

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2013.01.027

# 脉冲电场协同加热对乳清蛋白凝胶质构特性的影响\*

金声琅<sup>1,2</sup> 殷涌光<sup>2</sup> 王莹<sup>3</sup>

(1. 黄山学院旅游学院, 黄山 245021; 2. 吉林大学生物与农业工程学院, 长春 130025;

3. 青岛农业大学食品科学与工程学院, 青岛 266109)

**摘要:**以乳清蛋白为研究对象,在电场强度 15~55 kV/cm、脉冲数 2~8 个、水浴温度 50~90℃ 范围内,通过单因素试验考察各因素对乳清蛋白硬度、弹性和保水性的影响。研究表明:乳清蛋白经高压脉冲电场作用后,所形成凝胶的性质有显著变化。与未受高压脉冲电场处理的对照样相比,凝胶硬度、弹性和保水性在电场强度 15~25 kV/cm 时降低,在电场强度 35 kV/cm 时显著提高,45 kV/cm 时又降低。在电场强度 35 kV/cm 条件下,凝胶硬度、弹性和保水性随着脉冲数的增加而增强,但后期增幅变化不显著。凝胶硬度和弹性在水浴温度为 80℃ 时最佳,保水性在水浴温度为 70℃ 时最佳。

**关键词:** 乳清蛋白 高压脉冲电场 凝胶 质构特性 保水性

**中图分类号:** TS201.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2013)01-0142-05

## Effects of Combined Pulsed Electric Field and Heat Treatment on Texture Characteristics of Whey Protein Gels

Jin Shenglang<sup>1,2</sup> Yin Yongguang<sup>2</sup> Wang Ying<sup>3</sup>

(1. Tourism College, Huangshan University, Huangshan 245021, China

2. College of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun 130025, China

3. School of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

**Abstract:** By using whey protein isolate as the target, some treating conditions affecting the hardness, elasticity and water holding capacity of the whey protein gels were investigated by the single-factor experiments, among which the electric field strength, pulse numbers and heating temperature varied from 15 to 55 kV/cm, 2 to 8 and 50 to 90℃, respectively. The research found that properties of the formed gel have shown significant change after being treated by the high intensity pulsed electric field. Compared with whey protein without effect from the high intensity pulsed electric field, the hardness, elasticity and water holding capacity of gel decreased when the electric field strength varied from 15 to 25 kV/cm, increased significantly when the electric field strength was 35 kV/cm, but decreased again when the electric field strength was 45 kV/cm. When the electric field strength was 35 kV/cm, the hardness, elasticity and water holding capacity of gel strengthened with the increase of pulse number, but the later amplification was not remarkable. When heating temperature was 80℃, the hardness and elasticity of gel reached their best. The water holding capacity showed optimal performance when heating temperature was 70℃.

**Key words:** Whey protein High intensity pulsed electric field Gel Texture characteristics Water holding capacity

收稿日期: 2012-04-26 修回日期: 2012-08-19

\* 2011 年度安徽省高等学校省级自然科学基金资助项目(KJ2011B165)

作者简介: 金声琅, 副教授, 吉林大学博士生, 主要从事农产品加工及设备研究, E-mail: jinshenglang@163.com

通讯作者: 殷涌光, 教授, 博士生导师, 主要从事农产品加工及设备研究, E-mail: biofood@jlu.edu.cn

## 引言

乳清蛋白是乳品工业生产中的副产品,作为功能性配料经常被使用在食品生产中<sup>[1]</sup>。乳清蛋白的一个重要功能特性是可以形成凝胶,稳定大量的水分和其他食品成分<sup>[2-5]</sup>。

高压脉冲电场加工技术被誉为最具潜力的食品加工技术之一<sup>[6]</sup>。目前,大多数研究主要着眼高压脉冲电场对微生物和酶的影响<sup>[6-7]</sup>,以及功能性成分的辅助提取<sup>[8]</sup>。也有一些研究者研究高压脉冲电场对食品成分的影响<sup>[9-11]</sup>。高压脉冲电场对蛋白凝胶质构特性影响则未见报道。

本文以乳清蛋白为对象,对高压脉冲电场处理后得到的乳清蛋白凝胶进行测定,揭示高压脉冲电场对乳清蛋白凝胶质构特性的影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

