

κ -卡拉胶影响大豆分离蛋白乳浊液稳定性的研究*

赵强忠¹, 赵谋明¹, 励建荣², 崔春¹

1(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州, 510640) 2(浙江工商大学食品生物与环境工程学院, 浙江 杭州, 310035)

摘 要 研究了卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液粒度分布、乳析率和离心沉淀率的影响,在此基础上分析了静置过程中乳浊液粒径与乳析率、离心沉淀率之间相关性,结果表明:乳浊液粒径随卡拉胶浓度由小到大依次为 $0.03\% < \text{空白样} < 0.06\% < 0.09\%$;而体系的表观粘度随卡拉胶浓度的增大而升高;静置过程中乳浊液顶部粒径 $d_{3,2}$ 与乳析率有较好的相关性;乳浊液底部 $d_{3,2}$ 与离心沉淀率有很好的相关性。进一步分析了其可能的作用机理:卡拉胶低浓度时,卡拉胶分子被吸附到液滴的蛋白质正电荷区域,增加了液滴间的静电排斥,从而增加了体系的絮凝稳定性;随着卡拉胶浓度增大,卡拉胶会引起体系排斥絮凝。

关键词 κ -卡拉胶, 大豆分离蛋白乳浊液, 乳析, 沉淀

蛋白质乳浊液体系是食品中一类重要的体系,由于乳浊液是热力学不稳定的体系,随着存放时间的延长易发生乳析、沉淀、聚结等不稳定现象^[1],最终导致乳浊液体系的破坏。在蛋白质乳浊液的水相体系中,通常加入阴离子多糖作为抑制脂肪液滴上浮的稳定剂,主要是蛋白质与阴离子多糖在水相体系中有可能发生静电相互作用^[2]。食品中常用的卡拉胶为 κ 和L-卡拉胶,国外有大量的文献报道这两种卡拉胶和牛乳蛋白(酪蛋白、乳清蛋白及牛血清蛋白等)的相互作用及其对乳浊液稳定性的影响,但关于卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液稳定性的影响却未见报道。

卡拉胶(carrageenan)是一种线性硫酸化多糖,卡拉胶的骨架是 β -D-吡喃半乳糖残基通过1,3位糖苷键连接(A残基)和 α -D-吡喃半乳糖通过1,4糖苷键连接(B残基)的二糖重复序列,其中B单位在不同程度上转化为3,6-脱水半乳糖的形式,根据A和B二糖单位上硫酸基的连接位置和含量的差异可以将卡拉胶分为 κ 、 λ 和L型,其中 κ -卡拉胶的硫酸基部分被转移,使得分子成为高度规律的结构形式,并提高了其凝胶能力^[3],本试验使用的是 κ 型卡拉胶,在文中都以卡拉胶表示。

本文研究了 κ -卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液体系稳定性的影响,结合粒径分布、表观黏度、乳析率、离心沉淀率的变化,探讨了 κ -卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液稳定性影响的机制。

第一作者:博士,讲师。

* 国家 863 计划专题(2006AA10Z326),国家自然科学基金(20806030),浙江省食品科学与工程重中之重学科开放课题资助(ZSZKF200718)

收稿日期:2008-05-09,改回日期:2008-05-30

1 材料与方法

1.1 材料

大豆分离蛋白,山东御馨蛋白有限公司;蔗糖酯 SE-15,上海武马食品科技有限公司; κ -卡拉胶,海南文昌卡拉胶有限公司;磷酸氢二钠,徐州化工三厂;磷酸二氢钠,徐州化工三厂;蔗糖,市售;大豆油,市售;迭氮钠,天津福晨化学试剂厂。

1.2 仪器设备

APV-1000 高压均质机,丹麦 APV; Mastersizer 2000 粒度分布仪,英国 Malvern; Brookfield Digital Viscometer DV-I,美国; FA1104 型分析天平,上海精密科学仪器有限公司; BHW-IV 型机密封恒温水箱,北京朝阳航信医疗器材厂; LG10-2.4A 型高速离心机,北京医用离心机厂;高速剪切机,上海标本模型厂。

