

核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液的 制备工艺优化

万文瑜^{1,2}, 闫圣坤², 孔令明¹, 都古路交¹, 阿卜杜萨拉木·麦麦提¹

(1. 新疆农业大学 食品科学与药学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业科学院 农业机械化研究所, 乌鲁木齐 830091)

摘要: 为了进一步促进我国核桃资源优势向经济效益优势转化, 提高核桃饼粕中蛋白质的高值化利用, 以核桃饼中提取的核桃蛋白作为原料, 通过与黄原胶复配制备一种蛋白-多糖复合的 Pickering 乳液, 通过单因素实验和响应面实验对核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液的制备工艺进行了优化, 并考察了制备的 Pickering 乳液的热稳定性、冷藏稳定性和冻融稳定性。结果表明, 核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液制备的最优工艺参数为 pH 6.5、黄原胶添加量 0.2 g/100 mL、核桃油体积分数 72%, 在此条件下乳液乳析指数较低, 为 $(1.49 \pm 0.68)\%$, 乳液体系热稳定和冷藏稳定性较好, 冻融稳定性较差。综上, 制备核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液为核桃蛋白的开发利用提供了一个新思路。

关键词: 核桃蛋白; 多糖; 黄原胶; Pickering 乳液

中图分类号: TQ936; TS229

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2023)07-0085-05

Optimization of preparing walnut protein - xanthan composite Pickering emulsion

WAN Wenyu^{1,2}, YAN Shengkun², KONG Lingming¹, DUGULUJIAO¹,
ABUDUSALAMU Maimaiti¹

(1. School of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;
2. Institute of Agricultural Mechanization, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China)

Abstract: In order to further promote the transformation of walnut resources advantage to economic benefit advantage and improve the high-value utilization of protein in walnut meal, a protein-polysaccharide composite Pickering emulsion was prepared by walnut protein and xanthan. The preparation process of walnut protein-xanthan composite Pickering emulsion was optimized by single factor experiment and response surface experiment, and the thermal stability, frozen stability, freeze-thaw stability were determined. The results showed that the optimal preparing parameters of Pickering emulsion were pH 6.5, xanthan dosage 0.2 g/100 mL, walnut oil volume fraction 72%. Under these conditions, the creaming index was lower with $(1.49 \pm 0.68)\%$. The emulsion system had good thermal stability and frozen stability, but the freeze-thaw stability was low. In conclusion, the preparation of walnut protein-xanthan composite Pickering emulsion provides a new idea for the exploitation of walnut protein.

Key words: walnut protein; polysaccharide; xanthan; Pickering emulsion

收稿日期: 2022-03-28; 修回日期: 2023-03-29

基金项目: 天山青年计划项目(2019Q050)

作者简介: 万文瑜(1997), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全(E-mail) 1391328125@qq.com。

通信作者: 孔令明, 教授, 硕士生导师, 博士(E-mail) 1472071212@qq.com; 闫圣坤, 副研究员, 硕士(E-mail) 435892143@qq.com。

我国作为核桃生产大国之一, 核桃资源非常丰富。核桃中含有丰富的营养成分, 深受广大消费者喜爱。目前对于核桃加工研究主要集中于核桃油, 而核桃油加工过程中产生的核桃饼粕研究较少。核

桃饼粕作为核桃制油的副产物,其主要营养成分为蛋白质,是一种良好的食品原料^[1]。研究表明,核桃饼中蛋白质含量高达 53.89%^[2],且核桃饼中蛋白质的氨基酸种类多达 18 种,其中含有 8 种人体必需氨基酸,可见核桃蛋白的营养价值较高,具有广泛的开发前景。但长期以来核桃饼粕大部分被用作家畜饲料进行加工或直接废弃,仅少量用于生产核桃蛋白粉、乳饮料等初级产品^[3-4],致使核桃饼粕中蛋白质的利用率和附加值低,未能实现资源的高值化利用,造成蛋白质资源的严重浪费^[5]。另外,由于核桃饼粕中含有较多蛋白质,直接丢弃会对环境造成严重的富营养化污染^[6]。

