

乳铁蛋白-EGCG共价复合物对鱼油乳液稳定性和消化特性的影响

刘润华^{1,2}, 梁秀萍², 闫晓佳², 刘夫国^{1,2,*}

(1. 食品营养与人类健康北京高精尖创新中心, 北京工商大学, 北京 100048;

2. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712000)

摘要: 通过碱处理法制备乳铁蛋白(lactoferrin, LF)-表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)共价复合物, 研究LF-EGCG物理混合物和共价复合物对鱼油乳液流变性质、氧化稳定性和体外消化特性的影响。由于EGCG与LF共价结合, 蛋白质分子质量增加, 使得共价复合物制备的乳液黏度增加(其黏度分别是单一蛋白乳液和物理混合物乳液的2.74倍和1.42倍), 物理稳定性显著增强(在55℃恒温、避光贮藏15 d后仍能保持较好的流动性)。与LF稳定的乳液相比, 物理复合或共价结合的LF-EGCG能够有效地抑制贮藏过程中鱼油氧化(贮藏第15天时, LF、物理混合物和共价复合物稳定的鱼油乳液中脂质的硫代巴比妥酸反应物值分别为2.25、0.75 nmol/g和0.70 nmol/g)。在体外消化过程中, 共价复合物稳定的鱼油乳液能够更好地抑制聚集体的产生, 在一定程度上延缓脂肪酸的释放。本研究能够为合理设计鱼油递送系统提供一定参考。

关键词: 蛋白质-多酚共价复合物; 鱼油; 乳液; 体外消化

Effect of Lactoferrin-Epigallocatechin Gallate Covalent Complex on the Stability and Digestion Characteristics of Fish Oil Emulsions

LIU Runhua^{1,2}, LIANG Xiuping², YAN Xiaojia², LIU Fuguo^{1,2,*}

(1. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health,

Beijing Technology and Business University (BTBU), Beijing 100048, China;

2. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712000, China)

Abstract: The effects of lactoferrin (LF)-epigallocatechin gallate (EGCG) covalent complex, prepared by alkaline treatment, and their physical mixture on the rheological properties, oxidative stability and *in vitro* digestion characteristics of fish oil emulsions were studied. As the molecular mass of LF increased after combining with EGCG, the emulsion viscosity was 2.74 and 1.42 times higher with the complex than with single LF or the physical mixture, respectively, and the complex remarkably enhanced the physical stability and maintained good fluidity of emulsions for 15 d at 55℃ consistently in the dark. The complex and the physical mixture were more effective at inhibiting fish oil oxidation than single LF; the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values of lipids in fish oil emulsions stabilized by single LF, the physical mixture and the covalent complex were 2.25, 0.75 and 0.70 nmol/g, respectively on the 15th day of storage. During the *in vitro* digestion process, the covalent complex-stabilized fish oil emulsion showed better inhibition of aggregation and delayed release of fatty acids to some extent. This study provides a basis for the rational design of fish oil delivery systems.

Keywords: protein-polyphenol covalent complex; fish oil; emulsion; digestion *in vitro*

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180906-064

中图分类号: TS251.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2019)24-0094-07

引文格式:

刘润华, 梁秀萍, 闫晓佳, 等. 乳铁蛋白-EGCG共价复合物对鱼油乳液稳定性和消化特性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(24): 94-100. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180906-064. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2018-09-06

基金项目: 2018年度北京食品营养与人类健康高精尖创新中心开放基金项目(20181025);

国家自然科学基金青年科学基金项目(21808187)

第一作者简介: 刘润华(1993—)(ORCID: 0000-0003-3364-5318), 男, 硕士, 研究方向为食品营养与健康。

E-mail: myasdzxc@163.com

*通信作者简介: 刘夫国(1987—)(ORCID: 0000-0002-1645-0976), 男, 副教授, 博士, 研究方向为功能因子稳态化技术与食品营养。E-mail: fuguo@nwfau.edu.cn

LIU Runhua, LIANG Xiuping, YAN Xiaojia, et al. Effect of lactoferrin-epigallocatechin gallate covalent complex on the stability and digestion characteristics of fish oil emulsions[J]. Food Science, 2019, 40(24): 94-100. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx.1002-6630-20180906-064. <http://www.spkx.net.cn>

食品生物活性成分,例如香料、色素、抗氧化剂、维生素、矿物质、鱼油等,由于其与食品基质不相容以及在加工和贮存过程中稳定性差,不能被简单地添加到食品和饮料中^[1]。将生物活性成分包埋在胶体递送系统,可以有效地克服以上问题。基于乳液的递送系统特别适合于包埋、保护和控制释放亲脂性生物活性成分^[2]。在乳液体系中,生物活性成分溶解在脂质相中,其通过均质转化为乳化剂包埋的脂质液滴。选择合适的乳化剂是决定乳液递送系统理化性质和功能性能的最重要因素之一^[3]。

