

银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒提升乳液稳定性 及虾青素生物可及性

程菲, 李小龙, 魏子昊*

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 为充分利用鲳鱼资源及实现虾青素的稳态化递送, 本实验通过等电点沉淀法提取得到银鲳蛋白, 基于静电相互作用制备了银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒来改善鱼肉蛋白乳化性, 探究乳液的稳定性及对虾青素的递送能力。结果表明, 壳聚糖显著提高了银鲳蛋白的疏水性, 复合颗粒水接触角达到 84.10° , 具有更好的乳化活性和乳化稳定性, 其制备的乳液在储存 14 d 后仍可保持稳定。体外模拟消化结果表明, 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液的游离脂肪酸释放率和虾青素生物可及性最高, 分别达到 38.53% 和 36.05%, 相较于银鲳蛋白乳液, 促进了脂质的消化和虾青素的递送, 证实银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定的乳液是一种优异的功能因子递送载体。本研究为鲳鱼资源的高值化利用及虾青素的高效递送提供实验依据, 有利于促进海洋生物资源的充分利用。

关键词: 银鲳蛋白; 壳聚糖; 乳液稳定性; 虾青素生物可及性

文章编号: 1673-9078(2022)12-84-90

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.12.0842

Pampus argenteus Protein/Chitosan Composite Particles Improve Emulsion Stability and Astaxanthin Bioaccessibility

CHENG Fei, LI Xiaolong, WEI Zihao*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: In order to fully utilize pomfret resources and achieve the steady delivery of astaxanthin, *Pampus argenteus* protein was extracted via isoelectric precipitation. Furthermore, *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles were prepared by electrostatic interaction to improve the emulsifying property of fish protein. The stability and astaxanthin delivery capacity of this emulsion were investigated. The results show that the hydrophobicity of *Pampus argenteus* protein was significantly improved by chitosan. The water contact angle of composite particles reached 84.10° , and the composite particles had better emulsifying activity and stability. The emulsion fabricated using the composite particles remained stable after 14 days of storage. *In vitro* simulated digestion showed that the free fatty acid release rate and astaxanthin bioaccessibility of the emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles were the highest, reaching 38.53% and 36.05%, respectively. Compared with the emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein, the emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles promoted lipid digestion and astaxanthin delivery. This shows that the emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles was an excellent delivery system for functional factors. This study provides an experimental basis for the high-value utilization of pomfret resources and highly efficient transport of astaxanthin, which is beneficial for making full use of marine biological resources.

Key words: *Pampus argenteus* protein; chitosan; emulsion stability; astaxanthin bioaccessibility

引文格式:

程菲, 李小龙, 魏子昊. 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒提升乳液稳定性及虾青素生物可及性[J]. 现代食品科技, 2022, 38(12): 84-90

CHENG Fei, LI Xiaolong, WEI Zihao. *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles improve emulsion stability and astaxanthin bioaccessibility [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(12): 84-90

收稿日期: 2022-07-04

基金项目: 山东省优秀青年科学基金项目 (2022HWYQ-068); 中国海洋大学“青年英才工程”科研启动项目(862001013134)

作者简介: 程菲 (2001-), 女, 本科生, 研究方向: 食品胶体结构的设计与功能因子递送, E-mail: 17860737137@163.com; 共同第一作者: 李小龙 (1996-), 男, 博士研究生, 研究方向: 食品胶体结构的设计与功能因子递送, E-mail: 17853463849@163.com

通讯作者: 魏子昊 (1990-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品胶体结构的设计与功能因子递送, E-mail: weizihao@ouc.edu.cn

在海洋强国的战略背景下,建设“蓝色粮仓”,充分开发利用海洋资源,促进水产品的高值化利用,对我国海洋资源利用产业的发展具有重要意义。银鲳(*Pampus argenteus*),鲈形目鲳科,为近海中下层鱼类,在国内已具备成熟的养殖技术,其产量在国内海水鱼养殖品种中位居前列^[1]。目前,国内外对鲳鱼资源的研究聚焦于水产养殖与水产品保鲜上,在鲳鱼资源利用方面缺乏高水平的精深加工技术,导致产品附加值相对较低。鲳鱼是优质的蛋白质来源,其蛋白质含量高达 18.7 wt%,但是基于鲳鱼蛋白作为乳化剂来开发乳液产品的相关报道较少。此外,乳液是一种热力学不稳定体系,随着储存时间的延长,乳液会发生乳析并最终导致两相的分离,这不利于乳液在食品工业中的应用。乳化剂性质对乳液性能具有重要影响,研究发现由固体颗粒稳定的皮克林乳液具有良好的稳定性,这是因为颗粒不可逆地吸附于油水界面上并构成致密的界面膜,可显著提升乳液抗聚结和抗奥斯特瓦尔德熟化的能力^[2]。

