

# 桃仁分离蛋白质对油包水乳液物理与氧化稳定性的影响

易建华<sup>1</sup>, 孙艺飞<sup>1</sup>, 朱振宝<sup>1</sup>, 董文宾<sup>1</sup>, 黄鑫<sup>2</sup>

(1. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021)(2. 焦作市粮油质量安全检测中心, 河南焦作 454003)

**摘要:**以富含多不饱和脂肪酸的核桃油为油相,于水相添加桃仁分离蛋白(PKPI),采用超高压微射流均质机制备油包水(W/O)乳液,乳液于45℃避光保存,每隔1 day测定乳液的平均粒径及粒径分布等物理特性,同时检测乳液初级氧化产物—脂质氢过氧化物与次级氧化产物-己醛,探究PKPI对W/O乳液稳定性影响。结果表明,PKPI应用于W/O乳液,可以降低乳液油滴粒径,提升乳液物理稳定性,PKPI同时具有抗氧化活性;PKPI浓度0.1~0.4%,乳液物理及氧化稳定性随PKPI浓度的增大而增强。水相pH对PKPI抗氧化活性有显著影响,水相pH 7.0,PKPI抗氧化活性高于水相pH 3.0。水相钙离子强度同时影响PKPI乳液的稳定性,100~200 CaCl<sub>2</sub> mM,乳液物理稳定性随离子强度的增大而增强;乳液水相钙离子强度较低时(≤10 mM),增大离子强度将降低PKPI抗氧化活性,钙离子强度较高时(≥100 mM),增大离子强度加速乳液脂质氧化。

**关键词:**桃仁分离蛋白;油包水乳液;油脂氧化;钙离子强度

文章编号:1673-9078(2016)1-136-142

DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.022

## Effects of Peach Kernel Protein Isolates on the Physical and Oxidative Stability of Water-in-oil Emulsions

YI Jian-hua<sup>1</sup>, SUN Yi-fei<sup>1</sup>, ZHU Zhen-bao<sup>1</sup>, DONG Wen-bin<sup>1</sup>, HUANG Xin<sup>2</sup>

(1.School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

(2.Jiaozuo Testing Center for Grain and Oil Quality Safety, Jiaozuo 454003, China)

**Abstract:** A water-in-oil (W/O) emulsion was prepared using a microfluidizer, with walnut oil rich in polyunsaturated fatty acids as the oil phase. Peach kernel protein isolates (PKPIs) were added to the aqueous phase, and the emulsion was stored in the dark at 45°C. The particle size distribution, mean particle size, and other physical properties were measured on alternate days, and the primary oxidation products (lipid hydroperoxides) and secondary oxidation product (headspace hexanal) were determined in order to evaluate the influence of aqueous phase PKPI on the stability of W/O emulsions. The results showed that the application of PKPIs could reduce the emulsion droplet size and improve the physical stability of W/O emulsions. Additionally, PKPIs show antioxidant activity; at the concentration range of 0.1~0.4 wt%, the physical and oxidative stability of W/O emulsions increases with the increasing PKPI concentrations. Aqueous phase pH had a significant effect on the oxidative stability of emulsions. The antioxidant activity of PKPI at aqueous phase pH 7.0 was higher than that at pH 3.0. Calcium ionic strength of aqueous phase also had an important impact on the stability of PKPI W/O emulsions. When the concentration of CaCl<sub>2</sub> was in the range of 100-200 mM, the physical stability of the emulsions increased with increasing ionic strength. At low levels of calcium ionic strength of aqueous phase in the emulsion (≤10 mM CaCl<sub>2</sub>), a high ionic strength was able to suppress the antioxidant activity of PKPI. At a high level of calcium ionic strength (≥100 mM CaCl<sub>2</sub>), a high ionic strength was able to accelerate lipid oxidation in the emulsions.

**Key words:** peach kernel protein isolates; water-in-oil emulsions; lipid oxidation; calcium ionic strength

核桃油含70%多不饱和脂肪酸(PUFA)。据研究

收稿日期:2015-03-16

基金项目:陕西省科技厅农业攻关(2014K01-10-04)

作者简介:易建华(1971-),女,博士研究生,副教授,研究方向:油脂与蛋白质工程

通讯作者:董文宾(1951-),男,教授,博士生导师,研究方向:油脂与蛋白质工程

报道,核桃油具有调节血脂、预防和改善心血管疾病、促进神经传导、健脑益智、促进脂肪代谢等功能<sup>[1]</sup>。然而,PUFA极易氧化,促使含油食品产生不良风味,降低其品质,甚至产生有毒物质,影响食品安全,因此提高油脂氧化稳定性有助于提高与其相关食品的品质<sup>[2]</sup>。

