

低酯果胶和乳清分离蛋白复合凝胶性质的研究

刘贺¹, 朱丹实¹, 刘丽萍¹, 陈忠川¹, 徐学明^{2,3}, 过世东³, 金征宇^{2,3}

(1. 渤海大学生物与食品科学学院, 辽宁 锦州 121000; 2. 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122;
3. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 本实验研究混合体系 pH 值、NaCl 浓度和 CaCl₂ 浓度对低酯果胶与乳清蛋白复合凝胶的硬度和持水能力的影响。响应面分析结果表明, pH 值、NaCl 浓度和 CaCl₂ 浓度对凝胶性质有显著影响。低酯果胶和乳清分离蛋白复合凝胶的最佳条件为 pH6、NaCl 浓度 0.2mol/L、CaCl₂ 浓度 10mmol/L, 在此条件下制得的复合凝胶强度接近 200g, 持水能力接近 75%。

关键词: 果胶; 乳清蛋白; 凝胶; 凝胶硬度; 持水能力

Study on Properties of Complex Gel of Low-methoxyl Pectin and Whey Protein Isolate

LIU He¹, ZHU Dan-shi¹, LIU Li-ping¹, CHEN Zhong-chuan¹, XU Xue-ming^{2,3}, GUO Shi-dong², JIN Zheng-yu^{2,3}

(1. College of Biology and Food Science, Bohai University, Jinzhou 121000, China;
2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Wuxi 214122, China;
3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The effects of pH value and concentrations of sodium chloride and calcium chloride on the properties of complex gel system of low-methoxyl pectin and whey protein isolate (WPI) such as gel hardness and water holding capacity (WHC) were investigated. Through response surface analysis, it was found that pH value and concentrations of sodium chloride and calcium chloride significantly affected the molecular structure of WPI and the interaction between protein and polysaccharide. Moreover, the regression equations on response values were obtained and the optimal pH value and concentrations of sodium chloride and calcium chloride for complex gel were confirmed as 6, 0.2 mol/L and 10 mmol/L, respectively. Under this condition, the obtained gel hardness was about 200 g and the WHC was about 75%.

Key words: pectin; whey protein isolate (WPI); gel; gel hardness; water holding capacity (WHC)

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)11-0066-05

乳清蛋白是众所周知的一种高营养并具有多种功能的食品配料, 其凝胶性是乳清蛋白所具有的一个重要特性, 影响其凝胶特性的因素的介绍早从 20 世纪 80 年代开始就有报道^[1]。对于乳清蛋白凝胶性质的研究, 国内外均有不同程度的报道^[2-7], 其热致凝胶性质主要影响因素包括加热温度、加热速度、pH 值、蛋白浓度、离子强度、其他特殊离子的存在, 钙离子对乳清蛋白的功能性质影响很大^[8-10]。据报道, 乳清蛋白凝胶在 10~20mmol/L 钙离子存在的条件下, 凝胶表现不透明且持水性降低^[11]。

果胶是一种线性的多糖, 由多聚半乳糖醛酸亚基组成, 主链的甲基有部分甲酯化, 果胶的甲酯化度对其性质有重要影响。低酯果胶的凝胶是通过钙离子与果胶

链之间在较宽的固形物含量和 pH 值范围内的相互作用, 当钙离子加入后, 果胶链之间的交联结构开始形成, 导致溶液逐渐增稠直至凝胶。在实际生产中, 低酯果胶的凝胶形成是通过与溶解的钙盐作用, 钙盐的来源可以处于自然状态如水果或者乳当中, 或者采用直接添加稀的钙离子溶液这样的方式^[12]。低酯果胶应用范围很广, 在低糖果酱、软质糖果、涂抹再制干酪以及脂肪替代品方面均有其应用的特点^[13]。目前, 国内外关于乳清蛋白和果胶之间的交互作用研究并不多, 而黄原胶、木薯淀粉、卡拉胶对乳清蛋白凝胶的改善作用均有学者探讨^[2, 14-18], 本研究探讨两者混合凝胶的性质, 旨在为工业化应用提供理论基础。本实验主要从质构和持水性两个角度阐明离子强度、pH 值、钙离子的添加对低酯果

收稿日期: 2008-09-01

基金项目: 渤海大学博士科研启动项目

作者简介: 刘贺(1979-), 男, 讲师, 博士, 主要从事食品物性学研究。E-mail: cranelau2049@yahoo.com.cn

胶和乳清蛋白复合凝胶性质的影响,并初步探讨相关机理。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乳清分离蛋白粉 倍思德食品配料有限公司;低酯果胶 丹尼斯克公司提供。