多糖具有良好的生物相容性和生物可降解性,可通过共价或非共价相互作用与蛋白质复合形成颗粒乳化剂,提高蛋白质的乳化性^[3]。其中静电相互作用是构建蛋白质/多糖颗粒乳化剂的简单方法,主要依靠带相反电荷的蛋白质和多糖之间的相互吸引。壳聚糖是一种天然阳离子多糖,可通过静电相互作用与蛋白质形成复合颗粒并进一步稳定皮克林乳液^[4]。Zhang 等^[5]基于静电相互作用,开发了鲳鱼蛋白/壳聚糖复合颗粒,显著提高了乳液稳定性,并改善了乳液的粘弹性和触变性。同时,乳液也是疏水性功能因子的良好递送载体,可克服其水溶性低、稳定性差和生物可及性低的问题^[6]。体内的消化环境非常复杂,在不同消化阶段具有不同的 pH 值和消化酶,这会对乳液的递送效果产生显著影响。银鲳蛋白基乳液的界面结构对乳液稳定性和功能因子生物可及性的影响还未被阐明。

本研究以银鲳为原料,开展银鲳蛋白提取及乳化性研究,采用壳聚糖与银鲳蛋白形成复合颗粒,提高其稳定乳液的能力,并进一步研究银鲳蛋白基乳液体系作为虾青素递送载体的潜力。银鲳蛋白基乳液的开发有利于促进鲳鱼资源的高值化利用,且通过乳液载体可增强功能因子在体内的稳态化递送,可拓宽银鲳蛋白在食品工业中的应用范围。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

三去银鲳(*Pampus argenteus*)由温岭市好德水产

有限公司提供;壳聚糖购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;大豆油购于广东美味鲜调味食品有限公司;虾青素购于陕西康生生物科技有限公司;牛血清白蛋白、胃蛋白酶购于上海源叶生物科技有限公司;胰酶购于上海索莱宝生物科技有限公司;猪胆盐购于美国 Sigma 公司;其他化学试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

ST3100 pH 计,奥豪斯仪器有限公司;TGL20A 高速冷冻离心机,长沙英泰仪器有限公司;SCIENTZ-10N/C 冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;DYY-6D 电泳仪,北京六一生物科技有限公司;Zetasizer Nano ZS90 纳米粒度电位仪,英国 Malvern 仪器公司;OCA15EC 视频光学接触角测量仪,德国 Dataphysics 公司;CSPM5500 原子力显微镜,本原纳米仪器有限公司;Bettersize 2600 激光粒度仪,丹东百特仪器有限公司;NIKON/Ni-E 电动荧光显微镜,日本尼康公司;Agilent 1260 高效液相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 银鲳蛋白的制备

采用等电点沉淀法提取银鲳蛋白^[7],具体步骤如下:

将速冻鲳鱼于 4 °C 解冻→去除鱼骨和鱼皮→加水进行组织破碎,鱼肉与水的质量比为 1:9→通过 1 mol/L NaOH 调节鱼肉浆 pH 值至 11.0→4 °C 下 5 000 r/min 离心 15 min→取上清液→通过 1 mol/L HCl 调节 pH 值至 5.3→静置 3 h→4 °C 下 5 000 r/min 离心 15 min→收集沉淀→冷冻干燥→于 -40 °C 保存

1.3.2 蛋白质得率及纯度

银鲳蛋白得率(Protein Yield, PY)通过下式计算:

$$PY = \frac{W_1}{W_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

PY——蛋白质得率, %;

W_0 ——鱼肉质量, g;

W_1 ——冻干后蛋白质质量, g。

蛋白质纯度由考马斯亮蓝法测定,通过牛血清白蛋白建立标准曲线($y=0.8803x+0.0303$, $R^2=0.9956$)。配制浓度为 0.5 mg/mL 的银鲳蛋白溶液,测定蛋白质纯度。

1.3.3 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析

配置 2 mg/mL 的银鲳蛋白溶液进行 SDS-PAGE^[8]。浓缩胶和分离胶的质量分数分别为 5%和 12.5%,银鲳蛋白溶液与缓冲液混合并煮沸 5 min,上样 10 μ L,浓缩胶和分离胶的电压分别设置为 80 V 和 120 V,电泳结束

