

乳铁蛋白-多酚对 β -胡萝卜素乳液稳定性的影响*

刘夫国¹ 王迪² 杨伟¹ 袁芳¹ 高彦祥¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学理学院, 北京 100094)

摘要: 研究乳铁蛋白(LF)-多酚(表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、绿原酸(CA)、没食子酸(GA))共价复合物对 β -胡萝卜素乳状液稳定性的影响。采用自由基接枝聚合方法制备乳铁蛋白-多酚共价复合物并进行高效液相色谱检测。以乳铁蛋白-多酚共价复合物为乳化剂制备 β -胡萝卜素乳状液,通过加速分层和量化沉淀、悬浮的方法快速测定乳状液的稳定性;通过光照和不同温度(25℃、37℃和55℃)条件下的贮藏实验,测定乳状液中 β -胡萝卜素的化学稳定性。结果表明,乳铁蛋白经多酚修饰后,色谱峰保留时间缩短,亲水性增加。乳铁蛋白与多酚生成的共价复合物可以提高乳状液的稳定性,同时可以抑制水包油乳状液中 β -胡萝卜素的降解,提高 β -胡萝卜素的化学稳定性。3种共价复合物中,LF-CA共价复合物对 β -胡萝卜素乳状液具有最好的稳定效果。

关键词: 乳铁蛋白 多酚 共价复合物 β -胡萝卜素乳状液 稳定性

中图分类号: TS201.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2015)06-0212-06

Effect of Lactoferrin-polyphenol Conjugates on Stability of β -carotene Emulsions

Liu Fuguo¹ Wang Di² Yang Wei¹ Yuan Fang¹ Gao Yanxiang¹

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: The objective of the study was to investigate the effect of lactoferrin-polyphenol conjugates on the stability of β -carotene emulsions. Conjugates of lactoferrin with polyphenol ((-)-epigallocatechin-3-gallate(EGCG), chlorogenic acid and gallic acid) were achieved by a free radical grafting procedure. The hydrophilic/hydrophobic characteristics of lactoferrin and lactoferrin-polyphenol conjugates were studied by reverse-phase HPLC. Lactoferrin-polyphenol conjugates were used as emulsifiers to prepare β -carotene emulsions, and the stability of β -carotene emulsions was characterized by transmission profiles through using novel centrifugal sedimentation and β -carotene degradation in the emulsion during storage. The results implied that hydrophilicity of lactoferrin was increased after modified by polyphenol; compared with those stabilized by lactoferrin alone, the emulsions stabilized by lactoferrin-polyphenol conjugates were able to improve the stability of β -carotene emulsions and inhibit the deterioration of β -carotene in oil-in-water emulsions, and lactoferrin-chlorogenic acid conjugate was the best emulsifier among the lactoferrin-EGCG, lactoferrin-chlorogenic acid and lactoferrin-gallic acid conjugates.

Key words: Lactoferrin Polyphenol Covalent conjugates β -carotene emulsions Stability

引言

β -胡萝卜素是类胡萝卜素的一种,具有较强的

抗氧化活性,能够有效降低心血管疾病和癌症的发病率,提高人体免疫力。然而, β -胡萝卜素为脂溶性化合物,很难应用于水溶液体系,而且在光照、氧气

收稿日期: 2014-08-05 修回日期: 2014-08-28

* 国家自然科学基金资助项目(31371835)

作者简介: 刘夫国, 博士生, 主要从事食品添加剂研究, E-mail: liufuguo@sina.cn

通讯作者: 高彦祥, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物提取及食品添加剂研究, E-mail: gyxcau@126.com

等环境下不稳定,这些都限制了 β -胡萝卜素在食品和医药等领域的广泛应用。

研究表明,制备水包油型(O/W) β -胡萝卜素乳状液,不仅可以解决 β -胡萝卜素的溶解性问题,而且可以提高其稳定性^[1-3]。毛立科等^[4-5]采用高压均质的方法,以乳化剂和食用胶体制备 β -胡萝卜素乳状液,发现大分子乳化剂制备的乳状液稳定性高于小分子乳化剂,所有乳化剂中乳清分离蛋白(WPI)对 β -胡萝卜素具有最好的保护作用。许朵霞等^[6-7]研究了WPI及其与甜菜果胶(BP)非共价与共价复合物(直接混合、层层组装、共价复合物)制备的 β -胡萝卜素乳状液的物理化学特性,发现WPI浓度对 β -胡萝卜素乳状液的稳定性影响显著,WPI-BP非共价或共价复合物可显著提高 β -胡萝卜素乳状液的理化稳定性。此外,曲桂芹等^[8]基于静电吸附原理和酶促交联原理,对 β -胡萝卜素乳液进行界面改性,制备出两种WPI-BP乳液,发现改性后的 β -胡萝卜素乳液具有一定的缓释功能。