传统上,食品乳液通过单一的食品级乳化剂如小分子表面活性剂、磷脂、蛋白质或多糖稳定^[4]。然而,开发基于不同分子(例如蛋白质-多糖、蛋白质-多酚或多糖-多酚)形成共价复合物或物理混合物作为多功能新型乳化剂的研究近年来引起了人们极大的兴趣^[5-7]。前期研究表明,蛋白质-多糖和蛋白质-多酚共价复合物具有优良的抗氧化、乳化和空间稳定性^[8-9]。此外,在油滴界面上形成的蛋白质-多糖静电复合物能够用于改善乳液对环境应力的稳定性,并控制它们的包埋和释放特性^[10-11]。采用这些方法改变界面层的厚度、电荷和化学组成,可以设计具有增强诸如贮藏稳定性、化学稳定性的食品级乳液。

乳铁蛋白(lactoferrin, LF)是一种铁结合糖蛋白,含有约680个氨基酸残基,分子质量约80 kDa^[12]。因其较好的表面活性,牛LF被用作模型球蛋白组装界面层。同时,LF具有潜在的健康益处,例如抗癌、抗氧化、抗炎和抗微生物活性。表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是从绿茶中提取分离得到的一种天然化合物,因其良好的安全性、突出的抗氧化活性和广泛的生理活性而被普遍应用在食品工业领域中。前期研究表明,通过碱处理制备的LF-EGCG共价复合物由于具有抗氧化界面可以有效地抑制 β -胡萝卜素降解^[13]。因此,推测EGCG共价结合LF能够赋予LF较高的抗氧化活性。本研究通过测定LF-EGCG共价复合物和物理混合物稳定乳液的黏度、硫代巴比妥酸反应物(thiobarbituric acid reactive substance, TBARS)值和体外消化行为,系统研究乳液界面组成和结构对鱼油乳液稳定性的影响,以期抑制鱼油的氧化降解,延缓消化过程中脂肪酸的释放,进而扩展鱼油在食品工业中的应用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

LF(纯度>98%) 新西兰西部乳业公司; EGCG(纯度>99.5%) 北京北实纵横科技发展有限公司; Ropufa 30 *n*-3鱼油 瑞士DSM公司; 异硫氰酸荧光素、尼罗红染料、脂肪酶(来源于猪的胰脏, Type II)、猪胃蛋白酶、胆汁提取物、黏液素 美国Sigma公司; 透析袋(截留分子量12~14 kDa) 北京拜尔迪生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

BS224S电子天平 赛多利斯科学仪器有限公司; S20精密pH计 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司; ALPHA1-4/2-4冷冻干燥机 德国Christ有限公司; Ultrospec 3000 pro紫外分光光度计 英国Biochrom公司; PureNano双通道高压微射流 美国Microfluidics公司; Kinexus动态剪切流变仪、Nano-ZS90激光粒度仪 英国马尔文公司; D-Eclipse C1 80i激光共聚焦显微镜 日本尼康公司; 835 Titrand自动滴定仪 瑞士万通公司。

1.3 方法

1.3.1 共价复合物、物理混合物的制备

参考Rawel等^[14]的方法合成LF-EGCG共价复合物。分别将1 g LF和0.2 g EGCG溶解在50 mL去离子水中并调至pH 9.0(质量浓度分别为2 g/100 mL和0.4 g/100 mL), 搅拌过夜。将两种溶液在连续搅拌条件下以1:1的比例混合, 将该混合物暴露于空气24 h后采用去离子水透析48 h, 产物每隔6 h换水一次以确保未反应的游离多酚完全透析出去。之后采用冷冻干燥装置冻干, 得到固体样品。

物理混合物的制备, 将LF、EGCG溶液调至pH 7.0, 采用与上述相同的方法制备。

笔者前期对得到的产物进行凝胶电泳表征^[13], 结果表明本实验可成功制备得到LF-EGCG共价复合物。

1.3.2 鱼油纳米乳液的制备

采用双通道动态高压微射流方法制备鱼油水包油乳液。保持乳化剂与油的比例为1:10, 制备具有含油相体积分数10%的乳液, 水相为含有LF、LF-EGCG共价复合物或LF-EGCG物理混合物的pH 7.0的水溶液。将水相和油相倒入两个不同的玻璃杯中。然后通过空气驱动的高压微射流在13 kpsi的压力下迫使油相和水相形成精细乳液。使用微流化器调节油相(f_o)和水相(f_w)的

