

## 超高压均质制备大豆多肽纳米乳及其粒径和稳定性分析

吕沛宣, 廖永红, 周晓宏

### Soybean Isolate Protein Hydrolysate Nanoemulsions Prepared by Ultra-High Pressure Homogenization: Size and Physical Stability

L Peixuan, LIAO Yonghong, and ZHOU Xiaohong

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030185>

#### 您可能感兴趣的其他文章

##### Articles you may be interested in

#### 大豆分离蛋白-茶皂素复合乳化剂制备山茶油纳米乳液及其性质研究

Preparation of Camellia Oil Nanoemulsion by Soy Protein Isolate-Tea Saponin Compound Emulsifier and Properties of Nanoemulsion  
食品工业科技. 2020, 41(22): 27-34,42

#### 不同配方制备紫檀芪纳米乳液及其稳定性

Preparation of pterostilbene nanoemulsions with different formulation and its stability  
食品工业科技. 2017(21): 69-75

#### OSA变性淀粉的乳化特性及其对纳米乳液构建影响的研究

Research of the emulsifying characteristics of OSA modified starch and the effect on the preparation of nano emulsions  
食品工业科技. 2017(01): 59-64

#### 均质条件对核桃乳稳定性的影响

Effect of Homogenization Conditions on Stability of Walnut Milk  
食品工业科技. 2021, 42(7): 201-207

#### 高压均质黄桃果汁的响应面法优化及稳定性表征

Response surface method optimization and stability characterization of high-pressure homogeneous yellow peach juice  
食品工业科技. 2017(13): 19-24

#### 基于响应面法构建虾青素纳米乳液

Preparation of astaxanthin-loaded nanoemulsions by response surface methodology  
食品工业科技. 2018, 39(10): 204-210



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

吕沛宣, 廖永红, 周晓宏. 超高压均质制备大豆多肽纳米乳及其粒径和稳定性分析 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(22): 265-271. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030185

LÜ Peixuan, LIAO Yonghong, ZHOU Xiaohong. Soybean Isolate Protein Hydrolysate Nanoemulsions Prepared by Ultra-High Pressure Homogenization: Size and Physical Stability[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(22): 265-271. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030185

· 工艺技术 ·

# 超高压均质制备大豆多肽纳米乳及其 粒径和稳定性分析

吕沛宣<sup>1</sup>, 廖永红<sup>2</sup>, 周晓宏<sup>1,\*</sup>

(1.北京理工大学化学与化工学院, 北京 100081;

2.北京工商大学轻工科学技术学院, 北京 100048)

**摘要:**大豆多肽是具有营养、呈味、抗氧化等生物活性的新型多功能天然乳化剂, 为开发大豆多肽在食品乳液中的应用, 本研究探索了超高压均质技术制备大豆多肽纳米乳液的影响因素和加工效果。以大豆分离蛋白为原料酶法制备大豆多肽 (Soybean protein isolate hydrolysates, SPIH), 考察了多肽质量浓度、均质压力和循环次数对纳米乳平均粒径、粒度分布和物理稳定性的影响, 在单因素实验基础上, 以粒径和稳定性为指标, 通过正交试验进行工艺优化, 并应用粒度仪和原子力显微镜表征了其储存稳定性和微观形貌。结果表明, 各因素最佳水平为: 20 mg/mL 多肽质量浓度, 140 MPa 均质压力和 5 次循环, 在此条件下制备得到粒径为 178.8 nm, 稳定性指数  $K_e=7.37\%$  的纳米乳液。超高压均质法制备的大豆多肽纳米乳具有均匀的液滴分布并可稳定储存 56 d 以上, 随多肽质量浓度增加纳米乳液滴聚集情况明显。研究为多肽乳化剂纳米乳液的制备和应用提供了参考。

**关键词:**大豆多肽, 超高压均质, 纳米乳液, 粒径, 稳定性, 天然乳化剂

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2022)22-0265-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030185



本文网刊:

## Soybean Isolate Protein Hydrolysate Nanoemulsions Prepared by Ultra-High Pressure Homogenization: Size and Physical Stability

LÜ Peixuan<sup>1</sup>, LIAO Yonghong<sup>2</sup>, ZHOU Xiaohong<sup>1,\*</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China;

2. School of Light Industry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** Soybean peptide is a new type of multifunctional natural surfactant with biological activities such as nutrition, taste and antioxidant. In order to take better use of soybean peptide as emulsifier in food emulsions, soybean protein isolate hydrolysates (SPIH) were prepared by enzymolysis of soybean protein isolate, and SPIH-stabilized nanoemulsions were firstly prepared by ultra-high pressure homogenization (UHPH) in this study. The effects of emulsifier concentrations, homogenization pressure and cycle numbers on the average particle size, particle size distribution (PDI) and physical stability ( $K_e$  value) of nanoemulsions were explored. The three preparation conditions were optimized by orthogonal experiment compromising between the mean particle size and  $K_e$  value. Particle size analyzer and atomic force microscope (AFM) were applied to characterize the storage stability and microstructure of the nanoemulsion, respectively. Results showed that the optimal conditions were SPIH concentration 20 mg/mL, homogenization pressure 140 MPa and cycle numbers 5, while the nanoemulsion with particle size of 178.8 nm,  $K_e=7.37\%$  was obtained under this condition, and stabilized for more than 56 d. AFM images showed that droplets of the nanoemulsion distributed uniformly and droplets aggregated when the peptide concentration increased. This study would provide a reference for the preparation and application of nanoemulsions with polypeptide emulsifiers.

