

卡拉胶/速溶琼胶包埋体系负载茶多酚的特性

卢奕如¹, 倪 辉^{1,2,3,4}, 朱艳冰^{1,3,4}, 姜泽东^{1,3,4}, 李清彪^{1,3,4}, 郑明静^{1,3,4*}

¹集美大学海洋食品与生物工程学院 福建厦门 361021

²厦门海洋职业技术学院 福建厦门 361100

³福建省食品微生物与酶工程重点实验室 福建厦门 361021

⁴海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心 大连工业大学 辽宁大连 116034)

摘要 为提高茶多酚的稳定性和生物利用率,以卡拉胶和速溶琼胶分别复合乳清蛋白为壁材,制备茶多酚的包埋负载体系。以茶多酚包埋率为主要优化指标,考察卡拉胶和速溶琼胶复合乳清蛋白对茶多酚的负载效果。结果表明:卡拉胶-乳清蛋白包埋体系在 pH 2、芯壁比 1:20、壁材质量分数 6% 时,对茶多酚的负载效果最优,包埋率为 $(91.94 \pm 0.31)\%$ 。速溶琼胶-乳清蛋白包埋体系在 pH 4、芯壁比 1:25、壁材质量分数为 4% 时,包埋率最高,达到 $(98.48 \pm 0.39)\%$ 。抗氧化活性测定结果表明,卡拉胶和速溶琼胶复合体系的 DPPH 自由基清除率分别高至 $(49.55 \pm 0.00)\%$ 和 $(48.35 \pm 0.52)\%$,两者 ABTS 自由基清除率最高达到 $(90.90 \pm 0.23)\%$ 和 $(81.35 \pm 0.90)\%$,具有良好的抗氧化性能。说明卡拉胶-乳清蛋白包埋体系和速溶琼胶-乳清蛋白包埋体系均能够实现对茶多酚的有效保护,尤其是速溶琼胶体系。研究成果可为海藻胶体作为活性成分的递送壁材提供设计思路。

关键词 茶多酚;卡拉胶;速溶琼胶;乳清蛋白;抗氧化性

文章编号 1009-7848(2024)09-0040-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.09.004

茶多酚(Tea polyphenols)是茶叶中重要的功能成分之一,具有抗氧化、抗癌、抗菌、抗肥胖等生理活性^[1-3],然而,因其见光易分解,环境耐受性差,故在很大程度上限制其应用^[4]。现有研究发现,利用多糖-蛋白质包埋递送体系对茶多酚进行包埋,是解决该问题的有效手段^[5-6]。多糖-蛋白质包埋递送体系具有良好的生物相容性、生物降解性和控释性,可显著提高茶多酚的生物利用度^[5-6]。然而,目前茶多酚的包埋体系存在封装不均匀,包埋率低,胃肠道稳定性差和蛋白质载体失活等问题^[2,7]。亟需寻找理想的包埋壁材,提高茶多酚的包埋效果与稳定性。

卡拉胶与琼胶是世界上三大海藻胶工业产品之一,是海藻产业经济的重要支撑。卡拉胶(Carrageenans)又称角叉菜胶,是从海洋红藻中提取的

胶质类多糖,多作为凝固剂、增稠剂和稳定剂应用于食品工业、生物医学等领域^[8-10]。卡拉胶能够促进药物持续释放并延长保留时间,具有热稳定性和包埋性能,是药物吸附和包埋递送的理想载体^[11-14]。速溶琼胶(Instant agar)又叫低熔点速溶琼胶,具有溶解温度低,溶解性高,且与蛋白质互溶性好等特点,适用于低温生产工艺中食品、制药和生物制品的凝胶塑型^[15]。可见,卡拉胶与速溶琼胶可作为茶多酚包埋的潜在载体。关于卡拉胶与速溶琼胶等海藻胶复合蛋白包埋体系负载茶多酚未见研究报道,限制了海藻胶的高值化应用与产业发展。

本研究以卡拉胶、速溶琼胶分别复合乳清蛋白为包埋材料,通过反溶剂法对茶多酚进行负载,研究 pH 值、芯壁比和壁材质量分数因素对复合体系负载茶多酚的包埋效果及抗氧化活性的影响。预期结果不仅为海藻胶复合蛋白包埋体系的设计与开发提供思路,拓展海藻胶质类多糖的应用范围,还为高稳定性、高活性茶多酚产品的研发提供参考。

收稿日期: 2023-09-26

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32001713);
福建省科技重大专项专题项目(2020NZ012015);
厦门市海洋与渔业发展专项资金项目(21CZP005HJ07)

第一作者: 卢奕如,女,硕士

通信作者: 郑明静 E-mail: zmjfst@163.com

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

新西兰恒天然乳清蛋白粉(纯度为90%),苏州亿贝嘉食品添加剂有限公司;卡拉胶(LV-R-03型),绿新(福建)食品有限公司;速溶琼胶,(QS10X型);茶多酚(纯度 $\geq 98\%$),陕西嘉禾生物科技股份有限公司;氢氧化钠、盐酸、无水乙醇(均为分析纯),国药集团化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH),上海源叶生物科技有限公司;2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS⁺],阿拉丁试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

傅里叶红外光谱仪(Nicolet iS50型),赛默飞世尔科技公司;电子分析天平(BSA224S型),赛多利斯科学仪器有限公司;pH计(PHSJ-3F型),上海仪电科学仪器股份有限公司;酶标仪(Epoch 2T型),美国伯腾仪器有限公司;扫描电子显微镜(Regulus8230),HITACHI公司;磁力搅拌器(MMS6pro型),群安仪器实验有限公司;超声波清洗器(KQ800KDE型),昆山市超声仪器有限公司;真空冷冻干燥机(Free Zone 6 plus),美国Labconco公司。

1.3 试验方法

1.3.1 卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白包埋茶多酚体系的制备 茶多酚-乳清蛋白纳米颗粒的制备参考李兴飞等^[16]的方法稍作修改。配制质量分数为2.0%的乳清蛋白溶液,75℃水浴搅拌溶解、磁力搅拌10 min、冷却、离心(3 000 r/min, 20 min)后取上清液。在避光条件下,按茶多酚/乳清蛋白(芯壁比)质量比1:5配制溶液50 mL,加入10 mL去离子水,磁力搅拌10 min后加入到乳清蛋白上清液,置于暗处600 r/min磁力搅拌2 h,得到茶多酚-乳清蛋白溶液。

