

## 大豆乳清蛋白/大豆种皮多糖聚合物对高内相乳液稳定性的影响

王胜男<sup>1,2</sup>, 王冰冶<sup>1</sup>, 赵贵兰<sup>1</sup>, 杨立娜<sup>1,2</sup>, 朱力杰<sup>1,2</sup>, 何余堂<sup>1,2</sup>, 刘军<sup>3</sup>, 刘贺<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>渤海大学食品科学与工程学院 辽宁锦州 121013

<sup>2</sup>辽宁省粮谷类食品生物高效转化工程研究中心 辽宁锦州 121013

<sup>3</sup>山东禹王生态食业有限公司 山东禹城 251200)

**摘要** 通过向黄浆水中添加多糖,使大豆乳清蛋白(WSP)与大豆种皮多糖(SHP)发生静电相互作用形成聚合物,用于制备稳定的高内相乳液(HIPEs)。结果表明:随着多糖添加量的增加,聚合物中多糖含量增加,蛋白质含量降低,聚合物微观结构更加致密,热稳定性提高。通过傅里叶变换红外光谱、扫描电子显微镜、差示扫描量热仪测定 WSP 和 SHP 之间存在静电相互作用。此外,研究证实 SHP/WSP 聚合物可以稳定 75%油相的 HIPEs,且随着 SHP/WSP 聚合物中多糖含量增加,HIPEs 表现黏度增加, $G'$ 和 $G''$ 增加。通过测定热处理或冻融前、后 HIPEs 的流变及多重光散射,证实 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 具有良好的热稳定性,且冻融后重新剪切可再次形成稳定的 HIPEs。本研究结果为黄浆水的利用提供了新思路,也为蛋白多糖聚合物稳定乳液方面的研究提供理论参考。

**关键词** 黄浆水;大豆乳清蛋白;大豆种皮多糖;高内相乳液;稳定性

**文章编号** 1009-7848(2022)08-0080-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.08.009

黄浆水是生产豆腐和大豆分离蛋白的副产物,极易腐败变质,直接排放不仅造成生物活性成分的大量损失,而且对环境造成极大的污染<sup>[1]</sup>。大豆乳清蛋白(Whey soy protein, WSP)是黄浆水中的主要蛋白质,具有很高的营养价值,在 pH 2~10 范围内溶解度高、起泡性好、乳化性好<sup>[2]</sup>,还富含含有抗癌、降血压功能的生物活性因子<sup>[3]</sup>,在食品行业有良好的应用前景。大豆种皮多糖(Soy hull polysaccharide, SHP)具有良好的亲水性和亲油性,可以作为乳化稳定剂应用于乳化食品中。

蛋白质和多糖聚合物具有一定的乳化能力,可稳定高内相乳液(High internal phase emulsion, HIPEs)。Zeng 等<sup>[4]</sup>利用单分散醇溶蛋白/壳聚糖杂化颗粒作为颗粒乳化剂开发 HIPEs,结果发现在较低的颗粒浓度下,可制备出油相为 83%的稳定 HIPEs,并对姜黄素具有保护作用。Liu 等<sup>[5]</sup>研究发现水溶液中带正电荷的纤维素纳米晶体(Cellulose nanocrystals, CNCs)与带负电荷的牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)聚合,形成的

CNCs-BSA 聚合物可以稳定 HIPEs。Guo 等<sup>[6]</sup>制备了可溶性淀粉与乳清分离蛋白(Whey protein isolate, WPI)的配合物,用于稳定 HIPEs,与淀粉和 WPI 相比,这些配合物具有更强的乳化能力来稳定 HIPEs。以上报道说明,以生物聚合物为原材料,可以制备稳定 HIPEs,还可以包埋生物活性成分,在食品、化妆品和生物医学领域具有广泛的应用前景。

本研究向黄浆水中添加微波辅助草酸铵法提取的 SHP,形成 4 种 SHP/WSP 聚合物,测定它们的蛋白质和多糖含量。通过傅里叶变换红外光谱、扫描电子显微镜、DSC 研究 SHP/WSP 聚合物的结构及性质,并研究 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的热稳定性、冻融稳定性和温度响应性,旨在为黄浆水的综合利用,开发新型食品乳化剂提供理论参考。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 材料与试剂

大豆种皮,锦州大豆皮经销公司;大豆黄浆水,锦州周氏豆制品有限公司;大豆油,九三粮油工业集团有限公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;无水乙醇、盐酸、浓硫酸、草酸铵、苯酚等试剂均为分析纯级,国药集团化学

收稿日期:2021-08-14

基金项目:中国博士后科学基金项目(2020T130136);国家自然科学基金面上项目(31972031)

作者简介:王胜男(1988—),女,博士,副教授

通信作者:刘贺 E-mail: liuhe2066@163.com

试剂有限公司。

## 1.2 仪器与设备

DHG-9055A 电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;TDL-5-A 离心机,上海安亭科学仪器厂;RE-3000D 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;SHJ-6A 磁力搅拌水浴锅,常州金坛精达仪器制造有限公司;PHS-3CW pH 计,上海般特仪器有限公司;DW-86L828J 超低温冰箱,青岛海尔特种电器有限公司;FD-1A-50 真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;PE Victor X3 多功能酶标仪,珀金埃尔默仪器;L5 紫外-可见光分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;IRTracer-100 傅里叶变换红外光谱仪,日本岛津公司;S-4800 冷场发射扫描电镜,日本日立公司;Q2000 差示扫描量热仪、DHR-1 流变仪,美国 TA 公司;FJ-200 高速剪切机,上海标本模具厂;Lab expert 多重光散射仪,法国 Formulacion 公司。

## 1.3 试验方法

1.3.1 SHP 的提取 参考 Liu 等<sup>[7]</sup>的方法提取 SHP。利用锤式旋风磨将干燥后的大豆种皮粉碎、过筛,按料液比 1:10 加入 1.00% 的乙醇溶液,室温下搅拌 30 min 后过滤。准确称取烘干后的滤渣,按料液比 1:20 加入 0.60% 的草酸铵,在 85 °C、480 W 微波条件下作用 30 min。将滤液在 4 000 r/min 的条件下离心 10 min,并将离心后得到的上清液蒸发浓缩至原体积的 1/3 后,调节 pH 值至 4.0,加入双倍体积的无水乙醇并不断搅拌,将该溶液于 4 °C 放置 12 h 以促进 SHP 的聚集,过滤并烘干滤渣,即得到 SHP。