1.3 方法

1.3.1 大豆分离蛋白乳浊液的制备方法

1.3.1.1 基本配方

表 1 大豆分离蛋白乳浊液的基本配方

| 组分 | 添加质量/% | 组分 | 添加质量/% |
|--------|--------|------|---------|
| 大豆分离蛋白 | 2 | 蔗糖酯 | 0.1 |
| 大豆油 | 1.7 | 卡拉胶 | 按要求添加 |
| 磷酸二氢钠 | 0.02 | 蔗糖 | 6 |
| 磷酸氢二钠 | 0.03 | 去离子水 | 补充至 100 |

1.3.1.2 制备工艺流程

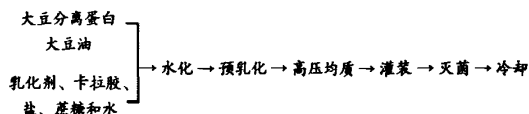


图1 大豆分离蛋白乳浊液的制备基本工艺流程

将大豆分离蛋白和大豆油均匀分散,将乳化剂、多糖、盐和糖水充分溶解,在搅拌状态下上述两相缓慢的混合,然后将在搅拌状态下于60℃水化30 min。水化结束后,用高速剪切机于10 000 r/min将粗乳浊液剪切2 min,然后于60℃、35 MPa均质2次,接着将乳浊液灌装和灭菌(121℃,15 min),最后迅速冷却至常温。

1.3.2 粒度分布的测定

粒度分布仪是测定乳浊液中粒子大小的分布情况。乳浊液样品按体积比1:1 000用去离子水稀释,测定参数设定为^[4]:

分析模式:通用;进样器名:Hydro 2000MU (A);颗粒折射率:1.530;颗粒吸收率:0.001;分散剂名:水;分散剂折射率:1.330。

$d_{3,2}$: 表面积平均直径(surface area mean diameter)

$$d_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$$

1.3.3 表观粘度的测定

在室温下,用Brookfield DV-I旋转粘度计测定乳浊液体系的表观粘度(100 r/min,1 min)。

1.3.4 乳析率的测定

向灭菌后的乳浊液中加入2%的叠氮钠溶液,使乳浊液的叠氮钠浓度达到0.02%,目的是抑制乳浊液中的微生物生长。然后准确吸取乳浊液10 mL于具塞刻度试管中。25℃静置,第30天记录乳析层的高度(mm)。

$$\text{乳析率} / \% = \frac{H_{\text{乳析}}}{H_{\text{乳浊液}}} \times 100$$

式中: $H_{\text{乳析}}$ 为乳析的高度; $H_{\text{乳浊液}}$ 为乳浊液的高度。

1.3.5 离心沉淀率的测定

在称量之前,首先轻轻地将大豆分离蛋白乳浊液摇匀,在容量为10 mL的离心管中准确称取10 g乳浊液,然后于2 350 g的转速下离心30 min。离心结束后,除去上浮的乳析层和中间的乳清层,称量底部沉淀和离心管的质量,每个样品进行3次重复实验,通过下面的公式计算乳浊液的离心沉淀率^[5]:

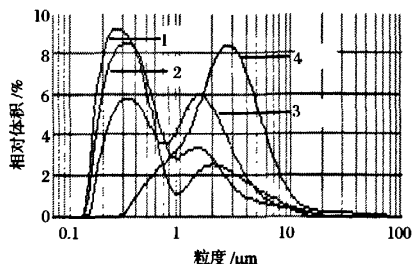
$$\text{离心沉淀率} / \% = \frac{M_2 - M_1}{10} \times 100$$

