

火麻油复合纳米乳液的制备及稳定性研究

闫馨月¹, 贾亦佳¹, 孙诗艳¹, 张东蒙¹, 李杨^{*1,2}

(1. 东北农业大学 食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 国家大豆工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150050)

摘要: 以火麻油、大豆分离蛋白、卵磷脂以及山柰酚为原料制备火麻油复合纳米乳液。研究在不同超声功率(100、200、300、400 W)下处理 10 min 对乳液稳定性的影响, 揭示复合体系稳定性随超声条件变化的规律。通过粒径、Zeta 电位、内源荧光光谱以及表面疏水性的测定可知, 当超声功率为 300 W 时, 由于超声处理的空化作用使体系分散均匀, 蛋白质内部的疏水性残基暴露于表面, 乳液的内源荧光光谱红移, 荧光强度与表面疏水性均提高。通过测定样品的乳化性、乳析指数以及氧化稳定性可知, 当超声功率为 300 W 时, 乳液有较好的物理稳定性和氧化稳定性。这表明适当的超声处理有利于提升复合体系稳定性。研究结果对延长火麻油货架期有参考作用, 对构建复合乳液体系有借鉴意义。

关键词: 火麻油; 超声处理; 复合纳米乳液; 稳定性

中图分类号: TS 201.2 文章编号: 1673-1689(2022)06-0084-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.06.010

Preparation and Stability of Hemp Seed Oil Composite Nano-Emulsion

YAN Xinyue¹, JIA Yijia¹, SUN Shiyan¹, ZHANG Dongmeng¹, LI Yang^{*1,2}

(1. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. National Research Center of Soybean Engineering and Technology, Harbin 150050, China)

Abstract: Hemp seed oil composite nano-emulsion was prepared from hemp seed oil, soybean protein isolate, lecithin and kaempferol. The effects of treatment under different ultrasonic powers (100, 200, 300 W and 400 W) for 10 min on the emulsion stability were studied, and the regularity of composite emulsion stability changing with the ultrasonic conditions was revealed. The particle size, Zeta-potential, intrinsic fluorescence spectra and surface hydrophobicity were measured. It was found that under 300 W, the system uniformly dispersed due to the cavitation effect of ultrasonic treatment, the hydrophobic residues inside the protein were exposed to the surface, the internal fluorescence spectra of emulsion were red-shifted, and both the fluorescence intensity and surface hydrophobicity increased. The measurement of emulsification, creaming index and oxidation stability of the samples showed that the emulsion had good physical stability and oxidative stability under 300 W. This indicated that proper ultrasonic treatment was beneficial to improve the stability of composite system. The research results could be used for reference to prolong the shelf life of hemp seed oil and to construct a composite emulsion system.

Keywords: hemp seed oil, ultrasonic treatment, composite nano-emulsion, stability

收稿日期: 2022-01-29

基金项目: 大豆产业技术体系岗位科学家项目(CARS-04-PS32)。

* 通信作者: 李杨(1981—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究。E-mail: yangli@neau.edu.cn

火麻油富含多不饱和脂肪酸,主要为亚油酸和亚麻酸^[1]。火麻油中 $n-6$ 与 $n-3$ 系脂肪酸质量比大致为 4:1~6:1,与膳食营养素参考摄入量相符^[2]。此外,火麻油富含氨基酸、矿物质、植物甾醇、生育酚等多种成分,营养价值丰富^[3]。火麻油具有提高人体免疫力、抑制癌细胞生长、预防动脉粥样硬化、抗菌消炎、延缓皮肤衰老等功能,被誉为“长寿油”,是一种潜在的药食同源食品。火麻油易发生氧化酸败,从而破坏其中的营养成分,并且造成风味损失。将火麻油制成纳米乳液,可增强其稳定性,扩大适用范围。大豆分离蛋白(SPI)因具有良好的乳化性和两亲性,较适用于制备水包油型纳米乳液^[4],但是大豆分离蛋白单独作为乳化剂制备纳米乳液稳定性差^[5],通常情况下与其他乳化剂复配使用,如多糖^[6]、大豆卵磷脂^[7]。大豆卵磷脂是一种天然乳化剂,可增强大豆分离蛋白的乳化性,Mottola 等发现,大豆卵磷脂与天然或变性大豆分离蛋白复配后可调节乳液的物理稳定性^[8]。李秋慧等研究发现大豆分离蛋白与适量磷脂进行复合,可在水-油界面形成较稳定的薄膜,从而提高乳液的物理及氧化稳定性^[9]。山柰酚是提取于姜科植物中的一类黄酮化合物^[10]。山柰酚拥有较强的抗氧化性,可清除多种自由基,延缓衰老^[11]。但其水溶性较差,临床应用较难。因此,将山柰酚加入纳米乳液,可以改善山柰酚的生物利用率,提高乳液的抗氧化能力。

