

光谱学技术在稀奶油乳脂肪研究中的应用

王筠钠¹, 李妍², 李扬¹, 尹未华¹, 张列兵^{1*}

1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083

2. 北京工商大学食品学院, 北京 100048

摘要 乳脂肪是制备稀奶油的主要原料, 不同产地的乳脂肪结构性性能差异较大, 进而影响稀奶油乳浊液各项性能。利用拉曼光谱动态光散射、近红外光稳定性分析等光谱学技术, 研究了不同来源乳脂肪(MF-A, MF-B 和 MF-C)理化特性, 并比较相应稀奶油的稳定性及粒径分布, 以说明乳脂肪性能对稀奶油品质的影响。拉曼光谱结果显示: 1 303 和 1 446 cm⁻¹—CH₂ 振动, 2 800~3 000 cm⁻¹ C—H 振动, 1 131 cm⁻¹ C—C 振动的峰信号强弱顺序 MF-A>MF-B>MF-C($p<0.05$), 说明 MF-A 饱和程度最高; 1 657 cm⁻¹ C=C 振动, 信号强弱顺序 MF-C>MF-B>MF-A ($p<0.05$), 说明 MF-C 中顺式不饱和脂肪酸含量最高, 三种乳脂肪均为顺式不饱和脂肪酸, 无反式脂肪酸。同时, 碘值分析进一步验证 MF-A 饱和度最高, 相应乳脂肪硬度大、稳定性和可塑性佳。在 0~40 ℃范围内, 不同温度下固体脂肪含量(SFC)由高到低为 MF-A>MF-B>MF-C($p<0.05$), 说明相应的稀奶油宜在 4 ℃贮藏, 10~15 ℃打发并裱花。在 25 ℃等温结晶 1 h, 用偏光显微镜观察三个样品, 发现 MF-A 冷却时最先形成晶核并诱导周围脂肪不断结晶而聚集形成小而密的结晶网络。MF-B 为细微球晶与针状晶组成的晶体簇, 晶体数量少, 结晶网络不完整; MF-C 晶体分布较为稀疏, 数量极少, 且晶体平均直径小于 20 μm。分别用三种乳脂肪制备稀奶油 XMF-A, XMF-B, XMF-C, 从粒径分布图中看出 XMF-A 基本为单峰, 说明稀奶油乳浊液较稳定, 脂肪球没有聚结, 而 XMF-B, XMF-C 为双峰, 说明脂肪球均发生了一定程度的聚结, 且 XMF-C 平均粒径最大, 所以 XMF-C 聚结程度高于 XMF-B, 平均粒径顺序为 XMF-A<XMF-B<XMF-C[即(1.81±0.04), (1.92±0.03), (2.22±0.05) μm]。从透光率分布图可知, XMF-A 透光率及其变化范围较小, 也说明稀奶油体系没有发生明显的乳析和絮凝, 而 XMF-B 和 XMF-C 透光率相对较大, 特别是 XMF-C 顶部透光面积窄而尖, 乳浊液透光率增加, 说明 XMF-C 在离心过程中不稳定, 出现严重的乳析, 脂肪上浮。体系的稳定性分别为: XMF-A>XMF-B>XMF-C($p<0.05$)。通过研究以连续相与分散相形式存在的乳脂肪理化特性, 发现了脂肪组成、结构与结晶行为规律, 探索了乳脂肪结晶对稀奶油品质的影响机制, 旨在为制备不同需求乳制品提供原料选择的理论依据。

关键词 乳脂肪; 共聚焦拉曼光谱; 光谱学; 稀奶油

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)06-1773-06

的研究不容忽视^[1]。

目前, 乳脂肪化学结构组成常采用气、液相色谱、质谱和气-质联用标准方法进行检测, 这些方法中样品分离提纯工艺复杂, 不易实现无损检测和大量样品同步观测。近年来, 拉曼光谱已逐步拓展到食品化学领域, 用于研究分子特征骨架和对称性结构。动态光散射, 近红外光谱等分析表征技术主要用于样品结晶形态表征, 其优点在于无需化学标记就可实现样品快速检测^[2-3]。然而, 目前此类仪器大多还停留在乳脂肪自身物化性能分析上, 缺乏对乳脂肪及其衍生产

