

咖啡酸-葡聚糖-肌原纤维蛋白酶解物 乳液稳定性的研究

李依伦^{1,2}, 谭磊³, 陈彤³, 刘国华³, 刘学铭¹, 唐道邦¹, 程镜蓉^{1*}, 朱明军^{2*}

(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)(2. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆喀什 844000)(3. 深圳市质量安全检验检测研究院, 广东省市场监督管理局食用农产品监管重点实验室, 广东深圳 518000)

摘要: 为了探究咖啡酸 (Caffeic Acid, CA)、葡聚糖 (Dextran, DEX) 复合修饰联合胰蛋白酶不完全酶解对于肌原纤维蛋白 (Myofibrillar Protein, MP) 乳化特性的提升效果, 以 CA-DEX-MP 复合酶解物为乳液稳定剂制备乳液, 优化稳定剂的添加剂量, 并以原始 MP 和 MP 酶解物稳定的乳液为对照, 评估乳液在不同环境刺激下的稳定性。结果表明, CA-DEX-MP 酶解物添加量为 3 wt.% 时乳液具有较低的颗粒粒径 (390.26 nm)、电位 (-23.6 mV) 和较高的界面蛋白吸附量 (11.22 mg/mL), 且均匀分布; 流变性研究表明, 该乳液体系显示出显著低于原始 MP 乳液的表观粘度, 可有效避免乳液的相分离现象。3 wt.% CA-DEX-MP 复合酶解物乳液在不同温度、酸碱、盐离子强度和 28 d 贮藏期下均表现出较优的稳定性, 可实现乳液的稳定。最终结果表明, 乳液稳定剂为 3 wt.% CA-DEX-MP 复合酶解物时, 乳液拥有最高的稳定性。该研究可为肌原纤维蛋白在新型食品乳液稳定剂开发中的应用提供理论支撑和方法学指引。

关键词: 肌原纤维蛋白; 复合修饰; 酶解修饰; 乳液; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2024)08-81-88

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.0507

Stability of Emulsions Stabilized by Caffeic Acid-glucan-myofibrillar Protein Hydrolysate Complexes

LI Yilun^{1,2}, TAN Lei³, CHEN Tong³, LIU Guohua³, LIU Xueming¹, TANG Daobang¹, CHENG Jingrong^{1*},
ZHU Mingjun^{2*}

(1. Sericultural & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Product Processing, Guangzhou 510610, China)(2. The College of life and Geographical Sciences, Kashi University, Kashi 844000, China)(3. Shenzhen Institute of Quality & Safety Inspection and Research, Key Laboratory of Supervision for Edible Agricultural Products, Administration for Market Regulation of Guangdong Province, Shenzhen 518000, China)

引文格式:

李依伦, 谭磊, 陈彤, 等. 咖啡酸-葡聚糖-肌原纤维蛋白酶解物乳液稳定性的研究[J]. 现代食品科技, 2024, 40(8): 81-88.

LI Yilun, TAN Lei, CHEN Tong, et al. Stability of emulsions stabilized by caffeic acid-glucan-myofibrillar protein hydrolysate complexes [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 81-88.

收稿日期: 2023-05-02

基金项目: 广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队建设项目 (2023KJ117; 2023KJ103); 广东省农业科研项目和农业技术推广项目 (2021KJ103)

作者简介: 李依伦 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工, E-mail: 2499935296@qq.com; 共同第一作者: 谭磊 (1983-), 男, 硕士, 高级兽医师, 研究方向: 农产品及农业投入品监测, E-mail: 157197202@qq.com

通讯作者: 程镜蓉 (1988-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: chengjingrong@gdaas.cn; 共同通讯作者: 朱明军 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 发酵工程, E-mail: mjzhu@scut.edu.cn

Abstract: In order to explore the enhancement effects of composite modification by caffeic acid (CA) and dextran (DEX), a type of glucan, combined with incomplete enzymatic digestion by trypsin on the emulsification properties of myofibrillar proteins (MP), a CA-DEX-MP composite hydrolysate was used as an emulsion stabilizer to prepare emulsions and determine the optimal stabilizer addition amount. The stability of CA-DEX-MP-stabilized emulsions under different environmental stimuli was evaluated by using the raw MP-stabilized and MP hydrolysate-stabilized emulsions as controls. The results showed that when the addition rate of a CA-DEX-MP hydrolysate was 3 wt.%, the particle size and potential of the emulsion were smaller (390.26 nm and -23.6 mV, respectively), and the interfacial protein adsorption capacity was higher (11.22 mg/mL), with an even protein distribution. The rheological study demonstrated that the apparent viscosity of the CA-DEX-MP hydrolysate-stabilized emulsion was significantly lower than that of the raw MP-stabilized emulsion. Hence, phase separation can be effectively avoided. The 3 wt.% CA-DEX-MP-stabilized emulsion showed better stability under different temperatures, pH values, and salt ionic strengths after 28 days of storage. These results indicate successful stabilization of the emulsion. The final results demonstrate that when 3 wt.% CA-DEX-MP hydrolysate is used as the stabilizer, the emulsion exhibits the highest stability. The above findings can provide theoretical support and methodological guidance for the application of myofibrillar proteins in the development of novel food emulsion stabilizers.

