



本文内容已经过同行评议，以优先出版方式在线发表，可作为有效引用数据。由于优先发表的内容尚未完成规范的编校流程，《食品科学技术学报》不保证其数据与正式版内容的完全一致。

【引用格式】张智星, 许敏, 耿艺萌, 等. 乳清分离蛋白-大豆卵磷脂-茶多酚复合物结构表征及其递送 α -亚麻酸乳液稳定性研究[J]. 食品科学技术学报, 2026. DOI:10.12301/spxb202600025.

乳清分离蛋白-大豆卵磷脂-茶多酚复合物结构表征及其递送 α -亚麻酸乳液稳定性研究

张智星, 许敏, 耿艺萌, 任睿琦, 徐京龙, 徐佳禹, 刘璐*
(东北农业大学 食品学院, 黑龙江省 哈尔滨市 150030)

摘要: 为构建高效的 α -亚麻酸(α -Linolenic Acid, ALA)乳液递送体系, 以茶多酚(tea polyphenols, TP)、乳清分离蛋白(whey isolate protein, WPI)与大豆卵磷脂(soy lecithin, SL)为原料, 通过改变TP添加量(0~1.0 mg/mL)制备WPI-SL-TP三元复合物, 利用此三元复合物包埋ALA制备乳液, 分析TP质量浓度对复合物结构、功能特性的影响, 以及对乳液中ALA包埋效果与稳定性的影响。结果表明, TP通过静态猝灭机制与WPI-SL复合, 二者以疏水相互作用为主要驱动力, 诱导蛋白质二级结构发生重构。随着TP质量浓度升高, 复合物表面疏水性下降, 接触角减小, 乳化活性增强。这些结构与性质的改变直接影响了乳液性能。TP的添加使ALA包埋率从65%提升至约80%, 当TP添加量低于0.6 mg/mL时, 复合物结构展开不充分, 导致乳液液滴聚集, 粒径增大, Zeta电位绝对值减小, 对ALA的包埋效果不佳; TP添加量达到0.8 mg/mL及以上时, 复合物因结合更多TP, 从而提供了更强的静电斥力与空间位阻, 进而形成粒径更小、Zeta电位绝对值更高、分散更均匀的乳液, 显著提升了对ALA的包埋效率。稳定性结果表明, TP质量浓度为0.8 mg/mL时, 乳液热稳定性更佳。研究旨在为基于蛋白-磷脂-多酚协同作用的活性脂质高效递送系统设计提供理论依据。

关键词: 乳清分离蛋白; 大豆卵磷脂; 茶多酚; 互作机理; α -亚麻酸; 递送体系

中图分类号: TS252.1 文献标识码: A

文章编号:

Structural Characterization of Whey Protein Isolate - Soy Lecithin - Tea Polyphenol Ternary Complex and Stability Study of Its Delivery of α -Linolenic Acid Emulsion

ZHANG Zhixing, XU Min, GENG Yimeng, REN Ruiqi, XU Jinglong, XU Jiayu, LIU Lu*

(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: To construct an efficient emulsion delivery system for α -linolenic acid (ALA), tea polyphenols (TP), whey protein isolate (WPI), and soy lecithin (SL) were used as raw materials. The WPI-SL-TP ternary complex was synthesized by varying the mass concentration of TP (0-1.0 mg/mL), followed by the incorporation of ALA to create the emulsion. The effects of TP mass concentration on the structural and functional properties of the complex, as well as on the encapsulation efficiency and stability of the ALA emulsion were analyzed. The findings indicated that TP combined with WPI-SL through a static quenching mechanism, primarily driven by hydrophobic interactions, which facilitated the reorganization of the protein secondary structure. With the increase of TP mass concentration, the surface hydrophobicity of the complex decreased, leading to a reduction in the contact angle and an enhancement of emulsifying activity. These structural and property changes directly influenced the performance of the emulsion. The addition of TP increased the encapsulation efficiency of ALA from 65% to approximately 80%. When the TP mass concentration was lower than 0.6 mg/mL, the complex structure remained inadequately developed, resulting in emulsion droplet aggregation, increased particle size, decreased absolute potential, and reduced ALA encapsulation efficiency. When the mass concentration of TP reached 0.8 mg/mL and above, the complex exhibited enhanced electrostatic repulsion and steric hindrance due to the increased binding of TP. This interaction resulted in the formation of an emulsion characterized by smaller particle size, higher absolute potential, and more uniform dispersion, thereby significantly improved the encapsulation efficiency of ALA. Stability assessments indicated that the emulsion achieved optimal thermal stability at the TP mass concentration of 0.8 mg/mL. This study aimed to provide a theoretical foundation for the design of efficient delivery systems for active lipids, based on the synergistic effects of proteins, phospholipids, and polyphenols.

Keywords: whey protein isolate; soy lecithin; tea polyphenol; interaction mechanism; α -linolenic acid; delivery system

α -亚麻酸(ALA)是人体必需脂肪酸, 在代谢过程中可以转化为二十二碳六烯酸(DHA)和二十碳

收稿日期: 2026-01-12

基金项目: 黑龙江省自然科学基金优秀青年项目(YQ2023C019)。

Foundation: Outstanding Youth Project of Heilongjiang Provincial Natural Science Foundation (YQ2023C019).

第一作者: 张智星, 男, 硕士研究生, 研究方向为乳品科学。

*通信作者: 刘璐, 女, 副教授, 博士, 主要从事乳品科学与技术方面的研究, 邮箱 627592615@qq.com。

五烯酸 (EPA)。ALA 含 3 个不饱和双键, 具有维持细胞结构和功能、调节脂质代谢、抗炎、调节免疫系统、促进大脑发育等生理功能^[1]。然而, ALA 对光、热和氧气敏感, 水溶性有限, 从而限制了人体对 ALA 的吸收与利用。目前, 乳液递送体系由于制备相对简单且生产成本较低, 已成为功能性脂质的常用载体。乳液递送体系是由表面活性剂、油相和水相组成的热力学稳定体系^[2], 能通过包埋 ALA 提升其储存稳定性与生物利用率。其中, 蛋白质和磷脂因良好的亲水亲油性, 常作为乳液的乳化剂和稳定剂; 多酚则常用作天然抗氧化剂, 增强乳液的抗氧化能力。

茶多酚 (tea polyphenols, TP) 是茶叶中多羟基酚类化合物的总称, 主要包括儿茶素类、黄酮类、花青素和酚酸等, 其中儿茶素类占茶多酚总量的 60%~80%, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗衰老、抗菌等多种生理活性^[3]。然而, TP 因多酚羟基结构极性高、水溶性强而脂溶性差、稳定性低, 且带有苦涩味, 在食品工业中的应用受到限制。乳清分离蛋白 (whey isolate protein, WPI) 是纯度较高的优质球状蛋白, 乳化性和生物利用度良好^[4]。大豆卵磷脂 (soy lecithin, SL) 是两性乳化剂, 兼具乳化与抗氧化功效。已有研究表明, 多酚与蛋白质、磷脂与多酚、蛋白质与磷脂之间均可通过非共价作用 (疏水相互作用、静电作用、氢键等) 形成复合物, 且这些复合物的功能特性均比单一成分更优^[5-8]。例如, TP 与 WPI 结合可增强乳液物理稳定性, 磷脂与 TP 结合能提升生物利用度, WPI 与磷脂结合可增强乳化能力, 这为构建 WPI-SL-TP 三元复合体系提供了理论依据。目前, WPI、SL、TP 三者形成三元复合物的作用机制研究较少, 复合物结构与功能特性之间的关系、复合物对 ALA 乳液包埋率及稳定性的影响也缺乏系统研究。因此, 本研究拟构建 WPI-SL-TP 三元复合物, 考察 TP 添加量对其结构及功能特性的影响, 并基于该复合物制备 ALA 乳液, 探究复合物对 ALA 包埋率及乳液稳定性的影响, 旨在为开发高效的 ALA 乳液递送体系提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

茶多酚 (纯度 98%)、乳清分离蛋白 (纯度 90%)、大豆卵磷脂 (纯度 99%)、 α -亚麻酸 (纯度 60%), 上海源叶生物科技有限公司; 其他化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

