

豌豆分离蛋白/卡拉胶复合物乳液的性质研究

沈可洁¹, 李兴飞¹, 华欲飞¹, 张 钊², 曹连锋², 王才立², 张彩猛¹

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 山东嘉华生物科技股份有限公司, 山东 聊城 252400)

摘要:为改善豌豆分离蛋白(PPI)在酸性乳液体系中的乳化稳定性,将PPI与阴离子多糖卡拉胶(CG)在酸性条件下混合,制备可溶性静电复合物乳液。通过测定PPI乳液和PPI/CG复合物乳液在不同pH(4~7)下粒径、 ζ -电位、显微结构以及乳析指数的变化,判断两种乳液的稳定性。结果表明:pH 4~5时,PPI乳液粒径达到35 μm 以上,而pH 4~7时PPI/CG复合物乳液粒径均小于18 μm ;储藏14 d时,PPI乳液和PPI/CG复合物乳液粒径均稍有增加;酸性条件下,PPI乳液的 ζ -电位绝对值均小于30 mV,而PPI/CG复合物乳液的 ζ -电位绝对值均大于40 mV;酸性条件下,PPI/CG复合物乳液较PPI乳液分散性有明显改善;在储藏14 d过程中,PPI乳液乳析指数随储藏时间的延长而逐渐增大,而PPI/CG复合物乳液乳析指数基本为0。综上,PPI/CG复合物可显著改善PPI在酸性条件下的乳化稳定性。

关键词:豌豆分离蛋白;卡拉胶;静电复合物;乳液;稳定性

中图分类号:TS275.4;TS201.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2023)02-0036-05

Properties of emulsions stabilized by pea protein isolate/ carrageenan complexes

SHEN Kejie¹, LI Xingfei¹, HUA Yufei¹, ZHANG Zhao², CAO Lianfeng²,
WANG Caili², ZHANG Caimeng¹

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China;

2. Shandong Jiahua Biotechnology Co., Ltd., Liaocheng 252400, Shandong, China)

Abstract:To improve the emulsification stability of pea protein isolate (PPI) in acidic emulsion systems, soluble electrostatic complex emulsions were prepared by mixing PPI with anionic polysaccharide carrageenan (CG) under acidic conditions. The stability of the two emulsions was determined by measuring the changes of particle size, ζ -potential, microstructure and emulsion precipitation index at different pH(4-7) of PPI emulsion and PPI/CG complex emulsion. The results showed that the particle size of PPI emulsions reached more than 35 μm at pH 4-5, while the particle size of PPI/CG complex emulsions were less than 18 μm at pH 4-7. After storage for 14 d, the particle size of PPI emulsion and PPI/CG complex emulsion slightly increased. Under acidic conditions, the absolute value of ζ -potential of PPI emulsion was less than 30 mV, and that of PPI/CG complex emulsion was above 40 mV. The dispersion of PPI/CG complex emulsion was obviously improved compared with PPI emulsion under acidic conditions. The emulsion precipitation index of PPI emulsion basically gradually increased with the prolonging of storage time during 14 d storage, while the emulsion precipitation index of PPI/CG complex emulsion was basically 0. In conclusion, the PPI/CG complex can significantly improve the emulsion stability of PPI under acidic conditions.

Key words: pea protein isolate; carrageenan; electrostatic complex; emulsion; stability

收稿日期:2022-01-13;修回日期:2022-09-28

作者简介:沈可洁(1997),女,硕士研究生,研究方向为植物蛋白加工(E-mail)2547399700@qq.com。

通信作者:李兴飞,副教授(E-mail)lixingfeiangel@163.com。

豌豆是仅次于大豆的第二大食用豆类,含有丰富的碳水化合物、蛋白质、维生素、矿物质等,豌豆所含蛋白质的氨基酸组成较为平衡,赖氨酸含量丰

富^[1-2]。同时,豌豆蛋白作为一种植物来源的天然可持续性蛋白,不仅价格低廉、致敏性低,还具有降胆固醇、降血压等独特的生理活性^[3]。目前,我国对于豌豆的深加工,主要是利用其所含淀粉制作粉丝,所含蛋白质一般被用于制作饲料^[4-5]。随着植物蛋白越来越受到行业重视,豌豆蛋白作为优质的植物蛋白资源被广泛应用于食品工业中。但是豌豆蛋白因表面疏水性较强且电荷量低,导致其溶解性和乳化性较差^[6]。酸性植物蛋白乳饮料和酸奶的pH一般在4~6,豌豆蛋白在这类体系中应用时乳化稳定性不佳,体系通常发生失稳现象,主要表现为脂肪上浮、油滴絮凝和聚集等,严重影响食品品质,这限制了豌豆蛋白在酸性乳液中的应用^[7]。

