doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2019.10.039

异硫氰酸苄酯纳米乳液射流空化制备与冻融稳定性研究

田　甜[1]　周　艳[1]　高　悦[1]　李　杨[1,2]　王中江[1]　李　良[1]

(1. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030; 2. 哈尔滨食品产业研究院, 哈尔滨 150028)

摘要: 利用大豆分离蛋白-磷脂酰胆碱作为复合乳化剂包埋异硫氰酸苄酯(BITC),通过射流空化机制备成纳米乳液以提高其冻融稳定性。以出油率和乳层析指数为稳定性指标,研究了射流空化压力及冻融循环次数对纳米乳液冻融稳定性的影响;通过乳液冻融过程热特性分析,研究了不同射流空化压力下改性大豆分离蛋白-磷脂作为乳化剂时冻融过程中乳液结晶及融化的热行为。结果发现:当空化压力为 0.8 MPa 时,所制得的 BITC 纳米乳液乳层析指数比未处理样品降低了 51.39%,出油率较未处理样品下降 83.64%,平均粒径为(252 ±6.2) nm,PDI 为 0.114 ±0.034,ζ-电位为(-27.2 ±0.6) mV;通过光学显微镜观测到,BITC 被包埋于复合乳化剂中,且均匀分布在乳液体系,处于相对稳定状态;样品热特性的差异对比表明,射流空化改性蛋白-磷脂能显著增加乳液冻融稳定性。

关键词: 大豆蛋白; 磷脂酰胆碱; 异硫氰酸苄酯; 射流空化; 纳米乳液; 冻融稳定性

中图分类号: TS219　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-1298(2019)10-0337-06

Investigation on Freeze-thaw Stability of BITC Nanoemulsion and Its Preparation by Jet-cavitation

TIAN Tian[1]　ZHOU Yan[1]　GAO Yue[1]　LI Yang[1,2]　WANG Zhongjiang[1]　LI Liang[1]

(1. *College of Food Science*, *Northeast Agricultural University*, *Harbin* 150030, *China*
2. *Harbin Food Industry Research Institute*, *Harbin* 150028, *China*)

Abstract: The soy protein isolate-phosphatidylcholine (SPI - PC) was used as a composite emulsifier to encapsulate benzylisothiocyanate (BITC). The nanoemulsion was prepared by a jet cavitation machine to improve its freeze-thaw stability. The effect of jet cavitation press and freeze-thaw cycle on the freeze-thaw stability of nanoemulsion was studied by using oil yield and stratification coefficient as stability index. The thermal characteristics of emulsion freeze-thaw process were used to compare different jet-cavitation pressures. The thermal behavior of the modified soy protein isolate-phospholipid was taken as an emulsifier emulsion during crystallization and melting of the emulsion during freezing and thawing. The results showed that when the jet-cavitation pressure was 0.8 MPa, the layering coefficient of BITC nanoemulsion was 51.39% lower than that of the untreated sample, and the oil yield was 83.64% lower than that of the untreated sample. The average particle size was (252 ±6.2) nm, the PDI was 0.114 ±0.034, and the zeta potential was (-27.2 ±0.6) mV. It was observed that BITC was embedded in the composite emulsifier and evenly distributed in the emulsion system, and it was in a relatively stable state. By comparing the difference in thermal characteristics of the sample, it was reflected that the jet-cavitation modified protein-phospholipid could significantly increase the freeze-thaw stability of the emulsion. It provided a certain reference for improving the bioavailability of BITC in food and medicine.

Key words: soy protein; phosphatidylcholine; benzylisothiocyanate (BITC); jet-cavitation; nanoemulsion; freeze-thaw stability

0　引言

异硫氰酸苄酯(BITC)是蔬菜抗癌作用的主要生物活性物质[1]。文献[2]的流行病学研究表明,BITC 可以作为有效的抗菌剂,并作为传统抗生素更安全、更有效的替代品。因为 BITC 具有强烈的挥

收稿日期: 2019-03-01　修回日期: 2019-03-20

基金项目: 黑龙江省应用技术研究与开发计划重大项目(GA17B002)和国家重点研发计划项目(2016YFD0401402)

作者简介: 田甜(1981—),女,博士生,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: Ttian0317@163.com