油脂一般以纯油(Bulk oil)、水包油(O/W)乳

液或油包水(W/O)乳液的形式存在于食品体系,其中O/W是油脂在食品中存在的主要形式。研究表明,分布于油水界面脂质氢过氧化物与水相过渡金属离子相互作用加速脂质氧化,因此,O/W乳液脂质氧化稳定性与油滴界面物化特性高度相关。通过控制油水界面化学成分、界面厚度以及电荷属性,可以有效控制油脂氧化<sup>[3]</sup>。有研究证实,蛋白质通过吸附至油滴表面,改变油水界面电荷特性,从而影响脂质氧化稳定性。例如,水相pH低于蛋白质等电点(pI),由蛋白质稳定的O/W乳液液滴界面带正电,脂质氧化稳定性较高,而水相pH高于蛋白质pI,由蛋白质稳定的O/W乳液液滴带负电,脂质氧化稳定性较低<sup>[4]</sup>。另外,未吸附于液滴界面上的水相蛋白质(如酪蛋白、乳清蛋白和乳铁蛋白等)同样具有显著的抗氧化活性<sup>[3]</sup>。研究显示,水相蛋白质的抗氧化性可能源于巯基和非巯基氨基酸对自由基清除自由作用以及有限的过渡金属螯合作用。蛋白质含有大量具有清除自由基的氨基酸基团,其中半胱氨酸和脯氨酸具有较高的清除自由基能力<sup>[5]</sup>。

综上所述,大量的研究表明,在O/W体系中,存在于油滴界面以及水相的蛋白质具有抗氧化作用。W/O乳液(如黄油、人造奶油)是油脂存在于食品的重要形式。关于在W/O体系中蛋白质抗氧化活性,目前研究报道有限。桃仁是桃加工的副产品,其中蛋白质含量高达30%。桃仁除少量用作中药外,大部分成为加工废弃物被抛弃,造成极大的资源浪费。有研究显示,桃仁蛋白具有相当强的SOD样活性<sup>[6]</sup>。本课题组早期研究显示,桃仁分离蛋白(PKPI),具有很好的溶解性、持油性、乳化稳定性,适合生产蛋白饮料及高脂食品<sup>[7]</sup>。基于此,本课题将PKPI应用于W/O体系,研究桃仁蛋白对W/O体系氧化稳定性影响,为其在相关食品中的应用提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

核桃油:核桃油的提取采用溶剂浸提法,其工艺流程为:

核桃仁→去皮→烘干→粉碎→过80目筛→石油醚浸提→抽滤→回收溶剂→核桃油

桃仁分离蛋白(PKPI),PKPI制备参照参考文献<sup>[7]</sup>,略有修改,将桃仁浸泡去皮,于45℃下干燥并粉碎,桃仁粉经石油醚脱脂,桃仁粉与石油醚料液比为1:6(g:mL),脱脂4次,回收溶剂后过60目筛,低温干燥得桃仁脱脂粉。将桃仁脱脂粉和蒸馏水以1:10

(g:mL)混合,用0.5 mol/L NaOH调节pH 8.0,室温下搅拌提取1 h,于4000 r/min离心20 min,余下的沉淀再按料液比1:5(g:mL)提取2次,合并上述3次所得上清液。上清液用0.5 mol/L HCl调节pH至pI 4.7,于4℃下沉淀1 h,沉淀用蒸馏水洗涤3次,用0.5 mol/L NaOH调至pH 7.0,搅拌使沉淀复溶后,倒入透析袋中,于4℃下透析48 h,冷冻干燥,所得产品即为PKPI。PKPI化学成分为:水分4.78%,灰分1.11%,蛋白86.83%,脂肪0.98%。PKPI的溶解度为2.2%。

异丙苯过氧化氢,十六烷,氯化钡,氯化钠,磷酸氢二钠,磷酸二氢钠,正己烷,甲醇,正丁醇,西格玛化学试剂有限公司;聚甘油聚蓖麻油酸酯(PGPR, 4175),由美国Palsgaard馈赠。所有试剂为分析纯。

### 1.2 设备与仪器

M133/1281-0 便携式均质搅拌器,美国 Biospec Products 有限公司;ECLIPSE80i 光学显微镜,尼康机械有限公司;粒径动态激光散射仪,美国马尔文机械有限公司;高压微射流均质机,美国 Microfluidics 公司;ICE 3500 型原子吸收仪,美国 Thermo (热电)公司;GC-17A 气相色谱,日本 Shimadzu 公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 乳液的制备和储存条件