Pickering 乳液是一种新型稳定乳液体系,作为人造奶油替代品,已用于生产各种食品,且凭借其较高的产品附加值已逐渐成为众多学者关注的焦点。与传统乳液相比,Pickering 乳液具有优异的稳定性和安全性,在生物活性物质的控释、油脂的氧化抑制等方面都有很大的应用潜力。近年来蛋白-多糖及二元以上复合乳化剂制备的食品级 Pickering 乳液,如玉米醇溶蛋白和单宁酸复合体系^[7]、麦醇溶蛋白和原花青素复合体系^[8]、乳清分离蛋白-果胶复合体系^[9]等,在食品加工中得到了广泛应用。

黄原胶作为一种天然的高分子亲水性多糖胶体,凭借其较好的乳化性和稳定性在食品工业中得到广泛应用。研究表明,黄原胶与蛋白质复合,可以有效提高乳液的稳定性^[10]。因此,本文选择黄原胶作为乳化剂进行核桃蛋白乳液的制备。

本实验以由核桃饼中提取的核桃蛋白为原料,制备核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液,通过对乳液乳析指数的测定,利用单因素实验和响应面实验对核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液制备工艺进行优化,并对乳液的储藏稳定性进行了分析,以期对核桃蛋白的进一步高值化利用提供一定的数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

核桃蛋白(自制,采用碱溶酸沉法从核桃饼中提取,蛋白质含量 88.23%,水分 0.35%,脂肪含量 3.14%)。

盐酸、氢氧化钠(分析纯);黄原胶(食品级)。

1.1.2 仪器与设备

ME104E 电子秤,梅特勒-托利多仪器公司;DZKW-S-6 电热恒温水浴锅,北京市永光明医疗

仪器有限公司;FJ-200 高速剪切均质机,上海标本模型厂;TDL-5-A 离心机,上海安亭科学仪器厂;PHS-2F pH 计,上海雷磁仪器有限公司;Eclipse E20 生物显微镜,上海尼康仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液的制备

参照 Yang 等^[11]的方法,配制 1 g/100 mL 的核桃蛋白溶液,按照一定料液比加入黄原胶,充分混合均匀,使用 1.0 mol/L NaOH 调节溶液 pH,在室温下搅拌 3 h 充分水化后,再用 0.1 mol/L HCl 将溶液的 pH 缓慢调整到中性,将溶液在 4 500 r/min 离心 30 min 除去不溶成分,得到核桃蛋白-黄原胶复合体系。将核桃油按照一定比例添加于核桃蛋白-黄原胶复合体系中,用高速剪切均质机在 12 000 r/min 条件下均质 60 s,得到核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液。

1.2.2 乳析指数测定

取一定量的核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液于带刻度的试管中,在室温下放置 24 h,观察其清液层高度和乳液总高度,按下式计算乳析指数(Y)。

$$Y = A/B \times 100\% \quad (1)$$

式中:A 为清液层高度;B 为乳液总高度。

1.2.3 储藏稳定性分析

1.2.3.1 热稳定性

取 15 mL 核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液于试管中,分别在 50、70、90 °C 下水浴加热 30 min,观察乳液表现及微观状态。

1.2.3.2 冷藏稳定性

取 5 mL 核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液于试管中,分别置于 2、-4、-10 °C 冷藏 24 h,观察乳液表现及微观状态。

1.2.3.3 冻融稳定性

取 5 mL 核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液于试管中,置于 -25 °C 冰箱 24 h 后取出,在室温下放置 30 min,观察样品状态,对同一乳液样品重复上述步骤 3 次后对样品进行观察。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验

2.1.1 黄原胶添加量对乳析指数的影响

在核桃油体积分数 70%、pH 7 的条件下,探究黄原胶添加量(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 g/100 mL,以核桃蛋白溶液体积计)对乳液乳析指数的影响,结果如图 1 所示。

