

蛋白质乳浊液体系稳定性研究进展<sup>\*</sup>

蔡志宁 赵谋明

(华南理工大学食品与生物工程学院 广州, 510640)

**摘 要** 蛋白质乳浊液体系是食品中最重要的体系之一。如何提高蛋白质乳浊液体系的稳定性的问题一直是食品科学家关心的热点,文中主要介绍了蛋白质乳浊液体系稳定性的破坏,有关乳浊液体系稳定的理论以及影响乳浊液体系稳定性的因素,如蛋白质的功能性质、乳化剂以及 pH 值和盐等。同时,文中还介绍了多糖与蛋白质相互作用对蛋白质乳浊液体系稳定性的影响。

**关键词** 蛋白质 乳浊液体系 稳定性 影响因素

蛋白质乳浊液体系是食品中最重要的体系之一。各类植物蛋白饮料、乳类饮品都属这类体系。蛋白质乳浊体系的不稳定性是食品工业中经常遇到的问题,主要表现为油水分离、脂肪上浮、蛋白质沉淀、质感粗糙等宏观现象,严重影响到食品的外观和内在质量,是食品工业中亟待解决而又难以彻底解决的重要技术问题。影响蛋白乳浊体系稳定性的因素很多,蛋白质的功能特性如溶解性、凝胶性、亲/疏水性、乳化性等是影响蛋白乳浊液体系的关键因素;另一个很关键因素是蛋白质和多糖类之间的交互作用。

## 1 蛋白质乳浊体系稳定性失稳的机理

乳浊体系失去稳定性可能由于下列 5 种机理中的某一个或几个同时而发生:絮凝、聚结、分层与沉降、奥氏熟化和相转化。

### 1.1 絮凝(flocculation)

絮凝是指在不改变原始液滴大小的情况下,由于液滴相互聚集而形成更大聚集体单元的现象。液滴的粘连形成了集合或聚集在一起,这个集合体的生成即为絮凝,它常在液滴之间引力大于斥力时发生。此时不需要围绕液滴的界面层整体破坏,这些引力主要是范德华力和静电引力。从分层失稳的角度来看,这些凝集物就像是大油滴一样,而凝集物与分散相之间巨大的密度差则大大加快了系统的分层。稳定乳浊液中的液滴通过静电稳定作用或空间稳定作用而不发生絮凝。静电作用稳定的液滴通过它们的带电表面间的相互排斥而保持分离状态,而空间稳定作用的液滴是通过它们吸附的大分子层的渗透压排斥而保

持相互分离的<sup>[1]</sup>。具有表面活性的高分子电解质如蛋白质能提供静电稳定作用和空间稳定作用,对乳浊液体系的稳定性具有重要的影响。

### 1.2 分层(creaming)与沉降(sedimentation)

这一过程通常是在外力(如重力和离心力)的作用下产生的。当外力的作用力超过布朗热运动的时候,体系就会出现一个浓度梯度,从而使较大的液滴以较快的速度向体系的底部(如果液滴的密度大于介质的密度)或顶部移动。在极端的情况下,液滴会在体系的顶部或底部紧密地(随机的或有序的)堆积起来,而其余空间将由连续相(介质)所占据。当液滴移动到顶部而发生相分离的情况称为分层(creaming),而把液滴移动到底部而发生相分离的情况称为沉降(sedimentation)<sup>[28]</sup>。分层和沉降在一定程度上是可逆的,可以通过温和搅拌重新分散为均匀的液滴<sup>[2]</sup>。

### 1.3 聚结(coalesce)

当 2 个液滴在一个絮凝块中相互靠近或者在布朗运动中相互碰撞时,例如在浮层或沉降层中液膜的薄化和扰动就会出现,最终导致它的破裂从而使液滴相互合并,即聚结(coalesce)或称聚并<sup>[3]</sup>。在这种失稳情况下,聚结油滴附近围绕的外壳发生局部破坏,小油滴溶到一起并形成一个大油滴。当聚结发生时,界面膜失去和液滴更紧密接触,将导致液滴数量减小。最终影响是所有液滴聚结在一起,即形成 2 个独立的分离的相。与分层和絮凝不同,聚结经常是不可逆的,并且一旦发生也是不可接受的。聚结要求在 O/W 界面上的稳定膜的破裂,但是这仅在粒子间的连续相层薄到某个关键性厚度时才发生<sup>[2]</sup>。

