

影响豌豆蛋白乳化特性的分子机制

Study on the molecular mechanism of the effects on emulsifying properties of pea proteins

卢菊慧 钟芳 陈茂深

LU Ju-hui ZHONG Fang CHEN Mao-shen

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:为了解豌豆蛋白的乳化特性及影响其乳化特性的分子机制,实现豌豆蛋白的高效应用,以豌豆蛋白粉为原料,与大豆油用高压均质法制备乳液,测定豌豆蛋白的乳化能力及稳定性,并考察其在乳液中的界面吸附特性及组分的竞争吸附。结果表明,在蛋白浓度1.0~30.0 mg/mL时,随着蛋白浓度的增加,界面吸附蛋白量显著上升,蛋白聚集体在竞争吸附中失去优势,7S和11S球蛋白的占比逐渐提高,乳液粒径降低,且乳化能力和稳定性增强;蛋白浓度 ≥ 20.0 mg/mL时,乳液平均粒径低至1.06 μm ,蛋白界面吸附趋于饱和状态,且7S球蛋白在竞争吸附中占明显优势,11S球蛋白次之,聚集体占比较低,且略低于原蛋白组成。

关键词:豌豆;蛋白;乳化特性;界面吸附;竞争吸附

Abstract: The emulsifying properties of pea proteins and the molecular mechanism that affected the emulsifying properties were investigated in this study. The pea protein powder was used to prepare emulsions using soy bean oil by homogenizing technique. The parameters of the emulsions were studied including the emulsifying property, stability, interfacial adsorption property and the competitive adsorption of components of pea proteins. The results indicated that when the protein concentration was within 1 to 30 mg/mL, with the increasing of concentration, the particle size of emulsions was decreasing, the emulsifying property and stability improved, and protein aggregates were losing the superiority in competitive adsorption, while the proportion of vicilin and legumin increased. When the protein concentration was higher than 20 mg/mL, the average diameter of oil droplets was lower than 1.06 μm , the interfacial adsorption of pea proteins would reach the saturation state. While there were more vicilin than legumin in surface proteins, when the proportion of aggregates was very low, which was less than the initial pea protein

composition.

Keywords: pea; protein; emulsifying property; interfacial adsorption; competitive adsorption

豌豆是仅次于大豆的第二大食用豆类作物,淀粉和蛋白质含量丰富,除食用外,主要用于生产豌豆淀粉及相关产品。豌豆蛋白在豌豆中的含量为21%~30%,是淀粉生产中的副产物,主要用作蛋白源添加到饲料中,造成了蛋白资源的浪费。

乳化特性是蛋白质最重要的功能特性之一。在乳化过程中,油相在强烈的机械力作用下被打破形成小油滴,蛋白分子迅速吸附到油滴上并在界面上形成一层蛋白膜,阻止了油滴的聚集,从而形成具有一定稳定性的乳液体系。界面层的组成和结构受蛋白种类、组分及浓度等因素的影响,并对蛋白质的乳化能力和稳定性等有显著影响。

近年来国内外学者对豌豆蛋白的乳化特性进行了一系列研究,例如,Liang等^[1-2]研究发现,豌豆分离蛋白在pH 3.0时具有皮克林乳化机制,且11S球蛋白的乳化特性最佳。彭伟伟^[3]考察了未加热和热处理豌豆蛋白的乳化特性,发现其乳化活性和稳定性随着加热温度(50~100 $^{\circ}\text{C}$)的升高而增加。郭兴凤等^[4]采用碱性蛋白酶水解豌豆蛋白,改善了乳化特性。

然而,目前关于豌豆蛋白稳定乳液的研究主要集中于不同温度、pH、酶解条件等对豌豆蛋白乳化效果的影响,尚未有对乳化特性与构成豌豆蛋白的各组分关系进行完整的阐述,且缺乏有关豌豆蛋白在油水界面上的饱和吸附状态、界面层组成及各蛋白组分竞争吸附等方面的机理探究。

本研究拟以豌豆蛋白粉为原料,通过研究蛋白浓度对豌豆蛋白乳化特性的影响,考察蛋白趋于饱和吸附时的乳化效果及界面吸附特性,探讨构成豌豆蛋白的各组分在乳化时的竞争吸附行为的规律,以期对豌豆蛋白粉作乳化剂的应用提供科学依据。

作者简介:卢菊慧,女,江南大学在读硕士研究生。

通信作者:钟芳(1972—),女,江南大学食品学院教授,博导。

E-mail: fzhong@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2017-10-28

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

豌豆蛋白粉:S85F型,罗盖特公司;