纳米乳液一般由水、油、乳化剂组成,有时会加入助乳化剂来调节乳液的稳定性^[12],纳米乳液的动力学稳定性良好,在食品、化妆品、材料合成等领域得到了广泛应用^[13]。目前,制备纳米乳液主要通过均质、超声、微射流等方法。其中,超声乳化优势明显,不仅操作简单、成本低廉,而且制备的乳液粒径小,稳定性高^[14]。超声乳化主要是因为声场引起的界面波破坏了油水界面的稳定性,使油相以水滴的形式分离到水介质中。其次,空化气泡的内爆产生冲击波,引发连锁反应,破碎分散的液滴使之粒径减小,直到液滴达到非常稳定的乳液的尺寸^[15-16]。王霞等采用超声技术制备了糖基化米糠蛋白纳米乳液,并确定纳米乳液的最佳制备条件,研究发现超声乳化可提高纳米乳液的稳定性^[17]。

因此,作者使用大豆分离蛋白、卵磷脂以及山柰酚作为复合乳化剂制备火麻油复合纳米乳液。通过表征乳液的构型变化及物理化学性质,研究了火

麻油复合纳米乳液的物理稳定性与氧化稳定性,为火麻油在食品工业中的应用提供一定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大豆分离蛋白、卵磷脂、山柰酚:上海源叶生物科技有限公司产品;三氯乙酸、正己烷、石油醚、乙二醇四乙酸二钠、硫代巴比妥酸:国药集团化学试剂有限公司产品;1-苯胺基-8-萘磺酸(ANS):Sigma 公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 火麻油复合纳米乳液的制备 分别将大豆分离蛋白、卵磷脂和山柰酚用去离子水溶解,利用磁力搅拌器搅拌 30 min。以体积比 30:3:2 混合均匀,再添加适量火麻油。使用 IKA 均质机在 10 000 r/min 下均质 5 min。超声波处理的方法参考文献[18]并适当修改。将超声波探头伸入均质后的粗乳液中,距离容器底部 5 mm 处。超声频率 20 kHz,输出功率 100、200、300、400 W,处理 10 min,超声时间与间隔时间分别为 5 s 和 4 s。

1.2.2 粒径及 Zeta 电位的测定 参考文献[19]的方法并适当修改。将乳液用 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液稀释至 0.5 mg/mL,采用粒度分析仪在室温下对样品的粒径和 Zeta 电位进行测定。

1.2.3 内源荧光光谱的测定 参照文献[20]的方法并适当修改。将样品用磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L)稀释至 0.02 mg/mL 后扫描。发射波长 320~400 nm,激发波长 285 nm,狭缝宽度 2.0 nm,扫描速率 2 000 nm/min。

1.2.4 表面疏水性的测定 参照文献[21]的方法,使用 ANS 法测量所有样品溶液(pH 7.2)的表面疏水性(H_0)。将样品稀释至 0.005~2 mg/mL,黑暗中反应 30 min 后进行光度测量。以添加 ANS 的磷酸盐缓冲液作为空白对照。激发波长和发射波长分别为 380 nm 和 480 nm,缝宽宽度 5 nm,样品的 H_0 为蛋白质质量浓度与荧光强度线性方程的斜率。

1.2.5 乳化活性及乳化稳定性的测定 参考文献[22]的方法并适当修改。将样品用 SDS 溶液(质量分数 0.1%)稀释 100 倍并混合均匀,以 SDS 标准溶液作为空白对照。在 500 nm 处测定吸光度,计为 A_0 。静置 10 min 再次测定吸光度,记为 A_{10} ,计算乳化活性(EAI)和乳化稳定性(ESI)。

$$EAI(m^2/g) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{\rho \times \phi \times L \times 10} \quad (1)$$

$$ESI(\min) = \frac{A_0 \times 10}{A_0 - A_{10}} \quad (2)$$

式中： ρ 为样品质量浓度，g/mL； ϕ 为乳液与油相的体积比， $\phi=0.25$ ； L 为比色杯直径，cm； N 为稀释倍数； A_0 为乳液的初始吸光度； A_{10} 为 10 min 时的吸光度； T 为乳液静置时间，min。

