

超声波处理对大豆蛋白乳液凝胶特性及 运载槲皮素性能的影响

靳紫梦¹, 赵青山², 陈泳政¹, 张晓松¹, 金花¹, 许晶^{1*}

(1. 东北农业大学 文理学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 东北农业大学 实验实习与示范中心, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 采用超声波改性的大豆分离蛋白作为乳化剂和凝胶基质制备葡萄糖酸内酯 (GDL) 诱导乳液凝胶, 考察了超声波处理对大豆分离蛋白乳液、乳液凝胶特性以及槲皮素运载性能的影响。通过乳液凝胶分子间作用力和质构特性的分析, 确定超声波改性的最佳条件为: 超声波功率 400 W, 温度 55 °C, 时间 30 min。结果表明, 超声波改性使乳液的平均粒径与表观黏度下降、 ζ -电位绝对值与界面蛋白含量上升。乳液凝胶的最终存储模量 (G') 提高, 形成了更趋近于弹性性质的凝胶材料; 低场核磁共振中弛豫时间降低, 峰比例分布改变, 乳液凝胶的水合特性上升; 改性乳液凝胶具有更加均匀的多孔结构, 油滴更好地嵌入在凝胶的网络结构中。此外, 与天然大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶相比, 改性大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶的封装率从 $66.62\% \pm 0.98\%$ 增加到 $70.17\% \pm 0.45\%$, 生物利用率从 $44.41\% \pm 1.45\%$ 增加到 $53.90\% \pm 2.88\%$, 脂肪酸分解率随着消化时间增加而显著增加。

关键词: 超声波改性; 大豆分离蛋白; 乳液凝胶; 凝胶特性; 运载性能; 食品化学品

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1003-5214 (2022) 05-0963-09

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Effects of ultrasound treatment on gel properties of soy protein emulsion and carrying capacity properties of quercetin

JIN Zimeng¹, ZHAO Qingshan², CHEN Yongzheng¹, ZHANG Xiaosong¹, JIN Hua¹, XU Jing^{1*}

(1. College of Arts and Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China; 2. Experimental Practice and Demonstration Center, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: Ultrasonic modified soy protein isolate was used as emulsifier and gel matrix to prepare glucono- δ -lactone (GDL)-induced emulsion gel, and the effects of ultrasonic treatment on soy protein isolate emulsion and emulsion gel properties, as well as transport properties of quercetin were investigated. Through the analysis of intermolecular interaction and texture properties of emulsion gel, the optimal conditions for ultrasonic modification were determined as follows: ultrasonic power of 400 W, temperature of 55 °C and time of 30 min. The results showed that the mean particle size and apparent viscosity decreased, while the absolute value of ζ -potential and interfacial protein content of emulsion increased after ultrasonic modification. The final storage modulus (G') of emulsion gel increased, which formed a gel material that was closer to elastic properties. The relaxation time in low field nuclear magnetic resonance decreased, the peak ratio distribution changed, and the hydration characteristics of emulsion gel increased. The modified soy protein isolate emulsion gel had a more uniform porous structure, and the oil droplets were better embedded in the gel network structure. In addition, compared with the natural soy protein isolate quercetin emulsion gel, the encapsulation rate and bioavailability of the modified soy protein isolate

收稿日期: 2021-10-15; 定用日期: 2021-12-27; DOI: 10.13550/j.jxhg.20211054

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31901605); 黑龙江省重点研发计划项目 (GA21B001)

作者简介: 靳紫梦 (1997—), 女, 硕士生, E-mail: jinzimeng0323@163.com. 联系人: 许晶 (1979—), 女, 教授, E-mail: xujing@neau.edu.cn.

quercetin emulsion gel increased from $66.62\% \pm 0.98\%$ to $70.17\% \pm 0.45\%$, from $44.41\% \pm 1.45\%$ to $53.90\% \pm 2.88\%$, and the lipolysis rate increased significantly with the increase of digestion time.

Key words: ultrasonic modification; soy protein isolate; emulsion gel; gel properties; delivery performance; food chemicals

乳化性和凝胶性是蛋白质的两个重要功能特性。乳液凝胶中,蛋白质利用乳化性作为乳化剂稳定油水界面形成乳液,然后利用凝胶性经过不同的凝胶处理导致乳液液滴之间发生交联,最终形成具有三维网络结构的乳液凝胶体系^[1]。根据不同的凝胶处理方式,可将其分为热凝法和冷凝法。热凝法为蛋白质溶液浓度达到形成凝胶浓度,通过加热处理使蛋白质高温变性,诱导蛋白质产生高相对分子质量(简称分子量)聚集体,溶液黏度增加,直到最终形成凝胶网络^[2]。冷凝法为蛋白质溶液浓度低于形成凝胶浓度,首先经过预热处理诱导蛋白质产生可溶性聚集体,然后冷却蛋白质溶液,加入凝胶剂(盐离子、葡萄糖酸内脂等)诱导凝胶网络形成^[3]。对于受热不稳定生物活性成分的运载(如槲皮素、姜黄素和白藜芦醇等)^[3],热凝胶中的高温处理可能使其生物活性下降。因此,冷凝胶更适用于生物活性物质的运载。

乳液液滴之间的聚集和交联主要由蛋白质之间的相互作用完成。大豆蛋白的乳化性能够影响乳液液滴大小及乳液的界面性质,从而影响乳液凝胶特性。因此,通过适当的改性方法改变蛋白质的结构,从而增强蛋白质的界面活性和聚集能力,是构建高性能乳液凝胶体系的可行途径。超声波改性作为一种简单的蛋白改性方法,在食品工业中应用较为广泛,如蛋制品、乳制品和肉制品等^[4]。超声波处理能引起体系粒子的相互作用,从而产生热效应、空化作用和机械效应,导致蛋白质结构部分展开,疏水基团暴露,从而提高了蛋白乳化性和凝胶性^[5]。HAO等^[6]研究了超声波改性对 β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白表面疏水性、乳化性等性能的影响,结果表明,经超声波处理后, β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白浊度降低,表面疏水性、溶解度、乳化性升高。ZHAO等^[7]以超声波处理的大豆蛋白和麦芽糊精为原料制备酸诱导蛋白质凝胶,结果表明,超声波处理后,成胶速度加快,且表现为更高的存储模量、凝胶强度和持水性。

目前,关于超声波处理对蛋白质及蛋白凝胶性质的影响报道较多,而超声波改性对蛋白质乳液凝胶性质的影响以及其运载生物活性物质的研究鲜见报道^[8]。因此,本文以超声波改性的大豆分离蛋白为乳化剂和凝胶基质制备乳液凝胶。对比天然大豆

分离蛋白,研究超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶特性的影响,确定超声波处理大豆分离蛋白制备乳液凝胶的最佳条件,分析乳液性质与乳液凝胶流变及水合特性的关系,观察乳液凝胶的微观结构。同时,制备天然大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶和超声波改性大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶,考察槲皮素的包封率和生物利用率等运载性能,为研制性能优良的蛋白质乳液凝胶运载系统奠定理论基础。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

