

葵花籽蛋白水解物对水包油型乳状液 物理和氧化稳定性的影响

杨 希, 武爱群

(安徽粮食工程职业学院, 合肥 230011)

摘要:利用碱性蛋白酶对葵花籽蛋白进行适度水解后,将葵花籽蛋白水解物(SSH)添加到以单甘酯作为乳化剂制备的乳状液中,通过测定乳状液的乳化活性、乳化稳定性、粒径、絮凝指数、凝结指数以及乳状液贮藏14 d过氧化值和丙二醛含量的变化,评价SSH对乳状液物理和氧化稳定性的影响。结果表明:添加SSH可显著提高乳状液的乳化活性、乳化稳定性、絮凝和凝结稳定性,显著降低乳状液的粒径;SSH添加量为1.0%时,乳状液具有较好的物理稳定性,同时又具有较好的氧化稳定性。

关键词:葵花籽蛋白水解物;乳状液;粒径;乳化活性;乳化稳定性;絮凝稳定性;凝结稳定性;氧化稳定性

中图分类号:TS222+.1;TQ646 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)01-0057-04

Effect of sunflower seed protein hydrolysate on physical and oxidative stability of oil in water emulsion

YANG Xi, WU Aiqun

(Anhui Vocational College of Grain Engineering, Hefei 230011, China)

Abstract: The sunflower seed protein was hydrolyzed moderately by alkaline protease, and the effect of sunflower seed protein hydrolysate (SSH) on physical and oxidative stability of emulsion prepared with monoglyceride as emulsifier was studied. The emulsifying activity, emulsion stability, particle size, flocculation index, condensation index and peroxide value and malondialdehyde content of the emulsion stored for 14 d were evaluated. The results showed that the emulsifying activity, emulsion stability, flocculation and condensation stabilities of the emulsion increased significantly after adding SSH while the particle size of the emulsion decreased markedly. When the content of SSH was 1.0%, the emulsion had the best physical stability and better oxidative stability.

Key words: sunflower seed protein hydrolysate; emulsion; particle size; emulsifying activity; emulsion stability; flocculation stability; condensation stability; oxidative stability

脱脂葵花籽粕中含有约30%的蛋白质,葵花籽蛋白抗营养因子含量较低^[1],是很好的蛋白质来源。酶法水解蛋白质是改善蛋白质功能特性的常用方法。蛋白质在水解过程中能够产生小分子的多

肽,具有更好的营养和功能特性,尤其是适度水解的蛋白质不仅具有较好的抗氧化活性,还具有很好的乳化活性^[2]。

常见的水包油型乳状液,在生产和储存过程中受热力学不稳定性的影响会产生物理不稳定状态,并因为范德华力和桥联作用等导致乳化液滴的凝聚和聚结,严重影响其品质^[3]。此外,乳状液在乳化成小液滴之后,会增加脂滴的界面面积,从而增加了与氧分子和过渡金属的接触,容易造成油脂氧

收稿日期:2020-04-21;修回日期:2020-09-15

基金项目:安徽省高等学校省级质量工程项目(2019xqszx90);安徽省高等学校自然科学研究项目(KJ2019A1267)

作者简介:杨 希(1986),女,副教授,硕士,研究方向为食品加工(E-mail)181580592@qq.com。

化^[4]。向乳状液中添加生物活性物质,生物活性物质被吸附到乳状液界面上,可通过空间排斥作用增强乳状液的稳定性^[5]。乳状液的研究中通常采用大豆蛋白水解物、乳清蛋白水解物、玉米蛋白水解物等,葵花籽蛋白水解物(SSH)在水包油型乳状液中的研究还相对较少。因此,本实验将葵花籽蛋白进行适度水解,探讨了不同添加量的 SSH 与单甘酯作为乳化剂协同增加水包油型乳状液物理稳定性的机制,并考察 SSH 作为抗氧化剂在水包油型乳状液中抑制脂质氧化的作用,以最大程度地改善乳状液型食品的稳定性的。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

葵花籽蛋白粉(蛋白质含量 80.0%),阳光国际种子有限公司;食品级单甘酯,绿洲生物技术有限公司;一级大豆油,益海嘉里粮油有限公司;碱性蛋白酶(酶活 2.4 AU/g),丹麦 Novo 公司;十二烷基硫酸钠(SDS),美国 Sigma 公司。