AL-104 型精密电子天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; 78-1 型磁力加热搅拌器, 金坛市金城国胜试验仪器厂; F-7000 型荧光光谱仪, 日本 Hitachi 公司; MOS450 型圆二色谱仪, 法国 Bio-Logic 公司; VERTX70 型傅里叶变换红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; UV-2600 型紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司; Multiskan TM 型全波长多功能酶标仪, 美国 Bio-Tek 公司; IKA-digitalT18 型乳化剪切机, 艾卡仪器设备有限公司; XMTD-204 型恒温水浴锅, 上海比朗仪器有限公司; LGJ 型冷冻干燥机, 北京亚星仪器科技有限公司; Nano-ZS90 型粒径电位分析仪, 英国马尔文公司; OCA-15EC 型光学接触角计, 德国 Data physics Instruments; S-3400N 型钨灯丝扫描电子显微镜, 日本日立公司; SCIENTZ-IIID 型超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Deltavision OMX SR 型共聚焦激光扫描显微镜, 美国通用电气医疗集团; UGC-24M 型氮吹仪, 北京优晟联合科技有限公司; 78920B 型气相色谱仪, 美国 Agilent 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 WPI-SL-TP 三元复合物的制备

将 WPI 和 SL 溶于 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液 (pH=7.4), 质量浓度为 10 mg/mL, 使用磁力搅拌器搅拌 60 min, 保证 WPI 与 SL 的充分溶解。将 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 的茶多酚分别溶于 WPI 和 SL 溶液中并在室温下磁力搅拌 2 h, 使 WPI、SL、TP 充分混合互作, 4°C 冷藏过夜, 制成 WPI-SL-TP 三元复合物溶液。

1.3.2 WPI-SL-TP 三元复合物的结构表征

1.3.2.1 整体构象测定

荧光光谱的测定参考 Chen 等^[9]的方法并进行适当修改。样品质量浓度稀释到 0.2 mg/mL, 使用荧光光谱仪测定不同温度下样品的内源荧光强度, 于 298、303、308 K 温度条件下水浴 30 min, 设置激发波长 280 nm、发射波长 300~500 nm、狭缝宽度 5 nm、扫描速度 1200 nm/min。

三元复合物的荧光猝灭 TP 对 WPI-SL 复合物的作用机制有 2 种, 分别是动态猝灭和静态猝灭。利用 Stern-Volmer 方程 [式 (1)] 确定 TP 与 WPI-SL 复合的荧光猝灭模式^[10]。

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + K_q\tau_0[Q] \quad (1)$$

式 (1) 中, F 和 F_0 分别位 WPI-SL-TP 和 WPI-SL 复合物的荧光强度; $[Q]$ 为猝灭剂 (TP) 摩尔浓度, mol/L; K_{sv} 为 Stern-Volmer 猝灭常数; K_q 为双分子猝灭速率常数; τ_0 为无猝灭剂时的荧光团寿命, 生物大摩尔分子的平均寿命约为 10^{-8} s。

三元复合物的结合常数 K_a 和结合位点数 n 可由式 (2) 计算。

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_a + n \log [Q] \quad (2)$$

根据热力学参数 (ΔG 、 ΔH 、 ΔS) 的大小和正负, 可以预测三元复合物的相互作用力类型。 ΔH 表示分子间键能的增加, ΔS 表示结合过程中系统的无序变化^[11]。蛋白质与配体之间的相互作用通常包括静

电力、氢键、疏水力及范德华力等。物质之间的作用力类型可以通过热力学参数的正负和大小判断。当 $\Delta S > 0$ 时, 可能为疏水及静电作用力; 当 $\Delta S < 0$ 时, 可能为氢键和范德华力; 当 $\Delta H > 0$ 且 $\Delta S > 0$ 时, 即为典型疏水作用力; $\Delta H < 0$ 且 $\Delta S < 0$ 时, 为氢键和范德华力; $\Delta H \approx 0$ 或很小且 $\Delta S > 0$ 时, 为静电作用力; $\Delta H < 0$ 时, 静电作用为主要作用力^[12]。结合过程的热力学参数, 可根据式(3)、式(4)计算 ΔH 、 ΔS 、 ΔG 的变化。

$$\ln K_a = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad ; \quad (3)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad 。 \quad (4)$$

式(3)、式(4)中, R 为理想气体常数, 8.314J/(mol·K); T 为温度, K。

1.3.2.2 二级结构测定

根据 Abadia 等^[13]的方法并进行适当修改。稀释样品至蛋白质质量浓度为 0.10 mg/mL, 光谱扫描范围 190~260 nm, 扫描速度 1 nm/s, 狭缝宽度 1 nm。在实验中通入持续流量为 5 L/min 的氮气保护光源, 室温下每个样品重复测定 3 次。

1.3.2.3 红外光谱测定二级结构

参考 Li^[14]等的红外压片法, 用冷冻干燥机将样品冻干成粉末, 样品与溴化钾质量比为 1: 50, 样品 1.2 mg, 扫描范围 4000~400 cm^{-1} , 扫描 64 次。

1.3.2.4 三级结构测定

在室温条件下, 将样品稀释为 0.2 mg/mL 的均匀溶液, 利用紫外可见分光光度计测定复合物的蛋白空间结构展开情况。设定波长范围为 240~600 nm。

1.3.2.5 扫描电镜观察

采用真空喷雾法对样品进行处理。将样品放置在离蒸发源约 10~15 cm 的样品台上喷金。用扫描电子显微镜观察其结构, 工作电压为 5 KV, 放大倍数为 1000 倍^[15]。

1.3.3 WPI-SL-TP 三元复合物功能特性的测定

1.3.3.1 表面疏水性的测定

利用疏水性 ANS 荧光探针检测 WPI-SL-TP 三元复合物的表面疏水性 (H_0)。稀释样品至质量浓度为 0.125~2.000 mg/mL, 激发波长为 390 nm、发射波长为 470 nm。通过荧光强度与蛋白质含量的线性回归方程, 确定初始阶段斜率, 即为 H_0 ^[16]。

1.3.3.2 接触角的测定

利用光学接触角计测定样品在油水界面的接触角 θ 。采用座滴法测量, 将冻干的样品粉末压制成圆柱形薄片(直径 10 mm、厚度 1 mm), 通过特定的高精度注射器将 2 mL 去离子水滴到薄片上。液滴图像由摄像机拍摄, 液滴轮廓由 Advance 软件自动拟合并计算样品的接触角。每个样品重复测量 3 次。

1.3.3.3 乳化性的测定

参考姜来等^[17]的方法并稍加修改, 测定乳化活性指数 (EAI) 和乳化稳定性指数 (ESI)。用高速均质机将 2 mL 大豆油与 18 mL 复合物溶液 12000 r/min 均质 2 min, 制成粗乳液。分别在均质结束后 0、10 min 从底部取 50 μL 乳液, 并用 0.1 mg/mL SDS 溶液稀释。通过分光光度计在 500 nm 检测稀释液的吸光度, 并分别根据式(5)和式(6)计算 EAI (m^2/g) 和 ESI (min)。

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{C \times L \times \varphi \times 10^4} \quad ; \quad (5)$$

$$ESI = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times 10 \quad 。 \quad (6)$$

式(5)、式(6)中, A_0 为 0 min 时乳液吸光度; N 为稀释倍数; ρ 为复合物质量浓度, g/mL; L 为比色皿的光程, 1 cm; φ 是油相体积分数; A_{10} 为 10 min 时乳液吸光度。

1.3.4 ALA 乳液制备及性能评价

1.3.4.1 ALA 乳液递送体系的制备

将 ALA 以比 9: 1 的水油体积比加入三元复合物溶液中, 用剪切均质机以 10 000 r/min 混合 5 min, 再以 400 W 的功率超声 6 min。

1.3.4.2 ALA 乳液粒径递送体系 Zeta 电位的测定

参考 Yan 等^[18]的方法, 将乳液用去离子水稀释 100 倍, 测定样品的粒径和 Zeta 电位。粒子和分散剂的折射率分别为 1.480 和 1.33, 吸收参数为 0.001。上样量为 1 mL, 测量温度为 25°C, 温度平衡时间为 2 min。

1.3.4.3 ALA 乳液递送体系显微结构的测定

乳液的显微结构用激光共聚焦显微镜测定, 参照 Pan 等^[19]的方法并进行适当修改。取 1 mL 乳液, 加入 10 μL 尼罗红和 10 μL 尼罗蓝染色液, 在黑暗条件下避光染色 60 min。染色完成后, 取 10 μL 乳液滴在载玻片上, 盖上盖玻片, 在共聚焦显微镜 20 倍镜下观察。激发波长为 488 nm(尼罗红)及 638 nm(尼罗蓝), 扫描频率为 100 Hz。

