

葡萄糖对脱脂乳酪蛋白胶束稳定性的影响研究

杨敏^{1,2,3}, 梁琪^{1,2,*}, 乔海军³, 张卫兵^{1,2}, 孙雪燕³, 甘伯中^{1,2}

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃兰州 730070;

2. 甘肃省功能乳品工程实验室, 甘肃兰州 730070)

3. 甘肃农业大学理学院, 甘肃兰州 730070)

摘要:研究了葡萄糖添加量、体系pH、热处理温度、热处理时间对脱脂牛乳酪蛋白胶束稳定性的影响。研究表明,在接近中性pH条件下,少量葡萄糖分子可降低脱脂乳酪蛋白胶束的稳定性,大量葡萄糖分子可增强其稳定性。添加葡萄糖后,在高温热处理的诱导下,酪蛋白沉淀的pH升高。随着热处理时间的延长,脱脂乳中酪蛋白胶束表现出聚集行为,致使粒径增大,浊度和沉淀率总体呈现上升趋势。该研究结论可为乳品加工提供参考依据。

关键词:脱脂乳,酪蛋白胶束,葡萄糖,稳定性

Study on the influence of glucose on the stability of casein micelles in skim milk

YANG Min^{1,2,3}, LIANG Qi^{1,2,*}, QIAO Hai-jun³, ZHANG Wei-bing^{1,2}, SUN Xue-yan³, GAN Bo-zhong^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

2. Gansu Provincial Functional Dairy Engineering Laboratory, Lanzhou 730070, China;

3. College of Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The influence of the glucose amount, the system pH, the heat treatment temperature, the heat treatment time on the stability of casein micelles of skim milk were studied. The result showed that, nearly neutral pH, the stability of skim milk casein micelles was reduced with a small amount of glucose, which was increased with a large number of glucose. The pH of the casein precipitation was increased by adding glucose on the high temperature heat treatment. With the extension of the heat treatment time, casein micelles showed aggregation behavior, the particle size was increased, which induced the turbidity and sedimentation amount upward. The conclusion would provide a reference for the dairy processing.

Key words: skim milk; casein micelles; glucose; stability

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)24-0081-04

牛奶的主要成分是蛋白质、脂肪、糖和矿物质等,其蛋白质主要是酪蛋白,为全价蛋白质。酪蛋白是一类含磷蛋白质,其丝氨酸羟基与磷酸根之间形成了酯键。研究表明,酪蛋白不是单一的蛋白质,而是由四部分组成: α_s -酪蛋白、 β -酪蛋白、 γ -酪蛋白和 κ -酪蛋白,以胶束态存在。酪蛋白具有高度水合性,含水量为3.7g水/g酪蛋白,其容积度为4.4mL/g酪蛋白。酪蛋白粒径分布在50~300nm之间,绝大部分胶束粒径约80nm。每个酪蛋白胶束大约含有20,000~150,000个酪蛋白单体分子,平均分子量约为 2.5×10^8 。酪蛋白胶束中酪蛋白含量约为97%,其他7%为无机

钙(2.87%)、磷酸盐(2.89%)、柠檬酸盐(0.40%)以及少量的镁、钾、钠离子^[1-5]。食品中蛋白质的热稳定性决定了食品的加工条件,好的热稳定性可以提高蛋白质的加工使用范围^[6]。在一些乳品加工过程中,添加葡萄糖以改善产品的品质和口感,而葡萄糖对乳中酪蛋白胶束稳定性的影响未见报道。本文针对葡萄糖对酪蛋白胶束稳定性的影响,研究了不同pH、不同热处理温度及不同处理时间下脱脂乳酪蛋白稳定性变化,旨在为乳品加工提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜牛乳 甘肃农业大学牛奶场;葡萄糖 分析纯。

UV-2100双光束紫外-可见分光光度计 北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司;精密电子天平 上海良平仪器仪表有限公司;低速台式离心机 上海安亭科学仪器厂;DF-II集热式磁力加热

收稿日期:2012-07-04 * 通讯联系人

作者简介:杨敏(1981-),女,在读博士,讲师,研究方向:乳品科学与技术。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30960260);甘肃省自然科学基金研究基金计划重点项目(1107RJZA227)。

