

不同 pH 条件下乳清蛋白-桑椹多酚复合营养粉的制备及其理化性质

袁麒^{1,2}, 王旭苹², 杨怀谷², 程镜蓉², 林耀盛², 邹金浩², 唐道邦², 刘学铭^{1,2*}

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

摘要: 近年来, 蛋白质与多酚类物质的相互作用是食品领域的研究热点之一, 两者的结合受到多种因素的影响, 其中 pH 值是最重要的影响因子。该文研究了不同 pH 值条件下桑椹多酚 (Mulberry Polyphenols, MP) 对乳清蛋白 (Whey Protein, WP) 理化性质和功能特性的影响。结果表明, 桑椹多酚改变了复合蛋白粉的色泽、粒径大小和 Zeta 电位。同时, 还提高了乳清蛋白的溶解性、乳化性能, 在 pH 值 3.0 时乳清蛋白的乳化能力和乳化稳定性分别达到 7.23 m²/g prot 和 89.56%, 较对照组分别提高了 2.66% 和 1.21%。通过高效液相色谱法对桑椹多酚-乳清蛋白粉中的单体酚类进行定量分析, 在 pH 值 5.0 和 7.0 条件下结合的单体酚含量比 pH 值 1.0 和 3.0 高。此外, 较空白对照组而言, 添加桑椹多酚提高了乳清蛋白的 DPPH 自由基清除率、ABTS 自由基清除能力和 FRAP 还原能力, 最高分别达到 89.28%、81.70% 和 530.95 μmol/g prot。综上所述, 利用动物蛋白结合植物多酚是创新功能食品组分的手段, 反应体系的 pH 值对结合效率有重要影响, 为今后食品蛋白质的理化稳定性和营养品在体内、体外生物利用度研究提供了新的思路。

关键词: 桑椹多酚; 乳清蛋白; pH; 理化特性

文章编号: 1673-9078(2023)05-164-174

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.5.0585

Preparation and Physicochemical Properties of Mulberry Polyphenol-whey Protein Complex Nutrition Powder under Different pH Conditions

YUAN Qi^{1,2}, WANG Xuping², YANG Huaigu², CHENG Jingrong², LIN Yaosheng², ZOU Jinhao², TANG Daobang², LIU Xueming^{1,2*}

(1.College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, 524088, China)

(2.Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: In recent years, the interaction between protein and polyphenols has become one of the research hotspots in the field of food. The combination of protein and polyphenols is affected by many factors, among which the pH value is an important influencing factor. This article examines the influences of mulberry polyphenols (MP) on the physicochemical and functional properties of whey protein (WP) under different pH conditions. The results showed that MP changed the color, particle size and Zeta potential of complex protein powder. Meanwhile, the solubility and emulsifying properties of WP were also improved, and the emulsifying ability and emulsion stability of WP reached 7.23 m²/g prot

引文格式:

袁麒,王旭苹,杨怀谷,等.不同 pH 条件下乳清蛋白-桑椹多酚复合营养粉的制备及其理化性质[J].现代食品科技,2023,39(5):164-174.

YUAN Qi, WANG Xuping, YANG Huaigu, et al. Preparation and physicochemical properties of mulberry polyphenol-whey protein complex nutrition powder under different pH conditions [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(5): 164-174.

收稿日期: 2022-05-10

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目 (2022B0202030002); 广州市对外合作计划重点项目 (201907010029)

作者简介: 袁麒 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能性乳制品, E-mail: 961182216@qq.com

通讯作者: 刘学铭 (1967-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 动植物营养成分相互作用, 功能性肉制品和功能性乳制品, E-mail: liuxueming@gdaas.cn

and 89.56% at pH 3.0, which increased by 2.66% and 1.21%, respectively, compared with the control group. Quantitative analysis of monomeric phenolics in MP-WP powder was conducted by HPLC. The contents of bound monomeric phenolic compounds at pH 5.0 and 7.0 were higher than those at pH 1.0 and 3.0. In addition, compared with the blank group, the addition of MP increased the DPPH free radical scavenging rate, ABTS free radical scavenging ability and FRAP reducing ability of WP, reaching the highest values, 89.28%, 81.70% and 530.95 $\mu\text{mol/g prot}$, respectively. In summary, the use of animal protein to bind plant polyphenols is a means of innovating functional food components, and the pH value of the reaction system has an important impact on the binding efficiency, which provides a new idea for the study of the physicochemical stability of food protein and the *in vivo* and *in vitro* bioavailability of nutrients.

Key words: mulberry polyphenols; whey protein; pH; physicochemical properties

随着我国社会经济的快速发展, 公众的健康意识显著提升, 人们比以往更加关注食品的功能性。消费者的需求正在转向高蛋白质、低糖、低脂和富含功能成分的食品。随着全球畜牧业的发展, 乳蛋白已经成为人类蛋白质营养的重要来源。同时, 乳蛋白具有发泡、增稠、乳化等加工性能, 成为现代食品工业中重要、广泛而廉价的原料。植物多酚是一类富含多种生理活性功能的植物次级代谢产物, 具有抗氧化、抑菌、抗病毒、降血脂、抗肿瘤、预防心血管疾病等生理活性, 是研制功能性食品的重要原料之一。但是, 作为功能食品原料的植物多酚多从农产品加工副产物中提取而来, 苦涩味重, 口味不佳, 而且直接食用易与消化酶发生相互作用, 可能给人体的消化功能带来一定影响。在这种情况下, 利用蛋白质-酚类物质相互作用研制富含蛋白质和多酚的复合型营养成分受到广泛关注。有研究发现, 乳清分离蛋白与黑加仑浓缩液结合, 可能是一种改善营养的创新性蛋白食品^[1]; 将酸樱桃渣提取物与乳清蛋白结合成功能性蛋白并添加到饼干中, 不仅改善了产品的营养价值, 还增强了储存稳定性^[2]。

桑椹是一种富含花青素类和非花青素类酚类物质的浆果, 其主要花青素是矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 (Cyanidin-3-*O*-Glucoside, C3G) 和矢车菊素-3-*O*-芸香糖苷 (Cyanidin-3-*O*-Rutinoside, C3R), 而非花青素酚类化合物包括芦丁 (Rutin, R)、原儿茶酸 (Protocatechuic Acid, PA)、槲皮素 (Quercetin, Q)、咖啡酸 (Caffeic Acid, CA) 等^[3]。但是, 由于桑椹多酚中酚类物质富含酚羟基, 稳定性差, 易受到环境条件 (pH、温度、氧气、酶、金属离子等) 的影响^[4]。因此, 桑椹多酚和乳蛋白的结合可能是一种很有前途的策略, 不仅可以保护敏感成分不被降解, 还可以掩盖多酚的苦涩味, 并赋予乳蛋白粉植物功能成分。有研究表明, pH 值是影响多酚与蛋白质相互作用的重要因素, 而粉体是众多食品配料的商品形式。因此, 本文研究不同 pH 值条件下桑椹多酚与乳清蛋白的相互作用, 尤其是乳清蛋白对桑椹单体酚的结合特点, 为