WPI包括 α -乳白蛋白、乳铁蛋白、乳过氧化物酶和肽等,广泛应用于食品与医药行业^[9]。乳铁蛋白(LF)作为WPI的重要组成成分,具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗癌、调节机体免疫反应和促进铁的吸收等生物学功能^[10]。此外,LF具有较好的乳化性,可用于构建以乳状液为基础的传递系统^[11]。

本文采用自由基接枝聚合制备LF-多酚共价复合物,并以LF-多酚共价复合物为乳化剂制备包埋 β -胡萝卜素的乳状液,将该乳状液置于一定光照、温度环境下进行贮藏实验,研究蛋白-多酚共价复合物对乳状液中 β -胡萝卜素化学稳定性的影响,为扩展LF-多酚共价复合物这种新型乳化剂的应用范围,制备理化性质稳定的 β -胡萝卜素乳状液提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

乳铁蛋白(新西兰西部乳业公司),30% β -胡萝卜素油悬浮液(浙江医药有限公司新昌制药厂), β -胡萝卜素标准品(纯度95%以上,美国Sigma-Aldrich公司),中链甘油三酸酯(MCT)(奎斯特国际有限公司),表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)(纯度99.5%以上,北京北实纵横科技发展有限公司),绿原酸(CA)(纯度95%以上,美国Sigma-Aldrich公司),没食子酸(GA)(纯度98%以上,美国Sigma-Aldrich公司),抗坏血酸(分析纯,美国Sigma-Aldrich公司),透析袋(截留分子量12~14 kDa,北京拜尔迪生物技术有限公司),正己烷、

30%双氧水、无水乙醇均为分析纯(北京化工厂)。

1.2 仪器设备

Agilent 1100型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),ALPHA 1-2 LD plus型真空冷冻干燥器(德国Marin Christ公司),S22-2型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司),MVS-1型漩涡混合器(北京金北德工贸有限公司),AR1140型分析天平(上海奥豪斯国际贸易有限公司),T25型高速分散机(德国IKA公司),NS1001L2K型高压均质机(意大利Niro-Soavi公司),Zetasizer Nano-ZS90型激光粒度仪(英国Malvern公司),LUMiSizer全功能稳定性分析仪(德国LUM公司),Datacolor 650型计算机测色配色仪(美国Datacolor公司),UV-1800型紫外可见分光光度计(日本Shimadzu公司),Q-SUN/Xe-1-B型光照箱(美国Q-LAB公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 LF-多酚共价复合物的制备

参照文献[12]的方法,进行适当修改。将0.5 g LF溶解在50 mL去离子水中,加入1 mL双氧水(5 mol/L)和0.25 g抗坏血酸,大气压下25℃静置反应2 h,然后加入0.35 mmol/L EGCG、CA或GA,25℃静置反应24 h。将反应后的样品透析48 h,每隔6 h换水一次以确保未反应的游离多酚完全透析出去。然后将透析液在-20℃下预冻5 h后,再进行真空冷冻干燥(-50℃)48 h,最后将冻干的样品置于干燥器中备用。对照LF的制备方法同上,但不加入多酚。

1.3.2 高效液相色谱(HPLC)分析

采用反相高效液相色谱研究LF、LF-多酚共价复合物的亲水/疏水性质。色谱柱:Agilent Zorbax SB C18柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);柱温:35℃;流动相A为水:醋酸溶液(体积比99.9:0.1),流动相B为乙腈:醋酸溶液(体积比99.9:0.1),洗脱程序见表1;流速0.8 mL/min;检测波长280 nm;进样量20 μ L。

表1 流动相梯度洗脱程序

Tab. 1 Linear gradient procedure of mobile phase

时间/min	流动相 A 体积分数/%	流动相 B 体积分数/%
0	80	20
10	75	25
20	55	45

1.3.3 β -胡萝卜素乳状液的制备

将30% β -胡萝卜素油悬浮液溶解于MCT中(质量分数2%)加热搅拌至完全溶解,形成油相(质量分数5%);将LF或LF-多酚共价复合物加入去离子水中(质量分数0.9%),溶胀,静置12 h,形成

