

漆酶-Ca²⁺/Mg²⁺双诱导乳液凝胶的构建及油-水双相负载功能因子的应用

戴澍涵, 高 崇, 殷丽君, 张明皓*
(中国农业大学食品科学与营养工程学院 北京 100083)

摘要 为进一步优化乳液凝胶的制备工艺,本研究利用漆酶与钙/镁离子双诱导的方式构建大豆分离蛋白-甜菜果胶乳液凝胶,根据归一化的方法得到凝胶质构特性综合值的计算模型,并提出一种利用较低浓度镁离子替换高浓度钙离子的方案,以此降低凝胶制备过程中离子的添加量。结果表明,对比漆酶与钙离子双诱导乳液凝胶,漆酶与镁离子双诱导乳液凝胶具有更短的凝胶时间(340 s)和相似的流变特性,更均匀的微观结构及油滴分布,更佳的贮藏稳定及在小肠中更高的释放率(β -胡萝卜素释放率 73.1%,核黄素释放率 85.7%)。本研究构建了一种新型的乳液凝胶体系并应用于油-水双相负载递送功能因子领域,同时验证了利用较低浓度镁离子诱导成胶的可行性。

关键词 漆酶-钙/镁离子双诱导;乳液凝胶;大豆分离蛋白;甜菜果胶

文章编号 1009-7848(2024)09-0031-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.09.003

近年来,利用蛋白和多糖的凝胶特性设计安全营养的功能因子运输体系,并通过调控凝胶的结构和功能特性,进而影响功能因子的运输及消化特性等相关研究备受关注。与单一组分凝胶相比,蛋白质/多糖复合凝胶表现出更好的凝胶性能^[1]。然而,因缺少油相,传统的蛋白/多糖复合水凝胶在包埋功能因子的应用方面有限,而蛋白/多糖乳液凝胶能够提高对脂溶性生物活性物质的传递输送能力,拓展水凝胶的应用范围^[2]。乳液凝胶因水-油两相共存的特殊性质,能够同时包埋具有不同溶解性、分散性的功能因子,并能保护生物活性物质被人体摄入后通过胃肠道消化区域时减少被代谢降解,故被认为是理想的生物活性物质和营养素包埋缓释食品级载体^[3]。

传统的蛋白质/多糖复合乳液凝胶多以单一的凝胶方式为主,主要包括热诱导、酸诱导、酶诱导及金属离子诱导等几种方式^[4]。由于单一的诱导方式对凝胶结构及功能特性调控能力较差,因此,越来越多的研究将重点转向不同诱导方式组合的应用,以获得更理想的凝胶结构和更灵活的调控手段^[5]。钙离子是最常见的离子型冷致凝胶诱导

剂,镁离子同样在豆制品(如豆腐等)的生产加工中得到广泛应用^[6]。现阶段关于离子型诱导剂的研究主要是对诱导剂种类及添加量进行优化,筛选诱导效率高、成本低的诱导剂。目前尚未有比较两种离子联合漆酶双诱导蛋白质/多糖复合乳液凝胶以降低离子浓度的相关报道。本研究以大豆分离蛋白(SPI)和甜菜果胶(SBP)为原料,通过漆酶和金属离子的双诱导方式,构建 SPI-SBP 复合乳液凝胶,同时负载水溶性功能因子核黄素和脂溶性功能因子 β -胡萝卜素,探究不同离子联合漆酶的双诱导方式对 SPI-SBP 复合凝胶结构及控释特性的影响,在构建新型双负载递送体系的同时,分析利用低浓度镁离子替换高浓度钙离子的可行性,以减少加工过程中添加的金属离子。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大豆分离蛋白(SPI),凝胶型,山东禹王有限公司;甜菜果胶(SBP)、Pectin Betapec RU 301,德国 Herbstreith & Fox 公司;中链甘油三酯(MCT),广州耶尚贸易公司;漆酶,E.C.3.2.1.15,源于 *Trametes versicolor*,美国 Sigma-Aldrich 公司;其它试剂均为分析纯级。

1.2 主要仪器与设备

AR2000 型流变仪,美国 TA Instruments 公

收稿日期: 2023-09-12

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2022CXGC010602-02);国家自然科学基金面上项目(32272337)

第一作者: 戴澍涵,女,本科生

通信作者: 张明皓 E-mail: zmhao1994@163.com

司;TA.XT.plus 质构仪,英国 Stable Micro System 公司;TCS SP5 激光共聚焦显微镜,德国 Leica 公司;C5 高压均质机,加拿大 Avestin 公司;T25 basic 高速剪切机,德国 IKA 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 SPI-SBP 乳液的制备 将 SBP 粉末以 2.0%(质量分数)的浓度加入 6.0%(质量分数)的 SPI 水溶液中,充分搅拌 4 h 后 4 ℃冷藏过夜,次日将 SPI-SBP 溶液在 85 ℃下预热 15 min,随后迅速冷却至室温,作为乳状液制备的水相。向水相中添加 20%(质量分数)的 MCT 作为油相,使用高速剪切机以 10 000 r/min 的转速剪切 3 min 制成粗乳液;再使用高压均质机以 30 MPa 均质压力均质 5 次,得到 SPI-SBP 乳液样品。