通信作者: 李良(1981—),男,副教授,博士生导师,主要从事粮食、油脂及植物蛋白工程研究,E-mail: 15694164718@163.com

发性、易降解、水溶性差、生物利用度低等缺点,目前缺乏适当的补充机制[3]。

纳米乳液是指粒径在 20 ~ 500 nm 之间的一种营养物运输体系。与一般乳液相比,纳米乳液对体系的物理化学稳定性和所运载营养物质的体内吸收起到增强效果[4]。吐温、司盘等小分子表面活性剂可作为纳米乳液乳化剂,但其存在一定安全隐患,目前大多使用天然表面活性剂作为乳化剂,其中大豆分离蛋白因其高营养价值及较高的乳化性而被广泛应用于食品加工中[5-6]。大豆分离蛋白受其结构影响,其乳化性等功能性质不能满足纳米乳液制备要求,因此加入磷脂酰胆碱,以增强其乳化性。同时,利用射流空化技术产生的空穴效应使蛋白的柔性结构及二级结构发生变化,降低乳液的粒径,提高乳液的稳定性[5]。射流空化是一种新型加工技术,利用液体在 U 型管中快速流动并形成静脉收缩,使附近压力下降,形成数百万个空腔,随着液体膨胀,压力恢复导致空腔坍塌,以高幅度压力脉冲释放能量,得到储藏稳定性高、粒径小、易于被人体吸收的乳液。与一般高能乳化方法相比,它是产生空化作用力最便宜和最节能的方法之一,且用于产生空化的设备很简单,系统规模扩大相对容易[7]。

纳米乳液通常通过冷冻保存,可以有效限制微生物生长和化学降解反应[8]。然而,许多乳液在冷冻时非常不稳定,解冻时易造成营养物质分解[8-9]。文献[10]研究发现,超高压均质能显著增强纳米乳液冻融稳定性;文献[11]利用高压均质改变大豆蛋白二级结构,继而增加其与葡聚糖的交联作用,改善了纳米乳液的冻融稳定性。

本文以大豆蛋白-磷脂作为表面活性剂,以 BITC 与大豆油混合物作为油相,采用射流空化技术制备纳米乳液,探究射流空化对纳米乳液形成与冻融稳定性的影响,以期为工业生产提供理论支撑,扩大其在食品行业的应用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆分离蛋白,山东禹王有限公司;异硫氰酸苄酯(BITC)、磷脂酰胆碱,索莱宝公司;吐温 80、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠等化学试剂均为国产分析纯级。

1.2 仪器与设备

ULTRA - TURRAX UTL2000 型乳化机,德国 IKA 仪器设备公司;射流空化机,北京华瑞创世科技有限公司;Zetasizer Nano - ZS 90 型粒度分析仪,英国马尔文公司;UV755B 型紫外分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;Delta Vision OMX SR 型光学显微镜,美国通用电气公司;PerkinElmer DSC8000 型差示扫描量热仪,珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司;PHSJ - 4A 型实验室 pH 计,中国上海雷磁公司;FA2004B 型电子分析天平(精度 0.000 1 g),北京赛多利斯仪器系统有限公司。

1.3 方法

1.3.1 粗乳液制备

将大豆蛋白(1.5%)和磷脂酰胆碱(0.2%)溶于磷酸盐缓冲液(pH 值 7.0、0.01 mol/L)中,室温(25℃)下连续搅拌 2 h 以致完全溶解,然后加入叠氮化钠(0.01 g/(100 mL))以抑制微生物生长,把大豆油(10%)分散到水相中,用高速分散器以转速 10 000 r/min 均质 2 min,形成粗乳液[12]。

1.3.2 BITC 纳米乳液射流空化制备工艺

将粗乳液通过射流空化机进一步均质乳化即得大豆蛋白-磷脂酰胆碱 BITC 纳米乳液。分别取 1.3.1 节制备的适量粗乳液于烧杯中,置于射流空化机中,分别在射流空化压力 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 MPa 条件下射流空化处理 10 min,以循环冷热水控制射流空化温度,在相应工艺条件下制备 BITC 纳米乳液[13]。

1.3.3 冻融处理

将制备得到的乳液立即进行冻融处理。取不同的乳液样品 20 mL 装入塑料容器中,在 -20℃的冰箱中恒温贮存 24 h,将冷冻后的样品在 20℃水浴中解冻,取部分样品保持 20℃不变并进行分析。再将解冻的乳液置于 -20℃冰箱中恒温贮存 24 h,进行第 2 次冻融循环,将冻融过程重复 3 次,并在每次冻融后测量乳液的冻融稳定性[14]。

1.3.4 粒径测量

用 Zetasizer Nano - ZS 90 型光散射粒度分析仪分别测定经过冻融循环的乳液粒径分布规律。参数设定:BITC 油滴的折射率为 1.460,水相溶液折射率为 1.330,为降低多重光散射效应,分析前用磷酸盐缓冲液(pH 值 7.1,0.01 mol/L)稀释 BITC 纳米乳液 1 000 倍测粒径及 PDI(聚合物分散性指数,用于描述聚合物分子量分布),稀释 50 倍测 ζ-电位[15]。