搅拌机、HH-S数显恒温水浴锅 金坛市顺化仪器有限公司; PHS-3C-01实验室pH计 上海三信仪表厂。

1.2 实验方法

1.2.1 脱脂乳 鲜牛奶经纱布过滤后,在温度25℃,转速3000r/min条件下,离心15min,除去上层脂肪,即得脱脂乳。

1.2.2 样品处理 准确移取100.00mL脱脂乳,分别准确称取0.0000、0.2500、0.5000、0.7500、1.0000g葡萄糖,加入脱脂乳中,于室温下磁力搅拌10min。用1mol/L NaOH和HCl溶液在搅拌条件下调节pH至为5.50、6.00、6.50、7.00、7.50、8.00。调至所需酸度后继续搅拌10min,用保鲜膜封口,于室温下平衡4h以上。将上述溶液分装于10支离心试管中,以不同温度和不同时间热处理(将样品置于恒温水浴中开始计时),在冷水浴中迅速冷却至室温,测定浊度和热稳定性。

1.2.3 浊度的测定^[7] 将处理后的样品摇匀后准确移取200 μ L稀释至5.00mL,以蒸馏水为参比,于633nm波长下测定吸光度值,即为浊度。

1.2.4 热稳定性的测定^[8-9] 热稳定性以沉淀率表示,先称取离心管的质量。再分别取热处理后的样品溶液10mL置于离心管中,称重,取差值得到处理后脱脂乳质量。在20℃、4000r/min条件下离心15min,倒出上层溶液,称重,取差值得到沉淀质量。计算沉淀量与蛋白溶液的比例,即:

$$\text{沉淀率}(\%) = \frac{\text{沉淀质量}}{\text{总蛋白溶液质量}} \times 100.$$

2 结果与分析

2.1 pH对脱脂乳酪蛋白稳定性的影响

由图1(a)、图1(b)可知,pH为5.5时,添加葡萄糖后经过80℃热处理,酪蛋白稳定性降低,胶束聚集,产生沉淀,一方面是由于添加葡萄糖降低了酪蛋白的溶解性,另一方面是由于80℃处理使脱脂乳中乳清蛋白变性,粘附于酪蛋白胶束表面,使之粒径增大,稳定性降低^[10-12];之后,酪蛋白在热处理和葡萄糖诱导下开始解离,随着pH的升高,酪蛋白胶束解离程度增大,粒径减小,浊度降低,因此沉淀率降低。

由图1(c)、图1(d)可知,60℃处理后,乳清蛋白变性程度与pH密切相关。不同pH下,发生变性的乳清蛋白量不同,酪蛋白、乳清蛋白以及葡萄糖之间的作用力不同,因此酪蛋白稳定性随pH变化规律性不强。总体而言,当pH为5.5时,胶束聚集程度较大,浊度和沉淀率为最大。

由图1(e)、图1(f)可知,40℃处理下,葡萄糖添加量对脱脂乳浊度的影响较为规律,pH为5.5时,添加0.25g葡萄糖的脱脂乳浊度及沉淀率均达到同组最大值;随着pH的升高,糖添加量对脱脂乳浊度及沉淀率的影响差异较小,浊度与沉淀率变化较小。这是由于在接近等电点时,酪蛋白胶束本身所带电荷被中和,溶解性降低,添加少量葡萄糖后,酪蛋白胶束与葡萄糖分子形成氢键,由于糖分子较少,胶束在争夺糖分子的过程中相互靠近,聚集程度增大;但是,当葡萄糖添加量增大时,酪蛋白胶束与多个葡萄糖分子之

