

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A23C 9/12 (2006.01)

A23C 9/127 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03808375.2

[45] 授权公告日 2007 年 3 月 7 日

[11] 授权公告号 CN 1302713C

[22] 申请日 2003.1.17 [21] 申请号 03808375.2

[30] 优先权

[32] 2002. 2. 15 [33] FR [31] 02/01962

[86] 国际申请 PCT/FR2003/000151 2003. 1. 17

[87] 国际公布 WO2003/070009 法 2003. 8. 28

[85] 进入国家阶段日期 2004. 10. 14

[73] 专利权人 盖尔瓦达农公司

地址 法国勒瓦卢瓦佩雷

[72] 发明人 C·奎古纳 N·德格里夫特莱尔

F·格鲁格尔 D·帕奎特

[56] 参考文献

CN1646024A 2005. 7. 27

US3947598A 1976. 3. 30

US6127142A 2000. 10. 3

US4228189A 1980. 10. 14

CN1347657A 2002. 5. 8

US4576822A 1986. 3. 18

审查员 赵学武

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 周承泽

权利要求书 2 页 说明书 13 页 附图 2 页

[54] 发明名称

生产发酵乳制品的新方法

[57] 摘要

本发明涉及生产发酵乳制品的新方法，依照该方法，采用奶的凝结酶(例如凝乳酶)，使奶中至少一种酪蛋白(即 κ 酪蛋白)进行蛋白质水解，并在发酵后对该制品进行搅拌。本发明所述的方法尤其适用于发酵乳制品(例如，酸乳酪和发酵类型的奶)的生产，其中所述的制品，具备改良的品质，尤其是改良的粘度，而不发生脱水收缩。

1. 一种制造选自发酵乳和酸乳酪的乳制品的方法，其特征在于：
 - 一 对蛋白质含量不等于零，但小于或等于 6%的奶基质通过巴氏杀菌法进行热处理，借助于选自具有凝结奶特性的 κ 酪蛋白水解酶的酶进行乳酸发酵和 κ 酪蛋白水解，以便在乳酸发酵的末期获得等于或大于 20%的 κ 酪蛋白水解度，在收集奶和乳酸发酵的末期之间引发所述 κ 酪蛋白水解；条件是若在所述热处理之前引发 κ 酪蛋白水解，则须注意不要在该热处理期间产生沉淀，
并且：
 - 一 在乳酸发酵和 κ 酪蛋白水解处理之后，对所述基质进行搅拌。
2. 权利要求 1 所述的方法，其特征在于，奶基质中的蛋白质含量在 3-5%之间，3%和 5%也包括在内。
3. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于， κ 酪蛋白水解度等于或大于 50%。
4. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于， κ 酪蛋白水解度等于或大于 70%。
5. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于， κ 酪蛋白水解度等于或大于 80%。
6. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述凝结 κ 酪蛋白水解酶以提纯的形式，或以生物提取物的形式，或以微生物培养基的蛋白质提取物的形式，或以生成所述凝结 κ 酪蛋白水解酶的形式提供。
7. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述的凝结 κ 酪蛋白水解酶能使 κ 酪蛋白在残基 105-106 之间的 Phe-Met 键的位置上发生水解。
8. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述的凝结 κ 酪蛋白水解酶是凝乳酶。
9. 权利要求 8 所述的方法，其特征在于，所述的凝乳酶是以粗制凝乳酶的形式加入到奶基质中的。
10. 权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述的凝结 κ 酪蛋白水解酶是米赫根毛霉酸蛋白酶。
11. 权利要求 8 所述的方法，其特征在于，在乳酸发酵的停滞阶段的末期加入所述的凝乳酶。
12. 一种酶的用途，该酶选自具有凝结奶特性的 κ 酪蛋白水解酶，通过巴氏杀菌法进行热处理，通过乳酸发酵和 κ 酪蛋白水解，以制取选自发酵乳和酸乳酪

的搅拌的乳制品，在收集奶和乳酸发酵的末期之间引发上述 κ 酪蛋白水解；条件是若在上述热处理之前引发 κ 酪蛋白水解，则须注意不要在该热处理期间产生沉淀。

13. 一种搅拌过的乳制品，其选自采用权利要求 1 至 10 中任一项所述的方法制得的发酵乳和酸乳酪。

生产发酵乳制品的新方法

本专利申请涉及制造发酵乳制品的新方法，以及采用该方法制得的新产品。这种新方法尤其适用于制取酸乳酪和发酵乳。

本发明的方法的确具有在结果不引起脱水收缩（乳清渗出）现象的情况下，改进这些乳制品的品质，特别是增强粘度的优点，对于酸乳酪或发酵乳类型的发酵乳制品，脱水收缩的现象是否能接受的。依照本发明得到的这个不寻常的制品，是通过使至少一种牛乳酪蛋白，即至少 κ 酪蛋白发生蛋白质水解，并在发酵后对该制品进行搅拌而得到的。

为了改进酸乳酪或发酵乳类型的发酵乳制品的品质，目前采用以下的措施：对牛奶基质进行浓缩，或加入从牛奶中得到的制品，以及特别是加入例如酪蛋白酸盐、乳清蛋白质等蛋白质，或加入例如淀粉、果胶或明胶等赋形剂（增稠剂、胶凝剂）。