氯化钙、氯化钠(均为分析纯) 上海国药集团。

1.2 仪器与设备

TA-XT2i 型质构分析仪 美国 SMS 公司。

1.3 方法

1.3.1 凝胶制备方法

100ml 烧杯装 70ml 混合溶液,其中乳清蛋白浓度为 8%(W/V),果胶浓度为 1%(W/V),混合比例为 1:1,混合之前根据需要调整 pH 值,并按照预先试验设计添加相应盐溶液,并平衡溶液的浓度,然后将烧杯用保鲜膜覆盖,留通气孔。85℃条件下加热 15min,在 4℃冰箱中冷却过夜,测试前在室温下放置至少 2h。

1.3.2 持水性测定

从凝胶中取样装入 5ml 离心管内,于 4500r/min 离心 15min,吸去上层表面水分,并称量前后质量差,计算凝胶的持水能力(WHC)。

$$WHC(\%) = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: W_0 为空离心管重量; W_1 为离心前装有凝胶的离心管重量; W_2 为吸去水分后离心管重量。

1.3.3 凝胶硬度分析

采用 TA-XT2 质构仪对凝胶进行硬度分析。TA-XT2 参数设置为:测试前速度: 5.0mm/s;测试速度: 1.0 mm/s;测试后速度: 5.0mm/s;压缩距离: 50%;触发力: 10g;时间: 10s;数据采集速度: 200pps。重复测量 3 次,取平均值^[19]。

1.3.4 响应面分析方法

因素与水平的选择主要基于对凝胶持水性及硬度讨论,因素与水平见表 1。

选择凝胶持水能力、硬度作为响应值,用一个二次多项式来表征实验的优化:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i X_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 b_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

式中: Y 是测定的响应值; b_0 , b_i , b_{ii} , b_{ij} , 是回归模型中的常数项参数项。 X_i , X_j 是不同变量的水平。对于每一个试验因素来说,变量分成线性项、二次项和交互项以评估二次多项式拟合效果及相关参数的重要性。通过 F 检验考察多项式各参数的显著性,并绘制相关响应面及等高线图。三维图可以展示在给定一

个变量值基础上,两个变量对结果的影响。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels for response surface analysis (RSA)

水平	因素		
	X_1 pH	X_2 NaCl(mol/L)	X_3 CaCl ₂ (mmol/L)
-1	6	0	0
0	7	0.2	5
+1	8	0.4	10

1.3.5 数据处理

用统计软件 SAS8.0 对实验数据进行回归分析。多项式模型方程拟合由相关系数表达,其统计学上的显著性由 F 检验确定。采用同一统计软件进行响应曲面和等高线的绘制。

2 结果与分析

2.1 响应面分析试验结果

本实验主要探讨溶液的 pH 值、离子强度、钙离子浓度对于低酯果胶和乳清蛋白热致复合凝胶的质构和持水能力的影响。溶液的离子强度通过添加适量的 NaCl 来调整^[20]。以复合凝胶的硬度和持水性为响应值,设计三因素三水平的二次回归方程来拟合因素和指标(响应值)之间的函数关系。试验因素与水平见表 1,试验设计和结果见表 2。

表 2 响应面设计方案和试验结果

Table 2 Design and results of RSA

试验号	pH	NaCl(mol/L)	CaCl ₂ (mmol/L)	硬度(g)	WHC
1	0(7)	-1(0)	-1(0)	31.85	0.53
2	0	-1	1(10)	91.56	0.65
3	0	1(0.4)	-1	43.47	0.54
4	0	1	1	164.57	0.62
5	-1(6)	0(0.2)	-1	20.40	0.51
6	-1	0	1	195.21	0.74
7	1(8)	0	-1	17.21	0.36
8	1	0	1	123.09	0.57
9	-1	-1	0(5)	58.42	0.74
10	-1	1	0	116.61	0.58
11	1	-1	0	48.14	0.48
12	1	1	0	88.19	0.53
13	0	0	0	145.10	0.56
14	0	0	0	133.77	0.58
15	0	0	0	132.52	0.56

