

脂对浓缩乳蛋白溶解稳定性的影响

胡锦涛^{1,2,3}, 孙晓蕾¹, 庄丰辰¹, 张洪超¹, 金跃杰², 周 鹏^{*1,2,3}

(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. 江南大学 食品安全与营养协同创新中心, 江苏 无锡 214122)

摘要: 以浓缩乳蛋白(MPC)为研究对象, 通过向 MPC 中加入不同熔点的乳脂模拟物来制备含脂浓缩乳蛋白模型体系, 旨在研究脂对储藏过程中 MPC 溶解稳定性的影响。分别考察了模型含脂乳粉在 45 °C(相对湿度 23 %)和 35 °C(相对湿度 11 %)下分别储藏 30 d 和 60 d 后的溶解度变化, 通过讨论储藏过程中脂质氧化、蛋白氧化、蛋白不溶物的形成等对 MPC 溶解度下降的分子机制进行了探索。研究结果表明, 虽然不同熔点的脂在储藏初期时对 MPC 溶解度的下降具有一定的影响, 但是脂质氧化和蛋白氧化都不是 MPC 在储藏过程中溶解度下降的关键因素, 经由氢键、二硫键和疏水相互作用所形成的酪蛋白不溶物才是影响 MPC 溶解度的主要原因。

关键词: 饱和脂肪酸甲酯; 浓缩乳蛋白; 溶解稳定性; 分子间相互作用; 酪蛋白不溶物

中图分类号: TS 252.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2016)07—0692—07

Effects of Lipid on the Solubility of MPC during Storage

HU Jinhua^{1,2,3}, SUN Xiaolei¹, ZHUANG Fengcheng¹, ZHANG Hongchao¹, JIN Yuejie², ZHOU Peng^{*1,2,3}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Synergetic Innovation Center of Food Safety and Nutrition, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: This study was focus on the effect of lipid on the protein solubility of milk protein concentrate, which lacks of intensive study now. A model system was established using fatty acid methyl ester with different melting points including methyl laurate and methyl myristate. The spray dried milk powder prepared with various lipids was storage at 45 °C (RH 23%) for 30 days and at 35 °C (RH 11%) for 30 days, respectively. The changes in the powder solubility under different conditions were studied and the mechanism of solubility decrease was explored. The effect of lipid on protein solubility was insignificant. The most prominent determinant for solubility decrease was related neither to lipid oxidation nor to protein oxidation. The interaction between caseins caused insoluble aggregates formation during storage, which decreased the protein solubility. The main driving forces for protein aggregation were in the prefer orders of hydrogen bond > disulfide bond > hydrophobic interaction.

Keywords: fatty acid methyl ester, milk protein concentrate, solubility, molecular interaction, casein aggregates

收稿日期: 2015-06-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31471697); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20150150); 江南大学自主科研计划青年基金项目(JUSRP11440); 江苏省食品安全与质量控制协同创新中心产业发展项目。

作者简介: 胡锦涛(1982—), 女, 江苏无锡人, 理学博士, 副教授, 主要从事食品科学研究。E-mail: hujinhua@jiangnan.edu.cn

* 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

牛乳中含有丰富的营养^[1-2],通过膜过滤与喷雾干燥技术能够制备浓缩乳蛋白(milk protein concentrate, MPC)干粉。MPC 作为高蛋白、低乳糖的功能性乳粉配料,已经被广泛应用在食品工业上,如生产营养品^[3]、干酪^[4]和酸奶^[5]等。MPC 不仅可用来调整食品的蛋白质含量,而且还能缓解诸如奶酪加工中出现的过度褐变和发酵过度的不良现象^[6],此外它也能在一定程度上改善食品的质构^[7]。MPC 虽然具有较好的营养和功能特性,但是它的溶解度在储藏过程中容易下降,限制了 MPC 的应用^[8]。

有研究指出 MPC 中的乳脂可能会影响 MPC 在储藏过程中的溶解度变化。首先,在乳粉的制备与储藏中,即使含脂量较低的乳粉也会发生脂质迁移现象,迁移到乳粉表面的脂质会影响乳粉的润湿时间^[9];其次,脂质的氧化也会导致蛋白质的交联,降低蛋白质的溶解度^[10]。尽管乳脂也是牛乳中的主要组分之一,现阶段针对 MPC 溶解度储藏稳定性的研究中有关脂质对溶解行为影响的报导却还比较少。