1.1.2 仪器与设备

T18 匀浆机,德国 IKA 公司;AH - basic 型高压均质机,ATS 工业系统有限公司;Zatasizer Nano - ZS 型粒度仪,英国伍斯特郡马尔文仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 SSH 的制备

将葵花籽蛋白粉配制成底物质量分数为 4% 的溶液,90℃ 预热 5 min 后,用碱性蛋白酶水解 1 h(水解条件为酶与底物质量比 2:100,水解温度 55℃,用 1 mol/L NaOH 维持 pH 8.0 不变),水解结束后在 90℃ 水浴中加热 5 min 灭酶,用 1 mol/L HCl 将 pH 调至 7.0,在 4 500 g 下离心 15 min 去除杂质,冻干储存。根据 pH - Stat 法^[6] 计算 SSH 的水解度为 9.2%。

1.2.2 乳状液的制备

大豆油与 10 mg/mL 的单甘酯(单甘酯溶液由大豆油作溶剂配制)以体积比 1:9 混合,在 13 500 r/min 下均质 2 min,然后按总质量的 0.5%、1.0%、1.5% 加入 SSH,搅拌均匀,再在 40 MPa 下高压均质 2 次,按 0.2 g/L 加入 NaN₃ 抑制微生物,即得乳状液。

1.2.3 乳状液乳化活性和乳化稳定性的测定

参照 Ramirez 等^[7] 的方法,取 50 μL 乳状液于含有 5 mL 0.1% SDS 的离心管中混合均匀,在 500 nm 处测定吸光值。乳化活性用新制备乳状液的吸光值表示,乳化稳定性按式(1)计算。

$$S = A_{12}/A_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: S 为乳化稳定性; A_0 为新制备乳状液的吸光值; A_{12} 为乳状液放置 12 h 后的吸光值。

1.2.4 乳状液粒径的测定

取 50 μL 乳状液,加入 5 mL 超纯水并混合均匀,然后室温下使用激光粒度仪测定乳状液贮藏 1 d 和 14 d 的粒径。

1.2.5 乳状液絮凝指数和凝结指数的测定

参照 Castellani 等^[8] 的方法进行测定,分别按式(2)和式(3)计算絮凝指数和凝结指数。

$$F = (d_1/d_2 - 1.0) \times 100\% \quad (2)$$

$$C = (d_3/d_4 - 1.0) \times 100\% \quad (3)$$

式中: F 为絮凝指数; d_1 表示乳状液分散在超纯水中的粒径,μm; d_2 表示乳状液分散在 1% SDS 中的粒径,μm; C 为凝结指数; d_3 和 d_4 分别为乳状液放置 24、0 h 的粒径,μm。

1.2.6 乳状液过氧化值的测定

采用硫代硫酸钠滴定法^[9] 测定乳状液过氧化值。取 0.5 mL 乳状液于 10 mL 乙酸/氯仿溶液(体积比 3:2)中,振荡混匀后加 0.5 mL 饱和碘化钾溶液,混匀后暗反应 3 min,用超纯水终止反应。加入 0.5 mL 0.5% 淀粉溶液,用 2 mmol/L Na₂S₂O₃ 滴定至蓝色消失。按式(4)计算过氧化值。

$$P = (V_1 - V_2) \times C/m \quad (4)$$

式中: P 为乳状液的过氧化值,mmol/kg; V_1 和 V_2 分别为乳状液和空白所消耗的 Na₂S₂O₃ 的体积,mL; C 为 Na₂S₂O₃ 的浓度,mol/L; m 为样品的质量,g。

1.2.7 乳状液丙二醛含量的测定

根据 Mei 等^[10] 的方法并稍作改动。硫代巴比妥酸溶液的配制:将 0.375 g 硫代巴比妥酸、15 g 三氯乙酸配制成硫代巴比妥酸溶液,将 1.76 mL 12 mol/L 的盐酸和 82.9 mL 水混匀,再加入 3 mL 2% 的 BHA 溶液。取 4 mL 上述硫代巴比妥酸溶液、1 mL 乳状液、1 mL 超纯水进行混合,沸水浴加热 15 min,冷却至室温后,过 0.45 μm 滤膜,滤液在 532 nm 处进行比色,用吸光度计算丙二醛含量。