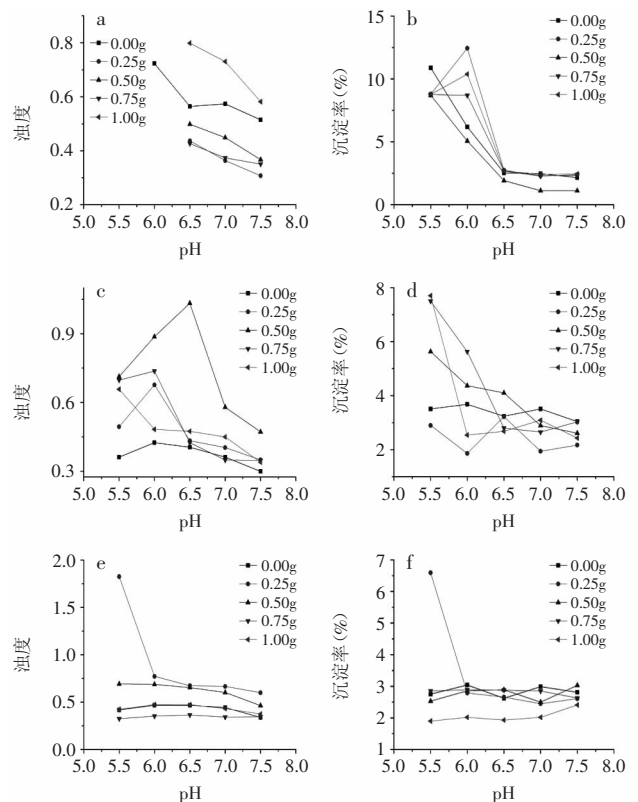


图1 pH对脱脂乳浊度及稳定性的影响

Fig.1 The influence of pH on the stability of skim milk

注:a.80℃热处理30min后浊度的变化;b.80℃热处理30min后沉淀率的变化;c.60℃热处理30min后浊度的变化;d.60℃热处理30min后沉淀率的变化;e.40℃热处理30min后浊度的变化;f.40℃热处理30min后沉淀率的变化。

间形成了氢键等作用力,相当于在胶束外围形成了一层保护膜,使得胶束稳定性增加,难以靠近,因此,胶束粒径和沉淀率不再随pH变化而变化。

由此可见,添加葡萄糖对脱脂乳酪蛋白胶束的稳定性影响一方面取决于体系的pH,另一方面与糖分子数目有关。脱脂乳在高温处理下,随着pH的增大,浊度呈现降低趋势,低温处理时浊度变化不显著^[12-13]。

2.2 热处理温度对脱脂乳酪蛋白稳定性的影响

由图2可以看出,60℃以下,添加葡萄糖后,随着热处理温度的升高,酪蛋白胶束粒径及沉淀率几乎不变,因为葡萄糖分子的存在保护了酪蛋白胶束,使其稳定性增强,对中低温处理表现不敏感;不添加葡萄糖时,酪蛋白胶束粒径先增大,后减小,沉淀率缓慢增大。60℃以上,在pH5.5时,胶束之间的静电作用力被破坏,发生聚集,浊度和沉淀率最大;不添加葡萄糖时,随着热处理温度的升高,变性的乳清蛋白附着在酪蛋白胶束表面,粒径增大,附着的乳清蛋白阻止了胶束的相互靠近,使其稳定性增大,沉淀率降低。60℃以下热处理时,酪蛋白胶束沉淀率与pH无关。60℃以上热处理时,随着pH的增大,酪蛋白胶束的解离程度增大,粒径减小,沉淀率降低。由此可见,温度对浊度的影响依赖于pH。