以PGPR为乳化剂,用量为乳液质量5.0 wt%,将PGPR与核桃油混合均匀,制备油相;将PKPI溶解于20 mM磷酸盐缓冲液,制备水相,含水量为乳液20.0 wt%。将水相逐渐滴加于油相,由便携式均质搅拌器以2000 r/min搅拌2 min,获得粗乳液,随后用高压微射流均质机以12 kbar压力均质3次。制备的乳液样品转移至10 mL的GC小瓶,用聚四氟乙烯/硅氧烷为垫片,采用铝盖密封,并存储于45℃恒温避光保存。每天取不同处理3瓶样品,检测脂质氢过氧化物和己醛的形成。在研究蛋白质浓度对W/O乳液脂质氧化稳定性影响的试验中,分别将0.1、0.2、0.4 wt% PKPI(浓度为乳液质量百分数)0、溶于pH 7.0 20 mM磷酸盐缓冲液,并依照上述方法制备W/O乳液;在研究水相pH对蛋白质抗氧化性影响时,将0.2 wt% PKPI(占乳液质量百分数)溶解于20 mM磷酸盐缓冲液,用0.1和/或1 M NaOH、HCl将水相pH分别调节至pH 3.0、pH 7.0;在研究离子强度对含蛋白质W/O乳液氧化稳定性影响时,CaCl<sub>2</sub>(浓度分别为乳液水相的0、10、100、200 mM)溶于pH 7.0 20 mM磷酸盐

缓冲液, 制备水相, 水相蛋白质浓度为 0.2 wt % (占乳液质量百分数); 所有乳液的制备参照上述方法。

### 1.3.2 乳液物理性质的测定

分析前轻轻搅拌乳液, 以确保乳液体系中水滴均匀分散。滴加乳液于载玻片, 加盖盖玻片。利用光学显微镜观察乳液结构, 该显微镜连接数字图像处理软件 CCD 照相机, 可动态获取乳液液滴分布的图像资料。采用粒径动态激光散射仪于 25 °C 测定水滴粒径, 测定方法参照 Choi 等<sup>[8]</sup>试验方法, 具体如下: 乳液样品用十六烷稀释到 4 倍, (十六烷折射率 1.434, 黏度为 3.13 mPa s), 混合均匀, 并立即转移至 3 mL 激光散射玻璃皿, 测定乳液液滴粒径的大小。微滴大小为散射强度加权平均直径, 以 z-average 表示。

### 1.3.3 脂质氧化物的测定

#### (1) 脂质氢过氧化物的测定

脂质氧化初级产物以脂质氢过氧化物含量表示。依据 Panya 等人<sup>[9]</sup>测定脂质氢过氧化物的方法, 并做一些改进: 20  $\mu$ L 乳状液称重, 并添加于 2.8 mL 甲醇/正丁醇混合液中 (甲醇/正丁醇=2:1, V/V), 然后将 15  $\mu$ L 3.94 M 硫氰酸铵和 15  $\mu$ L 亚铁溶液 (由 0.132 M 氯化钡和 0.144 M 硫酸亚铁配制) 加入其中。混合液旋涡混合, 置于室温下反应 20 min 后, 用分光光度计于 510 nm 处测定吸光度。以过氧化枯烯 (异丙苯过氧化氢) 为标准品绘制标准曲线, 并计算出氢过氧化物的含量。

#### (2) 己醛测定

脂质氧化次级产物以顶隙己醛含量表示。根据 Panya 等人<sup>[9]</sup>的方法, 采用 GC-17A 气相色谱 (Shimadzu, Kyoto, Japan) 测定己醛浓度: 将以聚四氟乙烯/硅氧烷为密封垫并用铝盖加盖的玻璃瓶中的 1 mL 样品加热到 55 °C 保持 8 min。气相色谱分析条件固相: 50/30  $\mu$ m DVB/Carboxen/PDMS; 色谱柱: Supelco DB-1 柱, 30 m $\times$ 0.32 mm。载气为氦气, 流速为 15 mL/min。纤维针注入小瓶, 吸取挥发物 2 min, 然后转移到喷油器端口 (250 °C), 注射 3 min。注射端口是按照分流模式操作, 分流比为 1:7。检测器: 火焰电离检测器, 检测温度 250 °C。以己醛标准品绘制标准曲线, 采用峰面积计算己醛含量。

### 1.3.4 蛋白质螯合能力测定

采用改进的 Chen 等<sup>[10]</sup>测定蛋白质螯合铁离子的方法。具体方法如下: 透析袋 (截留相对分子质量为 8 ku) 置于 2 wt % 碳酸氢钠和 1  $\mu$ M EDTA 溶液, 于 80 °C 加热 30 min, 清洗两次, 然后用去离子水彻底冲洗, 并置于 0.1 wt % 叠氮化钠溶液中, 于 5 °C 保存, 备用。用 20 mM pH 3.0 和 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液配

