

乳清在奶酪制作中的应用

马玲, 王红艳, 车甜甜, 李志刚

(山西农业大学食品科学与工程学院, 山西 太谷 030801)

摘要: 通过单因素对比试验结合 Box-Behnken 设计和响应面法研究乳清添加量、谷氨酰胺转氨酶(TG)添加量和 TG 作用时间对奶酪得率的影响, 建立相应的回归模型。确定乳清的最适添加方式为不对其进行杀菌且在凝乳前加入到原料乳中, 在乳清添加量 30%、TG 添加量 1.4048g/100mL、TG 作用时间 89.955min 的条件下, 乳清奶酪得率的理论预测最大值为 14.8463%, 在此最佳条件下奶酪的实际平均得率为 13.875%, 与理论预测值差异不显著($P > 0.05$)。乳清奶酪在成熟初期, 其质构特性、蛋白水解程度和色泽与对照奶酪有差异, 到成熟 50d 时, 除弹性和咀嚼性差异显著($P < 0.05$)外, 其余指标差异均不显著($P > 0.05$)。

关键词: 乳清; 谷氨酰胺转氨酶; 奶酪; 应用; 数学模型

Application of Whey in Cheese Production

MA Ling, WANG Hong-yan, CHE Tian-tian, LI Zhi-gang

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: One-factor-at-a-time design coupled with response surface methodology based on Box-Behnken experimental design was applied to explore the effects of different amounts of whey and glutamine transaminase (TG) added to raw milk and enzymatic reaction time on cheese yield. A corresponding mathematic model was established. In the production process of cheese, whey and TG were concurrently added at levels of 30% and 1.4048 g/100 mL, respectively and allowed to react for 89.955 min before milk clotting. Under these conditions, the maximum theoretical cheese yield was 14.8463%, which did not significantly differ from the actual average value, 13.875% ($P > 0.05$). A difference in texture characteristics, protein hydrolysis and color was observed during the early stages of ripening compared to control samples. After 50 days of ripening, all other tested indexes showed no significant difference ($P > 0.05$) except springiness and chewiness, both of which had significant difference ($P < 0.05$).

Key words: whey; transglutaminase (TG); cheese; application; mathematical model

中图分类号: TS252.42

文献标识码: A

文章编号: 1671-5187(2012)02-0007-05

乳清是乳经酸凝乳或凝乳酶凝固后剩余的液态部分, 是干酪和干酪素生产的副产物, 呈黄绿色, 总固形物含量一般为 6.0%~6.5%, 它包含鲜乳中近一半的营养成分, 其中含乳清蛋白、磷脂、乳糖、矿物质以及维生素等^[1-2]。乳清中的乳清蛋白主要包括 β -乳球蛋白、 α -乳白蛋白、乳铁蛋白和免疫球蛋白等, 这些蛋白不仅容易消化吸收而且代谢效率高, 具有很高的生物利用价值, 同时乳清蛋白还含有多种生物活性物质^[1]。随着干酪生产和消费的来临, 将有大量乳清排出, 因此乳清的利用成为一个亟待需要解决的问题。研究表明谷氨酰胺转氨酶(transglutaminase, TG)对酪蛋白、乳清蛋白有很强的聚合、改性作用^[3-8], 有关蛋清粉和浓缩

乳清蛋白对干酪品质的研究也有报道^[9-10], St-Gelais 等^[11]通过向原料乳中添加 β -酪蛋白粉研究对奶酪凝结特性、组成和成熟的影响。但将乳清直接应用在干酪的制作中还未见报道, 本研究通过在原料乳中加入一定量的乳清, 同时加入谷氨酰胺转氨酶进行交联制作奶酪, 使得乳清蛋白在奶酪的凝结过程中包含在凝块中, 不仅利用了乳清, 而且一定程度上增加奶酪的得率, 并改善品质特性。为利用乳清、开发乳清在奶酪中的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

