

酸性热致大豆分离蛋白聚集体制备高冻融稳定性类蛋黄酱乳液

黄子璇, 林伟锋

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文对酸性 (pH 3.0) 热致大豆分离蛋白聚集体 (AHSPI) 的平均粒径 (D_h)、表面电位 (ζ)、表面疏水性 (H_0) 与溶解度进行了表征与测定, 并用酸性 (pH 3.0) 天然大豆分离蛋白 (ANSPI)、中性 (pH 7.0) 热致大豆分离蛋白聚集体 (HSPI) 作为对比分析, 同时选用了 AHSPI 代替蛋黄制备高冻融稳定性的类蛋黄酱乳液, 探讨了不同蛋白浓度对类蛋黄酱乳液的外观质地、微观结构、流变性质、DSC 特性的影响。结果表明: AHSPI 的平均粒径 (204.67 nm) 及 H_0 (79418) 均大于 ANSPI 与 HSPI (pH 7.0), 但 ζ 电位绝对值 (35.93 mV) 小于 ANSPI 与 HSPI (pH 7.0), 溶解度 (89.47%) 较 HSPI (pH 7.0) 更好。用 AHSPI 制备的类蛋黄酱乳液经过 3 次冻融循环保持稳定的最低浓度可达 0.3 wt%, 冻融前后乳液结构保持不变, 只是乳液粒径的略微增大, 流变性质表明类蛋黄酱乳液具有以弹性为主的凝胶网络结构, 随着蛋白浓度的增大, 油滴粒径逐渐减小, 粘弹特性增强。DSC 热分析表明: 随着蛋白浓度的增加, 类蛋黄酱乳液的结晶凝固点降低 (-18 \rightarrow -28 $^{\circ}$ C), 而蛋黄酱即使具有低于冷冻温度 (-20 $^{\circ}$ C) 的结晶凝固点 (-27.89 $^{\circ}$ C), 仍发生了冻融破乳现象, 类蛋黄酱乳液较好的界面稳定性赋予了其较好的冻融稳定性, 为开发一类天然低胆固醇高冻融稳定性的酱类乳液提供了研究基础。

关键词: 类蛋黄酱乳液; 酸性热致大豆分离蛋白聚集体; 冻融稳定性

文章编号: 1673-9078(2020)10-218-225

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.1245

Mayonnaise-like Emulsions with High Freeze-thaw Stability Prepared by Acid-heat-induced Soy Protein Isolate Aggregates

HUANG Zi-xuan, LIN Wei-feng

(College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this paper, the hydrodynamic particle size (D_h), zeta-potential (ζ), surface hydrophobicity (H_0), and solubility of the acid-heat-induced soy protein isolate aggregates (AHSPI) were characterized and measured, and the acidic (pH 3.0) native soy protein isolate particles (ANSPI), the pH 7.0 heat-induced soy protein isolate aggregates (HSPI) were used as the comparative analysis. At the same time, AHSPI was selected to prepare mayonnaise-like emulsions with high freeze-thaw stability. The effects of different protein concentrations on the appearance, microstructure, viscoelasticity, and DSC thermal analysis of mayonnaise-like emulsions were discussed. The results indicated that the hydrodynamic particle size of AHSPI (204.67 nm) and H_0 (79418) were larger than ANSPI and HSPI (pH 7.0), but the absolute value of zeta-potential (35.93 mV) was smaller than that of ANSPI and HSPI (pH 7.0), and the solubility (89.47%) was better than HSPI (pH 7.0). The minimum concentration of mayonnaise-like emulsions prepared by AHSPI after 3 freeze-thaw cycles was 0.3 wt%. The structure of the emulsions remained the same after freeze-thaw, only the droplet size of the emulsions slightly increased. The rheological properties indicated

引文格式:

黄子璇, 林伟锋. 酸性热致大豆分离蛋白聚集体制备高冻融稳定性类蛋黄酱乳液[J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 218-225

HUANG Zi-xuan, LIN Wei-feng. Mayonnaise-like emulsions with high freeze-thaw stability prepared by acid-heat-induced soy protein isolate aggregates [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 218-225

收稿日期: 2019-12-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31771917)

作者简介: 黄子璇 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 蛋白质化学与营养

通讯作者: 林伟锋 (1970-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 乳类与植物蛋白加工

that mayonnaise-like emulsions had the elastic gel network structure. With the increase of protein concentration, the droplet size of the emulsions gradually decreased, and the viscoelastic properties were enhanced. The DSC thermal analysis indicated that the freezing point of the mayonnaise-like emulsions decreased (-18→-28 °C) when the protein concentration increased. Even the freezing point (-27.89 °C) of the mayonnaise was below the freezing temperature (-20 °C), the demulsification of the mayonnaise still existed. The mayonnaise-like emulsions had better interfacial stability than mayonnaise, which had good freeze-thaw stability. This finding provides a research basis for the development of the low-cholesterol native sauce emulsions with high freeze-thaw stability.

Key words: mayonnaise-like emulsions; acid-heat-induced soy protein isolate aggregates; freeze-thaw stability

蛋黄酱为大众所广泛喜爱的一类酱类产品, 是一种典型的水包油的乳液, 通常还含有食盐、食醋、芥末、增稠剂等一系列食品添加剂^[1], 含 70%~80% 的脂肪^[2], 蛋黄作为乳化剂在蛋黄酱的稳定中起关键作用, 其中的卵磷脂、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)和卵黄蛋白起到关键乳化作用^[3], 由于蛋黄的胆固醇含量高, 而现在的消费者越来越担心胆固醇和脂肪的过度摄入, 因此其高油高胆固醇特点限制了部分人群的食用。

