

# 可溶性大豆多糖与果胶对酸化乳饮料的稳定机制对比

田 浩, 何志勇, 王召君, 秦 昉, 曾茂茂, 陈 洁\*

(食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 酸性乳饮料存在乳蛋白沉淀和乳清析出的问题, 需要添加果胶等多糖作为稳定剂。可溶性大豆多糖(SPSS)具有黏度低、溶解性好和口感清爽等优点, 但其稳定酸性乳饮料的机制尚不明确。作者以脱脂乳为主要原料的调酸型和发酵型酸性乳饮料为研究对象, 通过测定 LUMiSizer 不稳定指数、SEC-HPLC(分子体积排阻高效液相色谱法)表征的复合物形成量、粒径、 $\zeta$ -电位及冷藏 14 d 贮藏稳定性等指标, 对比研究 SPSS 与果胶稳定酸化脱脂乳、酪蛋白和乳清蛋白等 3 种乳蛋白体系的机制差异。结果显示, 对于 3 种直接酸化的乳蛋白体系, 2 g/L 的 SPSS 无法与酪蛋白形成有效复合物并稳定体系, 2 g/L 果胶对 3 种乳蛋白均无法有效形成复合物且不能良好稳定体系, 其余质量浓度的多糖均能与 3 种 10 g/L 乳蛋白形成复合物, 并且冷藏 14 d 贮藏稳定性良好。对于发酵脱脂乳, 只有添加 6 g/L 果胶时才能被有效稳定。乳清蛋白和酪蛋白的稳定性结果并不能预测发酵脱脂乳的稳定效果。平均粒径结果显示, 3 种直接酸化的乳蛋白体系的粒径均远小于发酵酸化体系; 增加 SPSS 添加量无法有效降低发酵脱脂乳的平均粒径, 但对于直接酸化的 3 种乳蛋白体系、发酵酸化乳清蛋白和酪蛋白, 随着 SPSS 添加量的增加, 平均粒径都显著下降; 果胶降低酸化乳蛋白粒径的能力远不如 SPSS。上述结果说明, 酸化乳蛋白的粒径是影响多糖复合物形成的要素之一, 在复合物有效生成的前提下, 体系黏度可能也是影响体系稳定性的重要因素。离心稳定性不能表征长期存放稳定性。对于直接酸化的乳蛋白体系, 复合物形成量和平均粒径可能对于预测长期存放稳定性更有意义; 对于发酵酸化的乳蛋白体系, 平均粒径和黏度可能对于预测长期存放稳定性更有价值。

**关键词:** 可溶性大豆多糖; 果胶; 酸性乳饮料; 稳定性

中图分类号: TS 252.1 文章编号: 1673-1689(2022)05-0066-08 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.05.008

## Comparison of Stabilization Mechanism of Acidified Milk Beverage Stabilized by Soluble Soybean Polysaccharides and Pectin

TIAN Hao, HE Zhiyong, WANG Zhaojun, QIN Fang, ZENG Maomao, CHEN Jie\*

(State Key laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** There are problems in acidified milk beverage including protein precipitation and whey isolation, and polysaccharides such as pectin are often used as stabilizers. Soluble soybean polysaccharide (SSPS) has low viscosity, good solubility and refreshing taste, however, its stabilization mechanism of acidified milk beverage is still unclear. Acidified milk beverage processed by formulation and fermentation with skim milk was studied, and the differences of mechanism

收稿日期: 2021-01-26

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(JUSRP12052)。

\* 通信作者: 陈 洁(1969—), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品蛋白质功能方面的研究。E-mail: chenjie@jiangnan.edu.cn

between SSPS and pectin stabilizing three kinds of acidified milk proteins (skim milk, casein and whey protein) were investigated by the LUMiSizer instability index, the complex content quantified by SEC-HPLC, the particle size,  $\zeta$  potential and the 14-day cold storage stability. The results showed that for three acidified milk proteins processed by formulation, 2 g/L SSPS could not form effective complex with casein and stabilize acidified casein, and 2 g/L pectin could not form complex with 3 kinds of acidified milk proteins and failed to stabilize these milk proteins. SSPS and pectin under other mass concentrations could form complexes with three acidified milk proteins of 10 g/L, and showed good stability during 14-day cold storage. The fermented acidified skimmed milk could only be effectively stabilized by 6 g/L pectin. The stability tests of whey protein and casein could not predict the stability of fermented acidified skim milk beverage. The results of average particle size showed that the particle size of formulated acidified milk beverage was far smaller than that of the fermented acidified milk. The increasing of SSPS could not effectively reduce the average particle size of fermented skim milk. However, for three kinds of formulated acidified milk proteins and fermented acid whey protein or casein, the average particle size decreased significantly with the increasing of SSPS. The ability of pectin to reduce the particle size of acidified milk proteins was not as good as that of SSPS. These results indicated that the particle size of acidified milk protein was one of the factors affecting the formation of polysaccharide complex. Besides, the viscosity of milk beverage might also be an important factor affecting the stability of milk beverage if the complexes effectively formed. The long-term storage stability could not be characterized by centrifugation stability. For formulated acidified milk proteins, the complex amount and average particle size might be more important for predicting the long-term storage stability, while for fermented acidified milk proteins, the average particle size and viscosity might be more useful.