在现有技术中，在酸乳酪和发酵乳类型的发酵乳制品的制造期间通常不希望出现酪蛋白，特别是 κ 酪蛋白的蛋白质水解。事实上，由于酪蛋白水解酶具有引起大量的脱水收缩现象的凝结作用，已知酪蛋白水解酶例如在粗制凝乳酶中含有的酪蛋白水解酶，用于制造干酪和液体鲜乳酪。然而，尽管人们在寻找乳清形成方法，并且乳清的形成制造干酪和液体鲜乳酪（回收凝乳）来说是必需的。另一方面，人们不希望在制造酸乳酪和发酵乳期间形成乳清，因为这会导致这种类型的乳制品品质不合格（粒状结构，有大量的乳清渗出）。因此，迄今为止，在酸乳酪和发酵乳的制造期间不使用酪蛋白水解酶，并且注意不要在牛奶基质中出现或产生这种酶。

与之对照，依据本发明的方法生产酸乳酪和发酵乳类型的发酵乳制品，在这种发酵乳制品中至少有一种牛乳酪蛋白，即至少有 κ 酪蛋白发生显著的蛋白质水解。在制造酸乳酪和发酵乳类型的发酵乳制品期间进行这种蛋白质水解与该行业熟练技术人员的偏见背道而驰。

作为指导，可提及例如 Schkoda 等在 2001 年发表的文章（“蛋白质含量对搅拌过的发酵乳的结构特性的影响”，Milchwissenschaft 期刊 56(1): 19-22），这

篇文章记述了用来评价牛乳蛋白质的含量对由乳酸发酵得到的各种制品的结构特性的影响的试验。为此，对纳米过滤后的牛奶进行乳酸发酵，以使蛋白质在相同奶中的含量在 3.5~7.0% 的范围内变动。一方面为了模拟酸乳酪的产生，另一方面为了模拟液体鲜乳酪的产生，一部分试验是在没有粗制凝乳酶的情况下进行的（模拟酸乳酪的制造），另一部分试验是在存在低剂量的粗制凝乳酶的条件下进行的（模拟液体鲜乳酪的制造，在 pH6.4 下，在 100 千克奶或 100 千克的奶浓缩液中含有 0.8mL 的粗制凝乳酶 P99, 179 IMCU/ml，事实上即相当于每 100 千克奶中含有 0.7 毫克活性酶的剂量）。这些模拟的选择清楚地说明了该行业熟练技术人员没有正视在酸乳酪类型制品的制造过程中预先加入粗制凝乳酶的事实。而且，在该文中报告的结果说明当基质含有很高浓度的蛋白质（浓度大于 6%，比较 Schkoda 等在 2001 年发表的文章中的图 2）时，在液体鲜乳酪模型（纳米过滤后的奶+粗制凝乳酶）中的粗制凝乳酶尽管能稍增加制品的粘度，但它仍然能大大降低保留乳清的能力（比较 Schkoda 等在 2001 年发表的文章中的图 1）。这样的脱水收缩结果再加上为了制造酸乳酪和发酵乳确实需要使用蛋白质含量小于或等于 6% 的奶基质的事实，因而增强了该行业熟练技术人员坚信在制造酸乳酪或发酵乳类型的发酵乳制品期间不应该对酪蛋白进行蛋白质水解的观点。

因此，在现有技术中认为奶的蛋白质水解作用是产生技术难题的根源，并且是奶和乳制品中的缺陷，例如在酸乳酪的制造过程中伴随着脱水收缩作用形成易碎的凝乳（Tamine 和 Robinson 于 1985 年著“酸乳酪—科学和技术”，Woodhead Publishing Ltd 于 1999 年出版，与第 17 页比较），以及在 UHT 热处理期间使奶形成凝胶（Stephaniak 和 Sorhaug 于 1995 年发表的文章“奶中细菌酶的热变性反应”，国际乳制品联盟报告“热引起的奶中的变化”1，第 349-363 页）。

通过彻底反对现有技术中的技术偏见的方式，发明者们为了制得酸乳酪和发酵乳类型的发酵乳制品，为了使在奶中本来含有的这些酪蛋白中的至少一种，即至少是 κ 酪蛋白发生蛋白质水解反应，以及为了在发酵之后对得到的制品进行搅拌，提出了本发明。本发明者确实证实了上述方法能令人惊奇和不可思议地改进酸乳酪和发酵乳的品质，特别是能增加酸乳酪和发酵乳的粘度，而最终不会引起在这类发酵乳制品中不能接受的脱水收缩现象。

在本申请中，术语“酸乳酪”和“发酵乳”具有它们惯用的含义。更为具体地，这些名称与法国在 1988 年 12 月 30 日的 88-1203 号法令（在 1988 年 12 月 31 日

的法兰西共和国官方刊物中公布)中定义的那些名称相符合。这法令的正文复制在下文中实施例之后,说明书的末尾。

为了获得在上述法国法令中定义的“酸乳酪或发酵乳”,即在本专利申请中所指的“酸乳酪或发酵乳”,尤其要提到的是是不应该除去乳清,并且必须进行至少相当于巴氏灭菌法的热处理。标准的巴氏灭菌法处理是例如在 92-95°C 下处理 5-10 分钟。由于采用至少相当于标准巴氏灭菌法的热处理,奶基质中的乳清蛋白质完全变性(约使 25-99%的乳清蛋白质变性)。