引言

稀奶油是经乳脂分离得到的一种水包油(O/W)型乳浊液, 其品质随乳畜品种、饲料、产地、环境、畜牧方式及处理工艺变化而波动。乳脂肪作为稀奶油重要组成部分, 其理化性质和加工特性主要受内在分子组成, 固体脂肪含量(solid fat concentrate, SFC), 晶体形态和结晶网络结构等因素影响, 进而影响到相关下游产品质量, 因此对乳脂肪物化性能

收稿日期: 2018-04-15, 修订日期: 2018-09-02

基金项目: 现代农业(奶牛)产业技术体系建设专项(CARS-36), 国家自然科学基金项目(31471689)资助

作者简介: 王筠钠, 女, 1992 年生, 中国农业大学食品科学与营养工程学院博士研究生 e-mail: wang_yn92@163.com

* 通讯联系人 e-mail: lb-zhang@vip.sina.com

品进行关联性能的系统分析。

本文甄选三种不同来源的乳脂肪，采用多种光谱分析技术，从不同视角综合对比分析了乳脂肪化学成分和结构状态，并对以乳脂肪为基料的稀奶油乳浊液稳定性和粒径分布进行了检测，据此研究原料性质对乳脂肪衍生产品稀奶油的性能影响，为稀奶油工业化生产中原料油的选择和工艺配方拟定提供理论依据。

1 实验部分

1.1 原料及设备

进口乳脂肪(含脂99.99%，新西兰市售，标号MF-A)；国产乳脂肪(含脂99.99%，市售，分别标号MF-B, MF-C)；卵磷脂等乳化剂(食品级，嘉吉亚太公司)；实验用水(去离子水，自制)。

拉曼散射仪(inVia, 英国Renishaw公司)；时域核磁共振仪(Minispec Mq系列，德国Bruker公司)；数码相机(Canon A640, 日本Canon公司)；粒径分析仪(MasterSizer 2000, 英国Malvern公司)；透反射偏光显微镜(DM2700P, 德国Leica公司)；分离分散体系分析仪(LUMiSizer611.2-188, 德国LUMI公司)。

1.2 稀奶油样品制备

将3%脱脂乳粉、0.2%亲水型乳化剂于40~50℃下完全溶解，构成水相；将乳脂肪(MF-A, MF-B, MF-C)、0.5%亲油型乳化剂于70~80℃下充分熔化，构成油相；将水相缓慢加入到油相中并不断搅拌，在70℃下持续剪切乳化15~20 min，在1.5/6 MPa下进行一次均质，120℃下高压蒸气灭菌7 min后，在0/4 MPa下进行二次均质，最后放入4℃冰箱内冷藏熟化。生产工艺如图1所示。

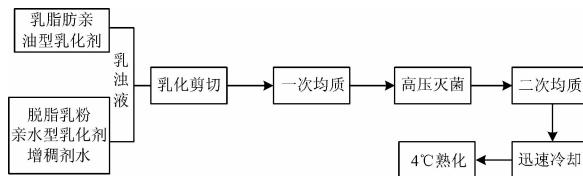


图1 稀奶油生产工艺流程图

Fig. 1 Production process of dairy cream

1.3 方法

1.3.1 共聚焦拉曼光谱

使用共聚焦拉曼光谱测定不同来源乳脂肪脂质成分及结构。打开拉曼光谱散射仪，待CCD相机冷却到-55℃时设置检测系统的参数：二极管激光器激发波长532 nm、激光功率450 mW、曝光时间5 s、探针至样品距离7 mm。光谱区域记录为100~3 500 cm⁻¹，分辨率1 cm⁻¹对每个样品的上下表面分别进行光谱采集，每个表面采集3个不同位置处的拉曼光谱，选取最佳曲线分析。