开发富含桑椹多酚乳清蛋白粉提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乳清蛋白 (WP, 80%), 上海源叶生物科技有限公司; 桑椹原汁, 广东宝桑园健康食品有限公司; DPPH、FRAP 试剂盒, 南京建成生物科技有限公司。

冰乙酸、磷酸 (色谱纯), 天津科密欧化学试剂有限公司; 乙腈 (色谱纯), 美国 FISHER 公司; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

Ultrascan-VIS 色度仪, 美国 HunterLab; S-4800 扫描电子显微镜, 日本日立; ZENN 3600 粒度仪, 英国马尔文仪器有限公司; LC 1260 高效液相色谱, 美国 Agilent 公司; UV-1800 紫外-可见分光光度计, 日本岛津; Infinite M200 Pro 酶标仪, 奥地利 TECAN 公司; ST85B3-1 真空冷冻干燥机, 美国 Milirck; X-5 大孔树脂, 天津浩聚树脂科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 桑椹多酚的提取

采用 X-5 大孔树脂层析法分离纯化桑椹多酚^[5]。首先, 桑椹原汁在 4 °C 下 4 000 r/min 离心 10 min 后, 将上清液缓慢倒入装载好的 X-5 大孔树脂的层析柱中, 待大孔树脂吸附饱和后, 用蒸馏水进行清洗, 去除糖、酸和其他水溶性杂质。然后用酸性乙醇溶液 (无水乙醇:水:盐酸=80:19:1 (V/V/V)) 将吸附在大孔树脂中的酚类物质进行洗脱, 收集洗脱液。将洗脱液在旋转蒸发仪 (42 °C, -0.1 MPa) 中浓缩至乙醇全部回收, 浓缩液即为桑椹多酚溶液, 置于 4 °C 条件下避光保存, 备用。

1.3.2 桑椹多酚-乳清蛋白粉的制备

根据 Wu 等^[1]的方法, 经过适当调整, 将乳清蛋白分散在超纯水中, 于室温下磁力搅拌 2 h, 用 5 mol/L

HCl 或 NaOH 调至 pH 值为 1.0、3.0、5.0 和 7.0, 制备 pH 值为 1.0、3.0、5.0 和 7.0 的 WP 储备溶液 (10%, m/V), 然后将溶液置于 4 °C 冰箱过夜, 以便充分复水。在 WP 溶液中, 分别加入适量的 MP 溶液, 将混合物于室温下搅拌进一步孵育 4 h, 使其充分混匀, 得到 pH 值为 1.0、3.0、5.0 和 7.0 的混合物。同时, 对照组乳清蛋白以未添加桑椹多酚的情况下进行同样处理。最后在真空冷冻干燥机进行冷冻干燥, 冻干后的颗粒研磨成粉末, 避光储存于 -20 °C 冰箱中, 以便进一步分析。

1.3.3 色度测量

使用 Ultrascan-VIS 色度仪对样品色度进行定量。记录亮度 (L^*)、红度 (a^*)、黄度 (b^*) 的值, 根据下面等式计算样品和相应对照之间的总色差 $\Delta E^{[1]}$, 根据式 (1) 计算。

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

式中:

ΔE ——样品和相应对照之间的总色差;

L^* ——样品组亮度值;

L_0^* ——对照组亮度值;

a^* ——样品组红度值;

a_0^* ——对照组红度值;

b^* ——样品组黄度值;

b_0^* ——对照组黄度值。

1.3.4 粒径测定

使用 Zetasizer Nano ZSZENN3600 测定样品的粒径。将样品稀释至 1 mg/mL 的悬浮液, 涡旋振荡混匀, 使粉末均匀分散, 取 1 mL 样品溶液于比色皿进行测定。

1.3.5 Zeta 电位

使用 Zetasizer Nano ZSZENN3600 测定样品电位值。将样品稀释至 0.5 mg/mL, 混匀, 在电位皿中加入样品溶液, 测定其电位值。

1.3.6 溶解性测定

将所有样品溶解, 涡旋混合均匀后于 10 000 r/min 下 4 °C 离心 10 min。用 BCA 蛋白浓度试剂盒测定样品溶液 (离心前) 和上清液 (离心后) 中的可溶性蛋白浓度。根据式 (2) 计算蛋白质溶解度。

$$S = \frac{c_1}{c_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

S ——蛋白溶解度, %;

c_1 ——上清液蛋白质量浓度, mg/mL;

c_0 ——总蛋白质量浓度, mg/mL。

1.3.7 乳化性测定

根据 Li 等^[6]的描述方法, 经过适当调整。将样品溶液用超纯水配制质量浓度为 1 mg/mL 的蛋白溶液, 取该溶液 20 mL, 加入 5 mL 玉米胚芽油, 10 000 r/min 匀浆 1 min, 立即从试管底部吸取 50 μ L 乳液, 并与 5 mL 0.1% (m/V) 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液混合, 振荡混匀; 混匀后的样品于 500 nm 处测定吸光值。乳液样品于室温下静置 10 min, 按照上述方法再次测定吸光值。乳化能力指数 (Emulsifying Ability Index, EAI) 和乳化稳定性指数 (Emulsion Stability Index, ESI) 按公式 (3)、(4) 计算。

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times n}{C \times (1 - p) \times 1000} \quad (3)$$

$$ESI = \frac{A_{10}}{A_0} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

A_0, A_{10} ——分别为在 500 nm 处 0 min 和 10 min 的吸光值;

n ——稀释因子;

C ——蛋白浓度, g/mL;

p ——油相体积分数, %;

EAI ——乳化能力指数, m^2/g ;

ESI ——乳化稳定性指数, %。

1.3.8 扫描电镜

取适量冷冻干燥的样品粉末, 用黑色托盘将其固定, 对其真空镀金, 用 S-4800 扫描电子显微镜观察, 在 5 kV 的加速电压下放大 5 000 倍观察样品的形貌。

1.3.9 总酚和总花青素含量的测定

1.3.9.1 游离酚类化合物的提取

根据 Pérez-Armada 等^[7]的方法稍作修改。将 0.2 g 粉末样品与 2 mL 甲醇/乙酸/水 (50:8:42 $V/V/V$) 混合均匀。将混合物涡旋 1 min, 在 30 °C, 300 W 超声 20 min, 然后于 4 °C 6 000 r/min 下离心 10 min, 收集上清液, 上清液过 0.22 μ m 微孔滤膜, 保存在进样品中, 用于高效液相色谱分析。

1.3.9.2 结合酚类化合物的提取

参照向荣^[5]的方法, 略有修改。准确称取 1 g 复合物样品于离心管中, 加入 5 mL 蒸馏水和 5 mL 模拟胃液, 涡旋 1 min 后再加入 5 mL 4 g/L 的猪胃蛋白酶, 调整 pH 值为 1.2, 置于 37 °C 水浴锅中消化 4 h。消化结束后离心, 获得上清液, 旋蒸至溶剂充分回收, 用甲醇溶解残渣, 定容至 10 mL, 样品过 0.22 μ m 微孔滤膜, 保存在进样品中, 用于高效液相色谱分析。