**Keywords:** soluble soybean polysaccharide, pectin, acidified milk beverage, stability

酸性乳饮料是以鲜乳或复原乳为原料,添加白砂糖、甜味剂、香精等,经乳酸发酵或直接添加食品酸调配,最终 pH 在 3.8~4.6 的含乳蛋白饮料<sup>[1-2]</sup>。酸性乳饮料按照其加工方式可分为调配型酸性乳饮料和发酵型酸性乳饮料<sup>[3]</sup>。近年来,酸性乳饮料由于其独特的风味、口感和丰富的营养受到广大消费者的喜爱<sup>[4-5]</sup>。牛乳蛋白由酪蛋白(质量分数 80%)和乳清蛋白(质量分数 20%)组成,具有极高的营养价值,但酸性条件下乳蛋白沉淀和乳清析出问题始终是这类饮料新产品开发的挑战<sup>[6]</sup>。工业上常通过添加稳定剂提高酸性乳饮料的稳定性,目前可用于酸性条件下稳定蛋白质的稳定剂主要有果胶、羧甲基纤维素钠、SSPS 和藻酸丙二醇等<sup>[7-8]</sup>。

近年来,SSPS 由于其黏度低、溶解性好、口感清爽而逐渐受到重视。SSPS 是一种从豆渣中提取的阴离子多糖,结构与果胶类似<sup>[8-9]</sup>,主链由聚鼠李糖半乳糖醛酸和聚半乳糖醛酸组成,中性糖侧链由阿拉伯糖和半乳糖侧链组成<sup>[10-11]</sup>。与果胶相比,SSPS 的主

链较短、侧链较长,结构近似于球状<sup>[12-13]</sup>。果胶在酸性条件下稳定乳蛋白的机制非常清晰,即果胶主要基于 3 种能力使其能够长期稳定乳蛋白:静电排斥、空间位阻以及游离果胶提升溶液黏度并形成弱凝胶体系<sup>[14-16]</sup>。迄今为止,SSPS 稳定酸性乳饮料的机制研究相对很少。一般认为,SSPS 稳定酸性乳饮料的机制可能是通过静电作用吸附在蛋白质表面形成复合物,通过中性糖侧链的空间位阻稳定蛋白质<sup>[17-18]</sup>。

然而,关于 SSPS 稳定乳饮料的文献结果不一致的地方甚多。Nakamura 等研究发现,1 g/L 的 SSPS 在 pH 3.4~3.8 内可稳定乳蛋白颗粒,而 2 g/L 的 SSPS 则可在 pH 3.4~4.4 内稳定乳蛋白<sup>[18]</sup>。Nakamura 等的另一项研究显示,pH 在 3.2~4.2 内,SSPS 稳定酪蛋白的性能几乎不受 pH 的影响<sup>[16]</sup>,与高甲氧基果胶(HMP)相比,当 pH<4.2 时,SSPS 显示出比 HMP 更好的稳定性能。而 Boulenguer 等的研究显示,果胶只有在高浓度状态下对酸性乳饮料有

长期稳定性,而 SSPS 则对于酸性乳饮料的长期稳定性毫无作用<sup>[19]</sup>。Liu 等报道在 pH 小于 3.8 时,SSPS 与 HMP 相比对酸性乳饮料具有更强的稳定作用<sup>[20]</sup>。上述研究结果的不一致,暗示 SSPS 的稳定机制及影响因素尚存在不确定性。

为此,以脱脂乳为主要原料的调酸型和发酵型两类常见的不同加工体系为研究对象,通过 LUMiSizer 不稳定指数、SEC-HPLC 复合物形成量、粒径、 $\zeta$  电位及贮藏稳定性等指标,对比研究 SSPS 与果胶对于酸化脱脂乳的稳定机制,并将 2 种稳定剂对于酪蛋白和乳清蛋白这 2 种脱脂乳中主要成分的稳定效应进行对照,以期阐明 SSPS 的稳定机制,为推进 SSPS 的应用提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

SSPS: 河南平顶山金晶生物科技有限公司产品;果胶:美国嘉吉公司产品;脱脂乳粉(蛋白质质量分数 32%)、酪蛋白(蛋白质质量分数 80%)、乳清浓缩蛋白(蛋白质质量分数 80%);新西兰恒天然集团产品。

### 1.2 仪器与设备

Nano-ZS 激光粒度分析仪:英国马尔文仪器有限公司产品;LUMiSizer 稳定性分析仪:德国 LUMI 公司产品;Waters 2695 液相系统、Waters 2487 紫外检测器:美国 Waters 公司产品;Protein KW-804(7  $\mu\text{m}$ ,  $1.5 \times 10^{-7} \text{ m}\bar{\text{A}}$ , 8.0 mm $\times$ 300 mm)尺寸排阻色谱柱:日本 SHODEX 株式会社产品。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 样品制备** 直接酸化的脱脂乳或者乳蛋白样品制备:准确称取一定量的脱脂乳粉、酪蛋白、乳清浓缩蛋白和去离子水,在室温下搅拌并维持 pH 7.0 至其充分溶解,溶液蛋白质质量浓度为 20 g/L。准确称取一定量的稳定剂(SSPS、果胶),溶解于 70  $^{\circ}\text{C}$  的去离子水中,于磁力搅拌器上搅拌至完全溶解。待两者均冷却至室温后混合搅拌,使用质量分数 30% 的柠檬酸溶液调节体系至 pH 4.0。最终酸化后的样品中的蛋白质为 10 g/L,果胶或 SSPS 的最终质量浓度为 2~6 g/L。

