

燕麦蛋白-结冷胶冷诱导凝胶微观结构与控释特性的关联性研究

杨晨^{1,2},袁哲¹,闫可心¹,胡海玥¹,汪建明^{1*}

(1.天津科技大学 食品科学与工程学院,天津 300457;2. 优滋福(天津)食品科技有限公司,天津 300457)

摘要:热变性后的燕麦蛋白(oat protein isolate,OPI)与结冷胶(gellan gum,GG)通过添加不同浓度的葡糖酸- δ -内酯(glucono- δ -lactone,GDL)形成 OPI-GG 冷诱导凝胶,通过质构分析、扫描电子显微镜、激光共聚焦显微镜以及傅里叶红外光谱,研究不同条件下形成的凝胶微结构以及分子构象的变化,探究不同凝胶微结构与凝胶控释特性的关联性。结果表明,在 GG 添加量为 0.1%、pH 5 时,凝胶硬度最大,随着 GG 浓度升高,凝胶硬度逐渐变弱。通过扫描电镜和激光共聚焦的观察可知 OPI-GG 凝胶可形成两种网络微结构,在 pH 4 和 pH 5 时,OPI 与 GG 之间由于静电引力使其相互作用力增强,形成致密且均匀的单网络微结构;在 pH 6 和 pH 7 时,OPI 与 GG 由于静电斥力的作用产生相分离,从而形成双网络结构。具有不同微结构的 OPI-GG 凝胶可作为基质包埋核黄素,双网络结构的凝胶可有效提高核黄素的包埋率(75%),其在 pH 1.2 磷酸缓冲溶液(phosphate buffer saline,PBS)中浸泡 2 h 后核黄素的释放率为 33%;致密的单网络结构 OPI-GG 凝胶包埋率为 61%,在 pH 1.2 PBS 中可有效阻止核黄素的释放,其释放率为 18%,并在 pH 7.4 PBS 中使核黄素逐步释放,8 h 后释放率为 53%。该研究结果表明,在中性条件下制备的 OPI-GG 双网络结构冷凝胶具有较好的核黄素包埋能力,在酸性条件下制备的 OPI-GG 单网络冷凝胶具有较好的控释能力,因此,不同微结构的 OPI-GG 冷凝胶具有作为营养素包埋和递送体系的潜力。

关键词:燕麦蛋白;结冷胶;凝胶结构;控释性能;双网络结构

Study on the Relationship between Different Gel Microstructures and Controlled Release Properties of Oat Protein Isolate-Gellan Gum Gel

YANG Chen^{1,2}, YUAN Zhe¹, YAN Ke-xin¹, HU Hai-yue¹, WANG Jian-ming^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. Useful Food Science and Technology Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

Abstract: Cold-induced oat protein isolate-gellan gum gels were prepared using thermally denatured oat

基金项目:天津市自然科学基金项目(18JCYBJC43700);天津市一二三产业融合发展科技示范工程(18ZXYENC00090);天津市合成生物技术创新能力提升行动重大科技攻关任务(TSBICIP-KJGG-004-09)

作者简介:杨晨(1984—),女(汉),副教授,博士,研究方向:食品科学、食品胶体。

*通信作者:汪建明(1972—),女(汉),教授,博士,研究方向:食品科学与营养、农产品加工。

1-13.
[20] LIANG H S, ZHOU B, LI J, et al. Supramolecular design of coordination bonding architecture on zein nanoparticles for pH-responsive anticancer drug delivery[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2015, 136: 1224-1233.
[21] 何建川,邵阳,张波. 蛋白质和变性蛋白质二级结构的 FTIR 分析进展[J]. *化学研究与应用*, 2012, 24(8):1176-1180.
[22] DE FOLTER J W, VAN RUIJVEN M W, VELIKOV K P. Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the

water-insoluble protein zein[J]. *Soft Matter*, 2012, 8(25), 6807-6815.
[23] XU D, YUAN F, GAO Y, et al. Influence of whey protein-beet pectin conjugate on the properties and digestibility of β -carotene emulsion during in vitro digestion[J]. *Food Chemistry*, 2014, 156: 374-379.