因此,本专利申请涉及生产发酵乳制品,特别是酸乳酪和发酵乳的新方法,该方法的特点在于它包括以下步骤:

- 对蛋白质含量不等于零,但小于或等于 6%的牛奶基质进行乳酸发酵,并进行κ酪蛋白水解,以便在乳酸发酵的末期获得等于或大于 20%的κ酪蛋白水解程度,κ酪蛋白的水解程度等于或大于 50%较好,等于或大于 70%更好,最好是等于或大于 80%,并且
- 在乳酸发酵和κ酪蛋白水解处理之后,对上述基质进行搅拌。

有利的是,上述κ酪蛋白水解至少部分地与上述乳酸发酵作用相伴发生。如下文更为详细的说明,在所述热处理之后(例如,在乳酸发酵的末期或在乳酸发酵期间),或选择在上述热处理之前或开始时,加入或补充所述κ酪蛋白水解酶,但在后者的情况下,应该注意不要在该热处理期间引起沉淀。

术语“κ酪蛋白水解”或“κ酪蛋白水解处理”在这里的意思理解为κ酪蛋白的蛋白质水解作用。同样地,术语“κ酪蛋白水解酶”是指能够使κ酪蛋白发生水解的酶。

因为奶天然含有κ酪蛋白,并且奶天然含有的蛋白质含量不等于零,所以任何类型的奶基质都适合用于实施本发明。尽管如此,依据要生产酸乳酪和发酵乳的目的,当然需要选择蛋白质含量(在发酵之前)小于或等于 6%的奶基质。选用的奶基质宜含有 3-5%(3%和 5%也包括在内)的蛋白质含量,奶基质中的蛋白质含量在 3.4-5%之间更好,在 3.6-4.8%之间最好。测定奶基质中蛋白质含量的常用的方法包含测定总氮含量,并减去采用在 C. Alais 于 1984 年出版(由 SEPAIC 编辑)的“Science du lait - Principes des techniques laitières”第四版中第 195-196 页所述的凯氏定氮法测量的非蛋白质氮含量。

术语“奶基质”在这里理解为用于制造酸乳酪和发酵乳类型的发酵乳制品的其

惯用的含义，也就是指其组成适用于进行乳酸发酵的任何基质，其中所述的乳酸发酵是为了制造适合于人类食用的酸乳酪和发酵乳。通常，实际中使用的奶基质就是任选地采用巴氏法灭菌和/或经脱脂而收集的奶（例如牛奶、羊奶和山羊奶）。更为普遍的，特别是在工业中，是另外通过加入从奶中制得的产品，例如脱脂奶粉、和/或乳制品蛋白粉（酪蛋白酸盐或 WPC）、和/或脂肪（例如奶油）来使奶的组成“达到标准”。因此，本发明所指的奶基质实际上最通常地是具有等同于收集到的牛奶的组成，或具有等同于标准化的奶的组成，并且该奶基质可以预先用巴氏法灭菌（在 75°C 下保持 20-30 秒）和/或经脱脂。

本发明的新方法可以进行任何乳酸发酵。乳酸发酵法的步骤可以习惯上概括表述如下：

- 收集之后，通常将奶在 75°C 下预先用巴氏法灭菌 10-30 秒，脱脂，并用冷藏的方式储存至需要使用的时候，
- 通过采用该行业熟练技术人员所知的方法，具体是通过添加脱脂奶粉、乳制品蛋白粉（酪蛋白酸盐或 WPC）和任选地加入脂肪（例如奶油），以获得所需的组成，从而使脱脂乳中蛋白质标准化。
- 在粉末的再水合之后，在连续搅拌 30 分钟至 1 小时的情况下，对由此得到的奶混合物在 92-95°C 下进行 5-10 分钟的巴氏灭菌法热处理，然后对该奶混合物在所谓的下行相压力的作用下进行均质化，或者可以在热处理之前进行均质化，即所说的上行相，
- 然后将上述奶混合物冷却至比发酵温度高 1°C 或 2°C 温度，并将乳酸菌接种入该奶混合物中；依照传统方法进行发酵，在 pH 值在 4-5 之间，最好在 pH 值为 4.5-4.7 之间时停止发酵。

当用由保加利亚乳酸菌群和嗜热性链球菌株组成的酵母接种入到奶混合物中时，制得的产品就是酸乳酪。当除了向奶混合物中加入上述菌株外，还向该奶混合物中接种其他种类的乳酸菌，特别是双歧杆菌、嗜酸乳酸杆菌、干酪乳酸杆菌或瑞士乳酸杆菌时，最终的产物是发酵乳。

κ 酪蛋白水解应以控制方式进行，也就是说在主蛋白质水解反应中应是将酪蛋白水解生成它的不同组成的氨基酸，而应该将酪蛋白水解生成肽、多肽或蛋白质尺寸的片段。这当然不排除那些一旦通过控制的 κ 酪蛋白水解作用生成，然后能够在该过程期间发生变化和/或进行水解的片段。然而，最初，依照本发明进行的酪