1.2.6 乳析指数的测定 用乳析指数表征分层程度，取新鲜乳液于 15 mL 透明玻璃瓶中，旋紧玻璃盖以防样品蒸发。室温避光储存，在 3、6、9、12、15 d 时进行观察，计算乳析指数。

$$CI(\%) = \frac{H_s}{H_E} \times 100 \quad (3)$$

式中： CI 为乳析指数，%； H_s 为上层乳化层的高度，cm； H_E 为乳液总高度，cm。

1.2.7 抗氧化活性的测定

1) DPPH 自由基清除率 参考文献[23]的方法适当修改。准确称取 3.5 mg DPPH，用甲醇定容至 10 mL，获得 DPPH 原始溶液。每次使用前将溶液稀释，获得 DPPH 实验溶液。测定时，将样品用甲醇稀释至合适质量浓度，再与适量 DPPH 实验溶液混匀，避光静置 30 min。在 517 nm 处测定吸光度(A_3)，以纯乳液吸光度(A_2)为样品对照组，DPPH-甲醇吸光度(A_1)为空白组，甲醇吸光度(A_0)为空白对照组。分别测定吸光度，计算 DPPH 自由基清除率。

$$DPPH \text{ 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_3 - A_2}{A_1 - A_0}\right) \times 100 \quad (4)$$

2) ABTS 自由基清除率 参考文献[24]的方法并适当修改。取 0.5 mL 样品加入 4 mL ABTS 工作液，避光静置 50 min。在 734 nm 处测定吸光度(A_3)，以纯乳液吸光度(A_2)为样品对照组，ABTS-甲醇吸光度(A_1)为空白组，甲醇吸光度(A_0)为空白对照组。分别测定吸光度，计算 ABTS 自由基清除率。

$$ABTS \text{ 自由基清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_3 - A_2}{A_1 - A_0}\right) \times 100 \quad (5)$$

1.2.8 氧化稳定性的测定

1) 初级氧化产物 参考文献[25]的方法，将 6 mL 异辛烷-异丙醇(体积比 2:1)混合液加到适量样品中，振荡混匀后在 6 000 r/min 下离心。取出上层溶液，添加甲醇-正丁醇(体积比 2:1)混合液至 10 mL，再加入 40 μ L 硫氰酸钾溶液(3.94 mol/L)和 40 μ L 硫酸亚铁溶液(0.144 mol/L)，避光反应 30 min，

在 510 nm 处测定吸光度。以纯净火麻油作为对照。脂质过氧化物的浓度(以 POV 表示)根据异丙苯过氧化氢标准品绘制的标准曲线计算。

2) 次级氧化产物 参考文献[26]的方法。将 4 mL TBARS 测试液(质量分数 15% 三氯乙酸与质量分数 0.375% 硫代巴比妥酸溶于 0.25 mol/L HCl) 加到 2 mL 乳液中。沸水加热 20 min 后冷却至室温，用直径 1.2 μ m 的微孔滤膜过滤，取适量滤液于 532 nm 处测定吸光度。以纯净火麻油作为对照。乳液中硫代巴比妥酸(TBA)的质量分数通过 1,1,3,3-四乙氧基丙烷标准品绘制的标准曲线计算。

1.3 数据统计分析

所有实验数据均在测定 3 次后得出，结果表示为平均值 \pm 标准差。数据统计分析采用 SPSS 18.5 软件， $P < 0.05$ 为差异显著。绘图采用 Origin 9.1 软件。

2 结果与分析

2.1 粒径及 Zeta 电位

不同超声功率对火麻油复合纳米乳液的平均粒径、多分散性指数(PDI)以及 Zeta 电位的影响见表 1。当超声功率逐渐提高至 300 W 时，乳液的平均粒径由未超声处理的 2 262.00 nm 降低到 804.33 nm。这是由于超声处理产生了较强的空化效应和湍流作用，使乳液颗粒尺寸减小^[27]。然而，超声功率达到 400 W 时，平均粒径并未继续减小。推测原因可能是蛋白质经过一段时间的高功率处理后分子间重新聚集，这与 Kentish 等研究结果相一致^[28]。通常复合乳液液滴的平均粒径越小，对应的 PDI 也会越低^[29]。因此当超声功率达到 300 W 时，PDI 为 0.183，远小于未经超声处理样品的 0.676。说明超声处理后，纳米乳液的粒径分布更加集中，在此范围内的液滴分散性提高，体系稳定性随之增加。