1.3.2 动态光散射测定

使用粒径分析仪湿法测量。在样品池中逐滴缓慢加入样品，使遮光度处于10%~20%之间。检测器为Hydro LV、

搅拌速度2 500 r·min⁻¹，设置分散物质为脂肪，折射率1.6，颗粒密度1。分散剂为水，折射率1.333。每个样测量三次，以D[3, 2]值作为衡量稀奶油乳浊液中微粒大小的标准。

1.3.3 结晶形态观察

将乳脂肪样品也置于80℃下熔化30 min消除历史结晶。用毛细管吸取一滴完全熔化的乳脂肪约10 μL置于干净的载玻片上形成厚度均匀的薄膜。将制备好的样品置于显微镜冷热控温台上，以30 °C·min⁻¹的速率从80 °C降到25 °C，达到25 °C后进行等温结晶1 h。在此温度下观察晶体形态变化，并连续拍照。每个样品采集5张以上图片，选择其中具有代表性的图片进行分析。

1.3.4 固体脂肪含量的测定

参照AOCS Cd 16b-93方法，采用时域核磁共振技术测定样品SFC。取5 mL样品放入专用玻璃管中，80 °C熔化30 min以消除历史结晶，然后在0 °C恒温槽中放置60 min，测其SFC值，再升温至5, 10, 15, 20, 25, 30和35 °C下，各保留30 min，测得各个温度下的SFC值。

1.3.5 稳定性测定

Lumisizer稳定性分析仪通过高速离心，结合光学近红外扫描技术对稀奶油进行结构破坏性的稳定性测量。25 °C下开机预热0.5 h，用针筒抽取均匀的稀奶油样品注入到仪器配套离心管中，液体高度2.5 cm，盖上塞子，置于离心盘卡槽中。测试参数：25 °C, 4 000 r·min⁻¹, 10 s测量一次透光率，共测量45 min，取值270次。LUMiSizer的测量示意图(图2)显示了带有光度检测的离心样品池。平行的红外光通过样品池，并且在整个样品长度上以预定的时间间隔扫描并记录。稀奶油XMF-A, XMF-B和XMF-C体系的稳定性指标为样品所在位置随时间变化的透光率曲线分布图和仪器自带程序结合透光率变化给出的失稳系数。

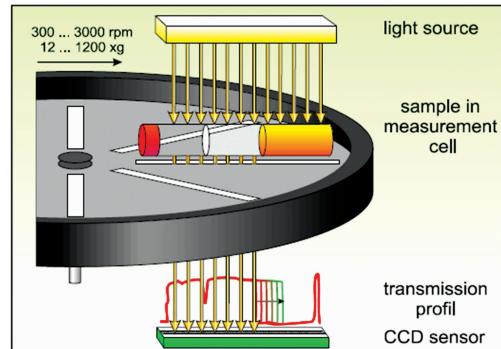


图2 Lumisizer 检测方法示意图

Fig. 2 Measurement scheme of the LUMiSizer

1.3.6 碘值测定

据GB/T 5532—2008，称取约0.4 g样品置于锥形瓶中，加入20 mL混合溶剂($V_{环己烷} : V_{冰乙酸} = 1 : 1$)溶解试样，用移液管取25 mL韦氏试剂加入到锥形瓶中，摇匀后置于暗处；1 h后向锥形瓶中加入20 mL质量浓度为100 g·L⁻¹的KI溶液和150 mL去离子水，然后用Na₂S₂O₃标准溶液滴定至浅黄色，再加入1 mL淀粉溶液继续滴定，直至蓝色刚好消失。同时做空白。

1.3.7 数据分析

实验测试结果重复3次,最后结果以均值±标准方差(mean±SD)表示。运用Origin 8.0统计软件处理实验数据。在不同条件下得到的结果比较采用SPSS(Vesion12.0)中ANOVA进行多重比较的显著性分析, $p<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 乳脂肪拉曼光谱分析