1.3.2 SPI-SBP 双诱导乳液凝胶的制备 向 SPI-SBP 乳液样品中加入 CaCl_2 (5~50 mmol/L)或 MgCl_2 (5~50 mmol/L),充分搅拌 1 min 后加入漆酶(20 U/g 底物)再充分搅拌 1 min,随后 40 ℃静置 4 h 后移入 4 ℃冰箱过夜备用。

1.3.3 SPI-SBP 乳液凝胶质构特性测定 选用 20 mm 直径的 P/20a 的圆柱型探头进行连续两次下压测试(TPA)。测试参数如下:上升高度为 25 mm,下压高度为样品高度的 25%,测试速度为 60 mm/min,触发力设置为 0.3 N^[7]。

1.3.4 SPI-SBP 乳液凝胶流变特性测定 将 SPI-SBP 乳液样品分别加入不同种类及浓度的诱导剂后充分搅拌混匀,迅速置于测试台,测试参数如下:选用 40 mm 平板夹具,间隙 1 mm,频率 1 Hz,应变范围 1%,测试时间 2 h,温度 40 ℃,记录储能模量(G')和损耗模量(G'')随时间的变化^[8]。

1.3.5 激光共聚焦显微镜扫描(CLSM)观察 在制备 SPI-SBP 乳液凝胶样品时用经 FITC 标记的甜菜果胶替代常规流程中的甜菜果胶^[9],其它制备流程相同。向 2 g 制备好的 SPI-SBP 复合乳液样品中加入 20 μL 的 2 mg/mL 罗丹明 B 和 1 mg/mL 尼罗红的混合染色水溶液,后续凝胶诱导制备步骤同 1.3.2 节。随后用激光共聚焦显微镜在波长 488,553 nm 和 633 nm 下进行观察^[10]。

1.3.6 双相负载功能因子 SPI-SBP 乳液凝胶的制备 将核黄素以 0.6 mg/mL 的质量浓度溶于 SPI-SBP 水溶液中,将 β -胡萝卜素以 0.2% (质量分

数)的比例溶于 MCT(45 ℃)中,其余步骤同 1.3.1 节和 1.3.2 节。

1.3.7 双相负载功能因子的贮藏稳定性分析 将乳液凝胶在室温下(25 ℃)避光储存 14 d,每 2 d 测量 1 次功能因子的剩余含量,测试方法参照 Zhang 等^[11]的研究。样品中的功能因子贮藏稳定性用保留率 C/C_0 表示,其中 C 是储存过程中功能因子含量, C_0 是储存前初始功能因子含量^[12]。

$$C/C_0(\%) = \frac{C}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

1.3.8 双相负载 SPI-SBP 乳液凝胶的释放特性评价 SPI-SBP 乳液凝胶的模拟消化方法参照 Zhang 等^[11]的研究。所有样品测定释放率前用 1 mol/L 的盐酸或氢氧化钠调至 pH 7.0,试验过程中注意避光操作。功能因子释放率公式如下:

$$\begin{aligned} & \text{功能因子释放率}(\%) \\ & = \left(1 - \frac{\text{消化液中功能因子含量}}{\text{功能因子添加量}}\right) \times 100 \quad (2) \end{aligned}$$

1.3.9 数据统计与分析 每个试验至少重复 3 次。使用 origin 9.0 和 SPSS 20 等软件进行数据处理,采用 ANOVA 确定每项测试之间的显著性差异($P < 0.05$)。

2 结果与讨论

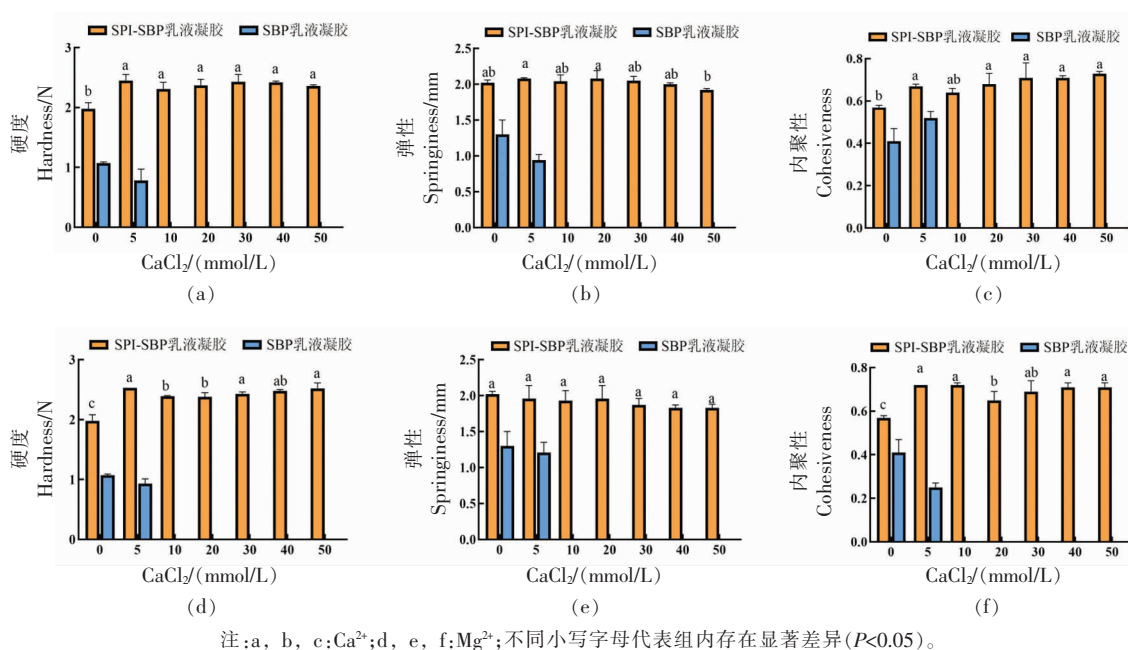
2.1 离子($\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$)浓度对 SPI-SBP 乳液凝胶质构特性的影响

