

大豆蛋白/壳聚糖凝聚法制备微藻油乳液及其稳定性研究

孙颖恩¹, 袁杨², 杨晓泉¹

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 广州大学化学化工学院 广东广州 510006)

摘要: 微藻油富含 ω -3 多不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸 (DHA) 与二十碳五烯酸(EPA), 在液体食品中的应用日趋广泛。但是微藻油极易在食品加工、保藏和消化过程中发生氧化劣变; 同时脂溶性的微藻油难以添加至液体食品中。因此, 改善和提高微藻油的稳定性是其应用到食品中的关键问题。本文利用大豆分离蛋白 (SPI) /壳聚糖 (CS) 复合凝聚物 (Coacervate) 制备了微藻油乳液。由于乳液的氧化稳定性很大程度上依赖于其物理稳定性, 本文系统研究了微生物谷氨酰胺转氨酶 (mTGase) 交联对微藻油乳液物理稳定性及氧化稳定性的影响。实验结果表明, 在 pH 为 6.0, CS/SPI 比例为 0.1g/g, mTGase 浓度为 25U/g SPI 的条件下, mTGase 对 SPI/CS 凝聚物的交联效果最好。mTGase 交联明显改善了微藻油乳液的物理稳定性及氧化稳定性, 并显著提高了微藻油的乳化效率。通过此方法制备的微藻油乳液产品可应用于豆奶等液体蛋白饮料从而达到强化 DHA 的目的。

关键词: 微藻油; 复合凝聚; 谷氨酰胺转氨酶; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2016)1-70-76

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.011

Preparation and Evaluation of the Stability of a Microalgae Oil-water Emulsion by Using Soybean Protein-chitosan Coacervate as an Emulsifier

SUN Ying-en¹, YUAN Yang², YANG Xiao-quan¹

(1.College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. College of Chemistry and Chemical Engineering, GuangZhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Microalgae oil is rich in polyunsaturated fatty acids, docosahexaenoic acid (DHA), and eicosapentaenoic acid (EPA), commonly added to liquid foods. However, microalgae oil is prone to oxidative deterioration during food processing, preservation, and digestion. In addition, it is difficult to add liposoluble microalgae oil to liquid foods. Therefore, improving the stability of microalgae oil is critical for its application in the food industry. Here, a microalgae oil-water emulsion was prepared using soybean protein isolate (SPI) and chitosan (CS) coacervate. Because the oxidative stability of emulsions depends greatly on their physical stability, the effects of cross-linking with microbial transglutaminase (mTGase) on the physical and oxidative stabilities of the microalgae oil-water emulsion were investigated. The results indicated that the optimum cross-linking effect of mTGase on SPI/CS coacervate was achieved under the following conditions: pH: 6.0; Cs to SPI ratio: 0.1 g/g; mTGase concentration: 25 U/g SPI. Cross-linking with mTGase significantly improved the physical and oxidative stabilities of the microalgae oil-water emulsion, as well as the emulsifying efficiency of microalgae oil. The microalgae oil emulsion product prepared using this method can be added to soy milk and other liquid protein drinks, thus enhancing the health benefits from DHA.

Key words: microalgae oil; complex coacervation; transglutaminase; stability

海藻油是从发酵培养而成的单细胞藻类中提取的功能性食品配料, 富含DHA和EPA, 其DHA含量高达20%~35%, 主要应用于婴幼儿奶粉、保健食品。但DHA和EPA对光、热、氧等因素非常敏感, 非常容易氧化;

收稿日期: 2015-04-11

基金项目: 科技部 863 重点项目 (2012BAD33B10-2)

作者简介: 孙颖恩 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物蛋白工程

通讯作者: 杨晓泉 (1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向为植物蛋白质的

开发与利用

同时微藻油为脂溶性物质, 难以与水溶性物质混溶, 极大限制了它在水溶性食品中的添加应用。因此, 如何改善和提高微藻油在食品体系中的稳定性是一个亟待解决的问题。目前常用的方法是利用变性淀粉^[1]、麦芽糊精/酪蛋白^[2]等材料通过喷雾干燥对微藻油进行微胶囊化。但此方法制备的微胶囊在高温高湿条件下稳定性差; 另外也有报道用甜菜果胶^[3]、蔗糖酯^[4]等乳化剂对微藻油进行乳化包埋, 这种使用单一乳化剂乳化的方法虽然乳化效率较高, 但是抗氧化效果不

