

不同蛋白原料条件下常温再制干酪制品析水性和质构特性研究

盛赵越¹ 王彩云^{2,3} 韩仁娇^{2,3} 张静⁴ 蔡祥⁴ 罗洁¹

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 长沙 410128; 2. 内蒙古乳业技术研究院有限责任公司, 呼和浩特 010110;
3. 内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 呼和浩特 010110; 4. 内蒙古伊家好奶酪有限责任公司, 天津 300308)

摘要: 常温再制干酪制品是指经超高温瞬时灭菌(Ultra-high temperature treated, UHT)处理后可常温贮藏的灭菌型干酪制品, 是我国乳品工业的新热点。然而, 干酪在 UHT 处理后易失稳发生凝胶结构重构, 在贮藏期间出现析水等质构问题, 影响产品品质。为阐明蛋白原料对常温再制干酪制品析水性的影响及机制, 筛选了 3 种不同的蛋白原料: 膜过滤酪蛋白胶束、浓缩牛奶蛋白、凝乳酶酪蛋白, 分析其蛋白质含量、组成以及粒径、电位、水合性和钙离子分布等理化特性, 进而分析了蛋白原料对常温再制干酪制品析水性和质构特性的影响规律, 并从水分分布和微观结构层面解析蛋白原料对常温再制干酪制品析水性的影响机制。结果表明: 3 种蛋白原料的蛋白质含量和组成存在显著差异, 浓缩牛奶蛋白的乳清蛋白占总蛋白质量分数比膜过滤酪蛋白胶束高 7.81 个百分点, 而凝乳酶酪蛋白中不含乳清蛋白; 在水合性方面, 浓缩牛奶蛋白和膜过滤酪蛋白胶束相近, 均显著高于凝乳酶酪蛋白。蛋白原料显著影响常温再制干酪制品析水性, 贮藏 90 d 时, 由凝乳酶酪蛋白制备的常温再制干酪制品析水率最高, 而由浓缩牛奶蛋白制备的常温再制干酪制品的析水率最低, 表面析水率和离心析水率分别为 0.42% 和 1.10%。水分分布和微观结构结果显示, 蛋白原料通过影响干酪制品中水分的存在状态和三维网络空间结构, 从而影响常温再制干酪制品的析水性。研究解析了不同蛋白原料对常温再制干酪制品析水性的影响及机制, 为常温再制干酪制品析水性的改善提供了理论依据。

关键词: 浓缩牛奶蛋白; 凝乳酶酪蛋白; 膜过滤酪蛋白胶束; 水分分布; 微观结构

中图分类号: TS252.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2024)06-0343-10

OSID:



Effect of Different Protein Raw Materials on Water Precipitation of Room Temperature Processed Cheese Products

SHENG Zhaoyue¹ WANG Caiyun^{2,3} HAN Renjiao^{2,3} ZHANG Jing⁴ CAI Xiang⁴ LUO Jie¹

(1. College of Food Science and Engineering, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2. Inner Mongolia Research Center of Dairy Technology Co., Ltd., Huhhot 010110, China

3. Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd., Huhhot 010110, China

4. Inner Mongolia Yijiaohao Cheese Co., Ltd., Tianjin 300308, China)

Abstract: Room temperature processed cheese products, referring to the sterilized cheese, can be stored at room temperature after being treated by ultra-high temperature treated (UHT). It is a hot spot in China's dairy industry. However, processed cheese is prone to instability after UHT treatment, resulting in gel structure reconstruction, water precipitation and other texture problems during storage, which affect the product quality. It was intended to clarify the effect of protein raw materials on the water precipitation of room temperature processed cheese products and its mechanism. Three different protein raw materials: membrane filtration casein micelle, concentrated milk protein and rennet casein were screened, and their protein content and composition as well as their physical and chemical properties such as particle size, potential, hydration and calcium ion distribution were analyzed. Secondly, the effects of protein raw materials on the water precipitation and texture properties of room temperature processed cheese products

收稿日期: 2023-10-19 修回日期: 2023-11-28

基金项目: 常温奶酪棒析水和质构稳定性研究项目(2021-国家乳创中心-9)和国家自然科学基金项目(32272354)

作者简介: 盛赵越(1999—), 女, 博士生, 主要从事乳品科学研究, E-mail: 2514071439@qq.com

通信作者: 罗洁(1987—), 女, 副教授, 博士, 主要从事乳品科学研究, E-mail: luojie@hunau.edu.cn

were analyzed. The mechanism of the effect of protein raw materials on the water precipitation of room temperature processed cheese products was analyzed from the aspects of water distribution and microstructure. The results showed that there were significant differences in protein composition among the three protein materials. The whey protein content of concentrated milk protein was 7.81 percentage points higher than that of membrane filtration casein micelles, while rennet casein did not contain whey protein. In terms of hydration, concentrated milk protein and membrane filtered casein micelles were similar and significantly higher than rennet casein. Protein raw materials significantly affected the water precipitation of room temperature processed cheese products. When stored for 90 d, the water precipitation rate of room temperature processed cheese products prepared from rennet casein was the highest, while that of room temperature processed cheese products prepared from concentrated milk protein was the lowest, and its surface water precipitation rate and centrifugal water precipitation rate were 0.42% and 1.10%, respectively. The results of water distribution and microstructure showed that the protein raw material affected the water precipitation of room temperature processed cheese products by affecting the existing state and three-dimensional network spatial structure of water in processed cheese. The effect and mechanism of different protein raw materials on the water precipitation of room temperature processed cheese products was analyzed, which provided a theoretical basis for improving the water precipitation of room temperature processed cheese products.

Key words: concentrated milk protein; rennet casein; membrane filtration casein micelles; water distribution; microstructure

0 引言

再制干酪制品是混合一种或多种天然干酪、乳化石以及其他物质,通过加热、搅拌和乳化制成的一种均质干酪产品^[1],其保质期较短,需要冷链运输。常温再制干酪制品是经超高温瞬时灭菌(Ultra-high temperature treated, UHT)处理的灭菌型干酪,通过超高温灭菌可有效延长再制干酪的货架期,使干酪在常温下可长时间贮藏,方便携带,受到众多消费者的喜爱,成为我国乳品工业的新热点。但由于常温再制干酪制品在制作时需经历 UHT 二次热处理工艺,使得其在熔融乳化过程中已形成的结构重排,发生凝胶结构重构导致失稳,且常温贮藏受到环境温度的影响容易出现析水等质构问题,从而影响常温再制干酪制品的品质。

