛋白酶使用结果可看出，在大多数干酪品种生产中使用效果是令人满意的。虽然米黑毛霉和粟疫菌这两种微生物蛋白酶水解特性不同于胃蛋白酶，它们的蛋白水解性高于皱胃酶，导致乳清中蛋白含量高，干酪产量低。凝乳酶的基因被克隆在 *E. coli* 中大量生产，这种重组酶的特性与皱胃酶的特性没有区别，已被用于许多品种的干酪生产，并获得了满意的效果。

凝乳酶属于酸性酶，其活力和稳定性与干酪凝乳成品的 pH 值有关，干酪中的凝乳酶的蛋白水解活力取决于酶在干酪生产中对 pH 值的敏感性，总的来说，酶在接近它等电点的 pH 值时更稳定，在切割和乳清排放时，随 pH 值下降，胃蛋白酶的活力会增加。当排乳清时，pH 值高时，酶滞留量减少。

2. 凝乳酶的用量

在干酪生产中，凝乳酶的添加量取决于其凝乳强度，一般的添加量是足够使牛乳在 30~40min 内凝结，这个量是传统用量，大概是基于经验的，实际添加量以实测的酶活和原料乳的量决定。从严格的凝乳来看，凝乳酶的用量不会产生负面影响，但是，保持在凝乳里的凝乳酶的量与添加在乳中的酶量成正比，这对干酪在成熟过程蛋白水解起重要作用。添加量不足不仅延长凝乳的时间，而且凝块质地较软，成熟过程中蛋白水解不够，风味平淡。相反添加量过大，凝块较硬，成熟过程中蛋白质水解过度，控制不当会产生苦味。

（二）发酵剂及产生的酶

1. 不同发酵剂对干酪品质的影响

干酪生产中常用的乳酸菌发酵剂分为嗜温性和嗜热性两种。前者包括 *Lactococcus*（球菌属）中的 *Str. lactis*（乳酸链球菌）和 *Str. cremoris*（乳脂链球菌）和 *leuconostoc*（明串珠菌属），后者包括 *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*（唾液链球菌嗜热亚种）和乳杆菌属中 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*（德氏乳杆菌保加利亚亚种）、*Lactobacillus helveticus*（瑞士乳杆菌）和 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactic*（德氏乳杆菌乳酸亚种）。世界上大部分干酪生产中大量使用

的是嗜温性乳酸菌株，它们在生长速度、新陈代谢速率、蛋白酶活性、噬菌体的交互作用以及风味的形成等方面存在不同的特性。

明串珠菌与 *Lactococcus*（乳球菌）的明显区别是前者产酸能力低，经磷酸激酶途径异型发酵，代谢产物除乳酸外，还产生 CO_2 和乙醇。明串珠菌也能利用柠檬酸盐，代谢的最终产物从乙醇到醋酸都有。因为它们产酸量很少，一般和乳球菌混合使用以增强产品风味，尤其应用在 Fresh cheese（新鲜非成熟干酪）的生产中。

乳酸菌发酵剂的确切作用尚不清楚，通过比较直接酸化的干酪和在无菌条件下用乳酸菌酸化的干酪可知，乳酸菌的确起着重要的作用。乳酸菌对风味形成的影响可能有 3 种方式。为酶和非酶反应的发生提供一个合适的环境，包括干酪中酸性环境和氧化还原电位的形成，为酸性蛋白酶提供有利的作用条件；直接提供由乳糖和柠檬酸代谢形成的风味物质；通过产生的蛋白酶和肽酶，降解干酪中的蛋白质和脂肪，生成小肽、氨基酸和其他的挥发性成分。