同时,配制2%的碳酸钠水溶液,将其与无水乙醇以3:7(V/V)混合,制备得到分散均匀的碳酸钠乙醇悬浮液。将悬浮液按照1:5(V/V)加入到上述的茶多酚-乳清蛋白溶液中,于暗处磁力搅拌10 min使其充分混合,得到混合溶液1。在磁力搅拌条件下,将以上制备的混合溶液1按照1:20(V/V)

V)分多次加入到去离子水中,使其通过反溶剂法分散形成纳米颗粒^[16]。

配制质量分数为0.2%的卡拉胶/速溶琼胶溶液,按照1:5(V/V)与上述制备的混合溶液于暗处磁力搅拌10 min至混合均匀。用2 mol/L的HCl或1 mol/L的NaOH调节pH值,获得负载茶多酚的卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系。

1.3.2 单因素实验

1.3.2.1 pH值对包埋效果的影响 研究pH值(2,4,6,8,10)对负载茶多酚的卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系包埋率的影响:壁材质量分数2.0%、芯壁比1:15(质量比)、卡拉胶/速溶琼胶添加量0.2%、均质时间10 min。

1.3.2.2 芯壁比对包埋效果的影响 分析芯壁比(质量比1:5,1:10,1:15,1:20和1:25)对负载茶多酚的卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系包埋率的影响:壁材质量分数2.0%、卡拉胶/速溶琼胶添加量0.2%、均质时间10 min、pH值为上述包埋效果最佳的条件。

1.3.2.3 壁材质量分数对包埋效果的影响 研究壁材质量分数(2.0%,4.0%,6.0%,8.0%和10.0%)对负载茶多酚的卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系包埋率的影响:卡拉胶/速溶琼胶添加量0.2%、均质时间10 min、pH值和芯壁比为上述包埋效果最佳的条件。

1.3.3 茶多酚含量及包埋率测定

1.3.3.1 标准曲线的绘制 通过福林酚法测定茶多酚含量^[17]。配制质量分数为0,10,20,30,40,50,100,150和200 $\mu\text{g/mL}$ 的没食子酸溶液。取1 mL标准溶液于10 mL容量瓶中,加入1 mL福林酚显色剂及3 mL 7.5% Na_2CO_3 后,用去离子水定至10 mL,混匀后避光反应2 h。于波长765 nm处测定吸光度,测得没食子酸溶液质量分数(X)和吸光度(Y)之间的关系,线性回归方程为 $Y = 0.01395X + 0.01167$, $R^2 = 0.99708$,线性较好。

1.3.3.2 福林酚法测茶多酚包埋率 取0.5 mL纳米颗粒悬浮液(样品+对照)于离心管中,12 000 r/min离心10 min,取上清液0.3 mL于10 mL容量瓶,加入1 mL福林酚显色剂,3 mL 7.5% Na_2CO_3 后,用蒸馏水定容,摇匀静置反应2 h。于765 nm处测吸光度,根据没食子酸标准曲线计算溶液中

游离的茶多酚的质量,不含茶多酚的复合样品作为对照^[18]。计算公式如下:

$$EE(\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad (1)$$

式中:EE为包埋率,%; M_i 为加入的茶多酚总量,g; M_f 为上清液中的茶多酚量,g。

1.3.4 抗氧化能力测定

1.3.4.1 ABTS清除率 配制0.2 mol/L NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 (pH 7.0)、7 mmol/L ABTS。将配制好的ABTS溶液与配制好的 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液等比例混合,在室温避光处黑暗放置12~16 h,制备成 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 储液。 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 储液使用时,用0.2 mol/L NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 (pH 7.0)稀释至在波长734 nm处吸光值为 0.70 ± 0.02 。0.1 mL样品加入1 mL $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 工作液,混匀后于37℃水浴1 h,12 000 r/min离心5 min,在波长734 nm处测得吸光度 A_1 。用去离子水代替样品测得吸光度 A_0 ^[19]。ABTS清除率计算公式如下:

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = (1 - \frac{A_1}{A_0}) \times 100 \quad (2)$$

1.3.4.2 DPPH清除率 配制DPPH乙醇溶液,0.5 mL样液和0.5 mL 0.1 mmol/L DPPH乙醇溶液混合均匀,室温下避光反应0.5 h,12 000 r/min离心5 min,取上清液于517 nm处测定吸光值 A_1 ,用去离子水代替样品溶液测得的吸光值为 A_0 ^[20]。DPPH清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = (1 - \frac{A_1}{A_0}) \times 100 \quad (3)$$

1.3.5 傅里叶红外光谱分析 (FTIR) 卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合物冻干样品,单一茶多酚、乳清蛋白、卡拉胶和速溶琼胶,按照1:100的比例与干燥KBr混匀研碎后压片,进行红外光谱测定。光谱测定范围4 000~400 cm^{-1} ,分辨率为4 cm^{-1} ^[21]。

1.3.6 扫描电镜 (SEM) 观察卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系的微观结构形态。将冻干样品黏附在金属导电台上进行喷金,加速电压由低到高逐步升至10 kV,对样品进行扫描及图像采集^[15]。

1.4 数据分析

每个试验至少重复3次。作图采用Origin 2021软件,应用Microsoft Office Excel 2021、IBM

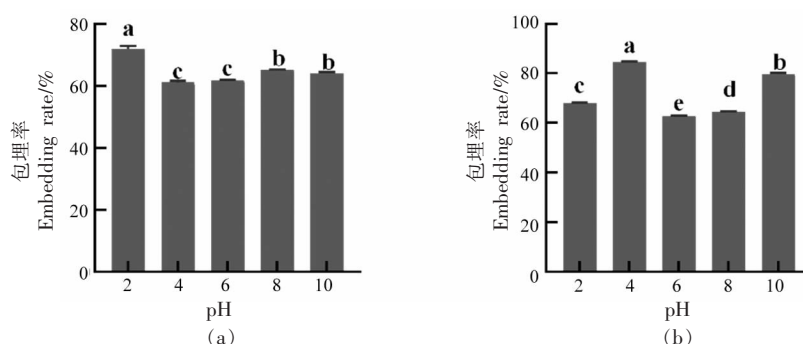
SPSS Statistics 26软件对试验数据处理分析,采用Tukey多重比较进行各数据之间的显著性对比, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系包埋茶多酚效果影响因素的研究

