



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101106906 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 09

(21) 申请号 200580043949. 9

(22) 申请日 2005. 12. 21

(30) 优先权数据

PA200401972 2004. 12. 21 DK

PA200500102 2005. 01. 20 DK

(85) PCT申请进入国家阶段日

2007. 06. 21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/DK2005/000810 2005. 12. 21

(87) PCT申请的公布数据

W02006/066590 EN 2006. 06. 29

(73) 专利权人 诺维信公司

地址 丹麦鲍斯韦

专利权人 克尔·汉森公司

(72) 发明人 珀·M·尼尔森 汉纳·利尔比克

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 封新琴 巫肖南

(51) Int. Cl.

A23C 9/12 (2006. 01)

A23C 15/06 (2006. 01)

A23C 9/15 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1343094 A, 2002. 04. 03, 权利要求 1, 19, 36 ;说明书第 5 页第 9 行至第 10 行, 第 6 页第 2 行至第 9 行, 第 12 页第 3 行, 第 8 页第 6 行至第 13 行, 第 15 页第 5 行至第 25 行 .

审查员 高雁

权利要求书 1 页 说明书 13 页

(54) 发明名称

用于生产乳组合物的级分的方法

(57) 摘要

本发明涉及用于生产乳组合物级分的方法, 其通过用磷脂酶处理乳组合物并且将乳组合物分离成至少两种具有不同脂肪含量的级分。获得的级分具有改进的用于生产食物产品的性质。本发明进一步涉及用于从一种或多种获得的级分生产食物产品的方法。在其它方面, 本发明涉及用于从用磷脂酶处理的乳组合物生产炼乳、奶粉、黄油和乳制品涂抹料的方法。

1. 用于生产乳组合物的级分的方法,其包括:
 - i) 用磷脂酶处理乳组合物 ;和
 - ii) 将所述已处理的乳组合物分离成奶油和脱脂奶。
2. 权利要求 1 所述的方法,其中所述乳组合物是乳或乳级分。
3. 权利要求 1 或 2 所述的方法,其中在步骤 ii) 中的分离通过离心来进行。
4. 权利要求 1 或 2 所述的方法,其中磷脂酶是磷脂酶 A 和 / 或磷脂酶 B。
5. 权利要求 1 或 2 所述的方法,其中乳组合物是原料乳。
6. 权利要求 1 或 2 所述的方法,其进一步包括从获得的奶油和脱脂奶生产食物产品。
7. 权利要求 6 所述的方法,其中食物产品是干酪、奶粉、炼乳、dulche de leche、黄油、印度奶油、酪乳或脱脂奶。
8. 权利要求 6 所述的方法,其中食物产品是奶油或发酵乳产品。
9. 权利要求 1 或 2 所述的方法,其中作为步骤 i) 磷脂酶处理的结果所述乳组合物的卵磷脂含量减少至少 5%。
10. 权利要求 1 或 2 所述的方法,其中作为步骤 i) 磷脂酶处理的结果所述乳组合物中的磷脂酰胆碱和 / 或磷脂酰乙醇胺的量减少至少 20%。
11. 奶油或脱脂奶,其可通过权利要求 1-5 任一项所述的方法获得。
12. 用于生产组合乳级分的方法,其包括混合得自权利要求 1-5 任一项所述方法步骤 ii) 的奶油和脱脂奶,其中所述的组合乳级分具有与获得奶油和脱脂奶的乳组合物不同的脂肪含量。
13. 用于生产组合乳级分的方法,其包括:
 - a) 用磷脂酶处理第一乳组合物 ;和
 - b) 将已处理的乳组合物分离成奶油和脱脂奶 ;和
 - c) 将第二乳组合物分离成至少两种乳级分 ;和
 - d) 用磷脂酶处理作为步骤 c 结果由所述第二乳组合物得到的至少一种乳级分 ;和
 - e) 将作为步骤 b) 结果的由所述第一乳组合物得到的奶油和脱脂奶和作为步骤 d) 的结果获得的至少一种磷脂酶处理的乳级分组合。
14. 权利要求 12 或 13 所述的方法,其进一步包括从获得的组合乳级分生产食物产品。
15. 权利要求 14 所述的方法,其中食物产品是干酪、奶粉、炼乳、dulche de leche、黄油、印度奶油、酪乳、或脱脂奶。
16. 权利要求 14 所述的方法,其中食物产品是奶油或发酵乳产品。
17. 组合乳级分,其可通过权利要求 12 或 13 所述的方法获得。
18. 食物产品,其可通过权利要求 6 或 14 所述的方法获得。

用于生产乳组合物的级分的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及用于生产用磷脂酶处理的乳组合物的级分的方法,并且涉及用于从一种或多种所述级分生产食物产品的方法,以及可由所述方法获得的食物产品。此外本发明涉及用于生产炼乳 (condensed milk)、奶粉 (milkpowder)、黄油 (butter) 和乳制品涂抹料 (dairy spread) 的方法。

背景技术

[0002] 将乳加工成乳制品或其它食物产品时,取决于待生产的产品,存在许多期望的乳的性质,例如产生设备结垢 (fouling) 的低趋势、良好的乳化性质和高的热稳定性。具体地,对于生产黄油,来自奶油的黄油的高收率是期望的,并且在生产液体酸化乳饮品 (liquid acidified milk drink) 时,低粘性可能是期望的。

[0003] 常常将用于生产乳制品的乳例如通过巴氏灭菌法 (pasteurisation) 来加热处理。在热处理乳时熟知的问题是加热表面的结垢,即乳固体沉积在表面上而降低传热速率。此问题在例如板式换热器 (plate heat exchanger) 和蒸发器 (evaporator) 中是已知的。结垢还是涉及许多其它乳制品加工,例如膜过滤的重要问题。结垢涉及将通常是疏水的加工设备的表面润湿,并且润湿性质主要由表面张力决定。根据 Paramalingam 等:On the fouling of falling film evaporators due to film break-up (2000), Food and Bioproducts Processing, 78, pp. 79-84, 表面张力是降膜蒸发器结垢中的重要因素。此外,已显示在乳的热处理期间,接触角越大,沉积在加热表面的物质越少 (O. Santos et al. (2004): Effect of surface and bulk solution properties on the adsorption of whey protein onto steel surfaces at high temperature. 见于: Santos, O.: Whey protein adsorption and aggregation on modified stainless steel surfaces in relation to fouling, Doctoral thesis, Lund University, Lund, Sweden)。乳的表面张力减小时,接触角增加。结垢降低加工设备的效率并且增加设备对清洁的需求,这导致损失生产时间。期望减小乳制品加工设备的结垢速率。结垢通常由固体表面上乳蛋白 (milk protein), 例如 β -乳球蛋白 (β -lactoglobulin) 的沉积引起,并且可通过在液/固界面用其它物质替代乳蛋白来减少结垢。