1.3.5 乳层析指数

借鉴文献[16]的方法并略加修改。纳米乳液在每次冻融循环后,分成上下两层。记录乳状液所在具塞比色管底部清液层的高度 H_s 和乳液的总高度 H_T。乳液的乳层析指数 C_I 表示为

$$C_I = \frac{H_s}{H_T} \times 100\%$$

1.3.6 出油率

借鉴文献[17]的方法并略加修改。采用染料

稀释法确定冻融后乳液油脂释放量，苏丹Ⅲ油溶液制备：室温下准确称量 0.001 5% 的苏丹Ⅲ染液与大豆油混合，磁力搅拌 12 h，使苏丹Ⅲ完全溶解。以大豆油为空白对照，选择波长为 508 nm 测定苏丹Ⅲ油溶液的吸光度 A_1，得到标准曲线。将 4 g 苏丹Ⅲ油溶液与 16 g 冻融处理后的乳液样品混合均匀，静置 60 min 后 1 000 g 离心 20 min。用移液枪等量吸取乳状液顶部 1.5 mL 油状物，在高速离心机 15 000 g 条件下离心 20 min。取上清液在 508 nm 波长处测定吸光度 A_2，出油率计算公式为

$$O = \frac{M_0(a-1)}{M_e\varphi_e} \times 100\%$$

其中　　$a = A_1/A_2$

式中　φ_e——乳状液中脂肪质量分数，%

M_0——苏丹Ⅲ染液质量，g

M_e——乳状液样品质量，g

1.3.7　乳液显微结构

将经过冻融循环的乳液匀速搅拌 30 s，使其保持均匀，吸取 20 μL BITC 纳米乳液滴于载玻片中心，盖上盖玻片，注意不要产生气泡，将载玻片置于载物台上观察，先在 10 倍物镜下找到清晰的视野，然后在 40 倍物镜下放大 40×40 倍率进行乳液液滴外貌观察。

1.3.8　差示扫描量热法(DSC)

每个乳液样品制备完成后立即用移液器移取，用电子分析天平准确称量 5～10 mg 至 TAQ20 型液体铝坩埚，然后盖上配套的铝盖压盘密封，样品盘放置在 DSC 炉腔外侧电极，内侧放置相同质量的磷酸盐缓冲溶液的密封铝盘作对照。热分析通过双循环模型进行，扫描范围为 -40～40℃，10℃/min，氮气流速 25 mL/min，每个乳液样品至少作两次平行重复试验，测得的 DSC 数据包括结晶或融化过程的起止温度、顶点温度和热焓变(DH)[18]。

1.4　统计分析

所有试验重复 3 次取平均值，结果表示为平均值±标准差。采用 SPSS 20.0 进行数据处理和分析，使用 Origin 9.0 软件制图。

2　结果与分析

2.1　平均粒径和 PDI

平均粒径是衡量纳米乳液稳定性的关键指标，一般来说，乳液的液滴平均粒径越小，乳液越稳定[19]，PDI 表征聚合物分子量分布，PDI 值越小，说明乳液体系中粒径分布越均匀，液滴分散性越好[20]。冻融循环对乳液液滴平均粒径和 PDI 的影响如图 1 所示。随着射流空化压力的增大，乳液平均粒径及 PDI 呈显著下降趋势，经过 3 次冻融循环后纳米乳液粒径及 PDI 显著增大，未经射流空化处理的乳液冻融稳定性最差，第 2 次冻融后乳液出现絮凝现象，这是由于冷冻处理使溶液形成不规则冰晶，易刺穿液滴界面膜，小油滴很容易从界面层渗透出来接触聚结成大油滴，破坏乳液的冻融稳定性[21]。当压力增至 0.8 MPa 时，冻融循环对纳米乳液粒径((252±6.2) nm)及 PDI 值(0.114±0.034)影响显著减小，乳液冻融稳定性最强，这是因为射流空化产生的压力提高了蛋白表面的离子集团数和蛋白的水合力，提高了蛋白-磷脂乳化体系的稳定性，而且射流空化处理增加了蛋白的乳化性能，能够在油滴表面快速形成更加致密的界面膜，使乳液在冷冻条件下形成的脂肪晶体或冰晶很难破坏界面膜，有效减少了油滴之间的聚集和凝结现象产生，这与文献[22]研究结果一致。且随着射流空化压力的继续增加，乳液稳定性降低，这是由于过高压力可能导致乳液液滴裂解而出现油-水界面失稳现象，表现为平均粒径升高。文献[23]研究发现，均质压力过高会导致大豆蛋白相对分子质量变大，这也可能是粒径及 PDI 增大的原因。