由于蛋黄酱配料中醋的存在使蛋黄酱乳液体系的 pH 保持为 3.0~4.0 左右^[4], 且为了抑制微生物生长常冷冻保存以延长其货架期, 一般来说市售蛋黄酱需添加各类食品添加剂才能使其具有较长的冷冻保存期。因此, 开发一类无需添加冷冻保护剂可达到高冻融稳定性的天然类蛋黄酱乳液成为需求所在。虽然目前已有许多用其他物质替代蛋黄作为乳化剂制备低胆固醇类蛋黄酱乳液的相关报道, 如应用各类蛋白^[5,6]、或蛋白与多糖复配物^[7], 或复合聚合物^[8]等进行蛋黄的部分替代或全部替代制备类蛋黄酱乳液, 而关于开发一类高冻融稳定性的低胆固醇类蛋黄酱乳液的研究却较少见。Pickering 高内相乳液是一类内相比例(ϕ) ≥ 0.74 的 Pickering 乳液^[9], 其乳液结构赋予的高稳定性使其成为近年来的研究热点, 中性条件下的大豆分离蛋白稳定的 Pickering 高内相乳液已被报道具有良好的冻融稳定性^[10,11], 而关于酸性条件下的大豆分离蛋白稳定高内相乳液的冻融稳定性, 并将其应用于制备类蛋黄酱乳液的研究尚少, 本研究设定 pH 3.0 为蛋黄酱和类蛋黄酱乳液体系所固定保持的 pH 值, 表征 pH 3.0 下酸性热致大豆分离蛋白聚集颗粒(AHSPI)相较于 pH 7.0 下的 HSPI 颗粒与 pH 3.0 下天然大豆分离蛋白颗粒(ANSPI)所具有的优越颗粒特性, 并用 AHSPI 全部代替蛋黄按照蛋黄酱配料比例制得了一种高冻融稳定性类蛋黄酱乳液, 无需添加任何防腐剂与冷冻保护剂, 天然健康制作方便, 为制备开发一类无鸡蛋低胆固醇高冻融稳定性酱类乳液的研究提供参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

低温脱脂豆粕; 福临门一级大豆油、鸡蛋, 购于广州当地超市; 1-苯氨基-8-萘磺酸(ANS), 购于美国 Sigma-Aldrich 贸易有限公司; 牛血清白蛋白(BSA)与福林酚试剂(Folin-酚), 购于北京鼎国昌盛生物技术有限公司; 冰醋酸、柠檬酸、NaOH 等化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

中草药粉碎机 FW177, 天津市泰斯特仪器有限公司; 精密 PH 计 PHS-3C, 上海雷磁仪器厂; 冷冻离心机 KH20R-150B, 湖南凯达科学仪器; T25 高速剪切机, 德国 IKA 公司; 示差扫描量热分析仪(DSC) TA Q200, 美国 TA Instruments 公司; 激光纳米粒度仪 Zetasizer Nano ZS, 英国 Malvern 公司; 荧光分光光谱仪 F-7000, 日本 Hitachi 公司; 光学显微镜 BX51, 日本奥林巴斯公司; 紫外可见分光光度计 TU-1810, 上海析普仪器; 哈克流变仪 MARS 40, 德国哈克公司。

1.3 实验方法

1.3.1 SPI 的制备

SPI 的制备根据 Fan T.的方法^[12]并稍加修改, 低温脱脂豆粕粉碎后按 1:15 (m/V) 添加去离子水, 用 2.0 mol/L NaOH 调节 pH 至 8.0 后低速搅拌 2 h, 8000 r/min 离心 30 min 去除沉淀, 用 2.0 mol/L HCl 调节上清液 pH 至 4.5, 6500 r/min 离心 20 min 收集沉淀, 水洗两次后用去离子水复溶, 调节 pH 至 7.0 直至沉淀完全溶解, 用去离子水透析 48 h (每隔 12 h 换一次水), 冻干备用。

1.3.2 蛋白溶液的制备

称取一定量冻干后的 SPI 样品溶于去离子水, 形成 $c=6.0$ wt% 的蛋白分散液, 加入 2~3 滴叠氮钠

(0.02%, *m/V*) 防止微生物生长, 室温下磁力搅 2 h。用 1 mol/L 的 NaOH 或 HCl 将蛋白溶液的 pH 调至 7.0, 后置于 4 °C 冰箱过夜水化, 使其完全水合。次日, 取部分蛋白溶液稀释至 1.0 wt%, 用冰醋酸将其 pH 调节至 3.0, 制得酸性 (pH 3.0) 天然大豆分离蛋白分散液 (ANSPI, 1.0 wt%)。另取部分蛋白溶液于 95 °C 水浴加热 15 min 后冰浴冷却, 其中, 一部分稀释至 1.0 wt% 并用 1 mol/L NaOH 或冰醋酸调节 pH 至 7.0, 制备得中性 (pH 7.0) 热致大豆分离蛋白分散液 (HSPI, 1.0 wt%), 另一部分用去离子水分别稀释至 4.0 wt%、2.0 wt%、1.0 wt%、0.3 wt% 和 0.2 wt% 各浓度后, 使用冰醋酸分别将其 pH 调节至 pH=3.0, 形成不同浓度的酸性 (pH 3.0) 热致大豆分离蛋白分散液 (AHSPI)。

1.3.3 蛋白颗粒特性的测定

1.3.3.1 粒径及表面电位 ζ 的测定

Malvern Nano ZS 粒度仪可测定样品的粒径与表面电位 ζ , 其中蛋白颗粒的粒径通过动态光散射 (DLS) 原理测定。测定前先用对应 pH 的 10 mmol/L 缓冲液将蛋白浓度稀释至 1.0 mg/mL, 且蒸馏水用 0.22 μm 的水系滤膜过滤一遍。温度设定为 25 °C, 所有样品测定三次, 测量结果取三次读数的平均值。将同样稀释后的蛋白溶液注入到电泳测量皿进行电位的测定, 最终的测定结果为三次注入样品的平均值, 其中每次测量结果取三次读数的平均值。