收稿日期: 2022-03-17

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目 (2017YFB0308905)。

作者简介: 吕沛宣 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物转化与酶工程, E-mail: lpx\_2019@163.com。

\* 通信作者: 周晓宏 (1965-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 生物转化与酶工程, E-mail: zhouxh@bit.edu.cn。

**Key words:** soybean protein isolate hydrolysates; ultra-high pressure homogenization; nanoemulsions; particle size; stability; natural emulsifier

纳米乳液是一种热力学不稳定的胶体分散体系,由互不相溶的两相液体组成,其中一相在乳化剂的作用下形成小液滴分散到另一种液体中,液滴直径通常小于 200 nm<sup>[1-2]</sup>。乳液的许多特性,如稳定性、流变性、外观、颜色、质地和保质期等都取决于粒径和分布<sup>[3]</sup>。液滴的布朗运动速率与其粒径呈负相关,纳米乳由于粒径较小,布朗运动的增强可使纳米乳液的小液滴克服重力实现均匀分布<sup>[4]</sup>,因此,纳米乳液较常规乳液有着稳定性好、光学透明度高及被包封物质生物利用度高等优点<sup>[5]</sup>。许多最新的研究致力于纳米乳液的制备、表征和利用作为亲脂性物质的包封和递送系统<sup>[6-7]</sup>。

乳化剂对于纳米乳的形成和稳定至关重要,人们对饮食健康的关注使食品行业强调食品添加剂的“天然、营养、多功能”<sup>[8]</sup>,以天然成分代替合成成分和植物来源代替动物来源成为趋势。在天然植物乳化剂中,大豆蛋白因其营养价值高、成本低已被广泛报道,但作为乳化剂主要应用于高稠度乳剂如肉糜食品,在稀乳液中的应用非常有限<sup>[9-10]</sup>,主要原因之一是许多商业大豆蛋白产品的溶解性和分散性差,从而降低了乳化能力<sup>[11]</sup>。与大豆蛋白相比,大豆多肽分子量更低,分子延展性更强,对油水界面的吸附更快,具有更好的溶解性和乳化性<sup>[12-13]</sup>,此外,大豆蛋白经酶解后可释放一些具有特殊生理活性的肽,如抗氧化肽<sup>[14]</sup>、抗高血压肽<sup>[15]</sup>和降胆固醇肽<sup>[16]</sup>等,因此,可以应用于功能食品。然而大豆多肽乳化剂研究鲜有报道,更未见市场应用。

纳米乳的形成需要外加能量,根据能量的多少分为低能乳化法和高能乳化法。相变温度法、相变组分法等低能法多依赖于乳化剂和乳液组分的性质,一般不适合工业化生产。高压均质化、高压微射流和超声破碎等高能法为制备纳米级液滴提供了克服界面能垒所需的机械能,可用于大规模的商业食品加工。其中超高压均质是一种应用于流体处理的新技术,可有效减小液滴尺寸,增强乳液的物理和氧化稳定性<sup>[17-18]</sup>,并且对营养价值和感官特性的影响最小<sup>[19]</sup>,然而尚未有关于超高压均质技术用于制备大豆多肽纳米乳的报道。

因此,本研究的主要目的集中在两个方面:超高压均质技术制备大豆多肽纳米乳液的影响因素分析并通过正交试验优化工艺条件以制备稳定的小粒径乳液;纳米乳的储存稳定性和微观形貌表征。研究为多肽乳化剂在食品中的应用及多肽纳米乳的开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

大豆分离蛋白(纯度≥90%) 山东禹王生态食

业有限公司;Alcalase 2.4L 碱性蛋白酶( $6.4 \times 10^5$  U/mL)

诺维信(中国)生物技术有限公司;酪蛋白 北京博奥拓达科技有限公司;金龙鱼大豆油 益海嘉里食品营销有限公司;ProClean 950 抑菌防腐剂 上海碧云天生物技术有限公司。

HR-6B 高速匀浆机 上海沪析实业有限公司;UV-9600 紫外/可见分光光度计 北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司;EmulsiFlexC3 超高压纳米均质机 加拿大 Avestin 公司;纳米粒度及 zeta 电位分析仪 ZS90 英国马尔文公司;Cypher VRS 多功能单分子力谱仪 英国牛津仪器集团。