2.1.1 pH值对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响 研究pH值对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响,结果如图1所示。卡拉胶-乳清蛋白复合体系在pH 2时表现出最优的茶多酚包埋效果,约为 $(72.80 \pm 0.56)\%$;由酸性条件向碱性条件转变时,复合体系中的茶多酚包埋量呈现逐渐上升后下降的趋势。与卡拉胶复合体系不同,速溶琼胶-乳清蛋白复合体系中茶多酚包埋率在不同pH值条件下出现先上升后下降再上升的趋势,在pH 4时有最大包埋率 $(84.19 \pm 0.86)\%$,相较于卡拉胶-乳清蛋白复合体系高出11.39% ($P < 0.05$)。这可能是因为卡拉胶的稳定性受pH值影响较大,在酸性介质中容易发生酸性水解,导致被包载的茶多酚暴露在混合溶液中,造成包埋率降低^[22]。此外,速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率较高,这是因为速溶琼胶与蛋白质的互溶性更高^[23],有助于多糖、酚类和蛋白质三者之间更加紧密的结合,实现更好的包埋效果^[24]。

2.1.2 芯壁比对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响 芯壁比对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响如图2所示。由图可知,卡拉胶和速溶琼胶两个复合体系中的茶多酚包埋率均随着芯壁比的减小,呈现先上升后下降的趋势,在芯壁比为1:20和1:25时达到最佳的包埋状态,分别为 $(76.16 \pm 0.28)\%$ 和 $(98.09 \pm 0.15)\%$ 。当芯壁比较小时,溶液黏度增大,复合体系中各物质之间易造成团聚,在分离过程中造成包埋体系的破损,导致包埋率较低;而当芯材与壁材比例过大时,芯材无法被完全包载,茶多酚容易外露,导致包埋率降低,这与Zhang等^[24]和杨蕙菱^[25]的试验结果呈现出相同的趋势。值得注意的是,速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率均高于卡拉胶-乳清蛋白复合体系,说明速



注: a 为卡拉胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系; b 为速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系; 图中不同小写字母代表差异显著, $P < 0.05$; 反之则不显著, $P > 0.05$, 下同。

图 1 pH 值对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响

Fig.1 Effect of pH on the embedding rate of tea polyphenols in carrageenan/instant agar-whey protein composite system

溶琼胶作为包埋载体具有更大的优势。原因可能是卡拉胶在酸性条件下的稳定性较差, 部分降解导致包埋效果变差。在 Liu 等^[26]的研究中也发现以蛋清蛋白和 κ -卡拉胶制备的复合膜在酸性和中

性环境下的成膜能力差。本试验结果进一步说明速溶琼胶在酸性条件表现出比卡拉胶更好的稳定性, 在不良条件下的应用范围更广。

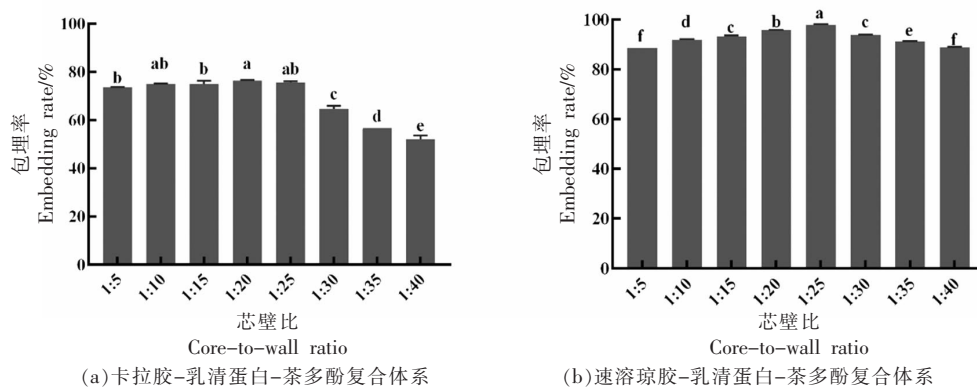


图 2 芯壁比对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响

Fig.2 Effect of core-to-wall ratio on tea polyphenol embedding rate of carrageenan/instant agar whey protein composite system

2.1.3 壁材质量分数对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响 壁材(乳清蛋白)质量分数的变化对复合体系茶多酚包埋率的影响如图 3 所示。由图 3a 分析可知, 随着壁材质量分数(2%~10%)的增大, 卡拉胶-乳清蛋白复合体系对茶多酚的包埋率逐渐增加, 当壁材质量分数为 6% 时茶多酚包埋率达到最大值, 为 $(91.94 \pm 0.31)\%$, 显著提高了 15.78% ($P < 0.05$)。继续提高壁材质量分数后茶多酚包埋率趋于稳定, 可能是随着乳清蛋白质量分数增大, 体系黏度增大, 流动性随着壁材质量分数的增加而降低, 茶多酚

与乳清蛋白间的接触融合接近饱和状态, 不利于复合体系的制备, 无法实现更多的包载^[27]。图 3b 显示, 速溶琼胶-乳清蛋白复合体系中壁材质量分数在 2% 时出现最大值 $(98.48\% \pm 0.39\%)$, 之后出现逐渐下降的趋势。另外, 速溶琼胶-乳清蛋白复合体系的茶多酚包埋率均高于卡拉胶-乳清蛋白复合体系, 可能是因为速溶琼胶质地疏松多孔, 暴露的表面积更多, 提供了更多与茶多酚和乳清蛋白结合的作用位点^[28]。但随着乳清蛋白质量分数的增大, 溶液变得黏稠, 流动性减小, 限制了茶多酚与其它组分的结合, 导致包埋效果减弱。

