

花生乳脂球 ζ -电位及其乳化膜组成的研究*

Study on the ζ -Potential of Emulsified Peanut fat Globule and the Component of Emulsified Film

陈全斌 黄天冠^② 陈元发^③ 卢泽勤^③ 张杏辉
Chen Quanbin Huang Tianguan^② Chen Yuanfa^③ Lu Zejian^③ Zhang Xinghui

(广西师范大学计算分析测试中心 桂林 541004)

(Computer and Analysis Test Center, Guangxi Normal University, Guilin, 541004)

摘要 采用捣碎、匀浆、离心分离方法,从去红衣花生仁制取花生油脂乳状液,应用微电泳仪测定乳脂球在系列 pH 值和不同浓度的几种盐溶液中的 ζ -电位,探讨了乳脂球的稳定性及其乳化膜的组成。

关键词 电泳 乳状液 花生乳脂球 ζ -电位

Abstract Centrifugal partition method was used to measure the ζ -potential of emulsified peanut fat globule of peanut protein-oil emulsion. By letting the emulsified peanut fat globule float to the surface, the floating emulsified fat film was sucked, rinsed with water and then separated by centrifuge to remove the free peanut protein corpuscle. Finally, peanut oil water emulsion was obtained. Repeat these steps three times. The final emulsion was homogenized for 9 minutes at 10000 r/min. pH Values of serial buffer solutions of emulsified fat particles and ζ -potentials of some salts like CaCl₂ in serial concentrations were determined. The results show that, when ζ was 0, the range of pH value was 3.8~5.6. When pH was below 3.8, ζ -potentials rapidly increased in positive. When pH value was 5.6, ζ -potentials slowly increased in negative. The ζ -potential of emulsified fat globule was not only influenced by different salts but also by their concentrations. If the concentrations of MgCl₂ and CaCl₂ increased to 4.8 and 6.0 m mol/L, respectively, the ζ could become 0. The component of emulsified film of oil-water globule were peanut protein and peanut lecthin.

Key words electrophoresis, emulsion, emulsified peanut fat globule, ζ -potential

花生蛋白油脂乳状液,是由花生(Peanut)去壳、脱红衣、水浸泡研磨、离心除去不乳化物(纤维素、半纤维素等)、匀浆而得的白色乳状物,有一定的稳定性。这种乳状液组成较复杂,但一般地可以认为是由花生蛋白微粒和乳化花生油脂滴分散于水介质中组成。经研究^[1],花生蛋白油脂乳状液中的油脂呈球形状态分布于水介质中,这里所指的油脂球,实际上是已乳化了,因此称为乳脂球较为合适。乳脂球的大小分布与对乳状液的匀浆速度和时间有关。表1是文献[1]列出的匀浆转速为10 000 r/min,不同的匀浆

时间得到的乳脂球直径和比表面积的数据。

表1 花生乳脂球大小分布主要参数

Table 1 Main parameter of size distribution of emulsified peanut fat globule

样品编号 NO	a	b	c	d
匀浆时间 Refining time (min)	3	6	9	12
中值直径 Median diam (μ m)	6.23	4.80	5.50	3.02
高频直径 Modal diam (μ m)	7.01	6.23	7.23	3.12
比表面积 Surface area (m ² /g)	1.680	2.984	2.077	5.094

1995-01-19 收稿。

* 国家自然科学基金资助项目。

② 桂林地区教育学院 桂林 541001 Guilin Zone Educational College, Guilin, 541001

③ 广西师范大学化学系 桂林 541004 Chemistry Department, Guangxi Normal University, Guilin, 541004

表中列出的乳脂球大小及比表面积与文献 [2, 3] 列出的人乳和牛乳的有关数据相当。这说明, 对花生蛋白油脂乳状液的胶体化学性质的研究所以具有的意义。本文系在研究花生乳脂球大小分布的基础上, 进一步研究其在不同 pH 值和若干种盐的不同浓度溶液中的 ζ -电位, 以了解花生乳脂球在这些溶液中的稳定性和破乳作用, 并探讨乳脂球的乳化膜组成。

