

# 酸诱导酪蛋白胶束-海藻酸钠乳液凝胶性质及其对原花青素的负载性能

乔蕾蕾, 杨敏\*, 秦娟娟, 廖海周, 季伟, 李茜  
(甘肃农业大学理学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 以酪蛋白胶束和海藻酸钠为基质, 以葡萄糖酸- $\delta$ -内酯 (gluconate- $\delta$ -lactone, GDL) 为酸化试剂, 制备含油70%的O/W型乳液凝胶, 研究GDL添加量对乳液凝胶微观结构、稳定性及流变性的影响, 分析乳液凝胶对原花青素 (proanthocyanidins, PC) 的释放特性。结果表明, 随着GDL添加量的增加, 乳液凝胶中油滴的平均粒径减小, 且油滴粒径在贮藏期内逐渐降低。GDL酸化改善了乳液凝胶的表观黏度和储能模量, 二者随GDL添加量的增加而增大。乳液凝胶经65、80 °C热处理30 min后结构未发生显著改变, 且具有较高的酸碱稳定性和贮藏稳定性。另外, 经乳液凝胶负载后, PC在模拟肠液消化过程中的释放率高于游离PC, 其10 h累计释放率随GDL添加量的增加而增大。研究结果可为酪蛋白胶束基乳液凝胶制备及PC稳定性提升提供参考依据。

**关键词:** 酪蛋白胶束; 原花青素; 乳液凝胶; 流变性; 稳定性

Properties and Proanthocyanidin-Loading Capacity of Acid-Induced Micellar Casein-Sodium Alginate Emulsion Gels

QIAO Leilei, YANG Min\*, QIN Juanjuan, LIAO Haizhou, JI Wei, LI Qian  
(College of Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** In this work, oil-in-water (O/W) emulsion gels with 70% oil phase were prepared using micellar casein (MC) and sodium alginate (SA) as substrates with the addition of gluconate- $\delta$ -lactone (GDL) as acidifying agent. The effects of GDL addition on the microstructure, stability and rheological properties of emulsion gels were studied, and the release characteristics of emulsion gels loaded with proanthocyanidins (PC) were analyzed. The results showed that with increasing GDL concentration, the average size of oil droplets in emulsion gels decreased, and it gradually decreased during the storage period. GDL acidification improved the apparent viscosity and storage modulus of emulsion gels, and this effect increased with GDL concentration. The microstructure of emulsion gels did not change significantly after heat treatment at 65 or 80 °C for 30 min. Meanwhile, the emulsion gels were stable to acidic and basic conditions as well as storage. In addition, the release rate of PC-loaded emulsion gels was higher than that of free PC during simulated intestinal digestion, and the cumulative release rate at 10 h increased with GDL concentration. The results of this study could provide a reference for the preparation of emulsion gels based on MC and the improvement of PC stability.

**Keywords:** micellar casein; proanthocyanidins; emulsion gel; rheology; stability

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221117-206

中图分类号: TS252.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 16-0050-11

引文格式:

乔蕾蕾, 杨敏, 秦娟娟, 等. 酸诱导酪蛋白胶束-海藻酸钠乳液凝胶性质及其对原花青素的负载性能[J]. 食品科学, 2023, 44(16): 50-60. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221117-206. <http://www.spkx.net.cn>

QIAO Leilei, YANG Min, QIN Juanjuan, et al. Properties and proanthocyanidin-loading capacity of acid-induced micellar casein-sodium alginate emulsion gels[J]. Food Science, 2023, 44(16): 50-60. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221117-206. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2022-11-17

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (32060549); 甘肃省自然科学基金项目 (22JR5RA861);

甘肃农业大学伏羲杰出人才培养计划项目 (Gaufx-02J02); 甘肃农业大学盛彤笙科技创新基金项目 (GSAU-STS-2018-18)

第一作者简介: 乔蕾蕾 (1996—) (ORCID: 0000-0003-1580-0548), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品化学。

E-mail: 690029331@qq.com

\*通信作者简介: 杨敏 (1981—) (ORCID: 0000-0001-9491-3385), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品化学。

E-mail: yummy12@163.com

原花青素 (proanthocyanidins, PC) 是天然多酚类化合物, 具有良好的抗氧化、抗炎等作用<sup>[1-2]</sup>。然而, PC稳定性较差, 在特定pH值、光、热作用下易降解, 导致生物利用度低, 限制了其在食品及医药行业中的应用<sup>[3]</sup>。为了改善花青素的稳定性和生物利用度, 常对其进行适宜的包封和负载, 已开发出多种负载体系, 如乳液、脂质体、生物聚合物颗粒等<sup>[4-6]</sup>。研究表明, 利用魔芋葡甘聚糖制备的微粒负载PC, 经过胃和小肠各消化4 h后, 保留率可达79.47%<sup>[5]</sup>。以胶原蛋白、果胶、壳聚糖复合物为基质的微胶囊对花青素的包封率高达92.58%, 负载量为12.34 g/100 g<sup>[6]</sup>。葡萄皮中的花青素在W/O/W双乳液中的包封率达(87.74±3.12)%<sup>[7]</sup>。另外, 以淀粉为基质的乳液凝胶对PC和姜黄素具有较好的同时负载和控释效果; 可见, 乳液凝胶在递送活性物质方面具有一定的潜力<sup>[8]</sup>。

乳液凝胶是基于蛋白质、多糖等大分子制备的一种复杂的胶体材料, 其中既有乳液滴又具有凝胶结构, 兼备了乳液和凝胶的双重优点, 具有更好的贮藏稳定性和肠道给药性<sup>[9-10]</sup>。乳液凝胶可作为新型递送系统, 使活性成分更好地到达靶向部位, 提高生物利用度<sup>[11-13]</sup>。Lin Duanquan等<sup>[14]</sup>研究发现, 海藻酸盐和大豆分离蛋白为基质的乳液凝胶对番茄红素包封后, 可通过改变pH值控制释放和提高包封率, 且乳液凝胶包封提高了番茄红素的稳定性。大豆分离蛋白基乳液凝胶对槲皮素的包封率可达(66.62±0.98)%<sup>[15]</sup>。包封在W/O/W型乳液凝胶中的槲皮素化学稳定性和溶解度均得以改善, 有效生物利用度提高了2~4倍<sup>[16]</sup>。由此可见, 乳液凝胶在包埋和递送活性分子方面具有优异的性能。

酪蛋白胶束 (micellar casein, MC) 是乳中酪蛋白的天然存在形态, 具有纳米级多孔结构和两亲性, 可作为一种天然载体, 用于负载活性物质<sup>[17-18]</sup>。本团队前期研究表明, MC负载改善了PC的热稳定性和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>氧化稳定性<sup>[19]</sup>。目前, 已有研究对酪蛋白-海藻酸钠 (sodium alginate, SA) 复合乳液凝胶进行了结构和流变性分析, 发现该乳液凝胶具有良好的持水性<sup>[20]</sup>。此外, 酪蛋白酸钠-阿拉伯糖基木聚糖复合凝胶在递送表没食子儿茶素没食子酸酯时以pH值响应模式释放, 在低pH值下可保护其不降解<sup>[21]</sup>。然而, MC基乳液凝胶性质及其对PC的包封研究较少。

以MC、SA为基质, 以葡萄糖酸- $\delta$ -内酯 (gluconate- $\delta$ -lactone, GDL) 为酸化试剂, 制备含油量为70%的乳液凝胶, 研究GDL添加量对乳液凝胶微观结构、稳定性和流变行为的影响; 分析乳液凝胶对PC的释放特性。研究结果可为乳液凝胶在负载PC方面的应用提供参考依据, 也可为MC在乳液凝胶中的应用提供理论基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