### 1.2 实验方法

1.2.1 大豆多肽乳化剂的酶法制备 大豆分离蛋白按 11%(w/v)分散于去离子水中,1 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液调节 pH 至 7.5,添加 2%(v/w)底物浓度的碱性蛋白酶酶解 8 h 后 100 °C 水浴加热灭酶 10 min 获得大豆多肽分散液,凯氏定氮法<sup>[20]</sup>确定多肽质量浓度为 90 mg/mL,甲醛滴定法<sup>[21]</sup>测得水解度为 17%,4 °C 储存。

1.2.2 纳米乳液制备 使用高速匀浆机将稀释到所需质量浓度的多肽分散液和大豆油以 97:3(v/v)的比例在 23000 r/min 下预混 2 min 得到粗乳液,然后将粗乳液立即转移到超高压均质机中,在不同的均质压力和循环次数下制备大豆多肽纳米乳液。

1.2.3 乳液粒径和分布测试 使用纳米粒度分析仪测定大豆多肽纳米乳液的平均粒径和分布,用去离子水将大豆多肽纳米乳液稀释 100 倍,以避免多重光散射效应。参数设定:分散相折射率设置为 RI-1.450,连续相折射率设置为 RI-1.330,测定乳液平均粒径和多分散性指数(particle distribution index, PDI)。

1.2.4 物理稳定性测定 离心稳定性常数(Ke)是确定纳米乳液物理稳定性的最常用指标之一,Ke 值越低,纳米乳液的物理稳定性越好。按照 Li 等<sup>[22]</sup>的方法,将纳米乳液用去离子水稀释 100 倍,在离心机中以 2000 g 离心 20 min,从离心管底部取 5 mL 样品并用涡旋混合器混合 5 s,利用分光光度计测定每个样品在 500 nm 波长处的吸光度。Ke 值计算公式如下:

$$Ke(\%) = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100$$

式中: $A_0$  和  $A$  分别为稀释的纳米乳离心前后的吸光度值。

### 1.2.5 单因素实验

1.2.5.1 多肽质量浓度对纳米乳粒径和稳定性的影响 取 194 mL 质量浓度分别为 5、10、30、60 和 90 mg/mL 的大豆多肽分散液与 6 mL 豆油制备粗乳液,然后以 60 MPa 的压力均质 3 次,测定乳液粒径、

PDI 和  $K_e$  值。

1.2.5.2 均质压力对纳米乳粒径和稳定性的影响  
取 194 mL 稀释到 10 mg/mL 的大豆多肽分散液与 6 mL 豆油制备粗乳液, 分别以 0、60、120 和 180 MPa 的压力循环均质 3 次, 测定乳液粒径、PDI 和  $K_e$  值。

1.2.5.3 循环次数对纳米乳粒径和稳定性的影响  
取 194 mL 稀释到 10 mg/mL 的大豆多肽分散液与 6 mL 豆油制备粗乳液, 以 60 MPa 的压力分别循环均质 1、3、5、7 和 9 次, 测定乳液粒径、PDI 和  $K_e$  值。

1.2.6 正交试验 为优化大豆多肽纳米乳的制备工艺, 以纳米乳的平均粒径和  $K_e$  为评价指标, 设计了 3 因素 3 水平的正交试验, 如表 1 所示。

表 1 大豆多肽纳米乳超高压制备工艺正交试验因素水平  
Table 1 Factors and levels of orthogonal array design for optimization of SPIH nanoemulsion prepared by UHPH

水平	因素		
	A 多肽质量浓度 (mg/mL)	B 均质压力 (MPa)	C 循环次数
1	10	100	4
2	20	120	5
3	30	140	6

1.2.7 原子力显微镜 (atomic force microscopy, AFM) 表征纳米乳形貌 通过 Cypher VRS 多功能单分子力谱仪观察样品的形貌, 使用 Gwyddion 软件对图像进行处理和分析。样品用蒸馏水稀释 100 倍, 在云母片上滴加 5  $\mu$ L 至自然干燥, 将样品固定在金属板上并以轻敲模式观察, 驱动频率设置为 300 kHz, 扫描频率设置为 1.0 Hz。

1.2.8 储存稳定性测试 通过测定纳米乳在 4  $^{\circ}$ C 下储存 0~56 d (每 7 d 测一次) 的粒径变化, 考察其储存稳定性, 设置不添加防腐剂和添加 0.1% ProClean 950 抑菌防腐剂两组实验。

### 1.3 数据处理

每组实验重复三次, 图表由 Origin 2021 软件生成, 使用 SPSS 26 软件进行单因素方差分析, 确定数据之间具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆多肽质量浓度对纳米乳粒径和稳定性的影响

纳米乳液滴的形成与稳定需要多肽吸附在油水界面并形成界面膜, 多肽质量浓度对乳液粒径和分布的影响如图 1a 所示, 粒径随其浓度增加而逐渐增大, PDI 则先降后升。多肽在油水界面上不同于传统乳化剂的单层排布, 而是由于分子间相互作用在“油核”外层形成网状的“肽壳”结构<sup>[23]</sup>, 多肽浓度增加使得壳层增厚及液滴间的聚集, 从而导致粒径增大和分布变宽。同样的也可以解释  $K_e$  值随多肽浓度增加而减小 (图 1b), 因为界面的层状肽有利于维持乳液稳定性<sup>[24]</sup>, 多肽浓度低时形成的界面膜抗性差导致离心时发生破乳, 难以维持乳液稳定, 而高多肽浓度形