Key words: myofibrillar protein; composite modification; enzymatic modification; emulsion; stability

近年来,随着消费的健康意识不断提高,人们对健康食品的需求有所增加。食物蛋白不仅是人类必需的营养来源,也是传统加工食品的常见成分,还是新功能食品的基本单位。食品蛋白由于其高营养价值和出色的生物学技术功能,包括乳化、发泡、胶凝、低毒性和生物相容性,广泛用于营养物质输送系统的构建^[1]。乳液体系是包裹、保护及靶向输送营养物质的优良载体,广泛用于生物活性成分的包封、保护、递送和释放。蛋白质具有良好的两亲性和疏水性,可作为乳化剂用于乳液稳定性的维系;与此同时,其亦可通过非共价相互作用与活性因子结合,实现活性物质的包埋、保护和输送。然而天然蛋白分子的构象、聚集特性等在加工过程中容易发生变化,导致乳液的相分离现象。因此,实际使用过程中人们常常对蛋白质进行改性修饰,以提高其功能特性和稳定性。

肌原纤维蛋白(Myofibrillar Protein, MP)是肌肉中含量最高的蛋白质,具有优质氨基酸组成、高消化率和低致敏性等营养特性。基于其天然两亲性结构,被认为是一种理想的封装材料或乳液系统的输送材料。然而天然肌原纤维蛋白是一种盐溶性蛋白,在低于0.3 mol/L的盐溶液中溶解度较差^[2],且同其他蛋白质一样,肌原纤维蛋白的加工性能并不佳,容易发生氧化聚集,造成乳液的相分离^[3]。

在前期研究中我们发现,借助咖啡酸(Caffeic Acid, CA)的修饰可以有效提高蛋白的溶解性、稳

定性及抗氧化性^[4];利用葡聚糖(Dextran, DEX)进行糖基化可进一步提高蛋白质的空间位阻,提高蛋白乳液的稳定性^[5];联合胰蛋白酶的限制性水解可进一步改善MP的水溶性,丰富其功能性^[6]。理论上讲,复合修饰后得到的CA-DEX-MP三元复合酶解物具有良好的溶解性、稳定性及乳化性。鉴于此,本研究以中链甘油三酯(Medium-Chain triglycerides, MCT)为油相,利用高压均质制备乳液,通过比较不同环境刺激下乳液的粒径、电位、界面蛋白吸附量等指标评价体系的稳定性,并确定较适的乳液稳定剂添加量。该研究有助于更好地展示复合改性乳液封装和递送的潜力,并为MP基乳液稳定剂的商业化生产提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 实验材料与试剂

新鲜猪里脊肉,购自广州西亚兴安超市;中链甘油三酯,上海源叶生物科技有限公司;咖啡酸(CA,纯度=99%),购自上海麦克林试剂有限公司;葡聚糖(DEX,~70 ku),购自上海罗恩化学技术有限公司;胰蛋白酶(1 500 U/mg),购自美国Sigma试剂公司;抗坏血酸,购自天津大茂化学试剂公司;过氧化氢,购自天津大茂化学试剂公司;本研究使用的其他化学品和试剂购自中国广州齐云公司和

Sigma 试剂公司。

1.1.2 实验仪器与设备

T25D 均质机, 德国 IKA 集团; 马尔文激光粒度仪 Zetasizer Nano ZS, 英国马尔文仪器有限公司; 紫外-可见分光光度计 UV-1800, 日本岛津公司; 真空冷冻干燥机 SCIENTZ-18N, 宁波新芝生物科技股份有限公司; 冷冻高速离心机 TGL-16M, 湖南湘仪仪器有限公司; 高压均质机 AH-BASICII, 加拿大 ATS 工业系统有限公司; 共聚焦激光扫描倒置显微镜 Zeiss LSM710, 德国蔡司公司。

1.2 实验方法

1.2.1 猪肉肌原纤维蛋白的提取

参考 Feng 等^[7]的方法, 并略作修改。MP 从新鲜猪肉里脊肉中提取, 并在 4 °C 下储存。

1.2.2 复合改性 MP 样品制备

参照 Shen 等^[5]的方法制备 CA-DEX-MP 三元复合物。将 0.25 g 抗坏血酸和 1 mL 5 mol/L 过氧化氢加入到 100 mL MP 溶液中。充分搅拌后, 分别向上述溶液中加入咖啡酸至终浓度为 0.35 mmol/L。随后, 将混合物在 4 °C 下孵育 24 h, 在 100 r/min 下不断搅拌, 并通过 24 h 透析去除未结合的咖啡酸, 得到 CA-MP 复合物。将 CA-MP 复合物溶解在磷酸盐缓冲溶液 (20 mmol/L, pH 值 7.0) 稀释至 10 mg/mL, 将其与 DEX 以 1:1 (*m/m*) 的比例混合在一起, 调节 pH 值至 7.0, 在 -80 °C 冰箱预冻 24 h 后真空冷冻干燥 72 h。随后, 将冻干粉末在密封容器中在 60 °C 下在饱和 KBr 溶液 (相对湿度 79%) 上孵育 24 h, 得到 CA-DEX-MP 三元复合物。