乳脂肪来源不同,脂肪酸种类及含量也有差异。如图3所示,三种乳脂肪谱图有一定相似性,说明化学结构相近。其中 1131 cm^{-1} 为C—C伸缩振动,峰强度MF-A>MF-B~MF-C($p<0.05$), 1303 和 1446 cm^{-1} 分别为—CH₂弯曲振动和剪切振动, $2800\sim3000\text{ cm}^{-1}$ 为脂肪C—H伸缩振动峰,峰强度MF-A>MF-B>MF-C($p<0.05$),表明乳脂肪的饱和程度排列顺序为MF-A>MF-B>MF-C($p<0.05$)。 $1650\sim1665$ 和 $1670\sim1680\text{ cm}^{-1}$ 分别为C=C顺、反式伸缩振动,图中只观察到了 1657 cm^{-1} 的特征峰,信号强弱顺序MF-C>MF-B>MF-A($p<0.05$),表明三种乳脂肪中均为顺式不饱和脂肪酸,且MF-C含量最高,体系基本无反式脂肪酸。脂肪酸的化学结构组成与含量对稀奶油品质影响重大,拉曼图谱出峰位置和信号强弱与组成和含量有关,C—C和C—H信号强则饱和程度高,同等温度下易结晶,乳脂肪硬度高,制作出的稀奶油可塑性,搅打性和裱花挺立度好,花纹不易塌陷变形^[4-5]。

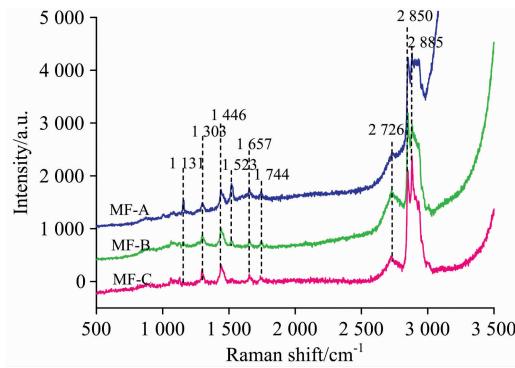


图3 不同乳脂肪拉曼图谱

Fig. 3 Raman spectra of different kinds of milk fat (a. u., arbitrary unit)

为了进一步说明三种乳脂肪饱和性,进行了碘值测定,结果见图4。可以看出,碘值大小顺序:MF-A(33.5 ± 1.5)<MF-B(35.6 ± 1.2)<MF-C(38.4 ± 0.9)($p<0.05$),说明MF-A饱和程度最高,这个结果更好地印证了饱和程度与脂肪酸的相关性。在一定范围内,饱和程度越高,熔点越高^[6]。因此,MF-A相比于MF-B和MF-C具有更大的硬度,易结晶,从而保证稀奶油的硬度和塑性,但含量过多会导致产品口感粗糙,不易消化。因此,饱和程度适中,才能保证稀奶油品质,同时利于加工和贮藏。