加工编辑:张立娟
收稿日期:2020-08-29

protein isolate (OPI) and gellan gel (GG) by adding various glucono- δ -lactone (GDL) concentrations. The microstructure of the gel formed under different conditions and the changes in molecular conformation were studied through texture analysis, scanning electron microscopy, laser confocal microscopy, and Fourier infrared spectroscopy to explore the influence of different gel microstructures on the gel controlled release properties. The results showed that the highest gel strength was found when adding 0.1% GG and fabricating at pH 5. As the GG concentration raised, the gel strength was gradually weakened. According to the observation of scanning electron microscope and confocal, OPI-GG gel could form two kinds of network microstructures, at pH 4 and pH 5, the interaction between OPI and GG were enhanced due to the electrostatic attraction, and OPI-GG gel formed a dense and uniform single network structure; while at pH 6 and pH 7, a double network structure was found for OPI-GG gel due to the phase separation during gelling process caused by electrostatic repulsion between OPI and GG. OPI-GG gel with different network structure had ability to encapsulate riboflavin, the results indicated that the gel with double network structure could effectively increase the encapsulation efficiency of riboflavin (75%), the release rate of riboflavin in the pH 1.2 phosphate buffer saline (PBS) 2 h was 33%; while the gel with dense single network structure formed under the condition of pH 5 had encapsulation efficiency of 61%, and the release of riboflavin in pH 1.2 PBS was only 18% after 2 h, and allowed gradually release of riboflavin in the pH 7.4 PBS, while the release rate was 53% after 8 h. The results of this study suggested that the cold-induced OPI-GG gels with double network structure fabricated under neutral conditions had better encapsulation efficiency, while the cold-induced OPI-GG gels with uniform dense single network structure prepared under acidic conditions had better controlled release capacity. Therefore, OPI-GG gels with various network microstructure had potential to be used as nutraceutical encapsulation and delivery systems.

Key words: oat protein isolate; gellan gum; gel microstructure; controlled release property; double network structure

引文格式:

杨晨, 袁哲, 闫可心, 等. 燕麦蛋白-结冷胶冷诱导凝胶微观结构与控释特性的关联性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(1): 8-14.

YANG Chen, YUAN Zhe, YAN Kexin, et al. Study on the Relationship between Different Gel Microstructures and Controlled Release Properties of Oat Protein Isolate-Gellan Gum Gel[J]. Food Research and Development, 2021, 42(1): 8-14.

燕麦中除了含有大量的 β -葡聚糖,还含有丰富的蛋白质(12%~24%)^[1-2],其中球蛋白占总蛋白质含量的70%~80%,主要由12S、7S和3S蛋白组成^[3-4]。前期研究发现,燕麦蛋白(oat protein isolate,OPI)具有良好的凝胶特性^[5]。加热变性后的燕麦蛋白六聚体解聚成活跃的单体,并且二级结构打开,提供了大量的交联点,在静电斥力逐渐降低的情况下可促使蛋白质单体有序排列,从而形成类似聚合物凝胶的网络结构^[5-6]。燕麦蛋白这一凝胶结构和加热变性后的特性使其具有较好的凝胶硬度以及包埋、保护和控释营养素的能力^[6-9]。但是燕麦蛋白凝胶在中性和弱酸性条件下的硬度较弱,在含有胰蛋白酶的模拟胃液中超过1 h,部分燕麦蛋白凝胶会降解,从而影响其在模拟消化液中的控释能力^[7]。在蛋白质中添加多糖可制备不同微结构

的凝胶,可有效增强蛋白凝胶的硬度,也可增强其作为载体保护功能性物质活性的能力。

Nieto等研究了在酸性和中性条件下菊粉、卡拉胶和糊精对热致燕麦蛋白凝胶结构和硬度的影响,发现在加热凝胶过程中,两种物质产生了相分离从而使多糖分散在燕麦蛋白凝胶的网络结构中,同时增加了凝胶内部蛋白质部分的浓度,从而增强了燕麦蛋白-多糖热致凝胶的硬度^[10-11]。然而,加热条件会破坏热敏性生物活性物质,热凝胶作为营养物质递送体系有一定的局限性,冷诱导燕麦蛋白-多糖混合凝胶的特性还有待研究。

结冷胶(gellan gum,GG)因其凝胶性、透明性高,耐高温,在较宽的pH值条件下稳定性好,因此广泛应用于食品体系中以增强食品的品质和稳定性^[12-14]。结

冷胶与大豆蛋白和蛋清蛋白混合可改善蛋白质凝胶性和结构^[15-16]。本研究的预试验中发现,热变性后的燕麦蛋白与结冷胶混合形成的凝胶具有较强的凝胶硬度和较好的性质,有望作为营养物质递送体系。本文通过葡糖酸- δ -内酯(glucono- δ -lactone, GDL)诱导凝胶(冷诱导)的方法,制备热变性后的燕麦蛋白-结冷胶共混凝胶,通过质构分析、扫描电镜、激光共聚焦显微镜、傅里叶红外光谱等方法,探究不同 pH 值对共混凝胶的结构、性质以及控释行为的影响,为燕麦蛋白-结冷胶共混凝胶体系应用在食品工业中提供理论支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

裸燕麦:加拿大曼尼托巴省;燕麦蛋白(OPI):加拿大阿尔伯塔大学农业、食品、营养系实验室提取^[10],蛋白质含量为(90.4 \pm 0.6)%;结冷胶(纯度为99%,分子量500 kDa):河南华森食品添加剂有限公司;葡糖酸- δ -内酯(GDL):上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 仪器与设备

