

乳清蛋白-海藻酸二醛微胶囊的制备及控释特性

杨 焯, 吴莎萍, 王开俊, 吴长玲, 刘兴泉, 吴峰华, 王 鹏

(浙江农林大学 食品与健康学院, 浙江 杭州 311300)

摘要: 【目的】以乳清蛋白 (WPI) 和海藻酸二醛 (ADA) 为原料制备 WPI-ADA 共聚物微胶囊, 研究 WPI 和 ADA 之间的相互作用及对微胶囊中姜黄素控释效果的影响, 为开发姜黄素的包埋体系提供理论依据。【方法】采用湿热法制备 WPI-ADA 共聚物, 利用接枝度、褐变程度和红外光谱分析探究 WPI 和 ADA 之间的相互作用, 研究不同比例共聚物对乳液粒径、电位、流变性、X 射线衍射、热重分析等理化特性的影响, 以及共聚物对微胶囊中姜黄素的释放特性的影响。【结果】制备微胶囊最佳的 WPI 和 ADA 质量比为 1:3。接枝度、褐变强度和傅里叶红外光谱分析证实了共轭物的形成。在共价结合作用的驱动下, WPI-ADA 乳液粒径从 415.4 nm 减小到 325.9 nm, 微胶囊包埋率从 83.9% 增加到 95.4%。此外, WPI-ADA 共聚物微胶囊表现出较好的热稳定性。体外模拟消化实验结果表明, WPI-ADA 共聚物微胶囊对姜黄素表现出缓释行为, 且在模拟胃液和模拟肠液中达到最大释放量的时间由 12 h 延长至 24 h。【结论】在共价相互作用下, WPI-ADA 共聚物能够改善微胶囊的理化性质和姜黄素的释放特性, 可用于修饰微胶囊体系和疏水性活性物质的递送。图 8 表 1 参 27

关键词: 姜黄素; 蛋白-多糖复合物; 分子间相互作用; 控释特性

中图分类号: Q599

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2024)06-1274-09

Fabrication and controlled release characteristics of whey protein-alginate dialdehyde microcapsule

YANG Ye, WU Shaping, WANG Kaijun, WU Changling, LIU Xingquan, WU Fenghua, WANG Peng

(College of Food and Health, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] This study used whey protein (WPI) and alginate dialdehyde (ADA) to prepare WPI-ADA copolymer microcapsules, and the interactions between WPI and ADA and their effects on the controlled release of curcumin in the microcapsules were investigated to provide a theoretical basis for the development of the encapsulation system of curcumin. [Method] WPI-ADA copolymers were prepared using a wet-heat method, and the interaction between WPI and ADA was explored through analysis of grafting degree, browning intensity, and infrared spectroscopy. The effects of different proportions of copolymers on the emulsion were studied in terms of particle size, zeta potential, and rheological properties. The influence of copolymers on microcapsules was investigated using X-ray diffraction, thermogravimetric analysis, and the release characteristics of curcumin. [Result] The results indicated that the optimum mass ratio of WPI and ADA for preparing microcapsules was 1:3. Grafting degree, browning intensity and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analyses confirmed the formation of conjugates. Driven by covalent binding, the particle size of WPI-ADA emulsion decreased from 415.4 nm to 325.9 nm, and the microcapsule encapsulation

收稿日期: 2024-03-19; 修回日期: 2024-07-05

基金项目: 浙江农林大学科研发展基金人才启动计划 (2022LFR122)

作者简介: 杨焯 (ORCID: 0009-0002-3147-3735), 从事林特产品的精深加工研究。E-mail: yanjinxi@outlook.com。通

信作者: 王鹏 (ORCID:0009-0007-5691-2630), 副教授, 博士, 从事森林食品开发与利用。E-mail:

wpeng@zafu.edu.cn

efficiency increased from 83.9% to 95.4%. Additionally, WPI-ADA copolymer microcapsules exhibited good thermal stability. In vitro simulated digestion experiments demonstrated that WPI-ADA copolymer microcapsules exhibited certain controlled release capabilities, extending the time for maximum curcumin release from 12 hours to 24 hours in simulated gastric fluid and intestinal fluid. [Conclusion] Under covalent interaction, WPI-ADA copolymers can improve the physicochemical properties and curcumin release properties of microcapsules, and can be used to modify the microcapsule system and the delivery of hydrophobic active substances. [Ch, 8 fig. 1 tab. 27 ref.]

Key words: curcumin; protein-polysaccharide complex; intermolecular interaction; controlled release properties

微胶囊是由微小的颗粒或液滴被涂层包围而产生的具有许多特性的胶囊^[1], 被广泛用于载运对光照、温度等外界环境敏感的生物活性物质。微胶囊通常形成核壳结构包埋活性物质, 壁材具有阻挡光线、氧气、水等的物理屏障作用, 因此可以保护核心材料免受不利外部环境条件的影响^[2]。近几年, 壁材材料引起了人们的关注, 包括蛋白质、海藻酸盐、多糖、抗性淀粉和美拉德产物等。海藻酸钠可被高碘酸盐氧化形成多个功能醛基团, 通常被称为海藻酸二醛 (ADA)。海藻酸二醛的醛基官能团非常活跃, 可以与氨基发生反应形成席夫碱, 促进与含氨基聚合物的共价交联^[3]。蛋白-多糖二元复合物在包埋生物活性物质方面显示出巨大的潜力, 不仅可以将蛋白的优异乳化特性和多糖的稳定作用相结合, 还可以提升复合物在不同温度、离子强度和 pH 下的稳定性^[4]。COPADO 等^[5] 制备了酪蛋白酸钠-乳糖共聚物微胶囊, 微胶囊表现出良好的分散性, 经过美拉德反应的酪蛋白酸钠-乳糖共聚物提高了奇亚籽油的氧化稳定性。JIA 等^[6] 通过美拉德反应制备了乳清蛋白 (WPI) 分离物-低聚糖共聚物, 并用于包埋番茄红素, 包埋率和包封产率分别达 94% 和 86%。共聚物微胶囊不仅提高了番茄红素的储藏稳定性和氧化稳定性, 还将番茄红素的生物利用度从 16% 提高到 60%。

