

Q303 根霉种曲中高活性凝乳酶特性及 新型乳制品的研究

杜 鑫

(贵州省轻工业科学研究所, 贵州 贵阳 550007)

摘要: 通过 Q303 根霉三级种、3866 根霉三级种、冷干 Q303 根霉三级种、Q303 根霉四级种及其对应产品所酿醪糟浸出液与奶粉发生凝乳反应的各种因素试验发现, 高活性凝乳酶活力除了与温度、pH 值、添加量等因素有关外, 还与制成曲的干燥工艺有关, 同时利用醪糟浸出液的凝乳特性开发新型风味乳制品, 可为凝乳酶生产菌种的选育提供资源及制备方法。

关键词: 贵州小曲; Q303 根霉三级种; 冷冻干燥; 凝乳酶活力; 醪糟浸出液

中图分类号: TS261.1; Q93-3; TS252

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2013)02-0061-04

Research on the Properties of High-activity Rennin in Q303 *Rhizopus* Koji Seeds and Its Newly-developed Dairy Product

DU Xin

(Guizhou Provincial Light Industry Scientific Research Institute, Guiyang, Guizhou 550007, China)

Abstract: Through the analysis of the coagulation reaction between milk powder and fermented glutinous rice lixivium fermented by Q303 the 3rd-generation *rhizopus* strain, 3866 the 3rd-generation *rhizopus* strain, freeze-drying Q303 the 3rd-generation *rhizopus* strain, and Q303 the 4th-generation *rhizopus* strain respectively, it was revealed that rennin activity was closely related to temperature, pH value, addition level, and drying technology of product koji. Besides, new-flavor dairy product had been developed by the use of the coagulating properties of fermented glutinous rice lixivium, which could provide useful reference for the breeding of rennin strains for industrial production. (Tran. by YUE Yang)

Key words: Guizhou Xiaoku; Q303 the 3rd-generation *rhizopus* strain; freeze-drying; rennin activity; fermented glutinous rice lixivium

近年来,随着乳品行业的高速发展,人们对发酵乳制品的需求也日益增加,从小牛皱胃中提取的皱胃酶产量已经不能满足干酪生产的需要,此现状迫使人们不得不寻找其他凝乳酶来代替小牛皱胃酶,因此国内外学者致力于寻找动物源凝乳酶的替代品。随着微生物源凝乳酶来源的不断扩大及基因技术的不断发展,该领域逐渐成为近年来的研究热点。由于微生物源凝乳酶具有来源广、生长周期短等优点,是最具有发展潜力的方向^[1]。酿酒微生物菌种根霉菌是我所在 1978 年曾获全国科学大会奖、1988 年获贵州省科技成果进步一等奖的研究成果,其生产历史已有 50 多年,其技术及产品已遍布全国 20 多个省市,广泛应用在为小曲酒曲药厂家提供优良的糖化继代发酵菌种,酿制小曲酒及传统风味食品甜酒酿(醪糟)等领域,表现出卓越性,由此获得了良好的行业口碑。然而,根霉菌的应用也远非如此,在其他行业其应用是否也

能为大家所认可,根霉菌生长过程还会分泌除 α -淀粉酶、葡糖淀粉酶为主的酶系^[2]外还会分泌凝乳酶吗?本课题立足于此,以 Q303 根霉三级种、3866 根霉三级种、冷冻干燥 Q303 根霉三级种、Q303 根霉四级种所酿制的醪糟浸出液以及由其直接进行凝乳酶产酶活力方面的诸多试验,其中,酒酿浸出液凝乳特性的研究是小曲中高凝乳酶产生菌种的筛选、基础。

本研究旨在从纯种根霉菌发现产高活力凝乳酶的根霉菌,为凝乳酶生产菌种的选育提供参考依据。同时利用酒酿浸出液的凝乳特性开发新型风味乳品。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、仪器