将 CA-DEX-MP 三元复合物溶解在 PBS (pH 值 7.4) 中, 最终质量浓度为 10 mg/mL。然后, 取 100 mL CA-DEX-MP 三元复合物溶液, 加入 100 U 的胰蛋白酶, 在 37 °C 下用磁力连续搅拌 0.5 h。随后, 立即将混合物加热至 100 °C 并保持 10 min 以使酶失活。其后, 将反应管进行冷水浴至 25 °C。将水解产物在 4 °C 下以 10 000 r/min 离心 30 min, 保留上清液并真空冷冻干燥, 即为 CA-DEX-MP 三元复合酶解物。

1.2.3 乳液的制备

将得到的 CA-DEX-MP 三元复合酶解物粉末分别以 1~5 wt.% 的添加量与超纯水进行配比混合, 在室温下搅拌 4 h, 将混合好的溶液存放在 4 °C 的冰箱过夜水合。然后使用高速均质机以 10 000 r/min

将水合后的溶液与 MCT 按照 9:1 的比例进行混合, 均质 2 min 后得到乳状液。最后再将乳状液在高压均质机下以 50 MPa 均质三遍, 得到稳定的水包油乳液。

1.2.4 粒度和电位的测量

使用纳米粒度仪对乳液的粒径和电位进行测定, 在测定之前将乳液使用超纯水稀释 100 倍以防止多重散射效应。水的折射率设定为 1.330, MCT 的折射率为 1.440^[8]。

1.2.5 界面蛋白吸附量的测量

测定乳液中蛋白含量, 然后使用离心机使乳液在 12 000 r/min 下离心 30 min, 用注射器收集水相后再次离心, 该过程重复 3 次以去除乳析层, 收集最后一次得到的水相, 测定水相中蛋白含量。界面的蛋白吸附量采用以下公式进行计算:

$$\theta = C_0 - C_1 \quad (1)$$

式中:

θ ——界面蛋白吸附量;

C_0 ——乳液中总蛋白的质量浓度, mg/mL;

C_1 ——未吸附到界面上蛋白的质量浓度, mg/mL。

1.2.6 乳液微观结构观察

使用激光共聚焦显微镜 (CLSM) 观察乳状液中油滴的分布。油和蛋白质液滴用耐尔蓝和尼罗红 (每种 0.1%, *m/V*) 组成的荧光染料混合物染色。将染色的乳液放在空的共聚焦显微镜载玻片上, 并用涂有甘油的盖玻片覆盖。使用激发波长为 488 nm 的氩激光器和激发波长为 633 nm 的氦氖 (HeNe) 激光器进行稳态曝光。最后, CLSM 图像在 20 倍放大倍数下拍摄。

1.2.7 流变学特性

将 1.4 mL 乳液滴加在流变仪置物台上, 25 °C 下平衡 5 min, 使用直径 40 mm 平板以 1 000 μm 的距离对乳液粘度进行测量。剪切速率从 0.1 变化到 100 s^{-1} , 以确定乳液粘度与剪切速率的关系。

1.2.8 乳液在不同环境条件下的稳定性

1.2.8.1 温度

将乳液分别在 30、50、70、90 °C 的水中放置 30 min, 再静置冷却到室温 (25 °C)。测定上述不同条件下乳液的粒径与 Zeta 电位。

1.2.8.2 盐离子浓度

将 NaCl 加入至乳液中, 最终配置成浓度为 0、50、100、150、300 mmol/L 的乳液样品。分析前将

样品存放至 4 °C 的冰箱冷处理 12 h, 再测量乳液的粒径与 Zeta 电位。

1.2.8.3 pH值

乳液的 pH 值利用 0.1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 溶液进行调节, 将其分别调节至 3、4、5、6、7 和 8, 然后将其放置在 4 °C 冰箱内冷处理 12 h, 冷处理后使用与乳液 pH 值相对应的超纯水将乳液稀释 100 倍后, 对稀释后乳液的粒径与 Zeta 电位进行测定。

1.2.8.4 贮藏期乳液的物理稳定性

将乳液放置在封口瓶中进行封闭保存, 在 4 °C 条件下, 避光储存 28 d, 每隔 7 d 测定一次乳液的粒径与 Zeta 电位。

1.2.9 数据分析

在实验过程中, 每组实验需要重复测量 3 次, 结果以平均值 ± 标准偏差表示。实验数据处理和绘图软件为 Excel 2010 (Microsoft) 和 Origin 9.0 (Originlab), 使用 SPSS 22 (IBM) 软件分析显著性差异 ($P < 0.05$) 和 Pearson 相关性。