总酚含量测定: 采用 Folin Ciocatieu 比色法^[8], 吸取 0.5 mL, 加入 2 mL 蒸馏水和 0.5 mL Folin Ciocatieu 试剂, 涡旋混匀后加入 5 mL 7.0% 碳酸钠溶液, 定容至 12 mL, 室温下避光反应 1 h, 用紫外分光光度计于

760 nm 处测定吸光值,以没食子酸标准品制作标准曲线。

总花青素含量测定:采用 pH 示差法测定^[3],结果以每克蛋白的矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷当量 (C3GE) 表示。

1.3.9.3 单体花青素和非花青素酚类化合物高效液相色谱测定

花青素酚类物质测定的高效液相色谱条件^[3]:

色谱柱: Agilent ZORBAXSB-C₁₈ (4.6×250 nm, 5 μm); 流动相: A 相为 1.5% (V/V) 磷酸水溶液, B 相为磷酸:乙酸:乙腈:水=1.5:20:25:53.5 (V/V/V/V); 梯度洗脱: 0 min, 5% B; 0~15 min, 5%~15% B; 15~21 min, 15%~28% B; 21~22 min, 28%~40% B; 22~30 min, 40%~60% B; 30~33 min, 60%~5% B; 33~36 min, 5% B; 流量: 1 mL/min, 柱温: 30 °C; 进样量: 5 μL; 检测波长: 520 nm, 用标准品制作标准曲线计算各花青素成分的含量。

非花青素酚类物质测定的高效液相色谱条件^[5]:

色谱柱: Agilent ZORBAXSB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: A 相为 0.4% (V/V) 乙酸水溶液, B 相为乙腈; 梯度洗脱: 0 min, 5% B; 0~6 min, 5%~7% B; 6~20 min, 7%~12% B; 20~40 min, 12%~22% B; 40~50 min, 22%~35% B; 50~60 min, 35%~60% B; 60~65 min, 60%~100% B; 65~70 min, 100%~10% B; 70~75 min, 100%~5% B; 75~80 min, 5% B; 流量: 1 mL/min, 柱温: 25 °C; 进样量: 20 μL; 检测波长: 280 nm, 用标准品制作标准曲线计算各非花青素成分的含量。

1.3.10 抗氧化性能的测定

1.3.10.1 DPPH 自由基清除能力测定

参照试剂盒的方法,取 400 μL 样品,加入 600 μL DPPH 工作液后,涡旋混匀,于室温下避光静置 30 min, 4 000 r/min 离心 5 min, 在波长 517 nm 处用紫外分光光度计测定样品的吸光值。DPPH 自由基清除率根据式 (5) 计算。

$$R_D = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{空白}}} \right) \times 100\% \quad (5)$$

式中:

R_D ——DPPH 自由基清除率, %;

$A_{\text{样品}}$ ——测定样品溶液的吸光值;

$A_{\text{对照}}$ ——对照样品溶液的吸光值;

$A_{\text{空白}}$ ——空白样品溶液的吸光值。

1.3.10.2 ABTS⁺ 清除能力测定

根据 Li 等^[9]的方法测定 ABTS 自由基清除活性,略有修改。ABTS 自由基工作液通过 7.4 mmol/L ABTS 和过硫酸钾 (2.6 mmol/L) 以 1:1 (V/V) 的比例反应

并在室温下避光 12 h。通过将 1 mL ABTS 溶液与 50 mL 水混合稀释 ABTS 自由基工作液,在 734 nm 处获得 0.7±0.02 个单位的吸光值。之后,将 50 μL 样品溶液与 150 μL 稀释的 ABTS 工作液混合,并在 37 °C 黑暗条件下孵育 6 min。在波长为 734 nm 处用酶标仪读取吸光值。计算公式 (6) 如下:

$$R_A = \left(1 - \frac{A_1}{A} \right) \times 100\% \quad (6)$$

式中:

R_A ——ABTS⁺ 清除率, %;

A_1 ——样品溶液的吸光值;

A ——对照溶液的吸光值。

1.3.10.3 FRAP 还原能力测定

参照试剂盒的方法,移取 5 μL 样品于 96 孔板中,加入 180 μL FRAP 工作液,在 37 °C 孵育 3~5 min,于波长为 593 nm 处用酶标仪读取样品吸光值。

1.3.11 数据处理

每组进行三次独立重复实验,并利用 SPSS 23.0 对数据进行统计分析,结果表示为平均值±标准差。采用 ANOVA 和 Duncan 的多重范围检验来确定数据间的显著性差异,其中 $P < 0.05$ 值被认为具有统计学意义,并用不同小写字母代表样品之间的显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 不同 pH 值制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物色泽变化

颜色参数是衡量含花青素食品质量和接受度的最直接指标,直接影响消费者的选择、喜好、可接受性和消费倾向。表 1 呈现了各样品的亮度 (L^*)、红度 (a^*)、黄度 (b^*) 和色差 (ΔE) 值。在不同 pH 值条件下,WP 的 L^* 值在 92.73~95.09 之间变化, a^* 值和 b^* 值没有明显变化。与 WP 相比,WP/MP 复合物 L^* 值显著降低,而 a^* 值均有不同程度的增加,对黄度的影响与 pH 值密切相关。在不同 pH 值条件下制备的 WP/MP 复合物中, pH 值 3.0 具有最大的红度值。桑椹多酚中的花青素在不同 pH 值溶液中其分子结构发生改变,从而呈现出不同的颜色^[10]。在酸性条件下,花青素被质子化并形成正离子或阳离子,随 pH 值增加,分子变得去质子化,分子形成负离子或阴离子^[11]。 ΔE 可以用来评价样品之间的颜色差异,单一乳清蛋白在不同 pH 值条件下 ΔE 值相差不大,WP/MP 复合物 ΔE 值随着 pH 值增大而降低,表明 WP 防止了 MP 的褪色,保护了颜色稳定性。总之,不同 pH 值条件

下 WP/MP 复合物之间的色差变化显著 ($P<0.05$)。由于桑椹多酚是天然功能性色素,因此,蛋白质-桑椹

多酚颗粒可用作具有天然食用色素特性的新型高蛋白成分。

表 1 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物色泽参数

Table 1 Color parameters of whey protein-mulberry polyphenol complexes prepared at different pH values