2.2　ζ-电位

乳液的表面电荷密度能有效反映液滴之间的静电相互作用，ζ-电位绝对值越高乳液越稳定。如图 2

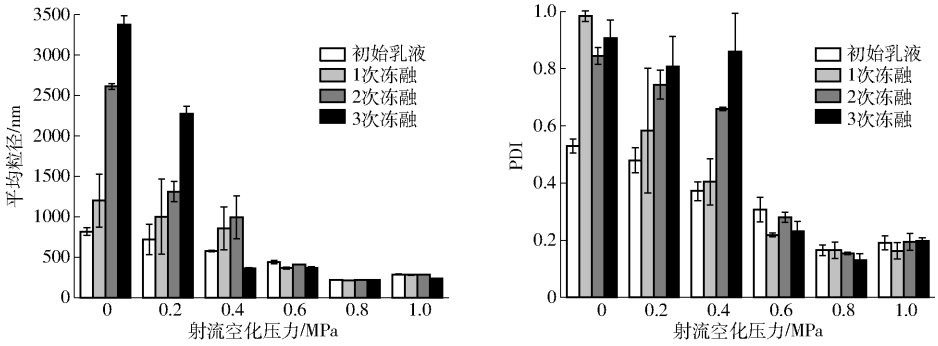

图 1　冻融后射流空化压力对纳米乳液平均粒径和 PDI 的影响

Fig. 1　Effect of jet-cavitation pressure of different jets on average particle size and PDI of nanoemulsion after freeze-thaw

所示,纳米乳液具有相对高的负表面电位,这可归因于溶液 pH 值高于吸附的大豆蛋白的等电点[24]。在 pH 值 7.0 的缓冲溶液中,未经射流空化处理的纳米乳液 ζ-电位为 -12.45 mV,随着射流空化压力增加,乳液整体电位绝对值呈现先升高后降低的趋势,经 0.8 MPa 射流空化处理的纳米乳液 ζ-电位为(-27.2 ±0.6) mV,表面电荷密度最大。结合乳液粒径和微观结构分析,此时乳液的稳定性最好,这是因为射流空化改变乳液中蛋白质-磷脂复合物的组成和结构,使乳液界面性质发生改变,间接增加了乳液的表面电荷[24]。文献[25]研究发现,空化处理使大豆分离蛋白的二级结构发生改变,蛋白质结构伸展进而促进其与磷脂之间的相互结合,造成乳液表面电荷的增加,同时磷脂增加蛋白质的乳化效率,减少界面层的解析现象,使乳液的稳定性进一步提高。经冻融循环后乳液的电位绝对值都有所下降,冻融稳定性也显著降低,这是因为冻融处理使蛋白分子从乳液中解析,蛋白质的乳化效率下降,同时冻融处理使乳液表面电荷减少导致油滴之间相互排斥形成聚集[26]。

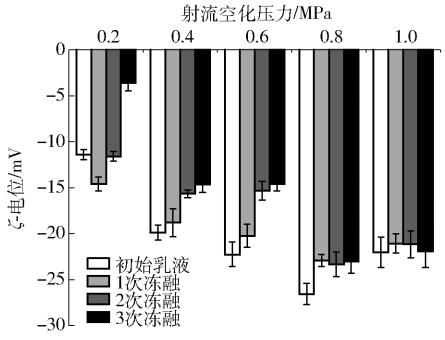

图 2 冻融后射流空化压力对纳米乳液 ζ-电位的影响

Fig. 2 Effect of different jet-cavitation pressure on ζ-potential of nanoemulsion after freeze-thaw

2.3 乳液显微结构

光学显微镜可以直观地表征乳液颗粒大小、分散状况及冻融处理产生的不稳定现象。由图 3 可知,由射流空化处理的样品均具有纳米尺寸的球状液滴,乳液经第 1 次冻融后,纳米乳液冻融稳定性变差,乳液液滴大小不均且出现聚集现象,3 次冻融后乳滴成片聚集,这是由于乳液冷冻过程中部分未形成冰晶的液相相互聚集,且冷冻处理使大豆蛋白结构变性,蛋白乳化性等功能性质降低,油-水界面膜强度减弱,加剧了油滴之间的聚集。随着射流空化压力增加,大豆蛋白与磷脂形成的复合乳液粒径较小,文献[27]研究发现,超高压均质产生的高速剪切作用力能显著降低乳液粒径直径,并增强乳液的溶解度。当射流空化处理压力为 0.8 MPa 时,液滴粒径最小且分布均匀,表面活性剂完全覆盖油滴表面,乳液冻融稳定性增强,这是因为射流空化使大豆蛋白柔性结构发生改变,蛋白-磷脂结构更为致密,不易被油晶和冰晶破坏。空化压力过大时,蛋白-蛋白、蛋白-磷脂之间的交联程度过高,大豆蛋白乳化能力下降,乳液体系油体积面积增大,显微镜呈现相对较大的颗粒[28]。