蛋白水解导致释放至少一个肽、多肽或蛋白质片段，而不是一组各种氨基酸。为此，将依照本发明使用 κ 酪蛋白水解剂，该 κ 酪蛋白水解剂具有凝结奶的特性，即具有破坏胶束稳定性的性质，这样就能引起奶的凝结。测定一种试剂是否具有凝结奶的性质的常用方法是 Berridge 试验（国际乳制品联盟标准 176: 1996, 41, square Vergote, B-1040, 布鲁塞尔），或修改的 Berridge 试验（不向待测的奶中加入 CaCl_2 ）。

作为说明，这种试剂通常从 κ 酪蛋白上释放至少一个 C-末端片段，且该片段的尺寸小于或等于 10kDa，最好是小于或等于 8kDa。

为了在食物介质中进行 κ 酪蛋白水解，宜使用 κ 酪蛋白水解酶。为了进行如上文所述的受控的 κ 酪蛋白水解，最好选用具有凝结奶的性质的 κ 酪蛋白水解酶。

这些酶可以有不同的来源，例如从动物、微生物或植物中获得。

在粗制凝乳酶（小牛、母牛或猪的粗制凝乳酶）中最主要的酶（即凝乳酶）具有能使 κ 酪蛋白在 Phe-Met 键的位置上（残基 105-106）发生水解的有利的性能，从而使该 κ 酪蛋白释放出两种多肽片段：酪蛋白大分子肽类型的 C-末端肽（CMP: 7.2kDa）和对一 κ 酪蛋白类型的 N-末端剩余部分（PKC: 11.8kDa）。凝乳酶，和任何 κ 酪蛋白水解酶（以类似凝酶的方式）使 κ 酪蛋白在 Phe-Met 键的位置上（残基 105-106），或在临近该键的位置上（例如在残基 95-115 所限定的位置内）发生水解反应，这样可释放出 CMP 类型的多肽和 PKC 类型的多肽，以上是进行本发明的有利的、合适的酶的实例。可以从许多供应商处获得粗制凝乳酶和凝乳酶，例如从丹麦 2970 Horsholm 的 Chr. Hansen 处得到粗制凝乳酶，以及从荷兰代尔夫特市 2600 MA 的 DMS 专业食品处得到凝乳酶（出售商标是 Maxiren®）。

存在与凝乳酶等效的 κ 酪蛋白水解酶，例如取自真菌的酶。就这种酶来说，它能使 κ 酪蛋白在 Phe-Met 键的位置上（残基 105-106），或在相邻的位置上（例如，残基 95-115）发生水解反应。特别是，从 DSM 专业食品处（位于荷兰代尔夫特市 2600 MA）购买的商标为 Fromase®的大家普遍认同的米赫根毛霉（*Rhizomucor miehei*）酸蛋白酶就属于这种情况。

有利的、合适的酪蛋白水解酶的另一个实例是从植物中取得的酶，即从朝鲜蓟中提取的朝鲜蓟素（cardosin）。

因此，优选的是，选用的凝结 κ 酪蛋白水解酶要能使 κ 酪蛋白在 Phe-Met 键的位置上（残基 105-106），或在相邻位置上（例如在残基 95-115 所限定的位置上）

发生水解反应。

κ 酪蛋白水解酶可以提纯的形式，或以生物提取物（包含这种酶，并混有其他化合物）的形式，或以微生物培养基的蛋白质提取物的形式，或以微生物的生成物（例如酶）的形式提供。例如，对凝乳酶来说，可以将这种酶以纯化的形式，或以生物提取物如粗制凝乳酶（例如小牛皱胃(abomafum)）的形式（也就是说凝乳酶和少量的胃蛋白酶的未纯化的混合物）加入到牛奶基质中。也可能会从因遗传转化而能够产生酶的微生物中获得凝乳酶。通过对编码牛凝乳酶的基因进行转染而改变的微生物的例子是酵母（乳酸克鲁维酵母菌），该酵母产生的凝乳酶被 DSM 专业食品（位于荷兰尔夫特市 2600 MA）以 Maxiren®的商标出售。黑曲霉也是通过对编码凝乳酶的基因进行转染而发生改变，这种微生物所产生的凝乳酶由 Chr. Hansen 以商标 Chy-Max®出售。

κ 酪蛋白水解酶的选取和将这种酶加入到奶基质中的时间当然取决于这基质的温度和 pH 情况。在制造方法中收集牛奶的时刻至乳酸发酵结束之间的任何时候，确实会选择添加酶或引发酶的产生，例如，在脱脂和通常在冷藏阶段期间对收集的奶进行预先巴氏灭菌的阶段之后，通常在对奶进行标准化期间或在巴氏灭菌之后（例如在冷却期间、在对乳酸菌进行接种期间或在乳酸发酵期间）。因此需要选用一种在目前使用（或将使用）的基质的 pH 值和温度下具有活性的酶，或依照某种指定的酶产生活性的 pH 值和温度来选择加入该种酶的时间。为了获得更好的产量，该行业熟练技术人员宜根据酶最佳活性时的 pH 值和温度来选择 pH 值和温度。当以产酶微生物的形式提供酶时，当然最好在将奶放置在某些条件（尤其是温度和 pH 条件）下的阶段前或期间加入这些微生物，这些条件可促进上述微生物的新陈代谢，特别是促进蛋白酶的产生。