### 1.4 奥氏熟化(ostward ripening)

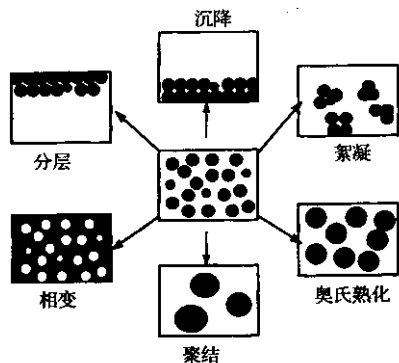
奥氏熟化是指在 laplace 压力差的影响下,乳浊液中较小液滴的分散相通过分散介质扩散到较大的

第一作者:博士研究生,讲师(赵谋明教授为通讯作者)。

<sup>\*</sup> 国家自然科学基金资助项目(No. 20276022)

收稿时间 2004-11-18, 改回时间:2005-1-06

液滴,造成消耗小液滴以形成更大的液滴的现象。小液滴和大液滴间表面自由能的差异为油相通过连续相从一个液滴向另一个液滴的迁移提供了驱动力。在液滴大小的分布随时间变化的乳浊液中,平均液滴直径的立方和时间的线性关系表明发生了奥氏熟化过程<sup>[14]</sup>。假如形成乳状液的两相并非完全不相溶,并且在乳状液中液滴大小不相同,由于奥氏熟化过程存在,小液滴将逐渐消失而大液滴形成。



## 1.5 相转化

在临界量达到之前,随着越来越多的分散相物质转入连续相中,此时乳状液粘度也将会提高。假如分散相转入连续相的物质超过临界量,乳状液将使不连续的相转化为连续的相,即发生了相转化<sup>[1]</sup>。

## 2 蛋白质乳浊体系稳定的理论

### 2.1 DLVO 理论

DLVO 理论是用静电力和 van der waals 力描述稳定性的一个理论。这一理论是由 Derjaguin 和 Landua(1941)以及 Verwey 和 Overbeek(1948)提出的,因此称为 DLVO 理论。该理论假设,在分散粒子相互作用中存在一个斥力势能和引力势能之间的平衡。斥力作用被认为是由于粒子周围带有相同电荷的扩散双电层,和粒子与溶剂之间作用引起的;而粒子之间的 van der waals 力,则是形成引力作用的主要原因。为了达到分散粒子的目的,必须将粒子间的斥力作用提高到足以克服粒子之间的引力作用,并能使已经聚沉的粒子重新分散<sup>[5]</sup>。粒子间的范德华力是由分子间的3种引力形成:偶极-偶极(Keesom)、偶极-诱导偶极(debye)和诱导偶极-诱导偶极(London)也叫色散相互作用<sup>[6]</sup>。第3种力起因于分子内的电荷波动,甚至对于非极性分子,它也是很有限的。

分散的油相通过表面基团的离子化作用获得电

荷。电性相反的电荷离子(反离子)吸引到这个表面,而相同电性的离子(同离子)则从这个表面排斥出去。靠近带电荷表面的不等量反离子和同离子区域称为双电层。双电层由2个区域组成:一个紧密吸附离子的内层区和一个离子按静电力与无序热运动之间的平衡而扩散分布的外层区。

### 2.2 空间位阻效应

分散在溶液中的固体,可以通过双电层之间的静电力以及水合作用力产生的空间势垒以达到稳定的目的。除此之外,吸附在固体粒子表面上的高聚物或表面活性剂的分子,也会产生一种对分散固体的稳定作用,即空间位阻效应。Tadros 认为,这些相互关联将产生2个效应:混合效应和熵效应,并统称为空间位阻效应<sup>[5]</sup>。

混合效应是由于溶剂与链之间的相互作用,以及高浓度链的区域重叠所造成的。当两相邻粒子彼此接近的距离小于粒子表面层厚度的1/2时,这一效应变的非常明显。多糖分子和蛋白质乳化剂分子间存在相互排斥(阴离子多糖与蛋白质间的静电排斥)或没有相互作用(无乳化活性的中性多糖与蛋白质乳化剂)时,多糖不吸附到蛋白质覆盖的界面上。多糖分子被蛋白质分子排斥,在液滴周围形成排斥多糖分子的排斥区。在2个液滴相互接近时,排斥区相互重叠,液滴间多糖分子的浓度比体相的多糖分子浓度低。由此产生一个渗透压梯度,这种渗透压梯度增加了液滴间溶剂流出排斥区。结果排斥区的体积下降,液滴更加接近,从而形成排斥絮凝,但种絮凝体的相互吸引相互作用相当弱<sup>[7-9]</sup>。