成的液滴则可承受较大离心力。因此, 对于多肽乳化剂浓度的选择要兼顾粒径和稳定性两个指标。

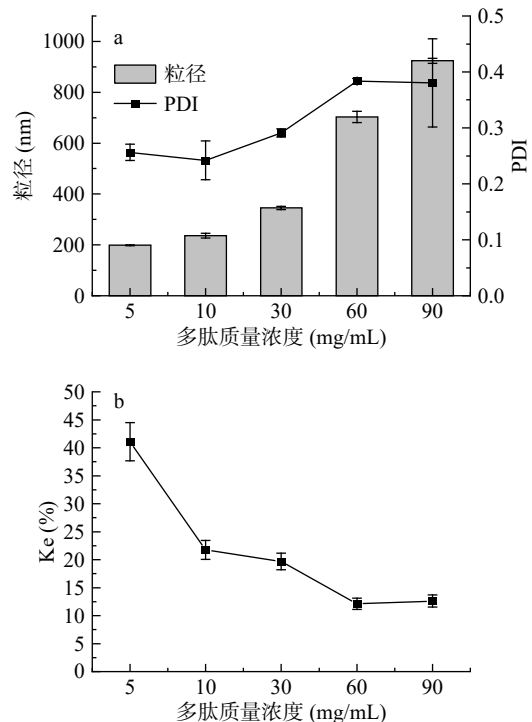


图 1 多肽质量浓度对纳米乳粒径和分布(a)及稳定性(b)的影响

Fig.1 Effects of SPIH concentration on nanoemulsion particle size, distribution (a) and stability (b)

### 2.2 均质压力对纳米乳粒径和稳定性的影响

均质压力是纳米乳液制备的重要加工参数, 如图 2 所示, 纳米乳粒径、PDI 和  $K_e$  值均随均质压力升高而先减小后增大。压力由 0 到 60 MPa, 粒径由 672 nm 降至 236 nm、PDI 由 0.600 降至 0.242、 $K_e$  值由 66% 降至 22%, 变化极显著 ( $P < 0.01$ ), 说明超高压均质处理是减小大豆多肽乳液粒径、促使液滴均匀分布和提高稳定性的有效手段。随着压力增大, 均质机产生的撞击、剪切和空化效应增强, 油相被破碎成更小的液滴并增强表面活性剂在液滴表面的吸附<sup>[25]</sup>, 小粒径乳液通常有着较好的稳定性, 在 120 MPa 下粒径和  $K_e$  值均出现最低点。然而当压力升至 180 MPa, 粒径反而增大同时稳定性降低 ( $P < 0.05$ ), 在 Wang 等<sup>[26]</sup> 的报道中也提到这一现象, 推测是过度的均质压力造成小颗粒相互吸引和聚集。如果液滴碰撞速度较表面活性剂吸附速率更快, 则新界面不会被完全覆盖, 从而导致聚结<sup>[27]</sup>。这意味着虽然乳化过程中的能量输入增加了, 但得到的乳状液具有更大的粒径, 并非预期的更小的尺寸。

### 2.3 循环次数对纳米乳粒径和稳定性的影响

循环次数与加工耗时密切相关, 确定合理的循环次数有利于在最短时间内获得产品。由图 3 可看出, 大豆多肽纳米乳的粒径、PDI 和  $K_e$  值在 1~3 次循环内减小极显著 ( $P < 0.01$ ), 5 次循环出现各项最小

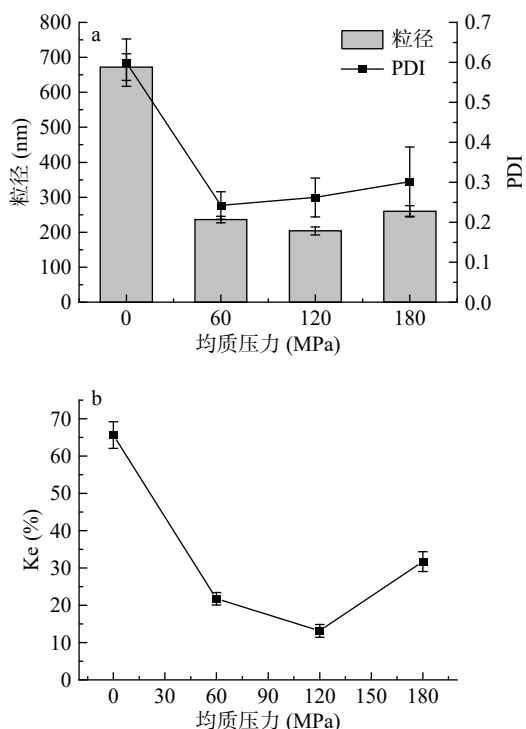


图2 均质压力对纳米乳粒径和分布(a)及稳定性(b)的影响  
Fig.2 Effects of homogenization pressure on nanoemulsion particle size, distribution (a) and stability (b)