在凝乳酶的具体情况下，由于它不具有耐热性，因此最好是在巴氏灭菌阶段之后，例如在乳酸发酵开始或发酵期间加入这种酶或加入这种酶的酶源，或适当的话引发这种酶的产生。宜在乳酸发酵的停滞阶段的末期（此时 pH 值在 6.4-5.9 之间，最好为 6.3；就温度来说在 37°C-43°C 之间）加入凝乳酶（或适当的话引发产生凝乳酶）。

如果使用耐热的酶（即在 95°C 下进行 5-10 分钟的巴氏灭菌类型的制造仅会使部分酶或根本不会使酶失去活性的这种酶），然后就可以在巴氏灭菌之前，例如在对收集的奶（可能已经脱脂和/或进行预先巴氏灭菌）进行冷藏储存的期间内，

或在对奶进行标准化的期间内加入这种酶或引发这种酶的产生。

酶的最佳添加剂量或适当时产生酶的酶源的剂量当然取决于基质中 κ 酪蛋白的初始含量以及酶在选用的 pH 值和温度的条件下的酶活性。

依据本发明，必须获得至少 20%的 κ 酪蛋白水解度。这个 20%的水解度是最小的阈值，最好能获得更高的水解度（一直到 100%）。然而值得注意的是，在巴氏灭菌之前可能进行 κ 酪蛋白水解反应的情况下，在巴氏灭菌之前宜将 κ 酪蛋白水解度限制在小于或等于 70%，这是为了避免在巴氏灭菌过程中出现沉淀现象。

该行业熟练技术人员知道如何对每个考虑的具体情况进行调整（pH 值、温度、剂量），以获得所需的酪蛋白水解度。例如，对于在乳酸发酵的停滞阶段的末期加入凝乳酶这种情况，即当 pH 值只有非常微弱的酸性或温度不会再超过约 43℃时，可能会向在奶基质中含有的每克 κ 酪蛋白中加入 1-7 微克（最好是 2-7 微克）纯活性酶剂量的凝乳酶。

为了测定奶基质中的 κ 酪蛋白水解度，该行业熟练技术人员掌握了可用的标准技术，例如 Recio 等在 1997 年提出的电泳法（“电泳在研究酪蛋白的蛋白质水解方面的应用”，J. Dairy Res. 64:221-230）。这样，通过测量在经过酶处理之后观察到的 κ 酪蛋白峰的峰表面积相对于在酶处理之前观察到的 κ 酪蛋白峰的峰表面积的减少量，即可计算出 κ 酪蛋白的水解度。值得注意的是，在依据本发明所进行的方法的末期，通常不会完全找到 κ 酪蛋白水解所生成的全部 κ 酪蛋白片段，这些片段可能部分用作乳酸菌生长的营养物。因此，建议监测 κ 酪蛋白峰的减小，而不是监测 κ 酪蛋白水解片段的峰的出现（例如当使用使 κ 酪蛋白在 Phe-Met 键的位置——残基 105-106 上断裂的酶时，会出现 CMP）。

除了 κ 酪蛋白水解之外，依照本发明的方法还包括对发酵制品进行搅拌。可以依照常用技术进行上述搅拌，例如采用通过过滤器的方式变光滑（由 A. Y. Tamine 和 R. K. Robinson 著的“酸乳酪的科学和技术”，Ed. Woodhead Publishing Ltd. 1999）。

依照本发明的方法的优点是：与用 κ 酪蛋白的水解度不至少为 20%和/或不需要搅拌的类似方法制得的酸乳酪和发酵乳相比，它能使制得的酸乳酪和发酵乳类型的发酵乳制品具有改良的品质。它特别可制造与对照的酸乳酪和发酵乳相比，表现粘度（在 64s⁻¹、10s 和 10℃的条件下，用同轴圆筒式粘度计进行测量）增加 20%到 70%的酸乳酪和发酵乳。因此，该方法会限制、甚至避免加入赋形剂（例如明

胶、淀粉或果胶)，赋形剂通常是用来使发酵乳和酸乳酪类型的制品具有适宜的品质。该方法也会限制蛋白质在使用的奶基质中的含量：奶基质会含有低浓度的蛋白质，同时又保持令人满意的表观粘度效果。例如，发明者已经能够证明，为了获得表观粘度值（通过将本发明的方法应用在含有 4.1% 的蛋白质牛奶混合物中获得），在不进行 κ 酪蛋白水解处理的情况下，需要将蛋白质在奶基质中的含量增加到 4.9%。使用本发明的方法，在品质方面获得同等结果的情况下，可使酸乳酪和发酵乳类型的乳制品的制造需要较少的赋形剂和蛋白质。

特别显著的方面是，依照本发明的方法不会引起脱水收缩现象，而脱水收缩现象对于发酵乳或酸乳酪类型的制品是不可接受的。这样，发明者就能观察到不会出现任何的倾析或渗出现象，即使是在 10°C 的温度下储存 28 天之后。该制得的制品也具有并保持完全光滑和均匀的品质。