离子诱导蛋白凝胶形成的过程是通过二价钙镁离子中和分子之间的静电排斥力,置换蛋白中 H^+ 诱导肽键间桥联,形成盐桥固定网络结构^[13];漆酶具有活性高与寿命长的特点,可高效催化甜菜果胶中的阿魏酸形成凝胶^[14]。图 1 显示了钙镁离子添加量对双诱导乳液凝胶质构性质的影响,结果显示试验浓度范围内(5~50 mmol/L)钙镁离子对于不含 SPI 的单独 SBP 乳液凝胶的形成均有不同程度的抑制作用,在离子添加量达到 5 mmol/L 以上时,SBP 乳液不能形成成型的固体凝胶,无法选择相同质构参数进行 TPA 测定。这是由于体系中有金属阳离子存在的情况下,金属离子的存在使得甜菜果胶分子之间形成了钙(镁)桥,使得漆酶在甜菜果胶上的作用位点减少,削弱了 SBP 网络结构,这种现象随着离子浓度增加变得更为明

显^[15]。而 SPI-SBP 复合体系中 SPI 的存在阻碍了 SBP 分子间的“架桥作用”,金属离子更倾向于与 SPI 结合,因此减少了对 SBP 网络的削弱作用,同时由于金属离子诱导的蛋白网络的存在,增强了乳液凝胶内部作用力,使得凝胶具有可自支撑的稳定结构^[16]。

对凝胶质构特性进行具体分析发现,漆酶和离子双诱导 SPI-SBP 乳液凝胶的硬度及内聚性高于漆酶单诱导 SPI-SBP 乳液凝胶。金属离子的存在使得蛋白聚集,增强了体系凝胶网络,因此相较于对照组漆酶单诱导 SPI-SBP 乳液凝胶,离子和

漆酶双诱导 SPI-SBP 复合乳液凝胶具有更强的内部结合力,表现为较强的硬度和内聚性。比较两种离子与漆酶联合诱导对乳液凝胶的质构特性,整体看二者具有相似的质构特性及随浓度变化趋势,但漆酶与镁离子(L&MgCl₂)诱导产生乳液凝胶的硬度及内聚性要略高于漆酶与钙离子(L&CaCl₂)的诱导方式。高丽^[17]在研究大豆蛋白凝胶特性时同样发现在相同的凝固温度及凝固剂质量分数下(0.25%),氯化镁诱导的 SPI 凝胶强度大于氯化钙诱导的凝胶。



注:a, b, c:Ca²⁺;d, e, f:Mg²⁺;不同小写字母代表组内存在显著差异(P<0.05)。

图 1 离子浓度对 SPI-SBP 乳液凝胶质构特性的影响

Fig.1 Effect of ion concentration on the textural properties of SPI-SBP emulsion gels

2.2 质构指标的归一化分析

为了更好的比较在相同质构条件下,基于 3 种不同的诱导条件下(漆酶单诱导,L&CaCl₂,L&MgCl₂)构建的 SBP 及 SPI-SBP 乳液凝胶质构数据建立模型,运用统计学方法中的 Minkowski 距离将质构指标中的硬度、弹性、内聚性 3 个指标归一化为一个综合值指标,将评价凝胶性质构的三维数据转变为一维数据值,并定义该一维数据为乳液凝胶的综合凝胶值^[18],结果如图 2 所示。通过相关性分析发现(表 1),凝胶型综合值与硬度、内聚性、弹性均呈正相关,其中硬度相关性最大,为 0.9730,该结果符合凝胶硬度、弹性、内聚性越

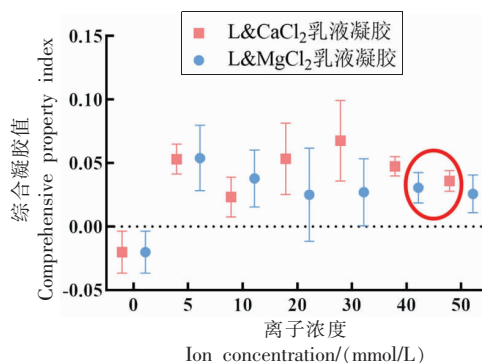


图 2 离子浓度对 SPI-SBP 乳液凝胶综合凝胶值的影响

Fig.2 Effect of ion concentration on the comprehensive property index of SPI-SBP emulsion gels

