doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.07.043

添加菊粉条件下的豌豆分离蛋白乳化特性研究

李 杨1,2 徐清清 韩 璐 王迪琼 齐宝坤1,2

(1. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030; 2. 国家大豆工程技术研究中心, 哈尔滨 150030)

摘要: 为探究添加不同质量分数(1%、3%、5%和7%)菊粉(Inulin, INU)对豌豆分离蛋白(Pea protein isolate, PPI) 乳化性及乳液稳定性的影响,以 PPI 作为乳化剂,采用高压均质法制备了 PPI/INU 乳液,通过 zeta 电位测定、粒径测定、激光共聚焦显微镜(CLSM)、酶标法和内源荧光光谱等技术对乳液进行表征。结果表明:添加 1% INU 后,乳液具有最大 zeta 电位绝对值(为 34.03 mV)和最小平均粒径($d_{4,3}$ 为 395.50 nm);CLSM 显示,低浓度(质量分数 1%和 3%)的 INU 使乳液液滴分布更均匀;INU 质量分数为 1%时,分别使 PPI 的乳化活性指数、乳化稳定性指数和乳液界面蛋白吸附率增加了 7.8%、22%和 11%;荧光光谱显示,随着 INU 浓度的增加,连续相中 PPI – INU 复合物的生成量增多,对乳液的稳定性产生了负面影响。由此说明低浓度(质量分数为 1%和 3%)的 INU 可改善 PPI 的乳化性、提高 PPI 乳液的稳定性,其中添加 1% INU 效果最显著。

关键词: 豌豆分离蛋白; 菊粉; 乳化性; 乳液稳定性

中图分类号: TS214.9

文献标识码: A

文章编号: 1000-1298(2020)07-0382-07

OSID



Emulsifying Properties of Pea Protein Isolate with Inulin

LI Yang^{1,2} XU Qingqing¹ HAN Lu¹ WANG Diqiong¹ QI Baokun^{1,2}
(1. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China
2. National Research Center of Soybean Engineering and Technology, Harbin 150030, China)

Abstract: Aiming to investigate the effects of different inulin (INU) concentrations (1%, 3%, 5% and 7%) on the emulsification of pea protein isolate (PPI) and its emulsion stability, and determine the optimal concentration of INU. PPI/INU emulsion was prepared by high pressure homogenization method using PPI as emulsifier. The emulsion was characterized by particle size, zeta potential, laser confocal microscopy (CLSM), enzyme labeling and endogenous fluorescence spectroscopy. The results showed that low concentrations (1% and 3%) of INU had a beneficial effect on zeta potential and average particle size, with an absolute maximum zeta potential at 1% INU (34.03 mV) and a minimum mean particle size ($d_{4,3}$ was 395.50 nm). CLSM showed more uniform droplet distribution in emulsions with low concentrations (1% and 3%). When the concentration of INU was 1%, the emulsification activity index and emulsion stability index of PPI were increased by 7.8% and 22%, respectively, emulsion interface protein adsorption rate was increased by 11%. The fluorescence spectrum showed that with the increase of concentration of INU, the amount of PPI – INU complexes in the continuous phase was increased, which had a negative impact on the stability of the emulsion. It was concluded that low concentrations (1% and 3%) of INU could significantly improve the emulsification of PPI and enhance the stability of PPI emulsion, with 1% of INU being the most significant.

Key words: pea protein isolate; inulin; emulsifying properties; emulsion stability

0 引言

豌豆分离蛋白(PPI)是一种优质植物蛋白资

源,具有均衡的氨基酸组分,含有大量赖氨酸,且成本低廉、易获得,与其他豆类蛋白相比具有更低的致敏性[1]。PPI 较差的水溶性限制了其在食品领域的

收稿日期: 2019-09-15 修回日期: 2019-11-09

基金项目: 黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2019C032)

作者简介: 李杨(1981—),男,教授,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: liyanghuangyu@163.com

通信作者: 齐宝坤(1986—),男,讲师,博士,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: qibaokun22@163.com

应用。有研究表明,PPI 在中性条件下具有良好的乳化活性,可作为食品工业中的新型乳化剂^[2-3]。但是,在商业条件下提取的 PPI 制备乳液稳定性较差^[4],限制了 PPI 在乳液中的应用。因此,提高 PPI 乳液的稳定性至关重要。