本研究主要探讨 WPI 和 ADA 共聚物间的共价交联对微胶囊中姜黄素 (CUR) 稳定性和释放特性的影响。通过测定褐变强度、接枝度、粒径、Zeta 电位和流变性能探究不同 WPI 和 ADA 质量比下共聚物乳液的理化性质; 利用傅里叶红外光谱 (FTIR) 和 X 射线衍射光谱 (XRD) 分析 WPI-ADA 共聚物的结构变化特征, 通过热重分析 (TGA) 研究 WPI-ADA 共聚物微胶囊的热稳定性; 最后测定姜黄素在胃肠道模拟消化中的释放特性, 以期提高姜黄素的生物利用度并为新型运载体系提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

WPI 和 CUR 购自上海麦克林生化科技有限公司; 海藻酸钠购自南京化学试剂有限公司; 四硼酸钠、2-巯基乙醇购自国药集团化学试剂有限公司; 人工胃液、人工小肠液、中链甘油三酯 (MCT)、邻苯二甲醛 (OPA) 购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 WPI-ADA 共聚物的制备

将 WPI 与 ADA 以 1:0、3:1、2:1、1:1、1:2 和 1:3 的质量比分散在去离子水中 (分别记为 ck、W3A1、W2A1、W1A1、W1A2 和 W1A3), 得到固形物质量分数为 $100 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的溶液。将溶液在人工气候箱 (温度为 $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 相对湿度为 90%) 中保持 24 h, 在 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷后进行冷冻干燥, 得到 WPI-ADA 共聚物。

1.3 褐变强度的测定

WPI-ADA 共聚物分散在去离子水中。测定 304 nm 处吸光度用于证明 Amadori 化合物的形成^[7], 测定 294 nm 处吸光度证明美拉德反应早期产物和中间产物的存在, 测定 420 nm 处吸光度证明美拉德反应终产物的存在^[8]。

1.4 接枝度的测定

接枝度是评估美拉德反应幅度的关键指标。美拉德反应的发生可以通过游离氨基的含量进一步确

定, 因此反应体系中的接枝程度可以反应 WPI 游离氨基的变化^[9]。根据 ZHANG 等^[10]的方法测定接枝程度。将 80.0 mg OPA 加入 2.0 mL 甲醇中, 然后与 50.0 mL 四硼酸钠缓冲溶液 (0.1 mol·L⁻¹, pH=9.7)、5.0 mL 十二烷基硫酸钠 (0.2 kg·L⁻¹) 和 200.0 μL β-巯基乙醇混合。用去离子水定容到 100.0 mL 获得 OPA 试剂。将 200.0 μL 样品溶液 (2 g·L⁻¹) 和 4.0 mL OPA 试剂混合并在 35 °C 下保持 5 min。测定 340 nm 处的吸光度获得游离氨基的含量。空白对照为 4.0 mL OPA 试剂和 200.0 μL 去离子水的混合物。

1.5 傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析

通过红外光谱仪 (Nicolet iS20) 测定红外光谱图。干燥后的 ADA、WPI 和 WPI-ADA 共聚物在 400~4000 cm⁻¹ 内测定收集红外光谱信号, 分辨率为 4 cm⁻¹。

1.6 微胶囊的制备

将 1 mg·g⁻¹ CUR 溶于 MCT 中, 避光过夜搅拌。同时, 将不同比例的 WPI-ADA 共聚物分散于去离子水中, 室温下搅拌 24 h, 4 °C 过夜水合。将水相和油相以 19:1 的质量比混合, 通过高速性高剪切分散乳化机 (FA25) 将溶液以 10 000 r·min⁻¹ 剪切 3 min 得到粗乳液, 使用超声波细胞粉碎机 (JY-99-IIDN) 超声 10 min (开 3 s, 关 3 s) 制备乳液, 制备过程中使用冰浴。形成的乳液于 -80 °C 预冷后进行冷冻干燥, 得到 WPI-ADA 微胶囊。

1.7 粒径、聚合物分散性指数 (PDI) 和 Zeta 电位的测定

测试前用去离子水将乳液稀释 100 倍, 利用粒径仪 (Nano ZS) 在室温下测定乳液粒径、PDI 和电位。

1.8 流变特性的测定

使用旋转流变仪 (HR-1) 测定乳液的流变特性。设置应变为 0.5%, 在角频率 1.0~100.0 rad·s⁻¹ 下记录储能模量 (G') 和损耗模量 (G'')。选定直径 40 mm 的平行板, 调整间距为 500 μm, 在剪切速率为 0.01~100.00 s⁻¹ 内记录样品的黏度值。通过 Herschel-Bulkley 模型分析剪切速率与剪切应力之间的关系:

$$\sigma = \sigma_0 + K \times \gamma^n \quad (1)$$

式 (1) 中: σ 为剪切应力 (Pa); σ_0 为屈服应力 (Pa); K 为稠度系数 (Pa·sⁿ); γ 是剪切速率 (s⁻¹), n 为流动行为指数。

