

微射流均质制备乳铁蛋白纳米乳液的研究

康波, 齐军茹, 杨晓泉*

(华南理工大学轻工与食品学院淀粉与植物蛋白工程研究中心, 广州广东 510640)

摘要:以乳液粒度及电位为评价指标,研究了不同均质压力、不同均质次数、不同蛋白含量及温度、pH 等因素对乳液稳定性的影响。实验结果表明,当蛋白质浓度为 1.5%、均质压力为 120MPa、均质次数为 2 次的条件下,微射流处理能显著减小液滴粒径,室温贮存 12h 后,温度、pH、防腐剂等条件对乳液粒径没有显著影响,盐离子强度对乳液粒径和 Z-电位有很大影响,该实验为乳铁蛋白乳液的研制开发提供依据。

关键词:超高压微射流均质,乳铁蛋白(Lf),粒度,稳定性,纳米乳液

Study on the preparation of lactoferrin nano-emulsions with microfluidization

KANG Bo, QI Jun-ru, YANG Xiao-quan*

(Research Center of Starch and Protein Engineering, College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effects of different homogenization conditions (pressure, times) and the concentration of the protein on stability of nano-emulsions were studied with particle size and zeta potential as the analysis index. Also, the system pH, temperature as well as ionic strength and one type of additional antiseptic had also been taken into consideration. The results showed that the technology of dynamic high-pressure microfluidization has significant influence on the particle size and when the concentration of the protein is 1.5%, the samples are processed at the pressure of 120MPa for 2 times, the experiment have the best results. After 12 hours of storage at an ambient temperature, pH, temperature and additional antiseptic had very little influence on the particle size. However, the ionic strength greatly affected the state of the emulsion system. All these studies provided references for the preparation of the Lf nano-emulsions in the practical view.

Key words: dynamic high-pressure microfluidization, lactoferrin, particle size, stability, nano-emulsion

中图分类号: TS252.59

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)08-0182-03

乳铁蛋白(lactoferrin), 又称乳运铁蛋白, 是一种大约有 700 个氨基酸残基构成的, 相对分子质量约为 80000Da 的单体糖蛋白, 1 分子乳铁蛋白能结合两个 Fe^{3+} , 其等电点为 8.0。因其晶体呈红色, 故也有学者称之为“红蛋白”。Lf(乳铁蛋白)是一种具有多种生物学功能的蛋白质, 不仅参与铁的转运, 而且具有抗微生物、抗癌、调节免疫系统等功能。有研究表明, Lf 在酸性条件下非常稳定^[1]。而蛋白质作为乳化剂被应用于许多重要的商品中, 如食品、保健品、制药领域以及个人护肤品等^[2-7]。同时蛋白质作为乳化剂由于具有天然、无毒、无味等无可比拟的优势而得到广泛的研究和应用^[8-9]。因此, 鉴于乳铁蛋白的种种优良特性, 充分利用我国丰富的乳资源, 开发乳铁蛋白食品及相关体系具有极大的迫切性。

动态超高压微射流均质技术是一种特殊形式的超高压均质技术。利用高压均质等手段制得的纳米乳液是一种非热力学稳定体系, 呈透明或半透明状, 粒度尺寸在 50~200nm 之间^[10], 同时具有抗沉降和抗乳析动力学稳定性。纳米乳液的研究在食品领域已经成为热点。随着高压均质机作为一种新型手段的到来, 纳米乳液的制造成本将不断降低以至最终接近传统乳液。本文利用超高压微射流均质的方法制备乳铁蛋白纳米乳液。详细研究了均质工艺条件、温度、pH、防腐剂等因素对乳液粒径及稳定性的影响, 为乳铁蛋白的进一步应用提供技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

乳铁蛋白(Lf) 蛋白含量 96%, 产地荷兰, 广州方道商贸有限公司提供; 玉米油 市售; 反渗透纯净水 自制。

动态超高压微射流均质机 型号 M-110EH-30 美国; 纳米粒度分布仪(Nano-Zs)、Zeta 电位分析仪(MPT-2) 英国 Malvern 公司; HD-1 型高速乳化