大凝胶性越好的规律,说明采用该方法得到的凝胶定性层面上准确可靠。基于归一化后数据对硬度、弹性、内聚性作回归分析,得到的方程为:

$$\text{综合凝胶值} = 0.0811 \times H + 0.2475 \times C + 0.1400 \times S - 0.6039 \quad (3)$$

式中: H 为硬度; C 为内聚性; S 为弹性。

模型拟合度 $R^2 = 0.9764$, R^2 越接近 1 说明模型拟合度越好,由此验证该模型拟合度较好,可以较好地反映乳液凝胶的综合质构特性。不同凝胶条件下 SPI-SBP 乳液凝胶的综合凝胶值分布如图 2 所示。通过对比漆酶与不同浓度的两种离子双诱导 SPI-SBP 凝胶发现, Ca^{2+} 在 50 mmol/L 形成的综合凝胶值与 Mg^{2+} 在 40 mmol/L 时形成的综合凝胶值相近,这一现象为降低离子型诱导剂的用量提供了可能,因此,本研究后续将选用 L&CaCl₂ (50 mmol/L) 和 L&MgCl₂ (40 mmol/L) 双诱导形成的乳液凝胶作为研究对象。

2.3 离子 ($\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$) 添加量对 SPI-SBP 乳液凝胶流变特性的影响

图 3 为经过归一化筛选后不同诱导方式形成的 SPI-SBP 乳液凝胶的储能模量 G' 和损耗模量 G'' 随时间的变化,一般认为 G' 和 G'' 的交点 ($G' = G''$) 为凝胶点。与漆酶单诱导 SPI-SBP 乳液凝胶相比,离子加入后凝胶点时间延后,这是因为体系中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的存在抑制了漆酶的活性,虽能诱导蛋白凝胶,但是结合漆酶活性的降低,宏观上表现出凝胶时间的延长^[9]。但是,漆酶与离子双诱导条件下的乳液凝胶均表现出比漆酶单诱导时更高的 G' 和 G'' 值,表明由离子诱导的蛋白凝胶网络的形成增强了整个凝胶体系的结构,这与质构特性的结果一致。对比 L&CaCl₂ 和 L&MgCl₂ 两种诱导方式可以发现,尽管 Mg^{2+} 的浓度低于 Ca^{2+} ,但与两种诱导条件下形成的 SPI-SBP 凝胶流变特性并无明显差异,甚至 L&MgCl₂ 诱导下凝胶点出现时间 (340 s) 比 L&CaCl₂ 诱导时 (358 s) 更为靠前,这表明 Mg^{2+} 以更低的浓度形成了与高浓度 Ca^{2+} 诱导时相似流变特性的乳液凝胶,且形成速度更快,这为 Mg^{2+} 替代 Ca^{2+} 以减少体系离子浓度提供了可能。

2.4 不同离子对 SPI-SBP 乳液凝胶微观结构的影响

通过激光共聚焦显微镜观察不同诱导条件下

表 1 综合凝胶值与原始质构指标间相关性分析
Table 1 Correlation analysis between comprehensive property index and original TPA data

	凝胶性
硬度	0.9730
内聚性	0.8975
弹性	0.9444

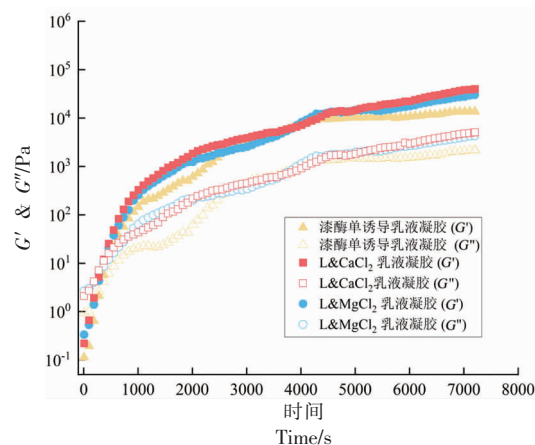


图 3 凝胶诱导方式对 SPI-SBP 乳液凝胶流变性质影响
Fig.3 Effect of induced gelation methods on rheological properties of SPI-SBP emulsion gels