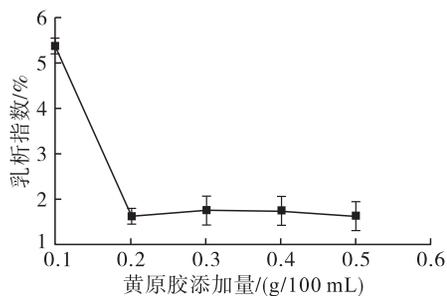


图1 黄原胶添加量对乳液乳析指数的影响

由图1可知:黄原胶添加量为0.1 g/100 mL时,乳液乳析指数较高,出现较为明显的乳析分层现象;黄原胶添加量增加至0.2 g/100 mL时,乳液乳析指数明显降低,随着黄原胶添加量的继续增加,乳液乳析指数变化不大。因此,选择黄原胶添加量为0.2 g/100 mL。

2.1.2 核桃油体积分数对乳析指数的影响

在黄原胶添加量0.2 g/100 mL、pH 7的条件下,探究不同核桃油体积分数(40%、50%、60%、70%、80%)对乳液乳析指数的影响,结果如图2所示。

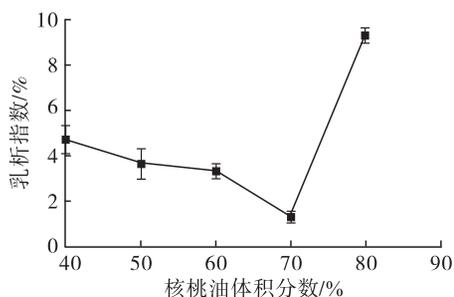


图2 核桃油体积分数对乳液乳析指数的影响

由图2可知,在核桃油体积分数为40%~70%之间时,随着核桃油体积分数的增加,乳液乳析指数呈降低趋势,乳液状态呈均一且质地黏稠的凝胶状。当核桃油体积分数增加至70%时,经过一段时间的室温储藏,仅有轻微乳析现象,此时乳析指数为 $(1.45 \pm 0.22)\%$,乳液展现出了相对较好的稳定性,这可能是由于滴液之间的互相作用以及蛋白-多糖复合凝胶结构共同作用的表现^[12]。而在核桃油体积分数增加至80%时,乳液乳析现象加剧,表现出现破乳现象,这可能是由于油相的占比增大导致乳液滴液絮凝和聚合无法得到有效控制致使乳液失稳^[13]。因此,选择核桃油体积分数为70%。

2.1.3 pH对乳析指数的影响

在黄原胶添加量0.2 g/100 mL、核桃油体积分数70%的条件下,探究pH(2、4、7、10、12)对乳液乳析指数的影响,结果如图3所示。

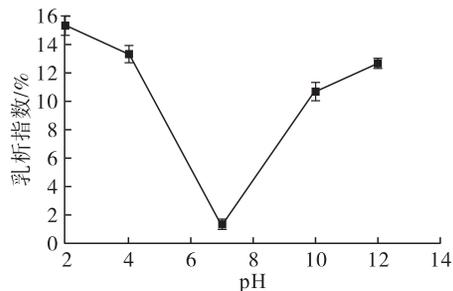


图3 pH对乳液乳析指数的影响

由图3可知,随着pH的增加,乳液乳析指数呈先下降后上升的趋势。当pH为7时,乳液乳析指数最低,为 $(1.62 \pm 0.17)\%$,乳液达到一个较稳定的状态,随着pH继续升高,乳液中的油水相逐渐分层,从而出现乳析现象。由此表明,乳液在中性条件下可以达到较稳定的状态,而酸性或碱性环境不利于制备稳定的Pickering乳液,这与王欣欣^[14]、付思哈^[15]等研究结果一致。综上,选择pH为7。

2.2 响应面实验

在单因素实验基础上,选择pH(A)、核桃油体积分数(B)、黄原胶添加量(C)为因素,乳析指数(Y)为响应值,通过响应面实验进行分析。响应面实验因素及水平见表1,响应面实验设计与结果见表2。