收稿日期 2009-03-25 * 通讯联系人

作者简介: 康波(1982-), 女, 在读硕士, 研究方向: 粮食油脂与植物蛋白工程。

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD27B04)。

均质机。

1.2 乳铁蛋白纳米乳液的制备

将乳铁蛋白(Lf)以一定比例溶于反渗透水中,加入2%(v/v)的玉米油混合搅拌,在高速乳化均质机20000r/min条件下剪切2min,形成粗乳液。

将以上制备的粗乳液样品通过动态超高压微射流均质机进一步在不同的均质工艺下处理,制备得到纳米乳液。室温静置12h后测定其粒径。

1.3 不同的后续处理条件对乳液粒径的影响

分别将乳液样品调节使其具有不同pH、不同盐离子强度、不同防腐剂含量以及在不同的温度下保温处理,在室温下静置12h后分别进行粒径和Z-电位的测定。

2 结果与讨论

纳米乳液属于多分散体系,具有热力学不稳定性。本研究采用乳铁蛋白这种单体糖蛋白作为体系的乳化剂,没有添加其它乳化稳定剂。建立一个简单的乳液体系模型,从而为以后的研究奠定基础;并考察了微射流技术工艺和不同后处理条件对乳液稳定性的影响。

2.1 蛋白浓度对乳液粒径的影响

由于乳铁蛋白是一种分子量约为80000Da的糖蛋白,因此具有良好的乳化稳定性。添加不同浓度的蛋白制备的乳液粒径有所不同(见图1)。其中乳铁蛋白添加量为1.5%(w/v),玉米油体积分数为2%(v/v)时,乳液的平均粒径要比其它浓度乳液的粒径小。蛋白的浓度从0.5%增加到3.0%过程中,乳液的粒径总体上呈现先下降再上升趋势。乳化剂在乳液形成过程中的重要作用之一就是在分散液滴表面形成界面膜。当蛋白浓度从0.5%增大到1.5%时,纳米乳液的粒径越来越小,而当乳铁蛋白的浓度继续增大到3%时,乳液的粒径随蛋白浓度的增大而增大,并逐渐趋于稳定。

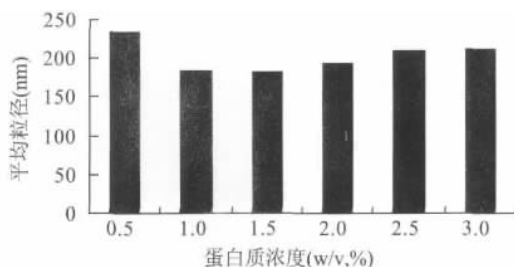


图1 不同蛋白浓度制备的纳米乳液室温贮存12h后的粒径变化

蛋白是一种相对大分子量的乳化剂,在乳液形成过程中,分散于油水界面上,当其浓度过低时,液滴界面不能达到饱和吸附,不足以形成紧密的界面膜,可能造成较小液滴的聚合,不利于乳液获得较小粒径,而蛋白浓度过高,可能会由于剩余蛋白间相互作用而导致体系总的液滴粒径增大。也可能由于浓度过高,使油水相比比例减小,从而导致液滴之间的距离过近发生碰撞而合并所致^[1]。