由图2(e)、图2(f)可以看出,随着pH的增大,脱脂乳浊度总体呈现降低趋势。在温度诱导下,脱脂乳

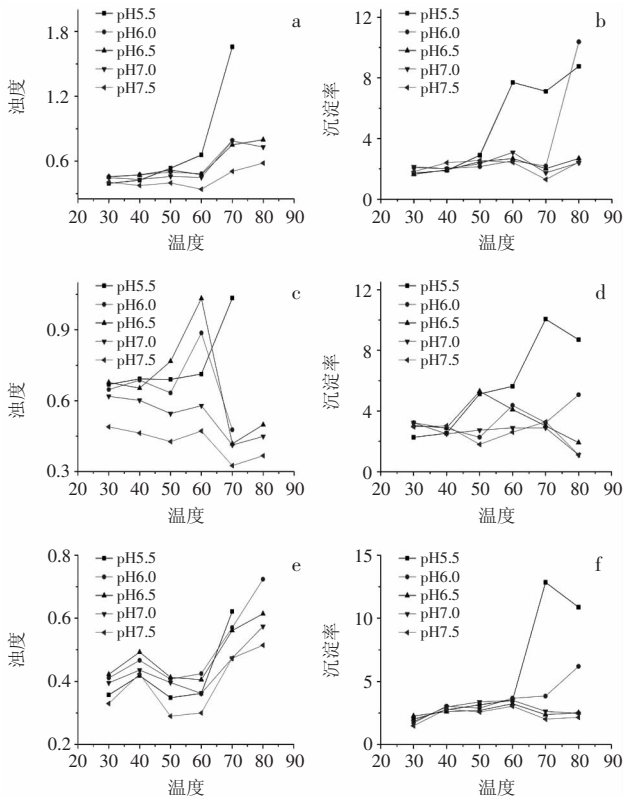


图2 热处理温度对脱脂乳浊度及稳定性的影响

Fig.2 The influence of heat treatment temperature on the stability of skim milk

注: a~b, 添加1.0g葡萄糖; c~d, 添加0.5g葡萄糖; e~f, 不添加葡萄糖。

浊度呈现出先增大, 后减小, 再增大的趋势, 在40℃和60℃出现拐点。在低温诱导下, 胶束中酪蛋白结构伸展, 变得蓬松而胀大, 因此胶束粒径增大, 浊度增加。40℃以上, 随着热处理的进行, 胶束热运动加剧, 整体呈现出解离趋势, 粒径减小, 浊度降低。60℃以上热处理时, 乳清蛋白变性, 粘附在酪蛋白胶束表面, 一方面增大了胶束粒径, 另一方面由于温度的升高促使胶束相互碰撞几率显著增加, 因此胶束相互聚集, 浊度急剧增大。60℃以下热处理, 酪蛋白胶束粒径变化并不显著, 所以沉淀率增大缓慢, 与体系pH无关。高温热处理时, 脱脂乳的稳定性与pH密切相关, pH低于6.0时, 脱脂乳稳定性明显降低^[14-15]。

综上所述, 脱脂乳稳定性与葡萄糖浓度、体系pH、热处理温度密切相关, 60℃、pH低于6.0可以视为脱脂乳稳定性显著变化的拐点。

2.3 葡萄糖添加量对脱脂乳酪蛋白稳定性的影响

由图3可以看出, 50℃热处理50min时, 即中温长时间处理时, 葡萄糖添加量为0.5g的脱脂乳浊度和沉淀率达最大值, 60℃处理位居第二; 其他温度处理50min时, 添加葡萄糖对脱脂乳浊度及沉淀率没有显著影响。当热处理时间为30min时, 添加0.5g葡萄糖在50、60℃处理下, 浊度和沉淀率均最高; 其他温度处理下, 浊度和沉淀率规律性较差。热处理时间为10min时, 添加0.5g葡萄糖后, 70、80℃高温处理下浊度较小, 酪蛋白胶束粒径较小, 80℃处理时, 沉淀率达到

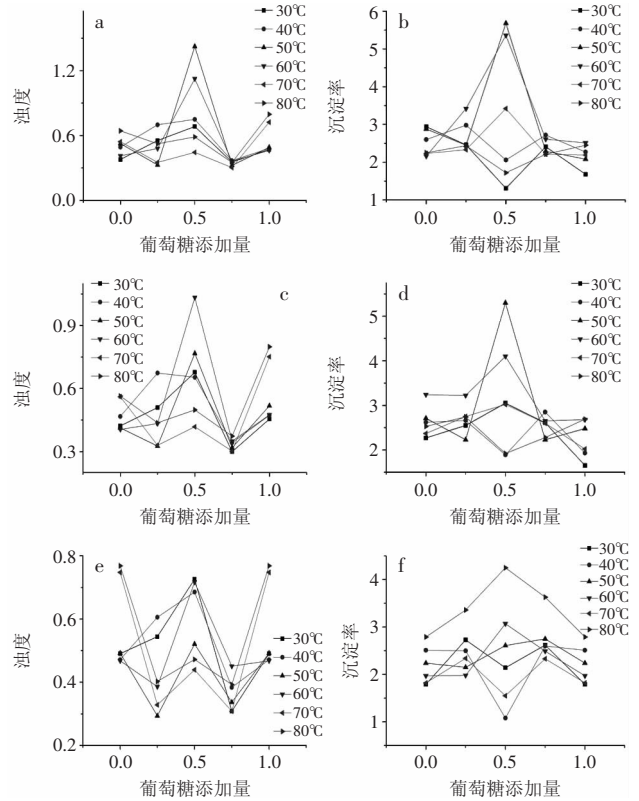


图3 葡萄糖添加量对脱脂乳浊度及稳定性的影响

Fig.3 The influence of glucose content on the stability of skim milk

注: a.pH为6.5, 热处理50min后浊度的变化; b.pH为6.5, 热处理50min后沉淀率的变化; c. pH为6.5, 热处理30min后浊度的变化; d.pH为6.5, 热处理30min后沉淀率的变化; e.pH为6.5, 热处理10min后浊度的变化; f.pH为6.5, 热处理10min后沉淀率的变化。