[0004] 乳包含磷脂。由于磷脂的非极性、亲脂的性质,它与乳脂肪结合 (associate)。磷脂可被磷脂酶水解成溶血磷脂 (lysophospholipid), 后者可又被溶血磷脂酶 (B 型磷脂酶) 水解。WO00/54601 (Novozymes A/S) 公开了用于生产干酪 (cheese) 的方法,其包括用磷脂酶处理干酪用乳 (cheese milk)。

[0005] 发明概述

[0006] 本发明人发现,当用磷脂酶处理乳组合物,并将乳组合物分离为两种或两种以上具有不同脂肪含量的级分时,可能产生用于生产食物产品的具有新颖和有利性质的级分,例如表面张力减小的级分、导致搅拌 (churning) 后黄油产量增加的级分,和/或导致由其制造的奶粉产品的性质改进的级分。

[0007] 因此,本发明涉及用于生产乳组合物的级分的方法,其包括:i)用磷脂酶处理乳组合物;和ii)将已处理的乳组合物分离成至少两种具有不同脂肪含量的级分。另一方面本发明进一步涉及可由本发明的方法获得的乳组合物的级分、用于生产食物产品的方法,和通过使用本发明的方法可获得的食物产品。另一方面本发明涉及用于生产炼乳、奶粉、黄油和乳制品涂抹料的方法,以及通过所述方法可获得的炼乳、奶粉、黄油和乳制品涂抹料。

[0008] 发明详述

[0009] 乳组合物

[0010] 乳可以是任何哺乳动物,例如,母牛(cow)、绵羊(sheep)、山羊(goat)、水牛(buffalo)或骆驼(camel)的乳状分泌物。根据本发明的乳组合物可以是包含乳脂肪的任何液体组合物。乳组合物可包含一种或多种乳级分(milk fraction)。在本发明的一个实施方案中,乳组合物是乳级分。乳级分可以是乳的任何级分,例如脱脂奶(skim milk)、酪乳(butter milk)、乳清(whey)、奶油(cream)、奶粉、全脂奶粉(whole milk powder)、脱脂奶粉(skim milk powder)。在本发明的另一个实施方案中,所述乳组合物包含乳、脱脂奶、酪乳、全脂奶、乳清、奶油,或它们的任何组合。在另一个实施方案中,所述乳组合物由乳组成。可控制乳组合物中的乳脂肪的含量以达到期望的效果,例如当对乳组合物施以本发明的方法时在所获得的级分中的期望量的乳脂肪和磷脂酶水解产物。

[0011] 在本发明的进一步实施方案中,所述乳组合物全部或部分地从干乳级分(dried milk fraction)制备,例如全脂奶粉、脱脂奶粉、酪蛋白、酪蛋白酸盐(caseinate)、全脂乳蛋白、黄油、无水乳脂肪(anhydrous milkfat)或酪乳粉,或它们的任何组合。

[0012] 可通过去除任何乳成分(milk component)的全部或部分和/或通过向其中添加额外量的这种成分将乳组合物标准化至期望的组成。这可以通过,例如在到达乳品厂(dairy)时将乳分离成奶油和脱脂奶来完成。因此,可如常规进行的通过分级乳和重新组合级分来制备乳组合物,以获得乳组合物的期望的最终组成。分离可以在连续式离心机中进行,这产生具有很低的脂肪含量(即,例如<0.5%)的脱脂乳级分和具有例如>35%脂肪的奶油。可通过以合适量混合奶油和脱脂奶以达到期望的脂肪含量来制备乳组合物。在另一个实施方案中,通过使用超滤(Ultra Filtration)将蛋白质和/或酪蛋白含量标准化。

[0013] 在本发明的一个实施方案中,乳组合物是原料乳,即还未经过分离加工或热处理的乳。在另一个实施方案中,乳组合物是已经例如,通过巴氏灭菌法或热能化(thermalisation)进行热处理的乳。

[0014] 酶处理:

[0015] 本发明方法中的酶处理可以通过如下方法进行:将磷脂酶分散到乳组合物中,并且使酶反应在合适的保持时间(holding-time)在合适的温度发生。用磷脂酶处理可在根据本领域熟知的原则选择以适合所选磷脂酶的条件下进行。所述处理还可以通过将乳组合物与已被固定化的磷脂酶接触而进行。

[0016] 磷脂酶处理可在任何合适的pH进行,例如2-10的范围,比如在pH4-9或5-7。还可优选使磷脂酶在乳组合物的天然pH作用。

[0017] 磷脂酶处理可以在任何适当的温度进行,例如在1-70℃,如2-60℃的范围。磷脂酶处理可在低温进行,例如在农场(farmer)或乳品厂的贮罐中,例如在2-7℃的温度。

[0018] 在本发明的一个实施方案中,将磷脂酶在农场加入乳中,并且使磷脂酶在以下过

程中于低温在乳中反应；在储藏于农场的过程中，和 / 或在运输至乳制品工厂的过程中，和任选地在储藏于乳制品工厂的过程中。在另一个实施方案中，在乳制品工厂接收时将磷脂酶加入乳中，并且使其在储存于乳制品工厂的过程中在乳中反应。

[0019] 在本发明的另一个实施方案中，使磷脂酶于分离的温度在乳组合物中反应。如果将乳在常规连续式离心机中分离，分离温度将通常在 40-70℃ 范围内。

[0020] 任选地，在使磷脂酶作用于乳组合物之后，可将磷脂酶蛋白去除、减少和 / 或失活。

[0021] 将磷脂酶以合适的量加入以在所选的反应条件下达到期望的水解程度。磷脂酶 A 的合适剂量可以是，例如在每 g 乳脂肪 0.003-0.3mg 酶蛋白的范围内，优选每 g 乳脂肪 0.01-0.3mg 酶蛋白，更优选每 g 乳脂肪 0.03mg 酶蛋白。磷脂酶 B 的合适剂量可以是，例如在每 g 乳脂肪 0.005-0.5mg 酶蛋白的范围内，优选每 g 乳脂肪 0.01-0.5mg 酶蛋白，更优选每 g 乳脂肪 0.05mg 酶蛋白。

[0022] 在牛乳中，卵磷脂通常构成乳中磷脂的 95% 以上，而溶血卵磷脂是磷脂的大约 1%。磷脂酰胆碱 (PC) 和磷脂酰乙醇胺 (PE) 的量是卵磷脂的大约 40%。在本发明的一个实施方案中，作为磷脂酶处理的结果，乳组合物的卵磷脂含量减少至少 5%，例如至少 10%、至少 15%、至少 20% 或至少 25%。在另一个实施方案中，作为磷脂酶处理的结果，乳组合物中的磷脂酰胆碱和 / 或磷脂酰乙醇胺的量减少至少 20%，例如至少 40%、至少 60% 或至少 70%。