发酵酸化的脱脂乳或乳蛋白样品的制备:分别准确称取一定量的脱脂乳粉、酪蛋白、乳清浓缩蛋白和去离子水,在室温下搅拌并维持 pH 7.0 至其充

分溶解,溶液蛋白质为 40 g/L。将样品溶液在 65  $^{\circ}\text{C}$  杀菌 30 min,冷却至 42  $^{\circ}\text{C}$ ,添加发酵菌种(丹尼克斯 505 型)至 0.05 g/L,42  $^{\circ}\text{C}$  恒温发酵 5 h 得到发酵乳基。准确称取一定量的稳定剂(SSPS、果胶),溶解于 70  $^{\circ}\text{C}$  的去离子水中,于磁力搅拌器上搅拌至完全溶解。将发酵乳基在 20 MPa 下均质一次,并与稳定剂溶液混合搅拌,使用质量分数 30% 的柠檬酸溶液调节体系至 pH 4.0。最终发酵样品中的蛋白质为 10 g/L,果胶或 SSPS 的最终质量浓度为 2~6 g/L。

**1.3.2 LUMiSizer 稳定性测定** 通过 LUMiSizer 预测酸性乳清蛋白饮料的长期稳定性。参照 Cai 等<sup>[21]</sup>的检测方法并稍做修改:4 000 r/min 离心,轮廓线 560 张,截图时间间隔为 15 s,光因子 1.0,测试温度 25  $^{\circ}\text{C}$ ,测试光源 470 nm,测试时间为 140 min。

**1.3.3 复合物形成量测定** 通过 SEC-HPLC 测定复合物形成量<sup>[23]</sup>,检测条件:检测波长 220 nm,Protein KW-804 尺寸排阻色谱柱,以含有 0.1 mol/L 氯化钠的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 4.0)为流动相,1 mL/min 的流量等度洗脱,通过复合物在 220 nm 的紫外吸收信号峰面积表示其形成量。

**1.3.4 平均粒径、 $\zeta$  电位测定** 参考文献[24]的方法,使用 Nano-ZS 激光粒度分析仪测定蛋白质溶液的平均粒径。为避免多种光散射,采用 pH 4.0 的 0.02 mol/L 柠檬酸盐缓冲液对蛋白质溶液进行体积比为 1:10 的稀释。测定参数:样品折射率为 1.590,水的折光率为 1.330,测试温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ 。

**1.3.5 贮藏稳定性** 将制备的样品于 4  $^{\circ}\text{C}$  贮藏 14 d 后拍照观察。

**1.3.6 统计分析** 每组实验至少重复 3 次,结果通过平均值和标准偏差进行评估。数据统计分析采用 SPSS 2.0 软件在  $P < 0.05$  水平上进行显著性分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 LUMiSizer 不稳定指数对比

LUMiSizer 稳定性分析仪是依据朗伯特-比尔定律和 Stoke's 定律,通过离心加速技术评估产品稳定性的一种仪器。该仪器是通过低转速长时间离心来模拟自然条件下多糖与蛋白质复合物的聚集情况,缩短了测试时间,提高了研究效率。澄清指数是指离心结束后样品对光的透过量占原始透光量的百分比。澄清指数越高,表明样品离心后透光量较初始状态变化越大,样品的稳定性越差<sup>[25]</sup>。直接酸

化和发酵酸化体系中不同乳蛋白的 LUMiSizer 不稳定指数见图 1。

乳清蛋白样品发酵酸化体系的稳定性低于直接酸化体系,见图 1(a)。在添加量为 2 g/L 时,果胶稳定乳清蛋白的能力远不如 SSPS;但当稳定剂质量浓度提高到 4 g/L 或者 6 g/L 时,果胶的稳定能力大幅度提高,其中直接酸化乳的不稳定指数可以降低到 0.27;而 SSPS 的稳定效应尽管也比 2 g/L 时提升了,但最终稳定效应不如果胶,不稳定指数仅为 0.75。

酪蛋白样品发酵酸化体系的稳定性也低于直接酸化体系,但差异远小于脱脂乳蛋白和乳清蛋白,见图 1(b)。在添加量为 2 g/L 时,SSPS 和果胶的稳定效果均很差;随着质量浓度提高到 4 g/L 或者 6 g/L,果胶的稳定效应提升能力也大于 SSPS。

从图 1(c)可以看出,脱脂乳蛋白样品发酵酸化体系的稳定性普遍低于直接酸化体系。对比果胶和 SSPS 稳定效应可以看出,对于 10 g/L 乳蛋白饮料体系,无论是发酵酸化乳还是直接调酸的酸化乳,在添加量为 2 g/L 时,SSPS 和果胶稳定效果均很差。2 种稳定剂对直接酸化乳蛋白样品的稳定性均随着

稳定剂添加量的提高而提高,其中果胶的稳定效应大于 SSPS;而对于发酵酸化乳蛋白样品,两者的效果均不显著。

进一步对比乳清蛋白、酪蛋白和脱脂乳蛋白的差异可以看出,果胶和 SSPS 对于酸化脱脂乳蛋白的稳定效应要远低于酸化酪蛋白和酸化乳清蛋白。文献显示,酪蛋白胶束平均粒径为 120 nm,在 50~600 nm 波动<sup>[26]</sup>;而乳清蛋白一般粒径为 60 nm<sup>[27]</sup>。该结果表明,蛋白质酸化时的聚集体粒径可能会影响多糖的稳定效果。

