

切达干酪乳清结晶分离乳糖的工艺优化

高红艳, 莫蓓红, 刘振民

(光明乳业股份有限公司乳业研究院, 乳业生物技术国家重点实验室, 上海 200436)

摘要:以切达干酪的乳清为原料, 采用浓缩结晶的方法分离乳糖, 利用响应面优化结晶工艺。通过 Box-Behnken 试验设计方法, 在单因素实验的基础上, 以结晶乳糖得率为指标, 研究了结晶时间、结晶温度以及乳清 pH 因素及相互作用对得率的影响, 得到了最佳的结晶工艺条件: 结晶温度 38.4 °C、结晶时间 24.7h、乳清 pH5.1, 此条件下, 乳糖结晶得率达到最大值 47.7%。

关键词: 乳糖; 乳清; 结晶; 响应面

文章编号: 1673-9078(2012)11-1504-1507

Study on the Technology of Crystallization Separation of Lactose from Cheddar Cheese Whey

GAO Hong-yan, MO Bei-hong, LIU Zhen-min

(Dairy Research Institute in Bright Dairy & Food Co., Ltd, State Key Laboratory of Dairy Biotechnology, Shanghai 200436, China)

Abstracts: The whey from cheddar cheese production with fresh milk was used as raw materials. The concentrated crystallization was optimized through response surface analysis. By use of Box-Behnken experimental design method, the effects of the crystallization temperature, crystallization time and pH and their interactions on the lactose yield were studied on the base of the single factor test. The results showed that the optimum conditions were as following: the crystallization temperature 38.4 °C, crystallization time 24.7 h and pH 5.1. Under these conditions, the rate of lactose crystal reached 47.7%.

Key words: lactose; whey; crystallization; response surface methodology

干酪在国内消费不断增加, 但是实现干酪国内工业化生产, 副产物乳清的充分利用必须解决, 乳清其营养成分相当于除去酪蛋白的脱脂乳, 约占牛乳营养成分的55%^[1,2]。乳糖为乳清中的碳水化合物, 在乳清中的含量约为5%, 是乳中含量最稳定的成分。乳糖作为食品配料, 已广泛应用于各类食品加工中, 如焙烤食品、乳制品、饮料、肉制品、蔬菜等。乳糖还是一些药品的辅料, 作为片剂、胶囊剂的稳定剂。此外, 饮食中含有乳糖可以提高人体对钙、镁、磷等微量元素的吸收, 促进肠道有益菌增殖, 预防龋齿等作用。所以, 乳清中乳糖的分离既可以解决乳清直接排放问题, 又可提高产品附加值, 同时可以提高农民收入^[3,4]。

虽然国外对乳糖在晶习性、异构化、水解等方面已有大量的研究, 但是国内提纯分离乳糖的研究较少,

收稿日期: 2012-06-26

基金项目: “十二五”科技支撑计划项目(2012BAD28B07)

作者简介: 高红艳(1982-), 女, 硕士研究生, 工程师, 主要从事乳制品的开发与研究

通讯作者: 刘振民(1974-), 男, 博士研究生, 教授级高工, 主要从事乳业生物技术及功能性乳制品研究

张召才等使用聚醚砜膜对粗乳糖溶液进行提纯, 研究了不同条件对乳糖超滤效果的影响。原龙等使用蛋白质等电沉淀法从牛奶中分离酪蛋白和乳糖, 确定了工艺, 赵莉等研究了以干酪素副产物乳清为原料, 加热去除乳清蛋白后, 对乳糖结晶工艺进行了研究^[5-6]。本实验以制备切达干酪排放的乳清为原料, 经超滤分离乳清蛋白后, 研究乳清滤液在不同的结晶条件下对乳糖结晶得率的影响, 并测试了实验样品的晶体粒度。

1 材料与方法

1.1 材料

乳清: 实验室自制; 乳酸菌、凝乳酶: 丹尼斯克中国有限公司; 柠檬酸、碳酸氢钠、95%乙醇: 均为分析纯、市售; 乳糖产品: 市售。

1.2 设备

FH16-D 干酪槽(英国 Armfield); 水浴锅(德国 GFL); PT-10 型 pH 计(赛多利斯); 中空纤维陶瓷超滤设备 M20(Hyflux 凯能高科技有限公司); 恒温干燥箱(德国 Memmert); 固体颗粒研磨机(常州中实); Mastersizer2000 激光粒度分析仪(英国 Malvern); 旋