金龙鱼精炼一级大豆油:益海嘉里食品营销有限公司;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氢氧化钠、无水碳酸钠、酒石酸钾钠、牛血清白蛋白、福林酚试剂、叠氮化钠、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、盐酸、十二烷基硫酸钠、三羟甲基氨基甲烷、甘氨酸、过硫酸铵、考马斯亮蓝 R-250:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

β -巯基乙醇、*N,N'*-甲叉双丙烯酰胺、四乙基乙二胺、Precision Plus Protein 预染标准品(标准蛋白):上海创赛科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

凯氏定氮仪:KDN-103F型,上海纤检仪器有限公司;

数显温控消化炉:KDN-08C型,上海新嘉电子有限公司;

激光粒度分析仪:Mastersize 2000型,英国马尔文公司;

紫外可见分光光度计:TU-1810型,北京普析通用仪器有限责任公司;

超景深三维显微镜:VHX-1000C型,基恩士(香港)有限公司;

垂直电泳仪:Mini-PROTEIN Tetra型,美国伯乐公司;

化学发光凝胶成像仪:ChemiDoc XRS+型,美国伯乐公司;

高速分散机:T25型,德国IKA公司;

高压均质机:Panda PLUS 2000型,意大利GEA Niro Soavi公司。

1.2 方法

1.2.1 豌豆蛋白粉的组成 以豌豆蛋白粉为原料,对其基本组成进行分析,具体如下:

(1) 水分测定:按GB 5009.3—2016常压烘箱干燥法执行。

(2) 总蛋白质测定:按GB 5009.5—2010凯氏定氮法执行。

(3) 灰分测定:按GB 5009.4—2010高温灼烧法执行。

(4) 碳水化合物测定:按GB/T 15672—2009苯酚硫酸法执行。

1.2.2 豌豆蛋白粉的溶解特性 取1.6 g蛋白粉,加入20 mL 10 mmol/L pH 7.0磷酸盐缓冲溶液,于30~90℃水浴中搅拌1 h,3 000 r/min离心15 min,凯氏定氮法测定上清液蛋白含量。

1.2.3 豌豆蛋白-大豆油乳液的制备 将豌豆蛋白分散液与大豆油按体积比9:1混合,用高速剪切机在10 000 r/min分散2 min,用均质机在45 MPa下均质2次,加入叠氮化钠(终浓度0.02 g/100 mL)抑制微生物生长。

1.2.4 乳液粒径的测定 以去离子水和1% SDS溶液为分散剂,使用激光粒度分析仪测定乳液的粒径分布和平均粒径。大豆油和水的折射率分别为1.472和1.330。絮凝指数按式(1)计算^[5]:

$$FI = \frac{d_{43\text{水}}}{d_{43\text{SDS}}} - 1, \quad (1)$$

式中:

FI ——絮凝指数;

$d_{43\text{水}}$ ——乳液在分散剂为水时测得的体积平均粒径, μm ;

$d_{43\text{SDS}}$ ——乳液在分散剂为1% SDS溶液时测得的体积平均粒径, μm 。

1.2.5 乳液的微观结构 取5 μL 乳液,用去离子水适当稀释后置于载玻片上,用盖玻片盖好,采用超景深三维显微镜观察,标尺为20 μm 。

1.2.6 乳液的稳定性 热稳定性:取新制乳液于90℃水浴中30 min,冷却后测定乳液粒径。贮藏稳定性:取新制乳液于样品瓶中,在25℃贮藏7 d,测定乳液的粒径;另取新制乳液于样品瓶中,在25℃垂直放置贮藏,测定30 d内乳液的总高度和乳液分层后的下清层高度,按式(2)计算乳析指数^[6]。

$$CI = \frac{H_s}{H_t} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

CI ——乳析指数,%;

H_s ——乳液的总高度,cm;

H_t ——乳液分层后的下清层高度,cm。

1.2.7 界面蛋白吸附率的测定 参照Liang等^[1]的方法并稍改动:取新鲜乳液在15 000 r/min离心30 min后,用注射器吸取下清层,过0.22 μm 针头式滤器,以牛血清白蛋白为标准蛋白,用Lowry法^[7]测定下清层的蛋白浓度。将油层和下清层取出后,剩余的沉淀部分采用凯氏定氮法测定蛋白含量。界面蛋白吸附率按式(3)计算:

$$AP = \frac{C_0 - C_s}{C_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

AP ——界面蛋白吸附率,%;

C_0 ——用于制备乳液的蛋白溶液中的蛋白浓度,mg/mL;