傅里叶红外光谱仪(NICOLET IS50):德国 Thermo Scientific 公司;SU1510 扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM):日本 Hitachi 公司;激光扫描共聚焦显微镜(confocal):日本尼康公司;真空冷冻干燥(FD-1-50):北京博医康实验仪器有限公司;紫外可见分光光度计(Evolution300):Thermo Fisher Scientific 公司;恒温磁力搅拌器(H05-1):天津东南仪诚科技有限公司;智能数显磁力加热控温搅拌器(TP-350S):杭州米欧仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 燕麦蛋白-结冷胶(OPI-GG)冷诱导凝胶制备

OPI 溶于水中并在室温 25 $^{\circ}$ C 下搅拌过夜,用 1 mol/L NaOH 将溶液调节至 pH 8。将 OPI 溶液密封在玻璃瓶中并在 115 $^{\circ}$ C (高于变性温度)油浴中加热 15 min。随后冷却至室温 25 $^{\circ}$ C,加入不同浓度的 GG (0%、0.05%、0.1%、0.15%、0.2%,基于蛋白质干重的质量分数),使得 OPI 的浓度为 7 g/100 mL 且保持每个样品有相同的总体积,并将不同量的 GDL (20%、9%、4%、1.5%,基于蛋白质干重的质量分数)加入到溶液中,将溶液储存在 4 $^{\circ}$ C 下 24 h,形成不同 pH 值(4、5、6、7)的 OPI-GG 凝胶。

1.3.2 OPI-GG 凝胶质构分析

OPI-GG 凝胶制成相同的高度(18 mm)和直径(22 mm),确保表面和底面的平整,采用 P/36R 探头分析凝胶的硬度,测定参数为:测定前速度 5 mm/s,测定

速度 2 mm/s,测后速度 5 mm/s,应变位移 60%,引发力 5 g,引发类型为自动。

1.3.3 复合凝胶微观结构的观察

OPI-GG 凝胶经液氮速冻后冻干,取自然冻干截面,经表面喷洒镀金后置于 SEM 下,观察不同条件处理后的凝胶微观形貌^[7]。

用激光共聚焦观察 OPI-GG 凝胶内燕麦蛋白和结冷胶的分布。将 0.54 g 的 GG 和 60 mL 水混合,然后向混合物中加入 10 mg 异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC),避光搅拌过夜后透析 12 h,冷冻干燥。罗丹明 B 用于 OPI 的非共价标记,首先制备蛋白质悬浮液 30 mL,然后加入 2 mg 罗丹明 B,混合物在室温 25 $^{\circ}$ C 下避光搅拌过夜后透析 12 h,冷冻干燥。将标记过的 OPI 与 GG 混合,制备凝胶,方法同 1.3.1。将制备好的凝胶样品置于显微镜载玻片上,盖上薄片,并在 488 nm 和 543 nm 波长同时获得荧光图像^[9]。

1.3.4 OPI-GG 凝胶分子结构的测定

准确称量 1 mg OPI-GG 凝胶的冻干样品,加入 150 mg 充分干燥的 KBr (其中溴化钾放在烘箱中 105 $^{\circ}$ C 烘干超过 8 h),用研钵将其充分研磨至细末贴壁。使用压片机(10⁸ Pa)将混合粉末压制 1 min 成透明薄片,用红外光谱仪做全波段扫描(4 000 cm^{-1} ~400 cm^{-1}),分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描次数为 16 次,以空气为采集背景,样品红外光谱图经过傅立叶变换后利用 OMNIC 8.2 软件进行分析处理。

1.3.5 包埋核黄素的 OPI-GG 凝胶的控释行为的测定

OPI(7 g/100 mL)在 115 $^{\circ}$ C 油浴中加热变性,冷却至室温 25 $^{\circ}$ C 后加入核黄素(1%,基于蛋白质干重的质量分数)和不同浓度的 GG,避光搅拌,制备凝胶(方法同 1.3.1)。核黄素的包埋率通过紫外分光光度计测定,先将包埋核黄素的凝胶冻干,粉末溶于蒸馏水,搅拌过夜,6 000 g 离心 20 min,取上清液,稀释后,用紫外可见分光光度计 445 nm 波长下测定吸光度值,根据核黄素的标准曲线计算核黄素包埋量。核黄素包埋率通过以下公式计算:

$$\text{包埋率}/\% = \frac{C_0}{C_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: C_0 为包埋在凝胶中核黄素含量,mg, C_1 为核黄素总含量,mg。