MC参照本团队前期方法制备, 将巴氏杀菌牛乳在4 000×g离心30 min, 所得脱脂乳进行膜过滤, 截留分子质量为100 kDa, 跨膜压力为0.4 MPa, 流速为480 L/h; 收集截留浓缩液后冷冻干燥至恒质量, 即得MC, 测得总蛋白质含量为(83.26±1.87)%; 金龙鱼大豆油 益海嘉里食品工业有限公司; SA、PC、GDL 上海麦克林生化科技有限公司; 胃蛋白酶(1 500 U/mg)、胰蛋白酶(>2 500 U/mg) 上海源叶生物科技有限公司; 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 设备与仪器

FD-1-50真空冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; H1850台式高速离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; AD500S-H均质机 上海昂尼仪器仪表有限公司; N-180M光学显微镜 河南兄弟仪器设备有限公司; MF52-N倒置荧光显微镜 广州明美光电技术有限公司; STA449F5同步热分析仪 德国耐驰仪器制造有限公司; ZEE nit 700P火焰原子吸收光谱仪 德国耶拿分析仪器股份公司; HR-1混合流变仪 沃特世科技有限公司; BXT-SH82恒温水浴振荡器 上海能共实业有限公司; UV-1780双光束紫外-可见分光光度计 岛津仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 乳液凝胶的制备

准确称取一定量的MC, 溶于0.05 mol/L的磷酸盐缓冲溶液中(pH 6.86), 37 °C恒温水浴中磁力搅拌2 h, 并添加0.02%的叠氮化钠作为抑菌剂, 制得40 mg/mL的MC溶液。将一定量SA溶于0.05 mol/L pH 6.86的磷酸盐缓冲溶液中, 37 °C恒温水浴中磁力搅拌至溶解, 4 °C放置过夜至完全水合, 制得2%的SA溶液。

取8 mL MC溶液, 分别添加0、5、10、15 mg/mL的GDL, 37 °C磁力搅拌2 min, 然后与2 mL SA溶液混合, 磁力搅拌2 min; 取9 mL混合液添加到21 mL大豆油中, 采用均质器14 000 r/min均质3 min, 制得乳液凝胶, 分别记作G-0、G-5、G-10、G-15。

向MC溶液中加入4 mg/mL的PC, 参照上述步骤制得乳液凝胶, 分别记作G/PC-0、G/PC-5、G/PC-10、G/PC-15。

#### 1.3.2 乳液凝胶微观结构分析

采用光学显微镜和倒置荧光显微镜观察乳液凝胶的微观结构。用磷酸盐缓冲液将样品稀释一定倍数后放置在载玻片上, 采用光学显微镜于物镜×40、目镜×10下进行观察, 并用ImageJ软件对油滴的尺寸进行统计。用1 mg/mL的罗丹明B对MC染色, 用0.5 mg/mL的尼罗红对油进行染色, 然后制成乳液凝胶, 采用荧光显微镜进行观察, 激发波长分别为545 nm和488 nm。

### 1.3.3 乳液凝胶稳定性分析

#### 1.3.3.1 贮藏稳定性

将乳液凝胶分装于小玻璃瓶中,置于4℃冰箱保存,动态观察其外观及微观结构。

#### 1.3.3.2 热稳定性

将乳液凝胶分别置于65℃和80℃水浴中加热30 min,自然冷却至室温后分析乳液凝胶的外观和微观结构变化。

#### 1.3.3.3 稀释稳定性

向去离子水中加入1 mol/L的HCl溶液或NaOH溶液,分别配制成pH值为1、3、4、5、7、9的水溶液,向乳液凝胶中加入3 mL不同pH值的溶液,放置7 d后对其进行外观及显微镜观察。

### 1.3.4 乳液凝胶中MC解离程度分析

#### 1.3.4.1 MC解离程度分析

分别取放置0 h和72 h的乳液凝胶4 000×g离心60 min;取离心后下层水相,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分析。水相与缓冲溶液以1:1的比例混合,涡旋30 s,在沸水浴中加热5 min,然后在4 000×g离心4 min;上样量为6 μL,电压150 V,用考马斯亮蓝R250进行染色。

#### 1.3.4.2 钙离子的解离程度分析

采用火焰原子吸收光谱仪测定乳液凝胶离心后水相中钙离子含量。

### 1.3.5 热重(thermogravimetry, TG)分析

准确称取13~15 mg乳液凝胶样品,置于氧化铝坩埚中,以空坩埚作为对照,用热分析仪对样品的热稳定性进行分析,用氮气进行吹扫,温度范围为25~500℃,升温速率为5℃/min。

### 1.3.6 乳液凝胶流变性测定

使用流变仪测试乳液凝胶的流变性,采用直径为40 mm的平行板,设置间隙为1 000 μm。测定温度25℃,频率扫描范围10~100 Hz,记录储能模量( $G'$ )和损耗模量( $G''$ )。稳定剪切扫描在剪切速率为10~300 s<sup>-1</sup>下进行。

### 1.3.7 乳液凝胶的体外模拟消化

参考Chang Chao等<sup>[22]</sup>的方法,稍作修改。将1 g乳液凝胶放入截留分子质量为1 kDa的透析袋中,加入3 mL含有3.2 g/L胃蛋白酶和0.5%脂肪酶、pH 1.2的模拟胃液,将透析袋浸没于不加酶的胃液中,于37℃、100 r/min下振荡2 h,每隔0.5 h取3 mL透析液,用同体积模拟胃液补充。振荡结束后将透析袋中的溶液pH值调为7.5,加入3 mL含有10 g/L胰蛋白酶和12 g/L猪胆盐、pH 7.5的模

拟肠液,浸没于不加酶的肠液中,振荡8 h;分别在指定时间点取3 mL透析液,用同体积模拟肠液补充。于波长278 nm处对透析液进行吸光度测定,PC释放量通过同介质下绘制的标准曲线( $y=0.00642x+0.01563$ )计算。

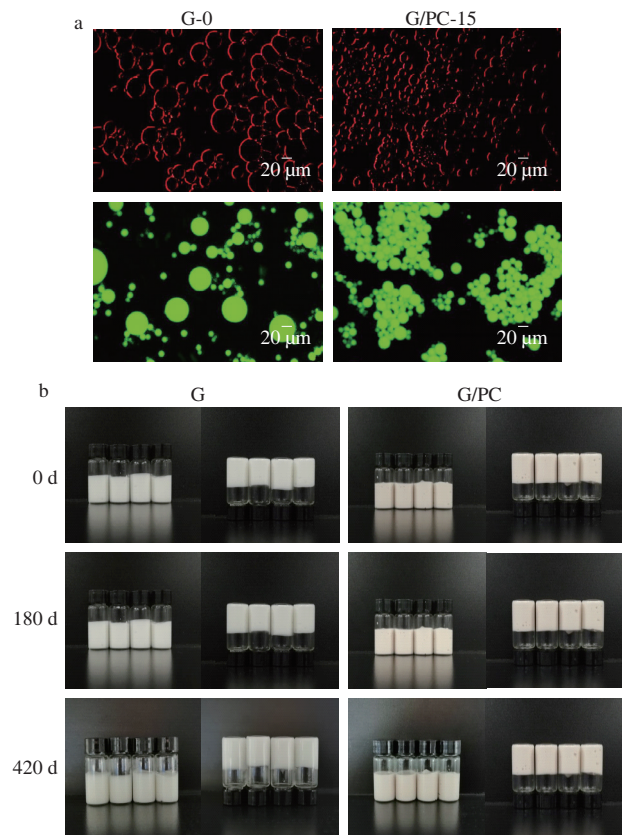
### 1.4 数据统计

所有数据至少为3次实验结果,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。数据采用SPSS 19.0进行单因素方差分析,数据间差异显著分析采用Duncan法, $P<0.05$ ,差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 乳液凝胶的微观结构及贮藏稳定性