样品	L^*	a^*	b^*	ΔE
WP-pH 1.0	92.73 \pm 1.38 ^e	-0.18 \pm 0.08 ^a	1.66 \pm 3.38 ^c	36.94 \pm 1.50 ^a
WP-pH 3.0	94.99 \pm 0.32 ^f	-0.42 \pm 0.01 ^a	1.16 \pm 0.04 ^{bc}	38.81 \pm 0.25 ^{bc}
WP-pH 5.0	95.09 \pm 0.19 ^f	-0.33 \pm 0.01 ^a	1.05 \pm 0.03 ^{bc}	38.93 \pm 0.15 ^c
WP-pH 7.0	94.36 \pm 0.10 ^f	-0.32 \pm 0.01 ^a	1.84 \pm 0.03 ^c	37.89 \pm 0.15 ^c
WP/MP- pH 1.0	44.85 \pm 0.03 ^a	3.18 \pm 0.21 ^b	2.00 \pm 0.21 ^c	48.99 \pm 0.08 ^f
WP/MP- pH 3.0	53.95 \pm 0.01 ^d	18.80 \pm 0.20 ^e	2.11 \pm 0.13 ^c	44.80 \pm 0.07 ^d
WP/MP- pH 5.0	49.91 \pm 0.04 ^c	7.27 \pm 0.14 ^d	-0.75 \pm 0.15 ^{ab}	45.54 \pm 0.09 ^{de}
WP/MP- pH 7.0	49.02 \pm 0.04 ^b	5.18 \pm 0.23 ^c	-1.43 \pm 0.18 ^a	46.23 \pm 0.06 ^d

注: 不同字母表示样品间具有显著差异 ($P<0.05$), 下表同。

表 2 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物粒径和 Zeta 电位

Table 2 Particle size and Zeta potential of whey protein-mulberry polyphenol complexes prepared at different pH values

样品	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
WP-pH 1.0	271.27 \pm 2.68 ^a	0.44 \pm 0.01 ^{bc}	10.83 \pm 1.18 ^e
WP-pH 3.0	394.37 \pm 20.82 ^b	0.42 \pm 0.03 ^{ab}	23.77 \pm 1.18 ^f
WP-pH 5.0	449.77 \pm 15.16 ^b	0.50 \pm 0.06 ^{cd}	5.78 \pm 0.26 ^d
WP-pH 7.0	370.60 \pm 6.77 ^{ab}	0.43 \pm 0.01 ^{ab}	-21.33 \pm 1.12 ^a
WP/MP-pH 1.0	607.93 \pm 72.89 ^c	0.54 \pm 0.01 ^d	6.37 \pm 0.26 ^d
WP/MP-pH 3.0	1 379.67 \pm 59.88 ^d	0.37 \pm 0.06 ^a	26.63 \pm 0.81 ^e
WP/MP-pH 5.0	1 593.00 \pm 83.00 ^e	0.75 \pm 0.04 ^e	0.51 \pm 0.14 ^c
WP/MP-pH 7.0	1 553.67 \pm 130.29 ^e	0.53 \pm 0.04 ^d	-19.53 \pm 1.31 ^b

2.2 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物粒径和 Zeta 电位变化

粒径可以直接反映蛋白质粒度的分布情况,这有利于分析蛋白质分子间的聚集行为。分散性系数(PDI)是指颗粒分散的均匀程度,PDI值越小,表明体系中颗粒分布越均匀,是表征粒径分布的一个重要指标^[12]。Zeta 电位能够反映蛋白质表面所带的电荷情况,是蛋白质稳定性的关键指标,可用于评估带电生物聚合物之间的静电相互作用^[13],有研究表明,pH 值的变化会影响蛋白质分子的静电力^[14]。

通过测定 WP 和 WP/MP 复合物的粒径、多分散性指数(PDI)和 Zeta 电位,评价了不同 pH 值条件下对 WP 进行改性后粒径和表面电荷的影响(表 2)。结果表明,未改性 WP 溶液在不同 pH 值条件下的粒径变化较小,pH 值 5.0 处的粒径为 449.77 nm。经 MP 改性后 WP 的粒径显著增大($P<0.05$),尤其是在 pH 值 5.0 条件下,颗粒粒径达到最大(1 593.00 nm),说明在接近蛋白质等电点时,由于电荷排斥力减小,可

能会发生聚集和沉淀,从而更容易形成较大的颗粒。类似的,唐瑜婉^[15]在玉米醇溶蛋白与阿魏酸相互作用的研究中,结果发现在玉米醇溶蛋白等电点附近的颗粒呈现出最大的粒径。多酚与蛋白质之间的相互作用导致蛋白质结构变化和相对较大的体积,即结构域扩张。此外,由表 2 可见,WP/MP 复合物溶液 PDI 值发生不同程度的变化,在 pH 值 5.0 处粒子分布不够均匀。而当 pH 值为 3.0 时,WP/MP 复合物的 PDI 从 0.50 降低为 0.37,较小的 PDI 反映了较窄的粒度分布,说明在此条件下 WP 与 MP 相互作用更能产生均匀的溶液。

由表 2 可知,在酸性 pH 条件下,乳清蛋白具有净正电荷,这归因于蛋白质表面氨基(-NH₂)和羧基(-COOH)的质子化^[16]。在 pH 值 5.0 下经 MP 处理后 WP 的电位绝对值(0.51 mV)低于对照组(5.78 mV),总电荷接近零,是因为蛋白质分子以两性离子形式存在,其 pH 值接近蛋白质等电点(pI)时,分子的正负电荷几乎相等,相互吸引和排斥的静电力将近达到平衡,此时粒子间的相互作用力减弱,其颗粒极易发生碰撞、凝聚而产生沉淀形成较大尺寸的粒子^[17],蛋白质粒径增大的结果也证明了这一点。当 pH 值 7.0

时, 对照组 WP 和 WP/MP 复合物电位值均为负值, 分别为-21.33 mV 和-19.53 mV, 表明蛋白表面带负电荷氨基酸的数量高于带正电荷的氨基酸数量, 但电位的绝对值小于对照组 WP, 这是因为桑椹多酚可以促进 WP 结构展开并暴露更多带有负电荷的氨基酸^[18], 但同时暴露的疏水性残基也会促进蛋白质聚集, 使得负电荷数量减少^[19]。此外, 在 pH 值 3.0 条件下, WP/MP 复合物点位绝对值较对照组 WP 大, 表明相对应的静电相互作用力增加, 这有利于复合物形成更稳定的油滴, 从而提高乳化稳定性, PDI 值和下文中的乳化稳定性与此结果一致。

2.3 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物

溶解性变化

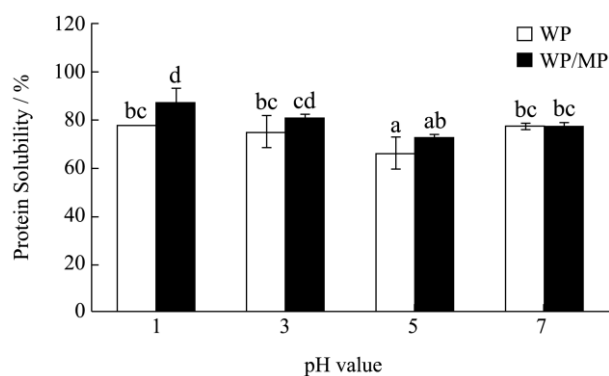


图1 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物溶解性

Fig.1 Solubility of whey protein-mulberry polyphenol complexes prepared at different pH values

