

专题研究专栏

编者按:乳制品是人类重要的优质蛋白来源,目前,我国乳制品年产量已达约3 000万t。我国乳制品消费基数大,但产业深加工能力、科技研发等方面与乳品发达国家相比仍有较大差距。本期选择了乳制品加工与创新方面的4篇文章,其中2篇文章关注了乳源蛋白作为食品乳化剂的创新应用,分别研究了不同条件下制备的乳清蛋白微凝胶颗粒对油脂消化吸收的调控作用,以及利用酪蛋白-果胶复合物作为亚麻籽油微胶囊壁材的可行性;另外2篇文章分别探究了 β -乳球蛋白不同蛋白酶水解物中多肽诱导小鼠口服免疫耐受性的作用机制,以及杀菌方式对超高温瞬时灭菌乳中活性蛋白和风味化合物的影响。希望这一系列的研究工作能够为乳制品原料的开发和加工技术的创新提供科学思路和理论基础。(主持人:王蓓教授)

doi: 10.12301/spxb202200693

文章编号:2095-6002(2023)02-0033-11

引用格式:李姿坤,张喜瑞,郭雅娴,等. 乳清蛋白微凝胶颗粒的制备及其对油脂消化性的抑制作用[J]. 食品科学技术学报,2023,41(2):33-43.



LI Zikun, ZHANG Xirui, GUO Yaxian, et al. Preparation of whey protein micro-gel particles and its inhibition on lipid digestibility[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023,41(2):33-43.

乳清蛋白微凝胶颗粒的制备及其对油脂消化性的抑制作用

李姿坤¹, 张喜瑞¹, 郭雅娴¹, 张满¹, 贺红军¹, 梁彬^{2,*},
李秀莲³, 姬长建⁴, 孙婵婵^{1,*}

(1. 烟台大学 生命科学学院, 山东 烟台 264003; 2. 鲁东大学 食品工程学院, 山东 烟台 264001;
3. 滨州医学院 药学院, 山东 烟台 264003; 4. 齐鲁师范学院 物理与电子工程学院, 山东 济南 250200)

摘要:针对高脂肪摄入带来的高血脂、高血压、高血糖等疾病风险,定向设计高脂肪食品的乳液结构,调控其与胃肠液的相互作用,从而减少食物中油脂的消化吸收,是实现饮食健康且不降低食物感官品质的有效途径。探究了不同pH值条件下,由乳清浓缩蛋白(WPC)通过湿热-均质组合法制备的乳清蛋白微凝胶颗粒(WPMP)的理化性质(粒径分布、热力学性质、流变学性质等),并测定了加入WPMP的油脂乳液在消化道中的稳定性、游离脂肪酸(FFA)的释放率。结果表明:在pH值为5.5时,制备的WPMP具有相对较小的中位粒径6.63 μm 、较高的热稳定性、较小的流体指数($n=0.06$)和较好的触变性($S_r=0.42$)。加入WPMP的油脂乳液的油滴粒径显著小于加入WPC

收稿日期:2022-07-02

基金项目:山东省自然科学基金青年基金项目(ZR2020QC219);国家自然科学基金青年科学基金项目(32101904);山东省自然科学基金博士基金项目(ZR2019BC036)。

Foundation: Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2020QC219); National Natural Science Foundation of China (32101904); Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2019BC036)。

第一作者:李姿坤,女,硕士研究生,研究方向为食品加工与安全。

*通信作者:梁彬,男,讲师,博士,主要从事食品微生物方面的研究;

孙婵婵,女,副教授,博士,主要从事食源性大分子结构、营养与功能方面的研究。

的油脂乳液($P < 0.05$),且加入在 pH 值为 5.5 时制备的 WPMP,可获得油滴粒径最小(13.28 μm)的油脂乳液。相较于加入 WPC 制得的油脂乳液,WPMP 油脂乳液在模拟胃肠消化液中具有更高的稳定性和更低的 FFA 释放率,且不同 pH 值条件下制备的 WPMP 油脂乳液具有不同的 FFA 释放率。研究证实,WPMP 对消化道内胆盐界面取代、脂肪酶-辅脂酶界面吸附具有一定阻隔作用,因此,WPMP 对油脂乳液的消化吸收具有一定的抑制作用,且受 WPMP 界面结构调控。希望研究结果可为定向设计乳液结构从而抑制油脂消化提供参考。

关键词: 乳清蛋白;微凝胶颗粒;乳液;油脂消化;抑制

中图分类号: TS201.7

文献标志码: A

油脂的过量摄入是导致人体胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白、胆固醇升高的主要原因^[1]。然而,单纯减脂会导致食品的不良口感,难以被消费者接受^[2]。因此,如何通过加工工艺的改进,实现降脂而又不影响食品感官品质是当下食品工业面临的一项技术难题。

食品水相体系中的油脂往往由表面活性剂(甘油单酯、甘油二酯和蛋白质等)乳化,形成水包油型(O/W型)乳液。研究证实,油脂乳液的消化是机体胃肠道内表面活性物质与油滴表面的双亲物质发生竞争和替换,改变其界面结构和组成,进而消化吸收的过程^[3]。人体内油脂的消化是肠液组分在油滴界面共同作用的结果。因此,采用定向设计高脂肪食品的乳液结构的方法,调控其与胃肠液的相互作用,从而减少食物中油脂的消化吸收^[4],被认为是保持饮食健康又不降低感官品质的有效途径。

颗粒乳化剂是一类通过在油水界面形成单层或多层薄膜而阻碍乳液液滴聚集的纳米或微米尺寸的胶体粒子。颗粒乳化剂稳定的乳液被称为 Pickering 乳液^[5]。由于颗粒乳化剂从界面解吸所需的能量远远高于布朗运动所具有的能量,因此 Pickering 乳液具有极高的稳定性。研究证实,虽然传统 Pickering 固体颗粒能不可逆吸附在油-水界面,不能被消化道内胆盐界面取代并为脂肪酶-辅脂酶提供吸附位点。但由于颗粒间具有较大的间隙,在胃肠消化道内胆盐等生物表面活性剂能进入颗粒间空隙,造成界面压力的持续增高,界面变形导致结构崩解。界面的崩解为脂肪酶-辅脂酶提供充分的吸附位点^[6]。较大的酶-脂接触面促进了油脂的快速消化和亲脂性功能物质的充分释放^[7],导致无法实现抑制油脂乳液被消化吸收的作用。

将高聚物经过过度交联后形成结构较为柔软的软凝胶颗粒不仅可具有传统 Pickering 固体颗粒的

油水界面不可逆吸附特性,还可具有界面变形能力,能够形成致密的、无颗粒间隙的微凝胶颗粒界面层^[8-9]。蛋白质具有两亲性质,能够通过自身结构的调整(如去折叠)吸附在油水界面形成蛋白膜,降低界面张力,常被作为界面乳化剂应用于泡沫型(蛋糕、啤酒和冰淇淋等)和乳液型(汤料、香肠和沙拉酱等)食品体系中^[10]。采用湿热处理方法结合均质处理,将水溶性蛋白制成蛋白微凝胶颗粒,能够使其内埋的疏水基团暴露,从而改善蛋白质的润湿性,实现提高乳液稳定性的目的^[11]。因此,推测蛋白软凝胶颗粒界面层能够有效抑制乳液油脂消化。