再制干酪制品的配方是影响产品结构的基础。文献[2]中规定,再制干酪制品中天然干酪的质量分数为 15%~50%,为了提高再制干酪制品中的蛋白质含量,需额外加入一些蛋白原料,我国的再制干酪制品中常添加的蛋白原料为浓缩乳粉、乳蛋白粉等,而乳蛋白粉来源主要包括凝乳酶酪蛋白、膜过滤酪蛋白胶束和浓缩牛奶蛋白等,它们在蛋白质含量、组成和结构上存在显著差异。天然干酪中的蛋白通常是凝乳酶酪蛋白,它是酪蛋白在酶诱导作用下交联形成网状结构的一种蛋白质,凝乳酶通过特异性地水解 κ -酪蛋白肽链的 Phe105 和 Met106 之间的肽键,释放含亲水 C 端的酪蛋白巨肽,改变了酪蛋白的结构,降低了胶束的稳定性^[3],其中不含乳清蛋白,仅由酪蛋白组成。膜过滤酪蛋白胶束是用物理

方法将牛奶通过一定大小的滤膜过滤得到的酪蛋白,与酶凝法制备的酪蛋白相比,膜过滤酪蛋白保留了酪蛋白的天然胶束结构。膜过滤酪蛋白胶束的主要成分包括酪蛋白胶束、乳清蛋白、乳糖、盐和小分子物质,酪蛋白(占蛋白质)的质量分数在 82%~99% 之间变化^[4]。浓缩牛奶蛋白是牛奶中酪蛋白和乳清蛋白的浓缩物,既含有酪蛋白,又含有乳清蛋白,且乳清蛋白含量较高。

前人研究显示,蛋白种类对再制干酪的质构特性影响显著,文献[5]证明增加凝乳酶酪蛋白含量会增加再制干酪样品的硬度,文献[6]的研究表明,再制干酪样品的质构非常依赖于乳清蛋白的存在,再制干酪加工过程中乳清蛋白发生变性,变性的乳清蛋白,特别是 β -乳球蛋白能够与酪蛋白相互作用,形成强大的凝胶网络结构,从而形成坚固的再制干酪。然而,关于不同的蛋白原料对常温再制干酪制品析水及质构特性的影响还未见报道。

本文分析 3 种常用于再制干酪中的蛋白原料:膜过滤酪蛋白胶束、浓缩牛奶蛋白、凝乳酶酪蛋白的蛋白质含量及组成以及粒径、水合性等理化特性,进而分析这 3 种不同的蛋白原料对常温再制干酪制品析水性和质构特性的影响规律,并从水分分布和微观结构层面解析蛋白原料对常温再制干酪制品析水性的影响机制,以期对常温再制干酪制品品质改善提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

膜过滤酪蛋白胶束(酪蛋白占总蛋白的质量分

数大于90%);浓缩牛奶蛋白(蛋白质质量分数84%以上);凝乳酶酪蛋白(蛋白质质量分数80%以上);塔图拉澳大利亚天然奶油奶酪,塔图拉牛奶实业公司;盐酸、硫酸、硼酸、氢氧化钠、尿素、硫酸铜、硫酸钾,均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;固绿(Fast Green FCF)、卡尔科弗卢尔荧光增白剂(Calcofluor White Stain)、尼罗红(Nile Red),美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 仪器与设备

HYP308型消化炉,上海纤检仪器有限公司;K9840型凯氏定氮仪,山东海能科学仪器有限公司;INFINITE 200 PRO型酶标仪,澳大利亚Tecan公司;DYY-8C型电泳仪,北京六一仪器厂;GBoxF3型凝胶成像仪, Syngene 公司;ZETASIZER NANO ZS型纳米粒度电位仪,马尔文帕纳科公司;ICP-OES730型等离子体光谱仪,美国安捷伦科技公司;UM/SK5型熔融锅,德国Stephan公司;VL-220R型离心机,湖南迈克实验仪器有限公司;低场核磁共振成像分析仪,苏州纽迈分析仪器股份有限公司;LSM 900型激光共聚焦扫描电子显微镜,德国蔡司公司;TMS-Touch型食品物性分析仪,美国FTC公司。

1.3 方法

1.3.1 3种蛋白原理想化特性分析

1.3.1.1 蛋白质含量

参照GB 5009.5—2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》^[7]中的凯氏定氮法测定干酪中的总氮(TN)含量。

称取固体试样0.2~2 g,精确至0.001 g至消化管中,再加入0.2 g硫酸铜、3 g硫酸钾及10 mL硫酸于消化炉进行消化。当消化炉温度达到400℃之后,继续消化1 h,此时消化管中的液体呈绿色透明状,取出冷却后于凯氏定氮仪(使用前加入蒸馏水、氢氧化钠溶液和硼酸溶液)上实现自动加液、蒸馏的过程。然后用含有混合指示剂A或B的盐酸溶液进行滴定,记录滴定数据。同时做试剂空白试验。

乳产品中的氮折算成蛋白质的折算系数为6.38。

1.3.1.2 蛋白质组成

用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)测定不同蛋白原料的蛋白组成。首先将样品溶解于5 mL 6.6 mol/L的尿素溶液中,然后将样品溶液在12 000 g条件下离心15 min。采用BCA蛋白测定法测定上清液的蛋白浓度并调整至相同浓度,电泳条件为:分离胶和浓缩胶分别为质量分数12%和质量分数5%的丙烯酰胺,浓缩胶电压80 V,分离胶电压120 V,凝胶用0.005 g/mL的考

马斯亮蓝R-250染色,利用凝胶成像仪成像,观察蛋白条带^[8]。

用Image J软件计算条带灰度,分别得到蛋白原料中酪蛋白和乳清蛋白的占比,用1.3.1.1节中得到的总蛋白质含量和蛋白原料中酪蛋白/乳清蛋白占比的乘积表示蛋白原料中酪蛋白/乳清蛋白的含量。

1.3.1.3 粒径、电位

将蛋白原料水合12 h后在25℃下用纳米粒度电位仪测定样品体系的粒径,每个样品设置3个平行,每个平行进行3次测定。

在25℃下用纳米粒度电位仪测定水合12 h后的蛋白原料溶液的电位,测定前对样品进行稀释,防止多重散射效应,折光指数设置为1.33,每个样品设置3个平行,每个平行测定3次^[9]。

1.3.1.4 水合性

用超速离心机对蛋白原料溶液进行超速离心,将蛋白原料装于配套的离心管中,用分析天平配平,保证每个样品的质量差在0.001 g内,离心力设定为100 000 g,时间为1 h,温度为25℃。离心结束后,收集底部凝块。

水合性的测定参照文献^[10]并改进,将超速离心得到的凝块进行冷冻干燥48 h,称量超速离心后得到的沉淀和离心管的质量,冻干后沉淀和离心管的质量以及沉淀的干质量,水合性指数计算公式为

$$S = \frac{z_1 - z_2}{z_3}$$

式中 S——水合性指数,g/g

z_1 ——超速离心后得到的沉淀和离心管质量

z_2 ——冻干后沉淀和离心管质量

z_3 ——沉淀干质量

1.3.1.5 钙离子分布

采用等离子光谱仪测定并计算不同蛋白原料中游离钙和结合钙的含量从而确定其钙分布状况。

总钙含量的测定:首先对蛋白原料进行消解处理,样品消解的方法参考GB 5009.268—2016中的湿式消解法,样品消解完成后用纯水定容至50 mL,使用等离子光谱仪对稀释液进行钙离子含量检测,具体的参数设置为:发射功率为1.0 kW,载气为氩气,等离子气体流量为15 L/min,辅助气流量为1.5 L/min,雾化器流量为0.75 L/min,检测模式为轴向观测。

