

doi: 10.12301/spxb202300032

文章编号:2095-6002(2023)02-0044-13

引用格式:杨思琪,刘晴,宋妍,等.基于美拉德反应制备酪蛋白-果胶复合物及其在微胶囊中的应用[J].食品科学技术学报,2023,41(2):44-56.



YANG Siqi, LIU Qing, SONG Yan, et al. Preparation of casein-pectin conjugate based on Maillard reaction and its application in microencapsulation[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023,41(2):44-56.

基于美拉德反应制备酪蛋白-果胶复合物及其在微胶囊中的应用

杨思琪¹, 刘晴¹, 宋妍¹, 刘丽波¹, 张国芳¹, 李春^{1,2,*},
杜鹏¹, 赵凯^{3,*}

(1. 东北农业大学食品学院/乳品科学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030;

2. 黑龙江省绿色食品科学研究院, 黑龙江 哈尔滨 150023;

3. 内蒙古益婴美乳业有限公司, 内蒙古 阿拉善 750308)

摘要:通过美拉德反应制备酪蛋白-果胶复合物,研究果胶对酪蛋白的结构和功能特性的影响。以接枝度和褐变指数为响应值,通过单因素实验结合响应面分析确定了制备酪蛋白-果胶复合物的优化工艺条件,以酪蛋白-果胶复合物为壁材制备亚麻籽油微胶囊。研究表明,酪蛋白与果胶质量比为3:1、加热时间为1.5 h、加热温度为90℃时,酪蛋白-果胶复合物具有较佳的接枝度,为37.06%±0.80%,褐变指数为1.05±0.014。蛋白质二级结构测定结果显示,与酪蛋白相比,美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的 α -螺旋、 β -折叠和 β -转角含量分别下降26.39%、9.21%和2.23%,无规则卷曲含量提高12.43%。酪蛋白-果胶复合物较酪蛋白的功能特性(溶解性、乳化性、热稳定性和抗氧化活性)显著提高。以美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物为壁材,经喷雾干燥制得亚麻籽油为芯材的微胶囊。研究表明,酪蛋白-果胶复合物与亚麻籽油的质量比为1:1时,亚麻籽油包埋率达到最大(77.06%±0.98%),且微胶囊具有完整的球形结构、无破碎现象。相较于游离态亚麻籽油过氧化值[(14.7±0.51) meq/kg],微胶囊化后亚麻籽油经过25℃储存28 d的过氧化值仅为(3.82±0.07) meq/kg。研究表明,美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物显著提高了亚麻籽油的抗氧化性。研究结果旨在为基于美拉德反应改性的酪蛋白在食品微胶囊中的应用提供科学依据。

关键词:酪蛋白;果胶;美拉德反应;功能特性;亚麻籽油微胶囊

中图分类号: TS201.2

文献标志码: A

酪蛋白具有较好的分散性和表面活性,可作为 乳化剂在油水界面形成液膜保护层稳定乳滴。但仅

收稿日期:2023-01-16

基金项目:科技兴蒙行动重点专项资金项目(2021-国家乳创中心-8);黑龙江省省属科研院所科研业务费项目重点项目(CZKYF2021-2-B017)。

Foundation: Key Project of National Dairy Innovation Research Center of Inner Mongolia (2021-National Dairy Innovation Research Center-8); Key Project of Scientific Research Funds of Heilongjiang Province (CZKYF2021-2-B017)。

第一作者:杨思琪,女,硕士研究生,研究方向为功能性乳基料的研究与应用。

*通信作者:李春,男,教授,博士,主要从事功能性乳基料研发、新型发酵食品创制方面的研究;

赵凯,男,工程师,主要从事乳制品、婴幼儿配方乳粉方面的研究。

由酪蛋白乳化的乳液是一种热力学不稳定的胶体体系,乳滴液膜易受 pH 值、温度影响发生破裂,导致破乳分层^[1]。此外酪蛋白的低溶解度也会影响其乳化能力。因此,改善酪蛋白的功能特性,如溶解性和乳化能力,一直是食品科学和食品工业亟待解决的问题之一。果胶是一种从柑橘中提取的阴离子多糖,其骨架是 1,4-D-半乳糖醛酸,具有良好的溶解性、稳定性和生物相容性^[2]。先前的研究表明,酪蛋白与果胶通过水合作用形成的复合物可以在一定程度上提高酪蛋白的溶解度、乳化能力和起泡能力^[3-4],但这种静电相互作用形成的果胶-酪蛋白复合物的稳定性较差。近年来,美拉德反应已经成为一种重要的蛋白质改性方法,可以将蛋白质与果胶共价接枝形成稳定的共价复合物^[5],从而显著提高蛋白质的乳化性能和稳定性^[6-7]。因此,果胶具有改善酪蛋白功能特性的潜力,然而关于果胶通过美拉德反应改性酪蛋白的研究鲜有报道。

亚麻籽油含有丰富的多不饱和和必需脂肪酸,包括亚油酸和 α -亚麻酸,对慢性疾病预防 and 人体健康维持是必要的^[8]。由于亚麻籽油易氧化,失去生物功能,使得其在食品工业中未得到充分利用^[9]。美拉德反应产物常作为微胶囊壁材被广泛应用于不饱和脂肪酸油脂抗氧化、掩盖不良的口感和气味等方面^[10]。与单一壁材微胶囊相比,蛋白质-多糖复合物作为壁材可以显著抑制微胶囊芯材的氧化。Guo 等^[11]利用明胶、阿拉伯胶、麦芽糊精制备的微胶囊对松子油的脂质氧化具有显著的抑制作用,延长了松子油的货架期。Carra 等^[6]发现,以酪蛋白-果胶复合物为壁材制备的微胶囊可显著提高葡萄皮提取物的热稳定性和抗氧化性。因此,酪蛋白-果胶复合物具有作为壁材制备亚麻籽油微胶囊增强亚麻籽油抗氧化性的应用潜力。

本研究拟以接枝度和褐变指数为响应值,对美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的工艺条件进行响应面法优化,对优化条件下制得的酪蛋白-果胶复合物的蛋白质二级结构和功能特性进行研究。以优化工艺条件下制备的酪蛋白-果胶复合物为壁材制备亚麻籽油微胶囊。通过分析微胶囊的包埋率和微观结构以及微胶囊在亚麻籽油抗氧化中的作用,评价美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物作为微胶囊壁材的可行性,以期开发一种新型的微胶囊壁材。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酪蛋白和果胶(酯化程度 66% ~ 72%),北京索莱宝科技有限公司;邻苯二甲醛(OPA)、十二烷基硫酸钠(SDS),上海阿拉丁生化科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),上海源叶生物有限公司;正己烷、异辛烷、异丙醇等试剂(分析纯),广东西陇化工股份有限公司。

1.2 仪器与设备

GLH-220 型高速乳化均质机,美国 Omni 公司;HCJ-4A 型磁力搅拌油浴锅,常州丹瑞仪器设备有限公司;YW-20FD 真空冷冻干燥机,南京研沃生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 美拉德反应制备酪蛋白-果胶复合物的条件优化

将酪蛋白溶于磷酸盐缓冲溶液(0.1 mol/L, pH 值为 7),在 45 °C 水浴中搅拌 2 h,4 °C 下水合 12 h,获得质量浓度为 20 mg/mL 的酪蛋白溶液。按不同质量比例将酪蛋白与果胶混匀加热,反应结束后冷冻干燥,获得酪蛋白-果胶复合物。

1.3.1.1 不同温度条件下酪蛋白-果胶复合物的制备

将质量浓度为 20 mg/mL 的酪蛋白溶液与果胶按质量比 1:1 充分混合,用 1 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值为 7.0,分别于 80、85、90、95 °C 加热 1.5 h,加热后的溶液经冷冻干燥得到酪蛋白-果胶复合物。