产生熵效应的原因是,当相邻粒子彼此几乎完全接近时,进入液相的扩张链的运动受到限制,使得吸附分子的构型熵减少所造成的。当粒子表面分开的距离小于吸附层厚度时,这一效应显得尤为突出。Florry<sup>[10]</sup>等人研究了仅含有溶剂分子和杆状粒子的二相体系,通过热力学参数计算发现在最小自由能时,溶液应该分离成含有较低浓度的随机定向粒子的各向同性相和含有较高浓度的平行定向粒子的各向异性相,并且推测如果杆状粒子的长度对直径的比率增加则相分离越显著。Florry 等人认为这种相分离过程是熵驱动的自发过程,即使在粒子间相互作用能为零的情况下也能发生。

### 2.3 stokes 公式<sup>[11]</sup>

在乳浊体系中油滴形成环斑或上浮的速度可以通过 stokes 定率用重力及与其相反的上浮力关系式

来确定:

$$v = 2gr^2(\rho_1 - \rho_2)/9\eta$$

式中  $v$  是上浮或沉淀的速度 (m/s),  $g$  是重力加速度 (m/s<sup>2</sup>),  $r$  是油滴半径 (m),  $\rho_1$  是油相密度 (kg/m<sup>3</sup>),  $\rho_2$  是水相密度 (kg/m<sup>3</sup>),  $\eta$  是水相粘度 (Pa·s)。在蛋白质乳浊体系中, 油相密度  $\rho_1$  小于水相密度  $\rho_2$ ,  $v$  的计算值若为负值, 那么将会发生上浮或环斑现象。Stokes 公式表示某一液滴的分层速度  $v$  直接与油相和水相之间的密度差成正比, 也与油滴半径的平方成正比。因此减少乳浊液液滴尺寸是控制分层速度的有效方法。为了得到良好的稳定性, 控制好油滴尺寸大小非常重要。同时, 它也与水相粘度成反比, 因此, 也可以通过增加水相粘度来提高乳浊液体系的稳定性。从该公式还可以看出, 如果水相与油相密度相同, 就不会有分层现象发生。因为当  $\rho_1 = \rho_2$  时 ( $\rho_1 - \rho_2$ ) = 0, 因此  $v = 0$ 。由于油比水轻, 因此增加油相密度也是提高体系稳定性的方法之一。

### 3 影响蛋白质乳浊体系稳定性的因素

#### 3.1 蛋白质的功能性质

由于蛋白质既具有亲水性又具有亲油性, 因此常作为乳化剂来稳定蛋白质乳浊体系, 作为乳化剂使用的蛋白质总是吸附在分散粒子表面并让其亲水链伸入水相, 既形成在胶粒表面的吸附膜以降低其表面张力, 又形成围绕胶粒空间保护层以阻止胶粒聚集。蛋白质水化特性是其他功能特性的基础, 蛋白质水化后, 分子表面形成水化膜, 其亲水性胶体稳定性决定于表面电荷在非等电点的条件下, 带有大量的电荷, 吸附溶液中的异性电荷, 形成所谓双电层, 将分子颗粒包住, 彼此间排斥, 形成水化膜的蛋白质分子相互隔离开来, 不再发生分子间碰撞、絮凝。蛋白质溶解度为蛋白质可应用性提供一个很好的指标, 这是由于蛋白质的不溶解程度或许是蛋白质变性和聚集的度量, 而且处在变性和部分聚集状态的蛋白质常常会损害它参与凝胶作用、乳化作用和起泡作用的能力。

乳化性质是蛋白质的重要功能性质之一, 它主要包括乳化能力 (emulsifying capacity, 简称 EC)、乳化活性 (emulsifying activity, 简称 EA) 和乳化稳定性 (emulsifying stability, 简称 ES), 它们与蛋白质带电性、结构、浓度及 pH 等有关。EA 涉及蛋白质形成并稳定乳状液的能力。EC 涉及每单位质量蛋白质乳化油脂的体积。ES 反映使乳状液稳定不上浮, 不絮凝和油脂不析出的能力。一般认为, 一旦蛋白质的一部