值得注意的是,6 g/L 的果胶对于直接酸化脱脂乳蛋白与发酵酸化脱脂乳蛋白的稳定性差异巨大。发酵酸化乳的制作过程是酸化后再加多糖,而直接酸化乳制作时是加多糖后直接酸化,这种制作程序上的差异,会导致在多糖与蛋白质结合时,蛋白质聚集体在溶液中的尺寸不同。一般而言,发酵酸化的蛋白质尺寸要远远大于直接酸化的。该结果表明,多糖对于酸化乳蛋白的稳定能力可能与多糖和蛋白质的结合能力以及多糖-蛋白质结合物或者蛋白质聚集体本身在溶液中的稳定性有关。

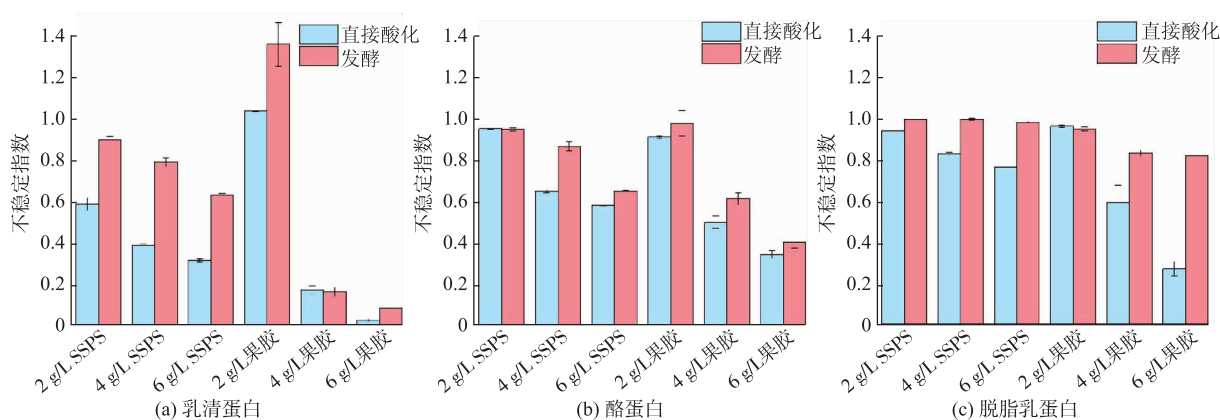


图 1 直接酸化和发酵酸化体系中乳蛋白的 LUMiSizer 不稳定指数

Fig. 1 LUMiSizer instability index of milk proteins in formulated and fermented acidified systems

## 2.2 复合物形成量对比

为了探究果胶和 SSPS 两种多糖与乳蛋白在酸性条件下的结合能力,对乳清蛋白、酪蛋白和脱脂乳蛋白分别在直接酸化和发酵酸化体系中和两种多糖产生的复合物进行定量研究。Zhao 等研究显示,基于静电吸附的多糖-蛋白质复合物可以采用 SEC-HPLC 进行定量检测<sup>[23]</sup>。因此,通过 SEC-HPLC 测定复合物形成量,以直观表示 2 种多糖与 3 种乳

蛋白在不同酸化模式下的复合物形成量,结果见图 2。

对于脱脂乳蛋白体系,2 g/L 的果胶和 SSPS 均难以与酸化脱脂乳蛋白有效形成复合物;随着多糖质量浓度的提升,SSPS 和果胶与直接酸化体系中的脱脂乳蛋白形成的复合物增加,且 SSPS 形成的复合物数量远高于果胶。但 2 种多糖均难以与发酵酸化脱脂乳蛋白形成有效复合物。酪蛋白体系与脱脂乳蛋白的结果很类似。

但对于乳清蛋白体系,结果则完全不同。尽管乳清蛋白与2种多糖形成的复合物比脱脂乳蛋白以及酪蛋白要少得多,但对比两种多糖可以发现:2 g/L的SSPS也可以与直接酸化的乳清蛋白形成较多复合物,且随着质量浓度的增加,SSPS与乳清蛋白复合物形成量增加;而2 g/L的果胶则几乎不与直接酸化的乳清蛋白形成复合物,但4 g/L和6 g/L的果胶与乳清蛋白复合物形成量比SSPS与乳清蛋白复合物形成量要多。

果胶或者SSPS与各种乳蛋白形成复合物的能力与LUMiSizer稳定性分析仪测定不稳定指数的结果并不完全一致。对于直接酸化的乳清蛋白,复合物形成量与LUMiSizer不稳定指数的情况是一致的;而对于直接酸化的酪蛋白和脱脂乳蛋白,SSPS

的复合物形成能力均强于果胶,但SSPS的LUMiSizer稳定性均低于果胶。然而对于发酵酸化乳蛋白,尽管复合物形成量不足,LUMiSizer不稳定指数高。总体而言,复合物形成量与LUMiSizer不稳定指数相关性很弱。