佳。

利用复合凝聚法形成蛋白/多糖凝聚物 (Coacervate) 荷载风味物质是一个研究热点^[5]。这种方法制备的乳液具有操作简便、效率高和缓释效果好等特点。更重要地,复合凝聚法的反应条件温和,选用的材料往往是无毒的、生物相容性好的食品级大分子物质,因此可用来包埋敏感活性物质,实现体内安全输送。本实验室对大豆蛋白/壳聚糖 (CS) 体系进行了大量研究^[6,7],发现由于壳聚糖是一种天然阳离子多糖,其形成的乳液具有很好的抗菌性、成膜性和抗氧化性。因此,本文利用大豆蛋白/壳聚糖进行海藻油乳液的制备。

但是由于复合凝聚法的本质是静电相互作用,容易受到温度、pH和离子强度等因素的影响,稳定性较差。通过桥联剂交联凝聚物,可使凝聚物具有一个稳定的刚性结构。mTGase是一种食品用凝聚物交联剂,交联作用强,制备的凝聚物密封性能好,具有很好的热稳定性。

海藻油乳液的物理稳定性和氧化稳定性都是海藻油能否应用到食品中的关键问题。物理稳定性差会出现重力分层、奥氏熟化、颗粒絮凝等问题;氧化稳定性差会使油相酸败而是乳液变质。本文试图利用mTGase交联大豆蛋白/壳聚糖凝聚物制备海藻油乳液,从而改善海藻油乳液的物理稳定性及氧化稳定性,达到将海藻油应用于酸奶、豆奶等液体蛋白饮料的目的。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

低温脱脂大豆粕 (山东新嘉华股份有限公司); 壳聚糖 (食品级,平均分子量15-50 万道尔顿,脱乙酰度>90%,山东奥康生物科技有限公司); mTGase (食品级,酶活力100U/g,泰兴市一鸣生物制品有限公司); 海藻油 (DHA含量为30%,湖南佳格生物技术有限公司); 异辛烷、异丙醇、氯化钡、硫酸亚铁、硫氰酸铵、甲醇、丁醇、正己烷均为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

Nano-ZS电位及粒度分析仪 (英国Malvern公司); pHs-3C酸度计 (上海雷磁仪器厂); T18高速剪切机 (德国IKA公司); DM 2000光学显微镜 (德国Leica公司); Genesys10紫外可见分光光度计 (英国Thermo公司); Mastersizer2000激光粒度仪 (英国Malvern 公司); CR22G高速冷冻离心机 (Hitachi)。

1.3 实验方法

1.3.1 大豆分离蛋白 (SPI) 的制备

采用碱溶酸沉方法制备大豆分离蛋白 (SPI),以料液比1:10向低温脱脂豆粕加入去离子水,调节pH为8.0,室温搅拌2 h后10000 g离心20 min。将上清液pH调至4.5进行酸沉,经过离心 (10000 g, 10min) 后的蛋白沉淀重新溶于去离子水中,调节其pH至7.5。蛋白溶液经过48 h透析后冻干备用。由Dumas方法测得SPI的蛋白含量为85.33±0.40% (N×6.25)。

1.3.2 SPI-CS 复合凝聚物的制备

准确称取一定质量的 SPI 蛋白样品溶于去离子水中,准确称取一定质量的 CS 样品溶于 100 mM 的乙酸缓冲液中 (pH 3.0),在室温下搅拌 3 h 后放入冰箱中水化过夜,得到蛋白浓度为 2% (m/V),CS 浓度为 2% (m/V) 的储液。将上述储液按照不同的比例混合后通过补足乙酸缓冲液的方式,最后得到蛋白浓度为 0.5% (m/V),多糖与蛋白复合比为 0.05、0.1、0.2 的 SPI-CS 复合溶液。为得到不同 pH 的凝聚物,实验用 1M 的 NaOH 调节复合溶液的 pH, pH 范围选定为 5.0 至 8.0。

1.3.3 ζ-电位 (mV) 测定

ζ-电位是带电粒子平滑电子层产生的电势,本指标对胶体的电荷性质具有指导意义。实验中采用 Malvern Nano ZS 仪测定复合体系的 ζ-电位,并辅助使用 MPT-2 自动滴定仪,He-Ne 作为激光器。仪器使用激光多普勒测速法对样品进行电泳迁移率实验,得到带电粒子的电泳迁移率 (UE),进而运用 Henry 方程计算 ζ-电位:

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(K_a)}{3\eta}$$

式中 ε 是溶剂的介电常数, η 是溶液的粘度, $f(K_a)$ 是 Henry 常数。

1.3.4 红外光谱测定 (FT-IR)

将 CS 粉末、SPI 粉末和经冷冻干燥得到的 SPI-CS 凝聚物粉末样品置于干燥器内用 P_2O_5 充分干燥,称取 1 mg 样品,与 100 mg 溴化钾研磨混匀压片测定 FTIR。在数据采集期间,为了减少水蒸汽 IR 吸收的干扰,持续用干燥的 N_2 淋洗测量室。在与样品测定完全相同的条件下在室温敞开状态收集空气背景。测定在波数范围为 4000~400 cm^{-1} 的吸收光谱,分辨率 4 cm^{-1} ,环境温度 25 $^{\circ}C$ 。