脱脂豆粕,招远市食品有限公司;葡萄糖酸内脂(GDL),AR,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;三羟甲基氨基甲烷(Tris base)、甘氨酸、乙二胺四乙酸二钠(Na_2EDTA)、十二烷基磺酸钠(SDS),AR,北京博奥拓科技有限公司;尿素,AR,天津市天力化学试剂有限公司;大豆油,九三粮油工业集团有限公司;巯基乙醇,AR,天津市光复精细化工研究所;尼罗红,尼罗蓝,AR, Sigma公司;槲皮素,上海麦克林生化科技有限公司;吐温 80,天津市博迪化工有限公司;人工胃液和人工唾液,北京雷根生物技术有限公司;胰酶,默克生物技术有限公司;胆汁盐,北京索莱宝科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

Z36HK 高速离心机,德国贺默公司;T6 新世纪紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;TA.XT Plus 质构仪,英国 Stable Micro System公司;TCS SP8 激光共聚焦显微镜(CLSM),德国莱卡公司;Malvern Nano-S90 纳米激光粒度仪、Zetasizer Nano Zeta 电位分析仪,英国马尔文公司;FT200-SH 数显高速均质分散机,上海标本模型厂;JY92-2D 超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;HZS-H 水浴振荡器,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大豆分离蛋白的提取

参照 LI 等^[9]方法提取大豆分离蛋白(SPI)。通过凯氏定氮法测定蛋白质质量分数为 $90.31\% \pm 0.59\%$ 。

1.2.2 大豆分离蛋白的超声波处理

将 1 g SPI 冻干粉放入 10 mL 超纯水,室温下磁

力搅拌 2 h 后得到大豆蛋白分散液, 再将其放入 4 °C 冰箱中水化 12 h。将 15 份 10 mL 质量浓度为 100 g/L 的大豆蛋白分散液分别置于平底锥形烧瓶中进行超声处理, 超声条件分别为: 超声波温度为 55 °C, 超声波时间为 30 min, 超声波功率分别为 100、200、300、400、500 W, 所得样品编号为 SPI-UP100~SPI-UP500; 超声波功率为 400 W, 超声波时间为 30 min, 超声波温度分别为 40、45、50、55、60 °C, 所得样品编号为 SPI-UT40~SPI-UT60; 超声波温度为 55 °C, 超声波功率为 400 W, 超声波时间分别为 10、20、30、40、50 min, 所得样品编号为 SPI-Ut10~SPI-Ut50。

1.2.3 乳液及乳液凝胶的制备

参照马天怡等^[10]的方法制备大豆分离蛋白乳液。

参照 ALAVI 等^[11]的方法并稍作修改, 将新制备的大豆分离蛋白乳液进行低速离心 (3000×g, 1 min), 去除蛋白乳液中的气泡。向 5 mL 蛋白乳液中加入 75 mg GDL, 滴加 0.25 mol/L HCl 使蛋白乳液的 pH 稳定在 4.5。加入 GDL 后, 样品在 40 °C 下反应 2 h, 然后置于 4 °C 冰箱中冷藏 12 h, 得到大豆分离蛋白乳液凝胶。

1.2.4 超声处理条件的确定

1.2.4.1 乳液凝胶分子间作用力的测定

根据 LUO 等^[12]方法并稍作修改, 配制 4 种溶液 (S₁~S₄): S₁ 为超纯水; S₂ 为 pH 8.0 的三羟甲基氨基甲烷-甘氨酸 (Tris-Gly) (即 20 mL S₁ 中加入 0.21 g Tris base、0.135 g Gly、0.03 g 乙二胺四乙酸二钠); S₃ 为 20 mL S₂ 中加 0.4 mL SDS 和 4.8 g 尿素; S₄ 为 S₃ 加 0.2 mL β-巯基乙醇。将 20 mg 凝胶样品分别溶于 20 mL 溶液中, 在 10000 r/min 均质 1 min 后, 磁力搅拌 1 h, 再离心 (10000×g, 15 min, 4 °C), 取下层液体, 于 500 nm 下测定其吸光度 *A*, 凝胶在不同溶液中的浊度 (*T*, a.u.) 计算如式 (1) 所示:

$$T = \frac{2.303 \times A}{l} \quad (1)$$

式中: *l* 为光程长度, 1 cm。

乳液凝胶溶于 4 种溶液中的浊度分别为 *T*₁、*T*₂、*T*₃、*T*₄。利用不同溶液的浊度差 (即相对浊度) 表示分子间作用力。其中, *T*₂-*T*₁ 表示静电相互作用; *T*₃-*T*₂ 表示非共价相互作用; *T*₄-*T*₃ 表示二硫键含量。

1.2.4.2 乳液凝胶质构特性分析

将 4 °C 冷藏 12 h 的乳液凝胶在 25 °C 下放置 6 h, 利用质构仪测定乳液凝胶的质构特性。测试前速度为 1 mm/s, 测试速度为 5 mm/s, 测试后速度为 5 mm/s, 触发力为 5.0 g。将厚度 1 cm、直径 1 cm 的样品压缩至原始厚度的 30%, 两次压缩时间间隔为 5 s^[13]。

1.2.5 乳液性质的测定

1.2.5.1 粒径及 ζ-电位测定

利用纳米激光粒度仪和电位分析仪分别测定乳液的粒径和 ζ-电位。

1.2.5.2 界面蛋白含量的测定

将乳液置于高速离心机中离心 (10000×g, 45 min)。吸取底部溶液, 通过 0.45 μm 水系过滤膜过滤, 界面蛋白含量 (AP, %) 计算如式 (2) 所示^[14]:

$$AP / \% = \frac{\rho_s - \rho_t}{\rho_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: ρ_t 为滤液中蛋白质量浓度, g/L; ρ_0 为初始蛋白质量浓度, g/L; ρ_s 为离心后上清液中蛋白质量浓度, g/L。

1.2.5.3 表观黏度的测定

将新制乳液置于两平行板之间 (半径 40 mm, 间距 1 mm), 平衡 30 s。剪切速率为 0.01~100 s⁻¹, 温度为 25 °C。表观黏度 (η , mPa·s) 与剪切速率 (γ) 可通过幂律模型分析, 如式 (3) 所示, 即 Ostwald-de Waele 经验公式^[15]:

$$\eta = K \times \gamma^{n-1} \quad (3)$$

式中: *K* 为稠度系数; γ 为剪切速率, s⁻¹; *n* 为流动特性指数。

1.2.6 乳液凝胶性质及结构的测定

1.2.6.1 低场核磁共振分析

参照 ZHANG 等^[16]的方法并稍作修改, 将样品放入色谱瓶中, 在 40 °C 水浴中加热 2 h。放入 4 °C 冰箱 12 h。测试条件: 质子共振频率 22 MHz, 测量温度 32 °C。测试参数: 重复扫描 8 次, 重复间隔时间 (*T_R*) 为 6500 ms, 采样间隔 100 μs, 回波个数 12000。