制质量分数 2% PKPI 溶液。分别用 1 M NaOH 和 1 M HCl 调整 PKPI 溶液 pH 值。两等分 10 mL pH 3.0 和 7.0 PKPI 溶液, 分别加入透析袋, 透析袋置于 89 mL pH 分别为 3.0 和 7.0 20 mM 磷酸盐缓冲溶液, 于室温搅拌, 平衡 30 min。然后向平衡液中加入 80  $\mu$ g/mL Fe<sup>2+</sup> 溶液 (由 FeSO<sub>4</sub> 配制), 平衡 12 h 后, 依据 GB/T 5009.90-2003, 采用原子吸收测定透析袋外溶液铁离子的浓度。在研究离子强度对蛋白质螯合能力影响的试验中, 用 20 mM pH 7.0 磷酸盐缓冲液配制离子强度分别为 0、10、100、200 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液, 再用该溶液配制 2.0 wt % PKPI 溶液。分别移取 10 mL PKPI 溶液于透析袋, 透析袋置于 89 mL 离子强度分别为 0、10、100、200 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液, 于室温搅拌, 平衡 30 min。

原子吸附测定条件: 铁波长: 248.3 nm, 灯电流: 6 mA, 光谱通带: 0.2 nm, 乙炔流量: 0.9 L/min。

### 1.3.5 统计分析方法

所有处理重复 3 次。每个样品重复测定 3 次, 取平均值, 数据结果以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm S.D.$ ) 表示, 采用 Microsoft excel 软件绘图, 并运用 Duncan's 多重比较进行显著性检验 ( $p < 0.05$ )。脂质氧化滞后期或延迟期定义为第一个数据点显著大于 0 day 氧化指标值。

## 2 结果与讨论

### 2.1 乳液物理稳定性及影响因素

乳液制备后立即测定乳液液滴粒径, 并在储藏过程中每 24 h 测定一次。空白样 (未加蛋白质以及盐) 的平均粒径 (z-average) 的范围在 (3424.3 $\pm$ 11.3) nm - (3464.3 $\pm$ 71.3) nm, 试验中发现不同蛋白质及其浓度、离子强度对乳液液滴粒径分布和平均粒径有明显影响外, 其他处理对乳液粒径没有显著性影响。此外, W/O 乳液粒径分布和平均粒径在试验期间没有明显的变化 (数据未显示)。视觉观察试验也表明, 乳液在存储过程中, 所有处理没有相分离现象 (数据未显示)。这说明在该试验条件下, 乳液液滴尚未发生聚结、沉积而失稳。

#### (1) 浓度影响

本研究发现, 蛋白质浓度影响乳液粒径分布和平均粒径。结果如图 1 以及表 1 所示。

表 1 显示, 随着 PKPI 浓度的增大乳液液滴粒径也呈现显著降低的趋势; 由图 1 看出, PKPI 对乳液水滴粒径分布也有明显影响, 并具有以下显著特征: 当乳液引入 PKPI, 浓度较低时 (如 0.1~0.2 wt %), 呈现与空白对照相同的双峰分布, 但粒径分布峰有左移

趋势,平均粒径减小;PKPI 浓度较高时(如 0.4 wt %),乳液水滴粒径呈现单峰分布,且平均粒径仅为 165.1 nm,可见高浓度 PKPI 可显著提升乳液物理稳定性。

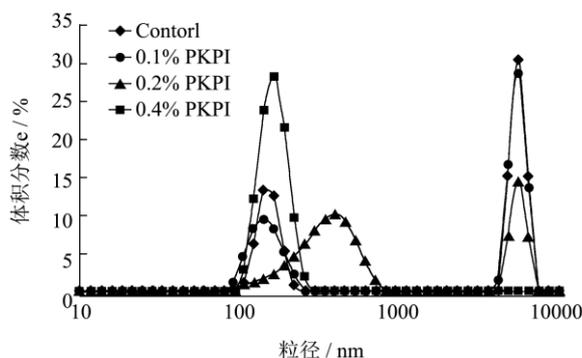


图1 含 PKPI W/O 乳液粒径分布

Fig.1 Particle size distribution of W/O emulsions containing PKPI

表 1 PKPI 浓度对 W/O 乳液液滴平均粒径的影响

Table 1 Effects of PKPI concentration on mean droplet diameters (z-average) in W/O emulsions

处理	浓度/%	平均粒径/nm
PKPI	0.1	3399.4±26.3 <sup>a</sup>
	0.2	1886.7±77.7 <sup>c</sup>
	0.4	165.1±11.4 <sup>e</sup>
空白对照	0	3464.3±71.3 <sup>a</sup>

注:不同字母表示差异性显著 ( $p < 0.05$ )。

(2) 离子强度影响

离子强度对含 PKPI 乳液液滴粒径分布及评价粒径影响如表 2 及图 2 所示。研究发现,乳液离子强度对乳液物理稳定性以及乳液液滴粒径及其分布产生重大影响,具体表现为:随着乳液离子强度的增大,液滴平均粒径有降低趋势,乳液液滴粒径由双峰分布转变为单峰分布,峰值升高,峰肩变窄,表明液滴粒径分布趋于集中,乳液的物理稳定性增强。