C_s ——乳液离心后未吸附层(下清层+沉淀层)中的蛋白浓度,mg/mL。

1.2.8 蛋白质电泳 采用蛋白质电泳法分析界面蛋白组成,参照Peng等^[8]的方法并稍改动:将乳液离心后得到的未吸附层完全吸出后,用缓冲液重新分散吸附层,采用蛋白质电泳法分析原豌豆蛋白和吸附层蛋白的组成。电泳条件:12.5%分离胶,4.0%浓缩胶,上样量:7.5 μL 。凝胶成像后用Image Lab软件分析其蛋白条带组成。

1.2.9 数据分析 试验数据用Origin 9.0软件制图,用SPSS 19.0软件Duncan检验法进行差异显著性分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 豌豆蛋白粉的组成及溶解度

2.1.1 豌豆蛋白粉的组成 豌豆蛋白是豌豆提取淀粉后的副产物,其传统提取工艺^[9]为:

豌豆→清理、浸泡磨浆→分渣→离心分离→酸沉→离心→碱溶→喷雾干燥→豌豆蛋白粉

目前工业化生产销售的豌豆制品中,法国罗盖特公司生

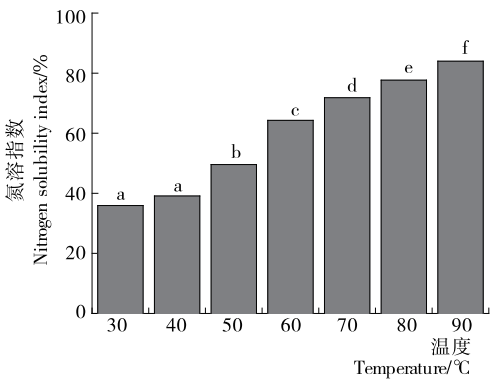
产的豌豆淀粉及豌豆蛋白最具代表性。因此,选择罗盖特 S85F 型豌豆蛋白粉作为研究乳化特性的原料,其基本成分见表 1。由表 1 可以看出,豌豆蛋白的含量在 80% 以上,且灰分和碳水化合物的含量较高,可能是由蛋白质提取时未能完全除去淀粉以及碱溶酸沉时引入盐离子造成的。

表 1 豌豆蛋白粉的基本成分(干基)

Table 1 The composition of pea protein powder(dry basis)

%			
蛋白质	灰分	脂类	碳水化合物
82.08±0.15	5.62±0.21	0.36±0.02	12.15±0.23

2.1.2 温度对豌豆蛋白溶解度的影响 温度对豌豆蛋白粉溶解度的影响见图 1。由图 1 可以看出,水浴温度低于 50 ℃ 时,豌豆蛋白的氮溶指数(NSI)不足 50%,表明温度较低时豌豆蛋白粉的溶解性不佳。与沙金华等^[10]在实验室自提的豌豆蛋白在 30 ℃ 时 NSI 可达 60% 相比,工业化生产的豌豆蛋白粉的水溶性较差。蛋白质的乳化特性受其溶解性的影响,但由于豌豆蛋白粉的溶解度较差,如果只利用可溶出的蛋白部分作乳化剂,会造成原料的浪费,因此考虑将豌豆蛋白粉整体作为乳化剂,并考察其乳化特性和界面吸附行为。



不同字母表示差异显著(P<0.05)

图 1 提取温度对豌豆蛋白氮溶指数的影响

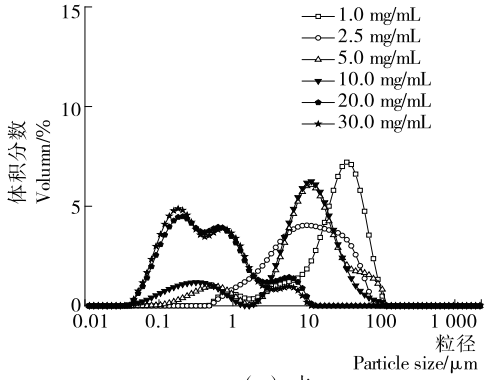
Figure 1 Effects of heat temperature on nitrogen solubility index(NSI)of pea protein

2.2 豌豆蛋白的乳化能力

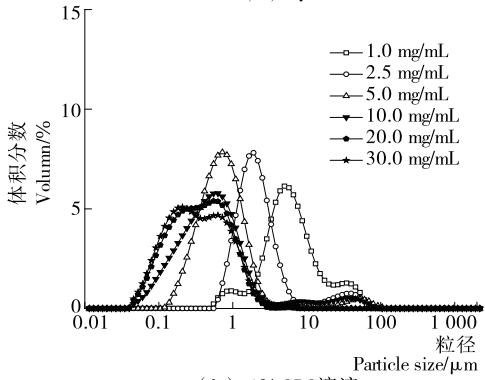
将豌豆蛋白粉与水预混为蛋白浓度为 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0 mg/mL 的分散液,在 30 ℃ 水浴下搅拌 1 h,采用均质法制备乳液,并测定其乳化特性。