牛乳中含有多达 400 余种的脂肪酸,乳脂肪的组成极为复杂,因此乳脂肪的熔点特征是由 3 个主要熔点区组成的宽泛的熔点范围^[11-12]。作者选择了熔点为 3.5 ℃的月桂酸甲酯和熔点为 16.9 ℃的肉豆蔻酸甲酯作为乳脂模拟物分别模拟乳脂的低熔点区和中熔点区,主要考察脂的熔点是否会影响以及如何影响 MPC 在储藏过程中的溶解度变化,探究含脂浓缩乳蛋白模型体系在 45 ℃、相对湿度(relative humidity, RH)23 %和 35 ℃、RH 11 %的不同环境中分别储藏 30 d 和 60 d 后的溶解度变化;另外还进一步探索了储藏过程中 MPC 溶解度下降的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

浓缩乳蛋白:(Milk Protein Concentration 485, MPC485, 主要组分所占比例为蛋白质 80.51 %、脂质 1.42 %、乳糖 5.49 %、水分 5.74 %),新西兰恒天然集团产品;月桂酸甲酯(C12)、肉豆蔻酸甲酯(C14):上海晶纯生化科技股份有限公司产品;DTT:西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司产品;丙烯酰胺、SDS、Tris、甘油、考马斯亮蓝 G250、 β -巯基乙醇:上海生工生物工程技术有限公司产品;甲醇、

盐酸胍等试剂:国药集团化学试剂有限公司产品。

1.2 仪器与设备

Ultra Turrax T18 高速分散机、Vortex Genius 3 漩涡振荡器:德国 IKA 公司产品;AH-2010 超高压纳米均质机:加拿大 ATS 工业系统有限公司产品;B-290 喷雾干燥仪:瑞士步琪公司产品;EL204 电子天平:瑞士梅特勒-托利多国际股份有限公司产品;Heraeus Multifuge X1R 台式高速冷冻离心机:赛默飞世尔科技(中国)有限公司产品;UV-2700 紫外可见分光光度计:日本岛津公司产品;Mini-PROTEIN Tetra Cell 电泳仪:美国 Bio-rad 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 含脂浓缩乳蛋白模型体系的制备 将商业 MPC485 以超纯水溶解并搅拌均匀,加入乳脂模拟物配制乳液,经预试验后确定乳脂模拟物与 MPC485 的质量比为 1:6,乳液固形物的质量分数为 15%。首先用 1 mol/L 的 NaOH 溶液调节溶液 pH 至 7.0,然后将烧杯放置在 50 ℃的恒温振荡水浴槽中孵育 1 h,均匀混合之后通过分散机将溶液高速分散 2 min,并在 30 MPa 下将溶液连续 4 次高压均质,再经由喷雾干燥得到含脂浓缩乳蛋白模型体系。将制备得到的新鲜样品收集后密封在防水铝箔袋中,储藏在-50 ℃条件下。样品使用前,先将铝箔袋取出后放置在盛有干燥硅胶的干燥器中平衡 2 h,样品分别在 $a_w=0.23$ 和 $a_w=0.11$ 的干燥器中平衡 2 d,而后对应地放置在 45 ℃和 35 ℃的培养箱中储藏。

1.3.2 蛋白质溶解度的测定 测定蛋白质溶解度的实验中需要对溶解过程进行精确控温,实验设计中将酶反应器作为溶解装置,通过恒温循环水浴锅连接酶反应器来控制测试时的温度。准确称取一定量的喷雾干燥粉于 50 mL 酶反应器中,加入适量的 PBS 缓冲溶液(10 mmol/L, pH=7.0)调节溶液的浓度为质量分数 5%,25 ℃下磁力搅拌 30 min。取搅拌后的溶液放置在 15 mL 离心管中,在 25 ℃下离心 10 min(1 000 g),然后过滤上清液(GF/A 超细纤维滤纸,孔径 $\times 1.6 \mu\text{m}$, Whatman)。分别取搅拌后的溶液与过滤后的上清液稀释适当的倍数,采用 Bradford 法检测总蛋白和溶解蛋白的浓度,检测波长为 595 nm,每个样品平行测定两次。

