doi: 10.6041/j.issn.1000-1298.2021.01.041

蛋白/蔗糖酯界面作用对冰淇淋脂肪球低温失稳的影响

程金菊[1]　颜廷胜[2]　DUDU O E[3]　张晶晶[1]　李艾黎[1]　于殿宇[1]

(1. 东北农业大学乳品科学教育部重点实验室，哈尔滨 150030；2. 东北农业大学生命学院，哈尔滨 150030；
3. 贝尔科技大学化学与食品科学学院，太田 P. M. B 1015)

摘要： 采用脱脂乳蛋白和大豆分离蛋白两种不同组成和结构的蛋白质构建冰淇淋乳液，通过分析蛋白质/蔗糖酯的红外光谱、脂肪球表面蛋白质吸附特性、zeta 电位、粒径以及搅打凝冻后乳液的微观结构，研究蔗糖酯质量分数对两种蛋白乳液体系脂肪球低温失稳的影响；在最佳蔗糖酯质量分数条件下，采用大豆分离蛋白对乳蛋白进行不同比例的替代，探究不同蛋白组成对脂肪球低温失稳作用及冰淇淋特性的影响。结果表明：蔗糖酯与乳蛋白和大豆分离蛋白在脂肪球表面的界面作用存在复合和竞争性吸附两种作用机制。当蔗糖酯质量分数增加至 0.3% 时，蔗糖酯与蛋白质的界面作用主要以竞争吸附为主，此时两种蛋白冰淇淋乳液体系中，蛋白质在脂肪球界面的吸附量显著降低，脂肪球部分聚结失稳程度较高。在蔗糖酯质量分数为 0.3% 和不同蛋白质组成条件下，当脱脂乳蛋白与大豆分离蛋白的蛋白比例为 7∶3 时，更有利于脂肪球的低温部分聚结失稳，此时冰淇淋具有较高的膨胀率和最佳的抗融性。

关键词： 冰淇淋；蔗糖酯；蛋白质组成；脂肪球失稳；界面作用

中图分类号： TS252.4　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 1000-1298(2021)01-0367-08　　**OSID：**

Effect of Protein and Sucrose Ester Interfacial Interaction on Destabilization of Fat Globules at Low Temperatures in Ice Cream Emulsions

CHENG Jinju[1]　YAN Tingsheng[2]　DUDU O E[3]　ZHANG Jingjing[1]　LI Aili[1]　YU Dianyu[1]

(1. *Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin* 150030, *China*
2. *College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin* 150030, *China*
3. *Department of Chemistry and Food Sciences, Bells University of Technology, Ota P. M. B* 1015, *Nigeria*)

Abstract: Milk protein and soy protein isolate with different compositions and structure were used to prepare ice cream emulsions. The effect of sucrose concentration on the destabilization of fat globules at low temperatures in these two protein-stabilized emulsion systems was studied. Parameters such as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) measurement of protein/sucrose ester complex, protein surface coverage, zeta potential, particle size and microstructure of whipped-frozen emulsion were analyzed. Furthermore, with the optimal concentration of sucrose ester, the effect of protein compositions on the destabilization of fat globules and ice cream properties were studied by partially substituting milk protein with different ratios of soy protein isolate. The results indicated that the interaction between sucrose ester and milk protein or soy protein isolate on the fat globule surface involved complexation and competitive adsorption. When the sucrose ester concentration was increased from 0 to 0.3%, the interaction between protein and sucrose ester on the surface of fat globule was mainly dominated by competitive adsorption. At this sucrose ester concentration, the surface protein coverage in the two protein-stabilized ice cream emulsion systems was significantly reduced. The partial coalescence degree of fat globules was relatively high. The ratio of milk protein to soy protein isolate was adjusted while sucrose ester mass fraction was kept at 0.3%. Ice cream showed higher overrun values and the best melting resistance ability when the ratio of milk protein to soy protein isolates was at 7∶3, which was more favored to the occurrence of partial coalescence.

Key words: ice cream; sucrose ester; protein composition; fat globule destabilization; interfacial interaction

收稿日期： 2020-07-06　**修回日期：** 2020-07-30

基金项目： 黑龙江省自然科学基金项目(LH2019C030)

作者简介： 程金菊(1987—)，女，讲师，博士，主要从事食品化学和乳品工程研究，E-mail：chengjinju@neau.edu.cn

通信作者： 于殿宇(1964—)，男，教授，主要从事农产品深加工研究，E-mail：dyyu2000@126.com

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

0 引言

冰淇淋乳液是水包油型乳化液。与一般乳化液不同的是,它不仅需要静态下的稳定性,而且要在低温搅打充气时发生一定程度的失稳作用,脂肪球一定程度的失稳才能形成脂肪的三维网络结构,包裹并稳定充气的空气泡,这有利于冰淇淋结构的形成,并使冰淇淋获得理想的理化特性和感官特性[1-3]。

蛋白质和乳化剂是冰淇淋生产所必需的原料,两者在脂肪球表面的吸附特性与脂肪球的低温失稳密切相关。在冰淇淋生产中,蛋白质的量(约 4%)足够稳定配方中的脂肪球(10% ~14%),因此,小分子乳化剂的作用并非是乳化和稳定脂肪球,而是作为表面活性剂竞争性取代一部分蛋白质。蛋白质在油-水界面上的吸附趋向于形成较厚具有粘弹性的界面膜,而小分子乳化剂形成的界面膜强度较低,两者之间的竞争吸附能够减少蛋白质的吸附量、降低界面吸附膜的强度[4-6],从而有利于搅打凝冻过程中脂肪球被脂肪晶体刺穿,发生脂肪球的部分聚结现象[1]。