收稿日期: 2011-12-28

作者简介: 马玲(1980—), 男, 讲师, 硕士, 研究方向为乳品与肉品科学。E-mail: ml0359@163.com

原料乳由山西农业大学牧站提供；乳清、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌由山西农业大学食品科学与工程学院畜产品加工实验室保存并提供。

凝乳酶(酶活力 10000U/g) 丹麦科汉森公司；谷氨酰胺转氨酶(TG-B, 酶活力 100U/g) 日本味之素公司。

1.2 仪器与设备

HPP-9272 电热恒温培养箱、DL-CJ-2F 医疗型洁净工作台 北京东联哈尔滨仪器制造有限公司；HH 恒温水浴锅 江苏金坛市仪器制造公司；ALC-210.2 电子分析天平 上海精密科学仪器有限公司；PHS22 数显酸度计德国 Sartorius 公司；TMS-Pro 质构仪 美国 FTC 公司；全自动色差仪 北京鑫奥依克光电技术有限公司；干酪槽 本实验室自制。

1.3 方法

1.3.1 乳清奶酪加工工艺

原料乳→标准化→杀菌→冷却→加发酵剂→发酵→加乳清并加入 TG→加凝乳酶→凝乳→凝乳切割→搅拌→排乳清→堆酿→加盐→热烫拉伸→压榨成型→真空包装→成熟→产品

对照奶酪不加乳清和 TG，其他工艺过程与乳清奶酪完全一致。

1.3.2 工艺操作要点

标准化：使酪蛋白、脂肪质量比为 0.7:1；杀菌：标准化后的混合物于 63℃ 杀菌 30min，杀菌后迅速冷却至 40~42℃；发酵：嗜热链球菌和保加利亚乳杆菌(菌液体积比 1:1)复合，添加量为 0.5%，发酵 30min，滴定酸度达到 21°T 左右；凝乳：采用 1% 食盐水配制成 1% 的凝乳酶溶液，凝乳酶添加量为 3%。

1.3.3 Box-Behnken 优化试验设计

在预实验结果基础上，选择乳清添加量、TG 添加量及 TG 作用时间为主要影响因素，以奶酪得率为响应值，进行 Box-Behnken 试验设计，因素水平及编码见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验设计因素水平及编码表

Table 1 Factors and their coded levels in Box-Behnken design

因素	编码及水平		
	-1	0	1
X ₁ 乳清添加量/%	20	25	30
X ₂ TG 添加量/(g/100mL)	0.59	1.00	1.41
X ₃ TG 作用时间/min	30	60	90

1.3.4 指标测定

1.3.4.1 奶酪得率的测定

每个处理组合为 1000mL 原料乳，测定乳的密度，计算其质量为 m_1 ，同时加上每个处理组合所加入的乳

清、发酵剂和酶溶液的质量为 m_2 ，最后每个处理组合奶酪的质量为 m_3 ，则奶酪得率(Y)的计算公式为：

$$Y/\% = \frac{m_3}{m_1 + m_2} \times 100$$

1.3.4.2 质构的测定

利用 TMS-Pro 型质构仪对所制干酪进行质构分析(TPA)测定，测前设定参数：形变量为 50%，检测时运行速率为 10mm/min，力量感应元量程为 500N，起始力为 0.2N，所用探头型号为直径 10mm 的圆柱形探头。

1.3.4.3 其他指标测定

色泽：利用全自动色差仪进行测定；蛋白水解性：按 Kuchroo 等^[12]的方法测定，以占总氮百分含量计；感官评分：参考文献[10,13]；蛋白质含量：采用凯式定氮法测定；脂肪含量：按 GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》方法测定；水分含量：按 GB/T 5009.3—2003《食品中水分的测定》方法测定；盐含量：采用硝酸银滴定法测定。

