

肉桂醛添加方式对乳清浓缩蛋白凝胶特性的影响

Improvement of cinnamaldehyde addition on properties of whey protein concentrate gel

崔欢欢 秦奉达 李 艳 李 斌

CUI Huan-huan QIN Feng-da LI Yan LI Bin

(华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

(College of Food Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

摘要:利用乳液和微胶囊的包载改善肉桂醛的亲水性,并将其添加至浓缩乳清蛋白溶液中,利用热诱导形成乳清浓缩蛋白凝胶,表征凝胶的流变特性、持水性、质构及微观结构,探究肉桂醛添加方式对所得凝胶特性的影响。结果表明,添加肉桂醛后,蛋白质凝胶的持水力显著增加。以乳液形式添加时,肉桂醛含量与凝胶的黏弹性、持水力、质构特性和网络结构的致密性呈正相关;以微胶囊形式添加时,肉桂醛可显著增强凝胶的黏弹性、持水力、质构特性和网络结构的致密性,但肉桂醛含量变化对凝胶特性的影响较小。对比两种添加方式,肉桂醛以微胶囊形式添加更能有效地调控蛋白凝胶的持水性和质构特性。

关键词:肉桂醛;蛋白凝胶;纳米乳液;微胶囊;热诱导

Abstract: The nano-emulsions and microcapsules were used to improve the hydrophilicity of cinnamaldehyde, which were then added to whey protein concentrate solution. Protein gel was produced by heat-induced method. The rheological property, water holding capacity, texture and microstructure of protein gels were characterized to investigate the influence of encapsulated cinnamaldehyde on the property of protein gels. The results showed that the water holding capacity of protein gel significantly increased with the addition of cinnamaldehyde. When cinnamaldehyde was encapsulated by emulsions, the properties of heat-induced protein gels including viscoelasticity, water holding capacity, texture characteristics and network structure were positively correlated with the content of cinnamaldehyde. The addition of cinnamaldehyde microcapsules significantly enhanced the viscoelasticity, water holding capacity, texture characteristics and network structure compactness of protein gels. Whereas, the influence was independent on cinnamaldehyde content. Compared with the

two forms, cinnamaldehyde added in the form of microcapsules could more effectively regulate the water holding capacity and texture properties of protein gel.

Keywords: cinnamaldehyde; protein gel; nano-emulsion; microcapsule; heat induction

蛋白质是常见的食品组分,具有良好的凝胶性,蛋白质基质凝胶及其稳定性受到国内外学者的广泛关注^[1-2]。采用中链甘油三酯或麦芽糊精部分取代油相^[3]、超声处理^[4]、使用交联剂^[5]、多糖和蛋白共混^[6]等方法均能改善蛋白凝胶的质构,提高其稳定性。课题组前期研究^[7-8]发现,肉桂醛中的活性羰基可与蛋白质的氨基发生席夫碱反应生成亚胺键,促进蛋白质在油水界面上吸附,改善乳液特性。肉桂醛与蛋白质间的相互作用可增强乳清蛋白乳液凝胶的黏弹性^[9]。研究^[10]表明,利用微/纳米囊化的封装技术对植物精油进行包载,可改善精油的亲水性、理化稳定性,拓展其在食品领域中的应用。其中,纳米乳液和微胶囊粉末是两种常见的封装载体,前者是液体形态,后者为粉末状。而乳清浓缩蛋白具有良好的凝胶性、持水性和乳化性^[11],是制备凝胶最常用的一种蛋白基质。

试验拟先采用纳米乳液和微胶囊封装技术对肉桂醛进行包载,改善其亲水性,随后将其添加至乳清浓缩蛋白溶液中,再采用实际加工中常用的凝胶方式即热诱导制备蛋白凝胶,表征凝胶的持水力、质构特性、微观结构以及流变特性,探究肉桂醛乳液及微胶囊对乳清浓缩蛋白凝胶特性的影响,以期改善热处理过程中蛋白凝胶的聚集现象及凝胶的稳定性,旨在为实际加工中蛋白凝胶析水现象的改善和质构特性的提高提供新策略。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