菌种: Q303 菌种, 3866 菌种, Q303、3866 根霉三级种、四级种, 贵州省轻工业科学研究所提供。

收稿日期: 2012-08-30

作者简介: 杜鑫(1963-), 男, 贵州人, 发酵工艺高级工程师, 曾获省科技成果三等奖, 发表科技论文多篇。

奶粉:市购。

仪器设备:水浴锅、无菌接种箱、冰箱。

1.2 实验方法

1.2.1 三、四级曲生产工艺流程

Q303 根霉三级种、根霉 3866 三级种、冷干 Q303 根霉三级种及 Q303 四级曲的生产见图 1。

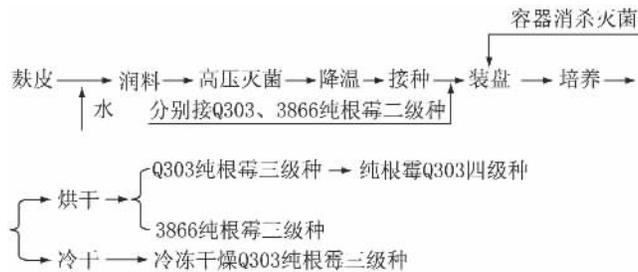


图 1 三级、四级种曲生产工艺流程

其中, 冷冻干燥纯种 Q303 纯根霉三级种获取工艺操作要点为: 将处于培养结束阶段的纯根霉菌三级 Q303 菌种接入 5 mm 厚的经无菌处理的过滤袋中, 扎紧后置于 4 °C 冰箱中冷干即可。

1.2.2 醪糟浸出液的制作

取新鲜糯米 200 kg, 用清水浸泡 12 h 以上, 淘洗 2~3 次, 后进行常压蒸饭 1 h (以熟为度), 淋水冷却至 35 °C 左右后, 按 0.35 % 左右的量将纯种根霉三级种 Q303 根霉菌、3866 根霉菌、冷冻干燥的 Q303 根霉三级种、Q303 根霉四级种均匀拌入饭中, 再将饭装入玻璃瓶中, 搭窝, 以瓶盖盖口, 送入培养间在 30~33 °C 下发酵 48 h, 2 瓶(920 g/瓶); 取出浸出液, 浸出液经 4000 r/min 离心 20 min, 醪糟浸出液 pH 值分别为 3.8、3.6、3.8、3.8 以上, 浸出液记为 A1、A2、A3、A4, 分别置于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.2.3 凝乳活力相对活性

按 1.2.2 取各醪糟浸出液采用(MCA)的方法^[3]。取 5 mL 120 g/L 的脱脂乳, 在 36 °C 下保温 5 min, 加入 0.5 mL 醪糟浸出液, 于旋涡混合器上混合, 准确记录从加入酶液到乳凝固的时间(s)。将 40 min 凝固 1 mL 100 g/L 的脱脂乳的酶量定义为一个索氏单位 (Soxhelt unit), 并以相对活性 Ru 表示各因素的影响结果。

$$Su = \frac{2400}{0.05 T} \times 5 \times D$$

1.2.4 凝乳酶活力因素

1.2.4.1 温度

将奶粉配制成 12 % 的浓度, 分装于 100 mL 瓶中, 85 °C 杀菌 15 min。然后将培养好的醪糟浸出液加入杀菌乳中, 分别在 30 °C、35 °C、40 °C、45 °C、50 °C 下进行 Q303 根霉三级种浸液的凝乳实验。

1.2.4.2 不同醪糟浸出液接种量

将奶粉以 12 % 的浓度分装于 100 mL 瓶中, 85 °C 杀菌 15 min。然后将培养好的醪糟浸出液按具体的接种量加入杀菌乳中, 于 45 °C 水浴下进行凝乳实验。

1.2.4.3 不同种曲

将根霉 Q303 纯种三级种曲、根霉 3.866 三级种曲、冷干根霉 Q303 纯种三级种曲、Q303 纯种四级根霉菌曲分别接种于杀菌乳中, 于 45 °C 水浴下进行凝乳实验。

凝乳酶活力感官表示方法: 凝乳形成以时间表示; 凝乳形态以眼观察: 致密、均匀以 +、+、+、+ 表示, + 多表明凝乳活力强。

2 结果与分析

2.1 各醪糟浸出液相对活性的比较

按 1.2.3 方法, 进行液体摇瓶培养, 在 250 mL 三角瓶中各加入 50 mL 120 g/L 的脱脂乳。将各醪糟浸出液接种后于 36 °C 保温 5 min, 准确记录从加入酶液到乳凝固的时间(s), 凝乳活力测定结果以 SU/mL 表示。实验结果表明, 冷干 Q303 根霉三级种所酿醪糟浸出液为 36.81 SU/mL; Q303 根霉三级种所酿醪糟浸出液为 27.97 SU/mL; 3.866 根霉三级种所酿醪糟浸出液为 20.94 SU/mL; Q303 根霉四级种所酿醪糟浸出液为 15.23 SU/mL