[0023] 分离成至少两种级分

[0024] 根据本发明将乳组合物分离成至少两种具有不同脂肪含量的级分。分离可通过本领域已知的用于分离乳组合物的任何方法进行。在一个实施方案中通过离心，例如以常规的连续式离心来分离乳。在另一个实施方案中通过过滤，例如通过微滤或超滤来分离乳。在所有实施方案中分离技术和设备的特性必须是，在至少两种产生的级分中，乳脂肪和磷脂水解产物之间的比例不同于分离前在磷脂酶处理的乳组合物中的比例。在本发明的一个实施方案中，将乳分离成两种级分，例如分离成奶油和脱脂奶。脱脂奶的脂肪含量通常会低于 0.6% (重量 / 重量)，例如低于 0.2%，奶油的脂肪含量通常会在 30-45% (重量 / 重量) 的范围，例如 35-40% 的范围。在本发明的一个实施方案中，所得级分之一的脂肪含量是另一级分的脂肪含量的至少两倍。

[0025] 在本发明的一个实施方案中，在本发明的方法的步骤 ii) 中，将用磷脂酶处理的乳组合物分离成至少两种液体级分。液体乳组合物或乳级分是在用于分离成乳级分的加工条件下自由流动的乳组合物或乳级分，即乳组合物或乳级分，其中基本上所有乳酪蛋白 (milk casein) 处于分散的不凝结的状态。液体乳组合物 / 乳级分的实例是乳、脱脂奶、奶油，以及来自超滤和微滤的透过液 (permeate) 和截留液 (retentate)，相对于例如非液体的干酪和凝乳酶凝结乳 (rennet coagulated milk)。

[0026] 在一个实施方案中本发明涉及可由本发明的方法获得的级分。在另一个实施方案中本发明涉及可由本发明获得的级分，其具有不同于在步骤 i) 中用磷脂酶处理的原始乳组合物的脂肪含量。

[0027] 级分性质

[0028] 级分的表面张力可能受到本发明的方法的影响。在本发明的一个实施方案中，至

少一种级分的表面张力与由未用磷脂酶处理的乳组合物产生的相似级分相比减少。在另一个实施方案中,至少一种级分的表面张力与由未用磷脂酶处理的乳组合物产生的相似级分相比减少或增加,但该相似级分在分离步骤之后用磷脂酶处理。在另一个实施方案中,磷脂酶水解产物的含量高于或低于由未用磷脂酶处理的乳组合物产生的相似级分中的含量,但该级分在分离步骤之后用磷脂酶处理。在又一个的实施方案中,溶血卵磷脂的含量高于或低于由未用磷脂酶处理的乳组合物产生的相似级分中的含量,但该级分在分离步骤之后用磷脂酶处理。

[0029] 与产自未用磷脂酶处理的乳的相似级分相比,本发明的方法影响至少一种所得级分的性质。在本发明的一个实施方案中,至少一种所得级分的性质不同于由未用磷脂酶处理的乳组合物产生的相似级分,但该相似级分在分离步骤之后用磷脂酶处理。受影响的性质可以是例如当所述级分经过下列处理时观察到的结垢:热处理,例如在板式换热器中的巴氏灭菌法或通过蒸汽喷射 (steam injection) 的超高温 (Ultra High Temperature) (UHT) 处理;蒸发,例如在降膜蒸发器中蒸发;或薄膜分离方法,例如超滤或微滤。本发明的方法可减少至少一种产生的级分观察到的结垢程度。可将结垢程度作为固体物的量来测定,所述固体物例如被吸收到板式换热气的平板上,吸收到降膜蒸发器的壁上,或吸收到膜过滤设备的膜上。可在采用椭圆偏振测量术 (ellipsometry) 的试验装置中观察表面的结垢,例如如 O. Santos 等 (2004) :Effect of surface and bulk solution properties on the adsorption of whey protein onto steel surfaces at high temperature. 在 :Santos, O. :Whey protein adsorption and aggregation on modified stainless steel surfaces in relation to fouling, Doctoral thesis, Lund University, Lund, Sweden 中所述。

[0030] 本发明的方法还可影响至少一种所得级分的搅乳能力 (churnability),例如与从未经磷脂酶处理的乳组合物获得的奶油、或已用磷脂酶处理而没有后续分离的奶油相比,通过本发明的方法获得的奶油可能需要较短的时间和 / 或较小强度的机械处理以形成黄油和 / 或所得黄油的收率可能较高。同样,可改进乳化性质,例如乳剂稳定性 (emulsion stability) 或乳剂容量 (emulsion capacity)。另外,可改进一种或多种级分的热稳定性,例如可增加引起絮凝 (flocculation) 或凝结所需的温度和 / 或时间。由通过本发明的方法获得的一种或多种级分产生的食物产品的性质与由相似级分产生的食物产品的性质相比可受到影响,所述相似级分由未用磷脂酶处理的乳组合物产生,但该级分在分离步骤之后用磷脂酶处理。例如外观和组织 (texture),例如酸化乳制品的粘性;乳的乳化性质;和由乳生产的奶粉的溶解性和润湿性;均可受到影响。

[0031] 食物产品

[0032] 在一个实施方案中,本发明涉及用于从通过本发明的方法获得的一种或多种级分生产食物产品的方法。根据本发明的食物产品可以是任何食物产品,其中可将乳或一种或多种乳级分用作配料 (ingredient),所述食品例如肉制品 (meat product)、鱼制品 (fish product)、面包、蛋糕、曲奇饼 (cookie)、饼干 (biscuit)、糖食产品 (confectionary product) 例如巧克力、佐料 (dressing)、调味汁 (sauce) 和调味品 (condiment)。食物产品可通过本领域已知的任何方法生产,并且可以采用与通常用于食品生产的常规乳或乳级分相同的方式使用由本发明的方法获得的乳级分。可将待用于生产食物产品的一种或多种乳级分进行本领域已知的用于食物产品生产的任何加工。例如可将一种或多种乳级分,例如

在板式换热器中或在蒸发器中加热处理或进行超滤或微滤。

[0033] 在本发明的一个实施方案中,食物产品是乳制品。通过本发明的方法获得的一种或多种乳级分可用于生产任何乳制品,例如乳,例如脱脂奶、部分脱脂奶或奶油,用于直接食用;酸化乳,例如酸奶(yoghurt);冰淇淋;奶粉,例如脱脂奶粉、全脂奶粉或酪乳粉;黄油;印度奶油(ghee);无水乳脂肪;酪乳;炼乳;甜炼乳;dulche de leche;调咖啡用白油(coffee whitener);非乳制白油(coffee creamer);或干酪。干酪可以是任何种类的干酪,例如新鲜干酪、硬干酪、乳脂干酪(cream cheese)、白霉干酪(white mould cheese)、青霉干酪(blue mould cheese)、融化干酪(process cheese)或pasta fitata型干酪。根据本发明的乳制品还可以是由干乳成分和任选地无水乳脂肪生产的调制的乳制品(recombined dairy product),例如由脱脂奶粉和无水乳脂肪制成的黄油或液体全脂奶。