游离钙含量的测定:首先称取2.0 g左右的蛋白原料置于50 mL离心管中,用超纯水定容至40 mL,使用机械搅拌器以转速12 000 r/min均质3 min,待蛋白原料全部溶解后以4 200 g的离心力

离心 20 min,采用定量滤纸对上清液进行过滤,然后用 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤器再次过滤。过滤完的液体样品同总钙含量测定步骤进行消解处理,最后测定钙离子含量^[11]。

结合钙含量:蛋白原料中总钙含量减去游离钙含量。

1.3.2 不同蛋白原料的常温再制干酪制品的制备

常温再制干酪制品制备的具体步骤为:首先将蛋白粉($4 \pm 0.5\%$)、多糖($1.5 \pm 0.1\%$)、奶油奶酪($25 \pm 1\%$)和黄油($3 \pm 0.5\%$)加入熔融锅,升温至(45 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,设置刀速 750 r/min 运行 2 min,使物料斩拌混合;混匀后加入乳化盐($1 \pm 0.1\%$)和水,同时升温至(75 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,设置刀速 1 200 r/min 运行 2 min,使物料乳化均匀;直接蒸汽加热至(90 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,调酸,1 200 r/min 搅拌 30 s,暂存后进行 UHT 灭菌,杀菌温度控制在(140 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,真空乳化脱气后罐装,冷却后包装。

在配方中使用不同种类的蛋白原料(即膜过滤酪蛋白胶束、浓缩牛奶蛋白和凝乳酶酪蛋白)来制备常温再制干酪制品,保持蛋白原料的添加量恒定,其余配料(如奶油奶酪、黄油、多糖和乳化盐等)的添加量也保持不变,制作工艺如上所述。体系干物质质量分数控制在(42 ± 1)%,脂肪质量分数控制在(13 ± 1)%,蛋白质质量分数控制在(8 ± 1)%,pH 值控制在 5.5 ± 0.1 。

1.3.3 不同蛋白原料对常温再制干酪制品品质的影响

1.3.3.1 蛋白质含量

测试方法同 1.3.1.1 节。

1.3.3.2 蛋白质组成

测试方法同 1.3.1.2 节。

1.3.3.3 析水性

参考文献[12]的方法并进行改进。贮藏 90 d 时测 3 种常温再制干酪制品的析水率。取 20 g 再制干酪制品,用滤纸吸干表面水分,用此质量除以样品的质量,以此百分比表示表面乳清析出率。再将干酪在 20°C 下 3 000 r/min 离心 30 min,收集下层乳清,以每 100 g 干酪所析出的乳清质量表示离心乳清析出率。样品总析水率用表面乳清析出率和离心乳清析出率之和表示。

1.3.3.4 质构特性

取贮藏的奶酪样品,测试前将样品切割成 $5\text{ mm} \times 5\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 的小块。选用圆柱形探头 P/25 在室温(25°C)下进行质地剖面分析(TPA)实验,运用二次下压法,检测样品的硬度、弹性及咀嚼性等。测试前探头下降速度 5 mm/s,测试时探头运动速率

1 mm/s,测试后探头返程速度 5 mm/s,测试力为 5 g,2 次轴向压缩的压缩比为 50%^[13]。所有样品测 6 次平行,取平均值。

1.3.3.5 水分分布

采用低场核磁共振技术(LF-NMR)测定干酪样品的自旋-自旋弛豫时间(T_2)从而计算干酪样品中不同状态的含水率。测试时,先称取 3.0 g 左右的干酪样品,将切分好的干酪样品用保鲜膜进行均匀包裹,之后将待测样品放入检测管之中进行 CPMG(90° 脉冲之后,经过时间 t 的散相之后,再加上 180° 的重聚脉冲)序列测定。序列的具体参数设置为:采样频率为 200 kHz,主频为 20 MHz,等待时间为 1 200 ms,累加次数为 8,回波时间为 0.1 ms,总回波个数为 8 000,重复扫描次数为 4。测试结束后利用反演软件调用 CPMG 序列进行反演得到各样品的 T_2 分布图谱^[11]。

1.3.3.6 微观结构

参考文献[14]的方法并进行改进。采用蔡司激光共聚焦扫描显微镜(CLSM)对干酪样品进行微观结构的观察。首先将干酪样品切分为厚度小于 1 mm 的薄片,置于玻璃显微镜载玻片上,用胶头滴管吸取 1.0 g/L 的快绿染液滴至样品薄片,在暗盒中染色 10 min 后,用纯水从样品一角缓缓冲洗 3 遍以洗净染料。再吸取 0.01 g/L 卡尔科弗卢尔荧光增白剂至样品薄片,在暗盒中染色 10 min 后洗净。最后吸取 0.2 g/L 的尼罗红染液滴至样品薄片,继续在暗盒染色 8 min,然后用纯水从样品一角缓缓冲洗 3 遍以洗净染料。清洗结束后盖上盖玻片,倒置于显微镜载物台上,选取合适的放大倍数观察,尼罗红、快绿、卡尔科弗卢尔荧光增白剂的激发波长分别为 543、633、405 nm,调整至视野清晰后采集图像。

1.4 数据分析

实验数据用 Excel 和 IBM SPSS Statistics 进行统计分析,均采用平均值 $\pm$ 标准差来表示($n=3$),用 Origin 绘图。

2 结果与分析

2.1 3 种蛋白原料理化特性

2.1.1 蛋白质含量及组成

3 种蛋白原料的蛋白质含量(质量比)如表 1 所示,结果显示,膜过滤酪蛋白胶束的总蛋白含量为(81.38 ± 0.72) g/(100g),浓缩牛奶蛋白的总蛋白含量为(84.79 ± 0.30) g/(100g),凝乳酶酪蛋白的总蛋白含量为(84.35 ± 1.63) g/(100g),其中,膜过滤酪蛋白胶束的蛋白含量显著低于其

他两种蛋白原料的蛋白含量。由表 1 可计算出, 浓缩牛奶蛋白的乳清蛋白占总蛋白质量分数比膜过滤酪蛋白胶束高 7.81 个百分点。蛋白质含量可以影响再制干酪的网络结构, 若蛋白质含量过

低, 则形成的蛋白网络较弱, 结构易被破坏, 导致内部水分容易析出^[15]。若蛋白质含量过高, 则形成的网络较为紧密, 蛋白间的相互作用增强, 蛋白与水之间的结合减弱。