本申请也涉及采用本发明的方法制造发酵乳和酸乳酪。具体地，采用本发明的方法制造的发酵乳和酸乳酪的特点在于，其 κ 酪蛋白的含量远远小于在现有技术的类似制品中通常观测到的 κ 酪蛋白含量。如果发酵乳和酸乳酪的成品是由已经经过至少等同于标准巴氏灭菌的热处理（例如在 92-95°C 下加热 5-10 分钟）的奶或奶基质制得的，那么该成品的乳清蛋白会完全变性（约有 25-99% 的乳清蛋白变性）。更具体地，本发明的酸乳酪和发酵乳的特征在于，其 κ 酪蛋白水解度至少为 20%，其水解度至少为 50% 较佳，至少为 70% 更佳，至少为 80% 最好。依照 Recio 等在 1997 年提出的方法（“电泳在研究酪蛋白的蛋白质水解方面的应用”，J. Dairy Res. 64:221-230），采用毛细管电泳技术能够测定上述 κ 酪蛋白水解度。该方法的测定原理是，在本发明方法制备的酸乳酪和发酵乳的制造过程中， κ 酪蛋白的峰的表面积会减小，并以标准峰（例如，在该方法的实行过程中，含量不发生明显变化的某种参考化合物的峰）为基准。如果使用的 κ 酪蛋白水解酶是凝乳酶，那么 α -酪蛋白峰 S1 可以用作标准峰。因此，以下计算可以计算出本发明方法制备的发酵乳的 κ 酪蛋白水解度：

$$\kappa\text{酪蛋白水解度}(\%) = 1 - ((a_{\kappa e} * a_{\alpha s1} / a_{\alpha sc}) / a_{\kappa t}) * 100$$

其中： $a_{\kappa e}$ = 酸乳酪样品的 κ 酪蛋白峰的峰面积

$a_{\kappa t}$ = 对照奶的 κ 酪蛋白峰的峰面积

$a_{\alpha sc}$ = 酸乳酪样品的参考化合物峰（在使用凝乳酶的情况下是 α -酪蛋白 S1 峰）的峰面积

$a_{\alpha_{st}}$ =对照奶的参考化合物峰 (α -酪蛋白 S1 峰) 的峰面积

词组“对照奶”理解为已经经过脱脂和预先巴氏灭菌(在 75°C 下加热 10-30 秒)的整体混合的牛奶。

或者,如果在酸乳酪或发酵乳中检测到大量的 κ 酪蛋白水解酶(例如存在大量的凝乳酶),那就可以由此推测出这酸乳酪或发酵乳是遵照本发明制得的。例如,借助于抗凝乳酶的抗体能够测得存在着的大量凝乳酶(Boudjellab N., Rolet Repecaud O.和 Collin J. C., 1994,“采用酶连接的免疫吸收剂化验技术检测干酪中残留的凝乳酶”,乳制品研究期刊,61:101-109)。

该行业熟练技术人员会发现,在由 A. Y. Tamine 和 R. K. Robinson 著的第二版书籍“酸乳酪—科学与技术”(Woodhead Publishing Ltd)中的内容作为参考已列入本申请中。这本书为实施本发明的实施方式提供了重要的技术信息。

提供的以下实施例完全是为了举例说明。关于图 1 和图 2,每个图都显示以 mPa.s 为单位测得的对照发酵乳(左边 5 个条柱)和依照本发明采用凝乳酶处理制得的发酵乳(右边 5 个条柱)的表观粘度值($64s^{-1}$, 10s, 同轴圆筒式粘度计):对于这两组发酵乳的每一种,从左到右都显示出在 D0(在 20°C 下得到的表观粘度测量值),然后在 D1、D7、D14 和 D28(在 10°C 下得到的表观粘度测量值)所测的表观粘度测量值。

实施例 1

对从生产者直接收集得到的整体混合的牛奶预先脱脂、预先巴氏灭菌并冷却到 4°C 后,借助于脱脂奶粉和奶油,对蛋白质(4.3%)和脂肪(3.2%)进行标准化。将这样制得的奶基质进行巴氏灭菌(在 95°C 下加热 8 分钟),然后进行均质化。在冷却到 44°C 并接着用乳酸菌(纯嗜热性链球菌株和纯保加利亚乳酸菌株,从 Chr. Hansen 处获得,发酵温度为 43°C,发酵时间为 4 小时 30 分)进行接种之后,将 DSM 出售的凝乳酶 Maxiren®以剂量为 120IMCU/g 的方式(每 100 克奶混合物中含有 1 微克的凝乳酶,即每克 κ 酪蛋白中含有 2.3 微克的酶)补加到奶基质中。

当 pH 值达到 4.6 时,从发酵罐中取出凝乳,采用通过过滤器的方式使该凝乳变光滑,然后将搅拌后的制品在板式换热器中冷却到 20°C,随后封装在 125ml 的罐中,在 4°C 下储存整个晚上,然后在 10°C 下储存 28 天。