转蒸发仪、布氏漏斗(上海禾汽)。

1.3 方法

1.3.1 切达干酪乳清的制备

生乳杀菌→降温→发酵→凝乳→切割→加热升温→pH 5.6→排乳清

75℃生乳杀菌15s,后冷却至32℃,加入乳酸菌发酵,当pH至6.5时加入凝乳酶,至凝乳形成开始切割,然后缓慢升温至40℃持续50min,排乳清并开始收集,作为下步试验原料^[7]。

1.3.2 乳清超滤蛋白工艺

乳清→巴氏杀菌→超滤→乳清滤液

乳清加热至72℃、杀菌15s,后降温至57℃,使用陶瓷超滤设备M20将乳清蛋白分离,收集乳清滤液,作为结晶乳糖的原料。

1.3.3 乳糖结晶工艺

乳清滤液→加热→过滤→调节pH→蒸发浓缩→结晶搅拌→抽滤→洗涤结晶→干燥→最终样品

乳清加热至50℃,过滤得到澄清溶液,通过柠檬酸和碳酸氢钠调节溶液pH,使用旋转蒸发仪对溶液真空浓缩至60%,后开始结晶,每30min缓慢搅拌1次,当温度降至结晶所需温度后、静止结晶,后用水(温度<10℃)洗涤结晶好的糖液,得到白色晶体,干燥水分含量<3%^[8]。

1.3.4 乳糖结晶得率的计算方法

得率=干燥后的白色晶体质量/乳清质量×100%

1.3.5 单因素试验

分别以乳清结晶温度、结晶时间和乳清pH进行单因素试验,考察各个单因素对结晶乳糖得率的影响。

1.3.6 中心组合试验

根据单因素试验结果,确定中心组合试验因素与水平,以结晶乳糖得率为响应值,响应面分析并优化结晶条件。

1.3.7 结晶乳糖研磨

采用固体颗粒研磨机:研钵口径120mm,研钵转速100r/min,研钵转速10r/min,研棒功率60W,研钵功率40W。

1.3.8 激光粒度分析仪测定乳糖的粒径

选取95%乙醇作为液体介质,首先将乳糖分散在95%乙醇中,后连接湿法分析装置Hydro 2000,然后将含乳糖的乙醇样品加入到进样器中,待达到所需测量折光度时,开始测量,重复检测3次。乳糖折射参数为1.47,吸光值为0.01,遮光率设置到10~20%,最终进样时保证遮光率在15%左右^[9,10]。

2 结果与分析

2.1 乳清的基本成分

本实验以自制切达干酪排出的乳清为原料,其pH为5.5,采用陶瓷膜超滤分离蛋白后得到乳清滤液,乳清和乳清滤液的基本成分见表1。

表1 切达干酪乳清的基本成分

Table 1 Content of different component in cheddar cheese whey and cheese whey out of protein

成分	干物质	乳糖	蛋白质	矿物质
乳清/%	6.4	4.8	0.5	0.5
乳清滤液/%	5.7	4.7	0.03	0.5

由表1得出,干酪副产物乳清中主要的成分为乳糖,占总固形物的75.0%,超滤去除乳清中的蛋白后,乳糖占总固形物的82.4%。

2.2 单因素试验结果

2.2.1 结晶温度对乳糖得率的影响

实验将浓缩乳清pH调节至5.6,后分别在0℃、10℃、20℃、30℃、40℃条件下结晶24h,结束后将晶体分离、水洗、干燥,结晶乳糖的得率如图1。

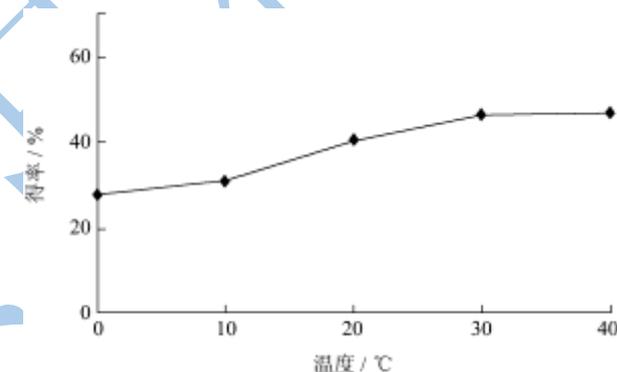


图1 不同结晶温度对结晶乳糖得率的影响

Fig.1 Effect of crystallization temperature on yield of concentrating crystallization lactose