1.2.8 数据处理

每个实验重复操作 3 次,结果以“平均值 ± 标准差”的形式表示。采用 IBM SPSS statistics 25 和 Origin 2018 进行数据统计分析与差异显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 SSH 对乳状液乳化活性和乳化稳定性的影响(见图 1)

由图 1 可见,与未添加 SSH 的乳状液相比,不

同添加量的 SSH 都能提高乳状液的乳化活性和乳化稳定性。这是因为蛋白质经过水解后肽链数增多,SSH 的分子柔性增强,使亲水基团和疏水基团能够迅速被吸附到油水界面上,SSH 能够包裹在油滴表面使其具有更好的分散性,并显著提高乳状液的乳化稳定性。随着 SSH 添加量的增加,乳状液乳化活性和乳化稳定性都呈现了先增加后降低的趋势,在 SSH 添加量为 1.0% 时,乳状液具有最高的乳化活性和乳化稳定性。这是因为当界面上的蛋白质浓度超过了最大表面负荷,过量的蛋白质从油水界面解吸而游离于水相之中,影响了界面膜的厚度和致密性,从而使乳状液的乳化活性和乳化稳定性降低^[11]。本研究结果与 Li 等^[12]的研究结果相似。

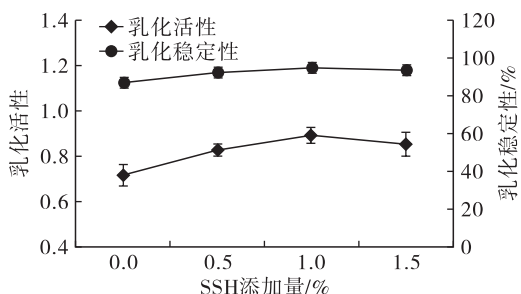


图1 SSH对乳状液乳化活性和乳化稳定性的影响

2.2 SSH对乳状液粒径的影响(见表1)

表1 SSH对乳状液粒径的影响

SSH添加量/%	不同贮藏时间的粒径/ μm	
	1 d	14 d
0	4.91 \pm 0.38 ^{Ab}	12.73 \pm 0.15 ^{Aa}
0.5	3.87 \pm 0.29 ^{Bb}	11.54 \pm 0.26 ^{Ba}
1.0	3.03 \pm 0.17 ^{Db}	10.86 \pm 0.28 ^{Da}
1.5	3.41 \pm 0.45 ^{Cb}	11.12 \pm 0.43 ^{Ca}

注:不同大写字母表示同列相比具有显著差异($P < 0.05$),不同小写字母表示同行相比具有显著差异($P < 0.05$)。

由表1可见,与未添加 SSH 的乳状液相比,添加 SSH 的乳状液的粒径显著降低。这是因为蛋白质经过适度水解后内部的 β -折叠结构展开,蛋白质的疏水位点增多,使 SSH 能够迅速进入油水界面形成界面膜,从而有效地防止液滴间的絮凝和聚结,使乳状液的粒径减小。但是,当 SSH 添加量为 1.5% 时,与 SSH 添加量为 1.0% 时相比乳状液的粒径增大,这可能是因为 SSH 含量过高导致蛋白质分子间交联聚集,部分蛋白质发生絮凝造成的^[13]。与贮藏 1 d 的乳状液相比,贮藏 14 d 的乳状液的粒径均显著增大($P < 0.05$),这是因为乳状液中液滴表面的 SSH 随着贮藏时间的延长会逐渐脱落,从而导致 SSH 的吸附量逐渐减少,减弱了黏弹性界面膜,

使乳状液稳定性降低^[14]。

2.3 SSH对乳状液絮凝指数和凝结指数的影响(见表2)

表2 SSH对乳状液絮凝指数和凝结指数的影响

SSH添加量/%	絮凝指数/%	凝结指数/%
0	41.07 \pm 0.15 ^A	103.11 \pm 0.02 ^A
0.5	38.49 \pm 0.07 ^B	102.01 \pm 0.15 ^B
1.0	32.56 \pm 0.12 ^D	99.92 \pm 0.07 ^D
1.5	35.03 \pm 0.05 ^C	101.58 \pm 0.06 ^C