1.3.1.2 不同反应时间条件下酪蛋白-果胶复合物的制备

将质量浓度为 20 mg/mL 的酪蛋白溶液与果胶按质量比 1:1 充分混合,用 1 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值为 7.0,在 90 °C 条件下分别加热 0.5、1.0、1.5、2.0 h,加热后的溶液经冷冻干燥得到酪蛋白-果胶复合物。

1.3.1.3 不同质量配比条件下的酪蛋白-果胶复合物的制备

将质量浓度为 20 mg/mL 的酪蛋白溶液与果胶按质量比分别为 1:1、2:1、3:1、4:1 充分混合,用 1 mol/L 的 HCl 溶液调节 pH 值为 7.0,在 90 °C 加热 1.5 h,加热后的溶液经冷冻干燥得到酪蛋白-果胶复合物。

1.3.1.4 美拉德反应条件响应面法优化实验设计

通过对各单因素实验结果分析,以反应温度、反应时间、酪蛋白与果胶质量比为自变量,采用 Box-Behnken 设计建立三因素三水平试验,以接枝度与褐变指数为响应值,确定制备酪蛋白-多糖复合物的优化工艺条件。

1.3.2 酪蛋白-果胶复合物理化特性的测定

1.3.2.1 接枝度的测定

采用 OPA 法测定游离氨基含量^[12]。用去离子水将样品稀释至质量浓度为 10 mg/mL,取 200 μ L 样品溶液加入 4 mL 的 OPA 试剂,混合均匀,35 $^{\circ}$ C 反应 2 min,于 340 nm 波长处测定吸光值。根据式(1)计算接枝度。

$$\text{接枝度} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中, A_0 为酪蛋白在 340 nm 波长处的吸光度; A_1 为酪蛋白-果胶复合物在 340 nm 波长处的吸光度。

1.3.2.2 褐变指数的测定

通过紫外分光光度计测定酪蛋白-果胶复合物在 420 nm 波长处吸光值,评估褐变程度^[13]。

1.3.2.3 圆二色谱的测定

圆二色谱的测定参考 Wang 等^[14]的方法。

1.3.2.4 溶解度的测定

溶解度的测定参考 Meng 等^[15]的方法。

1.3.2.5 乳化性的测定

乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)的测定参考 Xue 等^[16]的方法,根据式(2)、(3)计算 EAI(m^2/g)和 ESI(min)。

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times DF}{d \times \varphi \times \rho \times 1000}; \quad (2)$$

$$ESI = \frac{A_0 \times 10}{A_0 - A_{10}} \quad (3)$$

式(2)、(3)中,EAI, m^2/g ;ESI,min; A_0 为均质 0 min 的稀释乳剂在 500 nm 波长处的吸光值; DF 为稀释指数; d 为比色皿宽度,cm; φ 为油相体积分数,%; ρ 为蛋白质质量浓度,g/mL; A_{10} 为均质 10 min 的稀释乳剂在 500 nm 波长处的吸光值。

1.3.2.6 热稳定性的测定

热稳定性采用差示扫描量热法(DSC)进行测定^[1]。

1.3.2.7 DPPH 自由基清除率的测定

参考 Wang 等^[17]的方法稍做修改。将样品溶解于 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液中,样品质量浓度达

到 8 mg/mL。将 2 mL 的 DPPH 溶液(0.1 mmol/L)与 1 mL 的蛋白溶液混合,避光静置 20 min,5 000 r/min 离心 10 min,取上清液测定 517 nm 波长处吸光值 A_s 。空白组用磷酸盐缓冲液代替蛋白质样品,对照组用无水乙醇代替 DPPH 溶液。根据式(4)计算样品的 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \frac{1 - (A_s - A_c)}{A_b} \times 100\% \quad (4)$$

式(4)中, A_b 为空白组在 517 nm 波长处吸光值, A_c 为对照组在 517 nm 波长处吸光值。

1.3.2.8 ABTS⁺自由基清除率的测定

参考 Zhang 等^[18]的方法稍做修改。将 20 μ L 样品(质量浓度为 8 mg/mL)加入 2 mL 稀释 ABTS 溶液中,避光静置 6 min,测量样品在 734 nm 波长处吸光度。根据式(5)计算 ABTS⁺自由基清除率。

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率} = \frac{1 - (A_0 - A_s)}{A_0} \times 100\% \quad (5)$$

式(5)中, A_0 为空白组在 734 nm 波长处的吸光值, A_s 为样品组在 734 nm 波长处的吸光值。

1.3.3 亚麻籽油微胶囊的制备

将酪蛋白-果胶复合物溶于去离子水中(质量浓度为 50 mg/mL),按一定质量比(2:1,3:2,1:1,2:3,1:2)加入亚麻籽油,经 30 MPa 和 10 MPa 高压均质后制成亚麻籽油乳液,将其喷雾干燥制得亚麻籽油微胶囊,喷雾干燥机进口温度为 170 $^{\circ}$ C、出口温度为 130 $^{\circ}$ C。

1.3.4 微胶囊理化特性的测定

1.3.4.1 亚麻籽油包埋率的测定

表面油质量的测定参考王文琼^[19]的方法。总油含量的测定参考陈正军等^[20]的方法。根据式(6)计算亚麻籽油包埋率。

$$\text{包埋率} = \frac{m_{\text{总}} - m_{\text{表}}}{m_{\text{总}}} \times 100\% \quad (6)$$

式(6)中, $m_{\text{总}}$ 为总油质量,g; $m_{\text{表}}$ 为表面油质量,g。

1.3.4.2 微胶囊微观结构观察

微胶囊平铺压实在进样台上,经喷金处理,用钨灯丝扫描电镜观察微观形态。

1.3.4.3 微胶囊过氧化值的测定

过氧化值样品测定参考徐丹等^[21]的方法并作适当修改,取 1 mL 微胶囊分散液(微胶囊加入水

中配制成质量浓度为 50 mg/mL) 加入 5 mL 异辛烷-异丙醇(体积比 2:1)混匀,5 000 r/min 离心 5 min。取 1 mL 上清液,分别加入 20 μL 硫氰酸钾和氯化亚铁溶液,再加入甲醇-正丁醇(体积比 2:1)溶液定容至 5 mL,避光静置 20 min 后测定 510 nm 波长处吸光值。根据式(7)计算亚麻籽油过氧化值(meq/kg)。

$$\text{过氧化值} = \frac{A \times \varphi \times k \times 0.5}{55.86 \times 2 \times m} \quad (7)$$

式(7)中,过氧化值,meq/kg;A 为 510 nm 波长处吸光值; φ 为吸取上清液体积分数,% ;k 为 Fe^{3+} 标准曲线斜率;m 为样品中油脂质量,g。

1.4 数据处理

所有实验均重复 3 次,结果用平均值 ± 标准差表示。采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA)和 Duncan 多重检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果与分析

2.1 基于美拉德反应制备酪蛋白-果胶复合物工艺条件的优化分析

2.1.1 美拉德反应单因素实验优化结果

2.1.1.1 酪蛋白与果胶质量比对复合物接枝度和褐变指数的影响

酪蛋白与果胶质量比对接枝度和褐变指数的影响见图 1(a)。由图 1(a)可知,随着蛋白浓度的增加,接枝度呈现先增加后降低的趋势,当酪蛋白与果胶质量比为 3:1 时,美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物接枝度达到最大值(38.33% ± 0.84%)。当酪蛋白与果胶质量比小于 3:1 时,高质量浓度的多糖使得反应体系黏度增大,分子流动性变差,果胶与