由图1可以得出得率随温度的降低而降低,0℃下结晶24h后得率只有26.6%,分析原因浓缩乳清迅速冷却至较低的温度,导致溶解度降低乳糖迅速结晶,达到过饱和,但由于温度较低,所以反应速度很慢,平衡建立速度较慢,得率反而下降。30℃至40℃得率增长速度较慢,已达到较高值分别为46.8%和47.1%,故单因素结晶温度选择30℃、35℃、40℃。

2.2.2 结晶时间对乳糖得率的影响

实验将浓缩乳清pH调节至5.6,后在30℃,结晶6h、12h、18h、24h、30h,结束后将晶体分离、水洗、干燥,结晶乳糖的得率如图2。

由图2可以得出,随着结晶时间的增加得率不断增加,但是在24h后得率的增幅很小,24h和30h的得率分别为46.6%和46.9%,说明在结晶已基本完成,综合考虑到生产效率,所以单因素结晶时间选择

20 h、24 h、28 h。

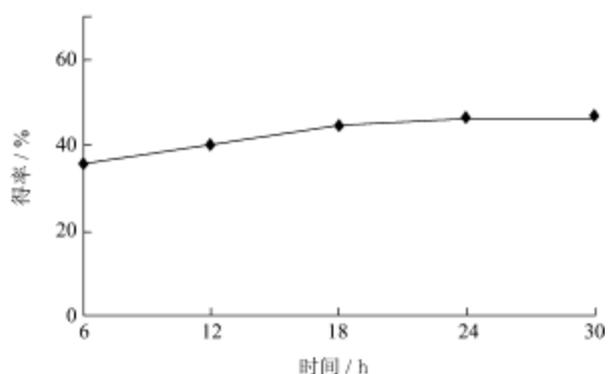


图2 不同结晶时间对结晶乳糖得率的影响

Fig.2 Effect of crystallization time on yield of concentrating crystallization lactose

2.2.3 乳清不同 pH 对乳糖得率的影响

实验将不同 pH 浓缩乳清 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5，在 30 °C 条件下结晶 24 h，结束后将晶体分离、水洗、干燥，结晶乳糖的得率如图 3。

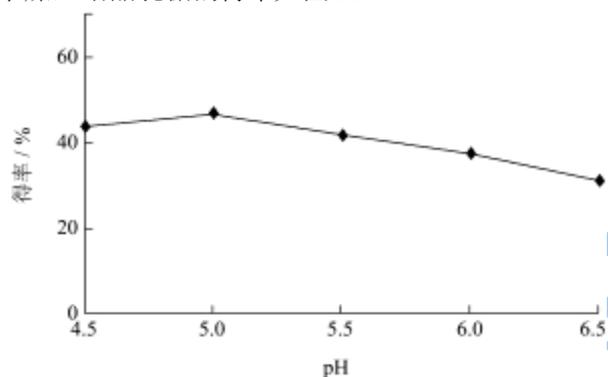


图3 不同 pH 乳清浓缩对结晶乳糖得率的影响

Fig.3 Effect of whey pH on yield of concentrating crystallization lactose

由图 3 可知，当调节乳清 pH 为 5.0 时，浓缩结晶乳糖的得率最高，达到 46.3%，然后随着 pH 的升高得率不断下降，pH6.5 时最低为 31.5%。分析选择单因素乳清 pH4.8、5.0、5.2。

2.3 响应面优化乳糖结晶工艺参数

2.3.1 响应面分析法方案设计

表 2 Box-Benhnken 中心组合试验设计因素及水平

Table 2 Analytical factors and levels for RSA using

Box-Benhnken design				
变量	代码	编码水平		
		-1	0	1
结晶温度/°C	x ₁	30	35	40
结晶时间/h	x ₂	20	24	28
乳清 pH	x ₃	4.8	5.0	5.2

注：编码值与真实值之间的关系为 x₁ = (结晶温度 - 35) / 5; x₂ = (结晶时间 - 24) / 4; x₃ = (乳清 pH - 5.0) / 0.2。

利用 Box-Benhnken 中心组合试验设计原理，在单因素试验结果的基础上，确定中心组合试验因素与水平，以结晶乳糖得率为响应值，响应面分析并优化结晶条件。试验因素及水平编码如表 2 所示^[11]。

本试验设计 15 个试验点，如表 3 所示，其中 1-12 为析因实验，13~15 为中心实验，采用 SAS 软件对试验数据进行回归分析。

表 3 响应面分析试验设计及结果

Table 3 Design and response value of experiment

实验号	x ₁	x ₂	x ₃	乳糖结晶得率 y ₁
1	-1	-1	0	45.6
2	-1	1	0	45.9
3	1	-1	0	46.8
4	1	1	0	47.4
5	0	-1	-1	45.7
6	0	-1	1	46.9
7	0	1	-1	46.2
8	0	1	1	47.1
9	-1	0	-1	46.0
10	1	0	-1	46.8
11	-1	0	1	46.9
12	1	0	1	47.3
13	0	0	0	47.3
14	0	0	0	47.3
15	0	0	0	47.5