上述结果表明,酸性条件下多糖与乳蛋白形成复合物的能力可能仅仅是稳定乳蛋白的必要条件而非充分条件,还有其他因素影响乳蛋白在酸性条件下的稳定性。同时,直接酸化体系和发酵酸化体系的巨大差异以及乳清蛋白、酪蛋白和脱脂乳蛋白3种复合物形成量的不一致也表明,酸化后蛋白质聚集体结构尺寸可能会导致多糖-蛋白质复合物形成量有所差异,并导致LUMiSizer不稳定指数也有差异。

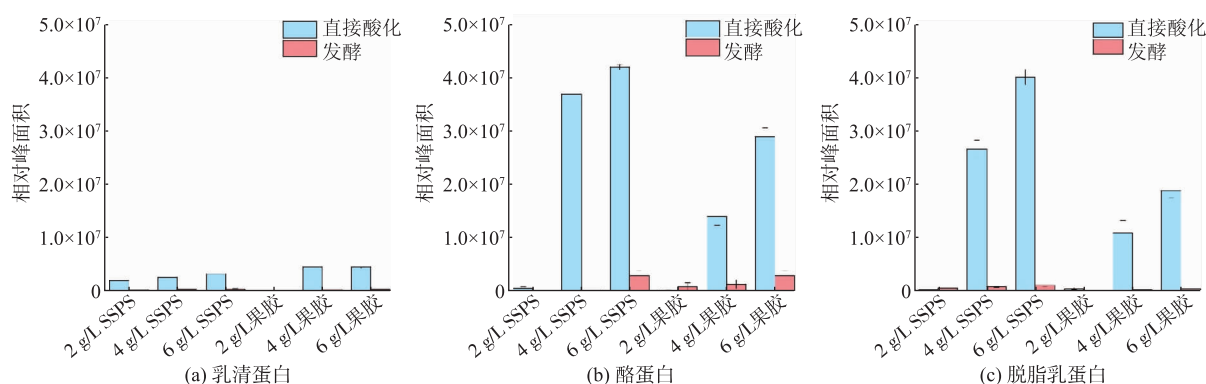


图2 直接酸化和发酵酸化体系中乳蛋白的复合物形成量

Fig. 2 Milk proteins complex content in formulated and fermented acidified systems

### 2.3 平均粒径对比

为了探究酸化前后多糖的添加顺序对2类蛋白质体系酸化后的多糖-蛋白质复合物的形成能力以及蛋白质本身的聚集体粒径大小和分布的影响,采用粒径分布仪测定了直接酸化和发酵酸化体系中不同乳蛋白的平均粒径,结果见表1。

可以看出,在直接酸化体系中,无论哪一种蛋白质,其粒径都要远小于发酵酸化体系。

对于SSPS,随着添加量的增加,直接酸化的3种乳蛋白体系的平均粒径都显著下降;而对于发酵酸化乳,随着添加量的增加,SSPS也可以有效降低乳清蛋白和酪蛋白的平均粒径,但难以降低脱脂乳蛋白的平均粒径。该结果部分印证了图1~2的结果,发酵脱脂乳蛋白粒径巨大,这可能是其复合物生成量相对小于其他2种蛋白质,且稳定性也不如

其他2种蛋白质的缘故。发酵乳清蛋白粒径比脱脂乳小但比酪蛋白大,其复合物形成量不足,但稳定性比酪蛋白和脱脂乳蛋白好,说明复合物本身稳定性也是影响整个酸化乳体系稳定性的重要因素。

2 g/L的果胶添加量无法有效稳定体系,这与图1~2结果一致,既无法有效形成复合物,稳定性也不佳。4 g/L和6 g/L的果胶添加量,对脱脂乳粒径变化影响很小,但对其稳定性影响很大。果胶黏度比较大,随着添加量的增加,体系黏度显著增加。

表1和图1~2的结果说明,酸化乳蛋白的粒径是影响多糖-复合物形成的要素之一,在复合物有效生成的前提下,体系黏度可能也是影响体系稳定性的重要因素;在复合物无法有效形成的前提下,体系黏度的作用可能更大。

表1 直接酸化与发酵酸化体系中乳蛋白的平均粒径

Table 1 Average size of formulated and fermented acidified milk proteins

| 添加种类       | 直接酸化平均粒径/nm            |                         |                         | 发酵酸化平均粒径/nm              |                         |                           |
|------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
|            | 乳清蛋白                   | 酪蛋白                     | 脱脂乳蛋白                   | 乳清蛋白                     | 酪蛋白                     | 脱脂乳蛋白                     |
| 2 g/L SSPS | 254.9±4.2 <sup>c</sup> | 238.2±6.6 <sup>c</sup>  | 897.9±68.1 <sup>a</sup> | 1102.7±29.8 <sup>b</sup> | 578.4±35.4 <sup>a</sup> | 4427.3±85.1 <sup>a</sup>  |
| 4 g/L SSPS | 206.8±3.0 <sup>d</sup> | 156.2±5.3 <sup>d</sup>  | 237.2±3.1 <sup>b</sup>  | 1254.3±57.0 <sup>a</sup> | 208.0±2.1 <sup>d</sup>  | 4007.0±415.7 <sup>a</sup> |
| 6 g/L SSPS | 169.5±2.1 <sup>e</sup> | 126.6±1.3 <sup>c</sup>  | 229.1±3.4 <sup>b</sup>  | 546.8±39.4 <sup>c</sup>  | 143.9±2.2 <sup>c</sup>  | 3164.7±241.3 <sup>b</sup> |
| 2 g/L 果胶   | 沉淀                     | 沉淀                      | 沉淀                      | 沉淀                       | 沉淀                      | 沉淀                        |
| 4 g/L 果胶   | 378.4±9.5 <sup>a</sup> | 515.9±14.5 <sup>a</sup> | 857.1±15.2 <sup>a</sup> | 485.3±16.7 <sup>cd</sup> | 589.4±30.6 <sup>b</sup> | 沉淀                        |
| 6 g/L 果胶   | 322.1±9.1 <sup>b</sup> | 352.0±11.1 <sup>b</sup> | 900.4±26.1 <sup>a</sup> | 455.7±11.8 <sup>d</sup>  | 365.9±6.6 <sup>c</sup>  | 沉淀                        |