最大值, 胶束聚集明显, 而70℃处理下, 胶束解离程度大于聚集程度, 浊度和沉淀率均较小; 不添加葡萄糖时, 高温处理下酪蛋白明显聚集, 沉淀率增大, 其他温度处理对酪蛋白胶束稳定性不产生影响, 这与添加1.0g葡萄糖变化趋势基本一致。综上所述, 添加0.5g葡萄糖后, 酪蛋白、乳清蛋白以及糖分子之间的作用力较为复杂, 与热处理温度和pH有关, 总体而言脱脂乳稳定性有所降低, 中高温长时间处理能使其显著聚集。其他添加量下, 酪蛋白胶束对温度不敏感, 稳定性与不添加糖的脱脂乳一致。所以, 少量的葡萄糖分子可以降低酪蛋白胶束的稳定性, 大量的糖分子可以增加酪蛋白胶束的稳定性, 其影响程度取决于温度、加热时间和体系酸度。

2.4 热处理时间对脱脂乳酪蛋白稳定性的影响

由图4可以看出, 随着热处理时间的延长, 脱脂乳中酪蛋白胶束均表现出聚集行为, 致使粒径增大, 浊度和沉淀率总体呈现上升趋势。热处理下, 20min之前, 酪蛋白胶束粒径及沉淀率迅速增大, 20min之后, 变化相对变缓。这是由于在一定温度下, 酪蛋白胶束内部及胶束与乳液中其他分子之间的相互作用达到平衡需要一定的时间, 当这种作用平衡形成后, 胶束的稳定性不再随时间变化。但是, 高温会加剧胶束和其他分子的热运动, 使其相互碰撞而聚集的几率增加, 因此, 随着热处理时间的延长, 胶束的粒径

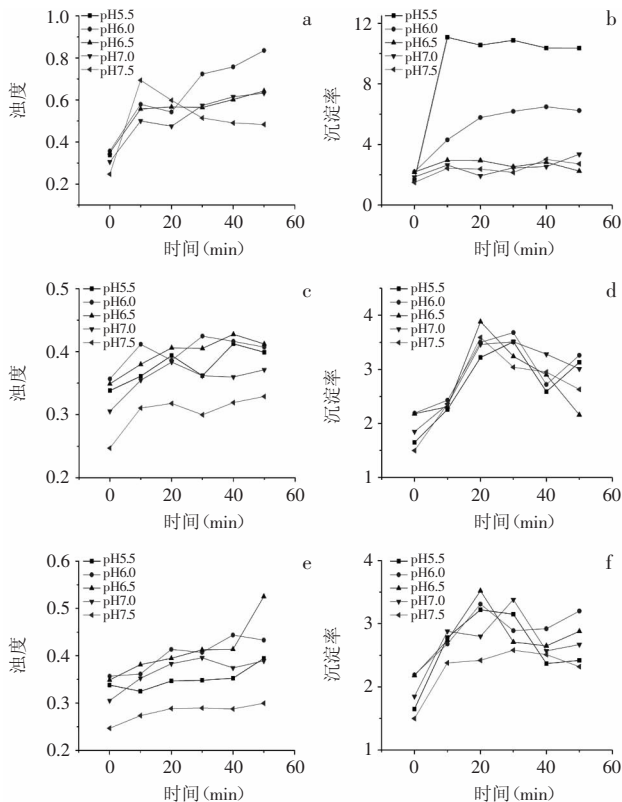


图4 热处理时间对脱脂乳浊度及稳定性的影响

Fig.4 The influence of heat treatment time on the stability of skim milk

注:a.80℃热处理后浊度的变化;b.80℃热处理后沉淀率的变化;c.60℃热处理后浊度的变化;d.60℃热处理后沉淀率的变化;e.40℃热处理后浊度的变化;f.40℃热处理后沉淀率的变化。

及沉淀率均有所增加^[12-13]。20min之后,80℃处理时,随着处理时间的延长,pH为6.0时浊度增加显著,酪蛋白以聚集为主,pH为7.5时浊度缓慢降低,酪蛋白单体解离,粒径减小;pH为5.5时,由于胶束部分电荷被中和,聚集程度增大,粒径较其他pH大,易于离心分离,因此,沉淀率最大,pH6.0时其次,其他pH之间差异不显著。60℃和40℃处理,就浊度而言,pH为7.5时最小,说明偏碱性条件可使酪蛋白单体解离,或降低了糖分子和胶束的结合作用,胶束粒径较小。综上所述,热处理时间的延长可致使脱脂乳酪蛋白稳定性降低。