菊粉(Inulin, INU)是植物储备性多糖,是一种 可溶性膳食纤维[5]。目前,关于菊粉的研究主要集 中在其益生元活性方面[6],以及作为增稠剂、胶凝 剂、糖和脂肪替代品等在食品工业的应用方面[7]。 近年来,菊粉在改善蛋白乳化性能方面取得了一些 进展。有研究表明,低浓度的菊粉可以改善β-乳球 蛋白的表面活性,对提高蛋白质乳化性具有积极作 用[8]:将菊粉与麦醇溶蛋白和麦谷蛋白混合,可以 增加蛋白质的溶解度,以此提高蛋白质的乳化性 能[9];低浓度 INU 可以显著增强小麦蛋白的乳化活 性[10]。目前关于 INU 对 PPI 的乳化性及乳液稳定 性的影响尚未见报道。基于此,本文以 PPI 作为乳 化剂,加入 INU 后,利用高压均质技术制备 PPI/INU 乳液,采用电位测定、粒径测定、激光共聚焦显微镜 (CLSM)、酶标法和荧光光谱等技术对 PPI 乳化性及 乳液稳定性进行表征,以探讨 INU 对 PPI 乳化性及 乳液稳定性的改善效果,为植物蛋白益生元乳液的 制备提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

豌豆分离蛋白(PPI),上海味庆生物科技有限公司;菊粉(平均聚合度为2~60,纯度90%以上),比利时 ORAFTI公司;大豆油,重庆和而泰商贸有限公司;盐酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠,北京新光化工试剂厂;BCA试剂盒,上海易色医疗科技有限公司;尼罗红、尼罗蓝,上海源叶有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

AL204 型分析天平, 梅勒特-托利多仪器(上海)有限公司; FJ200 - SH 型数显高速分散均质机, 上海标本模型厂; FB-110T 型超高压均质机, 上海励途机械设备工程有限公司; LGR20 - W 型台式高速冷冻离心机, 北京京立离心机有限公司; Mastersizer2000 型激光粒度仪, 英国马尔文仪器有限公司; Zetasizer Nano - ZS90 型 zeta 电位分析仪, 英国马尔文仪器有限公司; UV-5100 型高性能紫外可见分光光度计, 上海奥析科学仪器有限公司; DELTAVISION OMXSR 型超分辨显微镜, 德国徕卡公司; RF-5301PC 型荧光分光光度计, 日本岛津公司; TecanM200 型全自动酶标仪, 瑞士帝肯公司。

1.3 实验方法

1.3.1 PPI/INU 混合液制备

室温(25°C)下,称取 2 g 的 PPI 分散于 100 mL 磷酸盐缓冲液(10 mmol/L,pH 值 7.0)中,300 r/min 搅拌 24 h,然后将 PPI 溶液置于 5 个不同的烧杯中,分别 加 人 不 同 质 量 的 INU 粉 末,磁 力 搅 拌(300 r/min)30 min 确保充分溶解,使得混合液中 PPI 质量分数为 2%,INU 质量分数分别为 0、1%、3%、5%和 7%。

1.3.2 PPI/INU 乳液制备

将 PPI/INU 混合溶液与大豆油按体积比 9:1的比例混合,在室温下匀速搅拌 15 min,再经高速剪切机(12 000 r/min,2 min)预均质得到粗乳液,然后将粗乳液在 70 MPa 下高压均质 1 次得到终乳液。

1.3.3 zeta 电位测定

样品装入 PCS8501 型比色皿测定乳化性前,用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 值为 7.0)进行适度稀释,采用 Zetasizer Nano – ZS90 型 zeta 电位分析仪测定样品的 zeta 电位,在 25℃下进行 3 次,乳液的相对折射率设置为 1.095。