1.2.6.2 流变性能测定

参照 ZHU 等^[17]的方法, 对乳液凝胶样品进行应变扫描、时间扫描、频率扫描, 分析蛋白乳液凝胶流变性能。

频率扫描中, 存储模量 *G'* (Pa) 与频率 ω (rad/s) 的关系通过式 (4) 拟合:

$$G' = K' \times \omega^{n'} \quad (4)$$

式中: *K'* 为幂次定律常数; *n'* 为频率指数。

1.2.6.3 微观结构测定

参照 MANTOVANI 等^[18]的方法并稍作修改, 将乳液凝胶切成大小为 3 mm × 3 mm × 1 mm 的块状, 分别使用戊二醛溶液和钨酸进行固定。然后用无水乙醇脱水。再使用 *V*(戊二醛): *V*(无水乙醇)=1:1 混合液置换 15 min, 放入戊二醛中在 -20 °C 下冷冻 12 h。取出冻干样品后喷金, 置于扫描电子显微镜中观察。

参照 XI 等^[15]的方法并稍作修改, 避光条件下,

取 1 mg 尼罗红加入到 1 mL 异丙醇中配制尼罗红染色液, 同样配比配制尼罗蓝染色液。取两种染色液各 50 μL 与 1 mL 新制乳液混合, 25 $^{\circ}\text{C}$ 下避光磁力搅拌 30 min, 对乳液进行染色。向染色后的乳液中加入 GDL 至乳液最终 pH 为 4.5, 取 1 μL 混合后的乳液于载玻片上, 盖好载玻片后除去气泡。在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 2 h 后, 将样品置于激光共聚焦显微镜下观察, 测试条件: 激发波长分别为 633 和 488 nm^[12]。

1.2.7 槲皮素乳液凝胶的制备及运载性能测定

1.2.7.1 槲皮素乳液凝胶的制备

参照 CHEN 等^[19]方法略作修改, 将 20 mg 槲皮素溶解在无水乙醇中配成质量浓度为 6.6 g/L 溶液, 在 65 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 30 min, 蒸发除去大部分无水乙醇。然后, 将 10 mL 大豆油加入上述槲皮素溶液中, 得到含有槲皮素的油相, 再按照 1.2.3 节方法制备槲皮素乳液及乳液凝胶。

1.2.7.2 槲皮素乳液凝胶包封率的测定

参照 CHEN 等^[20]和 LIU 等^[21]的方法略作修改, 测定槲皮素乳液凝胶的包封率。称量 50 mg 槲皮素乳液冻干粉末, 将其分散在 2.5 mL 体积分数 25% 无水乙醇和 2.5 mL 体积分数 0.5% 吐温 80 的水溶液中。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 (10000 \times g, 20 min), 取离心管底部液体 1 mL, 用无水乙醇稀释后, 在 374 nm 波长下测量其吸光度。利用槲皮素-无水乙醇标准曲线方程 ($y=0.0621x-0.0023$, $R^2=0.9927$, y 为槲皮素的吸光度; x 为槲皮素的质量浓度, g/L) 计算槲皮素质量, 槲皮素乳液凝胶的包封率 (EE, %) 按式 (5) 计算:

$$EE/\% = \frac{m_{\text{total}} - m_{\text{outer}}}{m_{\text{total}}} \times 100 \quad (5)$$

式中: m_{total} 为加入油相中的槲皮素初始质量, g; m_{outer} 为外水相中未包封的槲皮素质量, g。

1.2.7.3 槲皮素乳液凝胶体外消化模型的构建

参照 PARK 等^[22]的方法略作修改, 将槲皮素乳液凝胶用研杵和研白碾压 2 min, 制备咀嚼乳液凝胶样品。将 5 mL 人工唾液预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 后, 两者混合均匀。用 0.25 mol/L NaOH 缓慢调至消化液 pH 为 6.8, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡器中, 100 r/min 连续振荡 10 min, 模拟口腔消化阶段。

参照 DU 等^[23]的方法略作修改, 将 10 mL 模拟胃液预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 后, 加至消化液中。用 0.25 mol/L NaOH 缓慢调至消化液 pH 为 2.0, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡器中, 100 r/min 连续振荡 2 h, 模拟胃消化阶段。

参照 DU 等^[23]的方法略作修改, 配制模拟小肠液。用 0.25 mol/L NaOH 调至消化液 pH 为 7.0, 并维持体系温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 。将含有质量浓度为 2.75 g/L CaCl_2 、16.4 g/L NaCl、3 g/L 胰酶和 9.45 g/L 胆汁盐的 20 mL 模拟肠液 (pH=7.0) 预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 后, 加

至消化液中。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡器中, 100 r/min 连续振荡 4 h, 模拟小肠消化阶段。

1.2.7.4 槲皮素乳液凝胶生物利用率的测定

参照 CHEN 等^[20]的方法略作修改, 在模拟小肠消化阶段后, 立即在冰水中冷却消化物。然后, 将样品在 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 (10000 \times g, 40 min)。离心后, 吸取中间胶束层, 并使用 0.22 mm 过滤器过滤, 用无水乙醇稀释滤液后, 在 374 nm 波长下测量其吸光度。利用槲皮素-乙醇标准曲线计算槲皮素质量, 槲皮素乳液凝胶的生物利用率按式 (6) 计算:

$$\text{生物利用率}/\% = \frac{m'}{m''} \times 100 \quad (6)$$

式中: m' 为胶束中槲皮素的质量, g; m'' 为原始乳液凝胶样品中槲皮素的质量, g。

1.2.7.5 槲皮素乳液凝胶脂肪酸分解率的测定

参照 DU 等^[23]的方法略作修改, 在模拟小肠消化阶段时, 不断滴加 0.25 mol/L NaOH 中和脂质消化释放的游离脂肪酸。滴加过程中, 维持消化体系中的 pH=7.0, 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温。记录乳液凝胶在 1、3、5、10、20、60、90、120、150、180、210、240 min NaOH 的消耗量, 槲皮素乳液凝胶的脂肪酸分解率 (FFAs, %) 按式 (7) 计算:

$$\text{FFAs}/\% = \frac{V_{\text{NaOH}} \times c_{\text{NaOH}} \times M_{\text{oil}}}{2 \times m_{\text{oil}}} \times 100 \quad (7)$$

式中: V_{NaOH} 为滴加 NaOH 的体积, L; c_{NaOH} 为滴加 NaOH 的浓度, mol/L; M_{oil} 为大豆油的平均摩尔质量, g/mol, m_{oil} 为消化系统中油的质量, g。

1.3 数据分析

所有实验平行重复 3 次, 结果以“平均值 \pm 标准差”表示。以 SPSS 20.0 软件对数据进行 ANOVA 差异显著性分析, $p < 0.05$ 差异显著。使用 Origin V8.1 软件进行图表的绘制。