乳清分离蛋白(Whey protein isolation, WPI)购于美国 Daviso Foods 公司,蛋白质量分数 90.4%。HCl、NaOH、NaCl 等化学试剂皆为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

A1935024 型电热恒温水浴锅(上海艾测电子科技有限公司),TA-XT plus 型质构分析仪(英国 Stable Micro System 公司),PHS-25 型酸度计(上海珂淮仪器有限公司),精密电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司),54600B 型示波器(美国 Hewlett-Packard 公司)。

采用自制的高压脉冲电场系统装置<sup>[12]</sup>,其波形和输出电压的数值可由示波器直接显示。脉冲电源波形为指数衰减波(2 μs),频率在 1 000 ~ 3 000 Hz 之间可调。整个处理容量为 200 mL。用泵来抽取原料,使其在装置中循环流动。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 表面疏水性的测定

疏水相互作用对蛋白结构的稳定和功能性质具有重要的作用,是维持蛋白质三级结构的主要作用力<sup>[13]</sup>。参照文献[14~15],采用经典的 ANS 荧光探针法测定乳清分离蛋白的表面疏水性,ANS 与芳香族氨基酸结合在 390 nm 激发波长下,在 475 nm 处有最大吸收,且荧光强度与蛋白的表面疏水性呈正相关。虽然测定结果(相对荧光强度)会略高于蛋白质表面疏水性的真实值,但可以反映蛋白质表面疏水性在高压脉冲电场处理前后的变化情况。具体过程为:在高压脉冲电场下,选择不同的电场强度对乳清蛋白溶液进行处理。然后用 0.1 mol/L 磷酸

氢二钠-磷酸二氢钠(pH 值 7)缓冲液把高压脉冲电场处理前后的样品分别稀释到 2.5 mg/mL,然后取稀释样品 4 mL,加入 20 μL ANS 溶液(5 μmol/L),选定激发波长 390 nm、发射波长 400 ~ 650 nm、扫描速度 10 nm/s 为参数,测定其荧光值。

#### 1.3.2 样品处理和高压脉冲电场参数设计

取乳清蛋白用缓冲溶液(0.6 mol/L NaCl, 10 mmol/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 值 6.0)稀释成 7% 溶液<sup>[16-17]</sup>,磁力搅拌 5 min,混合均匀,在室温条件下,立即将溶液通入高压脉冲电场处理装置,在一定的电场强度下以不同脉冲数处理。用烧杯量取 50 mL 高压脉冲电场处理后的溶液,密封后置于恒温水浴锅内进行水浴,定时 30 min,然后取出凝胶体放在 5℃ 的冰箱中,12 h 后用质构分析仪测定其质构特性。以未经高压脉冲电场处理的样品作为空白对照。

选择的实验参数为:

(1) 电场强度:电场强度分别设置为 15、25、35、45、55 kV/cm,脉冲数为 4,水浴温度为 80℃。

(2) 脉冲数:脉冲处理时间可以通过脉冲数反映,脉冲数越多,处理时间越长。选择的实验参数为:电场强度为 35 kV/cm,脉冲数为 2、4、6、8,水浴温度为 80℃,30 min。

(3) 水浴温度:选定电场强度电场强度为 35 kV/cm,脉冲数为 4,水浴温度分别控制在 50、60、70、80、90℃。

#### 1.3.3 凝胶质构特性的测定

采用 TA-XT plus 型质构分析仪进行测定,选择 TPA 运行模式。测定时选用的测定参数为:选用平底柱形探头 P/50,下压距离 10.0 mm,时间 5 s,引发力 0.049 N,测前、测试、测后速度分别为 5.0、2.0、2.0 mm/s。

#### 1.3.4 凝胶保水性的测定

凝胶保水性(Water holding capacity, WHC)采用文献[18]介绍的离心法进行测定,并稍作改动。取出一定量的凝胶,称量,质量记作  $m_1$ ,将其切成大小均一的颗粒,放入离心管内,离心管质量记为  $m$ 。在 5 000 r/min 下离心 20 min,然后取出凝胶,除去表面的水分再称量,质量记为  $m_2$ 。则保水性的计算公式为

$$W_{\text{HC}} = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} \times 100\% \quad (1)$$