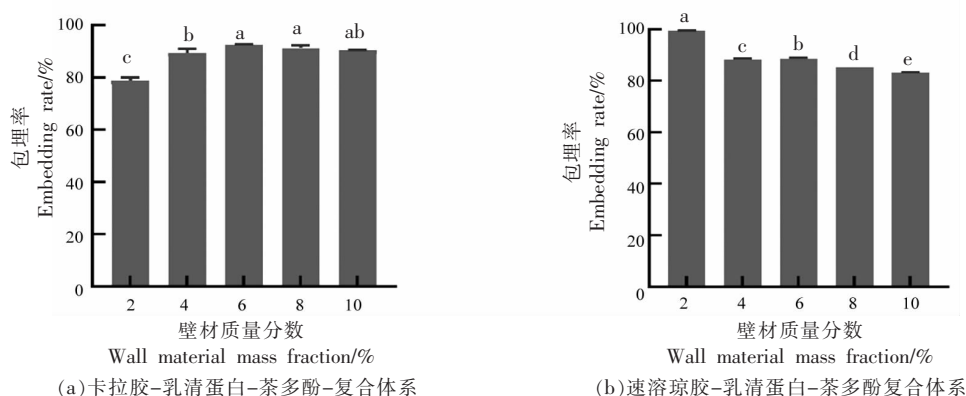


图3 壁材质量分数对卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白复合体系茶多酚包埋率的影响

Fig.3 Effect of wall material mass fraction on the embedding rate of tea polyphenols in carrageenan/instant agar -whey protein composite system

2.2 卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系的抗氧化能力

基于 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除能力,研究卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系的体外抗氧化活性。如图 4 所示,对照样品本身具有一定的抗氧化活性,其抗氧化活性主要来源于乳清蛋白,而 pH 值、蛋白质浓度和加热温度对乳清蛋白的抗氧化性能具有显著影响^[29]。与不含茶多酚的复合体系相比,不同壁材质量分数制备的卡拉胶和速溶琼胶复合体系均显示出更强的 ABTS 自由基清除能力。研究表明多酚和蛋白质相互作用形成的复合物相比于单一的蛋白质具有更好的抗氧化性,可能是多酚中羟基的引入使得三元复合物的抗氧化活性增强^[30]。这与本试验的结果相一致,尤其是当卡拉胶和速溶琼胶复合体系中的乳清蛋白质量分数分别增加至 6%和 10%后,卡拉胶-乳清蛋白复合体系和速溶琼胶-乳清蛋白复合体系的 ABTS 自由基清除率分别增强至 $(90.90 \pm 0.23)\%$ 和 $(81.35 \pm 0.90)\%$ 。

由图 4a 可知,卡拉胶复合体系的 ABTS 自由基清除活性随着壁材质量分数的增大逐渐上升,在 6%乳清蛋白时达到最大的抗氧化活性后趋于平稳。出现这一现象的原因可能是当壁材质量分数达到 6%时体系中的茶多酚、乳清蛋白和卡拉胶三者间的相互键合已经达到饱和的状态,无法再包载更多的茶多酚,使得包埋率逐渐趋于平衡。而由图 4b 可知,速溶琼胶-乳清蛋白复合体系的

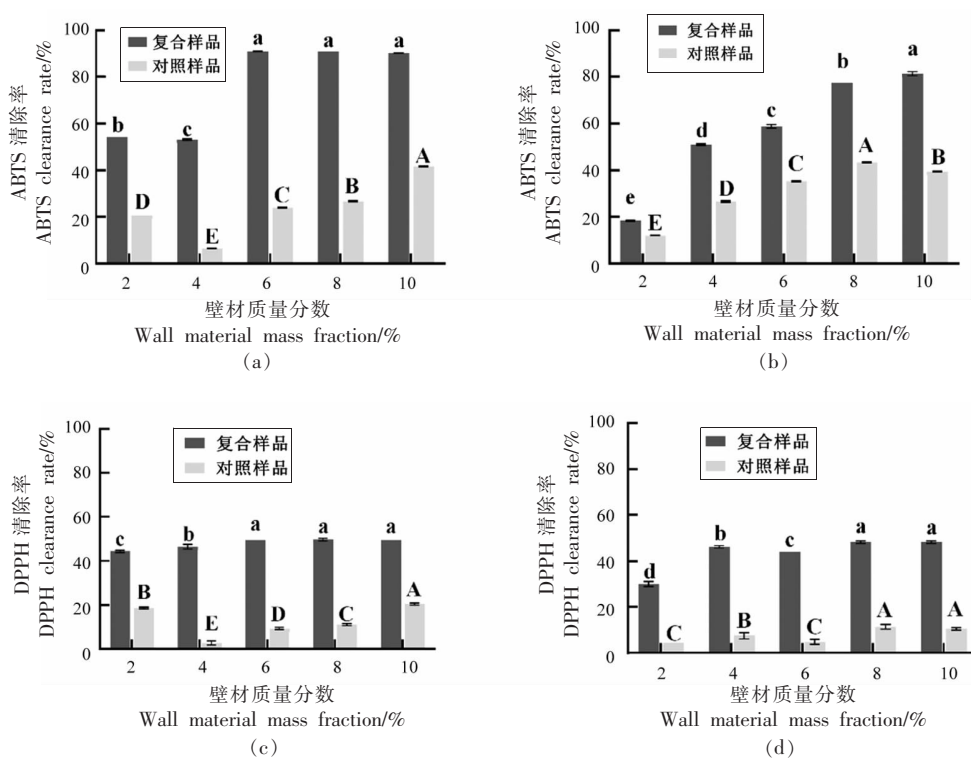
ABTS 自由基清除能力随着乳清蛋白浓度的增加而增大,具有浓度依赖性,可能的原因在于速溶琼胶复合体系芯壁比为 1:25 时,茶多酚浓度相对较少且未达到包埋体系对其的最大负载能力,因此体系的 ABTS 自由基清除能力随着壁材质量分数的增大而增大,这也说明了卡拉胶和速溶琼胶复合体系的 ABTS 清除率趋势未与包埋率结果相对应的原因。