2 结果与讨论

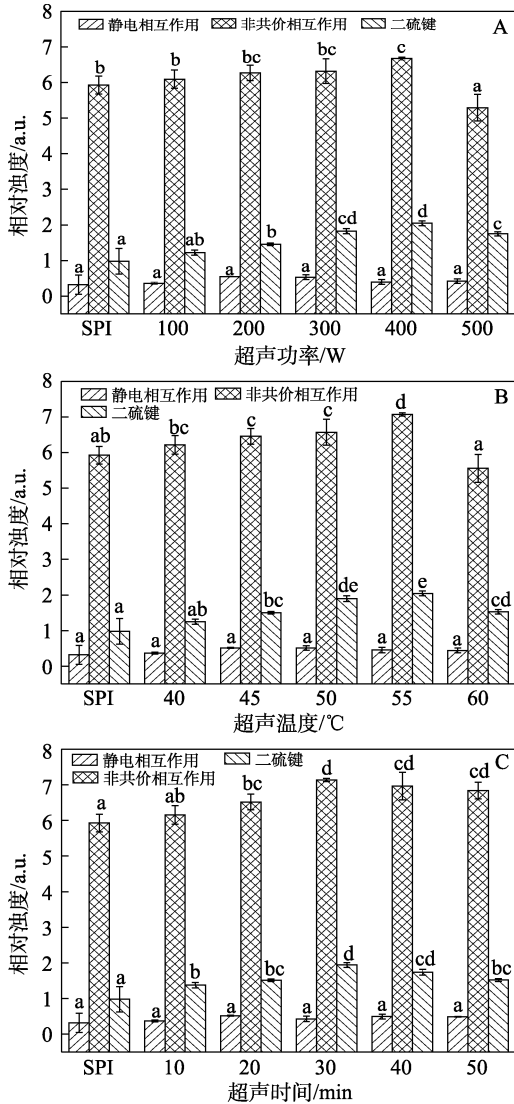
2.1 大豆分离蛋白乳液凝胶最佳制备条件的确定

2.1.1 乳液凝胶分子间作用力

通过相对浊度 (浊度差值) 表征乳液凝胶中分子间作用力的原理如下: S_2 中的 Tris-Gly 溶液能够破坏乳液凝胶的静电相互作用, S_3 中的 SDS 和尿素能够破坏乳液凝胶中的非共价相互作用 (包括疏水相互作用和氢键相互作用), S_4 中的 β -巯基乙醇能够破坏乳液凝胶中的二硫键, 因此, 乳液凝胶分散在 $S_1 \sim S_4$ 中的浊度会由于其内部相互作用的破坏而变化, 浊度的差值代表了乳液凝胶的分子间作用力。参与凝胶形成的分子间作用力包括静电相互作用、非共价相互作用 (疏水相互作用和氢键相互作用)

和二硫键。

超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶分子间作用力的影响如图 1 所示。由图 1 可知, 乳液凝胶中的主要分子间作用力为非共价相互作用。



注: 不同超声功率 (A); 超声温度 (B); 超声时间 (C); 小写字母 (a~d) 表示不同超声处理条件下, 大豆蛋白乳液凝胶的分子间作用力差异显著 ($p < 0.05$)。

图 1 超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶分子间作用力的影响

Fig. 1 Effect of ultrasonic treatment on intermolecular force of soy protein isolate emulsion gel

在不同超声波功率, 温度和时间作用下, 非共价相互作用和二硫键含量都是先上升后下降, 静电相互作用无显著变化。非共价相互作用发生改变的原因有两个方面。一方面, 大豆分离蛋白经过超声波处理后, 蛋白分子的结构展开, 暴露出蛋白分子内部的疏水基团^[24]。因此, 在凝胶形成过程中, 更多的疏水基团提供了更多的结合位点, 促使凝胶具有更强的疏水相互作用。另一方面, 超声波处理可

导致蛋白分子内部的亲水基团和带电基团 (NH_3^+ 、 COO^-) 暴露, 这些基团在凝胶形成过程中可以形成更多的氢键相互作用。疏水相互作用和氢键相互作用的同时增强导致乳液凝胶中的非共价相互作用增强。然而, 由于过度的超声波处理导致蛋白过度聚集, 促使蛋白分子表面的疏水基团和游离巯基被包埋在聚集体内部, 减弱了凝胶形成过程中的交联, 从而造成乳液凝胶中非共价相互作用和二硫键作用降低^[7,15]。结果表明, 适度的超声波改性处理能够使大豆蛋白乳液凝胶的非共价相互作用和二硫键含量增加, 分子间作用力增强; 而过度的超声波改性处理则使大豆蛋白乳液凝胶的非共价相互作用和二硫键含量降低, 分子间作用力减弱。

2.1.2 乳液凝胶质构特性

质构特性是检测凝胶物理性质的重要指标, 凝胶的硬度能够直观地反映凝胶的口感; 弹性反映凝胶在第一次咬合结束与第二次咬合开始之间可以恢复的高度; 咀嚼性反映咀嚼固体食物所需要的能量。超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶质构特性的影响如表 1 所示。

表 1 超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶质构特性的影响

Table 1 Effect of ultrasonic treatment on texture properties of soy protein isolate emulsion gel

	硬度/g	弹性/mm	咀嚼性
SPI	90.0 ± 4.4 ^a	0.827 ± 0.003 ^a	30.9 ± 1.3 ^a
SPI-UP100	98.5 ± 5.9 ^b	0.823 ± 0.019 ^a	34.9 ± 1.6 ^b
SPI-UP200	102.4 ± 2.6 ^{bc}	0.823 ± 0.013 ^a	38.7 ± 0.8 ^c
SPI-UP300	107.0 ± 2.0 ^c	0.879 ± 0.007 ^b	45.4 ± 1.9 ^d
SPI-UP400	117.2 ± 2.4 ^d	0.918 ± 0.004 ^d	55.1 ± 1.2 ^e
SPI-UP500	103.4 ± 5.3 ^{bc}	0.899 ± 0.009 ^c	46.2 ± 2.0 ^d
SPI-UT40	96.9 ± 5.9 ^b	0.855 ± 0.016 ^b	37.3 ± 3.0 ^b
SPI-UT45	101.4 ± 3.2 ^{bc}	0.896 ± 0.014 ^c	42.5 ± 0.9 ^c
SPI-UT50	102.0 ± 2.5 ^{bc}	0.902 ± 0.010 ^{cd}	44.6 ± 1.2 ^{cd}
SPI-UT55	116.3 ± 3.5 ^d	0.917 ± 0.004 ^d	54.7 ± 1.3 ^d
SPI-UT60	105.3 ± 1.0 ^c	0.896 ± 0.009 ^c	48.4 ± 0.8 ^c
SPI-Ut10	96.3 ± 4.3 ^{ab}	0.877 ± 0.017 ^c	39.5 ± 2.5 ^b
SPI-Ut20	100.1 ± 3.2 ^{bc}	0.882 ± 0.007 ^c	42.9 ± 2.4 ^{bc}
SPI-Ut30	115.5 ± 4.3 ^d	0.916 ± 0.004 ^d	54.6 ± 2.3 ^c
SPI-Ut40	105.1 ± 4.1 ^c	0.903 ± 0.002 ^d	48.3 ± 1.7 ^d
SPI-Ut50	103.4 ± 6.1 ^{bc}	0.851 ± 0.002 ^b	44.8 ± 2.5 ^{cd}