2.2.1 乳液的粒径 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,可以抑制油滴间的桥联絮凝,使油滴分散,从而测得乳液中单个油滴的粒径分布^[1]。豌豆蛋白-大豆油乳液的粒径分布见图 2。由图 2 可以看出,蛋白浓度≤5.0 mg/mL 时,乳液的粒径分布很宽;随着蛋白浓度的提高,乳液的粒径明显降低,粒径分布呈现双峰、三峰的趋势。

根据乳液的粒径分布,可得出乳液的平均粒径及絮凝指数,见表 2。



(a) 水



(b) 1% SDS溶液

图 2 蛋白浓度对豌豆蛋白-大豆油乳液在分散剂中粒径分布的影响

Figure 2 Effects of protein concentration on the diameter distribution of pea protein-soybean oil emulsions when the dispersant is water or 1% SDS

表 2 蛋白浓度对豌豆蛋白-大豆油乳液的平均粒径及絮凝指数的影响[†]

Table 2 Effects of protein concentration on the average diameter and flocculation index of pea protein-soybean oil emulsions

蛋白浓度/ (mg · mL ⁻¹)	乳液的平均粒径/μm		FI
	d _{43水}	d _{43SDS}	
1.0	31.22±4.92 ^d	8.81±2.99 ^c	2.54±0.47 ^b
2.5	15.58±3.03 ^c	4.41±2.66 ^b	2.53±0.89 ^b
5.0	8.67±1.80 ^b	2.63±0.18 ^{ab}	2.30±0.34 ^b
10.0	5.50±0.25 ^b	1.47±0.47 ^{ab}	2.74±0.77 ^b
20.0	1.06±0.12 ^a	0.46±0.02 ^a	1.30±0.16 ^a
30.0	0.84±0.08 ^a	0.44±0.01 ^a	0.91±0.13 ^a

[†] 同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

乳液的平均粒径和絮凝指数,可以反映乳液中油滴的絮凝状态。由表 2 可知,当蛋白浓度从 1.0 mg/mL 增至 30.0 mg/mL,乳液的平均粒径从 31.22 μm 降至 0.84 μm,絮凝指数从 2.54 降至 0.91,说明乳液中油滴表面逐渐形成紧密的蛋白吸附层,有效抑制了油滴的絮凝和聚集。根据图 2 和表 2,蛋白浓度从 20.0 mg/mL 升至 30.0 mg/mL,乳液的粒径分布和平均粒径的差异很小,即此时升高蛋白浓度,无法使油滴的粒径显著降低。

2.2.2 乳液的微观结构 采用超景深显微镜可观察到豌豆蛋白-大豆油乳液中油滴的大小和聚集情况,见图 3。由图 3 可以看出,低蛋白浓度(1.0,2.5 mg/mL)时,蛋白含量不足以包裹所有油滴,可观察到大量大于 10 μm 的油滴,且絮凝、团聚严重。提高蛋白浓度后,油滴尺寸显著减小,粒径大部分在 5 μm 以下,但仍存在少量的团聚现象。

2.3 豌豆蛋白的乳化稳定性

乳液是热力学不稳定体系,随着贮藏时间的推移,乳液中的油水两相会逐渐分离以减小自由能,乳液发生分层、絮凝和聚结;而加热处理是蛋白乳液在加工过程中的重要步骤。因此,对新制乳液进行 90 $^{\circ}\text{C}$ 30 min 热处理或 25 $^{\circ}\text{C}$ 放置 7 d 的贮藏试验,考察乳液中油滴平均粒径的变化,结果见表 3。

由表 2 与表 3 中乳液的平均粒径对比可知,豌豆蛋白浓度 ≥ 5.0 mg/mL 时,乳液经过热处理或 25 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 7 d 后的