经比较, 冷干 Q303 根霉三级种所酿醪糟浸出液凝乳活力最高, 其次是 Q303 根霉三级种所酿醪糟浸出液, 最差是 Q303 根霉四级种所酿醪糟浸出液。

2.2 温度对凝乳活力的影响

分别在 30 °C、35 °C、40 °C、45 °C、50 °C 下测定 Q303 根霉三级种浸液的凝乳剂活力, 结果见图 2。

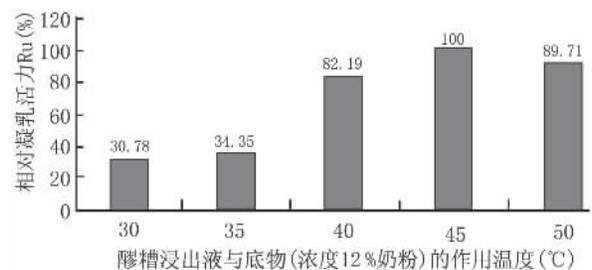


图 2 温度对凝乳活力的影响

醪糟浸出液与底物 (浓度 12 % 奶粉) 凝乳作用在 40~50 °C 范围内, 凝乳活力高, 相对凝乳活力也在 80 % 以上, 而且观察此范围内所制得的奶酪, 奶酪凝块结实、均匀, 乳清析出量少, 45 °C 时凝乳剂凝乳活力达最大值, 凝乳的各种外观性状也最优。

2.3 各种曲凝乳活力与 pH 值、时间、添加量等的关系

取奶粉配成 12 % 的浓度分装于 100 mL 瓶中, 85 °C 杀菌 15 min, 然后将培养好的备用醪糟浸出液按 5 %、

表1 凝乳试验

编号	试验底物奶粉		A1、A2、A3、B 试验浓度及装量	A1	A2	A3	A4
	浓度(%)	装量(mL)					
1	12	95	5%、5 mL	27 min 后 + 85 min 后 + + +	48 min 后 + 90 min 后 + + +	17 min 后 + 80 min 后 + + +	50 min 后 + 100 min 后 + + +
2		93	7%、7 mL	18 min 后 ++ 80 min 后 + + +	35 min 后 ++ 85 min 后 + + +	12 min 后 + 75 min 后 + + +	40 min 后 ++ 90 min 后 + + +
3		90	10%、10 mL	14 min 后 + + 65 min 后 + + +	26 min 后 ++ 75 min 后 + + +	10 min 后 + + 55 min 后 + + +	30 min 后 ++ 80 min 后 + + +
4		85	15%、15 mL	9 min 后 + + + 60 min 后 + + +	20 min 后 +++ 65 min 后 + + +	6 min 后 + + + 58 min 后 + + +	25 min 后 +++ 70 min 后 + + +

7%、10%、15% 4个添加量加入杀菌乳中,于45℃水浴下进行凝乳试验,结果见表1。

从酶学特性知道,影响凝乳活力的因素有温度、pH值、时间、添加量等^[1,4],温度因素已在2.1中确定。以下分析表述的是在确定其最佳凝乳温度45℃下进行的凝乳活力试验,由表1可看出:

①在合适的加量及温度下用冷干根霉Q303根霉三级种曲比根霉Q303纯种三级种曲、根霉3.866三级种曲所酿醪糟浸出液具有更强的凝乳活力(由表1的A3及表2的Q3与编号3、4、7、8交汇处可以看出)。由此可见,冷干根霉Q303三级种曲受冷干工艺的影响,其所酿醪糟浸出液与其他相比,即使在添加量相同的情况下仍具有较强的凝乳酶活力。Q303根霉三级种所酿甜酒汁凝乳酶活力次之,根霉四级种所酿醪糟浸出液凝乳酶活力,即A3>A1>A2>A4。据此除了此工艺的影响外;影响其汁的凝乳酶活力因素除了pH值外还与菌种本身所含的特有酶系成分有关,因Q303根霉三级种及冷干Q303根霉三级种所酿醪糟浸出液pH值为3.8,而3866根霉三级种所酿醪糟浸出液pH值为3.6,pH值高的醪糟浸出液所形成的凝乳致密、均匀,比pH值相对较低的甜酒汁效果好。以上是自然pH值,本研究采用0.1N的NaOH和0.1N的HCl来调整Q303根霉三级种所甜酒汁的pH值,静置24h后测定凝乳剂的凝乳活力,结果见图3。