[0034] 本发明的食物产品通常可从本发明的两种或两种以上级分,例如从组合乳级分(combined milk fraction)生产。这样可制备具有期望的组成和脂肪含量的组合乳级分,并且这种组合乳级分可具有不同于相似的组合乳级分的磷脂水解产物含量,所述相似的组合乳级分在分离成级分之后用磷脂酶处理并随后混合成组合级分。通过将本发明的级分混合成组合乳级分,因而可获得具有一定范围的组成并且具有新的和改进的性质的乳级分。

[0035] 在本发明的一个实施方案中,通过混合两种或两种以上具有不同脂肪含量的乳级分来生产组合乳级分。组合乳级分可优选具有与获得乳级分的乳组合物不同的脂肪含量。通过以期望的比例将乳级分混合成组合乳级分,可获得具有期望的脂肪含量的组合乳级分。在本发明的一个实施方案中,通过将本发明的具有不同脂肪含量的两种或两种以上乳级分按比例混合来获得组合乳级分,所述比例导致组合乳级分具有与乳组合物不同的脂肪含量,其中级分是从该乳组合物获得的。例如可通过以期望的量混合由磷脂酶处理的乳产生的脱脂奶和奶油来生产组合乳级分。在本发明的一个实施方案中,组合乳级分包含至少0.5%(重量/重量)脂肪,如至少1%脂肪,或至少1.5%脂肪。组合乳级分可用于生产本发明的食物产品,例如乳制品。

[0036] 在本发明的另一个实施方案中,将通过本发明所述方法获得的乳级分与从未用磷脂酶处理的乳组合物获得的乳级分组合,以生产组合乳级分。在本发明的又一个实施方案中,从未用磷脂酶处理的乳组合物获得乳级分,然后用磷脂酶处理所得的乳级分以水解磷脂,并将已处理的乳级分与通过本发明的方法获得的乳级分混合。因此,本发明的一个实施方案涉及:用于生产组合乳级分的方法,其包括:a)用磷脂酶处理第一乳组合物;和b)将已处理的乳组合物分离成至少两种乳级分;和c)将第二乳组合物分离成至少两种级分;和d)用磷脂酶处理至少一种乳级分,其作为步骤c的结果从所述第二乳组合物获得;和e)将作为步骤b)结果从所述第一乳组合物获得的至少一种乳级分与作为步骤d)结果获得的至少一种磷脂酶处理的乳级分组合。在另一个的实施方案中,奶油从未用磷脂酶处理的乳获得,然后将此奶油用磷脂酶处理,并且将所述磷脂酶处理的奶油与通过本发明的方法获得的脱脂奶混合。这样能够生产溶血磷脂水平增加的组合乳级分,因为将与奶油中的乳脂肪结合的磷脂和存在于乳的脱脂奶相中的溶血磷脂组合,所述的乳在分离之前已用磷脂酶处理,而所述的奶油从未处理的乳获得。

[0037] 本发明还涉及通过本发明的方法获得的食物产品或可通过本发明的方法获得的食物产品。

[0038] 用于生产炼乳或奶粉的方法

[0039] 在一方面,本发明涉及用于生产炼乳和奶粉的方法,其通过用磷脂酶处理乳组合物和从已处理的乳组合物生产炼乳或奶粉。炼乳和奶粉的生产包括通过蒸发去除水。用磷脂酶处理乳组合物可减少表面张力,而减少的表面张力可减少例如在蒸发过程中观察到的结垢程度,这改善了所述方法的经济性。用磷脂酶处理乳组合物可通过任何合适的方法进行,例如如本文其它地方所述,或如涉及干酪生产的 W000/54601 中所述。例如可通过将磷脂酶分散到乳组合物中来进行磷脂酶处理。可将磷脂酶处理的乳组合物加热处理以使磷脂酶在蒸发或干燥步骤之前失活。

[0040] 可通过本领域已知的任何适合的方法由磷脂酶处理的乳组合物产生根据本发明的炼乳。通常,炼乳是从乳生产的,将所述乳标准化至期望的脂肪含量并且进行热处理,例如在 100-120℃ 热处理 1-3 分钟。然后通常将乳例如在降膜蒸发器中进行蒸发,其中在减压下,例如在 65-70℃ 的温度将水去除,直到达到期望的固体含量。可将炼乳均质化(homogenise)以分散脂肪球并且防止凝结,如果要将炼乳灭菌,例如可在两阶段均质器(two-stage homogeniser)中在例如 12-25MPa 的压力进行均质化。可将炼乳装入罐(can)或任何其它适合的容器中,并且通常进行灭菌,例如在 110-120℃ 灭菌 15-20 分钟。或者可使炼乳在装入容器之前进行 UHT 处理,例如于 140℃ 处理 3 秒。为了生产甜炼乳,可在所述方法的过程中在合适的步骤添加糖,例如可在热处理乳之前添加干糖(dry sugar),或可在蒸发过程中添加糖浆(sugar syrup)。通常添加糖的量导致至少 62.5% 糖处于成品的水相中。为了控制甜炼乳中乳糖的结晶,在蒸发之后可将其在搅动下迅速冷却,并且当乳已经冷却至结晶温度,通常大约 30℃ 时,可将乳糖结晶作为干结晶或作为浆液添加。因为由所添加的糖引起的渗透压,甜炼乳不需要灭菌。

[0041] 通常从热处理的乳生产奶粉;另外可将乳进行例如离心法除菌(bactofugation)或微滤,以减少乳的细菌计数。可通过乳的滚筒干燥(rollerdrying)来生产奶粉,其中将乳分布到鼓式干燥机(heated drum)表面上的薄层中,由此将水蒸发。干燥层可用刀刮掉,并且可磨(ground)成薄片和/或磨成粉末。或者,例如可通过喷雾干燥(spray drying)来生产奶粉。在喷雾干燥之前,通常将乳通过例如在降膜蒸发器中蒸发而浓缩至例如 45-55% 的干物质含量。然后可将浓缩的乳泵送到干燥塔,其中将浓缩的乳分散成非常细的小滴,将其混入热风流中,由此将水迅速蒸发。然后将干燥的乳颗粒例如在旋风分离器中与热风分离。所述方法也可作为两阶段方法进行,其中使来自干燥塔的乳颗粒在流化床干燥器中进行进一步干燥。此外,所述方法可作为带有两个流化床干燥步骤的三阶段方法进行,其中可将第一流化床干燥整合到干燥塔中。可设计干燥设备以生产具有非常迅速再溶解能力的粉末(“速溶粉末”)。例如可通过使在干燥塔中或在流化床干燥机中干燥的颗粒再潮湿,引起所述颗粒粘附和形成团块(agglomerate)来达到此效果。例如可以从脱脂奶、全脂奶或酪乳来生产奶粉。在本发明的一个实施方案中,奶粉是脱脂奶粉。通过本发明的方法生产的奶粉例如可以用于生产重组乳制品(recombinant dairyproduct)的乳制品工厂。利用奶粉的其它实例例如生产调咖啡用白油和非乳制白油。用于生产奶粉的乳组合物的热稳定性和奶粉的热稳定性是重要的质量参数。在本发明的一个实施方案中,通过本发明的方法生产的粉末的热稳定性与通过常规方法生产的奶粉相比是增加的。