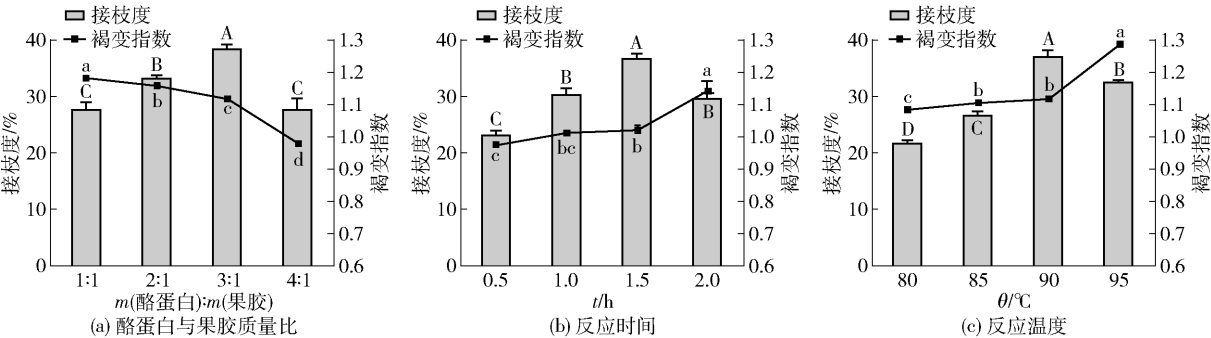
酪蛋白的空间位阻变大,不利于糖基化反应^[22]。当酪蛋白与果胶质量比达到 4:1 时,果胶质量浓度减少,使得蛋白质与果胶的接触少,导致酪蛋白与果胶的接枝程度低($P < 0.05$)^[22]。同时多糖质量浓度升高时,褐变指数显著增加($P < 0.05$),与美拉德产生的副反应(焦糖化)有关^[23]。因此,选取酪蛋白与果胶质量比 2:1、3:1、4:1 作为响应面优化水平因素。

2.1.1.2 反应时间对复合物接枝度和褐变指数的影响

反应时间对接枝度和褐变指数的影响见图 1(b)。由图 1(b)可知,美拉德反应制备的复合物的接枝度随加热时间的延长接枝度先增加后降低。在反应 1.5 h 时,复合物的接枝度达到最大值(36.53% ± 1.03%)。当反应时间超过 1.5 h 后,复合物的接枝度显著下降($P < 0.05$)。加热促进了酪蛋白结构部分展开,导致酪蛋白内部的 ε-氨基暴露,与果胶分子的还原性基团共价结合^[24]。但反应时间过长导致接枝度呈下降趋势,这是由于长时间加热造成蛋白质伸展,导致蛋白质分子之间相互聚集,使得游离氨基含量减少、复合物接枝度下降^[25]。此外,由图 1(b)可知,褐变指数在 0.5 ~ 1.5 h 内无显著差异($P > 0.05$),在 2 h 时显著增加($P < 0.05$)。综合美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的接枝度与褐变指数,选取 1.0、1.5、2.0 h 作为响应面优化水平因素。

2.1.1.3 反应温度对复合物接枝度和褐变指数的影响

反应温度对美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的接枝度和褐变指数的影响见图 1(c)。由



不同大写字母代表接枝度结果差异性显著($P < 0.05$),不同小写字母代表褐变指数结果差异性显著($P < 0.05$)。

图 1 酪蛋白与果胶质量比、反应时间和反应温度对酪蛋白-果胶复合物接枝度和褐变指数的影响

Fig.1 Effect of mass ratio of casein and pectin, reaction time and reaction temperature on grafting degree and browning index of casein-pectin conjugate

图 1(c) 可知,随着反应温度的升高,美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的接枝度显著增加 ($P < 0.05$),在 90 ℃ 时达到最大值 ($37.03\% \pm 1.15\%$),而反应温度超过 90 ℃ 时,接枝度显著下降 ($P < 0.05$)。随着温度增加,蛋白质中氨基和多糖末端还原羰基反应活性增加,同时蛋白质的结构也受热展开,有利于糖基化反应的发生^[24]。超过 90 ℃ 时,复合物的接枝度下降,可能是由于蛋白质分子上共价复合的糖链增长,空间位阻效应使糖基化反应受到限制^[26]。此外,由图 1(c) 可知,反应温度在 85 ~ 90 ℃ 内时,褐变指数差异不显著,当反应温度达到 95 ℃ 时,褐变指数显著增加 ($P < 0.05$),是由于过高的反应温度加速了美拉德褐变产物的产生,故选取 85、90、95 ℃ 作为响应面优化水平因素。

2.1.2 响应面试验结果

接枝度反映了酪蛋白与果胶的复合程度,其值越大说明共价连接的多糖分子越多,对蛋白功能性质的改善效果越好^[27];褐变指数是评价晚期糖基化产物的重要指标,颜色通常随着糖基化程度的增加而增加,但是产品的感官质量会受到其深色的影响,可能会限制其在食品行业的应用^[28]。因此,后续应用方面的研究选择较高接枝度并且保证较低褐变指数的美拉德反应条件制备酪蛋白-果胶复合物。根据单因素试验结果,确定酪蛋白-果胶比例 (A)、加热时间 (B)、加热温度 (C) 为主要影响因素,以复合物接枝度 (R_1) 和褐变指数 (R_2) 作为响应值,进行三因素三水平的响应面试验设计见表 1,响应面试验结果见表 2。

表 1 Box-Behnken 试验设计因素水平表

Tab.1 Box-Behnken test design factor level table

水平	因素		
	m (酪蛋白): m (果胶)	t/h	$\theta/^\circ\text{C}$
-1	2:1	1.0	85
0	3:1	1.5	90
1	4:1	2.0	95

通过 Design-expert 12 软件对试验结果进行二次回归分析,利用回归方程预测各因素对响应值 R_1 和 R_2 的影响,结果如式(8)、(9)。

$$R_1 = 36.06 + 1.53 \times A + 0.9512 \times B + 0.6925 \times C - 0.0925 \times AB + 0.0850 \times AC - 0.3800 \times BC - 6.24 \times A^2 - 3.25 \times B^2 - 3.60 \times C^2; \quad (8)$$

$$R_2 = 1.07 - 0.0763 \times A + 0.0438 \times B + 0.09 \times$$

$$C - 0.0175 \times AB - 0.01 \times AC + 0.005 \times BC + 0.0287 \times A^2 + 0.0388 \times B^2 + 0.0662 \times C^2。 \quad (9)$$

式(8)、(9)中, A 为酪蛋白-果胶比例; B 为加热时间; C 为加热温度。

表 2 Box-Behnken 试验设计及结果

Tab.2 Box-Behnken test design and results

序号	A	B	C	$R_1/\%$	R_2
1	2	1	90	22.99	1.17
2	4	1	90	28.46	1.02
3	2	2	90	24.87	1.29
4	4	2	90	29.97	1.07
5	2	1.5	85	26.51	1.13
6	4	1.5	85	27.18	1.03
7	2	1.5	95	25.10	1.32
8	4	1.5	95	26.11	1.18
9	3	1	85	25.77	1.04
10	3	2	85	28.64	1.12
11	3	1	95	30.54	1.22
12	3	2	95	31.89	1.32
13	3	1.5	90	35.66	1.07
14	3	1.5	90	36.99	1.08
15	3	1.5	90	35.54	1.06

以美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的接枝度为响应值的回归模型方差分析结果见表 3。由表 3 可知,该模型显著 ($P < 0.05$),失拟项不显著 ($P > 0.05$),表明建立的回归方程拟合良好。

以美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的褐变指数为响应值的回归模型方差分析结果见表 4。由表 4 可知,该模型极显著 ($P < 0.01$),失拟项不显著 ($P > 0.05$),表明建立的回归方程拟合良好。

2.1.3 双因素交互效应分析与验证

各因素交互作用对美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的接枝度和褐变指数影响的响应面分析见图 2 和图 3。图中曲线走势和等高线形状可以反映出相互作用的强弱^[29]。由图 2 和图 3 可知,酪蛋白与果胶比例、加热温度和加热时间对接枝度和褐变指数影响显著,与方差分析结果一致。

