

乳蛋白包覆纳米磷酸三钙的表面性质和机理研究

李滢波¹, 陈晨², 刘小鸣², 胡锦涛^{1,3}, 周鹏^{*1,2,4}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 3. 复旦大学 聚合物分子工程国家重点实验室, 上海 200433; 4. 江南大学 食品安全与营养协同创新中心, 江苏 无锡 214122)

摘要: 研究了酪蛋白(SC)和乳清分离蛋白(WPI)包覆在纳米磷酸三钙(TCP)颗粒表面的过程和作用机理。Zeta 电位的测试表明 SC 和 WPI 包覆在 TCP 表面,使得 TCP 纳米颗粒表面所带负电荷增加。被不同种类的乳蛋白包覆的 TCP 悬浮颗粒在溶液中的稳定性都得到了提高,其中被 WPI 包覆的 TCP 颗粒的水相再分散液的稳定性得到了最为明显的改善,虽然实验结果也表明 SC 对 TCP 的包覆更容易发生。研究乳蛋白的不同组分在 TCP 表面的包覆过程发现,SC 中 α s-CN 上的 Ser-P 在对 TCP 颗粒表面的包裹过程中更有优势。WPI 中的 β -Lg 对 TCP 的包覆会比 α -La 容易发生。作者还讨论了乳蛋白包覆在 TCP 颗粒表面的作用机理,认为乳蛋白对 TCP 的包覆过程和效果与两种乳蛋白和 TCP 颗粒的结构和表面性质有关。

关键词: 乳蛋白;酪蛋白;乳清分离蛋白;纳米磷酸三钙;包覆

中图分类号:TS 252.4 文献标志码:A 文章编号:1673—1689(2016)07—0714—07

Study on Surface Properties and Mechanism of Milk Protein Coated Nanotricalcium Phosphate Hydrate

LI Yanbo¹, CHEN Chen², LIU Xiaoming², HU Jinhua^{1,3}, ZHOU Peng^{*1,2,4}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Food Science of Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. State Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Fudan University, Shanghai 200433, China 4. Synergetic Innovation Center of Food Safety and Nutrition, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The adsorption of caseins from sodium caseinate (SC) and whey proteins from whey protein isolate (WPI) onto particles of nanotricalcium phosphate hydrate (TCP) was studied. Zeta-potential measurements involved that both SC and WPI bound to TCP, resulting in an increase in the absolute value of the zeta-potential of the particles. This adsorption improved the suspension stability of the TCP particles in water. WPI has stronger ability of improvement in suspension, and SC is easier that absorbed on TCP particles. For WPI, there was a preference in the protein adsorption: β -lactoglobulin > α -lactalbumin. Possible mechanisms showed the interaction between

收稿日期: 2015-01-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471697); 复旦大学聚合物分子工程国家重点实验室开放课题(K2015-20); 食品科学与技术国家重点实验室开放课题(SKLF-ZZB-201401); 教育部科学技术研究项目(113032A); 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-11-0666)。

*** 通信作者:** 周鹏(1975-), 男, 山东青岛人, 理学博士, 教授, 主要从事食品科学研究。E-mail: zhoupeng@jiangnan.edu.cn

milk proteins and TCP are discussed. It is related to the structure and the surface properties of SC, WPI and TCP particles.

Keywords: milk protein, sodium caseinate, whey protein isolate, nano tricalcium phosphate hydrate, adsorption behavior