2 结果与讨论

2.1 乳化剂浓度对乳液平均粒径的影响

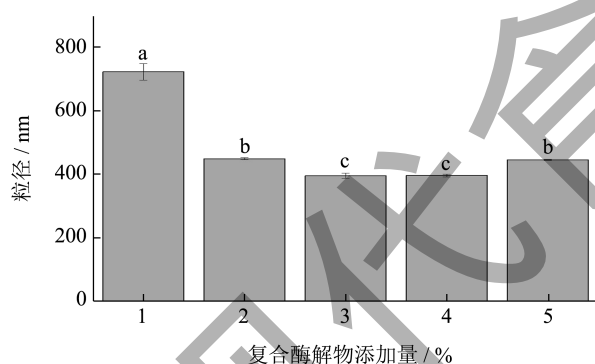


图 1 CA-DEX-MP 三元复合酶解物的添加剂量对乳液的粒径影响

Fig.1 Effect of dosage of CA-DEX-MP ternary conjugate hydrolysate on particle size of emulsion

注: 不同的小写字母表示同列比较具有显著性差异 ($P < 0.05$)。图 3、5、7、8 同。

粒径是评价乳液稳定性的重要指标之一。通常认为, 乳液的液滴粒径较小时, 乳析速度缓慢, 乳液较为稳定^[9]。由图 1 可以看出, 当乳化稳定剂 (复合酶解物) 的添加量从 1 wt.% 升高至 3 wt.% 时, 乳液的粒径从 722.57 nm 缩小为 395 nm。这是因为当复合酶解物添加量较少时, 油滴无法被乳液稳定剂全部包裹住, 液滴间容易发生聚集^[10]。因此, 适

量增加复合酶解物的量, 可以提高油滴被包裹的效率, 降低乳液的粒径。当乳液稳定剂浓度继续增加至 5 wt.% 时, 乳液的粒径又开始增大。这主要是因为包裹油滴的乳化剂过多, 减少了液滴之间的静电相互作用^[11,12], 该现象可以从乳液的微观结构中得以证实 (图 2)。当乳化剂为 3 wt.% 时, 液滴粒径最小, 分布最为均匀, 而乳化剂为 5 wt.% 时, 出现大油滴, 并且较多蛋白未能包裹油滴。

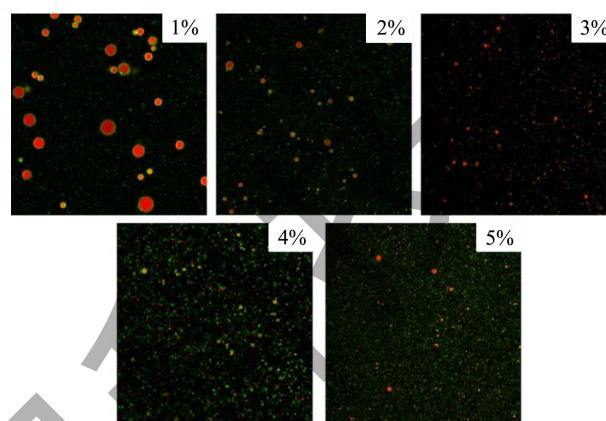


图 2 添加不同剂量 CA-DEX-MP 三元复合酶解物乳液的激光共聚焦图像

Fig.2 CLSM of emulsion with different dosage of CA-DEX-MP hydrolysate as emulsifier

注: 纯绿色的为未包裹油滴的蛋白, 红色为油滴, 黄色或呈色为被蛋白包裹的油滴。

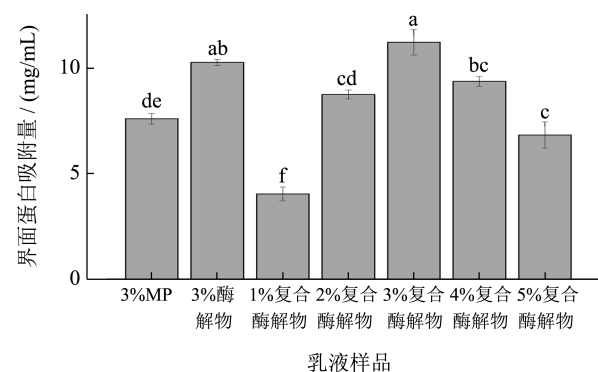


图 3 CA-DEX-MP 三元复合酶解物的添加剂量对乳液界面蛋白吸附量的影响

Fig.3 Effect of addition dose of CA-DEX-MP hydrolysate on adsorption amount of interfacial protein in emulsion

把乳液稳定剂添加进油水体系之后, 复合酶解物会在吸附在界面处, 形成一层界面膜, 减少界面的张力^[13]。界面蛋白吸附影响着乳液的絮凝、聚结效果。通常来说, 界面蛋白的吸附量升高, 就可以提升蛋白吸附至水油界面的能力, 使乳液更加稳定^[14]。由图 3 可知, 当复合酶解物的浓度增加, 乳

液界面蛋白吸附量先升高后降低,与此同时,当复合酶解物浓度为 3 wt.% 时,界面蛋白吸附量到达峰值,即 11.22 mg/mL,这一趋势与乳液粒径变化相一致。综合上述因素考虑,添加量为 3 wt.% 时乳液界面蛋白吸附量最大,粒径最小,乳化性及乳化稳定性最佳,所以 3 wt.% 为最适乳化稳定剂的添加量。