1.3.3 脂质过氧化值(POV 值)的测定 乳粉中脂质过氧化值的测定主要参考了 GB/T5009.37-2003 与 Smet^[13]的方法并作相应的调整。标准曲线的绘

制:参照 GB/T5009.37-2003-过氧化值-比色法中的标准曲线绘制方法,实验中使用硫酸氢铵替代国标中的硫酸氢钾。POV 的表示方式参照国标的处理方法。

1.3.4 蛋白质羰基值的测定 羰基值的测定参照 Hawkins 等的方法^[14-15]。羰基含量按朗伯比尔定律计算。测定蛋白质浓度时以 BSA 溶液 (0.25~2.0 mg/mL) 为标准,测定 280 nm 处的吸光值,并根据吸光值与蛋白质浓度的关系,绘制标准曲线。

1.3.5 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 通过 SDS-PAGE 观测样品溶解过程中蛋白质组分溶出的情况。取溶出液与样品缓冲液(每 1 mL 样品缓冲液中含 50 μ L β -巯基乙醇)等体积混合,将混合液在沸水浴中煮沸 3 min,冰浴冷却。电泳用浓缩胶和分离胶的浓度分别为 5 g/dL 和 12 g/dL,上样量为 15 μ L。电泳结束后,取下胶版并置于培养皿中,倒入适量考马斯亮蓝溶液进行染色;3 h 后回收染色液,分批次更换脱色液进行脱色,直至胶版背景变得清晰。取出胶版后拍照,最后将胶版重新放回含脱色液的培养皿中保存。

2 结果与讨论

2.1 蛋白质溶解度的变化

添加月桂酸甲酯(C12)和肉豆蔻酸甲酯(C14)后的 MPC(脂肪酸与蛋白的质量比例为 1:6,固形物质量分数 15%)经喷雾干燥得到含脂浓缩乳蛋白模型体系记为 MPC+C12 和 MPC+C14。对照组为不添加乳脂模拟物的 MPC(记为 MPC),对照组中的总固形物质量分数为 15%。

首先将新鲜制备的 MPC、MPC+C12 和 MPC+C14 密封包装后在 45 $^{\circ}$ C(RH 23%)下储藏 30 d,定期检测浓缩乳蛋白干粉中蛋白质溶解度的变化结果见图 1。

在 45 $^{\circ}$ C(RH 23%)下储藏时,不同乳粉中蛋白质的溶解度呈现相似的下降趋势。第 3 天时,所有样品的溶解度均明显的下降,其中 MPC 的溶解度下降趋势最小,下降了 28%,含脂肪酸甲酯的乳粉中蛋白质溶解度下降了约 37%~39%。7 d 后,蛋白质溶解度变化趋于稳定,其中 MPC、MPC+C12 和 MPC+C14 的蛋白质溶解度分别下降了 49%、51%和 52%。由此可见,脂质在一定程度上加速了乳粉中蛋白质溶解度的下降,但受储藏温度的影响,对照组 MPC 的溶解度下降速度也较快,这导致了对照组和

模型组溶解度下降趋势的差异性不显著。另外,还观察了在 20 $^{\circ}$ C(RH 23%)下储藏了 60 d 的 MPC 对照组样品,没有观测到样品中蛋白质溶解度的变化(数据未显示)。这说明相比于不同熔点的脂的影响,储藏温度对蛋白质溶解度变化的影响也很重要,所以进一步考察了较低温度和较低湿度的储藏条件对 MPC、MPC+C12 和 MPC+C14 的影响,将样品密封包装后在 35 $^{\circ}$ C(RH 11%)下储藏 60 d,定期检测乳粉中蛋白质溶解度的变化(图 2)。

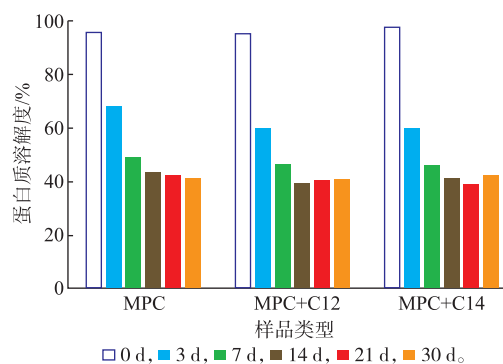


图 1 样品在 45 $^{\circ}$ C 和 RH 23% 储藏 30 d 内溶解度的变化
Fig. 1 Change in solubility of milk powders during storage at 45 $^{\circ}$ C and RH 23% for 30 D