国家规定调制乳的钙添加量范围在 250~1 000 mg/kg^[1-2]。由于牛奶中富含的酪蛋白和乳清蛋白对钙离子非常敏感,可溶性钙剂的添加会使得牛奶乳状界面的蛋白之间产生桥连接絮凝,进而导致乳制品沉淀和乳析等问题^[3]。目前高钙奶制品中常用的钙添加剂之一是难溶性的磷酸钙盐。虽然在食品工业的应用中通常不考虑蛋白和磷酸盐之间的相互作用。但是生物材料领域的研究表明蛋白与磷酸钙盐之间存在强烈的相互作用。例如溶菌酶(LSZ)和牛血清蛋白(BSA)都可以吸附在微米级双相磷酸钙盐的表面,并且在 pH 为 7.4 的 PBS 缓冲溶液中,LSZ 与钙盐的相互作用更强,等电点为 11.1 的 LSZ 会比等电点为 4.6 的 BSA 在 pH7.4 的磷酸缓冲液中带有更多的正电荷,因而与表面带负电荷的钙盐之间的静电相互作用也更强烈^[4]。蛋白包覆磷酸盐颗粒表面的机理比较复杂。通常认为蛋白在固体上的吸附是一个非常复杂的过程,固体对蛋白的吸附能力会受到很多因素的影响,包括材料的表面形貌、成分组成、疏水性、多相性,蛋白质的分子尺寸、带电基团的分布、结构的稳定性和构象,以及液相环境的 pH 值、离子成分和浓度。另外对生物材料的性能研究还表明,当蛋白在生物材料表面形成吸附层之后还会影响材料的加工和应用^[5]。目前市售的高钙奶中添加的主要是微米级别的磷酸钙盐产品,纳米级的钙添加剂(如纳米级的磷酸三钙等)在食品领域中的研究和应用比较少。纳米材料具有比表面积大、表面活性中心多和表面反应活性高等特性^[6],现在被广泛应用于电子、生物、医药、化工和材料等众多领域。对材料生物利用度的研究表明^[7],具有较小的颗粒尺度的材料,由于表面积与体积比增加,其在肠胃液的溶解度也相应提高,因而材料在体内的吸收速率和生物利用度也随之提高。对添加了纳米尺度营养因子的功能食品的研究也发现纳米颗粒在胃肠道中很容易被吸收^[8],相应地也提高了食品对机体的调节功能,比如富含纳米钙盐的牛奶在有效防止钙流失方面就有较好的表现^[9]。

作者旨在研究牛奶中的主要成分—酪蛋白

(SC)和乳清分离蛋白(WPI)对纳米尺度的 TCP 颗粒的包覆行为,探究纳米材料在食品体系中的应用。

1 材料与方法

1.1 材料

酪蛋白酸钠(SC):Sigma-Aldrich 公司产品;乳清分离蛋白(WPI):Hilmar 公司产品。通过凯氏定氮法测得 SC 的蛋白质质量分数为 84.6%,WPI 的蛋白质质量分数为 81.3%。纳米级磷酸三钙粉末(TCP):Sigma-Aldrich 公司产品,用 BET 法测 TCP 粉末的比表面积为 44.01 m²/g。TCP 纳米颗粒在水中的粒径分布使用 Malvern Zetasizer Nano-ZS 测定:将 2 mL TCP 的水相分散液(0.05 mg/mL)加入到测量池中,基于折射系数 1.33,用 CONTIN 模式计算得到 TCP 平均粒径($d_{0.5}$)为 265.10 nm,多分散性系数(PDI)为 0.237。

1.2 方法

1.2.1 制备样品 用 2 种方法来制备蛋白包覆 TCP 纳米颗粒的水相分散液。

第一种方法,制备 SC 和 WPI 的水溶液(质量浓度皆为 40 mg/mL),搅拌 4 h 后在 4 ℃下过夜,使蛋白完全水合。通过稀释一定量的 SC 和 WPI 原始溶液来获得不同质量浓度的蛋白溶液(1~30 mg/mL),搅拌至少 1 h 后待用。在 1.5 mL 的离心管中加入 20 mg 的纳米 TCP 粉末,再加入 0.5 mL 超纯水,超声 10 min 后,分别在离心管中加入 0.5 mL 不同质量浓度的蛋白溶液。

第二种方法,将蛋白溶液(0.5 mL 5 mg/mL 的 SC 或 WPI)添加到含有 TCP(0.5 mL 质量浓度为 2~160 mg/mL TCP 悬浮液)的 1.5 mL 离心管中。

将两种方法所得到的溶液在室温下(约 20 ℃)孵育 4 h 后通过 7 000 r/min 的速度离心 15 min 将被蛋白包覆的 TCP 分离出来,用超纯水漂洗所得沉淀 1 次,去除表面松散附着的蛋白,然后进行下一步的分析。

1.2.2 计算包覆在 TCP 上的表面蛋白浓度 将第一种方法制备的溶液离心后取上清,用双缩脲试剂

法分析残留于上清液中的蛋白质质量浓度(mg/mL)。根据 TCP 的表面积,以及所制备溶液的蛋白质质量浓度与上清液中总蛋白质质量浓度的差异,来计算表面蛋白浓度(mg/m²)。

