

产凝乳酶乳酸菌的筛选及其在鲜奶酪中的应用

孙洁^{1,2}, 黄 苓^{1,2}, 吴爱娟^{1,2}, 曾志丹^{1,2}, 曾小群^{1,2*}, 潘道东^{1,2}, 吴 振^{1,2}

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211;

2. 宁波大学 浙江省动物蛋白食品精深加工技术重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 实验以脱脂乳为原料, 从 20 株源于新疆传统酸奶的乳酸菌中筛选出 3 株高产凝乳酶的乳酸菌。以凝乳活性最高的菌株组合为发酵剂, 通过单因素及响应面实验, 优化鲜奶酪发酵的接种量、发酵时间、后熟时间。结果表明, 以植物乳杆菌 RC₅ 为发酵剂, 其最适发酵工艺为: 接种量 5%, 38 °C 发酵时间 14.5 h, 4 °C 后熟时间 60 min。在该条件下发酵成的鲜奶酪凝乳效果好, 色泽均匀, 奶味浓郁, 口感细腻, 为以乳酸菌产凝乳酶代替凝乳酶粉的研究和应用提供基础。

关键词: 乳酸菌; 凝乳酶; 筛选; 鲜奶酪; 发酵工艺

中图分类号: Q939.11+7

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2017) 06-0036-06

奶酪是通过凝乳、分离乳清等加工工艺将牛乳、脱脂乳、奶油以及酪乳或以这些原料的混合物制得的新鲜或发酵成熟的乳制品^[1]。研究表明, 新鲜奶酪富含蛋白质、氨基酸、矿物质和活性肽等, 也含有部分人体必须的矿物质, 其含钙量是纯牛奶的 4~8 倍^[2-3], 优质蛋白质的消化率达到 96%~98%。被世界各国称为“乳制品之王”的奶酪具有营养价值丰富, 防癌、降血压等特性^[4]。近年来, 随着人们对生活水平意识的不断提高, 奶酪制品逐渐成为乳制品新的消费热点。

牛乳凝结是通过水解 κ -酪蛋白中 Phe105-Met106 肽键^[5], 制作干酪时凝固牛乳用的酶制剂是凝乳酶。具有高凝乳酶活性与低蛋白水解活力特性的小牛皱胃酶是传统奶酪加工中使用的凝乳酶^[6]。由于人们对奶酪需求量不断增加, 小牛皱胃酶的供应出现了世界性的短缺。因此, 国内外研究学者展开了大量的研究来寻找小牛皱胃酶的替代物, 利用微生物生产凝乳酶成为目前的研究热点和最有效的发展途径^[7]。研究发现能够产生凝乳酶的微生物包括真菌、细菌、放线菌等 40 余种^[8]。真菌是产凝乳酶的主要微生物, 如 *Rhizomucor* spp.、*Mucor* spp.、*Aspergillus* spp.、*Rhizopus arrhizus* F34

等, 还有 *Bacillus* spp. 等细菌^[9-12]。用于产凝乳酶最多的是微小毛霉, 其凝乳酶对牛乳的凝固作用较强^[13]。朱宏^[14]、徐速^[15]、矫庆华等^[16]、吕晓玲等^[17]分别研究了高产微小毛霉凝乳酶菌株的筛选、最佳凝乳条件、凝乳酶的酶学特性及最佳发酵条件。但利用真菌和芽孢杆菌等细菌发酵产凝乳酶以及凝乳酶的分离纯化, 操作工艺复杂, 为奶酪生产增加了成本; 而乳酸菌是生产奶酪必需的益生菌, 目前尚鲜见筛选产凝乳酶的乳酸菌并应用于奶酪生产方面的报道。

本文从 20 株来源于新疆传统酸奶的乳酸菌中筛选出产凝乳酶乳酸菌, 并对其工艺条件的优化, 以凝乳活性最高的菌株为发酵剂, 通过单因素及响应面实验, 优化鲜奶酪发酵的接种量、发酵时间、后熟时间, 为进一步研究利用微生物产凝乳酶及应用于鲜奶酪的生产提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

来源于新疆传统酸奶的 20 株乳酸菌中筛选产凝乳酶的乳酸菌, 经生理生化实验和 16S rRNA 序列比对鉴定, 其中 H₂、H₃、A₁、A₃ 为发酵乳杆菌, 来

收稿日期: 2017-04-07.