形成的乳液凝胶,图 4 中呈现绿色的区域是 FITC 标记后的甜菜果胶,蓝色是罗丹明染色的大豆分离蛋白,红色是尼罗红染色的 MCT 油滴(红色油滴由于与蓝色蛋白叠加而呈现粉紫色)。如图 4a, 4b, 4d, 4e 所示,单独钙/镁离子诱导条件下形成的 SPI 和 SPI-SBP 乳液凝胶,均出现了蛋白成块聚集的现象,但 Mg^{2+} 诱导相对于 Ca^{2+} 诱导形成的乳液凝胶质地更为均匀,这表明 Mg^{2+} 诱导形成的蛋白凝胶网络更为均匀,网络空隙的均匀分布则有利于乳液凝胶内部油滴的分散,减少油滴聚集,使得乳液凝胶体系更适用于功能因子的包埋递送^[20]。图 4c, 4f 表示的是双重诱导方式下形成的 SPI-SBP 双基质乳液凝胶,可以观察到大豆分离蛋白呈现聚集态较为均匀的分散在甜菜果胶网络中,油滴镶嵌大豆分离蛋白和甜菜果胶基质中。与钙/镁离子单诱导 SPI-SBP 乳液相比,可以观察到漆酶参与的果胶网络形成一定程度减缓了二价离子所造成蛋白大片成块聚集的情况,在使得水相蛋白-多糖凝胶网络更为均匀分布的同时,也使油滴以更小的粒径均匀分散在凝胶网络中,这说明

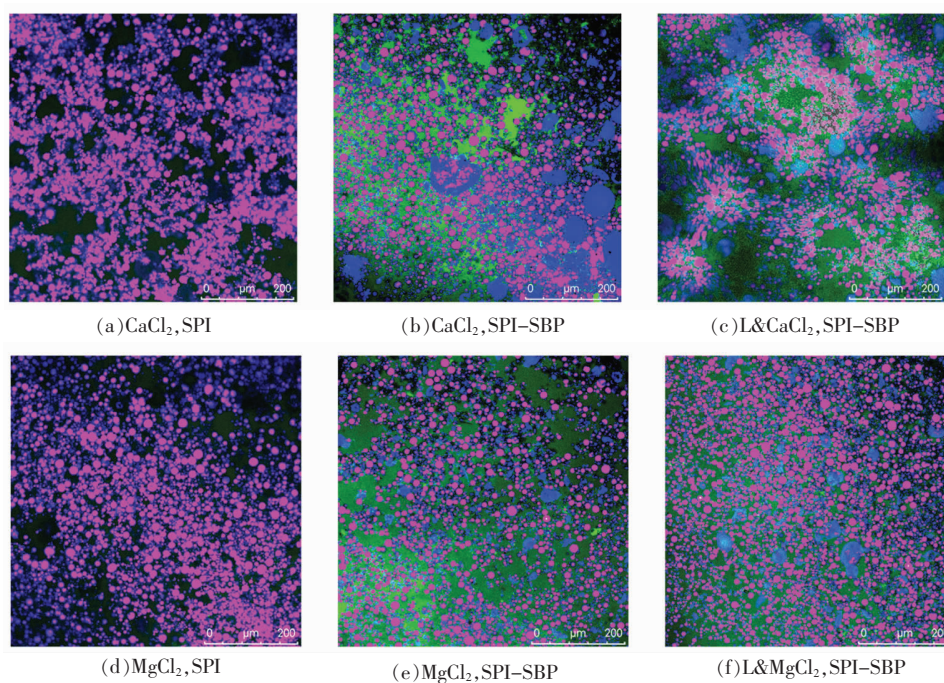


图 4 凝胶诱导方式对 SPI-SBP 乳液凝胶微观结构影响

Fig.4 Effect of induced gelation methods on microstructure of SPI-SBP emulsion gels

双诱导的方式进一步改善了乳液凝胶的内部结构^[21],为油水双相同时负载功能因子提供了可能。

2.5 不同离子对 SPI-SBP 乳液凝胶中功能因子贮藏稳定性的影响

将漆酶-钙/镁离子双诱导制备的 SPI-SBP 乳液凝胶应用在油水双相同时负载功能因子的领域,水相负载模式功能因子核黄素,油相负载模式功能因子 β -胡萝卜素,根据预试验的结果,L&Ca-Cl₂和 L&MgCl₂诱导的乳液凝胶在水相和油相功能因子的包埋率上均没有显著差异,因此本研究对双相负载功能因子的乳液凝胶进行贮藏稳定性

测定,以此分析不同离子对乳液凝胶包埋功能因子能力的影响^[22]。SPI-SBP 凝胶网络一定程度上能够通过物理手段阻碍氧、氧化剂、自由基的渗入^[23],从而延缓内包营养物在贮藏过程中的降解进程。图 5 为不同诱导条件下乳液凝胶所包埋的 β -胡萝卜素及核黄素在室温下(25 °C)贮藏 14 d 的保留率情况。结果发现,乳液凝胶内核黄素经过 14 d 贮藏后的保留率稍低于 β -胡萝卜素。这是因为核黄素以晶体形式存在于凝胶体系中,更易与氧气等结合发生降解;另外凝胶在贮藏过程中会出现失水现象,部分水相基质中的核黄素可能会随水