卡拉胶(CG)是由红藻通过热碱分离提取制得的阴离子多糖。卡拉胶不具有营养价值,但由于其生物相容性、可生物降解性、高保水性和凝胶特性,被广泛应用于食品行业^[8-9]。阴离子多糖常被添加到蛋白质稳定的酸性乳饮料中,以提高蛋白质的稳定性^[10]。庞淑婕等^[11]研究表明,在pH 4.5条件下,豌豆分离蛋白(PPI)与羧甲基纤维素钠形成复合物,可增强油滴间静电排斥和空间位阻,提高乳液的稳定性。Tian等^[12]研究发现,在pH 4~6时, β -伴大豆球蛋白可与果胶形成粒径较小、电荷量较高的可溶性复合物,且该复合物可快速吸附到油滴表面,显著提高 β -伴大豆球蛋白的乳化稳定性。

本研究将卡拉胶与PPI形成可溶性复合物,研究该复合物对PPI乳液稳定性的影响,考察PPI/CG复合物乳液的 ζ -电位、粒径、显微结构及乳析指数,以制备酸性条件下稳定的PPI乳液体系,为PPI在植物蛋白酸性乳饮料方面的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

豌豆,购自云泰上海食品有限公司;卡拉胶,购自上海阿拉丁化学有限公司;金龙鱼一级葵花籽油;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

FE28 pH计、ME204E电子天平,梅特勒-托利多有限公司;SCIENTZ-10ND冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;FA25型高速剪切机,弗鲁克流体机械制造有限公司;Zetasizer nano ZS纳米粒度及Zeta电位分析仪,英国马尔文公司;S3500型激光粒度分析仪,美国Microtrac公司;LSM 710激光

共聚焦显微镜,德国蔡司公司。

1.2 实验方法

1.2.1 PPI的制备

参考文献[13]的方法并稍作修改,采用碱溶酸沉工艺制备PPI。将干燥的豌豆用粉碎机粉碎得到豌豆粉,并用正己烷脱脂;脱脂豌豆粉与去离子水以料液比1:10混合得到悬浮液,用2 mol/L NaOH调节pH至9.0并搅拌1 h后,将悬浮液在4℃、9 000 r/min条件下离心30 min得到上清液;用2 mol/L HCl将上清液pH调节至4.5,静置1 h后在4℃、9 000 r/min下离心30 min,取沉淀;水洗沉淀2次后将其分散于去离子水中,用2 mol/L NaOH调节pH至7.0,于9 000 r/min下离心15 min以除去少量杂质,上清液冷冻干燥后即得PPI,置于-20℃冰箱保存备用。

1.2.2 PPI/CG复合物乳液及PPI乳液的制备

PPI/CG复合物乳液的制备:用去离子水分别配制2 g/100 mL的PPI溶液和1 g/100 mL的CG溶液,充分溶解后于500 r/min下将两者等体积混合搅拌2 h,分别调节pH至7、6、5、4后继续搅拌30 min,将复合物溶液与葵花籽油以体积比9:1混合,于12 000 r/min下剪切2 min得乳液,向乳液中加入0.02%叠氮钠以防止微生物生长。

PPI乳液的制备:用去离子水配制1 g/100 mL PPI溶液,于500 r/min下搅拌2 h后,分别调节pH至7、6、5、4后继续搅拌30 min,将PPI溶液与葵花籽油以体积比9:1混合,于12 000 r/min下剪切2 min得乳液,向乳液中加入0.02%叠氮钠以防止微生物生长。

1.2.3 粒径的测定

采用激光粒度分析仪测定乳液的粒径。葵花籽油和水相的折射率分别为1.46、1.33,乳液的相对折射率为1.098。采用体积平均粒径($d_{4,3}$)来表征乳液的平均粒径^[14-15]。