1.3.2 SHP/WSP 聚合物的制备 采用双层纱布过滤黄浆水,去除杂质后,取 100 g 分别加入 SHP (0.50, 0.75, 1.00 g 和 2.00 g) 制成混合溶液,50 °C 磁力搅拌 3 h 后,于 4 °C 下放置 12 h,以进行充分的水合作用。将混合溶液的 pH 值调至 3.0,得到浑浊液,在 4 000 r/min 的条件下离心 10 min 得到沉淀,将沉淀均匀分散在培养皿中,在超低温冰箱中冷冻 8 h 后取出,真空冷冻干燥 36 h,即可得到 4 种聚合物(0.50% SHP/WSP、0.75% SHP/WSP、1.00% SHP/WSP 和 2.00% SHP/WSP)。

1.3.3 聚合物蛋白质含量及多糖含量测定 参考 Xiong 等<sup>[8]</sup>的方法测定聚合物中蛋白质和多糖的含

量,蛋白质含量采用 BCA 试剂法测定,多糖含量根据苯酚-硫酸比色法测定,每个样品至少重复测定 3 次。

1.3.4 傅里叶变换红外光谱的测定 参考 Hu 等<sup>[9]</sup>的方法,并稍作修改。在(25 ± 2)°C 条件下,将 SHP 及 4 种聚合物分别与溴化钾混合研磨充分,利用模具与压片机将粉末制成压片。在样品测定之前先进行背景扫描去除干扰因素,扫描范围为 400~4 000 cm<sup>-1</sup>,在 4 cm<sup>-1</sup> 分辨率下连续扫描 32 次。

1.3.5 扫描电子显微镜观察 用导电胶将适量冻干后的 4 种聚合物固定于样品盘上进行喷金后,利用扫描电镜在 5.0 kV,1 000 倍下观察聚合物的微观结构。

1.3.6 DSC 测定 参考 Xiong 等<sup>[10]</sup>的方法,并稍作修改。称取 5 mg SHP 及 4 种聚合物放置在铝制的坩埚中并压紧密封,空的坩埚作对照,升温速度设置为 10 °C/min,温度范围为 20~280 °C,采用 TA universal analysis 软件分析熔融峰温度( $T_p$ )、熔融焓( $\Delta H$ )及起始熔融温度( $T_o$ )等热力学参数。

1.3.7 高内相乳液的制备 参考金银霜<sup>[11]</sup>的方法,并稍作修改。取 4 种聚合物及 SHP 各 1.0 g,加入 25.0 mL 去离子水,50 °C 磁力搅拌 30 min 后,加入 75.0 mL 大豆油,在 5 000 r/min 的条件下剪切 2 min,得到 HIPEs,并将制得的 HIPEs 在 4 °C 下避光保存。

1.3.8 乳液流变特性测定 参考 Jiang 等<sup>[12]</sup>的方法,通过流变仪测定 HIPEs 的流变特性,并稍作修改。使用直径为 40.00 mm 的平板,间隙设置为 1 mm,去除平板外多余的样品,试验中保持恒温(25 °C)。

设置剪切速率范围为 0.1~100 s<sup>-1</sup>,记录其黏度变化。设置应变范围为 0.001% 到 100%,固定频率为 1 Hz。根据应变扫描结果,选择在线性黏弹区域内的应变,固定应变为 0.5%,频率范围为 0.1 Hz 到 10 Hz,以储能模量( $G'$ )、损耗模量( $G''$ )对结果进行表征。

1.3.9 乳液多重光散射的测定 将适量的乳液装入圆柱形玻璃样品瓶中,加样过程中应避免产生气泡,使用稳定性分析仪对样品进行扫描。软件收集背散射光强度随时间的变化并输出光谱图,反映样品的体积分数和粒度随时间的变化规律,从

而表征样品的稳定性。

1.3.10 乳液的热稳定性 参考 Li 等<sup>[13]</sup>的方法,并稍作修改。将新制备的乳液置于 100 ℃的沸水中加热 15 min,然后立即放入冰水中冷却至室温,对热处理前、后的乳液外观进行拍照,并测定乳液热处理前、后的流变特性及多重光散射。

1.3.11 乳液的冻融稳定性及温度响应性 参考 Li 等<sup>[13]</sup>的方法,并稍作修改。将新制备的乳液置于-18 ℃的冰箱中冷冻 24 h,取出后于室温解冻 3 h,再置于-18 ℃的冰箱中冷冻 24 h,每个样品循环 3 次,对冻融前、后的乳液外观进行拍照。

参考许彦腾<sup>[14]</sup>的方法测定乳液的温度响应性。将冻融后破乳的油水混合物于 5 000 r/min 剪切 1 min,以验证是否可以再次乳化。冻融破乳后可再次乳化的 HIPEs,即具有优异的温度响应性,并测定乳液冻融前、后的流变特性及多重光散射表征乳液的冻融稳定性。

1.3.12 统计分析 试验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 Origin 9.0 软件作图,SPSS 20 软件基于 Duncan 检验模式进行单因素方差分析, $P < 0.05$  为显著性检验标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 聚合物蛋白质含量、多糖含量及微观结构

4 种 SHP/WSP 聚合物的蛋白质含量及多糖含量如表 1 所示。4 种 SHP/WSP 聚合物的蛋白质含量及多糖含量均有显著性差异( $P < 0.05$ )。随着多糖添加量的增加,聚合物中多糖的含量增加,蛋

表 1 4 种 SHP/WSP 聚合物的蛋白质含量及多糖含量  
Table 1 Protein content and polysaccharide content of four SHP/WSP polymers

样品名称	蛋白质含量/%	多糖含量/%
0.50% SHP/WSP	58.66 ± 0.04 <sup>a</sup>	35.06 ± 0.10 <sup>a</sup>
0.75% SHP/WSP	50.27 ± 0.10 <sup>b</sup>	37.76 ± 0.07 <sup>b</sup>
1.00% SHP/WSP	46.63 ± 0.12 <sup>c</sup>	43.79 ± 0.05 <sup>c</sup>
2.00% SHP/WSP	38.04 ± 0.12 <sup>d</sup>	45.66 ± 0.07 <sup>d</sup>