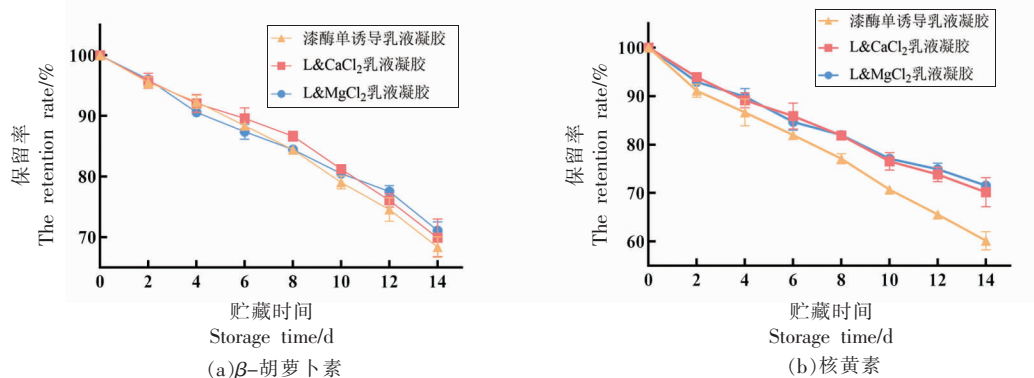


图 5 不同 SPI-SBP 乳液凝胶中功能因子在贮藏过程中的保留率变化 (14 d)

Fig.5 The retention rate of β -carotene and riboflavin in different SPI-SBP emulsion gels during storage (14 d)

分迁移,增加与外界接触机会^[24]。此外,在室温下贮藏 14 d 后,双诱导乳液凝胶体系中模式营养物质保留率高于乳液及单诱导乳液凝胶体系,且 L&MgCl₂ 诱导乳液凝胶中核黄素和 β -胡萝卜素的保留率均要略高于 L&CaCl₂ 诱导的乳液凝胶,这是由于 L&MgCl₂ 诱导的乳液凝胶内部网络结构更为均匀致密,可以更好的阻止功能因子与外界接触,从而起到了更好的保护效果^[25]。

2.6 不同离子对 SPI-SBP 乳液凝胶控释功能因子能力的影响

图 6 表示了模拟体外消化过程中漆酶-钙/镁离子双诱导方式构建的 SPI-SBP 乳液凝胶所包埋的 β -胡萝卜素(a)及核黄素(b)随时间的释放曲线,其中 P1、P2、P3 分别代表凝胶在模拟口腔、胃液、肠液的消化过程。 β -胡萝卜素在消化过程中的释放主要与油脂的消化过程有关,而脂质消化的速率和程度则通常取决于捕获油滴的凝胶基质网络被破坏的速度^[26]。另外,口腔和胃部处理对于固体食物在人体肠道发生的脂肪消化非常重要^[27]。由图 6a 可以观察到在 P1 口腔过程中无论何种载体,几乎均未见明显的 β -胡萝卜素释放。在模拟胃液消化进行到 60 min 时, β -胡萝卜素也开始缓慢释放,但均未超过 10%。进入小肠后,乳液凝胶中 β -胡萝卜素释放量大幅增加,此时肠液中的胰酶作用于乳液凝胶体系中的油相,使包埋在油相中的 β -胡萝卜素释放出来。这表明传递载体可以有效地降低 β -胡萝卜素在口腔和胃消化过程中

的损耗,使更多功能因子在小肠定向释放。体外肠消化结束时(120 min),L&MgCl₂ 双诱导乳液凝胶的 β -胡萝卜素释放率为 73.1% 高于 L&CaCl₂ 双诱导乳液凝胶中 β -胡萝卜素释放率(70.7%)。图 6b 显示了核黄素在不同 SPI-SBP 乳液凝胶中的消化释放特性。在模拟口腔消化过程中,两种凝胶均未见明显的核黄素释放。进入模拟胃液消化后,两种乳液凝胶样品均有少量的核黄素释放(小于 20%),但不同双诱导乳液凝胶间未见显著差异。当凝胶进入模拟肠液消化阶段,随着凝胶网络的进一步水解,核黄素释放速率加快,另外,在 pH 7.0 时,SPI 和核黄素均带负电,核黄素与蛋白间的静电排斥作用会加快核黄素在模拟肠液中的释放^[28]。体外消化结束后,最终的核黄素释放率为 L&MgCl₂ 双诱导乳液凝胶 85.7%、L&CaCl₂ 双诱导乳液凝胶 83.7%。

综合图 6a,6b 分析,两种诱导条件下乳液凝胶体系都能够减缓模式功能因子在模拟胃液中的释放,且对水溶性及脂溶性功能因子在不同消化阶段呈现出不同的缓释特性。例如脂溶性 β -胡萝卜素在模拟胃液中具有更低的消化释放率(10%左右),而水溶性核黄素在胃相消化结束时消化释放率较高(10%~20%)。对比不同离子与漆酶的双诱导方式,在最终消化结束后,L&MgCl₂ 双诱导乳液凝胶对油水双相中负载的功能因子均具有较高的释放率,这说明 L&MgCl₂ 的双诱导方式在控释特性方面要优于 L&CaCl₂ 的诱导方式,即利用低