2.2 回归分析

对试验结果用 SAS rereg 程序进行分析,根据公式(2)计算出回归方程中各系数(略),并用方差分析检验其显著性,剔除不显著因子可得硬度和 WHC 的标准回归方程为:

$$\text{硬度} = 137.13 - 14.25X_1 + 22.86X_2 + 57.69X_3 - 17.23X_1X_3 - 26.59X_1^2 - 32.70X_2^2$$

$$\text{WHC} = 0.57 - 0.08X_1 + 0.08X_3 + 0.05X_1X_3 - 0.01X_1^2$$

果胶与乳清蛋白复合凝胶的硬度和复合凝胶的持水能力回归方程的方差分析(表3)表明: pH 值、NaCl 的浓度、钙离子的添加量、pH 值的二次方和 NaCl 的二次方对硬度的影响都是显著的, 说明相关的条件对凝胶结构的影响不是简单的线性关系, 而是二次关系; 交互项 pH 值和钙离子添加量的交互作用的 F 检验也呈高度显著性, 说明两因素之间存在相互影响; 失拟项 F 检验不显著, 表明用方程表征三个试验因子和凝胶硬度的关系是可行的。

就复合凝胶的持水能力而言, 只有 pH 值、钙离子浓度及 pH 值和 NaCl 交互作用的 F 检验具有显著性。由于失拟项 F 检验不显著, 经 SAS 程序计算, 相关系数为 0.92, 所以方程具有合理性。

对方程进行数学分析发现, 凝胶的硬度, 具有最大响应值, 而持水能力则因为稳定点为鞍点, 所以实验所选几个因子对持水性的影响颇为复杂, 只能通过调整拟预测方向来获得最大或者最小值。

表3 试验结果方差分析表
Table 3 Analysis of variance of RSA results

响应值	方差来源	自由度	平方和	平均平方和	F 值	Pr>F
硬度	模型项 **	9	41863	0.9768	23.38	0.0014
	线性项 **	3	32428	0.8656	35.23	0.0009
	X_1^*	1	1624.78501	1624.78501	33.83	0.0283
	X_2^*	1	4180.17961	4180.17961	87.03	0.0113
	X_3^{**}	1	26622.78125	26622.78125	554.28	0.0018
	二次项 *	3	7222	0.0462	7.85	0.0245
	交互项	3	2212	0.0650	2.40	0.1835
	X_1X_2	1	82.26490	82.26490	1.71	0.3208
	$X_1X_3^*$	1	1187.83623	1187.83623	24.73	0.0381
	$X_2X_3^*$	1	942.18303	942.18303	19.62	0.0474
	失拟项	3	1438	479	9.98	0.0924
	纯误差	2	96	48	—	—
	误差项	5	1534	306.8	—	—
	模型项 *	9	149817	0.9458	9.69	0.0111
持水性	线性项 **	3	113556	0.7169	22.04	0.0026
	X_1^{**}	1	0.04961250	0.04961250	372.09	0.0027
	X_2	1	0.00211250	0.00211250	15.84	0.0577
	X_3^{**}	1	0.05120000	0.05120000	384.00	0.0026
	二次项	3	11331	0.0715	2.20	0.2063
	交互项	3	24931	0.1574	4.84	0.0611
	$X_1X_2^*$	1	0.01102500	0.01102500	82.69	0.0119
	X_1X_3	1	0.00010000	0.00010000	0.75	0.4778
	X_2X_3	1	0.00040000	0.00040000	3.00	0.2254
	失拟项	3	8277.023125	2759.007708	17.89	0.0534
	纯误差	2	308.443785	154.221893	—	—
	误差项	5	8585.466910	1717.093382	—	—

注: *.差异显著, $p < 0.05$; **.差异极显著, $p < 0.01$ 。

2.3 各因素对凝胶硬度的影响

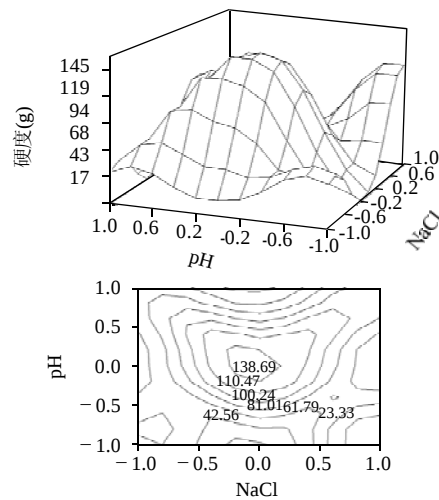


图1 pH值和NaCl浓度对凝胶硬度的影响

Fig.1 Response surface and contour plots for effects of pH value and concentration of NaCl on complex gel hardness