#### 1.3.5 数据统计分析方法

所有实验均重复 3 次。用 SPSS 19.0 软件对数据进行分析,均值之间显著性差异分析采用 Tukey 分析,显著性水平为 0.05。

## 2 结果与分析

### 2.1 乳清蛋白表面疏水性

经测定,未经高压脉冲电场处理的对照样品的相对荧光强度为 31.25。如图 1 所示,与未经高压脉冲电场处理的对照样品相比,接受高压脉冲电场处理的乳清蛋白的相对荧光强度发生了变化,并呈现一定的规律。随着电场强度的增大,相对荧光强度开始提高。当电场强度为 35 kV/cm 时,相对荧光强度达到最大值,与未经过电场处理时相比,提高了 1.8 倍。这表明高压脉冲电场使乳清蛋白蛋白质分子内部疏水相互作用发生了变化,其原因可能是高压脉冲电场改变了乳清蛋白的空间结构,促使更多的疏水性区域暴露出来,表现为蛋白的表面疏水性增加。当电场强度增大到 40 kV/cm 时,相对荧光强度开始下降,其原因有可能是极化的乳清蛋白分子间相互作用,重新形成了蛋白分子聚集体<sup>[13-14]</sup>。

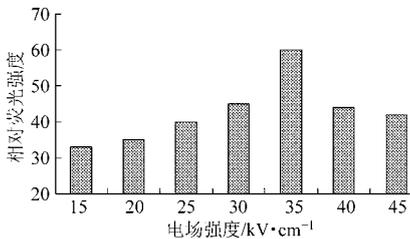


图 1 电场强度对乳清蛋白疏水性的影响

Fig. 1 Effect of pulsed electric field intensity on the hydrophobicity of whey protein

### 2.2 乳清蛋白凝胶质构特性

经测定,未经脉冲电场处理的样品的硬度为  $(23.42 \pm 3.65)$  g。高压脉冲电场处理对乳清蛋白凝胶硬度影响的规律如图 2 所示,图中不同字母表示实验组之间存在显著性差异( $p < 0.05$ )。从图 2 可以看出,与未经脉冲电场处理的样品比较,较低的电场强度处理降低了凝胶的硬度,随着电场强度的逐步提升,硬度开始增强,当电场强度达到 35 kV/cm 时,硬度达到最大值,继续增加电场强度,硬度下降;乳清蛋白凝胶体的硬度随脉冲数的增多而增加,当脉冲数增加到 4 时,再增加脉冲数,硬度变化不显著( $p > 0.05$ );随着水浴温度的提高,乳清蛋白凝胶的硬度提高,在 80℃ 达到最大值,与 70℃ 时差异显著( $p < 0.05$ ),当水浴温度为 90℃ 时,凝胶硬度显著下降( $p < 0.05$ ),但与 70℃ 时差异不显著( $p > 0.05$ )。

经测定,未经脉冲电场处理的样品的弹性为  $0.64 \pm 0.04$ ,从图 3 可以看出,电场强度对乳清蛋白凝胶体弹性的影响曲线呈现一定的规律。在 35 kV/cm 以下,乳清蛋白凝胶体弹性随电场强度的

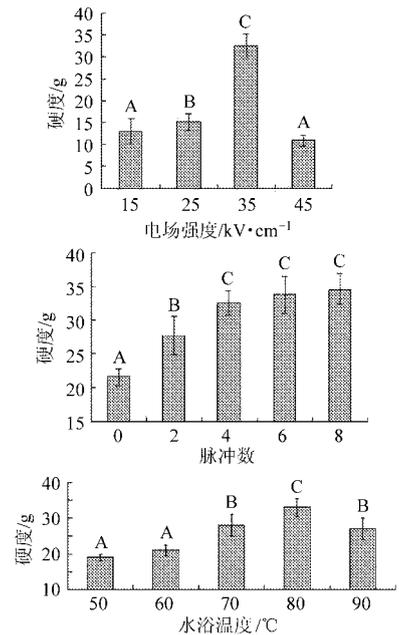


图 2 电场强度、脉冲数与水浴温度对乳清蛋白凝胶硬度的影响

Fig. 2 Effects of electric field strength, pulse numbers and water bath temperature on hardness of whey protein gels