不同蛋白质具有不同的氨基酸组成和结构,在脂肪球表面的吸附性质不同,与乳化剂的界面作用强度也不同。乳蛋白是冰淇淋生产中最主要的蛋白质来源。近年来,随着食品工业的发展,大豆蛋白被用作重要的蛋白质原料来部分替代乳蛋白,以降低产品的生产成本,增加产品多样性和健康功能多样性[7-9]。脱脂乳蛋白中主要的蛋白质为酪蛋白,其结构相对松散。而大豆蛋白为球状蛋白,含有较多的 α-螺旋、β-折叠等立体结构,这种高度折叠的致密结构使大豆蛋白在脂肪球表面的吸附速率慢于酪蛋白[10]。另外,蛋白质与乳化剂的界面复合和竞争吸附作用也影响界面吸附膜特性,进而影响搅打凝冻过程中脂肪球的稳定性[11-13]。

本文采用两种不同组成和结构的蛋白质(脱脂乳蛋白和大豆分离蛋白)制备冰淇淋乳液,研究不同浓度蔗糖酯与蛋白质的界面吸附特性对脂肪球低温失稳的影响;进一步通过调整乳蛋白和大豆蛋白的比例,在最佳蔗糖酯浓度条件下,研究不同乳蛋白/大豆蛋白比例对脂肪球低温失稳和冰淇淋特性的影响,为混合蛋白冰淇淋的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

脱脂奶粉(SMP,33.4% 蛋白质),新西兰恒天然集团;大豆分离蛋白(SPI,90% 蛋白质),哈高科大豆食品有限责任公司;椰子油,市购;蔗糖酯(SE)和羧甲基纤维素钠(CMC),丹尼斯克有限公司;异硫氰酸荧光素(FITC)和尼罗红(Nile red),德国 Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

NS1001L 型高压均质机,意大利 Niro Soavi 公司;K9840 型凯氏定氮蒸馏仪,海能仪器股份有限公司;Malvern 2000 型粒度分析仪,英国马尔文公司;IC6308C 型全自动冰淇淋机,上海客浦电器有限公司;Leica TCS SP2 型激光共聚焦显微镜。

1.3 方法

1.3.1 蛋白质/蔗糖酯混合溶液制备

将乳蛋白、大豆分离蛋白和蔗糖酯分别溶解,按照蛋白质与蔗糖酯的质量比为 4:(0.1 ~0.4)进行混合搅拌,透析 72 h(10 kDa),去除多余的蔗糖酯,冷冻干燥后备用。

1.3.2 蛋白质/蔗糖酯复合作用表征

采用傅里叶变换红外光谱,分析复合物的光谱变化,扫描波长为 500 ~4 000 cm^{-1}。

1.3.3 冰淇淋浆料的制备及冰淇淋生产工艺

两种蛋白质的冰淇淋乳液由 4% 蛋白质、10% 椰子油、14% 蔗糖、0.1% ~0.4% 蔗糖酯、0.25% 羧甲基纤维素组成。根据 SMP 和 SPI 乳液搅打凝冻后脂肪球失稳程度,确定蔗糖酯的质量分数。然后,调整 SMP 和 SPI 的质量,使配方中蛋白质质量分数为恒定值(4%)。固形物含量利用乳糖进行调整,使非脂固形物含量一致。不同蛋白质组成的配方分别记为 SMP(SMP 提供 100% 蛋白)、SMP7SPI3(SMP 提供 70%(质量分数)蛋白,SPI 提供 30%(质量分数)蛋白,数字含意下同)、SMP5SPI5、SMP3SPI7 和 SPI。

冰淇淋生产工艺:配料混合→杀菌(65℃,30 min)→均质(一级 20 MPa,二级 4 MPa)→老化(4℃,12 h)→搅打凝冻→硬化。

1.3.4 脂肪球粒度测定

采用 Malvern 2000 型粒度分析仪测定乳液中脂肪球粒度及其分布[14]。测定前,采用蒸馏水或 2% 十二烷基硫酸钠(SDS)对样品进行 100 倍稀释。SDS 能够使结合作用弱的脂肪球分离,因此用于区分脂肪球之间的聚集度(Flocculation degree,FD)与部分聚结度(Partial coalescence degree,PCD)[15]。聚集度表征脂肪球之间聚集在一起的水平,计算公式为

$$F_D = (D_{4,3(water)} - D_{4,3(SDS)}) / D_{4,3(SDS)} \times 100\% \quad (1)$$

式中 $D_{4,3(water)}$——用水稀释时乳液的体积粒度

$D_{4,3(SDS)}$——用 SDS 溶液稀释时乳液的体积粒度

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

部分聚结度表征脂肪球通过晶体形成脂肪链或者脂肪聚结体这一不可逆变化过程的程度,计算公式为

$$P_{CD}=(D_{4,3(SDS)WE}-D_{4,3(SDS)E})/D_{4,3(SDS)E}\times 100\% \quad (2)$$

式中　$D_{4,3(SDS)WE}$——用 SDS 稀释时搅打凝冻样品的体积粒度

$D_{4,3(SDS)E}$——用 SDS 稀释时未搅打凝冻浆料的体积粒度

1.3.5　脂肪球表面蛋白吸附量测定

取一定质量乳液于 30℃ 下离心(15 000g, 60 min),收集上层乳化相,测定其蛋白质和脂肪含量[14]。脂肪球表面蛋白质吸附量ρ(mg/m^2)计算公式为

$$\rho=P/(FA) \quad (3)$$

式中　P——蛋白质质量分数,%

F——脂肪质量分数,%

A——通过粒度分析仪测得的脂肪球比表面积,m^2/mg

1.3.6　脂肪晶体的非等温结晶动力学

采用差示扫描量热法(DSC 法)和 Jeziorny 法对乳液中脂肪的非等温结晶动力学特性进行分析。实验前采用铟标准品对仪器进行校正,测试皿为铝制液体皿,加样量为 10 ~ 15 mg。首先将样品从 25℃ 升至 50℃,升温速率为 5℃/min,并在 50℃ 保温 5 min,消除样品的热历史对测定的影响,然后以同样速率使乳液样品降温到 -10℃。Jeziorny 法是解析非等温结晶动力学的有效方法。Jeziorny 法是在 Avrami 方程的基础上对所得参数进行修正。Avrami 方程可写为

$$X(t)=1-\exp(-Kt^n) \quad (4)$$

式中　$X(t)$——结晶 t 时刻的相对结晶度

K——Avrami 结晶速率常数

n——Avrami 指数(晶体生长维数)