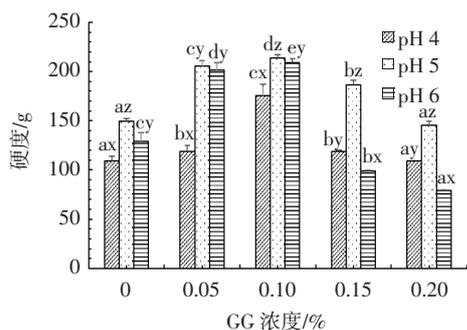
将包埋核黄素的 OPI-GG 凝胶置于 pH1.2 磷酸缓冲溶液(phosphate buffer saline, PBS)(37 $^{\circ}$ C)中 2 h 后,再将凝胶转入中性 PBS(pH7.4, 37 $^{\circ}$ C)8 h 进行释放试验。每隔特定的时间取样,采样之后,补充等体积 PBS,以保持恒定的体积。取出的液体离心(6 000 g, 10 min)

后用紫外可见分光光度计在 445 nm 波长下测量核黄素吸光值,通过标准曲线,计算其释放量(R_1),在模拟肠液中释放 8 h 后,将剩余凝胶破碎,使核黄素充分溶出,离心取上清液稀释后用紫外分光光度计在 445 nm 处测量核黄素的吸光值,根据核黄素的标准曲线计算核黄素的量(R_2),该值加上核黄素在模拟胃液 2 h 后释放的量(R_0),即为核黄素的总量(R_t),核黄素的释放率/ $\% = R_1/R_t \times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 pH 值和 GG 浓度对 OPI-GG 凝胶硬度的影响

本研究通过质构分析,探究了不同 GG 浓度和 pH 值对 OPI-GG 凝胶硬度的影响,其结果如图 1 所示。



a~e 表示组间(GG 浓度)的差异性水平;x~z 表示组内(pH 值)的差异水平。字母相同表示差异不显著($P>0.05$);不同则表示差异显著($P<0.05$)。

图 1 pH 值和 GG 浓度对 OPI-GG 凝胶硬度的影响

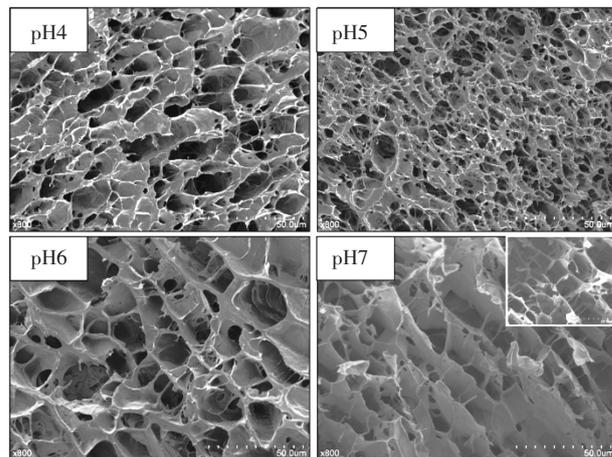
Fig.1 Effect of pH and GG concentration on OPI-GG gel hardness

试验中发现,pH 值为 7 时,OPI-GG 凝胶透明且富有弹性,但由于凝胶硬度低于仪器检测下限,无法被检测。如图 1 所示,不同的 pH 值对 OPI-GG 凝胶硬度有显著影响($P<0.05$),凝胶硬度呈现先上升后下降的趋势。在 pH 值为 6 时,OPI 与 GG 的静电斥力降低,分子间的氢键和疏水基相互作用增强,凝胶硬度也随之增加^[8]。当 pH 值等于 OPI 等电点(pH 值为 5)时,OPI 与 GG 因为静电吸引力形成凝聚体,从而使 OPI-GG 凝胶硬度增强,此时凝胶硬度最大。当 pH 值为 4 时,凝胶硬度降低,由于 pH 值低于 OPI 等电点,OPI 分子间带正电荷而产生静电斥力从而使网络结构溶胀。在 GG 浓度为 0%~0.10% 时,不同的 GG 浓度对凝胶硬度也有显著影响($P<0.05$),凝胶硬度随着 GG 浓度增加而增加,在 GG 浓度为 0.1% 时凝胶硬度达到最大值,随着 GG 添加量的继续增加,凝胶的硬度逐渐降低,其原因可能是过多的 GG 与 OPI 分子相互作用,阻碍了 OPI 分子间和分子内的相互作用从而不能形成坚固的凝胶三维网络结构^[8,17],最终导致凝胶硬度减弱。凝胶