1.3.4 粒径和絮凝指数测定

参照文献[11]的方法并略作修改,以去离子水和 1% SDS(十二烷基硫酸钠)溶液为分散剂,其中,以水作为分散剂,可测得乳液中油滴絮凝体的粒径分布;以 1% SDS 作为分散剂,可测得单个油滴的粒径分布。然后使用 Mastersizer2000 型激光粒度仪测定样品的粒径分布和平均粒径。样品的相对折射率取 1.095。以粒径(nm)为横坐标,以各粒级油滴体积分数(%)为纵坐标,绘制油滴的粒径分布曲线。絮凝指数 F₁ 计算公式为

$$F_1 = \left(\frac{d_{4,3\text{-water}}}{d_{4,3\text{-SDS}}} - 1.0\right) \times 100\%$$
 (1)

式中 $d_{4,3\text{-water}}$ 、 $d_{4,3\text{-SDS}}$ ——乳液在水和 1% SDS 分散 剂中的体积平均粒径

1.3.5 微观结构观察

采用激光共聚焦显微镜对样品的微观结构进行观察。取 2 mL 样品分别加入 0.05 mL 质量分数为 0.1% 的尼罗红染料和 1% 的尼罗蓝染料,混合均匀,避光反应 30 min。其中,样品中的蛋白相和油相分别被尼罗蓝和尼罗红染色。样品染色以后,选用 10 倍目镜和 60 倍物镜,采用 Argon 和 He/Ne 激光器为激发光源,激发波长分别设置为 488、514 nm,进行观察拍照。

1.3.6 乳化性测定

根据文献[12],采用浊度法测定蛋白样品的乳 化活性和乳化稳定性。按照1.3.2节的方法制备乳 液,在离烧杯底部 0.5 cm 处取 15 μL 刚制备好的乳液于 5 mL 0.1% SDS 溶液中,混匀后装入玻璃比色皿,用紫外可见分光光度计在 500 nm 处测定样品吸光度,以 0.1% SDS 作空白对照。乳化活性指数和乳化稳定性指数计算公式为

$$E_{\rm AI} = \frac{2 \times 2.303 A_0 N}{10\,000(1 - \Phi) C} \tag{2}$$

$$E_{\rm SI} = \frac{10A_0}{A_0 - A_{10}} \tag{3}$$

式中 E_{AI} ——乳化活性指数, m^2/g

 E_{SI} ——乳化稳定性指数, min N——稀释倍数, 取 200

C——乳液形成前蛋白溶液中蛋白质量浓度,g/mL

Ф---乳液中油相体积分数

 A_0 ——0 min 时测定的吸光度

A₁₀ ——10 min 时测定的吸光度

1.3.7 界面蛋白吸附率测定

参照文献[13]的方法并稍作改动,取新鲜乳液在 10 000 g 下离心 30 min 后,吸取下层清液过0.45 μm 滤膜,然后将过滤后的下清液稀释不同浓度梯度后用移液枪加入96 孔酶标板,以牛血清白蛋白为标准蛋白,采用 BCA 法测定未吸附层中的蛋白质量浓度。界面蛋白吸附率计算公式为

$$A_{\rm P} = \frac{C_0 - C_{\rm S}}{C_0} \times 100\% \tag{4}$$

式中 C_0 —制备乳液的蛋白溶液中的蛋白质量浓度,mg/mL

 C_s ——乳液离心后未吸附层(下清层 + 沉淀层)中的蛋白质量浓度,mg/mL

1.3.8 内源荧光光谱分析

混合溶液用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 值为7.0)稀释至 3.0 mg/mL,装入石英比色皿中,采用荧光光度计测定 PPI 的内源荧光光谱。激发波长为290 nm,发射波长为300~500 nm,狭缝宽度为5 nm。

1.3.9 储藏过程平均粒径测定

参照文献[14]的方法,将制备好的乳液立即分装到可密封的离心管中,盖紧密封后将乳液于室温下放置30d,每隔一定时间(0、3、6、9、15、21、30d)测定乳液的粒度变化。

1.3.10 储藏过程乳析指数测定

将制备的乳液(5 mL)注入玻璃比色管中(高 140 mm,内径为 15 mm),用瓶盖密封,在常温下垂直储藏 30 d,观察并记录乳液的分层情况^[15]。乳液的乳析程度由乳析指数(Creaming index,CI)表示,公