1.3.4.4 ALA 乳液递送体系包埋率的测定

乳液中 ALA 的包埋率用气相色谱-质谱联用法测定。采用透析法分离出游离的 ALA。将乳液

置于预处理后的透析袋 (MWCO, 10 kDa) 中, 在 4°C 下用 1000 mL 超纯水透析 48 h, 每 8 h 更换透析液。取 10 mL 透析后的乳液和未透析的乳液与 20 mL 氯仿-甲醇 (体积比为 2:1)、10 mL 氯化钠溶液 (质量分数为 0.73%) 进行混合, 超声 10 min 后离心 10 min (4°C, 4000 r/min)。收集下层有机相, 重复上述步骤。合并 2 次有机相, 氮吹后超低温储存备用。向含有 ALA 的试管中加入 1 mL 正己烷, 在 25°C 条件下, 超声 3~5 min, 再添加 1 mL 甲醇和 1 mL 氢氧化钾-甲醇溶液 (1 mol/L), 继续超声 1 min。将混合物水浴加热 (60°C, 30 min), 水浴期间每隔 5 min 振荡摇匀 1 次。水浴结束后, 加入 1 mL 正己烷和 4 mL 超纯水, 静置分层后, 吸取 1 mL 上层有机相, 向其中加入 0.5 g 无水硫酸钠。在 25°C、4000 r/min 条件下离心 5 min, 取 200 μ L 上清液加入 4 mL 正己烷稀释, 加入 40 μ L 水杨酸甲酯溶液 (5.905 mg/mL), 过 0.22 μ m 有机滤膜, 然后进行气相分析计算乳液中 ALA 质量浓度, mg/mL, 并按式 (7) 计算包埋率。

$$\text{包埋率} = \frac{W_1}{W_2} \times 100\% \quad (7)$$

式 (7) 中, W_1 为透析后乳液中 ALA 的质量浓度, W_2 为未透析乳液中 ALA 的质量浓度。

1.3.4.5 ALA 乳液递送体系物理稳定性的测定

乳液的物理稳定性通过热稳定性和 pH 稳定性表征。热稳定性: 将乳液置于不同温度 (50、60、70、80、90°C) 条件下保温 1 h。然后将样品冷却至 25°C, 分析液滴粒径和 Zeta 电位。pH 稳定性: 将新鲜制备的乳液的 pH 调整为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0, 在 25°C 下孵育 1 h, 分析 pH 对粒径和 Zeta 电位的影响。

1.4 数据处理

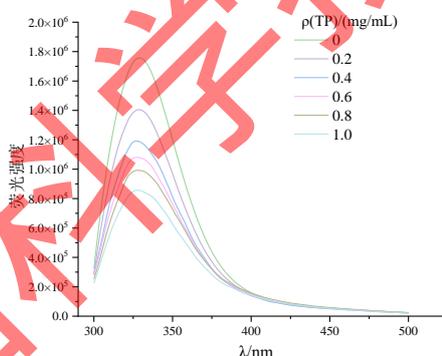
样品测定重复进行 3 次, 结果以平均值 \pm 标准偏差表示。统计分析均采用 SPSS Statistics 27 和 Origin 2021 软件, 显著水平为 0.05, 其中, $p < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

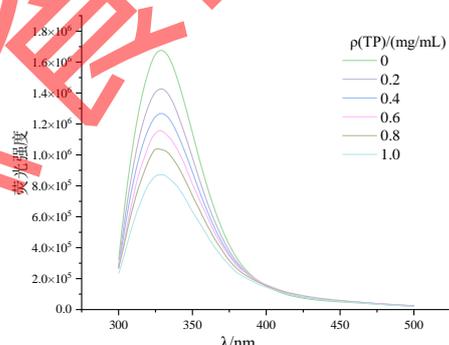
2.1 WPI-SL-TP 三元复合物的结构分析

2.1.1 整体构象分析

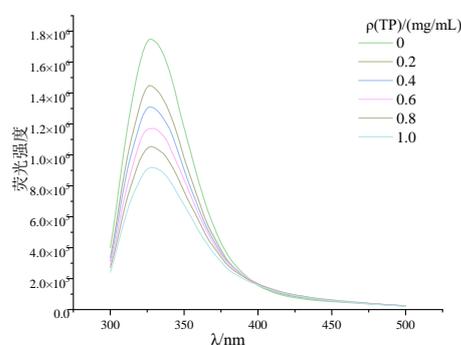
荧光光谱可直观反映小分子与蛋白质的结合特性, 可揭示二者结合方式、结合常数及作用力类型等关键信息。在 280 nm 激发波长下, WPI 的荧光信号主要来源于芳香族氨基酸的色氨酸 (Trp) 和酪氨酸 (Tyr) 残基; 其中 Tyr 的激发能可转移至 Trp, 导致 Tyr 荧光猝灭、Trp 荧光增强^[20]。不同温度条件下 WPI-SL-TP 复合物的荧光光谱见图 1。由图 1 可知, 不同温度条件下, 随 TP 质量浓度的升高, 复合物的荧光强度均呈显著下降趋势, 且最大发射波长发生红移。这一现象表明, TP 与 WPI-SL 复合物发生了相互作用, 从而引起了荧光猝灭^[21], 同时证实复合物的三级结构发生了改变。



(a) 298K 下 WPI-SL-TP 复合物的荧光光谱



(b) 303K 下 WPI-SL-TP 复合物的荧光光谱



(c) 308K 下 WPI-SL-TP 复合物的荧光光谱

图 1 不同温度下 WPI-SL-TP 复合物的荧光光谱

Fig. 1 Fluorescence spectra of WPI-SL-TP complexes at different temperatures

荧光猝灭分为动态猝灭 (碰撞作用) 和静态猝灭 (复合物形成) 两类, 可通过 Stern-Volmer 方程和

双对数方程进行区分与参数计算。TP 对 WPI-SL 复合物的荧光猝灭曲线见图 2。通过直线斜率计算可获得不同温度下的 Stern-Volmer 猝灭常数 (K_{SV}) 及双分子猝灭速率常数 (K_q), 结果见表 1。由表 1 可知, K_{SV} 随温度升高呈下降趋势, 且各温度下的 K_q 均显著高于最大散射碰撞猝灭常数 (2.0×10^{10} mol/L/S)。这一结果表明, WPI-SL-TP 三元复合物的荧光猝灭机制为静态猝灭, 其本质是 TP 与 WPI-SL 形成了稳定的复合物。

结合位点数 (n) 和结合常数 (K_a) 可反映相互作用的强度与模式, 具体结果见表 1。由表 1 可知, 不同温度下结合位点 n 分别为 0.8681、0.9130、1.0557, 均接近 1, WPI-SL 上有一个与 TP 结合的位点。结合常数 K_a 随温度升高呈显著上升趋势, 298、303、308 K 时分别为 1.93×10^4 、 2.05×10^4 、 4.85×10^4 L/mol, 数量级稳定在 10^4 , 证实 TP 与 WPI-SL 间存在较强且紧密的相互作用。温度升高导致 K_a 和 n 值增加, 证实了疏水相互作用参与了复合物的结合过程^[22]。

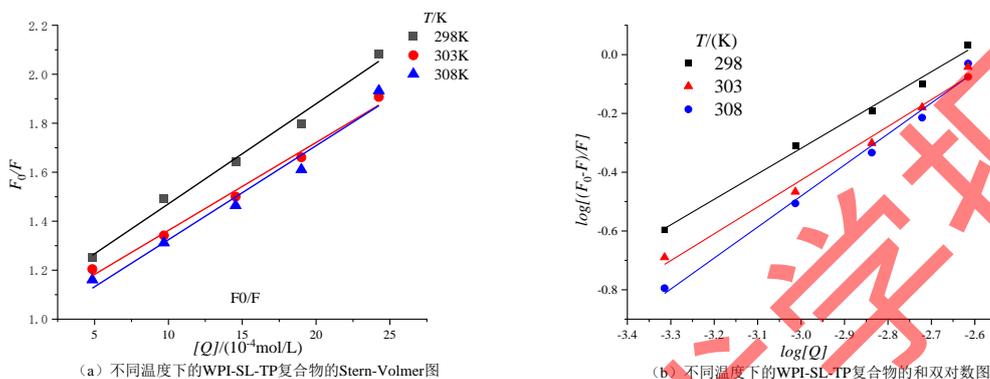


图 2 不同温度下的 WPI-SL-TP 复合物的荧光猝灭分析
Fig.2 Fluorescence quenching analysis of WPI-SL-TP complexes at different temperatures