1.2.3 分析表面蛋白的成分 为了分析不同的蛋白组分在 TCP 颗粒表面的包覆情况,将特定浓度的 SC 或者 WPI 溶液加到不同浓度的 TCP 分散液中,离心后用 SDS-PAGE 分析上清液中每一种蛋白组分的变化。具体实验方法是将一定量的上清液混合 SDS 缓冲液(0.5 mol/L Tris 缓冲溶液,pH 6.8,质量分数 4.0% SDS 和质量分数 0.01% 溴酚蓝),随后在 95°C 水浴加热 3 min 将蛋白还原,接着用冰浴冷却。在 Bio-rad 微凝胶板上制备 SDS 胶(12 g/dL 分离胶,0.4 g/dL 浓缩胶),然后在每一道凝胶上上样 15 μ L 用冰浴冷却后的溶液,先采用 20 mA 电流分离 40 min,再用 40 mA 分离 20 min。之后用考马斯亮蓝 R250 溶液对蛋白条带进行染色,然后用脱色液(体积分数 7.5%冰醋酸和 5%甲醇)孵育 24 h。用 Bio-Rad Gel Doc EZ(Bio-Rad)软件测条带的整合强度。以不添加钙盐的 1.25 mg/mL 的 SC 和 WPI 溶液做为对照组,比较实验组和对照组中 α s-, β -酪蛋白(α s-, β -CN),以及 β -乳球蛋白(β -Ig)和 α -乳白蛋白(α -La)的条带强度的差异,来分析 SC 和 WPI 中不同的蛋白组成是否在包覆 TCP 的过程中有差异性表现。每一个实验重复 3 次。

1.2.4 测定表面电位 用 Malvern Zetasizer Nano-ZS 和一次性的 DTS 1060C zeta 电位池来测定溶液中 TCP 的表面电位。将离心后获得的包覆蛋白的 TCP 沉淀重新分散在超纯水中,配成质量浓度 0.05 mg/mL 的再分散液。将样品转移到测量池中,测量池温度保持在 (25 $\pm$ 0.1) °C。用 Smoluchowski 模型计算得到 TCP 颗粒表面的 zeta 电位。取 3 次测定的平均值。

1.2.5 浊度的测定 将离心得到的被蛋白包覆的 TCP 沉淀分散在超纯水中得到质量浓度为 1 mg/mL 的再分散液,用 Jasco V-560 分光光度计和 10 mm 的石英池进行再分散液的浊度测定。记录 180 min 内 900 nm 波长下的吸收值,吸光度值的变化表明了样本溶液的浊度变化,与 TCP 再分散液在水相体系中稳定性有关。相对吸光度值 $A_{\text{相对}}$ 用以下公式计算:

$$A_{\text{相对}} = \left(\frac{A_t}{A_0} \right) \times 100\%$$

其中 A_t 对应 t 时间的吸光度值, A_0 为初始溶液的吸光度值,重复 3 次取平均值。

2 结果与讨论

2.1 TCP 纳米颗粒的表面蛋白含量

图 1 显示了 TCP 在不同初始质量浓度的 SC 和 WPI 溶液中孵育 4 h 后,其表面包覆的蛋白含量与蛋白溶液初始质量浓度的关系。

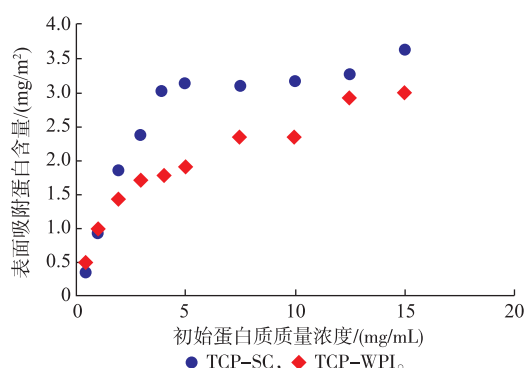


图 1 蛋白溶液的初始质量浓度对 TCP 颗粒表面蛋白包覆的影响

Fig. 1 Effect of initial protein concentration on TCP surface protein concentration

当 SC 初始质量浓度为 0~5 mg/mL 时,包覆于 TCP 颗粒表面的蛋白含量快速增加,随着 SC 质量浓度继续增大到 15 mg/mL,TCP 表面包覆的蛋白含量趋于平稳。WPI 初始质量浓度从 0.5 mg/mL 增至 15 mg/mL 的过程中,TCP 颗粒表面蛋白含量持续增高。

通过表面蛋白含量的分析可以确认乳蛋白可以包覆在 TCP 颗粒表面,并且随着 SC 和 WPI 初始浓度的增加,最终包覆在 TCP 颗粒上的蛋白含量也随之增加,直到蛋白对 TCP 表面的包覆达到饱和状态。对于不同的两种蛋白,比较在相同的初始质量浓度下包覆于 TCP 颗粒表面的蛋白含量可以发现,SC 包覆在 TCP 颗粒表面的量高于 WPI 的量。