水相(质量分数 95%);在高速乳化均质机的搅拌下缓慢将油相添加到水相中,10 000 r/min 剪切 10 min,形成粗乳状液。粗乳状液通过高压均质机进一步均质得到 β -胡萝卜素乳状液。高压均质压机采用二级加压,一级均质压力 60 MPa,二级均质压力 6 MPa,循环 3 次。将制备的乳状液迅速转移至棕色瓶中,充氮气,于设定条件下避光保存。

1.3.4 乳状液粒径及 zeta 电位分析

本实验采用激光粒度仪测定乳状液的粒径和 zeta 电位。仪器基于动态光散射(Dynamic light scattering)技术进行分析。实验结果以平均直径表示乳状液粒径,以多分散指数(Polydispersity index, PDI)表示乳状液粒径分布。

为了减小多重光散射(Multiple light scattering)对测量的误差,所有样品在分析测试前用去离子水稀释 500 倍。每个样品平行测定 3 次。

1.3.5 β -胡萝卜素含量测定方法

准确称取 β -胡萝卜素标准样品 5 mg,溶于正己烷中,置于 10 mL 容量瓶中,并稀释成系列质量浓度的标准溶液,利用紫外可见分光光度计测其在 450 nm 处的吸光度。得到吸光度对 β -胡萝卜素质量浓度的标准曲线 $y = 0.1245x + 0.005$, $R^2 = 0.9999$ 。

取稀释一定倍数的 β -胡萝卜素乳状液 1 mL,加入乙醇和正己烷(体积比例 1:2),重复萃取 3 次,合并上层萃取液,测其在 450 nm 处的吸光度。根据 β -胡萝卜素标准曲线计算色素含量。结果以胡萝卜素保留率 C/C_0 表示(其中 C 为贮藏一定时间后 β -胡萝卜素的浓度, C_0 为 β -胡萝卜素初始浓度)。

1.3.6 色差测定方法

色差测定采用 CIE 颜色系统(CIE color system),分别测定亮度(L)、红绿值(a)和黄蓝值(b)。以白板为标准,每个样品测量 8 个点,总色差计算公式为

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2}$$

式中 L^* 、 a^* 、 b^* ——白板的颜色参数

L 、 a 、 b ——样品的颜色参数

1.3.7 乳状液的稳定性分析

应用 LUMiSizer 稳定性分析仪,通过加速分层和量化沉淀、悬浮的方法快速测定乳状液的稳定性。参照 Lei 等^[13]的方法,取乳状液约 0.8 mL,均匀注射样品至试管底部,温度设定为 25℃,离心转速为 4 000 r/min,样品透光率的特征线每 30 s 记录一次,共 255 次。

1.3.8 乳状液中 β -胡萝卜素的化学稳定性分析

(1) 乳状液中 β -胡萝卜素的光稳定性

将制备的 β -胡萝卜素乳状液用去离子水稀释

4 倍后置于光照瓶中,再放入光照箱中(模拟全光谱太阳光),在光照强度 450 W/m²、温度 45℃ 的条件下进行持续照射,每隔 2 h 测量乳状液中 β -胡萝卜素的含量及色差 ΔE 变化(样品稀释 7.5 倍)。

(2) 乳状液中 β -胡萝卜素的热稳定性

将制备的 β -胡萝卜素乳状液用去离子水稀释 4 倍后,高速剪切 5 min(10 000 r/min),然后装入棕色玻璃小瓶中,分别在 25、37、55℃ 下进行贮藏,贮藏过程中充氮气进行保护。定时取样测定乳状液中的 β -胡萝卜素含量。

1.4 统计分析

每组实验至少重复 2 次,每个样品至少检测 3 组数据,结果用平均值 \pm 标准差来表示。运用 SPSS 18.0 软件,采用 Duncan 法对数据进行单因素方差分析,显著水平为 5%。

2 结果与分析

2.1 LF-多酚共价复合物的制备

本实验采用羟基自由基接枝共聚的方法制备 LF-多酚共价复合物,该方法条件温和,常温下即可进行,而且不会产生有毒副产物^[14]。近年来研究表明该方法在合成蛋白-多酚共价产物方面具有较好效果^[12,15]。

本研究采用不同多酚与 LF 进行共价复合反应,由于多酚的种类和极性有差异,因此可采用反相高效液相色谱对 3 种多酚及 LF-多酚共价复合物进行定性分析。如图 1 所示,3 种多酚色谱峰保留时间由短到长依次为 EGCG、GA 和 CA 峰。多酚与 LF 共价结合后,蛋白的极性发生改变。与对照样品相