由图1a可以看出,乳液凝胶为O/W型结构,MC分布于油滴表面。由图1b可知,乳液凝胶呈半固体状,倒置后未见流动,说明其为凝胶。空白或负载了PC的乳液凝胶放置420 d后没有出现相分离,也未见油相析出,说明凝胶具有极好的贮藏稳定性。



图a中绿色为油滴,红色为蛋白质;图b中样品的排列顺序由左至右分别为GDL添加量0、5、10、15 mg/mL,样品名称依次为G-0、G-5、G-10、G-15、G/PC-0、G/PC-5、G/PC-10、G/PC-15,图3A、4同。

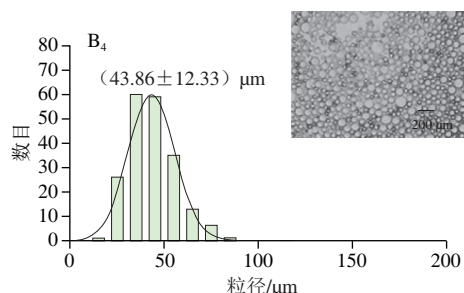
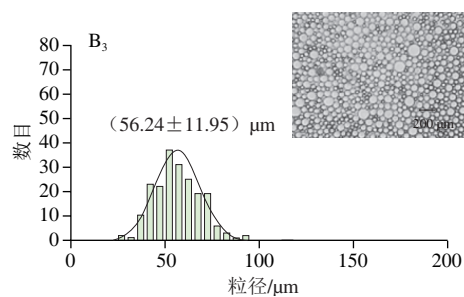
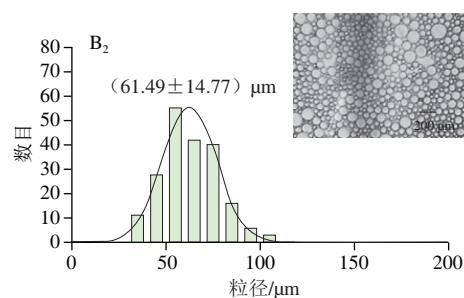
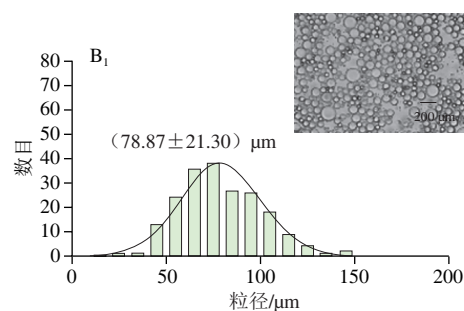
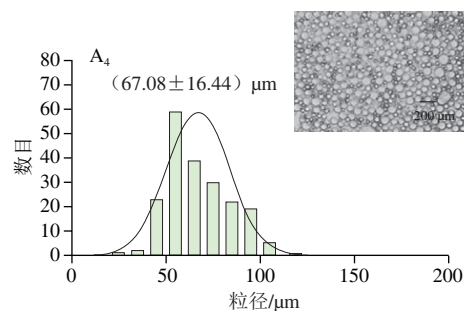
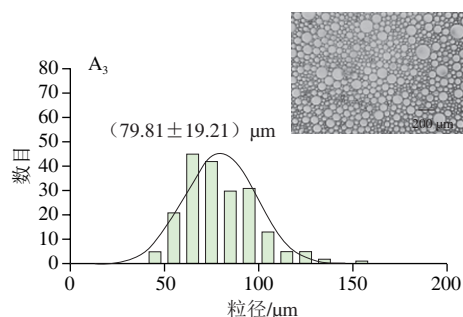
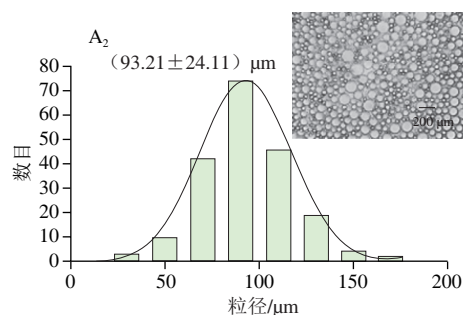
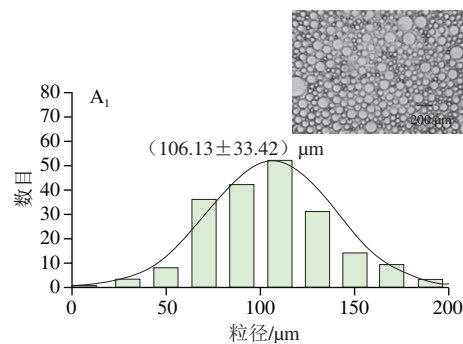
图1 乳液凝胶G-0和G/PC-15的荧光显微镜图(a)及4℃下不同贮藏期G和G/PC乳液凝胶外观(b)

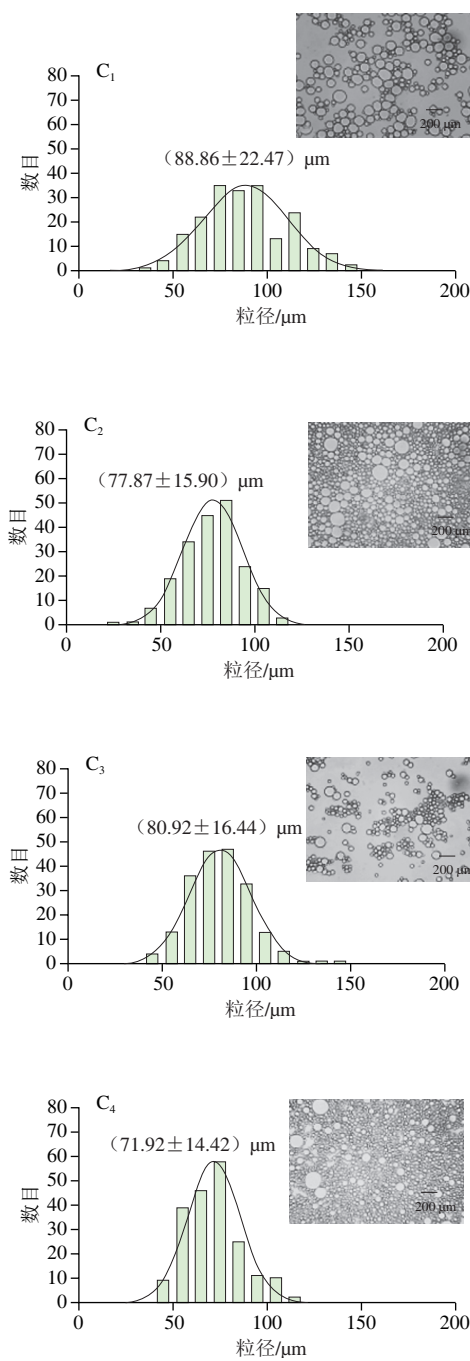
Fig. 1 Fluorescence microscopic images of G-0 and G/PC-15 emulsion gels (a) and appearance of G and G/PC emulsion gels during different storage periods at 4 °C (b)