2. 发酵剂产生的酶

发酵剂在干酪生产和成熟过程中起着非常重要的作用，尤其是发酵剂菌株产生的蛋白酶的分布直接影响成品干酪的质量。常用的发酵剂可分为嗜温性发酵剂（最适温度约为 30°C ）和嗜热性发酵剂（最适温度为 42°C 左右），发酵剂又分为单菌种发酵剂和混合菌种发酵剂。生产中使用的发酵剂要根据干酪的工艺特性进行选择，如菌种的耐盐性、发酵特性、产酸特性、抗噬菌体能力、柠檬酸利用率和蛋白水解性。近几年对于乳球菌和乳杆菌的酶系尤其对于糖醇解和蛋白水解系统的研究很多，对于不同的发酵剂酶系与干酪品质的关系的研究却很少。鲜食 Mozzarella 干酪所用发酵剂一般为嗜温性发酵剂，如乳球菌等，而比萨专用 Mozzarella 干酪一般用嗜热性发酵剂作为菌种，如唾液链球菌嗜热亚种和保加利亚德氏乳杆菌，因为这些嗜热型的菌株能够在热烫和重叠堆积过程中承受相对较高的温度（例如， 42°C ），并在此温度条件下保持旺盛的代谢活力。

发酵剂的主要作用是产生乳酸，降低 pH 值，提高凝乳酶活性，促使乳清排出，产黏，促进凝乳。在成熟过程中，发酵剂利用自身的酶类水解蛋白、脂肪，从而产生风味物质。随着发酵剂添加量的增大，产生的乳酸量增多，凝乳风味也会增加，但产酸过多凝乳会收缩过度，制得的凝块粗糙、有渣感。因此，发酵剂的添加量要合适。

乳酸菌发酵剂菌种的酶系统可以粗略地分为胞内蛋白酶、胞外蛋白酶以及肽链内切酶和肽链端解酶。胞内蛋白酶在细胞存活时，它们只在胞内进行蛋白分解活动，这些酶在菌体细胞内相对固定的位置上，作用方式类似于固定化酶。在干

酪的成熟过程中, 由于介质的渗透压和细胞结构的稳定性, 这些酶的固定化状态将维持相当长的时间。它们在细胞内的确定位置和对底物作用的专一性, 可使干酪成熟过程中酪蛋白以一种有序的、可以被控制的、协调的方式降解, 形成合适的产物。只有当乳酸菌死亡后, 菌体细胞破裂 (细胞自溶), 其中的蛋白分解酶分散至周围的干酪凝块中, 将肽类和乳蛋白分解为更小的肽和氨基酸, 氨基酸对干酪风味的形成至关重要, 游离氨基酸的积累是形成芳香成分的前体物质。乳酸菌蛋白分解酶最适的 pH 值是 6.0, 最低 pH 值是 5.0, 因此, 过于酸化的干酪成熟过程非常缓慢 (表 1-2)。

表 1-2 干酪中微生物形成代谢氨基酸的酶

name	Abrev	Substrate	Strain	MW (kDa)	Type	pH 值
Methionine- γ -lyase	MGL	Met	Brevibacterium linensNCDO739	175	PLP	8
		Met	Brevibacterium linens BL2	43 × 4	PLP	7.5
Cystathionine- β -lyase	CBL	Cystathionine, Cys, Met	Lactococcus lactis B78	(35 – 40) × 4	PLP	8
Cystathionine- γ -lyase	CGL	Cystathionine, Cys, Met	Lactococcus lactis SK11	40 × 4	PLP	8
			Lactobacillus fermentum DT41	35 × 4	PLP	8
L-aromatic amino acid	AraT	Phe, Trp, Asp, Tyr	Brevibacterium linens 47	126	PLP	8.5 ~ 9
Aminotransferase		Leu, Tyr, Phe, Trp, Met	L. lactis ssp. cremoris NCDO763	43.5 × 2	PLP	6.5 ~ 8
		Leu, Trp, Tyr, Phe, Met	L. lactis ssp. lactis S3	42 × 2	PLP	6.5 ~ 7
		Leu, Trp, Tyr, Phe, Met	L. lactis ssp. Lactis S3	42 × 2	PLP	6.5 ~ 8
L-aspartate aminotransferase	AspAT	Phe, Trp, Asp, Tyr	Brevibacterium linens 47	81	PLP	8.5 ~ 9
L-branched-chain amino acid aminotransferase	BcaT	Ile, Leu, Val, Met	L. lactis ssp. cremoris NCDO763	38 × 2	PLP	7.5