乳清浓缩蛋白(WPC):约为 85%,Hilmar 8010,美国

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31972976)

作者简介:崔欢欢,女,华中农业大学在读硕士研究生。

通信作者:李艳(1983—),女,华中农业大学副教授,博士。

E-mail: yanli@mail.hzau.edu.cn

收稿日期:2020-07-21

希尔玛配料公司;

中链甘油三酯(MCT):武汉博星化工有限公司;

大豆油:益海嘉里金龙鱼粮油食品股份有限公司;

肉桂醛(CA):美国 Aladdin 公司;

尼罗红、异硫氢酸荧光素(FITC):美国 Sigma-Aldrich 公司;

吐温 80:国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

集热式恒温磁力搅拌器:DF-101S 型,巩义市英峪予华仪器厂;

数显恒温水浴锅:HH-4 型,常州国华电器有限公司;

质构仪:TA-XT plus 型,北京超技仪器技术有限公司;

光学法微流变仪:Rheolaser MASTER™ 型,法国 Formulacion 公司;

激光扫描共聚焦显微镜:FV3000 型,日本 OLYMPUS 公司;

高速离心机:H185OR 型,湖南湘仪离心机仪器有限公司;

激光粒度分析仪:Malvern 2000 型,英国 Malvern 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 乳液制备 CA 和 MCT 为油相,质量分数固定为 10%,其中 CA 含量分别为 0.00%,0.10%,0.20%,0.50%,1.00%,2.00%,5.00%,加入 7.5%吐温 80 混合均匀,逐滴加至超纯水中,700 r/min 搅拌 30 min 后即得 CA 乳液,于 4℃冰箱贮藏备用。根据肉桂醛含量,乳液分别命名为 E0.00、E0.10、E0.20、E1.00、E5.00。

1.2.2 微胶囊制备 称取 5% WPC 粉末溶于超纯水中,4℃冰箱过夜以充分水合,得 5% WPC 溶液,作为水相。CA 和大豆油作为油相,质量分数固定为 10%,其中 CA 含量分别为 0.00%,0.10%,0.25%,0.50%,1.00%。油水两相按质量比 1:9 混合,依次经高速剪切(12 000 r/min,3 min)、高压均质(62 MPa,循环 5 次)得到乳液。乳液进行喷雾干燥,选用 0.5 mm 雾化喷嘴,进风温度 180℃,出风温度 90℃,流量 6 mL/min,收集得到的粉末即为微胶囊,于干燥器中贮藏备用。根据肉桂醛含量,微胶囊分别命名为 M0.00、M0.10、M0.25、M0.50、M1.00。

1.2.3 蛋白凝胶制备

(1) 添加 CA 乳液的蛋白凝胶:制备 16% WPC 溶液,与 CA 乳液按质量比 1:1 混匀,最终体系中蛋白质含量为 8%、油相含量为 5%。90℃水浴 1 h,再冰浴 30 min,于 4℃冰箱静置 24 h,得热致凝胶。最终凝胶中 CA 含量分别为 0.00%,0.05%,0.10%,0.50%,2.50%。

(2) 添加 CA 微胶囊的蛋白凝胶:制备 8% WPC 溶液,添加 2%微胶囊并充分分散,热致凝胶制备方法同 1.2.3(1)。根据微胶囊的出粉率和包埋率计算得最终凝

胶中 CA 含量分别为 0.00%,0.02%,0.04%,0.08%,0.14%。

(3) 空白蛋白凝胶:8% WPC 溶液按 1.2.3(1)凝胶形成方式制备空白凝胶,命名为 WPC。

1.2.4 表征

(1) 粒径:分散相选择 MCT(折射率 1.440)和肉桂醛(折射率 1.620),连续相为水(折射率 1.333),转速 1 300 r/min,遮光率 4%,平行测定 4 次。