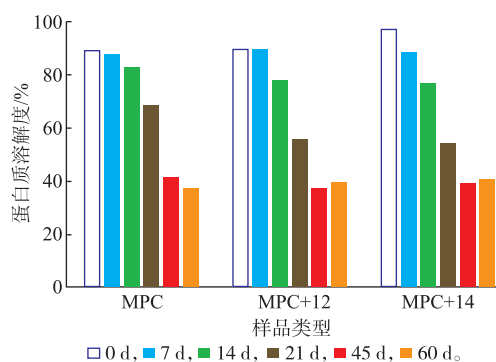


图 2 样品在 35 $^{\circ}$ C 和 RH 11% 储藏 60 d 内溶解度的变化
Fig. 2 Change in solubility of milk powders during storage at 35 $^{\circ}$ C and RH 11% for 60 d

图 2 显示了在 35 $^{\circ}$ C(RH 11%) 下储藏 60 d 后得到的 MPC 及含脂肪酸甲酯的样品中蛋白质溶解度下降的情况。在储藏前期时(0~21 d),含熔点较高的肉豆蔻酸甲酯(C14)的样品中蛋白质溶解度下降幅度(44.3%)高于含熔点较低的月桂酸甲酯(C12)的样品(37.1%)以及对照组 MPC(22.6%);储藏后期(21~60 d)几种样品的蛋白质溶解度下降程度趋于

一致,到了60 d时,所有样品的溶解度均下降了57%。

对比图1和图2,可以发现,在45℃(RH 23%)下储藏的样品中蛋白质溶解度下降的速率远远大于35℃(RH 11%)下样品溶解度下降的速率。当蛋白质的溶解度下降了一半时,45℃的储藏条件只需要3~7 d左右的时间,而35℃的储藏条件则需要21~45 d。因此,储藏温度对MPC及含脂肪酸甲酯的样品中蛋白质的溶解度都具有重要的影响。另外,不同熔点的脂在储藏初期时对MPC溶解度的下降具有一定的影响;而储藏较长的一段时间后,模型含脂乳粉中的溶解度下降程度会和MPC对照组趋于一致。

2.2 储藏过程中溶解度下降的机理讨论

通过讨论含脂浓缩乳蛋白模型体系在储藏过程中溶解度下降的机理来解析不同熔点的脂质对储藏过程中MPC溶解度变化影响并不十分显著的原因。机理讨论主要以35℃(RH 11%)下储藏的样品为模型,分别讨论脂质氧化、蛋白氧化和蛋白不溶物的形成,考察影响溶解度下降的主要因素。

2.2.1 脂质氧化的影响 首先考察了饱和脂肪酸甲酯在储藏过程中氧化的情况。检测含脂乳粉中脂质氧化的指标有多种,如过氧化值(POV)、硫代巴比妥酸(TBA)方法和感官评定等,每种方法检测的脂质氧化阶段不同,也有各自的应用限制^[16]。另外,提取脂肪时使用的溶剂和去除溶剂的方式都有可能影响测量结果的准确性^[17]。作者通过测定乳粉复水后溶液的过氧化值(POV)来表征乳粉中脂肪的氧化情况。

由图3可见,含饱和脂肪酸甲酯的样品在第45 d时POV都有一定的增加,到第60 d时,所有样品的POV值都在0.2 meq/kg左右,这说明除了所添加的饱和脂肪酸甲酯以外,MPC中微量残余的乳脂质(约1%)也是造成脂质氧化的原因之一。总的说来,3种样品的POV都维持在相对较低的水平,变化范围小于0.5 meq/kg,说明脂质氧化在3种样品中都并不突出,脂质氧化对溶解度下降的影响并不显著。

2.2.2 蛋白氧化的影响 除了脂质氧化的可能性,乳粉中的蛋白质在生产及储藏过程中也会发生氧化,这与蛋白质中氨基酸的组成有关。酪蛋白中缺少足够的脯氨酸,其二级结构中 α -螺旋和 β -折叠的数量减少,导致了酪蛋白高级结构呈现无规则状