注:同一列不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

## 2.4 电位对比

直接酸化和发酵酸化体系中不同乳蛋白的电位见表2。在直接酸化体系中,添加 SSPS 的蛋白质溶液电位绝对值较小,而果胶稳定蛋白质溶液的电位绝对值远大于 SSPS,这与果胶主链上含有更多的半乳糖醛酸有关。当 SSPS 作为稳定剂时,由于其所带电荷较少,直接酸化体系与发酵酸化体系中蛋白质溶液的电位并无明显区别。而添加 4 g/L 和 6 g/L

果胶时,发酵酸化体系的蛋白质溶液电位比直接酸化体系的更低,这可能是由于发酵后乳蛋白存在大量聚集物,很难与果胶形成有效吸附,此时溶液存在大量游离的果胶,果胶所带的负电荷较多。但发酵后的脱脂乳蛋白在添加 2 g/L 果胶时,电位为 5.12 mV,明显不同于直接酸化时的-11.45 mV,这可能是由于此时溶液中果胶含量较少,因此溶液整体的电位与脱脂乳蛋白自身的电位相似。

表2 直接酸化和发酵酸化体系中乳蛋白的 $\zeta$ 电位

Table 2  $\zeta$ -zeta potential of formulated and fermented acidified milk proteins

| 添加种类       | 直接酸化 $\zeta$ 电位/mV       |                          |                          | 发酵酸化 $\zeta$ 电位/mV       |                          |                          |
|------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|            | 乳清蛋白                     | 酪蛋白                      | 脱脂乳蛋白                    | 乳清蛋白                     | 酪蛋白                      | 脱脂乳蛋白                    |
| 2 g/L SSPS | -0.54±0.02 <sup>a</sup>  | 0.24±0.02 <sup>a</sup>   | 0.23±0.09 <sup>a</sup>   | -0.88±0.03 <sup>a</sup>  | 1.89±0.10 <sup>a</sup>   | -1.43±0.15 <sup>b</sup>  |
| 4 g/L SSPS | -0.86±0.04 <sup>a</sup>  | -1.89±0.08 <sup>b</sup>  | -2.45±0.09 <sup>b</sup>  | -0.91±0.13 <sup>a</sup>  | 0.36±0.11 <sup>ab</sup>  | -2.02±0.25 <sup>b</sup>  |
| 6 g/L SSPS | -1.26±0.18 <sup>a</sup>  | -3.45±0.23 <sup>c</sup>  | -1.77±0.03 <sup>c</sup>  | -1.12±0.04 <sup>a</sup>  | -0.73±0.16 <sup>b</sup>  | -1.64±0.06 <sup>b</sup>  |
| 2 g/L 果胶   | -8.63±0.19 <sup>b</sup>  | -11.60±0.41 <sup>d</sup> | -11.45±0.15 <sup>d</sup> | -11.47±0.73 <sup>b</sup> | -4.83±0.31 <sup>c</sup>  | 5.12±0.33 <sup>a</sup>   |
| 4 g/L 果胶   | -11.55±0.35 <sup>c</sup> | -15.65±0.35 <sup>c</sup> | -15.01±0.21 <sup>c</sup> | -16.00±0.83 <sup>c</sup> | -18.15±0.75 <sup>d</sup> | -19.03±0.60 <sup>c</sup> |
| 6 g/L 果胶   | -11.80±0.62 <sup>c</sup> | -16.55±0.85 <sup>d</sup> | -15.41±0.51 <sup>d</sup> | -17.77±0.31 <sup>d</sup> | -18.80±0.80 <sup>d</sup> | -19.83±0.74 <sup>c</sup> |

注:同一列不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

## 2.5 贮藏稳定性对比

不同乳蛋白在 4℃下贮藏 14 d 后的稳定性结果见图3。2 g/L 的 SSPS 对直接酸化的乳清蛋白具有良好的稳定效果,整体澄清透明。而添加 2 g/L 果胶的乳清蛋白几乎完全沉淀;4 g/L 和 6 g/L 的果胶对乳清蛋白也具有良好的稳定效果,但整体透明度较低,这可能与果胶与乳清蛋白形成复合物的粒径较大有关。SSPS 对发酵酸化的乳清蛋白稳定能力较弱,在 3 种添加量下均有明显沉淀。但 4 g/L 和 6 g/L 的果胶对发酵酸化的乳清蛋白有较好的稳定能力,这可能是由于果胶的高黏度起到了稳定效应。