为验证此推测,本研究通过调控乳清蛋白微凝胶颗粒制备关键工艺参数——湿热处理 pH 值制备了一系列乳清蛋白微凝胶颗粒(whey protein microgel particle, WPMP),并测定了乳清蛋白微凝胶颗粒对乳液消化道稳定性和游离脂肪酸释放率的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乳清浓缩蛋白(whey protein concentrate, WPC),新西兰恒天然公司;花生油,莱阳鲁花浓花生油有限公司;盐酸,天津市北方天医化学试剂厂;氢氧化钠,北京鼎国生物技术有限责任公司;氯化钠,天津市北方天医化学试剂厂;十二烷基硫酸钠(sodium-dodecyl sulphate, SDS),天津市江天化工技术有限公司;氯化钾,北京鼎国生物技术有限责任公司;氯化钙,北京鼎国生物技术有限责任公司;黏蛋白,德国 Sigma-Aldrich 公司;胃蛋白酶,德国 Sigma-Aldrich 公司;胆汁提取物,德国 Sigma-Aldrich 公司;胰蛋白酶,德国 Sigma-Aldrich 公司;胰脂肪酶,德国 Sigma-Aldrich 公司。实验所用化学药品均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HAAKE MARS-III型流变仪,德国赛默飞世尔科技;Ultra-Turrax T25型高速乳化均质机,德国IKA公司;BT-9300S型激光粒度分布仪,丹东百特仪器有限公司;数显式电热恒温水浴锅,天津市欧诺仪器有限公司;PH-3BW型pH计,上海理达仪器厂;DSC-60plus型差示扫描量热仪,日本岛津公司;Turbiscan ASG型静态多散射稳定性分析仪,法国Formulation公司。

1.3 实验方法

1.3.1 WPMP的制备及结构表征

1.3.1.1 WPMP的制备

WPMP的制备共需2步。

1) 湿热处理。将12 g的WPC均匀分散于100 mL去离子水中,分别采用1 mol/L NaOH水溶液或者1 mol/L HCl水溶液调pH值至3.5、4.5、5.5、6.5、7.5和8.5。将上述样品盛于烧杯,密封后置于水浴锅中85℃湿热处理28 min,4℃陈化10 h以上。

2) 均质处理。用高速乳化均质机10 000 r/min处理4 min,采用等体积1 mol/L HCl水溶液或者1 mol/L NaOH水溶液调pH值至6.5,之后用1 mol/L NaCl补偿Na⁺含量差异。最后,对于不同pH值处理组别之间的溶液体积差异,使用微量H₂O进行调整,以保证各组别中乳清蛋白微凝胶颗粒(WPMP)的质量浓度相同。制得的WPMP分散液用于实验测定。

在本研究中,不同pH值条件下制备的WPMP分散液中的WPMP样品分别命名为WPMP(3.5)、WPMP(4.5)、WPMP(5.5)、WPMP(6.5)、WPMP(7.5)和WPMP(8.5)。

1.3.1.2 pH值对WPMP粒径影响的测定

以水为分散介质,采用激光粒度分布仪测定WPMP(3.5)、WPMP(4.5)、WPMP(5.5)、WPMP(6.5)、WPMP(7.5)、WPMP(8.5)6种WPMP的粒径分布。

1.3.1.3 pH值对WPMP热力学性质影响的测定

将WPMP分散液装入具盖塑料表面皿中,采用液氮速冻后,进行冷冻干燥,得到WPMP粉末。

准确称取WPC和6组不同的WPMP粉末样品2~5 mg放入铝盒中,以空铝盒为空白对照,进行温度扫描即得DSC曲线,起始温度为30℃,升温至150℃,升温速率为5℃/min^[12]。采用TA-60软件

对DSC扫描曲线进行数据分析,计算得到各样品的变性温度和变性焓值。

1.3.1.4 pH值对WPMP流变性影响的测定

采用流变仪测定WPMP分散液的流变性。参数设定:夹具采用20 mm平行板;平行板间隙设定为1 mm;加样量为0.6 mL;测试环境温度设置为25℃;根据线性扫描结果确定应力为1.0 Pa。

设定剪切速率先从0 s⁻¹上升到300 s⁻¹,保持240 s,然后以同样的变化速率从300 s⁻¹下降到0 s⁻¹,记录黏度值随剪切速率变化的情况^[13]。

采用牛顿幂律方程对静态流变曲线进行Power Law模型拟合,见式(1)。

$$\tau = K\gamma^n \quad (1)$$

式(1)中, τ 为剪切应力, γ 为黏性常数, K 为稠度系数, n 为流动特性指数。

采用相对触变环面积表征样品触变性差异。根据剪切黏度随剪切速率变化的静态流变曲线,对上、下行曲线进行面积积分计算,相对触变环面积 S_R 计算方法见式(2)^[14]。

$$S_R = \frac{(S_{up} - S_{down})}{S_{up}} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中, S_{up} 为上行曲线积分面积, S_{down} 为下行曲线积分面积。

1.3.2 油脂乳液的制备及表征

1.3.2.1 油脂乳液的制备

WPMP油脂乳液的制备。取60 g WPMP分散液,按照 $m(\text{WPMP分散液}):m(\text{花生油})=2:3$ 的比例加入90 g花生油。然后室温下(25℃±2℃),于10 000 r/min均质处理5 min,制备得到含油质量分数为60%的WPMP油脂乳液。

WPC油脂乳液的制备。将12 g的WPC均匀分散于100 mL去离子水中,得到WPC分散液(pH=6.5)。取60 g WPC分散液,按照 $m(\text{WPC分散液}):m(\text{花生油})=2:3$ 的比例加入90 g花生油。然后室温下(25℃±2℃),于10 000 r/min均质处理5 min,制备得到含油质量分数为60%的WPC油脂乳液。

1.3.2.2 油脂乳液的粒径分布

以质量分数为0.1% SDS水溶液为分散介质,采用激光粒度仪对体系中散射光强度波动进行分析,测定6种WPMP油脂乳液及WPC油脂乳液中颗粒布朗运动的速度,利用Stokes-Einstein方程计算得出7种油脂乳液样品的粒径分布。

1.3.3 油脂乳液消化性测定

1.3.3.1 体外消化模型的建立

模拟胃液消化过程。参考文献[15]进行胃液制备,模拟胃液中共包含 2.67 g/L 黏蛋白、6.67 g/L 胃蛋白酶、5 mmol/L KCl、6 mmol/L CaCl₂、120 mmol/L NaCl。在胃部消化阶段,取 1 g 乳液加入 12 mL 的模拟胃液,混合均匀后,采用 1 mol/L HCl 水溶液将 pH 值调至 2.5。置于 37 °C 水浴锅中,200 r/min 避光均匀搅拌 1 h。