本实验一方面应用 RSM 方法在预测和优化实验指标这方面的优势, 另一方面考察不同参数对食品指标的影响情况。由图 1 可以看出, 随着 pH 值和 NaCl 浓度的提高, 复合凝胶的强度逐渐增加, 但当二者增加到一定数值时, 凝胶强度又下降, 从响应面曲线图可以清晰地看出, 两者相互作用对结冷胶的硬度有显著的影响, 并具有最大的影响值。体系的 pH 值影响乳清蛋白和果胶的带电情况, NaCl 影响体系的离子强度, 从而对乳清蛋白分子链的展开情况以及果胶链的伸展情况有显著影响, 在加热的过程中, 乳清蛋白分子伸展, 相互吸引形成粒子团簇结构^[21], 而果胶分子则自身在钙离子的交联作用下形成凝胶或者与乳清蛋白发生相分离作用^[22], 从而加强了体系的凝胶硬度, 但过高的离子强度影响到二者自身凝胶的形成以及二者相互作用的效果, 从而导致凝胶硬度下降。

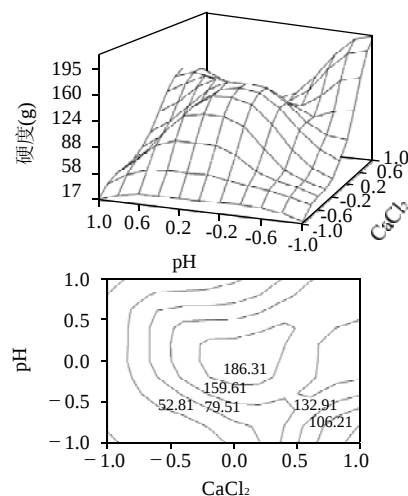


图2 pH值和CaCl₂浓度对凝胶硬度的影响

Fig.2 Response surface and contour plots for effects of pH value and concentration of CaCl₂ on complex gel hardness

由图2可知,在NaCl浓度不变的情况下,pH值与钙离子浓度对凝胶硬度的影响与前述类似,二者存在交互作用。而在pH值不变的情况下,NaCl的存在以及其浓度的增加均对体系的凝胶结构有反面影响(图3)。这说明静电相互作用对乳清蛋白的凝胶具有显著影响^[20]。其对乳清蛋白结构的影响在于:当NaCl浓度较低时,乳清蛋白的结构是线型,而当其浓度提高后,乳清蛋白的结构逐渐由于静电相互作用而分子之间相互靠拢而形成颗粒结构,导致自身凝胶性的弱化,同时果胶与其的相互作用也受到影响,表现在凝胶硬度的下降。

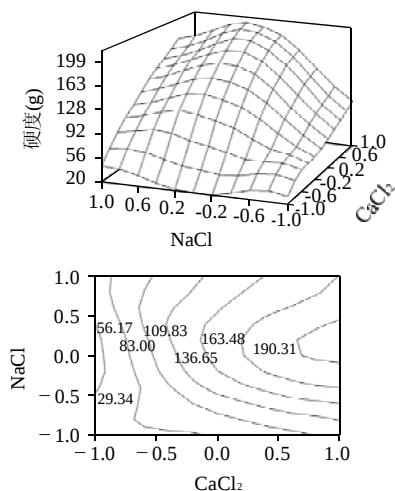


图3 NaCl和CaCl₂浓度对凝胶硬度的影响

Fig.3 Response surface and contour plots for effects of concentration of NaCl and CaCl₂ on gel hardness

2.4 各因素对凝胶持水能力的影响

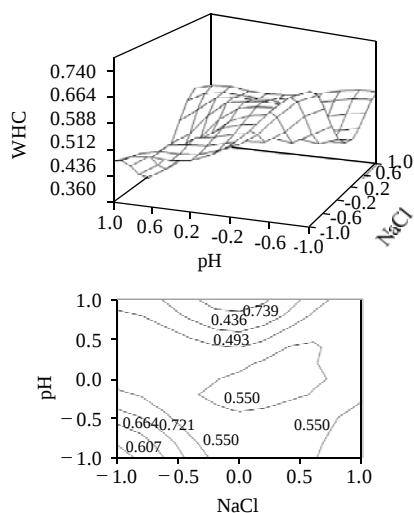


图4 pH值和NaCl浓度对凝胶持水能力的影响

Fig.4 Response surface and contour plots for effects of pH value and concentration of NaCl on water holding capability of complex gel