由图2可知,随着GDL添加量的增大,乳液凝胶中油滴的平均粒径减小,这是因为GDL添加量越大,酸化反应越快,酸化后终点pH值越低。SA在酸的作用下由负电荷变为正电荷,与MC间的相互作用由静电斥力变为静电引力,相互结合形成复合物;另一方面,MC在酸化作用下解离出钙离子,而钙离子具有交联SA的作用,因此MC与SA复合物结构收缩,致使油滴粒径减小<sup>[23]</sup>。相同添加量的GDL下,添加PC的乳液凝胶中油滴粒径略小于未添加PC的乳液凝胶,这可能是由于PC与MC可通过非共价作用结合,且由于PC为聚合物,可同时与MC上多个氨基酸残基或不同MC上的氨基酸残基结合,起到交联作用,使MC结构更加紧缩和致密。因此,所有样品中G/PC-15的油滴粒径最小。有研究发现,酚类分子的数量和组成可能影响乳液凝胶的物理性质和稳定性<sup>[24]</sup>。PC的加入使得乳液凝胶的油滴粒径更小,有利于提升其稳定性。

在贮藏期间,随着放置时间的延长,添加了GDL的凝胶中油滴的粒径出现先减小后增大的趋势,说明贮藏初期,pH值逐渐变化,乳液凝胶微观结构不断调整,且其稳定的微观结构形成需要较长时间。当贮藏420 d时,油滴的粒径与0 d样品的粒径相差不大,证实了乳液凝胶未发生明显的油滴合并和析出,说明其具有极高的稳定性,与外观观察结果一致。





A为贮藏0 d, B为贮藏180 d, C为贮藏420 d。  
下标1~4,分别为G-0、G-15、G/PC-0、G/PC-15。

图2 不同贮藏期乳液凝胶光学显微镜图及油滴粒径分布

Fig. 2 Optical microscopic images and oil droplet size distribution of emulsion gels during storage

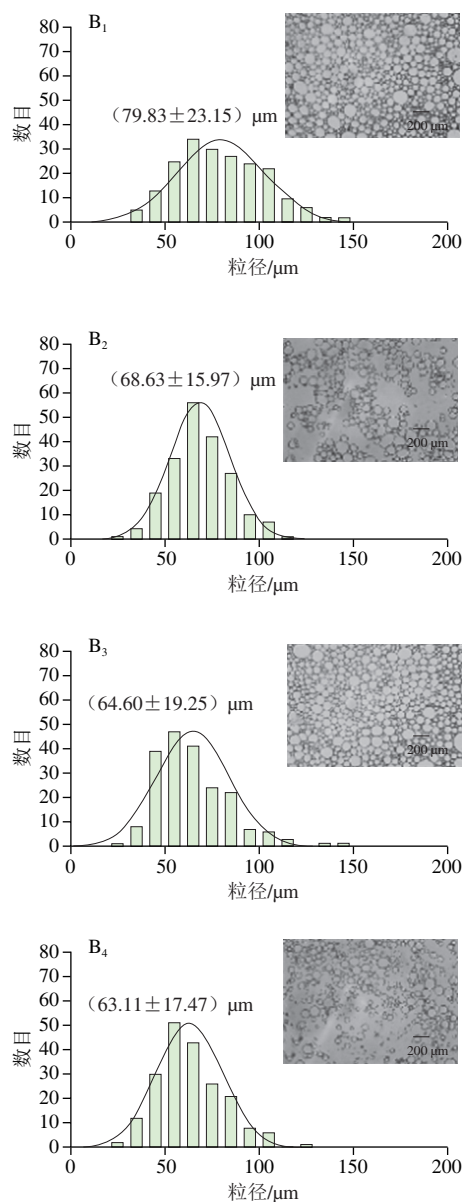
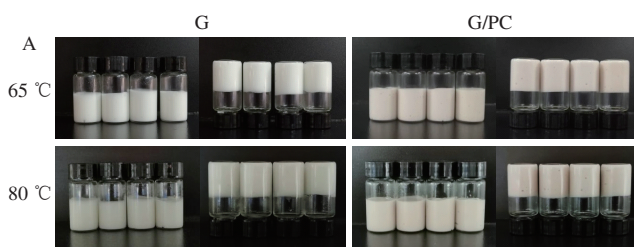
## 2.2 乳液凝胶的热稳定性及酸碱稳定性

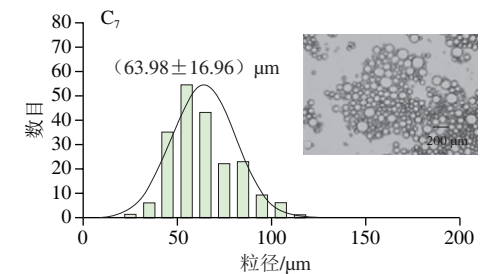
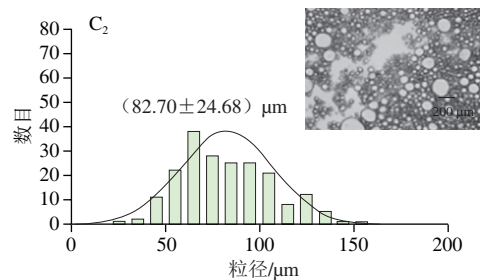
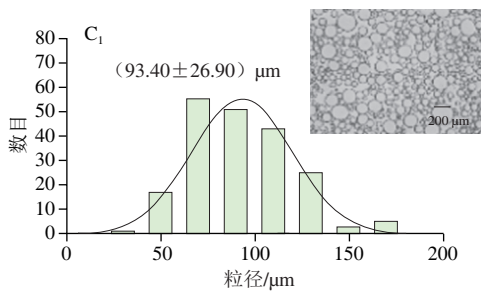
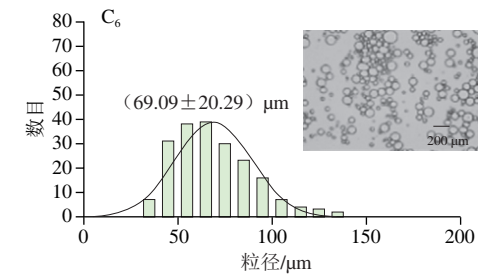
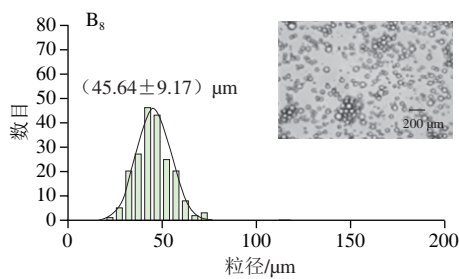
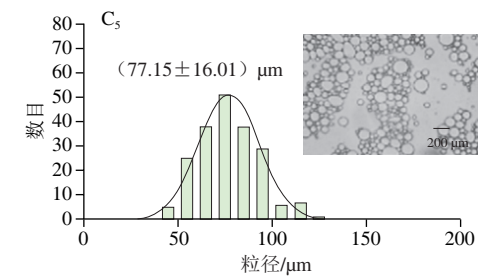
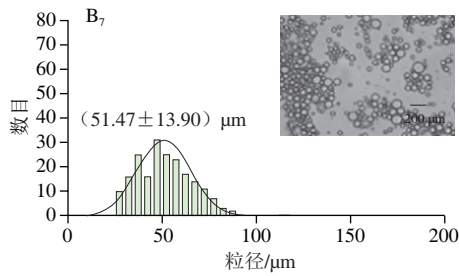
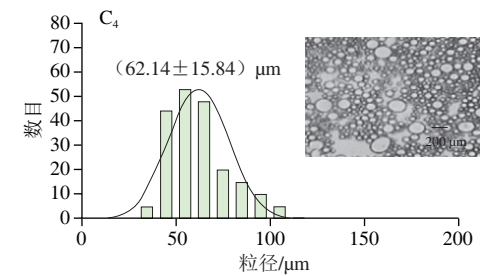
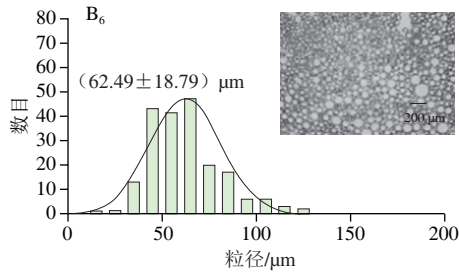
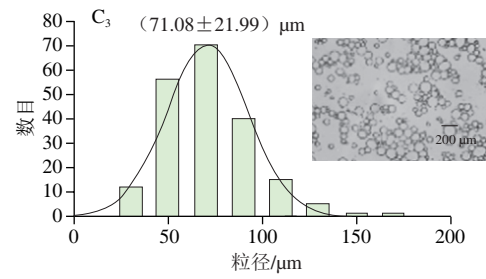
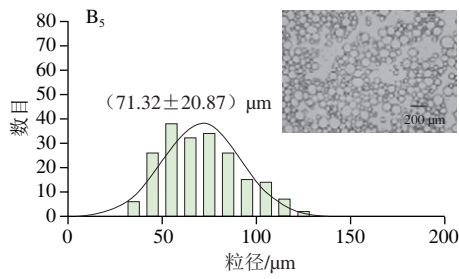
### 2.2.1 热稳定性