图 1 中显示在发酵的初始补加凝乳酶和不补加凝乳酶的情况下,在对酸乳酪类

型的发酵乳进行冷藏期间测得的表观粘度数据 ($64s^{-1}$, 10 秒钟后, 采用同轴圆筒式粘度计)。误差横杠代表 95%的置信区间。

在凝乳酶存在下制得的产品除了与对照制品相比其粘度大大增加外, 不出现渗出现象, 即使在 $10^{\circ}C$ 下存储 28 天之后。品尝员描述该乳制品在口中的品质是特别滑润和有被膜的。未发现味道上的不足。在发酵期间存在凝乳酶绝对不会改变酸化动力学。

实施例 2

对整体混合的牛奶预先脱脂, 预先巴氏灭菌并冷却到 $4^{\circ}C$ 之后, 借助于脱脂奶粉和奶油, 对蛋白质 (4.5%) 和脂肪 (2.1%) 进行标准化。将这样制得的奶基质进行巴氏灭菌 (在 $95^{\circ}C$ 下加热 8 分钟), 然后进行均质化。在冷却到 $39^{\circ}C$ 之后, 用乳酸菌给奶基质接种 (从 Chr. Hansen 处获得的嗜热性链球菌株和纯保加利亚乳酸菌株, 从 Chr.Hausen 获得, 发酵温度为 38, 发酵时间为 7 小时 30 分)。在发酵期间 ($pH=6.2$), 以每 100 克牛奶混合物中含有 1.5 微克凝乳酶的比率 (即每克 κ 酪蛋白中含有 3.3 微克的酶) 加入凝乳酶 (从 DSM 购得的 120IMCU/g 的 Maxiren®)。

当 pH 值达到 4.6 时, 从发酵罐中取出凝乳, 采用通过过滤器的方式使该凝乳变光滑, 然后将搅拌后的制品在板式换热器中冷却到 $20^{\circ}C$, 随后封装在 125ml 的罐中, 在 $4^{\circ}C$ 下储存整个晚上, 然后在 $10^{\circ}C$ 下储存 28 天。

图 2 中显示在发酵期间 ($pH=6.2$) 补加凝乳酶和不补加凝乳酶的情况下, 在对酸乳酪类型的发酵乳进行冷藏期间测得的表观粘度数据 ($64s^{-1}$, 10 秒钟后, 采用同轴圆筒式粘度计)。误差横杠代表 95%的置信区间。

与前述的实施例相同的是, 在凝乳酶存在下制得的产品不出现渗出现象, 即使在 $10^{\circ}C$ 下存储 28 天之后。品尝员对该乳制品在口中的品质的评价是与对照乳制品相比具有特别滑润和有被膜的口感。未发现味道上的不足。在发酵期间存在凝乳酶不会改变酸化动力学。

1988 年 12 月 30 日的 88-1203 号法令

关于发酵乳和酸乳酪的法令

NOR: ECOC8800150D

在国务部长、经济事务财政预算部长、大法官、司法部长、农林业部长和联合、

健康和社会福利部长、政府发言人的报告上，在 1905 年 8 月 1 日关于产品或服务的欺诈和歪曲事实方面的法律，特别是该项法律的第 11 条，与 1919 年 1 月 22 日制定的使用上述法律的修改法令方面；在 1934 年 6 月 29 日关于保护乳制品的法律方面；在 1935 年 7 月 2 日制定的组织和改善牛奶市场的法律方面；在 1912 年 4 月 15 日的使用上述 1905 年 8 月 1 日关于食品方面的法律的修改法令方面；在 1924 年 3 月 25 日的使用 1905 年 8 月 1 日有关牛奶和乳制品的法律的修改法令方面；在 1984 年 12 月 7 日的使用上述 1905 年 8 月 1 日有关食品的商标和说明的的法律的第 88-1147 号法令方面，总理已经听取了政府（财政部）的意见。

第 1 条

名称“发酵乳”专用于用脱脂乳或未脱脂乳或炼乳或脱脂奶粉或未脱脂奶粉等富含或不富含奶成分的物质制备得到的乳制品，该乳制品必须先经过至少等同于巴氏灭菌法的热处理，以及把属于每个制品的物种特性的微生物接种入该制品中。

应该由使用的微生物的活性来产生发酵乳的凝结，而不应该用其他方法获得发酵乳的凝结。

在销售期间，乳制品中含有的游离的乳酸的数量不应该小于 0.6 克/100 克。相对于含奶部分所表示的蛋白质物质的含量不应该小于正常奶中蛋白质物质的含量。

在将发酵乳销售给消费者为止的这段时间内，必须把发酵乳放置在能够避免其变质的温度下进行保存，负责农业、健康和消费者事务的部长们将对其联合指令作出规定。

条款 2

名称“酸乳酪”专用于依照合理和传统的作法，通过只有特定的嗜热乳酸菌的生长而获得的发酵乳，上述特定的嗜热乳酸菌被称为保加利亚乳酸菌和嗜热性链球菌，这两种菌必须同时接种，并在成品中仍具有活性。相对于含奶部分所表示的上述特定的嗜热乳酸菌的比率为至少 1 千万个乳酸菌克。