依据建立的模型和拟合的多元回归方程,计算得到酪蛋白-果胶共价复合物的最佳制备条件:酪蛋白与果胶质量比 3.11:1.00,加热时间 1.55 h,加热温度 90.36 ℃。此条件下共价物接枝度为 36.25%,褐变指数为 1.08。根据实际情况确定工

表 3 接枝度为响应值的方差分析

Tab. 3 Analysis of variance with grafting degree as response value

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	234.60	9	26.07	5.20	0.042 0	*
A	18.76	1	18.76	3.75	0.110 7	
B	7.24	1	7.24	1.45	0.283 1	
C	3.84	1	3.84	0.766 0	0.421 5	
AB	0.034 2	1	0.034 2	0.006 8	0.937 3	
AC	0.028 9	1	0.028 9	0.005 8	0.942 4	
BC	0.577 6	1	0.577 6	0.115 3	0.748 0	
A ²	143.67	1	143.67	28.69	0.003 0	**
B ²	39.07	1	39.07	7.80	0.038 3	*
C ²	47.86	1	47.86	9.56	0.027 1	*
残差	25.04	5	5.01			
失拟项	23.75	3	7.92	12.22	0.076 6	
误差项	1.30	2	0.647 6			
总回归	259.64	14				
R ²	0.903 6					
调整 R ²	0.729 9					

* 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

表 4 褐变指数为响应值的方差分析

Tab. 4 Analysis of variance with browning index as response value

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.150 4	9	0.016 7	33.10	0.000 6	**
A	0.046 5	1	0.046 5	92.10	0.000 2	**
B	0.015 3	1	0.015 3	30.32	0.002 7	**
C	0.064 8	1	0.064 8	128.32	0.000 1	**
AB	0.001 2	1	0.001 2	2.43	0.180 1	
AC	0.000 4	1	0.000 4	0.792 1	0.414 2	
BC	0.000 1	1	0.000 1	0.198 0	0.674 9	
A ²	0.003 1	1	0.003 1	6.04	0.057 3	
B ²	0.005 5	1	0.005 5	10.98	0.021 2	*
C ²	0.016 2	1	0.016 2	32.09	0.002 4	**
残差	0.002 5	5	0.000 5			
失拟项	0.002 3	3	0.000 8		0.116 4	
误差项	0.000 2	2	0.000 1			
总回归	0.153 0	14				
R ²	0.983 5					
调整 R ²	0.953 8					

* 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

艺条件,即酪蛋白与果胶质量比 3:1、加热时间 1.5 h、加热温度 90 ℃,进行 3 次重复验证,测得此条件下共价物接枝度为 $37.06\% \pm 0.80\%$,褐变指数为 1.050 ± 0.014 。验证实验与预测值非常接近,且获得的酪蛋白-果胶复合物的接枝度较高而褐变指数较低,说明响应面优化美拉德反应制备酪蛋白-果胶复合物是可行的。

2.2 美拉德反应对酪蛋白理化特性影响

2.2.1 美拉德反应对酪蛋白二级结构的影响

酪蛋白、酪蛋白-果胶复合物、酪蛋白-果胶混合物的二级结构见表 5。由表 5 可知,酪蛋白的二级结构,包括 α -螺旋 ($9.17\% \pm 0.12\%$)、 β -折叠 ($23.55\% \pm 0.27\%$)、 β -转角 ($29.10\% \pm 0.12\%$) 和无规则卷曲 ($38.62\% \pm 0.21\%$)。与酪蛋白和酪蛋白-果胶混合物相比,基于美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的 α -螺旋、 β -折叠和 β -转角含量显著下降 ($P < 0.05$),无规则卷曲含量显著提高 ($P < 0.05$)。蛋白质和多糖美拉德反应会影响蛋白质的二级结构,蛋白质的分子空间结构展开更有利于糖基化^[30]。同时,二级结构的显著变化表明,蛋白质与多糖通过美拉德反应会发生共价相互作用,是由于生物大分子之间的相互作用和反应初级阶段蛋白质热变性,蛋白质结构展开,位于肽链内部的 α -区域和 β -区域中的 ε -氨基与多糖中羰基发生了共价结合^[31]。

2.2.2 美拉德反应对复合物溶解度的影响

溶解度是蛋白质最基本的功能特性,对乳化活性、发泡特性和热稳定性有重要影响。根据以前的研究,蛋白质的溶解度可以通过美拉德反应提高^[27]。酪蛋白、酪蛋白-果胶复合物、酪蛋白-果胶混合物的溶解度见图 4(a)。由图 4(a)可知,酪蛋白在 pH 值为 4.5 时的溶解度最低,随着 pH 值的增加,酪蛋白的溶解度逐渐增加,但其溶解度仍然较低。与酪蛋白相比,基于美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的溶解度在不同 pH 值下均显著提高 ($P < 0.05$)。Jimenez-Castano 等^[32]研究表明蛋白质-多糖复合物比蛋白质本身有更多的亲水基团,溶解度更高。果胶是一种由半乳糖醛酸单元、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖和阿拉伯半乳聚糖组成的亲水杂多糖,附着在蛋白质上会增加复合物的亲水基团的数量和氢键能力,改善蛋白质与水的相互作用,从而提高蛋白质的溶解度^[33-34]。研究结果表明,酪蛋白与果胶的共价结合显著提高了酪蛋白-果胶复合

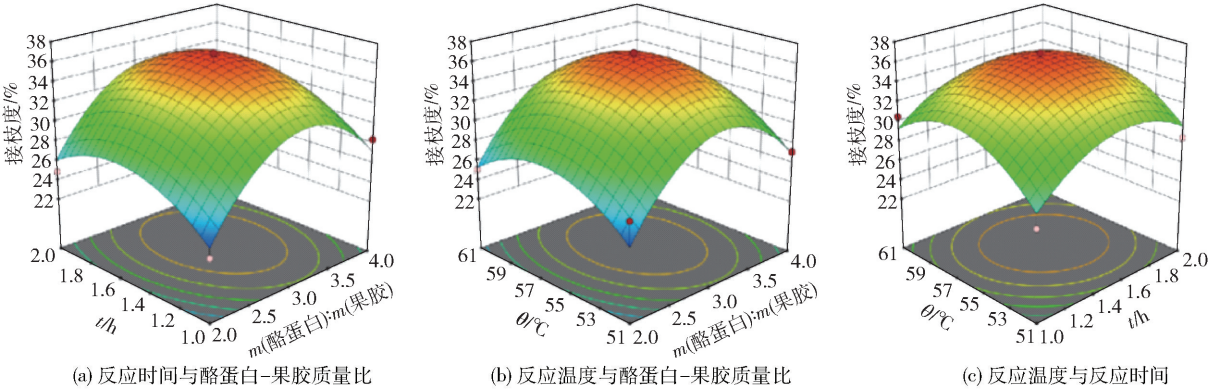


图 2 双因素交互作用对酪蛋白-果胶复合物接枝度的影响

Fig. 2 Effect of two-factor interaction on grafting degree of casein-pectin conjugate

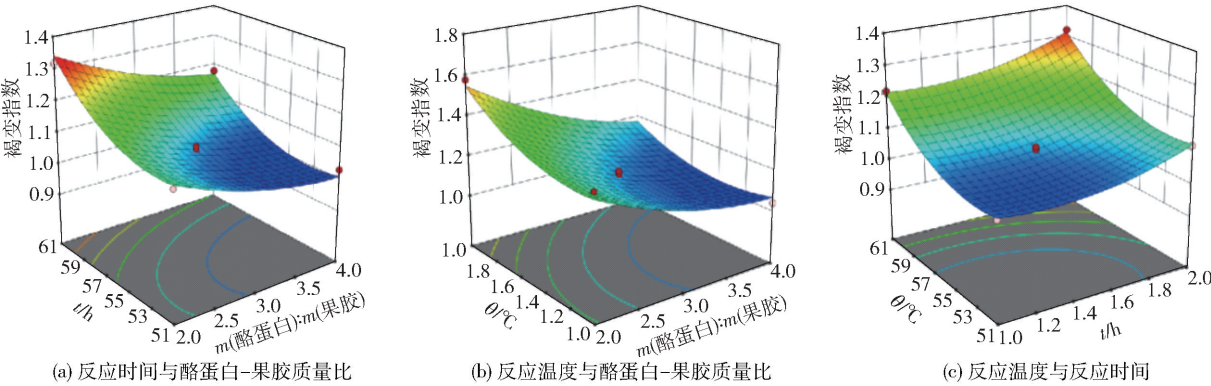


图 3 双因素交互作用对酪蛋白-果胶复合物褐变指数的影响

Fig. 3 Effect of two-factor interaction on browning index of casein-pectin conjugate