1 实验

1.1 材料与设备

花生品种: 中花 117 号, 阳朔县种植, 含花生蛋白 28.8%, 油脂 44.5%。

主要设备: VIRTIS 匀浆器 (美国产), DDM-1 型微电泳仪 (上海市计量局实验厂产), 离心机 (国产), 电感耦合等离子体光谱仪 (美国 Leeman)。

1.2 花生油脂乳状液的制备

取花生仁 4 g, 40°C 水浸 30 min, 去红衣取仁加水 100 ml, 以 5 000 r/min 的转速下捣碎 5 min, 在 2 000 r/min 的转速下离心 5 min, 去掉沉淀物, 取花生蛋白油脂乳状液, 置于离心机中, 再以 3 500 r/min 离心 10 min, 括取上浮的油脂乳层, 置于与原花生蛋白油脂乳状液等容的水中, 用玻棒充分搅拌洗涤, 使游离的蛋白微粒与乳脂球分开, 再离心分离, 括取油脂乳层进行洗涤、分离、重复上述操作 3 次, 于最后以 10 000 r/min 转速, 匀浆 9 min, 即得到除去游离蛋白微粒后的花生油脂乳状液。

1.3 系列 pH 缓冲溶液的制备

为使花生乳脂球能在一系列的一定的已知 pH 值的水介质中测定其 ζ -电位, 特制备能控制反应介质酸碱度的缓冲溶液。本研究系根据文献 [4] 介绍的氢氧化钠—醋酸—磷酸—硼酸缓冲溶液配制方法配制一系列缓冲溶液。

1.4 CaCl₂ 等盐类定浓系列溶液的配制

为了测定若干种盐溶液对花生乳脂球 ζ -电位的影响, 特配制 CaCl₂、MgCl₂、NaCl 和 Na₂SO₄ 等盐的各自的系列定浓溶液。方法是将各种盐进行干燥处理、称重、配制成 mol 浓度溶液, 再经稀释而得到系列的 m mol 浓度溶液。

1.5 实验测定方法

1.5.1 测定原理

本实验测定乳脂球在介质中的 ζ -电位, 系利用 DDM-1 型微电泳仪进行的。乳脂球在电场的作用下的迁移运动, 该仪器系通过光学放大成象在投影屏上, 读出乳脂球在某一预定的距离内多次换向泳动的时间和次数, 据此, 可计算出电泳速度, 再

根据下面列出的海姆霍茨 (Helmholtz) 方程, 便可计算出 ζ -电位:

$$\zeta = \frac{4\pi\eta u}{\epsilon E} 300^2 \quad (1)$$

为了处理数据方便, 再根据欧姆定律和测定的电泳电流, 被测液的比电导数据进行变换, 以及单位的换算, 把式(1)改变为:

$$\zeta = \frac{Cu \Lambda_0 B}{I} \quad (2)$$

$$\text{式中, } C = 4\pi \cdot 300^2 \cdot \frac{\eta}{\epsilon} = 1.13 \cdot 10^6 \cdot \frac{\eta}{\epsilon}$$

当系水介质, 25°C 时, $C = 12.85$; 式中 B 是电场校正系数, 于 25°C 时, 其值为 0.0957。代入式(2)则可得:

$$\zeta = 1.2297 \frac{u \Lambda_0}{I} \quad (3)$$

式中, u 为电泳速度 ($\mu\text{m/s}$), 等于确定的计时距离 (μm) 除以计时测定平均值 (s); Λ_0 为测定液的比电导 (Ω^{-1}); I 为流经电泳池的电泳电流 (A)。通过实验测定这些数据, 代入式(3)即可求出乳脂球的 ζ -电位。

1.5.2 实验测定操作

(1) 吸取花生油脂乳状液 1 ml, 分别加入到 100 ml 的已知 pH 值的系列缓冲溶液或已知 m mol 浓度的 CaCl₂ 等定浓的系列溶液中, 用玻棒充分搅拌 5 min, 使混合均匀和达到作用平衡, 留作测试样品。