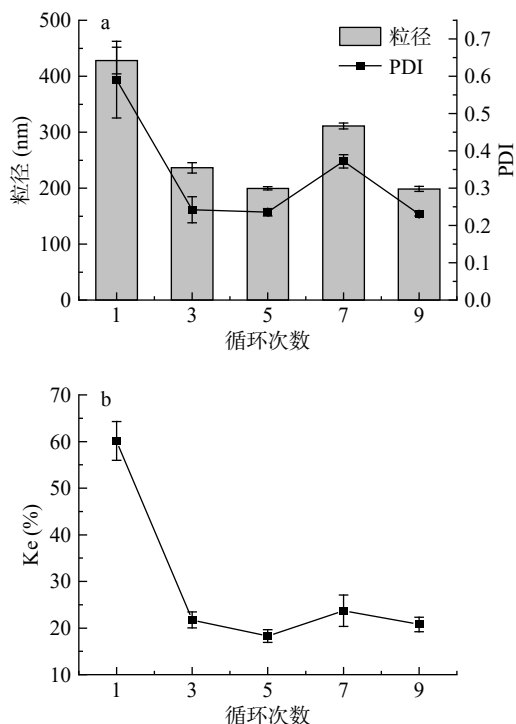


图3 循环次数对纳米乳粒径和分布(a)及稳定性(b)的影响  
Fig.3 Effects of cycle number on nanoemulsion particle size, distribution (a) and stability (b)

值,但随后波动性增加。少数循环时的粒径减小、分布变均匀和稳定性增强是由于超高压均质持续向乳液输出克服表面张力形成小液滴的能量,但循环次数增加,液滴在较大压力下持续碰撞和接触可能发生聚集,造成粒径增大和分布不均,同时对乳液稳定也无益,这与耿宏庆等<sup>[28]</sup>采用高压微射流制备乳液的结

果一致。9次循环时各指标较7次明显下降推测是聚集体再次被分散,这可能是多肽乳化剂区别于传统乳化剂的纳米乳加工过程,王琦璇等<sup>[29]</sup>以卵磷脂为乳化剂采用高压均质法制备神经酰胺纳米乳,7次循环后粒径无明显变化。

### 2.4 大豆多肽纳米乳超高压制备工艺参数优化

大豆多肽纳米乳超高压制备工艺正交试验结果如表2所示,根据极差(R)分析得到各因素对纳米乳粒径影响主次顺序为 A>C>B,即多肽质量浓度>循环次数>均质压力,最优组合为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>;各因素对纳米乳物理稳定性影响主次顺序为 A>B>C,即多肽质量浓度>均质压力>循环次数,最优组合为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>。两指标结果差异集中在多肽质量浓度上,同时该因素也是最主要影响因素,为制备稳定的小粒径纳米乳,运用综合平衡法确定综合最佳工艺条件为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即多肽质量浓度 20 mg/mL,均质压力 140 MPa,循环次数 5次。按该方案进行实验,纳米乳粒径为 178.8 nm,Ke 值为 7.37%。

表2 大豆多肽纳米乳超高压制备工艺正交试验结果  
Table 2 Results of orthogonal test of SPIH nanoemulsion prepared by UHPH

实验号	A 多肽质量浓度(mg/mL)	B 压力(Mpa)	C 循环次数	粒径(nm)	Ke(%)
1	10	100	4	237.4	25.06
2	10	120	5	168.3	14.59
3	10	140	6	163.8	17.09
4	20	100	6	185.3	12.92
5	20	120	4	246.3	11.44
6	20	140	5	178.8	7.37
7	30	100	5	264.9	8.51
8	30	120	6	287.3	7.18
9	30	140	4	292.6	3.85
粒径					
K <sub>1</sub>	189.8	229.2	258.8		
K <sub>2</sub>	203.5	234.0	204.0	因素主次 A>C>B	最优方案 A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>
K <sub>3</sub>	281.6	211.7	212.1		
R	91.8	22.2	54.8		
Ke					
k <sub>1</sub>	18.91	15.50	13.45		
k <sub>2</sub>	10.58	11.07	10.16	因素主次 A>B>C	最优方案 A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>
k <sub>3</sub>	6.51	9.43	12.40		
R	12.40	6.06	3.29		
综合平衡最优方案A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>					

### 2.5 大豆多肽纳米乳液的表面形貌

在正交试验中多肽浓度是最主要的影响因素,为观察纳米乳微观形貌并进一步探究多肽浓度对纳米乳粒径的影响,采用 AFM 表征纳米乳液的形貌和液滴分布,根据正交试验结果设置多肽浓度不同的两组实验:在 140 MPa 和 5 次循环下分别制备了多肽质量浓度为 20 和 30 mg/mL 的乳液,图像如图 4 所示。图 4a 可以观察到稀释 100 倍的乳液液滴呈规整球状均匀分布在云母片表面,偶有少量聚集,不算聚集体在内,每测量面积(1×1 μm)的颗粒数为 67,