后用考马斯亮蓝染色液染色 12 h, 脱色液脱色 24 h。

1.3.4 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒的制备

配置 2.0 wt% 银鲳蛋白和 2.0 wt% 壳聚糖溶液, 室温下搅拌至分散均匀, 置于 4 °C 过夜充分水合。将两种溶液等体积混合, 调节 pH 值至 6.0, 搅拌 5 h, 获得银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒 (2 wt%)。

1.3.5 复合颗粒形貌特征

通过原子力显微镜观察复合颗粒的微观形貌。用 pH 值为 6.0 的超纯水将银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒分散液稀释 100 倍, 取 10 μ L 分散液滴于云母片上, 吸附 5 min 后用氮气吹干并观察, 采用轻敲模式, 拍摄尺寸为 20 000 nm \times 20 000 nm。

1.3.6 接触角测定

采用接触角测量仪测定水接触角^[2]。将银鲳蛋白溶液和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒分散液均匀涂布于洁净玻璃板上, 置于 60 °C 烘箱烘干形成薄膜, 通过接触角测量仪捕捉水滴和样品薄膜的接触照片, 计算其水接触角。

1.3.7 乳液的制备

将 2.0 wt% 银鲳蛋白溶液或 2.0 wt% 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒分散液与不同油相分数 ($\phi=0.3$ 、0.5、0.7) 的大豆油混合, 使用高速剪切机在 10 000 r/min 下剪切 3 min, 制备乳液。

1.3.8 乳液粒径

采用激光粒度仪测定乳液的中值粒径 (D_{50}), 测定参数如下: 水和大豆油的折射率分别设置为 1.33 和 1.47, 分析模式为 8.0-多峰。

1.3.9 乳液物理稳定性

采用 Turbiscan 稳定性分析仪对银鲳蛋白乳液和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液的稳定性进行分析。将装有 10 mL 乳液的仪器专用测试瓶放入检测池中, 以 Turbiscan 稳定性指数为指标, 每 5 min 扫描 1 次, 共扫描 4 h^[9]。

1.3.10 乳析指数测定

根据 Keowmaneechai 和 McClements^[10]的方法测定乳析指数, 将乳液在 4 °C 条件下静置, 在 3 h、24 h、2d、14 d 记录底部清液层高度与乳液总高度, 按下式计算乳析指数 (Creaming Index, CI):

$$CI = \frac{H_S}{H_E} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

CI——乳析指数, %;

H_S ——下层清液高度, cm;

H_E ——乳液总高度, cm。

1.3.11 负载虾青素乳液的制备

制备 2.0 wt% 银鲳蛋白溶液和 2.0 wt% 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒分散液, 将虾青素分散在油相中, 使其浓度达到 1 mg/mL^[11]。然后将含有虾青素的油相与水相等比例混合, 通过高速分散机以 10 000 r/min 的速度剪切 3 min 制成乳液, 得到负载虾青素的银鲳蛋白乳液和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液。

1.3.12 模拟体外消化及虾青素生物可及性测定

对乳液进行模拟体外消化实验^[12-14]。模拟体外消化分为三组, 分别为含有虾青素的大豆油、银鲳蛋白稳定的负载虾青素的乳液和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定的负载虾青素的乳液。

模拟胃消化: 用超纯水配制 2 g/L 的 NaCl 溶液, 调节 pH 值至 1.2, 制备模拟胃液。将三组样品 (溶解虾青素的大豆油和负载虾青素的两种乳液) 分别与模拟胃液按 1:8 的质量比充分混合。并用模拟胃液配制 4 mL 胃蛋白酶溶液 (1.6 mg/mL)。将以上溶液分别加热到 37 °C 后充分混合, 在不断搅拌下开始模拟胃消化。在模拟胃消化 2 h 后, 用 NaOH 溶液调节 pH 值至 7.5, 终止模拟胃消化过程。

模拟肠消化: 分别将 CaCl₂ 和猪胆盐溶于 Tris 缓冲液中, CaCl₂ 浓度为 10 mmol/L, 猪胆盐浓度为

10 mg/mL。调节 pH 值至 7.5, 得到模拟肠液^[15]。添加

胰酶至肠液中, 使最终的胰酶浓度为 3.2 mg/mL。将胃

消化后样品与模拟肠液等体积混合, 并在 37 °C 下混合

反应 2 h。在模拟肠消化过程中, 用 0.25 mol/L NaOH 将体系 pH 值固定在 7.5, 并记录在肠消化过程中添加 NaOH 的体积。

通过下式计算游离脂肪酸 (Free Fatty Acid, FFA) 的释放率:

$$FFA = \frac{m_{NaOH} \times V_{NaOH} \times M_{大豆油}}{2 \times W_{大豆油}} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

FFA——游离脂肪酸, %;

m_{NaOH} ——NaOH 浓度, mol/L;