(2) 应用电导率仪测定样品液的比电导; 将样品注入电泳池中, 按微电泳仪操作规程进行实验操作。

(3) 确定计时距离为 100 μm , 实验温度为 25°C。

(4) 测定计时, 以秒为单位, 数据从仪器显示屏读取, 采取多点, 多次测定, 以便求出乳脂球在计时距离范围内的平均电泳时间和进而求得电泳速度。

(5) 记录电泳过程电泳池两端电压 (V), 和流经电泳池的电流 (A)。

2 实验结果

2.1 花生乳脂球的 ζ -电位与乳状液 pH 值的关系

将花生乳脂球在不同 pH 值系列缓冲液中, 应用微电泳仪等实验测得的数据和利用式(3)计算得的 ζ -电位值列于表 2。经作乳脂球 ζ -电位与乳状液 pH 值关系图, 由图估算得 $\zeta=0$ 时, pH 区间的两侧端点值分别为 3.8 与 5.6。

2.2 花生乳脂球在 CaCl₂ 等若干种盐的系列浓度溶液中的 ζ -电位

花生乳脂球的 ζ -电位与 CaCl₂、MgCl₂、NaCl 和 Na₂SO₄ 等盐类浓度的关系如图 1、图 2 和图 3 所示。

表 2 花生乳脂球在系列 pH 的缓冲液中测定的电泳数据和 ζ -电位值 (计时距离: 100 μm , 温度 25 $^{\circ}\text{C}$)

Table 2 Electrophoresis and ζ -potential data of emulsified peanut fat globule in the measures of a serial pH buffer solutions (measure distance: 100 μm , temperature: 25 $^{\circ}\text{C}$)

序号 No	pH	$\Lambda_0 \times 10^3$ (Ω^{-1}/cm)	电泳电压 Electrophoresis voltage (V)	电泳电流 Electrophoresis current ($\times 10^3 \text{A}$)	平均移动时间 Average move times (s/次 s/each time)	ζ -电位 ζ -potential (mv)	荷电情况 Load charge condition
1	2.56	3.70	200	2.10	4.61	47.0	+
2	3.29	3.15	195	1.75	5.37	41.2	+
3	3.78	3.15	196	1.87	6.72	30.9	+
4	4.35	3.15	275	2.62		0	
5	4.78	4.35	285	3.65		0	
6	5.33	5.05	285	3.95		0	
7	6.09	5.40	285	4.25	16.98	9.41	-
8	6.59	6.45	250	4.25	11.83	15.77	-
9	7.00	7.00	300	5.70	7.56	19.9	-
10	7.54	7.50	140	2.81	14.84	22.1	-
11	8.69	8.25	240	5.30	6.39	29.9	-
12	9.37	9.00	240	5.80	5.65	33.8	-
13	9.91	10.0	200	5.20	5.59	42.3	-

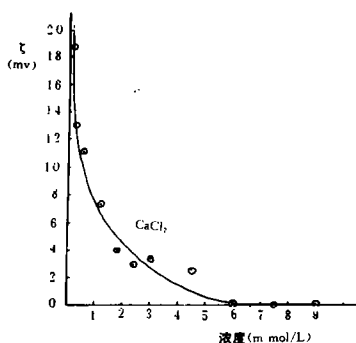


图 1 花生乳脂球 ζ -电位与 CaCl_2 浓度关系图 (25 $^{\circ}\text{C}$)

Fig. 1 The relation between emulsified peanut fat globule ζ -potential and CaCl_2 solution concentration (25 $^{\circ}\text{C}$)

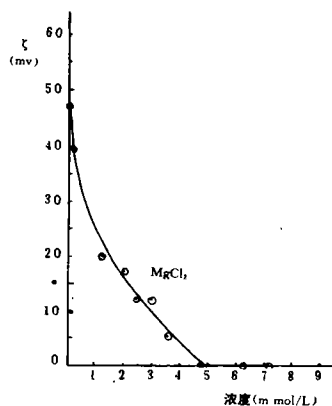


图 2 花生乳脂球 ζ -电位与 MgCl_2 浓度关系图 (25 $^{\circ}\text{C}$)