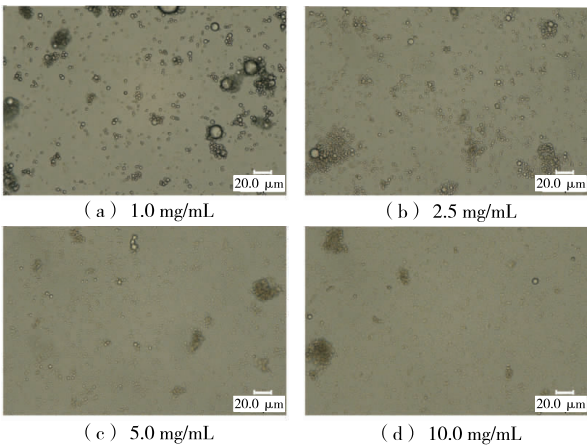


图 3 不同浓度的豌豆蛋白所制乳液的超景深显微镜
Figure 3 The micrographs of emulsions with different pea protein concentration

表 3 热处理或贮藏对豌豆蛋白-大豆油乳液平均粒径的影响[†]

Table 3 Effects of heat treatment or storage on the average diameter of pea protein-soybean oil emulsions

蛋白浓度/ (mg · mL ⁻¹)	热处理后乳液的平均粒径/ μm		贮藏后乳液的平均粒径/ μm	
	$d_{43\text{水}}$	$d_{43\text{SDS}}$	$d_{43\text{水}}$	$d_{43\text{SDS}}$
1.0	$32.48\pm 0.75^{\text{e}}$	$8.54\pm 0.10^{\text{e}}$	$30.18\pm 3.59^{\text{d}}$	$13.51\pm 0.27^{\text{e}}$
2.5	$23.39\pm 0.18^{\text{d}}$	$3.88\pm 0.03^{\text{d}}$	$17.76\pm 2.32^{\text{c}}$	$3.96\pm 0.02^{\text{d}}$
5.0	$8.51\pm 0.46^{\text{c}}$	$2.86\pm 0.01^{\text{c}}$	$8.71\pm 0.76^{\text{b}}$	$2.82\pm 0.01^{\text{c}}$
10.0	$7.49\pm 0.15^{\text{b}}$	$1.66\pm 0.02^{\text{b}}$	$6.83\pm 0.60^{\text{b}}$	$1.99\pm 0.02^{\text{b}}$
20.0	$1.08\pm 0.12^{\text{a}}$	$0.46\pm 0.02^{\text{a}}$	$1.27\pm 0.13^{\text{a}}$	$0.48\pm 0.01^{\text{a}}$
30.0	$0.84\pm 0.10^{\text{a}}$	$0.44\pm 0.01^{\text{a}}$	$1.05\pm 0.02^{\text{a}}$	$0.44\pm 0.01^{\text{a}}$

[†] 同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

平均粒径 $d_{43\text{水}}$ 的增量均 <2 μm ,表明豌豆蛋白乳液具有良好的热稳定性和贮藏稳定性。

为了进一步考察豌豆蛋白乳液的长期稳定性,对乳液在 25 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 30 d 内的表现分层情况进行拍照,结果见图 4。

根据各蛋白浓度所制乳液在 25 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 30 d 内的上浮、分层情况,计算各乳液的乳析指数,结果见图 5。由图 5 可以看出,1.0,2.5 mg/mL 蛋白所制乳液在 7 d 内即发生分层现象,乳析指数达 60%,说明此浓度下蛋白不足以覆盖所有的油滴,油滴在短期内发生聚集并上浮;蛋白浓度为 5.0 mg/mL

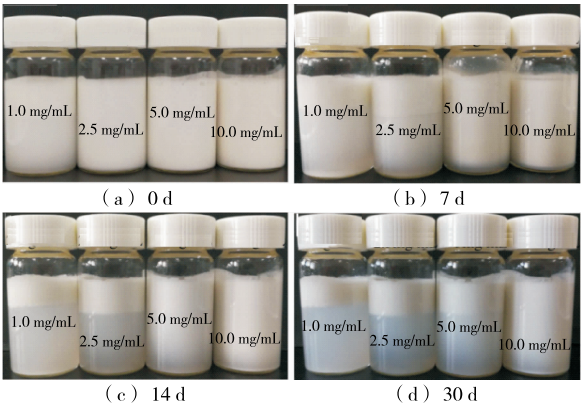
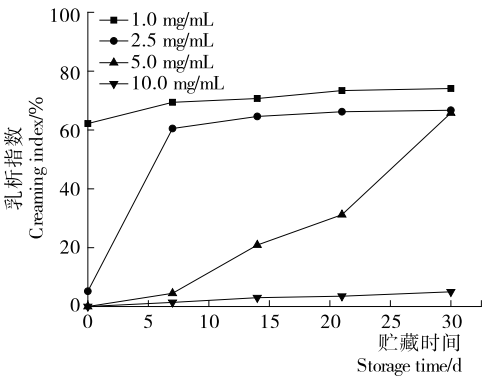