蛋白质在水溶液中的溶解度是其在食品或饮料中功能性能的关键前提, pH 值在很大程度上影响蛋白质的结构特性和溶解度^[20]。在不同 pH 值下桑椹多酚对乳清蛋白溶解性的影响, 如图 1 所示。对照 WP 的溶解度在 75.44%~77.95% 之间变化, 最低的溶解度出现在 pH 值 5.0 左右。WP/MP 复合物溶解度在不同 pH 值下表现为不同程度的变化, 是因为多酚和蛋白质之间的反应可有促进蛋白质的交联, 并改变蛋白质的水溶性。在四种不同 pH 条件下, WP/MP 复合物的溶解性分别升高了 1.12%、1.09%、1.08% 和 1.01%。在处理过程中, 由于蛋白质分子的展开而破坏了一些疏水和范德华相互作用力^[21]。WP 和 WP/MP 复合物在 pH 值 5.0 时具有最小的溶解度, 这对应蛋白质等电点, 蛋白由于强烈的分子间相互作用而聚集沉淀, 导致与水的相互作用较少, 从而降低蛋白质的溶解度^[22]。与 Yan 等^[23]研究酚类化合物对肉桂樟脑籽仁分离蛋白结果相类似。齐奇等^[24]也报道过类似的结论, 认为蛋白质与酚类反应在蛋白等电点时溶解度最小。在 pH 值

1.0 和 3.0 下, 蛋白质的溶解度增强较明显, 这可能是因为低 pH 值下, 蛋白质具有净正电荷或净负电荷, 导致静电排斥力有助于保持蛋白质分子分离, 破坏天然蛋白结构, 将平衡向未折叠的形式转移, 随后暴露蛋白质分子中埋藏的官能团, 从而导致蛋白质溶解度增加。

2.4 不同 pH 值制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物乳化性变化

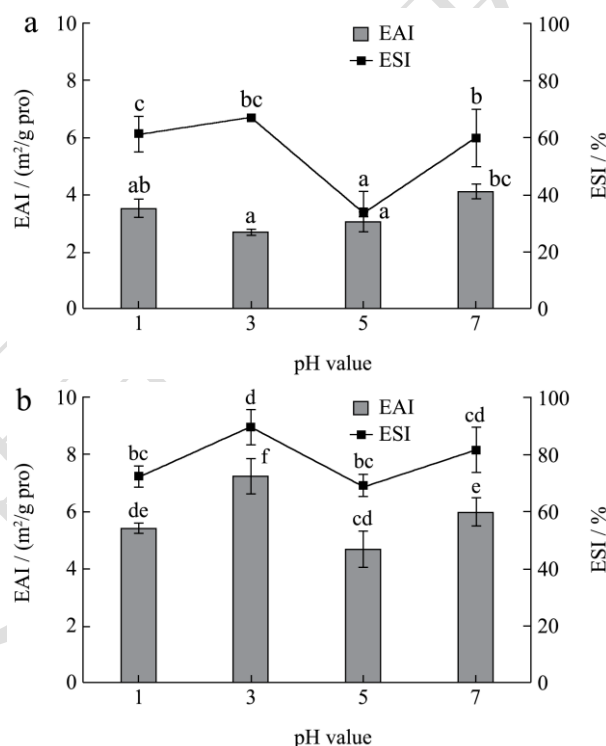


图2 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物乳化性

Fig.2 Emulsifying properties of whey protein-mulberry polyphenol complexes prepared at different pH values

蛋白质是一种天然的两亲性物质, 可以自发地迁移到油水界面, 形成能够承受机械冲击的高度粘弹性薄膜。乳化性是油和水形成乳状液的能力, EAI 反映了蛋白质通过再新形成的液滴表面快速吸附并降低其在油水界面张力来形成和稳定乳液的能力。ESI 是对乳化剂储存或加热后停留在油水界面的蛋白质能力的估计, 这对各种传统和新型食品的发展至关重要。WP 与 MP 结合后, 其 EAI 和 ESI 发生变化, 可能是由于其与 MP 结合后蛋白质的构象和界面行为发生改变。如图 2 所示, 在不同 pH 条件下, 添加 MP 后 WP 的 EAI 和 ESI 显著提高, 这意味着 WP/MP 复合物能够吸附到油/水界面, 形成的乳状液与对照组 WP 相比具有更好的稳定性。且在 pH 值 3.0 和 7.0 时, 复合物的 EAI 和 ESI 分别提高到 7.23 m²/g pro、5.99 m²/g pro 和

89.56%、81.48%。这与 Sui 等^[25]和 Feng 等^[26]研究的结果相似。在 pH 值 5.0 时 WP 和 WP/MP 复合物的 ESI 最低,这可能是因为在 WP 的等电点附近,蛋白质的排斥力弱,促进液滴的乳化聚合,乳化稳定性变差。这可能与较小的液滴尺寸和乳液的均匀分散有关。蛋白质-多酚颗粒形成具有小液滴尺寸的乳状液,与降低的表面张力有关,因此产生比单独的蛋白质有更稳定的乳状液^[27]。

2.5 不同 pH 值制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物显微结构比较

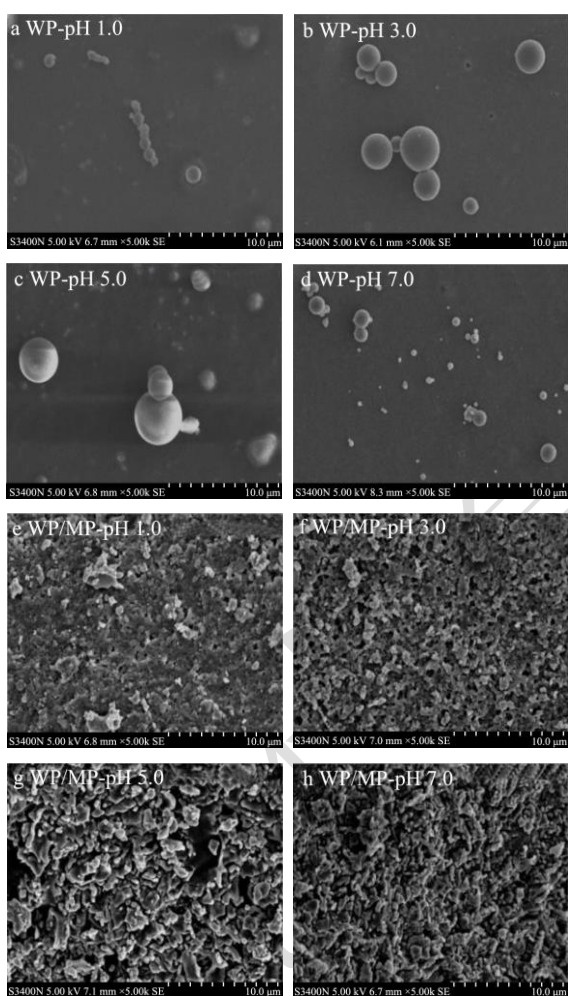


图3 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物显微结构
Fig.3 Microstructure of whey protein-mulberry polyphenol complexes prepared at different pH values

扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope, SEM) 是一种用于观察样品微观形态和样貌的直观技术,为观测蛋白质与多酚复合物在微观结构上的变化。通过对不同 pH 值条件下样品进行扫描,得到 WP 和 WP/MP 的扫描电子显微镜图,如图 3 所示。由图 3 可以看出,对照组 WP 呈现颗粒和球状结构、表面光

滑,加入 MP 后蛋白质被展开,形成复合物,并且在不同 pH 值条件下颗粒表现为不同程度的聚集和粒径大小。WP/MP 复合物在 pH 值为 1.0 时,蛋白网络结构紧密而细腻平滑;在 pH 值为 3.0 时,则呈现出较为粗糙的状态且有微小的孔隙;可以解释为 MP 与 WP 相互作用改变了分子间的吸引力和排斥力,紧密聚合,粒径相对较小,较为稳定。而 pH 值 5.0 和 7.0 条件下表面有较大的孔洞、不规则形状的较大颗粒,因为表面光滑的球形颗粒更加疏水,且更容易聚集在一起。比较图 3a~3d 呈现出,WP 在 pH 值 5.0 时颗粒粒径最大,说明在接近 WP 等电点 (4.5) 时,因为减少了电荷排斥力,可能发生聚集和凝结,更容易表现出较大的颗粒。pH 远离蛋白质等电点是一种颗粒能长期且稳定储存的一种方式^[28]。SEM 所呈现的形貌特征与粒径结果相符。类似地,邹苑^[29]的研究也证明了蛋白在等电点附近会表现为较大的颗粒。因此,这对乳清蛋白作为小分子载体的研究具有一定应用价值。

2.6 不同 pH 值制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物单体花青素和非花青素含量变化

表 3 桑椹多酚中单体花青素和非花青素酚类化合物的高效液相色谱分析

Table 3 HPLC analysis of monomeric anthocyanins and non-anthocyanin phenolic compounds in mulberry polyphenols

项目	化合物	含量/(mg/g)
非花青素酚类	芦丁	1.38±0.03
	槲皮素	1.43±0.08
	原儿茶酸	0.80±0.15
花青素	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	14.33±0.00
	矢车菊素-3-O-芸香糖苷	8.88±0.00

酚类化合物以游离态和结合态存在于植物中,本实验对两者酚类物质进行表征和定量。通过将样品的色谱图与已知酚类标准的色谱图进行比较,确定了 MP 和 WP-MP 单体花青素和非花青素 (表 3)。在 MP 和 WP-MP 中同时发现了两种主要单体花青素和三种非花青素单体酚,即矢车菊素-3-O-葡萄糖苷 (C3G)、矢车菊素-3-O-芸香糖苷 (C3R)、芦丁 (R)、槲皮素 (Q) 和原儿茶酸 (PA); 其中 MP 中 C3G、C3R、R、Q 和 PA 的含量分别为 14.33、8.88、1.38、1.43 和 0.80 mg/g。MP 的花青素图谱与早期的报道相似^[26],而非花青素酚类图谱与文献报道有一定程度的差异。这可能是乳清蛋白对单体酚的不同吸附导致的。表 4 显示了不同 pH 值条件下制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物的总酚和总花青素,在 pH 值为 5.0 和 7.0 条件下

制备的复合物总酚和总花青素的含量较少,可能是由于在较高的 pH 值条件下酚类化合物容易发生降解。由表 5 可以看出,在 pH 值为 5.0 和 7.0 时,除了槲皮素外,芦丁 (157.12、187.91 $\mu\text{g/g}$) 和原儿茶酸 (21.38、32.27 $\mu\text{g/g}$) 与乳清蛋白的结合量高于 pH 值为 1.0 和 3.0 时的结合量。然而,在 pH 值为 5.0 时,所结合的

C3G (158.28 $\mu\text{g/g}$) 和 C3R (240.66 $\mu\text{g/g}$) 比 pH 值为 1.0、3.0 和 7.0 高,这是因为蛋白质间的静电斥力在其等电点附近最小,导致蛋白质分子间的斥力小于蛋白质与多酚间的交联亲和力,从而蛋白质与多酚间的络合强度最大。因此,乳清蛋白-桑椹多酚复合物是开发功能性食品的良好原料。

表 4 不同 pH 值制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物中总酚和总花青素含量

Table 4 Contents of total phenols and total anthocyanins in whey protein mulberry polyphenol complex prepared at different pH values

Sample	Total phenolic content/(mg GAE/g)	Total anthocyanin content/(mg C3GE/g)
WP/MP-pH 1.0	4.24 \pm 0.01 ^d	1.46 \pm 0.01 ^c
WP/MP-pH 3.0	4.10 \pm 0.01 ^c	1.50 \pm 0.01 ^d
WP/MP-pH 5.0	3.65 \pm 0.01 ^b	1.36 \pm 0.00 ^b
WP/MP-pH 7.0	3.35 \pm 0.01 ^a	1.08 \pm 0.01 ^a

表 5 不同 pH 值制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物单体花青素和非花青素的高效液相色谱分析

Table 5 HPLC analysis of anthocyanins and non-anthocyanins in whey protein mulberry polyphenol complex prepared at different pH values

化合物	样品	游离酚含量/ $\mu\text{g/g}$	结合酚含量/ $\mu\text{g/g}$
矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	WP/MP-pH 1.0	315.28 \pm 0.24 ^d	75.04 \pm 0.05 ^a
	WP/MP-pH 3.0	251.95 \pm 0.05 ^c	76.04 \pm 0.06 ^b
	WP/MP-pH 5.0	237.64 \pm 0.13 ^b	158.28 \pm 0.24 ^d
	WP/MP-pH 7.0	161.26 \pm 0.23 ^a	105.37 \pm 0.33 ^c
矢车菊素-3-O-芸香糖苷	WP/MP-pH 1.0	374.13 \pm 0.12 ^d	99.65 \pm 0.56 ^a
	WP/MP-pH 3.0	331.18 \pm 0.16 ^c	103.54 \pm 0.46 ^b
	WP/MP-pH 5.0	322.51 \pm 0.12 ^b	240.66 \pm 0.14 ^d
	WP/MP-pH 7.0	227.86 \pm 0.06 ^a	157.86 \pm 0.05 ^c
芦丁	WP/MP-pH 1.0	195.08 \pm 9.77 ^a	26.83 \pm 9.77 ^a
	WP/MP-pH 3.0	236.16 \pm 12.17 ^b	53.06 \pm 12.17 ^b
	WP/MP-pH 5.0	227.29 \pm 8.34 ^b	157.12 \pm 8.34 ^c
	WP/MP-pH 7.0	215.51 \pm 12.52 ^b	187.91 \pm 12.52 ^d
槲皮素	WP/MP-pH 1.0	335.56 \pm 12.88 ^d	271.80 \pm 12.88 ^b
	WP/MP-pH 3.0	286.42 \pm 4.34 ^c	254.52 \pm 4.34 ^b
	WP/MP-pH 5.0	241.80 \pm 15.45 ^b	213.96 \pm 15.45 ^a
	WP/MP-pH 7.0	204.53 \pm 21.75 ^a	187.53 \pm 21.75 ^a
原儿茶酸	WP/MP-pH 1.0	43.31 \pm 4.42 ^a	18.05 \pm 4.42 ^a
	WP/MP-pH 3.0	47.71 \pm 5.87 ^a	18.90 \pm 5.87 ^a
	WP/MP-pH 5.0	45.35 \pm 4.04 ^a	21.38 \pm 4.03 ^a
	WP/MP-pH 7.0	45.27 \pm 6.20 ^a	32.27 \pm 6.20 ^b