对式(4)两边同时取两次对数,得

$$\lg(-\ln(1-X(t)))=\lg K+n\lg t \quad (5)$$

以 $\lg(-\ln(1-X(t)))$ 对 $\lg t$ 作图,从直线的斜率可得 Avrami 指数 n,从截距可得结晶速率常数 K,考虑到降温速率的影响,对 K 进行校正,即

$$\lg K_z=\lg K/\Phi \quad (6)$$

式中　K_z——非等温结晶速率常数

Φ——降温速率,取 5℃/min

1.3.7　冰淇淋膨胀率的测定

冰淇淋膨胀率的计算公式为

$$O_v=(m_0-m)/m\times 100\% \quad (7)$$

式中　m_0——搅打之前特定体积的冰淇淋浆料的质量

m——搅打凝冻后同体积的冰淇淋质量

1.3.8　冰淇淋融化率的测定

取硬化后的冰淇淋放在金属网上,金属网下面放置烧杯,在室温(20℃)条件下融化冰淇淋,每 10 min 记录一次融化液的质量,持续 90 min,作融化质量(m)与时间(t)的曲线,曲线斜率即为融化率。

1.3.9　冰淇淋微观结构的观察

取适量荧光染料 Nile red 和 FITC 与一定体积的乳液混合,使其对脂肪和蛋白质染色。FITC 的激光源为 Ar,激发波长为 488 nm; Nile red 的激光源为 He/Ne,激发波长为 633 nm。发射波长分别为 500 ~ 588 nm 和 640 ~ 755 nm; 扫描密度为 512 × 512; 扫描频率为 400 Hz,在激光共聚焦显微镜下(63 × 油镜)观察微观结构。用 LAS AF Lite 软件进行图像分析。

1.4　数据统计

采用 SPSS 20.0 进行数据方差分析($p<0.05$)和相关性分析。

2　结果与分析

2.1　蔗糖酯质量分数对脂肪球低温失稳的影响

2.1.1　蛋白质与蔗糖酯的复合作用

极性基团参与的氢键和疏水作用力是蛋白质与疏水性小分子物质形成复合物的主要作用力,两者若形成复合物,往往会引起红外光谱的变化。蔗糖酯是以蔗糖的—OH 为亲水基,以脂肪酸的碳链部分为亲油基的小分子乳化剂。将不同浓度的蔗糖酯与乳蛋白和大豆分离蛋白分别混合,两者发生作用后,透析以及冻干后的红外光谱如图 1 所示。由图 1a 可知,在乳蛋白/蔗糖酯的复合物中,2 930 cm^{-1} 处的光谱强度随着蔗糖酯质量分数增加逐渐增强,同时,在 1 659 cm^{-1} 和 1 537 cm^{-1} 处的光谱强度也明显增加。当蔗糖酯质量分数高于 0.2% 时,光谱强度增加不显著。由图 1b 可知,在大豆分离蛋白/蔗糖酯的复合物中,随着蔗糖酯质量分数的增加,同样引起了大豆蛋白在 2 930、1 659、1 537 cm^{-1} 处的光谱强度变化。在蛋白质的红外光谱检测中,3 000 ~ 2 800 cm^{-1} 区域的谱带主要反映的是 CH_2 基团对称及反对称伸缩振动特性光谱,其中 CH_2 基团主要参与疏水作用[16]。1 659 cm^{-1} 处光谱反映的是蛋白质中的 C═O 基团,1 537 cm^{-1} 处光谱主要反映的是 N—H 和 C—N 基团,蛋白质中的 C═O、C—N 和 N—H 基团主要形成氢键,参与亲水作用。因此,乳蛋白和大豆分离蛋白在这些区域的光谱强度变化,表明蔗糖酯与乳蛋白和大豆蛋白能够通过氢键或疏

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

水相互作用发生复合，形成蛋白质-蔗糖酯复合物，而当蔗糖酯质量分数高于 0.2% 时，两种蛋白质和蔗糖酯的复合作用不明显。这与文献[17]报道的酪蛋白各组分和 β-乳球蛋白都能够与蔗糖酯发生复合作用的结果相吻合，文献表明疏水作用可能是蛋白质和蔗糖酯形成复合物的主要作用力。