注:同一列不同字母代表差异显著( $P < 0.05$ )。

白质含量降低。其中 0.50% SHP/WSP 聚合物的蛋白质含量最高,达到 58.66%,而多糖含量最低,为 35.06%。然而,2.00% SHP/WSP 聚合物的多糖含量最高,达到 45.66%,蛋白质含量最低,为 38.04%。原因可能是黄浆水中 WSP 均已与多糖形成聚合物,多糖过量,使蛋白质在聚合物中的比例降低。

图 1 为 4 种 SHP/WSP 聚合物冻干粉末的微观结构(1 000×)。由图 1 可知,4 种聚合物呈现片层状结构,其中 0.50% SHP/WSP 聚合物(图 1a)表面有凸起。从图 1b 中可看出,0.75% SHP/WSP 聚合物呈不规则片状结构,片层表面有线型聚集体。然而,1.00% SHP/WSP 聚合物表面虽光滑致密、呈现边界清晰的层状结构,但表面裂痕较多(图 1c)。2.00% SHP/WSP 聚合物呈现表面致密的叠加的层状结构(图 1d)。随着多糖含量的增加,SHP/WSP 聚合物微观结构由疏松变为致密,这可能是由于 SHP 与 WSP 静电相互作用逐渐增强,使聚合物的结构更加致密<sup>[15]</sup>。

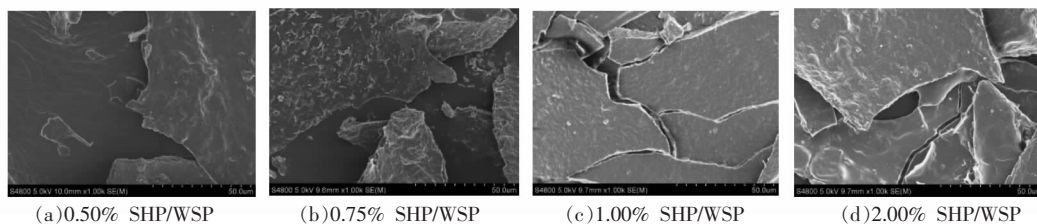


图 1 4 种 SHP/WSP 聚合物的扫描电镜图(1 000×)

Fig.1 SEM image of four kinds of SHP/WSP polymers (1 000×)

### 2.2 红外光谱分析

SHP 和 4 种 SHP/WSP 聚合物的傅里叶变换红外光谱图如图 2 所示。蛋白质在红外光谱图上主要有 2 组特征吸收峰:1 600~1 700  $\text{cm}^{-1}$  和 1 530~1 550  $\text{cm}^{-1}$  分别对应酰胺 I 吸收带和酰胺

II 吸收带。从图 2 中可以看出,4 种 SHP/WSP 聚合物均有 1 653  $\text{cm}^{-1}$  和 1 541  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰,1 653  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰为酰胺 I 带-C=O 的伸缩振动,1 541  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰为酰胺 II 带-C-N 的伸缩振动和-N-H 的弯曲振动<sup>[16]</sup>。SHP 的红外光谱显

示  $1598\text{ cm}^{-1}$  处有吸收峰,为  $-\text{COOH}$  拉伸振动<sup>[17]</sup>,而 SHP/WSP 聚合物中未发现此峰,说明 WSP 与 SHP 之间存在相互作用。此外,聚合物中  $3500\sim 3200\text{ cm}^{-1}$  区域内出现 O-H 拉伸振动的吸收峰<sup>[18]</sup>,说明 WSP 与 SHP 之间存在氢键相互作用。从图 2 还可以看出,聚合物分别在  $3011, 2926\text{ cm}^{-1}$  和  $2851\text{ cm}^{-1}$  处有吸收峰,分别与烯炔  $=\text{C}-\text{H}$  拉伸振动、 $\text{CH}_2$  反对称拉伸振动、 $\text{CH}_2$  对称拉伸振动有关。随着多糖含量的增加,3 个吸收峰的峰面积减小,说明聚合物中蛋白质含量降低,也说明 SHP 与 WSP 存在相互作用。

### 2.3 DSC 分析

SHP 和 4 种 SHP/WSP 聚合物的 DSC 曲线图见图 3。从图 3 中可观察到,SHP 与 4 种 SHP/WSP 聚合物在  $135\sim 160\text{ }^\circ\text{C}$  之间均出现宽吸热峰,说明此温度范围内水分蒸发。随着多糖含量的增加,峰的位置向右偏移,焓变值由  $67.43\text{ J/g}$  逐渐减小至  $40.93\text{ J/g}$ ,说明随着多糖含量的增加,SHP/WSP 聚合物热稳定性提高。此外,在  $135\sim 160\text{ }^\circ\text{C}$  范围内,SHP 的焓变值为  $37.16\text{ J/g}$ ,而 4 种 SHP/WSP 聚合物的焓变值均大于  $40\text{ J/g}$ ,说明 SHP 在此温度范围内比 4 种 SHP/WSP 聚合物更稳定,这可能是由于聚合物结构较疏松多孔而多糖结构比较致密导致的。此外,SHP 在  $218.69\text{ }^\circ\text{C}$  处有吸热峰,而 SHP/WSP 聚合物无此吸收峰,可能是因为此温度下 SHP 中的多糖链降解,说明 SHP 与 WSP 聚合后热稳定性提高。

### 2.4 乳液的热稳定性

2.4.1 乳液流变特性分析 热处理前、后 4 种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的表观黏度随剪切速率的变化情况见图 4。从图 4 中可以看出,热处理前、后的 HIPEs 均表现出剪切稀化现象,原因可能是剪切速率的增加使乳液的凝胶网络结构破坏导致油滴变形,使黏度降低<sup>[19]</sup>。此外,随着 4 种聚合物中多糖含量的增加,乳液黏度增大,可能是因为多糖含量的增加导致连续相黏度增加,同时聚合物桥接絮凝水平增加使液滴与液滴间的相互作用增强<sup>[20]</sup>。从图 4 中还可以看出,热处理后的 HIPEs 黏度比处理前的高,原因可能的是温度升高时,吸附于油水界面聚合物间或吸附于油水界