注: 不同字母表示样品间具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.7 不同 pH 值制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物抗氧化特性分析

抗氧化活性是与脂质氧化和食品质量有关的重要性质^[30]。桑椹多酚中的主要化学成分(花青素、黄酮醇、黄酮醇苷和酚酸)已经被证明具有良好的抗氧化能力^[31]。桑椹多酚是一种具有较强抗氧化活性的天然

化合物,MP 与 WP 的相互作用对 WP 的抗氧化能力有积极影响。如图 4 所示,WP/MP 复合物比对照组 WP 的抗氧化活性更显著 ($P < 0.05$)。其中,图 4a 所示,pH 会影响 WP 及 WP/MP 的抗氧化性,在 pH 值 1.0 和 pH 值 5.0 时,WP/MP 的抗氧化活性均较强。推测可能是由于酸水解蛋白的影响和在接近 WP 等电点 (pI 4.5) 时,MP 与 WP 的结合力强,WP/MP 复合物的抗氧化活性较强,分别为单一蛋白的 1.11、2.56

倍。有研究表明,多酚可以增强牛乳蛋白 DPPH 自由基清除活性^[32]。在不同 pH 值条件下,MP 对 WP 的 ABTS⁺自由基清除能力的影响趋势与 DPPH 自由基清除能力结果相似(图 4b),结果表明,桑椹多酚可通过非共价相互作用提高乳清蛋白的抗氧化能力,这可能是由于桑椹多酚中的多酚类物质与蛋白质结合时,其游离羟基的作用所致。FRAP 反映了铁离子的还原能力,因此被用来评估 MP 的还原能力。与 DPPH 和 ABTS⁺自由基清除能力的结果不同,pH 值变化对单一的 WP 还原能力无显著影响($P>0.05$)。在 MP 中加入 WP 后 FRAP 均显著性增加($P<0.05$) (图 4c),表明两者复合后,主要原因归于酚类化合物的电子供体。与酸性 pH 值相比,在 pH 值 7.0 下获得的 WP/MP 复合物的 FRAP 值更高(530.95 $\mu\text{mol/g prot}$)。这可以通过 MP 在 pH 值 7.0 下的解离来解释,这些羟基具有更高的螯合铁的能力^[33]。Meng 等^[34]研究了中性条件下乳蛋白与矢车菊素-3-O-葡萄糖苷作用,结果发现矢车菊素-3-O-葡萄糖苷增强了乳蛋白的总抗氧化能力。综上,在不同 pH 值条件下与桑椹多酚相互作用均可通过反应性酚羟基显著提高 WP 的抗氧化活性;所获得的 WP/MP 复合物,其抗氧化性能的差异可能是由于不同 pH 值条件下接枝的空间结构不同所致。这些结果表明,与 WP 结合的酚类化合物仍然可以清除自由基,二者结合可以形成抗氧化能力更强的化合物,以终止自由基链反应。因此,蛋白与酚类化合物结合后的抗氧化能力增加很可能来源于酚类化合物中引入的羟基^[35]。

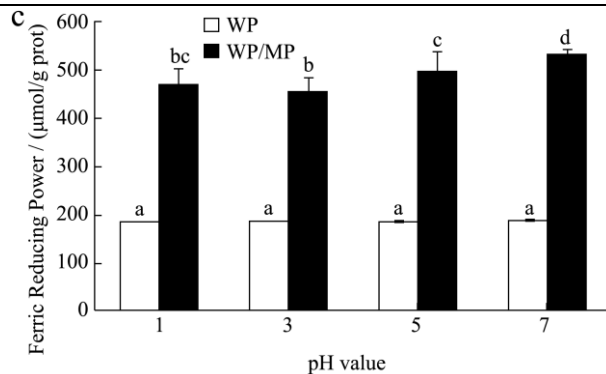
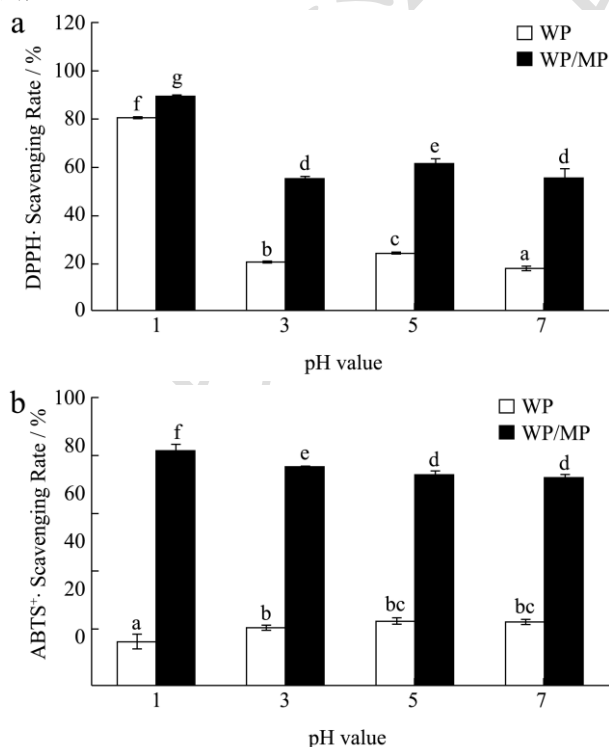


图 4 不同 pH 制备的乳清蛋白-桑椹多酚复合物抗氧化特性

Fig.4 Antioxidant properties of whey protein-mulberry polyphenol complexes prepared at different pH

3 结论

本研究评价了在不同 pH 值条件下桑椹多酚与乳清蛋白结合物的理化和功能特性。在不同 pH 值条件下,桑椹多酚可以显著改变乳清蛋白色泽、粒径大小、Zeta 电位和表观形貌。同时,桑椹多酚显著提高了溶解性和乳化性;在 pH 值为 3.0 和 7.0 时,其乳化性能和乳化稳定性较高。通过高效液相色谱法在桑椹多酚-乳清蛋白复合物中鉴定和定量了两种单体花青素(C3G 和 C3R)和三种非花青素单体酚类物质(PA、R 和 Q);在 pH 值为 5.0 和 7.0 时,桑椹多酚与乳清蛋白的结合量大于 pH 值 1.0 和 3.0 条件下的结合量。抗氧化测试表明,与对照乳清蛋白相比,添加桑椹多酚后都表现出优异的抗氧化性能。因此,乳清蛋白被桑椹多酚功能化后,可作为天然的着色剂和抗氧化剂。