从图4可以看出,pH值和NaCl浓度过高导致凝胶的持水性显著下降,但在pH为6~6.5范围内,适当地

提高NaCl浓度能够使凝胶持水性稍有提高。但其后再增加NaCl浓度,则使凝胶结构变得粗糙^[23],导致持水性下降。

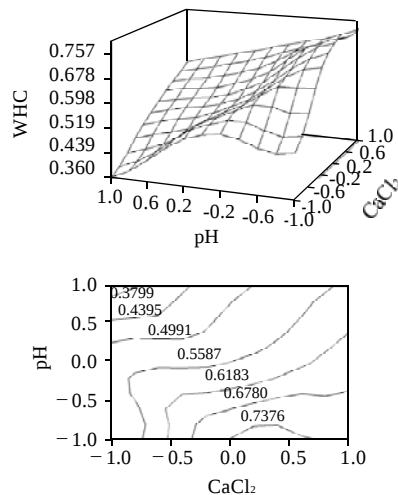


图5 pH值和CaCl₂浓度对凝胶持水能力的影响

Fig.5 Response surface and contour plots for effects of pH value and concentration of CaCl₂ on water holding capability of complex gel

由图5可见,随着钙离子浓度的提高,由于一方面促使果胶桥联点增加,锁住更多水分,另外有研究表明钙离子可以促使乳清蛋白在低温条件下凝胶^[21],因此在高温情况下,钙离子与乳清蛋白分子链发生交联作用也是其持水性提高的原因,而这种交联作用无疑受到pH值的影响。

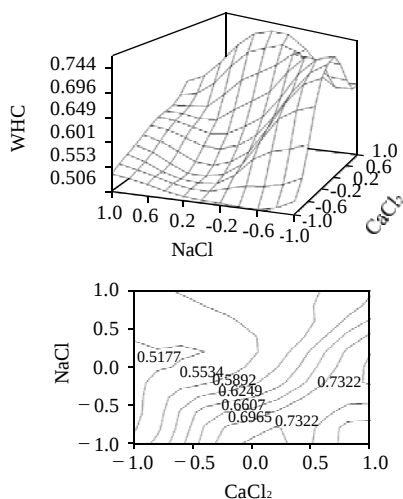


图6 NaCl和CaCl₂浓度对凝胶持水能力的影响

Fig.6 Response surface and contour plots for effects of concentration of NaCl and CaCl₂ on water holding capability of complex gel

由图6可知,在pH值不变的情况下,NaCl浓度的提高使钙离子对凝胶持水性的贡献被抵消,原因一方面在于其影响到乳清蛋白分子结构,另一方面也由于过

高的离子强度影响到果胶与乳清蛋白的相分离相互作用^[22], 致使整体凝胶结构的致密度受到影响。

2.5 乳清蛋白与果胶单独凝胶的性质分析

为了解乳清蛋白及果胶复合凝胶对于二者单独凝胶的改善作用, 在 pH 值为 7, 钙离子浓度为 5mmol/L, 不添加 NaCl 的情况下, 乳清蛋白浓度为 10%, 果胶浓度为 2%, 分别测定其形成凝胶的硬度及持水能力, 如表 4 所示。与表 2 对照, 复合凝胶的凝胶性强度和持水能力比单独凝胶均有显著改善。

表 4 单独果胶及乳清蛋白的凝胶性质

Table 4 Gelation properties of individual pectin and whey protein

检测指标	果胶	乳清蛋白
硬度(g)	85.04 ± 6.34	21.07 ± 2.39
持水能力(%)	95.43 ± 3.23	43.78 ± 2.87

2.6 最佳值分析

如果从复合凝胶的强度和持水能力角度分别考虑, 从表 2 可知, 当 pH 值为 6, NaCl 浓度为 0.2mol/L, CaCl₂ 浓度为 10mmol/L, 凝胶硬度接近 200g, 持水能力接近 75%, 此值与 2.1 节讨论部分通过硬度的回归方程可以得到复合凝胶硬度最大值 240g 有不同, 与通过岭迹分析得到的持水性最大值 78% 也有区别, 原因在于体系获得最大凝胶强度并不能同时获得最佳的持水性, 因此综合考虑, 应该选择 pH6、NaCl 浓度 0.2mol/L、CaCl₂ 浓度 10mmol/L。

3 结 论

通过添加低酯果胶改善乳清蛋白的凝胶性质, 考察离子强度, pH 值, 促凝剂 CaCl₂ 的浓度对复合凝胶硬度和持水能力的影响, 结果表明, 三个因素均对复合凝胶的性质有显著影响, 其中钙离子的添加具有增强复合凝胶性质的作用, 而 pH 值过高或离子强度过大均会弱化乳清蛋白的凝胶硬度以及蛋白和果胶之间的相分离作用, 从而影响复合凝胶的硬度和持水能力。通过响应面分析获得可以预测硬度值和持水能力值的回归方程, 并得到较好的凝胶硬度和凝胶持水能力的凝胶配比。