1.3.3.2 表面疏水性 (H_0) 的测定

蛋白颗粒表面疏水性的测定主要参考 Haskard^[13] 使用荧光探针 ANS 的方法并稍加修改。用对应 pH 的 5 mmol/L 缓冲液分别稀释蛋白浓度至 0.25 wt%, 并分别加 10、20、30、40 和 50 μL 至 4.0 mL 对应 pH 缓冲液中, 并加入 20 μL 现配置的 ANS 溶液 (用同样对应 pH 的缓冲液配置 8.0 mmol/L 并避光保存), 漩涡混匀, 在 30 min 内测定其荧光强度, 空白对照不加 ANS, 设定荧光分光光度计激发波长 370 nm, 发射波长 470 nm, 狭缝宽度 5 nm, 电压 600 V 并测定荧光强度, 以相对荧光强度为纵坐标, 蛋白浓度 (mg/mL) 为横坐标作图, 初始段的直线斜率即为蛋白的表面疏水性 (H_0)。

1.3.3.3 溶解度的测定

用对应 pH 的 5 mmol/L 缓冲液稀释蛋白溶液至 1.0 wt%, 取离心前蛋白溶液用 Lowry 法测定离心前蛋白浓度 C_0 , 于 10000 r/min 离心 15 min (4 °C) 后, 取上清液用 Lowry 法测定离心后上清液蛋白浓度 C_e , 其中溶解度 (Solubility) 可通过以下公式计算:

$$\text{溶解度: Solubility/\%} = (C_e/C_0) \times 100\%$$

1.3.4 蛋黄酱与类蛋黄酱乳剂的制备

蛋黄酱配料比例的设定结合参考 Hollman Motta-Romero^[14] 与 Pradeep Puligundla^[15] 的蛋黄酱配料比例, 并根据大豆分离蛋白乳化体系作适当的修改调整后如下:

表 1 蛋黄酱配料比例

Table 1 The ingredient proportion of the mayonnaise

配料	比例/wt%
Soybean oil	75.0%
Emulsifier	15.0%
Vinegar	7.8%
Sugar	2.0%
Salt	0.2%

1.3.4.1 水溶剂的配置

按照表 1 中水相的比例配置水溶剂, 称取 4.0 g 蔗糖, 0.4g NaCl 溶于 20 mL pH 3.0 的醋酸稀释水溶液, 复调水溶剂 pH 保证其 pH 为 3.0。

1.3.4.2 蛋黄酱的制备

称取 3.0g 湿蛋黄, 加入 2.0 mL 上述所配置的水溶剂, 使用高速分散机 (转速为 2800 r/min) 均质 2 min, 充分混匀, 并加入一定量的冰醋酸使其 pH 保持在 3.0, 15.0 g 的大豆油边均质边慢慢逐滴加入, 当观察到体系变得粘稠时, 加快大豆油的添加速度, 制得的蛋黄酱于 4 °C 冷藏保存。

1.3.4.3 类蛋黄酱乳剂的制备

按照表 1 的比例制备类蛋黄酱乳液, 在血清瓶中分别加入 0.6 mL 不同蛋白浓度分散液、0.4 mL 水溶剂、3.0 g 大豆油, 用高速分散机于 5000 r/min 均质 2 min, 每个浓度梯度三份平行。

1.3.5 乳液的冻融循环处理

制得的类蛋黄酱乳液与蛋黄酱均于 -20 °C 冷冻 24 h, 随后在 25 °C 通风橱内恢复至室温, 立即再置于 -20 °C 冷冻 24 h, 如此冷冻-融化循环操作共重复三次, 每次乳液恢复室温后均进行外观拍摄与光学显微镜观察。

1.3.6 乳液粒径测定

乳液的粒径采用光学显微镜图片统计分析软件 (Nano measurer 1.1.4) 手动测量, 然后估算其平均粒径。乳液的平均粒径以表面积平均粒径 ($d_{3,2}$) 表示: $d_{3,2} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2$, 其中 n_i 为 d_i 的数目。

1.3.7 乳液的 DSC 分析

DSC 热分析的方法参考 Zhu^[16] 的方法, 称取新鲜制备的乳液样品 (5~10 mg) 于铝坩埚中央, 并盖上配套铝盖压盘密封, 设定 TA Q200 示差扫描量热分析仪 (DSC) 的标准模式, 将样品放置 DSC 炉腔外侧电极, 内侧放无样品空密封铝盘, 使样品以 10 °C/min

的速率从 30 °C 降低至 -40 °C，平衡 1 min 后，以同样的速率从 -40 °C 升至 30 °C，N₂ 流速保持为 50 mL/min，所有数据使用 TA Universal Analysis 2000 软件进行分析，所有样品均平行测量两次。

1.3.8 乳液的流变特性

不同蛋白浓度稳定类蛋黄酱乳液与蛋黄酱的流变特性采用哈克 MARS 40 旋转流变仪进行测量，设定频率-模量（贮存模量 (G')、损耗模量 (G'')）扫描模式，扫描频率范围为 0.1~10 Hz，应变 γ 固定为 0.5%；剪切速率-表观粘度扫描模式，剪切速率设定为 0.1~100 s⁻¹，扫描频率固定在 1.0 Hz，通过 RheoWin Date Manage 处理测量结果。

1.3.9 统计分析

所有数据进行 Duncan 单因素方差分析，置信区间为 95%，显著性水平为 $p < 0.05$ 。采用 IBM SPSS Statistics 24 软件分析数据，所有图表中采用相同的字母表示在 $p < 0.05$ 水平下差异不显著，不同的字母表示差异显著。并使用 Origin 2018 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 颗粒粒径 D_h 、表面电位 ζ 、表面疏水性