2.3.2 优化方案对乳糖结晶得率的影响

以结晶乳糖得率 y₁ 为响应值，用 SAS 响应面回归 REREG 程序，回归拟合得回归方程：

$$y_1 = 47.33 + 0.49x_1 + 0.20x_2 + 0.44x_3 - 0.32x_1^2 - 0.59x_2^2 - 0.27x_3^2 + 0.075x_1x_2 - 0.10x_1x_3 - 0.075x_2x_3$$

对上述模型进行方差分析和显著性检验，结果见表 4、表 5。

表 4 结晶乳糖得率回归模型方差分析

Table 4 Variance analysis of crystal lactose yield regression model

方差来源	自由度	平方和	F 值	P 值	显著性
一次项	3	3.7525	17.66	0.0043	**
二次项	3	1.7177	8.08	0.0231	*
交互项	3	0.0850	0.40	0.7595	
总模型	9	5.5552	8.71	0.0141	*
残差	5	0.3542			

由表 4 可以看出，y₁ 的一次项 p < 0.01、二次项 p < 0.05，说明这两项影响显著，交互项 p > 0.05，故交互项影响不显著。由表 5 得出 x₁、x₃、x₂² 为显著性影响因素，在所选的因素水平范围内，影响乳糖结晶得率的

主次因素排列为：结晶温度>乳清pH>结晶时间。

表 5 结晶乳糖得率回归方程系数显著性检验

Table 5 Regression coefficient significance tests of crystal lactose yield

系数项	回归系数	自由度	标准误差	F 值	P 值
截距	47.33	1	0.154		
x_1	0.49	1	0.094	5.18	0.0035
x_2	0.20	1	0.094	2.13	0.0869
x_3	0.44	1	0.094	4.65	0.0056
x_1^2	-0.32	1	0.138	2.29	0.0710
x_2x_1	0.075	1	0.133	0.56	0.5974
x_2^2	-0.59	1	0.138	4.27	0.0079
x_3x_1	-0.10	1	0.133	0.75	0.4862
x_3x_2	-0.075	1	0.133	0.56	0.5974
x_3^2	-0.27	1	0.138	1.93	0.1122

根据回归方程绘制对结晶乳糖得率影响的响应面图和等高线图如图 4~6 所示，通过动态图可分析各因素之间对乳糖结晶得率的影响，同时可确定各因素的最佳水平及组合。

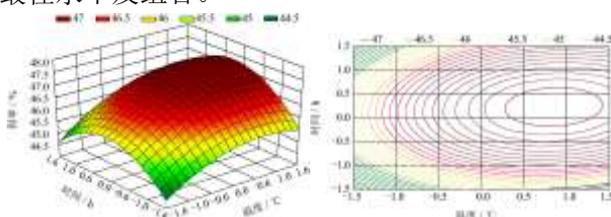


图 4 结晶温度和结晶时间交互作用影响的响应曲面和等高线

Fig.4 Crystallization temperature and time duration of interaction effects of response surface and contour lines

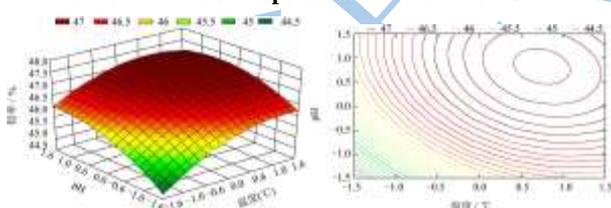


图 5 结晶温度和乳清 pH 交互作用影响的响应曲面和等高线

Fig.5 Crystallization temperature and pH duration of interaction effects of response surface and contour lines

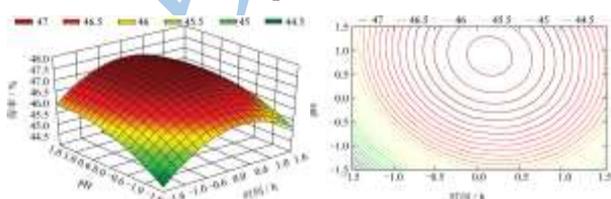


图 6 结晶时间和乳清 pH 交互作用影响的响应曲面和等高线

Fig.6 Crystallization time and pH duration of interaction effects of response surface and contour lines