分与界面接触, 非极性氨基酸就定向排列到非水相, 体系的自由能下降, 蛋白质其余部分自发的被吸附, 如果体系有足够大的表面, 大部分蛋白质分子充分展开形成一单分子层, 这层单分子是食品乳浊液体系稳定的基础。

#### 3.2 食品乳化剂

Rrog 和 Lauridsen 认为, 乳化剂的作用主要有 3 个方面: (1) 减小 O/W 界面张力促进乳化作用, 在 O/W 乳化剂间使平衡相形成; (2) 在食品中改善组织和流动性并与淀粉和蛋白质成分作用; (3) 改善脂肪和油脂结晶。由于食品乳化剂有多种多样的性质, 所以选择不同乳化剂可以制备成有各种特性的食物产品<sup>[12]</sup>。通过加乳化剂减小表面张力是蛋白质乳浊体系形成的主要因素。它表明比起无乳化剂时乳状液形成需较小的能量。一旦形成乳化剂的界面膜, 它对液滴凝聚就似一种有效的障碍物。在食品加工中, 为了控制食品乳浊液的稳定性, 通常加入低分子质量的表面活性剂。但是加入的表面活性剂常常将蛋白质从界面上置换出来。Tween20 具有从 O/W 界面置换出牛乳蛋白的能力。如果表面活性剂在乳化时存在于水相或乳化后加入就能发生置换现象<sup>[13]</sup>。

小分子乳化剂和蛋白质通过 2 种不同的机制稳定乳浊液。界面的扰动 (如通过液滴形变或小漩涡形成的) 造成界面的伸展并导致表面张力梯度的形成。表面的这种变化可以通过小分子乳化剂在界面上逆表面张力的梯度进行横向扩散或从体相吸附乳化剂而恢复平衡。这种机制称为 Gibbs Marangoni 效应。相反, 对于蛋白质乳浊液, 吸附在界面的蛋白质分子与邻近的分子相互作用, 在界面形成粘性或粘弹性膜。这种相互作用固定了蛋白质分子并且一定程度上阻碍了吸附层的形变。由于界面膜中连通性的存在, 界面扰动的影响在很大的区域被耗散掉<sup>[14]</sup>。

#### 3.3 pH

pH 值的改变会影响蛋白质分子的离子化作用和净电荷值, 从而改变蛋白质分子的吸引力和排斥力以及蛋白质分子与水分子结合的能力。pH 值也影响着蛋白质的乳化性质, 一些蛋白质在等电点溶解度很低, 减少了形成乳化液的能力, 而且由于处于等电点时缺乏静电排斥, 也不利于乳状液的稳定。胡坤等发现随着 pH 值从 6.5 增加到 7.5, 大豆分离蛋白的乳化活性逐渐增加, 这主要是大豆分离蛋白溶解度增加的缘故<sup>[15]</sup>。Dickinson 等人认为, 当蛋白质与多糖 2 种大分子带净负电荷 (如  $\text{pH} > \text{pI}_{\text{pro}}$ ) 时, 蛋白质分子

片断上带正电荷的区域与阴离子多糖能发生静电吸引相互作用形成可溶络合物,从而提高蛋白质的乳化性质<sup>[16]</sup>。

### 3.4 盐

向蛋白质水溶液中加入中性盐,可产生 2 种影响:一是盐离子与蛋白质分子中的极性和离子基团作用,降低蛋白质分子的活度系数,使其溶解度增加。在盐浓度较低时以这种情形为主,蛋白质表现为易于溶解,称为盐溶现象;二是盐离子也与水这种偶极分子作用,使水的活度系数降低,导致蛋白质水合程度降低,使蛋白质溶解度减小。在盐浓度较高时这种情况起决定作用,蛋白质会沉淀,称为盐析现象<sup>[17]</sup>。