式为

$$C_{\rm I} = \frac{H_{\rm s}}{H} \times 100\% \tag{5}$$

式中 H_s ——乳清层高度,mm H_s ——乳液总高度,mm

1.4 数据分析

每个实验重复 3 次,数据以均值 ±标准差表示,显著水平为 p < 0.05。采用 SPSS 软件对数值进行方差分析。采用 Origin 8.0 软件制图。

2 结果与讨论

2.1 添加 INU 对 zeta 电位的影响

乳液液滴之间的静电排斥是影响乳液稳定性的 一个重要因素,因为液滴表面电荷可以在液滴之间 产生足够强的排斥力以使乳液静电稳定[16]。随着 INU 浓度的增加,乳液 zeta 电位绝对值呈先增大后 减小的趋势,添加 1% INU 时 zeta 电位绝对值最大 (为34.03 mV),与PPI乳液相比增加了3.5 mV,这 可能与少量 INU 的添加导致界面处吸附的蛋白质 含量增加有关。有研究表明,油滴上吸附更多的乳 清蛋白可以增加 zeta 电位[17],即乳液稳定性有所提 高。而继续提高 INU 质量分数, zeta 电位绝对值开 始减小, 当添加至 7% 时乳液的 zeta 电位绝对值最 小(为26.80 mV)。可得出1% INU 可以显著增加乳 液 zeta 电位,此时乳液稳定性最好,继续增加 INU 质量分数反而会减小乳液的 zeta 电位绝对值,进而 降低乳液稳定性,当 INU 质量分数增加至 7% 时乳 液稳定性最差。

2.2 添加 INU 对平均粒径和絮凝指数的影响

不同质量分数的 INU 对 PPI 乳液平均粒径和絮 凝指数的影响如图 1(图中不同大、小字母分别表示 各参数的数值差异显著,下同)所示。所有乳液的 粒径都低于1 μm,表明所研究的乳液在一定时间内 具有一定的稳定性。有研究表明,乳状液中液滴的 大小对其稳定性(如重力分离、絮凝和聚结)有很大 影响,一般拥有越小平均粒径的乳液稳定性越 好[18]。仅使用 PPI 制备的乳液粒径在 411.40 nm 左右,表明单独的 PPI 可以制备乳液。然而,此时乳 液的絮凝指数较大,说明乳液稳定性不好。含1% INU 的乳液具有最小体积平均粒径 d_4 (395.50 nm), 与单独 PPI 制备的乳液粒径相比略有减少,此时絮凝 指数从原来的 2.67% 降至 0.66%, 乳液稳定性显著 增强,这可能是加入少量菊粉后液滴表面的负电荷增 加所致。当 INU 质量分数增加至 3% 时, 粒径为 400.80 nm, 絮凝指数开始增大, 但均小于单独 PPI 制 备的乳液,表明加入1%和3%菊粉后,乳液稳定性有

所增强。随着 INU 质量分数继续增加至 5% 和 7% 时,乳液 粒 径 明显增 大,分别为 421.47 nm 和 435.40 nm,均大于单独的 PPI 乳液,这可能是因为加入较高浓度的菊粉后连续相粘度增加,已有文献表明较大液滴的产生与连续相粘度增加有关[19],并且观察到絮凝指数分别从 PPI 乳液的 2.67%增加至11.44%和13.95%,说明此时乳液稳定性降低。

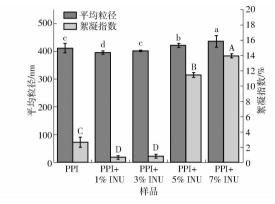


图 1 添加不同质量分数 INU 的 PPI 乳液平均粒径和 絮凝指数

Fig. 1 Average particle size and flocculation index of PPI emulsions with different concentrations of INU