2.2 流变学

流变特性是乳液稳定性的关键物理参数^[15]。通过稳态剪切扫描乳液,对剪切速度在 1~100 s⁻¹ 区间表观黏度进行分析,结果如图 4 所示。表观黏度和剪切速率增加呈现负相关性,其变化趋势为先快速降低后逐渐平稳。当剪切速率保持在 0.1~20 s⁻¹ 区间内时,表观黏性全部表现为假塑性流体的剪切稀释特性。当剪切速率持续增加时,蛋白质分子链间的物理交联点被破坏,并且其重新组建的速度要低于破坏的速度,造成其黏性降低,在这一剪切速率范围内,3 wt.% CA-DEX-MP 三元复合酶解物乳液的粘度小于 MP 乳液,该现象可能是由于酶解修饰,液滴的结构发生变化,形成了液滴的聚集和絮凝所致。而 3 wt.% CA-DEX-MP 三元复合酶解物乳液粘度大于 MP 酶解物乳液,这可能是因为 DEX 的糖基化修饰,有效提高了乳液的粘度,乳液粘度其值越大,代表乳液的小液滴会产生沉淀现象,或者减缓其上浮的速度,此时乳液具有较高的物理稳定性^[16]。在剪切速率超过 20 s⁻¹ 后,此时乳液全部表现出牛顿流体的特征,这也表明此时粘度和剪切速率相互独立,不受其影响。小于 20 s⁻¹ 的剪切速率下均表现出剪切稀化的行为(随着剪切速率的增大粘度降低),属于假塑性流体。

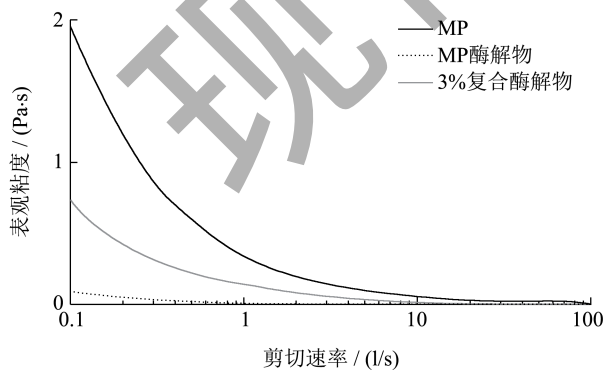


图 4 乳液的表观粘度

Fig.4 Apparent viscosity of emulsion

2.3 不同温度下乳液的稳定性

为了研究乳液在不同温度条件下的热稳定性,

将乳液在 30、50、70、90 °C 保温 30 min,并测定了乳液的粒径、电位及表观形态变化。从图 5 可知,温度对三种乳液电位的影响较小,不同乳液的电位呈现一定程度的波动,但整体趋于缓和。以 3 wt.% CA-DEX-MP 酶解物乳液为例,当孵育温度从 30 °C 提高到 90 °C,乳液的电位在 -24.18 mV 至 -29.40 mV 之间波动。这可能是因为 CA 接枝、糖基化等过程提高了 MP 分子的热稳定性^[17,18]。随着温度的提高,MP 乳液的粒径不断增加,从 3 185.66 nm 增加至 7 094 nm,这是因为加热加速了 MP 的聚集,当温度大于 70 °C 时 MP 乳液粒径大幅度增大,乳液发生分层(图 6)。Cao 等^[19]研究发现,MP 在 62.5 °C 和 74.1 °C 左右有两个吸热转变峰,分别表征肌球蛋白尾部和肌动蛋白的变性温度。换句话说,MP 在高温条件下会变性失活,导致乳化稳定性降低。随着温度的提高(由 30 °C 增加至 90 °C),3 wt.% CA-DEX-MP 酶解物乳液 MP 酶解物乳液的粒径呈现相同的变化趋势,但前者变化幅度和数值均显著低于 MP 酶解物乳液 ($P < 0.05$),这主要是因为 MP 热稳定性主要靠肌球蛋白丝来维系。酚类物质与多糖的修饰可有效减少 MP 的二硫键的形成及其诱发的蛋白质聚集^[2]。本研究中,多酚和多糖的修饰是提高 MP 热稳定性的重要因素,CA 与 DEX 通过与蛋白质基团结合来抑制蛋白质聚集^[20],CA 通过与更多羟基共价连接时发生结构变化,从而对热变性引起的热聚集提供更多空间位阻,DEX 通过糖基化修饰蛋白质,提供更多的空间位阻^[3],Pan 等^[21]研究发现,肽与碳水化合物的糖基化有助于提高乳液热稳定性。这说明,可能是因为 CA 和 DEX 的修饰削弱了 MP 分子的热聚集行为,从而共同提高了 MP 的热稳定性^[22]。