1.3.5 SPI-CS 海藻油乳液的制备

将一定体积的 SPI 储液与一定量的海藻油混合,在 6000 r/min 的条件下乳化均质 2 min,加入一定体积

的 CS 储液及乙酸缓冲液使 CS/SPI 复合比为 0.075、0.1 和 0.2, 马上调节样品 pH 为 6.0。最后制备得到的乳液中 SPI 与海藻油浓度分别为 0.5% (m/V) 和 10% (m/V)。分别加入浓度为 3.125、6.25、12.5、25、37.5、50 U/g SPI 的谷氨酰胺转氨酶, 50 °C 下维持低速搅拌 2 h, 使凝聚物交联, 得到乳液。

1.3.6 样品处理

样品的加热处理是指将不同 mTGase 浓度的海藻油乳液加入密封但透气的试管中, 于 90 °C 水浴锅中加热 1 h。加热后剧烈振荡样品并迅速使其冷却至室温。

$$\text{乳化效率 (\%)} = \frac{\text{总添加油量} - (\text{未萃取的乳液烘干后的固形物重量} - \text{萃取的乳液烘干后重量})}{\text{总添加的油量}} \times 100\%$$

1.3.8 光学显微镜 (Optical Microscopy)

采用莱卡光学显微镜观察乳液的微观结构。观测时, 取 20 μL 样品于平板载玻片上, 确保样品中没有气泡, 盖玻片压紧备用。用 60 \times 物镜进行观察。

1.3.9 粒度分布

取乳液分散于水中, 用 Mastersizer2000 激光粒度仪测定不同条件制备的乳液的粒径分布。Mastersizer 2000 激光粒度仪的原理是颗粒在激光束的照射下, 散射光的角度与颗粒的直径成反比关系。通过接受和测量散射光的能量分布即可得出颗粒的粒度分布特征。

1.3.10 油脂的氧化测定^[8]

将样品分装在密封玻璃瓶中, 置于 50 °C 烘箱中加速氧化。经过不同储存时间后取出, 进行过氧化物含量测定。将异辛烷和异丙醇按照 3:1 体积比混合, 即为溶剂一。将甲醇和丁醇按照 2:1 的体积比混合, 即为溶剂二。取 0.4 mL 样品, 加入 1.5 mL 溶剂一。充分振摇后在 3400 g 加速度下离 2 min。取上层有机相 0.2 mL, 加入 2.8 mL 溶剂二混匀。加入 15 μL 0.3 g/mL 硫氰酸铵和 15 μL 亚铁离子溶液 (0.264 mol/L 的氯化钡和 0.288 mol/L 的硫酸亚铁混合后离心), 室温下反应 20 min 后在 510 nm 波长下测量吸光值。用过氧化氢做标准曲线计算样品中的过氧化值。

1.3.11 数据分析

实验数据通过数据分析系统软件 (SAS 软件) 经过单因素方差分析并在结果之间进行相关性统计。显著性分析通过 Duncan 的多范围检验 (Duncan's multiple range test) 得到, $p < 0.01$ 表示极显著, $p < 0.05$ 表示显著, $p > 0.05$ 表示不显著。

2 结果与讨论

2.1 SPI-CS 凝聚物的制备与表征

在不同 mTGase 浓度的海藻油乳液中各加入 200 mM NaCl, 充分搅拌后得到不同离子强度的分散液。

1.3.7 乳化效率的测定

取一定体积的新鲜制备的乳液置于离心管中, 加入等体积的正己烷后对样品进行涡旋振荡 3 次, 每次 10 s。将萃取后的样品离心 (5000 g, 5 min) 并倒去正己烷, 再用去离子水漂洗样品 3 次。处理后的乳液在 70 °C 烘箱中烘干 24 h 保证其质量不再变化。乳液的乳化效率通过以下公式计算:

ζ -电位是表征体系带电情况的典型方法, 由于大分子物质所带的电荷性质与数量与体系 pH 有直接相关性, 而大分子间的静电相互作用又直接依赖于电荷, 因此 pH 值条件的控制是复合凝聚反应进行的最关键因素, 是判断 SPI 和 CS 相互作用理论强弱的指标。图 1 显示了 SPI、CS 与复合比为 0.1 的 SPI-CS 凝聚物在 pH 值 5.0 至 8.0 的 ζ -电位值。在检测的 pH 范围内, SPI 和 CS 始终是带有相反的电荷: 其中 CS 始终带有正电荷, 但随着体系 pH 的升高, 所带的电荷越来越少。这是由于在酸性条件下, 壳聚糖上的氨基质子化为 $-\text{NH}_3^+$, 随着 pH 值增大, 壳聚糖分子链上 $-\text{NH}_3^+$ 发生去质子化, 带电越来越少。SPI 始终带有负电荷, 随着体系 pH 的升高, 所带的电荷越来越多。这是由于溶液 pH 高于 SPI 等电点, $-\text{COO}^-$ 数目多于 $-\text{NH}_3^+$, SPI 带负电荷。而且随着 pH 值增大, $-\text{COO}^-$ 数目不断增多, $-\text{NH}_3^+$ 不断减少, 因此 SPI 所带负电荷增多。SPI-CS 凝聚物在检测 pH 范围内的带电情况介于 SPI 和 CS 各自的 ζ -电位曲线之间, 说明在检测的 pH 范围内, 这两种物质都存在发生静电相互作用的可能。通过计算两种大分子物质在各个 pH 值的 ζ -电位绝对值乘积可得到静电相互作用理论强度值 (SEI)。在 pH 6.0 时 SEI 值最大, 具有较高的相互作用可能性, 而在 pH 8.0 这种可能性降至最低。据文献记录^[9], mTGase 固化 SPI-CS 凝聚物的最佳 pH 条件为 6.0。传统的阴离子多糖与蛋白质往往在酸性条件下 (pH 3.0~5.0) 发生复合凝聚现象, 该 pH 条件不利于 mTGase 的交联, 而大豆蛋白与壳聚糖可以在中性条件 (pH 6.0~7.0) 形成复合凝聚物, 为 mTGase 的交联提供了很好的条件, 因此后续试验的 pH 值为 6.0。

为确定 SPI 与 CS 是否发生了反应, 分别取少量 CS 粉末、SPI 粉末和经冷冻干燥得到的 SPI-CS 凝聚物粉末进行红外光谱分析, 避免了水在氨基 I 范围 (1720

$\text{cm}^{-1}\sim 1580\text{ cm}^{-1}$) 强烈吸收峰的影响。

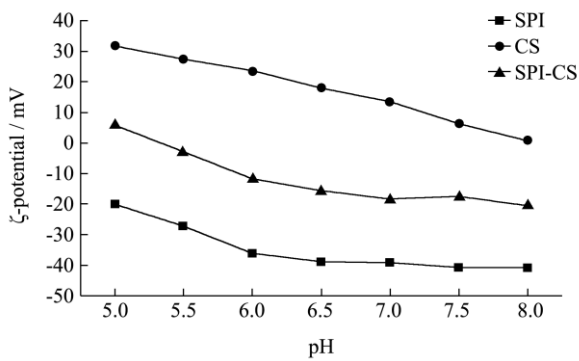


图1 SPI、CS及SPI-CS凝聚物在不同pH的ζ-电位值

Fig.1 ζ-potentials of SPI, CS, and SPI-CS coacervate at different pH values

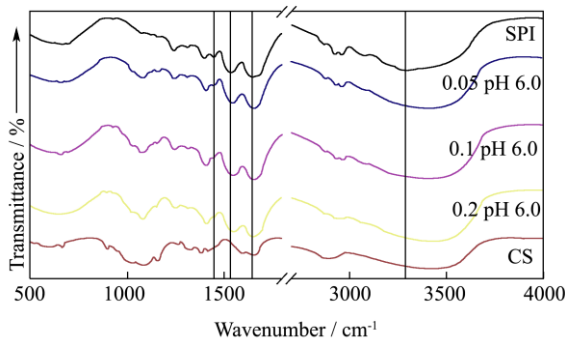


图2 SPI、CS与不同复合比条件下的SPI-CS凝聚物的红外光谱

Fig.2 FT-IR spectra of SPI, CS, and SPI-CS coacervate prepared at different mixing ratios