表 5 酪蛋白、复合物、混合物的二级结构含量

Tab. 5 Secondary structure contents of casein, conjugate and mixture %

二级结构	酪蛋白	复合物	混合物
α -螺旋	9.17 ± 0.12^a	6.75 ± 0.229^b	8.44 ± 0.186^a
β -折叠	23.55 ± 0.27^a	21.38 ± 0.16^b	22.73 ± 0.38^a
β -转角	29.10 ± 0.12^a	28.45 ± 0.10^b	28.97 ± 0.16^{ab}
无规则卷曲	38.62 ± 0.21^b	43.42 ± 0.42^a	39.86 ± 0.24^b

同一行不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

物的溶解度。

2.2.3 美拉德反应对复合物乳化性的影响

乳化能力由 EAI 和 ESI 共同表征,EAI 表示蛋白质吸附到界面上的能力,ESI 表示蛋白质在一定时间内为乳液提供抵抗结构变化的能力。酪蛋白、酪蛋白-果胶复合物、酪蛋白-果胶混合物的乳化性见图 4(b)。由图 4(b)可知,美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的乳化能力显著高于酪蛋白,EAI 为 $(23.65 \pm 0.13) \text{ g/m}^2$,ESI 为 $(30.02 \pm 1.35) \text{ min}$ 。

与酪蛋白和混合物相比,美拉德反应可以提高蛋白质的溶解度,提高蛋白质在水溶液中的质量浓度和流动性,从而增加其在界面处的流动性。蛋白质上接枝的多糖可以在油滴之间产生一定的空间斥力,促进蛋白在油滴表面吸附形成致密的多层结构,抑制乳液之间的聚集和絮凝,从而提高乳液的稳定性^[27,31]。此外,二级结构中 α -螺旋含量的减少和无规则卷曲含量的增加有利于提高蛋白质分子的灵活性^[31]。蛋白质灵活的结构加快了其在油水界面的迁移和吸附,使得乳化能力显著提高^[35]。研究表明,酪蛋白与果胶的共价结合显著提高了酪蛋白的乳化性。

2.2.4 美拉德反应对复合物热稳定性的影响

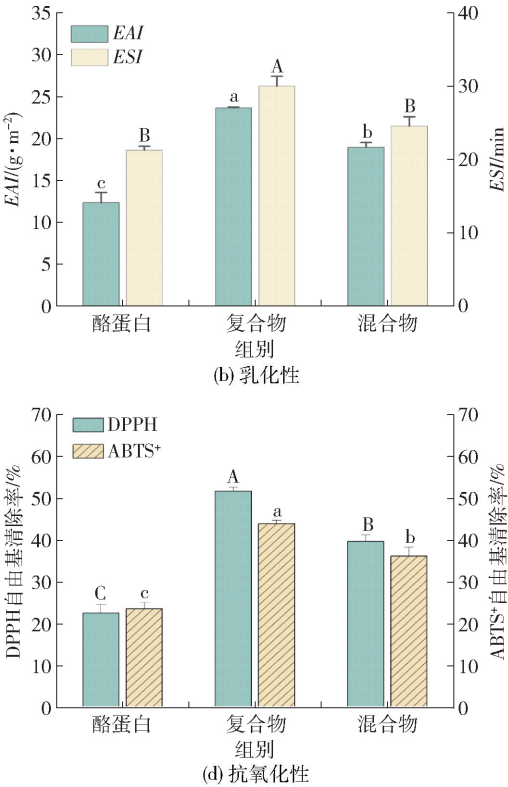
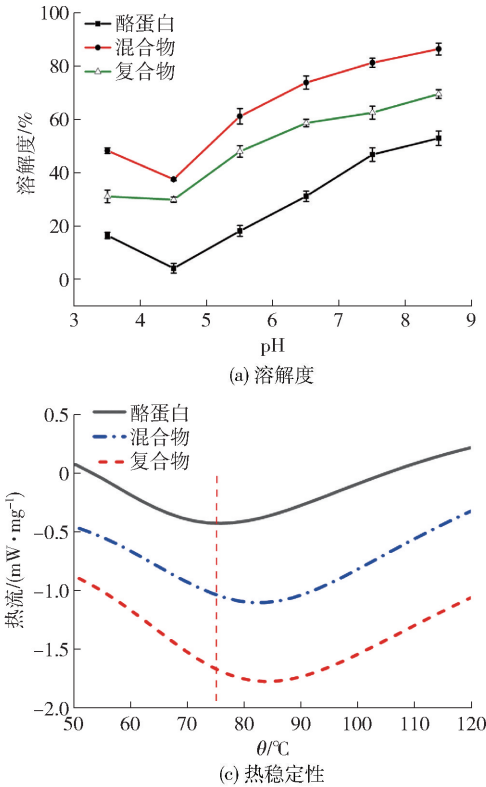
当加热温度超过蛋白质的变性温度时,自然结构被破坏,暴露的基团通过共价作用产生低聚物,导致蛋白质的聚集^[36]。DSC 是通过计算变性温度来测试蛋白质的热稳定性。较高的变性温度表明复合物的热稳定性较好。酪蛋白、酪蛋白-果胶复合物、酪蛋白-果胶混合物的热稳定性见图 4(c)。由图 4(c)可

知,酪蛋白的变性温度为76℃,美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的变性温度为83.6℃。实验结果表明,酪蛋白与果胶通过美拉德复合后,蛋白质的热变性温度被提高,限制了热诱导的聚集。美拉德反应使蛋白质受热展开,多糖链分散在结构松散的蛋白质中,空间位阻可以阻止蛋白质分子之间的聚集,提高蛋白质的稳定性^[31]。有研究表明,糖基化可以增加蛋白质的表面亲水性和净电荷,有利于其三级构象的稳定性,从而提高蛋白质的变性温度^[12]。因此,研究结果表明,酪蛋白与果胶的共价结合显著提高了酪蛋白的热稳定性。

2.2.5 美拉德反应对复合物抗氧化性的影响

先前的研究发现,美拉德反应产物表现出更好的抗氧化性能,可与常用的合成抗氧化剂丁基羟基茴香醚和丁基羟基甲苯相媲美^[31]。糖基化产物抗氧化能力由DPPH自由基清除能力和ABTS自由基

清除能力共同表征,酪蛋白、酪蛋白-果胶复合物、酪蛋白-果胶混合物的抗氧化性见图4(d)。由图4(d)可知,酪蛋白的DPPH自由基和ABTS自由基的清除能力较弱,而美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的DPPH自由基和ABTS自由基的清除能力分别为51.68%±0.95%和43.90%±0.80%,显著高于酪蛋白-果胶混合物和酪蛋白。有研究表明,美拉德反应往往伴随褐变发生,进而产生类黑素化合物。类黑素的短肽氨基酸序列结构具有抗氧化肽的特征,因而酪蛋白-果胶复合物具有抗氧化活性^[37]。Tan等^[38]研究表明,美拉德反应可以提高蛋清的DPPH自由基和ABTS自由基清除活性,是由于在美拉德反应的中间或最终类黑素化合物作为氢供体,通过捐赠一个氢原子来破坏自由基链,表现出较高的还原性。因此,通过美拉德反应生成酪蛋白-果胶复合物具有更好的抗氧化性能。