Zeta 电位用来表征复合物的电负性。通过测定样品表面的电荷数量，确定粒子间的静电相互作用，进而明确稳定体系的作用力。如表 1 所示，当超声功率在 300 W 时，乳液颗粒表面带电数量最多。说明在此条件下，纳米颗粒间具有强烈的静电作用。原因在于适当的超声处理使复合物粒径减小，颗粒的比表面积增大，暴露出更多的带电残基，导致静电作用增强^[30]。静电相互作用的提高会破坏复合乳液中的大分子聚集体，改善体系的稳定性。

表 1 不同超声处理条件下火麻油复合纳米乳液的物理性质

Table 1 Physical properties of hemp seed oil composite nano-emulsion under different ultrasonic treatment conditions

超声功率/W	平均粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV	H_0
0	2 262.00±54.62 ^a	0.676±0.067 ^a	-13.537±0.250 ^a	7 411.06±69.36 ^c
100	2 000.33±22.55 ^b	0.591±0.011 ^a	-14.640±0.496 ^a	12 540.24±58.14 ^d
200	1 312.87±32.20 ^c	0.244±0.050 ^b	-16.453±0.537 ^b	14 142.32±99.91 ^e
300	804.33±69.74 ^d	0.183±0.053 ^b	-19.863±0.782 ^d	15 828.31±91.99 ^b
400	891.60±40.77 ^d	0.210±0.042 ^b	-18.610±1.214 ^e	17 140.16±61.33 ^a

注:同列上标不同字母表示样品间差异显著($P<0.05$)。

2.2 内源荧光光谱

内源荧光通过观察光谱的强度以及最大发射波长的位置来分析蛋白质构象变化的方法^[31]。以SPI的色氨酸(Trp)残基作为发色基团,研究超声处理后蛋白质三级结构的变化。不同超声功率处理样品的荧光强度发生显著变化(见图1)。随着功率的提高,荧光强度逐渐增加。原因可能是超声处理使蛋白质结构发生解聚,空间构象变得更加舒展。原本包埋在蛋白质内部的Trp残基暴露于分子表面,导致荧光强度增加。超声功率由0增加到400 W的过程中,光谱逐渐红移。表明超声处理主要影响SPI的三级结构,功率的增加使芳香族氨基酸处于极性更强的微环境。

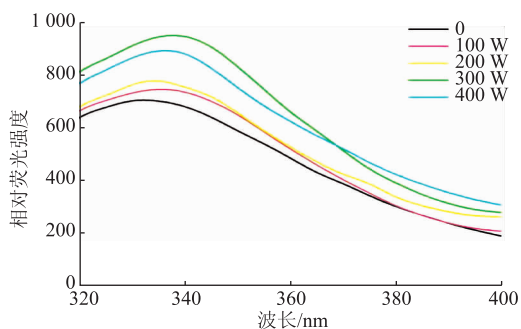


图 1 不同超声处理条件下火麻油复合纳米乳液的内源荧光光谱

Fig. 1 Intrinsic fluorescence spectra of hemp seed oil composite nano-emulsion under different ultrasonic treatment conditions

2.3 表面疏水性

ANS是检测蛋白质结构状态的敏感性探针,处理后的样品折叠程度越高则荧光发射强度越大。 H_0 可以直观地表示蛋白质表面的疏水基团数目,同时可以间接表明蛋白质构象、功能以及体系稳定性的变化^[32]。如表1所示,超声功率提高的同时 H_0 也随之增加,未经超声处理的样品 H_0 最低(7 411.06)。

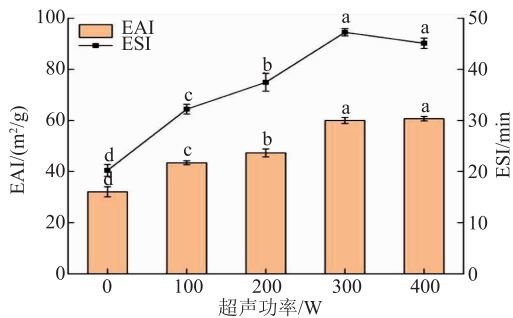
推测原因可能是疏水性残基被亲水基团包裹,封装在大豆分离蛋白的结构内部。当功率为400 W时 H_0 增大至17 140.16。出现这种结果可能是超声处理导致蛋白质的亚基解离以及肽链的部分扩张,使得内部疏水性残基游离于分子表面。Wu等利用不同的超声波功率加工扇贝中的蛋白质也发现了类似的结果^[33]。