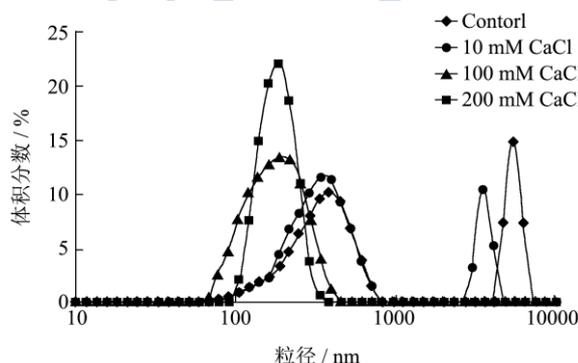


图2 含 PKPI W/O 乳液粒径分布

Fig.2 Particle size distributions of W/O emulsions containing PKPI

表 2 PKPI 浓度对 W/O 乳液液滴平均粒径的影响

Table 2 Effects of PKPI concentration on mean droplet diameters (z-average) in W/O emulsions

处理	离子强度/mM CaCl <sub>2</sub>	平均粒径/nm
PKPI	0	1845.7±43.8 <sup>c</sup>
	10	983.8±17.7 <sup>d</sup>
	100	189.1±31.6 <sup>f</sup>
	200	188.2±6.5 <sup>f</sup>

注:不同字母表示差异性显著 ( $p < 0.05$ )。

2.2 PKPI 浓度对 W/O 乳液脂质氧化稳定性影响

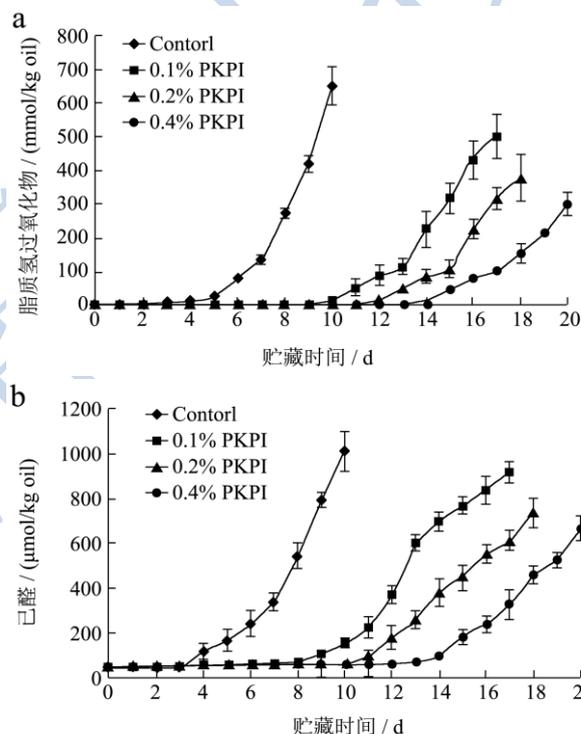


图3 PKPI 浓度对 W/O 乳液脂质氧化稳定性的影响

Fig.3 Effects of PKPI concentration on the lipid oxidative stability of W/O emulsions

注:水相 pH 7.0,乳液于 45 °C,避光贮存 20 d; a.脂质氢过氧化物, b.己醛;数据为平均值±S.D.

图 3 为 PKPI 及其浓度对 W/O 乳液脂质氧化稳定性影响。图 3 表明,在 W/O 乳液中,PKPI 引入能提高乳液的抗氧化性,说明 PKPI 在 W/O 中具有抗氧化活性;图 3 同时表明,PKPI 浓度增大可以延缓 W/O 乳液脂质氢过氧化物以及己醛的形成。例如,PKPI 浓度分别为 0、0.1、0.2、0.4 wt %,脂质过氧化物形成的延迟期分别为 4、10、12、14 day;己醛生成的延迟期分别为 4、9、11、14 day。这说明在 W/O 乳液中