离子在围绕每一油液滴的水溶剂上将形成电荷的双层。由于电荷分离的解释主要依靠 DLVO 理论。DLVO 理论认为,加入中性盐屏蔽了带电粒子的表面电荷,使双电层的厚度变薄,胶体粒子表面电位降低,2 个胶体粒子之间的排斥位能距离分布发生改变,而吸引位能的距离分布不受影响。中性盐在近程内不会影响总斥力位能,因为近程内任何情况下吸引力都占优势。另一方面,在有最大值的中等距离时,斥力位能的减少可能相当大,双电层的压缩就可能使位垒消失。

## 4 多糖与蛋白质相互作用对蛋白质乳浊体系稳定性的影响

在食品体系当中,多糖与蛋白质是常见的 2 种生物高分子物质,大多数多糖不具或仅具有微弱的界面活性,但是却具有能显著改变体系流变性的特点,基本上被用作增稠剂或稳定剂。实际上,蛋白质往往与多糖共存于同一体系,它们对乳浊体系稳定性的影响不是它们单独存在时对乳浊体系的影响那么简单,除了它们单独存在时的功能性质以外,蛋白质和多糖的相互作用也是影响乳浊体系稳定性的主要原因。

食品乳状液中蛋白质与多糖的交互作用分为以下 3 种类型:(1)强交互作用,包括共价交互作用和静电交互作用;(2)弱交互作用;(3)无交互作用发生<sup>[18]</sup>。一般说来,水相体系中分子链节间的相互作用使得蛋白质和多糖分子要么相互吸引,要么相互排斥。相互吸引时,一方面会增加两相界面上蛋白质吸附层的厚度和强度而有利于胶体的稳定,另一方面也可能会由于多糖在吸附的蛋白之间的交联而发生絮凝使体系失去稳定性。同样,蛋白质和多糖的相互

排斥对体系稳定性的影响也是双重的,这种相互排斥一方面会使吸附着蛋白质的油滴因被固定在水多糖形成的交联网状结构中不能相互靠近,从而增加体系的稳定性,另一方面,这种相互排斥所带来的蛋白质和多糖的热力学不相适性(thermal incapability)会使体系由于排除絮凝(depletion flocculation)而发生相分离<sup>[19]</sup>。

### 4.1 稳定作用

高分子量的水溶聚合物添加到悬浮液和乳化液中,其作用被认为是作为胶凝剂和增稠剂。也就是说,由于聚合物网络结构的形成,改变了水相分散介质的流变学性质而抑制了不稳定现象的发生。Cao 等人用酪蛋白稳定的乳化液做试验,观察添加一些多糖如黄原胶、CMC、糊精等对乳化液稳定性的影响,结果发现,当多糖浓度高达 0.25% 时,油滴的体积分数保持长时间不变,乳化液放置数天没有分层现象发生。

Kato 等人发现<sup>[20-21]</sup>,在蛋白质变性温度下,加热含蛋白和多糖的溶液,蛋白和多糖发生美拉德反应,所形成的聚合物具有良好的乳化稳定性。他们将试验分为 3 组,单纯乳清蛋白组、糊精与蛋白简单混合及糊精与蛋白混合后加热。研究发现,与前 2 组相比,最后一组形成的乳化液液滴均匀而且放置较长的时间保持液滴直径不发生变化,溶液不发生分层,说明共价结合后的蛋白与多糖能提高乳化液的稳定性。

### 4.2 去稳定作用

许多非离子多糖及一些带电多糖并不能与蛋白形成复合物。与溶液中蛋白-蛋白及多糖-多糖的作用相比,蛋白与多糖的交互作用是相当弱的或是排斥性的。在蛋白质稳定的乳化液中,这就意味着液滴表面多糖的吸附作用很弱,或是在液滴周围发生排斥作用,这种情况可导致絮凝的发生,最终导致乳状液的不稳定<sup>[22]</sup>。Reiffers-Magnani 等人<sup>[9]</sup>也研究了甲基纤维素对乳清蛋白乳浊液稳定性的影响。由于甲基纤维素与蛋白质无相互作用。在低于相分离的阈值浓度下,蛋白质包被的液滴被未被吸附的多糖排斥而产生排斥絮凝现象;当二者的浓度高于相分离阈值时,同时发生排斥絮凝和相分离现象。

蛋白质乳浊液体系的稳定性问题一直是食品科学家关心的热点问题之一,对影响乳浊体系稳定性的因素做了大量的研究,但是由于乳浊体系的复杂性,虽然稳定性有所提高,但仍然没有解决乳浊体系的稳定性问题。