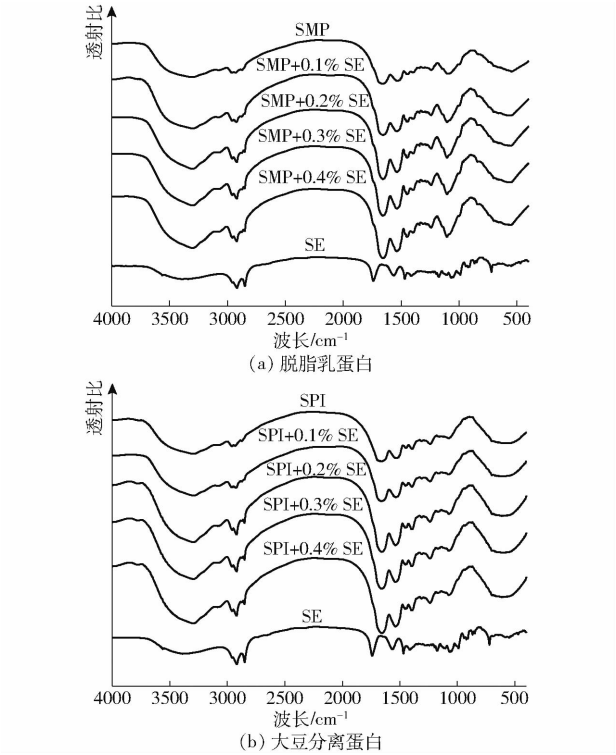


图 1 蛋白质与蔗糖酯复合物的红外光谱

Fig. 1 FTIR spectra of protein-sucrose ester complex

2.1.2 脂肪球表面蛋白质吸附量和 zeta 电位

蔗糖酯作为小分子乳化剂，能够改变蛋白质在脂肪球表面的吸附特性。由图 2a 可知，当蔗糖酯质量分数低于 0.3% 时，并未引起乳蛋白和大豆分离蛋白在脂肪球表面吸附量的显著变化($p > 0.05$)，这验证了 2.1.1 节中的结论，当体系中蔗糖酯质量分数较低时，这些蔗糖酯分子主要通过复合作用与蛋白质结合(图 1)，共同吸附在脂肪球的表面，因此不影响蛋白质吸附量。而当蔗糖酯质量分数等于或高于 0.3% 时，脂肪球表面蛋白质的吸附量显著降低($p < 0.05$)，这是由于体系中游离的蔗糖酯分子竞争性取代了一部分蛋白质的吸附，降低了蛋白质的吸附量，在搅打稀奶油的研究中也发现了类似现象[18]。因此，蛋白质/蔗糖酯的界面作用存在复合和竞争吸附作用两种机制。相同蔗糖酯质量分数条件下，大豆分离蛋白在脂肪球表面的吸附量高于乳蛋白，这与大豆蛋白的分散特性有关，溶解的大豆蛋白分子会发生相互聚集，形成聚集体[19]。这种聚集体降低了蛋白质的亲水性增加了亲油性，因而吸附量增加。对分别由大豆蛋白和乳蛋白构成的空气-水界面吸附层研究发现，由于大豆蛋白含有较多聚集体，因此，其吸附层厚度要高于乳蛋白[10]。

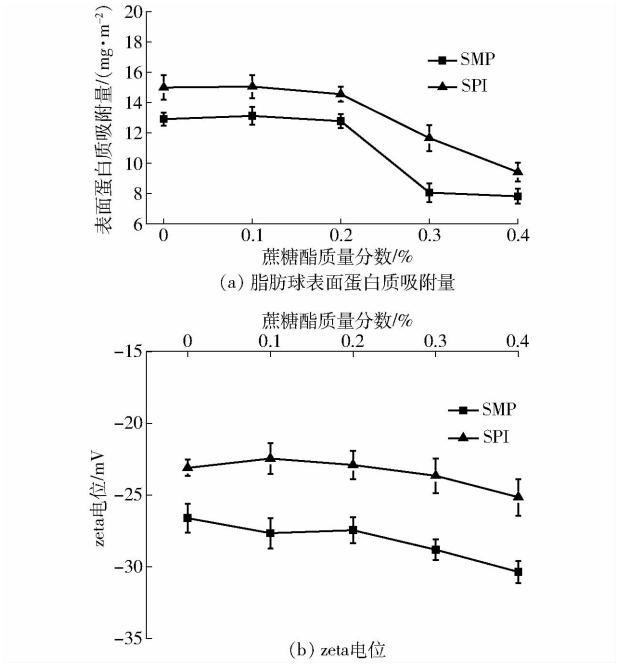


图 2 蛋白质/蔗糖酯界面作用对脂肪球表面蛋白质吸附量和 zeta 电位的影响

Fig. 2 Effect of protein and sucrose ester interfacial interactions on protein surface coverage and zeta potential of fat globules

由图 2b 可知，相同蔗糖酯质量分数下，SMP 乳液的净负电荷高于 SPI，这是由于乳蛋白中主要蛋白质酪蛋白的等电点(pI 值为 4.6)离乳液的 pH 值(6.8)更远。当蔗糖酯质量分数低于 0.3% 时，zeta 电位变化不显著($p > 0.05$)，当蔗糖酯质量分数等于或高于 0.3% 时，两种乳液体系的 zeta 电位都显著性降低(净电荷增加)。蔗糖酯本身是一种非离子型乳化剂，不能电离，随着蔗糖酯质量分数增加，脂肪球表面更多的蛋白质被替代，吸附蛋白有更多的空间在界面上展开和重排，这可能使蛋白质的带电区域暴露[20]。

2.1.3 脂肪球粒径和失稳程度

蛋白质/乳化剂在脂肪球表面的共同吸附影响界面膜的厚度和强度，进一步影响脂肪球的低温失稳程度[21]。在乳液搅打凝冻过程中，界面吸附膜被脂肪晶体刺穿，发生低温失稳，使脂肪球形成聚集体或不可逆的脂肪球融合，直径增大。表 1 列出了不同蔗糖酯质量分数条件下，搅打凝冻冰淇淋乳液的脂肪球粒径和失稳程度。对乳蛋白而言，脂肪球粒径随着蔗糖酯质量分数增加逐渐增大，$D_{4,3(SDS)}$ 反映了搅打凝冻后通过脂肪晶体/脂肪球体连接在一起的脂肪球聚结体的体积颗粒直径，其在蔗糖酯质量分数等于或高于 0.3% 时增加显著($p < 0.05$)，表明

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

蛋白质吸附量的减少(图 2a)降低了界面吸附膜的强度,使界面膜在低温搅打过程中容易被刺穿。当蔗糖酯的质量分数为 0.3% 时聚集度达到最大值,而部分聚结度随着蔗糖酯质量分数增加逐渐增加。

表 1　蔗糖酯浓度对脂肪球粒度和失稳程度的影响

Tab. 1　Effect of sucrose ester content on fat particle size and fat destabilization index