流速 (mL/min) 控制乳液中油的最终浓度。微流化器的总流量为500 mL/min。根据油相和水相的体积、油相 (923 kg/m³) 和水相的密度确定流速^[13]。

1.3.3 粒径及电位测定

1.3.3.1 粒径测定

采用Nano-ZS90激光粒度仪测定乳液的粒径。同时用多分散系数表示粒径分布。为避免多重光散射对测量的影响,所有样品在分析前用去离子水稀释500倍。每个样品分析重复3次,结果以平均值表示。

1.3.3.2 Zeta电位测定

采用Nano-ZS90激光粒度仪测定三元复合物溶液的Zeta电位。为减小多重散射对测量的误差,实验中所有样品在分析测试前用去离子水稀释500倍。每个样品分析重复3次,结果以平均值表示。

1.3.4 乳液流变性质测定

参考Qiu Chaoying等^[16]的方法采用动态剪切流变仪对鱼油乳液的流变性质进行测定。测试夹具为CP4/40,选择板状测量池,将大约1.5 mL样品置于锥体和板之间(间距1.0 mm,锥角4°),平衡5 min,加热使其达到测量温度。使用恒定的剪切速率(10 s⁻¹)和不同的剪切速率(0.01~100 s⁻¹)测量乳液的表观黏度,通过流变仪提供的rSpace软件进行控制和数据采集。

1.3.5 氧化指标测定

将鱼油乳液装于10 mL离心管中,在55 °C的恒温室中避光保存15 d,每隔3 d测量一次TBARS值。具体测定方法如下:将1 mL乳液与2 mL TBA试剂(体积分数15%三氯乙酸、0.25 mol/L HCl与体积分数2% TBA溶于乙醇)混合,放在带螺帽的玻璃试管中,涡旋,于沸水中加热15 min,移至室温水浴中冷却10 min,1 000×g离心15 min,放置10 min后,取上清液于532 nm波长处测定吸光度,TBARS浓度用1,1,3,3-氯化四乙铵所作标准校正曲线测定。所有分析均做3组平行。

1.3.6 体外胃肠道消化模型的构建

参考Salvia-Trujillo等^[17]的方法,采用由口腔、胃和小肠相组成的体外胃肠道模型测定所摄取样品的消化特性。

1.3.6.1 口腔阶段

根据Sarkar等^[18]的方法制备含有黏蛋白和盐的模拟唾液。将5 mL乳液与5 mL模拟唾液等份混合制备体积分数为1.25%油的最终混合物。将混合物的pH值调节至6.8并在37 °C孵育10 min(100 r/min)。通常食物在口腔中停留的时间较短,设置10 min消化时间主要是基于样品处理标准化的考虑,使每个样品具有相同的处理条件。

1.3.6.2 胃消化阶段

在37 °C水浴条件下将20 mL从口腔阶段产生的样品与20 mL含有0.003 2 g/mL胃蛋白酶模拟液进行混合。将

pH值调节至2.5并将样品在100 r/min的孵育摇床中保持2 h(温度37 °C),以模拟胃液消化。

1.3.6.3 肠消化阶段

使用自动滴定仪装置模拟小肠阶段的消化。将30 mL样品调节至pH 7.0并置于温控室(37 °C)中。然后,将4 mL胆汁提取物(46.87 mg/mL)和1 mL溶于磷酸盐缓冲液(5 mmol/L, pH 7.0)中的氯化钙(110 mg/mL)溶液加入到样品中。之后加入新制备的脂肪酶分散液(0.06 g溶解在2.5 mL pH 7.0的磷酸盐缓冲液中)。检测混合物的pH值并滴定至pH 7.0,记录2 h期间从脂质消化释放的游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)所需NaOH溶液(0.05 mol/L)的体积,在时间 t 时FFA释放率按下式计算:

$$\text{FFA释放率/\%} = \frac{V_t(\text{NaOH}) \times C(\text{NaOH}) \times M_{\text{oil}}}{2m_{\text{oil}}} \times 100$$

式中: $V_t(\text{NaOH})$ 为中和在消化时间 t 产生的FFA所需氢氧化钠溶液的体积/L; $C(\text{NaOH})$ 为滴定试样的氢氧化钠溶液的浓度(0.25 mol/L); M_{oil} 为鱼油的分子质量(868 g/mol); m_{oil} 为脂质最初存在于反应容器的总质量/g。