2 结果与分析

2.1 乳清添加量对奶酪得率的影响

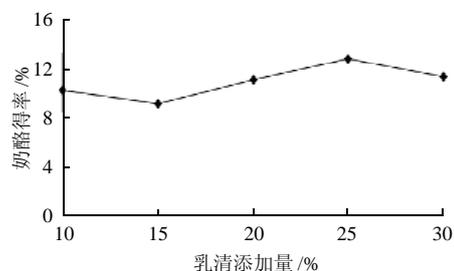


图 1 乳清添加量对奶酪得率的影响

Fig.1 Effect of different amounts of whey addition on cheese yield

由图 1 可知，随着乳清添加量的增加，奶酪的得率呈上升的趋势。由于乳清中残留了部分的凝乳酶，在加入量较少时，尽管乳清中的乳清蛋白含量较少，但同时乳清中凝乳酶的量也较少，从而奶酪的凝结时间充分，可以将大部分的乳清蛋白包含在凝块中。当加入乳清的量增加，同时乳清中凝乳酶的量也增加，由于奶酪凝结速度过快而来不及把更多的乳清蛋白包含在凝块中，致使得率下降。当乳清中的乳清蛋白和残留的凝乳酶的量达到合适的平衡时，奶酪的得率最大，在乳清添加量为 25% 时，奶酪的得率达最大。

由图 2 可知，乳清不杀菌在凝乳前加入时奶酪的得率最大，加入原料乳中一起杀菌后则奶酪的得率有所下

降, 而将乳清杀菌后加入原料乳中所制作奶酪的得率最低。因而选定乳清的添加方式为不杀菌在凝乳前加入。

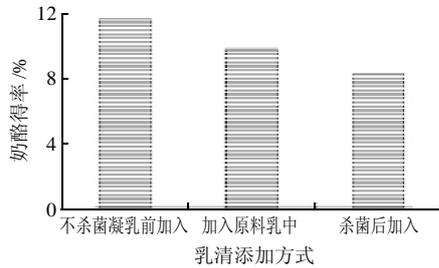


图2 乳清添加方式对奶酪得率的影响

Fig.2 Effect of different time points of whey addition on cheese yield

2.2 各因素对奶酪得率响应值回归方程的建立与检验

表2 Box-Behnken 设计方案及结果
Table 2 Box-Behnken design arrangement and results

试验号	因素			Y 奶酪得率 / %
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	-1	-1	0	9.7
2	-1	1	0	11.7
3	1	-1	0	12.8
4	1	1	0	13.8
5	0	-1	-1	11.5
6	0	-1	1	12.5
7	0	1	-1	11.6
8	0	1	1	12.9
9	-1	0	-1	9.8
10	1	0	-1	11.8
11	-1	0	1	10.5
12	1	0	1	13.2
13	0	0	0	10.2
14	0	0	0	9.8
15	0	0	0	10.4

表3 以奶酪得率为响应值的回归模型方差分析
Table 3 Variance analysis for the established regression model for cheese yield

方差来源	自由度	平方和	均方	F值	P值
X ₁	1	12.251	12.251	61.002	0.000551
X ₂	1	1.531	1.531	7.624	0.0398
X ₃	1	2.420	2.420	12.050	0.0178
X ₁ ²	1	1.050	1.050	5.229	0.0709
X ₂ ²	1	6.564	6.564	32.684	0.00229
X ₃ ²	1	1.600	1.600	7.968	0.0370
X ₁ X ₂	1	0.25	0.25	1.245	0.315
X ₁ X ₃	1	0.123	0.123	0.610	0.470
X ₂ X ₃	1	0.0225	0.0225	0.112	0.751
模型	9	24.880	2.764	13.765	0.000501
失拟	3	0.817	0.272	2.897	0.267
纯误差	2	0.187	0.094		
总误差	5	1.004	0.201		
总和	14	25.884			

注: P < 0.05, 差异显著; P < 0.01, 差异极显著。

由表3可知, 回归方程的模型检验达到极显著, 失拟检验不显著, 说明得率的回归模型成立, 用此方程反映乳清添加量、TG添加量和TG作用时间与奶酪得率的关系是正确的。决定系数 R² = 0.9612, 表明所研究的因素对响应值得率的影响达到96.12%。一次项 X₁ 对得率的影响达到极显著, X₂、X₃ 对得率的影响达到显著, 二次项 X₂² 对得率的影响达到极显著, X₃² 对得率的影响达到显著, 其余均不显著。