2.2 Zeta 电位

图 2 是颗粒表面的 zeta 电位值随着蛋白溶液的初始浓度的增加而产生的变化。Zeta 电位的测试考察了 TCP 颗粒分散在水相时表面的带电特性。具体实验时将 TCP 颗粒分散在不同浓度的蛋白溶液中,孵育 4 h 后离心,将离心得到的沉淀用水洗 1 次,再次分散在超纯水中进行表面电位的测试。

从图 2 可知 TCP 本身在水相中分散时颗粒表

面带负电 (zeta 电位值约 -16.8 mV)。被 SC 包覆之后,TCP 颗粒的表面电位绝对值逐渐增加,也就是说颗粒表面带上了更多的负电荷。当添加的 SC 初始质量浓度为 5 mg/mL 时,所得到的 TCP 再分散液的表面电位值从 -16.8 mV 变化至 -24.0 mV ,进一步提高 SC 溶液的初始质量浓度,表面电位的变化则趋于平稳。同样的,WPI 溶液如果初始质量浓度达到 5 mg/mL ,所制得的 TCP 再分散液的表面电位数值从 -16.8 mV 变化至 -28.5 mV ,当 WPI 初始质量浓度进一步增加时,再分散液的表面电位不再有太大变化。

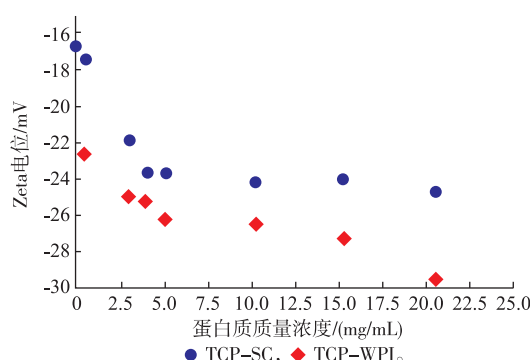


图 2 不同质量浓度的蛋白质对 TCP 表面 zeta 电位的影响
Fig. 2 Effect of protein concentration on the zeta - potential of TCP particles

在中性 pH 下,酪蛋白(等电点 4.6)^[10]和乳清分离蛋白(等电点 5.0)^[11]都带负电荷,TCP 再分散液的表面电位的电势负值增加能够说明蛋白包覆到了 TCP 颗粒的表面,使得 TCP 颗粒表面带上了更多的负电荷。当 SC 或者 WPI 的初始浓度超过 5 mg/mL 时,TCP 再分散液的表面电位不再随着蛋白初始质量浓度的增加而增加,而是逐渐趋于平稳,这说明在初始质量浓度超过 5 mg/mL 的蛋白溶液中孵育后,蛋白对 TCP 表面的包覆就达到了饱和状态。被 SC 和 WPI 所包覆的 TCP 颗粒在 zeta 电位绝对值上(峰值处)有差异,饱和时,被 WPI 包覆的 TCP 颗粒表面电位(表面电位为 -28.5 mV)绝对值大于被 SC 包覆的 TCP 颗粒表面电位(表面电位为 -24.0 mV)的绝对值。WPI 水溶液(0.5 mg/mL)zeta 电位为 -46.5 mV ,SC 水溶液(0.5 mg/mL)zeta 电位为 -30.2 mV 。因此被 WPI 包覆的 TCP 颗粒表面比 SC 包覆的 TCP 颗粒表面带上了更多负电荷。

2.3 表面蛋白组分分析

将不同质量的 TCP 添加到蛋白质量一定的 SC

或 WPI 溶液中,来考察 SC 或 WPI 中不同组分对 TCP 颗粒的包覆情况。具体实验中将 TCP 和 SC 或 WPI 孵育 4 h 后,将悬浮液离心,用 SDS-PAGE 分析上清液中残余蛋白含量。图 3(a)、图 4(a)显示了这些上清液样品的 SDS-PAGE,图 3(b)、4(b)是对悬浮液离心后的上清液中单一蛋白含量变化的量化分析,对照组是不加 TCP 的蛋白溶液(2.5 mg/mL SC/WPI)。

