

谷氨酰胺转氨酶在酸奶中的应用研究

李洪波, 张君颜, 李卿, 张晶晶, 史丽倩, 赵琳, 韩冉, 于景华* (天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要 [目的]考察谷氨酰胺转氨酶(TGase)添加工艺对脱脂酸奶品质的影响,确定TGase在脱脂酸奶中的添加条件。[方法]采用2种不同的TGase添加工艺生产酸奶,一种是和发酵剂同时添加,不进行灭活处理,一种是TGase交联酸奶蛋白后加热钝化酶活力。通过凝乳时间、表观黏度、质构、乳清析出量等的比对确定TGase在脱脂酸奶中的添加方式。[结果]TGase的2种添加方式都可以改善脱脂酸奶的质地,TGase交联酸奶较低的添加量即可达到较大的改善作用。综合口感和经济效益两方面考虑,TGase添加方式为与发酵剂同时添加,最适添加量为0.4 g/L。[结论]通过TGase的添加可以显著改善脱脂酸奶的凝胶特性和品质,为天然、绿色脱脂酸奶产品的开发提供了理论基础。

关键词 谷氨酰胺转氨酶;酸奶;质构特性

中图分类号 TS252.54 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)18-0086-03

Application of Transglutaminase in Yoghurt

LI Hong-bo, ZHANG Jun-yan, LI Qing, YU Jing-hua* et al (College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457)

Abstract [Objective] To study effects of TGase addition methods on quality of nonfat yoghurt and determine the addition conditions. [Method] Two different addition methods of TGase were compared. One was to add TGase and fermentation agent into nonfat yoghurt at the same time, the other was to add fermentation agent after cross-linking by TGase following inactive. The addition method of TGase was determined by comparing the fermentation time, apparent viscosities, texture and whey syneresis. [Result] Two addition methods of TGase could improve the quality of nonfat yoghurt. The properties of nonfat yoghurt cross-linked by active TGase were greatly improved. Considering both taste and economic benefit, the addition of TGase with fermentation agent was chose, and the optimum adding amount was 0.4 g/L. [Conclusion] Addition of TGase can improve gel property and quality of nonfat yoghurt, and this result can provide theoretical basis for developing natural and green nonfat yoghurt.

Key words Transglutaminase; Yoghurt; Textural properties

谷氨酰胺转氨酶(TGase, EC 2.3.2.13)是一种催化酰基转移反应的酶,它通过谷氨酰胺残基的 γ -羧酰胺基(氨基受体)和赖氨酸残基的 ϵ -氨基或其他伯胺基(氨基供体)之间的酰基转移反应形成 ϵ -(γ -谷氨基)赖氨酸肽键,从而实现蛋白质分子内、分子间的交联^[1]。它可以在不改变食品pH、颜色和风味的前提下,改善食品蛋白质的发泡性、稳定性、乳化性、凝胶性和持水能力等多种性质,因此TGase被誉为“21世纪超级黏合剂”^[2]。

酸奶的营养价值和保健功能使其成为全球最受欢迎的食品之一。目前脱脂酸奶或低脂酸奶越来越受到人们的青睐,但是酸奶中脂肪的减少或全部去除会影响酸奶的品质,降低消费者的可接受性。为了满足人们对脱脂酸奶的要求,生产商已经采用了一些方法改善其质地,如增加酸奶中非脂类固形物的含量,或者在脱脂酸奶中添加天然或合成的稳定剂。但是现在大量使用的稳定剂以化学合成为主,给人体健康带来了潜在的威胁,不被消费者接受。因此,TGase被用来改善脱脂酸奶的特性和质地。该酶可以增加酸奶的凝胶强度、黏性、持水性、稳定性、凝乳性和机械性能,从而达到对酸乳品质改善的作用^[3-5]。该研究通过对凝乳时间、表观黏度、质构、乳清析出量等指标的对比分析了不同TGase添加工艺对脱脂酸奶品质的影响,并最终确定TGase在脱脂酸奶中的添加条件。