图2给出了不同样品的凝聚物的红外光谱图谱。SPI的红外光谱显示在 1646 cm^{-1} 和 1535 cm^{-1} 处具有氨基I基团和氨基II基团的特征吸收峰。氨基I和氨基II基团的红外特征吸收峰是分析蛋白质结构变化的重要特征峰^[10]。另外SPI在 1420 cm^{-1} 处具有 $-\text{COO}^-$ 的对称性伸展震动特征吸收峰。CS的主要吸收峰为： 2925 cm^{-1} (C-H伸缩振动)， 1656 cm^{-1} (乙酰化基团C=O伸展)， 1598 cm^{-1} (-NH角变形)， $1150\sim 1040\text{ cm}^{-1}$ (糖链中的-C-O-C-对称伸展)。其他波长如 1405 cm^{-1} 是-CH基团和-OH基团震动的共同特征吸收峰波长。凝聚物的红外光谱在波长 3297 cm^{-1} 至 3445 cm^{-1} 显示出与对照样不同的特征吸收峰，这是由于-NH₂基团和-OH基团的伸缩震动造成的变化^[11]。由于两种物质的带电基团形成了凝聚物，所以凝聚物在羰基-氨基波长区域内发生了一定的特征吸收波长的变化。在 1535 cm^{-1} 和 1646 cm^{-1} 处的特征吸收峰随着复合比的提升而向高波长明显的偏移，并在 1563 cm^{-1} 和 1657 cm^{-1} 处形成新的特征吸收峰。同时凝聚物在 1420 cm^{-1} 处的特征吸收峰消失，这说明静电相互作用主要形成于SPI带负电荷的羧基基团与CS带正电的氨基基团之

间^[11]，而且随着复合比提升，两者的相互作用更加强烈。另外，SPI-CS凝聚物在 $3000\sim 3600\text{ cm}^{-1}$ 的吸收光谱相对于SPI和CS发生了明显偏移，说明氢键也对SPI与CS的相互作用有影响。

2.2 mTGase 交联对大豆蛋白/壳聚糖凝聚物乳化微藻油的影响

乳化效率是评价乳液乳化效果的重要指标。图3给出了mTGase交联对不同复合比样品乳化效率的影响。由图可知，当复合比在 $0.075\sim 0.2\text{ g/g}$ 范围内，随着CS添加量的增加，凝聚物的乳化效率也小幅增加，这是因为有更多带正电的CS与带负电的SPI发生静电相互作用，将更多油滴包裹在大的凝聚物中达到乳化目的；而且乳化效率都在75%以上，说明复合凝聚法是一种乳化效率较高的方法。添加了mTGase后，凝聚物的乳化效率显著提高 ($P<0.05$)：复合比为 0.075 g/g 的样品乳化效率从 75.06% 增大至 87.96% ；复合比为 0.1 g/g 的从 81.32% 增大至 93.85% ；复合比为 0.2 g/g 的从 81.98% 增大至 94.87% ，其中复合比为 0.1 g/g 增加幅度最大，说明mTGase对复合比 0.1 g/g 凝聚物的作用效果最显著 ($P<0.01$)。本实验凝聚物的乳化效率都是在制备样品后第一时间测定，所以并不能表现出其随时间变化的稳定性效果。

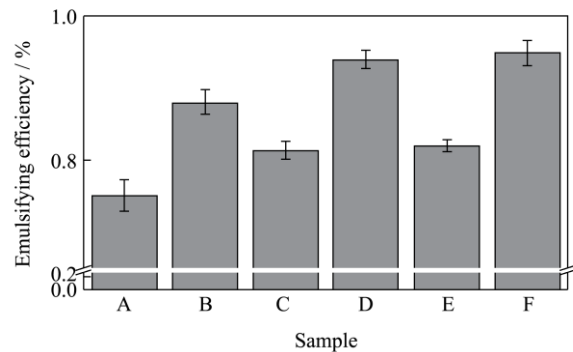


图3 不同条件下SPI-CS凝聚物的乳化效率

Fig.3 Emulsifying efficiency of SPI-CS coated emulsion under different conditions

注：(A) 复合比 0.075 g/g ；(B) 复合比 0.075 g/g ，添加mTGase 25U/g SPI；(C) 复合比 0.1 g/g ；(D) 复合比 0.1 g/g ，添加mTGase 25U/g SPI；(E) 复合比 0.2 g/g ；(F) 复合比 0.2 g/g ，添加mTGase 25U/g SPI。

从形貌学观察图看出，凝聚物均呈规则球形结构，这可能是凝聚物的形成过程中，大分子逐渐联接缠绕，同时又出于降低表面自由能的趋势所致。结合凝聚物形貌学观察图和粒度分布可知，在未添加mTGase时，添加少量CS时形成的凝聚物较均一，油滴分散在体

系中，凝聚物的粒径较小。这是由于在较低的复合比下，蛋白和油通过均质的方式形成初乳液后，只有少量的 CS 能通过静电方式包裹在初乳液的油滴周围并形成一层 SPI-CS 凝聚物膜，并非分子链段上的所有有效位点都彼此连接。随着复合比提高，可以发现凝聚物的厚度和粒径随之提高，体系中的游离油滴也减少。这是因为此时 CS 的大量存在，CS 和 SPI 之间由于较强的静电作用而发生凝聚，将油滴包裹在大的凝聚物中，这一发现与 Weinbreck 等人的研究具有非常类似的结果^[12]。当三个样品各加入 mTGase 25 U/g SPI 时凝聚物的厚度与粒度均显著增大 ($P < 0.05$)，体系中几乎没有游离油滴的存在：复合比为 0.075 g/g 的凝聚乳粒度从 36.9 μm 增大至 57.5 μm ；复合比为 0.1 g/g 的从 51.4 μm 增大至 98.7 μm ；复合比为 0.2 g/g 的从 78.3 μm 增大至 103 μm ，其中复合比为 0.1 g/g 的增加幅度最大，符合前面的实验结果，说明 mTGase 能通过对 SPI 蛋白的交联使凝聚物更紧密地结合在一起。后续实验样品的复合比均为 0.1 g/g。