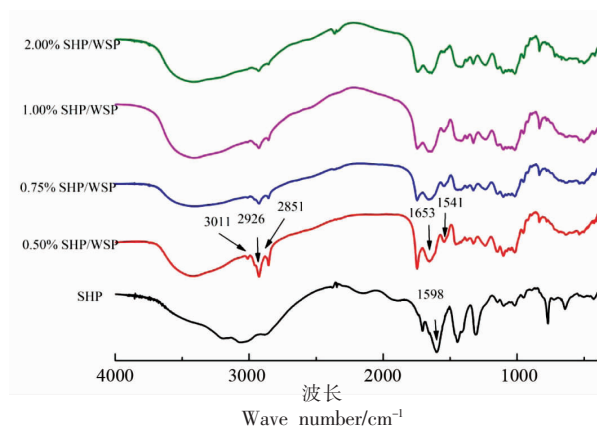


图 2 SHP 和 4 种 SHP/WSP 聚合物的红外光谱图

Fig.2 Infrared spectrogram of SHP and four kinds of SHP/WSP polymers

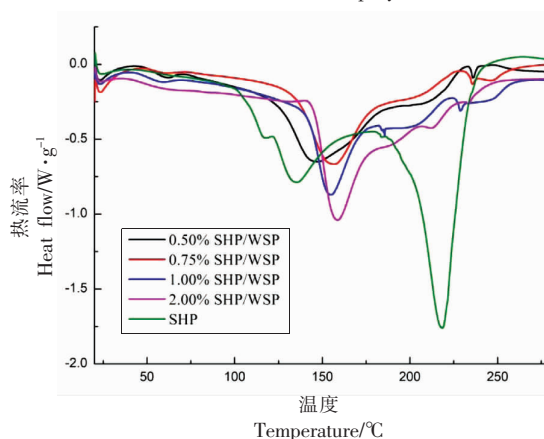


图 3 SHP 与 4 种 SHP/WSP 聚合物的 DSC 图

Fig.3 DSC curve of SHP and four kinds of SHP/WSP polymers

面间的聚合物与未吸附的聚合物间的相互作用加强,使油滴与油滴的相互作用加强,最终表现为黏度增加<sup>[14]</sup>。

热处理前、后 4 种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的频率扫描如图 5 所示。从图 5 可以看出,随着多糖含量的增加, $G'$  和  $G''$  增大,说明 HIPEs 的凝胶性逐渐增强。此外,所有乳液的  $G'$  均高于  $G''$ ,表现出以弹性为主导的凝胶网络结构<sup>[11]</sup>。从图 5 中还可以看出,在整个扫描频率范围内,热处理前、后  $G'$  和  $G''$  的变化趋势不变,然而当频率超过  $6\text{ Hz}$  时,4 种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的  $G'$  均出现下降趋势,且  $0.50\%$  SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 下降趋势最大,表明低多糖含量的聚合物形成的乳液频率依赖性强,凝胶网络强度弱<sup>[11]</sup>。

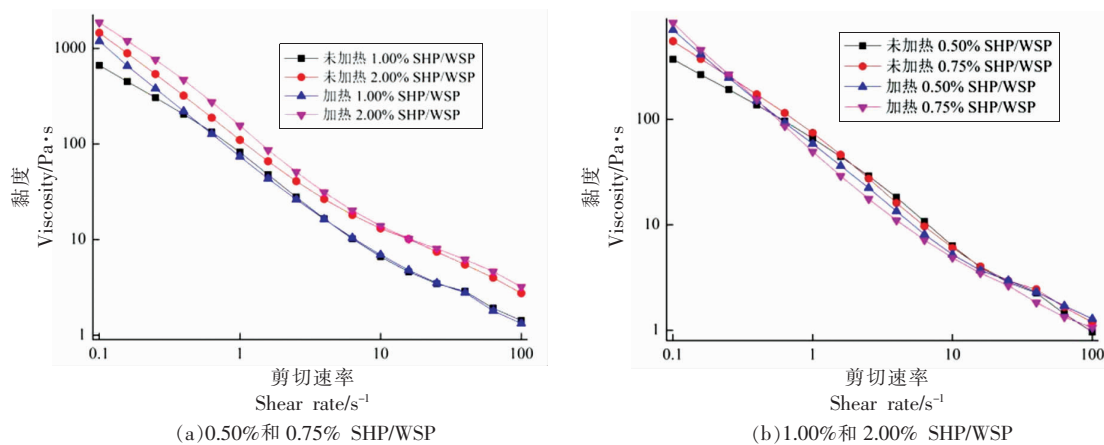


图4 热处理前、后4种SHP/WSP聚合物稳定HIPEs的表现黏度随剪切速率的变化

Fig.4 Changes of apparent viscosity against shear rate of HIPEs stabilized by four kinds of SHP/WSP polymers before and after heat treatment

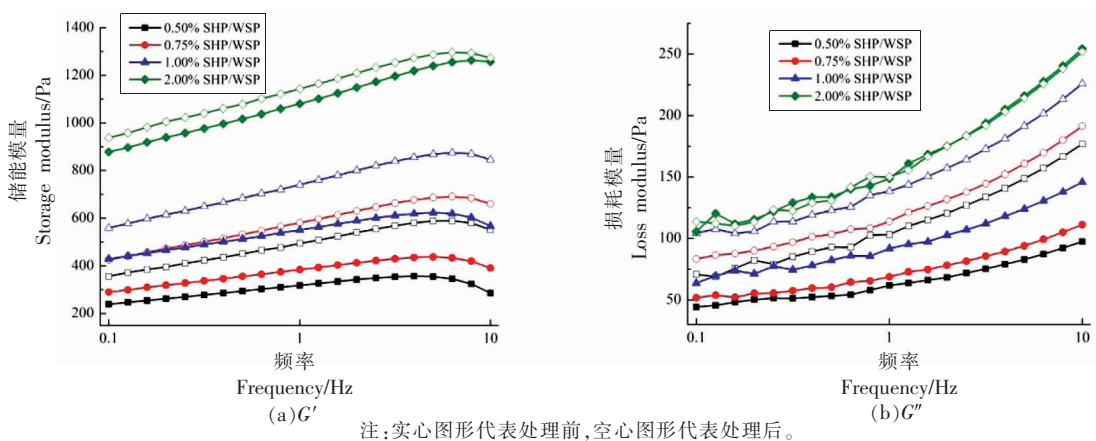


图5 热处理前、后4种SHP/WSP聚合物稳定HIPEs的频率扫描

Fig.5 Frequency scans of HIPEs stabilized by SHP and four kinds of SHP/WSP polymers before and after heat treatment