蛋白质	蔗糖酯质量分数/%	$D_{4,3(water)}$/μm	$D_{4,3(SDS)}$/μm	聚集度/%	部分聚结度/%
SMP	0	(1.29 ± 0.04)^{a}	(0.85 ± 0.04)^{a}	(51.26 ± 3.39)^{a}	(13.20 ± 0.75)^{a}
	0.1	(1.33 ± 0.06)^{a}	(0.67 ± 0.06)^{a}	(99.71 ± 9.54)^{b}	(27.30 ± 0.98)^{b}
	0.2	(2.50 ± 0.09)^{b}	(0.73 ± 0.01)^{a}	(241.72 ± 5.97)^{d}	(40.00 ± 1.28)^{c}
	0.3	(5.18 ± 0.07)^{c}	(2.13 ± 0.18)^{b}	(144.34 ± 17.27)^{c}	(189.93 ± 17.78)^{d}
	0.4	(5.12 ± 0.08)^{c}	(2.48 ± 0.04)^{c}	(106.87 ± 0.47)^{b}	(234.31 ± 16.14)^{e}
SPI	0	(1.36 ± 0.07)^{a}	(0.64 ± 0.01)^{a}	(114.40 ± 5.91)^{a}	(14.39 ± 0.37)^{a}
	0.1	(1.70 ± 0.05)^{b}	(0.67 ± 0.04)^{a}	(155.04 ± 7.44)^{b}	(19.79 ± 2.27)^{ab}
	0.2	(2.03 ± 0.06)^{c}	(0.69 ± 0.03)^{ab}	(195.35 ± 12.96)^{c}	(29.05 ± 1.21)^{b}
	0.3	(2.13 ± 0.10)^{c}	(0.73 ± 0.05)^{ab}	(192.71 ± 6.02)^{c}	(39.23 ± 5.66)^{c}
	0.4	(2.79 ± 0.10)^{d}	(0.77 ± 0.05)^{b}	(261.17 ± 10.90)^{d}	(43.49 ± 5.36)^{c}

注: 同列数据字母不同表示差异显著($p < 0.05$),下同。

在大豆分离蛋白的搅打乳液体系中,脂肪球的粒径、聚集度和部分聚结度都随着蔗糖酯质量分数增加逐渐增大,聚集失稳作用显著高于部分聚结失稳。在蔗糖酯质量分数 0.1% ~ 0.4% 时部分聚结度低于相同蔗糖酯质量分数下的乳蛋白,这与大豆蛋白高度致密的结构和较高的吸附量有关。当蔗糖酯质量分数在 0.3% ~ 0.4% 时,部分聚结度显著提高,但两者之间没有显著差异($p > 0.05$)。

2.1.4　搅打凝冻乳液的微观结构

采用激光共聚焦显微镜观察搅打凝冻冰淇淋乳液的微观结构,由图 3a 可知,在乳蛋白冰淇淋的搅打凝冻乳液中,当不加入蔗糖酯时,空气泡(黑色球体)周围主要为蛋白质(绿色)和极少量的脂肪球(红色),这些脂肪球以独立的球状形态存在。随着蔗糖酯质量分数的逐渐提高(图 3b ~ 3e),空气泡周围的绿色区域逐渐减少,红色区域增加,而且独立的脂肪球数量减少,脂肪的团簇结构增加,这是由脂肪球的部分聚结失稳引起的[22],当蔗糖酯质量分数增加至 0.3% 时,脂肪球的团簇结构增加显著,这种脂肪网络结构起到稳定空气泡的作用[23]。

在大豆分离蛋白基搅打凝冻乳液中,当蔗糖酯质量分数低于 0.3% 时(图 3f ~ 3h),空气泡周围主要为蛋白质,且脂肪球呈现独立完整的形态结构。当蔗糖酯质量分数等于或高于 0.3% 时(图 3i、3j),空气泡表面覆盖的脂肪球体积、晶体聚集增加,这说明脂肪球的失稳程度显著增加,这种现象与搅打凝冻后脂肪球粒径以及失稳程度增加(表 1)吻合。

综合以上结果,当蔗糖酯质量分数增加至 0.3% 时,蛋白质与蔗糖酯在脂肪球表面的界面作用主要以竞争吸附为主,此时两种蛋白乳液体系中,蛋白质的吸附量显著降低,脂肪球的部分聚结失稳程度较高,因此,选择蔗糖酯质量分数为 0.3% 来研究