参考文献

- [1] Wu G, Hui X, Mu J, et al. Functionalization of whey protein isolate fortified with blackcurrant concentrate by spray-drying and freeze-drying strategies [J]. Food Research International, 2021, 141: 110025.
- [2] Šaponjac V T, Četković G, Čanadanović-Brunet J, et al. Sour cherry pomace extract encapsulated in whey and soy proteins: Incorporation in cookies [J]. Food Chemistry, 2016, 207(sep. 15): 27-33.
- [3] Du H X, Wang X P, Yang H G, et al. Changes of phenolic profile and antioxidant activity during cold storage of functional flavored yogurt supplemented with mulberry pomace [J]. Food Control, 2022, 132: 108554.
- [4] Cheng J, Xiang R, Liu X, et al. The effects of thermal processing and β -cyclodextrin on extractable polyphenols in mulberry juice-enriched dried minced pork slices [J]. LWT, 2019, 116: 108503.

- [5] 向荣. 桑椹多酚对广式腊肠品质及其蛋白质氧化调控机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [6] Li T, Wang L, Chen Z, et al. Electron beam irradiation induced aggregation behaviour, structural and functional properties changes of rice proteins and hydrolysates [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 97: 105192.
- [7] Pérez-Armada L, Rivas S, González B, et al. Extraction of phenolic compounds from hazelnut shells by green processes [J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 255: 1-8.
- [8] Norkaew O, Thitisut P, Mahatheerant S, et al. Effect of wall materials on some physicochemical properties and release characteristics of encapsulated black rice anthocyanin microcapsules [J]. *Food Chemistry*, 2019, 294: 493-502.
- [9] Li T, Wang L, Chen Z, et al. Functional properties and structural changes of rice proteins with anthocyanins complexation [J]. *Food Chemistry*, 2020, 331: 127336.
- [10] 李琳娜, 周高品. 桑椹红色素稳定性的研究[J]. *包装与食品机械*, 2018, 36(3): 11-15.
- [11] Wahyuningsih S, Wulandari L, Wartono M W, et al. The effect of pH and color stability of anthocyanin on food colorant [C]// *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing, 2017, 193(1): 012047.
- [12] 宋佩. 高钙高蛋白速溶豆粉加工工艺优化研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2018.
- [13] Mukherjee D, Chang S K C, Zhang Y, et al. Effects of ultra - high pressure homogenization and hydrocolloids on physicochemical and storage properties of soymilk [J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(10): 2313-2320.
- [14] Hennemann M, Gastl M, Becker T. Influence of particle size uniformity on the filter cake resistance of physically and chemically modified fine particles [J]. *Separation and Purification Technology*, 2021, 3: 118966.
- [15] 唐瑜婉. 不同 pH、CaCl₂ 浓度下玉米醇溶蛋白-阿魏酸相互作用、结构表征及理化特性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [16] Feyzi S, Varidi M, Housaindokht M R, et al. pH and NaCl effects on the interactions between safranal and whey protein isolate [J]. *Food Bioscience*, 2021, 44: 101197.
- [17] 张海璐, 黄翔, 杨燃, 等. 氧化对羊肉肌原纤维蛋白分子与理化特性的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(23): 8-14.
- [18] Cao Y, Xiong Y L. Chlorogenic acid-mediated gel formation of oxidatively stressed myofibrillar protein [J]. *Food Chemistry*, 2015, 180(aug. 1): 235-243.
- [19] 刘小波, 李明华, 张丽, 等. 冷藏和冻藏对牦牛瘤胃平滑肌氧化稳定性及加工品质的影响[J]. *核农学报*, 2019, 33(10): 1983-1993.
- [20] Wang Y, Zhang L, Wang P, et al. pH-shifting encapsulation of curcumin in egg white protein isolate for improved dispersity, antioxidant capacity and thermal stability [J]. *Food Research International*, 2020, 137: 109366.
- [21] Chen W, Wang W, Ma X, et al. Effect of pH-shifting treatment on structural and functional properties of whey protein isolate and its interaction with (-)-epigallocatechin-3-gallate [J]. *Food Chemistry*, 2019, 274: 234-241.
- [22] Yuliana M, Truong C T, Huynh L H, et al. Isolation and characterization of protein isolated from defatted cashew nut shell: influence of pH and NaCl on solubility and functional properties [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2014, 55(2): 621-626.
- [23] Yan X, Liang S, Peng T, et al. Influence of phenolic compounds on physicochemical and functional properties of protein isolate from *Cinnamomum camphora* seed kernel [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 102: 105612.
- [24] 齐奇, 李艳霞, 杨凯, 等. 内源多酚对松仁各组分蛋白理化性质、功能特性和结构的影响[J]. *食品科学*, 2022, 43(16): 81-89.
- [25] Sui X, Sun H, Qi B, et al. Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: Focus on covalent and non-covalent interactions [J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 871-878.
- [26] Feng H, Jin H, Gao Y, et al. The effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate non-covalent interaction with the glycosylated protein on the emulsion property [J]. *Polymers*, 2019, 11(10): 1688.
- [27] Foegeding E A. Food protein functionality-A new model [J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(12): C2670-C2677.
- [28] Zhang Y, Cui L, Li F, et al. Design, fabrication and biomedical applications of zein-based nano/micro-carrier systems [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, 513(1-2): 191-210.
- [29] 邹苑. 玉米醇溶蛋白-单宁酸复合颗粒对界面主导食品体系的调控研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.
- [30] Foegeding E A, Plundrich N, Schneider M, et al. Protein-polyphenol particles for delivering structural and health functionality [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 72: 163-173.
- [31] Cheng J R, Liu X M, Zhang W, et al. Stability of phenolic compounds and antioxidant capacity of concentrated mulberry juice-enriched dried-minced pork slices during preparation and storage [J]. *Food Control*, 2018, 89: 187-195.

- [32] Wei Z, Yang W, Fan R, et al. Evaluation of structural and functional properties of protein-EGCG complexes and their ability of stabilizing a model β -carotene emulsion [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 45: 337-350.
- [33] Genaro-Mattos T C, Maurício Â Q, Rettori D, et al. Antioxidant activity of caffeic acid against iron-induced free radical generation-A chemical approach [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0129963.
- [34] Meng Y, Hao L, Tan Y, et al. Noncovalent interaction of cyanidin-3-O-glucoside with whey protein isolate and β -lactoglobulin: Focus on fluorescence quenching and antioxidant properties [J]. LWT, 2021, 137: 110386.
- [35] Ren C, Xiong W, Peng D, et al. Effects of thermal sterilization on soy protein isolate/polyphenol complexes: Aspects of structure, in vitro digestibility and antioxidant activity [J]. Food Research International, 2018, 112: 284-290.