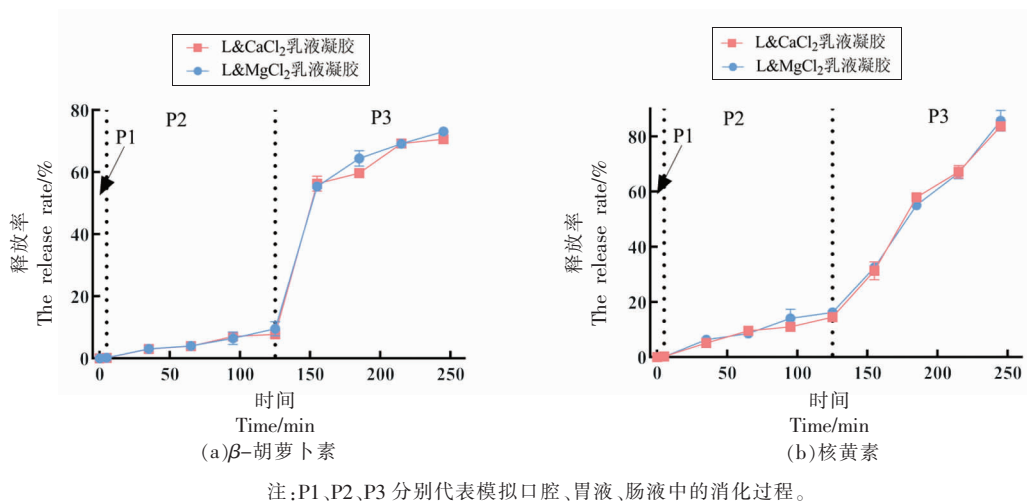


图 6 不同 SPI-SBP 乳液凝胶中功能因子释放率随体外消化时间的变化

Fig.6 The release rate of β -carotene and riboflavin in different SPI-SBP emulsion gels during digestion

浓度镁离子替换高浓度钙离子作为 SPI-SBP 乳液凝胶的诱导剂,在靶向小肠递送油水双相功能因子及控释特性方面是可行的,甚至是更优的。

3 结论

本研究利用漆酶与钙/镁离子双诱导的方式构建了 SPI-SBP 乳液凝胶,根据归一化的方法得到了质构特性综合凝胶值的计算模型。对比 L&CaCl₂ 双诱导乳液凝胶, L&MgCl₂ 双诱导乳液凝胶具有更短的凝胶时间、相似的流变特性,更均匀的微观结构及油滴分布、更佳的贮藏稳定及在小肠中更高的释放率。综合以上结果,本研究不仅构建了一种新型的乳液凝胶可以用于油水双相负载递送功能因子领域,同时论证了利用较低浓度镁离子(40 mmol/L)替换高浓度钙离子(50 mmol/L)的方案是可行的,甚至得到了具有更好理化和功能特性的 SPI-SBP 乳液凝胶。本研究为 SPI-SBP 乳液凝胶在油水双相负载递送功能因子领域的应用提供了理论依据,也为后续进一步在凝胶递送体系中利用低浓度镁离子替换高浓度钙离子的研究奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] YANG X, LI A Q, LI D, et al. Applications of mixed polysaccharide-protein systems in fabricating multi-structures of binary food gels -A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109: 197-210.
- [2] FARJAMI T, MADADLOU A. An overview on preparation of emulsion-filled gels and emulsion particulate gels[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 86: 85-94.
- [3] MAO L K, LU Y, CUI M N, et al. Design of gel structures in water and oil phases for improved delivery of bioactive food ingredients[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60 (10): 1651-1666.
- [4] 冯有楠, 苏春霞, 叶晶, 等. 乳液凝胶的力学性质及应用研究进展[J]. 中国食品学报, 2018, 18(11): 268-276.
FENG Y N, SU C X, YE J, et al. Research progress in the mechanical properties and application of emulsion-gel[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(11): 268-276.
- [5] CHEN H, GAN J, JI A G, et al. Development of double network gels based on soy protein isolate and sugar beet pectin induced by thermal treatment and laccase catalysis [J]. Food Chemistry, 2019, 292: 188-196.
- [6] TOTOSAUS A, MONTEJANO J G, SALAZAR J A, et al. A review of physical and chemical protein-gel induction[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2002, 37(6): 589-601.
- [7] 陈浩. 基于共价交联方式改善甜菜果胶乳化和凝胶性质的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016.
CHEN H. Improvement of emulsifying and gelation properties of sugar beet pectin based on covalent crosslinking[D]. Beijing: China Agricultural University, 2016.
- [8] 陈浩, 张凯华, 邱爽, 等. 甜菜果胶理化性质及加工适用性质研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(20): 295-299.
CHEN H, ZHANG K H, QIU S, et al. Study on the physicochemical and processing properties of sugar beet pectin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(20): 295-299.
- [9] 侯俊杰. 大豆蛋白-甜菜果胶相互作用及其对食品微结构及感官性质影响的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
HOU J J. Soy protein and sugar beet pectin interaction and its application in manipulating the microstructure and sensory perception of food [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [10] PAI V, SRINIVASARAO M, KHAN S A. Evolution of microstructure and rheology in mixed polysaccharide systems [J]. Macromolecules, 2002, 35 (5): 1699-1707.
- [11] ZHANG M H, YIN L J, YAN W J, et al. Preparation and characterization of a novel soy protein isolate-sugar beet pectin emulsion gel and its application as a multi-phased nutrient carrier[J]. Foods, 2022, 11(3): 469.
- [12] TSAI W C, RIZVI S S H. Simultaneous microencapsulation of hydrophilic and lipophilic bioactives in liposomes produced by an ecofriendly supercritical fluid process[J]. Food Research International, 2017,