模拟肠液消化过程。将 1 mol/L NaOH 水溶液的 pH 值调至 6.8,加入 5.60 mL 的胆汁提取物(18.63 g/L 胆汁提取物、5 mmol/L KCl、6 mmol/L CaCl₂、120 mmol/L NaCl)和 15.60 mL 的胰液(1.12 g/L 胰蛋白酶、0.56 g/L 胰脂肪酶),混合均匀后置于 37 °C 水浴锅中 200 r/min 均匀搅拌。

1.3.3.2 油脂乳液在消化模型中稳定性的测定

取 WPC 油脂乳液和 6 种 WPMP 油脂乳液模拟胃液消化。将 20 mL 含有油脂乳液的消化液置于平底圆柱形玻璃管(高 140 mm,直径 16 mm)中,将测试瓶放入检测池中,在 37 °C 下每 5 min 扫描 1 次,分别连续扫描 1 h 和 2 h。

取 7 种油脂乳液模拟胃液消化后再模拟肠液消化。将 20 mL 含有油脂乳液的消化液置于平底圆柱形玻璃管(高 140 mm,直径 16 mm)中,将测试瓶放入检测池中,在 37 °C 下每 5 min 扫描 1 次,分别连续扫描 1 h 和 2 h。

1.3.3.3 油脂乳液在消化模型中游离脂肪酸释放的测定

WPC 油脂乳液和 6 种 WPMP 油脂乳液在模拟肠液消化过程中,采用 0.01 mol/L NaOH 水溶液将 pH 值维持在 6.8,并记录肠液消化 10、30、60、120 min 时所消耗的 NaOH 水溶液的体积。根据消耗的 NaOH 水溶液体积,按照式(3)计算乳液在消化过程中游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)释放率^[16]。

$$FFA \text{ 释放率} = \left(\frac{V_{\text{NaOH}} \times c_{\text{NaOH}} \times M_{\text{lipid}}}{2 \times 0.6 \times m_{\text{emulsion}}} \right) \times 100\% \quad (3)$$

式(3)中, V_{NaOH} 是消耗的 0.01 mol/L NaOH 水溶液体积, mL; c_{NaOH} 是所用 NaOH 水溶液的摩尔浓度, 0.01 mol/L; M_{lipid} 是花生油的摩尔质量, 0.817 kg/mol; 0.6 是乳液中油相的质量分数; m_{emulsion} 是乳液的质量, g。

1.4 数据分析

实验结果重复 3 次,采用 Origin 8.0 软件绘图,数据采用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 pH 值对 WPMP 粒径的影响

采用激光粒度仪测定 6 种不同 pH 值 WPMP 分散液中 WPMP 的粒径分布,见图 1。由图 1 可知,所有样品粒径均呈单峰分布,说明颗粒大小均一,因此可以选择中位粒径(d_{50})进行粒径大小的表征,结果汇总见表 1。

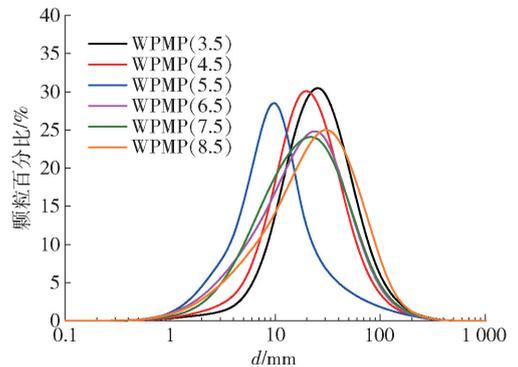


图 1 pH 值对 WPMP 粒径分布的影响

Fig. 1 Effect of pH on particle size distribution of WPMP

表 1 pH 值对 WPMP 中位粒径的影响

Tab. 1 Effect of pH on median particle size of WPMP

样品	$d_{50}/\mu\text{m}$
WPMP(3.5)	18.31 ± 0.08 ^a
WPMP(4.5)	15.25 ± 0.55 ^b
WPMP(5.5)	6.63 ± 0.15 ^c
WPMP(6.5)	14.36 ± 0.06 ^{bd}
WPMP(7.5)	13.67 ± 0.09 ^{de}
WPMP(8.5)	17.35 ± 0.29 ^{af}

同列不同字母表示数据间有显著性差异($P < 0.05$)。

由表 1 可知, pH 值对 WPMP 的粒径有显著性影响。且随着 pH 值偏离等电点($\text{pH} = 4.5 \sim 5.0$), 粒径整体增大。这是因为蛋白 pH 值能直接影响形成的凝胶类型:在等电点附近,蛋白分子表面电荷较少,在热凝胶过程中蛋白质分子链间仅靠疏水相互作用和范德华力维持,因此凝胶倾向于蠕状凝胶且凝胶间作用力较弱^[17]。在高速均质过程中,凝胶更容易被破碎成形状规则的颗粒状。而

随着 pH 值逐渐偏离等电点,凝胶过程中蛋白质分子间由氢键、二硫键等多种作用力连接形成较大聚集网络,凝胶硬度较强,不容易破碎,且破碎后凝胶形状不规则^[18]。

2.2 pH 值对 WPMP 热力学性质的影响

采用差示扫描量热仪对冻干后的 WPMP 和 WPC 进行热力学分析,见图 2。由图 2 可知,WPC 和 6 种 WPMP 的吸热峰均呈现单峰,说明样品均具有较高的协同性。但是吸热峰的位置和宽度有一定的差异,说明不同 pH 值下制备的 WPMP 的热稳定性具有一定差异。

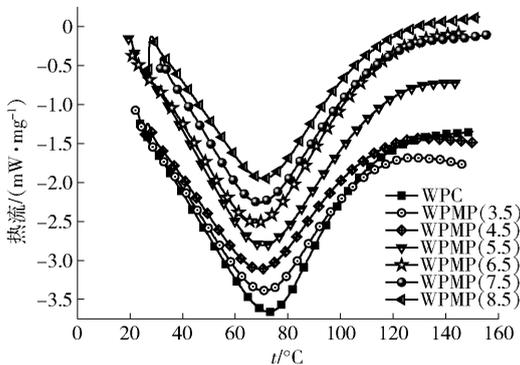


图2 WPC 和 6 种 WPMP 的 DSC 分析结果

Fig. 2 DSC results of WPC and 6 kinds of WPMP

采用差示扫描量热仪自带 TA-60 软件计算 WPC 和 6 种 WPMP 的变性温度和变性焓,测定结果汇总见表 2。由表 2 可知,WPMP(3.5) 和 WPMP(6.5) 与 WPC 的变性温度并无显著性差异,WPMP(5.5) 变性温度显著高于 WPC,WPMP(7.5) 和 WPMP(8.5) 的变性温度则显著低于 WPC。WPC 转变为 WPMP 后,变性焓则从 227.72 J/g 分别显著性下降到 185.50、227.58、210.72、200.75、218.11 J/g。这是因为 WPC 的等电点为 4.3~5.0,在此 pH 值范围内,WPC 的表面电荷极少。在此 pH 值下制备的蛋白微凝胶颗粒 WPMP(4.5) 和 WPMP(5.5) 具有更高的热稳定性。随着 pH 值逐渐偏离等电点,WPC 分子的静电荷增多,蛋白质分子间的静电排斥作用增强,使得部分蛋白质的分子结构从有序变为无序态^[19],制备的蛋白微凝胶颗粒的热稳定性下降。