2.4.2 乳液多重光散射分析 由于制备的乳液样品均不透光,所以选取背散射光随时间的变化情况对乳液稳定性进行分析<sup>[21]</sup>。图6是热处理前、后4种SHP/WSP聚合物稳定HIPEs背散射光图及外观。从图6a~6d中可以看出,热处理前、后0.50%SHP/WSP稳定HIPEs的背散射光曲线差别最大,而热处理前、后2.00%SHP/WSP稳定HIPEs的曲线最接近,说明随着多糖含量的增加,热处理前、后的曲线越趋于重合,乳液稳定性越好。此外,4种聚合物稳定HIPEs的中间部分背散射光强度有变化,说明粒径有变化,存在乳液液滴聚集现象<sup>[21]</sup>。Yang等<sup>[22]</sup>利用光学显微镜观察,发现当加热温度超过50℃时,HIPEs凝胶的液滴尺寸逐渐增大,表明高温加热导致了液滴聚结。由图6e

可知,4种SHP/WSP聚合物稳定HIPEs外观均匀、呈现淡黄色、未出现油脂析出现象且倒置不流动。从图6f可以观察到,热处理后的HIPEs仍为倒置不流动的半固态凝胶状,外观颜色不变,说明具有良好的热稳定性。

## 2.5 乳液的冻融稳定性及温度响应性

2.5.1 乳液的温度响应性 将冻融后的HIPEs重新剪切,发现冻融后不稳定的油水混合物能够较好地恢复到原来的凝胶状,表明HIPEs具有很好的温度响应性,Yang等<sup>[22]</sup>也发现了类似的现象,说明优异的失稳/再乳化可逆性是HIPEs的共同特点。

2.5.2 乳液流变特性分析 冻融前、后4种SHP/WSP聚合物稳定HIPEs的表现黏度随剪切速率

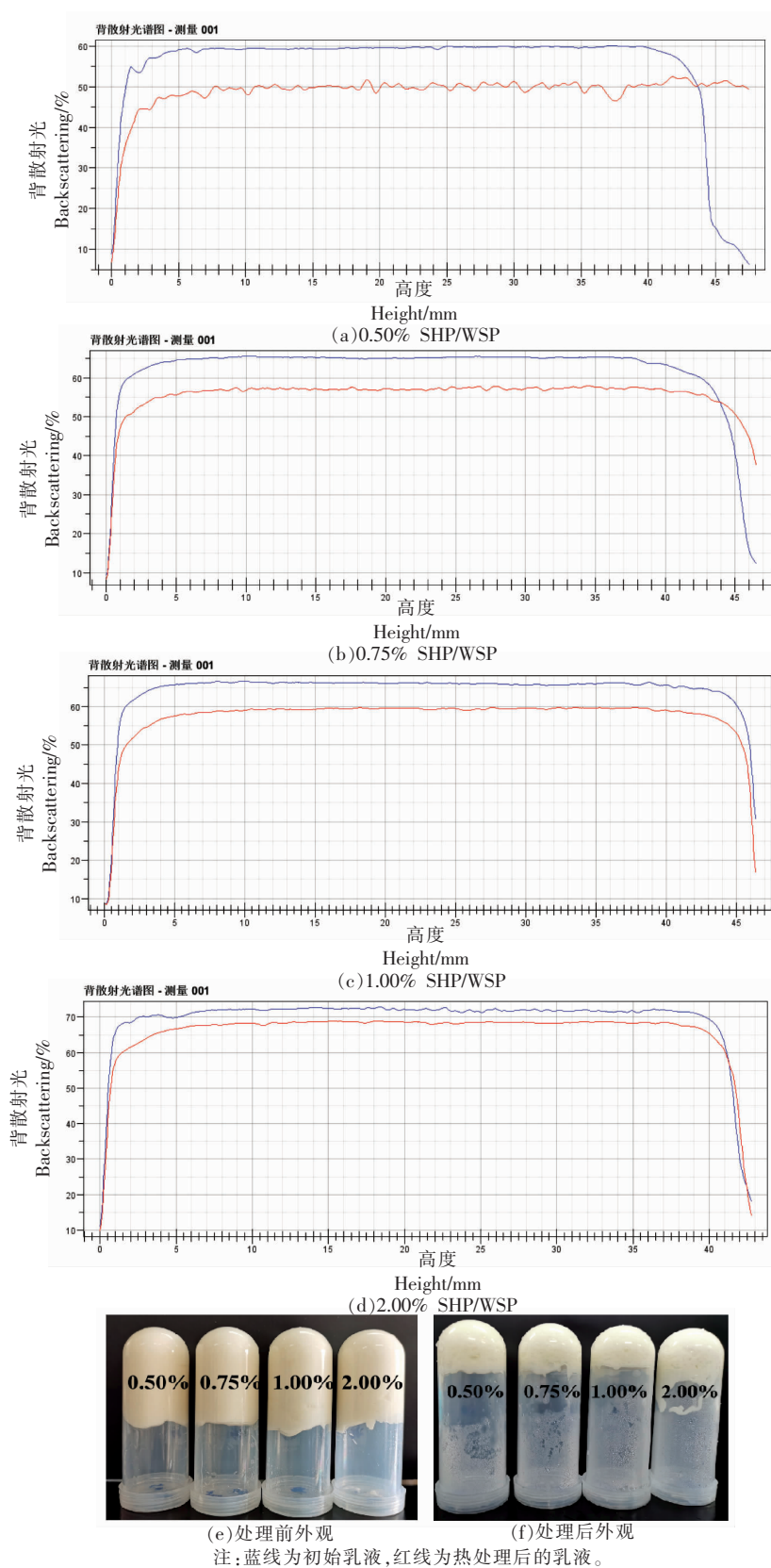


图 6 热处理前、后 4 种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 背散射光图及外观

Fig.6 Backscattered light curve and appearance of HIPEs stabilized by four kinds of SHP/WSP polymers before and after heat treatment