不同温度下SFC可以评价乳脂肪熔融性、可塑性等物理

性质。脂肪中甘油三酯连接的脂肪酸结构组成、大小位置和熔化性质决定了不同温度下的SFC,SFC-T曲线如图5。

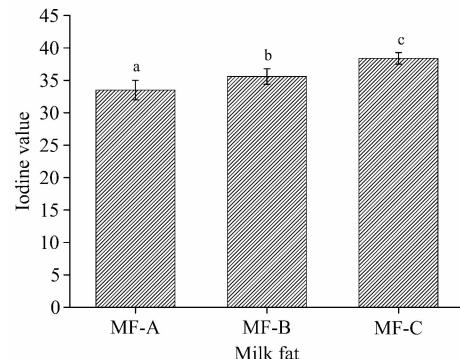


图4 不同乳脂肪碘值

Fig. 4 Iodine value of different kinds of milk fat

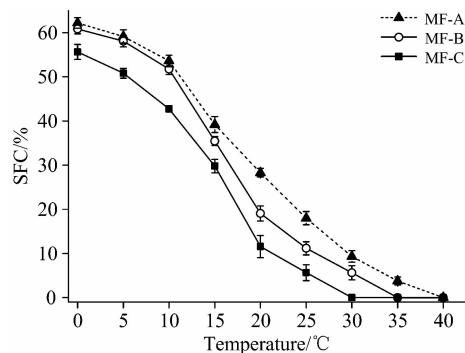


图5 不同乳脂肪固体脂肪含量随温度的变化曲线

Fig. 5 SFC profiles of different kinds of milk fat as a function of temperature

图5可知三个样品的SFC曲线均为非线性,0~40 °C范围内,SFC曲线由高到低顺序为MF-A>MF-B>MF-C($p<0.05$),此顺序与碘值顺序刚好相反,说明碘值越低,饱和程度越高,体系中固脂/液油比值就高。0~5 °C时,三个样品SFC相差不大,均在50%~65%之间,说明三个样品低温结晶程度相似,稳定性较好,为适宜的储存温度;20 °C时,三个样品SFC急剧下降,而MF-A熔化速率较缓,SFC降至28%;25 °C时三个样品SFC均低于20%,说明在室温条件下,乳脂肪晶体大量熔化,这也是搅打稀奶油在室温下不易打发塑形并保持裱花状态的主要原因^[7-8]。

2.2 乳脂肪结晶形态研究

从图6可以看出:三个样品在25 °C下等温结晶1 h时,晶体形态在数目和尺寸上出现了较大的差异。MF-A冷却时易析出,形成晶核并诱导周围脂肪不断结晶而形成大量晶核,随后晶核再聚集形成小而密的结晶网络,呈现出树枝晶、球晶等多种晶体共存现象。晶体数量多,以树枝晶为主,且分布均匀,彼此间形成良好的结晶网络结构。MF-B为细微球晶与针状晶组成的晶体簇,晶体数量少,结晶网络不完整;MF-C晶体分布较为稀疏,数量极少,且晶体均直径小于20 μm。乳脂肪晶体形态、数量和密集度决定着晶体骨架

的微观结构形态,进而决定了乳制品微观结构和宏观性质。在一定范围内,晶体数量多、尺寸大,乳脂肪硬度高,从而

其制备的稀奶油储存稳定性和打发性好,裱花力挺性好^[9]。

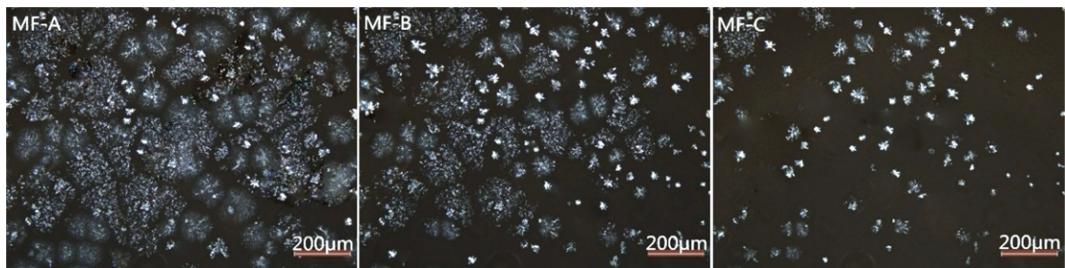


图 6 不同乳脂肪偏光显微镜图

Fig. 6 Polarized light micrographs of different milk fat

2.3 稀奶油乳脂肪球粒径分布

用 MF-A, MF-B 和 MF-C 三种乳脂肪分别按本文 1.2 中方法制成稀奶油, 分别标记为 XMF-A, XMF-B 和 XMF-C 后对其粒径进行分析, 结果见图 7。