2.3.3 优化的方案及工艺参数验证

通过回归方程,可以得到乳糖结晶的最优条件： x_1 为 0.68、 x_2 为 0.17、 x_3 为 0.67，即结晶温度为 38.4、结晶时间为 24.7、乳清 pH5.1，在此条件下乳糖结晶最大得率为 47.7%。在上述工艺条件下，对切达干酪的乳清进行乳糖结晶分离，进行了三次验证试验，得到结晶乳糖的平均得率为 47.5%，与理论值非常接近，说明回归模型拟合性较好。

将最优条件下制得的结晶乳糖通过固体研磨机研磨，然后分散在 95%乙醇中，进行粒径分析，与市售产品做比较，得到粒径分布图谱，如图 7。

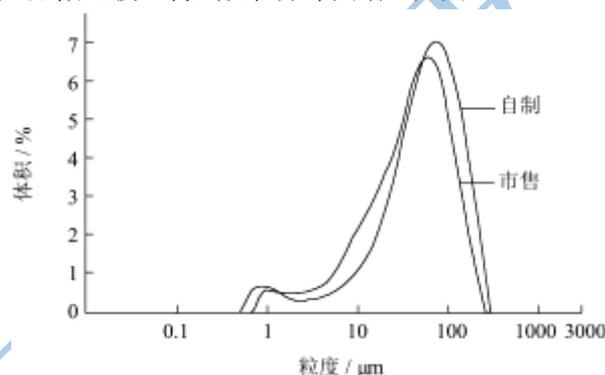


图 7 市售乳糖与自制乳糖的粒径分布图谱

Fig.7 Particle size distribution pattern of self made lactose and market sale lactose

从图 7 可以看出，自制的乳糖结晶样品与市售乳糖的粒径分布曲线，已十分接近，满足应用的需求。

3 结论

本文对切达干酪的乳清进行浓缩结晶，考察了结晶温度、结晶时间及乳清 pH 对结晶乳糖得率的影响。结论如下：

3.1 通过单因素试验，得到乳糖结晶过程中三因素的较优范围：结晶温度 30~40 °C，结晶时间 20~28 h，乳清 pH 4.8~5.2。

3.2 实验采用响应面设计优化的结晶工艺参数。方差分析表明影响乳糖结晶得率的因素按主次顺序排列为：结晶温度>乳清 pH>结晶时间。得到浓缩乳清结晶的最优工艺条件：结晶温度为 38.4、结晶时间为 24.7、乳清 pH 5.1，在此条件下乳糖结晶最大得率为 47.7%。

3.3 验证试验乳糖结晶平均得率为 47.5%，与理论最优结果基本一致。对自制样品与市售乳糖进行粒径分析，分布曲线很接近，满足应用需求。

参考文献

[1] 郭本恒.干酪[M].北京:化学工业出版社,2003

- [2] U S Dairy Export council.美国乳清及乳糖产品参考手册[M].2003
- [3] 李宇辉,尹丽娟,李开雄.乳清的营养价值及产品的综合利用现状[J].乳业科学与技术,2010,142(3):146-148
- [4] 刘志广,张建军,乔淑清.乳清制品在功能食品中的应用[J].食品科学,2004,11:376-378
- [5] 原龙,王新,尤艳蓉.牛奶中酪蛋白和乳糖的分离方法研究[J].应用化工杂志,2009,38(3):389-391
- [6] 赵莉,余群力,陈婷.结晶法提取乳清中乳糖工艺的研究[J].甘肃大学农业学报,2009,44(5):152-156
- [7] Pastorino AJ, Hansen C L, McMahon D J. Effect of pH on the Chemical Composition and Structure-Function Relationships of Cheddar Cheese [J]. J. Dairy Sci., 2003, 86:2751-2760
- [8] Wayne Modler H, Lefkovitch L P. Influence of pH, Casein, and Whey Protein Denaturation on the Composition, Crystal Size, and Yield of Lactose from Condensed Whey [J]. J. Dairy Sci., 1986, 69: 684-697
- [9] 邹文博,许明哲,王晨,等.激光散射法测定乳糖的粒度[J].药物分析杂志,2007,27(9):1420-1423
- [10] HE An-zhi, BIAN Bao-min. Light-scattering theory and testing technology on particles[J].laser J.,2000,21(3):47-51
- [11] 彭勇胜,王江之,黄程,等.响应面法优化姬松茸多糖的提取工艺[J].现代食品科技,2011,27(9):1119-1122