(2) 质构:探头型号为 P/0.5,压缩模式,测前速度 1.5 mm/s;测试速度 1.00 mm/s;测后速度 1.00 mm/s,测试距离 15 mm,返回高度 20 mm,感应力 5 g,平行测定 4 次。

(3) 激光共聚焦显微镜(CLSM):将染色剂尼罗红、FITC 同时与样品混合,取 20 μL 制样,90℃水浴 1 h,冷却后于 4℃冰箱放置 24 h,然后于 40×显微镜下观察样品的微观结构。

(4) 微流变:样品体积 20 mL,初始温度 20℃,结束温度 90℃,升温速率 1℃/min,测量时间 2 h。

1.2.5 持水力计算 称取 8 g 混合溶液于 10 mL 离心管中制备凝胶,3 070 r/min、4℃离心 20 min,称量离心管和凝胶的总质量。按式(1) 计算凝胶持水力。

$$C_{WH} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

C_{WH} ——凝胶持水力,%;

m_0 ——离心前凝胶质量,g;

m_1 ——离心管质量,g;

m_2 ——离心后离心管和凝胶总质量,g。

1.3 数据处理

采用 Excel 2016、Origin 2018、SPSS 25.0 软件进行数据分析处理, $P < 0.05$ 有显著性差异。所有试验重复 3 次,结果以平均值±标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 CA 添加对乳清浓缩蛋白凝胶形成的影响

试验表明,随着 CA 含量的增大,乳液的凝胶由乳白色逐渐变为淡黄色或黄色,说明 CA 与 WPC 发生了席夫碱反应。在 WPC 充足的情况下,CA 含量增大使得席夫碱反应程度加深,反应产物增多,因此凝胶颜色加深^[12]。而微胶囊中 CA 与蛋白质的接触减少,凝胶颜色相对较浅。WPC 空白凝胶放置 5 min 后出现析水现象,而 CA 的添加可以有效改善凝胶的析水情况。这是因为 CA 与蛋白质发生共价作用,使凝胶网络更加致密,保水力增强。

2.2 CA 添加对乳清浓缩蛋白凝胶黏弹性的影响

微流变是根据粒子无规则运动形成的均方根位移(MSD)随时间的变化关系得到样品的黏弹性特征。MSD

随去相关时间线性增加,表明粒子在一定的去相关时间内不受黏度影响,无规则运动较快,样品以黏性为主^[13];MSD呈现平台区,表明粒子受到弹性影响不能自由移动,样品以弹性为主^[14]。由图1可知,空白凝胶及低CA含量(0.0%~0.5%)的凝胶以黏性为主,样品E5.00以弹性为主。而添加少量的CA微胶囊后,凝胶即显示出良好的黏弹性。50 min后,弹性指数(EI)迅速上升,表明凝胶开始形成,液滴间相互作用增强^[15],其中样品WPC和

E0.00黏弹性最弱,样品E5.00黏弹性最强。加热使蛋白质分子展开,巯基和疏水基团充分暴露,并通过氢键和疏水相互作用等形成网络将液滴固定在其中^[11,16]。CA含量的增大增强了其与蛋白质的相互作用,粒子的无规则运动受到凝胶网络的阻碍^[17],从而提高蛋白凝胶的黏弹性。