[0042] 本发明还涉及可通过本发明的方法获得的炼乳和奶粉。

[0043] 用于生产黄油或乳制品涂抹料的方法

[0044] 在一个方面,本发明涉及用于生产黄油或乳制品涂抹料的方法,其通过用磷脂酶处理乳组合物和从已处理的乳组合物生产黄油或乳制品涂抹料。

[0045] 局部规则 (local regulation) 对于黄油、乳制品涂抹料和类似产品的定义可有所不同。在本上下文中,将黄油理解为适合于人食用的油包水乳剂,其中脂肪相包含乳脂肪,而且其另外包含无脂肪的 (non-fat) 乳固体,并且从奶油生产。黄油的脂肪含量通常在 80% -95% (重量 / 重量) 之间,但可取决于局部规则,例如可生产例如脂肪含量在 40% -80% 之间或甚至低于 40% 的淡黄油 (lightbutter) 或减少脂肪的黄油 (reduced fat butter)。可以从甜 (非酸化) 奶油或酸 (酸化) 奶油生产黄油。黄油可另外包含盐,并且其中规则允许其它添加剂例如乳化剂 (emulsifier) 和食用香料 (flavour)。将本上下文中的乳制品涂抹料理解为适合于人食用的油包水乳剂,其中脂肪相含有乳脂肪和非乳脂肪 (non-milkfat),而且其可包含另外的乳和 / 或非乳组分。乳制品涂抹料的脂肪含量通常在 35% -95% (重量 / 重量) 之间变化,但对于低脂乳制品涂抹料甚至可在 35% 以下。非乳脂肪成分通常是植物脂 (vegetablefat),例如大豆油或菜籽油。乳脂肪与非乳脂肪的比例可以是任何适于达到期望效果的比例。如果期望的效果是黄油类产品,其在冷藏温度是立即可涂的,通常 15% -40% 之间的脂肪是非乳脂肪如植物油。乳制品涂抹料,取决于局部规则,可包含另外的成分例如盐、乳化剂、稳定剂和食用香料。

[0046] 用磷脂酶处理乳组合物可以通过任何适合的方法进行,例如如在本文其它地方所述,或如涉及干酪生产的 W000/54601 中所述。例如可以通过将磷脂酶分散到乳组合物中进行磷脂酶处理。在本发明的一个实施方案中,在将奶油用磷脂酶处理,然后将其用于生产黄油或乳制品涂抹料。可将磷脂酶处理的乳组合物热处理以使磷脂酶失活。在本发明的一个实施方案中,将待用于生产乳制品涂抹料的乳组合物在用磷脂酶处理之前与包含非乳脂肪的组合物混合。

[0047] 可通过将磷脂酶处理的乳组合物,例如奶油,用本领域已知的适于生产黄油或乳制品涂抹料的任何方法处理,来生产根据本发明的黄油或乳制品涂抹料。通常将待用于生产黄油或乳制品涂抹料的奶油巴氏杀菌,以破坏不想要的微生物和 / 或酶,并且例如可通过用乳酸细菌发酵所述奶油来酸化。

[0048] 例如可在搅乳器 (churn) 中生产黄油。用于黄油生产的搅乳器可以是例如圆柱的、圆锥的、立方体的或四面体的槽,其能够旋转搅拌奶油以从乳脂肪球 (milk fat globule) 中压出脂肪,从而形成聚结 (coalesce) 成黄油颗粒 (buttergrain) 的游离脂肪。可排出残余的液体,即酪乳,并且通常将黄油进一步在搅乳器中彻底搅拌 (work),以排除多余的液体并将残余的液体均匀地分布到全部黄油中。可在彻底搅拌的过程中减少搅乳器中的气压,以减少黄油中俘获空气的量。还可在连续式黄油制造机 (buttermaking machine) 中生产黄油。在连续式黄油制造机中,将奶油连续地传送通过几个部分,例如搅乳部分、分离部分、压缩干燥部分 (squeeze drying section) 和彻底搅拌部分 (working section)。在黄油制造机中,搅拌奶油以形成黄油颗粒,将酪乳分离开,并且彻底搅拌黄油以分散液体和排出空气。如果将甜奶油用作原料,可将乳酸和 / 或乳酸菌发酵剂培养物 (starter culture) 混合到黄油中以将酸度和风味赋予黄油。

[0049] 例如可以按照与黄油相似的方法生产乳制品涂抹料。在那种情况下,可将奶油和

非乳脂肪以及另外的配料,在进料到黄油生产过程之前混合。

[0050] 还可以在奶油浓缩器离心机 (cream concentrator centrifuge) 中从奶油生产黄油和乳制品涂抹料,所述奶油浓缩至例如 75-82% 的乳脂肪含量。可将高脂稀奶油 (concentrated cream) 与例如水、盐和其它添加剂混合,并且如果将要生产乳制品涂抹料时,与非乳脂肪,例如植物油混合。然后可将混合物进料到刮板式冷却器 (scraped surface cooler),其中将乳剂反转 (inverse) 以产生油包水乳剂。可进一步将反转的乳剂进料到销钉捏和机 (pin kneading machine) 中待操作。

[0051] 待用于本发明的方法的酶:

[0052] 磷脂,例如卵磷脂 (lecithin) 和磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine),由以下组成:在外位 (sn-1) 和中位 (sn-2) 用两个脂肪酸脂化,并且在第三位置用磷酸脂化的甘油;磷酸,其又可被脂化于氨基醇。磷脂酶是参与磷脂水解的酶。几种磷脂酶的活性可以是有区别的 (distinguished),包括磷脂酶 A,其能够进一步分类成磷脂酶 A₁ (EC3. 1. 1. 32) 或 A₂ (EC3. 1. 1. 4.),其水解一个脂肪酰基 (分别在 sn-1 和 sn-2 位) 以形成溶血磷脂。磷脂酶 B (EC3. 1. 1. 5) 水解溶血磷脂中残余的脂肪酰基。其它磷脂酶是磷脂酶 C (EC3. 1. 4. 3) 和磷脂酶 D (EC3. 1. 4. 4)。

[0053] 待用于本发明的方法中的磷脂酶可以是任何磷脂酶或磷脂酶的任何组合。在一个实施方案中,待用于本发明的磷脂酶是磷脂酶 A 和 / 或磷脂酶 B。磷脂酶活性也可由同样具有其它活性的酶提供,例如具有磷脂酶活性的脂肪酶。磷脂酶活性可以来自例如具有磷脂酶副活性 (side activity) 的脂肪酶。在本发明的另一个实施方案中,磷脂酶酶活性由基本上只具有磷脂酶活性的酶提供,并且其中所述磷脂酶酶活性不是副活性。