1 材料与方法

1.1 材料 谷氨酰胺转氨酶,脱脂奶粉,白砂糖,发酵剂。主要仪器:Lead-tech高压蒸汽灭菌锅,赛多利斯BSA124S电子秤,高压均质机,SPX-250B-Z型恒温培养箱,TDZ5-WS冷冻离心机,DV-11黏度计,质构分析仪。

1.2 方法

1.2.1 酸奶制备的工艺流程。配制12%还原乳→均质→95℃巴氏杀菌→冷却至42℃→接种发酵剂→分装→42℃发酵→冷却→后熟→凝固型酸奶。

1.2.2 酸奶制备。TGase交联酸奶:跟发酵剂同时添加,不进行灭活处理。TGase的添加量分别为0.2、0.4、0.6和0.8 g/L,发酵后测定各项指标。

TGase钝化酸奶:还原乳杀菌冷却后分别添加0.2、0.4、0.6和0.8 g/L的TGase,37℃反应1 h,95℃灭菌5 min,使酶钝化冷却后加入发酵剂进行酸奶发酵。

1.2.3 酸奶凝乳时间的确定。将TGase交联酸奶、TGase钝化酸奶及对照样品在42℃下发酵,当pH降至4.6时记录发酵时间,即为酸奶的凝乳时间。

1.2.4 酸奶表观黏度的测定。用黏度计测定酸奶的表观黏度,测定使用4号探头,转速为12~20 r/min,样品均在第30 s计数。

1.2.5 酸奶质构的测定。酸奶样品发酵完毕后于4℃冰箱中后熟24 h,用质构分析仪测量酸奶的硬度、稠度、黏度及黏附性指数。质构分析仪参数如下:探头ab/e,测定前速度4 mm/s,测试速度1 mm/s,测试后速度为10 mm/s,压缩百分比为75%。

1.2.6 乳清析出量的测定。酸奶乳清析出量用收缩系数衡量。测定方法为15 g酸奶样品于4℃,3 500 r/min离心

基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目(31601496);天津科技大学大学生实验室创新基金项目(1514A210)。

作者简介 李洪波(1986—),女,黑龙江巴彦人,讲师,博士,从事乳品科学与工程研究。*通讯作者,教授,从事乳与乳制品科学与技术研究。

收稿日期 2017-04-13

10 min,称量上清液质量,根据上清液质量与酸奶质量的比值计算收缩系数。

2 结果与分析

2.1 TGase 不同添加方式对脱脂酸奶凝乳时间的影响 当酸奶 pH 下降至 4.6 时,脱脂酸奶凝固。由图 1 可知,未添加 TGase 处理的对照样品凝乳时间约在 300 min,而经过 TGase 处理样品的脱脂酸奶凝乳时间均减少,在 250 ~ 260 min。随着 TGase 添加量的增加,凝乳时间变化不显著。

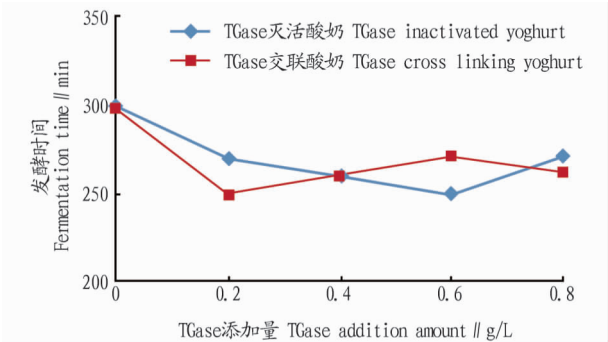


图 1 TGase 不同添加方式对脱脂酸奶凝乳时间的影响
Fig.1 Effects of addition methods of TGase on curding time of nonfat yoghurt