2.3 CA添加对乳清浓缩蛋白凝胶持水性的影响

由图2可知,CA乳液或微胶囊的添加均能改善乳清

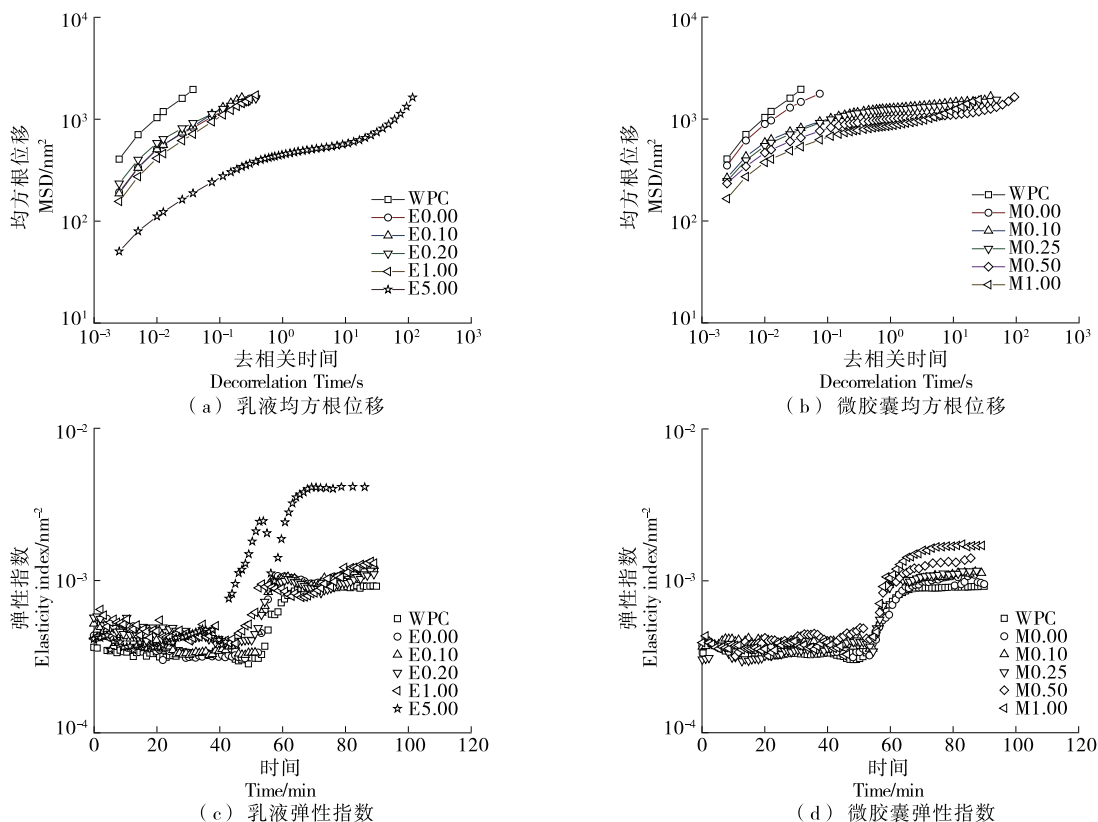
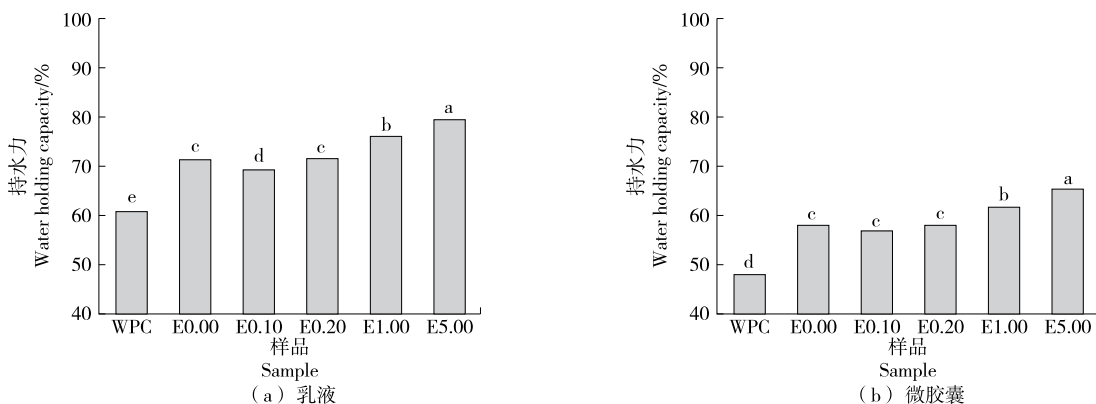