[0054] 所述磷脂酶可以是任何来源的,例如动物来源 (例如哺乳动物),例如来自胰腺 (例如牛的或猪的胰腺),或蛇毒或蜂毒。或者,磷脂酶可以是微生物来源的,例如来自丝状真菌、酵母或细菌,例如如下菌属或菌种:曲霉菌属,例如黑曲霉 (*A. niger*);网柄菌属 (*Dictyostelium*),例如盘基网柄菌 (*D. discoideum*);毛霉属 (*Mucor*),例如爪哇毛霉 (*M. javanicus*)、大毛霉 (*M.ucedo*)、细孢毛霉 (*M. subtilissimus*);脉孢菌属 (*Neurospora*),例如粗糙脉孢菌 (*N. crassa*);根毛霉属 (*Rhizomucor*),例如微小根毛霉 (*R. pusillus*);根霉属 (*Rhizopus*),例如少根根霉 (*R. arrhizus*)、日本根霉 (*R. japonicus*)、匍枝根霉 (*R. stolonifer*);核盘菌属 (*Sclerotinia*),例如大豆核盘菌 (*S. libertiana*);毛藓菌属 (*Trichophyton*),例如红色毛藓菌 (*T. rubrum*);*Whetzelinia*,例如 *W. sclerotiorum*;芽孢杆菌属 (*Bacillus*),例如巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*)、枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*);柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*),例如弗式柠檬酸杆菌 (*C. freundii*);肠杆菌属 (*Enterobacter*),例如产气肠杆菌 (*E. aerogenes*)、阴沟肠杆菌 (*E. cloacae*);爱德华氏菌属 (*Edwardsiella*),迟钝爱德华氏菌 (*E. tarda*);欧文氏菌属 (*Erwinia*),例如草生欧文氏菌 (*E. herbicola*);埃希氏菌属 (*Escherichia*),例如大肠杆菌 (*E. coli*);克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*),例如肺炎克雷伯氏菌 (*K. pneumoniae*);变形菌属 (*Proteus*),例如普通变形菌 (*P. vulgaris*);普罗威登斯菌属 (*Providencia*),例如斯氏普罗威登斯菌 (*P. stuartii*);沙门氏菌 (*Salmonella*),例如鼠伤寒沙门氏菌 (*S. typhimurium*);沙雷氏菌属 (*Serratia*),例如液化沙雷氏菌 (*S. liquefasciens*)、粘质沙雷氏菌 (*S. marcescens*);志贺氏菌属 (*Shigella*),例如弗氏志贺氏菌 (*S. flexneri*);链

霉菌属 (*Streptomyces*), 例如紫红链霉菌 (*S. violeceoruber*), 耶尔森氏菌属 (*Yersinia*), 例如小肠结肠炎耶尔森氏菌 (*Y. enterocolitica*)。由此, 磷脂酶可以是真菌的, 例如来自核菌纲 (class *Pyrenomycetes*), 例如镰孢属 (*Fusarium*), 例如大刀镰孢 (*F. culmorum*)、异孢镰孢 (*F. heterosporum*)、腐皮镰孢 (*F. solani*)、*F. venenatum* 的菌株或尖镰孢 (*F. oxysporum*) 的菌株。磷脂酶还可以来自曲霉属内的丝状真菌菌株, 例如泡盛曲霉 (*Aspergillus awamori*)、臭曲霉 (*Aspergillus foetidus*)、日本曲霉 (*Aspergillus japonicus*)、黑曲霉或米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)。优选的磷脂酶源自镰孢属, 特别是尖镰孢的菌株, 例如来自如 W098/26057 中, 尤其是权利要求 36 中以及 W098/26057 的 SEQ IDNO. 2 所述的菌株 DSM2672。在其它实施方案中, 磷脂酶是如 W000/32758 (Novozymes A/S, Denmark) 中公开的磷脂酶。

[0055] 酶来源和成分 (formulation)

[0056] 用于本发明的方法的磷脂酶可以源自本文提到的任何来源, 或可由本文提到的任何来源获得。术语“源自”在本上下文中的意思是, 可将酶从其中天然存在该酶的生物体分离, 即酶的氨基酸序列的同一性与天然酶 (native enzyme) 是一样的。术语“源自”还指所述酶可已经在宿主生物体中重组 (recombinantly) 产生, 所述重组产生的酶具有与天然酶相同的同一性或具有修饰的氨基酸序列, 例如缺失、插入和 / 或取代一个或多个氨基酸, 即重组产生的酶, 其为天然氨基酸序列的突变体和 / 或片段。在天然酶的含义之内包括天然变体。此外, 术语“源自”包括合成, 例如通过肽合成产生的酶。术语“源自”还包括例如通过糖基化、磷酸化等, 无论体内或体外修饰的酶。术语“可获得的”在本上下文中指所述酶具有与天然酶相同的氨基酸序列。该术语包含已经从天然存在所述酶的生物体中分离的酶, 或已经在相同类型的生物体或另外的生物体中重组表达的酶, 或通过合成, 例如肽合成产生的酶。关于重组产生的酶, 术语“可获得”和“源自”指该酶的同一性, 而不是重组产生该酶的宿主生物体的同一性。

[0057] 因此, 可以从微生物通过使用任何合适的技术获得磷脂酶。例如, 可以通过将合适的微生物发酵, 和随后从所得发酵液或微生物中通过本领域已知的方法分离磷脂酶来获得磷脂酶制剂。还可通过使用重组 DNA 技术获得磷脂酶。这种方法通常包括培养用重组 DNA 载体转化的宿主细胞, 该载体包含编码所述磷脂酶的 DNA 序列, 并且该 DNA 序列被操作地连接于合适的表达信号, 使得其能够在允许所述酶表达的条件下在培养基中表达磷脂酶, 以及从培养基中回收该酶。也可将所述 DNA 序列并入宿主细胞的基因组。所述 DNA 序列可以是基因组来源、cDNA 来源或合成来源或这些来源的任意组合, 并且可以依照本领域已知的方法分离或合成。

[0058] 合适的磷脂酶是商业上可以获得的。实例是来源于胰腺的磷脂酶例如 **Lecitase®** (由 Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark 制造), 和来源于微生物的磷脂酶例如 **YieldMax®** (Chr. Hansen A/S and Novozymes A/S, Denmark)。

[0059] 在本发明所述方法中, 可以将磷脂酶纯化。本文所用术语“纯化的”包括不含 (free from) 来自生物体的成分的磷脂酶蛋白, 所述磷脂酶蛋白源自该生物体。术语“纯化”还包括不含来自天然生物体的成分的磷脂酶蛋白, 从该天然生物体获得所述磷脂酶蛋白, 这也被称为“基本上纯的 (essentially pure)”磷脂酶, 并且可与天然存在且未经遗传修饰的磷脂酶特别相关, 所述遗传修饰如通过缺失、取代或插入一个或多个氨基酸残基来进