2.2 不同均质压力和均质次数对乳液粒径的影响

在蛋白浓度为1.5%(w/v),玉米油体积分数为

2%(v/v)时,在不同均质压力下均质不同次数(见图2、图3),考察其对乳液粒径的影响。

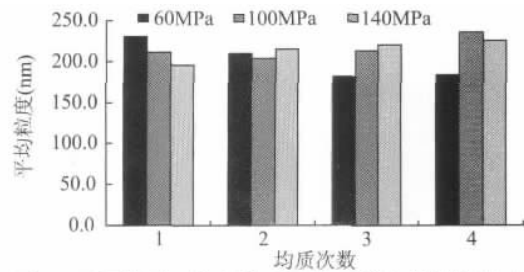


图2 不同均质压力和均质次数对乳液粒径的影响

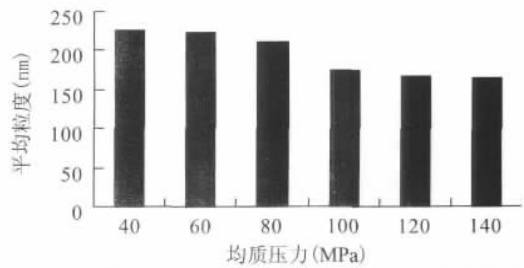


图3 不同均质压力下均质2次对乳液粒径的影响

结果表明,在60MPa的常规压力下,随着均质次数的增多,液滴的粒径不断减小并最终趋于稳定;在100MPa压力下,随着均质次数的增多,液滴粒径轻微减小然后增大,可能由于均质次数的增多,体系产生了“过处理效应”^[12];在140MPa压力下,液滴粒径有不断增大的趋势。而同样的均质1次时,随着压力的增大,体系的粒径明显减小。随着均质次数的增加,“过处理”现象更加明显。

综合以上实验结果,选定120MPa, Lf蛋白浓度1.5%(w/v),玉米油体积分数2%(v/v)下均质循环两次作为乳液样品制备条件。

2.3 pH对乳液粒度特性的影响

将制备得到的乳液样品调节至不同的pH,室温静置12h后,利用动态光散射纳米粒度分布仪测定乳液的粒径和Z-电位。pH对乳液粒度特性的影响见图4。实验结果表明,除了在pH2的条件下时,体系液滴平均粒径有略微上升外,其它pH对体系乳液液滴粒径基本保持不变。随着pH不断降低,Fe³⁺的不断氧化,体系颜色由乳红色变为乳白色;体系Z-电位则随着pH的增大呈现先升高再降低的趋势。

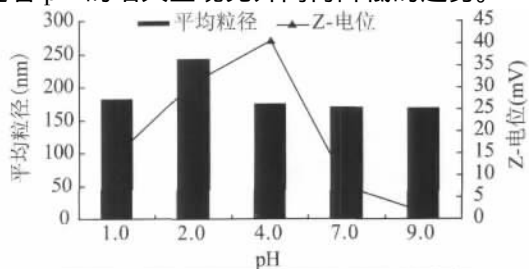


图4 pH对乳液粒径和Z-电位的影响

在没有其它盐离子存在的条件下,即使在蛋白等电点附近,室温贮存12h乳液也没有明显乳析和分层现象。说明高压处理,乳液油滴得到非常大程度的破碎,蛋白作为乳化剂能更加充分地分布到油水界面上,乳液具有非常高的动力学稳定性。实验结果表明,在常用的食品体系酸性环境中,该乳液具

有很好的乳化稳定性。

2.4 温度和防腐剂对乳液粒径的影响

将制备得到的乳液样品分别在 25、35 和 60℃ 条件下恒温保存 1h,自然冷却至室温,静置 12h 后测定其粒度,分别添加 0.01、0.1mol/L 苯甲酸钠作为防腐剂,同样室温静置 12h 后测定粒度(见图 5)。

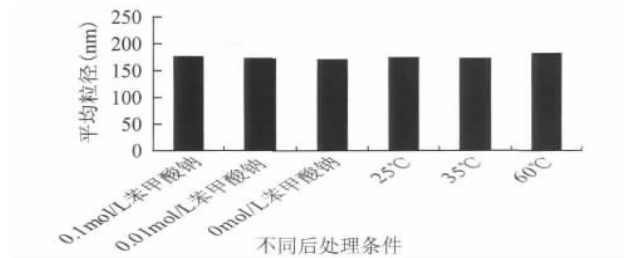


图5 不同后处理条件对乳液粒径的影响

实验结果表明,添加防腐剂和保温处理对乳液体系的平均粒径没有显著影响。

2.5 盐离子浓度对乳液特性的影响

在 120MPa, Lf 蛋白浓度为 1.5%(w/v) 2%(v/v) 的玉米油条件下制备得到纳米乳液后,分别调节体系的离子强度为 0.1、0.15、0.2mol/L,室温静置 12h 后分别测定体系的粒度和 Z-电位(见图 6)。