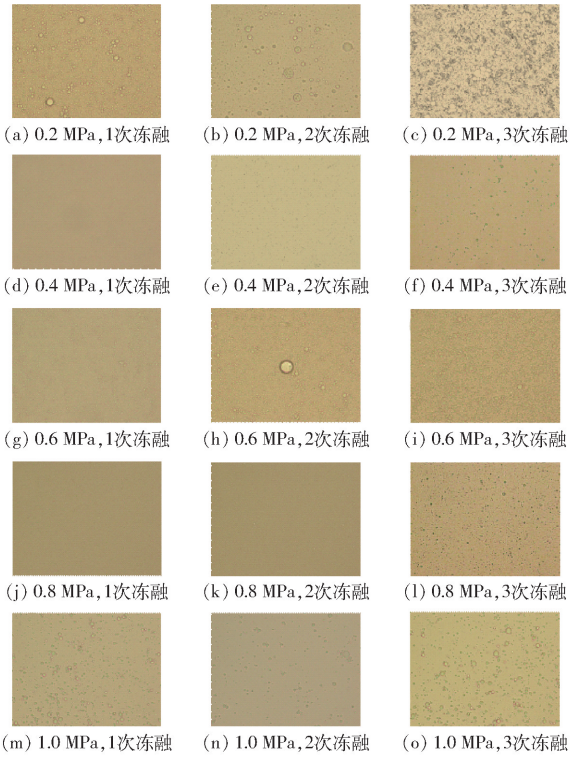

图 3 冻融后射流空化压力对纳米乳液显微结构的影响

Fig. 3 Effect of jet-cavitation pressure on microstructure of nanoemulsion after freeze-thaw

2.4 乳层析指数

通过测定乳状液的乳层析指数反映乳状液的稳定性,如图 4 所示,乳液经冻融处理后,乳层析指数增加,是因为冷冻使乳液中的水分和油脂形成晶体,刺破油脂表面较薄的界面膜,小分子油滴聚集成大分子油滴,且随着冻融次数增多,乳液的聚集程度更显著。较未处理乳液相比,乳液的乳层析指数随着射流空化压力的增加而降低,其中射流空化压力为 0.8 MPa 的纳米乳液乳层析指数比未处理样品的乳层析指数降低了 51.39%。这可能是由于射流空化处理产生的超高速剪切力及空化作用力改变了蛋白质的柔性结构,表面电荷增多进而稳定性提高,也有可能是射流空化处理使蛋白质表面疏水基团暴露,使其更易吸附在油滴表面抵抗冷冻对界面稳定性的破坏[29]。

2.5 出油率

由表 1 可知射流空化处理及冻融循环对大豆蛋白-磷脂乳状液出油率的影响。随着冻融次数增多,乳状液的出油率增大,乳液的冻融稳定性逐渐降低,

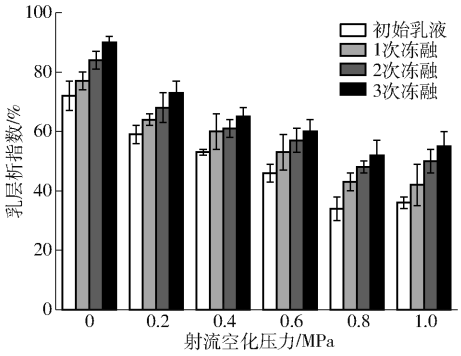

图 4　冻融后射流空化压力对纳米乳液乳层析指数的影响

Fig. 4　Effect of jet-cavitation pressure on emulsion index of nanoemulsion after freeze-thaw

这是因为乳液冷冻过程中形成冰晶，界面膜遭到破坏，小分子油滴逐渐聚集，且冷冻处理使大豆蛋白过度交联，蛋白乳化能力下降，与磷脂之间的相互作用降低导致乳液界面强度下降。随着射流空化处理压力增加，乳液的出油率呈显著下降趋势（$P<0.05$），当射流压力增加至 0.8 MPa 时，乳液出油率较未处理样品下降 83.64%，乳液呈现较好的冻融稳定性，这是因为空化处理提高了蛋白质的乳化性能，蛋白的界面吸附能力得到改善，增强了界面强度。文献[30]利用超声提高大豆分离蛋白乳化性，文献[31]发现高压均质对豆类蛋白质乳化活性和乳化稳定性具有改善作用。但当射流空化处理压力过大，交联程度过高时，蛋白质乳化能力下降，油滴从界面膜内解析出来与其他物质混合形成聚集，乳液的出油率略有增长。

表 1　冻融后射流空化压力对纳米乳液出油率的影响

Tab. 1　Effect of jet-cavitation pressure on oil yield of nanoemulsion after freeze-thaw　%