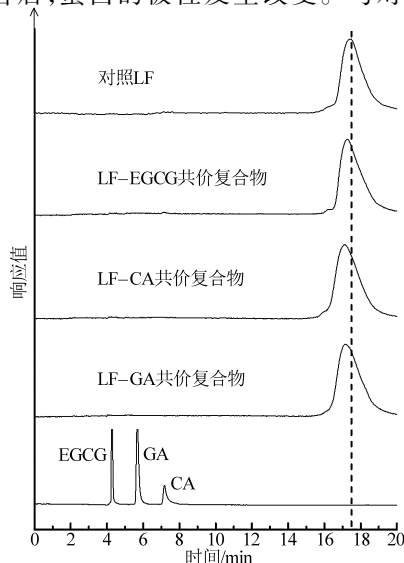


图1 LF与LF-多酚共价结合物的高效液相色谱
Fig.1 High-performance liquid chromatography of lactoferrin and lactoferrin-polyphenol conjugates

比,LF-CA、LF-GA及LF-EGCG共价复合物色谱峰的保留时间均有不同程度的减少,LF-CA复合物的保留时间最短。说明不同多酚与蛋白共价结合的量存在一定的差异,CA与LF结合量相对较多。在反相液相色谱中,保留时间的减少表明亲水性增加或疏水性减少^[16],这可能因为EGCG、CA和GA均含有酚羟基,是亲水性的分子,LF与多酚共价复合作用使得蛋白质分子中的羟基含量增加,亲水性增强。因此,本实验结果表明多酚与LF通过羟基自由基接枝共聚的方法生成了共价复合物。

2.2 β -胡萝卜素乳状液的制备

选择合适质量分数的乳化剂对制备乳状液尤为重要,当乳化剂质量分数较低时,乳化剂不足以充分覆盖液滴表面,增加了液滴相互接触聚集的机率,从而降低了乳化效率;乳化剂质量分数过高会使分散

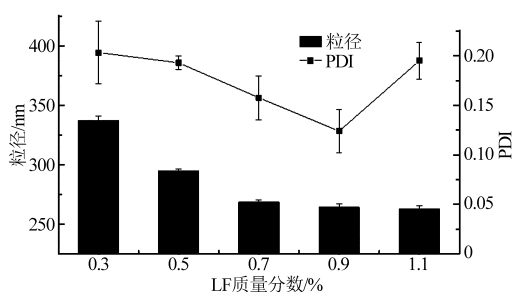


图2 LF质量分数对 β -胡萝卜素乳状液粒径、PDI和zeta-电位的影响

Fig. 2 Effect of LF concentration on size, PDI and zeta-potential of emulsions

2.3 不同乳状液的稳定性

本实验应用LUMiSizer稳定性分析仪,通过加速分层和量化沉淀、悬浮的方法快速测定乳状液的稳定性,通过记录乳状液在离心过程中特定位置在不同时间的透光率变化,表征乳状液的稳定性。图3为用对照LF及LF-多酚共价复合物制备的乳状液的LUMiSizer稳定性分析仪分析结果,其中纵坐标记录的是乳状液在离心过程中特定位置在不同