表1 响应面实验因素及水平

水平	A pH	B 核桃油体积分数/%	C 黄原胶添加量/(g/100 mL)
-1	4	60	0.1
0	7	70	0.2
1	10	80	0.3

表2 响应面实验设计与结果

实验号	A	B	C	Y/%
1	0	0	0	1.622
2	0	0	0	1.562
3	0	1	1	1.894
4	1	0	-1	2.234
5	0	-1	1	1.923
6	-1	-1	0	1.840
7	1	0	1	2.224
8	0	0	0	1.549
9	0	1	-1	1.885
10	0	0	0	1.603
11	1	1	0	1.962
12	0	-1	-1	2.112
13	-1	0	-1	2.250
14	0	0	0	1.523
15	1	-1	0	2.170
16	-1	1	0	1.885
17	-1	0	1	1.894

利用Design-Expert 10.0.1软件对表2数据进行统计分析,得到二次多项式回归方程: $Y = 1.5718 +$

0.090 1A - 0.052 4B - 0.068 3C - 0.063 3AB + 0.086 5AC + 0.049 5BC + 0.294 7A² + 0.097 7B² + 0.284 0C²。对回归方程进行方差分析,结果如表 3 所示。

表 3 方差分析

方差来源	平方和	自由度	方差	F	p
模型	1.00	9	0.11	59.68	<0.000 1 **
A	0.07	1	0.07	35.05	0.000 6 **
B	0.02	1	0.02	11.84	0.010 8 *
C	0.04	1	0.04	20.10	0.002 9 **
AB	0.02	1	0.02	8.63	0.021 8 *
AC	0.03	1	0.03	16.14	0.005 1 **
BC	9.80E-3	1	9.80E-3	5.29	0.055 1
A ²	0.37	1	0.37	197.28	<0.000 1 **
B ²	0.04	1	0.04	21.69	0.002 3 **
C ²	0.34	1	0.34	183.15	<0.000 1 **
残差	0.01	7	1.85E-3		
失拟项	6.49E-3	3	2.16E-3	1.33	0.381 5
纯误差	6.49E-3	4	1.62E-3		
合计	1.01	16			

注:R²为 0.987 1, R_{Adj}²为 0.970 6, R_{Pred}²为 0.887 1; * 表示差异显著, p < 0.05; ** 表示差异极显著, p < 0.01

由表 3 可以看出:模型的 p 值小于 0.01, 极显著;失拟项 p 值大于 0.05, 不显著, 说明不存在失拟因子。另外,模型的 R²为 0.987 1, 说明模型具有高的显著性, 而 R_{Adj}²为 0.970 6, 说明模型能够解释 97.06% 的响应值变异, 且与 R_{Pred}²接近, 可见此实验模型与真实数据拟合程度良好, 可靠度和准确性较高, 可用于分析和预测最优工艺参数。

由表 3 还可知, pH 和黄原胶添加量对乳析指数具有极显著影响, 核桃油体积分数对乳析指数具有显著影响, 3 个因素对乳析指数影响的大小顺序为 A > C > B, 即 pH > 黄原胶添加量 > 核桃油体积分数。此外, pH 和黄原胶添加量交互项, 以及 3 个因素的二次项均存在极显著影响。

为进一步确定最优工艺参数, 以乳析指数最小为优化目标, 根据 Design - Expert 10.0.1 软件运行结果, 计算得出最优工艺参数为 pH 6.547、核桃油体积分数 71.872%、黄原胶添加量 0.213 g/100 mL, 在此条件下模型预测的最小乳析指数为 1.556%。为符合实际实验条件, 将最优工艺参数调整为 pH 6.5、核桃油体积分数 72%、黄原胶添加量 0.2 g/100 mL, 并在此条件下进行 3 次重复实验, 得到乳液平均乳析指数为 (1.49 ± 0.68)%, 与模型预测结果基本一致, 说明所建立的模型具有良好的预测能力, 表明基于该响应面模型分析优化乳析指数最优工艺参数的