1.2.4 ζ -电位的测定

采用纳米粒度及Zeta电位分析仪测定乳液的 ζ -电位。将样品用5 mmol/L磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液稀释至体系中PPI含量为0.05%,测试时将样品装入带有电极的DTS1070型比色皿中,测试温度为25℃^[16]。

1.2.5 显微结构的测定

取0.5 mL乳液,向其中加入10 μ L蛋白质染料异硫氰酸荧光素(FITC,0.05 g/100 mL)和10 μ L油染料尼罗红(0.05 g/100 mL),旋涡混匀后避光储藏

40 min,取 5 μL 染色后的样品置于载玻片上,盖好盖玻片。观察时倒置放于显微镜,选用 400 \times ,明场调好视野和调焦后,在激发波长分别为 488 nm 和 514 nm 下采集荧光图像^[17]。

1.2.6 乳析指数的测定

取新鲜乳液置于样品瓶中,在室温下竖直放置储藏,测量不同储藏时间下的乳液总高度(H_t)和分层后的下层清液高度(H_s)。乳析指数(γ)按公式(1)计算^[18]。

$$\gamma = H_s/H_t \times 100\% \quad (1)$$

1.2.7 数据统计与分析

实验数据采用 Origin 2018 软件作图,结果表示为“平均值 \pm 标准差”,采用 SPSS 22 软件、Duncan 检验法进行差异显著性分析($p < 0.05$),所有实验均重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 PPI/CG 复合物乳液及 PPI 乳液粒径(见图 1)

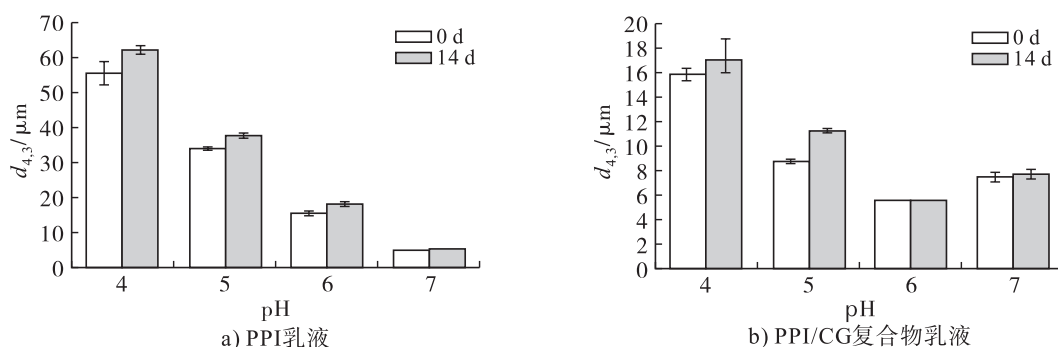


图 1 pH 对 PPI 乳液及 PPI/CG 复合物乳液粒径的影响

由图 1 可知,随着 pH 的减小,PPI 乳液粒径逐渐增大,在 pH 4~5 时,乳液粒径达到 35 μm 以上。这与 Chang 等^[6]的研究结果一致,在 PPI 等电点附近,由于所带电荷较低,从而使油滴发生大片聚集。与 PPI 乳液相比,PPI/CG 复合物乳液的粒径显著降低,粒径均小于 18 μm 。在储藏 14 d 时,PPI 乳液和 PPI/CG 复合物乳液粒径均稍有增加。一般乳液粒径越小,乳液稳定性越高,乳化剂的乳化性也越好^[11]。本研究结果说明 PPI/CG 复合物比 PPI 具有更好的乳化性。