1.3.7 激光共聚焦显微镜测定

为观察乳液在模拟胃肠道不同阶段中的结构变化,利用共聚焦荧光扫描显微镜观察乳液的微观结构,采用油浸物镜(×60)进行观察。分析前,移取2 mL样品于试管中,加入0.1 mL尼罗红溶液(1 mg/mL,溶剂乙醇)和荧光素硫氰酸异构体I溶液(溶于二甲亚砜,1 mg/mL),并充分混合以确保均匀溶解。尼罗红的激发和发射波长分别543 nm和605 nm,对于异硫氰酸荧光素分别设置为488 nm和515 nm。将混合物滴在载玻片上,在显微镜下观察。采用尼康图像处理软件拍摄和分析乳液的微观结构。

1.4 数据处理与分析

所有实验至少进行3次,所有数据为3次测定的平均值。采用SPSS 17.0程序进行单因素方差分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用Duncan检验进行数据比较和方差分析, $P < 0.05$,差异显著。

2 结果与分析

2.1 LF-EGCG共价复合物对鱼油乳液流变性质的影响

由图1a可以看出,在一定的剪切速率下,LF-EGCG共价复合物鱼油乳液的黏度较高,这表明该乳液可能具有较高的物理稳定性。EGCG与LF共价复合后,LF的分子质量增加^[19],根据链缠结理论^[20],分子质量越大,分子链缠结越严重,使流动阻力变大,黏度升高。图1b描述了不同乳液样品的表观黏度随剪切速率变化而发生的

变化。在整个剪切速率范围内, LF和物理混合物样品在较低的剪切速率下, 其黏度逐渐降低, 在较高的剪切速率下其黏度变化趋势不明显, 乳液表观黏度基本保持稳定, 呈现牛顿流体行为。对于共价复合物样品, 其黏度在整个剪切速率范围内随剪切速率的增加而逐渐降低, 呈现剪切变稀的特性。这主要是由于乳液内部单元的取向随着剪切速率的增加与剪切方向一致或者平行, 从而导致了黏度下降^[21]。根据Stokes规律, 颗粒黏度越大, 沉淀速度越慢, 乳液也越稳定。因此, 基于几种乳液样品不同的流变学性质, 其理化稳定性可能存在一定的差异。

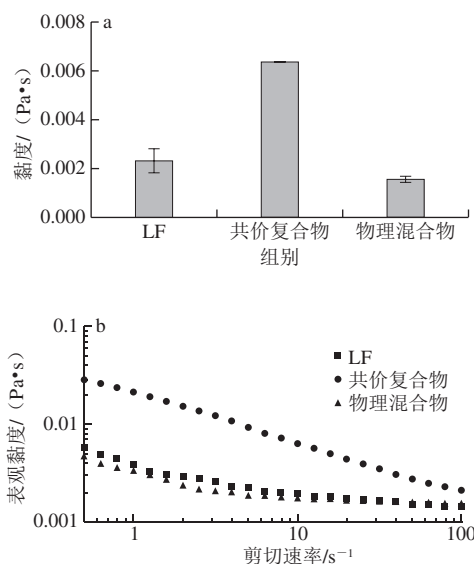


图1 LF、共价复合物和物理混合物稳定的鱼油乳液在10 s⁻¹剪切速率下的黏度 (a) 和流动图 (表观黏度对剪切速率曲线) (b)

Fig. 1 Apparent shear viscosity (at 10 s⁻¹ shear rate) and flowability profiles (shear viscosity versus shear rate) of fish oil emulsions stabilized by LF, the conjugate or the mixture

2.2 LF-EGCG共价复合物对鱼油乳液外观和氧化稳定性的影响

记录了乳液样品在55 ℃的恒温条件下避光保存15 d前后的外观形态 (图2a), 同时采用TBARS方法检测了油脂次级氧化产物的生成情况 (图2b), TBARS主要来源于脂质氢过氧化物的分解。如图2a₁所示, 新鲜制备的不同鱼油乳液的外观呈现微小差异, 这主要是由于在碱性条件下, EGCG与LF反应后, 生成褐色共价复合物, 导致最终产品呈现轻微的红棕色。新鲜制备的乳液样品流动性较好, 然而, 55 ℃恒温贮藏15 d后, 在LF和物理混合物的样品中观察到了凝胶现象 (图2a₂), 将试管倒置, 液体仍能保留在试管的底部, 说明这些样品发生了絮凝, 导致其流变性质发生明显变化, 由液体状态变为类固体状态。而对于共价复合物样品, 其外观未发生明显变化, 贮藏15 d后仍能保持较好的流动性。