H_0 及溶解度

图 1 为 pH 3.0 下天然大豆分离蛋白颗粒 (ANSPI)、pH 3.0 下热致大豆分离蛋白聚集颗粒 (AHSPI) 与 pH 7.0 下的热致大豆分离蛋白聚集颗粒 (HSPI) 的平均粒径（水力学直径 D_h ）、表面电位 ζ 及表面疏水性 (H_0) 与溶解度。中性条件下的未聚集的天然 SPI 颗粒水力学直径约为 50~70 nm^[17]，由颗粒粒径可观察到这三种颗粒均以聚集体的形式存在，热处理会使大豆分离蛋白结构展开，疏水基团暴露，发生热聚集，这一点 Liu^[17] 也有报道，且 ANSPI 颗粒粒径达 158.98 nm，也出现了明显的聚集现象，明显大于 Chen^[18] 用 HCl 调节 pH 至 3.0 时形成的 ANSPI 颗粒的粒径 84.6 nm，说明用弱酸（冰醋酸）调节 SPI 的 pH 形成的酸性 SPI 聚集颗粒较强酸（HCl）调节时形成的颗粒更大。同时 AHSPI 颗粒粒径 (204.67 nm) 明显大于 HSPI (pH 7.0) 颗粒 (163.57 nm)，说明酸性环境下使 SPI 热聚集颗粒进一步聚集形成了更大的颗粒聚集体，而更大的颗粒聚集体在乳化时吸附至界面后具有更大的解吸能，即更难从界面上解吸下来，当其作为 Pickering 稳定剂稳定高内相乳液时能提供乳液更好的稳定性^[19]；同时由表面电位也可知，AHSPI 颗粒表面电荷绝对值 (35.93 mV) 小于 HSPI (pH 7.0)

颗粒表面电荷绝对值 (38.4 mV) 与 ANSPI 颗粒的表面电荷绝对值 (36.1 mV)，前者说明酸性 (pH 3.0) 条件下热致颗粒部分带电基团的内敛，更有利于颗粒与颗粒之间静电排斥作用力的降低，利于颗粒吸附至界面后通过颗粒之间相互作用形成界面膜，而稳定的界面膜也是防止冻融后乳滴聚集的关键因素；而后者与中性条件下的类似^[20]，由于热处理后颗粒的聚集使颗粒表面电荷减少。

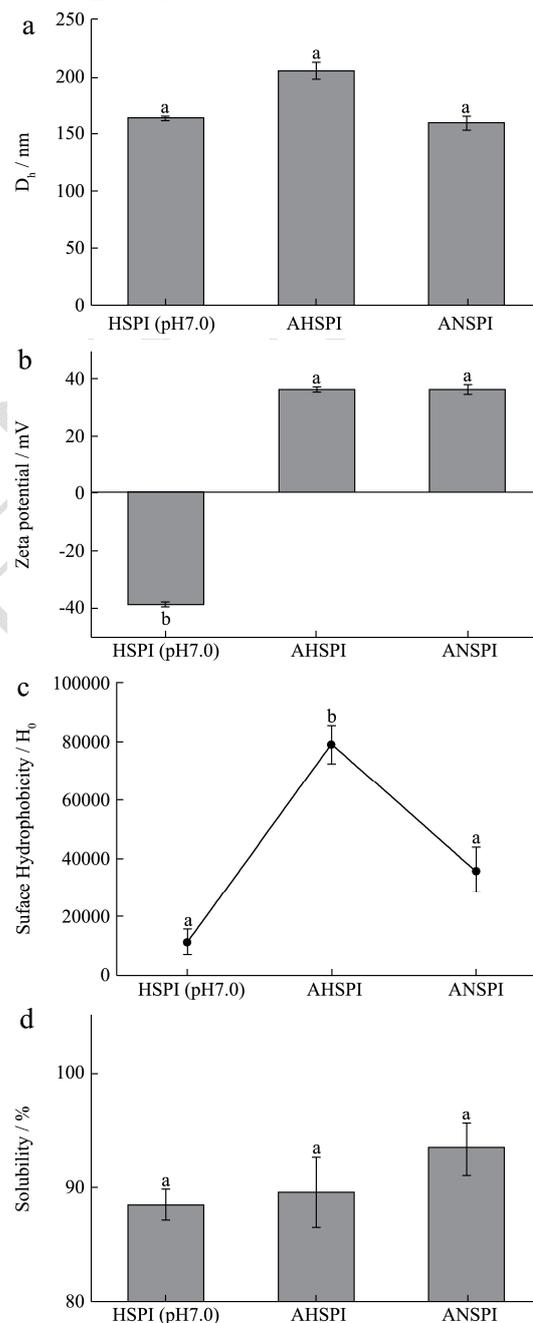


图 1 AHSPI、ANSPI 与 HSPI (pH 7.0) 颗粒的粒径 (a)、表面电位 (b)、表面疏水性 (c) 与溶解度 (d)

Fig.1 Hydrodynamic particle size (a), zeta-potential (b), surface hydrophobicity (c) and solubility (d) of AHSPI, ANSPI and HSPI (pH 7.0)

注：图中相同的字母表示在 $p < 0.05$ 水平下差异不显著，不同的字母表示差异显著。

由图 1c 可知，AHSPI 颗粒表面疏水性 (79418) 显著强于其他两者，而较高的表面疏水性有助于颗粒在油水界面的迅速吸附与重排，同时由于酸性条件下蛋白颗粒表面带大量正电荷，颗粒表面正电荷与荧光探针 ANS 的结合会对结果产生微量干扰，但综合来看 AHSPI 颗粒表面疏水性显著增加；由图 1d 可知虽然 AHSPI 颗粒粒径大于 HSPI (pH 7.0) 颗粒粒径，但其溶解度 (89.47%) 却略优于 HSPI (pH 7.0) 颗粒 (88.31%)，说明颗粒粒径与其溶解度无直接关联，且 Chen^[18] 也测定 pH 3.0 下的 ANSPI 与 pH 7.0 下的 NSPI 同样具有较好的溶解度。