射流空化压力/MPa	1 次冻融	2 次冻融	3 次冻融
未处理	$(24.83\pm0.71)^{a}$	$(30.07\pm0.70)^{a}$	$(45.41\pm1.24)^{a}$
0.2	$(8.46\pm0.28)^{b}$	$(16.54\pm0.65)^{b}$	$(18.18\pm1.14)^{b}$
0.4	$(5.39\pm0.23)^{c}$	$(14.46\pm0.31)^{c}$	$(15.61\pm0.36)^{c}$
0.6	$(4.43\pm0.06)^{cd}$	$(12.22\pm0.53)^{d}$	$(14.23\pm0.42)^{cd}$
0.8	$(4.06\pm0.04)^{d}$	$(8.41\pm0.51)^{e}$	$(11.15\pm0.08)^{e}$
1.0	$(4.26\pm0.06)^{d}$	$(9.87\pm0.88)^{e}$	$(12.88\pm0.41)^{de}$

注：同列不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

2.6　差示扫描量热分析

通过差示扫描量热法（DSC）可以研究乳液油、水结晶对冻融稳定性的影响，在一定条件下，乳液体系可能有一相出现结晶，也可能两相均出现结晶，这取决于水、油两相凝固点。研究发现大豆油的凝固点约为 −17℃，SPI 凝固点约为 −16.5℃，水相和油相凝固点均高于试验冷冻温度（−20℃），图 5 显示了乳液冻融的热谱图，在冷冻过程中，乳液出现结晶峰，凝固点在 −19.3 ~ −18.7℃之间，表明在 −20℃冷冻条件下，未处理乳液及射流空化乳液均形成结晶，所以纳米乳液冻融稳定性差是由冷冻过程中冰晶破坏乳液界面平衡造成的。未处理乳液冻融过程中，其在 6℃左右会观察到一个比较明显的放热峰，这表明乳液中存在游离脂肪，原因是由于油滴刺破界面膜形成聚集[32]，而射流空化处理的乳液在 6℃左右出现较缓的放热峰，随着空化压力增加，放热峰变缓，这说明射流空化能显著改善冻融处理对乳液稳定性的影响。

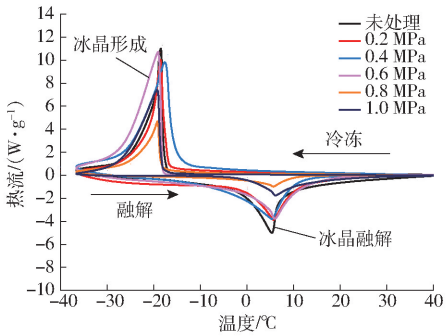

图 5　冻融后射流空化压力对纳米乳液 DSC 的影响

Fig. 5　Effect of jet-cavitation pressure on nanoemulsion DSC after freeze-thaw

3　结束语

射流空化对大豆分离蛋白-磷脂的改性可以提高其乳液体系的冻融稳定性。经过 3 次冻融后，经射流空化的纳米乳液冻融稳定性显著高于未处理乳液。当射流空化压力为 0.8 MPa 时，乳层析指数和出油率分别比未处理乳液降低了 51.39%、83.64%，相较于传统大豆分离蛋白乳化体系，经射流空化处理的乳液冻融稳定性得到很大提高。射流空化技术产生的高速剪切力会改变大豆分离蛋白柔性结构，使其与磷脂更好地交联，形成坚韧的界面膜，减弱冻融作用对乳液热特性的影响，乳液在 3 次冻融后蛋白没有明显的桥联絮凝现象，油滴依然被紧密地包裹在界面膜中，表现出较好的冻融稳定性。

参　考　文　献

[1]　KHAMIS I, HEIKKILA J J. Effect of isothiocyanates, BITC and PEITC, on stress protein accumulation, protein aggregation and aggresome-like structure formation in *Xenopus* A6 kidney epithelial cells [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2018, 204: 1 - 13.

[2]　ADEBIYI A, ADAIKAN P G, PRASAD R N V. Effect of benzyl isothiocyanate on spontaneous and induced force of rat uterine