表 1 3 种蛋白原料的总蛋白、乳清蛋白和酪蛋白含量
Tab.1 Total protein, whey protein and casein content of three protein raw materials g/(100g)

蛋白原料	总蛋白含量	乳清蛋白含量	酪蛋白含量
膜过滤酪蛋白胶束	(81.38 ± 0.72) ^b	7.89 ± 0.52	(73.49 ± 0.52) ^{ab}
浓缩牛奶蛋白	(84.79 ± 0.30) ^a	14.85 ± 0.22	(69.94 ± 0.22) ^b
凝乳酶酪蛋白	(84.35 ± 1.63) ^a		(80.58 ± 6.20) ^a

注: 同列数据后不同字母表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$), 下同。

3 种蛋白原料的蛋白组成如图 1 所示, 图中 1 为膜过滤酪蛋白胶束, 2 为浓缩牛奶蛋白, 3 为凝乳酶酪蛋白, 不同蛋白原料的蛋白组成不同, 各组分的含量也略有差异。其中, 膜过滤酪蛋白胶束和浓缩牛奶蛋白组成相似, 但膜过滤酪蛋白胶束的酪蛋白含量较高, 乳清蛋白含量较低, 浓缩牛奶蛋白的酪蛋白含量相对较低, 乳清蛋白含量相对较高。凝乳酶酪蛋白的总酪蛋白含量较高, β -酪蛋白部分降解, 产生了 γ -酪蛋白, 不含乳清蛋白。酪蛋白作为再制干酪的结构基底, 若含量过低, 分子之间不能很好地聚集, 则制成的干酪松软易碎, 导致析水增加^[15], 酪蛋白含量过高则制成的干酪硬度增加。而乳清蛋白具有较好的水结合能力, 适量的乳清蛋白可以加强水分子和蛋白之间的相互作用, 从而减少再制干酪的析水率, 过量的乳清蛋白可能会导致再制干酪形成的三维网络结构较弱, 从而不利于维持稳定^[16]。

如表 2 所示, 膜过滤酪蛋白胶束的粒径为 $(290.40 \pm 4.68) \text{ nm}$, 电位 $(-24.47 \pm 1.09) \text{ mV}$, 浓缩牛奶蛋白的粒径为 $(261.49 \pm 5.24) \text{ nm}$, 电位 $(-25.77 \pm 0.31) \text{ mV}$ 。膜过滤酪蛋白胶束的粒径大于浓缩牛奶蛋白的粒径, 浓缩牛奶蛋白的电位绝对值略高, 说明浓缩牛奶蛋白的稳定性要高于膜过滤酪蛋白胶束。由于凝乳酶酪蛋白水溶性较差且不稳定, 故未能检测出其粒径和电位。

表 2 3 种蛋白原料粒径、电位及水合性指数
Tab.2 Particle size, potential, and hydration of three protein raw materials

蛋白原料	粒径/nm	电位/mV	水合性指数/ (g·g ⁻¹)
膜过滤酪蛋白胶束	290.40 ± 4.68	-24.47 ± 1.09	(1.99 ± 0.11) ^a
浓缩牛奶蛋白	261.49 ± 5.24	-25.77 ± 0.31	(1.99 ± 0.11) ^a
凝乳酶酪蛋白			(1.04 ± 0.04) ^b

水合性结果如表 2 所示, 膜过滤酪蛋白胶束水合性指数为 $(1.99 \pm 0.11) \text{ g/g}$, 浓缩牛奶蛋白的水合性指数为 $(1.99 \pm 0.11) \text{ g/g}$, 凝乳酶酪蛋白的水合性指数为 $(1.04 \pm 0.04) \text{ g/g}$ 。水合性指数的大小与最终所得到的再制干酪制品的保水性有着直接的关系, 同时, 水合性指数的大小可以表示蛋白内部疏水氨基酸的含量, 水合性指数小则酪蛋白胶束内部疏水氨基酸含量高, 蛋白分子间易聚集, 不利于其稳定性。膜过滤酪蛋白胶束和浓缩牛奶蛋白的水合性显著高, 说明其在一定程度上具有较高的水结合能力, 可能与其结构完整未被破坏等有关。而凝乳酶酪蛋白的水合性较低, 可能是由于其凝乳导致的毛发层缺失, 从而不利于持水^[9]。而由 2.1.1 节的结果可知, 凝乳酶酪蛋白中疏水性强的 α -酪蛋白和 β -酪蛋白所占的比例大, 这可能是其低水合性的原因之一, 这也导致了其不易完全溶解。

2.1.3 钙离子分布

3 种蛋白原料的结合钙和可溶性钙含量(质量

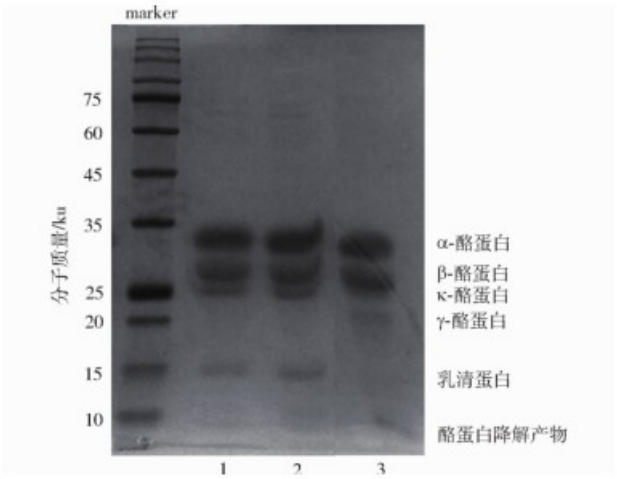


图 1 3 种蛋白原料的 SDS 凝胶电泳图

Fig.1 SDS gel electrophoresis of three protein materials

2.1.2 粒径、电位、水合性

粒径和电位在一定程度上反映蛋白粉的稳定性^[17]。粒径可以很好地反映蛋白颗粒的聚集程度, 颗粒聚集时粒径变大。电位可以反映蛋白颗粒的表面电荷^[18], 电位绝对值越大表示蛋白颗粒越稳定。

比)如图2所示。3种蛋白原料中的钙均以结合钙为主,其中膜过滤酪蛋白胶束中的结合钙含量为 $(26\ 958.51 \pm 92.45)$ mg/kg,占总钙含量的99.60%;浓缩牛奶蛋白中的结合钙含量为 $(24\ 408.96 \pm 62.69)$ mg/kg,占99.30%,可溶性钙含量较高;凝乳酶酪蛋白中的结合钙含量为 $(27\ 502.77 \pm 126.03)$ mg/kg,占比高达99.86%,可溶性钙含量显著低。