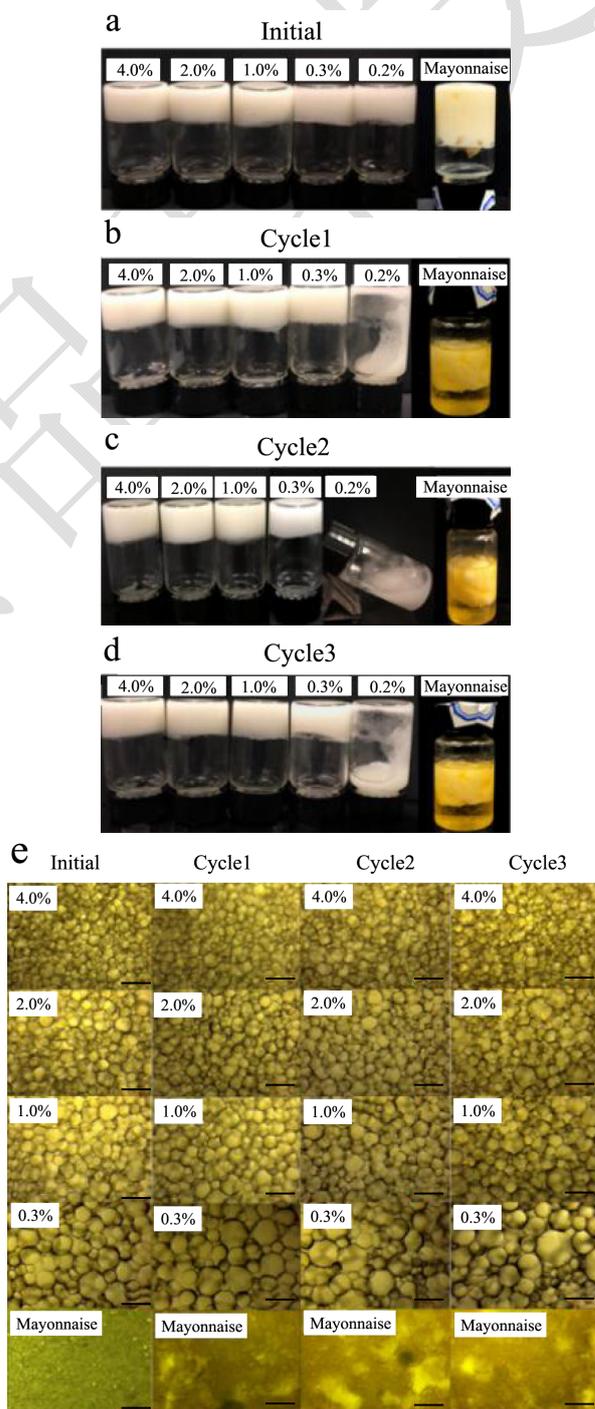
综上可知，AHSPI 颗粒具有比 HSPI (pH 7.0)、ANSPI 颗粒更大的颗粒粒径，更高的表面疏水性，更少的表面电荷，而这些特性均有利于颗粒稳定界面并形成高冻融稳定性乳液，因此选择 AHSPI 替代蛋黄制备类蛋黄酱乳液具有较好的优越性与应用价值。

2.2 类蛋黄酱乳液与蛋黄酱冻融前后的外观、

微观结构观察与乳液粒径变化

由图 2a~d 可知，在未添加任何添加剂与冷冻保护剂的情况下，制备的天然蛋黄酱一次冻融即出现了明显的油脂分层，说明乳液内部出现了大量破乳，关于天然蛋黄酱冻融稳定性较差的现象已有相关研究报道^[21,22]。而用 AHSPI 代替蛋黄制备的类蛋黄酱乳液达到较好冻融稳定性的最低蛋白浓度可达 0.3 wt%；由图 2e，由于大豆分离蛋白本身是一类很好的 Pickering 稳定剂^[17]，且湿蛋黄中的水占比大约为 50%，蛋白质含量大约为 16%^[23]，用 AHSPI 替代蛋黄时其中蛋白的量低于蛋黄中乳化成分含量，可用来稳定界面的 SPI 颗粒少于蛋黄中可稳定界面的乳化成分，因而制得的类蛋黄酱乳液粒径大于蛋黄酱的乳液粒径，也说明 AHSPI 只需要更少的蛋白浓度即可稳定界面。在 0.75 的油相比例下，AHSPI 作为乳化剂制备得的类蛋黄酱乳液具有明显的 Pickering 高内相乳液的特性，乳滴之间排列紧密，形成致密的凝胶网状结构，结合图 2f 也可知，随着蛋白浓度增大 (0.3→4.0 wt%)，乳液粒径减小 (89.5→48.8 μm) 且分布均一，在一定范围内可通过调节蛋白浓度调节类蛋黄酱乳液的乳滴粒径，从而调控其质地。且由图 2f 知，类蛋黄酱乳液冻融后乳液内部结构未发生明显变化，保持相对稳定，只是乳滴平均粒径的略微增大 ($\approx 7 \mu\text{m}$)。而蛋黄酱的乳液结构已被严重破坏，大油滴贯穿在乳液结构中，无法

观测其乳滴粒径，可能是由于油相结晶形成的晶体穿透界面膜进入相邻的另一乳滴，当融化时稳定界面的乳化剂无法维持自身稳定结构继续形成致密界面膜包裹住油滴，导致油滴的聚集，形成了不规则形状的油滴聚集体^[24]，而 AHSPI 颗粒较好的颗粒特性有助于其界面稳定性的提高，在油相融化时仍能很好的吸附至界面，同时由于水相中盐对 AHSPI 颗粒的静电屏蔽作用使其在界面迅速吸附并形成致密稳定的界面膜^[25]，使得形成的这一类类蛋黄酱高内相乳液具有较蛋黄酱更好的冻融稳定性，有助于制备得到一类冻融性更好的无鸡蛋低固醇酱类乳液。