的变化情况如图7所示。从图7中可以看出,冻融前、后的 HIPEs 均呈现出剪切稀化现象,冻融后的乳液黏度比处理前的低,原因可能是聚合物稳定乳液的油水界面层较薄,冷冻时水相和油相中生成的结晶对界面破坏严重;冻融导致水相与油相热胀冷缩,进而引起聚合物从界面脱附,最终表现为黏度的降低<sup>[14]</sup>。

冻融前、后4种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 频率扫描见图8。从图8中可以看出,在整个扫描频率范围内,乳液样品的  $G'$  均大于  $G''$ ,说明乳液

内部形成了凝胶状网络结构<sup>[11]</sup>。当频率超过6 Hz时,原始乳液  $G'$  出现下降趋势,而且0.50% SHP/WSP 稳定 HIPEs 下降趋势最大,表明原始乳液频率依赖性强,凝胶网络结构强度弱。然而,冻融后重新剪切形成的乳液  $G'$  未出现下降趋势,表明其耐受高频扫描,乳液频率依赖性弱,凝胶网络结构强度高<sup>[11]</sup>。此外,冻融导致  $G'$  和  $G''$  均降低,原因可能是冷冻时水相和油相中生成的结晶对界面破坏严重且冻融导致水相与油相热胀冷缩,引起聚合物从界面脱附,最终表现为  $G'$  和  $G''$  的降低<sup>[14]</sup>。

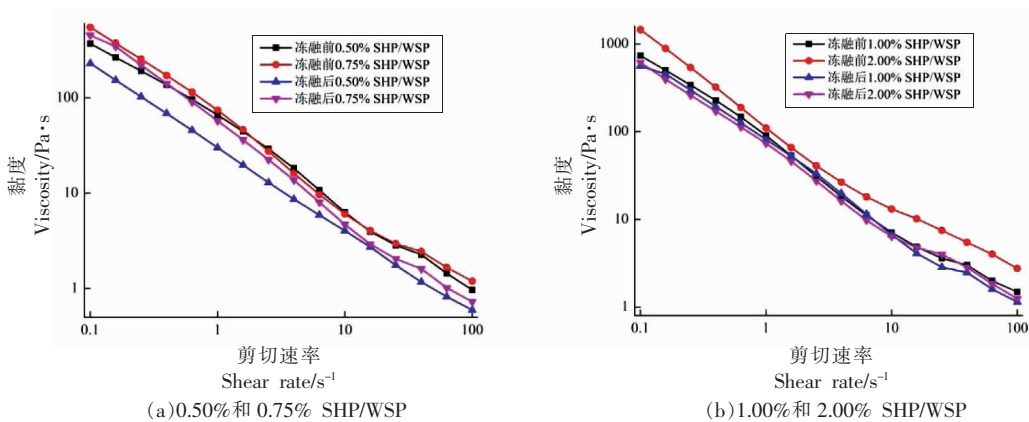


图7 冻融前、后4种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的表观黏度随剪切速率的变化

Fig.7 Changes of apparent viscosity against shear rate of HIPEs stabilized four kinds of SHP/WSP polymers before and after freeze-thawed

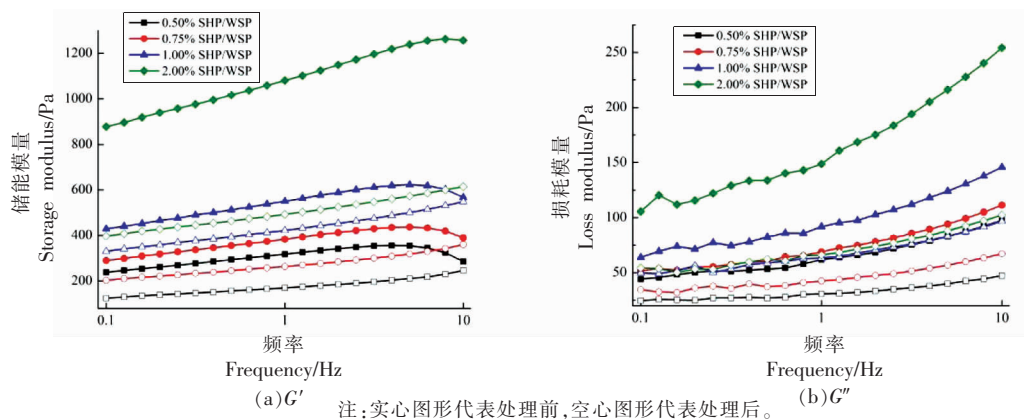


图8 冻融前、后4种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的频率扫描

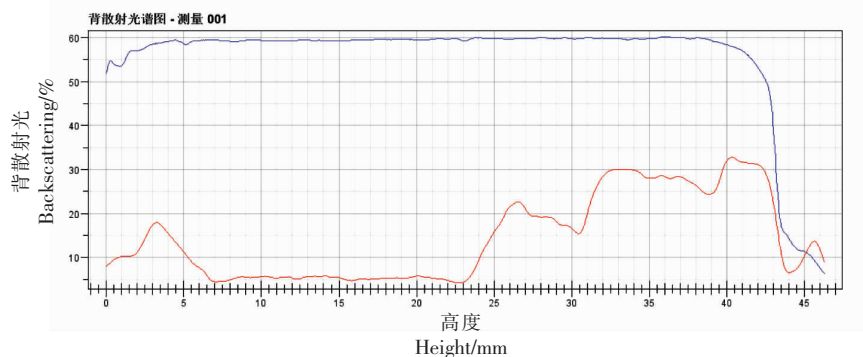
Fig.8 Frequency scans of HIPEs stabilized by SHP and four kinds of SHP/WSP polymers before and after freeze-thawed

2.5.3 乳液多重光散射分析 图9是冻融前、后4种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 背散射光图及外观。从图9a~9d中可以看出,冻融后的 HIPEs 背散射光曲线均与冻融前的有较大差异,表明冻融后的 HIPEs 稳定性均较差,原因可能是 HIPEs 在