醪糟浸出液的pH值为3.98时,凝乳活力最好;pH值为2.5~3.96时,随着pH值增大,凝乳活力迅速增强;pH值在3.96~4.6时,随着pH值的增加,凝乳活力迅速下降;pH值5.0~7.6时,凝乳活力很低,但此范围内酒酿浸出液凝乳活力随pH值变化不大。还有一种情况,当对醪糟液进巴氏杀菌凝乳活力试验,发现醪糟液没有凝乳活力,不结团、不成型,这说明pH值对凝乳的形成没有决定性的影响。结合凝乳的感官品质,认为醪糟浸出液pH值2.5~4.0之间为最适凝乳pH值,Q303根霉三级种及3866根霉三级种所酿醪糟浸出液其pH值均在此

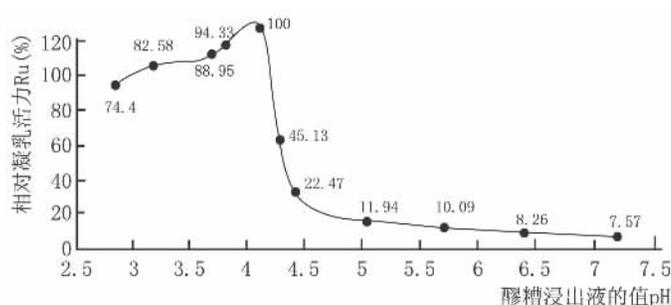


图3 醪糟浸出液pH值对凝乳稳定性的影响

围内,故此条件下所得凝乳均匀、结实、乳清含量少。由此认为,单菌株发酵浸出液的凝乳酶活力除了与pH值有关外,还与菌种的干燥工艺、菌种本身有关。当然这都要醪糟浸出液在适当的加量比例下得以体现。

②从表1编号4和表2编号5可以看出,时间对凝乳活力的影响,在10~14min内,凝乳成形,有凝乳生成,感官表示为++或+++;随着发酵时间延长,6~75min凝乳活力增加,凝乳活力达最大值,感官表示为+++或++++,本实验在以12%奶粉浓度为底物,浓度为10%及15%加量下需75min可达++++;因此,凝乳致密、均匀、结实。时间顺序表现为:A3>A1>A2,随后增加较慢,活力开始呈一定幅度下降。

③添加量适当非常重要,凝乳剂添加量不同,凝乳活力变化显著,添加量为5%时,即使温度、pH值在合理的范围内,凝乳酶活力也不会得到很好的发挥,活力是10%添加量的63.7%;添加量过多不经济;添加量少于1%,几乎不能形成凝块。添加量越少,活力越低,且所得的凝乳越松散,乳清析出量越多。

④产品的感官评定,选择凝乳活力表现为++++的Q303根霉三级种进行扩量试验。试验结果表明,无论是液态如“豆花状”的凝乳还是经模具压榨的奶酪制品,其制品与传统乳制品相比有其独特的蜜香味,口感滑润;特别是“豆花状”的凝乳经冰冻处理后,似奶乳冰淇淋。

2.4 单菌种直接添加作用底物的凝乳试验

取奶粉配成12%的浓度,分装于100mL瓶中,85℃

表2 单菌种凝乳试验结果

编号	试验底物奶粉		Q1、Q2、Q3、Q4 接种量		Q1	Q2	Q3	Q4
	浓度(%)	装量(mL)						
5	12	100	4%	0.4 g	1.2 h 后+ 18 h 后+++	1.8 h 后+ 18 h 后++	1 h 后+ 18 h 后++++	2 h 后+ 18 h 后++
6		100	6%	0.6 g	1.8 h 后+ 16 h 后+++	1.8 h 后+ 16 h 后++	1.8 h 后+ 16 h 后++++	1.8 h 后 / 16 h 后++
7		100	8%	0.8 g	55 min 后+ 75 min 后+++	65 min 后+ 75 min 后++	53 min 后+ 75 min 后++++	53 min 后 / 70 min 后++
8		100	10%	1 g	55 min 后+ 75 min 后+++	65 min 后+ 80 min 后+++	53 min 后+ 70 min 后++++	53 min 后 / 53 min 后++

杀菌 15 min。将根霉 Q303 纯种三级种曲(标记 Q1)、根霉 3.866 纯种三级种曲(标记 Q2)、冷干根霉 Q303 纯种三级种曲(标记 Q3)、Q303 纯种四级根霉菌(标记 Q4)分别按 4%、6%、8%、10% 接种于杀菌乳中,于 45℃ 水浴下进行凝乳实验,试验结果见表 2。