宁波大学学报(理工版) 网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(41641052, 41406165), 宁波市科技富民项目(2017C10042)。

第一作者: 孙洁(1991-), 女, 河南鹤壁人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 食品微生物。E-mail: sunjie1201@126.com

*通信作者: 曾小群(1982-), 女, 四川仁寿人, 博士/副教授, 主要研究方向: 发酵食品加工。E-mail: zxqun3447@126.com

源于新疆酸马奶;干酪乳杆菌 S₁、S₄ 来源于新疆酸羊奶;发酵乳杆菌 B₃、B₅ 来源于新疆酸牛奶;发酵乳杆菌 RA₃、RB₂、RB₃、RC₂, 植物乳杆菌 RC₁、RC₅、RA₄、RA₅、RB₁ 来自于新疆与俄罗斯交界处的酸马奶;SM₇、H₁、H₄ 为干酪乳杆菌,来自于新疆酸马奶^[18];上述菌种均为本实验室保存。脱脂奶粉:内蒙古伊利实业集团股份有限公司;白糖:盐城蜜园食品有限公司。

1.2 仪器与设备

DK-8D 型电热恒温水槽:上海一恒科技有限公司;DKS-26 电热恒温水浴锅:宁波江南仪器厂;HWS 智能型恒温恒湿培养箱:宁波江南仪器厂;LDZX-50KB 立式压力蒸汽灭菌器:上海申安医疗器械厂;冰箱:海尔集团公司;电磁炉:美的集团有限公司;H2050R-2 离心机:长沙湘仪离心机仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验总体流程

20 株乳酸菌→活化(3 次)→培养(35 °C, 24 h)→测各菌株的凝乳酶活性→筛选出 3 株凝乳活性最高的乳酸菌→排列组合按上述方法择出凝乳活性最好的组合→以最佳组合作为发酵剂,在接种量、发酵时间、后熟时间的单因素实验中选出感官评定得分最高的 3 个水平→利用响应面分析软件→确定最佳工艺条件。

1.3.2 凝乳酶活性测定方法

培养好的 20 株菌液 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液, 制备 5 mL 的 100 g·L⁻¹ 脱脂乳液 60 管, 在 65 °C 水浴锅中水浴加热 15 min, 取出后稍冷却, 再放入 35 °C 水浴锅中保温 5 min, 加入 0.5 mL 上述保温的酶液, 立即摇匀, 准确记录从加入酶液到管壁上出现絮状沉淀的时间(凝乳时间)。40 min 凝固 1 mL 100 g·L⁻¹ 脱脂乳的酶量可定义为 1 个索氏单位(Soxheh unit, SU)^[19], 计算各管的凝乳酶活力值(Milking-Clotting Enzyme, MCE), 取平均值, 筛选出 MCE 值最大的 3 株菌, 分别排列组合, 组合中各乳酸菌等体积混合, 总计 0.5 mL, 比较得出最大的 MCE 值, 相应组合即为本实验所需发酵剂。

$$M_{MCE} = \frac{2\,400 \times V_1 \times n}{t \times V_2} [20],$$

式中, M_{MCE} 为凝乳酶活性, SU·mL⁻¹; V_1 为脱脂牛

奶溶液体积, mL; V_2 为加酶体积, mL; t 为凝乳时间, s; n 为稀释倍数; 2 400 为将 40 min 换算成秒。

1.3.3 鲜奶酪加工工艺流程

脱脂乳→杀菌(巴氏 65 °C, 15 min)→冷却至室温(30 °C)→接种→添加 5% 的白糖→恒温恒湿培养(38 °C, 15 h)→后熟(4 °C)→二次发酵→排乳清→水洗→加盐→成品。

1.3.4 感官评定法

成立 10 人感官评定小组对奶酪色泽、口感、气味、凝乳效果进行感官评定, 评定一个样品后, 注意每个感官评定人员在品尝奶酪前都要用温水漱口, 避免样品间的影响, 感官评定标准参考文献[21-23]略有改动(表 1)。