图 4 不同浓度的豌豆蛋白所制乳液的超景深显微镜
Figure 4 The micrographs of emulsions with different pea protein concentration

时,蛋白可以将油滴覆盖,并维持短暂的稳定性;蛋白浓度 ≥ 10.0 mg/mL 时,乳液仅发生轻微上浮,说明此时豌豆蛋白可以紧密包裹油滴,有效防止油滴聚结和乳析。

2.4 乳状液体系中豌豆蛋白的界面吸附特性及组分间的竞争吸附

2.4.1 界面蛋白吸附率 ($C_0 - C_s$) 可用来表示原豌豆蛋白分散液中参与乳化的蛋白含量,界面蛋白吸附率 AP 为吸附



蛋白浓度为 20.0,30.0 mg/mL 时,所制乳液在 25 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 30 d 内无明显分层现象

图 5 不同浓度的豌豆蛋白所制乳液的乳析指数
随贮藏时间的变化

Figure 5 Creaming index of emulsions with different protein concentrations during storage

在界面上的蛋白占体系中总蛋白量的比率,结果见表 4。

由表 4 可知,随着蛋白浓度的增加,界面上吸附的蛋白逐渐增多,AP 从 95.00%降至 44.87%。由图 1 可知,豌豆蛋白粉在 30 ℃时的氮溶指数仅为 36%,小于表 4 中的 AP 值,表明原分散液中的不溶蛋白也会参与吸附、乳化。蛋白浓度由 20.0 mg/mL 增至 30.0 mg/mL, $(C_0 - C_s)$ 变化较小,AP 明显降低,表明此时界面吸附蛋白趋近于饱和状态,界面蛋白膜趋于紧密。

表 4 豌豆蛋白-大豆油乳液在不同蛋白浓度下的界面蛋白吸附率[†]

Table 4 Proportion of interface adsorption of protein in emulsions with different pea protein concentration

蛋白浓度/(mg · mL ⁻¹)	$C_0 - C_s$ /(mg · mL ⁻¹)	AP/%
1.0	0.95 ± 0.01 ^a	95.00 ± 0.97 ^f
2.5	2.26 ± 0.01 ^b	90.40 ± 0.36 ^e
5.0	4.18 ± 0.02 ^c	83.60 ± 0.40 ^d
10.0	8.12 ± 0.03 ^d	81.20 ± 0.32 ^c
20.0	12.04 ± 0.38 ^e	60.20 ± 1.90 ^b
30.0	13.46 ± 0.18 ^f	44.87 ± 0.61 ^a

[†] 同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

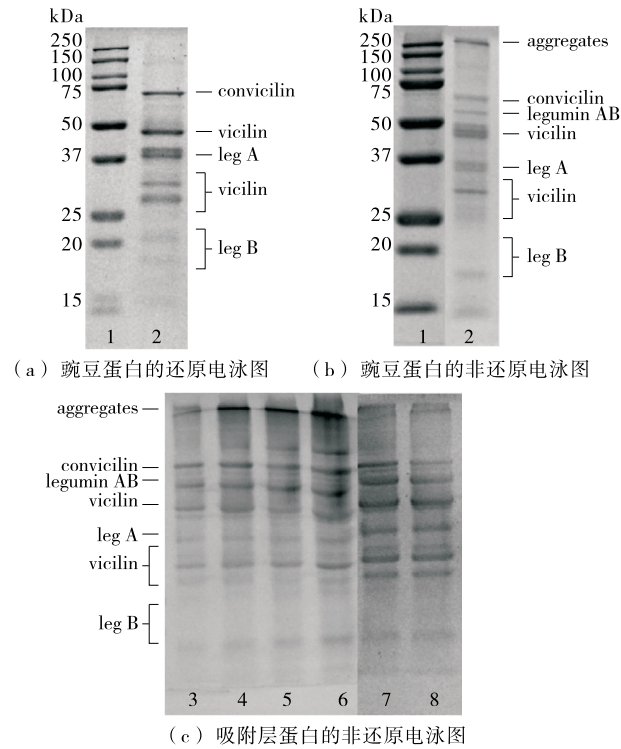
2.4.2 界面蛋白组成及竞争吸附 豌豆蛋白中的大部分蛋白为球蛋白,球蛋白可分为 legumin(11S)和 vicilin(7S)。11S 球蛋白是六聚体(320~380 kDa),由 6 对非共价亚基组成,每对亚基由 1 个酸性亚基(leg A, 38~40 kDa)和 1 个碱性亚基(leg B, 19~22 kDa)通过二硫键连接而成。7S 球蛋白是三聚体(150~180 kDa),由相对分子质量为 47~50, 30~34, <19 kDa 的亚基构成^[11],且缺乏半胱氨酸,无法形成二硫键。此外,豌豆蛋白中还有一类伴豌豆球蛋白 convicilin^[12],相对分子质量为 71~75 kDa,也有文献将其归为 vicilin 的 1 个亚基^[13]。