表 1 WPI-SL-TP 三元复合物的荧光猝灭常数、结合位点数及表观结合常数

Tab.1	Fluorescent quenching constant, number of binding sites, and apparent binding constant of WPI-SL-TP complexes					
T/ K	$K_{SV}/(10^4$ mol/L)	$K_q/(10^{12}$ mol/L/S)	R_a^2	n	$K_a/(10^4$ L/mol)	R_b^2
298	0.0408	0.0408	0.9870	0.8681	1.93	0.99132
303	0.0359	0.0359	0.9859	0.9130	2.05	0.98412
308	0.0384	0.0384	0.9635	1.0557	4.85	0.98513

蛋白质与配体的相互作用力类型可通过热力学参数 (ΔG 、 ΔH 、 ΔS) 判断。WPI-SL-TP 三元复合物的热力学参数见表 2。由表 2 的热力学参数可知, TP 与 WPI-SL 的复合体系 $\Delta G < 0$, 表明二者的结合过程为自由能降低的自发过程。同时, 焓变 $\Delta H > 0$ 、熵变 $\Delta S > 0$, 符合疏水相互作用的典型热力学特征。

表 2 WPI-SL-TP 三元复合物的热力学参数

Tab.2	Thermodynamic parameters			
T/K	$\Delta H/$ (kJ/mol)	$\Delta S/$ (KJ/mol/K)	$\Delta G/$ (kJ/mol/K)	
298K			-12.7083	
303K	69.9830	0.2775	-14.0957	
308K			-15.4832	

2.1.2 二级结构分析

WPI-SL-TP 三元复合物的圆二光谱和蛋白质二级结构含量见图 3、表 3。圆二色光谱可表征蛋白质二级结构, 其中 208 nm 与 222 nm 处的负峰为 α -螺旋的特征吸收峰^[23]。由图 3 和表 3 可见, 加入 TP 后, WPI-SL 在 208 nm 和 222 nm 处的峰强度显著升高, 对应的 α -螺旋相对含量从 $12.70\% \pm 0.64\%$ 增至 $19.07\% \pm 0.56\%$, β -折叠相对含量从 $41.62\% \pm 1.44\%$ 降至 $30.36\% \pm 0.99\%$, 同时无规则卷曲含量略有变化。这一结构转变与氢键的断裂及重组直接相关, TP 与 WPI-SL 的结合首先导致蛋白质原有链内氢键断裂, 使 β -折叠结构解离, 随后分子间相互作用重塑, 促使其向 α -螺旋及无规则卷曲转化。这种结构变化可能暴露了 WPI 分子中的负电荷残基, 进而影响复合物的稳定性^[24]。

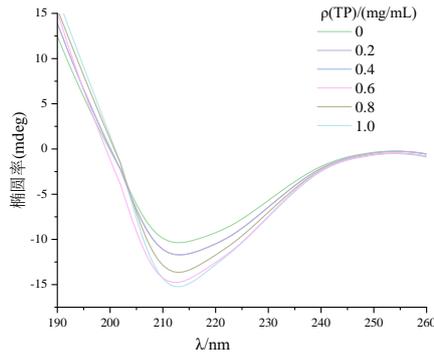


图3 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的圆二色光谱
Fig.3 Circular dichroism spectra of WPI-SL-TP ternary complexes with different TP concentrations

表3 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的二级结构含量
Tab.3 Content of secondary structures of WPI-SL-TP ternary complexes with different TP concentrations

ρ (TP) / (mg/mL)	α -螺旋	β -折叠	β -转角	无规则卷曲
0	0.1270 \pm 0.0064 ^a	0.4162 \pm 0.0144 ^d	0.1792 \pm 0.0087 ^b	0.2812 \pm 0.0096 ^c
0.2	0.1774 \pm 0.0069 ^a	0.3139 \pm 0.0122 ^b	0.1882 \pm 0.0125 ^a	0.3253 \pm 0.0141 ^b
0.4	0.1781 \pm 0.0059 ^a	0.3145 \pm 0.0179 ^b	0.1845 \pm 0.0142 ^a	0.3278 \pm 0.0084 ^b
0.6	0.1812 \pm 0.0056 ^a	0.3054 \pm 0.0125 ^b	0.1899 \pm 0.0094 ^a	0.3241 \pm 0.0130 ^b
0.8	0.1576 \pm 0.0070 ^a	0.3651 \pm 0.0144 ^d	0.1834 \pm 0.0076 ^b	0.2988 \pm 0.0124 ^c
1.0	0.1907 \pm 0.0056 ^a	0.3036 \pm 0.0099 ^b	0.1908 \pm 0.0108 ^a	0.3190 \pm 0.0099 ^b

不同小写字母表示同行数据差异显著 ($P < 0.05$)。

2.1.3 红外光谱分析二级结构

傅里叶变换红外光谱可通过特征吸收峰的位置与强度变化表征分子间相互作用及分子结构特征。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的红外光谱见图 4。如图 4 所示, WPI-SL-TP 三元复合物在 1600~1700 cm^{-1} (酰胺 I 波段, C=O 伸缩振动)、1500~1600 cm^{-1} (酰胺 II 波段, C-N 与 N-H 振动叠加)、3300~3500 cm^{-1} (酰胺 A 波段, N-H 伸缩振动) 及 2800~3100 cm^{-1} (C-H 拉伸振动) 等特征波段均出现吸收峰^[25], 且峰值低于 WPI-SL 二元复合物。TP 的加入使三元复合物特征峰偏移, 酰胺 I、II、A 波段峰位分别从 1655.50、1542.96、3295.59 cm^{-1} 移至 1655.24、1542.55、3292.80 cm^{-1} , 表明 TP 与 WPI-SL 之间存在氢键相互作用^[26]。这与圆二色光谱中“ β -折叠向 α -螺旋转化”的结果一致, 因为 β -折叠结构的稳定依赖于分子间氢键, 氢键的重构直接导致二级结构变化。此外, C-H 拉伸波段特征峰从 2924.38 cm^{-1} 偏移至 2924.03 cm^{-1} , 表明 SL 与 WPI 的相互作用可能降低了复合物的整体疏水性^[14]。

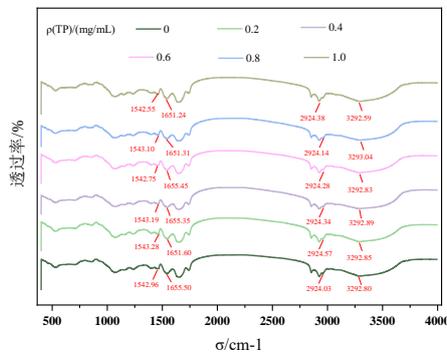


图4 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的红外光谱
Fig.4 Infrared spectra of WPI-SL-TP ternary complexes with different TP concentrations

2.1.4 三级结构分析

紫外光谱可通过芳香族氨基酸残基的吸收特征反映蛋白质空间构象变化, 表征蛋白质与小分子之间的相互作用。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的紫外光谱见图 5。图 5 显示, 随着 TP 质量浓度的升高, 复合物在 280 nm 附近 (Trp、Tyr 残基的特征吸收峰) 的吸光度逐渐增大, 且最大吸收波长

发生红移现象^[27]。吸光度增强可能源于多酚的增色效应，TP 的酚羟基提升了体系摩尔吸光系数；而红移现象则表明 TP 进入 WPI 的疏水结构域，与芳香族氨基酸残基通过疏水相互作用形成疏水腔，导致残基周围微环境极性增加。这一结果与荧光光谱中的静态猝灭机制及热力学参数分析中的疏水相互作用占主导作用的结论一致，证实了 TP 与 WPI-SL 通过非共价作用形成了三元复合物^[28]。