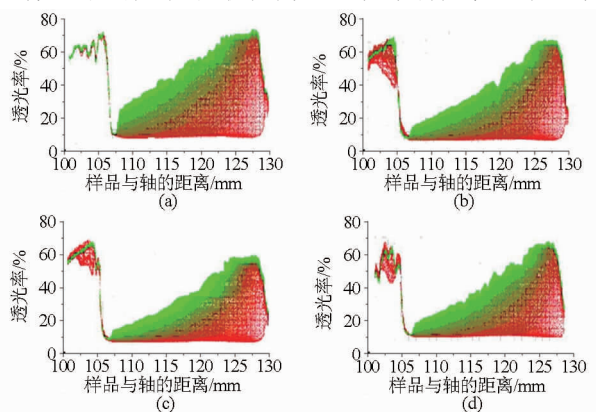


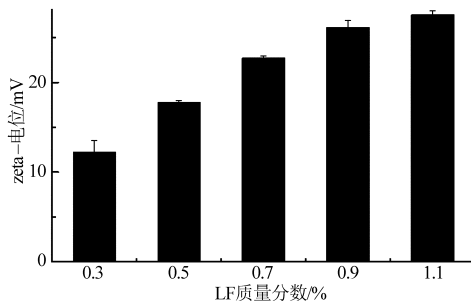
图3 β -胡萝卜素乳状液的LUMiSizer分析图

Fig. 3 Evolution of transmission profiles of emulsions

(a) 对照LF (b) LF-EGCG共价复合物

(c) LF-CA共价复合物 (d) LF-GA共价复合物

相中乳化剂浓度过大,既造成乳化剂的浪费,增加乳状液制备成本,又不利于乳状液的稳定。如图2所示,随着LF质量分数的增加, β -胡萝卜素乳状液粒径逐渐减小;多分散性指数(PDI)先减小后增加,且在LF质量分数为0.9%时达到最小值;zeta-电位逐渐增加,LF质量分数高于0.9%时变化不显著($p > 0.05$)。当蛋白质量分数较低时,油滴表面没有被完全覆盖,易发生聚集,因此粒径较大。而LF质量分数较高时(0.9%以上),水相中会存在较多的未吸附蛋白,导致粒径分布不均匀(PDI增加),乳状液稳定性变化不大(粒径及zeta-电位变化不显著)。因此,在保证LF充分吸附在油滴表面的同时,应尽量减少其在水相中的溶解,制备均一稳定的乳状液。综合以上分析,本实验选择质量分数0.9%的LF和LF-多酚共价复合物制备乳状液。



时间的透光率,横坐标表示样品与轴的距离。可以看出,分别采用对照LF与LF-多酚共价复合物制备的乳状液稳定性有明显差异。在检测初期,乳状液体系呈均一状,在样品槽的任意高度几乎都没有光可以透过;离心过程的进行促进了乳状液的油水分层,较重且透光率大的水相转移到样品槽底部,使得底部的透光率升高;较轻且透光率小的油相转移到样品槽顶部,使得顶部出现油圈,透光率降低。离心过程中透光率变化越大,意味着乳状液的稳定性越差^[17]。为了定量表示透射光变化情况,研究了透光率随离心时间的变化曲线,如图4所示。透光率变化越小,乳状液越稳定。4种乳状液的透光率存在一定的差异,与对照LF相比,3种共价复合物斜率变化均较小,说明LF共价复合物制备的乳状液在离心过程中相对稳定。

2.4 不同乳状液中 β -胡萝卜素的光稳定性

由于 β -胡萝卜素含有多个不饱和双键,容易在光照条件下发生降解,因此本文研究了分别采用对照LF与LF-多酚共价复合物制备的 β -胡萝卜素乳状液中 β -胡萝卜素的降解规律。由图5可知,不同LF样品对 β -胡萝卜素保留率的影响有显著差异。

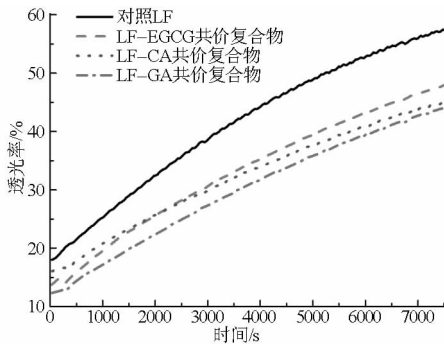


图4 β -胡萝卜素乳状液离心过程中透光率的变化
Fig.4 Recorded evolutions of time dependent integral transmission profiles of emulsions

随着光照时间的延长,不同界面层制备的乳状液中 β -胡萝卜素均有一定程度的降解,其中对照 LF 降解较快。光照 6 h 后,LF 制备的乳状液中 β -胡萝卜素的保留率仅为 0.053,而 3 种共价复合物制备的乳状液中 β -胡萝卜素的保留率均高于 0.7。光照 8 h 后 LF 制备的乳状液中 β -胡萝卜素几乎完全降解,而 LF-EGCG、LF-CA 及 LF-GA 共价复合物制备的乳状液中 β -胡萝卜素的保留率分别为 0.81、0.75 及 0.58。结果表明:共价复合物显著提高了乳状液中 β -胡萝卜素的光稳定性,这主要归因于共价复合物具有较强的抗氧化性和乳化稳定性^[12,18]。较强的乳化稳定性使得乳状液不易发生油水两相分离,从而使得 β -胡萝卜素不易暴露出来受到光照产生的自由基的影响而发生降解;较强的抗氧化性可以猝灭光照产生的自由基,阻止其对 β -胡萝卜素的氧化破坏,同时抑制了脂肪氧化的链反应。

实验同时考察了光照条件下 β -胡萝卜素乳状液的颜色变化。未经光照处理时,所有 β -胡萝卜素乳状液均呈现橘黄色。光照至一定时间后,对照 LF 制备的乳状液变为乳白色。通过测定不同时间光照处理后乳状液的 L 、 a 、 b 值,计算了总色差变化,如图 6 所示。蛋白-多酚共价复合物制备的乳状液在光照条件下颜色变化较小,而对照 LF 制备的乳状液随光照时间延长而显著增加,说明 β -胡萝卜素的降解导致乳状液外观差异显著,而 LF-多酚共价复合物能够较好地稳定 β -胡萝卜素乳状液的色泽。