高浓度 PKPI 更有助于提高脂质氧化稳定性。

### 2.3 水相 pH 对含 PKPI W/O 乳液脂质氧化稳

定性影响

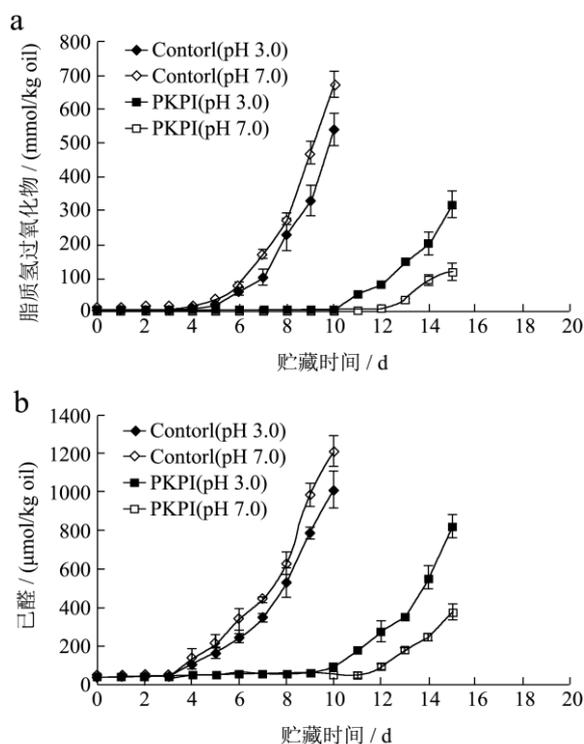


图 4 水相 pH 对含 PKPI W/O 乳液脂质氧化稳定性的影响

Fig.4 Effects of the aqueous phase pH on the lipid oxidative stability of W/O emulsions

注：乳液于 45 °C 避光贮存 20 day；a.脂质氢过氧化物，b.己醛；数据为平均值±S.D。

有研究表明，蛋白质的抗氧化性与其自由基清除能力以及对促氧化剂—过渡金属螯合能力有关，而 pH 影响蛋白质带电状态，从而有可能影响其抗氧化活性。因此本研究进一步探讨了水相 pH 对 PKPI 抗氧化性影响，结果如图 4 所示。由图 4 看出，pH 影响空白对照氧化稳定性：水相 pH 较低时（如 pH 3.0），乳液脂质稳定性较高，而水相 pH 升高（如 pH 7.0）导致乳液脂质稳定性降低。该结果与以前研究相一致<sup>[11]</sup>。水相 pH 同时影响 PKPI 抗氧化活性，总体表现为，蛋白质的抗氧化性随 pH 增大而提升，这与空白对照氧化稳定性趋势相反，也与 Mei 等<sup>[12]</sup>、Donnelly 等<sup>[13]</sup>人的研究结论相反。这些学者发现，由蛋白质稳定的 O/W 乳状液，水相 pH 较低时 (< pI)，乳液脂质氧化速率较低，而水相 pH 较高时 (> pI)，乳液脂质氧化速率较高。上述学者提出，在由蛋白质稳定的 O/W 体系，蛋白质存在于界面，水相 pH 高于蛋白质 pI，蛋白质带负电荷，由于静电吸引作用，促使促氧化剂—

过渡金属离子接近油滴，因此油脂的氧化速率较高。我们预实验研究表明，水相 pH 对 PKPI 自由基清除能力影响较小，本研究重点研究 pH 对蛋白质的螯合能力的影响。在本研究体系中，PKPI 存在于水相而非界面上，水相 pH 7.0（高于其 pI 4.0<sup>[7]</sup>），在微水相环境中，PKPI 带负电，因此，有可能由于静电吸引作用提高蛋白质对过渡金属离子的螯合能力，使水相过渡金属离子远离油滴而提升油脂的氧化稳定性。为证实该假设，课题组模拟水相体系，测定 pH 对 PKPI 螯合能力影响（图 5）。图 5 显示，pH 3.0，PKPI 对过渡金属离子螯合能力明显低于 pH 7.0，这可进一步解释水相 pH 3.0，PKPI 的抗氧化活性低于 pH 7.0。该研究表明，蛋白质在不同的体系的抗氧化活性差异与其空间定位以及体系 pH 密切相关。

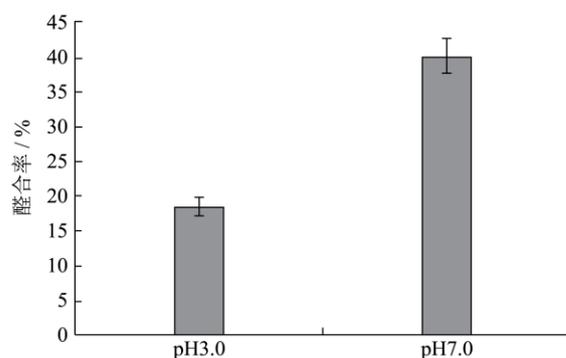


图 5 不同水相 pH 对 PKPI 螯合 Fe<sup>2+</sup>能力影响

Fig.5 Effects of the aqueous phase pH on Fe<sup>2+</sup> chelating capacity of PKPI