式中: M_1 为离心管的净质量,g; M_2 为底部沉淀和离心管的质量,g。

2 结果与讨论

2.1 卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液粒度分布的影响

卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液粒度分布的影响如图2所示。因为卡拉胶浓度高于0.12%,大豆分离蛋白乳浊液灭菌后完全凝固,所以在本文中卡拉胶采用最大浓度为0.09%。从图2可看出,当卡拉胶浓度为0%~0.06%时,乳浊液粒度分布呈明显的双峰分布,卡拉胶浓度为0.03%时,第1个峰的最频值最小为0.28 μm左右,且峰面积较大,而当卡拉胶浓度为0和0.06%时,其最频值相差很小均为0.35 μm左右,但卡拉胶浓度为0.06%时,其峰面积明显小于空白样;第2个峰以卡拉胶浓度为0.06%时最大,其次是空白样,最小是卡拉胶浓度为0.03%样。当卡拉胶浓度增至0.09%时,其粒度分布呈较大粒径的单峰分布,其最频值在2.8 μm左右。这主要有2方面的原因:(1)是由于卡拉胶分子本身的结构特性,卡拉胶是带有硫酸基团的多糖分子,在常温条件下形成双螺旋的分子构象,这种双螺旋的卡拉胶分子电荷密度较高,刚性较大,分子作用的有效距离较短^[6],很难吸附到不同的液滴表面,因此不利于桥连絮凝的发生,加入少量卡拉胶时,卡拉胶分子被吸附到液滴的蛋白质正电荷区域,增加了液滴间的静电排斥,从而增加了体系的絮凝稳定性;(2)随着卡拉胶浓度增加,卡拉胶会引起体系排斥絮凝,尤其当卡拉胶浓度增至0.12%以上时,体系出现明显絮凝。



1—卡拉胶浓度为0.03%; 2—卡拉胶浓度为0;

3—卡拉胶浓度为0.06%; 4—卡拉胶浓度为0.09%

图2 卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液粒度分布的影响

2.2 卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液表观粘度的影响

卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液表观粘度的

影响如图3所示。从总体来看,体系的表观粘度随卡拉胶浓度的增大而升高。大豆分离蛋白乳浊液的表观粘度与卡拉胶浓度、卡拉胶与大豆分离蛋白的交互作用以及脂肪球和蛋白聚集团粒径等因素有关。卡拉胶是直链大分子,链上的羟基可与某些大豆分离蛋白、水之间形成氢键,溶液中低浓度的卡拉胶分子以展开的随机卷曲的构象分散于水中,并且多糖分子可以自由移动或改变分子构象。当卡拉胶浓度增加时,分子间的接触增加而相互缠绕,导致水相粘度急剧增加;此外,Tesch等人^[7]认为,由于脂肪球对卡拉胶分子的容积排斥效应导致卡拉胶在液相中浓缩,从而使得乳浊液表观粘度增加。

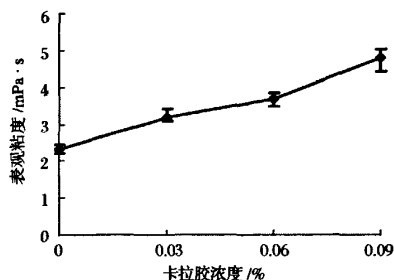


图3 卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液表观粘度的影响

2.3 卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液乳析率的影响

卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液乳析率的影响如图4所示。

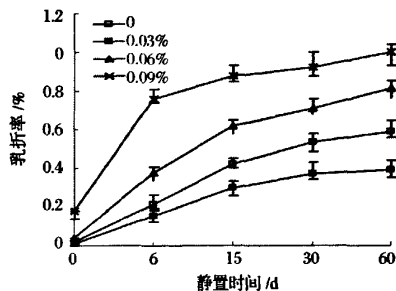


图4 卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液乳析率的影响

由图4可看出,乳析率在0~15d内随储存时间延长而迅速增加,而在15~60d内增加相对比较缓

慢;由图4还可看出,卡拉胶浓度为0.03%的大豆分离蛋白乳浊液较空白样的乳析率明显低,当卡拉胶浓度高于0.06%时,大豆分离蛋白乳浊液的乳析率明显高于空白样,且随着卡拉胶浓度增加而迅速增加,这说明当卡拉胶浓度为0.03%时能够有效地抑制乳析,但随着卡拉胶浓度进一步增大,具有明显的促进乳析的作用。

卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液顶部粒径 $d_{3,2}$ 的影响如表2所示。由表2可以看出,在静置过程中,在卡拉胶的实验浓度范围内,大豆分离蛋白乳浊液顶部粒径由小到大的顺序依次为:0.03% < 空白样 < 0.06% < 0.09%;采用统计软件SPSS 13.0 for windows分析乳浊液的乳析率与其顶部粒径 $d_{3,2}$ 的相关性,结果表明乳浊液的乳析率与其顶部粒径 $d_{3,2}$ 有较好的相关性,这主要原因是:当卡拉胶浓度较低时,卡拉胶与大豆分离蛋白发生静电吸引作用。在体系pH值高于大豆蛋白等电点pI时,尽管大豆蛋白分子带净负电荷,但在蛋白质分子上的某些区域或分子的某些片段仍带正电荷,当体系中存在卡拉胶时,蛋白质的正电荷区域就会和卡拉胶的阴离子基团发生静电吸引相互作用,当卡拉胶分子吸附到蛋白质包被的脂肪球表面,形成蛋白质-卡拉胶复合吸附物,使吸附层的负电荷大大增加,脂肪球之间静电排斥力增强,通过静电排斥维持乳浊液的稳定性^[8,9],因此,0.03%的卡拉胶能够有效地抑制大豆分离蛋白乳浊液的顶部粒径 $d_{3,2}$;当卡拉胶浓度增至0.06%以上,液相中未被吸附的卡拉胶因渗透压的原因,从而产生排斥絮凝,导致顶部粒径 $d_{3,2}$ 增加。由表2还可以看出,随着静置时间的延长,乳浊液顶部粒径 $d_{3,2}$ 增加,增幅最大的是在静置的前15d,且0.03%浓度卡拉胶的乳浊液顶部粒径 $d_{3,2}$ 一直小于空白乳浊液,这种变化规律与乳浊液的乳析率完全一致,而乳浊液表观粘度对乳浊液乳析率的影响相对较小。因此,大豆分离蛋白乳浊液的乳析率主要是由乳浊液的粒径大小决定。

表2 卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液顶部粒径 $d_{3,2}$ 和乳析率的影响

| 静置时间/d | 0 | | 0.03% | | 0.06% | | 0.09% | |
|--------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|
| | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% |
| 0 | 0.43 | 0.01 | 0.30 | 0.02 | 0.46 | 0.04 | 0.50 | 0.18 |
| 6 | 0.54 | 0.21 | 0.36 | 0.15 | 0.72 | 0.38 | 0.81 | 0.76 |
| 15 | 0.55 | 0.42 | 0.37 | 0.3 | 1.26 | 0.62 | 1.34 | 0.88 |
| 30 | 0.56 | 0.54 | 0.42 | 0.37 | 1.52 | 0.71 | 1.53 | 0.92 |
| 60 | 0.59 | 0.59 | 0.46 | 0.39 | 1.52 | 0.81 | 1.57 | 1.00 |
| 相关系数 | 0.918 * | | 0.936 * | | 0.971 * * | | 0.903 * | |

注: * 表示显著, $P < 0.05$; * * 表示非常显著, $P < 0.01$ 。

2.4 卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液离心沉淀率的影响

拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液的离心沉淀稳定性的影响如图5所示。由图5可以看出,在本实验浓度范围内,乳浊液的离心沉淀率由大到小对应的卡拉胶浓度依次为:空白样>0.03%>0.06%>0.09%,随着卡拉胶浓度增加,相应的离心沉淀率降低,这表明一定浓度的卡拉胶能够有效抑制蛋白质沉淀。随着静置时间的延长,大豆分离蛋白乳浊液的离心沉淀率增加,且在整个静置过程中,空白乳浊液的离心沉淀率最大。