Fig. 2 The relation between emulsified peanut fat globule ζ -potential and MgCl_2 solution concentration (25 $^{\circ}\text{C}$)

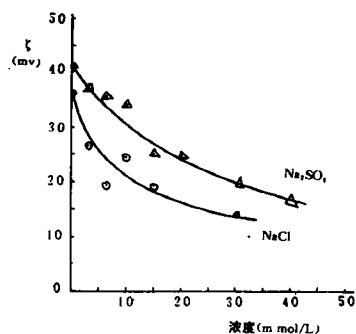


图 3 花生乳脂球 ζ -电位与 NaCl 、 Na_2SO_4 浓度关系图 (25 $^{\circ}\text{C}$)

Fig. 3 The relation between emulsified peanut fat globule ζ -potential and NaCl 、 Na_2SO_4 solution concentration (25 $^{\circ}\text{C}$)

3 讨论

(1) 花生乳脂球在酸碱溶液中的稳定性

从表 2 可以看出花生乳脂球 ζ -电位与花生油脂乳状液的 pH 值有明显的依赖关系, 当乳状液的 pH 值从低值向高值变化时, 乳脂球 ζ -电位逐渐变小, 当 pH 值在 3.2~3.8 之间时则变化迅速, 在 pH 在 3.8~5.6 之间时, ζ -电位等于零, 随着 pH 值继续增加, ζ -电位向负值变化, 即:

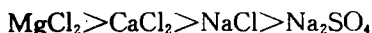
pH: 低 \longrightarrow 高
 ζ -电位: (+) \rightarrow 0 \rightarrow (-)

ζ -电位等于零,说明乳脂球上的乳化膜所形成的使乳脂球处于稳定状态的双电层消失,在这 pH 区间,乳脂球处于最不稳定状态,当 pH 值在 $\zeta=0$ 的区间的两个端点之外时,随着 pH 的减小或增大, ζ -电位不断增加(正值或负值),乳脂球也渐趋于稳定。

CO₂ 溶于水生成碳酸,与空气接触的蒸馏水,达到 CO₂ 溶解平衡时,此种蒸馏水的 pH \approx 5.7,这就是说,花生油脂乳状液置于空气中,由于 CO₂ 的溶入, pH 可达到使乳脂球 $\zeta=0$ 左右,处于不稳定状态。

(2) 乳脂球在几种盐溶液的稳定性

由图 1、2、3 可以看到,乳脂球在不同盐 and 不同浓度中具有不同的 ζ -电位,在相同浓度和温度条件下,对乳脂球稳定性影响的次序为:



在实验浓度条件下能使乳脂球 ζ -电位等于零的盐溶液是 MgCl₂ 和 CaCl₂ 溶液,不能使之等于零的是 Na₂SO₄ 和 NaCl。从图 1、2 的曲线找到交于横坐标的点, MgCl₂ 为 4.8 m mol/L, CaCl₂ 为 6.0 m mol/L。

在这 3 幅图中的几条曲线,当横坐标逐步趋于零时,有共同趋于一点的趋势,这点系在 40~45 mv 之间,这一点就是乳脂球在纯水中的 ζ -电位。

(3) 酸类和几种盐对花生乳脂球的破乳作用

表 1 和图 1、2 揭示了,花生乳脂球在 pH=3.8~5.6 和在 MgCl₂、CaCl₂ 的 4.8m mol/L, 6.0 m mol/L 浓度以上均能使 $\zeta=0$,而为了了解在这些条件下能否使花生乳脂球产生破乳作用。做了如下实验。

按本文 1.3, 1.4, 制备系列 pH 缓冲溶液和 MgCl₂ 和 CaCl₂ 定浓系列溶液,各取 20 ml 放入试管,置于 25℃ 的恒温水槽中,然后加入按本文 1.2