非还原电泳反映了原豌豆蛋白的组成,而还原电泳可反映各蛋白亚基的构成情况:在还原条件下,聚集体会发生解聚,11S 球蛋白的二硫键会打开,分成 leg A 和 leg B 2 个亚基^[14]。

为了研究蛋白浓度对乳液中吸附层蛋白组成的影响,对原蛋白进行了还原和非还原电泳分析,并对乳液的吸附层进行了非还原电泳分析,结果见图 6。用 Image Lab 软件对电泳图的条带进行分析,原蛋白的组成见表 5,乳液在不同浓度下的吸附层蛋白组成见表 6。

由图 6 和表 5 可知,在还原电泳的条件下,原豌豆蛋白中的各蛋白含量:7S 球蛋白>11S 球蛋白>convicilin>聚集体,在还原条件下聚集体仍然存在(分离胶顶端仍有浅条带),即 SDS 和 β -巯基乙醇不能使所有的聚集体都解聚。在非还原电泳的条件下,聚集体占比达 20.18%,而 7S 球蛋白的占比变化较小,说明聚集体中的 7S 球蛋白含量很低。

由图 6 和表 6 可知,蛋白聚集体(分子量 $\geq$ 250 kDa)在乳化时可吸附在油水界面上。蛋白浓度 $\leq$ 5.0 mg/mL 时,界



1. 标准蛋白 2. 用于制备乳液的豌豆蛋白 3~8. 分别对应蛋白浓度为 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0 mg/mL 时制备的乳液中的吸附层蛋白

图 6 豌豆蛋白和不同浓度蛋白所制乳液的吸附层蛋白的还原和非还原电泳图

Figure 6 Reducing and non-reducing electrophoretogram of original pea proteins and adsorbed proteins in emulsions with different pea protein concentration

表 5 原豌豆蛋白中的蛋白组成

电泳条件	聚集体	Convicilin	7S	11S
还原电泳	3.07	17.49	44.47	34.98
非还原电泳	20.18	8.39	45.13	25.49

表 6 豌豆蛋白-大豆油乳液在不同浓度蛋白下的吸附层蛋白组成

Table 6 Composition of proteins in adsorbed proteins in emulsions with different pea protein concentration

蛋白浓度/(mg · mL ⁻¹)	聚集体/%	Convicilin/%	7S/%	11S/%
1.0	36.80	12.77	24.80	25.63
2.5	46.03	9.89	24.90	19.18
5.0	35.30	9.00	26.07	29.63
10.0	29.07	11.70	34.25	24.98
20.0	17.47	13.84	39.05	29.63
30.0	16.31	8.02	45.30	30.38

面上吸附的聚集体占比最高;随着蛋白浓度的提高,聚集体的占比逐渐降低,7S、11S球蛋白的占比提高,且7S的吸附占明显优势。在趋于饱和和吸附的情况下(20.0,30.0 mg/mL),界面蛋白含量:7S球蛋白>11S球蛋白>聚集体>convicilin,且聚集体含量略低于原蛋白组成,11S球蛋白的含量相比于原蛋白组成有显著提高。

根据以上数据可推测:当蛋白含量不足以包裹油滴时,绝大部分蛋白会吸附到界面上,且聚集体、不溶蛋白的吸附会造成空间位阻,阻碍7S、11S球蛋白的吸附。当蛋白含量充足时,在均质时小分子的7S球蛋白迁移、吸附到界面上的速率较快,11S球蛋白次之,在小油滴形成时可以将其包裹住;而大分子的聚集体迁移速率慢,在吸附过程中处于劣势。当蛋白含量趋于饱和状态时,7S、11S球蛋白维持界面吸附的优势,聚集体占比进一步降低,直至略低于原蛋白组成,但整体占比波动较小,趋于稳定。

3 结论

在水包油型乳状液体系中,豌豆蛋白中的可溶和不溶蛋白组分共同参与吸附、乳化,且当蛋白浓度达20.0 mg/mL时,油水界面可趋于饱和吸附状态。随着蛋白浓度的提高,界面蛋白含量逐渐增加并趋于饱和,而在各蛋白组分对油水界面的竞争吸附中,大分子聚集体逐渐丧失吸附优势,7S和11S球蛋白在界面吸附中取得并维持优势,且能够更好地包裹和稳定油滴,最终表现为更好的乳化能力和稳定性。