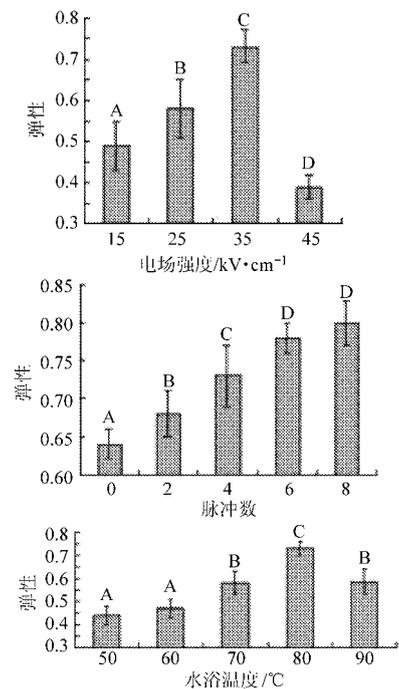


图 3 电场强度、脉冲数与水浴温度对乳清蛋白凝胶弹性的影响

Fig. 3 Effects of electric field strength, pulse numbers and water bath temperature on elasticity of whey protein gels

增加而升高,35 kV/cm 以上,乳清蛋白凝胶体弹性随电场强度增加而降低,产生图形复杂的原因可能是高电场强度使乳清蛋白分子结构发生改变和分子长链产生断裂,电场强度还不能使蛋白分子长链断裂时,电场强度增加,分子结构构象改变,分子结构变小变紧;当电场强度超过乳清蛋白分子结构最大

承受力时,乳清蛋白分子的长链就会断裂<sup>[11]</sup>;乳清蛋白凝胶体弹性随脉冲数的增加而增加,当脉冲数增加到4时,继续增加脉冲数,增幅减小。水浴温度的高低对乳清蛋白凝胶体弹性的影响曲线呈马鞍形。在70℃以下,乳清蛋白凝胶体的弹性随水浴温度的增加而上升,到了80℃,弹性略有下降,在80℃以上,乳清蛋白凝胶体弹性大小随水浴温度的增加而降低。

乳清蛋白凝胶特性的指标多,不同的指标与分子结构的关系不一样,弹性和硬度的高低基本上反映了乳清蛋白网络结构稳定性的好坏。总体来看,电场强度35 kV/cm,脉冲数6~8,水浴温度为80℃时形成的乳清蛋白凝胶的硬度和弹性都相对较高,说明在中等电场强度、脉冲数和温度下能使乳清蛋白形成均匀的网络结构。

### 2.3 乳清蛋白凝胶保水性

电场强度对乳清蛋白凝胶保水性的影响结果如图4所示。经测定,未经脉冲电场处理的对照组的保水性为(62.46 ± 2.67)%。与对照组相比,15~25 kV/cm的电场处理降低了凝胶保水性。这可能是因为,电场作用下蛋白分子开始极化,维持蛋白空间结构的非共价键被破坏,凝胶的网络结构不稳定,从而导致保水性的下降。在电场强度35 kV/cm以上条件下,凝胶保水性增加显著( $p < 0.05$ ),其原因可能有:第一,电场诱导蛋白分子极化后,二硫键、氢键被打破,蛋白分子部分展开与溶剂水相互作用增强,且形成了新的稳定结构;第二,电场使水分子发生聚合,缩小了水分子之间的距离,致使自由水分填补到蛋白质氨基酸侧链周围而变成结合水,由此提高样品的保水性<sup>[11]</sup>;另一方面,电场可以通过电致伸缩作用破坏二价阳离子与蛋白质之间的键合作用,导致添加食盐的乳清蛋白构象发生变化,并降低蛋白质与阳离子之间形成盐桥的可能性,以致凝胶保水性得以提高<sup>[17]</sup>。

脉冲数对乳清蛋白凝胶保水性的影响结果如图4所示,与对照组相比,2~8个脉冲均显著提高了凝胶保水性,当脉冲数为4时,凝胶保水性最好。这说明当脉冲数为4的时候,乳清蛋白形成了新的更为稳定的网络结构,也说明了电场对蛋白质凝胶特性的影响必须通过一定的脉冲数才能产生,在电场强度不足的时候,可以增加脉冲数来补偿。在6~8个脉冲数时,保水性差异不显著( $p > 0.05$ ),这说明当凝胶形成新的稳定的网络结构后,再增加脉冲