硬度分析结果表明,GG 添加量为 0.1%、pH 值为 5 时凝胶硬度最大,0.1%GG 浓度被选为最优制备 OPI-GG 凝胶条件。

2.2 不同 pH 值对 OPI-GG 凝胶网络微结构的影响

扫描电子显微镜可直观地观察不同 pH 值条件下形成的 OPI-GG 凝胶的内部结构,如图 2 所示。



放大倍数为 500;pH 7 插入图放大倍数为 1 500。

图 2 不同 pH 值条件下 OPI-GG 凝胶扫描电子显微镜图

Fig.2 SEM images of OPI-GG gel formed at different pH

从图 2 中可以看出,不同 pH 值条件下形成的 OPI-GG 凝胶均具有类似聚合物的三维网络结构。OPI-GG 在 pH 5 时的凝胶孔径最小,形成致密的三维网络结构。在此条件下,OPI 与 GG 带相反电荷,分子间具有静电吸引力,同时 OPI 分子在预加热的条件下解聚和伸展,使功能基团暴露出来,有利于蛋白质和多糖之间的相互作用,GG 与 OPI 通过相互作用形成均一稳定的蛋白质-多糖体系,因此,在 pH 值为 5 时,OPI-GG 凝胶具有最强的硬度。在 pH 值为 6 时,凝胶网络结构的孔径变大,此时 OPI 所带负电荷较少^[8],与 GG 之间虽然存在静电斥力,但是由于 OPI 在预加热变性后功能基团暴露,其与 GG 之间可能仍因疏水基和氢键作用而相互结合,从而形成稳定的结构和较强的凝胶硬度。在 pH 值为 4 时,由于 pH 值远离 OPI 等电点,OPI-GG 形成凝胶后,其网络结构随着 pH 值降低而吸水溶胀,内部孔径变大,因此凝胶硬度减弱^[8]。同理,随着 pH 增加至 7,远离 OPI 等电点,凝胶结构的孔径变大,凝胶孔壁变薄,OPI-GG 凝胶的硬度变弱。有趣的是,在 pH 6 和 pH 7 的条件下,凝胶孔径虽然变大,但是内部均出现细丝连接的现象。在 OPI 等电点以上时,OPI-GG 存在静电斥力可能产生相分离,在蛋白质分子和多糖分子凝聚的过程中,OPI 和 GG 可能各自形成网络,从而形成双网络结构,导致凝胶孔内出现