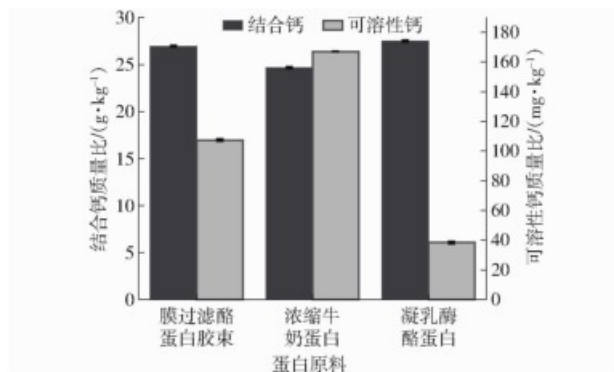


图2 3种蛋白原料钙离子分布图

Fig. 2 Distribution of calcium ions in three protein raw materials

再制干酪中的钙主要以结合钙和可溶性钙两种形式存在,在稳定酪蛋白胶束结构方面起着关键作用。在再制干酪制作过程中,乳化盐置换钙离子会导致酪蛋白部分从胶束中解离并释放到血清相中,随着结合钙含量增加,游离钙离子浓度逐渐降低,从而增加了酪蛋白胶束的负电荷和静电斥力,最终导致酪蛋白胶束更加水化和膨胀,蛋白质网络结构逐渐形成,其硬度、弹性增加^[19]。凝乳酶酪蛋白中大部分的酪蛋白分子通过胶态结合钙相互连接,形成网络结构^[11]。结合钙和可溶钙占比影响蛋白原料中的钙分布,从而可能影响再制干酪的网络结构。

2.2 3种蛋白原料对常温再制干酪制品品质的影响

2.2.1 蛋白质含量及组成

3种蛋白原料制成的常温再制干酪制品如图3所示。由表3可知,3种蛋白原料制成的常温再制干酪制品总蛋白和酪蛋白含量均无显著性差异,其中,由凝乳酶酪蛋白制成的干酪乳清蛋白含量显著高,由膜过滤酪蛋白胶束制成的干酪乳清蛋白含量显著低,而浓缩牛奶蛋白制成的干酪乳清蛋白含量

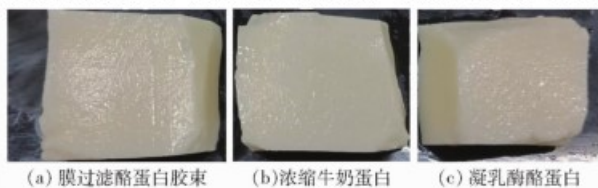


图3 3种蛋白原料制成的常温再制干酪制品图

Fig. 3 Room temperature processed cheese products made from three kinds of protein raw materials

适中。由图4知,3种干酪制品蛋白组成相差不大,由浓缩牛奶蛋白制成的干酪β-乳球蛋白含量相对较高,由凝乳酶酪蛋白制成的干酪β-酪蛋白含量较低,α-乳白蛋白含量较高。

表3 3种常温再制干酪制品总蛋白、乳清蛋白和酪蛋白含量

Tab. 3 Total protein, whey protein and casein content of three kinds of room temperature processed cheese products

常温再制干酪制品	g/(100 g)		
	总蛋白含量	乳清蛋白含量	酪蛋白含量
膜过滤酪蛋白胶束	7.28 ± 0.06	(0.80 ± 0.03) ^c	6.48 ± 0.03
浓缩牛奶蛋白	7.37 ± 0.21	(0.92 ± 0.04) ^b	6.45 ± 0.04
凝乳酶酪蛋白	7.57 ± 0.15	(1.04 ± 0.04) ^a	6.53 ± 0.04

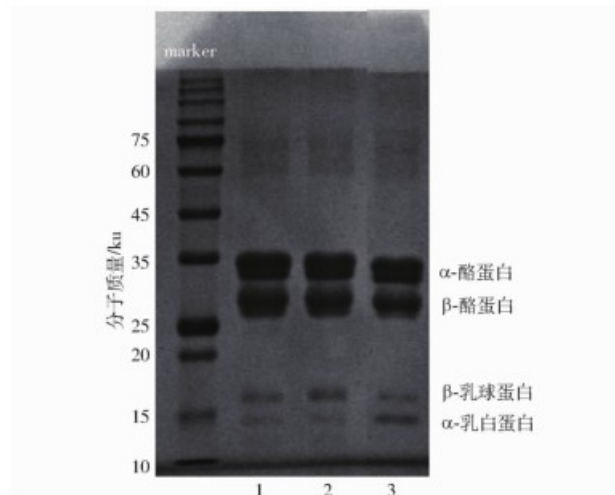


图4 3种常温再制干酪制品的SDS凝胶电泳图

Fig. 4 SDS gel electrophoresis of three kinds of room temperature processed cheese products

酪蛋白和乳清蛋白具有不同性质,酪蛋白对于再制干酪的乳化作用及结构的支撑起着重要作用,而乳清蛋白中的β-乳球蛋白的一级结构中存在能够自由反应的巯基,它具有通过二硫键交联其它β-乳球蛋白以及κ-酪蛋白分子的能力,能够更好地与酪蛋白结合,因此当乳清蛋白在蛋白原料中的比例增加时,可以使干酪制品具有更强的凝聚力,形成强大的凝胶网络^[6,20]。然而,过高的乳清蛋白可能会干扰主要由酪蛋白产生的蛋白质基质,降低干酪制品中的蛋白质含量,从而导致干酪制品硬度降低,质构变差^[21]。

2.2.2 析水性

实验测定了3种常温再制干酪制品的表面析水率、离心析水率和总析水率,表面析水率表征样品外表析出的水分含量。离心析水率表征样品受到一定作用力后析出的水分含量,可以反映样品贮藏过程中析水的概率。总析水率为表面析水率和离心析水

率之和,可以反映奶酪在贮藏过程中整体水分析出情况。析水率越小表明样品持水力越高,对水的束缚力越强,可以结合更多的水分子,稳定性越好^[12]。析水率越大表明样品持水能力越弱,稳定性也就越差^[22]。

析水性结果见表4,结果显示,3种常温再制干酪制品的表面析水率无显著性差异。由凝乳酶酪蛋白制成的干酪的离心析水率最高,可能与其蛋白原料的蛋白构成有关,凝乳酶酪蛋白以糖巨肽的形式失去了 κ -酪蛋白的亲水性C末端,因此亲水性较低,蛋白网络和水结合较弱,所以总析水率较高。而浓缩牛奶蛋白制成的干酪的离心析水率较低,总析水率最低,说明由浓缩牛奶蛋白制成的干酪制品的蛋白网络能够很好地锁住水分,持水能力较好,有研究表明持水力的增加与凝胶结构增强、孔隙变小有关^[23]。

表4 3种常温再制干酪制品的表面析水率、离心析水率和总析水率

Tab.4 Surface water precipitation rate, centrifugal water precipitation rate and total water precipitation rate of three kinds of room temperature processed cheese products