3 结论

在接近中性pH条件下,少量葡萄糖分子可与酪蛋白胶束之间形成交联作用,降低脱脂乳酪蛋白胶束的稳定性,大量葡萄糖分子可在胶束外周形成一层保护膜,增加其稳定性。添加葡萄糖后,在高温热处理的诱导下,酪蛋白沉淀的pH升高。添加葡萄糖后,60℃以下热处理时,酪蛋白胶束稳定性与pH无关。60℃以上热处理时,随着pH的增大,酪蛋白胶束的解离程度增大,粒径减小,沉淀率降低。脱脂乳稳定性与葡萄糖浓度、体系pH、热处理温度密切相关,60℃、pH低于6.0可以视为脱脂乳稳定性显著变化的拐点。

葡萄糖分子对酪蛋白胶束的稳定性影响较为复杂。添加糖分子后,酪蛋白胶束的稳定性主要取决于

胶束之间的静电作用力和胶束与糖分子之间的氢键作用,而这些作用力又与胶束所处环境密切相关。热处理时间对脱脂乳稳定性影响显著,随着热处理时间的延长,脱脂乳稳定性降低。

参考文献

- [1] A Braga, M Menossi, R Cunha. The effect of the glucono- Δ -lactone/caseinate ratio on sodium caseinate gelation[J]. International Dairy Journal, 2006, 16(5): 389-398.
- [2] GJO Martin, RPW Williams, DE Dunstan. Comparison of Casein Micelles in Raw and Reconstituted[J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90: 4543-4551.
- [3] PF Fox, A Brodkorb. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance[J]. International Dairy Journal, 2008, 18(7): 677-684.
- [4] Liu Y, Guo R. pH-dependent structures and properties of casein micelles[J]. Biophysical Chemistry, 2008, 136: 67-73.
- [5] C Schorsch, M G Jones, I T Norton. Micellar Casein Gelation at High Sucrose Content[J]. Dairy Science, 2002, 85: 3155-3163.
- [6] 刘娟, 卢蓉蓉. 酪蛋白湿法糖基化改性研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(10): 49-50.
- [7] P Claudia, S Uwe, R Sven, et al. Crosslinking of casein by microbial transglutaminase and its resulting influence on the stability of micelle structure[J]. Journal of Biotechnology, 2007(2): 456-461.
- [8] G Meng T, Ma C Y. Thermal properties of Phaseolus angularis (red bean) globulin[J]. Food Chemistry, 2001, 73(4): 453-460.
- [9] 李党国, 潘超然, 刘晶, 等. 酸性含乳饮料稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(3): 108-111.
- [10] A Jaubert, C Durier, A Kobilinsky, et al. Structural organization of the goat casein micelle: effect of the physico-chemical environment (pH, temperature, ionic strength) on its mineral and protein composition[J]. International Dairy Journal, 1999(9): 369-370.
- [11] S G Anema, H Klostermeyer. The effect of pH and heat treatment on the κ -casein content and the ζ -potential of the particles in reconstituted skim milk[J]. Milchwissenschaft, 1997, 52: 217-223.
- [12] S G Anema, K Henning. Heat-Induced, pH-Dependent Dissociation of Casein Micelles on Heating Reconstituted Skim Milk at Temperatures below 100℃[J]. Agricultural Food Chemistry, 1997, 45: 1108-1115.
- [13] S G Anema. Effect of Milk Concentration on Heat-Induced, pH-Dependent Dissociation of Casein from Micelles in Reconstituted Skim Milk at Temperatures between 20 and 120℃[J]. Agricultural Food Chemistry, 1998, 46: 2299-2305.
- [14] S Marchin, JL Putaux, F Pignon, et al. Effects of the environmental factors on the casein micelle structure studied by cryotransmission electron microscopy and small-angle X-ray scattering/ultras-small-angle X-ray scattering[J]. Journal of Chemical Physics, 2007, 126: 45-51.
- [15] S G Anema, K L Siew, K L Edwin, et al. Rheological Properties of Acid Gels Prepared from Heated pH-Adjusted Skim Milk[J]. Agricultural Food Chemistry, 2004, 52: 337-343.