图1 蛋白凝胶的均方根位移及弹性指数随时间的变化

Figure 1 MSD and elasticity index profile of protein gels as a function of time



小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

图2 蛋白凝胶的持水力

Figure 2 Water holding capacity of different protein gels

浓缩蛋白凝胶的持水性,与宏观观察中析水现象改善的结果一致。蛋白凝胶的持水力随 CA 含量的增大而显著升高,表明乳液和微胶囊中的 CA 均可与乳清浓缩蛋白发生相互作用,使凝胶网络结构更加致密,液滴更牢固地填充在网络中。CA 乳液和微胶囊的添加对乳清浓缩蛋白凝胶持水力的提升效果相当,而微胶囊的添加同时可以增加蛋白质含量,有利于提高凝胶的持水性能。Sala 等^[18]指出,乳液凝胶在液滴尺寸较小的体系中具有较高的持水能力。

2.4 CA 添加对乳清浓缩蛋白凝胶质构特性的影响

由表 1 可知,样品 E0.00 的凝胶强度、硬度和黏附性分别是 WPC 凝胶的 1.98,2.45,4.86 倍。在蛋白质和非离子型表面活性剂混合体系中,未达到临界胶束浓度时,蛋白质和表面活性剂均吸附至界面上^[19],因此乳液存在时,蛋白质吸附至油水界面促进网络结构形成。随着 CA 含量的升高,蛋白凝胶的凝胶强度、硬度和黏附性整体呈上升趋势。当油水界面与凝胶基质存在相互作用时,活性填料可以加强凝胶网络,且增强作用取决于活性填料的体积分数^[20]。

由表 2 可知,微胶囊的添加可显著提高蛋白凝胶的凝胶强度、硬度和黏附性。加入微胶囊后,凝胶体系中蛋白质含量增加,有利于形成更强的网络结构。CA 以乳液

形式添加能更有效地提升蛋白凝胶的质构指标,可能是因为纳米乳液中油滴尺寸较小(纳米级),能更有效地增强凝胶的网络结构,且有利于 CA 与蛋白之间的相互作用^[16]。

2.5 CA 添加对乳清浓缩蛋白凝胶微观结构的影响

由图 3 可知,热处理后蛋白发生聚集,形成不连贯的网络结构。添加乳液后,液滴填充在网络结构中,凝胶网络结构连续。当 CA 含量低于 1.00% 时,乳液粒径较大,所以凝胶网络结构中的孔径较大。当 CA 含量为 5.00% 时,乳液粒径最小,更容易填充至凝胶基质中,所以网络结构最为致密^[21]。添加微胶囊后,蛋白凝胶的结构明显比 WPC 凝胶致密,微胶囊均匀分布在凝胶网络中。相比乳液,CA 以微胶囊形式添加时,其含量的升高并未显著影响凝胶结构。

3 结论

通过纳米乳液和微胶囊的方式改善香料组分肉桂醛的亲水性,研究了其添加对乳清浓缩蛋白凝胶特性的影响。结果表明,乳液中的肉桂醛更易于与乳清浓缩蛋白发生席夫碱反应,促使凝胶颜色由乳白色变为黄色,而添加微胶囊的凝胶颜色变化不明显。热致蛋白凝胶出现严重的析水现象,添加含有肉桂醛的乳液或者微胶囊均可

表 1 添加 CA 乳液的蛋白凝胶质构特性[†]

Table 1 Texture characteristics of protein gels in the presence of CA emulsions

样品	凝胶强度/g	硬度/g	黏附性/(g·s)
WPC	7.46±0.31 ^e	12.39±0.65 ^d	4.67±1.29 ^d
E0.00	14.77±0.65 ^{cd}	30.33±2.91 ^{ab}	22.69±3.76 ^b
E0.10	14.70±0.77 ^{cd}	29.94±1.73 ^{ab}	22.53±0.88 ^{bc}
E0.20	16.63±1.95 ^b	31.64±1.71 ^a	22.52±3.70 ^{bc}
E1.00	14.16±0.48 ^d	25.62±1.43 ^c	18.40±1.65 ^c
E5.00	22.15±0.73 ^a	29.37±1.27 ^{ab}	56.92±1.70 ^a