细丝网络结构。

OPI-GG 凝胶中蛋白质的多糖在不同 pH 值条件

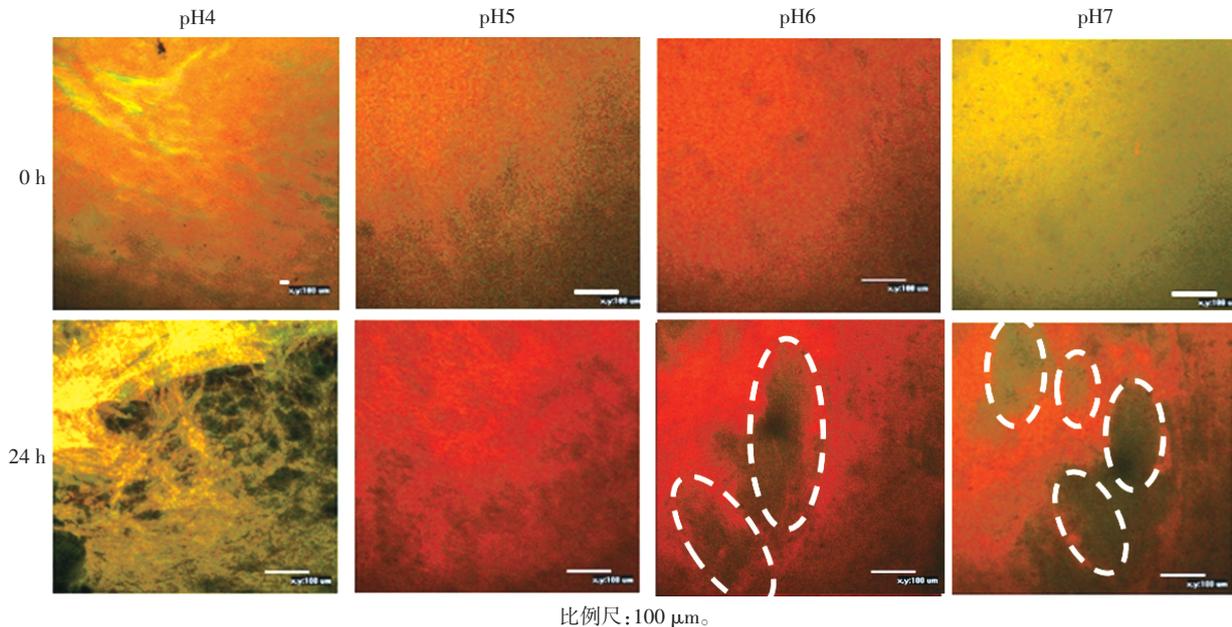


图3 不同 pH 值条件下 OPI-GG 凝胶中的激光共聚焦显微镜图

Fig.3 Effect of different pH on laser confocal microscopy of OPI-GG gel

由图3可知,在 pH4 条件下,加入 GDL 后,OPI-GG 共混物在 pH 值快速降低的情况下迅速形成凝胶,OPI 和 GG 在凝胶中的分布较均匀。pH 5 接近 OPI 的等电点,OPI 带有少量的正电荷,与 GG 相互作用力较弱,在 pH 值快速降低的情况下,OPI-GG 形成蛋白质和多糖均匀分布的凝胶,其验证了 SEM 的观察结果,即在 pH 4 和 5 条件下,OPI-GG 形成了致密的均匀的三维网络结构。在 pH 值为 6 或 7 时,随着凝胶网络的形成,交联的 GG(白色虚线圈内)与 OPI 分开,嵌入在 OPI 连续的网络中,这是由于这个 OPI 与 GG 均带有负电荷,在缓慢凝胶过程中由于静电斥力而各自形成网络结构,从而形成相分离状态的凝胶双网络结构。从图3(pH 7,24 h)中可以看出,GG 分布在 OPI 凝胶的连续网络结构内,证实了图2(pH 7)凝胶孔内的细丝是结冷胶在 OPI 连续的网络结构中形成的双网络结构。

2.3 OPI-GG 凝胶分子构象变化

傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) 是常用的表征分子中化学键或官能团的信息的方法之一^[18]。图4是 OPI-GG 凝胶在不同 pH 值下 FTIR 的吸收光谱图。

如图4所示,随着 pH 值降低,在 1 640 cm^{-1} 处的特征峰吸收硬度增强,OPI 与 GG 之间的作用力逐渐增强。pH 4 时,在 1 777 cm^{-1} 处出现新的峰,代表羧基

下的分布情况可通过激光共聚焦显微镜进行观察,结果如图3所示。

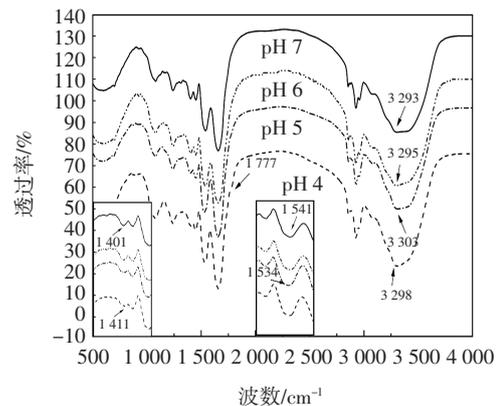


图4 不同 pH 值条件下 OPI-GG 凝胶 FTIR 图谱的变化

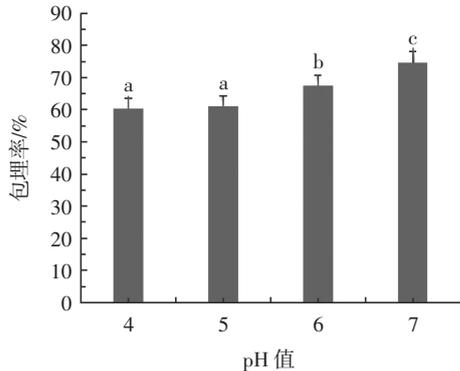
Fig.4 FTIR image of OPI-GG gel formed at different pH value

中 C=O 伸缩振动,另外,与 pH 7 条件下形成的凝胶相比,pH 4 时形成的凝胶在 3 298 cm^{-1} 处的特征峰比较尖锐,发生蓝移,-OH 强吸收^[19],证明分子间氢键作用增强,GG 上乙酰基与 OPI 发生乙酰化反应,从而使微结构发生改变。pH 5 时,-OH 拉伸振动峰在 3 303 cm^{-1} 变化明显,这是由于 OPI 与 GG 因静电吸引力而相互作用,OPI 中的羟基/氨基与 GG 的羟基之间形成了较强的氢键^[20],证实了在 pH 5 条件下形成的凝胶因较强的蛋白质与多糖相互作用力而具有较强的凝胶硬度。在 pH 7 时,1411 cm^{-1} 处-OH 的特征峰红移到 1401 cm^{-1} ,吸收峰也增强,说明 OPI-GG 凝胶在 pH 7 时有氢键生

成。然而,预试验中发现,在 pH 7 时,由于 OPI 和 GG 均带有负电荷,它们之间的相互作用力以疏水作用力为主(数据没有体现)。结合激光共聚焦和扫描电镜得到的 pH 7 下 OPI-GG 形成的双网络结构,其氢键的形成可能是由于 GG 自身交联而成。