注：体系 pH 7.0，含 0.2 g PKPI, 8 mg/mL Fe<sup>2+</sup>，数据为平均值±S.D。

### 2.4 钙离子强度对含 PKPI W/O 乳液脂质氧化

稳定性影响

含蛋白质的食品体系，其离子强度影响蛋白质的电离状态以及蛋白质空间结构，这种影响有可能导致其抗氧化活性的改变，因此，该研究考察了钙离子强度（0~200 mM CaCl<sub>2</sub>）对含蛋白质 W/O 乳液脂质氧化稳定性的影响，结果如图 6 所示。图 6 表明，含有 PKPI 但未加钙盐的乳液，脂质氢过氧化物和己醛的形成非常缓慢，表明 PKPI 在 W/O 乳液具有抗氧化活性，与以上研究一致。图 6 还显示，离子强度的增大促使乳液氧化稳定性降低，表明在该离子强度范围，PKPI 抗氧化性受到抑制。有研究表明，水相 pH 7.0，高浓度 CaCl<sub>2</sub> 使蛋白质所带负电荷减少<sup>[12]</sup>，因此，离子强度的增加可能会屏蔽蛋白质表面的反离子，从而降低蛋白质螯合过渡金属的能力，导致抗氧化活性的降低。

由图 6 还发现,  $\text{CaCl}_2$  的进一步增加 (例如, 100 mM  $\text{CaCl}_2$ ) 完全抵消抗 PKPI 抗氧化活性, 甚至促进 W/O 乳液脂质氧化, 具体表现为: 空白对照样 (未加 PKPI 与  $\text{CaCl}_2$ ) 的脂质氢过氧化物和己醛形成的延迟期都为 4 day, 而含 PKPI 及 200 mM  $\text{CaCl}_2$  的乳液, 其脂质氢过氧化物和己醛形成的延迟期被缩短至 3 day。离子强度进一步提高到 200 mM  $\text{CaCl}_2$ , 对乳液脂质氧化速率影响不显著 ( $p>0.05$ )。高浓度的钙盐加速油脂氧化可能与以下因素有关: 氯离子被研究证明具有催化过渡金属铁离子参与的脂质氧化反应的作用<sup>[14]</sup>。体系中钙盐浓度的增大, 促使  $\text{Ca}^{2+}$  与  $\text{Fe}^{2+}$  竞争蛋白质螯合位点, 降低了 PKPI 螯合内源促氧化剂—过渡金属离子的能力, 从而增大了过渡金属铁离子与液滴界面脂质接触的机会。为此, 我们测定了钙离子浓度对 PKPI 螯合能力的影响 (图 7), 图 7 证实, 钙离子浓度增大显著降低了 PKPI 螯合  $\text{Fe}^{2+}$  螯合能力。另外, 离子强度的增大降低了 W/O 乳液的液滴粒径, 增大了油水界面面积, 从而加速脂质氧化速率<sup>[15]</sup>。

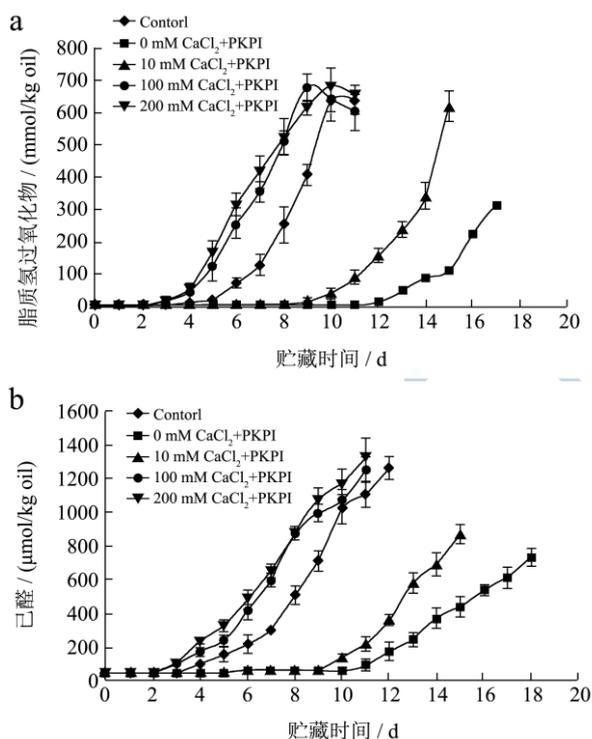


图 6 离子强度对含 0.2% PKPI W/O 乳液脂质氧化稳定性的影响

Fig.6 Effects of the ionic strength on the lipid oxidative stability of W/O emulsions

注: 水相 pH 7.0, 乳液于 45 °C 避光贮存 20 day; A 脂质氢过氧化物, B 己醛; 数据为平均值 ±S.D.