由图 4c 和图 4d 可知,卡拉胶-乳清蛋白和速溶琼胶-乳清蛋白复合体系的 DPPH 清除能力较弱,在壁材质量分数为 6%和 8%时达到最大值,分别为 $(49.55 \pm 0.00)\%$ 和 $(48.35 \pm 0.52)\%$ 。其中,卡拉胶-乳清蛋白复合体系的 DPPH 清除率随着壁材质量分数的增大而增大,在壁材质量分数为 6%时达到最大值后逐渐平衡。速溶琼胶复合体系的 DPPH 自由基清除能力也随着壁材质量分数的增大而增加,在 6%时略有下降,之后又上升并趋于平稳。这可能是因为随着乳清蛋白质量分数的增大,蛋白质团聚程度增加,复合体系的 DPPH 清除率在达到最大值后趋于平衡^[29]。

2.3 最佳包埋率下所得复合物的结构表征

在最佳包埋率下制得的茶多酚-乳清蛋白-卡拉胶/速溶琼胶复合物,采用 SEM、FT-IR 对其结构性能进行表征。

2.3.1 傅里叶红外光谱(FT-IR) 图 5 是卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系及对照样品(不含茶多酚)、茶多酚、乳清蛋白的红外光谱图。



注:图 a、c 为卡拉胶-乳清蛋白复合体系及对照样品(不含茶多酚);b、d 为速溶琼胶-乳清蛋白复合体系及对照样品(不含茶多酚);图中不同大写字母表示对照样品清除率差异显著, $P < 0.05$;反之则不显著, $P > 0.05$ 。

图 4 卡拉胶/速溶琼胶复合样品抗氧化能力

Fig.4 Anti-oxidation capacity of carrageenan/ instant agar embedding systems

从卡拉胶-乳清蛋白和速溶琼胶-乳清蛋白包埋体系的红外光谱可以看出,卡拉胶和速溶琼胶复合体系(不含茶多酚)在 $3295, 2927, 1654, 1076 \text{ cm}^{-1}$ 等特征峰的位置发生了偏移,表明蛋白质和多糖之间发生了相互作用^[31]。芯材茶多酚在 3401 cm^{-1} 处存在 O-H 特征峰, $1613 \sim 1454 \text{ cm}^{-1}$ 处特征峰对应 C=C 伸缩振动, 1240 cm^{-1} 处为 C-O 特征峰^[32]。而在卡拉胶和速溶琼胶复合体系的红外谱图中,茶多酚在 1613 cm^{-1} 和 1024 cm^{-1} 处的特征峰均没有出现,说明茶多酚被成功包埋,这与 Wang 等^[33]的结果相一致。而复合体系的特征吸收峰发生蓝移,说明三者之间产生了相互作用力。

由图观察可知, $3600 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$ 出现的宽峰对应的是 O-H 的伸缩振动,是多糖分子的特征区。红外光谱显示,乳清蛋白有 6 个特征吸收峰,分别是 3295 cm^{-1} 处的 N-H 拉伸振动、 $2930 \sim 2870 \text{ cm}^{-1}$ 范围内的 C-H 振动、 1654 cm^{-1} 的 C=O 拉伸振动、 1535 cm^{-1} 的酰胺 I 带中的 C-N 拉伸振动与 N-H 弯曲振动和 1076 cm^{-1} 的 C-N 拉伸

振动^[34]。乳清蛋白在 3295 cm^{-1} 处的特征峰,在与茶多酚、卡拉胶、速溶琼胶进行键合之后,吸收峰分别移动至 $3304, 3335 \text{ cm}^{-1}$,说明多酚-蛋白质-多糖三元键合可能会影响乳清蛋白的氢键,减弱其亲水能力,并增强乳清蛋白分子之间的相互作用^[35],同时也说明复合体系中各组分之间发生了化学反应。结果表明,乳清蛋白和茶多酚的共价相互作用导致蛋白酰胺 I ($1600 \sim 1700 \text{ cm}^{-1}$) 和酰胺 II ($1500 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$) 区域特征条带的变化,这与 Yue 等^[31]的结果相一致,表明茶多酚和乳清蛋白的 N-H、C-O 或 COO-基团相互作用,导致蛋白质构象变化。酰胺 I 带和酰胺 II 的红外吸收峰变化反映蛋白质的二级结构发生变化,由图可知,茶多酚和多糖的加入引起乳清蛋白酰胺 II 带从 1535 cm^{-1} 分别红移至 1532 cm^{-1} 和 1531 cm^{-1} ,这可能是由于静电相互作用及氢键作用导致的,说明多酚和多糖的加入引起了乳清蛋白二级结构的变化^[36-37]。而酰胺带的部分红移说明复合体系趋于更加稳定的状态,可能是因为卡拉胶/速溶琼胶-乳

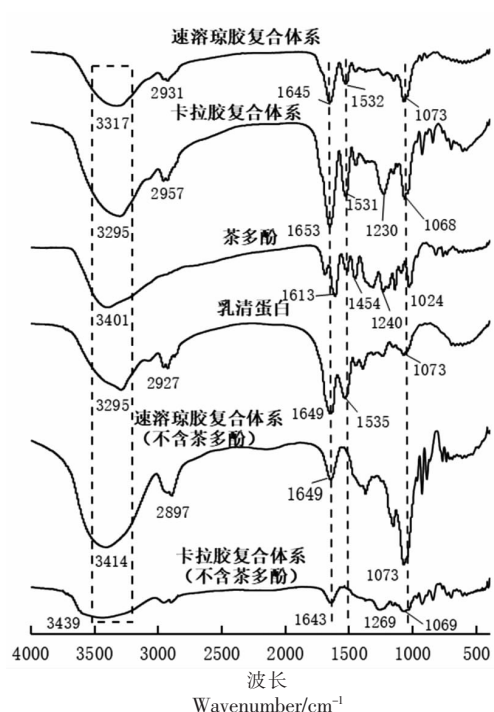


图5 茶多酚,乳清蛋白,卡拉胶/速溶琼胶复合样品的红外图谱

Fig.5 FTIR spectra of tea polyphenols, whey protein, carrageenan/ instant agar embedding systems