注: 小写字母表示不同超声波处理条件下, 大豆分离蛋白乳液凝胶的质构特性差异显著 ($p < 0.05$)。

大豆分离蛋白经过超声波处理后, 能够形成质构特性更强的大豆分离蛋白乳液凝胶。XIONG 等^[25]认为, 经过超声波处理后, 结构展开的大豆蛋白在乳液形成过程中能够更好地吸附在油水界面, 形成的乳液平均粒径更小且更加稳定。粒径较小的乳液

液滴之间的聚集和进一步交联可形成结构更加致密、均匀的乳液凝胶网络结构,促使乳液凝胶的质构特性升高。但是,过强的超声波处理程度,会造成大豆分离蛋白乳液凝胶的分子间作用力下降,乳液凝胶网络中的相互作用减弱,导致了乳液凝胶的质构特性呈现先升高后降低的趋势^[26]。陈晓敏^[27]研究了牛血清白蛋白-菊糖乳液中加入葡萄糖酸内脂和氯化钠所制备的冷凝胶,随着菊糖浓度的增加,凝胶的硬度从 98 g 增加到 112 g,弹性从 0.93 mm 增加到 0.99 mm,菊糖的加入使形成的乳液凝胶结构更加致密。本研究结果表明,经过超声波改性处理后,大豆分离蛋白乳液凝胶的硬度从 90 ± 4.4 g 增加到 117.2 ± 2.4 g,弹性从 0.827 ± 0.003 mm 增加到 0.918 ± 0.004 mm,咀嚼性从 30.9 ± 1.3 增加到 55.1 ± 1.2 。本研究和陈晓敏研究的结果均表明蛋白经过改性处理后,可以提高蛋白乳液凝胶的质构特性。

由表 1 可以得出,以大豆分离蛋白乳液凝胶的分子间作用力和质构特性为指标,超声波改性制备大豆分离蛋白乳液凝胶的最佳制备条件为:超声波功率 400 W,超声波温度 55 °C,超声波时间 30 min,此时得到的大豆分离蛋白乳液凝胶性能最佳。

2.2 超声波处理对大豆分离蛋白乳液性质的影响

对在最佳超声波处理条件下的改性大豆分离蛋白为乳化剂制备的乳液(记为 USPI)进行了性能测试。

2.2.1 乳液基本性质

测定了 USPI 的平均粒径、 ζ -电位和界面蛋白含量,结果见表 2。由表 2 可见,大豆分离蛋白乳液的平均粒径显著下降($p < 0.05$),由原来的(282.8 ± 0.7) nm 减小到(273.4 ± 0.8) nm。这是由于超声波的空化作用使蛋白质内部的疏水相互作用被破坏,疏水基团暴露。因此,蛋白质分子能更快速地扩散并吸附于油-水界面,形成平均粒径更小的乳液。大豆分离蛋白乳液的 ζ -电位绝对值显著增大($p < 0.05$)。这是因为超声波处理能够使蛋白质结构展开,暴露出更多的带电基团,蛋白质分子表面的电荷量增加,形成了 ζ -电位绝对值更大的乳液^[28]。经过超声波处理后,大豆分离蛋白乳液的界面蛋白含量显著上升($p < 0.05$)。这可能是由于超声波改性促使大豆分离蛋白结构展开,蛋白质的表面疏水性上升,使其具有更好的亲疏水平衡,导致更多的蛋白质分子吸附在油-水界面,增大了乳液界面蛋白含量^[29]。而更高的 ζ -电位绝对值和界面蛋白含量,有利于形成静电排斥和空间位阻更高的界面层,这与改性大豆分离蛋白乳液更小的平均粒径相吻合。

表 2 超声波处理对大豆分离蛋白乳液的平均粒径、 ζ -电位和界面蛋白含量的影响

Table 2 Effect of ultrasonic treatment on mean particle size, ζ -potential and interface protein content of soy protein isolate emulsion

	平均粒径/nm	分散指数	ζ -电位/mV	AP/%
SPI	282.8 ± 0.7^b	0.281 ± 0.007^a	-26.2 ± 0.3^a	40.3 ± 0.6^a
USPI	273.4 ± 0.8^a	0.244 ± 0.004^b	-28.1 ± 0.2^b	51.9 ± 1.1^b

注:小写字母(a、b)表示超声波改性条件下,大豆分离蛋白的平均粒径, ζ -电位,界面蛋白含量之间差异显著($p < 0.05$)。

2.2.2 乳液表观黏度

超声波处理对大豆分离蛋白乳液的表观黏度的影响见表 3,经过超声波改性后,大豆分离蛋白乳液的稠度系数(K)降低,说明同一剪切速率下,超声波改性大豆分离蛋白乳液的表观黏度低于天然大豆分离蛋白乳液的表观黏度。这是因为,超声波处理导致大豆分离蛋白具有更好的乳化性,形成的乳液平均粒径更小, ζ -电位绝对值增加,乳液液滴之间的聚集减少,乳液的表观黏度减小。超声波改性后大豆分离蛋白乳液的 n 增大($p < 0.05$),说明乳液表观黏度对剪切速率的依赖性降低,乳液表现为较低的剪切稀化行为,与 QAYUM 等^[30]研究结果相似。

表 3 超声波处理对大豆分离蛋白乳液表观黏度的影响

Table 3 Effect of ultrasonic treatment on apparent viscosity of soy protein isolate emulsion

	表观黏度/ (mPa·s)	K	流动特性指数(n)	方差 (R^2)
SPI	0.019 ± 0.001^b	0.055 ± 0.004^b	0.616 ± 0.010^a	0.940 ± 0.003
USPI	0.017 ± 0.002^a	0.037 ± 0.004^a	0.748 ± 0.001^b	0.930 ± 0.004

注:小写字母(a、b)表示超声波改性条件下,大豆分离蛋白乳液的表观黏度差异显著($p < 0.05$)。

2.3 超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶性质及微观结构的影响

2.3.1 小幅振荡流变学——时间扫描测试及频率扫描测试

乳液凝胶的凝胶动力学如图 2a 所示,随着时间的增加,存储模量(G')和损耗模量(G'')均呈上升趋势,说明凝胶结构逐渐形成,且凝胶化程度逐渐增大^[18]。这是因为,加入 GDL 后,乳液中吸附在乳液液滴表面的大豆分离蛋白分子和游离在连续相中的大豆分离蛋白分子均发生交联,形成了乳液凝胶的三维网络结构。经过超声波处理后,超声波改性大豆蛋白乳液凝胶(USPI)的最终 G' 高于天然大豆分离蛋白乳液凝胶(SPI)。