2.3 添加 INU 对乳液微观结构及粒径分布的影响

采用激光共聚焦显微镜观察乳液液滴的形态, 其中绿色代表染色后的蛋白质,红色代表油滴。采 用激光粒度仪获得乳液粒径分布(插入线)。图2 显示,乳液的液滴尺寸随添加 INU 浓度的增加而增 大。仅由 PPI 制备的乳液液滴分布比较均匀,说明 在高压均质条件下,PPI可以作为乳化剂应用于乳 液中,但部分油滴发生了聚集,说明仅有 PPI 制备的 乳液稳定性较差。CLSM 显示低浓度(质量分数 1% 和3%)的 INU 使乳液液滴分布更均匀,说明此时 PPI 乳化性和乳液稳定性均得到改善,可能是因为 该浓度下的 INU 增强了液滴间的静电排斥力。当 加入 5%的 INU 时, 液滴尺寸开始显著增大, 直至加 入7%的 INU 后,观察到液滴发生明显聚集,这可能 是连续相的高粘度所致[19]。从粒径分布来看,所有 乳液都呈现双峰分布,加入低浓度(质量分数1%和 3%) INU 后, 粒径分布向左发生了偏移, 在较小粒径 (60~164 nm)下出现增长的粒径分布峰, 且粒径分 布变窄,说明 PPI 乳化性和乳液稳定性变好。当继 续增加 INU 含量(质量分数 5% 和 7%),此时粒径 分布比单独 PPI 制备的乳液宽,粒径分布向右发生 了偏移,在3580~6440 nm 处出现较大粒径分布 峰,表明液滴发生了明显的聚集,乳液稳定性变差。 图中粒径分布与 CLSM 结果一致。

2.4 乳化性分析

蛋白质的乳化活性取决于一系列复杂因素,包括蛋白质的两亲性质和界面活性、蛋白质溶解度和

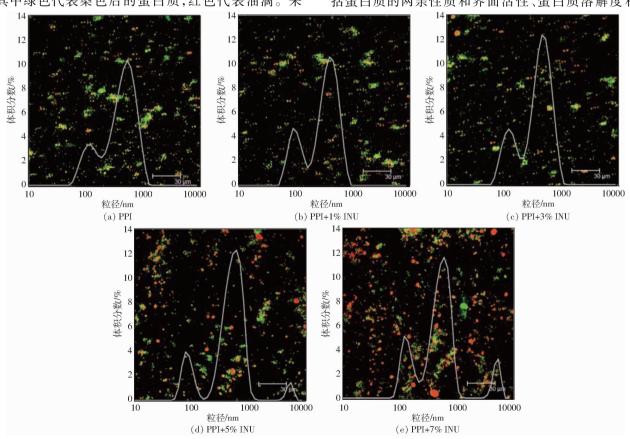


图 2 添加不同质量分数 INU 的 PPI 乳液激光共聚焦显微结构和粒径分布图

Fig. 2 CLSM and particle size distribution of PPI emulsions with different concentrations of INU

迁移率(即单个蛋白质分子快速移动到界面的能 力)[20]。乳化活性指数和乳化稳定性指数是衡量乳 化性能的两种常用的指标,乳化活性指数是蛋白质 吸附到界面能力的量度,而乳化稳定性指数表征在 限定时间段内吸附层的稳定性[21]。图 3 中单独的 PPI 乳液乳化活性指数为(14.04 ± 0.09) m^2/g , 当乳 液的 INU 质量分数为 1% 时, PPI 的乳化活性指数最 大,比未添加 INU 时增加 7.8% 左右,说明该浓度的 INU 对乳液的乳化活性具有显著的改善作用,这可 能是因为 INU 的强吸水性和不结合蛋白质的能力, 导致乳液体系内部水分的变化以及蛋白质之间的氢 键和范德华力的破坏,较松散的蛋白质分子和较大 的表面积增强了侧链亲水基团与水的相互作用,增 加了蛋白质的溶解度^[9]。INU 质量分数为 3% 时 PPI 的乳化活性指数较 1%的低,但比起单独的 PPI 乳液,其乳化活性指数增加约3.8%。随着 INU 含 量继续增加,PPI的乳化活性指数呈下降趋势,当乳 液中的 INU 质量分数达到 7% 时, 乳化活性指数变 得不如单独的 PPI 乳液。添加 1% 和 3% INU 分别 使 PPI 乳液的 ESI 增加了 22% 和 9.9%, 效果显著, 可能是因为连续相粘度的相对增加抑制了分散相的 流动性而有利于稳定性。相反,5%和7%的高浓度 INU 使 PPI 乳液的乳化稳定性指数降低,可能是因 为连续相中 INU 浓度过高,使得连续相中 PPI - INU 复合物的生成量增加导致参与界面蛋白浓度降低, 液滴发生了絮凝。这与2.2 节中在该 INU 浓度下乳 液液滴尺寸增大相一致。