表 1 鲜奶酪的感官评定标准

指标	评分标准	分值
色泽	微黄色或乳白色、颜色不均匀	0~10
(20 分)	颜色均匀、有光泽、微黄色	10~20
气味	香味较淡	0~10
(20 分)	奶味浓郁, 无异味	10~20
	口感粗糙、苦涩	0~10
口感	有酸奶味道、口感细腻、稍带苦涩	10~20
(30 分)	酸甜可口、滑嫩细腻、有奶酪特有的滋味、无异味	20~30
	凝乳效果不完全、无弹性、分层、无乳析出、松散不成形	0~10
组织状态	凝乳较完全、均匀一致、少量乳清析出、稍软、略松散	10~20
(30 分)	细腻均匀、软硬适度、有弹性、有乳析出、凝乳完全不松散	20~30

1.3.5 接种量、发酵时间、后熟时间确定

称取 100 g 脱脂奶粉, 加 500 mL 蒸馏水, 搅拌溶解, 65 °C 水浴加热 15 min, 取出冷却至室温。将冷却后的脱脂奶粉液体均匀分成 5 份。分别接种 1%, 2%, 3%, 4%, 5% 乳酸菌菌液, 摇匀, 再在各加入 5% 的白糖, 摇匀, 置于 38 °C 的恒温恒湿培养箱中培养 15 h, 取出后于 4 °C 冰箱中后熟 45 min, 最后进行感官评定, 确定最佳接种量的 3 个水平; 在培养 14.5, 15, 15.5, 16, 16.5 h 时分别感官评定确定最佳发酵时间的; 分别于 4 °C 冰箱中后熟 15, 30, 45, 60, 75 min, 通过感官评定确定最佳后熟时间。

1.3.6 响应面分析法

通过单因素实验初步确定 3 个变量的 3 个水平

之后,利用响应面分析法设计实验.接种量(X_1)、发酵时间(X_2)、后熟时间(X_3)作为优化鲜奶酪加工工艺的独立变量,以感官评定得分(Y)为响应值进行响应面分析.

2 结果与分析

2.1 凝乳酶活性测定结果与分析

2.1.1 各菌种的凝乳酶活性

20种菌种的凝乳酶活性如图1所示.比较平均MCE的大小,由此就可以筛选出平均MCE值最大的3株菌种,即 RC_5 、 A_1 、 B_5 ,其凝乳酶活性分别为0.427, 0.373和0.373 $SU \cdot mL^{-1}$.

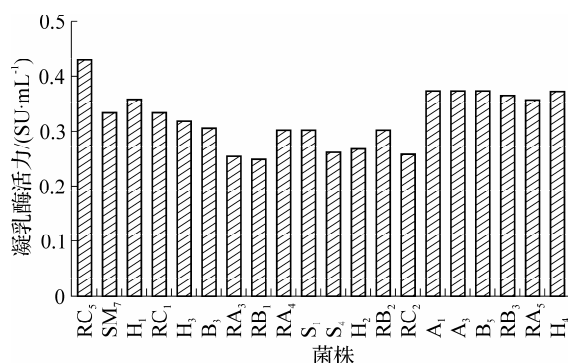


图1 20株乳酸菌的凝乳酶活性

2.1.2 各乳酸菌组合的凝乳酶活性

由图2可知,平均SU最大的为组合1,即 RC_5 单独发酵,其凝乳酶活性为0.410 $SU \cdot mL^{-1}$,菌株组合的协同作用未能增加乳酸菌的凝乳酶活性.所以,选用菌株 RC_5 即为本实验所用发酵剂.后续鲜奶酪的工艺优化实验以菌株 RC_5 作为发酵剂进行.

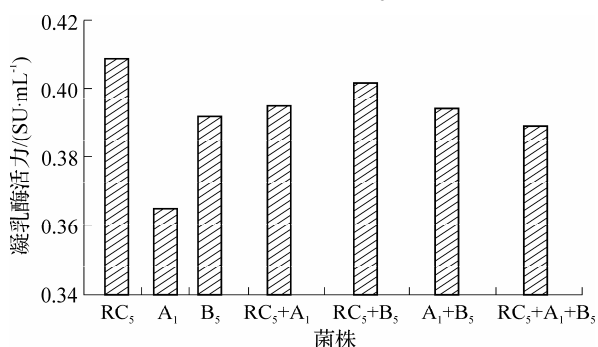


图2 各乳酸菌组合的凝乳酶活性

2.2 单因素实验结果与分析

从图3(a)可以看出,接种量对鲜奶酪品质有显著影响,但其影响不规则,随着接种量的增大,感官评定得分在上下波动,可从中确定3个水平分别

是2%、4%和5%.