常温再制干酪制品	表面析水率	离心析水率	总析水率/%
膜过滤酪蛋白胶束	0.52 ± 0.04	$(1.39 \pm 0.05)^{ab}$	$(1.91 \pm 0.09)^a$
浓缩牛奶蛋白	0.42 ± 0.05	$(1.10 \pm 0.15)^b$	$(1.52 \pm 0.11)^b$
凝乳酶酪蛋白	0.49 ± 0.15	$(1.45 \pm 0.15)^a$	$(1.94 \pm 0.08)^a$

2.2.3 质构特性

3种常温再制干酪制品的硬度、弹性、咀嚼性如表5所示,硬度是食品质构最基本的元素之一,直接影响消费者对产品的喜好度。由凝乳酶酪蛋白制得的干酪的硬度最高,其次是浓缩牛奶蛋白制得的干酪。在生产制作再制干酪产品时,最常用的乳蛋白是钙含量较高的凝乳酶酪蛋白,其含有大量完整的酪蛋白,它的加入可以强化干酪凝胶中的酪蛋白网络结构,赋予再制干酪产品高度的硬度、弹性等,随酪蛋白含量增加,再制干酪的硬度增加^[24]。这是由于再制干酪在生产过程中,酪蛋白含量越高,与乳化盐中钠离子的交换越多,酪蛋白的水合性越强,形成的新体系的乳化稳定性越强,从而导致生产的再制干酪越硬。其次,水分析出也会导致再制干酪变硬。当使用较多的乳清蛋白取代酪蛋白时,再制干酪的硬度会降低,这可能是由于乳清蛋白结构松散,不易形成硬质空间结构所致^[25]。

弹性是样品形变后恢复其原有形态的能力^[26],

凝乳酶酪蛋白制得的奶酪弹性指数显著高于其他奶酪。咀嚼性指数反映将样品咀嚼至吞食状态的次数、所做的功及时间,大小为硬度、凝聚性和弹性的乘积,因此硬度在一定程度上决定了咀嚼性的变化^[27-28]。由凝乳酶酪蛋白制得的奶酪的咀嚼性显著高于其他。咀嚼性随酪蛋白含量增加而显著增加,这是因为酪蛋白结构稳定,热稳定性强,受到质构仪探头压迫后不易破碎。而含有乳清蛋白的奶酪,在高温杀菌后原有蛋白质结构被破坏,在探头压迫后易破碎,使咀嚼性下降^[21]。

表5 3种常温再制干酪制品的硬度、弹性和咀嚼性

Tab.5 Hardness, elasticity and chewiness of three kinds of room temperature processed cheeses products

常温再制干酪制品	硬度/N	弹性指数/mm	咀嚼性指数/mJ
膜过滤酪蛋白胶束	$(7.64 \pm 0.25)^b$	$(0.98 \pm 0.05)^b$	$(2.01 \pm 0.05)^b$
浓缩牛奶蛋白	$(9.79 \pm 1.05)^a$	$(0.98 \pm 0.13)^b$	$(3.01 \pm 0.71)^b$
凝乳酶酪蛋白	$(11.33 \pm 0.28)^a$	$(1.67 \pm 0.09)^a$	$(5.70 \pm 0.57)^a$

2.2.4 水分分布

采用低场核磁共振技术探究干酪制品体系中的水分分布情况,弛豫时间 T_2 能够反映样品内部不同性质水分的含量^[18],结果如图5所示。在 T_2 谱中观察到3个峰,第1个峰(T_{21})表示与蛋白质紧密结合的水,弛豫时间低于10 ms,是流动性最差的结合水;第2个峰(T_{22}) 在10~400 ms范围内,反映了与蛋白质弱结合的水分子,称为不易流动水;第3个峰(T_{23})弛豫时间最长,大于400 ms,表示蛋白质网络的血清通道中分布的水分子,称为自由水,具有水的自由流动性^[29]。

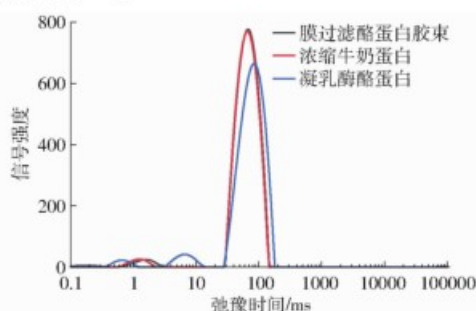


图5 3种常温再制干酪制品水分分布图

Fig.5 Water distribution of three kinds of room temperature processed cheeses products

此外,弛豫时间 T_2 曲线与x轴所包围的面积也能够反映含水率,即包围的面积越大,相对应的含水率就越大。不同干酪制品对应各个时间段的峰面积占比不同,具体见表6。可以看出, T_{22} 在水分分布中占最主要的比例,而其他几个弛豫时间的组分只占

很少一部分比例,说明再制干酪制品中水分主要是与蛋白弱结合的不易流动水。不同样品中的水分分布情况不同,其中,浓缩牛奶蛋白制得的干酪的自由水含水率相对较高,其次是膜过滤酪蛋白胶束制得的干酪,而凝乳酶酪蛋白制得的干酪中没有检测到自由水。浓缩牛奶蛋白制得的干酪的不易流动水含水率较高,其次是膜过滤酪蛋白胶束制得的干酪,凝乳酶酪蛋白制得的干酪中的不易流动水含水率显著低,这可能是由于其中亲水性化合物的数量较少所致^[29]。凝乳酶酪蛋白制得的干酪中的结合水含水率显著高,其次是膜过滤酪蛋白胶束干酪,而浓缩牛奶蛋白干酪中的结合水含水率显著低。

表 6 3 种常温再制干酪制品中各水分占比

Tab.6 Proportion of each moisture in three kinds of room temperature processed cheese products %

常温再制干酪制品	结合水	不易流动水	自由水
膜过滤酪蛋白胶束	$(3.43 \pm 0.42)^b$	$(96.42 \pm 0.40)^a$	0.15 ± 0.02
浓缩牛奶蛋白	$(2.75 \pm 0.02)^c$	$(96.99 \pm 0.09)^a$	0.26 ± 0.10
凝乳酶酪蛋白	$(6.67 \pm 0.03)^a$	$(93.33 \pm 0.03)^b$	

结合水与蛋白结合得最牢固,是最不容易析出的水。自由水是干酪制品内部流动性最大的一部分水,

自由水含水率越多,在一定程度上说明水分从再制干酪中析出的可能性越大。不易流动水含水率越多,表明在蛋白质基质中与蛋白弱结合的水含水率越多,这部分水的流动性相对较差,不易析出^[30],若析出则说明蛋白网络没能很好地锁住这些水分,上述析水性结果中由凝乳酶酪蛋白制得的干酪的离心析水率高,说明其三维网络锁水性较差。再制干酪中的水分分布可能在很大程度上与蛋白质有关,更开放、更松散的蛋白质网络可能具有更强的水结合能力^[31]。