2.4 乳化活性及乳化稳定性

乳化性与蛋白质在油-水界面上的吸附、扩散和重排有关,是蛋白质的界面性质之一。其中EAI表示蛋白质在水相中的溶解性以及磷脂在油-水界面的成膜性;ESI是指油-水界面聚集并稳定小液滴的能力^[34]。图2为复合纳米乳液的EAI和ESI。与未超声处理的样品相比,超声处理纳米乳液的EAI及ESI均显著提高($P<0.05$)。这是因为处理后的样品结构进一步伸展,内部组织暴露于表面,柔性结构的区域发生变化。分子形态由紧凑的球状转变为松散结构,有利于更多的蛋白质吸附在油水界面。因此,超声处理的样品EAI增大。同时,根据复合体系粒径的研究结果表明(见表1),超声处理后样品的粒径逐渐减小,使得蛋白质吸附到油水界面的速度加快,进一步降低界面张力,导致形成的小液滴持续聚集并且难以破裂,因此ESI得到改善。Greta等也发现超声波可以改变蛋白质分子的结构,提高 H_0 从而改善蛋白质的乳化性能^[35]。当超声功率达到400 W时,复合纳米乳液的EAI和ESI都有降低的趋势。推测原因可能是高强度超声使蛋白质轻微变性,形成不溶性聚集体。由于聚集体表面电荷分布不均匀,导致蛋白质颗粒受到静电斥力而脱离油-水界面,造成体系乳化性能下降。

2.5 乳析指数

乳析指数是表征乳液中油-水两相的聚集或分散程度,是评价体系储存稳定性的重要指标。储存

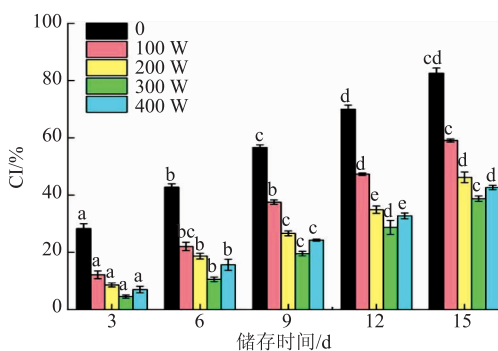


图中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图2 不同超声处理条件下火麻油复合纳米乳液的 EAI 及 ESI

Fig. 2 Emulsifying activity and emulsion stability of hemp seed oil composite nano-emulsion under different ultrasonic treatment conditions

15 d 内不同超声功率处理条件下火麻油复合纳米乳液的 CI 变化见图 3。未经超声处理的乳液在储存 3 d 后具有明显分层, 而经过超声处理的样品仅有轻微分层现象。随着储存时间的延长, 所有样品的 CI 都出现不同程度的增加。超声功率为 0 的样品变化最明显, 而超声功率较大的样品增加幅度较小。推测可能是由于超声处理的空化作用产生剧烈的物理效应(微射流、剪切力、冲击波、湍流等)和高活性的自由基, 这些自由基可以攻击蛋白质分子的侧链和骨干结构, 导致蛋白质结构发生变化。进一步增强 SPI 与磷脂的相互作用, 有助于形成界面吸附膜, 提高乳液的稳定性^[36]。



图中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图3 不同超声处理条件下火麻油复合纳米乳液的乳析指数

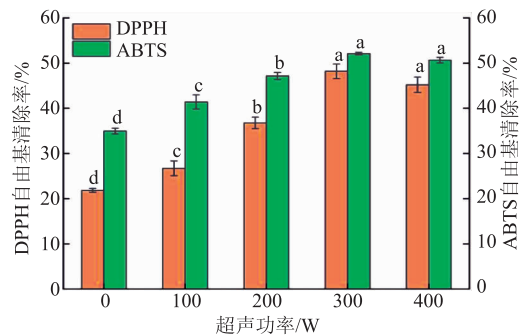
Fig. 3 Creaming index of hemp seed oil composite nano-emulsion under different ultrasonic treatment conditions