发酵时间对鲜奶酪品质的影响结果如图3(b)所示.发酵时间对鲜奶酪具有显著影响,发酵时间在15h之前感官评定得分随发酵时间的增加而增加,当发酵时间大于15h时,感官评定得分却随着发酵时间的增加而减小,且减小幅度也慢慢变小,本株细菌感官评分随发酵时间先增后降,变化趋势与淀粉丝菌发酵产凝乳酶相似^[24].因此确定的3个水平分别是14.5, 15, 15.5 h.

从图3(c)可见,后熟时间对鲜奶酪品质也有影响,且影响是先上升后下降,当后熟时间在30min前时,感官评定得分随后熟时间的增加而增加,后熟时间大于30min时,感官评定得分随后熟时间的增加而减小,且减小趋势没有30min前增加的趋势明显.因此选取3个水平是30, 45, 60 min.

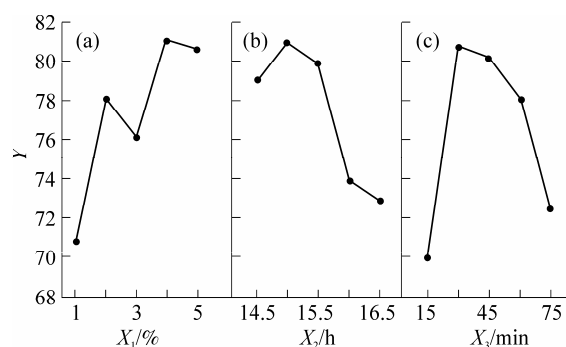


图3 各因素对鲜奶酪品质的影响

2.3 响应面分析法结果与分析

响应面分析软件 Design-Expert 的结果分析见表2.

表2 Box-Behnken Design 结果

编号	$X_1/\%$	X_2/h	X_3/min	Y
1	2	14.5	45	77
2	5	15.0	60	83
3	2	15.0	45	81
4	2	11.5	30	73
5	5	15.0	30	73
6	5	15.5	45	82
7	4	15.0	45	81
8	4	15.0	45	81
9	4	15.5	30	88
10	2	15.5	45	84
11	4	14.5	60	85
12	5	14.5	45	79

续表				
编号	$X_1/\%$	X_2/h	X_3/min	Y
13	2	15.0	60	83
14	4	14.5	30	73
15	4	15.0	45	81
16	4	15.0	45	81
17	4	15.5	60	73

通过 Design-Expert 软件对实验数据进行多元回归分析, 得到感官评定得分(Y)对接种量(X_1)、发酵时间(X_2)、后熟时间(X_3)的二次多项回归模型方程如下:

$$Y=79.88+1.63X_2+2.13X_3-X_1X_2-6.75X_2X_3.$$

Design-Expert 软件对响应面模型的显著性分析结果见表 3, 通过对二次回归模型的方差分析, 得到该模型是显著的, 该模型的 F 值为 4.31, 且有 2.10% 概率导致 F 值增大, 此外也可看出, X_2X_3 影响显著($P<0.05$), 其他系数影响不显著($P>0.05$), 说明该模型可以很好地预测结果.

通过 Design-Expert 软件绘制等高线图和响应面曲线, 确定每个变量的最佳水平, 从而获得最大响应. 三维响应面图如图 4 所示. 由图可见, 后熟时间和发酵时间对感官评定得分影响显著, 表现为响应面曲线十分陡峭, 接种量和后熟时间对感官评定得分的影响不显著, 响应面曲线几近平滑无弧度.

通过软件分析及回归数学模型分析可知, 鲜奶酪发酵的最佳加工工艺条件如下: 接种量为 5%, 发酵时间为 14.5 h, 后熟时间为 60 min, 在此条件下鲜奶酪的感官评定得分最高, 为 88.13.