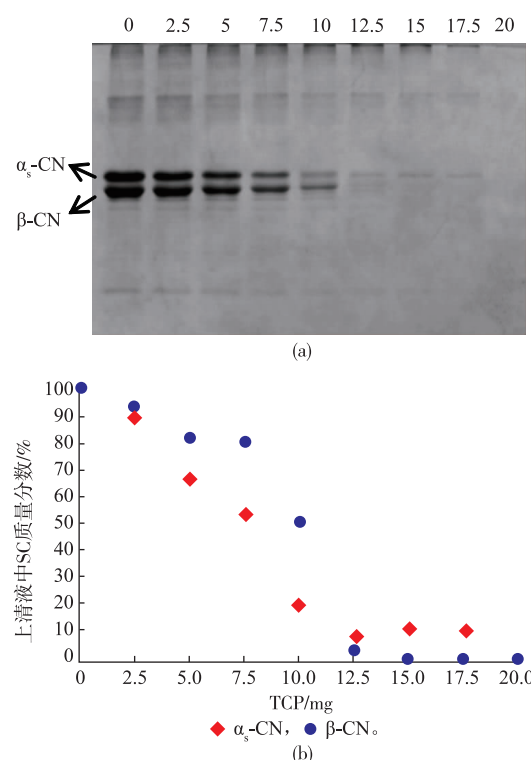
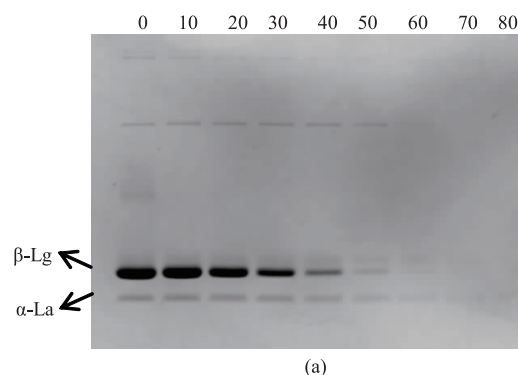


图 3 SC 和不同质量的 TCP 孵育后的悬浮液经离心后得到的上清液的 SDS-PAGE 与蛋白组分变化的量化分析
Fig. 3 SDS -PAGE and concentration analysis on the supernatants prepared from SC (1.25 mg/mL) and TCP ($0\sim 20\text{ mg/mL}$)



(a)

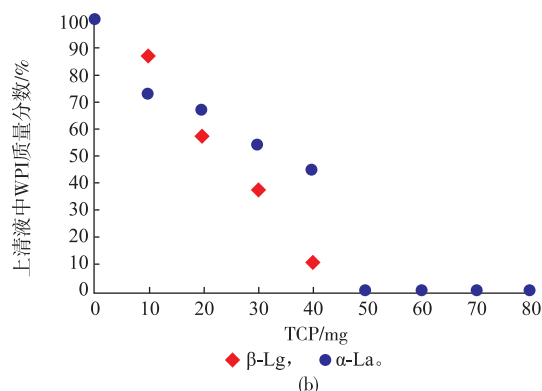


图4 不同质量的TCP孵育后的悬浮液经离心后得到的上清液的SDS-PAGE与蛋白组分变化的量化分析

Fig. 4 SDS-PAGE and concentration analysis on the supernatants prepared from WPI (1.25 mg/mL) and TCP (0~20 mg/mL)

由图3(a)、图4(a)可以观察到,与不含有TCP的纯蛋白的条带相比,TCP被蛋白包覆之后再分散液的上清液跑胶得到的条带上的单一蛋白成分含量随着TCP含量增加而减少。

将两种不同的蛋白对TCP颗粒包覆情况进行比较,可以发现SC更易包覆在TCP颗粒表面。比较图3(a)和图4(a)中相同TCP添加量的样品发现,上清液中SC和WPI不同的蛋白组分残留的量是不一样的。以TCP添加量为10 mg的两个样品为例,上清液中SC的两种组成成分 β -CN和 α_s -CN条带都几乎不可见,但是WPI的组分 β -Lg和 α -La的两条条带依旧比较清晰。量化数据的分析指出(图3(b)、图4(b)),大约12.5 mg的TCP就可以完全吸附1.25 mg的SC,但是同样质量的WPI,需要超过50 mg的TCP才能将其完全吸附。也就是说SC包覆在TCP颗粒表面的量高于WPI的量。比如20 mg的TCP颗粒表面能被1.25 mg的SC包覆,而只有0.5 mg的WPI能包覆在20 mg TCP的表面,其中 β -Lg为0.38 mg而 α -La为0.12 mg。类似的结果在对TCP颗粒的表面蛋白含量的研究中也存在。前面的图1就显示了在相同的初始浓度下,SC包覆在TCP颗粒表面的量高于WPI的量。

TCP上有两种不同类型的结合位点,通常叫做C-位点和P-位点^[12]。当分散在水相介质中,C-位点富含带正电荷的钙离子,而P-位点富含带负电荷的磷酸根粒子。蛋白带负电荷的羧基基团和TCP上带正电荷的C-位点以及蛋白带负电荷的氨基基团和