2.5 不同乳状液中 β -胡萝卜素的热稳定性

为了进一步比较 LF-多酚共价复合物对 β -胡萝卜素在乳状液中化学稳定性的影响,本实验将不同样品制备的乳状液分别于 25、37、55 $^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏,贮藏过程中检测 β -胡萝卜素的含量变化,结果如图 7 所示。从图中可以看出,随着贮藏温度的升高, β -胡萝卜素的降解速率显著加快。例如采用对

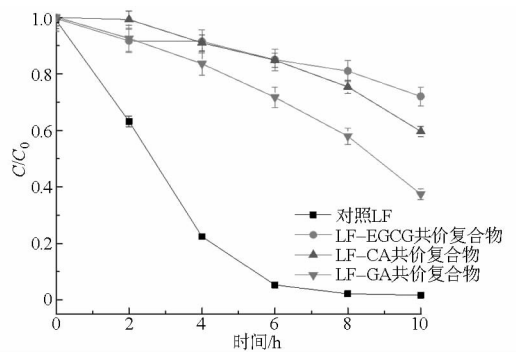


图5 光照条件下不同乳状液中 β -胡萝卜素的含量变化
Fig.5 Degradation of β -carotene in different emulsions stored under light exposure

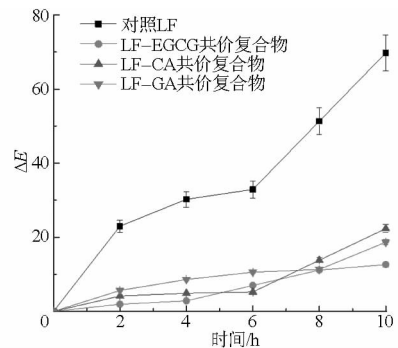
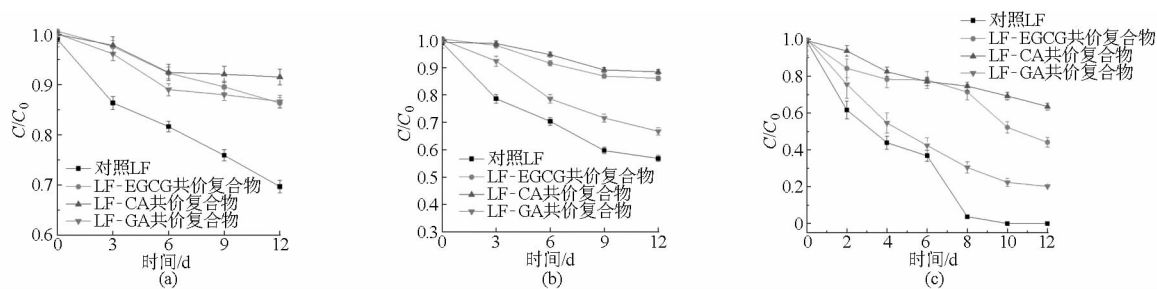


图6 光照条件下不同乳状液色差的变化
Fig.6 Total colour changes of different emulsions stored under light exposure

照 LF 制备的乳状液中,在 25、37、55 $^{\circ}\text{C}$ 条件下实验进行 12 d 后, β -胡萝卜素保留率分别为 0.696 8、0.568 2、0,同时,在所有温度的贮藏实验中,与对照 LF 乳状液相比,共价复合物乳状液中 β -胡萝卜素的降解速率较慢,并且 LF-EGCG 共价复合物制备的乳状液中 β -胡萝卜素的保留率最高。55 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 12 d 后,对照 LF、LF-EGCG、LF-CA 及 LF-GA 共价复合物乳状液中 β -胡萝卜素的保留率分别为 0、0.441 0、0.634 9、0.201 5。由此可知,不同多酚与 LF 共价复合物对乳状液中 β -胡萝卜素的化学稳定性起到一定的保护作用。

为了研究不同温度及乳化剂对 β -胡萝卜素降解的影响,采用一级反应动力学公式 $\ln(C/C_0) = -kt$ (k 为反应速率常数, t 为时间) 对实验数据进行处理,得到不同贮藏条件下乳状液中 β -胡萝卜素的降解反应速率常数,如表 2 所示。将 $\ln(C/C_0)$ 与时间 t 进行拟合,结果显示,各温度下 $\ln(C/C_0)$ 与 t 均呈良好的线性关系 ($R^2 > 0.86$),说明 β -胡萝卜素在贮藏过程中的降解反应符合一级反应动力学模型。由表 2 可知, β -胡萝卜素的降解速率随温度的升高而加快,高温贮藏及光照条件下,LF-CA 共价复合物稳定的乳状液中, β -胡萝卜素的降解速率相对较慢。