V_{NaOH} ——消化过程中加入 NaOH 的体积, L;

$M_{大豆油}$ ——大豆油分子质量, g/mol;

$W_{大豆油}$ ——大豆油质量, g。

模拟消化后通过离心 (11 000 r/min, 35 min, 4 °C) 收集中部胶束相, 准确测量中间胶束相总体积, 通过高效液相色谱法分析虾青素含量。取 5 mL 中部胶束相,

加入 [V_{正己烷}:V_{丙酮}=1:1] 混合液涡旋混合, 离心 (4 000 r/min, 5 min, 4 ℃), 收集上层液体, 下层溶液重复以上操作, 直到液体无色。将所有上清液合并于试管中, 用氮气吹扫溶液使有机溶剂挥发, 迅速加入 1 mL [V_{甲醇}:V_{甲基叔丁基醚}=1:1] 混合液溶解试管内剩余物质, 后用 0.22 μm 滤膜过滤, 定量分析虾青素含量。在三种模拟消化体系中虾青素的生物可及性 (Bioaccessibility, B) 按下式计算:

$$B = \frac{W_{micelle}}{W_{digestion}} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

B——生物可及性, %;

W_{micelle}——胶束相的虾青素含量, μg;

W_{digestion}——体系中的虾青素含量, μg。

高效液相色谱条件: 色谱柱: YMC-C30 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 A: 甲醇; 流动相 B: 甲基叔丁基醚; 梯度洗脱程序: 0~10 min, 10% B; 10~30 min, 60% B; 30~40 min, 10% B。流速: 1 mL/min; 检测波长: 476 nm; 进样量 30 μL。

1.4 数据分析

每组实验重复三次, 采用 SPSS 22.0 软件对实验数据进行显著性分析, p < 0.05 为显著性差异, 所有结果均以平均值 ± 标准差表示。

2 结果与讨论

2.1 银鲳蛋白得率及 SDS-PAGE 分析

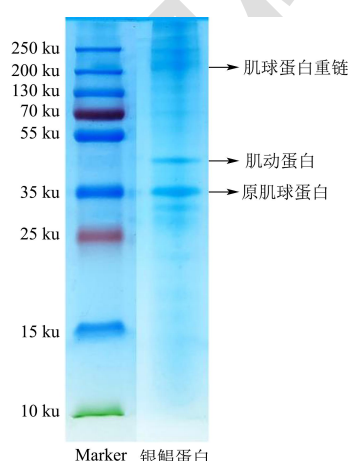


图1 银鲳蛋白 SDS-PAGE 图谱

Fig.1 SDS-PAGE pattern of *Pampus argenteus* protein

银鲳蛋白得率为 5.64%, 所得银鲳蛋白纯度为 78.26%。进一步对银鲳蛋白进行 SDS-PAGE 分析, 由图 1 可知, 银鲳蛋白在分子量 35~55 ku 和 200~250 ku 处出现不同条带。其中 35~55 ku 的两条条带可能分别

对应于原肌球蛋白 (35 ku) 和肌动蛋白 (48 ku), 而在 200~250 ku 的条带可能对应于肌球蛋白重链 (220 ku)^[16]。结果表明提取的银鲳蛋白主要由肌原纤维蛋白组成。肌原纤维蛋白作为乳化剂可以很好地吸附在油水界面上, 具有良好的乳化活性和乳化稳定性, 并已经成功稳定了大豆油和橄榄油乳液^[17-18]。这表明提取得到的银鲳蛋白具有稳定乳液的潜力。

2.2 复合颗粒微观形貌

图 2 为银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒的原子力显微镜图。从图中可以看出, 成功制备了银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒, 且复合颗粒表现为不规则的颗粒状, 分散均匀。银鲳蛋白等电点为 5.3, 当溶液 pH 值高于银鲳蛋白等电点时, 蛋白质释放质子, 使其负电荷占主导, 可与带正电的壳聚糖通过静电相互作用形成复合颗粒。复合颗粒可用于稳定皮克林乳液, 其不可逆地吸附到界面上形成致密界面膜, 可使乳液具有良好的抗聚结和抗奥斯特瓦尔德熟化的能力。

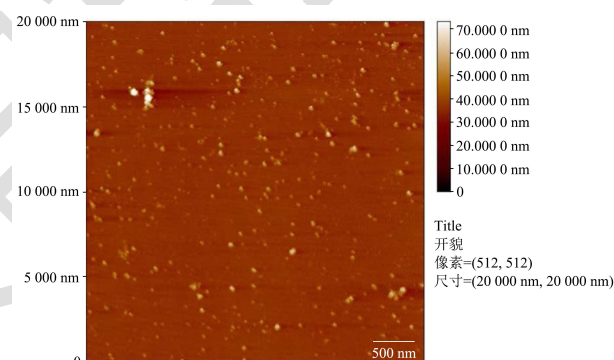


图2 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒微观结构

Fig.2 Microstructure of *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles

2.3 水接触角

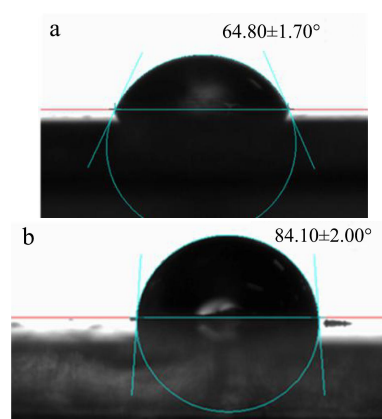


图3 银鲳蛋白 (a) 和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒 (b) 的水接触角

Fig.3 The water contact angle of *Pampus argenteus* protein (a) and *Pampus argenteus* protein /chitosan composite particles (b)

图3为银鲱蛋白和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒的水接触角,银鲱蛋白的水接触角为64.80°,银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒的水接触角为84.10°。结果表明银鲱蛋白表现出更好的亲水性,经壳聚糖改性后,复合颗粒的疏水性增加,水接触角接近90°,说明其具有构建稳定皮克林乳液的潜力^[19]。颗粒疏水性增加可能是因为壳聚糖与银鲱蛋白经过静电相互作用复合后,壳聚糖分子中疏水性的N-乙酰基-D-葡萄糖胺单元暴露于复合颗粒的表面,提高了复合颗粒的疏水性^[20]。

2.4 乳液粒径

图4为在固定的乳化剂浓度下,银鲱蛋白和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的粒径随油相分数的变化。从图中可以看出,银鲱蛋白和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的粒径都随着油相分数的增加而增加,其中银鲱蛋白乳液的粒径从42.38 μm增加到49.73 μm,银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液的粒径从17.15 μm增加到27.21 μm,这主要是因为随着油相分数的增大,单位油水界面上的乳化剂减少导致表面张力的增加,使乳液粒径逐渐增大,且较少的乳化剂不能完全覆盖油水界面导致乳液液滴的聚集^[21]。此外,银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的粒径明显小于银鲱蛋白乳液。这是因为复合颗粒具有良好的润湿性,可以更好地降低界面张力形成更小的乳液液滴,此外,由于颗粒在油水界面的不可逆吸附使其具有良好的抗聚结稳定性^[12]。

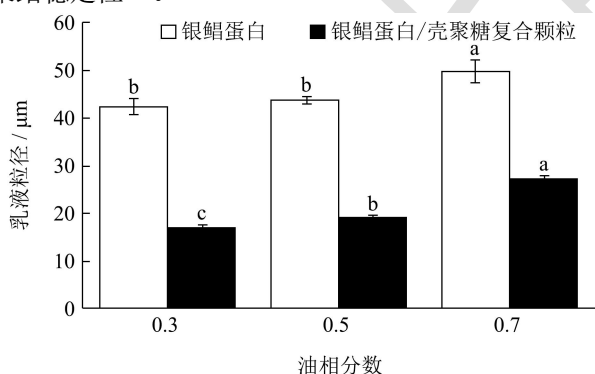


图4 不同油相分数下银鲱蛋白和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的粒径

Fig.4 The droplet size of emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein and *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles under different oil fraction

注:不同小写字母表示差异显著, $p < 0.05$ 。图8同。

2.5 乳液物理稳定性

图5为银鲱蛋白和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的Turbiscan稳定性指数(Turbiscan Stability Index,

TSI)。TSI可以直观地显示乳液的稳定性,TSI数值越大,表明系统越不稳定^[22]。由图5可以看出,银鲱蛋白稳定的乳液随着时间的增加表现出更大的TSI,表明其稳定性较差。而由银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的TSI明显低于银鲱蛋白稳定的乳液,表明其具有良好的物理稳定性。这主要是因为复合颗粒锚定在油水界面上,形成较厚的界面层,防止乳液液滴的聚结。

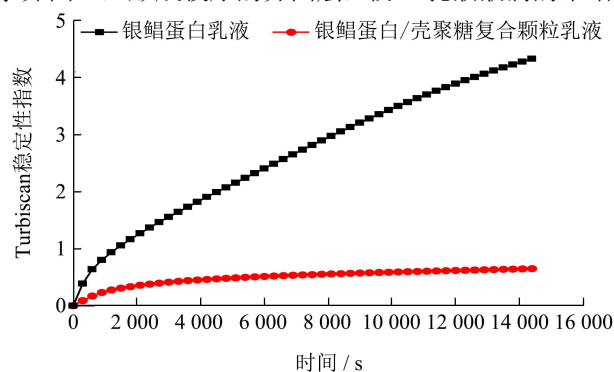


图5 银鲱蛋白和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的Turbiscan稳定性指数(TSI)