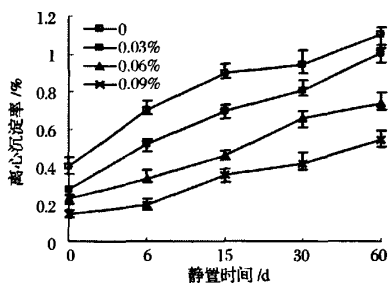


图5 卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液离心沉淀率的影响

表3 卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液底部粒径 $d_{3,2}$ 和离心沉淀率的影响/ μm

| 静置时间/d | 0 | | 0.03% | | 0.06% | | 0.09% | |
|--------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|
| | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% | $d_{3,2}/\mu\text{m}$ | 乳析率/% |
| 0 | 0.79 | 0.40 | 0.44 | 0.28 | 0.65 | 0.23 | 0.60 | 0.15 |
| 6 | 0.85 | 0.70 | 1.17 | 0.52 | 0.85 | 0.34 | 0.75 | 0.20 |
| 15 | 0.90 | 0.9 | 1.33 | 0.70 | 1.19 | 0.46 | 1.16 | 0.36 |
| 30 | 0.93 | 0.94 | 1.71 | 0.81 | 1.41 | 0.66 | 1.17 | 0.42 |
| 60 | 0.97 | 1.10 | 2.28 | 1.00 | 1.55 | 0.73 | 1.28 | 0.54 |
| 相关系数 | 0.990 ** | | 0.989 ** | | 0.988 ** | | 0.959 ** | |

注: **表示非常显著, $P<0.01$ 。

3 结论

本文研究了具有代表性的阴离子多糖——卡拉胶对大豆分离蛋白乳浊液的粒度分布、表观粘度、乳析率、离心沉淀率的影响,在此基础上分析了乳析率和顶部粒径 $d_{3,2}$ 、离心沉淀率和底部粒径 $d_{3,2}$ 之间的相关性:

(1)卡拉胶浓度0%~0.06%大豆分离蛋白乳浊液粒度分布呈明显的双峰分布,而当卡拉胶浓度为0.09%时,则呈单峰分布;乳浊液粒径随卡拉胶浓度由小到大依次为:0.03%<空白样<0.06%<0.09%;从总体来讲,体系的表现粘度随卡拉胶浓度的增大而升高。

卡拉胶浓度对大豆分离蛋白乳浊液底部粒径 $d_{3,2}$ 的影响如表3所示。由表3可知,在静置第0天,随着卡拉胶浓度增加,大豆分离蛋白乳浊液底部粒径 $d_{3,2}$ 呈先变小然后增大,再变小。随着静置时间的延长,底部粒径 $d_{3,2}$ 越来越大,且随卡拉胶浓度由0.03%增至0.09%时,底部粒径 $d_{3,2}$ 呈下降的趋势。采用统计软件 SPSS 13.0 for windows 分析对应的乳浊液底部 $d_{3,2}$ 与离心沉淀率的相关性(见表3),结果表明,乳浊液底部 $d_{3,2}$ 与离心沉淀率有着很好的相关性,这说明乳浊液的沉淀形成与乳浊液底部粒径有直接联系。离心沉淀产生的原因主要是由于乳浊液形成了大的蛋白聚集团,在离心力的作用下向下沉降而成,引起离心沉淀率存在差异有以下2个主要原因:(1)随着卡拉胶浓度增大其表观粘度相应升高,根据 Stokes 沉降公式可知,其沉降速度相应减缓;(2)卡拉胶与大豆分离蛋白交互作用,增加大豆分离蛋白的溶解度。

(2)添加0.03%卡拉胶的大豆分离蛋白乳析稳定性相对最好,当卡拉胶浓度高于0.06%后有较明显促进大豆分离蛋白乳浊液的乳析作用;在静置过程中,大豆分离蛋白乳浊液顶部粒径由小到大的顺序依次为:0.03%<空白样<0.06%<0.09%,与乳析率变化趋势相同,采用统计软件 SPSS 13.0 for windows 分析顶部粒径 $d_{3,2}$ 与乳析率有较好的相关性。

(3)离心沉淀率随卡拉胶浓度增大而降低,这表明一定浓度的卡拉胶能够有效抑制蛋白质沉淀;随着静置时间的延长,底部粒径 $d_{3,2}$ 越来越大,且随卡拉胶浓度由0.03%增至0.09%时,底部粒径 $d_{3,2}$ 呈下降趋势,采用统计软件 SPSS 13.0 for windows 分析对应的乳浊液底部 $d_{3,2}$ 与离心沉淀率有很好的相关性。