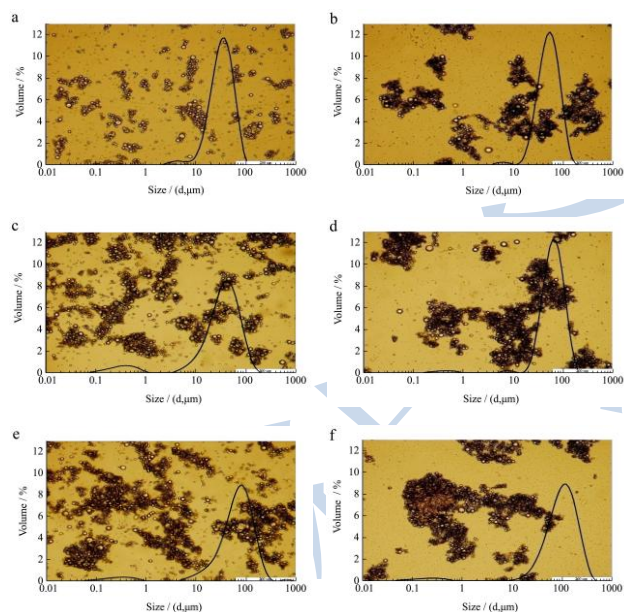


图4 不同条件下凝聚乳的形貌学观察图和粒度分布

Fig.4 Morphological images and particle-size distribution of coated emulsions under different conditions

注：(a) 复合比 0.075 g/g；(b) 复合比 0.075 g/g，添加 mTGase 25U/g SPI；(c) 复合比 0.1 g/g；(d) 复合比 0.1 g/g，添加 mTGase 25U/g SPI；(e) 复合比 0.2 g/g；(f) 复合比 0.2 g/g，添加 mTGase 25U/g SPI。

2.3 不同 mTGase 浓度对海藻油乳液的胶体稳定性及氧化稳定性的影响

图5 为不同 mTGase 浓度下凝聚物的粒度和乳化

效率。随着 mTGase 浓度的增大，凝聚物的粒度与乳化效率均显著增大 ($P < 0.05$)。这是由于 mTGase 的浓度越高，凝聚物中蛋白质分子间的桥联密度提高，凝聚物更加紧密地结合在一起，对海藻油的包裹效果更好，乳液结构更加稳定。当 mTGase 的浓度达到较高水平 (25 U/g~50 U/g) 时，粒度和乳化效率均没有明显差别 ($P > 0.05$)。这可能是由于该浓度范围下 mTGase 已经达到最佳的交联效果，因此其最佳用量为 25 U/g SPI。

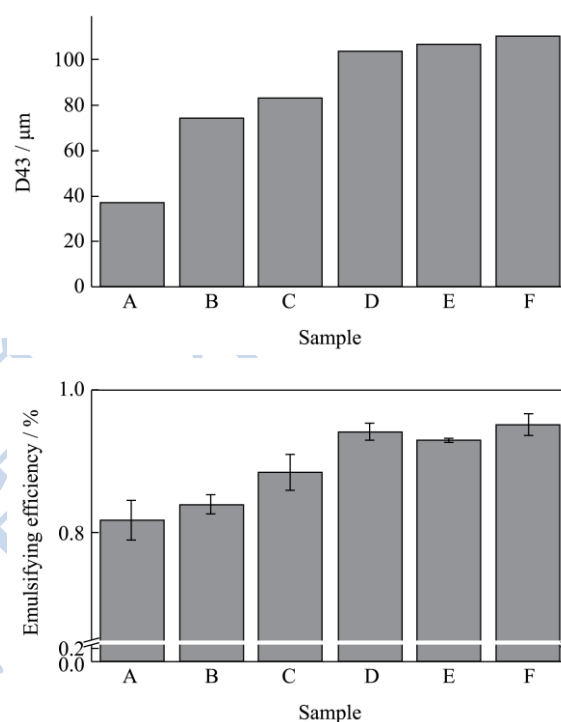


图5 不同 mTGase 浓度下凝聚物的粒度和乳化效率

Fig.5 Particle-size and emulsifying efficiency of SPI-CS coated emulsion at different mTGase levels