2.3 pH 值对 WPMP 流变性的影响

样品黏度随着剪切速率的变化见图 3。由图 3 上行曲线可知,所有样品的黏度随着剪切速率的增加均呈现下降的趋势,呈现剪切变稀的特性。这是因为在静止或低流速时,高分子链状结构间相互缠绕,黏度较大。随着剪切速率的增大,由于流层间剪应力的

表 2 pH 值对 WPMP 变性温度和变性焓的影响

Tab. 2 Effect of pH on denaturation temperature and denaturation enthalpy of WPMP

样品	$t_{on}/^{\circ}\text{C}$	$t_p/^{\circ}\text{C}$	$t_{off}/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H/(\text{J}\cdot\text{g}^{-1})$
WPC	35.82 ± 2.36^a	72.38 ± 2.18^a	109.89 ± 0.75^a	227.72 ± 14.13^{ab}
WPMP(3.5)	42.96 ± 15.21^a	74.52 ± 2.32^{ab}	111.04 ± 2.27^a	185.50 ± 16.33^{ab}
WPMP(4.5)	33.84 ± 6.05^a	77.34 ± 3.66^{bc}	114.23 ± 2.76^b	227.58 ± 14.97^a
WPMP(5.5)	32.46 ± 7.11^a	76.28 ± 3.83^{bc}	117.29 ± 2.21^c	233.61 ± 15.35^b
WPMP(6.5)	39.16 ± 0.59^a	73.01 ± 2.76^a	114.26 ± 0.71^{ac}	210.72 ± 5.29^{ab}
WPMP(7.5)	34.19 ± 0.61^a	70.94 ± 4.08^d	111.99 ± 1.31^{ac}	200.75 ± 6.03^{ab}
WPMP(8.5)	30.33 ± 0.59^a	68.39 ± 1.09^e	105.82 ± 2.35^{ab}	218.11 ± 8.40^{ab}

同列不同字母表示数据间有显著性差异($P < 0.05$)。

作用,无序的链状分子滚动旋转而收缩成团,减少了相互间交联,因此黏度逐渐降低^[20]。当剪切速率继续逐渐减小或剪切停止时,体系黏度将逐渐恢复,但是这种恢复会有一定的滞后性,见图 3 下行曲线。

采用幂率方程对 6 种 WPMP 分散液的静态流变曲线进行拟合,拟合结果见表 3。由表 3 可知,WPMP 分散体系的流动指数 n 均小于 1,说明均为非牛顿流体的假塑性流体。回归系数均大于 0.91,说明各流动曲线均可采用幂律方程进行拟合。对比

各蛋白分散液的下行曲线和上行曲线的 n 值发现,下行曲线的 n 值显著大于上行曲线,这是由于在剪切速率上升过程中,部分维持各蛋白分散液稳定性的作用力(如氢键、疏水相互作用等)断裂,因此展示出更强的流动性^[21]。

触变性可定义为受试物料在外力作用后内部结构重新组合恢复的过程^[22]。图 3 中各蛋白分散液的下行曲线与上行曲线均未重合,所以 6 个样品都显示触变行为。触变性能一般由升速曲线(上行曲

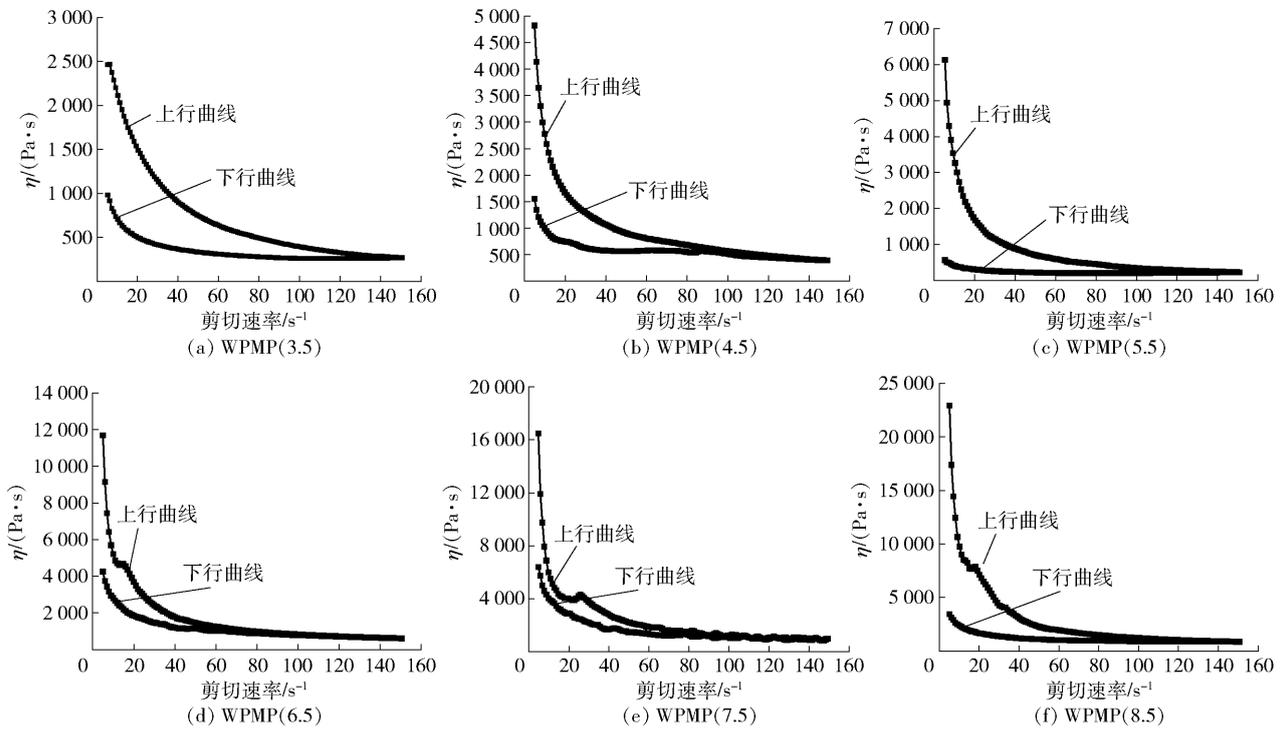


图3 不同 pH 值 WPMP 分散液的静态流变曲线

Fig. 3 Static rheological curve of WPMP dispersions with different pH

表3 不同 pH 值 WPMP 分散液的静态流变曲线拟合参数和相对触变环面积

Tab. 3 Static rheological curve fitting parameters and relative thixotropy loop area of WPMP dispersions with different pH