图3中添加果胶的乳清蛋白贮藏稳定性结果

与图1是一致的,这说明果胶要稳定酸性条件下的乳清蛋白,不仅需要有效形成复合物,同时需要复合物有高度稳定性。图3添加 SSPS 的乳清蛋白的贮藏稳定性结果与图1并不一致,说明在 SSPS 稳定酸性条件下的乳清蛋白时,离心稳定性不能表征长期存放稳定性,复合物和平均粒径可能对于该种多糖更有意义。

对于直接酸化的酪蛋白,添加 2 g/L 的 SSPS 时有少量沉淀生成,添加 4 g/L 和 6 g/L 的 SSPS 时整体澄清透明,具有良好的稳定性。2 g/L 果胶直接酸化酪蛋白时,酪蛋白完全沉淀;添加 4 g/L 和 6 g/L 时果胶,酪蛋白整体均一,但透光率较低;发酵酸化

的酪蛋白体系结果类似。该结果结合图 2 结果进一步说明, 如果混合体系不能很好地形成复合物, 那么未来酸化乳体系的稳定性也欠佳。另外, 该结果结合图 1 说明离心稳定性不能表征长期存放稳定性, 可能对于酸化酪蛋白体系而言, 复合物和平均粒径更有意义。

对于直接酸化的脱脂乳蛋白, 在 SSPS 作为稳定剂时, 3 个添加量均呈现均一的体系, 无明显沉淀, 但透光率比乳清蛋白和酪蛋白低。当添加果胶

作为稳定剂时, 2 g/L 的添加量不能稳定直接酸化的脱脂乳蛋白; 当添加 4 g/L 和 6 g/L 果胶时, 脱脂乳整体均匀, 稳定性良好。对于发酵酸化的脱脂乳蛋白, SSPS 在各个添加量下均无法有效稳定其体系, 而果胶在 2 g/L 和 4 g/L 添加量下也无法有效稳定, 只有在 6 g/L 条件下才能有效稳定。上述结果综合图 1~2 以及表 1 说明, 在复合物有效生成的前提下, 体系黏度可能也是影响体系稳定性的重要因素。

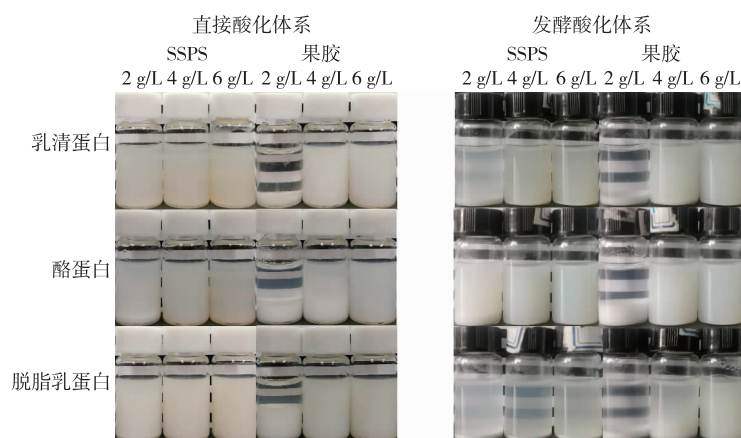


图 3 直接酸化和发酵酸化体系中乳蛋白贮藏 14 d 后稳定性

Fig. 3 Stability of formulated and fermented acidified milk proteins after 14-day storage

### 3 结 语

以脱脂乳为主要原料的调酸型和发酵型两类常见不同加工体系为研究对象, 对比研究 SSPS 与果胶对于酸化脱脂乳、酪蛋白和乳清蛋白 3 种蛋白质体系稳定性的影响。结果显示, 在直接酸化体系中, 对于 3 种乳蛋白, 除了 2 g/L SSPS 无法与酪蛋白形成有效复合物并无法稳定体系外, 2~4 g/L 的 SSPS 均能与 10 g/L 的蛋白质形成复合物, 并具有良好稳定效果; 而 2 g/L 果胶对 3 种乳蛋白均无法有效形成复合物, 也不能良好稳定体系, 只有在高添加量时 (4 g/L 和 6 g/L) 才具有较好的稳定效果。在发酵酸化体系中, SSPS 只有在 4 g/L 和 6 g/L 添加量时才能有效稳定酪蛋白, 对于乳清蛋白和脱脂乳

蛋白, 所有添加量都无效; 而对果胶而言, 4 g/L 和 6 g/L 添加量对发酵酸化的乳清蛋白和酪蛋白有较好的稳定能力, 但对于发酵脱脂乳, 只有 6 g/L 添加量才能有效稳定。上述结果结合 LUMiSizer 不稳定指数、SEC-HPLC 复合物含量、粒径以及  $\zeta$ -电位结果说明, 不同多糖对于不同酸化工艺和不同蛋白质形成的酸化乳饮料的稳定机制不同, 酸化乳蛋白的粒径是影响多糖-蛋白质复合物形成的要素之一。在复合物有效生成的前提下, 体系黏度可能也是影响体系稳定性的重要因素。离心稳定性不能表征长期存放稳定性, 对于直接酸化乳蛋白体系, 复合物形成量和平均粒径可能对预测长期存放稳定性更有意义; 对于发酵酸化乳蛋白体系, 平均粒径和黏度可能对预测长期存放稳定性更有价值。

### 参考文献:

- [1] 张迪, 陆一敏. 果胶对酸性乳饮料稳定性的影响[J]. 饮料工业, 2011, 14(6): 14-16.
- [2] 姚晶. 稳定剂对酸性乳饮料的稳定作用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [3] 惠秋沙. 乳酸饮料稳定性的影响因素[J]. 饮料工业, 2011, 14(5): 9-11.