如图2b所示, 新鲜制备的鱼油乳液中TBARS值小于1.0 nmol/g。在LF、LF-EGCG物理混合物和共价复合物稳定的鱼油乳液中, 其TBARS值分别为0.80、0.65 nmol/g和0.60 nmol/g, 说明以物理复合或共价结合的形式加入EGCG均能使乳液具有较高的氧化稳定性。在贮藏过程中, 乳液中脂质的TBARS值逐渐升高, 在贮藏第15天时分别达到2.25、0.75 nmol/g和0.70 nmol/g。同一贮藏时间条件下, 物理混合物和共价复合物的TBARS值相对较低, 说明EGCG的存在能够抑制脂质的氧化。研究表明, 在乳液界面处, 即脂滴和连续相的接触区域, 是油脂最容易氧化的区域^[22]。本实验中物理混合物和共价复合物稳定的乳液的氧化稳定性较高, 主要归因于EGCG对油水界面处自由基和过渡金属的清除和钝化作用。EGCG可能起到断链型抗氧化剂的作用, 抑制氢过氧化物分解为烷氧基和过氧化自由基, 以及这些自由基进攻不饱和脂肪酸形成新的自由基^[23]。同时, 本实验中交联状态的EGCG可以增加界面层的厚度, 游离状态的EGCG能够有效地交联油水界面的分子, 形成致密的吸附层, 从而起到了延缓油脂氧化的作用。

总体来说, LF-EGCG共价复合物不仅能提高贮藏过程中乳液的物理稳定性, 而且能较好地抑制脂质氧化, 提高鱼油乳液的化学稳定性。

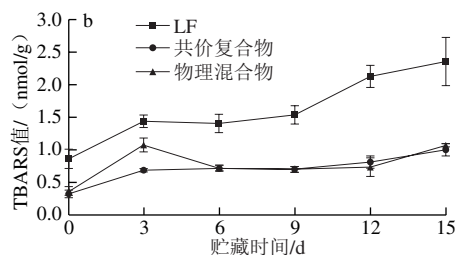
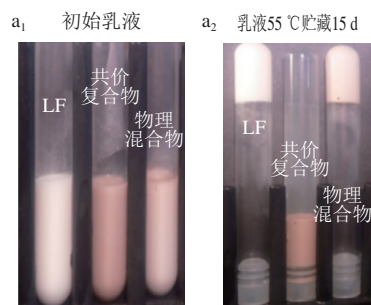


图2 LF、LF-EGCG共价复合物和物理混合物稳定乳液的视觉表现 (a) 和TBARS值 (b)

Fig. 2 Visual appearance (a) and TBARS values (b) of emulsions stabilized by LF, the conjugate or the mixture

2.3 消化过程中鱼油乳液的粒径、电位及微观结构

模拟消化有助于进一步了解乳液在机体内的生物利用率、脂肪吸收等过程^[24-25], 促进特定属性的功能食品设计。为探明LF、LF-EGCG物理混合物和共价复合物在体内的消化差异, 进一步测定了不同乳液样品在体外胃肠

道模型中不同阶段的粒径、电位、粒径分布和微观结构(图3~5)的变化。

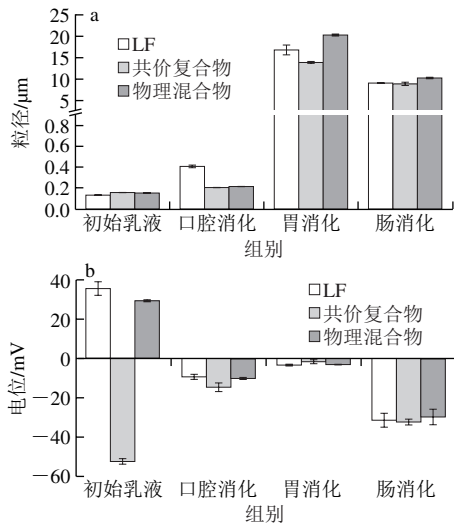
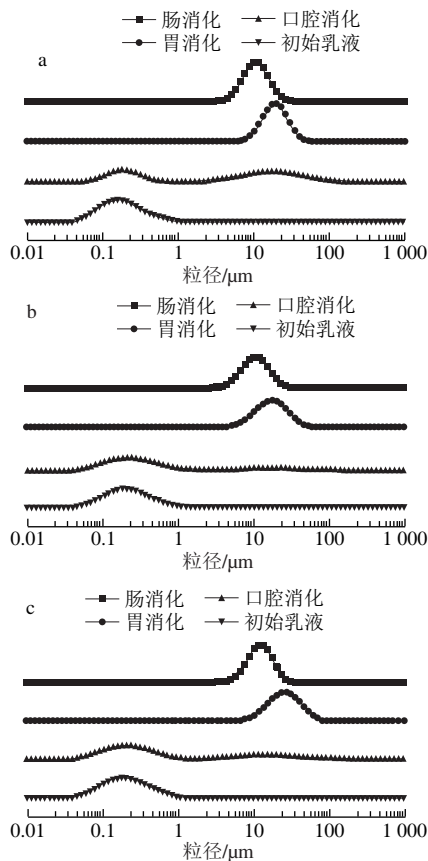