TCP上带负电荷的P-位点这两对反离子对之间的相互作用,使得蛋白可以包覆在TCP颗粒表面。

进一步分析SC和WPI在TCP颗粒表面包覆量的差异,可能是以下几个原因导致了SC包覆在TCP颗粒表面的量高于WPI的量。第一是两种蛋白的相对分子质量差异。SC相对分子质量(α_s -CN 23 000; α_2 -CN 24 300; β -CN 24 000)^[10]大于WPI相对分子质量(β -Lg 16 800; α -La 14 600)^[13],所以对于活性位点数目相同的TCP表面而言,如果吸附了相同摩尔数的不同蛋白,则摩尔相对分子质量大的蛋白吸附量多。第二是两种蛋白的不同结构。WPI是紧实的球体,在TCP颗粒表面的包覆可能只形成一个单层的包覆,并且WPI的蛋白与蛋白分子之间也不存在相互作用^[14]。SC则是无规线性的松散结构,在包覆到TCP颗粒表面时,SC链段伸展,蛋白表面层会暴露出更多带电的氨基酸侧链基团^[5],这些暴露出来的带电基团与TCP表面位点之间可以发生静电吸引,使得SC分子更加牢固地包覆在TCP颗粒上。另外由于SC的蛋白与蛋白分子之间还会自组装形成聚集体^[15],因而可以在TCP颗粒表面形成较厚的蛋白层,从而有着比WPI更多的包覆量。第三,在作者的研究中,酪蛋白是磷酸化的蛋白^[16],这些Ser-P基团是酪蛋白亚胶束连接点,使得亚胶束形成酪蛋白胶束^[17]。Ser-P能结合钙,特别是钙离子^[18],由此可以推测酪蛋白中的Ser-P也能结合到TCP中富含钙离子的C-位点上。另外也有报道指出蛋白的磷酸化基团与磷酸盐上C-位点的结合比对羧基基团的结合更强。所以,作者认为酪蛋白包覆于TCP颗粒表面的能力更强。对上清液样品进行SDS-PAGE表征还显示了蛋白的不同组分在对TCP包覆的过程中存在差异。

分析图3(a)可知,对SC而言,当TCP的添加量小于10 mg时SC的组成组分 α_s -CN和 β -CN条带都在胶带上显现,显然此时TCP的添加量还不足以将溶液中的蛋白完全吸附。相应的蛋白组分定量数据表明,10 mg的TCP颗粒加入到1.25 mg的SC溶液中时,约有质量分数80% α_s -CN和50%的 β -CN覆盖在TCP颗粒的表面(图3(b)表明上清液中 α_s -CN质量分数为20.86%, β -CN的质量分数为51.09%)。但是当TCP的添加量增加到12.5 mg时,两种组分几乎都能包覆在TCP颗粒表面。以上数据说明,当钙盐不足量的时候, α_s -CN会优先吸附到

TCP 颗粒的表面。这种差异性可能是由于 Ser-P 基团在蛋白链段上的分布不同所造成的^[5]。Ser-P 基团在 α_s -CN 和 β -CN 中的含量都很高,但是在序列中的分布并不均匀^[10]。 α_{s1} -CN 上 Ser-P 分布在 45、47、64、66、67 序列点; α_{s2} -CN Ser-P 分布在 8、9、10、16、56、57、58、61、129、131 序列点。 β -CN 上的 5 个 Ser-P 主要集中在 N 端,带有很高负电荷,而余下的分子则没有净电荷。比较 α_s -CN 和 β -CN 上 Ser-P 的分布可知,相比 β -CN 上的 Ser-P 的集中分布, α_s -CN 上的 Ser-P 分布较散显得更加均匀,因而在对 TCP 颗粒表面的包裹过程中更有优势。

根据图 4(a)中被 WPI 包覆的 TCP 再分散液的跑胶结果可以知道,当 TCP 的添加量为 40 mg 时,约有 89.23% α -La 和 55.38%的 β -Lg 覆盖在 TCP 颗粒的表面。当 TCP 的添加量大于 50 mg 时,溶液中几乎所有的蛋白都包覆在 TCP 表面。图 4(b)中蛋白含量的量化数据也清楚的显示出,随着 TCP 添加量的增多,上清液中残留的 β -Lg 的量减少的速率比 α -La 减小的速率更大,也就是说,相比 α -La, β -Lg 对 TCP 的包覆作用更强。 α -La 和 β -Lg 在钙盐表面吸附过程的差异性或许与蛋白上电荷分布有关。已有研究指出蛋白表面的电荷分布对同属磷酸钙盐的羟基磷灰石与蛋白间的亲和力非常重要。另外 β -Lg 和 α -La 在 WPI 中的含量不同使得二者在溶液中的热力学运动有差异。 β -Lg 是乳清中的主要蛋白质,约占乳清蛋白的 50%,而 α -La 约占乳清蛋白质的 20%,粒子数目更多的 β -Lg 会更容易达到 TCP 颗粒表面将其包覆。