Nano Measurer 软件计算的平均直径仅为 46.80 nm。根据瑞丽散射定律, 团聚体对小液滴有光强掩蔽作用, 因此, 推测 SPIH 纳米乳液的实际液滴尺寸可能小于激光粒度仪测算值, Cheng 等<sup>[23]</sup> 也有同样的猜测。图 4b 中可明显看到聚集现象多于图 4a, 验证了多肽质量浓度的增加导致液滴聚结的推测。此外, 还发现液滴直径远大于其高度, 其原因可能是多肽构成弹性界面膜, 干燥后液滴在重力作用下从球形变成了“饼状”。AFM 图像表明正交优化条件制备的大豆多肽纳米乳具有较小粒径和均匀分布。

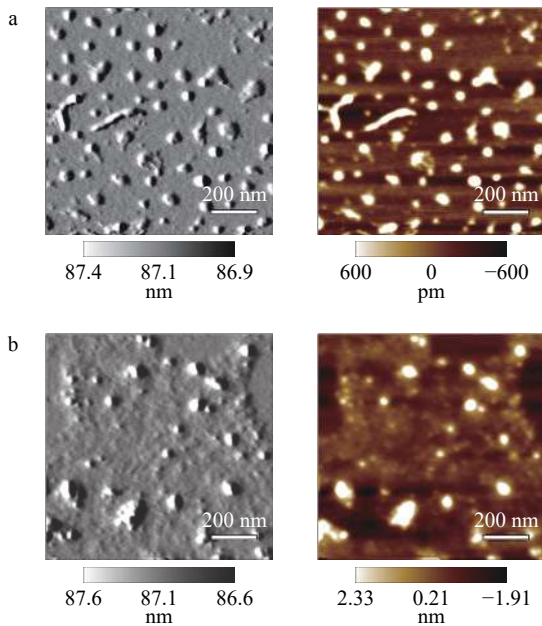


图 4 纳米乳稀释 100 倍的 AFM 相位图和形貌图

Fig.4 Phase image and morphology image of the nanoemulsion diluted 100 times

注: a: 纳米乳制备条件: 多肽质量浓度 20 mg/mL、均质压力 140 MPa、循环 5 次; b: 纳米乳制备条件: 多肽质量浓度 30 mg/mL、均质压力 140 MPa、循环 5 次。

## 2.6 纳米乳储存稳定性

储存稳定性关乎乳液的保质期, 记录了正交最优组合条件下制备的纳米乳液在无防腐剂和防腐剂的两种情况下, 4 ℃ 下储存 56 d 内液滴尺寸的变化。图 5 显示添加防腐剂后, 粒径在 56 d 内无显著变化 ( $P>0.05$ ), 未添加防腐剂组乳液粒径则不断增大。乳液外观可表征其宏观稳定性, 添加防腐剂组在储存过程中外观无变化, 对照组在变质情况下仅底部出现一薄层乳析层(图 6)。相较于大豆蛋白纳米乳在储存期间粒径不断增大<sup>[30]</sup>, 以及超声制备的大豆多肽纳米乳在 28 d 时粒径发生显著变化<sup>[13]</sup>, 超高压均质制备的大豆多肽纳米乳表现出更好的储存稳定性, 多肽在界面上形成的弹性膜可有效阻止油滴的桥接絮凝和聚结<sup>[31]</sup>。对照组液滴大小增加可能是多肽被微生物分解成氨基酸或短肽, 其乳化性能较差<sup>[32]</sup>, 且微生物活动也对激光粒度测量产生影响, 推测实际粒度小于测量值, 可对应其乳析层较薄现象。

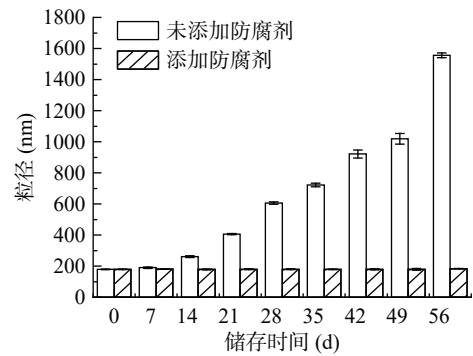


图 5 储存时间对纳米乳粒径的影响

Fig.5 Effect of storage time on nanoemulsion particle size

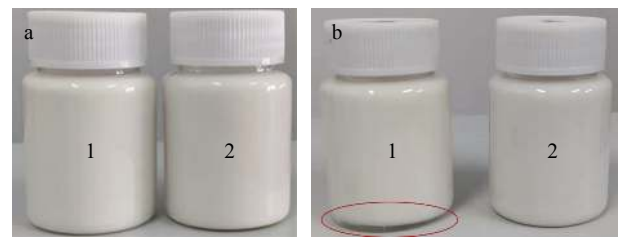


图 6 储存时间对纳米乳外观的影响

Fig.6 Effect of storage time on appearance of nanoemulsions  
注: a: 0 d; b: 56 d; 1: 未添加防腐剂样品; 2: 添加防腐剂样品。