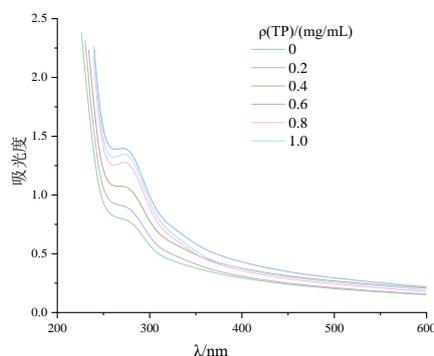
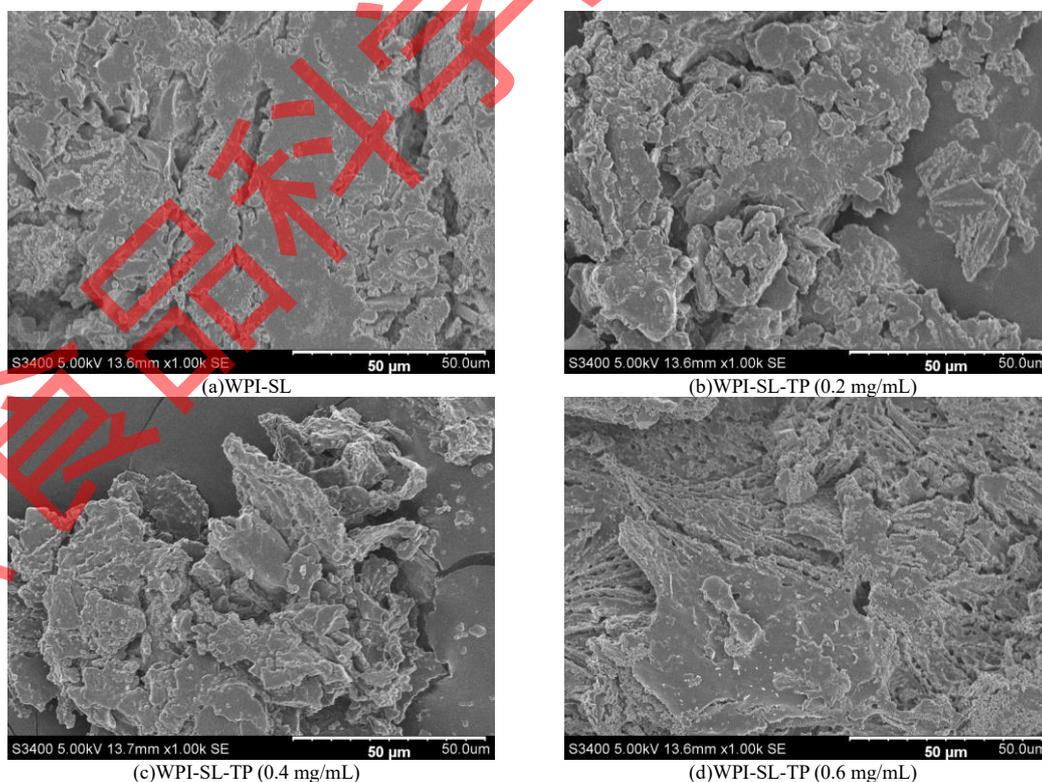


图 5 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的紫外光谱
Fig. 5 UV spectra of WPI-SL-TP ternary complexes with different TP concentrations

2.1.5 扫描电镜分析

扫描电镜可直观观察复合物的微观形貌。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的微观结构见图 6。由图 6 可知，WPI-SL 二元复合物主要呈片层结构与球状结构，整体结构相对完整；而 WPI-SL-TP 三元复合物表面破碎性增强，呈现更松散、粗糙的形貌特征。不同 TP 添加量的复合物的微观形貌存在显著差异，TP 添加量为 0.2 mg/mL 时，复合物表面开始出现少量孔隙，结构仍相对致密；TP 添加量增至 0.6 mg/mL 时，孔隙数量增多，片层结构更明显；TP 添加量达到 0.8 mg/mL 及以上时，复合物表面孔隙进一步增多，棒状结构和裂缝更显著，整体结构更松散。该结构变化可能源于 TP 与 WPI-SL 间的非共价相互作用，氢键与疏水相互作用的共同作用，破坏了 WPI-SL 复合物原有的致密结构，使球状聚集体在重排过程中发生收缩与破碎，削弱了分子间的聚集强度，促使 TP 分子嵌入 WPI 的疏水口袋，最终表现为 WPI-SL-TP 三元复合物形貌破碎、孔隙增多^[29]。



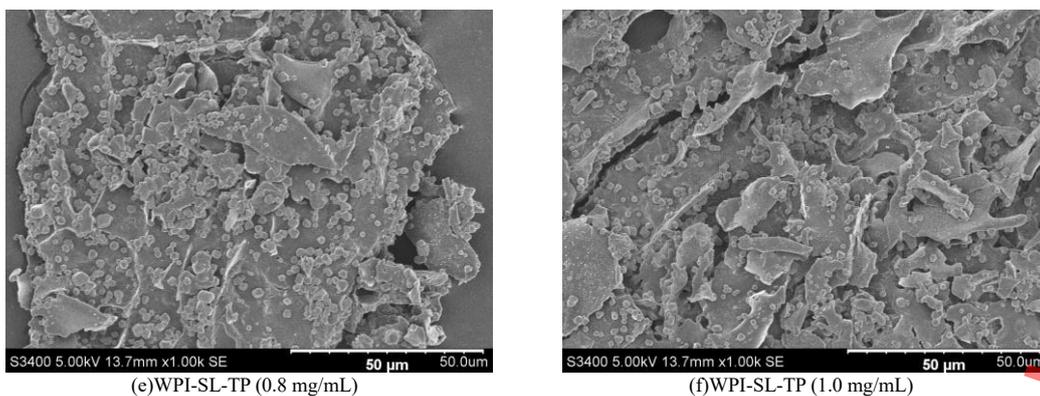
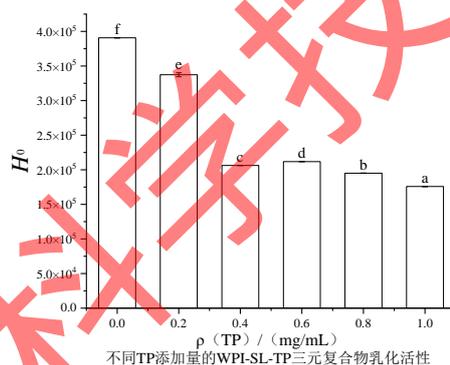


图6 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的微观结构
Fig.6 Microstructure of WPI-SL-TP ternary complexes with different TP concentrations

2.2 WPI-SL-TP 三元复合物的功能特性分析

2.2.1 表面疏水性分析

表面疏水性 (H_0) 反映了蛋白质分子表面暴露的疏水基团数量, 直接影响蛋白质的乳化、发泡等功能特性^[30]。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的表面疏水性见图 7。从图 7 可知, 不同 TP 添加量对复合物表面疏水性的影响不同。TP 添加量为 0.2 mg/mL 时, 表面疏水性较未添加 TP 组略有下降; TP 添加量增至 0.6 mg/mL 时, 表面疏水性显著降低; TP 添加量达到 0.8 mg/mL 时, 表面疏水性降至较低水平; 继续增加 TP 添加量至 1.0 mg/mL, 表面疏水性平稳下降到最低。这表明, TP 添加量为 0~0.8 mg/mL 时, 其对复合物表面疏水性的降低作用逐渐增强; 超过 0.8 mg/mL 后, 调控作用趋于饱和。复合物表面疏水性下降的原因可能是 TP 分子通过疏水作用嵌入 WPI 的内部疏水区域, 占据了大量的疏水点位, 导致 ANS 的结合数量减少。β-折叠结构通常位于蛋白质的疏水区域^[31], 其含量降低直接导致了蛋白质表面疏水性的下降, 这与圆二色光谱的分析结论一致。



不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$)。
图 7 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的表面疏水性
Fig.7 Surface hydrophobicity of WPI-SL-TP ternary complexes with different TP concentrations

2.2.2 接触角分析

接触角可评价材料的亲疏水性, 影响油水界面的稳定性^[32]。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的接触角见表 4。由表 4 可知, 所有样品的接触角均小于 90°, 表明 WPI-SL-TP 复合物具有亲水性, 可稳定水包油 (O/W) 型乳液。随着 TP 添加量的增加, 接触角均呈现下降趋势。当添加量增至 0.6 mg/mL 时, 接触角迅速降至 36.48°; 继续增加至 1.0 mg/mL 时, 接触角下降至 28.97°, 变化趋于平稳。这一变化表明, 随着 TP 添加量增加, 复合物亲水性逐渐增强, 接触角持续降低。这可能是由于 TP 分子中富含羟基, 其引入增加了体系亲水基团数量, 从而增强复合物亲水性、降低其接触角^[33]。该结果与表面疏水性分析结论一致, 进一步印证了 TP 的引入可增强复合物的亲水特性。