contraction [J]. Pharmacological Research, 2004, 49(5):415 - 422.
[3] LI Wenzhao, LIU Xiaoyu, YANG Qingfeng. Preparation and characterization of inclusion complex of benzyl isothiocyanate extracted from papaya seed with β-cyclodextrin [J]. Food Chemistry, 2015, 184:99 - 104.
[4] 王学娟, 李先毅, 周叶燕,等. 纳米微乳化薄荷香精的制备及应用研究[J]. 香料香精化妆品, 2013(3):6 - 10.
WANG Xuejuan, LI Xianyi, ZHOU Yeyan, et al. Study on the preparation process and application of mint oil nano-microemulsion [J]. Spice and Fragrance Cosmetics, 2013(3): 6 - 10. (in Chinese)
[5] 陈硕, 陈飞平, 唐传核. 植物球蛋白/姜黄素纳米复合物的制备及其对 O/W 型 Pickering 乳液氧化稳定性影响[J]. 现代食品科技, 2015,31(12):197 - 204.
CHEN Shuo, CHEN Feiping, TANG Chuanhe. Fabrication of plant globulin/curcumin nano-complexes and their impact on physical and oxidative stability of oil-in-water pickering emulsions[J]. Modern Food Science and Technology, 2015,31(12): 197 - 204. (in Chinese)
[6] 曹静, 翁静宜, 程萌,等. 大豆分离蛋白-葡聚糖糖基化产物作为乳化剂和活性物质载体的性能分析[J]. 食品科学, 2018, 39(8):6 - 12.
CAO Jing, WENG Jingyi, CHENG Meng, et al. Emulsifier and carrier performance of soy protein isolate - dextran conjugates [J]. Food Science, 2018, 39(8):6 - 12. (in Chinese)
[7] LIU H, KANG C, ZHANG W, et al. Flow structures and cavitation in submerged waterjet at high jet pressure [J]. Experimental Thermal and Fluid Science, 2017, 88:504 - 512.
[8] GHOSH S, COUPLAND J N. Factors affecting the freeze-thaw stability of emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(1): 105 - 111.
[9] THANASUKARN P, PONGSAWATMANIT R, MCCLEMENTS D J. Impact of fat and water crystallization on the stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate [J]. Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects, 2004, 246(1 - 3):49 - 59.
[10] FRANCESCO D, WANG Y, HUANG Q. Freeze-thaw stability of lecithin and modified starch-based nanoemulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5):1327 - 1336.
[11] 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.
[12] MAO L, ROOS Y H, MIAO S. Effect of maltodextrins on the stability and release of volatile compounds of oil-in-water emulsions subjected to freezethaw treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2015,50: 219 - 227.
[13] YANG Y X, CUI S W, GONG J H, et al. A soy protein polysaccharides Maillard reaction product enhanced the physical stability of oil-in-water emulsions containing citral [J]. Food Hydrocolloids, 2015,48: 155 - 164.
[14] ZHU X F, ZHANG N, LIN W F, et al. Freeze-thaw stability of pickering emulsions stabilized by soy and whey protein particles [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 69:173 - 184.
[15] 王中江, 张潇元, 车佳玲, 等. 薄荷油纳米乳液消化规律与稳定性研究[J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(10):381 - 386,426.
WANG Zhongjiang, ZHANG Xiaoyuan, CHE Jialing, et al. Investigation on digestion law and stability of peppermint oil nanoemulsion [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(10):381 - 386,426. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no = 20181044&flag = 1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.10.044. (in Chinese)
[16] 江连洲, 綦玉曼, 马春芳, 等. 鱼油纳米乳液运载体系构建与稳定性研究[J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(10): 387 - 395.
JIANG Lianzhou, QI Yuman, MA Chunfang, et al. Formation and stability of fish oil enriched biocompatible nano-emulsion [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(10):387 - 395. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no = 20181045&flag = 1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.10.045. (in Chinese)
[17] PALAZOLO G G, MITIDIERI F E, WAGNER J R. Relationship between interfacial behaviour of native and denatured soybean isolates and microstructure and coalescence of oil in water emulsions: effect of salt and protein concentration [J]. Food Science and Technology International, 2003, 9(6): 409 - 419.
[18] NOSHAD M, MOHEBBI M, SHAHIDI F, et al. Freeze-thaw stability of emulsions with soy protein isolate through interfacial engineering [J]. International Journal of Refrigeration, 2015, 58:253 - 260.
[19] MCCLEMENTS D J. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability[J]. Critical Reviews in Food Science & Nutrition,2007,47(7): 611 - 649.
[20] PRIMOZIC M,DUCHEK A,NICKERSON M,et al. Effect of lentil proteins isolate concentration on the formation,stability and rheological behavior of oil-in-water nanoemulsions[J]. Food Chemistry,2017,237: 65 - 74.
[21] GU Y S,DECKER E A,MCCLEMENTS D J. Formation of colloidosomes by adsorption of small charged oil droplets onto the surface of large oppositely charged oil droplets[J]. Food Hydrocolloids,2007,21(4): 516 - 526.
[22] MANTOVANI R A, CAVALLIERI A L F, NETTO F M, et al. Stability and in vitro digestibility of emulsions containing lecithin and whey proteins [J]. Food & Function, 2013, 4(9):1322 - 1331.