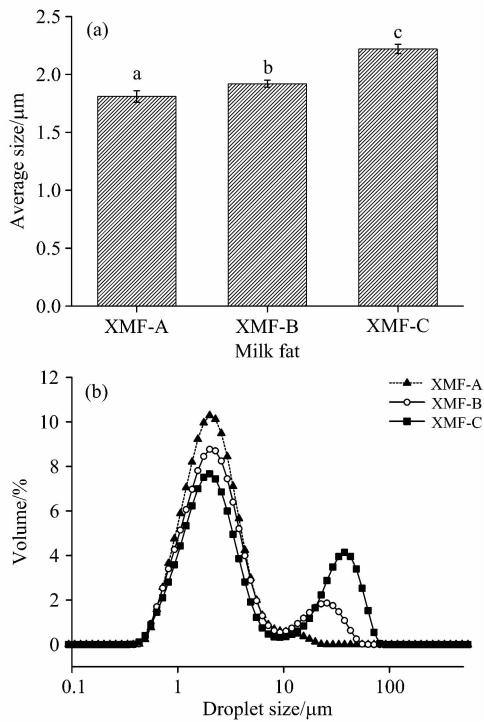


图 7 稀奶油脂肪球平均粒径(a)及其分布(b)

Fig. 7 The average milk fat globule size (a) and its distribution (b) of dairy cream

由图 7 可知,三种稀奶油脂肪球平均粒径顺序为 XMF-A<XMF-B<XMF-C($p<0.05$), XMF-A 基本为单峰,说明稀奶油乳浊液稳定,脂肪球无聚结,而 XMF-B 和 XMF-C 为双峰,说明两种脂肪球均发生了一定程度聚结,且 XMF-C 聚结程度高于 XMF-B,所以 XMF-C 平均粒径最大。这是因为 MF-A 碘值低,硬度大,不易分散,在相同加工工艺条件下均质得到的稀奶油脂肪球 XMF-A 粒径大,相应比表面积小,油-水界面蛋白质和乳化剂浓度较高,脂肪球发生碰撞的几率小,同时,球内 SFC 较高,脂肪球刚性大,一旦发生碰

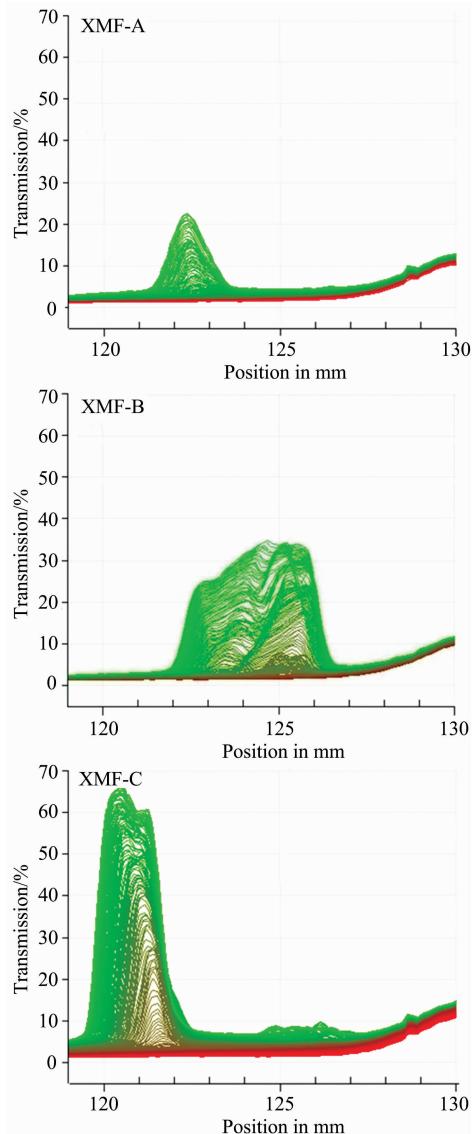


图 8 稀奶油透光率图谱分析

Fig. 8 Transmission analysis of dairy cream

撞也不易聚结,所以在储存期间脂肪球不易发生变形和聚结。随着储存期延长,脂肪球发生部分聚结造成粒径逐渐增

大, 第二个峰粒径顺序 $XMF\text{-}A < XMF\text{-}B < XMF\text{-}C$ ($p < 0.05$), 说明脂肪球聚结程度随其液油含量增高而增大^[10]。