Fig.5 Turbiscan stability index (TSI) of emulsions stabilized by *Pampus argenteus* protein and *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles

2.6 乳析稳定性

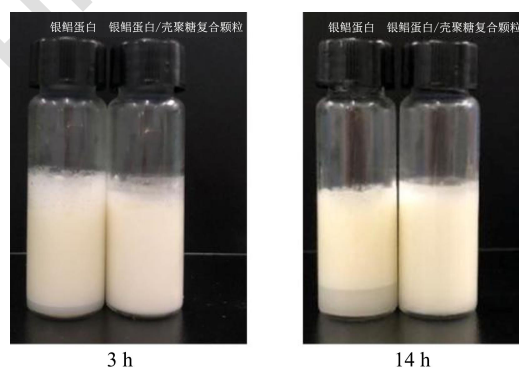


图6 乳液在4 °C条件下储存3 h和14 d后的外观

Fig.6 Appearance of emulsion stored at 4 °C for 3 h and 14 d

注:左:银鲱蛋白稳定的乳液;右:银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定的乳液。

乳液液滴的聚结导致大液滴上浮,表现为乳析,最终会造成乳液两相的分离,对乳液产品的感官品质和理化性质产生不利影响。图6为储存3 h和14 d后,银鲱蛋白乳液和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液的外观,从图中可以看出,银鲱蛋白在3 h后就产生了明显的乳析现象,而银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定的乳液在储存期间保持稳定,外观没有明显变化。

表1为银鲱蛋白和银鲱蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液在储藏期间的乳析指数。由表1可知,银鲱蛋白

稳定的乳液在储存 3 h 后就发生了乳析, 并且随着储存时间的延长, 乳析指数逐渐增加, 最终乳析指数达到了 21.41%, 说明其稳定性较差。而由银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定的乳液在储存期间表现出良好的稳定性, 在储存 14 d 后也没有发生乳析, 表明复合颗粒稳定的乳液具有良好的乳析稳定性。此外, 乳析稳定性的结果与 TSI 的结果一致, 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒

稳定乳液和银鲳蛋白稳定乳液的 TSI 分别为 0.65 和 4.32, 也说明复合颗粒乳液表现出更好的稳定性。乳析稳定性的提高主要是壳聚糖通过静电相互作用与银鲳蛋白形成复合颗粒, 很好地调控了银鲳蛋白的润湿性, 使复合颗粒可以更好地锚定在油水界面上, 抑制液滴聚结进而防止乳析现象的发生^[23]。

表 1 银鲳蛋白和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的乳析指数

Table 1 Creaming index of emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein and *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles

样品	乳析指数/%			
	3 h	24 h	2 d	14 d
银鲳蛋白乳液	5.77±0.12 ^d	13.69±0.13 ^c	19.39±0.25 ^b	21.41±0.14 ^a
银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a

注: 同行中不同小写字母表示差异显著, $p < 0.05$ 。

2.7 游离脂肪酸的释放

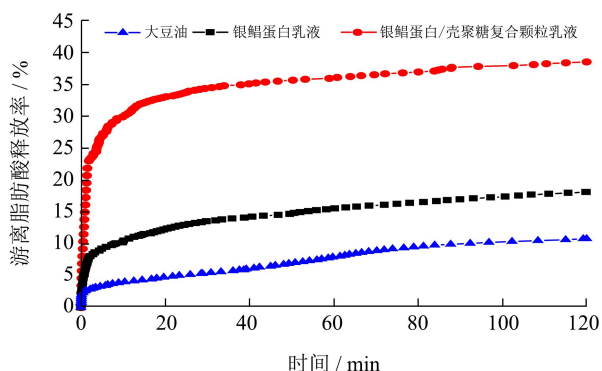


图 7 大豆油、银鲳蛋白和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液的游离脂肪酸释放曲线

Fig.7 Release curves of free fatty acids from soybean oil and emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein and *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles

图 7 为模拟肠消化期间游离脂肪酸的释放曲线。大豆油、银鲳蛋白乳液和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液 FFA 的累积释放率分别为 10.78%、18.11% 和 38.53%, 两种乳液 FFA 的累积释放率均高于大豆油, 这是因为脂肪酶需要吸附在油水界面上对油脂进行水解, 与大豆油相比, 两种乳液具有较小的粒径及更大的界面面积, 导致其具有更高的 FFA 释放率^[24]。此外, 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液的 FFA 释放率也明显高于银鲳蛋白乳液, 这可由以下原因解释: (1) 从图 4 中可以看出复合颗粒稳定的乳液具有更小的粒径, 这就导致其具有更大的界面面积, 有利于脂肪酶的吸附水解; (2) 由银鲳蛋白稳定的乳液经胃相消化时在胃蛋白酶的作用下可能会发生失稳, 导致乳液粒径的增大, 而复合颗粒中壳聚糖的存在会减小胃蛋白酶对乳液的影响, 使乳液保持稳定^[25]。

2.8 虾青素的生物可及性

虾青素的吸收主要发生在小肠消化阶段, 且与递送载体的结构密切相关。图 8 为不同载体中虾青素的生物可及性。由图 8 可知, 大豆油、银鲳蛋白乳液和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液中虾青素的生物可及性分别达到了 9.90%、15.14% 和 36.05%, 复合颗粒稳定乳液中虾青素的生物可及性最高, 是大豆油载体的 3.64 倍。不同体系虾青素生物可及性的差异与游离脂肪酸的释放程度有关^[26]。脂质消化过程中游离脂肪酸的产生可促进胶束的形成, 而虾青素主要通过胶束的增溶作用被机体吸收利用, 从而提高虾青素的生物可及性^[12]。由图 7 可知, 银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液具有最高的游离脂肪酸释放率, 这可有效提高虾青素的生物可及性。这与 Zhang 等^[5]的研究结果保持一致, 壳聚糖与鱼肉蛋白形成的复合颗粒可以显著提高虾青素的生物可及性。结果表明银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定的乳液可以作为疏水性功能因子的良好递送载体。

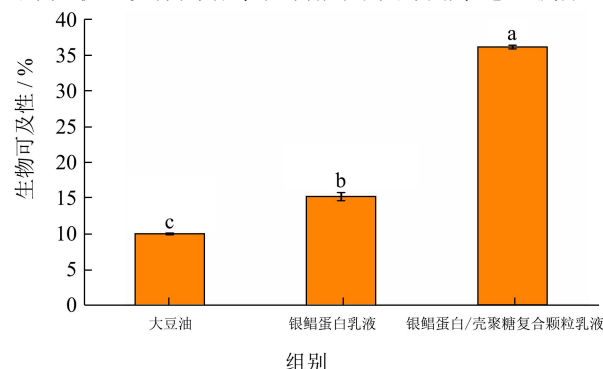


图 8 大豆油、银鲳蛋白和银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒稳定乳液中虾青素的生物可及性

Fig.8 Bioaccessibility of astaxanthin in soybean oil and emulsion stabilized by *Pampus argenteus* protein and *Pampus argenteus* protein/chitosan composite particles

3 结论

鲳鱼作为一种优质蛋白来源具有巨大的开发利用潜力,本研究基于等电点沉淀的方法,从银鲳中提取了银鲳蛋白,进一步通过静电相互作用制备了银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒,并研究了其乳化能力和递送虾青素的能力。结果表明银鲳蛋白与壳聚糖形成复合颗粒后具有更好的乳化能力,使乳液粒径从 43.75 μm 显著降低到 19.25 μm ,且复合颗粒稳定的乳液在储存 14 d 后仍保持稳定。与大豆油相比,银鲳蛋白/壳聚糖复合颗粒乳液体系可提升虾青素生物可及性 3.64 倍,是一种优异的疏水性功能因子递送载体。研究后续可采用纯化蛋白或共价改性等方法进一步提高鱼肉蛋白的乳化性,以拓宽鱼肉蛋白在食品领域的应用范围。本研究为鲳鱼资源的高值化利用及功能因子的高效递送提供了新的思路,未来有希望运用于食品工业中。