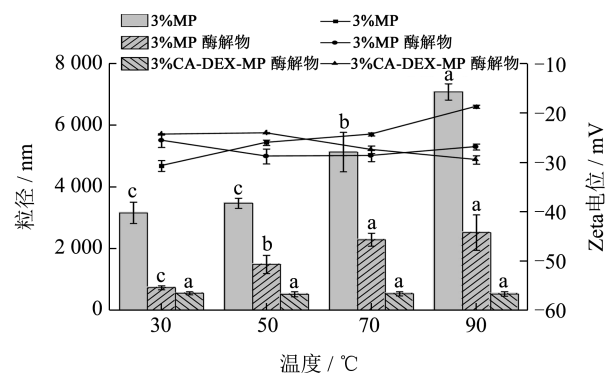


图 5 不同贮藏温度下乳液的粒径和电位变化

Fig.5 Particle size and potential changes of emulsion at different temperatures

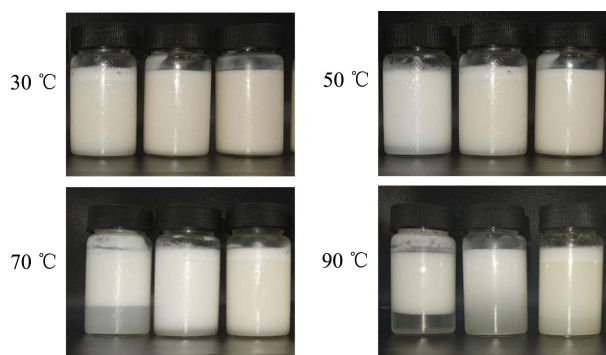


图6 不同贮藏温度下乳液的稳定性

Fig.6 Stability of emulsions at different storage temperatures

2.4 不同pH值条件下乳液的稳定性

为探究乳液在各个 pH 值条件下的稳定性, 将其 pH 值调节至 3.0~8.0, 测定了不同条件下乳液的粒径以及 Zeta 电位, 结果如图 7 所示。MP 乳液与 MP 酶解物乳液在 pH 值为 5.0 时发生了明显的分层现象, 粒径, 最大分别为 6001 nm 和 5243 nm, 电位的绝对值, 最小分别为 4.8 和 1.5, 说明该 pH 值条件下乳液极度不稳定。这是因为 MP 的等电点约为 5.5^[23], 在等电点附近, MP 的正负电荷几乎相等, 引力和斥力的静电相互作用处于平衡状态。也就是说, 在此 pH 值范围内 (5.0~6.0) MP 之间仅存在较弱的静电斥力, 因此 MP 的聚集稳定性较差。而 3 wt.% CA-DEX-MP 酶解物乳液在 pH 值 3.0~8.0 区间变化幅度较小, 粒径在 352.9~446.1 nm 之间, 且 Zeta 电位绝对值较大, 这也表明此时乳液体系的稳定性良好, 并且所带电荷较多, 分子间斥力较大, 油滴不易聚集^[24]。

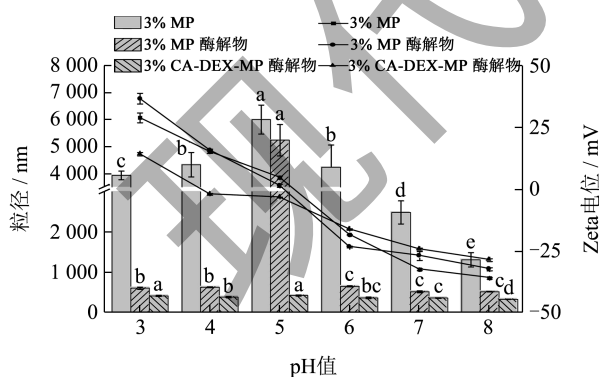


图7 不同 pH 值下乳液的粒径和电位变化

Fig.7 Particle size and potential changes of emulsion parameters at different pH value

2.5 不同盐离子浓度下乳液的稳定性

如图 8 所示, 随着盐离子浓度的提高, 所有乳液粒径均呈先增大后减小的趋势。这是因为提高 NaCl 浓度, 会导致油滴的静电斥力的降低, 促

使油滴相互靠近和粒径的增大。当盐离子浓度大于 200 mmol/L 时, MP 溶解度逐渐增加, 使得更多的 MP 包裹在油滴表面, 导致油滴粒径的降低。值得注意的是, 各组乳液 Zeta 电位的绝对值伴随着盐离子浓度的增加不断地减小 ($P < 0.05$)。造成这一现象的主要原因在于液滴表层所带电荷, 被带电的盐离子全部屏蔽掉, 造成液滴之间的范德华力、疏水吸引力等全部超过液滴间的静电排斥力^[25]。当盐离子的浓度升高至 300 mmol/L 时, 各组乳液依旧未发生显著的相分离现象。这就表示, 即使液滴间的静电斥力减少, 乳液仍然相对稳定。此外, 在盐离子存在的情况下, 3 wt.% CA-DEX-MP 三元复合酶解物乳液 Zeta 电位的绝对值始终大于 MP 乳液与 MP 酶解物乳液, 这可能是因为被多酚与 DEX 共价修饰过的 MP 酶解物拥有相对较高的空间位阻所致^[18]。

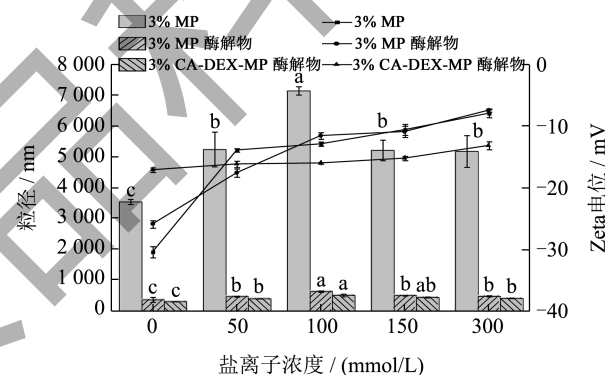


图8 不同 NaCl 浓度下乳液的粒径和电位变化

Fig.8 Particle size and potential changes of emulsion parameters at different NaCl concentration