不同字母代表同一指标结果差异显著 ($P < 0.05$)。

图4 酪蛋白、复合物、混合物的功能特性

Fig. 4 Functional properties of casein, conjugate and mixture

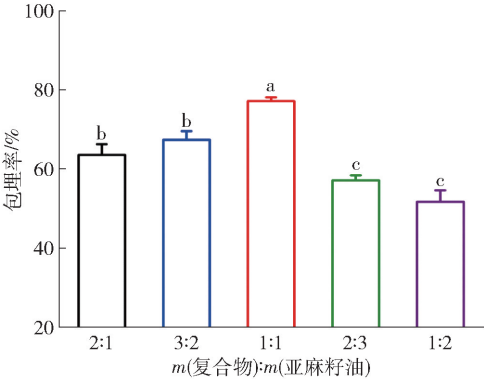
2.3 基于美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物对微胶囊理化性质的影响

2.3.1 芯壁质量比对微胶囊包埋率的影响

通过美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物具

有优良的乳化性、溶解性、热稳定性和抗氧化性,是制备微胶囊的良好壁材。因此,本研究以酪蛋白-果胶复合物为壁材制备亚麻籽油微胶囊,研究其对亚麻籽油微胶囊包埋率和抗氧化性的影响。芯壁比对

亚麻籽油微胶囊包埋率的影响见图 5。由图 5 可知,芯壁比对亚麻籽油微胶囊包埋率的影响显著。随着芯壁比的提高,亚麻籽油微胶囊包埋率显著提高($P<0.05$)。多糖可以通过提高乳液稳定性来提高微胶囊的包埋率^[39]。一般来说,具有更高稳定性和更小液滴尺寸的乳液可能会有利于微胶囊包埋过程^[40]。研究表明,多糖与蛋白质形成氢键,从而形成更稳定的蛋白质结构^[41]。当酪蛋白-果胶复合物与亚麻籽油的质量比为 1:1 时,包埋率达到最大($77.06\% \pm 0.98\%$),高于常慧敏等^[42]报道的亚麻籽油的包埋率。继续增加芯材比例,包埋率显著下降,原因可能是壁材比例过小,降低了乳液的稳定性,使得表面油含量增加,导致微胶囊包埋效率降低,无法有效地包埋亚麻籽油^[43]。



不同字母代表同一指标结果差异显著($P<0.05$)。
图 5 酪蛋白-果胶复合物与亚麻籽油质量比对包埋率的影响

Fig. 5 Effect of casein-pectin conjugate to flaxseed oil ratio on encapsulation rate

2.3.2 微胶囊微观结构

微胶囊微观结构见图 6。由图 6 可知,微胶囊总体呈现圆球状,表面致密,部分表面出现褶皱结构,这是由于喷雾干燥过程水分在高温下会瞬时蒸发,蒸发会使胶囊体形成表面凹陷^[44]。但微胶囊并未发生破裂,说明酪蛋白-果胶复合物作为壁材具有一定韧性,不因蒸汽热膨胀而破裂^[45]。此外,图中少量的微小颗粒可能是未包埋的亚麻籽油蒸发后吸附在微胶囊表面^[45]。

2.3.3 微胶囊储存稳定性

亚麻籽油中主要脂肪酸有 5 种,分别是棕榈酸、 α -亚麻酸、油酸、硬脂酸、亚油酸,其营养价值较高,但易被氧化分解,货架期短^[46]。本研究以过氧化值为指标评价微胶囊的储存稳定性,其表示氢过氧化

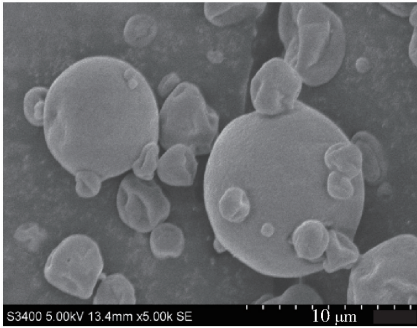
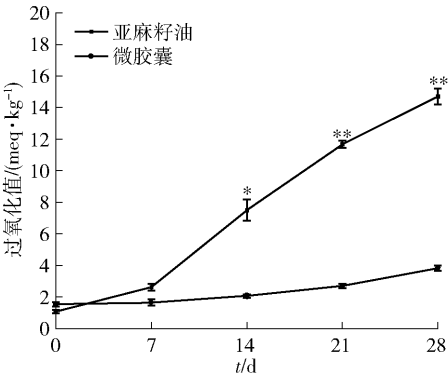


图 6 亚麻籽油微胶囊微观结构
Fig. 6 Flaxseed oil microstructure

物分解过程中,次生氧化产物产生的挥发性和不饱和醛(主要是 2-烯醛和 2,4-碱二醛)的含量^[47]。微胶囊的过氧化值见图 7。由图 7 可知,初始亚麻籽油过氧化值是 1.06 meq/kg,微胶囊过氧化值为 1.50 meq/kg,主要是因为制备微胶囊过程中乳化均质以及喷雾干燥时乳状液暴露在空气中,且喷雾干燥需经过高温瞬时加热,使微胶囊发生了氧化反应^[48]。储存初始阶段,未包埋的亚麻籽油过氧化值升高速度较为缓慢,可能是由于 α -亚麻籽油中的抗氧化化合物(维生素 E 和酚类)充当电子供体中断自由基链式反应,在氧化初期可以抑制自由基形成,避免亚麻籽油被氧化分解^[49]。由图 7 可知,经过 25℃ 储存 7 d 后,亚麻籽油过氧化值显著提高。储存 28 d 时,未包埋的亚麻籽油过氧化值达到 (14.70 ± 0.51) meq/kg。过氧化值升高的原因是由于亚麻籽油中的主要脂肪酸 α -亚麻酸和亚油酸都存在隔离双键($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$),



同一储存时间下,*表示亚麻籽油与微胶囊过氧化值相比差异显著($P<0.05$),**表示亚麻籽油与微胶囊过氧化值相比差异极显著($P<0.01$)。

图 7 微胶囊与亚麻籽油在储藏过程中过氧化值的变化
Fig. 7 Changes in peroxide values of microcapsules and flaxseed oil during storage

隔离双键非常活跃,易引发亚麻籽油自动氧化,从而导致品质劣变和营养价值降低^[50]。由图7可知,亚麻籽油微胶囊的过氧化值的变化速率比较缓慢,仅为 $(3.82 \pm 0.07) \text{ meq/kg}$ 。有研究表明,随着壁材中多糖质量占比的提高,微胶囊表面更加致密,孔洞减少,有效地阻隔亚麻籽油与氧气直接接触,从而提高芯材的氧化稳定性^[51]。因此,本研究结果表明以酪蛋白-果胶复合物为壁材,亚麻籽油为芯材制备的亚麻籽油微胶囊可以显著提高亚麻籽油的储存稳定性。

3 结 论

与酪蛋白相比,通过美拉德反应制备的酪蛋白-果胶复合物的 α -螺旋、 β -折叠和 β -转角含量显著下降,无规则卷曲含量显著提高,表明酪蛋白与果胶成功共价结合。此外,酪蛋白-果胶复合物的溶解性、乳化性、热稳定性和抗氧化活性较酪蛋白显著提高。鉴于酪蛋白-果胶复合物功能性质的改善,以酪蛋白-果胶复合物为壁材,亚麻籽油为芯材,通过喷雾干燥制备亚麻籽油微胶囊。当酪蛋白-果胶复合物与亚麻籽油的质量比为1:1时,亚麻籽油微胶囊包埋率达到 $77.06\% \pm 0.98\%$,且微观结构表明亚麻籽油被成功包埋。经过常温储存28 d后,亚麻籽油微胶囊过氧化值变化速率缓慢。研究结果表明,酪蛋白-果胶复合物为壁材制备的亚麻籽油微胶囊可以显著提高亚麻籽油的储存稳定性。研究旨在为酪蛋白在食品微胶囊中的应用提供科学依据。