(下转第 351 页)

[25] HUFF-LONERGAN E, LONERGAN S M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role of postmortem biochemical and structural changes [J]. Meat Science, 2005, 71(1):194 – 204.
[26] WANG L, ZHANG M, FANG Z, et al. Gelation properties of myofibrillar protein under malondialdehyde induced oxidative stress [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 97(1):50 – 57.
[27] LI C, XIONG Y L, CHEN J. Oxidation-induced unfolding facilitates myosin cross-linking in myofibrillar protein by microbial transglutaminase [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(32):8020 – 8027.
[28] HENDERSON M, WOOD D. Theoretical aspects of water-holding in meat [J]. Meat Science, 2010, 86(1):151 – 165.
[29] LI W, WANG P, XU X, et al. Use of low-field nuclear magnetic resonance to characterize water properties in frozen chicken breasts thawed under high pressure [J]. European Food Research and Technology, 2014, 239(2):183 – 188.
[30] 李儒仁, 韩玲, 余群力, 等. 冻藏对牦牛肉蛋白质、脂质氧化和保水性的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2015,46(6): 218 – 225.
LI Ruren, HAN Ling, YU Qunli, et al. Impact of frozen storage on protein, lipid oxidation and water holding capacity of yak meat [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015,46(6):218 – 225. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20150631 &journal_id = jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.06.031. (in Chinese)
[31] BERTRAM H C, SCHFER A, ROSENVOLD K, et al. Physical changes of significance for early post mortem water distribution in porcine *M. longissimus* [J]. Meat Science, 2004, 66(4):915 – 924.
[32] BERTRAM H C, DONSTRUP S, KARLSSON A H, et al. Post mortem energy metabolism and pH development in porcine *M. longissimus dorsi* as affected by two different cooling regimes. A^{31} P – NMR spectroscopic study [J]. Magnetic Resonance Imaging, 2001, 19(7):993 – 1000.
[33] MARÍA G, SIGURJÓN A, RUSTAD T. The effects of pre-salting methods on water distribution and protein denaturation of dry salted and rehydrated cod—a low-field NMR study [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(1):23 – 29.
[34] 魏秀丽, 谢小雷, 张春晖, 等. 猪宰后肌肉体系中 μ-calpain 及肌原纤维蛋白理化特性的变化规律[J]. 中国农业科学, 2015,48(12):2428 – 2438.
WEI Xiuli, XIE Xiaolei, ZHANG Chunhui, et al. The variations in μ-calpain and physico-chemical characteristics of myofibrillar proteins in postmortem porcine muscle [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(12):2428 – 2438. (in Chinese)

(上接第 342 页)

[23] YAO L, WU H, MENG Z, et al. Salt effect on hydrophobically modified polyacrylamide-containing crude oil emulsions: stability and rheology study[J]. Colloid & Polymer Science, 2018, 296(3):515 – 527.
[24] DICKINSON E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2010, 81(1):130 – 140.
[25] ROPERS M H, NOVALES B, BOUÉ F, et al. Polysaccharide/surfactant complexes at the air-water interface-effect of the charge density on interfacial and foaming behaviors [J]. Langmuir, 2008, 24(22): 12849 – 12857.
[26] THANASUKARN P, PONGSAWATMANIT R, MCCLEMENTS J D. Influence of emulsifier type on freeze-thaw stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(6): 1033 – 1043.
[27] AHMED S, GULL A, ALAM M, et al. Ultrasonically tailored, chemically engineered and "QbD" enabled fabrication of agomelatine nanoemulsion; optimization, characterization, ex-vivo permeation and stability study [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 41:213 – 226.
[28] WANG Z J, HAN F F, SUI X N, et al. Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between mung bean [*Vigna radiate* (L.)] protein isolates and glucose and on structural and physico-chemical properties of conjugates[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(5): 1532 – 1540.
[29] STANCIUC N, APRODU I, IONITA E, et al. Exploring the process-structure-function relationship of horseradish peroxidase through investigation of pH and heat induced conformational changes[J]. Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2015, 147: 43 – 50.
[30] SHAO Y, WU C, WU T, et al. Eugenol-chitosan nanoemulsions by ultrasound-mediated emulsification: formulation, characterization and antimicrobial activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 193:144 – 152.
[31] GIPSY T M, RICARDO V C, CAROLINA H L. Physicochemical properties of high-pressure treated lentil protein-based nanoemulsions[J]. LWT, 2019, 101: 590 – 598.
[32] VANAPALLI S A, PALANUWECH J, COUPLAND J N. Stability of emulsions to dispersed phase crystallization: effect of oil type, dispersed phase volume fraction, and cooling rate [J]. Colloids & Surfaces Physicochemical & Engineering Aspects, 2002, 204(1):227 – 237.