参考文献

- [1] 容英霖.探索金鲳鱼即食产品加工技术[J].现代食品,2021,16:99-100,103
- [2] Zhao Q, Gu Q, Hong X, et al. Novel protein-based nanoparticles from perilla oilseed residues as sole Pickering stabilizers for high internal phase emulsions [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 145: 111340
- [3] 汪少芸,冯雅梅,伍久林,等.蛋白质-多糖多尺度复合物结构的形成机制及其应用前景[J].食品科学,2021,42(17):1-9
- [4] Dong Y, Wei Z, Wang Y, et al. Oleogel-based Pickering emulsions stabilized by ovotransferrin-carboxymethyl chitosan nanoparticles for delivery of curcumin [J]. LWT - Food Science and Technology, 2022, 157: 113121
- [5] Zhang L, Zhou C, Na X, et al. High internal phase Pickering emulsions stabilized by a cod protein-chitosan nanocomplex for astaxanthin delivery [J]. Food & Function, 2021, 12(23): 11872-11882
- [6] Wei Z, Zhu J, Cheng Y, et al. Ovotransferrin fibril-stabilized Pickering emulsions improve protection and bioaccessibility of curcumin [J]. Food Research International, 2019, 125: 108602
- [7] 刘慧清.罗非鱼蛋白乳化特性的研究[D].湛江:广东海洋大学,2013
- [8] 石柳.等电荷沉淀法分离提取鱼蛋白的组成和功能特性研究[D].武汉:华中农业大学,2016
- [9] 许朵霞,曹雁平,齐雅萌,等.微晶纤维素对大豆分离蛋白-姜黄素乳状液稳定性的影响[J].中国食品学报,2015,15(4):76-80
- [10] Keowmaneechai E, McClements D J. Influence of EDTA and citrate on physicochemical properties of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions containing CaCl_2 [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(24): 7145-7153
- [11] 吴婉仪,李璐,解新安,等.基于响应面法构建虾青素纳米乳液[J].食品工业科技,2018,39(10):204-210
- [12] Wei Z, Cheng Y, Zhu J, et al. Genipin-crosslinked ovotransferrin particle-stabilized Pickering emulsions as delivery vehicles for hesperidin [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 94: 561-573
- [13] Wei Z, Huang Q. Development of high internal phase Pickering emulsions stabilised by ovotransferrin-gum arabic particles as curcumin delivery vehicles [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2020, 55(5): 1891-1899
- [14] Wei Z, Zhang H, Huang Q. Curcumin-loaded Pickering emulsion stabilized by insoluble complexes involving ovotransferrin-gallic acid conjugates and carboxymethyl dextran [J]. Food & Function, 2019, 10(8): 4911-4923
- [15] 夏天航,魏子淇,马磊,等.负载虾青素的油凝胶纳米乳液的构建及体外消化研究[J].食品与发酵工业,2021,47(9):1-7
- [16] Zhao X, Qi J, Fan C, et al. Ultrasound treatment enhanced the ability of the porcine myofibrillar protein to bind furan compounds: Investigation of underlying mechanisms [J]. Food Chemistry, 2022, 384: 132472
- [17] Li R, He Q, Rong L, et al. High homogenization speeds for preparing unstable myofibrillar protein-olive oil emulsions [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(5): 1113-1121
- [18] Li K, Fu L, Zhao Y Y, et al. Use of high-intensity ultrasound to improve emulsifying properties of chicken myofibrillar protein and enhance the rheological properties and stability of the emulsion [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105275
- [19] 吴滋灵.玉米醇溶蛋白胶体颗粒稳定的高内相 Pickering 乳液制备及其营养输送特性研究[D].广州:华南理工大学,2018
- [20] Sharkawy A, Barreiro M F, Rodrigues A E. New Pickering emulsions stabilized with chitosan/collagen peptides nanoparticles: Synthesis, characterization and tracking of the nanoparticles after skin application [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2021, 616: 126327
- [21] Li X L, Liu W J, Xu B C, et al. Simple method for fabrication of high internal phase emulsions solely using novel pea protein isolate nanoparticles: Stability of ionic strength and temperature [J]. Food Chemistry, 2022, 370: 130899
- [22] Wei Y, Liu Z, Guo A, et al. Zein colloidal particles and cellulose nanocrystals synergistic stabilization of Pickering emulsions for delivery of beta-carotene [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(41): 12278-12294
- [23] Li X M, Xie Q T, Zhu J, et al. Chitosan hydrochloride/carboxymethyl starch complex nanogels as novel Pickering stabilizers: Physical stability and rheological properties [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 215-225
- [24] Miao J, Xu N, Cheng C, et al. Fabrication of polysaccharide-based high internal phase emulsion gels: Enhancement of curcumin stability and bioaccessibility [J]. Food

- Hydrocolloids, 2021, 117: 106679
- [25] Meng R, Wu Z, Xie Q T, et al. Zein/carboxymethyl dextrin nanoparticles stabilized Pickering emulsions as delivery vehicles: Effect of interfacial composition on lipid oxidation and *in vitro* digestion [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 106020
- [26] Huang M, Wang Y, Ahmad M, et al. Fabrication of Pickering high internal phase emulsions stabilized by pecan protein/xanthan gum for enhanced stability and bioaccessibility of quercetin [J]. Food Chemistry, 2021, 357: 129732

现代食品科技