1.9 微观结构的观察

使用数码显微镜 (BA310) 观察水包油 (O/W) 乳液的微观结构。

1.10 微胶囊包埋率的测定

为了量化微胶囊中 CUR 的总量, 将制备好的微胶囊溶解在蒸馏水中, 用乙醇提取 CUR。根据 CUR 溶液的标准曲线, 在 425 nm 处测定总 CUR 质量浓度 (M_0)。将微胶囊分散在无水乙醇中, 在 425 nm 处测定游离 CUR 质量浓度 (M_1)。包埋率 (E) 通过以下公式得到:

$$E = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100\% \quad (2)$$

式 (2) 中: M_0 为总 CUR 质量浓度 (mg·L⁻¹), M_1 为游离 CUR 质量浓度 (mg·L⁻¹)。

1.11 X 射线衍射分析

使用 X 射线衍射仪 (Ultima IV) 得到 WPI-ADA 微胶囊的 XRD 图谱, 扫描角度范围为 5~80°, 扫描速度为 2°·min⁻¹。

1.12 热重分析

将 WPI-ADA 微胶囊样品加入 Tarsus 热重分析仪 (TG 209 F3) 的铝盘中, 测试温度为 30~600 °C, 升温速率为 10 °C·min⁻¹。

1.13 体外模拟消化

根据欧盟委员会 (EU)10/2011 号法规, 以体积分数为 50% 的乙醇为食品模拟剂^[11], 根据已报道的方法, 使用透析袋进行微胶囊的体外释放实验^[12-14]。将微胶囊样品与模拟胃液 (SGF, 2 g·L⁻¹ 氯化钠, 3.2 g·L⁻¹ 胃蛋白酶) 混合并将 pH 调至 1.2, 将该溶液装入透析袋置于乙醇释放介质中。模拟胃消化结束后, 将溶液 pH 调整至 7.0 以抑制胃蛋白酶活性。随后, 收集模拟胃消化产物与模拟肠液 (SIF, 10 g·L⁻¹ 胰蛋

白酶, $6.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾) 混合, 并将 pH 调至 7.4, 将溶液装入透析袋置于乙醇释放介质中。体外释放均在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$, $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下进行, 在预定的时间间隔内取样, 并更换相同量的释放介质以保持相同体积的释放介质。释放介质中 CUR 的质量浓度通过在 425 nm 处吸光度得到。

$$\text{释放率} = \frac{m_t}{m_\infty} \times 100\% \quad (3)$$

式 (3) 中: m_t 为在时间 t 时释放的 CUR 质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), m_∞ 为微胶囊中 CUR 的质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

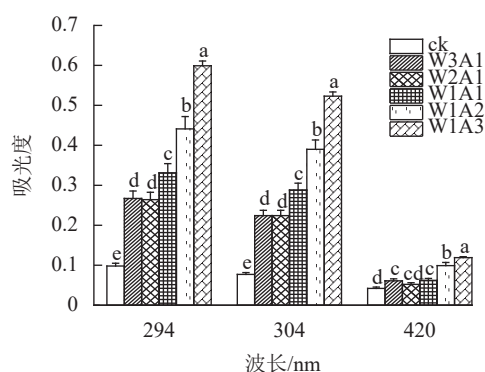
1.14 数据处理与分析

所有数据以平均值 \pm 标准差表示, 采用单因素方差进行显著性分析, 使用 DPS 数据处理系统进行 Tukey 事后检验显著性分析, 使用 Origin Pro 2022 b 绘图。

2 结果与分析

2.1 吸光度和接枝度分析

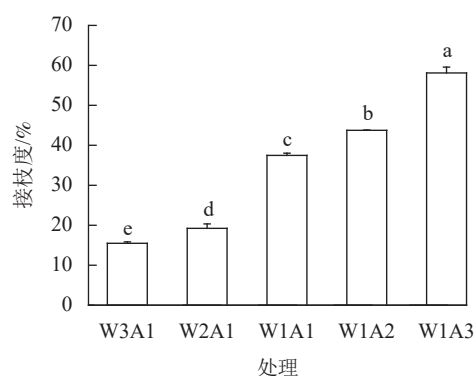
如图 1 所示: 除了 W2A1 处理组在 420 nm 处的吸光度外, 其他处理组在 294 、 304 和 420 nm 处的吸光度均比 ck 显著增加 ($P < 0.05$)。吸光度随着 WPI 和 ADA 质量比的降低而增加, 这与观察到的接枝度变化一致。同时, 所有处理组在 294 nm 处的吸光度均高于 304 和 420 nm 处。由图 2 可知: 随着 WPI:ADA 从 3:1 变化到 1:3, WPI-ADA 共聚物的接枝度从 15.5% 增加到 56.1%。这表明在一定的范围内, 高 ADA 能够促进与 WPI 的美拉德反应, 使接枝度增加。



不同小写字母表示同一波长不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 WPI-ADA 共聚物在 294 、 304 和 420 nm 处的吸光度