参考文献

- 1 胡坤,赵谋明,彭志英. 表面活性剂与多糖对蛋白质乳浊液稳定性的影响[J]. 食品与发酵工业. 2002, 28(6): 61~65
- 2 Dickinson E., Maria G, Semenova A S, et al. Effect of high-methoxy pectin on properties of casein-stabilized emulsions[J]. Food Hydrocolloids. 1998,12: 425~432
- 3 胡国华. 功能性食品胶[M]. 北京:化学工业出版社, 2005, 295
- 4 Erix P Schokker, Douglas G Dagleish. The shear-induced destabilization of oil-in-water emulsions using caseinate as emulsifier[J]. Colloids and Surfaces A, 1998,145: 51~69
- 5 Sedlmeyer F, Brak M, Radmacher B, et al. Effect of protein composition and homogenisation on the stability of acidified milk drinks[J]. International Dairy Journal, 2004, 14:331~336
- 6 Millane R P, Chandrasekaran R, Arnott S et al. The molecular structure of kappa-carrageenan and comparison with iota-carrageenan[J]. Carbohydrate Research, 1988, 182: 1~5
- 7 Tesch S, Schubert H. Influence of increasing viscosity of the aqueous phase on the short-term stability of protein stabilized emulsions[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 52: 305~312
- 8 Dickinson E, Pawlowsky K. Effect of κ -carrageenan on flocculation, creaming, and rheology of a protein-stabilized emulsion[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1997, 45: 3 799~3 806
- 9 Grotenhuis E T, Paques M, Aken V G A. The application of diffusing-wave spectroscopy to monitor the phase behavior of emulsion-polysaccharide systems[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2000, 227: 495~504

Effects of κ -Carrageenan on Stability of Soy Protein Isolate EmulsionZhao Qiangzhong¹, Zhao Mouming¹, Li Jianrong², Cui Chun¹

1(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

2(College of Food Science, Biotechnology and Environmental Engineering,

Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

ABSTRACT Effects of carrageenan on fat globule size distribution, creaming rate and centrifugal sedimentation rate of soy protein isolates were studied. There was a good correlation between fat globule diameter and creaming rate, centrifugal sedimentation rate during the storage. The results indicated that the concentration of carrageenan from 0 to 0.09%, the order of fat globules size was $0.03\% < \text{control} < 0.06\% < 0.09\%$, but higher concentration of carrageenan could result in higher apparent viscosity. Creaming rate showed strong positive correlation with $d_{3,2}$ on the top of emulsions and centrifugal sedimentation rate showed strong positive correlation with $d_{3,2}$ in the bottom of emulsions. The possible mechanism was elucidated as follows: when carrageenan concentrations were low, polysaccharide adsorbed to the protein of the positive charge area, the absorbed polysaccharide molecules increased electrostatic repulsive force between oil droplets. When the polysaccharide concentrations increased, depletion flocculation was occurred.

Key words κ -carrageenan, emulsions stabilized by soy protein isolates, creaming, sedimentation

可持续生物燃料的国际标准草案出台

国际可持续生物燃料圆桌会议指导委员会 2008 年 8 月 13 日宣布,有关如何定义和衡量具有可持续性的生物燃料的国际标准草案正式推出,该国际标准草案旨在为投资者、政府、企业和民间社会评估不同种类生物燃料的可持续性提供参照。这套国际标准草案推出后的 6 个月中,将向全球开放以供讨论。计划 2009 年 2 月基本完成磋商过程,2009 年 4 月正式出台第一版可持续生物燃料的国际标准。

这套国际标准草案内容涉及生物燃料开发的一些主要问题,例如,生物燃料对于减缓气候变化和促进农村发展的影响,开发生物燃料与保护土地和劳工权利的关系,生物燃料对于生物多样性、土壤污染、水资源以及粮食安全的影响,等等。