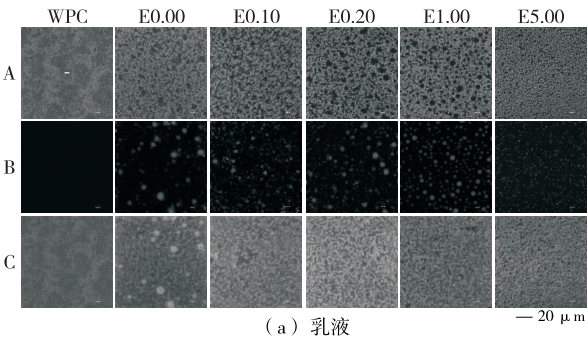
[†] 小写字母不同表示差异显著(P<0.05)。

表 2 添加 CA 微胶囊的蛋白凝胶的质构特性[†]

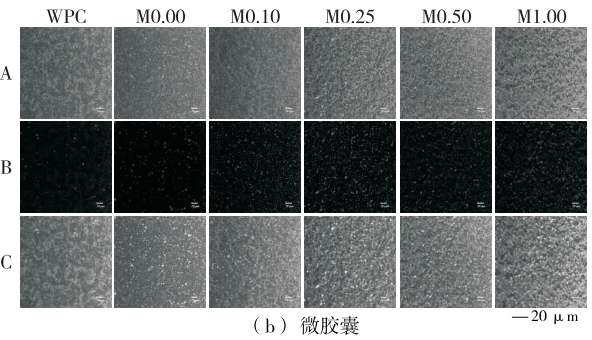
Table 2 Texture characteristics of protein gels in the presence of CA microcapsules

样品	凝胶强度/g	硬度/g	粘附性/(g·s)
WPC	7.46±0.31 ^c	12.39±0.65 ^c	4.67±1.29 ^c
M0.00	13.19±2.08 ^a	23.09±5.94 ^a	18.40±5.52 ^a
M0.10	13.73±0.58 ^a	20.29±1.15 ^{ab}	19.11±3.54 ^a
M0.25	13.07±0.82 ^a	21.89±1.89 ^a	17.24±1.85 ^{ab}
M0.50	11.23±0.73 ^b	17.54±1.23 ^b	14.70±2.79 ^{ab}
M1.00	11.15±1.06 ^b	17.09±1.64 ^b	13.34±2.02 ^b

[†] 小写字母不同表示差异显著(P<0.05)。



(a) 乳液



(b) 微胶囊

A. FITC 染色的蛋白质 B. 尼罗红染色的油相 C. A 和 B 的合成图像

图 3 蛋白凝胶的微观结构

Figure 3 Microstructures of different protein gels

提高蛋白凝胶的持水性,改善析水现象。肉桂醛以不同的形式添加后,凝胶的黏弹性均增加,其中添加乳液的蛋白凝胶的黏弹性低于添加微胶囊的蛋白凝胶。在乳液和微胶囊两种添加方式中,添加乳液的蛋白凝胶具有较强的凝胶强度、硬度和黏附性,而微胶囊液滴在蛋白凝胶中的稳定性较好。以上结果表明,通过改变脂溶性肉桂醛的添加方式可调控蛋白凝胶的稳定性及品质,有望改善蛋白质热加工过程中的不稳定性,并扩展香料肉桂醛在食品中的应用范围。后续将进一步分析探讨肉桂醛的添加对其他方法如酸诱导制备的蛋白凝胶的影响