2.4 再分散液的悬浮颗粒的稳定性考察

图 5 所示为被不同质量浓度的 SC 或 WPI 所包覆的 TCP 颗粒再分散液 (TCP 质量浓度为 1 mg/mL) 的浊度随时间变化情况。通过分光光度法来表征溶液中悬浮颗粒的稳定性。180 min 内,未被蛋白包覆的 TCP 颗粒都沉降于比色皿底部。TCP 颗粒在水中不稳定是因为 TCP 颗粒间会发生聚集,导致它们的平均粒径增加,因而快速沉淀;而被不同质量浓度的蛋白所包覆的 TCP 颗粒的沉降速度较为缓慢,TCP 颗粒表面被蛋白包覆之后,其表面电位增加(图 2),颗粒表面电负性更强,颗粒间排斥力增加,颗粒聚集和沉淀就会得到改善,溶液的稳定性提高。同时,两亲性蛋白包覆在 TCP 颗粒表面之后,蛋白分子中的亲水链段伸展在水相中,使得 TCP 颗

粒能稳定分散在水相中。

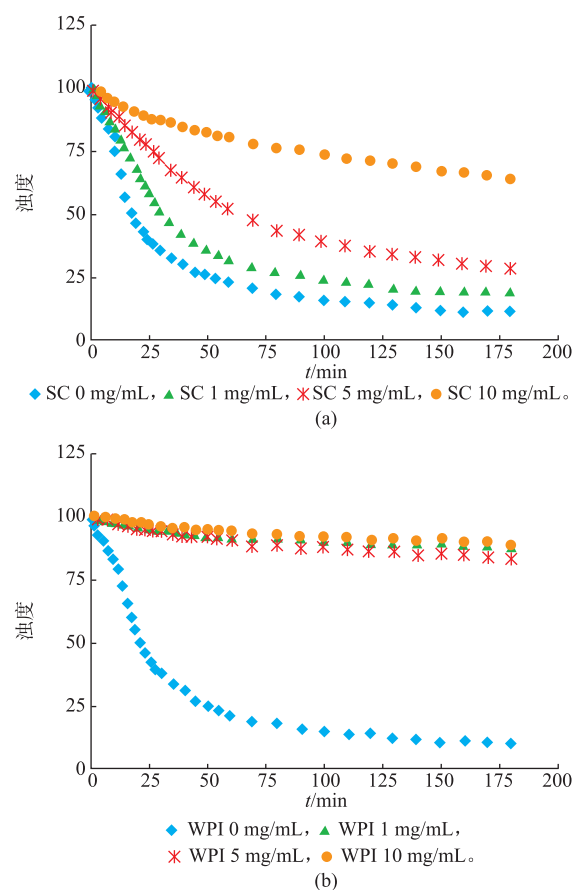


图 5 不同质量浓度的蛋白质对 TCP 颗粒稳定性的影响
Fig. 5 Effects of different concentrations of protein on TCP suspension behavior

比较两种蛋白包覆后的 TCP 颗粒在水相中的沉降过程可以看出,被 WPI 所包覆的 TCP 颗粒的稳定性比被 SC 所包覆的颗粒更好。这可能是因为被 WPI 包覆的 TCP 颗粒比被 SC 包覆的 TCP 颗粒表面带上了更多的负电荷,颗粒之间的静电排斥力更强。在前面的图 2 中也观察到,当一定质量的钙盐被相同起始浓度的蛋白溶液包覆时,在吸附饱和的条件下,被 WPI 包覆的 TCP 颗粒表面电位绝对值大于被 SC 包覆的 TCP 颗粒。所以被 WPI 覆盖的 TCP 颗粒在水相中再分散液的稳定性得到了更好的改善(图 5)。另一方面,前面讨论过 SC 的摩尔相对分子质量比 WPI 大,所以相同质量的 WPI 比 SC 拥有更多的蛋白质分子数目。这也就意味着,添加相同质量的蛋白时,有更多的 WPI 蛋白分子链段包覆在 TCP 颗粒的表面,所以伸展在水相中的亲水链段也更多,故而更好地改善了被 WPI 包覆的 TCP