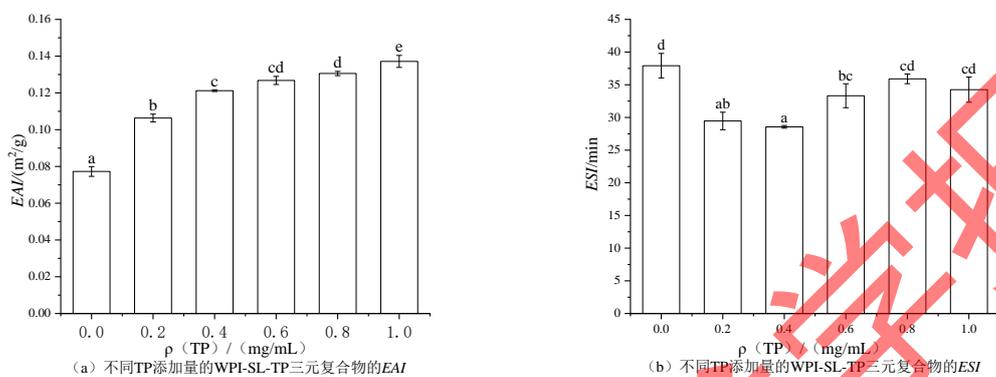
表 4 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物的接触角
Tab.3 Contact angles of the WPI-SL-TP ternary compound with different TP concentrations

ρ (TP) / (mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
接触角/°	45.47±1.48 ^e	40.59±0.19 ^d	37.53±0.57 ^c	36.48±0.25 ^c	32.52±0.21 ^d	28.97±0.10 ^a

不同小写字母表示同行数据差异显著 ($P < 0.05$)。2.2.3 乳化活性分析

乳化活性指数 (EAI) 反映蛋白质在油水界面的吸附能力, 乳化稳定性指数 (ESI) 反映乳液的长期稳定性。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物乳化活性见图 8。由图 8 (a) 可知, 与 WPI-SL 复合物相比, WPI-SL-TP 三元复合物的 EAI 随 TP 添加量增大而显著升高。TP 添加量为 0.2 mg/mL 时, EAI 较未添加 TP 组显著升高 ($P < 0.05$); TP 添加量增至 0.6 mg/mL 时, EAI 持续平稳升高; TP 添加量达到

1.0 mg/mL 时, EAI 增幅趋缓并达到最大值。 EAI 的升高与 TP 引起的蛋白质结构伸展、柔韧性增加有关^[34], TP 的引入通过非共价相互作用诱导 WPI-SL 复合物发生二级结构转变, 促使蛋白质分子由有序、致密的结构向更伸展、松散的结构转变, 分子柔韧性显著提高, 有利于疏水基团充分暴露, 增强了蛋白质在油水界面的吸附与铺展能力, 从而提高乳化活性 EAI 。由图 9 (b) 可知, 与 WPI-SL 复合物相比, WPI-SL-TP 三元复合物的 ESI 呈现先降低后升高的趋势。TP 添加量为 0.2 mg/mL 时, ESI 略有降低; TP 添加量增至 0.6 mg/mL 时, ESI 略有上升; TP 添加量达到 1.0 mg/mL 时, EAI 平稳上升。 ESI 的降低可能与高 TP 质量浓度时较强的分子间静电斥力妨碍了界面蛋白膜的紧密堆积有关^[35], 这导致界面膜机械强度略有下降。结果表明, 由 WPI-SL-TP 三元复合物稳定的乳液虽易于形成但长期储存会发生界面重排或絮凝。



不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$)。

图 8 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物乳化活性

Fig.8 EAI (a) and ESI (b) of WPI-SL-TP ternary complexes with different TP concentrations

2.3 基于 WPI-SL-TP 三元复合物的 ALA 乳液递送体系性能分析

2.3.1 ALA 乳液递送体系显微结构分析

通过激光共聚焦显微镜观察乳液的显微结构, 结果见图 9。油相和水相用尼罗红和尼罗蓝染色, 分别显示为红色和绿色区域。如图 10 所示, 油相被水相包裹, 表明 WPI-SL-TP 三元复合物成功包埋 α -亚麻酸, 形成稳定的液滴。不同 TP 添加量对乳液显微结构的影响不同, TP 添加量为 0.2 mg/mL 时, 乳液液滴出现少量聚集, ALA 分散不均; TP 添加量增至 0.6 mg/mL 时, 聚集现象最为明显, 不利于 ALA 的均匀递送; TP 添加量达到 0.8 mg/mL 时, 液滴分散均匀, 无明显聚集, ALA 可被均匀包埋并稳定递送; 继续增加 TP 添加量至 1.0 mg/mL, 液滴分散状态无明显变化。

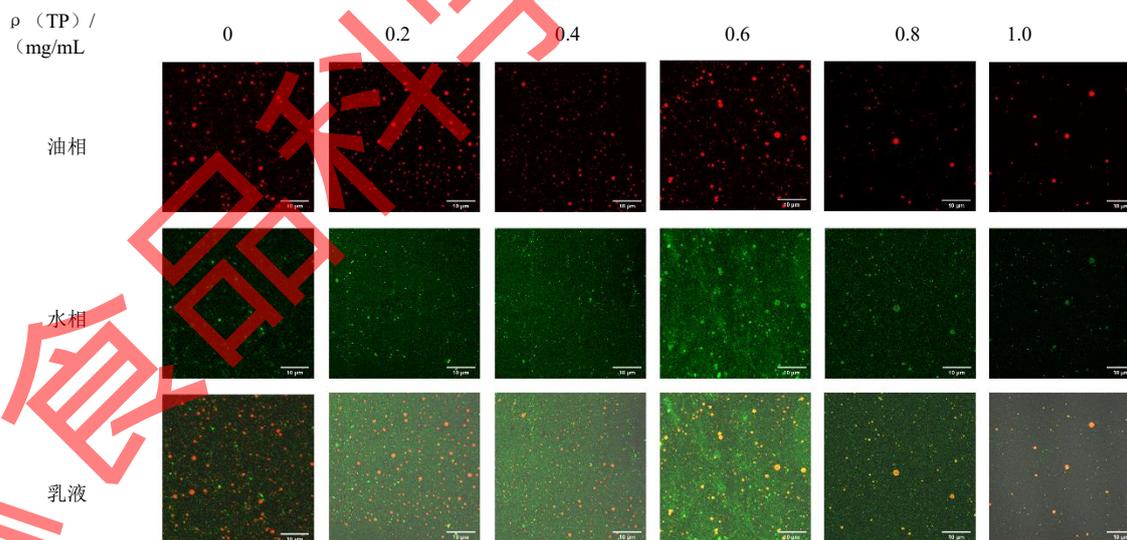


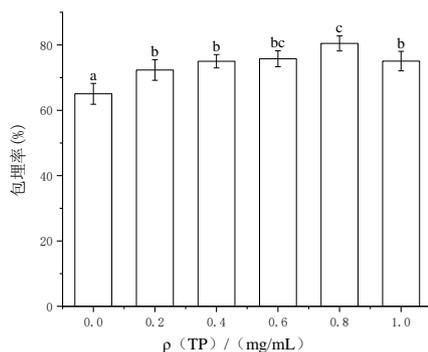
图 9 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物乳液的微观结构

Fig.9 Microscopic structure of WPI-SL-TP ternary composite emulsions with different TP concentrations

2.3.2 ALA 乳液递送体系包埋率分析

包埋率是衡量乳液递送生物活性物质效率的核心指标。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物乳液的包埋率见图 10。由图 10 可知, 未添加 TP 时, 包埋率约为 65%; TP 添加量为 0.2 mg/mL 时, 包埋率增至 72%; TP 添加量达到 0.8 mg/mL 及以上时, 包埋率则稳定在 80% 左右。这表明 TP 添加量为 0~0.6 mg/mL 时, 对包埋率的提升作用逐渐增强; 添加量达到 0.8 mg/mL 后, 包埋率趋于稳定, 此时乳液对 ALA 的包埋效果较优。包埋率提高的原因是由于三元复合物 α -螺旋结构与疏水相互作用共同形成了致

密的液滴界面膜，有效抑制了 ALA 渗漏。



不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$)。

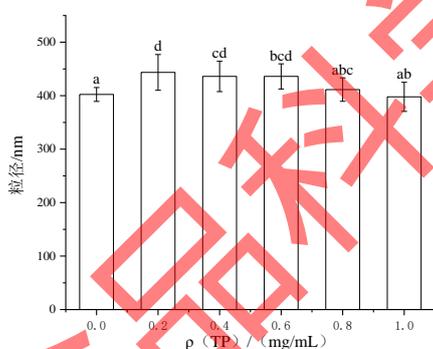
图 10 不同 TP 添加量的三元复合物乳液的包埋率

Fig.10 Encapsulation efficiency of WPI-SL-TP ternary composite emulsions with different TP concentrations