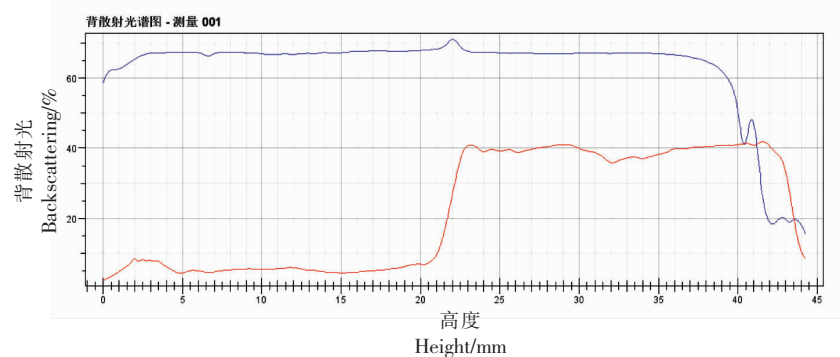
冻结时形成冰晶,融化时会破坏 HIPEs 的结构,导致油脂析出<sup>[23]</sup>。图9a~9d的左侧、中部和右侧分别代表样品瓶的底部、中部和顶部<sup>[21]</sup>。4种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的左侧背散射光均降低,说明底部浓度降低,出现澄清层,这与外观结果一致

(图 9f)。此外,4 种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 的中间部分背散射光强度降低,说明中间部分出现絮凝现象,乳液液滴聚结<sup>[21]</sup>。由图 9e 可知,新制备的 HIPEs 外观均匀、呈现淡黄色、无油脂析出。从图 9f 可以看出,冻融处理后的乳液完全失稳,

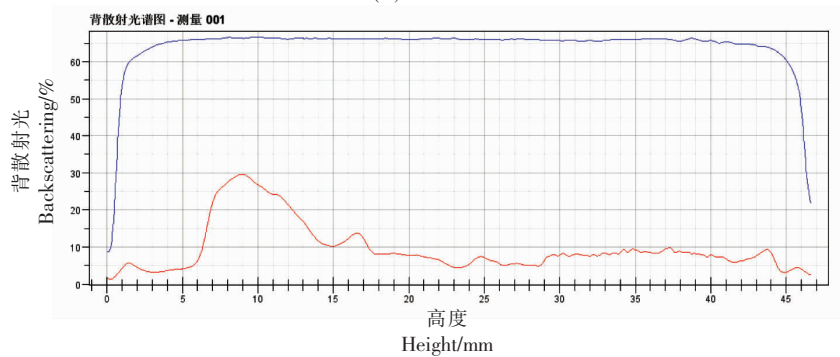
体系崩塌,说明 HIPEs 对冻融敏感。此外,研究发现 4 种 SHP/WSP 聚合物稳定 HIPEs 经历一次冻融循环即出现破乳现象,且随着冻融循环次数的增加,破乳情况加重。



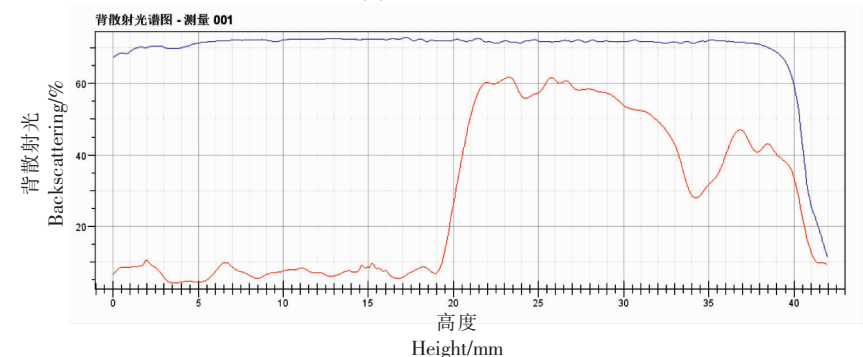
(a) 0.50% SHP/WSP



(b) 0.75% SHP/WSP

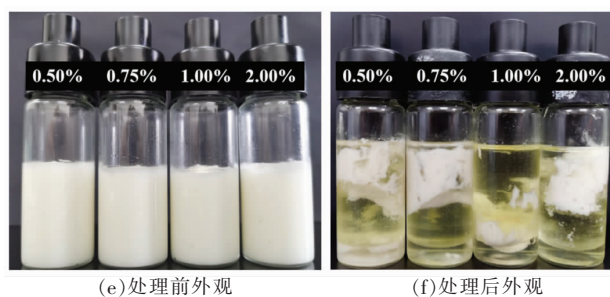


(c) 1.00% SHP/WSP



(d) 2.00% SHP/WSP





注:蓝线为初始乳液,红线为冻融后的乳液。

图9 冻融前、后4种SHP/WSP聚合物稳定HIPEs背散射光图及外观

Fig.9 Backscattered light curve and appearance of HIPEs stabilized by four kinds of SHP/WSP polymers before and after freeze-thawed

### 3 结论

本文以添加不同量的多糖为研究对象,探究了WSP与SHP的相互作用以及SHP/WSP聚合物稳定HIPEs的能力。研究发现随着多糖添加量的增加,聚合物中多糖含量增加,蛋白质含量降低,热稳定性提高,这可能是由于SHP与WSP静电相互作用逐渐增强导致SHP/WSP聚合物微观结构由疏松变致密导致的。4种聚合物中2.00%SH/WSP聚合物的多糖含量最高、蛋白质含量最低、对热最稳定。此外,研究证实SHP/WSP聚合物可以稳定75%油相的HIPEs,且HIPEs外观均匀、呈现淡黄色、未出现油脂析出现象且倒置不流动,热处理后的HIPEs仍为倒置不流动的半固态凝胶状,说明HIPEs具有良好的热稳定性,其中添加2.00%SH/WSP聚合物的HIPEs最稳定。另外,随着SHP/WSP聚合物中多糖含量增加,HIPEs表观黏度增加, $G'$ 和 $G''$ 增加,且冻融后重新剪切HIPEs可以再次形成稳定的HIPEs。本研究为黄浆水的利用提供了新思路,也为蛋白多糖聚合物稳定乳液方面的研究提供了一定的理论基础。