2.4 稀奶油稳定性分析

稀奶油中脂肪球具有较大的油-水接触面积, 界面自由能较高, 尤其在外力作用下, 体系就越发不稳定, 脂肪球聚结造成油-水分离。图8中可以看出 $XMF\text{-}A$ 透光率及其变化范围较小, 说明稀奶油体系没有发生明显的乳析和絮凝, 而 $XMF\text{-}B$ 和 $XMF\text{-}C$ 透光率相对较大, 特别是 $XMF\text{-}C$ 顶部透光面积窄而尖, 说明 $XMF\text{-}C$ 在离心过程中不稳定, 内部脂肪球聚结明显, 出现严重脂肪上浮, 乳浊液透光率增加, 相分离程度明显, 稳定性较差^[11]。

三种稀奶油失稳系数顺序为 $XMF\text{-}A < XMF\text{-}B < XMF\text{-}C$ ($p < 0.05$) (图9), 数值越小, 表明样品越稳定, 体系稳定性顺序为 $XMF\text{-}A > XMF\text{-}B > XMF\text{-}C$ ($p < 0.05$)。

3 结 论

利用拉曼光谱结合动态光散射、近红外光谱等光谱学技术研究了不同来源乳脂肪的理化特性。结果表明, 不同来源的天然乳脂肪, 其饱和程度、脂质组成均存在显著差异。富

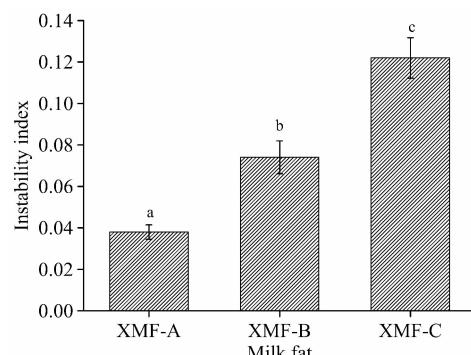


图9 稀奶油失稳系数

Fig. 9 Instability index rate of dairy cream

含顺式不饱和脂肪酸的乳脂肪碘值高, 在相同温度条件下, SFC 较少, 晶体颗粒较小且不易形成结晶网络。由其制备的稀奶油脂肪球易发生聚结, 稳定性欠佳。通过了解不同来源脂肪的特性差异, 有助于更深层次理解复杂食品体系中乳脂肪热力学变化规律和特点, 对从本质上解决因脂肪成分变化而造成的稀奶油品质劣变具有重要的实际意义。

References

- [1] WANG Xiang, DAI Chang-jian(王翔, 戴长建). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2015, 35(4): 929.
- [2] Ullah R, Khan S, Khan A, et al. J. Raman Spectrosc., 2017, 48(3): 363.
- [3] Zhou X, Chen L, Han J, et al. Int. J. Food Pro., 2016, 20(10): 2223.
- [4] Tzompa-Sosa D A, Ramel P R, Van Valenberg H J, et al. J. Agr. Food Chem., 2016, 64(20): 4152.
- [5] Queirós M S, Grimaldi R, Gigante M L. Food Res. Int., 2016, 84: 69.
- [6] ZHAO Fang, PENG Yan-kun(赵芳, 彭彦昆). Chinese Journal of Lasers(中国激光), 2017, 44(11): 1111001.
- [7] Buyukbese D, Rousseau D, Kaya A. Int. J. Food Pro., 2018, 20(3): 3015.
- [8] Bayard M, Leal-Calderon F, Cansell M. Food Chem., 2017, 218: 22.
- [9] Thiel A E, Hartel R W, Spicer P T. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2017, 94(2): 325.
- [10] Edén J, Dejmek P, Löfgren R, et al. Int Dairy J, 2016, 61: 176.