参考文献:

- [1] 张亚婷. 大豆蛋白酶解/糖基化接枝复合改性制备微胶囊壁材的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
ZHANG Y T. Research on microcapsule wall material preparation via soy protein isolate combined modification of enzymatic hydrolysis and glycosylation [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015.
- [2] MARIA C M L, SERGIO M D L P, MARIA E M. Pectins and olive pectins: from biotechnology to human health [J]. *Biology (Basel)*, 2021, 10(9): 1–14
- [3] 刘敏, 罗国柳, 覃小丽, 等. 果胶酯化度对酪蛋白-果胶相互作用及其复合物性能的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2022: 1–10.
LIU M, LUO G L, QIN X L, et al. Interaction and properties of the noncovalent of casein-pectin complexes: effect of esterified degree of pectin [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2022: 1–10.
- [4] 梁瑞红, 董浩澜, 王学栋, 等. 果胶结构特征对果胶- β -酪蛋白复合体系性质的影响[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(12): 31–38.
LIANG R H, DONG H L, WANG X D, et al. Effects of pectin structure on the properties of pectin- β -casein complex systems [J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2020, 20(12): 31–38.
- [5] NAMLI S, SUMNU S, OZTOP M. Microwave glycation of soy protein isolate with rare sugar (D-allulose), fructose and glucose [J]. *Food Bioscience*, 2021, 40: 1–12.
- [6] CARRA J, MATOS R, NOVELLI A, et al. Spray-drying of casein/pectin bioconjugate microcapsules containing grape (*Vitis labrusca*) by-product extract [J]. *Food Chemistry*, 2022, 368: 130817.
- [7] GUO X, GUO X, MENG H, et al. Influences of different pectins on the emulsifying performance of conjugates formed between pectin and whey protein isolate [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 246–254.
- [8] YAKDHANE A, LABIDI S, CHAABANE D, et al. Microencapsulation of flaxseed oil—state of art [J]. *Processes*, 2021, 9(2): 295.
- [9] KAUSHIK P, DOWLING K, MCKNIGHT S, et al. Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates [J]. *Food Research International*, 2016, 86: 1–8.
- [10] ZHANG W, CHEN Z, YANG R, et al. Application of caseinate modified with Maillard reaction for improving physicochemical properties of high load flaxseed oil microcapsules [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2021, 123(5): 1–10.
- [11] GUO Y, BAO Y H, CHAI Y Y. Preparation of microcapsule antioxidative wall materials of pine nut oil by the Maillard reaction [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(6): 2793–2801.
- [12] ZHANG Y, TAN C, ZHANG X, et al. Effects of maltodextrin glycosylation following limited enzymatic hydrolysis on the functional and conformational properties of soybean protein isolate [J]. *European Food Research and Technology*, 2014, 238(6): 957–968.
- [13] AJANDOUZ E H, TCHIAKPE L S, ORE F D, et al. Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems [J]. *Journal of Food Science*, 2001, 66(7): 918–1051.
- [14] WANG W D, LI C, BIN Z, et al. Physicochemical

- properties and bioactivity of whey protein isolate-inulin conjugates obtained by Maillard reaction [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 150: 326–335.
- [15] MENG Y, LI C. Conformational changes and functional properties of whey protein isolate-polyphenol complexes formed by non-covalent interaction [J]. Food Chemistry, 2021, 364: 129622.
- [16] XUE F, LI C, ZHU X, et al. Comparative studies on the physicochemical properties of soy protein isolate-maltodextrin and soy protein isolate-gum acacia conjugate prepared through Maillard reaction [J]. Food Research International, 2013, 51(2): 490–495.
- [17] WANG H, YANG J, YANG M, et al. Antioxidant activity of Maillard reaction products from a yak casein-glucose model system [J]. International Dairy Journal, 2019, 91: 55–63.
- [18] ZHANG X, GAO H, WANG C, et al. Characterization and comparison of the structure and antioxidant activity of glycosylated whey peptides from two pathways [J]. Food Chemistry, 2018, 257: 279–288.
- [19] 王文琼. 改性乳清蛋白抗氧化性及山核桃油微胶囊制备[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2013.
- WANG W Q. Antioxidant activity of modified whey protein and walnut oil microcapsules preparation [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2013.
- [20] 陈正军, 张文斌, 杨瑞金, 等. 美拉德反应产物的制备及在混合油脂微胶囊中的应用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(19): 166–171.
- CHEN Z J, ZHANG W B, YANG R J, et al. Preparation of Maillard reaction products and its application on microencapsulation of mixed oil [J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(19): 166–171.
- [21] 徐丹, 郭芮, 易建华, 等. 乳蛋白水包油乳液氧化稳定性影响因素研究[J]. 陕西科技大学学报, 2018, 36(2): 39–44.
- XU D, GUO R, YI J H, et al. Study on the factors influencing the oxidative stability of emulsions stabilized by milk proteins [J]. Journal of Shanxi University of Science and Technology, 2018, 36(2): 39–44.
- [22] 张燕鹏, 祝贤彬, 齐玉堂, 等. 菜籽蛋白糖基化修饰及其功能性质的研究[J]. 食品工业, 2017, 38(1): 156–160.
- ZHANG Y P, ZHU X B, QI Y T, et al. The study on glycosylation and functional properties of rapeseed protein [J]. Food Industry, 2017, 38(1): 156–160.
- [23] 王芳, 罗童颜, 张硕. 响应面法优化高抗氧化麦芽糊精糖基化乳清浓缩蛋白的制备[J]. 安徽农业大学学报, 2022, 49(2): 329–337.
- WANG F, LUO T Y, ZHANG S. Optimization of the high antioxidant maltodextrin-whey protein concentrate glycosyl compound using Box-Behnken response surface methodology [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2022, 49(2): 329–337.
- [24] ZHANG Z, HOLDEN G, WANG B, et al. Maillard reaction-based conjugation of spirulina protein with maltodextrin using wet-heating route and characterisation of conjugates [J]. Food Chemistry, 2022, 406: 134931.
- [25] 刘娟. 酪蛋白—葡聚糖接枝改性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- LIU J. Study of casein-dextran conjugate modification [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008.
- [26] 傅锡鹏, 朱秀灵, 戴清源, 等. 乳清分离蛋白—葡聚糖糖基化条件优化及抗氧化活性[J]. 安徽工程大学学报, 2021, 36(6): 10–20.
- FU X P, ZHU X L, DAI Q Y, et al. Optimization of glycosylation conditions with whey protein isolate and dextran and their antioxidant activity [J]. Journal of Anhui Polytechnic University, 2021, 36(6): 10–20.
- [27] KAN X, CHEN G, ZHOU W, et al. Application of protein-polysaccharide Maillard conjugates as emulsifiers: source, preparation and functional properties [J]. Food Research International, 2021, 150: 110740.
- [28] TENG C, XING B, FAN X, et al. Effects of Maillard reaction on the properties and anti-inflammatory, anti-proliferative activity *in vitro* of quinoa protein isolates [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 174: 114165.
- [29] 杨旭, 任珍. 茶渣蛋白糖基化改性工艺优化及功能特性研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(5): 172–177.
- YANG X, REN Z. Optimization on glucosylation modification process and functional properties of tea residue protein [J]. Food and Machinery, 2019, 35(5): 172–177.
- [30] XUE F, LI C, ZHU X W, et al. Comparative studies on the physicochemical properties of soy protein isolate-maltodextrin and soy protein isolate-gum acacia conjugate prepared through Maillard reaction [J]. Food Research International, 2013, 51(2): 490–495.
- [31] KE C, LI L. Influence mechanism of polysaccharides induced Maillard reaction on plant proteins structure and functional properties: a review [J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 302: 120430.