图3 不同鱼油乳液在体外消化过程中的平均液滴大小(a)和Zeta电位(b)

Fig. 3 Mean droplet size (a) and zeta-potential (b) of fish oil emulsions during *in vitro* gastrointestinal digestion



a. LF稳定的乳液; b. 共价复合物稳定的乳液; c. 物理混合物稳定的乳液。

图4 不同鱼油乳液在体外消化过程中的粒径分布

Fig. 4 Particle size distribution of fish oil emulsions during *in vitro* gastrointestinal digestion

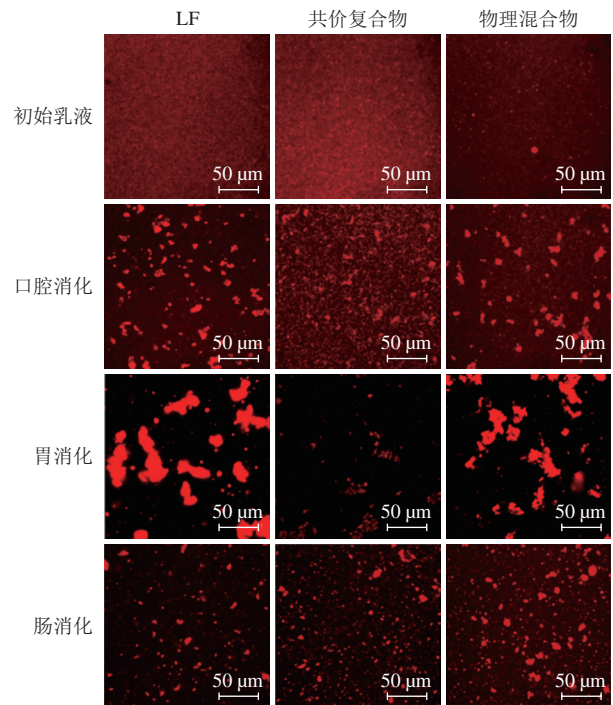


图5 模拟胃肠道条件对鱼油乳液激光共聚焦图像的影响

Fig. 5 Influence of simulated gastrointestinal conditions on confocal images of fish oil emulsions

2.3.1 初始阶段

由图3可知,新鲜制备的乳液样品的平均粒径差异并不显著。此外,激光共聚焦显微镜图像显示不同乳液样品的液滴呈现均匀分布(图5),说明3种乳化剂在均质过程中产生的小液滴能够抑制聚集。3种乳液样品的粒径均呈单峰分布,表明在3种新鲜制备的样品中,LF及其复合物样品均能发挥较好的乳化活性。

2.3.2 口腔阶段

当乳液样品暴露于口腔环境后,乳液的平均粒径均呈现一定程度的增加,单独蛋白质稳定的样品粒径增加较多(图3a),粒径分布显示LF样品变为双峰,而物理混合物和共价复合物样品仍为单峰分布(图4)。微观图像结果表明粒径增加是大量液滴聚集的结果(图5)。这种现象归因于乳滴与唾液中的黏蛋白发生了静电或疏水相互作用,黏蛋白能够诱导蛋白质稳定的乳液产生桥连或耗尽絮凝^[26-27]。而LF-EGCG物理混合物或共价复合物能形成较厚的界面层,在一定程度上减弱乳滴与黏蛋白之间的相互作用。

2.3.3 胃消化阶段

当乳液从口腔条件转移至胃部阶段时,所有乳液平均粒径均显著增加(图3a)。这主要由于当乳滴分散于胃液中时,环境的pH值、离子强度和酶活性发生改变。胃中pH值较低,导致乳液的电位绝对值下降(图3b)。因此,脂质液滴之间的静电斥力减小,促进絮凝的产生。同时,胃液中较高的离子强度也会降低体系中的静

电作用,促进液滴聚集。另一方面,在胃蛋白酶的作用下,脂滴表面的蛋白质分子发生水解,同样可以促进液滴聚集。微观图像显示(图5),由LF和LF-EGCG物理混合物稳定的脂滴含有较大的聚集体,而由共价复合物稳定的脂滴含有较小的聚集体,其分布相对均匀,这表明EGCG与LF共价结合可以改善脂滴在胃液条件下的聚集稳定性。这与蛋白质-多糖共价复合物可以改善乳液在胃肠道条件的聚集稳定性是一致的,其原因是共价复合物通过较强的空间排斥作用抑制了液滴之间的聚集^[28-29]。