Figure 1 Absorbance at 294 , 304 and 420 nm of WPI-ADA conjugates



不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 2 WPI-ADA 共聚物接枝度

Figure 2 Grafting degree of WPI-ADA conjugates

2.2 傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析

如图 3 所示: 美拉德反应导致处理组的 FTIR 图谱发生条带的位置和强度的变化。WPI 的特征峰在 1649 、 1541 和 1392 cm^{-1} 出现, 分别对应的是 $\text{C}=\text{O}$ 拉伸振动, $\text{C}-\text{N}$ 拉伸振动和 $\text{N}-\text{H}$ 弯曲振动 (酰胺 I), $\text{N}-\text{H}$ 弯曲振动和 $\text{C}-\text{N}$ 拉伸振动 (酰胺 II) 以及 $\text{C}-\text{N}$ 拉伸振动和 $\text{N}-\text{H}$ 弯曲振动 (酰胺 III)。随着 WPI 与 ADA 的比例从 0:1 到 1:3, 处理组的 FTIR 图谱表现出不同程度的蓝移或者峰强的改变。WPI 的特征峰从 1649 cm^{-1} 移至 1621 cm^{-1} , 从 1541 cm^{-1} 移至 1534 cm^{-1} (W1A1), 该峰的强度逐渐变弱直至消失, 位于酰胺 III 带的特征峰从 1392 cm^{-1} 移至 1409 cm^{-1} , 并且该峰强度逐渐增强。这是美拉德反应诱导的蛋白结构变化所导致的结果。

2.3 乳液的理化性质分析

如表 1 和图 4 所示: 与 ck 相比, 处理组的粒径

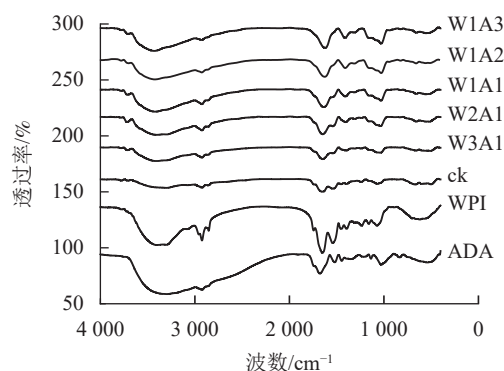


图 3 ADA、WPI 及 WPI-ADA 共聚物的 FTIR 图

Figure 3 FTIR spectra of ADA, WPI and WPI-ADA conjugates

从 415.4 nm 降低到 325.9 nm, PDI 从 0.356 降低到 0.215, 这表明共聚物能够形成更小更均匀的液滴。乳液 Zeta 电位的绝对值反映了其静电相互作用的强度, 这对保持乳液稳定性至关重要。处理组比 ck 有着更高的电位绝对值, ck 的电位为 -25.0 mV, 处理组的 Zeta 电位绝对值为 $39.7\sim 43.9$ mV, 说明处理组的稳定性较好。

表 1 WPI-ADA 乳液的粒径、PDI 和 Zeta 电位

Table 1 Particle size, PDI and Zeta Potential of WPI-ADA emulsions

处理	粒径/nm	PDI值	Zeta电位/mV
ck	415.4 ± 3.0 d	0.356 ± 0.001 d	-25.0 ± 0.4 d
W3A1	369.4 ± 2.5 c	0.354 ± 0.042 d	-39.7 ± 1.4 c
W2A1	370.5 ± 4.9 c	0.323 ± 0.004 cd	-41.4 ± 1.0 bc
W1A1	366.7 ± 4.3 c	0.286 ± 0.022 bc	-42.1 ± 0.0 abc
W1A2	335.1 ± 0.8 b	0.258 ± 0.014 ab	-43.9 ± 1.2 ab
W1A3	325.9 ± 2.0 a	0.215 ± 0.009 a	-44.2 ± 0.9 a

说明: 不同小写字母表示同一指标不同处理间差异显著($P < 0.05$)。

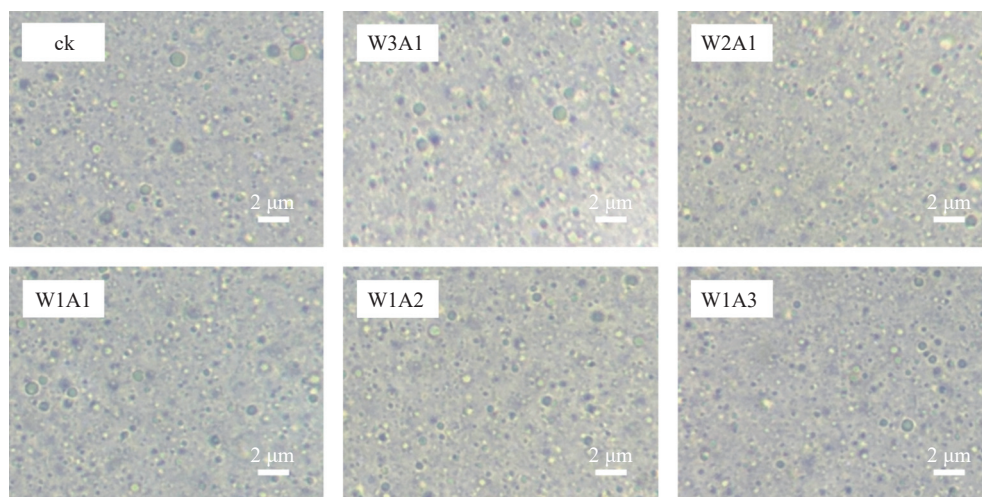


图 4 WPI-ADA 乳液的光学显微镜图

Figure 4 Optical microstructure images of WPI-ADA emulsions

2.4 乳液的流变特性分析

如图 5A 所示: 在测试的剪切速率范围内, 所有乳液都表现出非牛顿假塑性流体的剪切稀化行为。这种行为可以通过剪切过程中缠绕的聚合物网络的断裂来解释, 其中断裂的分子间纠缠速率大于重组的分子间纠缠速率, 导致分子间流动阻力更小, 使乳液的表观黏度降低。储能模量 G' 反映样品的固体状行