以奶酪得率为响应值, 乳清添加量、TG添加量和TG作用时间为3个因素编码值的数学回归模型: $Y = 10.133 + 1.238X_1 + 0.438X_2 + 0.55X_3 + 0.533X_1^2 - 0.25X_1X_2 + 0.175X_1X_3 + 1.333X_2^2 + 0.075X_2X_3 + 0.658X_3^2$

2.3 因素间交互作用对奶酪得率的影响

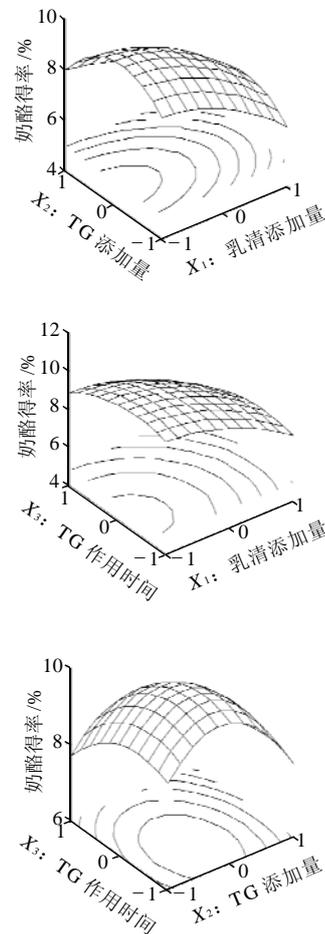


图3 各因素交互作用与奶酪得率之间的响应面图和等高线图
Fig.3 Response surface and contour plots for the effects of three process parameters on cheese yield

由图3可知, 奶酪得率随乳清添加量、TG添加量和TG作用时间的增加而先增加后下降, 且在TG作用时间确定的条件下, 乳清添加量对奶酪得率的影响大于

表5 两种奶酪贮藏期间的蛋白水解性、质构特性、色泽及感官评分
Table 5 Proteolysis, texture property, color and sensory evaluation of the two cheeses during storing

指标	10d		30d		50d	
	乳清奶酪	对照奶酪	乳清奶酪	对照奶酪	乳清奶酪	对照奶酪
pH4.6 SN/TN/%	4.35 ± 0.38 ^a	4.68 ± 0.46 ^a	8.26 ± 1.05 ^a	7.55 ± 0.89 ^a	11.50 ± 1.56 ^a	10.10 ± 1.27 ^a
12% TCA SN/TN/%	1.86 ± 0.15 ^a	2.04 ± 0.35 ^a	3.07 ± 0.57 ^a	2.86 ± 0.38 ^a	3.68 ± 0.75 ^a	3.37 ± 0.81 ^a
硬度/N	17.30 ± 2.41 ^a	13.30 ± 1.60 ^b	13.30 ± 1.87 ^a	11.80 ± 2.98 ^a	4.25 ± 0.82 ^a	4.55 ± 1.31 ^a
弹性/mm	10.6 ± 1.86 ^a	9.31 ± 1.57 ^a	2.44 ± 0.54 ^b	4.08 ± 0.91 ^a	1.83 ± 0.22 ^b	3.78 ± 0.57 ^a
凝聚性	0.57 ± 0.12 ^a	0.54 ± 0.18 ^a	0.59 ± 0.22 ^a	0.53 ± 0.09 ^a	0.60 ± 0.17 ^a	0.58 ± 0.28 ^a
咀嚼性/mJ	104.52 ± 8.37 ^a	66.81 ± 6.38 ^b	18.64 ± 4.52 ^b	24.96 ± 5.52 ^a	4.67 ± 1.24 ^b	9.99 ± 2.07 ^a
L值	55.99 ± 2.57 ^b	59.76 ± 2.94 ^a	57.80 ± 1.86 ^a	57.37 ± 2.14 ^a	57.73 ± 2.08 ^a	60.00 ± 2.55 ^a
感官评分	86.54 ± 8.52 ^a	87.28 ± 9.11 ^a	88.15 ± 7.28 ^a	88.35 ± 8.38 ^a	85.37 ± 8.37 ^a	86.37 ± 7.61 ^a