由图 1 可知,不同的添加方式对凝乳时间有一定的影响,总的来说 TGase 交联酸奶样品的凝乳时间低于 TGase 灭活酸奶样品,但是当 TGase 的添加量为 0.6 g/L 时,TGase 交联酸奶的凝乳时间高于 TGase 灭活酸奶,但是差异不显著。这一结果与 Bönisch 等^[6]的发现相同。但是 Ozer 等^[7]的研究发现,TGase 有延长酸奶凝乳的作用,他们认为这可能是 TGase 交联了酸奶中的蛋白,使得发酵剂中乳酸菌的生长受到抑制。

2.2 TGase 不同添加方式对脱脂酸奶表观黏度的影响 由图 2 可知,2 种添加方式的脱脂酸奶中,表观黏度随着酶添加量的增加而增加。TGase 交联酸奶样品的表观黏度显著高于

TGase 灭活酸奶,说明 TGase 在酸奶凝胶过程中一直进行催化作用,从而增加酸奶的黏度。这与 Sanli 等^[4]的研究结果相似,他们认为 TGase 可以提高酸奶凝胶的黏度。

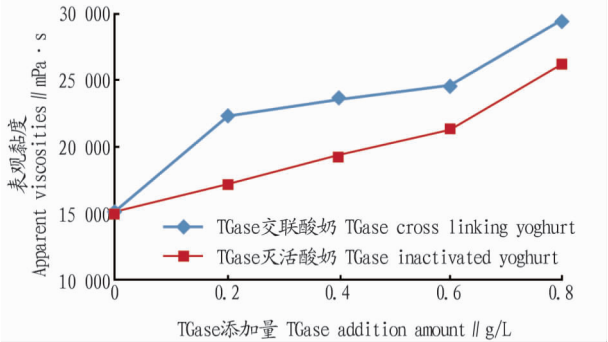


图 2 TGase 不同添加方式对脱脂酸奶表观黏度的影响
Fig.2 Effects of addition methods of TGase on apparent viscosities of nonfat yoghurt

2.3 TGase 不同添加方式对脱脂酸奶质构的影响 利用质构仪对不同 TGase 添加方式的脱脂酸奶硬度、稠度、黏度及黏度系数进行测定,结果见表 1。由表 1 可知,TGase 的添加对脱脂酸奶的品质有显著提高,TGase 交联酸奶的凝胶强度随着 TGase 添加量的增加而加大。当 TGase 添加量达到 0.8 g/L 时,其硬度、稠度、黏度及黏度系数达到对照(0 g/L)的 5 倍左右。这表明,TGase 催化酸奶蛋白的交联,形成 $\epsilon-(\gamma\text{-谷氨基})$ 赖氨酸异肽键^[8],进而增加产品的硬度和黏度。由表 1 可知,在 TGase 添加量位 0.2 g/L 时,TGase 灭活处理的酸奶样品除稠度外其余各项指标与对照差异不显著。随着 TGase 添加量的增多,交联作用也增强,但明显低于 TGase 交联酸奶样品。当 TGase 添加量达到 0.8 g/L 时,才能明显提高脱脂酸奶的各项指数。

2.4 TGase 不同添加方式对脱脂酸奶乳清析出量的影响 酸奶乳清析出量用收缩系数衡量,TGase 脱脂酸奶样品的收缩系数见图 3。

表 1 TGase 不同添加方式对脱脂酸奶质构的影响
Table 1 Effects of addition methods of TGase on texture of nonfat yoghurt