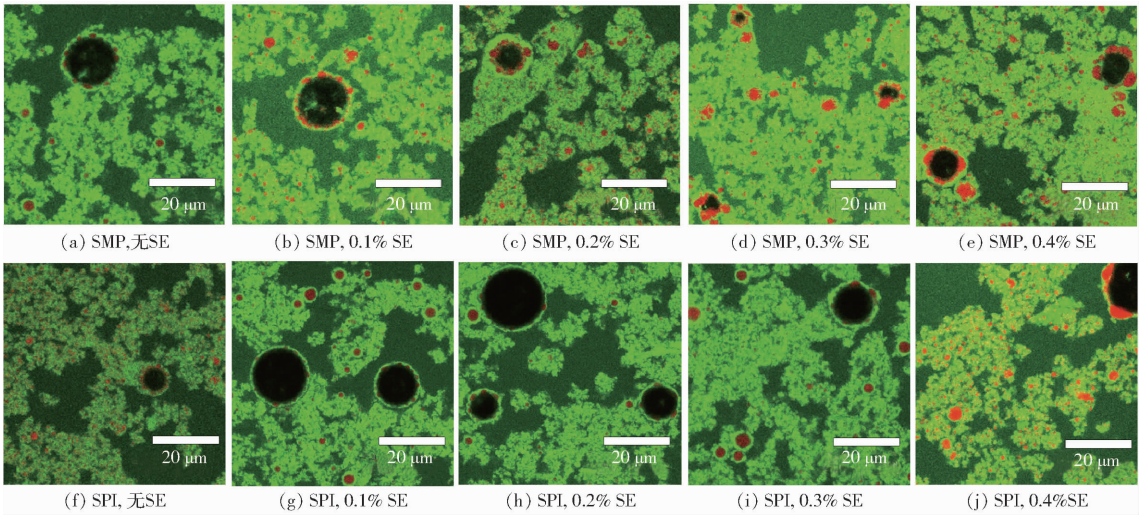


图 3　搅打凝冻冰淇淋乳液的激光共聚焦图像

Fig. 3　Confocal micrographs of whipped-frozen ice cream emulsions

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

蛋白质组成对脂肪球失稳作用的影响。

2.2 蛋白质组成对脂肪球低温失稳和冰淇淋特性的影响

2.2.1 脂肪球表面蛋白质吸附量

在蔗糖酯质量分数为 0.3% 条件下，不同乳蛋白/大豆蛋白比例下冰淇淋乳液中脂肪球表面的蛋白质吸附量如图 4（图中不同字母表示差异显著，下同）所示。由图可知，脂肪球表面蛋白质吸附量随着大豆蛋白比例的提高呈先降低后增加的趋势。乳蛋白中约 80% 的蛋白质为酪蛋白，相比于延展性较强的酪蛋白，大豆蛋白中的主要成分 7S 和 11S 结构高度折叠致密，在脂肪球表面吸附时，需要克服更多的能量壁垒来展开自然结构，因此，混合蛋白基冰淇淋中的酪蛋白优先在脂肪球表面进行吸附，而且乳蛋白中的酪蛋白以胶束状态存在，这种胶束状态增加了蛋白质的吸附量[24]，所以起始蛋白质吸附量随着乳蛋白比例降低而降低。当大豆分离蛋白与乳蛋白比例高于 5∶5 时，吸附量又逐渐增加，这是由于大豆蛋白形成的聚集体使疏水性增加，而且球状大豆蛋白分子需要改变原来的天然构象才能在脂肪球表面进行吸附，构象的展开和重排增加了蛋白质分子之间的相互作用，使其不易被乳化剂替代[10,19]，因此蛋白质吸附量增加。

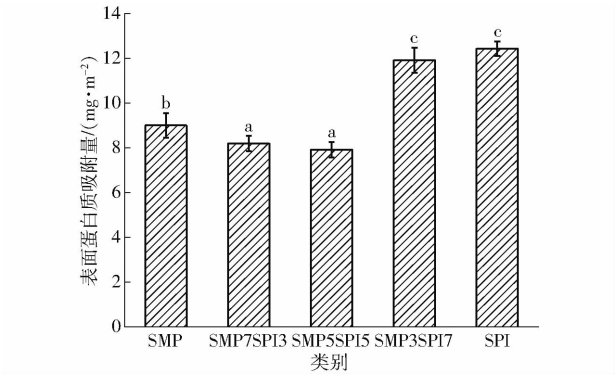


图 4 乳蛋白/大豆蛋白比例对冰淇淋乳液脂肪球蛋白质吸附量的影响

Fig. 4 Effect of milk/soy protein ratio on protein absorbed on fat globular surface of ice cream emulsion

2.2.2 脂肪晶体的生长特性

除了脂肪球界面膜的厚度和强度，脂肪晶体也是影响脂肪球低温失稳的重要因素。脂肪晶体的生长特性影响晶体的数目和大小。冰淇淋乳液结晶过程是一个非等温过程，通过分析非等温结晶动力学，可以获得脂肪晶体的生长速率和晶体形态等信息[25-26]。采用 Jeziorny 法，发现曲线拟合参数 $R^2 > 0.992$，说明该模型能够准确地描述乳液中脂肪的非等温结晶动力学。由图 5a 可知，晶体生长维数 n 随着大豆分离蛋白比例的增加逐渐增加，这表明随着脂肪球表面蛋白质组成的变化，晶体生长特性逐渐发生变化。晶体生长维数越大，晶体越趋向于向不规则的多维方向生长[27]。

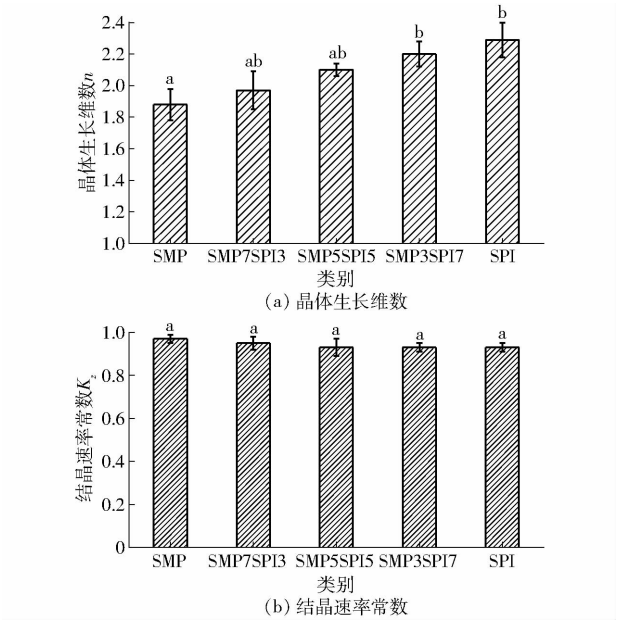


图 5 乳蛋白/大豆蛋白比例对脂肪非等温结晶动力学参数的影响

Fig. 5 Effect of ratio of milk/soy protein on non-isothermal crystallization Avrami parameters

由图 5b 可知，不同乳蛋白/大豆分离蛋白比例对 K_z 没有显著性影响（$p > 0.05$）。在相同晶体生长速率条件下，晶体生长维数的增加意味着在搅打凝冻过程中脂肪结晶之间有更多数量的接触点进行接触，从而促进了脂肪球在搅打凝冻过程中由剪切力和脂肪结晶介导的低温部分聚结失稳作用[1]。

2.2.3 不同蛋白质基冰淇淋搅打乳液脂肪球的低温失稳

不同乳蛋白/大豆蛋白比例对冰淇淋乳液脂肪球粒径和失稳程度的影响如表 2 所示。$D_{4,3(water)}$、$D_{4,3(SDS)}$ 和部分聚结度随着大豆分离蛋白比例的增加呈先增加后降低的趋势，当乳蛋白与大豆分离蛋白比例为 7∶3 时，部分聚结度达到最大值（252.39%）。由蛋白质组成对脂肪球表面蛋白吸附特性的影响可知（图 4），大豆蛋白与乳蛋白比例低于 5∶5 时，大豆蛋白的增加降低了蛋白质的吸附，使脂肪球界面膜更容易被脂肪晶体刺穿，有利于脂肪球发生低温失稳而聚集融合，而进一步增加大豆蛋白的比例，蛋白质吸附量增加，尽管脂肪晶体生长维数增加（图 5a），增加了搅打凝冻过程中脂肪球晶体的接触点，但是界面吸附膜强度增大，不利于晶体的刺穿，因此部分聚结度逐渐降低。脂肪球的聚集程度随着大豆蛋白比例的增加逐渐增加，这说明搅打过程中球状大豆蛋白增加促进了蛋白质的相互作用，从而使脂肪球的聚集增加。