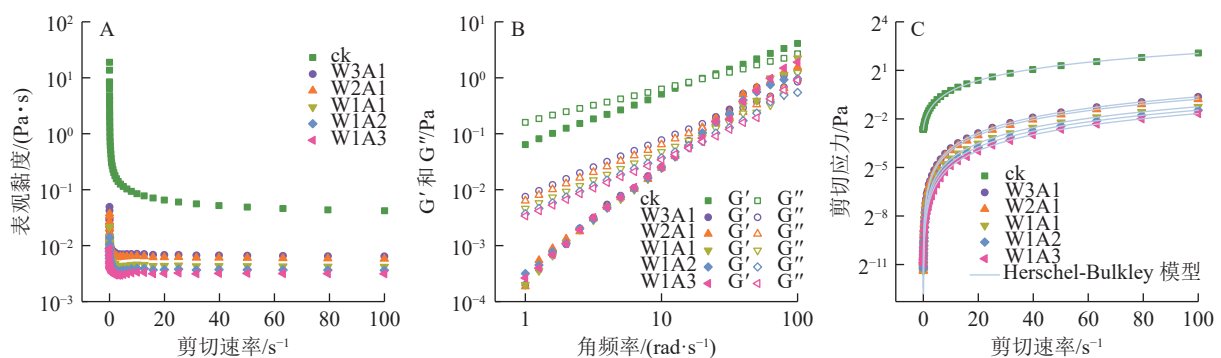


图 5 WPI-ADA 乳液表观黏度 (A)、频率扫描曲线 (B) 和剪切应力 (C)

Figure 5 Apparent viscosity (A), frequency sweeps curves (B) and stress (C) of WPI-ADA emulsions

为, 损耗模量 G'' 反映样品的液体状行为。如图 5B 所示: 在所有样品中观察到溶液-凝胶过渡点, 证实了乳液到凝胶的转变。图 5C 显示了测量的剪切应力与剪切速率数据与 Herschel-Bulkley 模型具有良好的相关性 ($R^2 > 0.99$)。剪切速率与剪切应力显示出非线性关系, 并且所有乳液的 $n < 1$, 证实了乳液为非牛顿流体, 且 n 值随着 WPI 的增加从 0.988 1 降低到了 0.774 8, 这表明与牛顿流体的行为偏差逐渐增加。ADA 比例的增加导致 σ_0 值从 0.154 8 Pa (ck) 降低到 $1.713 2 \times 10^{-5}$ Pa (W1A3)。

2.5 微胶囊射线衍射分析

由图 6 可知: WPI 在 20° 出现衍射峰, ADA 在 14° 和 24° 出现宽峰, 峰形宽阔而柔和, 这意味着 WPI 和 ADA 具有无定形结构。CUR 的衍射图出现尖锐而强烈的结晶峰 (8.8° 、 12.2° 、 17.2° 、 21.1° 和 24.6°), 但是在微胶囊中 CUR 的特征峰 (图 6B) 消失。

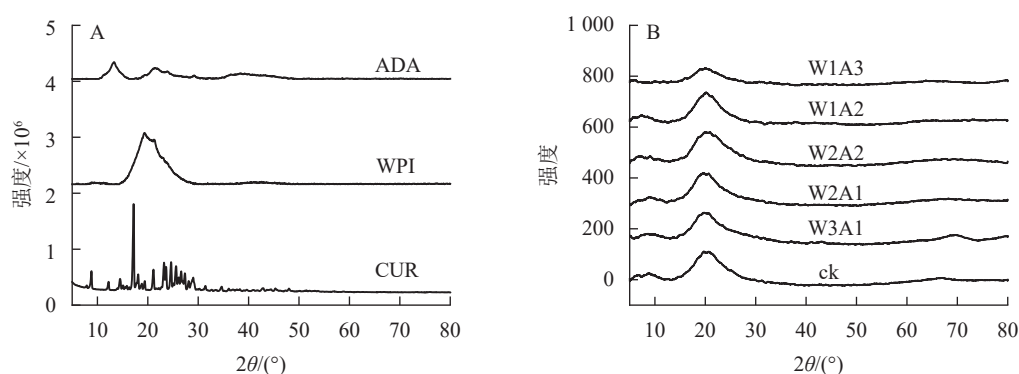


图 6 CUR、WPI、ADA(A) 和 WPI-ADA 微胶囊 (B) 的 XRD 谱图

Figure 6 XRD patterns of CUR, WPI, ADA (A) and WPI-ADA microcapsules (B)

2.6 微胶囊热重分析

微胶囊的失重曲线由 3 个阶段组成 (图 7): 第 1 阶段 ($0 \sim 200^\circ\text{C}$) 对应游离水和结合水的损失, 这一阶段的质量损失为 2.13%~5.15%; 微胶囊在第 2 阶段 ($200 \sim 400^\circ\text{C}$) 显示出较快的质量损失, 可归因于蛋白的分解和多糖的解聚; 第 3 阶段的质量损失是多糖和蛋白的碳化所导致的。所有样品在第 2 阶段损失了大部分的质量, 其中, ck 的质量损失最大, 达 82.13%, 处理组的失重比为 55.62%~77.71%。ck 在 600°C 时的残渣残余量是 15.71%, 处理组的残渣残余量是 19.05%~24.99%。