数并不能提高其保水性。

水浴温度对乳清蛋白凝胶保水性的影响结果如图4所示。结果显示在50~90℃范围内,不同的水浴温度对乳清蛋白保水性的影响各不相同,差异均很显著( $p < 0.05$ )。最大的保水性出现在70℃,可能是因为50℃和60℃时,蛋白质变性还不充分,在70℃时,乳清蛋白变性形成较为致密的网状结构。而在80~90℃时,蛋白-蛋白相互作用开始增强,这虽然能使凝胶的强度和弹性增加,但过度加热也引起了聚集现象,即蛋白质的变性收缩加剧,使蛋白网络结构部分被破坏,从而表现为保水性降低。

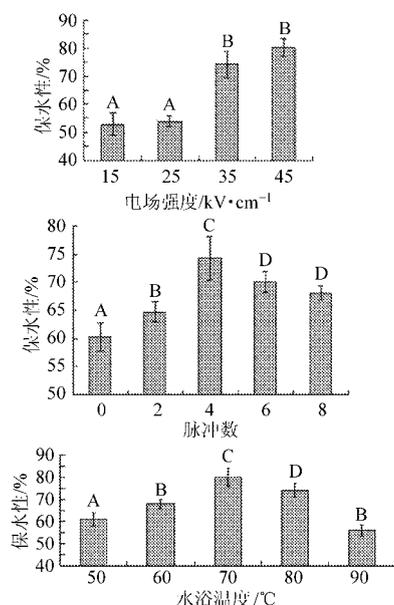


图4 电场强度、脉冲数与水浴温度对乳清蛋白凝胶保水性的影响

Fig. 4 Effects of electric field strength, pulse numbers and water bath temperature on water holding capacity of whey protein gels

### 3 结论

(1)乳清蛋白经高压脉冲电场作用后,所形成凝胶特性有显著变化。与未受高压脉冲电场处理的对照样相比,凝胶硬度、弹性和保水性在电场强度15~25 kV/cm时降低,在电场强度35 kV/cm时显著提高,45 kV/cm时又降低。