行。

[0060] 因此,可将该磷脂酶纯化,即只存在较少量其它蛋白质。表述“其它蛋白质”具体涉及其它酶。本文所用术语“纯化”还指去除其它成分,特别是其它蛋白质和最特别是存在于磷脂酶来源的细胞中的其它酶。磷脂酶可以是“基本上纯的”,即不含来自产生该磷脂酶的生物体的其它成分,所述生物体即,例如,用于重组产生磷脂酶的宿主生物体。优选地,该酶是至少 75% (w/w) 纯的,更优选至少 80%、85%、90% 或甚至至少 95% 纯的。在还更优选的实施方案中,所述磷脂酶是至少 98% 纯的酶蛋白制剂。在其它实施方案中,所述磷脂酶不天然地存在于乳中。

[0061] 术语“磷脂酶”包括任何辅助化合物 (auxiliary compound), 其对于所述酶的催化活性是必需的,例如合适的受体或辅因子 (cofactor), 其可以是或可以不是天然存在于反应体系中的。

[0062] 所述磷脂酶可以是适于所述用途的任何形式,例如以下形式:干粉末或颗粒 (granulate)、无粉尘的颗粒、液体、稳定液体 (stabilized liquid) 或保护的酶。可以例如 US4, 106, 991 和 US4, 661, 452 所公开的来产生颗粒,并且可以任选地通过本领域已知的方法来涂覆它们。例如,可以根据已确定的方法通过添加稳定剂,如糖、糖醇或其它多元醇 (polyol)、乳酸或其它有机酸来使液体酶制剂稳定。要保护的酶可以根据 EP238, 216 中公开的方法制备。

[0063] 磷脂酶活性 (LEU)

[0064] 可通过以下方法测定磷脂酶活性:将卵磷脂在恒定 pH 和温度下水解,并且通过与已知酶标准物 (可从 Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark 获得) 比较,将磷脂酶活性 (LEU) 测定为中和所释放的脂肪酸的过程中滴定剂 (0.1N NaOH) 消耗速率。底物可以是浓度为 20g/1000ml 的大豆卵磷脂 (L- α -磷脂酰-胆碱), 并且条件是 pH8.00、40.0°C、反应时间 2 分钟。

[0065] 实施例 1

[0066] 通过以下方法使用未均质化全脂奶以生产三种不同的脱脂奶样品和两种奶油样品:

[0067] 样品 1.1

[0068] 将乳与来自 *Fusarium venenatum* 的磷脂酶一起在 40°C 温育 30 分钟。酶剂量是 700LEU/1 乳。通过将乳加热至 72°C 10 分钟来终止酶反应。将乳在 3000g 离心 20 分钟并且分离成脱脂奶和奶油。

[0069] 样品 1.2

[0070] 将乳在 40°C 保持 30 分钟,不添加磷脂酶,并且在 72°C 热处理 10 分钟。将所述乳在 3000g 离心 20 分钟并且分离成脱脂奶和奶油。

[0071] 样品 1.3

[0072] 将来自样品 1.2 的脱脂奶与来自 *Fusarium venenatum* 的磷脂酶一起在 40°C 温育 30 分钟。酶剂量是 700LEU/1 乳。通过将所述乳加热至 72°C 10 分钟来终止该酶反应。

[0073] 使用张力计 (Sigma70, KSV Instruments Ltd., Finland) 用 Wilhelmy 平板技术来测定三种脱脂奶样品的表面张力。测量持续时间为一小时。

[0074] 记录了表面张力的下列结果 (mN/m):

[0075]

	开始	15 分钟	30 分钟	45 分钟	60 分钟
样品 1.1 的脱脂奶	33.5	33.2	33.1	33.1	32.9
样品 1.2 的脱脂奶	42.4	41.6	40.5	40.0	39.6
样品 1.3 的脱脂奶	35.2	34.6	34.5	34.4	34.3

[0076] 实施例 2

[0077] 将从实验 1 的样品 1.1 和样品 1.2 获得的两种奶油级分用于黄油的搅乳,其在 Kitchen Aid 搅打器中以最高速度操作。将 250g 奶油在搅乳前冷却至 5℃,并且所述搅打/搅乳在室温进行。

[0078] 使用筛 (sieve) 分离黄油和酪乳,并且通过称重测量黄油的量。与样品 1.1 的酶处理的全脂奶分离的奶油得到 34.76% 的奶油的黄油收率,而来自样品 1.2 的未处理的乳的奶油得到 33.32% 的奶油的黄油收率。

[0079] 实施例 3

[0080] 将来自实施例 1 的样品 1.1 和样品 1.2 的两种脱脂乳级分用于生产酸化乳。将 9 份脱脂奶与 1 份商业酸化酪乳一起温育,并且在室温温育 20 小时。将所述温育直接在用于粘度测量的设备 (RapidVisco Analyzer RVA-4, NewportScientific, Australia) 中进行。这由装有枢轴 (spindle) 的测量筒 (measure cylinder) 组成。每种处理制备五个样品。所述枢轴以 100rpm 旋转,并且在 15 分钟的旋转过程中连续地记录粘度。来自样品 1.1 的酶处理的酸化脱脂奶的平均粘度是 362cp (厘泊),而来自样品 1.2 的未用酶处理的酸化脱脂奶的平均粘度是 406cp。

[0081] 实施例 4

[0082] 通过以下方法使用未均质化的全脂奶来生产两种不同的脱脂奶样品:

[0083] 样品 4.1

[0084] 将乳与来自 *Fusarium venenatum* 的磷脂酶一起在 40℃ 温育 30 分钟。酶剂量为 350LEU/1 乳。通过将乳加热至 72℃ 10 分钟来终止该酶反应。将所述乳于 3000g 离心 20 分钟,并且分离成脱脂奶和奶油。

[0085] 样品 4.2

[0086] 将乳在 40℃ 保持 30 分钟,不添加磷脂酶,并且在 72℃ 热处理 10 分钟。将所述乳于 3000g 离心 20 分钟,并且分离成脱脂奶和奶油。

[0087] 通过 HPLC 分析来自 4.1 和 4.2 的全脂奶样品和脱脂奶样品中磷脂 (磷脂酰胆碱 (PC) 和磷脂酰乙醇胺 (PE)) 的含量。

[0088] 记录了 PC 和 PE 的含量的下列结果 (μg):

[0089]

	PC	PE
4.1 原料乳 - 酶处理	0.47	检测极限以下
4.1 脱脂奶 - 酶处理	0.20	检测极限以下
4.2 原料乳 - 无酶	6.42	6.33
4.2 脱脂奶 - 无酶	6.05	5.12

[0090] 实施例 5:用水解的乳磷脂从气-水界面替代 β-乳球蛋白

[0091] 方法:表面张力和膨胀的弹性

[0092] 通过 Kokelaar 等人的方法 (Kokelaar, J. J., Prins, A. and De Gee, M., J. Colloid

Interface Sci., 1991, 146, 507) 测定表面膨胀弹性 (surface dilatationalelasticity) 和表面张力。该技术包括所述表面的周期性的扩张和压缩, 这由在含有 200-250ml 样品溶液的容器中提高或降低 10cm 直径磨砂玻璃环而引起。由引起的 (induced) 表面面积变化产生的表面张力改变用于计算表面膨胀模量 (surface dilatational modulus) [E] (表面弹性)。将面积改变保持在最大 5%, 以防止破坏该表面层。