图7 不同乳状液在贮藏过程中 β -胡萝卜素含量的变化Fig. 7 Degradation of β -carotene in LF, LF-EGCG, LF-CA and LF-GA conjugates stabilized emulsions

(a) 25°C (b) 37°C (c) 55°C

表2 不同乳状液贮藏过程中 β -胡萝卜素降解反应速率常数的变化Tab. 2 Reaction rate constants (k) of β -carotene degradation at different storage temperatures or against light exposure

乳状液样品	贮藏温度/°C			光照条件下速率
	25	37	55	常数
对照 LF	3.63×10^{-7}	6.11×10^{-7}	3.52×10^{-6}	1.21×10^{-4}
LF-EGCG 共价复合物	1.41×10^{-7}	1.57×10^{-7}	5.32×10^{-7}	8.17×10^{-6}
LF-CA 共价复合物	1.01×10^{-7}	1.24×10^{-7}	4.64×10^{-7}	1.11×10^{-5}
LF-GA 共价复合物	1.59×10^{-7}	4.10×10^{-7}	1.70×10^{-6}	2.16×10^{-5}

3 结束语

通过自由基接枝聚合法制备了不同多酚(EGCG、CA、GA)与LF共价复合物,并以LF-多酚共价复合物为乳化剂,制备 β -胡萝卜素乳状液,确定了LF的最佳质量分数为0.9%;同时,评价了

LF-多酚共价复合物对 β -胡萝卜素乳状液稳定性的影响,结果表明:LF-多酚生成的共价复合物可以提高 β -胡萝卜素乳状液的稳定性,同时可以抑制O/W乳状液中 β -胡萝卜素的降解,提高其化学稳定性;3种共价复合物中,LF-CA共价复合物对 β -胡萝卜素乳状液具有最好的稳定效果。

参 考 文 献

- 1 许朵霞,王小亚,尤嘉,等. 蛋白质-多糖复合物对 β -胡萝卜素乳液的影响[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(4): 9-13. Xu Duoxia, Wang Xiaoya, You Jia, et al. The influence of protein-polysaccharide conjugate on the stability of the β -carotene emulsion[J]. Food Research and Development, 2012, 33(4): 9-13. (in Chinese)
- 2 毛立科,许朵霞,杨佳,等. 不同乳化剂制备 β -胡萝卜素纳米乳液研究[J]. 食品工业科技, 2008(4): 64-67. Mao Like, Xu Duoxia, Yang Jia, et al. Research on preparation of β -carotene nanoemulsions with different emulsifiers[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008(4): 64-67. (in Chinese)
- 3 Qian C, Decker E A, Xiao H, et al. Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type[J]. Food Chemistry, 2012, 132(3): 1221-1229.
- 4 Mao L, Yang J, Xu D, et al. Effects of homogenization models and emulsifiers on the physicochemical properties of β -carotene nanoemulsions[J]. Journal of Dispersion Science and Technology, 2010, 31(7): 986-993.
- 5 Mao L, Xu D, Yang J, et al. Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization[J]. Food Technology and Biotechnology, 2009, 47(3): 336-342.
- 6 Xu D, Wang X, Jiang J, et al. Impact of whey protein-beet pectin conjugation on the physicochemical stability of β -carotene emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(2): 258-266.
- 7 Xu D, Wang X, Yuan F, et al. Stability of β -carotene in oil-in-water emulsions prepared by mixed layer and bilayer of whey protein isolate and beet pectin[J]. Journal of Dispersion Science and Technology, 2013, 34(6): 785-792.
- 8 曲桂芹,王盼,酆金龙,等. 甜菜果胶-WPI复合对 β -胡萝卜素乳液消化特性的影响[J]. 农业机械学报, 2014, 45(1): 184-190. Qu Guiqin, Wang Pan, Li Jinlong, et al. Preparation of β -carotene emulsion stabilized by beet pectin-whey protein isolate complex and its digestion properties in vitro digestion model[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(1): 184-190. (in Chinese)

(下转第225页)