制得的花生油脂乳状液 1 ml, 摇匀, 静置, 观察, 结果如表 3。

表 3 记录了在 pH3.7~5.3 范围内产生了破乳, 这个 pH 范围与 $\zeta=0$ 时的 pH 值基本一致, 产生一些偏差, 可能是由于系列 pH 溶液制备精度不够而造成的。

在 MgCl₂ 和 CaCl₂ 溶液的试验中, 未获明显的结果。

(4) 花生乳脂球表层乳化膜组成探讨

经过研究, 已知花生油脂是以球状分散于水介质中的, 靠吸附着一层乳化剂形成乳化膜, 乳化膜在水介质中进一步形成双电层, 它的电动电位就是本研究测定的乳脂球的 ζ -电位。花生乳脂球在介质中的稳定状态和稳定度与乳化膜的电性质密切相关。

形成乳化膜的乳化剂, 具有两亲(亲水, 亲油)性质。在系列 pH 值溶液中测定乳脂球 ζ -电位时发现, 当 pH 从低到高变化时, ζ -电位从正电位变小, 趋于零, 而后进入负值区, 表现出两性电解质的典型性质。单一的两性电解质, 它有一个特定的等电点, 在这个等电点时, $\zeta=0$, 而花生乳脂球的 $\zeta=0$ 时的 pH 不在一个特定的值上, 而是一个 pH 值区间内, 显然, 乳脂球的乳化膜不是一种简单的物质, 例如单一的氨基酸或卵磷脂之类, 而是复合的或是多种物质组成的。

在将经过离心除去花生乳脂后的花生蛋白乳状液进行界面电泳实验时, 测得的花生蛋白 ζ -电位与 pH 值的关系, 有类似于表 1 的情形, 也有一个相似的 $\zeta=0$ 的区, 即花生蛋白的等电点不是一个特定的 pH 值, 而是一个 pH 区。这说明花生乳脂球的乳化膜组成中含有花生蛋白的物质。

表 3 花生乳脂球在系列 pH 溶液中的破乳情况 (25℃)

Table 3 Emulsion breaking of emulsified peanut fat globule in a serial pH solution (25℃)

时间 times (h)	pH									
	2.56	3.29	3.70	4.10	4.35	4.56	5.33	6.09	8.95	10.88
2.00	乳状 Milkiness		乳状, 管壁有少许微油珠 Milkiness, there is a little very small oil a pearl on the test-tube wall					乳状 Milkiness		
4.00	乳状 Milkiness		乳状, 管壁有较多微油珠 Milkiness, there is much small oil a pearl on the test-tube wall					乳状 Milkiness		
14.00	乳状, 有上浮乳油层 Milkiness, have floating emulsified fat film		澄清, 管壁有油珠, 液面有上浮油层 Clarify, have oil a pearl on test-tube wall, have floating fat film					乳状, 有上浮乳油层 Milkiness, have floating emulsified fat film		

现按花生油脂乳状液的制备方法制备三种样品：
 (1) 括取离心上浮乳脂层，不经洗涤；(2) 括取上浮乳脂层，并经过三次加入水充分洗涤；(3) 将离心除去乳脂层后的花生蛋白乳状液，加入盐酸，令花生蛋白聚沉，离心取蛋白，分别放入 105℃ 烘箱中脱水、烘干，按 ICP 光谱仪测定磷的操作方法，测定磷的含量，结果列于表 4。

表 4 花生乳脂球和花生蛋白磷含量 (mg/kg)

Table 4 The phosphorus content in emulsified peanut fat globules and peanut proteins (mg/kg)

(1) 未洗涤乳脂层 The unwashed emulsified fat film	(2) 已洗涤乳脂层 The washed emulsified fat film	(3) 去乳脂后花生 蛋白 The no fat peanut protein
77	181	1342

由表 4 可见，已洗涤的乳脂层含磷量，较未洗涤的乳脂层含磷量增加 1 倍多。这说明，这种含磷化合物，不但在洗涤中未被除去，而在洗涤中因洗去了游离的花生蛋白，而含磷量反而相对地增加，进而表明这种含磷物质是牢固地吸附在油脂球表面的。(3) 号样品是绝大部乳脂球被离心除去，余下的是去脂花生蛋白，而含磷量相对地比 (1)、(2) 号样品含磷量高达十至十多倍。这表明乳脂球的含磷物质系集中在乳化膜上的。