TGase 添加方式 TGase addition method	TGase 添加量 TGase addition amount // g/L	硬度 Hardness g	稠度 Consistency gs	黏度 Viscosity g	黏度系数 Viscosity coefficient // gs
对照 CK	0	48.07 ± 7.01 a	1300.72 ± 11.76 a	80.62 ± 7.49 a	221.08 ± 16.75 a
TGase 灭活酸奶	0.2	58.45 ± 5.69 ab	1545.44 ± 16.26 b	87.97 ± 11.13 ab	232.57 ± 10.81 a
TGase inactivated yoghurt	0.4	77.53 ± 7.77 b	16759.77 ± 59.43 bc	98.14 ± 4.69 b	244.58 ± 22.53 a
	0.6	94.58 ± 8.01 bc	2467.46 ± 28.21 c	142.46 ± 6.81 c	325.27 ± 8.77 b
	0.8	130.36 ± 5.32 c	3825.35 ± 33.46 de	158.11 ± 7.55 cd	387.25 ± 29.89 b
TGase 交联酸奶	0.2	131.88 ± 4.73 c	3354.45 ± 49.33 d	157.78 ± 6.56 cd	389.64 ± 14.16 b
TGase cross-linking yoghurt	0.4	139.61 ± 5.27 c	4138.27 ± 76.34 e	155.29 ± 3.45 cd	412.98 ± 15.89 bc
	0.6	169.02 ± 9.36 d	4798.26 ± 49.33 f	174.46 ± 2.96 d	457.91 ± 14.16 c
	0.8	215.25 ± 7.33 e	5154.70 ± 76.34 g	193.85 ± 3.45 e	507.16 ± 15.89 d

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著
Note:Different lowercases in the same column stand for significant differences at 0.05 level

由图 3 可知,酸奶中乳清析出量随着 TGase 的增加而下降。当添加量为 0.2 g/L 时,2 种处理方式酸奶的乳清析出量就开始显著下降,这主要是由于酶催化酸奶中蛋白质的交

联作用,导致酸奶凝胶渗透性的降低。这使酸奶形成了更加稳定和紧凑的微结构,从而锁住了酸奶凝胶网络中的游离水,进一步导致乳清析出量的降低^[9]。

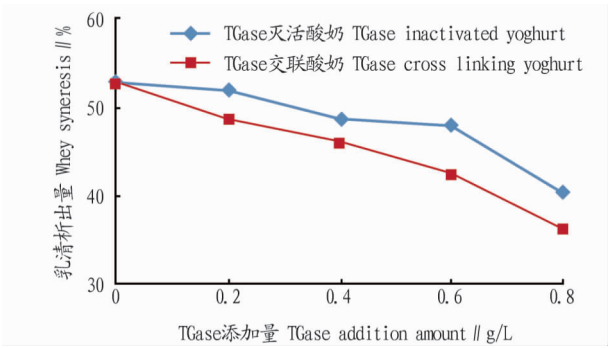


图3 TGase不同添加方式对脱脂酸奶乳清析出量的影响
Fig.3 Effects of addition methods of TGase on whey syneresis of nonfat yoghurt

3 结论

由于脱脂酸奶中脂肪的减少或全部去除影响了酸奶的品质,降低了消费者的可接受性,为了满足人们对脱脂酸奶的要求,可以通过增加乳中固形物含量或者添加淀粉、明胶等亲水胶体来改善酸奶的品质。目前的研究表明,TGase 的添加可以替代上述方法提高酸奶的质地和凝胶强度。该研究比较了2种添加方式(TGase 交联后钝化和与发酵剂同时添加)对脱脂酸奶品质的影响发现,2种方式对酸奶质构的品质均有较大改善,但是TGase交联酸奶在较低的添加量即可达到较大的改善作用。而添加量过大,酸奶的切面较碎且

(上接第85页)

为了进一步验证 AuNPs 体系检测 Cu²⁺ 的可行性,做了 AuNPs 法检测莲藕样品中 Cu²⁺ 的加标回收试验。表1结果表明,莲藕样品中各个水平的加标回收率的结果在86.0%~94.4%,证明此方法具有良好的可行性,可以应用到莲藕实样检测中。

表1 Cu²⁺在莲藕中的加标回收试验

Table 1 Cu²⁺ standard addition recovery experiment in lotus sample

添加值 Added value mg/kg	本底值 Background value//mg/kg	测定值 Measured value//mg/kg	回收率 Recovery rate//%
0.10	0.175	0.261	86.0
0.25	0.175	0.411	94.4
0.40	0.175	0.546	92.8