2.4 pH 值对负载核黄素的 OPI-GG 凝胶的包埋率和控释性能的影响

不同 pH 值的 OPI-GG 凝胶包埋核黄素的包埋率测试结果如图 5 所示。



字母相同表示差异不显著($P>0.05$),不同则表示差异显著($P<0.05$)。

图 5 不同 pH 值对 OPI-GG 凝胶包埋率的影响

Fig.5 Effect of different pH on the encapsulation efficiency of OPI-GG gel

由图 5 可知,在 pH 4 和 pH 5 时,OPI-GG 凝胶的包埋率略低,约 61%,随着 pH 值升高至 6 和 7,包埋率分别增加至 67%和 75%。在 pH 6 和 pH 7 条件下,OPI-GG 凝胶由于静电斥力产生相分离,形成双网络结构,因此可有效阻止核黄素的溶出,提高凝胶的包埋率。

包埋核黄素的 OPI-GG 凝胶在 PBS 中的释放试验如图 6 所示。

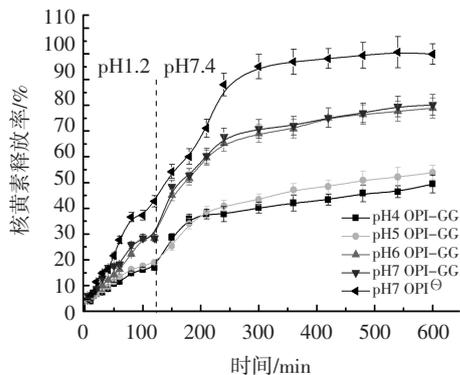


图 6 包埋核黄素的 OPI-GG 凝胶在 PBS (pH 1.2, pH 7.4) 中的释放曲线图

Fig.6 Release rate of riboflavin encapsulated in OPI-GG gels in PBS (pH 1.2, pH 7.4)

由图 6 可知,pH 7 条件下不添加 GG 制备的 OPI

凝胶,在 pH 1.2 的酸性 PBS 中 2 h 时,核黄素的释放率为 42%,加入 0.1%的 GG 以后,在 pH 1.2 的 PBS 环境下 2 h 时释放率为 33%,随着凝胶制备的 pH 值降低至 5 和 4 时,2 h 的核黄素释放率降低至 18%和 16%。在 pH 7.4 的 PBS 中,不加 GG 的 OPI 凝胶 3 h 以后几乎释放全部核黄素。加入 0.1%的 GG 后,在 pH 7 和 pH 6 条件下制备的凝胶核黄素的释放率明显,低于不加 GG 的凝胶。当凝胶 pH 值为 4 和 5 时,在 pH 7.4 PBS 中浸泡 8 h 后,核黄素的释放率降低至 49%和 53%。

OPI-GG 凝胶释放核黄素的机制与其结构和相互作用力有很大关系。在 pH 4 和 pH 5 时,SEM 和 FTIR 的结果显示,相对于 pH 6 和 pH 7 形成的双网络结构凝胶,其凝胶壁的孔径较小,网络比较致密,而且凝胶的形成速度较快,OPI 和 GG 形成更强的相互作用力,所以在 pH 4 和 pH 5 条件下形成的 OPI-GG 凝胶在 pH 1.2 的条件下受酸性环境的影响较小,可以控制核黄素的释放率在 17%左右,在 pH 7.4 的条件下通过扩散缓慢释放核黄素。试验结果证明,具有双网络结构的 OPI-GG 凝胶具有较好的包埋能力,具有均匀致密的单网络结构的 OPI-GG 凝胶具有较好的控释能力,因此,OPI-GG 凝胶具有作为营养素包埋和递送体系应用在食品工业中的潜力。

3 结论

本文通过 GDL 冷诱导制备 OPI-GG 凝胶,利用质构分析、扫描电镜、激光共聚焦、FTIR 等方法研究不同制备条件下混合凝胶的硬度,以及不同 pH 值条件下凝胶微结构与控释特性之间的关联性。结果表明在 GG 添加量为 0.1% pH 5 条件下制备的凝胶硬度最大。凝胶硬度与凝胶结构和分子构象的变化有关,pH 4 和 pH 5 时,由于静电引力的相互作用,OPI 与 GG 之间相互作用力增强,OPI-GG 凝胶形成致密的均匀的单网络结构。在 pH 6 和 pH 7 时,OPI 与 GG 由于静电斥力的作用产生相分离,从而形成双网络结构。具有不同微结构的 OPI-GG 凝胶可作为基质包埋核黄素,研究结果表明,OPI-GG 双网络结构凝胶的包埋率为 75%,其在 pH 1.2 PBS 中 2 h 时释放核黄素 33%;OPI-GG 致密单网络结构凝胶的包埋率为 61%,在 pH 1.2 PBS 中 2 h 时释放核黄素 18%。本研究结果证明,在 pH 6 和 pH 7 条件下制备的 OPI-GG 双网络结构冷凝胶具有较好的核黄素包埋能力,在 pH 4 和 pH 5 条件下制备的具有均一致密结构的 OPI-GG 单网络冷凝胶具有较好的控释能力,具有不同微结构的 OPI-GG 冷凝胶可作为营养素包埋和递送体系,为其应用在食品中作为营养素载体提供理论基础。