2.6 抗氧化活性

DPPH 是一种稳定的自由基, 当抗氧化剂存在时, DPPH 接受一个电子或氢离子形成稳定的

DPPH-H 化合物, 褪色程度反映了抗氧化剂的清除能力^[37]。如图 4 所示, 火麻油复合纳米乳液在经过超声处理后的 DPPH 自由基清除率均大于未经处理的样品。可能的原因是超声处理后大豆分离蛋白的空间构象改变, 暴露了大量具有抗氧化活性的氨基酸。超声功率为 400 W 时, 样品的抗氧化能力出现下降的趋势。原因可能是过度超声使蛋白质形成较大的聚集体, 导致样品的溶解度下降。因此, DPPH 自由基清除能力较弱。

ABTS 自由基清除原理类似于 DPPH, 同样是与自由基清除剂反应导致体系褪色。ABTS 自由基的变化趋势与 DPPH 相似(见图 4)。有研究指出抗氧化能力包括断链和供氢两种能力^[37]。因此, 该实验结果表明不同超声功率处理复合纳米乳液对这两种能力有一定影响。



图中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图4 不同超声处理条件下火麻油复合纳米乳液的抗氧化活性

Fig. 4 Oxidative activity of hemp seed oil composite nano-emulsion under different ultrasonic treatment conditions

2.7 氧化稳定性

氧化稳定性是评价油脂质量的重要参数之一, 作者研究了 45 °C 加速氧化条件对火麻油复合纳米乳液 POV 和 TBA 的影响(见图 5)。在初始阶段, 样品的 POV 几乎为零。随着时间延长, 各组分的 POV 均缓慢增加。第 4 天, 火麻油的 POV 迅速攀升, 并与火麻油复合纳米乳液形成显著差异。第 8 天, 与超声处理样品相比, 未经超声处理样品的 POV 也出现大幅增长。经过 14 d 储存后, 火麻油的 POV 是复合纳米乳液的 2 倍。由此可见, 火麻油与其他大分子物质复合后被包埋在内部, 可以有效阻止油脂接触外界氧气, 减缓氧化速度, 延长储存时间^[38]。未经超声处理样品的 POV 是超声功率为 300 W 样品的 1.84 倍。原因可能是适当超声处理使火麻油与其他

大分子物质的结合更加紧密,表面存在的油脂减少,氧气可以攻击的位点数量下降。

油脂氧化产物的不稳定性使其容易分解成醛、酮、醇和酸类等小分子物质^[39],这些物质对食品的风味、色泽、口感和质量均有消极影响,同时会产生自由基等有害物质,引发慢性疾病^[40]。TBA法是测定不饱和脂肪酸自动氧化产物的常用方法^[41]。如图5(b)

所示,45℃加速氧化条件下,火麻油及复合纳米乳液的TBA随着时间的推移而增加。TBA的变化趋势与POV类似。这一结果与陈雅琪等关于南瓜子油乳液的制备及稳定性的研究结果一致^[39]。原因可能是由于体系中的乳化剂将火麻油包裹在液滴内,避免了油脂与氧气以及促氧化物质的接触。

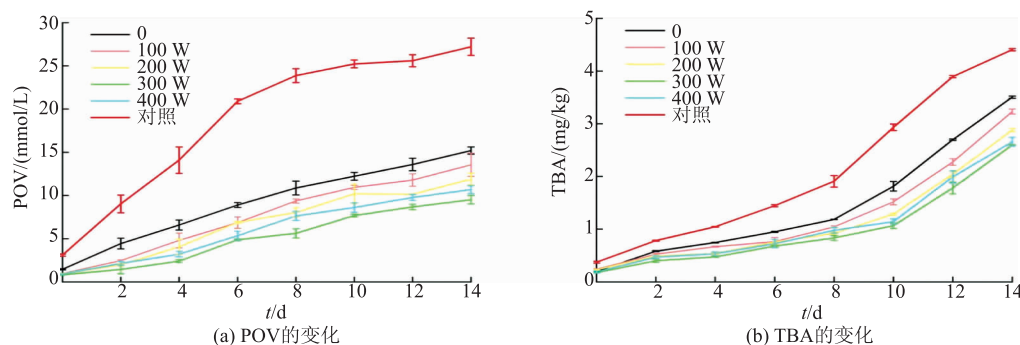


图5 不同超声处理条件下火麻油复合纳米乳液的氧化稳定性

Fig. 5 Oxidative stability of hemp seed oil composite nano-emulsion under different ultrasonic treatment conditions