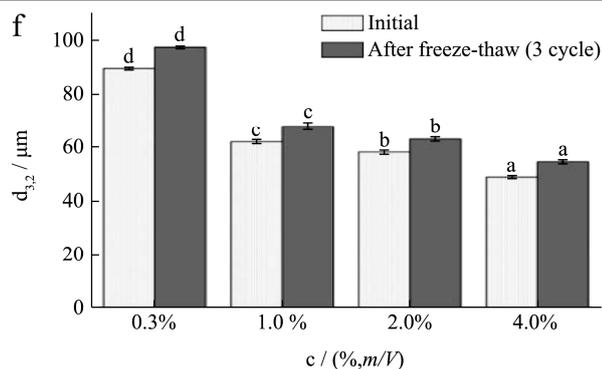


图2 不同浓度 (% m/V) AHSPI 稳定的类蛋黄酱乳液与蛋黄酱冻融前后: a~d: 外观图; e: 微观结构图 (图中标尺为 100 μm); f: 乳滴表面积平均粒径 ($d_{3,2}$) 图

Fig.2 a~d: Visual appearance; e: Microstructure (scale in the figure is 100 μm); f: Average Droplet size ($d_{3,2}$) of the initial mayonnaise-like emulsion prepared with different protein concentrations (% m/V) of AHSPI and mayonnaise and after three freeze-thaw cycles

注: 图中不同的字母表示在 $p < 0.05$ 水平下冻融前后不同浓度样品之间差异显著。

2.3 类蛋黄酱乳液与蛋黄酱的流变特性与外观质地

由图 3a、b 可知: 类蛋黄酱乳液与蛋黄酱的储能模量 (G') 均大于损耗模量 (G''), $\tan\delta < 0.3$, 损耗角正切值 ($\tan\delta$) 为损耗模量和储能模量之间的比值, 用来指示乳液样品是以弹性或粘性占主导^[25], 说明乳液均为以弹性为主的凝胶网络结构, 且随着频率增大储能模量 (G') 基本保持不变, 在测定范围内 (0.1~10 Hz) 的频率依赖性较弱, 随着蛋白浓度增加, 类蛋黄酱乳液 G' 与 G'' 均增加, 这一点也与小麦蛋白形成的^[26] 类蛋黄酱高内相乳液的粘弹特性相似, 可能是由于蛋白浓度增加, 稳定油滴界面的蛋白颗粒增多, 同时 AHSPI 颗粒较少表面电荷赋予其较低静电排斥作用, 使颗粒之间的氢键及疏水相互作用力等非共价相互作用力增强, 乳液的粘弹性增强、流动性减弱。由图 3b 可知, 0.3 wt% 蛋白浓度稳定的类蛋黄酱乳液与蛋黄酱的 $\tan\delta$ 随着频率的增大而有明显增大趋势, 说明此时的乳液具有以弹性为主的弱凝胶性能, 这可能是由于 0.3 wt% 为 AHSPI 稳定类蛋黄酱乳液达到较好冻融稳定性的最低临界浓度, 当蛋白颗粒不足以覆盖油滴界面且蛋白颗粒较大时, 相邻油滴通过共用界面蛋白颗粒进行稳定, 形成了 Pickering 高内相乳液典型的桥联絮凝现象^[27], 而桥联絮凝赋予乳液明显的剪切稀化现象, 当频率增大时损耗模量明显增大, 具有转为粘

性为主的凝胶性能趋势, 而蛋黄酱即使有较多的乳化剂稳定界面, 其结构也难以抵抗外力变化导致的粘弹特性的变化, 相比之下类蛋黄酱乳液的凝胶网状结构的稳定性优势进一步凸显, 油滴被包裹在凝胶网络结构中, 进一步助于提高乳液的冻融稳定性。

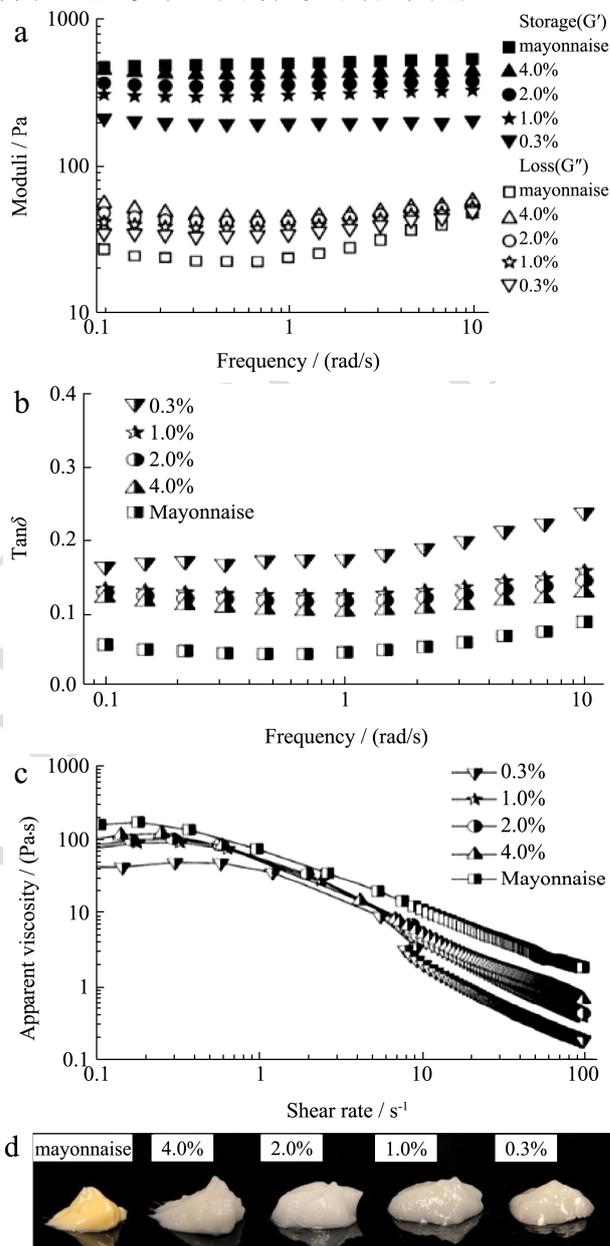


图3 新鲜制备的不同浓度 (% m/V) AHSPI 稳定的类蛋黄酱乳液与蛋黄酱的: a~c: 粘弹特性图 (其中 a 为储能模量 (G') 和损耗模量 (G'') 随频率变化图, b 为损耗正切值 $\tan\delta$ 随频率变化图, c 为表观粘度随剪切速率变化图); d: 外观质地图