2.2.5 微观结构

激光共聚焦扫描电子显微镜可针对奶酪结构中的不同成分进行荧光标记以分析奶酪中的蛋白质、脂肪和多糖之间的相互作用和相对位置,CLSM 图像可提供有关水和溶质在整个样品中的分布及其与结构成分(如蛋白质和脂肪)相互作用的信息。奶酪的微观结构是蛋白质(主要是酪蛋白胶束)的空间排列,它们结合在一起形成团和链,形成粘弹性蛋白质网络,水分、脂肪球、矿物质和微生物等分散在其中。微观结构中脂肪和蛋白质之间的关联会直接影响奶酪的结构状况,从而对奶酪的物理化学和功能特性(质地和析水性等)以及质量产生显著影响^[32]。

如图 6 所示,蛋白质和多糖形成一个连续的网络,脂肪填充在其中。结果发现,由膜过滤酪蛋白胶

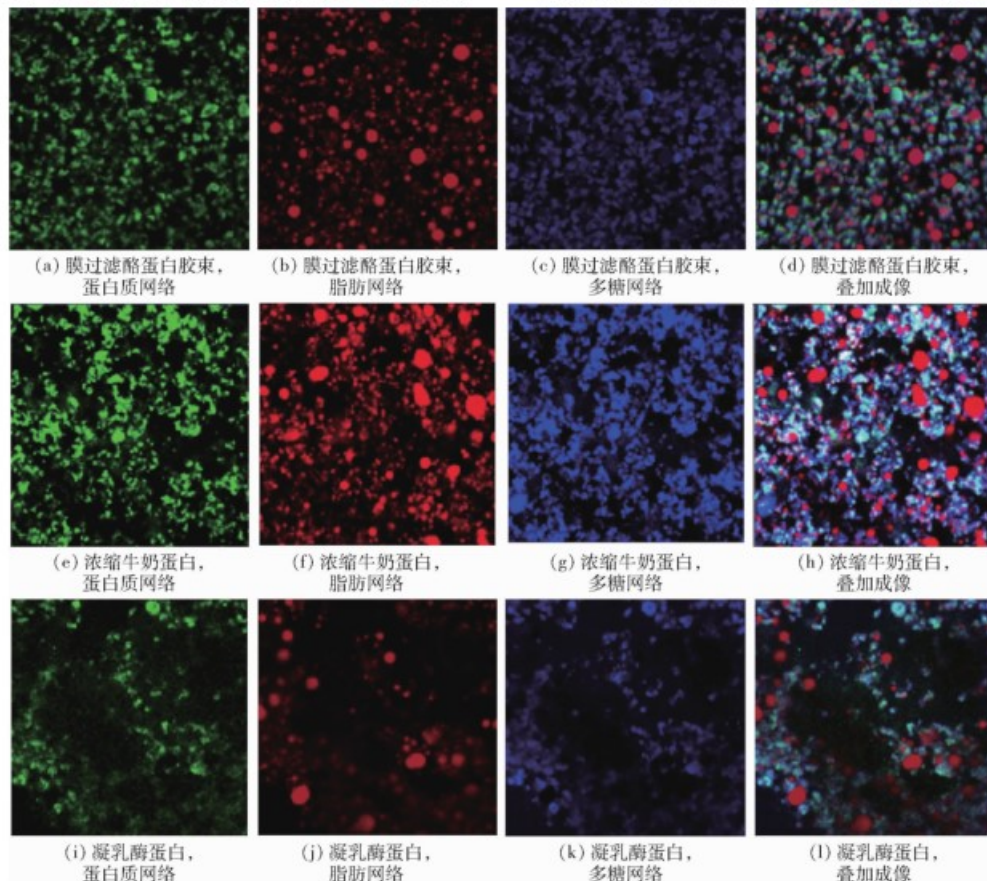


图 6 3 种常温再制干酪制品微观结构

Fig.6 Microstructure of three kinds of room temperature processed cheese products

束制得的干酪制品的蛋白、多糖网络较致密,这可能是由于蛋白质的降解和水合、蛋白之间的静电排斥以及钙介导的交联链的减少导致的^[30],致密的三维网络可能会导致水分更易析出。由浓缩牛奶蛋白制得的干酪制品的蛋白和多糖网络相对疏松,可能是由于乳清蛋白经热处理后疏水结构展开,具有一个更开放的二级结构所致^[33],这与析水性以及水分分布的结果相一致,更开放、更松散的蛋白质网络具有更强的水结合能力。而由凝乳酶酪蛋白制得的干酪制品的三维网络结构较差,网络中存在较大孔洞,可能与凝乳酶酪蛋白溶水性较差导致其结构不均匀等有关,大的孔洞导致蛋白和水的结合变弱,水分更易析出。

3 结论

(1)3种蛋白原料的蛋白质含量和组成存在显著差异,浓缩牛奶蛋白的乳清蛋白占总蛋白质量分数比膜过滤酪蛋白胶束高7.81个百分点,酪蛋白含量较低,而凝乳酶酪蛋白中不含乳清蛋白。浓缩牛奶蛋白和膜过滤酪蛋白胶束有较高的水结合能力,而凝乳酶酪蛋白因缺失亲水性的 κ -酪蛋白毛发层,故而水合性较低。

(2)蛋白原料显著影响常温再制干酪制品的析

水性和结构。3种蛋白原料制成的常温再制干酪制品的总蛋白和酪蛋白含量均无显著性差异,其中,由凝乳酶酪蛋白制成的干酪的乳清蛋白含量显著高,由膜过滤酪蛋白胶束制得的干酪的乳清蛋白含量显著低,而浓缩牛奶蛋白制得的干酪的乳清蛋白含量适中。贮藏90 d时,由凝乳酶酪蛋白制得的干酪的析水性最高,主要是离心析水导致的;其三维网络中存在较大孔洞,说明其大部分水分都没能很好地被网络锁住。由膜过滤酪蛋白胶束制得的干酪的析水性较高,其表面析水率和离心析水率均偏高,说明其部分水分存在于乳清通道中;三维网络较致密,与蛋白质弱结合的水分结合得不够牢固,水分易析出。而由浓缩牛奶蛋白制得的干酪的离心析水率较低,总析水率最低,不易流动水含量较高,说明其大部分水分都能与蛋白质牢固结合,持水性较好;三维网络相对疏松,在货架期内能维持良好的结构稳定性。

(3)浓缩牛奶蛋白是一种优质的蛋白原料,较高的乳清蛋白含量、较低的酪蛋白含量的蛋白粉的水合性更高。由浓缩牛奶蛋白制得的常温再制干酪制品的乳清蛋白含量适中,硬度适中,不易流动水含量较高,三维网络结构相对疏松,在货架期内能维持较好的结构,析水率最低。