Application of Spectroscopic in the Study of Milk Fat in Dairy Cream

WANG Yun-na¹, LI Yan², LI Yang¹, YIN Wei-hua¹, ZHANG Lie-bing^{1*}

1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China

Abstract Milk fat is the main raw constituent of dairy cream. The source of the milk has a significant influence on its physicochemical properties and the presence of the dispersed phase in the emulsion, which, in turn, influences the quality of cream products. In this paper, Raman spectroscopy combined with dynamic light scattering, near infrared spectrum-stability analysis, and other spectroscopy techniques were used to study the physicochemical characteristics of milk fat from three different sources, namely MF-A, MF-B and MF-C, and to compare the corresponding stability of dairy cream. The Raman spectra results indicated that $1\ 303$ and $1\ 446\text{ cm}^{-1}$ were $-\text{CH}_2$ vibrations, $2\ 800\sim3\ 000\text{ cm}^{-1}$ was a $\text{C}-\text{H}$ vibration, and $1\ 131\text{ cm}^{-1}$ was a $\text{C}-\text{C}$ vibration, with a peak intensity of $\text{MF}\text{-}A > \text{MF}\text{-}B > \text{MF}\text{-}C$ ($p < 0.05$). These results established that MF-A had the highest degree of saturation. $1\ 657\text{ cm}^{-1}$ was a $\text{C}=\text{C}$ cis-stretching vibration, thus indicating that all samples contained cis-unsaturated fatty acids and had no trans-fatty acids. The peak intensity was $\text{MF}\text{-}C > \text{MF}\text{-}B > \text{MF}\text{-}A$ ($p < 0.05$), indicating that MF-C had the

highest cis-unsaturated fatty acid content. Iodine analysis further showed that MF-A had the highest degree of saturation. Solid fat content (SFC) at different temperatures showed $MF\text{-}A > MF\text{-}B > MF\text{-}C$ ($p < 0.05$) in the heat range of $0 \sim 40^\circ\text{C}$. Therefore, dairy cream should be stored at around 4°C and whipped cream at between 10 and 15°C . After isothermal crystallization at 25°C for 1 h, the three samples were observed under a polarized light microscope: MF-A, which had a low iodine value and a high melting point, formed the nucleus quickly and induced the surrounding fat to crystallize continuously until aggregated to form a dense crystalline network; MF-B exhibited a combination of spherulites and needle-like crystals, and the crystal network was incomplete; MF-C crystals were sparsely distributed with the diameter of each crystal less than $20\ \mu\text{m}$. Subsequently, dairy creams XMF-A, XMF-B and XMF-C were prepared using MF-A, MF-B and MF-C, respectively. As can be seen in the particle size distribution chart, XMF-A is basically unimodal, suggesting that the cream emulsion was relatively stable and the fat globules were not coalesced. Both XMF-B and XMF-C are bimodal, suggesting partial coalescence of the fat globules, with XMF-C's degree of coalescence greater than that of XMF-B, providing XMF-C with the largest average particle size. The dynamic light scattering results recorded the average particle size of milk fat globules as follows: $XMF\text{-}A < XMF\text{-}B < XMF\text{-}C$ [(2.22 ± 0.05) , (1.81 ± 0.04) , $(1.92 \pm 0.03)\ \mu\text{m}$] ($p < 0.05$). The near infrared transmission map showed that the transmission of XMF-A and its variable range were relatively small, signifying that there was no obvious serum loss or flocculation in the cream system. Both XMF-B and XMF-C had a relatively high transmission, especially XMF-C which had a narrow and sharp transmission area, indicating instability during the centrifugation process, in which severe lactation, fat floating and opacity were apparent. The space stability of the system was recorded as $XMF\text{-}A > XMF\text{-}B > XMF\text{-}C$ ($p < 0.05$). The results of this research, which examines the physicochemical properties of milk fats in their continuous/dispersive phase and the mechanism of milk fat composition and crystallization behavior on dairy cream quality, thus provide a theoretical basis for the selection of raw materials in the preparation of a variety of dairy products.

Keywords Milk fat; Confocal Raman spectroscopy; Spectroscopy; Dairy cream

(Received Apr. 15, 2018; accepted Sep. 2, 2018)

* Corresponding author