### 3 结论

PKPI 应用于 W/O 乳液, 与亲油性乳化剂相互作用

用, 提高了乳液的物理稳定性和氧化稳定性; 水相 pH 7.0, PKPI 螯合过渡金属离子的能力大于 pH 3.0, 导致 PKPI 在水相 pH 7.0 的抗氧化活性高于 pH 3.0; 含 PKPI 乳液, 其物理稳定性随离子强度的增大而增强, 但离子强度降低了 KPI 的螯合能力, 导致乳液氧化稳定性随离子强度的增大而降低。

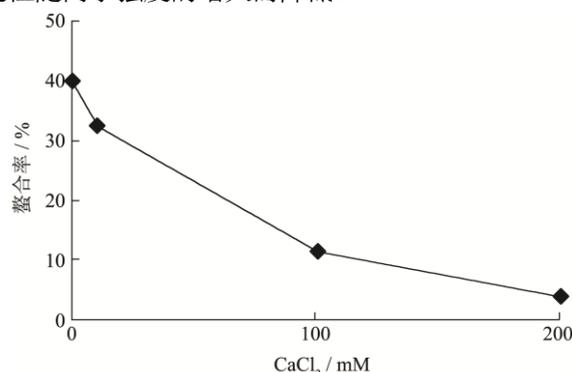


图 7 钙离子强度对 3 种蛋白质螯合  $\text{Fe}^{2+}$  能力影响  
Fig.7 Effects of calcium ionic strength on  $\text{Fe}^{2+}$  chelating capacities of PKPI

注: 体系 pH 7.0, 含 0.2 g PKPI, 8 mg/mL  $\text{Fe}^{2+}$ , 数据为平均值 ±S.D.

### 参考文献

- [1] 李猛.恒压消解-TXRF 测定核桃中的 16 种矿物元素[J].现代食品科技,2013,29(5):1170-1172  
LI Meng. Determination of 16 mineral elements in walnut by total reflection X-ray fluorescence with constant pressure digestion [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(5): 1170-1172
- [2] 杜纪权,徐宏,曹庸,等.迷迭香提取物在玉米油中的抗氧化作用研究[J].现代食品科技,2011,27(4):400-403  
DU Ji-quan, XU Hong, CAO Yong, et al. Antioxidant effect of rosemary extracts on corn oil [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(4): 400-403
- [3] McClements D J, Decker E A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems [J]. Journal of Food Science, 2000, 65: 1270-1282
- [4] Elias R, Kellerby S, Decker E A. Antioxidant activity of proteins and peptides [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2008, 48: 430-441
- [5] Jiang J, Zhu B, Liu Y, et al. Interfacial structural role of pH-shifting processed pea protein in the oxidative stability of oil/water emulsions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62: 1683-1691
- [6] 刘英.炒桃仁总蛋白对小鼠 B 细胞功能影响的实验研究[J].

- 中医药学报,2001,29(2):55-56
- LIU Ying. Experimental study on the effect of fried walnut total protein of mouse B cell function [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2001, 29(2): 55-56
- [7] 李静娟,易建华,朱振宝,等.桃仁蛋白与大豆分离蛋白功能特性比较[J].食品与发酵工业,2010,36(2):100-104
- YI Jian-hua, LI Jing-juan, ZHU Zhen-bao, et al. Comparison of peach kernel protein isolate and soybean protein isolate in functional characteristics [J]. Food and Fermentation Industry, 2010, 36(2): 100-104
- [8] Choi S J, Decker E A, McClements D J. Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in-oil-in-water emulsions on lipid oxidation [J]. Food Chemistry, 2009, 116: 271-276
- [9] Panya A, Laguerre M, Lecomte J, et al. Effects of chitosan and rosmarinate esters on the physical and oxidative stability of liposomes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(9): 5679-5684
- [10] Chen B C, McClements D J, Decker E A. Role of continuous phase anionic polysaccharides on the oxidative stability of menhaden oil-in-water emulsions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 3779-3784
- [11] Yi J H, Zhu Z B, McClements D J, et al. Influence of aqueous phase emulsifiers on lipid oxidation in water-in-walnut oil emulsions [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62: 2104-2111
- [12] Mei L Y, McClements D J, Wu J N, et al. Iron-catalyze lipid oxidation in emulsions as affected by surfactant, pH and NaCl [J]. Food Chemistry, 1998, 61: 307-312
- [13] Donnelly J L, Decker E A, McClements D J. Iron-catalyzed oxidation of Menhaden oil as affected by emulsifiers [J]. Journal of Food Science, 1998, 63: 997-1000
- [14] de Wit J N, van Kessel. The effects of ionic strength on the solubility of whey protein products. A colloid chemistry approach [J]. Food Hydrocolloids, 1996, 10: 143-149
- [15] Zhu Z B, Yi J H, Dong W B, et al. Ionic strength, antioxidants and chelators affecting whey protein isolates' antioxidation in water-in-walnut oil emulsions [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2015, 117(5): 620- 625