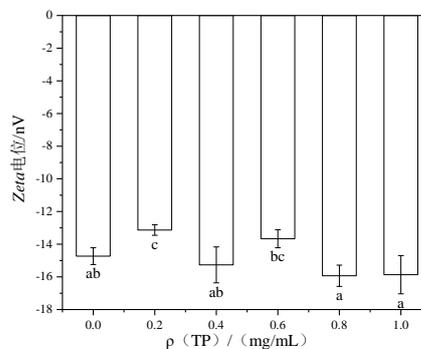
2.3.3 ALA 乳液递送体系粒径和 Zeta 电位分析

乳液的粒径与 Zeta 电位可表征乳液的分散性、均匀性与物理稳定性。不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物乳液的粒径和 Zeta 电位见图 11。由图 11 可知，不同 TP 添加量对乳液的粒径和绝对电位均有显著影响。TP 添加量为 0.2 mg/mL 时，乳液粒径增大，Zeta 电位绝对值减小；TP 添加量增至 0.6 mg/mL 时，粒径达到最大，Zeta 电位绝对值降至最低，液滴聚集明显；TP 添加量达到 0.8 mg/mL 时，粒径显著减小至最低值，Zeta 电位绝对值显著增大；继续增加 TP 添加量至 1.0 mg/mL，粒径及 Zeta 电位均无明显变化。

低剂量 TP 作用下，复合物结构变化有限，表面电荷增加不明显 (Zeta 电位绝对值小)，且可能因部分疏水基团暴露而促进液滴间疏水聚集^[1]。这一结果与扫描电镜观察到的结构特征相符，低 TP 复合物结构较为致密。当 TP 添加量达到 0.8 mg/mL 时，复合物的二级结构发生转变 (α -螺旋增加、 β -折叠减少)，表面携带大量负电荷 (Zeta 电位绝对值增大)，这些变化增强了复合物在液滴表面吸附层的稳定性，通过强烈的静电排斥和可能的空间位阻效应^[6]，有效抑制了液滴聚集，从而获得分布更均匀的乳液体系。这也与该条件下复合物具有较高乳化活性 (EAI) 的结果一致。



(a) 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物乳液的粒径



(b) 不同 TP 添加量的 WPI-SL-TP 三元复合物乳液的 Zeta 电位

不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$)。

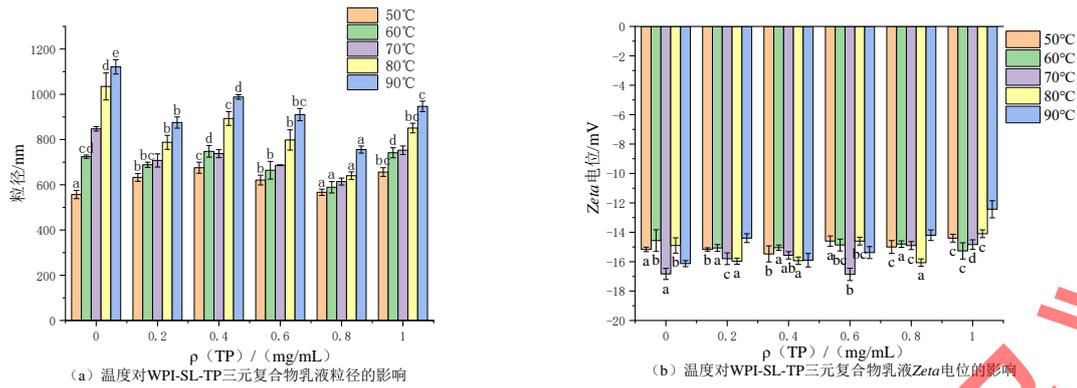
图 11 不同 TP 添加量的三元复合物乳液的粒径和 Zeta 电位

Fig.11 Particle size and Zeta potential of WPI-SL-TP ternary compound emulsions with different TP concentrations

2.3.4 ALA 乳液递送体系物理稳定性分析

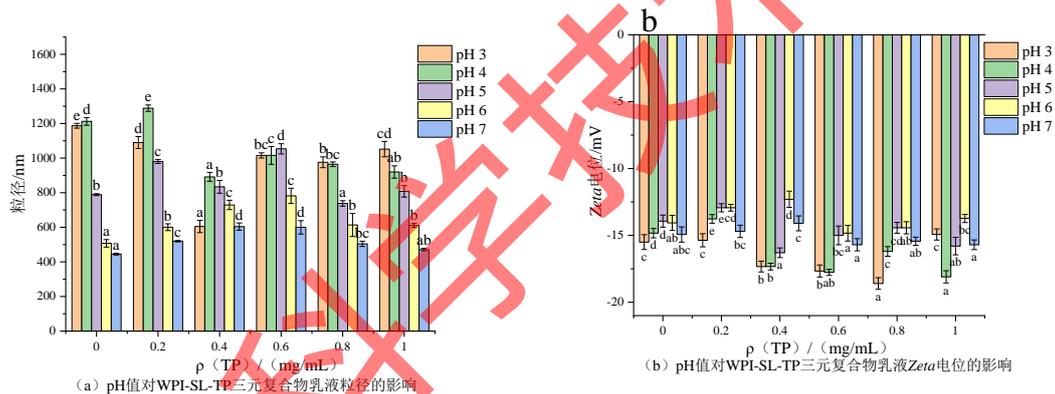
高温环境下乳液的粒径、Zeta 电位如图 12。高温环境下，乳液粒径较常温环境均显著增大，且温度越高，粒径越大；乳液 Zeta 电位也同步发生波动。这主要是因为高温加速液滴运动，同时促使 WPI 疏水氨基酸残基暴露，加剧乳液聚集不稳定性；Zeta 电位的变化可能是由于 WPI 结构的改变导致内部和外部基团的重新分配，乳液液滴表面电荷的特性发生了改变^[1]。

TP 的添加显著提升了乳液的热稳定性，不同 TP 添加量对热稳定性的影响存在差异。TP 添加量为 0.2 mg/mL 时，粒径增长幅度有所减小；TP 添加量增至 0.6 mg/mL 时，粒径增长幅度进一步减小；TP 添加量达到 0.8 mg/mL 时，粒径增长幅度最小，90°C 加热后粒径仅达到 755 nm，热稳定性更佳；继续增加 TP 至 1.0 mg/mL，热稳定性无明显提升。TP 的引入可能通过分子间相互作用稳定了蛋白质的构象，延缓了高温下的展开与聚集。高 TP 质量浓度 (0.8 mg/mL) 的复合物形成的乳液稳定性更佳，这归因于其更小的初始液滴尺寸 [图 12(a)] 与更高的界面电荷 [图 12(b)]，有效地抑制了热致聚集。因此，TP 质量浓度为 0.8 mg/mL 时的乳液表现出更佳的热稳定性。



不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$)。
 图 12 温度对 WPI-SL-TP 三元复合物乳液粒径和 Zeta 电位的影响
 Fig.12 Effect of temperature on particle size and potential of WPI-SL-TP ternary composite emulsions

酸性环境下乳液的粒径、Zeta 电位如图 13。在酸性环境下，乳液粒径均较中性环境显著增大，尤其在 pH 值为 3~5 时，粒径甚至超过 1000 nm，这主要是因为 WPI 在等电点附近发生聚集并从油水界面解吸，破坏了乳液体系稳定性^[36]；而乳液 Zeta 电位无明显变化。经 TP 改性的 WPI-SL 复合物稳定的乳液，其酸性条件下的稳定性优于未添加 TP 的 WPI-SL 体系。这可能是由于 TP 与蛋白质结合后改变了 WPI 的表面电荷分布，增强了油滴间静电斥力，从而提升了乳液的 pH 稳定性。其中 TP 添加量为 0.2 mg/mL 时，乳液的缓冲能力较弱；TP 添加量为 0.4 mg/mL 时，乳液的缓冲能力随之增强；继续增加 TP 至 1.0 mg/mL 时，乳液的缓冲能力趋于稳定。



不同小写字母表示组间数据差异显著 ($P < 0.05$)。
 图 13 pH 值对 WPI-SL-TP 三元复合物乳液粒径和 Zeta 电位的影响
 Fig.13 Effect of pH on particle size and potential of WPI-SL-TP ternary composite emulsions

3 结论

本研究为构建 ALA 高效食品级乳液递送体系，探究了 TP 添加量对 WPI-SL-TP 三元复合物结构和功能特性的影响，并研究了基于该复合物的 ALA 乳液微观结构、包埋效果及递送稳定性。结果显示，TP 通过疏水相互作用与 WPI-SL 以静态猝灭方式结合，诱导蛋白质二级结构从 β -折叠向 α -螺旋转变。随着 TP 质量浓度的增加，三元复合物表面疏水性降低、亲水性增强，乳化活性提升但乳化稳定性略微下降。三元复合物的结构与性质直接影响了 ALA 乳液的性能。TP 添加量为 0.8 mg/mL 时，制备的 ALA 乳液性能较优，其包埋率高（约 80%）、粒径小（411.37 nm）、Zeta 电位绝对值高（-15.93 mV）、热稳定性优异，能实现对 ALA 的高效包埋与稳定递送。本研究旨在为 ALA 的高效利用开辟新途径，也为设计和构建基于蛋白-磷脂-多酚复合物的新型食品级递送体系提供理论依据。