3 结语

以火麻油作为油相,大豆分离蛋白、卵磷脂、山柰酚作为乳化剂,应用超声处理制备火麻油复合纳米乳液。探究不同超声功率(100、200、300、400 W)对乳液稳定性的影响,揭示复合体系稳定性随超声条件变化的规律。通过对乳液粒径、PDI、Zeta 电位、内源荧光光谱、 H_0 、乳化性、CI 以及氧化稳定性的测定发现,当超声功率为 300 W 时,由于超声处理的

空化作用使体系分散均匀,蛋白质内部的疏水性残基暴露于表面,乳液的内源荧光光谱红移,荧光强度与 H_0 均提高,并且具有较好的物理稳定性和氧化稳定性。随着功率增大至 400 W,蛋白质聚集,弱化与其他大分子的相互作用,导致复合体系的稳定性下降。这表明适当的超声处理(300 W)可以改善复合乳液的储存特性。该结果为提高火麻油的稳定性,延长产品货架期提出了可行的思路。同时为超声技术运用于产品的加工提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] 王欢,李杨,江连洲,等. 水酶法提取火麻籽油的工艺优化及其脂肪酸组成分析[J]. 大豆科技,2019(1):309-315.
- [2] 王莉梅. 不同比例 n-6/n-3 多不饱和脂肪酸体外营养评价[D]. 无锡:江南大学,2015.
- [3] 梁艳菁,宾雨澜,陆丹丹,等. 火麻油的营养组分检测方法研究进展[J]. 轻工科技,2018,34(11):12-13,64.
- [4] 张媛,姜帆,刘骞,等. 超高压均质对大豆分离蛋白乳化特性的影响[J]. 食品研究与开发,2017,38(1):1-5.
- [5] LIU F, TANG C H. Emulsifying properties of soy protein nanoparticles: influence of the protein concentration and/or emulsification process[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(12):26-44.
- [6] ZHANG Z, WANG X, YU J, et al. Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilized by soy protein isolate-dextran conjugates[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2017, 78:241-249.
- [7] 郑建樟,管建军,路新开,等. 酶解大豆分离蛋白-磷脂复合乳液的制备及稳定性分析[J]. 食品科学,2020,41(16):244-251.
- [8] MOTTOLA M, VICO R V, VILLANUEVA M E, et al. Alkyl esters of L-ascorbic acid: stability, surface behaviour and interaction with phospholipid monolayers[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2015, 457:232-242.
- [9] 李秋慧,齐宝坤,隋晓楠,等. 大豆分离蛋白-磷脂复合乳液体系乳化及氧化稳定性研究[J]. 中国食品学报,2016,16(5):46-52.
- [10] OUERGHEMMI S, SEBEI H, SIRACUSA L, et al. Comparative study of phenolic composition and antioxidant activity of leaf extracts from three wild *Rosa* species grown in different Tunisia regions: *Rosa canina* L., *Rosa moschata* Herrm. and *Rosa sempervirens* L.[J]. *Industrial Crops and Products*, 2016, 87:35-43.
- [11] RAJENDRAN P, RENGARAJAN T, NANDAKUMAR N, et al. Kaempferol, a potential cytostatic and cure for inflammatory