## 参 考 文 献

- 1 胡 坤,赵谋明,彭志英. 乳化剂和多糖对蛋白质乳浊液的稳定性的影响[J]. 食品与发酵工业,2002,28(6):61~65
- 2 Dickinson E, Ritzoulis C, Yamamoto Y et al. Ostwald ripening of protein-stabilized emulsion: effect of transglutaminase crosslinking[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerface, 1999(12):139~146
- 3 梁文平. 乳状液科学与技术基础[M]. 北京: 科学出版社, 2001
- 4 Dickinson E, Stainsby G. Emulsion stability[M]. In: Eric Dickinson, George Stainsby, ed. Advances in Food Emulsions and Foams. Holand: Elsevier Applied Science, 1988. 139~146
- 5 李葵英. 界面与胶体的物理化学[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 1998
- 6 Tadros T F. Effect of Polymers on Dispersion Properties [M]. London: Academic Press, 1982
- 7 Tesch S, Schubert H. Influence of increasing viscosity of the aqueous phase on the short-term stability of protein stabilized emulsion[J]. Journal of food Engineering, 2002(52):305~312
- 8 Dickinson E, Maria G, Semenova Anna S et al. Effect of high-methoxy pectin on properties of casein-stabilized emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 1998, 12: 425~432
- 9 Reiffers-Maganani C K, Cuq J L, Watzke H J. Depletion flocculation and thermodynamic incompatibility in whey protein stabilized O/W emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2000(14):521~530
- 10 Folry P J. Phase equilibria in solutions of rod-like particles [J]. Proceedings of the Royal Society of London. 1956, A234:73~88
- 11 McClements D J. Food Emulsion[M]. New York: CRC Press, 1999
- 12 焦学瞬, 薛毅. 天然食品乳化剂和乳状液组成、性质、制备、加工与应用[M]. 北京: 科学出版社, 1999
- 13 Jeffrey L, David H S, Andrew J R. Interactions of proteins and surfactants at oil-water interfaces: influence of a variety of physical parameters on the behaviour of milk proteins[J]. International Dairy Journal, 1999(9(3~6)):319~322
- 14 David C C, Mark C, Peter J W W. Food polymers, gels and Colloids[M]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1991. 272~276
- 15 胡 坤. 多糖对大豆分离蛋白乳浊体系特性的影响及其作用机理的研究[D]. 华南理工大学博士论文, 2003
- 16 Dickinson E, Galazaka V B. Emulsion stabilization by protein-polysaccharide complexes[M]. In: Phillips G O, Wedlock D J, Williams P A, ed. Gums and Stabilizers for the Food Industry. Oxford: IRL Press, 1992(6):351~362
- 17 陆慰孙, 李 维, 姜涌明. 蛋白质分子基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999. 320~321
- 18 Dickinson E, Euston R. S. Stability of food emulsions containing both protein and polysaccharide[M]. In: Dickinson E ed. Food Polymers, Gels and Colloids. UK: Royal Society of Chemistry, 1991:132~146
- 19 Eric Dickinson, McClements D J. Advances in Food Colloids [M]. New York: Blackie Academic & Professional, 1996
- 20 Kato A, Sasaki Y, Furuta R et al. Functional protein-polysaccharide conjugate prepared by controlled dry-heating of ovalbumin-dextran mixtures[J]. Agri Biol Chem, 1990(54):107~112
- 21 Kato A. Effects of the length of the polysaccharide chains on the improvement of the functional properties of soy protein modified with polysaccharides[C]. Report of the Soy Protein Research Committee, 1995(15):7~12
- 22 孙哲浩, 赵谋明, 彭志英. 蛋白质与多糖类交互作用对食品乳状液稳定性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(2):61~65

## Progresses in the Study of the Stability of Protein Emulsion System

Cai Zhining Zhao Mouming

(College of food and bioengineering, South China university, Guangzhou 510640, China)

**ABSTRACT** Protein emulsion system is one of the important systems in food science. How to improve the stability of the system is one of the most concern topics. This article illustrated how the system stability be destroyed, theories and factors that affect the stability, such as properties of the proteins, emulsifying agents, pH and salts.

**Key words** protein, emulsion system, stability, influence factors