样品	曲线类型	静态流变曲线拟合参数			S_R
		k	n	R^2	
WPMP(3.5)	上行曲线	8 740.47	0.35	0.96	1.11
	下行曲线	1 825.34	0.57	0.98	
WPMP(4.5)	上行曲线	14 479.62	0.28	0.91	0.62
	下行曲线	2 123.10	0.68	0.99	
WPMP(5.5)	上行曲线	27 721.76	0.06	0.99	0.42
	下行曲线	755.77	0.70	0.85	
WPMP(6.5)	上行曲线	41 994.69	0.16	0.99	0.47
	下行曲线	10 268.25	0.42	0.99	
WPMP(7.5)	上行曲线	47 261.68	0.21	0.94	1.41
	下行曲线	16 302.21	0.43	0.99	
WPMP(8.5)	上行曲线	93 295.25	0.28	0.98	2.45
	下行曲线	6 243.65	0.58	0.97	

线)和降速曲线(下行曲线)所包围的面积大小(S_R)进行表征。面积较大表示触变性较弱,这表明当剪切速率降低时,该产品结构不能立即恢复到之前的

状态^[23]。

由表3可知,湿热处理的 pH 值偏离等电点越多,其相对触变面积越大,这一趋势说明体系恢复到原本状态越慢。其中 WPMP(5.5)的相对触变面积最小,为0.42。这可能是由于不同 pH 值下,形成的蛋白质微凝胶颗粒形状差异导致的^[24]。

2.4 WPMP 油脂乳液的粒径分布

油脂乳液的粒径分布直接影响了其稳定性和外观性状。图4是 WPC 油脂乳液和6种 WPMP 油脂乳液的粒径分布。由图4可知,7种油脂乳液的粒径分布均呈现单一峰的正态分布,因此可以采用中

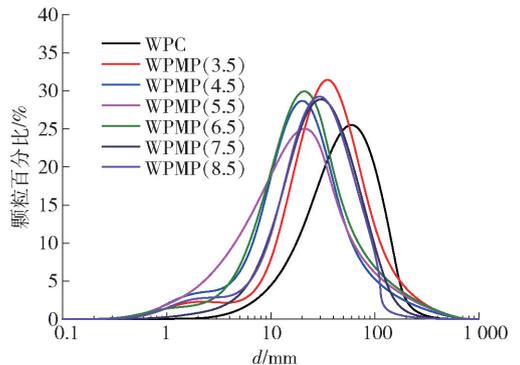


图4 WPC 油脂乳液和6种 WPMP 油脂乳液的粒径分布

Fig. 4 Particle size distribution of WPC emulsion and 6 kinds of WPMP emulsions

位粒径(d_{50})表征粒径大小。采用仪器自带软件进行粒径分析,得到各样品中位粒径见表4。

表4 WPC 油脂乳液和6种 WPMP 油脂乳液的中位粒径
Tab.4 Median particle size of WPC emulsion and 6 kinds of WPMP emulsions

样品	$d_{50}/\mu\text{m}$
WPC	37.66 ± 1.52^a
WPMP(3.5)	22.55 ± 0.17^b
WPMP(4.5)	15.63 ± 1.42^c
WPMP(5.5)	13.28 ± 1.63^d
WPMP(6.5)	16.21 ± 0.94^{ce}
WPMP(7.5)	18.02 ± 0.92^f
WPMP(8.5)	19.57 ± 0.25^{fg}

同列不同字母表示数据间有显著性差异($P < 0.05$)。

由表4可知,天然 WPC 油脂乳液中位粒径最

大,为 $37.66 \mu\text{m}$ 。6种 WPMP 油脂乳液的油滴粒径显著小于 WPC 油脂乳液。这说明 WPMP 在油滴表面的覆盖率显著高于天然 WPC。在 pH 值为 3.5~5.5,随着 pH 值升高,WPMP 油脂乳液油滴粒径显著减小。在 pH 值为 5.5~8.5,随着 pH 值升高,WPMP 油脂乳液油滴粒径显著增大。其中 WPMP(5.5) 油脂乳液油滴粒径最小为 $13.28 \mu\text{m}$ 。

2.5 WPMP 油脂乳液对油脂消化性的作用

2.5.1 油脂乳液在消化模型中的稳定性

采用全能型稳定分析仪测定乳液在模拟胃液中背散射光强度曲线,测定结果见图5。由图5可知,随着消化时间的推移,各乳液底部背散射光强度发生不同程度的减小,说明乳液发生不同程度的消化。其中各蛋白稳定的乳液背散射光强度变化程度较高,这是因为胃部含有大量胃蛋白酶分