## 3 结论

为开发大豆多肽作为食品乳化剂的应用潜力, 本研究以超高压均质技术为加工手段制备大豆多肽纳米乳。探究了多肽质量浓度、均质压力和循环次数单因素条件对纳米乳平均粒径、粒度分布和物理稳定性的影响, 实验结果表明: 多肽浓度增加导致粒径增大和分布不均, 但有利于乳液稳定, 这是因为多肽分子间存在相互作用, 浓度增加时界面膜增厚同时发生聚集; 各指标随均质压力增大先降低后升高, 120 MPa 时乳液粒径最小最稳定; 少数循环可显著降低粒径、PDI 和 Ke 值, 5 次循环最佳, 多次循环后指标波动性变化。在单因素实验基础上进行正交试验, 各因素对粒径影响顺序为多肽质量浓度>循环次数>均质压力, 对乳液稳定性影响顺序为多肽质量浓度>均质压力>循环次数, 由于多肽质量浓度对粒径和稳定性的影响相反, 最终综合平衡确定超高压均质技术制备大豆多肽纳米乳的最佳工艺条件: 20 mg/mL 多肽质量浓度, 140 MPa 均质压力和 5 次循环, 在此条件下制备的纳米乳液粒径为 178.8 nm, Ke=7.37%, 可维持 56 d 的稳定, AFM 图像显示乳液液滴分布均匀, 多肽界面为弹性膜结构, 同时验证了多肽质量浓度增加会导致液滴聚集。因此, 大豆多肽是一种有潜力的食品乳化剂, 超高压均质技术制备的大豆多肽纳米乳也有望作为包封系统应用于食品工业。

### 参考文献

- [1] MCCLEMENTS D J. Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities[J]. *Soft Matter*, 2012, 8(6): 1719–1729.
- [2] LIU Q, HUANG H, CHEN H, et al. Food-grade nanoemul-