2.6 28 d贮藏期内乳液的稳定性

粒径是反映乳液稳定性变化的指标。由图 9 可知, 随着贮藏时间的增加, 在 4 °C 下乳液的粒径均呈上升趋势。在 4 °C 储藏 28 d 条件添加不同剂量 CA-DEX-MP 酶解物的乳液均处于均匀状态, 未出现分层。而在 4 °C 贮藏 7 d 后, MP 乳液与 MP 酶解物乳液表现出明显的分层现象。与 CA-DEX-MP 酶解物乳液相比, MP 乳液与 MP 酶解物乳液的粒径明显较大。其中, MP 乳液粒径在 28 d 达到最大, 为 4551.67 nm, 而相同条件下添加 3 wt.% CA-DEX-MP 酶解物的乳液粒径最小, 仅为 401.23 nm。MP 乳液液滴主要以大尺寸存在, 较大的乳液液滴在储存期间容易发生絮凝耗竭, 导致乳析现象^[26]。这表明 CA-DEX-MP 酶解物作为乳化剂能够提高乳液的储存稳定性。Ozturk 等^[27]发现, 乳液液

滴越小,重力分离稳定性越好。本研究中,图8显示CA-DEX-MP酶解物稳定的乳液液滴较小且稳定性较好,整个贮藏期中未发生明显的相分离现象。

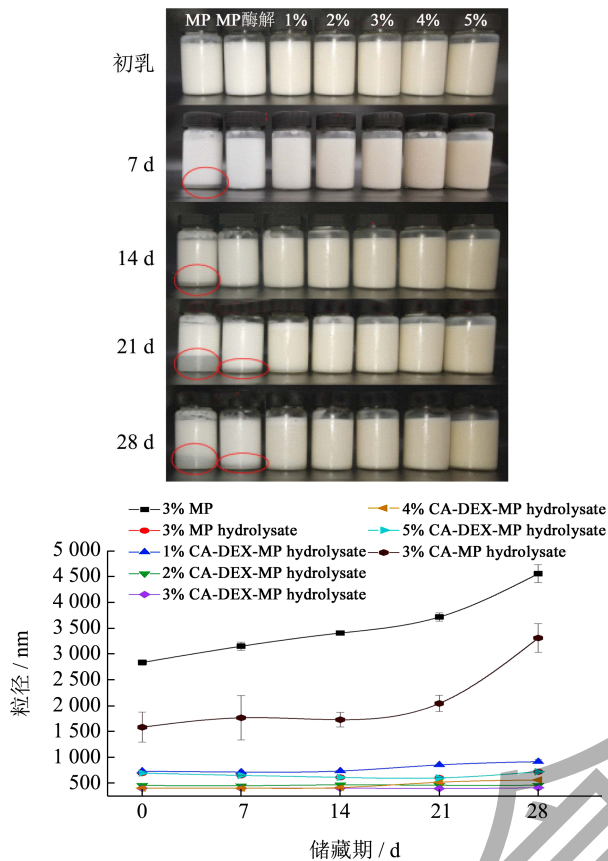


图9 乳液在4 °C储藏28 d的变化情况

Fig.9 Changes of emulsion during storage at 4 °C for 28 days

3 结论

本研究以CA-DEX-MP三元复合酶解物作为乳液稳定剂制备乳液,通过比较不同环境(温度、pH值、盐离子浓度、储藏时间)下乳液的界面蛋白吸附量、粒径、Zeta电位等指标变化来评估乳液的稳定性。结果表明,CA-DEX-MP三元复合酶解物作为乳液稳定剂制备的乳液具有良好的界面特性,表现为较小的粒径、良好的界面蛋白吸附能力和较高的乳液的粘度,可以有效缓解造成乳液结构破坏的外界应力。其中3 wt.%为最适乳化稳定剂添加量,以3 wt.% CA-DEX-MP三元复合酶解物稳定的乳液在不同环境条件下的稳定性显著优于MP乳液和MP酶解物乳液。由此可见,以CA-DEX-MP三元复合酶解物稳定的乳液具有良好的稳定性。上述研究为肌肉蛋白作为乳液稳定剂在食品中的应用提供思路借鉴和理论支撑,为肌原纤维蛋白基乳液在活