从表 2 可以看出,根霉三级种曲与根霉三级种做成醪糟浸出液加入底物奶粉中是有些区别的。总体来说与 2.3 试验结果相近,只是凝乳时间延后了,在接种量 8% 时,反应时间到 75 min 时冷干根霉 Q303 纯种三级种曲、根霉 Q303 纯种三级种曲、根霉 3.866 纯种三级种曲的凝乳活力分别为 +++++、+++、++; 而 Q303 根霉四级曲在反应时间为 53 min 时凝乳活力只有 ++,因而可以判断凝乳酶活力次序为:Q3>Q1>Q2>Q4,因此,凝乳活力最强的是冷干根霉 Q303 纯种三级种曲,最差的是 Q303 纯种四级根霉菌。此外在选择凝乳试验接种量时,可选择 10%,但比较而言,接种量为 8% 更具有优势。在对干根霉 Q303 粉状曲采用在 35℃ 水温,加入 pH4.6 乙酸-乙酸钠缓冲液保温浸提 1 h,脱脂棉过滤,获 10% 的浸提液,然后按其适当比例加入其中,结果凝乳出现的时间就与单菌株所酿醪糟浸出液加入的反应时间接近;再则,把单菌株的优良菌作为凝乳酶制剂来源菌对其制作曲进行提纯,其所获结果肯定有较大差异。

3 结论

3.1 通过 Q303 根霉三级种、3866 根霉三级种、冷干 Q303 根霉三级种、Q303 根霉四级种及其对应产品所酿

醪糟浸出液与奶粉发生凝乳反应的各种因素的试验中,发现高活性凝乳酶活力除了与温度、pH 值、添加量等因素有关外,还与单菌株制成曲的干燥工艺有关。

3.2 单菌株制成曲的冷冻干燥工艺对凝乳酶活力有重要的影响,冷干根霉 Q303 纯种三级种曲由于采用低温处理技术,凝乳酶活性及其他酶活性得到了最大程度的保存。因此,选择其作为凝乳酶制备的凝乳剂,但冷干工艺干燥技术存在投资成本较大,因而在实际中的应用会有困难。

3.3 根霉 Q303 纯种三级种曲是我所的研究培育的 1 株新菌种,已在酿酒小曲领域运用多年,系纯种制曲。在不投入太多的资金的情况下,可作为凝乳酶制备的高产菌种。

3.4 利用酿醪糟浸出液的凝乳特性开发新型风味乳制品,不仅产品的色香味俱全,也是一种简单获取凝乳制品的方法。

参考文献:

- [1] 吴进菊,徐尔尼,张凤英.中国曲中凝乳酶高产菌株的筛选及产酶条件的研究[J].中国食品学报,2009(1):124-129.
- [2] 张红梅,刘钟滨.凝乳酶的研究进展[J].中国乳品工业,2011(8):40-43.
- [3] 刘振民,骆承库.药酒中凝乳酶菌株筛选及产酶条件的研究[J].食品科学,2000(7):13-16.
- [4] 张树政.酶制剂工业[M].上海:科学出版社,1900.
- [5] 吴进菊,徐尔尼,张凤英.中国曲中凝乳酶高产菌株的筛选及产酶条件的研究[J].中国食品学报,2009(1):124-129.

湖北枝江酒业产品结构调整成效显著

本刊讯 2013年1月8日,笔者从湖北省枝江市经济和信息化局获悉,2012年12月底,枝江酒类销售有限责任公司年终报表显示,全年百年枝江韵系列产品销售40万箱,同比增长200%;枝江1818销售20万箱,同比增长30%;新10年枝江王销售50万箱,同比增长60%;小金版销售45万箱,同比增长25%……这是湖北枝江酒业集团2012年大力调整产品结构取得的成效。据了解,年初湖北枝江酒业成立以总经理牵头的产品结构调整小组,每月定期组织销售、设计和生产等相关部门,逐步对300多个系列产品进行梳理、整合,形成了以“楚天神韵、大师原酌、谦泰吉、百年枝江”为龙头的高端产品线,以“1818、枝江王、经典和星级”为主导的中档产品线,以“金枝江、银枝江、精品、古酒精装盒装酒、特曲、精制大曲、礼意酒”光瓶与普装酒为两翼的普通产品线,产品主线结构更加清晰明了,更便于包装材料及物料集中采购、生产快速供货、及时满足销售需求。(杨至爱,曾义胜)