参考文献:

- [1] MARTINEZ V C, PENAS E. Health benefits of oat: current evidence and molecular mechanisms[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2017, 14: 26–31.
- [2] GULVADY AA, BROWN RC, BELL JA. Chapter 4. Nutritional comparison of oats and other commonly consumed whole grains. In: *Oat Nutrition and Technology*[M]. Hoboken: Y. F. John Wiley & Sons Ltd, 2013: 71–93.
- [3] MENON R, GONZALEZ T, FERRUZZI M, et al. Oats—from farm to fork[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2016, 77: 1–55.
- [4] ZHONG L, MA N, WU Y, et al. Gastrointestinal fate and antioxidant of β -carotene emulsion prepared by oat protein isolate–*Pleurotus ostreatus* β -glucan conjugate[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 221: 10–20.
- [5] YANG C. Plant protein gel formation mechanisms and their applications as delivery systems of bioactive compounds[D]. Edmonton: University of Alberta, 2016.
- [6] NIETO TV, WANG YX, OZIMEK L, et al. Effects of partial hydrolysis on structure and gelling properties of oat globular proteins[J]. *Food Research International*, 2014, 55: 418–425.
- [7] YANG C, WANG Y, CHEN L. Fabrication, characterization and controlled release properties of oat protein gels with percolating structure induced by cold gelation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 62: 21–24.
- [8] YANG C, WANG Y, LU L, UNSWORTH L, et al. Oat protein–shellac beads: Superior protection and delivery carriers for sensitive bioactive compounds[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 754–758.
- [9] YANG C, WANG Y, XIE Y, et al. Oat protein–shellac nanoparticles as delivery vehicle for resveratrol to improve bioavailability *in vitro* and *in vivo*[J]. *Nanomedicine*, 2019, 14: 2853–2871.
- [10] NIETO TV, WANG YX, OZIMEK L, et al. Improved thermal gelation of oat protein with the formation of controlled phase-separated networks using dextran and carrageenan polysaccharides[J]. *Food Research International*, 2016, 82: 95–103.
- [11] NIETO TV, WANG YX, OZIMEK L, et al. Inulin at low concentrations significantly improves the gelling properties of oat protein—a molecular mechanism study[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 50: 116–127.
- [12] KUHN KR, SILVA FGD, NETTO FM, et al. Production of whey protein isolate–gellan microbeads for encapsulation and release of flaxseed bioactive compounds[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 247: 104–114.
- [13] GUO J, LIU Y, YANG X, et al. Fabrication of edible gellan gum–soy protein ionic–covalent entanglement gels with diverse mechanical and oral processing properties[J]. *Food Research International*, 2014, 62: 917–925.
- [14] DAS M, GIRI TK. Hydrogels based on gellan gum in cell delivery and drug delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2020, 56: 101586.
- [15] VILELA JAP, CAVALLIERI ÂLF, DA CUNHA RL. The influence of gelation rate on physical properties/structure of salt–induced gels of soy protein isolate–gellan gum[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25: 1710–1718.
- [16] BABAEI J, KHODAIYAN F, MOHAMMADIAN M. Effects of enriching with gellan gum on the structural, functional, and degradation properties of egg white heat–induced hydrogels[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 128: 94–100.
- [17] WANG Y, CHEN L. Fabrication and characterization of novel assembled prolamin protein nanofabrics with improved stability, mechanical property and release profiles[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22: 21592–21601.
- [18] 何慧子. OSA 淀粉–黄原胶复配载体对 CLA 的保护及释放特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
- [19] YANG C, WANG BY, WANG JM, et al. Effect of pyrogallol acid (1,2,3–benzenetriol) polyphenol–protein covalent conjugation reaction degree on structure and antioxidant properties of pumpkin (*Cucurbita sp.*) seed protein isolate[J]. *LWT–Food Science and Technology*, 2019, 109: 443–449.
- [20] CAI XR, DU XF, CUI DM, et al. Improvement of stability of blueberry anthocyanins by carboxymethyl starch/xanthan gum combinations microencapsulation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 91: 238–245.
- [21] WANG Y, CHEN L. Cellulose nanowhiskers and fiber alignment greatly improve mechanical properties of electrospun prolamin protein fibers[J]. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2014, 6: 1709–1718.
- [22] PANDEY H, PARASHAR V, PARASHAR R, et al. Controlled drug release characteristics and enhanced antibacterial effect of graphene nanosheets containing gentamicin sulfate[J]. *Nanoscale*, 2011, 3: 4104–4108.
- [23] RITGER PL, PEPPAS NA. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non–fickian release from non–swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs[J]. *Journal of Controlled Release*, 1987, 5: 23–36.

加工编辑:王艳
收稿日期:2020–08–13