2.3.4 小肠消化阶段

当乳液转移至小肠环境时,与胃液的条件相比,所有乳液的平均粒径均有所减小(图3a),这主要由于乳液的聚集稳定性受pH值、离子强度和酶活性的影响。由图4可知,所有乳液的电位绝对值均有所增加,因此脂滴之间的静电排斥作用增加。同时,离子强度的改变、脂肪酶对脂滴的水解作用等也将影响脂滴的大小和存在状态。微观物理混合物样品和共价复合物样品的微结构之间存在明显差异(图5)。这些结果再次证明不同壁材的组成和相互作用可改变乳液的胃肠道消化性质。

2.4 LF-EGCG共价复合物对鱼油乳液脂肪酸释放率的影响

实验采用pH值自动滴定仪测量了小肠条件下不同样品脂肪消化速率和消化程度,通过记录在pH值保持中性条件所消耗的NaOH溶液体积进一步计算出脂质水解产生的FFA^[30]。由图6可知,3种乳液样品在消化的最初几分钟内FFA释放快速增加,在随后消化过程中缓慢增加,表明脂酶分子可以快速吸附到油水界面,然后转化三酰基甘油为FFA和单酰基甘油。不同乳液样品的FFA释放曲线存在微小差异。共价复合物样品稳定的鱼油乳液FFA释放相对较慢,说明共价复合物形成的较厚的界面层在一定程度上可以抑制脂质水解。综上所述,LF-EGCG共价复合物能在一定程度上延缓脂肪酸的释放。

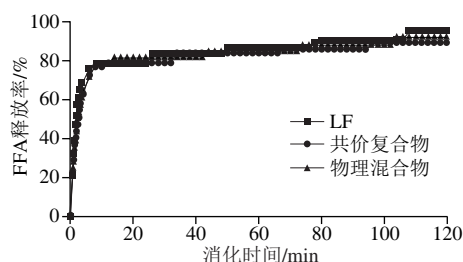


图6 由LF、LF-EGCG共价复合物和物理混合物稳定的鱼油乳液FFA释放率

Fig. 6 Percentage release of free fatty acids from fish oil emulsions stabilized by LF, the conjugate or the mixture

3 结论

本研究通过碱法制备的LF-EGCG共价复合物对鱼油乳液氧化稳定性及体外消化稳定性具有积极影响。在贮藏过程中,与LF和LF-EGCG物理混合物乳液相比,LF-EGCG共价复合物鱼油乳液的黏度更高且具有更好的贮藏稳定性与氧化稳定性。在模拟体外消化过程中,LF-EGCG共价复合物能在一定程度上延缓脂肪酸的释放。

参考文献:

- [1] MCCLEMENTS D J. Delivery by design (DbD): a standardized approach to the development of efficacious nanoparticle- and microparticle-based delivery systems[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2018, 17(1): 200-219. DOI:10.1111/1541-4337.12313.
- [2] MCCLEMENTS D J, DECKER E A, PARK Y. Controlling lipid bioavailability through physicochemical and structural approaches[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2009, 49(1): 48-67. DOI:10.1080/10408390701764245.
- [3] SONS J W. Encapsulation and controlled release technologies in food systems[M]. Boca Raton: CRC Press, 2008.
- [4] KRALOVA I, SJOBLÖM J. Surfactants used in food industry: a review[J]. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2009, 30(9): 1363-1383. DOI:10.1080/01932690902735561.
- [5] EVANS M, RATCLIFFE I, WILLIAMS P A. Emulsion stabilisation using polysaccharide-protein complexes[J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2013, 18(4): 272-282. DOI:10.1016/j.cocis.2013.04.004.
- [6] LEI F, LIU F G, YUAN F, et al. Impact of chitosan-EGCG conjugates on physicochemical stability of beta-carotene emulsion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 39: 163-170. DOI:10.1016/j.foodhyd.2014.01.008.
- [7] WANG X Y, LIU F H, LIU L, et al. Physicochemical characterisation of β -carotene emulsion stabilised by covalent complexes of α -lactalbumin with (-)-epigallocatechin gallate or chlorogenic acid[J]. *Food Chemistry*, 2015, 173: 564-568. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.10.070.
- [8] OLIVER C M, MELTON L D, STANLEY R A. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: a review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2006, 46(4): 337-350. DOI:10.1080/10408690590957250.
- [9] LIU F G, SUN C X, YANG W, et al. Structural characterization and functional evaluation of lactoferrin-polyphenol conjugates formed by free-radical graft copolymerization[J]. *RSC Advances*, 2015, 5(20): 15641-15651. DOI:10.1039/c4ra10802g.
- [10] GUZEY D, MCCLEMENTS D J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2006, 128: 227-248. DOI:10.1016/j.cis.2006.11.021.
- [11] LESMES U, BAUDOT P, MCCLEMENTS D J. Impact of interfacial composition on physical stability and *in vitro* lipase digestibility of triacylglycerol oil droplets coated with lactoferrin and/or caseinate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(13): 7962-7969. DOI:10.1021/jf100703c.
- [12] GARCÍA-MONTOYA I A, CENDÓN T S, ARÉVALO-GALLEGOS S, et al. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview[J].

- Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects, 2012, 1820(3): 226-236. DOI:10.1016/j.bbagen.2011.06.018.
- [13] LIU F G, WANG D, SUN C X, et al. Utilization of interfacial engineering to improve physicochemical stability of β -carotene emulsions: multilayer coatings formed using protein and protein-polyphenol conjugates[J]. Food Chemistry, 2016, 205: 129-139. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.02.155.
- [14] RAWEL H M, CZAJKA D, ROHN S, et al. Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2002, 30: 137-150. DOI:10.1016/S0141-8130(02)00016-8.
- [15] LIU F G, ZHU Z B, MA C C, et al. Fabrication of concentrated fish oil emulsions using dual-channel microfluidization: impact of droplet concentration on physical properties and lipid oxidation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(50): 9532-9541. DOI:10.1021/acs.jafc.6b04413.
- [16] 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. DOI:10.1016/j.foodres.2015.04.022.
- [17] SALVIA-TRUJILLO L, QIAN C, MARTÍN-BELLOSO O, et al. Influence of particle size on lipid digestion and β -carotene bioaccessibility in emulsions and nanoemulsions[J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 1472-1480. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.03.050.
- [18] SARKAR A, GOH K K T, SINGH H. Colloidal stability and interactions of milk-protein-stabilized emulsions in an artificial saliva[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(5): 1270-1278. DOI:10.1016/j.foodhyd.2008.09.008.
- [19] LIU F G, WANG D, SUN C X, et al. Influence of polysaccharides on the physicochemical properties of lactoferrin-polyphenol conjugates coated β -carotene emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 661-669. DOI:10.1016/j.foodhyd.2015.08.007.
- [20] 何曼君, 陈维孝, 董西侠. 高分子物理[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2008: 265.
- [21] SUN C H, GUNASEKARAN S, RICHARDS M P. Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2007, 21(4): 555-564. DOI:10.1016/j.foodhyd.2006.06.003.
- [22] LAGUERRE M, GIRALDO L J L, LECOMTE J, et al. Chain length affects antioxidant properties of chlorogenate esters in emulsion: the cutoff theory behind the polar paradox[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(23): 11335-11342. DOI:10.1021/jf9026266.
- [23] CHITYALA P K, KHOURYIEH H, WILLIAMS K M, et al. Effect of xanthan/enzyme-modified guar gum mixtures on the stability of whey protein isolate stabilized fish oil-in-water emulsions[J]. Food Chemistry, 2016, 212: 332-340. DOI:10.1016/j.foodchem.2016.05.187.
- [24] SINGH H, YE A, HORNE D J. Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion[J]. Progress in Lipid Research, 2009, 48(2): 92-100. DOI:10.1016/j.plipres.2008.12.001.
- [25] GOLDING M, WOOSTER T J. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion[J]. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 2010, 15: 90-101. DOI:10.1016/j.cocis.2009.11.006.
- [26] GAL S, LEVI C S, TAL S, et al. Emulsions stabilization by lactoferrin nano-particles under *in vitro* digestion conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 33(2): 264-272. DOI:10.1016/j.foodhyd.2013.03.017.
- [27] CHANG Y, MCCLEMENTS D J. Characterization of mucin-lipid droplet interactions: influence on potential fate of fish oil-in-water emulsions under simulated gastrointestinal conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 56: 425-433. DOI:10.1016/j.foodhyd.2015.12.034.
- [28] LESMES U, MCCLEMENTS D J. Controlling lipid digestibility: response of lipid droplets coated by β -lactoglobulin-dextran Maillard conjugates to simulated gastrointestinal conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 26(1): 221-230. DOI:10.1016/j.foodhyd.2011.05.011.
- [29] GUMUS C E, DAVIDOVPARDO G, MCCLEMENTS D J. Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: impact of Maillard conjugation on physicochemical stability and gastrointestinal fate[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 38-49. DOI:10.1016/j.foodhyd.2016.03.021.
- [30] 刘夫国. 蛋白质-多酚-碳水化合物共价复合物制备及其对功能因子稳态作用[D]. 北京: 中国农业大学, 2017: 153-154.