- [4] 李辉,白者米来,荆培培,等. 酸性含乳饮料货架期品质评价[J]. 饮料工业,2020,23(4):6-10.
- [5] 王桂桢. 酸性含乳饮料常见的质量问题和控制方法[J]. 中国乳业,2012(8):63-65.
- [6] SEJERSEN M T, SALOMONSEN T, IPSEN R, et al. Zeta potential of pectin-stabilised casein aggregates in acidified milk drinks [J]. **International Dairy Journal**, 2007, 17(4):302-307.
- [7] NOBUHARA T, MATSUMIYA K, NAMBU Y, et al. Stabilization of milk protein dispersion by soybean soluble polysaccharide under acidic pH conditions[J]. **Food Hydrocolloids**, 2014, 34(1):39-45.
- [8] TUINIER R, DEKRUIF C G. Stability of casein micelles in milk[J]. **The Journal of Chemical Physics**, 2002, 117(3):1290-1295.
- [9] NAKAMURA A, FURUTA H, MAEDA H, et al. Structural studies by stepwise enzymatic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnogalacturonan[J]. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, 2002, 66(6):1301-1313.
- [10] TURGEON S L, BEAULIEU M, SCHMITT C, et al. Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects[J]. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, 2003, 8(4/5):401-414.
- [11] GIRARD M, SCHAFFER-LEQUART C. Attractive interactions between selected anionic exopolysaccharides and milk proteins[J]. **Food Hydrocolloid**, 2008, 22(8):1425-1434.
- [12] 康曼曼,包海蓉,栗星. 可溶性大豆多糖对酸性乳饮料稳定性影响的研究[J]. 农业工程技术(农产品加工业),2008(3):31-37.
- [13] WANG Q, HUANG X, NAKAMURA A, et al. Molecular characterisation of soybean polysaccharides: an approach by size exclusion chromatography, dynamic and static light scattering methods[J]. **Carbohydrate Research**, 2005, 340(17):2637-2644.
- [14] WUSIGALE, LIANG L, LUO Y. Casein and pectin: Structures, interactions, and applications[J]. **Trends in Food Science & Technology**, 2020, 97:391-403.
- [15] TROMP R H, DEKRUIF C G, VANEIJCK M, et al. On the mechanism of stabilisation of acidified milk drinks by pectin[J]. **Food Hydrocolloids**, 2004, 18(4):565-572.
- [16] NAKAMURA A, YOSHIDA R, MAEDA H, et al. The stabilizing behaviour of soybean soluble polysaccharide and pectin in acidified milk beverages[J]. **International Dairy Journal**, 2006, 16(4):361-369.
- [17] NAKAMURA A, FUJII N, TOBE J, et al. Characterization and functional properties of soybean high-molecular-mass polysaccharide complex[J]. **Food Hydrocolloids**, 2012, 29(1):75-84.
- [18] NAKAMURA A, FURUTA H, KATO M, et al. Effect of soybean soluble polysaccharides on the stability of milk protein under acidic conditions[J]. **Food Hydrocolloids**, 2003, 17(3):333-343.
- [19] BOULENGUER P, LAURENT M A. Comparison of the stabilisation mechanism of acid dairy drinks (ADD) induced by pectin and soluble soybean polysaccharide (SSP)[M]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2003:467-480.
- [20] LIU J R, NAKAMURA A, CORREDIG M. Addition of pectin and soy soluble polysaccharide affects the particle size distribution of casein suspensions prepared from acidified skim milk[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2006, 54(17):6241-6246.
- [21] CAI Z, WEI Y, GUO Y, et al. Influence of the degree of esterification of soluble soybean polysaccharide on the stability of acidified milk drinks[J]. **Food Hydrocolloids**, 2020, 108:1-8.
- [22] NAKAMURA A, MAEDA H, CORREDIG M. Influence of heating on oil-in-water emulsions prepared with soybean soluble polysaccharide[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2007, 55(2):502-509.
- [23] ZHAO Y, LI F, CARVAJAL M T, et al. Interactions between bovine serum albumin and alginate: an evaluation of alginate as protein carrier[J]. **Journal of Colloid and Interface Science**, 2009, 332(2):345-353.
- [24] 周森,何志勇,曾茂茂,等. 可溶性大豆多糖对于配制型酸性乳饮料稳定效应影响因素研究[J]. 食品科技,2019,44(7):308-313.
- [25] DAMMAK I, SOBRAL P J D A. Effect of different biopolymers on the stability of hesperidin-encapsulating O/W emulsions[J]. **Journal of Food Engineering**, 2018, 237:33-43.
- [26] DALGLEISH D G, SPAGNUOLO P A, DOUGLAS G H. A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy[J]. **International Dairy Journal**, 2004, 14(12):1025-1031.
- [27] TATERKA H, CASTILLO M. The effect of whey protein denaturation on light backscatter and particle size of the casein micelle as a function of pH and heat-treatment temperature[J]. **International Dairy Journal**, 2015, 48:53-59.