3 讨论

凝乳酶是奶酪加工中使乳液凝固的关键酶, 凝乳酶的高凝乳活性以及低非特异蛋白水解活性对奶酪质构形成和特有风味形成有十分重要的作用^[25]. 凝乳酶的作用是专一性水解乳中 κ -酪蛋白多肽链 105~106 位苯丙氨酸和甲硫氨酸之间的肽

表 3 Box-Behnken Design 方差分析

项目	平方和	自由度	均方	F 值	Prob> F
模型	243.50	6	40.58	4.31	0.021 0
X_1	-5.684e-014	1	-5.684e-014	-6.030e-015	1.000 0
X_2	21.12	1	21.12	2.24	0.165 3
X_3	36.12	1	36.12	3.83	0.078 7
X_1X_2	4.00	1	4.00	0.42	0.529 5
X_1X_3	-5.684e-014	1	-5.684e-014	-6.030e-015	1.000 0
X_2X_3	182.25	1	182.25	19.33	0.001 3
残差	94.26	10	9.43	-	-
失拟项	94.26	6	15.71	-	-
纯误差	0.00	4	0.0000	-	-
总误差	337.76	16	-	-	-

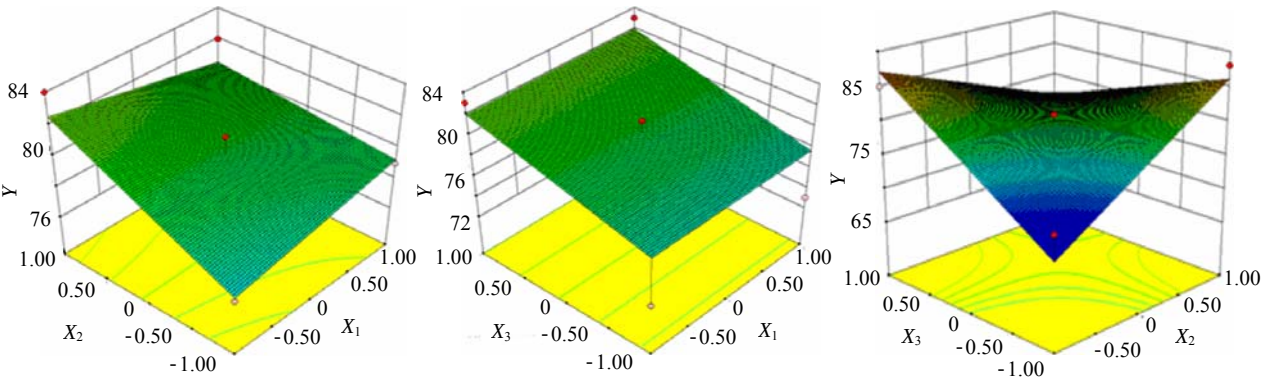


图 4 各因素对鲜奶酪感官评定的响应面图

键,形成稳定的副 κ -酪蛋白及亲水性的糖巨肽。且当总 κ -酪蛋白被水解掉约85%时,在 Ca^{2+} 存在下在酪蛋白胶粒间形成的化学键形成凝胶。凝乳活性越高,越有利于奶酪的凝固;但由于蛋白水解活性越高,会水解牛奶蛋白,产生苦味肽等物质,导致奶酪产生苦味。所以能快速、专一地打开 κ -酪蛋白的Phe105-Met106键,且水解其他肽键的蛋白水解能力低是理想的凝乳酶^[26]。最早报道的产凝乳酶细菌是多粘芽孢杆菌,与小牛凝乳酶相比,其凝乳酶蛋白质水解程度大,乳清发生浑浊,干酪产生苦味^[27]。Li等^[12]研究表明*B. subtilis* YB-3产凝乳酶其活力为 $200 \text{ SU} \cdot \text{mL}^{-1}$,虽然酶活力相对较高,但可产生苦味物质。目前报道具有产凝乳酶活性的菌属有刘振民等^[28]报道酒药中的根霉,放线菌中链霉菌属,马杜拉放线菌属和小单孢菌属^[29],但因它们蛋白水解活性高,且酶的热稳定性高,所以也不适合单独用于奶酪生产。据研究,真菌微小毛霉黑毛霉和栗疫菌等产生的凝乳酶性质适合于奶酪生产,其中研究最为广泛的产凝乳酶种属是毛霉属和根毛霉属,发酵产凝乳酶的最适发酵时间为3~8 d^[30]。陈文强^[31]研究表明,丝状真菌黑毛霉 ATCC16457产凝乳酶活力达到 $21 \text{ SU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。宋曦等^[32]研究得出,地衣芽孢杆菌 D3.11在发酵72 h时凝乳酶活力达 $89.56 \text{ SU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。本实验所得到的乳酸菌产凝乳酶活性为 $0.410 \text{ SU} \cdot \text{mL}^{-1}$,虽然低于其他菌种,但尚未见产凝乳酶乳酸菌的报道。乳酸菌为安全的益生菌,能调节人体微生态平衡,可直接添加于发酵乳制品中。利用产凝乳酶的乳酸菌生产鲜奶酪,不需要外源添加凝乳酶,降低生产成本,并且鲜奶酪口感好,无苦味,鲜奶酪营养价值增加。本试验所选用的菌种为来源于我国新疆地区传统发酵乳制品,这里环境独特,地域辽阔,少数民族牧民们采用传统的方法以牛乳、马乳等为原料生产发酵乳制品,其中存在长期经自然筛选后适合于发酵的优势菌种。本试验利用产凝乳酶的植物乳杆菌 RC₅生产鲜奶酪,其凝乳时间最短,为15 h左右,无乳清析出,鲜奶酪色泽均匀,奶味浓郁,口感细腻不苦,表明该菌的凝乳活性较好,蛋白水解活性较低,适合生产鲜奶酪;并且将产凝乳酶的乳酸菌直接应用于鲜奶酪生产,简化工艺,节约了成本,品质佳,为直接利用益生菌生产不添