参 考 文 献

- [1] ČERNÍKOVÁ M, NEBESÁŘOVÁ J, POPKOVÁ R, et al. The effect of rework content addition on the microstructure and viscoelastic properties of processed cheese[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(4): 2956–2962.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 再制干酪和干酪制品: GB 25192—2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
- [3] 罗洁, 任发政, 王紫薇, 等. 干酪质构与风味控制技术研究进展[J]. *农业机械学报*, 2016, 47(1): 190–201.
LUO Jie, REN Fazheng, WANG Ziwei, et al. Advances in control technology of cheese quality and texture[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2016, 47(1): 190–201. (in Chinese)
- [4] 闫清泉, 边燕飞, 赵中华, 等. 浓缩酪蛋白胶束成分的影响因素及其在奶酪生产中的应用[J]. *粮油食品科技*, 2023, 31(3): 106–111.
- [5] CHRISTOPHER N S, PETER E, STEPHANIE B. The combined effects of different fat replacers and rennet casein on the properties of reduced-fat processed cheese[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 103(5): 3980–3993.
- [6] SIEW K L, SKELTE G A. The effect of the pH at cooking on the properties of processed cheese spreads containing whey proteins[J]. *Food Chemistry*, 2009, 115(4): 1373–1380.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [8] FACCIA M, TRANI A, LOIZZO P, et al. Detection of α s1-I casein in Mozzarella fiordilatte: a possible tool to reveal the use of stored curd in cheesemaking[J]. *Food Control*, 2014, 42: 101–108.
- [9] 王芳. 卡拉胶对酪蛋白胶束结构及低脂干酪品质的影响机制[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
WANG Fang. Effect of carrageenan on the structure of casein micelle and the quality of low fat cheese and the mechanism[D]. Beijing: China Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [10] AHMAD S, GAUCHER I, ROUSSEAU F, et al. Effects of acidification on physicochemical characteristics of buffalo milk: a comparison with cow's milk[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(1): 11–17.
- [11] 沈建洋, 盛赵越, 郭梦圆, 等. 再制干酪拉伸性的调控机制[J]. *食品科学*, 2023, 44(16): 25–33.
SHEN Jianyang, SHENG Zhaoyue, GUO Mengyuan, et al. Regulation mechanism of processed cheese stretchability[J]. *Food Science*, 2023, 44(16): 25–33. (in Chinese)
- [12] 李向莹. 钙盐对羊乳蛋白热稳定性及功能特性的影响研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2020.

- LI Xiangying. Effect of calcium salt on thermal stability and functional properties of goat milk protein[D]. Ji'nan: Qilu University of Technology, 2020. (in Chinese)
- [13] 裴永丽, 林文珍, 邓亦秋, 等. 不同盐类对安佳再制干酪的品质特性影响[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(10): 23–26.
- [14] SMITH J R, HINDMARSH J P, CARR A J, et al. Molecular drivers of structural development in Mozzarella cheese[J]. Journal of Food Engineering, 2017, 214: 257–265.
- [15] 周颖喆. 热烫拉伸对马苏里拉奶酪理化及功能特性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- ZHOU Yingzhe. Effect of thermal and stretching treatments on physico-chemical and functional properties of Mozzarella cheese [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015. (in Chinese)
- [16] SOLOWIEJ B, GLIBOWSKI P, MUSZYNSKI S, et al. The effect of fat replacement by inulin on the physicochemical properties and microstructure of acid casein processed cheese analogues with added whey protein polymers [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 44: 1–11.
- [17] PRIMOZIC M, DUCHEK A, NICKERSON M, et al. Effect of lentil proteins isolate concentration on the formation, stability and rheological behavior of oil-in-water nanoemulsions[J]. Food Chemistry, 2017, 237: 65–74.
- [18] 米思杰. 蛋黄颗粒高内相乳液体系构建及其对食品基质的稳态调控的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2022.
- MI Sijie. Construction of egg yolk granules-stabilized high internal phase emulsion system and research on homeostatic regulation of food matrices[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [19] DESHWAL G K, GOMEZ-MASCARAQUE L G, FENELON M, et al. A review on the effect of calcium sequestering salts on casein micelles: from model milk protein systems to processed cheese[J]. Molecules, 2023, 28(5): 2085.
- [20] DHANRAJ P, JANA A, MODHA H, et al. Influence of using a blend of rennet casein and whey protein concentrate as protein source on the quality of Mozzarella cheese analogue[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54: 822–831.
- [21] 边燕飞, 闫清泉, 李志国, 等. 乳清蛋白与酪蛋白比例对 UHT 再制干酪品质的影响[J]. 食品工业, 2019, 40(7): 119–121.
- [22] 宁吉英, 顾丰颖, 高萍萍, 等. 蜡质玉米淀粉凝胶的冻融稳定性[J]. 中国农业科学, 2017, 50(8): 1514–1524.
- [23] PEREIRA R B, SINGH H, MUNRO P A, et al. Sensory and instrumental textural characteristics of acid milk gels[J]. International Dairy Journal, 2003, 13(8): 665–667.
- [24] 宗学醒, 闫清泉, 李志国, 等. 不同酪蛋白对块状再制干酪品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(12): 63–67.
- [25] 屈雪寅, 郑楠, 李松励, 等. 热处理对液态乳中乳清蛋白的影响研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 307–313.
- QU Xueyin, ZHENG Nan, LI Songli, et al. Effect of thermal treatment on whey proteins in liquid milk[J]. Food Science, 2017, 38(9): 307–313. (in Chinese)
- [26] 李玲玉. 拉伸型再制干酪配方及工艺优化[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2022.
- LI Lingyu. Formula and process optimization of stretching processed cheese [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [27] 张园园, 刘振民, 郑远荣, 等. 超高压处理对干酪质构的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(3): 47–50, 61.
- [28] 洪青. 配料组分对片状再制干酪品质的影响[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(1): 23–27.
- [29] KHANAL B K S, BHANDARI B, PRAKASH S, et al. Modifying textural and microstructural properties of low fat Cheddar cheese using sodium alginate[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 83: 97–108.
- [30] GUO M, SHENG Z, WANG P, et al. Effects of refrigerated storage on the functional properties of processed cheese analogue with stretchability and its mechanisms[J]. International Dairy Journal, 2023, 137: 105504.
- [31] FOX P F, GUINEE T P, COGAN T M, et al. Processed cheese and substitute/imitation cheese products[M] // Fundamentals of cheese science. Springer, Boston, MA, 2017: 589–627.
- [32] 朱盼盼. 常温奶酪加工技术研究及产品货架期稳定性评价[D]. 银川: 宁夏大学, 2022.
- ZHU Panpan. Processing technology and shelf life stability prediction of room temperature cheese [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2022. (in Chinese)
- [33] LI H, QIN A, YU H, et al. Effects of pre-emulsification with heat-treated whey protein on texture and microstructure of processed cheese[J]. LWT, 2020, 124: 109185.