从表 4 可知，已洗涤的乳脂球层含磷量为 181 mg/kg。这些含磷化合物吸附于油脂球上成为单分子的乳化层，为了计算这些含磷化合物能复盖油脂球的表面积多少，设这种含磷化合物为花生卵磷脂，可以简化的认为这是一种卵磷脂 (lecthin, $C_{42}H_{84}O_9PN$)。它是一种复杂的甘油酯，但可以简单地认为卵磷脂的分子是由甘油、二个高级脂肪酸、磷酸和胆碱组成。将表 4 中列出的 (2) 号样品含磷量转化为含卵磷脂量，则为：4.537 g/kg，再利用卵磷脂摩尔量、亚佛加德罗常数，而卵磷脂分子的亲油基端垂直伸向油脂球。这个亲油基，从卵磷脂分子结构可以知道，是由二个高级脂肪酸组成的，设这脂肪酸为硬脂肪酸，则可以认为亲油基的横截面积为硬脂肪酸的两倍 ($2 \times 2.2 \times 10^{-19} m^2$)，从而可以计算得每 kg 乳脂球中的含磷化合物复盖乳脂球的表面积为：

$$4.536 \div 777 \times 6.02 \times 10^{23} \times 4.4 \times 10^{-19} \\ = 1.546 \times 10^3 (m^2/kg)$$

从表 1 可以看到，乳脂球的比表面积为 $2.984 \times 10^3 \sim 5.094 \times 10^3 m^2/kg$ ，故可以认为，含磷化合物只复盖了部分油脂球表面，而另一部分则是由花生蛋白复盖的。当然，它们可能是分子交叉复盖的。花生乳脂球由花生蛋白 (含油脂结合蛋白)、花生卵磷脂 (含磷脂结合蛋白) 等形成乳化层是可能的。

4 小结

为了测定乳脂球的 ζ -电位，系采用将乳状液再离心分离的办法，使乳脂球上浮，括取上浮的乳脂层，经水洗涤，离心分离，反复三次以洗去游离的花生蛋白微粒和其它杂质，制得较纯净的花生油脂乳状液。应用微电泳仪测定花生乳脂球在系列 pH 缓冲液和 $CaCl_2$ 等若干种盐的系列浓度溶液中的 ζ -电位。发现， $\zeta=0$ 时是处于 pH=3.8~5.6 的范围，在低于 pH=3.8 以下时， ζ -电位随 pH 值减小而迅速增加，且为正值，大于 pH=5.6 时， ζ -电位随 pH 值增大而缓慢增加，且为负值。

乳脂球的 ζ -电位，受到实验的若干种盐 and 不同浓度的影响， $MgCl_2$ 和 $CaCl_2$ 分别增加到 4.8 和 6.0 mmol/L 浓度后，可使 $\zeta=0$ ，而 NaCl 和 Na_2SO_4 在实验浓度范围内未出现 $\zeta=0$ 的现象。

从实验测得的乳脂球 ζ -电位值，研究了在酸碱溶液和若干种盐溶液中乳脂球的稳定性。

应用乳脂球 ζ -电位值和测定乳脂球、花生蛋白中含磷数据，探讨了乳脂球的乳化膜组成，认为可能是由花生蛋白质和花生卵磷脂组成。

参考文献

- 1 张杏辉, 陈全斌等. 花生蛋白脂肪乳状液中脂肪球的大小分布. 广西师范大学学报自然科学版, 1994, 12(3): 59~65.
- 2 Max Ruegg et al. The fat globule size distribution in human milk, *Biochimica and Biophysica*, 1981, (666), 7~14.
- 3 乳品工业手册. 北京: 轻工业出版社, 1987, 11.
- 4 楼书聪. 化学试剂配制手册. 南京: 江苏科学技术出版社, 1993, 992, 表 8~17.

(责任编辑: 莫鼎新、唐铃弟、何启彬)