- sions: Preparation, stability and application in encapsulation of bioactive compounds[J]. *Molecules*, 2019, 24(23): 4242.
- [ 3 ] MCCLEMENTS D J, RAO J. Food-grade nanoemulsions: Formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2011, 51(4): 285–330.
- [ 4 ] QIAN C, MCCLEMENTS D J. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(5): 1000–1008.
- [ 5 ] SAFFARIONPOUR S. Preparation of food flavor nanoemulsions by high- and low-energy emulsification approaches[J]. *Food Engineering Reviews*, 2019, 11(4): 259–289.
- [ 6 ] YANG Z, HE Q, ISMAIL B B, et al. Ultrasonication induced nano-emulsification of thyme essential oil: Optimization and antibacterial mechanism against *Escherichia coli*[J]. *Food Control*, 2022, 133: 108609.
- [ 7 ] 刘敏, 曹思源, 何悦, 等. 柠檬醛纳米乳的制备及其对砂糖桔的保鲜效果 [J/OL]. 食品与发酵工业:1-11[2022-10-14].DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029569. [ LIU Min, CAO Siyuan, HE Yue, et al. Preparation of citral nanoemulsion and its effect on the preservation of Shatangju [J/OL]. *Food and Fermentation Industries*: 1–11 [2022-10-14].DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029569. ]
- [ 8 ] 徐宝财, 王瑞, 张桂菊, 等. 国内外食品乳化剂研究现状与发展趋势[J]. *食品科学技术学报*, 2017, 35(4): 1–7. [ XU Baocai, WANG Rui, ZHANG Guiju, et al. Research progress and prospect in food emulsifiers[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 35(4): 1–7. ]
- [ 9 ] TANG C H. Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(12): 2636–2679.
- [ 10 ] ASHAOLU T J. Applications of soy protein hydrolysates in the emerging functional foods: A review[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2020, 55(2): 421–428.
- [ 11 ] O'SULLIVAN J, ARELLANO M, PICHOT R, et al. The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of dairy proteins[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 42: 386–396.
- [ 12 ] SHEN P, ZHOU F, ZHANG Y, et al. Formation and characterization of soy protein nanoparticles by controlled partial enzymatic hydrolysis[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105844.
- [ 13 ] JIN H, LIU C, ZHANG S, et al. Comparison of protein hydrolysates against their native counterparts in terms of structural and antioxidant properties, and when used as emulsifiers for curcumin nanoemulsions[J]. *Food & Function*, 2020, 11(11): 10205–10218.
- [ 14 ] 曾松荣, 庞彦韬, 柯野, 等. 大豆分离蛋白重组蛋白酶水解肽对小鼠免疫功能及抗氧化能力的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2021, 40(7): 97–102. [ ZENG Songrong, PANG Yantao, KE Ye, et al. Effects of soybean peptides from soybean protein isolate hydrolyzed by recombinant *Aspergillus sojae* alkaline protease on immune function and antioxidation in mice[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2021, 40(7): 97–102. ]
- [ 15 ] RAYAPROLU S J, HETTIARACHCHY N S, HORAX R, et al. Soybean peptide fractions inhibit human blood, breast and prostate cancer cell proliferation[J]. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2017, 54(1): 38–44.
- [ 16 ] BOACHIE R, YAO S, UDENIGWE C C. Molecular mechanisms of cholesterol-lowering peptides derived from food proteins[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2018, 20: 58–63.
- [ 17 ] FERNANDEZ-AVILA C, TRUJILLO A J. Enhanced stability of emulsions treated by ultra-high pressure homogenization for delivering conjugated linoleic acid in Caco-2 cells[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 71: 271–281.
- [ 18 ] ESSAM H, VICTORIA F, ANABEL B M, et al. Impact of oil phase concentration on physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate and ultra-high pressure homogenization[J]. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2020, 42(1): 46–57.
- [ 19 ] ZAMORA A, GUAMIS B. Opportunities for ultra-high-pressure homogenisation (UHPH) for the food industry[J]. *Food Engineering Reviews*, 2014, 7(2): 130–142.
- [ 20 ] 陈智慧, 史梅, 王秋香, 等. 用凯氏定氮法测定食品中的蛋白质含量[J]. *新疆畜牧业*, 2008(5): 22–24. [ CHEN Zhihui, SHI Mei, WANG Qiuxiang, et al. Determination of protein content in food by Kjeldahl method[J]. *Xinjiang Animal Husbandry*, 2008(5): 22–24. ]
- [ 21 ] 赵新淮, 冯志彪. 大豆蛋白水解物水解度测定的研究[J]. *东北农业大学学报*, 1995, 26(2): 178–181. [ ZHAO Xinhui, FENG Zhibiao. A study on the determination of the degree of hydrolysis in soy protein hydrolysates[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 1995, 26(2): 178–181. ]
- [ 22 ] LI M, MA Y, CUI J. Whey-protein-stabilized nanoemulsions as a potential delivery system for water-insoluble curcumin[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2014, 59(1): 49–58.
- [ 23 ] CHENG Y, CHEN J, XIONG Y L L. Interfacial adsorption of peptides in oil-in-water emulsions costabilized by tween 20 and antioxidative potato peptides[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(47): 11575–11581.
- [ 24 ] IMURA T, NAKAYAMA M, TAIRA T, et al. Interfacial and emulsifying properties of soybean peptides with different degrees of hydrolysis[J]. *Journal of Oleo Science*, 2015, 64(2): 183–189.
- [ 25 ] CHANG M, GUO Y, JIANG Z, et al. Sea buckthorn pulp oil nanoemulsions fabricated by ultra-high pressure homogenization process: A promising carrier for nutraceutical[J]. *Journal of Food Engineering*, 2020, 287: 110129.
- [ 26 ] WANG S, WANG X, LIU M, et al. Preparation and characterization of *Eucommia ulmoides* seed oil O/W nanoemulsion by dynamic high-pressure microfluidization[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 121: 108960.
- [ 27 ] JAFARI S M, ASSADPOOR E, HE Y, et al. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification[J]. *Food Hydrocolloids*, 2008, 22(7): 1191–1202.
- [ 28 ] 耿宏庆, 康梦瑶, 杨凯麟, 等. 高压微射流处理对微晶纤维素-猪油 Pickering 乳液的影响 [J/OL]. 食品与发酵工业:1-10[2022-10-14].DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029528.10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029528. [ GENG Hongqing, KANG Mengyao, YANG

Kailin, et al. Effect of high pressure microfluidization treatment on microcrystalline cellulose-lard Pickering emulsion [J/OL]. *Food and Fermentation Industries*:1-10[2022-10-14].DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.029528. ]

[ 29 ] 王珺璇,梁蓉,骆晔媛.神经酰胺纳米乳液的制备及透皮性能研究[J].*日用化学工业*,2021,51(10):949-955. [ WANG Yuxuan, LIANG Rong, LUO Yeyuan. Study on the preparation and transdermal performance of the ceramide nanoemulsion[J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2021, 51(10): 949-955. ]

[ 30 ] XU J, MUKHERJEE D, CHANG S K C. Physicochemical

properties and storage stability of soybean protein nanoemulsions prepared by ultra-high pressure homogenization[J]. *Food Chemistry*, 2018, 240: 1005-1013.

[ 31 ] TAMM F, HERBST S, BRODKORB A, et al. Functional properties of pea protein hydrolysates in emulsions and spray-dried microcapsules[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 58: 204-214.

[ 32 ] MARTÍNEZ K D, CARRERA SÁNCHEZ C, RODRÍGUEZ PATINO J M, et al. Interfacial and foaming properties of soy protein and their hydrolysates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(8): 2149-2157.