清蛋白的结构特征更易与茶多酚进行反应,从而实现了有效包埋,这也在一定程度上提高了复合体系的抗氧化活性^[38]。

2.3.2 扫描电镜 (SEM) 选取壁材质量分数为6%和10%的卡拉胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系和速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系,通过扫描电镜观察冷冻干燥样品的表面形貌,如图6所示。随着壁材乳清蛋白添加量的变化,不同样品在颗粒表面形态、大小及分布等方面存在差异。卡拉胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系在壁材乳清蛋白质量分数为6%时的颗粒大小不一,颗粒呈现方形结构,表面光滑,且颗粒之间相互紧密连接成粘连的状态,这可能是因为此时复合体系中乳清蛋白质量分数较大,颗粒间的疏水作用较强,在制样干燥的过程中发生了疏水聚集现象^[39]。随着乳清蛋白质量分数的增加,参与运动的蛋白质分子增加,卡拉胶复合体系颗粒聚集程度增大,颗粒大多数为球形,颗粒之间的连接更为紧密,且颗粒变小,密度增大,说明随着乳清蛋白质量分数的增大,茶多

酚-乳清蛋白复合体系能与卡拉胶实现更多的结合,形成更紧凑的颗粒结构^[35,40]。相较于卡拉胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系,速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系在壁材质量分数为6%的情况下,复合体系颗粒出现重叠,大部分为球形,数量更多,颗粒更小;随着质量分数增加至10%,复合体系颗粒呈现出3D网络状的聚集体结构。结合之前的抗氧化活性测定结果分析,卡拉胶/速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系在乳清蛋白为10%的时候,均具有较好的DPPH自由基和ABTS自由基清除能力,这与扫描电镜结果相符合,在此条件下的复合体系中的颗粒数量多,分布均匀,能够提供更多的作用位点,提高抗氧化性能。

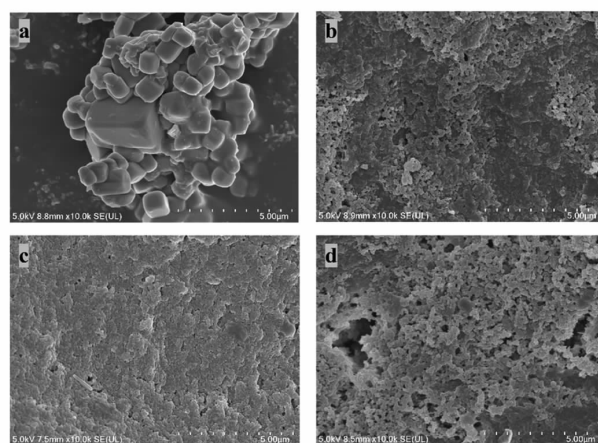


图6 卡拉胶复合样品(a:壁材质量分数6%;b:壁材质量分数10%)、速溶琼胶复合样品(c:壁材质量分数6%;d:壁材质量分数10%)

Fig.6 Carrageenan composite sample (a: wall mass fraction 6%; b: wall mass fraction 10%), instant agar composite sample (c: wall mass fraction 6%; d: wall mass fraction 10%)

3 结论

采用反溶剂法,通过卡拉胶/速溶琼胶与乳清蛋白之间的相互作用,制备了负载茶多酚的包埋体系。试验结果表明,复合体系的最佳试验条件为:卡拉胶-乳清蛋白-茶多酚的制备pH值为2,芯壁比为1:20,壁材质量分数为6%。速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚的pH值为4,芯壁比为1:25,壁材质量分数为2%。在此条件下卡拉胶和速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系具有最高的包埋

率,分别为(91.94±0.31)%和(98.48±0.39)%。抗氧化活性结果表明,卡拉胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系在壁材质量分数为6%时的DPPH清除率和ABTS清除率最高,分别为(49.55±0.00)%和(90.90±0.23)%。而速溶琼胶-乳清蛋白-茶多酚复合体系在6%的壁材质量分数时的DPPH清除率为(48.35±0.52)%,壁材质量分数为8%时ABTS自由基清除率为(81.35±0.90)%。与相应的对照样品相比,复合体系的抗氧化性显著提高。红外光谱结果显示,相较于茶多酚和乳清蛋白,卡拉胶和速溶琼胶复合体系中部分波峰发生迁移,说明茶多酚、乳清蛋白与卡拉胶和速溶琼胶之间发生了共价作用并实现了有效包埋。扫描电镜结果显示,随着壁材乳清蛋白质量分数的增大,两种复合体系的颗粒数量增加,聚集程度增大,颗粒多数呈现为球形。本试验构建的基于乳清蛋白、卡拉胶或速溶琼胶的递送体系能够实现对茶多酚的高效包埋,速溶琼胶复合体系对茶多酚的包埋效果优于卡拉胶复合体系,两种复合体系具有较好的抗氧化性能,在一定程度上提高了茶多酚的生物利用度,为其在食品工业及生物医药领域的扩展应用提供了理论依据。