销售期间，在酸乳酪中游离的乳酸的含量不应该小于 0.7 克/100 克。

第 3 条

可以将以下制品补加到发酵乳中：香料提取物、天然食用香精和限值为成品的30重量%以内的糖和其它能使发酵乳带有某种特殊味道的食品。

禁止加入非奶来源的脂肪和蛋白质物质作为替代品。

禁止对发酵乳进行除去所用奶中的组成成分，特别是使凝块沥干的任何处理。

以在上述1912年4月15日法令的第一条中规定的形式发布的法会陈述了在本法令所述的制品的制造和制备过程中准许使用的其他物质和其它种类食用香精的清单和使用条件。

第4条

对1997年4月3日颁布的法令97-298 1997-03-27第2条的修正

除了在上述消费者法规的第R.112-6到R.112-31的条款中规定的注释外，发酵乳的商标还包括：

- 除商品名称外，只要发酵乳不是牛奶，要注明该发酵乳来源的动物种类信息；
- 注释“在……下保存”要注明要观测的温度的信息；
- 如果以含奶部分计的制品中的脂肪含量小于1重量%，在商品名称后面要注明“低脂肪”；
- 根据情况，如果要给发酵乳加糖或调味，要注明“加糖”或使用的调味物质的名称；
- 在加入一种或多种在第3条中规定的配料的情况下，必须在商品名称上加上这种或这些配料的注释。

如果以含奶部分计的脂肪含量至少等于3重量%，在该发酵乳的商标上可以在商品名称旁附加“脂肪”的注释。

第5条

如果某制品含有的“酸乳酪”符合在以上第2条中规定的定义，那么名称“酸乳酪”可以只出现在该食品的商标上。

第6条

负责农业、健康和消费者事务的部长们的联合指令在适当时候规定在本法令中定义的制品保持其特性的时间。

第 7 条

对 1997 年 4 月 3 日颁布的法令 97-298 1997-03-27 第 2 条的修正

与采用消费者法规的第 R.215-1 至 R.215-15 项条查找并可能确定欺诈罪的所期望的量度无关，负责农业、健康和消费者事务的部长们以联合指令的方式规定发酵乳的微生物特性和检查这些特性的方式。

第 8 条

[本条款正在修正]

第 9 条

国务部长、经济事务财政预算部长、大法官、司法部长、农林业部长、联合、健康和社会福利部长、政府发言人，以及国务部分的国务秘书、负责消费者事务的经济事务财政预算部长各自都按照赋予他们的责任贯彻执行本法令。该法令将公布在法兰西共和国的官方刊物上。

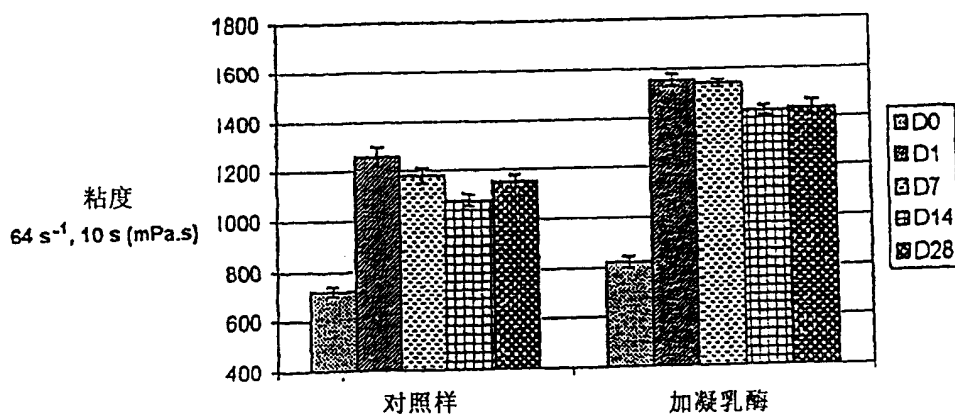


图 1

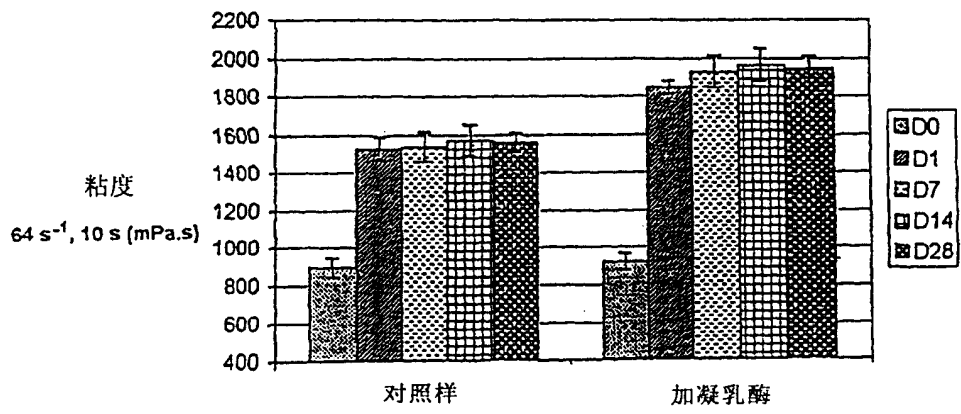


图 2