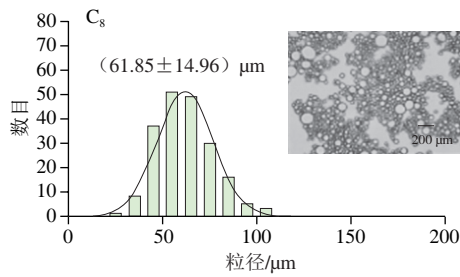
如图3所示,热处理后,乳液凝胶倒置均未见流动,并且没有出现油相析出和相分离行为,说明其热稳定性较高。MC在90 °C以下具有较好的稳定性,而且向蛋白质中添加多糖可以提高凝胶稳定性<sup>[25-26]</sup>。另一方面,拥

挤的油滴限制了油滴的运动,降低了其在热处理过程中合并析出的可能性,提升了乳液凝胶稳定性。因此MC与SA形成的乳液凝胶具有较高的热稳定性。

同一样品经过不同温度热处理后油滴粒径不同。其中,65 °C处理样品油滴粒径小于80 °C。这是因为当温度达到80 °C时,MC可能发生热聚集,部分小油滴出现合并现象,导致粒径增大<sup>[27]</sup>。







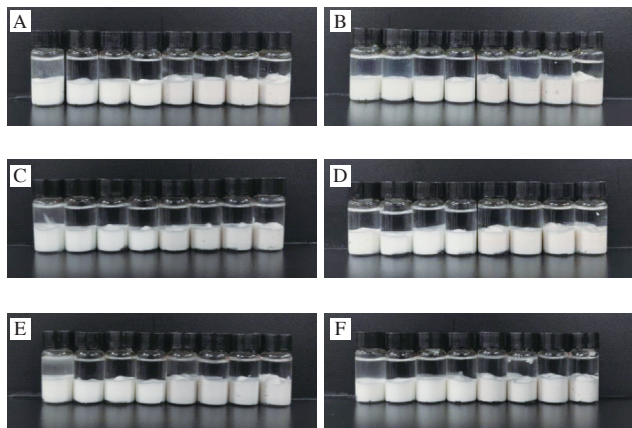
A.不同温度热处理后乳液凝胶的外观；B、C.分别为65、80℃热处理后乳液凝胶光学显微镜图及油滴粒径分布；下标1~8.分别为G-0、G-5、G-10、G-15、G/PC-0、G/PC-5、G/PC-10、G/PC-15。

图3 热处理后乳液凝胶的外观、光学显微镜图及油滴粒径分布

Fig. 3 Appearance, optical microscopic images and oil droplet size distribution of emulsion gels after heat treatment at different temperatures

### 2.2.2 稀释稳定性

将制备的乳液凝胶浸泡在不同pH值溶液中放置7 d后的表观状态如图4所示。所有凝胶均具有较好的酸碱稳定性，未见油相析出。经不同pH值溶液处理后，乳液凝胶G-0上清液具有一定程度的浑浊，其中pH 1、7、9时浑浊程度较大，而pH 5时上清液澄清透明。这是因为MC在远离等电点的pH值下溶解性较好，凝胶中的MC在水溶液稀释下因溶解进入了稀释液中。另外，G/PC-0上清液较G-0上清液澄清，说明PC具有交联MC的作用，使其更好地固定在凝胶网络中，难以溶出。添加GDL后，乳液凝胶在不同pH值下稀释后上清液较为澄清，因为MC经GDL酸化，逐渐团聚或沉淀，稳定性提升，在不同pH值下难以溶出。由此可见，GDL的添加提升了乳液凝胶的酸碱稳定性，使其在pH 1~9范围内保持凝胶结构稳定，有利于乳液凝胶在酸碱环境中的加工。



A~F. pH 1、3、4、5、7、9。

图4 不同pH值下乳液凝胶的外观

Fig. 4 Appearance of emulsion gels at different pH

通过乳液凝胶在不同pH值溶液中浸泡后油滴粒径的变化进一步评价其酸碱稳定性，如表1所示，不同pH值

溶液浸泡后乳液凝胶油滴粒径不同；溶液pH值由低到高变化时，油滴的平均粒径逐渐增大，即pH 1时油滴粒径最小，pH 9时粒径最大。这是因为MC在酸化过程中结构变得更加致密，且充斥在油滴间的SA由负电荷变为正电荷，与MC形成静电引力而结合在一起，进一步促使油滴粒径收缩<sup>[28]</sup>。当pH 9时，MC所带负电荷增加，结构变得松散，因此油滴粒径增大。

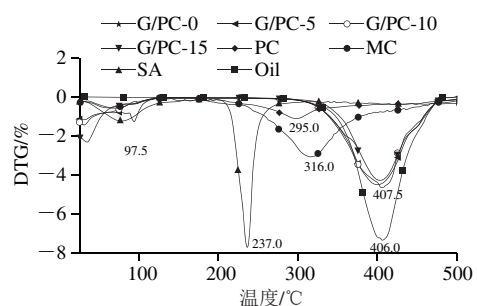
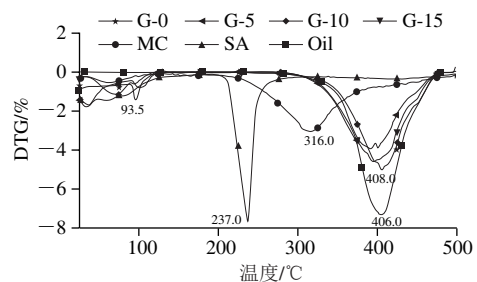
表1 不同pH值下乳液凝胶中油滴的平均粒径

Table 1 Average size of oil droplets in emulsion gels at different pH

	μm							
pH	G-0	G-5	G-10	G-15	G/PC-0	G/PC-5	G/PC-10	G/PC-15
1	85.77±14.77	67.78±13.70	54.67±17.64	53.24±19.34	44.80±16.99	42.23±11.99	34.26±12.04	27.23±8.16
3	86.85±22.81	80.39±22.36	73.60±22.00	61.20±13.67	55.70±14.01	54.39±15.07	47.66±10.81	43.42±13.36
4	87.70±25.92	81.23±21.04	80.12±22.20	71.48±18.55	67.58±15.47	57.18±12.43	51.95±11.21	44.20±9.66
5	94.23±14.02	81.70±13.62	80.82±14.13	77.48±22.25	75.89±15.96	73.67±13.71	67.47±15.65	66.88±9.74
7	103.10±21.37	90.30±14.14	86.57±18.39	82.34±15.93	80.17±16.07	73.10±17.16	64.66±17.26	64.41±12.98
9	107.17±20.99	104.96±20.41	97.05±22.34	94.92±21.06	92.00±16.52	80.44±17.69	71.63±21.64	69.30±12.95