- carbonyls- α -aminoadipic and γ -glutamic semialdehydes-in meat systems[J]. *Meat Science*, 2011, 89(4): 500 – 506.
- 19 田甲春, 韩玲, 刘昕, 等. 牦牛肉宰后成熟机理与肉用品质研究[J]. *农业机械学报*, 2012, 43(12): 146 – 150.
Tian Jiachun, Han Ling, Liu Xin, et al. Ageing mechanism and meat quality during postmortem ageing of yak meat[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2012, 43(12): 146 – 150. (in Chinese)
- 20 Honikel K O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat[J]. *Meat Science*, 1998, 49(4): 447 – 457.
- 21 Promeprat A, Daudin J, Astruc T, et al. Kinetics of protein physicochemical changes induced by heating in meat using mimetic models: (2) effects of fibre type, peroxides and antioxidants[J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(4): 2283 – 2290.
- 22 Renner M, Dumont F, Gatellier P. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin[J]. *Meat Science*, 1996, 43(2): 111 – 121.
- 23 Soyer A, Özalp B, Dalmış Ü, et al. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat[J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(4): 1025 – 1030.
- 24 Zaritzky N. Handbook of frozen food processing and packaging[M]. Boca Raton, FL: CRC Press, 2011: 3 – 38.
- 25 Min B, Ahn D. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products—a review[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2005, 14(1): 152 – 163.
- 26 Villaverde A, Estévez M. Carbonylation of myofibrillar proteins through the Maillard pathway: effect of reducing sugars and reaction temperature[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(12): 3140 – 3147.
- 27 Utrera M, Estévez M. Oxidation of myofibrillar proteins and impaired functionality: underlying mechanisms of the carbonylation pathway[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(32): 8002 – 8011.
- 28 Traore S, Aubry L, Gatellier P, et al. Higher drip loss is associated with protein oxidation[J]. *Meat Science*, 2012, 90(4): 917 – 924.
- 29 孙志昶, 冯晓琴, 韩玲, 等. 牦牛肉宰后成熟嫩化与细胞凋亡酶活力变化研究[J]. *农业机械学报*, 2014, 45(1): 191 – 196, 202.
Sun Zhichang, Feng Xiaoqin, Han Ling, et al. Tenderness and apoptotic activity of yak meat during postmortem aging [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2014, 45(1): 191 – 196, 202. (in Chinese)
-

(上接第 217 页)

- 9 卢晓明, 王静波, 任发政, 等. 乳清蛋白在食品工业中的应用[J]. *食品科学*, 2010, 31(1): 262 – 267.
Lu Xiaoming, Wang Jingbo, Ren Fazheng, et al. Application of whey protein in food industry: a review[J]. *Food Science*, 2010, 31(1): 262 – 267. (in Chinese)
- 10 凌雪萍, 庞广昌, 邢伟. 乳铁蛋白的开发利用及其研究进展[J]. *中国乳品工业*, 2002, 30(4): 18 – 21.
Ling Xueping, Pang Guangchang, Xing Wei. Recent development and progress of lactoferrin[J]. *China Dairy Industry*, 2002, 30(4): 18 – 21. (in Chinese)
- 11 Tokle T, McClements D J. Physicochemical properties of lactoferrin stabilized oil-in-water emulsions: effects of pH, salt and heating[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(5): 976 – 982.
- 12 Liu F, Sun C, Yang W, et al. Structural characterization and functional evaluation of lactoferrin-polyphenol conjugates formed by free-radical graft copolymerization[J]. *RSC Advances*, 2015, 5(20): 15641 – 15651.
- 13 Lei F, Liu F, Yuan F, et al. Impact of chitosan-EGCG conjugates on physicochemical stability of β -carotene emulsion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 39: 163 – 170.
- 14 Kitagawa M, Tokiwa Y. Polymerization of vinyl sugar ester using ascorbic acid and hydrogen peroxide as a redox reagent[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2006, 64(2): 218 – 223.
- 15 You J, Luo Y, Wu J. Conjugation of ovotransferrin with catechin shows improved antioxidant activity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(12): 2581 – 2587.
- 16 Guo D, Mant C T, Taneja A K, et al. Prediction of peptide retention times in reversed-phase high-performance liquid chromatography I. Determination of retention coefficients of amino acid residues of model synthetic peptides [J]. *Journal of Chromatography A*, 1986, 359: 499 – 518.
- 17 Yuan F, Xu D, Qi X, et al. Impact of high hydrostatic pressure on the emulsifying properties of whey protein isolate-chitosan mixtures[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2013, 6(4): 1024 – 1031.
- 18 Wang X, Liu F, Liu L, et al. Physicochemical characterisation of β -carotene emulsion stabilised by covalent complexes of α -lactalbumin with (–)-epigallocatechin gallate or chlorogenic acid[J]. *Food Chemistry*, 2015, 173: 564 – 568.