注:不同大写字母表示同列相比差异显著($P < 0.05$)。

由表2可见,与未添加 SSH 的乳状液相比,添加 SSH 后乳状液絮凝指数和凝结指数均显著降低($P < 0.05$)。这是因为葵花籽蛋白经过水解后核心部位的疏水基团暴露,致使表面疏水性增加,进而增加抗絮凝和抗凝结稳定性。SSH 添加量为 1.0% 时,乳状液的絮凝和凝结稳定性最好。适当浓度的 SSH 能够增加乳状液的黏度,液滴可以固定在更黏性的水相中,这有助于提高乳状液的物理稳定性。但是,当 SSH 添加量为 1.5% 时,乳状液的絮凝指数和凝结指数都有所增加。这可能是因为 SSH 添加量过高时,乳化微粒间的作用力增加,导致乳状液的稳定性降低^[15]。

2.4 SSH对乳状液过氧化值的影响(见图2)

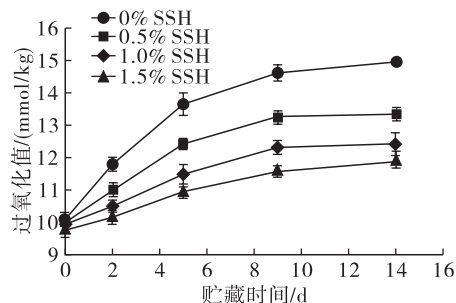


图2 SSH对乳状液过氧化值的影响

由图2可见,随着贮藏时间的延长,未添加 SSH 乳状液的过氧化值显著高于添加 SSH 的乳状液,可见 SSH 能够显著降低乳状液过氧化物的生成。这是因为葵花籽蛋白经过水解后形成了具有清除自由基和螯合过渡金属性质的多肽和游离的氨基酸,并且添加蛋白质水解物可隔离自由基,使邻近的脂肪球免受自由基的攻击^[16]。此外,SSH 抑制过氧化物生成的效果与乳状液中 SSH 添加量呈正相关。Zhang 等^[17]将豌豆蛋白水解物添加到乳状液中,也发现豌豆蛋白水解物能在油滴颗粒周围形成物理屏障,减少脂肪氧化的初级产物进入或分散到氧化反应的中心,从而起到增加界面膜厚度、提高乳状液氧化稳定性的作用。

2.5 SSH对乳状液丙二醛含量的影响(见图3)

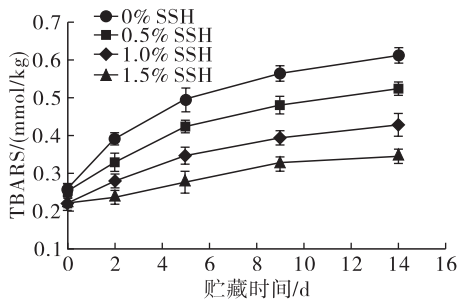


图3 SSH对乳状液丙二醛含量的影响

由图3可见,随着贮藏时间的延长,乳状液的TBARS值显著增加($P < 0.05$),但SSH的添加能够显著降低TBARS值,且在贮藏过程中SSH添加量越高,降低TBARS值的效果越显著。添加SSH能够抑制脂质氧化是因为葵花籽蛋白酶解生成了小分子多肽,这些小肽能够与自由基和促氧化剂反应,多肽/水解产物很容易分散在水-油周围,并附着在容易发生脂质氧化的薄膜上,形成一层屏障^[18]。并且,水解时肽键断裂释放的肽可隔离自由基、螯合过渡金属,从而延缓了乳状液中脂质的氧化^[19]。

3 结论

SSH能够被吸附在油水界面上,增加界面膜厚度,显著提高乳状液乳化活性和乳化稳定性、絮凝和凝结核稳定性,显著降低乳状液的粒径。SSH添加量为1.0%时,乳状液具有较好的物理稳定性,同时又具有较好的氧化稳定性。