参考文献:

- [1] LI K N, WANG Y X, MI J, et al. Covalent modification of soy protein isolate with tea polyphenols: a potential strategy for enhancing flaxseed oil emulsion stability and sustained delivery of α -linolenic acid[J]. Food Chemistry, 2025, 488: 144868.
- [2] LIN D Q, KELLY A L, MIAO S. Preparation, structure-property relationships and applications of different emulsion gels: Bulk emulsion gels, emulsion gel particles, and fluid emulsion gels[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 102: 123-137.
- [3] XU Z L, PEI J X, MEI J, et al. Effect of gum tragacanth-sodium alginate coatings incorporated with epigallocatechin gallate on the quality and shelf life of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) during superchilling storage[J]. Food Quality and Safety, 2024, 8: fyad039.
- [4] SUN X M, WANG C N, GUO M R. Interactions between whey protein or polymerized whey protein and soybean lecithin in model system[J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(11): 9680-9692.
- [5] CHEN G, WANG S T, FENG B, et al. Interaction between soybean protein and tea polyphenols under high pressure[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 632-638.
- [6] TIAN L, ZHANG S L, YI J H, et al. Antioxidant and prooxidant activities of tea polyphenols in oil-in-water emulsions depend on the level used and the location of proteins[J]. Food Chemistry, 2022, 375: 131672.
- [7] ZHANG L, ZHANG X, CHENG M, et al. Oolong tea polyphenols-phospholipids complex reduces obesity in high fat diet-induced mice model[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2017, 119(12): 1600394.
- [8] 吴劲轩, 夏文银, 夏川林, 等. 磷脂与食品中蛋白质相互作用机制及对蛋白质特性的影响研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(17): 345-351.
- WU J X, XIA W Y, XIA C L, et al. Interaction mechanism between phospholipids and food proteins and effect on protein properties: a review[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(17): 345-351.
- [9] CHEN X T, ZHANG X, XIONG Z Y, et al. 2'-FL glycosylation of bovine milk protein matrices alters protein structure and reduces antibody affinity[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 154: 109995.
- [10] 薛春霞, 董社英. 四种黄酮类化合物与牛血清白蛋白相互作用的光谱分析[J]. 化学研究, 2014, 25(2): 152-157.
- XUE C X, DONG S Y. Spectroscopic analysis of interaction between four kinds of flavonoids and bovine serum albumin[J]. Chemical Research, 2014, 25(2): 152-157.
- [11] KANNAMANGALAM VIJAYAN U, SHAH N N, MULEY A B, et al. Complexation of curcumin using proteins to enhance aqueous solubility and bioaccessibility: Pea protein vis-à-vis whey protein[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 292: 110258.
- [12] ROSS P D, SUBRAMANIAN S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability[J]. Biochemistry, 1981, 20(11): 3096-3102.
- [13] ABADÍA-GARCÍA L, CASTAÑO-TOSTADO E, OZIMEK L, et al. Impact of ultrasound pretreatment on whey protein hydrolysis by vegetable proteases[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 37: 84-90.
- [14] YI X Z, ZHENG Q H, DING B M, et al. Liposome-whey protein interactions and its relation to emulsifying properties[J]. Lwt, 2019, 99: 505-512.
- [15] PANG L D, LI S H, CHEN C, et al. Effect of covalent binding of (-)-epigallocatechin gallate on the antibody binding capacity, physico-chemical properties and functional properties of whey isolate proteins: Comparison of ultrasound-assisted treatment and heat-assisted treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2025, 166: 111291.
- [16] 刘文超, 杨凯, 赵玉红. 乳清浓缩蛋白对松仁蛋白溶解度及其乳液稳定性的影响[J]. 食品科学技术学报, 2024, 42(1): 57-68.
- LIU W C, YANG K, ZHAO Y H. Effect of whey protein concentrate on solubility and emulsion stability of pine kernel protein[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(1): 57-68.
- [17] 姜来, 王佳蓉, 王雪梅, 等. 松仁蛋白-刺槐豆胶共价复合物结构表征及其 Pickering 乳液稳定性研究[J]. 食品科学技术学报, 2025, 43(4): 88-104.
- JIANG L, WANG J R, WANG X M, et al. Structural characterization of pine kernel protein-locust bean gum conjugates and its Pickering emulsion stability[J]. Journal of Food Science and Technology, 2025, 43(4): 88-104.
- [18] YAN S Z, WANG Q, YU J Y, et al. Soy protein interactions with polyphenols: Structural and functional changes in natural and cationized forms[J]. Food Chemistry, 2023, 19: 100866.
- [19] PAN Y, LIU L, LI J Y, et al. Enhancing the physical stability and bioaccessibility of curcumin emulsions through the interaction of whey protein isolate and soybean lecithin[J]. Food Bioscience, 2024, 58: 103676.
- [20] 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.
- [21] MIRIANI M, KEERATI-U-RAI M, CORREDIG M, et al. Denaturation of soy proteins in solution and at the oil-water interface: a fluorescence study[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(4): 620-626.
- [22] PHOPIN K, RUANKHAM W, PRACHAYASITTIKUL S, et al. Insight into the molecular interaction of cloxyquin (5-chloro-8-hydroxyquinoline) with bovine serum albumin: biophysical analysis and computational simulation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 21(1): 249262-.
- [23] KASINOS M, SABATINO P, VANLOO B, et al. Effect of phospholipid molecular structure on its interaction with whey proteins in aqueous solution[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 32(2): 312-321.
- [24] LI D, ZHAO Y, WANG X, et al. Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: Droplet size, Zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 98: 105306.
- [25] YAN X H, ZHAO J X, ZENG Z L, et al. Effects of preheat treatment and polyphenol grafting on the structural, emulsifying and rheological properties of protein isolate from *Cinnamomum camphora* seed kernel[J]. *Food Chemistry*, 2022, 377: 132044.
- [26] JIA Z B, ZHENG M, TAO F, et al. Effect of covalent modification by (-)-epigallocatechin-3-gallate on physicochemical and functional properties of whey protein isolate[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2016, 66: 305-310.
- [27] CAO Q J, HUANG Y, ZHU Q F, et al. The mechanism of chlorogenic acid inhibits lipid oxidation: an investigation using multi-spectroscopic methods and molecular docking[J]. *Food Chemistry*, 2020, 333: 127528.
- [28] ZHU J X, SUN X W, WANG S H, et al. Formation of nano complexes comprising whey proteins and fucoxanthin: Characterization, spectroscopic analysis, and molecular docking[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 391-403.
- [29] WANG R C, HE S H, XUAN Y F, et al. Preparation and characterization of whey protein hydrolysate-Zn complexes[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2020, 14(1): 254-261.
- [30] CUI Y C, LI X, LU M, et al. Role of polysaccharide conjugation in physicochemical and emulsifying properties of egg phosphovitin and the calcium binding capacity of its phosphopeptides[J]. *Food & Function*, 2019, 10(4): 1808-1815.
- [31] BU Y, FAN M M, SUN C N, et al. Study on the interaction mechanism between (-)-epigallocatechin-3-gallate and myoglobin: Multi-spectroscopies and molecular simulation[J]. *Food Chemistry*, 2024, 448: 139208.
- [32] LÓPEZ-PEDROUSO M, LORENZO J M, MOREIRA R, et al. Potential applications of Pickering emulsions and high internal-phase emulsions (HIPEs) stabilized by starch particles[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2022, 46: 100866.
- [33] ROY S, RHIM J W. Preparation of carbohydrate-based functional composite films incorporated with curcumin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 98: 105302.
- [34] AFIZAH M N, RIZVI S S H. Functional properties of whey protein concentrate texturized at acidic pH: Effect of extrusion temperature[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2014, 57(1): 290-298.
- [35] MA Y G, ZHANG J, HE J M, et al. Effects of high-pressure homogenization on the physicochemical, foaming, and emulsifying properties of chickpea protein[J]. *Food Research International*, 2023, 170: 112986.
- [36] DAI S C, LIAO P L, WANG Y L, et al. Soy protein isolate-catechin non-covalent and covalent complexes: Focus on structure, aggregation, stability and *in vitro* digestion characteristics[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 135: 108108.