[0093] 将 β -乳球蛋白溶液注入样品容器中, 并且在将磨砂玻璃 Wilhelmy 平板浸入所述样品之后立刻开始测量。通过监视表面张力的减少和表面弹性的增加来监控吸附至气-水界面的蛋白。45 分钟之后, 当表面弹性接近于稳定水平 (plateau) 时, 将 4ml 磷脂样品注入到液体表面之下、环之外的所述溶液中。在添加之后监控表面张力和 [E] 的发展 155 分钟。每种磷脂制剂测量两个或三个副本 (replica)。

[0094] 样品制备

[0095] 使用的乳磷脂制剂是:

[0096] 1) 纯化的天然乳磷脂混合物 (MPLC),

[0097] 2) 通过磷脂酶 (**YieldMax®**, Chr. Hansen A/S 和 Novozymes A/S, Denmark ; 60LEU/mg 磷脂) 水解的 MPLC

[0098] 3) 通过胰腺磷脂酶 (Lecitase10L, Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark) 水解并且随后通过制备色谱纯化的乳磷脂浓缩物。

[0099] 所有情况下的起始材料为来自 Arla Foods, NrVium, Denmark 的的商业的乳磷脂浓缩物 PSNU18200。所述制剂的磷脂组合物在表 1 中提供。

[0100] 将该样品分散在 20mM 咪唑 (imidazol)、6.5mM CaCl_2 、pH7.0 中, 并且通过探针超声破碎仪 (probe sonicator) 进行超声处理 (sonicate), 以达到精细分散。

[0101] 如 Kristiansen 等 (Kristiansen, K. R, Otte, J., Ipsen, R. and Qvist, K., Int Dairy J., 1998, 8, 113-118) 所述纯化 β -乳球蛋白遗传变体 B。在 20mM 咪唑、6.5mM CaCl_2 、pH7.0 中制备 2mg/ml β -乳球蛋白的储备溶液 (stock solution)。使用 $0.96\text{mlmg}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 的吸收率, 基于 280nm 的吸光率计算精确浓度。将储液在即将开始测量之前在相同的缓冲液中稀释至 10 微摩尔浓度。

[0102] 表 1. 在替代实验中本体面下相 (bulk subphase) 中的磷脂含量 ($\mu\text{g/g}$)

[0103]

样品	PC	PE	LPC	LPE	SPH	总计
天然的 MPLC	8.6	9.0	0	0	14.3	32
水解的 MPLC	1.7*	1.8*	4.6*	4.8*	14.3	27*/32**
纯化的水解物	<1.5	0	4.0	5.9	8.1	18.5

[0104] * 基于期望的 80% 的 PC 和 PE 水解来评估。

[0105] ** 水解前含量: 在重量基础上, 在水解过程中由于脂肪酸的释放, 量有所减少。

[0106] PC: 磷脂酰胆碱; PE: 磷脂酰乙醇胺; LPC: 溶血磷脂酰胆碱; LPE: 溶血磷脂酰乙醇胺; SPH: 鞘磷脂 (Sphingomyelin)。

[0107] 结果

[0108] 在 β -乳球蛋白表面膜下的本体中注射水解的 MPLC 或纯化的水解物引起表面弹性 [E] 从大约 90mN/m 至 <50mN/m 的突然下降。表面弹性的消除说明 β -乳球蛋白表面膜的破裂 (rupture) 和蛋白质从表面的移除。同时, 表面张力减少至比 β -乳球蛋白通常情

况更低的值。该结果显示 β -乳球蛋白被更多表面活性的化合物替代。天然乳磷脂混合物不引起蛋白质从气-水界面被替代(在添加之后表面弹性和表面张力基本上不改变),所以明显地,水解产物对于移除蛋白质层是必需的。

[0109] 所述结果显示乳磷脂水解产物在界面替代乳清蛋白质的能力。

[0110] 实施例 6 来自经磷脂酶处理的奶油的黄油

[0111] 将奶油(38%脂肪)加热至 19℃,并且用磷脂酶(**YieldMax®**, Chr. HansenA/S 和 NovozymesA/S, Denmark; 剂量 1750LEU/1 奶油)处理 2 小时。在酶处理之后,将 100g 奶油在搅打/搅乳设备(Slagsahne **Geprüfgerät**, JAN2Labortecnik, D-2427Malente/Holst, Germany)中搅打。使用相同的步骤搅打不用磷脂酶处理的奶油的对照样品。一次提制的奶油(churning)产生后持续搅打 30 秒(测定为最大能量消耗)。在滴出酪乳之后将产生的黄油量称重。对照样品的黄油收率是 50.30%(4 个测试样品的平均值),而酶处理样品的黄油收率是 54.18%。

[0112] 酶处理之后奶油的表面张力是 31.6mN/m,相比之下对照样品为 33.8mN/m。

[0113] 实施例 7 来自经磷脂酶处理的乳的奶粉

[0114] 将 100l 乳(3.5%脂肪)在罐中加热至 40℃,并且以 175LEU/1 乳(1.84g 酶/100l 乳)的剂量加入磷脂酶。所述磷脂酶来自 *Fusarium venenatum*,具有 9500LEU/g 的活性。

[0115] 在 30 分钟处理之后,将所述的乳巴氏瞬间灭菌(flash pasteurization)以在 80℃将该酶失活。

[0116] 将所述乳在一步降膜蒸发器中蒸发至 40%干固体,并且以 180℃的入口空气温度和 82℃的出口空气温度喷雾干燥。

[0117] 将对照样品批次(batch)以相同方法处理,仅省略酶的添加。

[0118] 分析奶粉样品的溶解度系数(solubility index)、游离脂肪(free fat)和表面张力。在室温将 100ml 水中的 13g 复原奶粉(reconstituted milk powder)两次离心之后,将溶解度系数测量为每毫升中沉积物的量。将所述奶粉加水并且在混合机中以 3500rpm 混合。将 50ml 溶液离心 5 分钟,去除上清液并且将沉积物在 25ml 水中悬浮,并离心。将第二次离心之后的量(ml)提供作为溶解度系数。

[0119] 游离脂肪是通过 CCl_4 提取的以总脂肪含量的百分数表示的脂肪量。

[0120] 表面张力用 Wilhelmy 平板法使用张力计(Krüss Tensiometer K10, KrüssGmbH, Hamburg, Germany)测量。

[0121] 发现下列结果:

[0122]

	对照样品	经酶处理的
溶解度系数(ml)	0.3	0.1
游离脂肪(总脂肪的%)	3.52	2.53
表面张力(60 分钟后 mN/m)	41.8	38.7

[0123] 通过酶处理降低了溶解度系数,这说明乳蛋白较好的热稳定性。当游离脂肪酸减少时,发现脂肪较好的乳化稳定性。表面张力的减少表示乳品设备较小的结垢趋势。