3 结论

该研究利用 GSH 在高浓度氯化钠溶液中可以保护 AuNPs 不聚集,而 Cu²⁺ 可以破坏 GSH 的保护作用的原理,建立了一种莲藕中重金属 Cu²⁺ 的快速检测方法。试验结果表明,AuNPs 比色检测法对 Cu²⁺ 选择特异性强,检测方法快捷、

有沙粒感,不易被消费者接受。从感官和经济效益2个方面考虑,添加剂的添加方式为与发酵剂同时添加,最适添加量为0.4 g/L。

参考文献

[1] WANG Y M,LIU A J,YE R,et al. Transglutaminase-induced crosslinking of gelatin-calcium carbonate composite films[J]. Food Chem,2015,166: 414-422.

[2] 崔艳华,张兰威. 谷氨酰胺转氨酶研究进展[J]. 生物技术通报,2009(1):31-36.

[3] 金洪伟,张毅,高源,等. 谷氨酰胺转氨酶的功能性质及在乳制品中的应用[J]. 中国乳品工业,2013,41(2):37-40.

[4] SANLI T,SEZGIN E,DEVECI O,et al. Effect of using transglutaminase on physical,chemical and sensory properties of set-type yoghurt[J]. Food hydrocolloid,2011,25(6):1477-1481.

[5] LI H B,ZHANG L W,CUI Y H,et al. Characterization of recombinant Zea mays transglutaminase expressed in *Pichia pastoris* and its impact on full and non-fat yoghurts[J]. J Sci Food Agric,2014,94(6):1225-1230.

[6] BÖNISCH M,HUSS M,WEITL K,et al. Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties[J]. Int Dairy J,2007,17(11):1360-1371.

[7] OZER B,KIRMACI H A,OZTEKIN S,et al. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production[J]. Int Dairy J,2007,17(3):199-207.

[8] GAUCHE C,TOMAZI T,BARRETO P L M,et al. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase[J]. LWT-Food Science and Technology,2009,42(1):239-243.

[9] LAUBER S,HENLE T,KLOSTERMEYER H. Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase and the gel strength of yoghurt[J]. European Food Res Technol,2000,210(5):305-309.

准确,莲藕样品中各个水平的加标回收率的结果在86.0%~94.4%,检测效果稳定。在该方法中,AuNPs 不需要化学修饰且合成方法成熟,绿色环保,成本低廉。利用该方法可以可视化快速检测 Cu²⁺,为农产品中重金属 Cu²⁺ 的现场快速检测提供理论基础。

参考文献

[1] 张长贵,董加宝,王祯旭,等. 莲藕的营养保健功能及其开发利用[J]. 中国食物与营养,2006(1):22-24.

[2] 王其创. 莲藕的营养价值及高产高效栽培技术[J]. 现代园艺,2012(10):34.

[3] 向华,于晓英. 铜污染对水体-水生植物的毒害效应研究进展[J]. 湖南农业科学,2009(11):54-56.

[4] 曹利慧. 食品中铜含量测定方法的研究进展[J]. 化工管理,2013(8):185.

[5] 徐珑,杨曦,张爱茜,等. 水环境中铜的光化学研究进展[J]. 化学进展,2005,17(3):412-416.

[6] PORTAKAL O. Biyolojik Ölçüm Ler ve Nanopartiküller[J]. Türk Biyokimya Dergisi(Türk J Biochem),2008,33(1):35-38.

[7] LIN Y W,HUANG C C,CHANG H T. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions[J]. Analyst,2011,136(5):863-871.

[8] CHIU T C,HUANG C C. Aptamer-functionalized nano-biosensors[J]. Sensors,2009,9(12):10356-10388.

[9] FRENS G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions[J]. Nature physical science,1972,241:20-22.