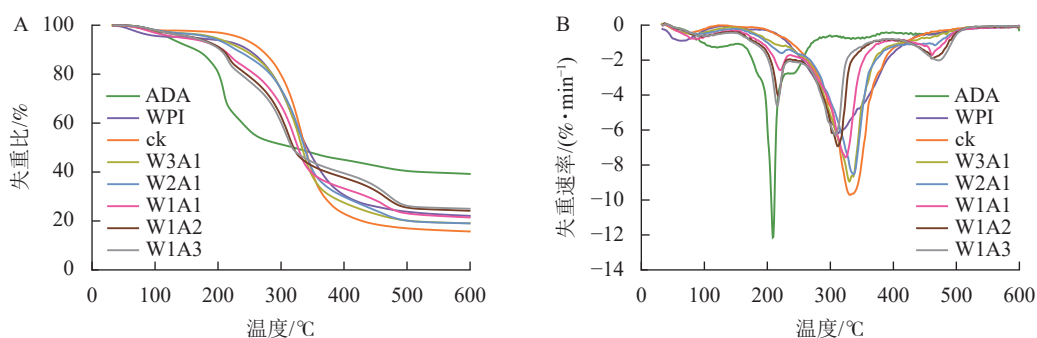


图 7 WPI-ADA 微胶囊的 TGA 曲线 (A) 和 DTG 曲线 (B)

Figure 7 TGA (A) and DTG curve (B) of WPI-ADA microcapsules

2.7 姜黄素的释放特性分析

ck、W3A1、W2A1、W2A2、W1A2 和 W1A3 微胶囊的包埋率分别为 83.9%、87.8%、91.0%、91.5%、93.4% 和 95.4%。由图 8 可知: 所有微胶囊表现出相似的释放曲线, 首先表现出较高的释放速率, 然后缓慢释放至平衡阶段。与 ck 相比, 在模拟胃液 (图 8A) 和模拟肠液 (图 8B) 中, 处理组中的 CUR 释放更缓慢, 且释放时间从 12 h 延长至 24 h。CUR 在模拟肠液中的释放速率大于模拟胃液, 表明处理组能够保护 CUR 免受模拟胃液环境降解, 并在模拟肠液条件下释放, 有望靶向肠道, 促进肠道细胞摄取, 从而提高 CUR 的生物利用度。

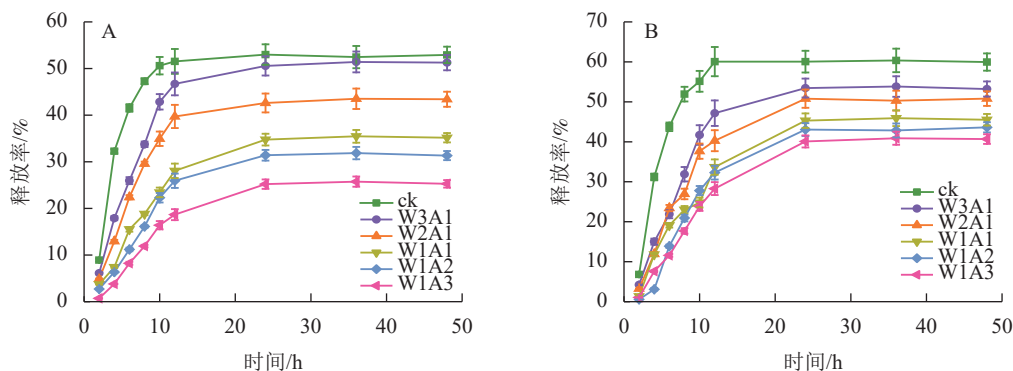


图8 CUR在模拟胃液(A)和模拟肠液(B)条件下的释放曲线

Figure 8 Release profiles of CUR under simulated gastric fluid (A) and simulated intestinal fluid (B) conditions

3 讨论

本研究结果表明：除了 W2A1 处理组在 420 nm 处的吸光度外，其他处理组在 294、304 和 420 nm 处的吸光度均比 ck 显著增加 ($P < 0.05$)，表明中间物质的形成，其中一部分进一步聚合产生棕色物质^[15]。同时，处理组在 294 nm 处的吸光度均高于在 304 和 420 nm 处的吸光度。这表明处理组早期-中期美拉德产物的含量很高，这与 DELGADO-ANDRADE 等^[16]的研究一致。FTIR 图谱显示：WPI 酰胺 I 带特征峰发生蓝移，该峰的强度逐渐变弱直至消失；位于酰胺 III 带的特征峰发生红移，并且该峰强度逐渐增强，这是美拉德反应诱导的蛋白结构变化所导致的结果。此外，处理组的 $1\ 000\sim 1\ 160\ \text{cm}^{-1}$ (C—O 拉伸) 和 $3\ 200\sim 3\ 600\ \text{cm}^{-1}$ (O—H 拉伸) 的吸收强度增加，这是糖化蛋白形成的典型特征^[9]。