参考文献:

- [1] GONZALEZ P S, VEREIJKEN J M, MERCK K B, et al. Emulsion properties of sunflower (*Helianthus annuus*) proteins [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53 (6): 2261 - 2267.
- [2] 李媛媛, 孙方达, 刘骞, 等. 水解度对玉米蛋白水解物抗氧化性和乳化性影响的研究[J]. 食品工业, 2016 (8): 201 - 207.
- [3] 安秀林, 李庆忠. 乳状液稳定性的影响因素和表达[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2003, 19(3): 29 - 31.
- [4] LIANG Y C, GILLIES G, MATIA M L. Structure and stability of sodium - caseinate - stabilized oil - in - water emulsions as influenced by heat treatment [J]. Food Hydrocoll, 2016, 66(24): 307 - 317.
- [5] CHEN H M, MURAMOTO K, YAMAUCHI F. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean β - conglycinin [J]. J Agric Food Chem, 2011, 43 (20): 574 - 578.
- [6] OYAZU M. Studies on products of browning reaction; antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamines [J]. J Nutr, 1986, 44: 307 - 315.
- [7] RAMIREZ S J C, XIONG Y L. Rheological properties of mixed muscle/nonmuscle protein emulsions treated with transglutaminase at two ionic strengths [J]. Int J Food Sci Tech, 2003, 38(7): 777 - 785.
- [8] CASTELLANI O, BELHOMME C, ELISABETH D B. Oil - in - water emulsion properties and interfacial characteristics of hen egg yolk phospholipids [J]. Food Hydrocoll, 2006, 20 (1): 35 - 43.
- [9] ULUATA S, MCCLEMENTS D J, DECKER E A. How the multiple antioxidant properties of ascorbic acid affect lipid oxidation in oil - in - water emulsions [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(6): 1819 - 1824.
- [10] MEI L Y, MCCLEMENTS D J, WU J N. Iron - catalyzed lipid oxidation in emulsion as affected by surfactant, pH and NaCl [J]. Food Chem, 1998, 61(3): 307 - 312.
- [11] LI Y, NIU H L, LIU H T, et al. Effect of porcine plasma protein with limited hydrolyzation coupled with Tween 20 on the physical and oxidative stability of oil - in - water emulsions [J]. Food Bioph, 2018, 13(3): 1 - 11.
- [12] LI Y Y, KONG B H, LIU Q, et al. Improvement of the emulsifying and oxidative stability of myofibrillar protein prepared oil - in - water emulsions by addition of zein hydrolysates [J]. Process Biochem, 2016, 53: 116 - 124.
- [13] HUANG S W, FRANKEL E N, AESCHBACH R. Partition of selected antioxidants in corn oil - water model systems [J]. J Agric Food Chem, 2013, 45(8): 1991 - 1994.
- [14] CHENG Y, XIONG Y L, JIE C. Antioxidant and emulsifying properties of potato protein hydrolysate in soybean oil - in - water emulsions [J]. Food Chem, 2010, 120(9): 101 - 108.
- [15] KONG B H, PENG X Y, XIONG Y L. Protection of lung fibroblast MRC - 5 cells against hydrogen peroxide - induced oxidative damage by 0.1 - 2.8 kDa antioxidative peptides isolated from whey protein hydrolysate [J]. Food Chem, 2012, 135(2): 540 - 547.
- [16] GUO J Z, LEE H L, CHANG S H. Antioxidant properties of the extracts from different parts of broccoli in Taiwan [J]. J Food Drug Anal, 2011, 19(2): 96 - 101.
- [17] ZHANG X, XIONG Y L, CHEN J, et al. Synergy of licorice extract and pea protein hydrolysate for oxidative stability of soybean oil - in - water emulsions [J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(32): 8204 - 8313.
- [18] ZHAO Q, SELOMULYA C, WANG S Q. Enhancing the oxidative stability of food emulsions with rice dreg protein hydrolysate [J]. Food Res Int, 2012, 48 (2): 876 - 884.
- [19] 李月, 刘骞, 陈益春, 等. 猪血浆蛋白水解物对水包油型乳状液氧化稳定性的影响 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(16): 24 - 28.