### 2.3 乳液凝胶的热分解特性

图5为乳液凝胶的TG和微商热重(derivative thermogravimetry, DTG)曲线。所有样品在100℃内出现第一失重阶段，为水分蒸发所致。SA的第二失重阶段在225~275℃，为其热分解所致，分解温度为237℃。MC在200~460℃出现第2次失重，为蛋白质的热分解，分解温度为316℃。PC的降解温度为295℃。油的失重主要发生在320~460℃范围内，分解温度为406℃，残留量为1.84%，基本分解完全。乳液凝胶的第二失重阶段与油类似，其分解温度为407.5℃，这是因为乳液凝胶中70%为油相。但是，乳液凝胶残余量大于油，因为其中含有SA和MC。另外，由于GDL和PC添加量较少，对乳液凝胶的TG曲线及分解温度没有显著影响。





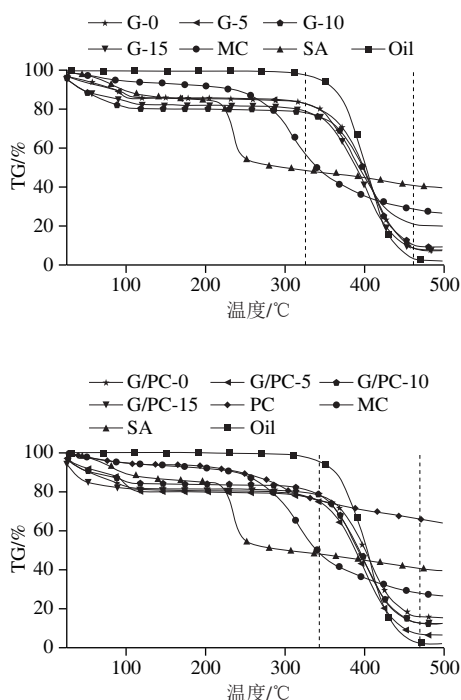


图5 乳液凝胶的DTG和TG曲线  
Fig. 5 DTG and TG curves of emulsion gels

## 2.4 乳液凝胶中MC的解离特性

### 2.4.1 MC的解离程度分析

对乳液凝胶放置0 h和72 h的离心清液进行SDS-PAGE分析, 结果如图6所示。就新制备的乳液凝胶而言, 未添加GDL的样品上清液基本没有酪蛋白条带, 说明酪蛋白以胶束态存在, 全部位于凝胶内部用于乳化和稳定油滴。添加GDL后, 上清液中出现酪蛋白条带, 其含量在GDL添加量为10 mg/mL时达到最大值。当GDL添加量为15 mg/mL时, 酪蛋白条带消失, 且乳清蛋白含量降低, 明显低于G-0。GDL添加量较低时, 虽然酸化程度较弱, 但仍然在短时间内引起MC的局部酸化, 使其出现轻度解离, 因此上清液中出现酪蛋白单体, 且其含量随着GDL添加量的增大而增大。当GDL添加量为15 mg/mL时, 其对局部接触的MC酸化程度较强, pH值迅速下降, MC尚未解离便开始聚沉, 因此上清液中未见酪蛋白单体。添加PC后, 上清液中酪蛋白解离程度与未添加PC的乳液凝胶变化趋势一致, 但酪蛋白单体含量明显低于未添加PC组, 可见PC具有交联酪蛋白的作用, 使其解离程度降低, 稳定性提高<sup>[29]</sup>。

就放置72 h后的乳液凝胶而言, 在不添加PC的情况下, GDL添加量为0、5 mg/mL的乳液凝胶上清液中酪蛋白单体含量高于0 h的样品, 这是因为随着放置时间的延长, MC在SA的静电斥力作用下出现了轻度解离, 加上少量GDL的酸化诱导并未达到等电点, 使MC解离程

度增大。添加PC后, 其通过交联作用将酪蛋白连接在一起, GDL酸化使交联的MC相互聚集, 成为一个整体, 加上SA的静电作用, 使MC解离程度大幅度降低, 因此上清液中未见酪蛋白单体。由此可见, GDL添加量为15 mg/mL时, 可防止MC的解离; 添加PC也可降低MC的解离程度, 提高其稳定性。

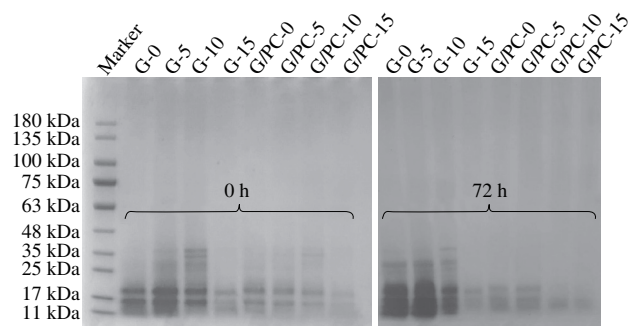


图6 乳液凝胶放置0 h和72 h后离心清液的SDS-PAGE图  
Fig. 6 SDS-PAGE profiles of the supernatant from emulsion gels after standing for 0 and 72 h

### 2.4.2 MC中钙离子的解离程度分析

如图7所示, 未添加PC时, 随着GDL添加量的增大, 清液中钙离子含量显著增加 ( $P < 0.05$ ), 可见GDL诱导了MC酸化, 钙离子解离<sup>[30-32]</sup>。添加PC后, 清液中钙离子浓度随着GDL添加量的增加而增大, 但当GDL添加量为0~10 mg/mL时, 其钙离子含量均低于未添加PC的样品, 再次证实了PC的交联作用; 当GDL添加量为15 mg/mL时, 清液中钙离子含量迅速增大, 且大于未添加PC的样品。这可能是因为PC交联使酪蛋白分子间、酪蛋白与SA之间的间隙增大, 酸化虽然使酪蛋白、SA相互聚集, 但分子间具有一定的间隙, 因此钙离子易于逸出至清液。