颗粒分散在水相时的稳定性。

3 结 语

酪蛋白和乳清分离蛋白能包覆于 TCP 颗粒的表面,改变了 TCP 在水相中分散时的稳定性。被蛋

白包覆的 TCP 颗粒由于表面带上了更多的负电荷,当颗粒重新分散在水中时,悬浮颗粒的沉降速率明显减慢,溶液稳定性得到了改善。作者证实了乳蛋白包覆到 TCP 颗粒或其它磷酸钙盐表面的可能性,为改善高钙乳奶制品的稳定性提供了实验依据。

参考文献:

- [1] GB 28050-2011, 食品安全国家标准预包装食品营养标签通则[S].
- [2] GB 14880—2012, 食品安全国家标准食品营养强化剂使用标准[S].
- [3] 张锋华, 张云, 孟令洁, 等. 高钙牛奶稳定性研究[J]. 乳业科学与技术, 2009(2): 63-66.
ZHANG Fenghua, ZHANG Yun, MENG Lingjie, et al. Study on the stability of high-calcium milk [J]. **Journal of Dairy Science and Technology**, 2009(2): 63-66. (in Chinese)
- [4] ZHU X, FAN H, LI D, et al. Protein adsorption and zeta potentials of a biphasic calcium phosphate ceramic under various conditions[J]. **Journal of Biomedical Materials Research**, 2007, 82(1): 65-73.
- [5] KAY C DEE, DAVID A. Puleo, Rena Bizios. Protein-Surface Interactions [M]//Kay C Dee, David A. Puleo, Rena Bizios. In An Introduction To Tissue-Biomaterial Interactions. US: John Wiley & Sons, Inc. 2003: 37-52.
- [6] 董晶莹, 刘宁. 纳米微粒在生物医学领域的应用研究[J]. 国外医学生物医学工程分册, 2005, 28(4): 237-240.
DONG Jingying, LIU Ning. Application and investigation of nanoparticles in field of biomedicine[J]. **Biomedical Engineering Foreign Medical Science**, 2005, 28(4): 237-240. (in Chinese)
- [7] THAKKAR Hetal, PATEL Bindesh, THAKKAR Sneha. A Review on Techniques for Oral Bioavailability Enhancement of Drugs [J]. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, 2010, 4(3): 203-223.
- [8] ERFANIAN A, MIRHOSSEINI H, MANAP M Y A, et al. Influence of nano-size reduction on absorption and bioavailability of calcium from fortified milk powder in rats[J]. **Food Research International**, 2014, 66(0): 1-11.
- [9] PARKK H S, JEON B J, KWAK H S, et al. Effects of nanocalcium supplemented milk on bone calcium metabolism in ovariectomized rats[J]. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 2007, 20(8): 1266-1271.
- [10] HUPPERTZ T. Chemistry of the Caseins [M]. //McSweeney P L H, Fox P F. In Advanced Dairy Chemistry. US: Springer, 2013: 135-160.
- [11] 柴智, 冷小京. 钙诱导乳清分离蛋白包埋体系对 VB12 的稳态研究[J]. 食品科学, 2010, 31(3): 1-4.
CHAI Zhi, LENG Xiaojing. Effect of calcium-induced whey protein encapsulation system on stability of vitamin B12[J]. **Journal of Food Science**, 2010, 31(3): 1-4. (in Chinese)
- [12] OHTA K, MONMA H, TAKAHASHI S. Adsorption characteristics of proteins on calcium phosphates using liquid chromatography[J]. **Journal of Biomedical Materials Research**, 2001, 55(3): 409-414.
- [13] DICKINSON E, GALAZKA V B. Emulsion stabilization by ionic and covalent complexes of β -lactoglobulin with polysaccharides[J]. **Food Hydrocolloids**, 1991, 5: 281-296.
- [14] TERCINIER L, YE A, ANEMA S, et al. Adsorption of milk proteins on to calcium phosphate particles [J]. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2013, 394(0): 458-466.
- [15] MAGESH Srinivasan, HARJINDER Singh, PETER A Munro. Adsorption behaviour of sodium and calcium caseinates in oil-in-water emulsions[J]. **International Dairy Journal**, 1999, 9(3-6): 337-341.
- [16] JENNESS R, LARSON B L, MCMEEKIN T L, et al. Nomenclature of the proteins of bovine milk [J]. **Dairy Science**, 1956, 39: 536-541.
- [17] HOLT C, de Kruif C G, TUINIER R, et al. Substructure of bovine casein micelles by small-angle X-ray and neutron scattering[J]. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering**, 2003, 213: 275-284.
- [18] HORNE D S. Casein micelle structure and stability[M]. San Diego: Academic Press, 2008.