2.2 PPI/CG 复合物乳液及 PPI 乳液 ζ -电位(见图 2)

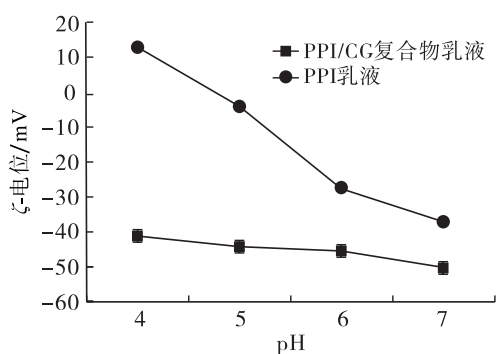


图 2 pH 对 PPI 乳液及 PPI/CG 复合物乳液 ζ -电位的影响

由图 2 可知,在 pH 7 时,PPI 乳液 ζ -电位绝对值略高于 30 mV,随着 pH 从 6 降低到 5 时,PPI 乳

液 ζ -电位绝对值也逐渐减小,继续降低 pH 至 4 时,乳液开始带正电荷,电荷量约为 13 mV。实验过程中发现,在 pH 4~6 时,PPI 乳液在储藏 0 d 时即发生了不同程度的分层,这主要是由于 PPI 所带电荷量较少,油滴之间的静电排斥力较弱,从而导致油滴很快发生絮凝和聚集,导致乳液失稳。据文献^[5]报道,体系 ζ -电位绝对值在低于 30 mV 时往往不稳定。本研究中,随着 pH 的降低,PPI/CG 复合物乳液 ζ -电位绝对值降低速率较慢,且均高于 40 mV。

2.3 PPI/CG 复合物乳液及 PPI 乳液显微结构(见图 3)

由图 3 可知,储藏 0 d 时,在 pH 7 条件下,PPI 乳液油滴分散性较好,而在 pH 6 时油滴出现聚集,在 pH 4~5 时油滴出现大量絮凝和聚集,粒径急剧增大。储藏 14 d 时,pH 7 的 PPI 乳液粒径出现轻微增大,油滴分散性依然较好,而 pH 6 时,PPI 乳液油滴粒径增大且出现大片聚集和絮凝,在 pH 4~5 时,PPI 乳液油滴进一步聚集和絮凝。这与文献^[19]中报道的 pH 对蛋白乳液稳定性结果一致,在蛋白质等电点附近形成的乳液油滴发生大片絮凝和聚集。储藏 0 d 时,PPI/CG 复合物乳液油滴分散性较好。储藏 14 d,在 pH 6~7 时,PPI/CG 复合物乳液的粒径均出现了轻微的增加,但分散性相对较好,而 pH 4~5 的 PPI/CG 复合物乳液油滴出现轻微的聚集和絮凝。