参考文献

- [1] LIANG Han-ni, TANG Chuan-he. pH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 33(2): 309-319.
- [2] LIANG Han-ni, TANG Chuan-he. Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oil-in-water emulsions at pH 3.0 [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 58(2): 463-469.
- [3] 彭伟伟. 热处理对豌豆蛋白乳化性质及界面吸附行为的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 18-21.
- [4] 郭兴凤, 崔会娟, 胡婷婷. 碱性蛋白酶改性对豌豆蛋白乳化性影响[J]. 粮食与油脂, 2013, 26(10): 26-29.
- [5] CASTELLANI O, BELHOMME C, DAVID-BRIAND E, et al. Oil-in-water emulsion properties and interfacial characteristics of hen egg yolk phosphatidylcholine [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(1): 35-43.
- [6] FIREBAUGH J, DAUBERT C. Emulsifying and foaming properties of a derivatized whey protein ingredient [J]. International Journal of Food Properties, 2005, 8(2): 243-253.
- [7] LOWRY O H, ROSEBROUGH N J, FARR A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265-275.
- [8] PENG Wei-wei, KONG Xiang-zhen, CHEN Ye-ming, et al. Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 301-310.
- [9] 郭兴凤, 莫重文. 豌豆蛋白粉的制取研究 [J]. 郑州粮食学院学报, 1995, 16(3): 70-73.
- [10] 沙金华. 豌豆分离蛋白的制备, 性质及应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009: 11-12.
- [11] GATEHOUSE J A, LYCETT G, CROY R, et al. The post-translational proteolysis of the subunits of vicilin from pea (*Pisum sativum* L.) [J]. Biochemical Journal, 1982, 207(3): 629-632.
- [12] BARAC M, CABRILO S, PESIC M, et al. Profile and functional properties of seed proteins from six pea (*Pisum sativum*) genotypes [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2010, 11(12): 4973-4990.
- [13] OKANE F E, HAPPE R P, VEREIJKEN J M, et al. Characterization of pea vicilin 2: Consequences of compositional heterogeneity on heat-induced gelation behavior [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(10): 3149-3154.
- [14] CASEY R. Immunoaffinity chromatography as a means of purifying legumin from *Pisum* (pea) seeds [J]. Biochemical Journal, 1979, 177(2): 509-520.
- [15] LAZARIDOU A, DUTA D, PAPAGEORGIOU M, et al. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79(3): 1033-1047.
- [16] HAO Chang-chun, WANG Li-jun, LI Dong, et al. Influence of alfalfa powder concentration and granularity on rheological properties of alfalfa-wheat dough [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 89(2): 137-141.
- [17] LI Juan, HOU Gary G, CHEN Zheng-xing, et al. Studying the effects of whole-wheat flour on the rheological properties and the quality attributes of whole-wheat saltine cracker using SRC, alveograph, rheometer, and NMR technique [J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 55(1): 43-50.
- [18] ADDO K, XIONG Y L, BLANCHARD S P. Thermal and dynamic rheological properties of wheat flour fractions [J]. Food Research International, 2001, 34(4): 329-335.
- [19] 王坤, 吕振磊, 王雨生, 等. 变性淀粉对面团流变学特性和面包品质的影响 [J]. 食品与机械, 2011, 27(4): 20-24.
- [20] PITOMBO R N M, LIMA G A M R. Nuclear magnetic resonance and water activity in measuring the water mobility in Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) fish [J]. Journal of Food Engineering, 2003, 58(1): 59-66.
- [21] 付奎. 小麦淀粉对于面粉品质、冷冻面团及馒头的影响[D]. 郑州: 河南工业大学, 2014: 5-6.
- [22] 袁永利, 黄卫宁, 邹奇波. 食品酶制剂对冷冻面团流变学和微结构的影响 [J]. 食品与机械, 2006, 22(6): 30-33.
- [23] 李娟. 全麦苏打饼干烘焙品质改良以及水分迁移机制的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 66-67.
- [24] 刘爱华. 小麦品种品质特性与北方馒头品质关系的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2000: 32-33.
- [25] 王展, 印兆庆. 面粉中淀粉及其组分的含量与馒头品质关系的研究 [J]. 粮食与饲料工业, 2005(3): 13-14.
- [26] 奚宪鹏, 钱海峰, 张晖, 等. 小麦面筋蛋白酶解物对酵母增殖的影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2016(6): 597-603.
- [27] 陆启玉. 小麦面粉中主要组分对面条特性影响的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010: 26-30.

(上接第6页)