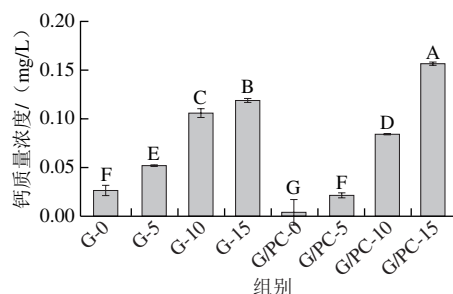


图7 乳液凝胶上清液钙含量  
Fig. 7 Calcium concentration in the supernatant of emulsion gels

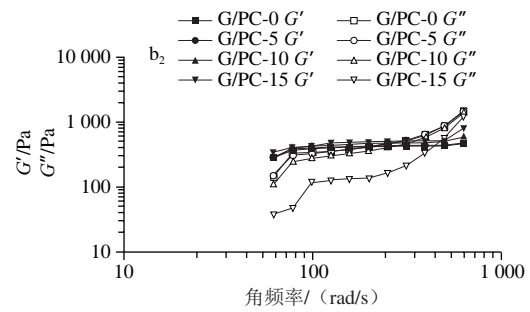
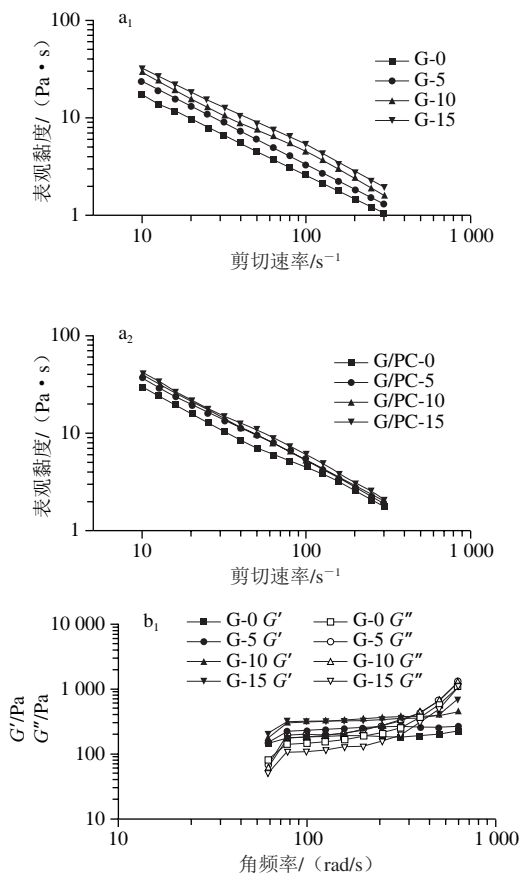
## 2.5 乳液凝胶流变性

如图8a所示, 乳液凝胶的表现黏度随剪切速率的增加而降低, 表现出剪切稀化行为, 因为随着剪切速率的增加, 乳液凝胶网络结构被破坏, 油滴开始出现移动,



表观黏度降低<sup>[33]</sup>。随着GDL添加量的增大,乳液凝胶表观黏度增大,这归因于GDL改变了凝胶体系的pH值,使MC与SA分子间的相互作用发生变化,油滴粒径减小,凝胶结构变得致密,所以表观黏度增加。另外,由于PC与MC和SA之间产生交联作用,因此添加PC后乳液凝胶的表观黏度均高于未添加组。

如图8b所示,在角频率低于100 rad/s时,所有样品的 $G'$ 大于 $G''$ ,说明在此频率范围内所有样品都表现出较强的弹性特征且为固态<sup>[34]</sup>。随着角频率的增大,所有样品的 $G'$ 和 $G''$ 逐渐增加,这是凝胶的典型动态流变特性<sup>[35]</sup>。随着GDL添加量的增加,乳液凝胶的 $G'$ 和 $G''$ 交叉点向更高频率移动,说明凝胶结构的松弛过程和结构的转化需要更长时间和更高频率,且 $G'$ 和 $G''$ 之间的差异增大,表明在较短的时间尺度上液滴间运动减少,主要为凝胶状行为<sup>[33]</sup>。因此,GDL添加量越多,乳液凝胶网络结构越稳定。GDL添加量越大,乳液凝胶体系的pH值越小,MC与SA之间的相互作用由静电斥力变为静电引力,使得乳液凝胶的网络结构更加紧密,更不容易被破坏。加入PC后,乳液凝胶的 $G'$ 和 $G''$ 交叉点向更高频率移动,说明PC与MC之间的交联作用使得乳液凝胶的网络结构更加稳定。



a.乳液凝胶的表观黏度; b.乳液凝胶的 $G'$ 和 $G''$ 随角频率的变化曲线。

图8 乳液凝胶的表观黏度和流变性

Fig. 8 Apparent viscosity and rheological properties of emulsion gels

## 2.6 乳液凝胶对PC的控释特性

如图9所示,在2 h的模拟胃液消化过程中,乳液凝胶中PC的释放率均小于游离PC的释放率,这是因为游离PC在酸性条件下具有较好的溶解性,而乳液凝胶中的PC被结合和包覆于凝胶网络结构中,难以扩散至模拟胃液中。在模拟肠液中,乳液凝胶中PC的释放率显著高于游离PC。就乳液凝胶组而言,模拟消化4~8 h时,未添加GDL的乳液凝胶中PC释放率最低,其次为G/PC-5; G/PC-10和G/PC-15中PC的累计释放量最高,且二者差异不大。

PC在酸性条件下稳定,而在中性和碱性条件下会快速降解<sup>[36]</sup>。因此,游离PC在模拟肠液环境中发生降解,其释放率最低。经过乳液凝胶包封后,PC被包封于凝胶网络内部,难以直接接触肠液,从而保护了其结构稳定,因此释放率较高。另外,添加适量的GDL赋予了乳液凝胶酸性环境,可用于抵消肠液的弱碱性,进而保护了PC的稳定。因此,当GDL添加量为10、15 mg/mL时PC的释放率最高。由此可见,添加GDL有利于提升乳液凝胶中PC的稳定性。有研究指出,果胶负载对胃肠系统中的花青素具有保护作用,在肠道消化过程中释放更多的花青素,并提高其生物利用度<sup>[36]</sup>,这与本实验的研究结果一致。

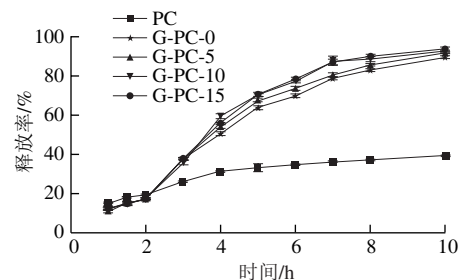


图9 模拟胃肠条件下乳液凝胶中PC的释放曲线

Fig. 9 Release curves of PC from emulsion gels under simulated gastrointestinal conditions

### 3 结论

以MC和SA为基质,以GDL为酸化试剂,制备了含油量70%的乳液凝胶。该乳液凝胶贮藏420 d后仍保持结构稳定,未见油相析出。随着GDL添加量的增加,乳液凝胶中油滴粒径减小。添加5 mg/mL和10 mg/mL GDL诱导了MC的解离,部分酪蛋白单体析出;但当其添加量为15 mg/mL时,酪蛋白单体未见析出,且在GDL的酸化作用下,MC中大量钙离子解离,与SA交联,显著改善了乳液凝胶的稳定性和黏弹性。因此,随着GDL添加量的增大,乳液凝胶的表观黏度和储能模量增大。另外,添加PC也具有提高乳液凝胶黏弹性的作用。GDL诱导酸化后,乳液凝胶的酸性环境可有效防止PC在肠道环境下的降解,提高PC的累计释放率,有利于改善其生物利用度。