参考文献

- [1] 周建中, 张晖. 植物蛋白凝胶及其应用研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(11): 1 128-1 135.
- [2] VAN V T, LAKEMOND C M M, VISSCHERS R W. Rheology and structure of milk protein gels[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2004, 9(5): 298-304.
- [3] MAO Li-ke, MIAO Song, YUAN Fang, et al. Study on the textural and volatile characteristics of emulsion filled protein gels as influenced by different fat substitutes[J]. Food Research International, 2018, 103: 1-7.
- [4] 胡雪娇, 陈永浩, 张春红, 等. 改性方法对核桃浓缩蛋白凝胶性的影响[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 17-21.
- [5] LIANG Xiu-ping, MA Cui-cui, YAN Xiao-jia, et al. Structure, rheology and functionality of whey protein emulsion gels: Effects of double cross-linking with transglutaminase and calcium ions [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 102: 105569.
- [6] JIANG Lian, REN Yan-ming, XIAO Yue-huan, et al. Effects of *Mesona chinensis* polysaccharide on the thermostability, gelling properties, and molecular forces of whey protein isolate gels [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 242: 116424.
- [7] ZENTNER C A, ANSON F, THAYUMANAVAN S, et al. Dynamic imine chemistry at complex double emulsion interfaces[J]. Journal of the American Chemical Society, 2019, 141(45): 18 048-18 055.
- [8] SARIKA P R, KUMAR P R A, RAJ D K, et al. Nanogels based on alginic aldehyde and gelatin by inverse miniemulsion technique: Synthesis and characterization[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 119: 118-125.
- [9] 陈恩民. 肉桂醛界面修饰乳清分离蛋白乳液基质的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018: 40-53.
- [10] DELSHADI R, BAHRAMI A, TAFTI A G, et al. Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 104: 72-83.
- [11] SPOTTI M J, TARHAN O, SCHAFFTER S, et al. Whey protein gelation induced by enzymatic hydrolysis and heat treatment: Comparison of creep and recovery behavior[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 696-704.
- [12] CHEN En-min, WU Shan, MCCLEMENTS D J, et al. Influence of pH and cinnamaldehyde on the physical stability and lipolysis of whey protein isolate-stabilized emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 69: 103-110.
- [13] TAN Yao-yao, WANG Jian-ming, CHEN Feng-qing, et al. Effect of protein oxidation on kinetics of droplets stability probed by microrheology in O/W and W/O emulsions of whey protein concentrate[J]. Food Research International, 2016, 85: 259-265.
- [14] XU Duo-xia, ZHANG Jin-jing, CAO Yan-ping, et al. Influence of microcrystalline cellulose on the microrheological property and freeze-thaw stability of soybean protein hydrolysate stabilized curcumin emulsion[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 66: 590-597.
- [15] FU Wei-ting, CHEN En-min, MCCLEMENTS D J, et al. Controllable viscoelastic properties of whey protein-based emulsion gels by combined cross-linking with calcium ions and cinnamaldehyde[J]. ACS Applied Bio Materials, 2018, 2(1): 311-320.
- [16] LU Yao, MAO Li-ke, HOU Zhan-qun, et al. Development of emulsion gels for the delivery of functional food ingredients: From structure to functionality[J]. Food Engineering Reviews, 2019, 11(4): 245-258.
- [17] XIA Qiu-yang, XIAO Hui-ning, PAN Yuan-feng, et al. Microrheology, advances in methods and insights[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2018, 257: 71-85.
- [18] SALA G, VAN V T, STUART M C, et al. Deformation and fracture of emulsion-filled gels: Effect of gelling agent concentration and oil droplet size[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(7): 1 853-1 863.
- [19] FARJAMI T, MADADLOU A. An overview on preparation of emulsion-filled gels and emulsion particulate gels[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 86: 85-94.
- [20] MAO Li-ke, ROOS Y H, MIAO Song. Study on the rheological properties and volatile release of cold-set emulsion-filled protein gels[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(47): 11 420-11 428.
- [21] BALAKRISHNAN G, NGUYEN B T, SCHMITT C, et al. Heat-set emulsion gels of casein micelles in mixtures with whey protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 73: 213-221.