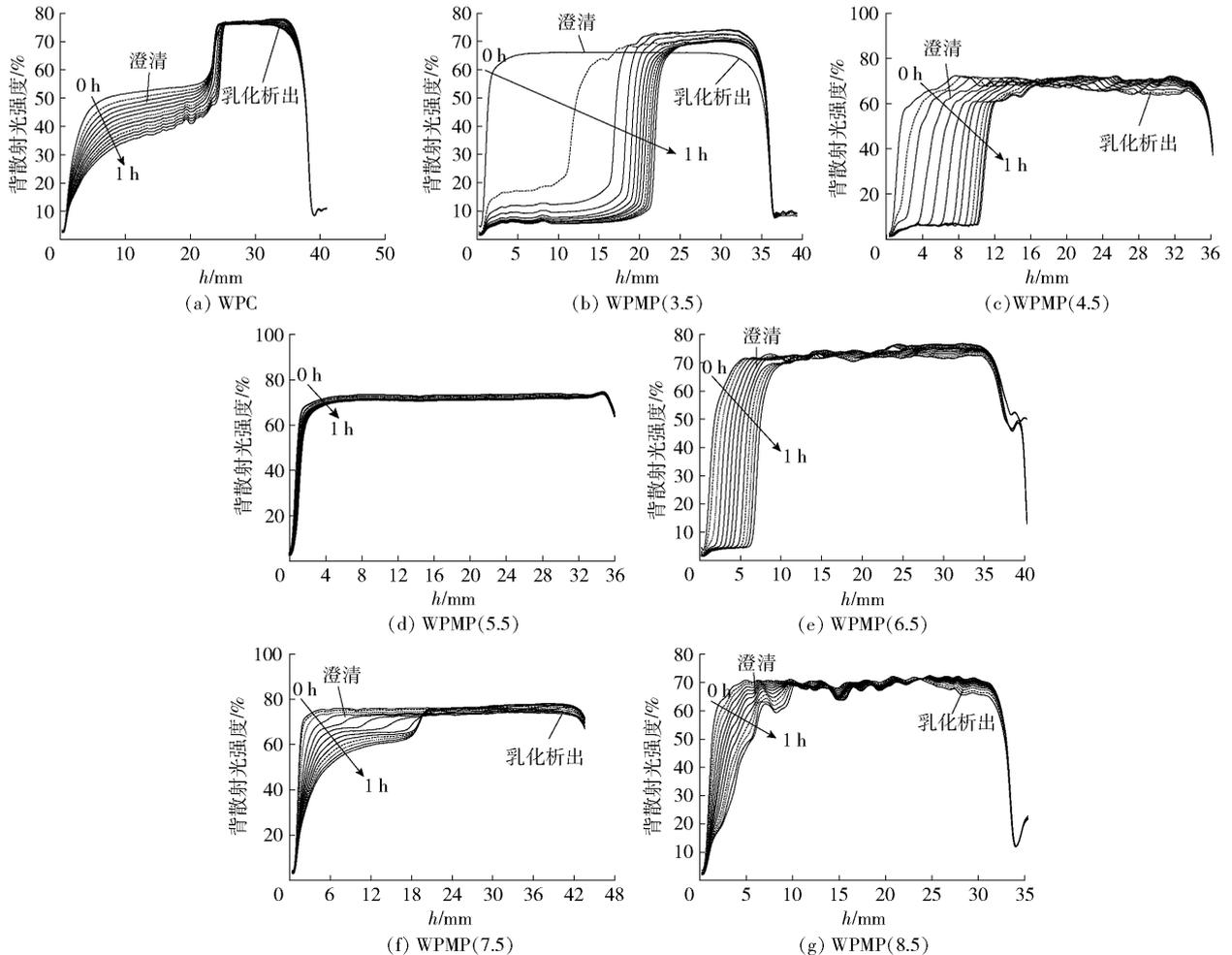


图5 WPC 油脂乳液和6种 WPMP 油脂乳液在模拟胃液消化过程中背散射光强度

Fig.5 Back-scattering light profile of lipid emulsions stabilized by WPC and 6 kinds of WPMP during digestion in simulated gastric fluid

解了油滴表面的蛋白,从而导致乳液失稳的发生^[25]。

由图5可知,WPC、WPMP(3.5)、WPMP(4.5)3种油脂乳液在模拟胃部消化过程中,出现了明显的乳化析出,说明,这3种油脂乳液在胃蛋白酶、低pH值(pH=2.0)双重作用下出现了破乳现象。WPMP(5.5)、WPMP(6.5)、WPMP(7.5)、WPMP(8.5)油脂乳液在模拟胃部消化过程中,并没有出

现明显的乳化析出,说明这4种蛋白微凝胶颗粒能够稳定地吸附在油滴表面,保护乳液不受胃部环境破坏。

采用全能型稳定分析仪测定乳液在模拟肠液中背散射光强度曲线,测定结果见图6。肠道是食品消化的主要部位,受到胰液、胆汁和肠液的作用后,蛋白质和油脂逐渐被消化,因此背散射光强度值变化显著。

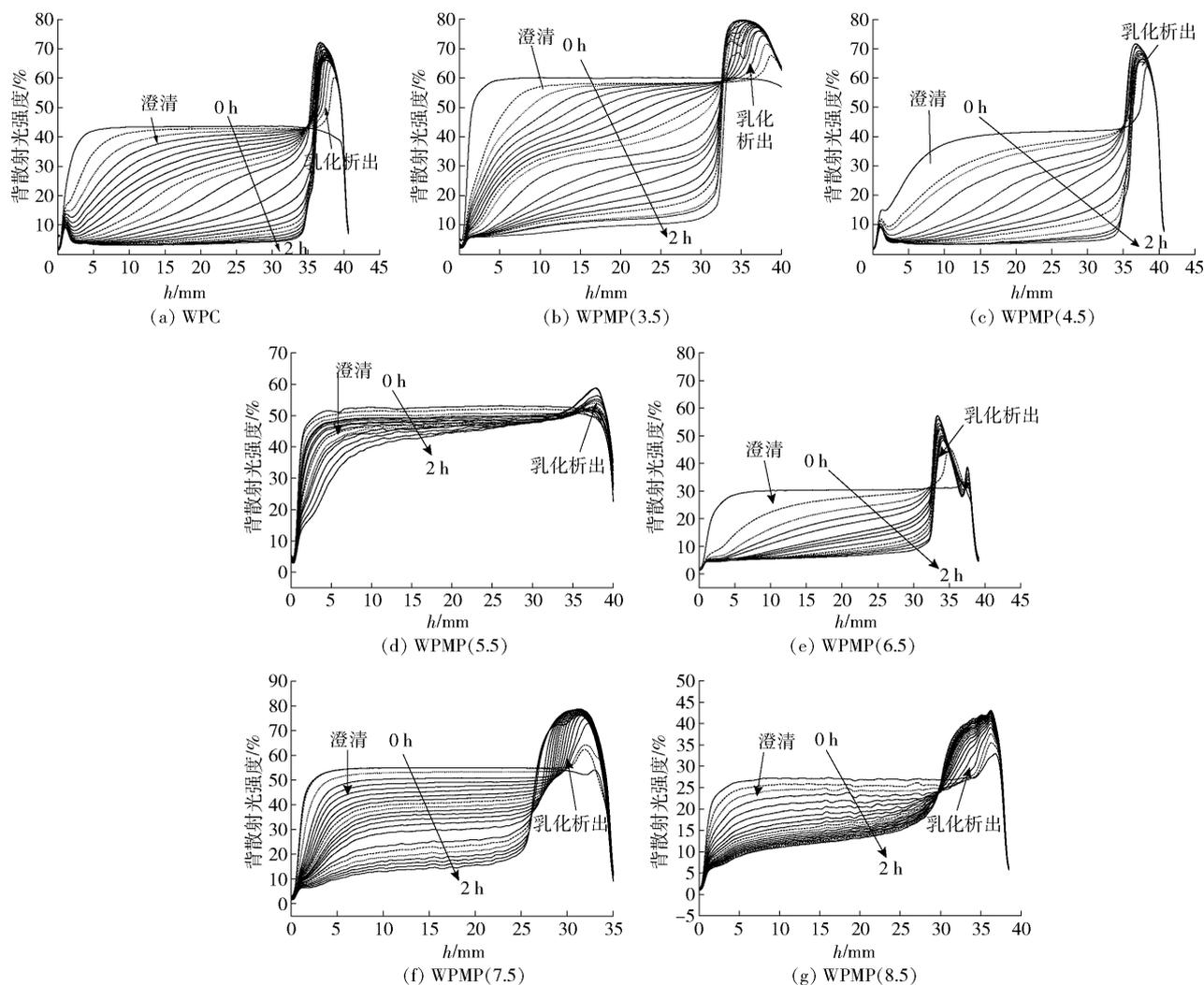


图6 WPC 油脂乳液和6种WPMP油脂乳液在模拟肠液消化过程中背散射光强度曲线
Fig.6 Back-scattering light profile of lipid emulsions stabilized by WPC and 6 kinds of WPMP during digestion in simulated intestinal fluid