乳液粒径、PDI 和 Zeta 电位显示：与 ck 相比，处理组形成了更小更均匀的液滴。这可能是由于美拉德反应使蛋白变性，导致表面疏水性和柔韧性增加，共聚物到界面的迁移率增加，界面张力降低，快速吸附在液滴表面形成黏弹性厚层，从而获得更小、分布更均匀的油滴^[17]。处理组的电位绝对值高于 ck，这与 JIANG 等^[18]研究一致。由 WPI-羧甲基纤维素共聚物稳定的乳液的 Zeta 电位显著高于由 WPI 稳定的乳液，这可能是美拉德反应使 NH_3^+ 水平降低，而共聚物提供的阴离子羧基浓度增加所导致的。流变特性显示：糖基化减少了水相中 ADA 聚集体的形成，降低了流动阻力和乳液水相中的黏度^[19]。与 ck 相比，处理组的 G' 值较低，这可能与偶联物难以形成凝胶网络的二硫键有关^[20]。同样，CONSOLI 等^[21]发现酪蛋白酸钠-玉米淀粉水解物偶联物乳液的黏度低于对照乳液 (酪蛋白酸钠-玉米淀粉水解物加热时间为 0 h) 的黏度。也有研究表明糖基化产生的空间位阻通过二硫键和疏水键的子间缔合来抑制凝胶状结构的形成^[22]。

微胶囊射线衍射图中 CUR 的特征峰消失，表明 CUR 以无序的结晶相或无定形的分子分散在微胶囊中^[23]。热重分析数据显示：处理组的减重更慢，残余质量保持更高，这证明了 WPI 与 ADA 通过美拉德反应增强了样品的热稳定性，这可能与接枝子区域抗断裂的化学键强度增加有关^[24]。包埋率与接枝度结果表现出相似的趋势，表明较高的接枝度可能对微胶囊包埋率产生积极影响，这与 JIA 等^[6]的研究结果一致。体外模拟消化实验显示：微胶囊初始的较高释放速率可归因于微胶囊表面或微胶囊网络中弱结合的 CUR 的释放，随后的缓慢释放阶段可归因于壁材降解导致的 CUR 释放^[25]。在模拟胃液和模拟肠液中，处理组中 CUR 缓慢持续释放，这一现象是由于美拉德反应制备的共聚物增强了 WPI 的稳定性并降低了胃蛋白酶对 CUR 的敏感性，导致 CUR 释放速率降低和释放量减少^[26]。此外，WPI 和 ADA 之间的共价连接导致静电斥力不能充分分离 WPI 和 ADA，但能够使复合结构松散，使胰酶接触并逐渐水解 WPI，因此 WPI 和 ADA 的糖基化能够延缓模拟肠液中 CUR 的释放，但不能完全阻止 WPI 被胰酶消化，从而最终释放 CUR^[27]。

4 结论

在共价相互作用下，WPI-ADA 共聚物能够改善微胶囊的理化性质和姜黄素的释放特性。褐变强度、接枝度、傅里叶红外光谱分析证实了美拉德反应的发生，随着 WPI:ADA 质量比从 1:3 到 3:1，共

聚物的接枝度从 15.5% 增加到 56.1%，并且在美拉德反应过程中有高分子量物质的形成。随着共聚物中 ADA 比例的增加，乳液粒径从 415.4 nm 减小到 325.9 nm。共聚物制备的乳液表现出假塑性流体的特征，与 Herschel-Bulkley 模型有良好的相关性。WPI-ADA 共聚物微胶囊具有较高的包封率 (87.8%~95.4%)，WPI-ADA 共聚物的应用也增强了微胶囊的热稳定性。将微胶囊暴露于模拟胃肠道条件后，姜黄素在模拟胃液和模拟肠液中的释放时间都由 12 h 延长到 24 h。本研究为开发基于蛋白-多糖美拉德产物修饰微胶囊体系和疏水性活性物质的递送提供了参考。

5 参考文献

- [1] LUCAS J, RALAIVAO M, ESTEVINHO B N, *et al.* A new approach for the microencapsulation of curcumin by a spray drying method, in order to value food products [J]. *Powder Technology*, 2020, **362**: 428 – 435.
- [2] XIAO Zuobing, XIA Jiayi, ZHAO Qixuan, *et al.* Maltodextrin as wall material for microcapsules: a review [J/OL]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, **298**: 120113 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.carbpol.2022.120113](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120113).
- [3] SARKER B, PAPAGEORGIOU D G, SILVA R, *et al.* Fabrication of alginate-gelatin crosslinked hydrogel microcapsules and evaluation of the microstructure and physico-chemical properties [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2014, **2**: 1470 – 1482.
- [4] WANG Li, WU Min, LIU Huamin. Emulsifying and physicochemical properties of soy hull hemicelluloses-soy protein isolate conjugates [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, **163**: 181 – 190.
- [5] COPADO C N, DIEHL B W K, IXTAINA V Y, *et al.* Application of Maillard reaction products on chia seed oil microcapsules with different core/wall ratios [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, **86**: 408 – 417.
- [6] JIA Chengsheng, CAO Dandan, JI Suping, *et al.* Whey protein isolate conjugated with xylo-oligosaccharides via maillard reaction: Characterization, antioxidant capacity, and application for lycopene microencapsulation [J/OL]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, **118**: 108837 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.lwt.2019.108837](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108837).
- [7] ZHA Fengchao, DONG Shiyuan, RAO Jiajia, *et al.* Pea protein isolate-gum Arabic Maillard conjugates improves physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions [J]. *Food Chemistry*, 2019, **285**: 130 – 138.
- [8] ZHAO Sheliang, HUANG Ying, MCCLEMENTS D J, *et al.* Improving pea protein functionality by combining high-pressure homogenization with an ultrasound-assisted Maillard reaction [J/OL]. *Food Hydrocolloids*, 2022, **126**: 107441 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodhyd.2021.107441](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107441).
- [9] SUN Cong, FU Jingjing, TAN Zhifeng, *et al.* Improved thermal and oxidation stabilities of pickering high internal phase emulsions stabilized using glycated pea protein isolate with glycation extent [J/OL]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, **162**: 113465 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.lwt.2022.113465](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113465).
- [10] ZHANG Qiyun, LONG Xin, XIE Jing, *et al.* Effect of d-galactose on physicochemical and functional properties of soy protein isolate during Maillard reaction [J/OL]. *Food Hydrocolloids*, 2022, **133**: 107914 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodhyd.2022.107914](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107914).
- [11] BAJAC J, NIKOLOVSKI B, LONČAREVIĆ I, *et al.* Microencapsulation of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L.) by spray drying: microcapsule characterization and release kinetics of the oil [J/OL]. *Food Hydrocolloids*, 2022, **125**: 107430 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodhyd.2021.107430](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107430).
- [12] ADITYA N P, ADITYA S, YANG H, *et al.* Co-delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion [J]. *Food Chemistry*, 2015, **173**: 7 – 13.
- [13] HUANG Hao, BELWAL T, LIU Songbai, *et al.* Novel multi-phase nano-emulsion preparation for co-loading hydrophilic arbutin and hydrophobic coumaric acid using hydrocolloids [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, **93**: 92 – 101.
- [14] ZHANG Jing, CHUESIANG P, KIM J T, *et al.* The role of nanostructured lipid carriers and type of biopolymers on the lipid digestion and release rate of curcumin from curcumin-loaded oleogels [J/OL]. *Food Chemistry*, 2022, **392**: 133306 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodchem.2022.133306](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133306).
- [15] LI Shanshan, LIU Ying, QIN Wen, *et al.* Physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of β -carotene emulsions stabilized with arabinoxylan hydrolysates-soy protein isolate conjugates [J/OL]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, **157**: 113120 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.lwt.2022.113120](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113120).
- [16] DELGADO-ANDRADE C, MORALES F J, SEIQUER I, *et al.* Maillard reaction products profile and intake from Spanish