由此可见,GDL酸化的MC-SA基乳液凝胶负载可显著改变PC的肠道释放特性,且该体系具有极高的稳定性,具备开发功能食品的潜力。

#### 参考文献:

- [1] RAUF A, IMRAN M, ABU-IZNEID T, et al. Proanthocyanidins: a comprehensive review[J]. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2019, 116: 108999. DOI:10.1016/j.biopha.2019.108999.
- [2] CHEN H, YU S Y, ZHU S, et al. Procyranidins and their therapeutic potential against oral diseases[J]. *Molecules*, 2022, 27(9): 2932. DOI:10.3390/molecules27092932.
- [3] 焦思宇,姚先超,史永桂,等.壳聚糖微花对原花青素的负载表征及缓释性能[J]. *食品科学*, 2022, 43(14): 28-34. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20211020-216.
- [4] 冯思敏,王丽玲,廖杰,等.花青素纳米载体的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(4): 330-336. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020040129.
- [5] 王滕滕,谢勇,蔡梦思,等.载原花青素的魔芋葡甘聚糖微粒的制备、表征及体外释放性能评价[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(5): 237-244. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021070330.
- [6] JIANG Z Y, ZHAO S J, ZHAO C Y, et al. A novel all-natural (collagen + pectin)/chitosan aqueous two-phase microcapsule with improved anthocyanin loading capacity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 134(1): 107984. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.107984.
- [7] RAVANFAR R, TAMADDON A M, NIAKOUSARI M, et al. Preservation of anthocyanins in solid lipid nanoparticles: optimization of a microemulsion dilution method using the Plackett-Burman and Box-Behnken designs[J]. *Food Chemistry*, 2016, 199: 573-580. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.12.061.
- [8] BU X T, GUAN M H, DAI L, et al. Fabrication of starch-based emulsion gel beads by an inverse gelation technique for loading proanthocyanidin and curcumin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 137(2): 108336. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.108336.
- [9] LIN D Q, KELLY A L, MIAO S. Preparation, structure-property relationships and applications of different emulsion gels: bulk emulsion gels, emulsion gel particles, and fluid emulsion gels[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2020, 102: 123-137. DOI:10.1016/j.tifs.2020.05.024.
- [10] 崔梦楠,鹿瑶,高彦祥,等.食品乳液凝胶的制备及其应用研究进展[J]. *食品科学*, 2019, 40(3): 323-329. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20171222-282.
- [11] LI W, MARTIN G J O, ASHOKKUMARAL M. Turbulence-induced formation of emulsion gels[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 81(1): 105847. DOI:10.1016/j.ultsonch.2021.105847.
- [12] FARJAMI T, MADADLOU A. An overview on preparation of emulsion-filled gels and emulsion particulate gels[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2019, 86: 85-94. DOI:10.1016/j.tifs.2019.02.043.
- [13] OJEDA-SERNA I E, ROCHA-GUZMAN N E, GALLEGOS-INFANTE J A, et al. Water-in-oil organogel based emulsions as a tool for increasing bioaccessibility and cell permeability of poorly water-soluble nutraceuticals[J]. *Food Research International*, 2019, 120(6): 415-424. DOI:10.1016/j.foodres.2019.03.011.
- [14] LIN D Q, KELLY A L, MIAO S. The impact of pH on mechanical properties, storage stability and digestion of alginate-based and soy protein isolate-stabilized emulsion gel beads with encapsulated lycopene[J]. *Food Chemistry*, 2022, 372: 131262. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131262.
- [15] 靳紫梦,赵青山,陈泳政,等.超声波处理对大豆蛋白乳液凝胶特性及运载槲皮素性能的影响[J]. *精细化工*, 2022, 39(5): 963-971. DOI:10.13550/j.jxhg.20211054.
- [16] CHEN X, MCCLEMENTS D J, WANG J, et al. Coencapsulation of (-)-epigallocatechin-3-gallate and quercetin in particle-stabilized W/O/W emulsion gels: controlled release and bioaccessibility[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(14): 3691-3699. DOI:10.1021/acs.jafc.7b05161.
- [17] REHAN F, AHMED N, GUPTA M. Casein nanomicelle as an emerging biomaterial: a comprehensive review[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019, 179: 280-292. DOI:10.1016/j.colsurfb.2019.03.051.
- [18] 熊子奕,马鑫,陈红兵,等.牛乳主要过敏原酪蛋白的特性和分离纯化研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(20): 391-399. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020080184.
- [19] 王楠,杨敏,郑杰,等.酪蛋白胶束对原花青素稳定性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(3): 164-174. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029537.
- [20] 袁凯,李培源,郭焯,等.海藻酸钠-酪蛋白复合乳液凝胶的制备与结构特性表征[J]. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 2022, 50(5): 1-9; 135. DOI:10.15983/j.cnki.jsnu.2022.05.002.
- [21] LIU W W, ZHU L, LIU Y J, et al. Laccase and glucono- $\delta$ -lactone dual-induced gelation of casein and arabinoxylan: microstructures, physicochemical properties, and pH-responsive release behavior[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 135: 108235. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.108235.
- [22] CHANG C, XUE J Y, ZHOU M Y, et al. Pectin coating improves physicochemical properties of caseinate/zein nanoparticles as oral delivery vehicles for curcumin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 70: 143-151. DOI:10.1016/j.foodhyd.2017.03.033.
- [23] LI X F, GUO C, YANG X, et al. Acid-induced mixed methylcellulose and casein gels: structures, physical properties and formation mechanism[J]. *Food Chemistry*, 2021, 366(2): 130561. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130561.
- [24] MUNOZ-GONZALEZ I, RUIZ-CAPILLAS C, SALVADOR M, et al. Emulsion gels as delivery systems for phenolic compounds: nutritional, technological and structural properties[J]. *Food Chemistry*, 2021, 339(8): 128049. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128049.

- [25] NICOLAI T, CHASSENIEUX C. Heat-induced gelation of casein micelles[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 118(6): 106755. DOI:10.1016/j.foodhyd.2021.106755.
- [26] ZHANG H, TAN S M, GAN H M, et al. Investigation of the formation mechanism and  $\beta$ -carotene encapsulation stability of emulsion gels based on egg yolk granules and sodium alginate[J]. *Food Chemistry*, 2022, 400(2): 134032. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.134032.
- [27] PAN Z, YE A Q, DAVE A, et al. Kinetics of heat-induced interactions among whey proteins and casein micelles in sheep skim milk and aggregation of the casein micelles[J]. *Journal of Dairy Science*, 2022, 105(5): 3871-3882. DOI:10.3168/jds.2021-21444.
- [28] LI Y H, WANG C, LUAN Y H, et al. Preparation of pH-responsive cellulose nanofibril/sodium alginate based hydrogels for drug release[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2021, 139(7): e51647. DOI:10.1002/app.51647.
- [29] GONG S, YANG C, ZHANG J, et al. Study on the interaction mechanism of purple potato anthocyanins with casein and whey protein[J]. *Food hydrocolloids*, 2020, 111(2): 106223. DOI:10.1016/j.foodhyd.2020.106223.
- [30] HOLT C. A quantitative calcium phosphate nanocluster model of the casein micelle: the average size, size distribution and surface properties[J]. *European Biophysics Journal*, 2021, 50(6): 847-866. DOI:10.1007/s00249-021-01533-5.
- [31] YANG M, ZHANG G D, YANG J T, et al. Effect of pH on dissociation of casein micelles in yak skim milk[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(4): 2998-3007. DOI:10.3168/jds.2017-13653.
- [32] LI Q Y, ZHAO Z T. Acid and rennet-induced coagulation behavior of casein micelles with modified structure[J]. *Food Chemistry*, 2019, 291: 231-238. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.04.028.
- [33] TANG Y R, GHOSH S. Stability and rheology of canola protein isolate-stabilized concentrated oil-in-water emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 113(3): 106399. DOI:10.1016/j.foodhyd.2020.106399.
- [34] GENG M, HU T, ZHOU Q, et al. Effects of different nut oils on the structures and properties of gel-like emulsions induced by ultrasound using soy protein as an emulsifier[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2021, 56(4): 1649-1660. DOI:10.1111/ijfs.14786.
- [35] LIU M, CHEN G J, ZHANG H X, et al. Heat-induced inulin-gluten gel: insights into the influences of inulin molecular weight on the rheological and structural properties of gluten gel to molecular and physicochemical characteristics[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 111: 106397. DOI:10.1016/j.foodhyd.2020.106397.
- [36] SHEN Y X, ZHANG N, TIAN J L, et al. Advanced approaches for improving bioavailability and controlled release of anthocyanins[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 341: 285-299. DOI:10.1016/j.jconrel.2021.11.031.