由图6可知,除WPMP(5.5)油脂乳液外,其他油脂乳液在模拟肠液消化过程中均出现了明显的乳化析出现象。这说明胆盐能够逐渐取代界面上的蛋白微凝胶颗粒,从而为脂肪酶-辅脂酶的界面吸附提供了位点。WPMP(5.5)油脂乳液展现了较好的稳定性,这说明WPMP(5.5)界面能够阻挡

胆盐的界面取代和脂肪酶-辅脂酶的界面吸附^[26]。

2.5.2 油脂乳液在消化模型中游离脂肪酸的释放

油脂乳液在模拟肠液消化过程中,采用0.01 mol/L NaOH水溶液将pH维持在6.8,并记录随着时间推移所消耗的NaOH水溶液的体积。根据消耗的NaOH水溶液体积,计算乳液在消化过程中

FFA 释放率,结果见表5。

由表5可知,随着模拟肠道消化时间的增加,7种油脂乳液的 FFA 释放率逐渐增大。在消化120 min后,WPC、WPMP(3.5)和 WPMP(4.5)油脂乳液具有最高的游离脂肪酸释放速率,WPMP(6.5)和 WPMP(7.5)油脂乳液的游离脂肪酸次之,WPMP(8.5)油脂乳液的游离脂肪酸释放速率更低,WPMP(5.5)油脂乳液的游离脂肪酸释放速率最低。这是

因为 WPMP(5.5)能够保证油脂乳液在胃肠消化道的稳定,阻止胆盐的界面取代,阻隔脂肪酶-辅脂酶的界面吸附和消化,这与2.5.1节油脂乳液在体外消化模型中的稳定性部分结果保持一致。结果表明,WPMP(5.5)可以作为乳化剂应用在油脂乳液中,且 WPMP(5.5)油脂乳液具有低脂质消化率的特点,因此可以作为新型脂肪模拟物应用在低脂食品中。

表5 WPC 油脂乳液和6种 WPMP 油脂乳液在体外消化模型中游离脂肪酸释放率

Tab.5 FFA release rate of emulsions stabilized by WPC and 6 kinds of WPMP during *in vitro* digestive model digestive model

样品	消化时间/min			
	10	30	60	120
WPC	0.35 ± 0.01 ^a	1.16 ± 0.03 ^a	1.74 ± 0.03 ^a	2.35 ± 0.06 ^a
WPMP(3.5)	0.69 ± 0.02 ^b	1.40 ± 0.04 ^b	1.76 ± 0.04 ^{ab}	2.11 ± 0.07 ^{ab}
WPMP(4.5)	0.64 ± 0.02 ^{bc}	1.33 ± 0.03 ^{bc}	1.61 ± 0.02 ^c	2.10 ± 0.07 ^{abc}
WPMP(5.5)	0.25 ± 0.01 ^{ad}	0.48 ± 0.01 ^d	0.70 ± 0.04 ^d	0.82 ± 0.06 ^d
WPMP(6.5)	0.26 ± 0.01 ^{ade}	0.82 ± 0.03 ^e	1.18 ± 0.05 ^e	1.46 ± 0.09 ^e
WPMP(7.5)	0.27 ± 0.01 ^{def}	0.78 ± 0.02 ^{ef}	1.10 ± 0.04 ^{ef}	1.30 ± 0.09 ^f
WPMP(8.5)	0.23 ± 0.01 ^{defg}	0.71 ± 0.02 ^{fg}	0.82 ± 0.03 ^g	0.99 ± 0.07 ^g

同列不同字母表示数据间有显著性差异($P < 0.05$)。

3 结论

pH 值对 WPMP 的粒径分布、热力学性质和流变学性质均具有显著性影响:随着 pH 值偏离等电点,WPMP 中位粒径整体增大、热力学稳定性降低、流动指数增大、相对触变面积增大。其中,WPMP(5.5)具有较小的中位粒径 6.63 μm 、较高的热稳定性、较小的流体指数($n = 0.06$)和较好的触变性($S_R = 0.42$)。

WPMP 油脂乳液油滴粒径显著小于 WPC 油脂乳液($P < 0.05$),其中 WPMP(5.5)油脂乳液油滴粒径最小为 13.28 μm 。相对于 WPC 油脂乳液,WPMP 油脂乳液在模拟胃肠消化液中具有更高的稳定性和更低的 FFA 释放率,说明 WPMP 界面对消化道内胆盐界面取代、脂肪酶-辅脂酶界面吸附具有一定阻隔作用。且在不同 pH 值条件下制备的 WPMP 油脂乳液具有不同的 FFA 释放率,说明 WPMP 对乳液消化性的抑制作用受 WPMP 界面结构调控。研究结果表明,WPMP 对油脂乳液的消化吸收具有一定的抑制作用,WPMP(5.5)油脂乳液可以作为低脂食品的原料应用在食品工业中。希望本研究的完成,能够为定向设计乳液结构来抑制油脂消化这一技术的实现提供参考。

参考文献:

- [1] DESTRI BATS M, ROUVET M, GEHIN-DELVAL C, et al. Emulsions stabilised by whey protein microgel particles: towards food-grade Pickering emulsions[J]. *Soft Matter*, 2014, 10(36): 6941 - 6954.
- [2] GUAN T, LIU B, WANG R, et al. The enhanced fatty acids flavor release for low-fat cheeses by carrier immobilized lipases on O/W Pickering emulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 116: 106651.
- [3] SINGH H, YE A Q, HORNE D. Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion [J]. *Progress in Lipid Research*, 2009, 48(2): 92 - 100.
- [4] WEI Y, ZHANG L, LIAO W Y, et al. Enhanced stability and controlled gastrointestinal digestion of β -carotene loaded Pickering emulsions with particle-particle complex interfaces [J]. *Food & Function*, 2021, 12(21): 10842 - 10861.
- [5] ZHANG S N, HOLMES M, ETTALAIE R, et al. Pea protein microgel particles as Pickering stabilisers of oil-in-water emulsions: responsiveness to pH and ionic strength [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 102: 105583.
- [6] SARKAR A, ZHANG S N, MURRAY B, et al. Modulating *in vitro* gastric digestion of emulsions using composite