- typical dishes [J]. *Food Research International*, 2010, **43**: 1304 – 1311.
- [17] NOOSHKAM M, VARIDI M. Maillard conjugate-based delivery systems for the encapsulation, protection, and controlled release of nutraceuticals and food bioactive ingredients: a review [J/OL]. *Food Hydrocolloids*, 2020, **100**: 105389 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodhyd.2019.105389](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105389).
- [18] JIANG Zhehui, HUANGFU Yunpeng, JIANG Lu, *et al.* Structure and functional properties of whey protein conjugated with carboxymethyl cellulose through maillard reaction [J/OL]. *LWT-Food Science and Technology*, 2023, **174**: 114406 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.lwt.2022.114406](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114406).
- [19] HUANG Tao, TU Zongcai, ZOU Zhengzheng, *et al.* Glycosylated fish gelatin emulsion: rheological, tribological properties and its application as model coffee creamers [J/OL]. *Food Hydrocolloids*, 2020, **102**: 105552 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodhyd.2019.105552](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105552).
- [20] SPOTTI M J, MARTINEZ M J, PILOSOFF A M R, *et al.* Influence of Maillard conjugation on structural characteristics and rheological properties of whey protein/dextran systems [J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, **39**: 223 – 230.
- [21] CONSOLI L, DIAS R A O, RABELO R S, *et al.* Sodium caseinate-corn starch hydrolysates conjugates obtained through the Maillard reaction as stabilizing agents in resveratrol-loaded emulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, **84**: 458 – 472.
- [22] SEO C W, YOO B. Preparation of milk protein isolate/ κ -carrageenan conjugates by maillard reaction in wet-heating system and their application to stabilization of oil-in-water emulsions [J/OL]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, **139**: 110542 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.lwt.2020.110542](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110542).
- [23] YANG Qiongqiong, CAI Woqi, WANG Zhixuan, *et al.* Structural characteristics, binding behaviors, and stability of ternary nanocomplexes of lecithin, polyvinylpyrrolidone, and curcumin [J/OL]. *LWT-Food Science and Technology*, 2023, **175**: 114489 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.lwt.2023.114489](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114489).
- [24] 郭明, 宋传虎, 卢迪, 等. 羟丙基纤维素接枝甲基丙烯酸丁酯共聚物的合成与表征 [J]. *浙江农林大学学报*, 2011, **28**(1): 132 – 138.
- GUO Ming, SONG Chuanhu, LU Di, *et al.* Hydroxypropyl cellulose grafted with poly (butyl methacrylate) [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2011, **28**(1): 132 – 138.
- [25] XIAO Wenhao, SHEN Mingyue, LI Jinwang, *et al.* Preparation and characterization of curcumin-loaded debranched starch/*Mesona chinensis* polysaccharide microcapsules: loading levels and in vitro release [J/OL]. *Food Hydrocolloids*, 2023, **141**: 108697 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodhyd.2023.108697](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108697).
- [26] QIU Jiahuan, ZHENG Qunxiong, FANG Lei, *et al.* Preparation and characterization of casein-carrageenan conjugates and self-assembled microcapsules for encapsulation of red pigment from paprika [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, **196**: 322 – 331.
- [27] YANG Yuexi, NIU Fuge, CUI S W, *et al.* Spray-drying microencapsulation of citral with soy protein-soy polysaccharide Maillard reaction products: stability and release characteristics [J/OL]. *Food Hydrocolloids*, 2022, **132**: 107842 [2024-03-01]. doi: [10.1016/j.foodhyd.2022.107842](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107842).