注：同行肩标字母不同，差异显著($P < 0.05$)；TCA.三氯乙酸；pH4.6 SN/TN. pH4.6 醋酸和醋酸钠缓冲溶液中溶解的奶酪蛋白占奶酪总蛋白含量的百分数；12% TCA SN/TN. 12% TCA 溶液中溶解的奶酪蛋白占奶酪总蛋白含量的百分数。

TG 添加量的影响，加入乳清增加了交联的乳清蛋白，在 TG 作用下酪蛋白的交联作用形成的网络结构使一部分乳清蛋白保留在凝乳中，也可能是乳清蛋白和酪蛋白在 TG 作用下直接进行了交联，从而增加了奶酪的得率，这与刘萍等^[9]研究得出加入蛋清粉能显著提高干酪的产率一致。同样可知乳清添加量和 TG 添加量对奶酪得率的影响均大于 TG 作用时间对其的影响。

2.4 工艺参数的优化

利用软件进行寻优分析以奶酪得率为响应值，得到要使得率达到最大值的各因素的取值为 $X_1 = 1$ 、 $X_2 = 0.9874$ 、 $X_3 = 0.9985$ ，此时理论最大值为 14.8463%。换算为实际值为：乳清添加量 30%、TG 添加量为 1.4048 g/100mL、TG 作用时间 89.955min。在最佳条件下制作奶酪，重复 3 次，得到奶酪的平均得率为 13.875%，与理论预测值差异不显著($P > 0.05$)。为进一步验证工艺的合理性，对乳清奶酪与对照奶酪的主要成分、贮藏过程中的质构特性、蛋白水解性及色泽进行比较。

2.5 最佳工艺条件下乳清奶酪与对照奶酪的比较

表4 两种奶酪的主要成分
Table 4 Composition of the two cheeses

成分	蛋白质	水分	脂肪	盐
乳清奶酪	25.85	43.57	26.51	1.38
对照奶酪	23.76	42.32	26.18	1.29

由表 4 可知，乳清奶酪蛋白含量、水分均高于对照奶酪，两者脂肪和盐的含量接近。与卢晓明等^[14]得出的用 TG 和凝乳酶共同凝乳对干酪的脂肪含量没有明显提高，但提高了干酪的水分含量的结果一致；同时 Rynne 等^[15]也研究得出提高原料乳的杀菌温度，可增加乳清蛋白的变性程度，提高干酪的水分含量；St-Gelais 等^[11]发现在原料乳中添加 β -酪蛋白所制作奶酪的蛋白含量增加相一致。

pH4.6 SN/TN 反映了奶酪中蛋白水解的广度；12% TCA SN/TN 代表了奶酪中蛋白水解的深度。由表 5 可知，奶酪成熟 10d 时，乳清奶酪的 pH4.6 SN/TN 和 12% TCA SN/TN 均较对照奶酪的低，但二者差异不显著($P > 0.05$)。而硬度和咀嚼性显著高于对照奶酪($P < 0.05$)，L 值显著低于对照组奶酪($P < 0.05$)，弹性、凝聚性和感官评分差异不显著($P > 0.05$)。成熟 30d 时，除弹性和咀嚼性显著低于对照奶酪外($P < 0.05$)，其余指标乳清奶酪均高于对照奶酪，但二者差异不显著($P > 0.05$)。成熟 50d 时，乳清奶酪的蛋白水解程度大于对照奶酪，从而致使其质构特性均低于对照奶酪，L 值和感官评分较接近，除弹性和咀嚼性差异显著外($P < 0.05$)，其余指标差异不显著($P > 0.05$)。说明乳清奶酪在成熟 50d 时，其特性很接近对照奶酪。