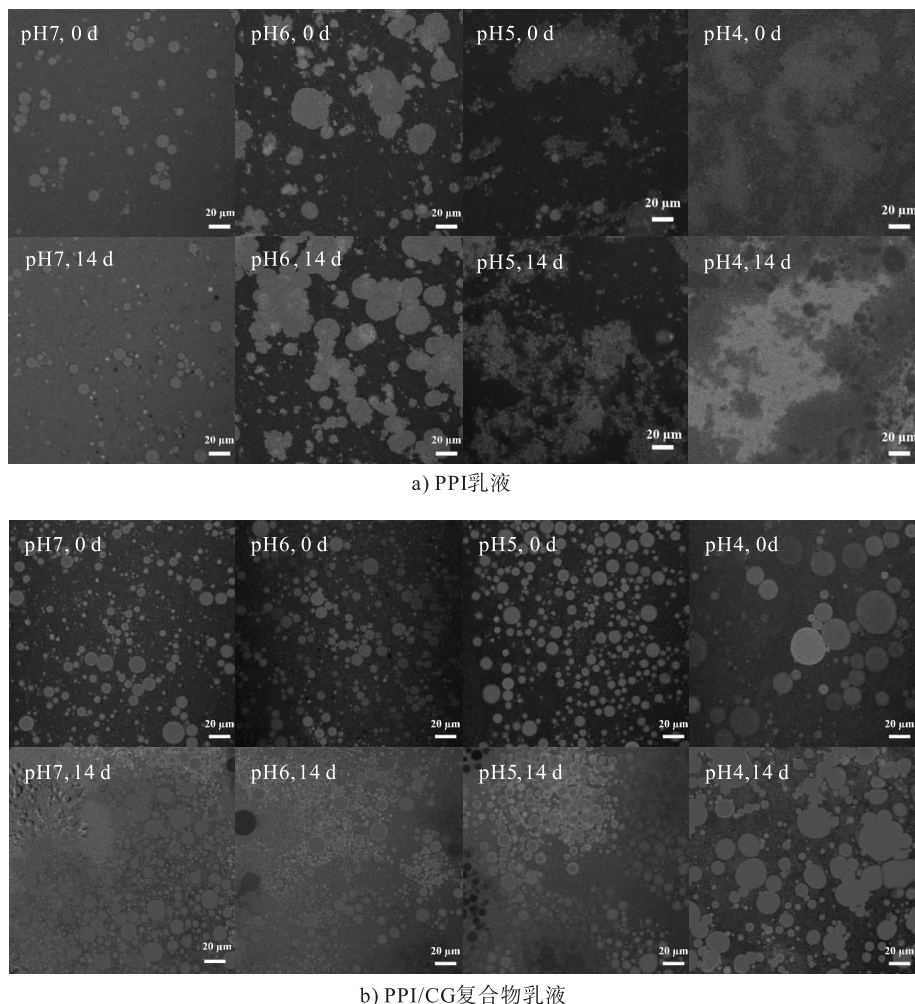


图3 PPI乳液及PPI/CG复合物乳液储藏0 d和14 d显微结构

2.4 PPI/CG复合物乳液及PPI乳液乳析指数(见图4)

由图4可知,储藏0 d时,随着pH从7降到4, PPI乳液的乳析指数逐渐增大,而后乳析指数随着储藏时间的延长而增加,在储藏4 d后乳析指数增加得较为缓慢。而在pH 4~7时,PPI/CG复合物乳液的乳析指数基本稳定,一直保持在0附近。综合

可知,CG与PPI形成的复合物可显著改善PPI在酸性条件下的乳化稳定性。原因主要是:一方面,PPI与带大量负电荷的CG形成可溶性静电复合物,提高了PPI的溶解性,使其双亲性基团得以暴露出来发挥其乳化性;另一方面,带有大量负电荷的PPI/CG复合物吸附在油滴表面,使油滴之间形成较强的静电排斥力以及空间位阻^[20]。

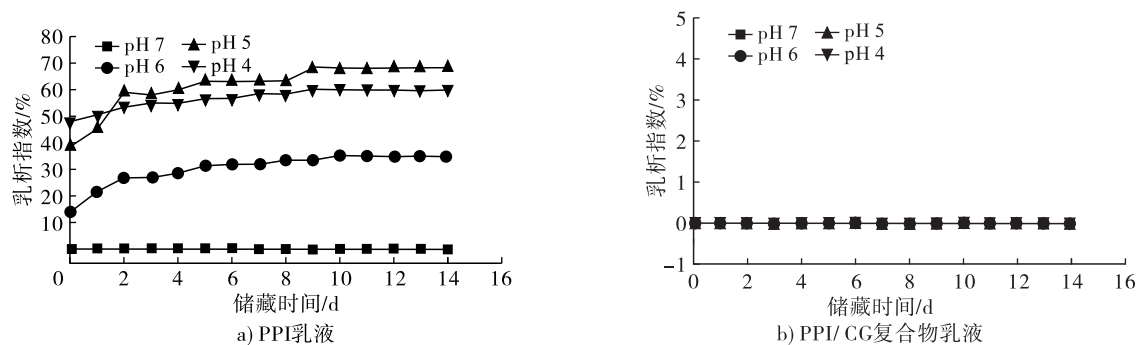


图4 PPI乳液及PPI/CG复合物乳液乳析指数

3 结论

本文研究了pH 4~7时,PPI乳液及PPI/CG复合物乳液的性质。结果表明:相比PPI乳液,PPI/

CG复合物乳液粒径较小,均小于18 μm;在pH 4~7时,PPI/CG复合物乳液 ζ -电位绝对值均大于40 mV,且储藏14 d分散性较好;在储藏过程中

PPI/CG 复合物乳液乳析指数基本为 0, 具有较好的稳定性, 而 PPI 乳液所带电荷量较低且易发生聚集和絮凝。综上可知, PPI 与 CG 在酸性条件下形成可溶性复合物乳液可显著提高 PPI 的乳化稳定性。

参考文献:

- [1] CHEN M S, LU J H, LIU F, et al. Study on the emulsifying stability and interfacial adsorption of pea proteins[J]. Food Hydrocolloid, 2019, 88: 247 – 255.
- [2] 张争全, 田少君, 王艳红, 等. 豌豆蛋白-阿拉伯胶相互作用及其复合物乳化特性研究[J]. 食品科技, 2021, 46(2): 232 – 237.
- [3] ZHANG C M, HUA Y F, LI X F, et al. Key volatile off-flavor compounds in peas (*Pisum sativum* L.) and their relations with the endogenous precursors and enzymes using soybean (*Glycine max*) as a reference [J/OL]. Food Chem, 2020, 333: 127469 [2022 – 01 – 13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127469>.
- [4] LIANG H N, TANG C H. Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oil – in – water emulsions at pH 3.0[J]. LWT – Food Sci Technol, 2014, 58(2): 463 – 469.
- [5] PILLAI P K, OUYANG Y, STONE A K, et al. Effect of different levels of esterification and blockiness of pectin on the functional behaviour of pea protein isolate – pectin complexes[J]. Int J Food Sci Technol, 2021, 27(1): 3 – 12.
- [6] CHANG C, TU S, HOSH S, et al. Effect of pH on the inter – relationships between the physicochemical, interfacial and emulsifying properties for pea, soy, lentil and canola protein isolates[J]. Food Res Int, 2015, 77: 360 – 367.
- [7] LIANG H N, TANG C H. pH – dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins [J]. Food Hydrocolloid, 2013, 33(2): 309 – 319.
- [8] WANG Y L, YUAN C, CUI B, et al. Influence of cations on texture, compressive elastic modulus, sol – gel transition and freeze – thaw properties of *kappa* – carrageenan gel[J]. Carbohydr Polym, 2018, 202: 530 – 535.
- [9] 袁超, 付腾腾, 朱新亮, 等. 卡拉胶的性质及在食品中的应用[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(6): 5 – 8.
- [10] 杨淑暖. 豌豆乳清蛋白与多糖的选择性复凝聚行为及其稳定酸性乳液的应用研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2021.
- [11] 庞淑婕, 李娜娜, 任思, 等. 豌豆分离蛋白 – 羧甲基纤维素钠静电复合物在乳液中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(21): 6 – 12.
- [12] TIAN Y, ZHANG Z, TAHA A, et al. Interfacial and emulsifying properties of β – conglycinin/pectin mixtures at the oil/water interface: effect of pH [J/OL]. Food Hydrocolloid, 2020, 109: 106145 [2022 – 01 – 13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106145>.
- [13] YANG S N, LI X F, HUA Y F, et al. Selective complex coacervation of pea whey proteins with chitosan to purify main 2S albumins [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(6): 1698 – 1706.
- [14] LI X F, YANG S N, LU C, et al. Complexation of pea albumins with anionic polysaccharides and purification of PA1a [J/OL]. Food Hydrocolloid, 2021, 117: 106670 [2022 – 01 – 13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106670>.
- [15] WANG S N, YANG J J, SHAO G Q, et al. Dilatational rheological and nuclear magnetic resonance characterization of oil – water interface: impact of pH on interaction of soy protein isolated and soy hull polysaccharides [J/OL]. Food Hydrocolloid, 2020, 99: 105366 [2022 – 01 – 13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105366>.
- [16] ZHANG S N, HOLMES M, ETTELAIE R, et al. Pea protein microgel particles as Pickering stabilisers of oil – in – water emulsions; responsiveness to pH and ionic strength [J/OL]. Food Hydrocolloid, 2020, 102: 105583 [2022 – 01 – 13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105583>.
- [17] YUAN Y, WAN Z L, YIN S W, et al. Formation and dynamic interfacial adsorption of glycinin/chitosan soluble complex at acidic pH: relationship to mixed emulsion stability [J]. Food Hydrocolloid, 2013, 31(1): 85 – 93.
- [18] PENG W W, KONG X Z, CHEN Y M, et al. Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins [J]. Food Hydrocolloid, 2016, 52: 301 – 310.
- [19] 贾聪, 华欲飞, 陈业明, 等. pH 和阿拉伯胶对大豆分离蛋白/大豆蛋白酶解产物乳化性质的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(5): 25 – 29.
- [20] YI J, GAN C, WEN Z, et al. Development of pea protein and high methoxyl pectin colloidal particles stabilized high internal phase Pickering emulsions for β – carotene protection and delivery [J/OL]. Food Hydrocolloid, 2021, 113: 106497 [2022 – 01 – 13]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106497>.