态,暴露出较多可被氧化的氨基酸,增加了酪蛋白氧化的敏感性^[18]。羰基的形成是蛋白质氧化对初级结构影响的重要表征。

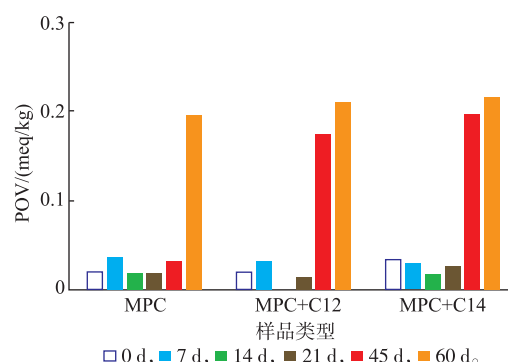


图3 乳粉样品在35℃储藏60 d内过氧化值(POV)的变化

Fig. 3 Change of POV in different milk powders stored at 35℃ for 60 d

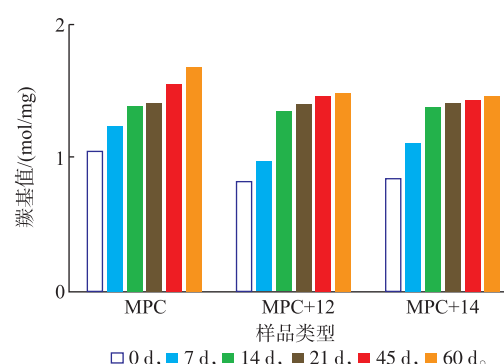
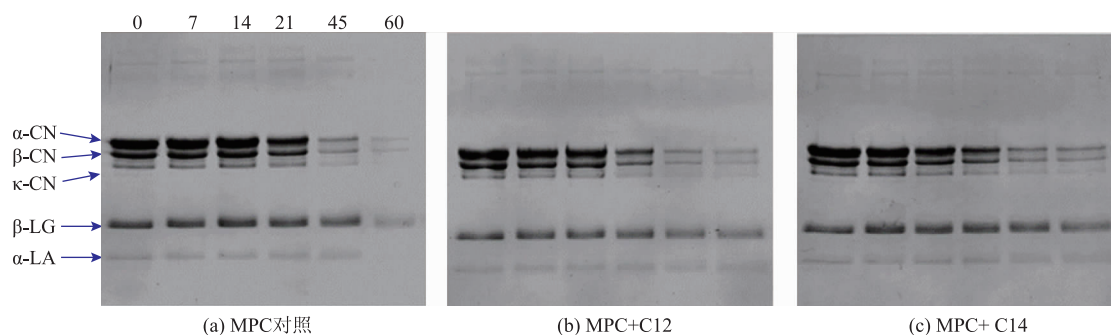


图4 样品在35℃储藏60 d内羰基含量的变化

Fig. 4 Change of carbonyl content in different milk powders stored at 35℃ for 60 d

由图4可见,样品在35℃下储藏60 d的过程中,几种样品的羰基值有所增加。Hamad^[19]在利用紫外线照射储藏中的MPC70时观察到了蛋白质羰基值的明显增加,检测到的羰基值变化范围为2~15 nmol/mg蛋白质。与Hamad报道的数据相比,图4中3种样品的蛋白质羰基值都相对较低,因此,蛋白氧化对溶解度下降的影响也不显著。

2.2.3 蛋白质组分在储藏期内溶解情况的变化 结合脂质氧化与蛋白质氧化的指标分析,可以发现,二者的氧化对蛋白质溶解度的下降可能造成了一定的影响,但都不是最主要的因素。因此,通过还原型SDS-PAGE进一步观察了蛋白质组分在储藏期内溶解情况的变化(图5)。



胶版上方数字表示储藏时间(0,7,14,21,45,60 d)

图5 35 °C储藏时上清液中可溶性蛋白的凝胶电泳图

Fig. 5 Gel electrophoresis for supernatants from milk powders stored at 35 °C

图5显示随着储藏时间的增加,几种样品溶解后的上清液中蛋白质组分的条带逐渐变浅,这说明越来越多的蛋白质成为不溶物沉降下来,模型乳粉的溶解度随着储藏时间下降。比较各蛋白组分的变化情况可知,上清液中 α -酪蛋白与 β -酪蛋白的下降趋势最为明显,这与文献报道中主要是酪蛋白构成了不溶物^[20]结论一致。