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　蛋白质组成对不同冰淇淋乳液脂肪球粒度和失稳程度的影响

Tab. 2　Effect of protein compositions on fat particle size and fat destabilization index in ice cream emulsions

样品	$D_{4,3\{water\}}$ /μm	$D_{4,3\{SDS\}}$ /μm	聚集度/%	部分聚结度/%
SMP	(2.72 ± 0.19)^{b}	(1.18 ± 0.05)^{b}	(129.73 ± 6.84)^{a}	(103.71 ± 13.89)^{c}
SMP7SPI3	(4.49 ± 0.09)^{a}	(1.79 ± 0.11)^{a}	(151.50 ± 10.09)^{ab}	(252.39 ± 2.08)^{a}
SMP5SPI5	(2.73 ± 0.06)^{b}	(1.01 ± 0.06)^{b}	(171.72 ± 15.23)^{b}	(129.82 ± 6.41)^{b}
SMP3SPI7	(1.92 ± 0.05)^{c}	(0.61 ± 0.02)^{bc}	(213.18 ± 9.20)^{c}	(44.69 ± 0.78)^{d}
SPI	(2.00 ± 0.14)^{c}	(0.44 ± 0.04)^{c}	(360.28 ± 12.53)^{d}	(12.00 ± 2.33)^{e}

2.2.4　不同蛋白质基冰淇淋的质构特性

冰淇淋的膨胀率如图 6a 所示,可以看出,随着大豆蛋白比例的增加,冰淇淋的膨胀率逐渐增加。由蛋白质吸附特性可知(图 4),当大豆蛋白与乳蛋白比例低于 5∶5时,脂肪球表面蛋白质吸附量随大豆蛋白质比例增加而逐渐降低,因此,乳液连续相中蛋白质的量会逐渐增加,从而提高体系的起泡性[28],进而提高冰淇淋的膨胀度。当大豆蛋白的比例继续增加时,冰淇淋膨胀度继续增加,这说明大豆蛋白的加入有利于冰淇淋的起泡特性。

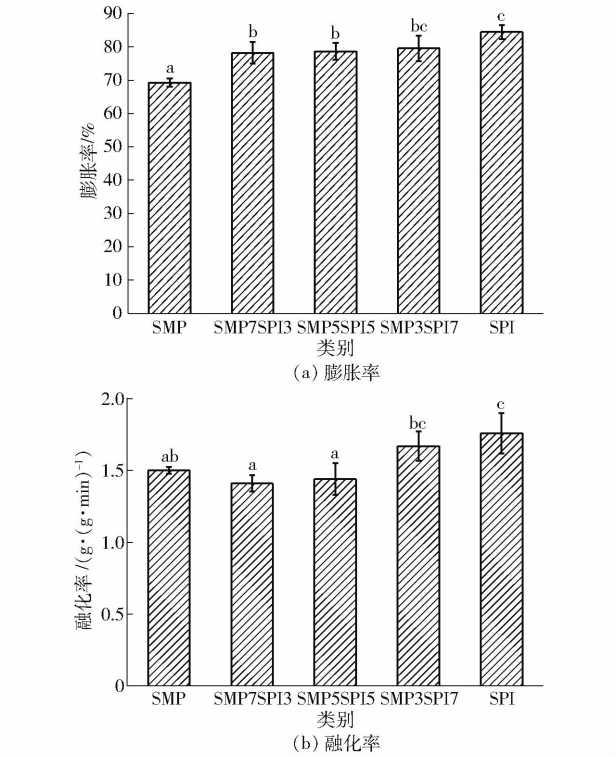


图 6　乳蛋白/大豆蛋白比例对冰淇淋特性的影响

Fig. 6　Effect of ratio of milk/soy protein on properties of ice cream

由图 6b 可知,冰淇淋的融化率随着大豆蛋白比例的提高呈先降低后增加的趋势,当乳蛋白与大豆蛋白比例为 7∶3时,冰淇淋具有最低的融化率。冰淇淋的融化特性与脂肪球部分聚结度密切相关,脂肪球发生部分聚结后,形成的不可逆脂肪球聚合结构逐渐取代空气泡周围吸附的蛋白质,起到稳定空气泡的作用,提高冰淇淋的抗融性[29]。由表 2 可知,当乳蛋白与大豆蛋白比例为 7∶3时,部分聚结度最高,因此,该蛋白组成条件下冰淇淋的抗融性更强。采用 Pearson 方法,将脂肪球部分聚结度与冰淇淋融化率进行相关性分析,发现两者存在显著负相关($r = -0.888$, $p = 0.044$),证明脂肪球的部分聚结失稳有利于增强冰淇淋的抗融化性。

综上,当乳蛋白与大豆分离蛋白的比例为 7∶3时,更有利于脂肪球的部分聚结失稳,此时冰淇淋具有较高的膨胀率、最佳的抗融性。

3　结论

(1) 蔗糖酯与乳蛋白和大豆分离蛋白在脂肪球表面的界面作用存在复合和竞争吸附作用两种机制。当蔗糖酯质量分数为 0.3% 时,两者的界面作用主要以竞争吸附为主,此时两种蛋白冰淇淋乳液体系中,脂肪球表面蛋白质的吸附量显著降低,脂肪球部分聚结失稳程度较高。

(2) 在不同乳蛋白/大豆蛋白比例和蔗糖酯质量分数为 0.3% 的条件下,随着大豆蛋白比例的增加,脂肪球表面蛋白质吸附量先降低、后增加,脂肪晶体生长维数逐渐增加。当乳蛋白与大豆分离蛋白的比例为 7∶3时,更有利于脂肪球发生部分聚结失稳,此时冰淇淋具有较高的膨胀率和最佳的抗融性。

参 考 文 献

[1] FREDRICK E, WALSTRA P, DEWETTINCK K. Factors governing partial coalescence in oil-in-water emulsions [J]. Advances in Colloid & Interface Science, 2010, 153(1-2): 30-42.