Fig.3 a~c: Profiles of the viscoelasticity, elastic modulus (G') and viscous modulus (G'') against frequency (a), $\tan\delta$ against frequency (b), apparent viscosity against shear rate(c); d: Visual appearance of the initial mayonnaise-like emulsions prepared with different protein concentrations (% m/V) of AHSPI and mayonnaise

由图 3c 可知,随着剪切速率的增大乳液表观粘度均减小,即都呈现出剪切稀化现象,表明是由乳液的絮凝作用引起^[10],随着蛋白浓度增大乳液表观粘度增高,这是因为有数量更多的蛋白颗粒来稳定界面,形成的乳滴粒径更小和絮凝程度更大,比低浓度蛋白颗粒稳定的乳液有更好的粘度特性^[17],因此由于蛋黄酱的蛋黄中乳化成分含量较多,赋予其很好的粘度特性,且 4.0 wt%蛋白浓度稳定的类蛋黄酱乳液的表观粘度和储能模量可以做到与蛋黄酱十分接近。同时结合图 3d 乳液外观质地图也可知蛋黄酱具有很好的自支撑能力,随着蛋白浓度的增加,类蛋黄酱乳液的质地与蛋黄酱相似程度增大,同样为具有自支撑能力的凝胶状乳液。可知 AHSPI 较大的颗粒粒径、较少的表面电荷有助于形成具有凝胶网状结构的类蛋黄酱乳液。

2.4 类蛋黄酱乳液与蛋黄酱的 DSC 分析

在乳液冷冻的过程中,油水两相的结晶行为均会对体系的冻融稳定性产生很大影响,提高水相中盐、糖的量可以降低水相结晶冰点和形成冰晶数量,从而适当提高乳液冻融稳定性^[24],由图 4 可知,所有乳液在降温冷冻过程中的放热峰在-18~-28 °C 范围内,升温融化过程中的吸热峰在-4.58~4.41 °C 范围内,乳液的凝固点均明显低于 Zhu^[20]用 HSPI (pH 7.0) 颗粒稳定的低内相 Pickering 乳液的结晶凝固点,可能是因为在该乳液体系中加入的糖与盐的确在一定程度上降低了乳液的结晶凝固点。除此之外,冷冻时乳液的结晶凝固点与油相的种类与比例、水相的组分和浓度、乳化剂的类型与浓度、乳液结构均有关^[20]。由图 4 可知,不同浓度的类蛋黄酱乳液随着蛋白浓度的增大,凝固点逐渐降低,与 Zhu^[20]分析得出的蛋白浓度对低内相 Pickering 乳液结晶凝固点的影响较小不同,可能是因为不同蛋白浓度下形成的高内相乳液凝胶结构的强弱不同而影响整个乳液体系的结晶与融化行为。

蛋黄酱的结晶凝固点(-27.89 °C)低于冷冻温度(-20 °C),说明体系内部结晶速率相对较慢,程度较低,但蛋黄酱仍发生了严重破乳导致油脂分层。而 0.3 wt%浓度下的类蛋黄酱乳液的凝固点(-18.92 °C)高于冷冻温度(-20 °C),但仍具有很好的冻融稳定性,这说明蛋黄酱在冻融后因不稳定发生油脂分层的原因与其凝固点无关,关键是乳化剂在界面的稳定作用,可能是由于冷冻融化时蛋黄中的乳化成分在界面的稳定作用降低,冻融后在界面脱落导致乳滴的聚集从而导致破乳^[24],而 AHSPI 较好的颗粒特性进一步展现了其优势,其较大的颗粒粒径使其较难从界面解吸,

较高的表面疏水性与较少的表面电荷使其在界面迅速吸附并通过蛋白的相互作用形成致密稳固的界面膜,不失为一种代替蛋黄制备高冻融稳定性类蛋黄酱乳液的较好选择。实现了低胆固醇饮食、素食主义人群的需求,无需添加防腐剂与冷冻保护剂提高了其货架期,为实现天然低胆固醇高冻融稳定性酱类乳液的开发提供基础。

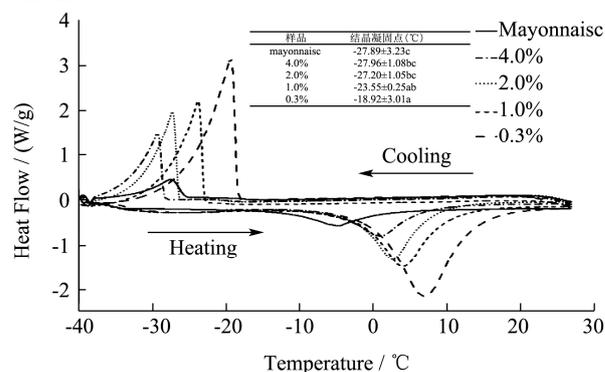


图4 新鲜制备的不同浓度(%*m/V*) AHSPI 稳定的类蛋黄酱乳液与蛋黄酱的 DSC 热分析图

Fig.4 The DSC thermal analysis of the initial mayonnaise-like emulsions prepared with different protein concentrations (%*m/V*) of AHSPI and mayonnaise