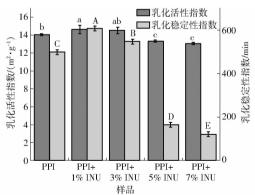


图 3 添加不同质量分数 INU 的 PPI 乳液乳化活性 指数和乳化稳定性指数

Fig. 3 Emulsification activity index and emulsification stability index of PPI emulsions with different concentrations of INU

2.5 添加 INU 对界面蛋白吸附率的影响

乳液的稳定性强烈依赖于蛋白质在油/水界面处的吸附并形成稳定的粘弹性膜的能力,从而降低界面张力并稳定油滴以防止聚结。在考察 INU 浓度对 PPI 乳液的界面蛋白吸附率的影响时,发现1%和3% INU 对蛋白质的界面吸附率具有积极影

响,分别使界面蛋白吸附率增加11%和8.4%左右。尽管 INU 不具有表面活性,但 INU 的存在可能有利于蛋白吸附动力学,这主要归因于两种生物聚合物有限的热力学相容性,导致 INU 浓缩了界面吸附的蛋白质^[22]。但是,当 INU 质量分数升高为5%时,乳液的界面蛋白吸附率降低了6.2%,当质量分数继续升高至7%时,界面蛋白吸附率急剧下降,约降低7.8%,说明加入低浓度(质量分数为1%和3%)的 INU 能改善乳液的界面吸附性能,但高浓度(质量分数为5%和7%)的 INU 不适合应用于 PPI 乳液中。这可能是因为连续相中存在较多 INU 会结合更多的蛋白质,导致连续相中的蛋白质含量增多^[23],从而导致界面蛋白处吸附的蛋白质减少,乳液稳定性降低。该结果与 zeta 电位结果一致。

2.6 荧光光谱分析

荧光光谱法是检测蛋白质构象变化以及复合物 形成的有效方法。当激发波长为 295 nm 时,蛋白质 中的 Trp 残基被激发,这强烈依赖于蛋白质的解折 叠程度^[24]。从图 4 可以看出,随着 INU 质量分数的 增加,荧光强度逐渐降低,说明 PPI 发生了荧光猝灭 反应。PPI的 Trp 残基最大荧光发射峰在 334 nm 处, 当加入1%和3%的INU时, 最大峰值没有发生 偏移,说明 INU 没有使 PPI 的 Trp 残基微环境发生 变化。研究表明,当蛋白质与多糖发生相互作用时, Trp 残基的荧光发射会发生荧光猝灭和峰位偏 移^[25]。可以看出加入 5% 和 7% 的 INU 后, Trp 残基 的最大荧光发射峰发生了红移(从 334 nm 到 337 nm),表明 Trp 残基周围的极性增加,疏水性略 有下降,可得出:随着 INU 质量分数的增加,连续相 中 PPI-INU 复合物的生成量增多,这对乳液的稳定 性产生了负面影响,这与之前研究的 zeta 电位绝对 值结果相一致。即使 INU 不具有表面活性,但不能 排除连续相中蛋白/多糖复合物的存在,这种复合物 是由带正电荷的蛋白质聚集体与多糖之间的弱静电

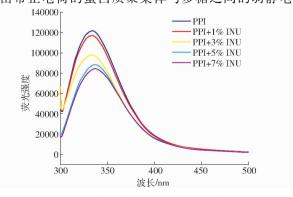


图 4 添加不同质量分数 INU 的连续相荧光强度

Fig. 4 Fluorescence intensity of continuous phase with different concentrations of INU

相互作用或氢键稳定下来的,后者在中性多糖中占优势,如 INU^[26]。

2.7 乳液储藏稳定性分析

由图 5 可知,随着储藏时间的延长,所有乳液的体积平均粒径 $d_{4,3}$ 增加,这可归因于界面处蛋白质重排和油滴之间相互作用引起的液滴聚集[27],但含1%和3%INU的乳液 $d_{4,3}$ 增加较少。所有乳液在