参考文献:

- [1] CAMP J V, MESSENS W, CLEMENT J. Influence of pH and sodium chloride on the high pressure-induced gel formation of a whey protein concentrate[J]. Food Chemistry, 1997, 60(3): 417-424.
- [2] LOWER L L, FOEGEDING E A, DAUBERT C R. Rheological properties of fine-stranded whey protein isolate gels[J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17(4): 515-522.
- [3] 刘通讯, 赵谋明. 乳清蛋白凝胶性能的研究[J]. 食品科学, 1996, 17(1): 11-15.

- [4] 南海函, 郑建仙. 乳清蛋白凝胶及其影响因素的机理研究[J]. 广西轻工业, 2001, 11(4): 22-25.
- [5] 王屹, 鲁晓翔, 李香兰. 乳清蛋白凝胶条件的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(3): 53-55.
- [6] 程鹏. 牛乳清分离蛋白凝胶物化特性及其微观结构的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007.
- [7] 刘晶, 韩清波. 乳清蛋白的特性及应用[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 535-537.
- [8] CHEN J, MOSCHAKIS T, PUGNALONI L A. Surface topography of heat-set whey protein gels by confocal laser scanning microscopy[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20: 468-474.
- [9] HONGSPRABHAS P, BARBUT S. Effect of pre-heated whey protein level and salt on texture development of poultry meat batters[J]. Food Research International, 1999, 32(3):145-149.
- [10] BEAULIEU M, CORREDIG M, TURGEON S L. The formation of heat-induced protein aggregates in whey protein/pectin mixtures studied by size exclusion chromatography coupled with multi-angle laser light scattering detection[J]. Food Hydrocolloids, 2005,19(4): 803-812.
- [11] BEAULIEU M, TURGEON S L, DOUBLIER J L. Rheology, texture and microstructure of whey proteins/low methoxyl pectins mixed gels with added calcium[J]. International Dairy Journal, 2001, 11(2): 961-967.
- [12] MORRIS G A, FOSTER T J, HARDING S E. The effect of the degree of esterification on the hydrodynamic properties of citrus pectin[J]. Food Hydrocolloids, 2000, 14(3): 227-235.
- [13] LIU H, XU X, GUO S D. Rheological and textural properties of full-fat and low-fat cheese analogues[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(5): 32-41.
- [14] LIU H, XU X M, GUO S D. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics[J]. LWT, 2007, 40(8): 946-954.
- [15] LIU H, ZHU S D, XU X M. Rheological, textural and microstructure analysis of the high-methoxy pectin/gelatin mixed systems[J]. Journal of Texture Studies, 2007, 38(5): 577-600.
- [16] 刘贺, 徐学明, 过世东. 酰胺化桔皮果胶凝胶流变学性质研究及动力学分析(I)[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(1): 38-43.
- [17] 刘贺, 徐学明, 过世东. 酰胺化桔皮果胶凝胶流变学性质研究及动力学分析(II)[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(2):19-24.
- [18] 刘贺, 朱丹实, 徐学明. 低酯桔皮果胶凝胶的动力学分析及分形研究[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 76-81.
- [19] DeMARS L L, ZIEGLER G R. Texture and structure of gelatin/pectin-based gummy confections[J]. Food Hydrocolloids, 2001, 15(4/6):643-653.
- [20] CHANTRAPORNCHAI W, MCCLEMENTS D J. Influence of NaCl on optical properties, large-strain rheology and water holding capacity of heat-induced whey protein isolate gels[J]. Food Hydrocolloids, 2002, 16(4): 467-476.
- [21] MARANGONI A G, BARBUT S, MCGAULEY S E. On the structure of particulate gels-the case of salt-induced cold gelation of heat-denatured whey protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2000, 14: 61-74.
- [22] CROGUENOC P, NICOLAI T, DURAND D. Phase separation and association of globular protein aggregates in the presence of polysaccharides: 2. Heated mixtures of native β -lactoglobulin and κ -carrageenan[J]. Langmuir, 2001, 17(6): 4380-4385.
- [23] VERHEUL M, ROEFS S E E M. Structure of whey protein gels, studied by permeability, scanning electron microscopy and rheology[J]. Food Hydrocolloids, 1998, 12(4): 17-24.