注:表中不同的字母表示在 $p < 0.05$ 水平下不同浓度样品之间差异显著。

3 结论

本文着重分析了酸性(pH 3.0)热致大豆分离蛋白聚集体(AHSPI)所具有的优越颗粒特性以及用其替代蛋黄制备高冻融稳定性类蛋黄酱乳液的各项性质,AHSPI 颗粒具有较 ANSPI、HSPI (pH 7.0) 颗粒更大的颗粒粒径(204.67 nm)、更高的表面疏水性(79418)、更小的表面电荷绝对值(35.93 mV),为其稳定高冻融稳定性乳液提供基础。研究表明制备的类蛋黄酱乳液具有比蛋黄酱更好的冻融稳定性,冻融循环 3 次保持稳定的最低蛋白浓度可达 0.3 wt%,冻融前后只是乳液乳滴粒径的略微增大($\approx 7.0 \mu\text{m}$),而蛋黄酱发生了严重的油脂分层。同时流变特性表明类蛋黄酱乳液具有以弹性为主导的凝胶网状结构($G' > G''$, $\tan \delta < 0.3$),随着蛋白浓度的增大(0.3 wt% \rightarrow 4.0 wt%),类蛋黄酱乳液的粘弹性增强,与蛋黄酱质地更加相似。DSC 热分析表明在蛋黄酱(-27.89 °C)的结晶凝固点低于冷冻温度(-20 °C)的情况下其冻融后仍发生了严重的油脂分离,而类蛋黄酱乳液以 AHSPI 颗粒在界面形成的稳定界面膜使其保持冻融下的相对稳定,达到了无需添加任何冷冻保护剂延长了酱类乳液的冷冻保存期的作用,为制备这

一类冻融稳定性好的无鸡蛋低固醇酱类乳液提供了研究思路。

参考文献

- [1] Rahbari M, Aalami M, Kashaninejad M, et al. A mixture design approach to optimizing low cholesterol mayonnaise formulation prepared with wheat germ protein isolate [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(6): 3383-3393
- [2] Chivero P, Gohtani S, Yoshii H, et al. Assessment of soy soluble polysaccharide, gum arabic and OSA-starch as emulsifiers for mayonnaise-like emulsions [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2016, 69: 59-66
- [3] Primacella M, WANG Tong, Acevedo N. Characterization of mayonnaise properties prepared using frozen-thawed egg yolk treated with hydrolyzed egg yolk proteins as anti-gelator [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96: 529-536
- [4] Gaonkar G, Koka R, Chen K, et al. Emulsifying functionality of enzyme-modified milk proteins in O/W and mayonnaise-like emulsions [J]. *African Journal of Food Science*, 2010, 4(1): 16-25
- [5] Alu'datt M H, Rababah T, Alhamad M N, et al. Preparation of mayonnaise from extracted plant protein isolates of chickpea, broad bean and lupin flour: chemical, physicochemical, nutritional and therapeutic properties [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 54(6): 1395-1405
- [6] Rahmati K, Tehrani M M, Daneshvar K. Soy milk as an emulsifier in mayonnaise: physico-chemical, stability and sensory evaluation [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2014, 51(11): 3341-3347
- [7] Ghoush M A, Samhoury M, Al-Holy M, et al. Formulation and fuzzy modeling of emulsion stability and viscosity of a gum-protein emulsifier in a model mayonnaise system [J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 84(2): 348-357
- [8] Triawati N W, Radiati L E, Thohari I, et al. Microbiological and physicochemical properties of mayonnaise using biopolymer of whey protein-gelatin-chitosan during storage [J]. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 2016, 5(7): 191-199
- [9] Silverstein M S. PolyHIPEs: recent advances in emulsion-templated porous polymers [J]. *Progress in Polymer Science*, 2014, 39(1): 199-234
- [10] ZHU Xue-feng, ZHANG Ning, LIN Wei-feng, et al. Freeze-thaw stability of Pickering emulsions stabilized by soy and whey protein particles [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 69: 173-184
- [11] 陈业宝.大豆分离蛋白颗粒稳定高内相乳液的冻融稳定性[D].广州:华南理工大学,2018
- CHEN Ye-bao. Freeze-thaw stability of high internal phase emulsions stabilized by soy protein isolate particles [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018
- [12] Fan T Y, Sosulski F W. Dispersibility and isolation of proteins from legume flours [J]. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 1974, 7(4): 256-259
- [13] Haskard C A, Li-Chan, Eunice C Y. Hydrophobicity of bovine serum albumin and ovalbumin determined using uncharged (prodan) and anionic (ANS) fluorescent probes [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(7): 2671-2677
- [14] Motta-Romero H, ZHANG Zhong, Tien Nguyen A, et al. Isolation of egg yolk granules as low-cholesterol emulsifying agent in mayonnaise [J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(7): 1588-1593
- [15] Puligundla P, Cho Y H, Lee Y T. Physicochemical and sensory properties of reduced-fat mayonnaise formulations prepared with rice starch and starch-gum mixtures [J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2015, 27: 463-468
- [16] ZHU Xue-feng, ZHENG Jie, LIU Fu, et al. The influence of ionic strength on the characteristics of heat-induced soy protein aggregate nanoparticles and the freeze-thaw stability of the resultant Pickering emulsions [J]. *Food & Function*, 2017, 8(8): 2974-2981
- [17] LIU Fu, TANG Chuan-he. Soy protein nanoparticle aggregates as Pickering stabilizers for oil-in-water emulsions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(37): 8888-8898
- [18] CHEN Shuo, ZHANG Ning, TANG Chuan-he. Influence of nanocomplexation with curcumin on emulsifying properties and emulsion oxidative stability of soy protein isolate at pH 3.0 and 7.0 [J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61: 102-112
- [19] 刘付.大豆蛋白皮克林稳定剂的构建表征及应用[D].广州:华南理工大学,2015
- LIU Fu. Construction, characterization and application of soy protein-based Pickering stabilizer[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015

(下转第 92 页)