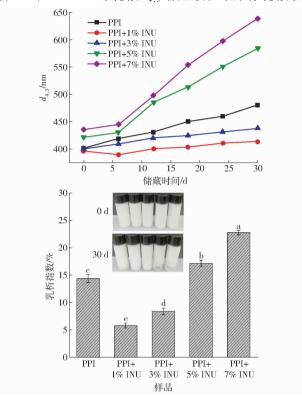


图 5 乳液储藏 30 d 过程中的体积平均粒径及储藏 30 d 后的乳析指数和乳液外观

Fig. 5 Volume average particle size of emulsions during storage for 30 d together with creaming index and emulsion appearance after storage for 30 d

6 d 内具有较好的储藏稳定性,因为在储藏初期,液滴表面的界面膜在乳液稳定性中起关键作用,这取决于蛋白质在油/水界面处的吸附及形成稳定的粘弹性膜的能力。30 d 后未添加 INU 的乳液有较明显的乳清层,其乳析指数约为 14.38%。加入浓度为 1% 和 3% INU 后,虽然乳液在 30 d 后开始变得不均一,但只出现了轻微的乳析现象,说明添加 1% ~3%的菊粉可以起到改善乳液储藏稳定性的作用。但当 INU 质量分数超过 3% 时,乳液储藏稳定性比单独的 PPI 乳液更差,并且可观察到 INU 质量分数为 5% 和 7% 时乳析指数明显增大(达 17.14% 和 22.76%),对乳液的稳定性产生了负面影响,这可能是因为 INU 的强亲水性使其吸附了大量自由水,使蛋白质分子不能吸水舒展,疏水基团不能分离^[28]。

3 结束语

添加不同质量分数的 INU 会影响 PPI 的乳化性及乳液的稳定性。加入 1% INU 后,乳液具有最大zeta 电位绝对值(为 34.03 mV)和最小平均粒径(d_{4,3}为 395.50 nm); CLSM 显示,低浓度(质量分数 1% 和 3%)的 INU 使乳液液滴分布更均匀,说明此时 PPI 乳化性和乳液稳定性均得到改善; INU 质量分数为 1%时,分别使 PPI 的乳化活性指数增加了7.8%、乳化稳定性指数增加了22%、界面蛋白吸附率增加了11%; 荧光光谱显示,随着 INU 浓度的增加,连续相中 PPI – INU 复合物的生成量增多,对乳液的稳定性产生了负面影响。由此可得低浓度(质量分数 1% 和 3%)的 INU 可改善 PPI 的乳化性、提高 PPI 乳液的稳定性,添加 1%的 INU 效果最显著。

参考文献

- [1] MCCARTHY N A, KENNEDY D, HOGAN S A, et al. Emulsification properties of pea protein isolate using homogenization, microfluidization and ultrasonication [J]. Food Research International, 2016, 89:415-421.
- [2] BILDSTEIN M, LOHMANN M, HENNIGS C, et al. An enzyme-based extraction process for the purification and enrichment of vegetable proteins to be applied in bakery products [J]. European Food Research and Technology, 2008, 228(2):177-186.
- [3] ALUKO R E, MOFOLASAYO O A, WATTS B M, et al. Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (*Pisum sativum L.*) seed flours [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(20):9793-9800.
- [4] BURGER T G, ZHANG Y. Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications [J]. Trends in Food Science and Technology, 2019, 86: 25 33.
- [5] GUPTA N, JANGID A K, POOJA D, et al. Inulin: a novel and stretchy polysaccharide tool for biomedical and nutritional applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 852 863.
- [6] NAIR K, KHARB S, THOMPKINSON D K, et al. Inulin dietary fiber with functional and health attributes—a review [J]. Food Reviews International, 2010, 26(2): 189 203.
- [7] FLORES A C, MORLETT J A, RODRIGUEZ R, et al. Inulin potential for enzymatic obtaining of prebiotic oligosaccharides [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(11): 1893 1902.
- [8] LÓPEZ-CASTEJÓN M L, BENGOECHEA C, ESPINOSA S, et al. Characterization of prebiotic emulsions stabilized by inulin and β-lactoglobulin [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 382 393.