(2)在电场强度35 kV/cm条件下,凝胶硬度、弹性和保水性随着脉冲数的增加而增强,但后期增幅变化不显著。

(3)凝胶硬度和弹性在水浴温度为80℃时最佳,保水性在70℃最佳。

### 参 考 文 献

- Wang Juan, Mu Taihua. Effect of high pressure treatment on in vitro digestibility of bovine whey protein gels[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2009, 25(6): 102 ~ 106. (in Chinese)
- 2 Meng Xianghe, Pan Qiuyue, Sun Peilong, et al. Impact of caseinomacropeptide on heat-induced gel strength of neutral whey protein concentrates: model system study[J]. Milchwissenschaft-Milk Science International, 2012, 67(1): 47 ~ 51.
- 3 Cakir E, Daubert C R, Drake M A, et al. The effect of microstructure on the sensory perception and textural characteristics of whey protein/kappa-carrageenan mixed gels[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 26(1): 33 ~ 43.
- 4 崔旭海,孔保华. 环境条件对乳清蛋白凝胶特性和微观结构的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(3): 800 ~ 807.  
Cui Xuhai, Kong Baohua. Influence of environmental conditions on whey protein gels properties and gels microstructure[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(3): 800 ~ 807. (in Chinese)
- 5 Carroll S M, Depeters E J, Rosenberg M. Efficacy of a novel whey protein gel complex to increase the unsaturated fatty acid composition of bovine milk fat[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89(2): 640 ~ 650.
- 6 赵伟,杨瑞金,崔倩. 高压脉冲电场对蛋清单增李斯特菌的杀灭效果[J]. 农业机械学报, 2009, 40(5): 100 ~ 104, 134.  
Zhao Wei, Yang Ruijin, Cui Qian. Synergistic effect of pulsed electric fields on the inactivation of listeria innocuain egg white[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(5): 100 ~ 104, 134. (in Chinese)
- 7 殷涌光,闫琳娜,李玉娟. 用高压脉冲电场对桃汁非热杀菌的研究[J]. 农业机械学报, 2006, 37(8): 89 ~ 92.  
Yin Yongguang, Yan Linna, Li Yujuan. Study on non-thermal sterilization of peach juice by high intensity pulsed electric field[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2006, 37(8): 89 ~ 92. (in Chinese)
- 8 殷涌光,樊向东,刘凤霞,等. 用高压脉冲电场技术快速提取苹果渣果胶[J]. 吉林大学学报:工学版, 2009, 39(5): 1 224 ~ 1 228.  
Yin Yongguang, Fan Xiangdong, Liu Fengxia, et al. Fast extraction of pectin from apple pomace by high intensity pulsed electric field[J]. Journal of Jilin University: Engineering and Technology Edition, 2009, 39(5): 1 224 ~ 1 228. (in Chinese)
- 9 Barsotti L, Dumay E, Mu T H, et al. Effects of high voltage electric pulses on protein-based food constituents and structures[J]. Trends in Food Science and Technology, 2001, 12(3): 136 ~ 144.
- 10 Sui Q A, Roginski H, Williams R P W, et al. Effect of pulsed electric field and thermal treatment on the physicochemical and functional properties of whey protein isolate[J]. International Dairy Journal, 2011, 21(4): 206 ~ 213.
- 11 Li Yingqiu, Chen Zhengxing. Effects of pulsed electric fields on physicochemical properties of soybean protein isolates[J]. LWT-Food Science and Technology, 2007, 40(7): 1 167 ~ 1 175.
- 12 赵武奇,殷涌光,关伟,等. 高压脉冲电场杀菌系统设计与试验[J]. 农业机械学报, 2002, 33(3): 67 ~ 69.  
Zhao Wuqi, Yin Yongguang, Guan Wei, et al. Experimental study on a food pasteurization system by using a high voltage pulsed field[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2002, 33(3): 67 ~ 69. (in Chinese)
- 13 张铁华,殷涌光,刘静波. 高压脉冲电场(PEF)对蛋清蛋白功能特性的影响[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 98 ~ 102.  
Zhang Tiehua, Yin Yongguang, Liu Jingbo. Effects of high intensity pulsed electric fields on functional properties of egg albumen[J]. Food Science, 2007, 28(9): 98 ~ 102. (in Chinese)
- 14 李迎秋,陈正行. 高压脉冲电场对大豆分离蛋白功能性质的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(8): 194 ~ 198.  
Li Yingqiu, Chen Zhengxing. Effect of high intensity pulsed electric field on the functional properties of protein isolated from soybean[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006, 22(8): 194 ~ 198. (in Chinese)
- 15 Alizadeh-Pasdar N, Li-chan E C Y. Comparison of protein surface Hydrophobicity measured at various pH values using three different Fluorescent probes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(2): 328 ~ 334.
- 16 孔保华,王宇,夏秀芳,等. 加热温度对猪肉肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 50 ~ 54.  
Kong Baohua, Wang Yu, Xia Xiufang, et al. Influence of heating temperature on gel properties of porcine myofibrillar protein[J]. Food Science, 2011, 32(5): 50 ~ 54. (in Chinese)
- 17 陆海霞,张蕾,李学鹏,等. 超高压对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 1 107 ~ 1 114.  
Lu Haixia, Zhang Lei, Li Xuepeng, et al. Effect of ultra-high pressure on gel properties of myofibril of jumbo squid, dosidicus gigas[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(5): 1 107 ~ 1 114. (in Chinese)
- 18 陈从贵,李珂昕,马力量,等. 超高压对含有琼脂猪肉凝胶特性影响的试验[J]. 农业工程学报, 2008, 24(10): 217 ~ 221.  
Chen Conggui, Li Kexin, Ma Liliang, et al. Effects of ultra high pressure on the properties of porkmeat gels containing agar[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2008, 24(10): 217 ~ 221. (in Chinese)
- 19 陆剑锋,邵明栓,林琳,等. 卡拉胶和超高压对鱼糜凝胶性质的影响[J]. 农业机械学报, 2011, 42(12): 146 ~ 152.  
Lu Jianfeng, Shao Mingshuan, Lin Lin, et al. Effects of ultra-high pressure and carrageenan on gelling properties of surimi from silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(12): 146 ~ 152. (in Chinese)
- 20 马永昆,白洁,魏本喜,等. 基于 SPME-GC-MS 的超高压处理黑莓汁香气分析[J]. 农业机械学报, 2011, 42(7): 170 ~ 175.  
Ma Yongkun, Bai Jie, Wei Benxi, et al. Aromatic compounds in blackberry juice after ultrahigh pressure treatment by SPME-GC-MS[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(7): 170 ~ 175. (in Chinese)