[2] FREDRICK E, HEYMAN B, MOENS K, et al. Monoacylglycerols in dairy recombined cream: Ⅱ. The effect on partial coalescence and whipping properties [J]. Food Research International, 2013, 51(2): 936-945.

[3] SEGALL K I, GOFF H D. A modified ice cream processing routine that promotes fat destabilization in the absence of added emulsifier [J]. International Dairy Journal, 2002, 12(12): 1013-1018.

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[4] MUNK M B, ERICHSEN H R, ANDERSEN M L. The effects of low-molecular-weight emulsifiers in O/W-emulsions on microviscosity of non-solidified oil in fat globules and the mobility of emulsifiers at the globule surfaces [J]. Journal of Colloid & Interface Science, 2014, 419(2): 134 - 141.
[5] BOLLIGER S, GOFF H D, THARP B W. Correlation between colloidal properties of ice cream mix and ice cream [J]. International Dairy Journal, 2000, 10(4): 303 - 309.
[6] CHENG Jinju, EYITUOYO D O, WANG Dong, et al. Influence of interfacial adsorption of glyceryl monostearate and proteins on fat crystallization behavior and stability of whipped-frozen emulsions [J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125949.
[7] FRIEDECK K G, KARAGUL-YUCEER Y, DRAKE M A. Soy protein fortification of a low-fat dairy-based ice cream [J]. Journal of Food Science, 2003, 68(9): 2651 - 2657.
[8] PEREIRA G D G, RESENDE J V D, ABREU L R D. et al. Influence of the partial substitution of skim milk powder for soy extract on ice cream structure and quality [J]. European Food Research & Technology, 2011, 232(6): 1093 - 1102.
[9] AKESOWAN A. Influence of soy protein isolate on physical and sensory properties of ice cream [J]. Thai Journal Agricultual Science, 2009, 42(1): 1 - 6.
[10] NINO M R, SANCHEZ C C, RUIZ-HENESTROSA V P, et al. Milk and soy protein films at the air-water interface [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(3): 417 - 428.
[11] CHENG Jinju, EYITUOYO D O, LI Xiaodong, et al. Effect of emulsifier-fat interactions and interfacial competitive adsorption of emulsifiers with proteins on fat crystallization and stability of whipped-frozen emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105491.
[12] JIANG Jiang, JIN Yan, LIANG Xinyu, et al. Synergetic interfacial adsorption of protein and low-molecular-weight emulsifiers in aerated emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 81(1): 15 - 22.
[13] JIANG Jiang, JING Weiqin, XIONG Youling, et al. Interfacial competitive adsorption of different amphipathicity emulsifiers and milk protein affect fat crystallization, physical properties, and morphology of frozen aerated emulsion [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 670 - 678.
[14] CHENG Jinju, CUI Jie, MA Ying, et al. Effects of soy-to-milk protein ratio and sucrose fatty acid ester addition on the stability of ice cream emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 425 - 436.
[15] PALAZOLO G G, SOBRAL P A, WAGNER J R. Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions prepared with native and thermally-denatured soybean isolates [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(3): 398 - 409.
[16] HASNI I, BOURASSA P, TAJMIR-RIAHI H A. Binding of cationic lipids to milk β-lactoglobulin [J]. Journal of Physical Chemistry B, 2011, 115(20): 6683 - 6690.
[17] FONTECHA J, SWAISGOOD H E. Interaction of sucrose esters with skim milk proteins as characterized by affinity chromatography [J]. Journal of Dairy Science, 1994, 77(12): 3545 - 3551.
[18] TUAL A, BOURLES E, BAREY P, et al. Effect of surfactant sucrose ester on physical properties of dairy whipped emulsions in relation to those of O/W interfacial layers [J]. Journal of Colloid & Interface Science, 2006, 295(2): 495 - 503.
[19] LIU Fu, TANG Chuanhe. Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. I. Structural characteristics, emulsifying properties and adsorption/arrangement at interface [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 606 - 619.
[20] ZHAO Jingjing, XIANG Jun, TONG Wei, et al. Influence of environmental stresses on the physicochemical stability of orange oil bilayer emulsions coated by lactoferrin-soybean soluble polysaccharides and lactoferrin-beet pectin [J]. Food Research International, 2014, 66: 216 - 227.
[21] MÉNDEZ-VELASCO C, GOFF H D. Enhancement of fat colloidal interactions for the preparation of ice cream high in unsaturated fat [J]. International Dairy Journal, 2011, 21(8): 540 - 547.
[22] ZHANG Z, GOFF H D. On fat destabilization and composition of the air interface in ice cream containing saturated and unsaturated monoglyceride [J]. International Dairy Journal, 2005, 15(5): 495 - 500.
[23] BAZMI A, DUQUENOY A, RELKIN P. Aeration of low fat dairy emulsions: Effects of saturated-unsaturated triglycerides [J]. International Dairy Journal, 2007, 17(9): 1021 - 1027.
[24] RELKIN P, FOSSEUX P Y, AUBRY V. Composition of fat protein layer in complex food emulsions at various weight ratios of casein-to-whey proteins [J]. Le Lait, 2002, 82(5): 567 - 578.
[25] **陈寸红. 乳化剂对棕榈油结晶行为的影响 [D]. 郑州: 河南工业大学,** 2014.
[26] **池娟娟. 乳化剂对棕榈油基人造奶油结晶行为的影响 [D]. 无锡: 江南大学,** 2012.
[27] WIDLAK N, HARTEL R, NARINE S. Crystallization and solidification properties of lipids [M]. Toronto: AOCS Press, 2001.
[28] OETJEN K, BILKE-KRAUSE C, MADANI M, et al. Temperature effect on foamability, foam stability, and foam structure of milk [J]. Colloids & Surfaces A Physicochemical & Engineering Aspects, 2014, 460: 280 - 285.
[29] SOFJAN R P, HARTEL R W. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(3): 255 - 262.

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net