3 结论

乳清最适合的添加方式为不对其进行杀菌而在凝乳前加入到原料乳中，乳清添加量对奶酪得率的影响达到极显著，TG 添加量和作用时间对奶酪得率的影响达到极显著，TG 添加量的二次项对奶酪得率的影响达到极显著，TG 作用时间的二次项对奶酪得率的影响达到极显著，交互作用对奶酪得率的影响均不显著。在乳清添加量 30%、TG 添加量 1.4048g/100mL、TG 作用时间 89.955min，此时乳清奶酪得率的理论最大值 14.8463%。在此最佳条件下制作的乳清奶酪，得到其平均得率为 13.875%，与理论预测值(14.8463%)分析差异不显著。乳清奶酪在成熟 10d 时，其质构特性、蛋白水解程度和色泽与对照奶酪有差异；随着成熟的进行，二者的特性逐渐接近，成熟 50d 时，除弹性和咀嚼性差异显著外($P < 0.05$)，其余指标差异均不显著($P > 0.05$)。

参考文献:

- [1] HERNÁNDEZ-LEDESMA B, RAMOS M, GÓMEZ-RUIZ J Á. Bioactive components of ovine and caprine cheese whey[J]. *Small Ruminant Research*, 2011, 101(1): 196-204.
- [2] 韩雪, 孙冰. 乳清蛋白的功能特性及应用[J]. *中国乳品工业*, 2003, 31(3): 28-30.
- [3] 唐传核, 杨晓泉, 彭志英, 等. 微生物转谷氨酰胺酶催化乳清蛋白聚合研究[J]. *中国乳品工业*, 2002, 30(6): 11-14.
- [4] 杨晓泉, 陈中, 赵谋明. 转谷氨酰胺酶催化大豆蛋白和乳清蛋白合成耐热性聚合蛋白[J]. *中国粮油学报*, 2001, 16(2): 22-26.
- [5] 蔡惠农, 李亚玲, 陈发河. 谷氨酰胺转氨酶对酪蛋白的改性效应[J]. *食品科学*, 2004, 2(2): 107-111.
- [6] 黄志良, 宁正祥. 转谷氨酰胺酶对乳蛋白质的改性作用[J]. *食品工业科技*, 2002, 23(3): 77-79.
- [7] 赵晶, 张睿. 微生物谷氨酰胺转氨酶对乳清蛋白的改性[J]. *中国乳品工业*, 2004, 32(2): 36-39.
- [8] FAERGEMAND M, QVIST K B. Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel[J]. *Food Hydrocolloids*, 1997, 11(3): 287-292.
- [9] 刘萍, 李兴民, 刘毅, 等. 蛋清粉对乳清干酪产率及品质的影响[J]. *食品工业科技*, 2009, 30(10): 87-90.
- [10] 季妮娜, 项丽丽, 霍贵成. 乳清浓缩蛋白添加量对新鲜干酪品质影响的研究[J]. *食品科技*, 2010, 35(10): 83-87.
- [11] St-GELAIS D, HACHÉ S. Effect of β -casein concentration in cheese milk on rennet coagulation properties, cheese composition and cheese ripening[J]. *Food Research International*, 2005, 38(5): 523-531.
- [12] KUCHROO C N, FOX P F. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures[J]. *Milchwissenschaft*, 1982, 37(6): 331-335.
- [13] 郭本恒. 干酪[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [14] 卢晓明, 王培根, 任发政. 转谷氨酰胺酶交联乳蛋白对新鲜干酪特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(1): 179-181.
- [15] RYNNE N M, BERESFORD T P, KELLY A L, et al. Effect of milk pasteurization temperature and *in situ* whey protein denaturation on the composition, texture and heat-induced functionality of half-fat Cheddar cheese[J]. *International Dairy Journal*, 2004, 14(11): 989-1001.