### 参 考 文 献

- [1] CHUA J Y, LIU S Q. Soy whey: More than just wastewater from tofu and soy protein isolate industry [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 91(9): 24-32.
- [2] SORSENTINI D A, WAGNER J R. Comparative study of foaming properties of whey and isolate soybean proteins[J]. Food Research International, 2002, 35(8): 721-729.
- [3] 杜欣. 发酵黄浆水的抗氧化和抑菌活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [4] DU X. Studies on antioxidant and bacteriostatic activities of fermented soybean wheys[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014.
- [5] ZENG T, WU Z L, ZHU J Y, et al. Development of antioxidant Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) stabilized by protein/polysaccharide hybrid particles as potential alternative for PHOs[J]. Food Chemistry, 2017, 231(9): 122-130.
- [6] LIU F, ZHENG J, HUANG C H, et al. Pickering high internal phase emulsions stabilized by protein-covered cellulose nanocrystals[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82(9): 96-105.
- [7] GUO B, HU X, WU J, et al. Soluble starch/whey protein isolate complex-stabilized high internal phase emulsion: Interaction and stability[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 111(2): 106377.
- [8] LIU H, LI Q H, ZHU D S, et al. Effects of sucrose and urea on soy hull pectic polysaccharide gel induced by *D*-glucono-1,5-lactone[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(1): 542-545.
- [9] XIONG W F, REN C, LI J, et al. Characterization and interfacial rheological properties of nanoparticles prepared by heat treatment of ovalbumin-carboxymethylcellulose complexes [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82(9): 355-362.
- [10] HU J, ZHAO T F, LI S J, et al. Stability, microstructure, and digestibility of whey protein isolate - *Tremella fuciformis* polysaccharide complexes [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89(4): 379-385.

- photostability and bioaccessibility of resveratrol using ovalbumin-carboxymethylcellulose nanocomplexes and nanoparticles [J]. *Food & Function*, 2018, 9 (7): 3788-3797.
- [11] 金银霜. 大豆分离蛋白稳定高内相乳液的制备、特性及应用[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.  
JIN Y S. Preparation, characteristic and application of high internal phase emulsion stabilized by soybean protein isolate[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [12] JIANG Y, ZHANG C, YUAN J H, et al. Effects of pectin polydispersity on zein/pectin composite nanoparticles (ZAPs) as high internal-phase Pickering emulsion stabilizers [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 219(9): 77-86.
- [13] LI R R, HE Q, GUO M, et al. Universal and simple method for facile fabrication of sustainable high internal phase emulsions solely using meat protein particles with various pH values[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 100(3): 105444.
- [14] 许彦腾. 球蛋白作为软颗粒稳定高内相乳液的途径及分子机制[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.  
XU Y T. Approaches and molecular mechanisms for globular proteins to stabilizing high internal phase emulsions as soft particles [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.
- [15] XIONG W F, DENG Q C, LI J, et al. Ovalbumin-carboxymethylcellulose complex coacervates stabilized high internal phase emulsions: Comparison of the effects of pH and polysaccharide charge density [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 98(1): 105282.
- [16] SPADA J C, MARCZAK L D, TESSARO I C, et al. Interactions between soy protein from water-soluble soy extract and polysaccharides in solutions with polydextrose [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 134 (12): 119-127.
- [17] HUANG H, BELWAL T, AALIM H, et al. Protein-polysaccharide complex coated W/O/W emulsion as secondary microcapsule for hydrophilic arbutin and hydrophobic coumaric acid[J]. *Food Chemistry*, 2019, 300(12): 125171.
- [18] ZHAN F C, SHI M Q, WANG Y T, 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(7): 658-667.
- [19] YI J, GAN C, WEN Z, et al. Development of pea protein and high methoxyl pectin colloidal particles stabilized high internal phase pickering emulsions for  $\beta$ -carotene protection and delivery[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 113(4): 106497.
- [20] LIU W, GAO H X, MCCLEMENTS D J, et al. Stability, rheology, and  $\beta$ -carotene bioaccessibility of high internal phase emulsion gels[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 88(3): 210-217.
- [21] 徐清莹. 大豆皂苷-大豆 7S/11S 蛋白复合体系的油水界面行为及其乳液稳定性研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2020.  
XU Q Y. Oil-water interface behavior and emulsion stability of soyaaponin-7S/11S mixture[D]. Jinzhou: Bohai University, 2020.
- [22] YANG T, LI X T, TANG C H. Novel edible pickering high-internal-phase-emulsion gels efficiently stabilized by unique polysaccharide-protein hybrid nanoparticles from Okara [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 98(1): 105285.
- [23] DAI H J, LI Y, MA L, et al. Fabrication of cross-linked  $\beta$ -lactoglobulin nanoparticles as effective stabilizers for Pickering high internal phase emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 109: 106151.

### Effect of Whey Soy Protein / Soy Hull Polysaccharide Polymer on High Internal Phase Emulsion Stability

Wang Shengnan<sup>1,2</sup>, Wang Bingye<sup>1</sup>, Zhao Guilan<sup>1</sup>, Yang Lina<sup>1,2</sup>, Zhu Lijie<sup>1,2</sup>,  
He Yutang<sup>1,2</sup>, Liu Jun<sup>3</sup>, Liu He<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Food Science and Technology, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

<sup>2</sup>Liaoning Province Grain and Cereal Food Bio-efficient Transformation Engineering Research Center, Bohai University, Jinzhou 121013, Liaoning

<sup>3</sup>Shandong Yuwang Ecological Food Industry Co. Ltd., Yucheng 251200, Shandong)

**Abstract** In this study, whey soy protein (WSP) and soy hull polysaccharide (SHP) were electrostatic interacts with each other by adding polysaccharide to soy whey to form polymers for the preparation of stable high internal phase emulsion (HIPEs). The results showed that with the increase of polysaccharide content, the polysaccharide content in the polymer increased, the protein content decreased, the microstructure of the polymer became denser, and the thermal stability of the polymer improved. The electrostatic interaction between WSP and SHP was proved by Fourier transform infrared spectroscopy, scanning electron microscopy and differential scanning calorimetry. In addition, SHP/WSP polymers stabilized 75% of the oil phase of HIPEs. With the increase of polysaccharide content in SHP/WSP polymer, the apparent viscosity,  $G'$  and  $G''$  increased. By measuring the rheology and multiple light scattering of HIPEs before and after heat treatment or freeze-thaw, it was confirmed that SHP/WSP polymer-stabilized HIPEs had good thermal stability, and homogeneous could form stable HIPEs again after freeze-thaw. This study provides a new idea for the utilization of soy whey, and also provides a theoretical basis for the study of protein polysaccharide polymer stabilized emulsion.

**Keywords** soy whey; whey soy protein; soy hull polysaccharide; high internal phase emulsion; stability