注：A-F 的 mTGase 浓度分别为 3.125、6.25、12.5、25、37.5、50U/g SPI。

图6 是复合比为 0.1 g/g 时不同 mTGase 浓度交联的凝聚物在 200 mM NaCl 处理和 90 $^{\circ}\text{C}$ 处理 1 h 条件下的乳化效率。从图中可以看出，样品 A 作为对照样经过盐处理后乳化效率低，这是因为盐离子对电荷的屏蔽作用是影响蛋白与多糖复合体系稳定性的一个重要因素。氯化钠的存在会屏蔽壳聚糖链上的正电荷，并且能改变蛋白质氨基酸侧链上的电荷分布，使壳聚糖与蛋白相互作用能力大大减弱，导致海藻油释放。

大量文献报道，温度是影响复合体系稳定性的另一项重要因素。加热处理会在短时间内改变一个体系中组分间相互作用力的平衡，从而改变体系的稳定性，甚至使凝聚物裂解。因此，样品 A 作为对照样经过 90 $^{\circ}\text{C}$ 热处理后乳化效率低下。与对照样比较，添加了

mTGase 的样品在上述两种条件下乳化效率均有显著提高 ($P < 0.05$), 并且乳化效率随着 mTGase 浓度的增大而升高。说明 mTGase 对蛋白质分子之间的共价交联, 形成了结构稳定的凝聚物, 使乳液能够耐受高盐 and 高温。当 mTGase 的浓度达到较高水平 (25 U/g~50 U/g) 时, 没有明显差别 ($P > 0.05$)。这可能是因为在该浓度范围内 mTGase 已经达到最佳的交联效果, 与前面的实验结果一致。

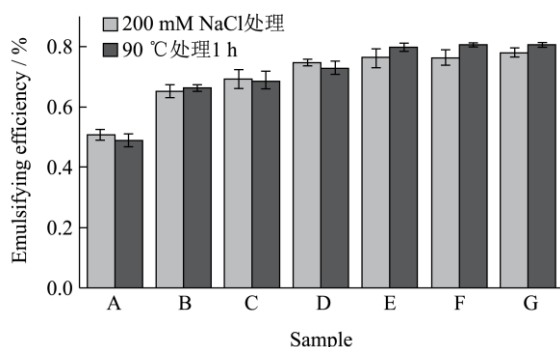


图6 不同mTGase浓度SPI-CS复合凝聚物在不同条件下的乳化效率

Fig.6 Emulsifying efficiency of SPI-CS coated emulsion at different mTGase levels

注: A-G mTGase 浓度为 0、3.125、6.25、12.5、25、37.5、50U/g SPI。

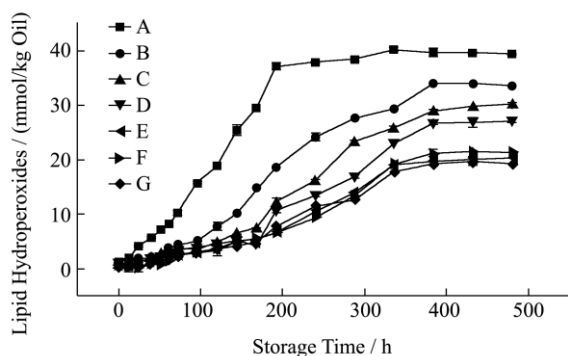


图7 不同mTGase浓度SPI-CS复合凝聚物对被包裹油脂的氧化抑制效果

Fig.7 Antioxidant property of SPI-CS coated emulsion at different mTGase levels

注: (A-G) 同图6。

复合凝聚技术具有抑制氧化的效果, 这使其有可能在油脂食品中得到应用^[13]。图5以氢过氧化物值作为衡量指标研究了经过mTGase交联的SPI-CS凝聚物对油脂氧化的抑制作用。从图中可以发现, 样品A作为对照样经过长时间的储藏后每千克油中的氢过氧化物含量达到一个较高的水平。不同mTGase浓度交联的SPI-CS凝聚物样品表现出类似的氢过氧化物含量变化, 但显著低于对照样 ($P < 0.05$)。这是因为蛋白