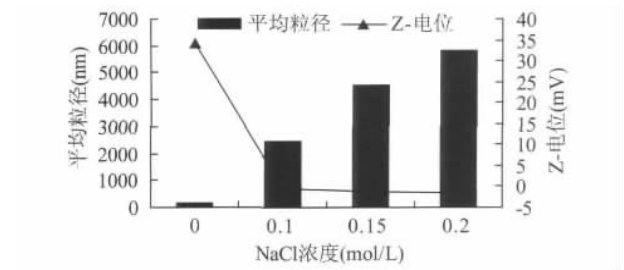


图6 离子强度对乳液粒径的影响

实验结果显示,随着盐离子浓度的增加,乳液的粒径变得很大,这可能是由于高盐离子浓度条件下,盐离子破坏了蛋白质周围的双电层,结果导致蛋白质大量聚集,乳析现象明显,粒径大幅度增高。这也同以前有些研究的结果相一致,在低盐离子浓度($<0.05\text{mol/L}$)的条件下,乳液稳定性很高,粒径受离子强度影响很小;而在高离子强度($>0.1\text{mol/L}$)的条件下,乳液发生剧烈聚集^[13]。

同时盐离子的加入使得体系的电位由正变为负,随着盐离子浓度的增加,负绝对值越来越大,乳铁蛋白是一种酸性蛋白质,稳定乳液体系呈现正 Z-电位。当加入盐离子后,它们与蛋白强烈争夺蛋白双电层中的水。随着盐离子浓度的升高,Z-电位由正变为负也不断增加,体系逐渐不稳定。

3 结论

本研究的目的是以乳铁蛋白这种典型单体糖蛋

白作为模型蛋白乳化剂,研究在超高压微射流均质处理及各种后处理条件下乳液体系的稳定性。实验结果显示,制备动力学稳定乳液体系来说,超高压微射流技术是一种有用的应用技术。当蛋白质浓度为 1.5%,压力为 120MPa,均质次数为两次的时候制备的乳液具有良好稳定性。对热、酸和防腐剂的稳定性都非常好,这些都为后续实验奠定了良好的研究基础。

参考文献

- [1] 唐义国,刘世清,王胜详.乳铁蛋白的理化性质及其生物学功能[J].畜牧兽医科技信息,2005(10):64~65.
- [2] Kabalnov. Thermodynamic and theoretical aspects of emulsions and their stability [J]. Current Opinion In Colloid & Interface Science, 1998, 3(3): 270~275.
- [3] Dickinson E, Stainsby G. Colloids in Food Applied Science [M]. UK: London, 1982.
- [4] D J McClements. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques [M]. Boca Raton, 2004, 2.
- [5] Stig Friberg, Kzåre Larsson, Johan Sjöblom. Food Emulsions [M]. New York: Eds Marcel Dekker, 2004, 4.
- [6] Dickinson E, Radford SJ, Golding M. Stability and rheology of emulsions containing sodium caseinate: combined effects of ionic calcium and non-ionic surfactant [J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17(2): 211~220.
- [7] Dickinson E. An Introduction to Food Colloids [M]. UK: Oxford: Oxford University Press, 1992.
- [8] Wilde P, Mackie A, Husband F, et al. Proteins and emulsifiers at liquid interfaces [J]. Advance in Colloid and Interface Science, 2004, 108~109: 63~71.
- [9] McClements D. Protein-stabilized emulsions [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2004, 59(7~8): 355~359.
- [10] Sole I, Maestro A, Pey CM, et al. Nano-emulsion preparation by low energy methods in an ionic surfactant system [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspect, 2006, 288(1~3): 138~143.
- [11] 袁媛,毛立科,高彦祥. Tween 系列乳化剂对 β -胡萝卜素纳米乳液粒径及稳定性的影响 [J]. 食品科学, 2008, 29(5): 181~186.
- [12] Jafari S M, et al. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification [J]. Food Hydrocolloids, 2007(9): 6.
- [13] Thepkunya Harnsilawat, Rungnaphar Pongsawatmanit, David J McClements. Influence of pH and Ionic Strength on Formation and Stability of Emulsions Containing Oil Droplets Coated by α -Lactoglobulin-Alginate Interfaces [J]. Biomacromolecules, 2006(7): 2052~2058.

欢迎光临我们的网站

www.spgykj.com