- [32] JIMENEZ-CASTANO L, LOPEZ-FANDINO R, OLANO A, et al. Study on beta-lactoglobulin glycosylation with dextran: effect on solubility and heat stability [J]. Food Chemistry, 2005, 93(4): 689–695.
- [33] ZHONG L, MA N, WU Y, et al. Characterization and functional evaluation of oat protein isolate-pleurotus ostreatus β -glucan conjugates formed via Maillard reaction [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 459–469.
- [34] TAMNAK S, MIRHOSSEINI H, TAN C P, et al. Physicochemical properties, rheological behavior and morphology of pectin-pea protein isolate mixtures and conjugates in aqueous system and oil in water emulsion [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 56: 405–416.
- [35] NAIK R R, WANG Y, SELOMULYA C. Improvements of plant protein functionalities by Maillard conjugation and Maillard reaction products [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(25): 7036–7061.
- [36] SETIOWATI A D, WIJAYA W, VAN DER MEEREN P. Whey protein-polysaccharide conjugates obtained via dry heat treatment to improve the heat stability of whey protein stabilized emulsions [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 98: 150–161.
- [37] 杨楠, 罗凡, 费学谦, 等. 油茶籽美拉德反应及其产物抗氧化性 [J]. 中国粮油学报, 2019, 34(2): 67–72.
- YANG N, LUO F, FEI X Q, et al. Camellia seed Maillard reaction and its product antioxidant resistance [J]. Chinese Journal of Grain and Oils, 2019, 34(2): 67–72.
- [38] TAN J E, LIU T, YAO Y, et al. Changes in physicochemical and antioxidant properties of egg white during the Maillard reaction induced by alkali [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 143: 111151.
- [39] SALMINEN H, WEISS J. Electrostatic adsorption and stability of whey protein-pectin complexes on emulsion interfaces [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 35: 410–419.
- [40] SHAMAEI S, SEIIEDLOU S S, AGHBASHLO M, et al. Microencapsulation of walnut oil by spray drying: effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2017, 39: 101–112.
- [41] MENSINK M A, VAN BOCKSTAL P J, PIETERS S, et al. In-Line near infrared spectroscopy during freeze-drying as a tool to measure efficiency of hydrogen bond formation between protein and sugar, predictive of protein storage stability [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2015, 496(2): 792–800.
- [42] 常慧敏, 田少君, 丁芳芳. 米糠蛋白的超声改性及在亚麻籽油微胶囊中的应用研究 [J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2020, 41(1): 19–25.
- CHANG H M, TIAN S J, DING F F. Ultrasonic modification of rice bran protein and its application in flaxseed oil microcapsules [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2020, 41(1): 19–25.
- [43] 岳淑丽, 任小玲, 向红, 等. 桉叶精油 β -环糊精微胶囊制备工艺的研究 [J]. 中国粮油学报, 2017, 32(7): 108–113.
- YUE S L, REN X L, XIANG H, et al. Research on preparation of eucalyptus essential oil/ β -cyclodextrin microcapsules [J]. Chinese Journal of Grain and Oils, 2017, 32(7): 108–113.
- [44] BAKRY A M, FANG Z, KHAN M A, et al. Tuna oil and mentha piperita oil emulsions and microcapsules stabilised by whey protein isolate and inulin: characterisation and stability [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(2): 494–503.
- [45] 袁路阳, 杨帅帅, 邓德伟, 等. 喷雾干燥对花椒精油成分及应用的影响 [J]. 食品科技, 2021, 46(10): 243–248.
- YUAN L Y, YANG S S, DENG D W, et al. Effects of spray drying on the composition and application of essential oil from *Zanthoxylum bungeanum* maxim [J]. Food Science and Technology, 2021, 46(10): 243–248.
- [46] 王淑珍, 李应霞, 王兴瑞, 等. 不同制油方法对青海亚麻籽油品质及货架期的影响 [J]. 食品科学, 2022, 43(11): 92–98.
- WANG S Z, LI Y X, WANG X R, et al. Effects of different preparation methods on quality and shelf life of Qinghai flaxseed oil [J]. Food Science, 2022, 43(11): 92–98.
- [47] GOYAL A, SHARMA V, SIHAG M K, et al. Effect of microencapsulation and spray drying on oxidative stability of flaxseed oil and its release behavior under simulated gastrointestinal conditions [J]. Drying Technology, 2016, 34(7): 810–821.
- [48] 刘斯博. 亚麻籽油微胶囊的制备及其释放性能研究 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2016.
- LIU S B. Preparation and release behavior of flaxseed oil microencapsulation [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2016.
- [49] ZHANG T, ZHANG Z, WANG X. Composition and antioxidant ability of extract from different flaxseed cakes and its application in flaxseed oil [J]. Journal of Oleo

- Science, 2023, 72(1): 59–67.
- [50] 孙宏涛, 马燕, 郭洪涛, 等. 乳液体系包埋亚麻籽油研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(24): 444–451.
- SUN H T, MA Y, GUO H T, et al. Research progress on embedding flaxseed oil in emulsion system [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(24): 444–451.
- [51] 殷春燕, 杨明建, 穆谈航, 等. 黄刺玫籽油微胶囊的制备及其稳定性研究[J]. 食品科技, 2021, 46(2): 151–157.
- YIN C Y, YANG M J, MU T H, et al. Preparation and stability of the microcapsule of rosa xanthina seed oil [J]. Food Science and Technology, 2021, 46(2): 151–157.

Preparation Casein-Pectin Conjugate Based on Maillard Reaction and Its Application in Microencapsulation

YANG Siqu¹, LIU Qing¹, SONG Yan¹, LIU Libo¹, ZHANG Guofang¹, LI Chun^{1,2*},
DU Peng¹, ZHAO Kai^{3*}

(1. College of Food Sciences/Key Laboratory of Dairy Sciences, Ministry of Education,
Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
2. Heilongjiang Academy of Green Food Science, Harbin 150023, China;
3. Inner Mongolia Yi Ying Mei Dairy Co Ltd, Alashan 750308, China)

Abstract: The casein-pectin conjugate was prepared by Maillard reaction, and the effects of pectin on the structural and functional properties of casein was investigated. The optimum process for casein-pectin conjugate was determined by combining response surfaces with single factors taking the grafting degree and browning index as the response values. Flaxseed oil microencapsulation was prepared using casein-pectin conjugate as wall materials. The results showed the optimum process conditions were casein-pectin mass ratio 3:1, heating time 1.5 h, and heating temperature 90 °C. The grafting degree of casein-pectin conjugate were 37.06% ± 0.80% and the browning index was 1.05 ± 0.014. The determination results of secondary structure showed that the α -helixes, β -sheets, and β -turns contents of casein-pectin conjugate was decreased by 26.39%, 9.21%, and 2.23%, respectively, while the random curl content was increased by 12.43%, compared with casein. The functional properties (solubility, emulsification, thermal stability and antioxidant activity) of casein-pectin conjugate were significantly improved compared with casein. Flaxseed oil microencapsulation was prepared by spray drying using casein-pectin conjugate as the wall material and flaxseed oil as the core material. The results showed that the maximum encapsulation efficiency (77.06% ± 0.98%) was reached at mass ratio of 1:1 between casein-pectin conjugate and flaxseed oil, and the microencapsulation had a complete spherical structure without fragmentation. In addition, the peroxidation value of free flaxseed oil was (14.70 ± 0.51) meq/kg after stored at 25 °C for 28 d, the peroxidation value microencapsulated flaxseed oil was only (3.82 ± 0.07) meq/kg, indicating that the antioxidant activity of flaxseed oil was significantly improved by casein-pectin conjugate. This study aimed to provide a scientific basis for the application of casein in food industry.

Keywords: casein; pectin; Maillard reaction; functional properties; flaxseed oil microencapsulation

(责任编辑:郝一铭)