- [9] LIU J, LUO D, LI X, et al. Effects of inulin on the structure and emulsifying properties of protein components in dough [J]. Food Chemistry, 2016, 210: 235 241.
- [10] 穆婉菊, 冯佳, 李秀秀, 等. 菊粉对小麦面筋蛋白理化性质的影响[J]. 食品科学, 2019,40(16): 64-68. MU Wanju, FENG Jia, LI Xiuxiu, et al. Effect of inulin on physicochemical properties of wheat gluten [J]. Food Science, 2019,40(16): 64-68. (in Chinese)
- [11] FIREBAUGH J D, DAUBERT C R. Emulsifying and foaming properties of a derivatized whey protein ingredient [J]. International Journal of Food Properties, 2005, 8(2): 243-253.
- [12] PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1978, 26(3): 716-723.
- [13] PUPPO M C, BEAUMAL V, SPERONI F, et al. β-conglycinin and glycinin soybean protein emulsions treated by combined temperature-high-pressure treatment [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(3): 389 397.
- [14] 李杨, 胡森, 谢凤英, 等. 超高压均质对紫苏油纳米乳液稳定性的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(8): 381-387. LI Yang, HU Miao, XIE Fengying, et al. Effect of ultrahigh pressure homogenization on stability of perilla oil nanoemulsion [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(8): 381-387. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no = 20180846&flag = 1. DOI: 10.6041/j. issn. 1000-1298. 2018. 08.046. (in Chinese)
- [15] 江连洲,綦玉曼,马春芳,等. 鱼油纳米乳液运载体系构建与稳定性研究 [J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(10): 387-395. JIANG Lianzhou, QI Yuman, MA Chunfang, et al. Formation and stability of fish oil enriched biocompatible nano-emulsion [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(10): 387-395. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no = 20181045&flag = 1. DOI:10.6041/j. issn. 1000-1298. 2018. 10. 045. (in Chinese)
- [16] LOI C C, EYRES G T, BIRCH E J, et al. Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion [J]. Food Research International, 2019, 120; 83 91.
- [17] SUN C, GUNASEKARAN S. Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(1): 165-174.
- [18] MCCLEMENTS D J. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability [J]. Critical Revews in Food Science and Nutrition, 2007, 47(7): 611 649.
- [19] VAN DIJKE K, KOBAYASHI I, SCHRO N K, et al. Effect of viscosities of dispersed and continuous phases in microchannel oil-in-water emulsification [J]. Microfluidies and Nanofluidies, 2010, 9(1): 77 85.
- [20] LOPESDASILVA J A, MONTEIRO S R. Gelling and emulsifying properties of soy protein hydrolysates in the presence of a neutral polysaccharide [J]. Food Chemistry, 2019, 294: 216 223.
- [21] STONE A K, KARALASH A, TYLER R T, et al. Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars [J]. Food Research International, 2015, 76: 31-38.
- [22] BAEZA R I, SANCHEZ C C, PILOSOF A M R, et al. Interactions of polysaccharides with β-lactoglobulin spread monolayers at the air-water interface [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(6); 959 966.
- [23] ZIAEIFAR L, SHAHI M L M, SALAMI M, et al. Effect of casein and inulin addition on physico-chemical characteristics of low fat camel dairy cream [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 117: 858 862.
- [24] ZHAN F, SHI M, WANG Y, et al. Effect of freeze-drying on interaction and functional properties of pea protein isolate/soy soluble polysaccharides complexes [J]. Journal of Molecular Liquids, 2019, 285: 658-667.
- [25] RASSI Z E. Capillary electrochromatography and pressurized flow capillary electrochromatography—an introduction. Ira S. Krull, Robert L. Stevenson, and Kavita Mistry E. Swartz [J]. Analytical Biochemistry, 2000, 287(2): 353.
- [26] PATINO J M R, PILOSOF A M R. Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(8): 1925-1937.
- [27] HUANG L, CAI Y, LIU T, et al. Stability of emulsion stabilized by low-concentration soybean protein isolate: effects of insoluble soybean fiber [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 97: 105232.
- [28] 周非白. 氧化修饰对猪肉肌原纤维蛋白结构与功能特性的调控研究 [D]. 广州:华南理工大学, 2016.