- 99: 256–262.
- [13] BRITO-OLIVEIRA T C, BISPO M, MORAES I C F, et al. Stability of curcumin encapsulated in solid lipid microparticles incorporated in cold-set emulsion filled gels of soy protein isolate and xanthan gum[J]. *Food Research International*, 2017, 102: 759–767.
- [14] 陈浩, 卓婷焯, 邱爽, 等. 漆酶诱导大豆分离蛋白-甜菜果胶双网络凝胶的构建[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(11): 162–169.
- CHEN H, ZHUO T Y, QIU S, et al. Laccase-induced construction of edible double-network gels based on soy protein and sugar beet pectin[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(11): 162–169.
- [15] SRIAMORNSAK P. Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads [J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1999, 8(3): 221–227.
- [16] MOHAMMADIAN M, SALAMI M, EMAM-DJOMEH Z, et al. Gelation of oil-in-water emulsions stabilized by heat-denatured and nanofibrillated whey proteins through ion bridging or citric acid-mediated cross-linking[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 120: 2247–2258.
- [17] 高丽. 大豆蛋白的凝胶特性及其应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- GAO L. Studies on gel properties of soybean protein and its applications[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [18] WANG L, LIU H Z, LIU L, et al. Protein contents in different peanut varieties and their relationship to gel property[J]. *International Journal of Food Properties*, 2014, 17(7): 1560–1576.
- [19] 张露. 甜菜果胶的酶法改性及其乳化性能研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2014.
- ZHANG L. Enzymatic modification and emulsifying properties of sugar beet pectin[D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2014.
- [20] LU Y, MA Y G, ZHANG Y H, et al. Facile synthesis of zein-based emulsion gels with adjustable texture, rheology and stability by adding β -carotene in different phases [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 107178.
- [21] YAN W, ZHANG B, YADAV M P, et al. Corn fiber gum- soybean protein isolate double network hydrogel as oral delivery vehicles for thermosensitive bioactive compounds[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 107: 105865.
- [22] MOSCHAKIS T, BILIADERIS C G. Biopolymer-based coacervates: Structures, functionality and applications in food products [J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2017, 28: 96–109.
- [23] 王健. β -胡萝卜素乳液水凝胶微粒稳定性及消化特性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
- WANG J. Research on the stability and digestion properties of filled hydrogel particles loading with β -carotene emulsions[D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [24] 穆硕, 鹿瑶, 高彦祥, 等. 果胶和热处理对蛋白质乳液凝胶结构特性和复合维生素稳定性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(18): 29–34.
- MU S, LU Y, GAO Y X, et al. Effect of pectin and preheating on the structure and stability of mixed vitamins in protein emulsion gels [J]. *Food Science*, 2018, 39(18): 29–34.
- [25] BAI L, HUAN S, ROJAS O J, et al. Recent innovations in emulsion science and technology for food applications [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(32): 8944–8963.
- [26] LEAL-CALDERON F, CANSELL M. The design of emulsions and their fate in the body following enteral and parenteral routes [J]. *Soft Matter*, 2012, 8(40): 10213–10225.
- [27] KONG F, SINGH R P. Disintegration of solid foods in human stomach [J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(5): R67–R80.
- [28] 朱建华, 杨晓泉. 大豆 11S 蛋白-刺槐豆胶冷致共混凝胶控释核黄素性能的研究[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(11): 1429–1433.
- ZHU J H, YANG X Q. Study on control release property of riboflavin with cold-set soybean 11S protein-locust bean gum blend gel matrix[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2012, 28(11): 1429–1433.

Preparation of Laccase – Ca²⁺/Mg²⁺ Duo-induced Emulsion Gels and Application of Load Functional Factors in both Oil and Water Phase

Dai Shuhan, Gao Chong, Yin Lijun, Zhang Minghao*

(College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083)

Abstract In order to optimize the preparation process of emulsion gels, a soy protein isolate– sugar beet pectin emulsion gel was prepared by duo induction of laccase and Ca²⁺/Mg²⁺, and a model for the comprehensive property index of the emulsion gel textural properties was established based on the normalization method. High concentration of Ca²⁺ was replaced with lower concentration of Mg²⁺ to reduce the amount of ions added during the emulsion gel preparation. The results showed that compared with the laccase and Ca²⁺ duo-induced emulsion gel, the laccase and Mg²⁺ duo-induced emulsion gel had shorter gelation time (340 s), similar rheological properties, more uniform microstructure and oil droplet distribution, better storage stability and higher release rate in the small intestine (73.1% for β -carotene, 85.7% for riboflavin). This study not only prepared a novel emulsion gel that can be used as the multi-phased nutrient carrier, but also offered a possible solution of replacing high concentrations of Ca²⁺ with lower concentrations of Mg²⁺.

Keywords laccase and Ca²⁺/Mg²⁺ duo induction; emulsion gel; soy protein isolate; sugar beet pectin