和多糖会在油脂表面形成一层厚厚的膜, 达到阻止氧化因子与油脂接触的目的, 抑制了脂肪氧化反应的发展。而且通过谷氨酰胺转氨酶交联, 能够使蛋白质间更加紧密地结合, 生成具有三维网状结构的稳定凝聚物, 进一步阻碍微藻油的氧化。随着mTGase浓度的增加, 氢过氧化物含量明显减少, 说明mTGase浓度的提高使更多的蛋白发生交联, 凝聚物的三维网状结构更加紧密。而当mTGase的浓度达到较高水平 (25 U/g~50 U/g) 时, 氢过氧化物含量没有明显差别 ($P > 0.05$)。氢过氧化物值为油脂氧化的初级产物, 随着时间的推移, 该物质会进一步分解为醛酮醇等小分子次级产物, 导致氢过氧化物含量降低。在本实验时间内, 氢过氧化物值趋于恒定, 其合理的解释可能是随着放置时间的增加, 氢过氧化物的产生与分解达到一种动态的平衡所致, 随时放置时间的增加, 氢过氧化物值会进一步降低。

3 结论

3.1 大豆蛋白与壳聚糖形成复合凝聚物的最佳条件在 pH 6.0~7.0, 该条件下 mTGase 的活性最强, 并且适宜添加到豆奶等中性液体蛋白饮料中。

3.2 利用 mTGase 交联微藻油乳液发现, 在 pH 为 6.0, 复合比为 0.1 g/g, TG 酶浓度为 25 U/g SPI 条件下, mTGase 交联效果最好。高温和高离子强度处理对微藻油乳液有一定的影响, 但对乳液的破坏较少。更重要的是, 经过 mTGase 交联的微藻油乳液抗氧化性显著提高, 明显改善了微藻油容易氧化的缺陷。

3.3 本方法制备的微藻油乳液的物理稳定性及氧化稳定性高, 可应用于豆奶等液体蛋白饮料达到强化 DHA 的目的。

参考文献

- [1] 吴克刚, 孟宏昌. 利用变性淀粉微胶囊化微藻单细胞 DHA 油脂的研究[J]. 食品信息与技术, 2004, 25(7): 75-77
WU Ke-gang, MENG Xiong-chang. Study on modified starch microencapsulation of DHA single cell oil from microalgae [J]. Food Science, 2004, 25(7): 75-77
- [2] 韩丹, 熊华, 白春清, 等. 微藻油微胶囊贮藏稳定性的初步研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 123-126
HAN Dan, XIONG Hua, BAI Chun-qing, et al. Storage stability of microalgal oil microcapsules [J]. Food Science, 2009, 30 (17): 123-126
- [3] 李琳, 桂仕林, 邢慧敏, 等. 甜菜果胶制备藻油乳化液及其稳定性研究[J]. 中国甜菜糖业, 2013, (4): 1-4
LI Lin, GUI Shi-lin, XING Hui-min, et al. An experimental

- study of preparation and stability of algae oil—water emulsion using sugar beet pectin as an emulsifier [J]. *China Beet & Sugar*, 2013, (4): 1-4
- [4] 桂仕林, 邢慧敏, 李琳, 等. 藻油乳化液的制备及稳定性研究 [J]. *食品研究与开发*, 2014, (3): 51-54
- GUI Shi-lin, XING Hui-min, LI Lin, et al. An experimental study of preparation and stability of algae oil-water emulsion [J]. *Food Research and Development*, 2014, (3): 51-54
- [5] Wang X, Lee J, Wang Y W, et al. Composition and rheological properties of β -lactoglobulin/pectin coacervates: effects of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio [J]. *Biomacromolecules*, 2007, 8(3): 992-997
- [6] Yuan Y, Wan ZL, Yin SW, et al. Stability and antimicrobial property of soy protein/chitosan mixed emulsion at acidic condition [J]. *Food & Function*, 2013, 4(9), 1394-1401
- [7] Yuan Y, Wan ZL, et al. Associative interactions between chitosan and soy protein fractions: effects of pH, mixing ratio, heat treatment and ionic strength [J]. *Food Research International*, 2014, 55, 207-214
- [8] Wan Z L, Wang J M, Wang L Y, et al. Enhanced physical and oxidative stabilities of soy protein-based emulsions by incorporation of a water-soluble stevioside-resveratrol complex [J]. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 2013, 61(18): 4433-4440
- [9] Huang G Q, Sun Y T, Xiao J X, et al. Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan [J]. *Food Chem.*, 2012; 135:534-539
- [10] Beekes M, Lasch P, Naumann D. Analytical applications of Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy in microbiology and prion research [J]. *Veterinary microbiology*, 2007, 123(4): 305-319
- [11] Espinosa-Andrews H, Sandoval-Castilla O, Vázquez-Torres H, et al. Determination of the gum arabic-chitosan interactions by fourier transform infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 79(3): 541-546
- [12] Gouin S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2004, 15(7): 330-347
- [13] Xiao J X, Huang G Q, Wang S Q, et al. Microencapsulation of capsanthin by soybean protein isolate - chitosan coacervation and microcapsule stability evaluation [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2014, 131(1)