- disorders[J]. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2014, 86: 103-112.
- [12] SALVIA-TRUJILLO L, SOLIVA-FORTUNY R, ROJAS-GRAU M A, et al. Edible nanoemulsions as carriers of active ingredients: a review[J]. **Annual Review of Food Science and Technology**, 2017, 8(1): 439-466.
- [13] GUPTA A, ERAL H B, HATTON T A. Nanoemulsions: formation, properties and applications [J]. **Soft Matter**, 2016, 12(11): 2826-2841.
- [14] SHI Y B, LI H L, LI J C, et al. Development, optimization and evaluation of emodin loaded nanoemulsion prepared by ultrasonic emulsification[J]. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 2015, 27: 46-55.
- [15] PATIL L, GOGATE P R. Ultrasound assisted synthesis of stable oil in milk emulsion; study of operating parameters and scale-up aspects[J]. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2017, 40: 135-146.
- [16] TADROS T, IZQUIERDO P, ESQUENA J, et al. Formation and stability of nano-emulsions[J]. **Advances in Colloid and Interface Science**, 2004, 108: 303-318.
- [17] 王霞, 康维良, 鹿保鑫, 等. 糖基化米糠蛋白纳米乳液的超声制备工艺优化及性质研究[J]. **中国食品学报**, 2019, 19(4): 191-202.
- [18] HU H, WU J, LI-CHAN E C, et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions[J]. **Food Hydrocolloids**, 2013, 30(2): 647-655.
- [19] WANG Y S, LIU M Y, ZHAO L M, et al. Interactions of gamma-aminobutyric acid and whey proteins/caseins during fortified milk production[J]. **RSC Advances**, 2015, 5(111): 91235-91245.
- [20] LIU Y, ZHAO G L, ZHAO M M, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction[J]. **Food Chemistry**, 2012, 131(3): 901-906.
- [21] CHEN W J, WANG W J, MA X B, et al. Low pH-shifting treatment would improve functional properties of black turtle bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolate with immunoreactivity reduction[J]. **Food Chemistry**, 2019, 274: 234-241.
- [22] PEARCE K N, KINSELLA J E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1978, 26(3): 716-723.
- [23] 韦芳媚. 桑叶提取物、茶多酚及其复配物的抗氧化和降血糖活性[D]. 广州: 华南理工大学, 2019.
- [24] 林恋竹, 赵谋明. 反应时间对 DPPH·法、ABTS+·法评价抗氧化性结果的影响[J]. **食品科学**, 2010(5): 70-74.
- [25] 郭永生, 马传国, 刘君, 等. 美藤果油水包油型乳液的制备及其稳定性研究[J]. **中国油脂**, 2019, 44(10): 23-28.
- [26] MCDONALD R E, HULTIN H O. Some characteristics of the enzymatic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle[J]. **Journal of Food Science**, 1987, 52(1): 15-21.
- [27] QIN X S, LUO S Z, CAI J, et al. Transglutaminase-induced gelation properties of soy protein isolate and wheat gluten mixtures with high intensity ultrasonic pretreatment[J]. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2019, 31: 590-597.
- [28] KENTISH S, WOOSTER T J, ASHOKKUMAR M, et al. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation[J]. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 2008, 9(2): 170-175.
- [29] MCCLEMENT S, JULIAN D. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability [J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2007, 47(7): 611-649.
- [30] 丁俭, 齐宝坤, 姜楠, 等. 超声处理对大豆分离蛋白-壳聚糖复合物结构性质影响[J]. **农业机械学报**, 2017, 48(9): 352-358.
- [31] YU M, ZENG M M, QIN F, et al. Physicochemical and functional properties of protein extracts from *Torreya grandis* seeds[J]. **Food Chemistry**, 2017, 227: 453-460.
- [32] NIETO T V, WANG Y, OZIMEK L, et al. Improved thermal gelation of oat protein with the formation of controlled phase-separated networks using dextrin and carrageenan polysaccharides[J]. **Food Research International**, 2016, 82: 95-103.
- [33] WU D, WU C, WANG Z Y, et al. Effects of ultrasound treatment on the physicochemical and emulsifying properties of proteins from scallops (*Chlamys farreri*) [J]. **Food Hydrocolloids**, 2019, 89: 707-714.
- [34] ZHU X, LI L, LI S, et al. L-arginine/L-lysine improves emulsion stability of chicken sausage by increasing electrostatic repulsion of emulsion droplet and decreasing the interfacial tension of soybean oil-water[J]. **Food Hydrocolloids**, 2019, 89: 492-502.
- [35] GRETA K, VESNA L, ANETREZEK J. Influence of novel food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins[J]. **Food Engineering**, 2008, 87: 64-73.
- [36] LI J, LI Y, GUO S. The binding mechanism of lecithin to soybean 11S and 7S globulins using fluorescence spectroscopy[J]. **Food Science and Biotechnology**, 2014, 23(6): 1785-1791.
- [37] WANG Y X, 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: 1-8.
- [38] 姚光明. 玫瑰精油的高效提取与抗氧化性及微胶囊化研究[D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [39] 陈雅琪, 雷芬芬, 郑竟成, 等. 南瓜籽油乳液的制备及稳定性[J]. **中国油脂**, 2021, 46(6): 48-52.
- [40] NIMSE S, PAI D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms[J]. **RSC Advances**, 2015, 5(35): 27986-28006.
- [41] 王青, 孙金月, 郭淑, 等. 7种特种油脂的脂肪酸组成及抗氧化性能[J]. **中国油脂**, 2017, 42(6): 125-128.