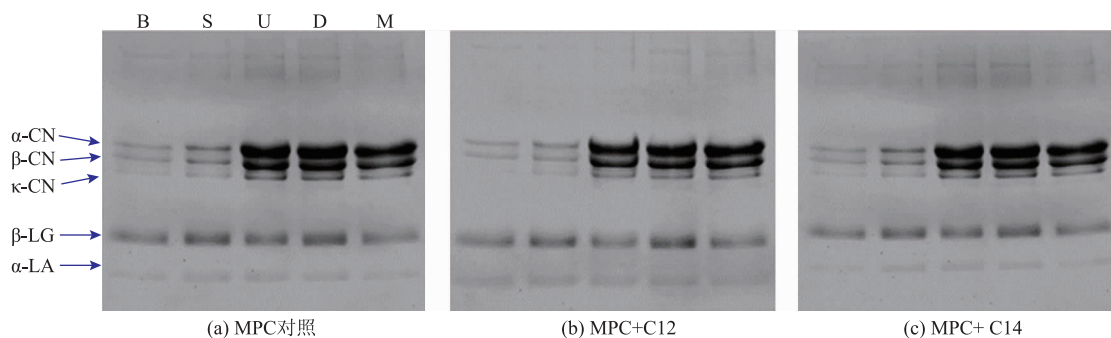
2.2.4 不溶物形成的分子机制考察 造成蛋白质不溶物形成的分子机制主要有共价相互作用和非共价相互作用两种,前者主要包括通过巯基-二硫键交换或巯基氧化导致的分子内或分子间的二硫键,后者包括疏水相互作用、氢键、离子键及其他弱相互作用^[21]。

为了进一步探讨 MPC 及含脂样品中不溶性蛋白质产生的分子机制,按照蛋白质溶解度测试的方法,将样品分别分散在 5 种不同的溶液中:10 mmol/L PBS 溶液 (pH=7.0)、质量分数 0.1% SDS 溶液、8 mol/L 尿素溶液、10 mmol/L DTT 溶液、0.1% SDS+8

mol/L 尿素+10 mmol/L DTT 溶液,其中后 4 种溶液均以 PBS(10 mmol/L, pH=7.0)为溶剂。其中,SDS 是阴离子去污剂,可破坏蛋白质之间的疏水相互作用;高浓度的尿素能够破坏蛋白质内部的氢键,也会对疏水相互作用产生一定的破坏;DTT 是常见的蛋白质还原剂,可以阻止蛋白质中半胱氨酸之间形成的分子内或分子间二硫键,而对于蛋白质内部结构中的二硫键,需要先用 SDS、尿素或盐酸胍等将蛋白质变性后再用 DTT 还原。

凝胶电泳图(图6)显示了 35 °C 条件下储藏 60 d 后的样品溶解后的上清液中的可溶性蛋白的变化。可以发现,添加还原剂和变性剂后,酪蛋白条带逐渐加深,这也证实了储藏过程中蛋白不溶物主要是由酪蛋白组成。

表1总结了不同的化学试剂对蛋白质溶解度的影响,由此解析不溶物形成的分子间作用力。可以发现,向 PBS 中加入还原剂或变性剂后蛋白质的溶解度均会增加,但 8 mol/L 的尿素对溶解度的改



胶版上方标记代表试剂类型:B-PBS,S-PBS+0.1% SDS,U-PBS+8 mol/L Urea,D-PBS+10 mmol/L DTT,M-PBS+0.1% SDS+8 mol/L Urea+10 mmol/L DTT

图6 35 °C条件下储藏 60 d 后不同溶液中上清液可溶性蛋白的凝胶电泳图

Fig. 6 Gel electrophoresis for supernatants from powders stored at 35 °C for 60 d

善效果最明显,说明氢键在不溶物中起着重要的作用;其次为 DTT,说明不溶物中存在一定量的二硫键;最后为 SDS,表示疏水相互作用对不溶物的形成也有贡献;当把几种试剂都加入之后,蛋白质几乎全部溶解。文献中将 MPC 复溶于 20 ℃或 25 ℃的水中时离心沉降的部分称为不溶物,当不溶物在更高的温度(50 ℃)复溶时不溶物会全部溶解,由于温度