参 考 文 献

- [1] TRISHA A T, SHAKIL M H, TALUKDAR S, et al. Tea polyphenols and their preventive measures against cancer: current trends and directions[J]. *Foods*, 2022, 11(21): 3349.
- [2] ZHANG W N, LIU Y N, ZHANG X, et al. Tea polyphenols-loaded nanocarriers: Preparation technology and biological function[J]. *Biotechnology Letters*, 2022, 44(3): 387-398.
- [3] OLCHA P, WINIARSKA-MIECZAN A, KWIECIEN M, et al. Antioxidative, anti-inflammatory, anti-obesogenic, and antidiabetic properties of tea polyphenols-the positive impact of regular tea consumption as an element of prophylaxis and pharmacotherapy support in endometrial cancer[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(12): 6703.
- [4] WANG F Y, REN Y, LAN R T, et al. Controlled bacteriostasis of tea polyphenol loaded ultrahigh molecular weight polyethylene with high crosslink density and oxidation resistance for total joint replacement[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2021, 124: 112040.
- [5] YIN C Y, CHENG L, ZHANG X, et al. Nanotechnology improves delivery efficiency and bioavailability of tea polyphenols[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020, 44(9): e13380.
- [6] SHANG J G, ZHONG F, ZHU S, et al. Formation, structural characteristics and physicochemical properties of beeswax oleogels prepared with tea polyphenol loaded gelators[J]. *Food & Function*, 2021, 12(4): 1662-1671.
- [7] QI C Y, LIU G Y, PING Y, et al. A comprehensive review of nano-delivery system for tea polyphenols: construction, applications, and challenges[J]. *Food Chemistry: X*, 2023, 17: 100571.
- [8] 刘盼盼, 张书俐, 高莉, 等. 卡拉胶水凝胶在生物医学领域中的应用进展[J]. *功能材料*, 2022, 53(3): 3066-3073.
- LIU P P, ZHANG S L, GAO L, et al. Progress in the application of carrageenan hydrogels in biomedicine[J]. *Journal of Functional Materials*, 2022, 53(3): 3066-3073.
- [9] 王帅棋, 李裕. 卡拉胶凝胶性能及应用的研究进展[J]. *当代化工研究*, 2020(22): 125-126.
- WANG S Q, LI Y. Research progress on the properties and applications of carrageenan gel[J]. *Modern Chemical Research*, 2020(22): 125-126.
- [10] GOEL A, MEHER M K, GUPTA P, et al. Microwave assisted kappa-carrageenan capped silver nanocomposites for eradication of bacterial biofilms[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 206: 854-862.
- [11] EL-MAADAWY M W, MOHAMED R R, HANNA D H. Preparation of carrageenan/chitosan-based (n, n, n-trimethyl chitosan chloride) silver nanocomposites as pH sensitive carrier for effective controlled curcumin delivery in cancer cells[J]. *OpenNano*, 2022, 7: 100050.
- [12] ZHANG D J, CHEN H B, ZHANG L D, et al. Loadings of lycopene in emulsion and sodium alginate-k-carrageenan composite systems: preparation, characterization, bioaccessibility, and kinetics[J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(6): 2463-2473.
- [13] AMANDA P, ISMADI I, NINGRUM R S, et al. Carrageenan functional film integrated with pickering

- emulsion of oregano oil stabilized by cationic nanocellulose for active packaging[J]. Food Science and Technology International, 2022, 30(1): 61–72.
- [14] CHENG C, CHEN S, SU J Q, et al. Recent advances in carrageenan-based films for food packaging applications[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 1004588.
- [15] 童金华, 刘晓婷, 安凤平, 等. 响应面法优化改性制备低熔点、软凝胶琼脂[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(20): 90–94.
- TONG J H, LIU X T, AN F P, et al. Response surface methodology optimization for modifying agar with low solution temperature and soft gelling properties[J]. Food Research and Development, 2018, 39(20): 90–94.
- [16] 李兴飞, 陈斌, 陈国靖, 等. 高粱醇溶蛋白-卡拉胶复合纳米颗粒负载姜黄色素的特性研究[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(3): 45–51.
- LI X F, CHEN B, CHEN G J, et al. Characteristic study curcumin loaded by kafirin-carrageenan composite nanoparticles [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(3): 45–51.
- [17] 陆敏, 王利强. 茶多酚/壳聚糖/海藻酸钠纳米微球的制备[J]. 包装工程, 2017, 38(19): 47–51.
- LU M, WANG L Q. Preparation of tea polyphenol/chitosan/alginate nano-microspheres[J]. Packaging Engineering, 2017, 38(19): 47–51.
- [18] 赵建波, 姜海鑫, 吴慧彬, 等. 负载褐藻多酚的麦醇溶蛋白纳米递送体系的制备及特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(5): 136–141.
- ZHAO J B, JIANG H X, WU H B, et al. Preparation and characterization of phlorotannins loaded gliadin nano-delivery system[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(5): 136–141.
- [19] ZHAO W J, ZHANG W Y, LIU L, et al. Fractionation, characterization and anti-fatigue activity of polysaccharides from *Brassica rapa* L[J]. Process Biochemistry, 2021, 106: 163–175.
- [20] 高瑾, 梁宏闪, 赵靖昀, 等. 玉米醇溶蛋白-多酚相互作用及复合物制备与表征[J]. 食品科学, 2022, 43(2): 8–17.
- GAO J, LIANG H S, ZHAO J Y, et al. Interactions between zein and polyphenols and characterization of their complexes[J]. Food Science, 2022, 43(2): 8–17.
- [21] 洪金玲, 何慧琪, 翁武银, 等. 不同粒径的柚子皮全粉对鱼丸品质特性和蛋白二级结构的影响[J]. 中国食品学报, 2022, 22(7): 123–132.
- HONG J L, HE H Q, WENG W Y, et al. Effects of pomelo peel powder with different particle sizes of on quality characteristics and protein secondary structure of fish balls[J]. Chinese Journal of Food Science, 2022, 22(7): 123–132.
- [22] 苏生显, 许永安. 红藻胶的理化特性及应用研究进展[J]. 现代农业科技, 2013(10): 279–280.
- SU S X, XU Y A. Research progress of physico-chemical properties and application on furcelleran[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2013(10): 279–280.
- [23] 王露楠. 低温速溶琼胶的制备、表征及其对罗非鱼鱼糜凝胶性能的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2021: 69.
- WANG L N. Preparation and characterization of instant agar and the effect on gel properties of tilapia surimi [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2021: 69.
- [24] ZHANG M, LOU B, ZHANG Y, et al. Preparation and characterization of sparassis latifolia β -glucan microcapsules [J]. Open Chemistry, 2022, 20(1): 351–360.
- [25] 杨蕙菱. 红树莓花色苷的抗氧化与稳定性研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2019: 83.
- YANG H L. Study on antioxidant and stability properties of red raspberry anthocyanin[D]. Chongqing: Chongqing University, 2019: 83.
- [26] LIU L, HUANG X, GENG F, et al. Optimization of preparation process of egg white protein/ κ -carrageenan composite film[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 46(9): e16167.
- [27] 张潇元, 潘悦, 朱鸿维, 等. 维生素E纳米乳液冻干粉末的制备及结构特性研究[J]. 中国食品学报, 2020, 20(8): 118–129.
- ZHANG X Y, PAN Y, ZHU H W, et al. Studies on preparation and structural properties of vitamin E nanoemulsion freeze-dried power[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(8): 118–129.
- [28] 徐博, 张闻修, 李春, 等. 螺杆挤压生产高凝胶强度的低温溶解江蓠属琼脂[J]. 农业工程学报, 2013, 29(2): 280–286.
- XU B, ZHANG W X, LI C, et al. Production of agar with low-temperature solubility and high