- wey protein-cellulose nanocrystal interfaces[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2017, 158: 137–146.
- [7] JI Y, HAN C L, LIU E C, et al. Pickering emulsions stabilized by pea protein isolate-chitosan nanoparticles; fabrication, characterization and delivery EPA for digestion *in vitro* and *in vivo*[J]. *Food Chemistry*, 2022, 378: 132090.
- [8] RICHTER W. Responsive emulsions stabilized by stimuli-sensitive microgels; emulsions with special non-Pickering properties[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2012, 28(50): 17218–17229.
- [9] DAI L L, TARIMALA S, WU C Y, et al. The structure and dynamics of microparticles at Pickering emulsion interfaces[J]. *Scanning*, 2008, 30(2): 87–95.
- [10] LI H J, LIU T T, ZOU X, et al. Utilization of thermal-denatured whey protein isolate-milk fat emulsion gel microparticles as stabilizers and fat replacers in low-fat yogurt[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 150: 112045.
- [11] ZHANG M, LIANG B, HE H J, et al. Influence of whey protein micro-gel particles and whey protein micro-gel particles-xanthan gum complexes on the stability of O/W emulsions[J]. *Polymers*, 2021, 13(14): 2301.
- [12] JI H Z, ZHAO W Z, YU Z P. Interaction mechanism of three egg protein derived ACE inhibitory tri-peptides and DPPC membrane using FS, FTIR, and DSC studies[J]. *Food Chemistry: X*, 2022, 15: 100366.
- [13] KADIYA K, GHOSH S. Pectin degree of esterification influences rheology and digestibility of whey protein isolate-pectin stabilized bilayer oil-in-water nanoemulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 131: 107789.
- [14] DOLZ M, HERNÁNDEZ M J, DELEGIDO J, et al. Influence of xanthan gum and locust bean gum upon flow and thixotropic behaviour of food emulsions containing modified starch [J]. *Journal of Food Engineering*, 2007, 81(1): 179–186.
- [15] SARKAR A, MURRAY B, HOLMES M, et al. *In vitro* digestion of Pickering emulsions stabilized by soft whey protein microgel particles; influence of thermal treatment [J]. *Soft Matter*, 2016, 12(15): 3558–3569.
- [16] HU Q H, WU Y L, ZHONG L, et al. *In vitro* digestion and cellular antioxidant activity of β -carotene-loaded emulsion stabilized by soy protein isolate-*Pleurotus eryngii* polysaccharide conjugates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 112: 106340.
- [17] PURWANTI N, MOERKENS A, VAN DER GOOT A J, et al. Reducing the stiffness of concentrated whey protein isolate (WPI) gels by using WPI microparticles[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 26(1): 240–248.
- [18] DO PRADO SILVA J T, BENETTI J V M, ALEXANDRINO T T B, et al. Whey protein isolate microgel properties tuned by crosslinking with organic acids to achieve stabilization of Pickering emulsions[J]. *Foods*, 2021, 10(6): 1296.
- [19] ANDLINGER D J, SCHREMPPEL U, HENGST C, et al. Heat-induced aggregation kinetics of potato protein-investigated by chromatography, calorimetry, and light scattering[J]. *Food Chemistry*, 2022, 389: 133114.
- [20] MAGHAZECHI A, NAFCHI A M, TAN T C, et al. Rheological characterization of coconut cream emulsion using steady-state shear and time-dependent modeling [J]. *Journal of Food Engineering*, 2021, 306: 110642.
- [21] JANAHAR J J, BALASUBRAMANIAM V M, JIMENEZ-FLORES R, et al. Pressure, shear, thermal, and interaction effects on quality attributes of pea-dairy protein colloidal dispersions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 131: 107811.
- [22] 董蕾蕾, 黄天怿, 段国兰, 等. 流变调节剂对W/O型乳液稳定性和流变性的影响[J]. *日用化学工业*, 2022, 52(5): 457–467.
- DONG L L, HUANG T Y, DUAN G L, et al. Effects of rheological modifiers on the rheological properties and stability of W/O emulsions[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2022, 52(5): 457–467.
- [23] DELGADO J, CASTILLO R. Shear-induced structures formed during thixotropic loops in dilute worm-micelle solutions[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007, 312(2): 481–488.
- [24] KHEMISSI H, BASSANI H, ASCHI A, et al. Exploiting complex formation between polysaccharides and protein microgels to influence particle stabilization of W/W emulsions[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2018, 34(39): 11806–11813.
- [25] QIU C Y, ZHAO M M, DECKER E A, et al. Influence of anionic dietary fibers (xanthan gum and pectin) on oxidative stability and lipid digestibility of wheat protein-stabilized fish oil-in-water emulsion[J]. *Food Research International*, 2015, 74: 131–139.
- [26] LIN D Q, KELLY A L, MAIDANNYK V, et al. Effect of structuring emulsion gels by whey or soy protein isolate on the structure, mechanical properties, and *in-vitro* digestion of alginate-based emulsion gel beads[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 110: 106165.

Preparation of Whey Protein Micro-Gel Particles and Its Inhibition on Lipid Digestibility

LI Zikun¹, ZHANG Xirui¹, GUO Yaxian¹, ZHANG Man¹, HE Hongjun¹, LIANG Bin^{2,*},
LI Xiulian³, JI Changjian⁴, SUN Chanchan^{1,*}

(1. College of Life Sciences, Yantai University, Yantai 264003, China;

2. College of Food Engineering, Ludong University, Yantai 264001, China;

3. School of Pharmacy, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China;

4. Department of Physics and Electronic Engineering, Qilu Normal University, Jinan 250200, China)

Abstract: Aiming at the risk of hyperlipidemia, hypertension, hyperglycemia and other diseases caused by high fat intake, it was considered to be an effective way to achieve healthy diet without reducing sensory quality by directional design of food emulsion structure and regulating the interaction between food and gastrointestinal fluid to delay the lipid digestion. The physicochemical properties (particle size distribution, thermodynamic properties, rheological properties, etc.) of whey protein micro-gel particle (WPMP) prepared from whey protein concentrate (WPC) by combined heat-shearing treatment under different pH were investigated. The stability of emulsions added with WPMP in the digestive tract and the release rate of free fatty acid (FFA) were measured. The results showed that WPMP prepared at pH 5.5 had the relatively small median particle size of 6.63 μm , the highest thermal stability, the lowest fluid index ($n=0.06$) and the better thixotropy ($S_R=0.42$). The oil droplet size of the emulsion stabilized by WPMP was significantly smaller than that of the emulsion stabilized by WPC ($P < 0.05$). And the minimum oil droplet size of emulsion stabilized obtained at addition of the WPMP prepared at pH 5.5 was 13.28 μm . Compared with emulsion stabilized by WPC, WPMP stabilized emulsions had higher stability and lower FFA release rate in simulated gastrointestinal digestive juice. Emulsions stabilized by WPMP prepared under different pH had different FFA release rates. The study confirmed that WPMP had a certain barrier effect on the bile salt interface replacement and lipase-colipase interface adsorption in the digestive tract. Therefore, WPMP had a certain inhibitory effect on the lipid digestion and lipid absorption of emulsions. And it was regulated by the interfacial structure of WPMP. It was hoped that the research results could provide a reference for the directional design of emulsion structure to inhibit lipid digestion.

Keywords: whey protein; micro-gel particles; emulsions; lipid digestion; inhibition

(责任编辑:李 宁)