性物质稳态化递送提供方法指引。

参考文献

- [1] TEIXEIRA-COSTA B E, ANDRADE C T. Natural polymers used in edible food packaging-history, function and application trends as a sustainable alternative to synthetic plastic [J]. *Polysaccharides*, 2022, 3(1): 32-58.
- [2] WANG K, LI Y, ZHANG Y, et al. Improving myofibrillar proteins solubility and thermostability in low-ionic strength solution: A review[J]. *Meat Science*, 2022, 189: 108822.
- [3] KAN X, CHEN G, ZHOU W, et al. Application of protein-polysaccharide Maillard conjugates as emulsifiers: source, preparation and functional properties [J]. *Food Research International*, 2021, 150: 110740.
- [4] CHENG J, TANG D, YANG H, et al. The dose-dependent effects of polyphenols and malondialdehyde on the emulsifying and gel properties of myofibrillar protein-mulberry polyphenol complex [J]. *Food Chemistry*, 2021, 360: 130005.
- [5] SHEN S, YANG H, LIU X, et al. Insights into the effects of combined caffeic acid and glucose covalent modification on the conformational and functional properties of two milk proteins [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2023, 186: 115199.
- [6] LIU N, LIN P, ZHANG K, et al. Combined effects of limited enzymatic hydrolysis and high hydrostatic pressure on the structural and emulsifying properties of rice proteins [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2022, 77: 102975.
- [7] FENG J, CAI H, WANG H, et al. Improved oxidative stability of fish oil emulsion by grafted ovalbumin-catechin conjugates [J]. *Food Chemistry*, 2018, 241: 60-69.
- [8] CHEN X, XU X, ZHOU G. Potential of high pressure homogenization to solubilize chicken breast myofibrillar proteins in water [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2016, 33: 170-179.
- [9] LAPLANTE S, TURGEON S L, PAQUIN P. Effect of pH, ionic strength, and composition on emulsion stabilising properties of chitosan in a model system containing whey protein isolate [J]. *Food Hydrocolloids*, 2005, 19(4): 721-729.
- [10] 沈双伟.乳蛋白-咖啡酸-葡萄糖共价复合物制备及其负载虾青素的乳液稳定性探究[D].喀什:喀什大学,2022.
- [11] CHENG J, SHEN S, YANG H, et al. Improved physicochemical stability and bioaccessibility of astaxanthin-loaded oil-in-water emulsions by a casein-caffeic acid-glucose ternary conjugate [J]. *Food Research International*, 2023, 163: 112153.
- [12] ATAIEAN P, AROYAN L, PARWEZ W, et al. Emulsions

- undergoing phase transition: effect of emulsifier type and concentration [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2022, 617: 214-223.
- [13] WAN Z L, WANG L Y, WANG J M, et al. Synergistic interfacial properties of soy protein-stevioside mixtures: relationship to emulsion stability [J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 39: 127-135.
- [14] 沈兰.构象特征影响球蛋白乳化与界面性质的研究[D].广州:华南理工大学,2013.
- [15] JIN Q, LI X, CAI Z, et al. A comparison of corn fiber gum, hydrophobically modified starch, gum arabic and soybean soluble polysaccharide: interfacial dynamics, viscoelastic response at oil/water interfaces and emulsion stabilization mechanisms [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 70: 329-344.
- [16] 魏子淇.乳蛋白-EGCG和壳聚糖-绿原酸复合物的制备、结构表征及功能评价[D].北京:中国农业大学,2015.
- [17] CHENG J, ZHU M, LIU X. Insight into the conformational and functional properties of myofibrillar protein modified by mulberry polyphenols [J]. *Food Chemistry*, 2020, 308: 125592.
- [18] LIDIJIA J. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins [J]. *Food Chemistry*, 2015,175: 556-567.
- [19] CAO Y, TRUE A D, CHEN J, et al. Dual role (anti- and pro-oxidant) of gallic acid in mediating myofibrillar protein gelation and gel *in vitro* digestion [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(15): 3054-3061.
- [20] SETIOWATI A D, WIJAYA W, VANDER MEEREN P. Whey protein-polysaccharide conjugates obtained via dry heat treatment to improve the heat stability of whey protein stabilized emulsions [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 98: 150-161.
- [21] PAN Y, WU Z Z, XIE Q T, et al. Insight into the stabilization mechanism of emulsions stabilized by Maillard conjugates: protein hydrolysates-dextrin with different degree of polymerization [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 99: 105347.
- [22] XU Y, HAN M, HUANG M, et al. Enhanced heat stability and antioxidant activity of myofibrillar protein-dextran conjugate by the covalent adduction of polyphenols [J]. *Food Chemistry*, 2021, 352: 129376.
- [23] CHEN X, QIU Q, CHEN K, et al. Water-soluble myofibrillar protein-pectin complex for enhanced physical stability near the isoelectric point: Fabrication, rheology and thermal property [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 142: 615-623.
- [24] 齐凤敏,王来忠,张佳佳,等.不同均质方式对红花籽油O/W乳液乳化效果的影响[J].*食品工业*,2020,41(12):8-11.
- [25] TEIXE-ROIG J, OMS-OLIU G, BALLESTE-MUNOZ S, et al. Encapsulation and controlled release of phycocyanin during the *in vitro* digestion using polysaccharide-added double emulsions (W1/O/W2) [J]. *Food Structure*, 2022, 31: 100249.
- [26] 黄国,张江江,田泽鹏,等. EGCG与大豆7S/11S蛋白互作对乳液稳定性的影响[J].*中国食品学报*,2022,22(12):82-93.
- [27] OZTURK B, MCCLEMENTS D J. Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2016, 7: 1-6.