- strength from gracilaria by screw extrusion[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2013, 29(2): 280–286.
- [29] GAO F, ZHANG X F, WANG J Q, et al. Systematical characterization of functional and antioxidative properties of heat-induced polymerized whey proteins[J]. Food Science and Biotechnology, 2018, 27(6): 1619–1626.
- [30] XU Y J, HAN M Y, HUANG M Y, et al. Enhanced heat stability and antioxidant activity of myofibrillar protein-dextran conjugate by the covalent adduction of polyphenols[J]. Food Chemistry, 2021, 352: 129376.
- [31] YUE Z, XU W, DAN L, et al. Effect of anionic polysaccharides on conformational changes and antioxidant properties of protein-polyphenol binary covalently-linked complexes[J]. Process Biochemistry, 2020, 89(3): 89–97.
- [32] 俞杨销, 宋功吉, 张子凡, 等. 壳聚糖/明胶/茶多酚复合膜的溶胀溶失性能[J]. 现代纺织技术, 2022, 30(1): 70–77.
- YU Y X, SONG G J, ZHANG Z F, et al. Study of swelling and weight loss of chitosan/gelatin/tea polyphenol composite films[J]. Advanced Textile Technology, 2022, 30(1): 70–77.
- [33] WANG X J, LI M, LIU F G, et al. Fabrication and characterization of zein-tea polyphenols-pectin ternary complex nanoparticles as an effective hyperoside delivery system: formation mechanism, physicochemical stability, and in vitro release property[J]. Food Chemistry, 2021, 364: 130335.
- [34] 黄贞贞. 卵清蛋白-多酚-多糖复合乳液体体系构建表征及其结肠靶向特性研究[D]. 广州: 广州大学, 2022: 104.
- HUANG Z Z. Characterization of ovalbumin-polyphenol-polysaccharide composite emulsion system and its colonic targeting properties[D]. Guangzhou: Guangzhou University, 2022: 104.
- [35] SU J Q, WANG L L, DONG W X, et al. Fabrication and characterization of ultra-high-pressure (uhp)-induced whey protein isolate/kappa-carrageenan composite emulsion gels for the delivery of curcumin[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 839761.
- [36] 孙骁潇. 海洋多糖纳米复合物的构建及其负载脂溶性药物研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2020: 79.
- SUN X X. Study on the construction of polysaccharides nanometer complex and its load of lipid-soluble drugs[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2020: 79.
- [37] 王余, 赵佩月, 雷时成, 等. 茶黄素-大豆分离蛋白复合物涂膜对香菇贮藏品质的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 44(8): 1–14.
- WANG Y, ZHAO P Y, LEI S C, et al. Effect of theaflavins-soy protein isolate complex coating on the quality of lentinus edodes[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 44(8): 1–14.
- [38] 李菊名. 热处理大豆分离蛋白-EGCG复合物的制备及其作为功能性载体的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021: 85.
- LI J M. Fabrication of heat-treated soy protein isolate-EGCG conjugates and its study as functional carrier [D]. Guangzhou: South China University, 2021: 85.
- [39] 刘钱媛. 负载紫檀芪的玉米醇溶蛋白-褐藻糖胶纳米颗粒制备及生物活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022: 144.
- LIU Q Y. Study on the fabrication and biological activity of pterostilbene-loaded zein-funcoidan nanoparticles[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022: 144.
- [40] FENG T, WU K, XU J Y, et al. Low molecular weight kappa-carrageenan based microspheres for enhancing stability and bioavailability of tea polyphenols[J]. Processes, 2021, 9(7): 1240.

Characterization of Carrageenan/ Instant Agar Embedding Systems Loaded with Tea Polyphenols

Lu Yiru¹, Ni Hui^{1,2,3,4}, Zhu Yanbing^{1,3,4}, Jiang Zedong^{1,3,4}, Li Qingbiao^{1,3,4}, Zheng Mingjing^{1,3,4*}

⁽¹⁾College of Ocean Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian

²Xiamen Ocean Vocational College, Xiamen 361100, Fujian

³Fujian Provincial Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering, Xiamen 361021, Fujian

⁴Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning)

Abstract In order to improve the stability and bioavailability of tea polyphenols (TP), this paper was to prepare the embedding system of tea polyphenols, which use carrageenan or instant agar compounded with whey protein as wall materials. The embedding rate of tea polyphenol was selected as the main optimization index to investigate the embedding effect of carrageenan or instant agar compounded with whey protein on tea polyphenols. The results showed the highest embedding rate of $(91.94 \pm 0.31)\%$ when the carrageenan–whey protein embedding system prepared at pH 2, core–to–wall ratio of 1:20 and wall mass fraction of 6%. While the instant agar–whey protein embedding system had the maximum embedding rate of $(98.48 \pm 0.39)\%$ when prepared at pH 4, core–to–wall ratio of 1:25 and wall mass fraction of 4%. The results of the antioxidant activity measurements suggested that both carrageenan and instant agar complex systems with good antioxidant properties, where the DPPH radical scavenging rate of the carrageenan and instant agar systems was as high as $(49.55 \pm 0.00)\%$ and $(48.35 \pm 0.52)\%$, respectively, and the highest ABTS radical scavenging rates of $(90.90 \pm 0.23)\%$ and $(81.35 \pm 0.90)\%$. Both the carrageenan–whey protein embedding system and the instant agar–whey protein embedding system can effectively protect the tea polyphenols, especially for instant agar system can improve the storage stability of tea polyphenols. Our findings can help the design and development of seaweed hydrocolloids as embedding wall for bioactive ingredient.

Keywords tea polyphenols; carrageenan; instant agar; whey protein; antioxidant activity