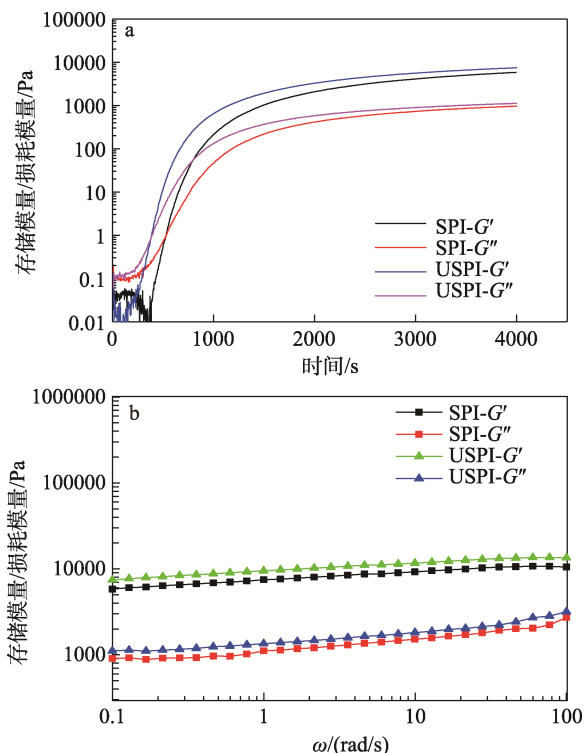


图 2 超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶流变性的影响
Fig. 2 Effect of ultrasonic treatment on rheology of soy protein isolate emulsion gel

这可能是由于超声波处理导致大豆分离蛋白的结构展开, 乳化性增强, 在乳液形成过程中能够更有效地吸附于油-水界面, 形成平均粒径更小的乳液 (表 2)。在加入 GDL 后, 结构展开的蛋白质吸附在细小的乳液液滴上, 乳液滴之间发生更强且更多的相互作用, 形成了结构更强的三维网络结构, 导致凝胶的最终 G' 增大^[31]。流变学分析的乳液凝胶黏弹性结果与乳液凝胶的质构特性 (表 1) 实验结果一致。

乳液凝胶的 G' 表示乳液凝胶的弹性性质 (凝胶更趋近于固体), G'' 表示乳液凝胶的黏性性质 (凝胶更趋近于液体), 损耗因子 ($\tan\delta$) 为 G'' 与 G' 的比值。当 $\tan\delta < 1$, 即 $G' > G''$ 时, 固态的乳液凝胶形

成。凝胶时间定义为 $\tan\delta = 1$ 的时间。 G' 和 G'' 对角频率 (ω) 依赖性如图 2b 所示, 大豆分离蛋白乳液凝胶的频率相关性参数见表 4。由图 2b 可知, 随着 ω 的增加, 乳液凝胶的 G' 和 G'' 均呈增加趋势。由表 4 可知, 天然大豆分离蛋白乳液凝胶的 n' 接近 0.1, 说明天然大豆分离蛋白乳液凝胶的 G' 对频率具有弱依赖性, 属于弱凝胶范畴^[32]。经过超声波处理后, K' 显著增大 ($p < 0.05$), n' 有所下降 ($p < 0.05$), 说明乳液凝胶的弹性性质增加, 趋向更强的固体材料性质, 乳液凝胶的质构特性增强, 本实验结果与 ZHAO 等^[7] 研究结果相似。

表 4 大豆分离蛋白乳液凝胶的频率相关性参数
Table 4 Frequency dependence parameters of soy protein isolate emulsion gel

	K'	n'	R^2
SPI	7427.1 ± 18.4^a	0.095 ± 0.003^a	0.990 ± 0.003
USPI	9464.0 ± 23.7^b	0.090 ± 0.002^b	0.992 ± 0.002

注: 小写字母 (a、b) 表示超声波改性条件下, 大豆分离蛋白乳液凝胶的频率相关性参数差异显著 ($p < 0.05$)。

2.3.2 水合特性

通过低场核磁共振技术能够得到乳液凝胶水分子中 H^1 质子相互交换迁移的规律, 进而表征乳液凝胶的水合特性, 结果见表 5。由表 5 可以看出, 超声波改性处理导致大豆分离蛋白乳液凝胶的弛豫时间 (T_2) 下降 ($p < 0.05$), 说明乳液凝胶束缚水分子的能力增强; P_{22} 显著上升 ($p < 0.05$), P_{23} 显著下降 ($p < 0.05$), 说明乳液凝胶中的不易流动水含量上升, 自由流动水含量下降。QIN 等^[26] 研究发现, 超声波处理使大豆蛋白-小麦蛋白混合凝胶的微观结构更加致密均匀。致密均匀的凝胶结构束缚水分子的能力增强, 凝胶网络中不易流动水含量升高, 自由流动水含量降低。本实验结果与 QIN 等^[26] 研究结果一致。

表 5 大豆分离蛋白乳液凝胶的弛豫时间及峰比例分布
Table 5 Relaxation time and peak ratio of soy protein isolate emulsion gel

	T_{22}/ms	T_{23}/ms	$P_{22}/\%$	$P_{23}/\%$
SPI	83.299 ± 0.200^b	694.659 ± 6.807^b	84.834 ± 0.093^a	12.740 ± 0.119^b
USPI	80.313 ± 0.787^a	666.992 ± 0^a	86.741 ± 0.225^b	8.069 ± 0.085^a

注: 小写字母 (a、b) 表示超声波改性条件下, 大豆分离蛋白乳液凝胶的弛豫时间、峰比例分布差异显著 ($p < 0.05$); T_{22} (10 ~ 100 ms) 表示处于凝胶网络孔隙中的不易流动水; T_{23} (>100 ms) 表示凝胶网络结构外的自由流动水; P_{22} 、 P_{23} 分别代表 T_{22} 、 T_{23} 下所出现的峰面积占比 (%)。

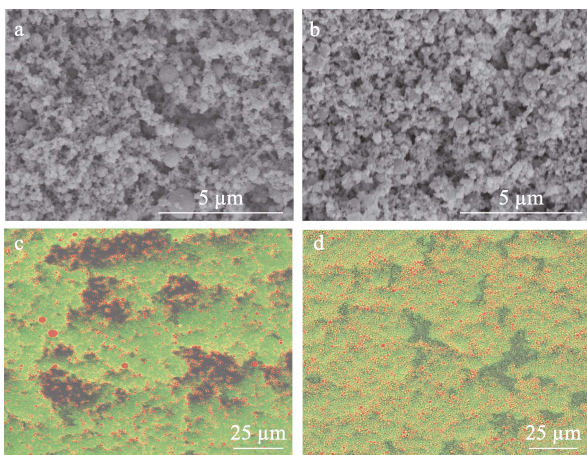
2.3.3 微观结构

图 3a、b 分别为天然大豆分离蛋白乳液凝胶和超声波改性大豆分离蛋白乳液凝胶的 SEM 图。由图 3a、b 可以看出, 天然大豆分离蛋白乳液凝胶的微观结构有较大的孔洞; 而经过超声波改性处理后,