升高会破坏氢键,因此氢键是酪蛋白不溶物形成的主要驱动力,这与作者的结论一致。

从以上实验结果看,在 35 ℃下储藏 60 d 后的含脂浓缩乳蛋白模型体系中蛋白不溶物的形成受到了氢键、二硫键和疏水相互作用的共同影响,其中影响较大的是氢键作用,其次是二硫键,最后是疏水相互作用。

表 1 样品复水于含不同变性剂/还原剂的溶液中时蛋白质的溶解度的变化(35 ℃储藏 60 d)

Table 1 Protein solubility of milk powders stored at 35 ℃ for 60 d in various solutions with denaturing or reducing chemicals

溶液	蛋白质的溶解度/%		
	MPC 对照	MPC+C12	MPC+C14
PBS (10 mmol/L, pH=7.0)	37.66±0.50	40.18±0.42	41.24±0.10
PBS with 0.1% SDS	50.58±2.18	50.04±1.54	50.01±3.10
PBS with 8 mol/L Urea	98.34±1.87	98.56±0.55	98.15±1.85
PBS with 10 mmol/L DTT	93.91±0.14	89.12±2.88	87.39±2.53
PBS with 0.1%SDS, 8 mol/L Urea and 10 mmol/L DTT	99.04±3.44	98.63±0.19	96.72±3.28

2.2.5 脂对 MPC 不溶物形成的影响讨论 脂质对 MPC 溶解度的影响主要是由脂质-蛋白相互作用以及脂质氧化所引起的。脂质-蛋白质相互作用的方式有多种,包括氢键、静电作用力、疏水相互作用、共价键和范德华力。蛋白质-脂质的复合物通常受到不止一种的相互作用力的影响,而且二者的作用还会受到 pH、离子强度和温度等的影响。脂质自动氧化除了产生不良的风味劣化乳制品以外,氧化所产生的自由基还会转移至蛋白质,诱导蛋白质的氧化,引发蛋白质的聚集。自由基、氢过氧化物和终产物丙二醛还可以与蛋白质中的半胱氨酸、赖氨酸和组氨酸等作用,形成蛋白质之间的交联网络,使得乳粉的溶解性、乳化性和起泡性等性质降低。另外,在 MPC 储藏过程中,脂质还有可能在乳粉中发生迁移,导致脂质-蛋白质的相互作用,并最终影响到乳粉的溶解性;脂质迁移的速率与方向可能与脂质的熔点有关。

在以饱和脂肪酸甲酯为代表的乳脂模拟物的研究体系中,脂质氧化对于 MPC 在储藏过程中的溶解度劣化的影响并不显著。另外,对于不溶物形成的分子间作用力的解析也没有显示出乳脂模拟物体系和 MPC 对照体系之间的明显差异,脂质-蛋

白质相互作用对于 MPC 溶解度下降的影响在本体系中也不显著。Havea 在研究 MPC 中蛋白质-蛋白质间的相互作用时发现,MPC 不溶物的主要成分为疏水性酪蛋白(主要是 α_s -酪蛋白和 β -酪蛋白),而且不溶物主要是蛋白质之间通过非共价相互作用形成^[21]。

3 结 语

以不同熔点的饱和脂肪酸甲酯作为乳脂模拟物经由喷雾干燥制备得到模型含脂浓缩乳蛋白模型体系,考察了样品在 45 ℃和 35 ℃下分别储藏 30 d 和 60 d 后的溶解度变化,并讨论了储藏过程中 MPC 溶解度下降的分子机制。研究结果表明,不同熔点的脂质对储藏过程中 MPC 的溶解稳定性有一定的影响,特别是在储藏前期时。脂质氧化和蛋白氧化并不是 MPC 在储藏过程中溶解度下降的主要原因,蛋白不溶物的形成才是影响 MPC 溶解度的关键因素。影响不溶物形成的主要分子间作用力是氢键,其次为二硫键,最后为疏水相互作用。还原型 SDS-PAGE 中酪蛋白条带的加深则证实了储藏过程中蛋白不溶物主要是由酪蛋白组成的。脂质对于酪蛋白不溶物形成的影响则需要更深入的探索。

参考文献:

- [1] 夏文水, Sindayikengera Séverin. 食品中乳蛋白的重要作用[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(6): 100-105.
XIA Wenshui, Sindayikengera Séverin. Study on the rheological properties of whey protein [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(6): 100-105. (in Chinese)
- [2] 和占星, 王向东, 黄梅芬, 等. 中甸牦牛、迪庆黄牛和犏牛的乳的主要营养成分比较[J]. 食品与生物技术学报, 2015(12).
HE Zhanxing, WANG Xiangdong, HUANG Meifen, et al. Comparison of the major nutritional components of milk from Zhongdian yak, Diqing Yellow cattle and cattle-yak[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015, 34(12): 1294-1301. (in Chinese)
- [3] BANACH J C. Modification of milk protein concentrate and applicability in high-protein nutrition bars[M]. Iowa State University Master degree thesis, 2012.
- [4] HUSSAIN R, GAIANI C, SCHER J. From high milk protein powders to the rehydrated dispersions in variable ionic environments: A review[J]. **Journal of Food Engineering**, 2012, 113(3): 486-503.
- [5] Guzmán-González M, FEDERICO M, AMIGO L. Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low-fat set-type yoghurt model system. Use of caseinates, co-precipitate and blended dairy powders [J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2000, 80(4): 433-438.
- [6] REHMAN S U, FARKYE N Y, CONSIDINE T, et al. Effects of standardization of whole milk with dry milk protein concentrate on the yield and ripening of reduced-fat Cheddar cheese[J]. **Journal of Dairy Science**, 2003, 86(5): 1608-1615.
- [7] SINGH H. Interactions of milk proteins during the manufacture of milk powders[J]. **Le Lait**, 2007, 87(4-5): 413-423.
- [8] DE C M, HARPER W J. Basic functionality of commercial milk protein concentrates [J]. **Milchwissenschaft**, 2002, 57(7): 367-370.
- [9] GAIANI C, MORAND M, SANCHEZ C, et al. How surface composition of high milk proteins powders is influenced by spray-drying temperature[J]. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2010, 75(1): 377-384.
- [10] SAEED S, FAWTHROP S A, Howell N K. Electron spin resonance (ESR) study on free radical transfer in fish lipid-protein interaction[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 1999, 79(13): 1809-1816.
- [11] MACGIBBON A K H. Thermal analysis of milk fat and butter. Chemistry in New Zealand, 1988, 52(3): 59.
- [12] KIM E H J, CHEN X D, PEARCE D. Melting characteristics of fat present on the surface of industrial spray-dried dairy powders [J]. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2005, 42(1): 1-8.
- [13] SMET K, DE B J, DE C S, et al. Oxidative stability of UHT milk as influenced by fatty acid composition and packaging[J]. **International Dairy Journal**, 2009, 19(6): 372-379.
- [14] HAWKINS C L, MORGAN P E, DAVIES M J. Quantification of protein modification by oxidants[J]. **Free Radical Biology and Medicine**, 2009, 46(8): 965-988.
- [15] 刘建奎, 景浩. Fenton 体系的优化及其对酪蛋白的氧化作用[J]. 食品科学, 2014(13): 74-80.
LIU Jianlei, JIN hao. Optimization of fenton reaction system and its inductive effect on casein oxidation [J]. **Food Science**, 2014 (13): 74-80. (in Chinese)
- [16] LIANG J H. Kinetics of fluorescence formation in whole milk powders during oxidation [J]. **Food Chemistry**, 2000, 71(4): 459-463.
- [17] 邹英昭. 乳粉制品中脂肪过氧化值测定方法的研究[J]. 食品工业科技, 2002, 23(7): 66-67.
ZOU Yingzhao. Study on the determination of fats peroxide value of milk powder products[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2002, 23(7): 66-67. (in Chinese)
- [18] FOX P F, MCSWEENEY P L H. Dairy chemistry and biochemistry. Springer Science & Business Media UK, 1998.
- [19] SEMAGOTO H M. The effects of UV induced photo-oxidation on the physicochemical properties of milk protein concentrate[D]: Jiangnan University Master thesis, 2014.
- [20] ANEMA S G, PINDER D N, HUNTER R J, et al. Effects of storage temperature on the solubility of milk protein concentrate (MPC85). **Food Hydrocolloids**, 2006(20): 386-393.
- [21] HAVEA P. Protein interactions in milk protein concentrate powders[J]. **International Dairy Journal**, 2006, 16(5): 415-422.