加凝乳酶的鲜奶酪奠定研究基础和技术支持。

参考文献:

- [1] 孙万成. 壳聚糖优化制作新鲜奶酪的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(19):11928-11929.
- [2] 崔惠玲, 李彦林. 凝乳酶及氯化钙的添加量对凝乳及成品质量的影响[J]. 漯河职业技术学院学报, 2008, 7(5): 93-95.
- [3] 徐桂花, 尤丽琴, 张洁. 软质奶酪加工工艺研究[J]. 农业科学研究, 2009, 30(2):38-40.
- [4] 谢爱英, 张税丽, 刘安荣, 等. 干酪加工工艺的国内研究现状[J]. 食品科技, 2008, 34(9):65-68.
- [5] BRUNO M A, LAZZA C M, ERRASTI M E, et al. Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from *Bromelia hieronymi* fruits[J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(4):695-701.
- [6] NEELAKANTAN S, MOHANTY A K, KAUSHIK J K. Production and use of microbial enzymes for dairy processing[J]. Current Science, 1999, 77(1):143-148.
- [7] 杭锋, 洪青, 王钦博, 等. 凝乳酶的研究进展[J]. 食品科学, 2016(3):273-279.
- [8] 韩玲玲, 潘道东. 根霉产凝乳酶的固态发酵条件优化[J]. 食品科学, 2010, 31(9):156-160.
- [9] 杨永龙, 任宪峰, 张杰, 等. 蓝纹奶酪生产工艺及质量控制[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(11):40-43.
- [10] 张健, 杨贞耐. 生物技术在干酪加工中的应用[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(2):48-52.
- [11] 刘会平, 马俪珍. Mozzarella 干酪加工过程中主要理化指标变化及其产率计算[J]. 农业工程学报, 2006, 22(3): 148-152.
- [12] LI Y, LIANG S, ZHI D, et al. Purification and characterization of *Bacillus subtilis* milk-clotting enzyme from Tibet Plateau and its potential use in yak dairy industry[J]. European Food Research and Technology, 2012, 234(4): 733-741.
- [13] 吴进菊, 徐尔尼, 张凤英, 等. 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, 9(1):124-129.
- [14] 朱宏. 微生物凝乳剂的研制及其在干酪生产中的应用[D]. 哈尔滨: 东北农学院, 1992.
- [15] 徐速. 影响微小毛霉凝乳酶活力的因素[J]. 生物技术, 1996, 6(4):28-30.
- [16] 矫庆华, 钱世钧, 孟广震. 微小毛霉凝乳酶的生物合成和性质的研究[J]. 微生物学报, 1992, 32(1):30-35.
- [17] 吕晓玲, 窦小义, 姚秀玲, 等. 微小毛霉凝乳酶摇瓶发酵的基本条件初探[J]. 天津轻工业学院学报, 1996(2): 37-41.