乳液凝胶的微观结构趋于致密均匀。秦新生^[33] 研究了超声波处理对大豆蛋白和小麦蛋白混合凝胶微观结构的影响, 结果表明, 超声波改性使蛋白质分子结构展开, 凝胶过程中在单位体积内提供的交联位点增加, 进而形成了微观结构更加致密均匀的凝胶

网络。

图 3c 和 d 为天然大豆分离蛋白乳液凝胶和超声波改性大豆分离蛋白乳液凝胶的 CLSM 照片。由图 3c、d 可直观地观察到，天然大豆分离蛋白乳液凝胶中，作为支撑凝胶结构的重要部分，乳液液滴不均匀地分布于三维网络结构中。经过超声改性后，大豆分离蛋白乳液凝胶中的油滴更小，且逐渐均匀地分布在凝胶网络中；凝胶网络中的孔洞也越来越小，形成了黏弹性和持水性更强的乳液凝胶。CLSM 的结果与 SEM 的结果相符。超声波改性大豆分离蛋白乳液凝胶的微观结构支撑了前文的实验结果，即超声波改性处理后乳液凝胶的三维网络结构更加致密均匀，乳液凝胶的质构特性、流变性和水合特性更好。



a、c—天然大豆分离蛋白乳液凝胶；b、d—超声波改性大豆分离蛋白乳液凝胶；a、b—SEM 图；c、d—CLSM 照片

图 3 超声波处理对大豆分离蛋白乳液凝胶微观结构的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonic treatment on microstructure of soy protein isolate emulsion gel

2.4 槲皮素乳液凝胶的运载性能

天然大豆分离蛋白与超声波改性大豆分离蛋白乳液凝胶运载槲皮素的包封率如表 6 所示。

表 6 超声波处理对槲皮素乳液凝胶的包封率及生物利用率的影响

Table 6 Effect of ultrasonic treatment on encapsulation rate and bioavailability of quercetin emulsion gel

	包封率/(% ± %)	生物利用率/(% ± %)
SPI	66.62 ± 0.98 ^a	44.41 ± 1.45 ^a
USPI	70.17 ± 0.45 ^b	53.90 ± 2.88 ^b

注：小写字母 (a、b) 表示超声波改性条件下，大豆分离蛋白乳液凝胶的包封率、生物利用率差异显著 ($p < 0.05$)。

由表 6 可见，天然大豆分离蛋白乳液凝胶槲皮素的包封率为 $66.62\% \pm 0.98\%$ ；经过超声波改性后，

槲皮素在乳液凝胶中的包封率显著升高 ($p < 0.05$)，为 $70.17\% \pm 0.45\%$ 。这可能是由于：(1) 超声波引起大豆分离蛋白分子结构的改变，促进了大豆分离蛋白与槲皮素的相互作用；(2) 超声波改性后大豆分离蛋白乳液的粒径变小，结构更加致密，乳液的稳定性增加，从而提高了槲皮素的包封率^[34]。超声波处理的大豆分离蛋白乳液凝胶与天然大豆分离蛋白乳液凝胶相比，槲皮素的生物利用率显著提高 ($p < 0.05$)。这是因为，改性大豆分离蛋白乳液凝胶油滴周围结构更加致密，可以防止包裹的槲皮素在达到释放位置前被降解，有效地提高了槲皮素的生物利用率。

图 4 为模拟肠道消化过程中，槲皮素乳液凝胶游离脂肪酸分解率的曲线。

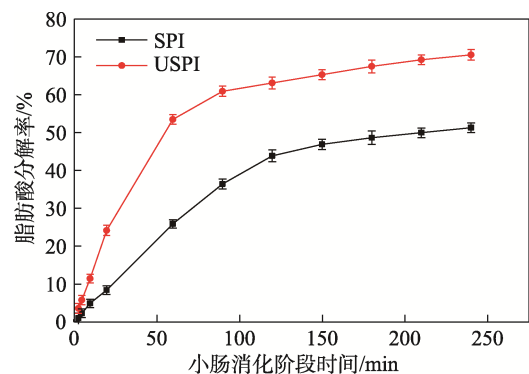


图 4 超声波处理对槲皮素乳液凝胶脂肪酸分解率的影响
Fig. 4 Effect of ultrasonic treatment on lipolysis rate of quercetin emulsion gel

由图 4 可见，天然大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶和超声波改性大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶游离脂肪酸的分解率曲线表现出相同的趋势，开始时游离脂肪酸的分解速率迅速增加，随后缓慢增加趋于平缓。结果表明，超声波改性大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶脂肪酸分解率在 250 min 时为 $70.45\% \pm 1.44\%$ ，天然大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶脂肪酸分解率为 $51.20\% \pm 1.24\%$ 。超声波改性后大豆分离蛋白乳液凝胶的游离脂肪酸分解速率高于天然大豆分离蛋白乳液凝胶，这可能是由于改性大豆分离蛋白乳液凝胶中液滴具有较大的比表面积，减小了空间位阻效应，有利于油相与吸附脂肪酶之间的相互作用，从而加快了脂质消化速率^[25,34]。RAO 等^[35]证明，脂溶性化合物的生物利用率与游离脂肪酸释放速率之间呈正相关，本研究的结果与其一致。

3 结论

(1) 经过超声波处理后，大豆分离蛋白乳液凝胶内部的静电相互作用无明显变化、非共价相互作用

用和二硫键含量先上升后下降; 乳液凝胶的硬度、弹性、咀嚼性均有所改善。超声波改性制备大豆分离蛋白乳液凝胶的最佳条件为: 超声波功率 400 W, 超声波温度 55 °C, 超声波时间 30 min。(2) 超声波改性处理导致大豆分离蛋白乳液的平均粒径下降、 ζ -电位绝对值上升、界面蛋白含量上升、表观黏度下降。(3) 经过超声波处理后, 大豆分离蛋白乳液凝胶的最终 G' 提高, 形成了更趋近于弹性性质的凝胶材料, 说明超声波改性能够提升大豆分离蛋白乳液凝胶的凝胶质构特性, 形成更加致密均匀的凝胶网络结构。(4) 与天然大豆分离蛋白槲皮素乳液凝胶相比, 超声波改性处理可以显著提高大豆分离蛋白乳液凝胶运载槲皮素的包封率, 脂肪酸分解率和生物利用率。

以上实验结果表明, 超声波改性是提高大豆分离蛋白乳液凝胶性质以及运载特性的可行途径。一方面拓宽了乳液凝胶在食品领域的应用, 另一方面为乳液凝胶功能改进提供了理论基础。

参考文献:

- [1] DICKINSON E. Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 28(1): 224-241.
- [2] BRODKORB A, CROGUENNEC T, BOUHALLAB S, *et al.* Heat-induced denaturation, aggregation and gelation of whey proteins[M]. New York: Springer New York, 2016.
- [3] YU H L, HUANG Q R. Improving the oral bioavailability of curcumin using novel organogel-based nanoemulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(21): 5373-5379.
- [4] LUO X Q (罗贤清), CHEN J J (陈建军), HU B (胡斌), *et al.* The hitherto application of supersonic wave in food safety inspection[J]. *Journal of Agricultural Mechanization Research (农业机械学报)*, 2007, (9): 195-205.
- [5] WEN C T, ZHANG J X, YAO H, *et al.* Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, 53: 83-98.
- [6] HAO H, CHEUNG I W Y, PAN S Y, *et al.* Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of aggregated soybean β -conglycinin and glycinin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 45: 102-110.
- [7] ZHAO C B, YIN H H, YAN J N, *et al.* Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate-maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 112: 106278.
- [8] PAVLICEVIC M Z, TOMIC M, DJONLAGIC J A, *et al.* Evaluation of variation in protein composition on solubility, emulsifying and gelling properties of soybean genotypes synthesizing β' subunit[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2018, 95(2): 123-134.
- [9] LI Y, LIU B H, JIANG L Z, *et al.* Interaction of soybean protein isolate and phosphatidylcholine in nanoemulsions: A fluorescence analysis[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 87: 814-829.
- [10] MA T Y (马天怡), GUO F X (郭凤仙), HE Z D (何振东), *et al.* L-Arginine/L-lysine ameliorating the emulsifying properties of soy protein isolate[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 40(1): 150-157, 163.
- [11] ALAWI F, EMAM-DJOMEH Z, MOMEN S, *et al.* Fabrication and characterization of acid-induced gels from thermally-aggregated egg white protein formed at alkaline condition[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 99: 105337.
- [12] LUO K Y, LIU S T, MIAO S, *et al.* Effects of transglutaminase pre-crosslinking on salt-induced gelation of soy protein isolate emulsion[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 263: 280-287.
- [13] GAO L (高丽). Studies on gel properties of soybean protein and its applications [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University (华中农业大学), 2007.
- [14] CHEN M S, LU J H, LIU F, *et al.* Study on the emulsifying stability and interfacial adsorption of pea proteins[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 88: 247-255.
- [15] XI Z W, LIU W, MCCLEMENTS D J, *et al.* Rheological, structural, and microstructural properties of ethanol induced cold-set whey protein emulsion gels: Effect of oil content[J]. *Food Chemistry*, 2019, 291: 22-29.
- [16] ZHANG M Q, LI J H, SU Y J, *et al.* Preparation and characterization of hen egg proteins-soybean protein isolate composite gels[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 97: 105191.
- [17] ZHU Y Q, CHEN X, MCCLEMENTS D J, *et al.* pH-, ion- and temperature-dependent emulsion gels: Fabricated by addition of whey protein to gliadin-nanoparticle coated lipid droplets[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 870-878.
- [18] MANTOVANI R A, FAZANI C A L, CUNHA R L. Gelation of oil-in-water emulsions stabilized by whey protein[J]. *Journal of Food Engineering*, 2016, 175: 108-116.
- [19] CHEN X, MCCLEMENTS D J, WANG J, *et al.* Coencapsulation of (-)-epigallocatechin-3-gallate and quercetin in particle-stabilized W/O/W emulsion gels: Controlled release and bioaccessibility[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(14): 3691-3699.
- [20] CHEN X, MCCLEMENTS D J, ZHU Y Q, *et al.* Gastrointestinal fate of fluid and gelled nutraceutical emulsions: Impact on proteolysis, lipolysis, and quercetin bioaccessibility[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(34): 9087-9096.
- [21] LIU F, JIANG Y F, DU B J, *et al.* Design and characterization of controlled-release edible packaging films prepared with synergistic whey-protein polysaccharide complexes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(24): 5824-5833.
- [22] PARK S, MUN S, KIM Y R, *et al.* Effect of xanthan gum on lipid digestion and bioaccessibility of beta-carotene-loaded rice starch-based filled hydrogels[J]. *Food Research International*, 2018, 105: 440-445.
- [23] DU X Q, HU M, LIU G N, *et al.* Development and evaluation of delivery systems for quercetin: A comparative study between coarse emulsion, nano-emulsion, high internal phase emulsion, and emulsion gel[J]. *Journal of Food Engineering*, 2022, 314: 110784.
- [24] ZHENG T, LI X H, TAHA A, *et al.* Effect of high intensity ultrasound on the structure and physicochemical properties of soy protein isolates produced by different denaturation methods[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 97: 105216.
- [25] XIONG Y, LI Q R, MIAO S, *et al.* Effect of ultrasound on physicochemical properties of emulsion stabilized by fish myofibrillar protein and xanthan gum[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 54: 225-234.
- [26] 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*, 2016, 31: 590-597.
- [27] CHEN X M (陈晓敏). Study on characteristics and embedding capability of bovine serum albumin cold-set gel[D]. Wuhan: Hubei University of Technology (湖北工业大学), 2019.
- [28] SUI X N, BI S, QI B K, *et al.* Impact of ultrasonic treatment on an emulsion system stabilized with soybean protein isolate and lecithin: Its emulsifying property and emulsion stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 727-734.
- [29] FALADE E O, MU T H, ZHANG M. Improvement of ultrasound microwave-assisted enzymatic production and high hydrostatic pressure on emulsifying, rheological and interfacial characteristics of sweet potato protein hydrolysates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 117: 106684.
- [30] QAYUM A, CHEN W, MA L, *et al.* Characterization and comparison of α -lactalbumin pre- and post-emulsion[J]. *Journal of Food Engineering*, 2020, 269: 109743.
- [31] SALA G, VLIET T V, STUART M C, *et al.* Deformation and fracture of emulsion-filled gels: Effect of gelling agent concentration and oil droplet size[J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(7): 1853-1863.
- [32] YANG M, LIU F, TANG C H. Properties and microstructure of transglutaminase-set soy protein-stabilized emulsion gels[J]. *Food Research International*, 2013, 52(1): 409-418.
- [33] QIN X S (秦新生). Studies on the mechanism, emulsifying application of physical pretreatment and transglutaminase-set soy protein isolate and wheat gluten mixture gelation[D]. Hefei: Hefei University of Technology (合肥工业大学), 2017.
- [34] LI Y, WANG D Q, ZHANG S, *et al.* Stability and *in vitro* simulated release characteristics of ultrasonically modified soybean lipophilic protein emulsion[J]. *Food Function*, 2020, 11(5): 3800-3810.
- [35] RAO J J, DECKER E A, XIAO H, *et al.* Nutraceutical nanoemulsions: Influence of carrier oil composition (digestible versus indigestible oil) on beta-carotene bioavailability[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(13): 3175-3183.