方法有效可行。

2.3 储藏稳定性

2.3.1 热稳定性

由于商业杀菌在食品加工工艺中必不可少, 因此有必要对制备的 Pickering 乳液的热稳定性进行检测, 结果如图 4 所示。

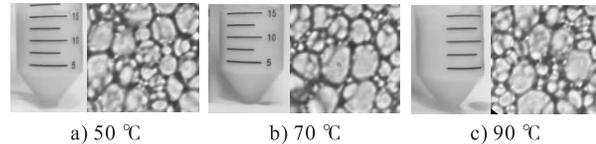


图 4 Pickering 乳液加热 30 min 表现及微观状态

由图 4 可知, 按照最优工艺参数制备的 Pickering 乳液经过加热后, 在外观和微观上均保持了稳定, 说明所制备的 Pickering 乳液有相对较好的热稳定性。

2.3.2 冷藏稳定性

由于冷藏是维持食品长期品质稳定的一种重要的方式, 因此有必要对制备的 Pickering 乳液在不同条件下进行冷藏, 以探究其冷藏稳定性, 结果如图 5 所示。

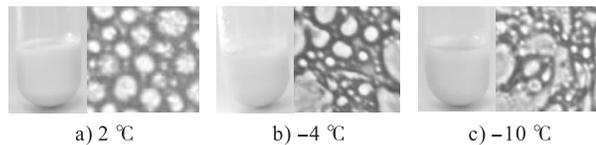


图 5 Pickering 乳液冷藏 24 h 表现及微观状态

由图 5 可知, 从 Pickering 乳液外观来看, 在 2 °C 储藏无明显变化, 乳滴形态分布均匀, 而在 -4 °C 和 -10 °C 储藏, Pickering 乳液色泽均出现了不同程度的变化, 且乳滴也有不同程度的变形和聚集现象。可见, Pickering 乳液在 2 °C 的冷藏环境中表现出相对较好的稳定性。

2.3.3 冻融稳定性

冻融稳定性是食品的重要性质。在冻融稳定性测试过程中, 所制备的 Pickering 乳液未展现出良好的冻融稳定性, 仅经过一个循环, 就已经出现了明显的破乳现象, 因而冻融稳定性并未达到理想的结果。冷冻导致乳液失稳机制分为两方面: 一方面是在冷冻过程中发生冷缩现象, 导致乳液中乳化剂的屏障效应失效, 从而使乳液失稳; 另一方面是乳液界面膜被冷冻的液滴刺穿而导致乳液失稳^[16]。有研究证实, 乳液中离子强度可能对冻融稳定性有着一定的影响, 乳液中的蛋白质复合体在一定离子强度下可以形成有一定强度的蛋白质膜屏障, 这可能是 Pickering 乳液保持冻融稳定性的关键^[16]。后续将加强对核桃蛋白 - 黄原胶复合 Pickering 乳液冻融稳定性增强的研究。

3 结论

本研究以核桃蛋白作为原料制备核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液,并通过对乳液乳析指数的测定,利用单因素实验和响应面实验确定了核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液最优制备工艺参数为 pH 6.5、黄原胶添加量 0.2 g/100 mL、核桃油体积分数 72%,此时乳析指数最小,为 $(1.49 \pm 0.68)\%$ 。所制备的 Pickering 乳液展现出了较好的热稳定性和冷藏稳定性,但冻融稳定性较差。核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液成本较低、制作方法简单且产品健康绿色,因而有着非常广阔的市场前景,有望成为目前市售人造奶油或沙拉酱的替代品,同时本研究也为核桃蛋白的开发利用提供新的研究思路。

参考文献:

- [1] 李榕. 核桃粕中蛋白质和膳食纤维的综合利用[D]. 成都:西华大学,2015.
- [2] 杜蕾蕾,郭涛,万辉,等. 冷榨核桃饼中核桃蛋白的提取与纯化的研究[J]. 粮油加工,2008(10):79-81.
- [3] 毛晓英. 核桃蛋白质的结构表征及其制品的改性研究[D]. 江苏 无锡:江南大学,2012.
- [4] 陈义勇,王亮,赵小忠. 高营养核桃粉的研制[J]. 常熟理工学院学报,2009,23(8):75-78.
- [5] 钟海雁,李忠海,袁列江,等. 核桃生产加工利用研究的现状与前景[J]. 食品与机械,2002(4):4-6.
- [6] 冯贞,方晓璞. 核桃加工副产物综合利用途径[J]. 中国油脂,2018,43(9):71-74,87.
- [7] ZOU Y, GUO J, YIN S W, et al. Pickering emulsion gels prepared by hydrogen-bonded zein/tannic acid complex colloidal particles[J]. J Agric Food Chem,2015,63(33):7405-7414.
- [8] ZHOU F Z, YAN L, YIN S W, et al. Development of Pickering emulsions stabilized by glia din/proanthocyanidins hybrid particles (GPHPs) and the fate of lipid oxidation and digestion[J]. J Agric Food Chem,2018,66(6):1461-1471.
- [9] 葛慧娟,肖军霞,黄国清. 乳清分离蛋白-果胶复合物在 Pickering 乳液制备中的应用[J]. 中国食品学报,2021,21(3):161-172.
- [10] 郭英. 菜籽蛋白-黄原胶复合物对乳状液稳定性的影响[J]. 食品科技,2022,47(2):279-282.
- [11] YANG Y, WANG R, FENG W, et al. Carboxymethyl-cellulose/pectin inhibiting structural folding of rice proteins via trinary structural interplays [J]. Int J Biol Macromol,2019,133:93-100.
- [12] TANG C H. Globular proteins as soft particles for stabilizing emulsions: concepts and strategies [J/OL]. Food Hydrocolloid,2020,103(2):105664 [2022-03-28]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105664>.
- [13] 李方斯. 大米蛋白与核桃蛋白异源共架体的构建及其在高内相乳液制备中的应用[D]. 江苏 无锡:江南大学,2021.
- [14] 王欣欣,吴霞,李德富,等. 明胶纳米颗粒稳定的 Pickering 乳液的制备及表征[J]. 食品与发酵工业,2023,49(1):129-136.
- [15] 付思晗,齐玉堂,张维农,等. 玉米醇溶蛋白/乳清蛋白纤维核复合纳米粒稳定 Pickering 乳液的制备与性质[J]. 中国油脂,2022,47(1):43-47.
- [16] DEGNERR B M, CHUNG C, SCHLEGEL V, et al. Factors influencing the freeze-thaw stability of emulsion-based foods[J]. Compr Rev Food Sci F,2014,13(2):98-113.
- [9] TEKLEMARIAM T A, MOISEY J, GOTERA J. Attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy coupled with chemometrics for the rapid detection of coconut water adulteration [J/OL]. Food Chem,2021,355:129616 [2022-04-06]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129616>.
- [10] 侯伟,王继芬,何欣龙. 基于支持向量机建模的重质矿物油光谱模式识别[J]. 激光与光电子学进展,2021,58(6):395-402.
- [11] 杨巧玲,邓晓军,孙晓东,等. 光谱数据融合技术在食品检测中的应用研究进展[J]. 食品工业科技,2020,41(18):324-329.
- [12] 何欣龙,王继芬. 牛顿插值多项式-导数光谱无损检测车用保险杠[J]. 激光技术,2020,44(3):333-337.
- [13] 李阳,何江涛. 基于 Bayes 判别模型的火场中铜导线短路熔痕定量金相鉴定方法研究[J]. 火灾科学,2015,24(4):201-208.
- [14] 何欣龙,王继芬,何亚,等. Bayes 判别的塑钢窗红外光谱快速识别[J]. 激光杂志,2019,40(11):33-37.
- [15] 姚诗颖,易建新,万显荣,等. 基于多层感知器的外辐射源雷达多帧联合检测[J]. 电波科学学报,2021,36(2):216-224.
- [16] 仝卫国,朱庚宏. 基于多层感知器的气液两相流流型识别方法[J]. 热能动力工程,2020,35(6):116-122.
- [17] 卜亚平,戴晓婧,张悦,等. 光谱数据融合技术在食用菌质量评价中的应用进展 [J/OL]. 菌物研究,2021:1-7 [2022-04-06]. <https://doi.org/10.13341/j.jfr.2021.1428>.
- [18] 吴思俊,王龙,吴红根,等. 基于多源数据融合技术的盐酸青藤碱制备工艺一致性评价方法研究[J]. 分析测试学报,2022,41(1):121-127.

(上接第 66 页)