- [18] 魏艳, 曾小群, 潘道东, 等. 新疆地区不同酸奶中优势乳酸菌的分离与鉴定[J]. 中国食品学报, 2012, 12(12): 161-166.
- [19] 阮小华, 冯玉萍, 马忠仁, 等. 羔羊皱胃酶和微生物凝乳酶部分特性的探讨[J]. 家畜生态学报, 2009, 30(3): 28-31.
- [20] PREETHA S, BOOPATHY R. Purification and characterization of a milk clotting protease from *Rhizomucor miehei*[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 1997, 13(5):573-578.
- [21] DE LIMA C J B, CORTEZI M, LOVAGLIO R B, et al. Production of rennet in submerged fermentation with the filamentous fungus *Mucor miehei* NRRL 3420[J]. World Applied Science Journal, 2008(4):578-585.
- [22] VENERA G D, MACHALINSKI C, ZUM'ARRAGA H, et al. Further characterization and kinetic parameter determination of a milk-clotting protease from *Mucor bacilliformis*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1997, 68(3):207-216.
- [23] FAZOUANENAIMI F, MECHAKRA A, ABDELLAOUI R, et al. Characterization and cheese-making properties of rennet-like enzyme produced by a local Algerian isolate of *Aspergillus niger*[J]. Food Biotechnology, 2010, 24(3): 258-269.
- [24] YU P, CHOU C. Factors affecting the growth and production of milk-clotting enzyme by *Amylomyces rouxii* in rice liquid medium[J]. Food Technology and Biotechnology, 2005, 43(3):283-288.
- [25] 苏光宇. 影响凝乳酶活性的研究[J]. 内蒙古科技与技术, 2006(11):120-121.
- [26] 周俊清. 产高效凝乳酶菌株获得方法的探讨[J]. 食品科学, 2005, 26(3):253-256.
- [27] 李学朋, 梁琪, 师希雄, 等. 产凝乳酶微生物的研究概况[J]. 中国酿造, 2014, 33(4):13-18.
- [28] 刘振民, 刘辉. 酒药中凝乳酶菌株筛选及产酶条件研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(5):8-11.
- [29] 郭光远, 姜成林, 马俊. 微生物凝乳酶的研究 I: 菌株的筛选、发酵、制备及毒性[J]. 微生物学通报, 1988, 15(5):207-210.
- [30] SHIEH C, THI L P, SHIH I. Milk-clotting enzymes produced by culture of *Bacillus subtilis* natto[J]. Biochemical Engineering Journal, 2009, 43(1):85-91.
- [31] 陈文强. 丝状真菌产凝乳酶生物特性的研究[J]. 中国新技术新产品, 2013(3):28-28.
- [32] 宋曦, 甘伯中, 贺晓玲, 等. 天祝放牧牦牛生活环境土壤中一株产凝乳酶细菌[J]. 食品科学, 2009, 30(11):158-162.

Screening of lactic acid bacteria with rennin activity and its application in fresh cheese

SUN Jie^{1,2}, HUANG Ling^{1,2}, WU Ai-juan^{1,2}, ZENG Zhi-dan^{1,2}, ZENG Xiao-qun^{1,2*}, PAN Dao-dong^{1,2}, WU Zhen^{1,2}

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Key Laboratory of Animal Protein Food Processing Technology of Zhejiang Province, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Three strains of lactic acid bacteria with high activity of rennin were screened from 20 lactobacillus strains of traditional yoghurt in Xinjiang Province. The optional combination of the 3 strains with the highest rennin activity was subsequently used to prepare fresh cheese. The effects of inoculum concentration, fermentation time and ripening time on sensory evaluation were detected through single factor experiments and response surface experiment. The results showed that RC₅ had the best curd effect. The optimal fermentation processes were 5% inoculums concentration, 14.5 h of fermentation at 38 °C and 60 min of ripening at 4 °C. The fresh cheese fermented in this condition had good curd effect, uniform color, rich aroma of milk and delicate taste. This study suggests that rennet originated from lactic acid bacteria instead of rennet powder enabled to produce fresh cheese.

Key words: lactic acid bacteria; rennet; screen; fresh cheese; fermentation process

(责任编辑 章践立)