

# 莲子蛋白肽/茶皂素包覆香叶木素纳米乳液的制备及性能

罗 涵<sup>1</sup>, 范 伟<sup>1</sup>, 郭时印<sup>1</sup>, 唐忠海<sup>1</sup>, 张 娜<sup>2\*</sup>

(1. 湖南农业大学 食品科学技术学院 湖南省菜籽油营养健康与深度开发工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128; 2. 塔里木大学 食品科学与工程学院 新疆特色农产品深加工兵团重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300)

**摘要:** 以莲子蛋白肽 (LSP) 和茶皂素 (TS) 为原料, 经菜籽油分散和包覆亲脂性活性成分香叶木素 (Dios), 制备了一种 LSP/TS 包覆香叶木素纳米乳液 (Dios-NE)。采用 FTIR、SEM、纳米粒度分析仪和偏光显微镜对 Dios-NE 进行了表征。通过响应面实验考察了  $m(\text{LSP}) : m(\text{TS})$ 、分散相与去离子水体积比 (简称油水比) 及均质压力对 Dios-NE 粒径的影响, 基于 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基和 2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 (ABTS) 阳离子 (ABTS<sup>+</sup>) 自由基清除实验, 探究了 Dios-NE 的体外抗氧化活性; 通过模拟消化实验, 评价了 Dios-NE 的梯度缓释性能和生物可及性。结果表明, Dios-NE 的最佳制备条件为  $m(\text{LSP}) : m(\text{TS}) = 3 : 20$ 、油水比 5 : 95、均质压力 172.375 MPa, 在该条件下制备的 Dios-NE 乳液粒径为  $(138.8 \pm 0.2) \text{ nm}$ , Dios 通过疏水作用与氢键稳定地嵌入乳液核心, 其在 pH (2~11)、NaCl 浓度 (0~50 mmol/L) 和温度 (30~90 °C) 等较宽泛条件下仍能维持粒径与 Zeta 电位的稳定。Dios-NE 的控释特性和 LSP/TS 的协同抗氧化作用显著提升了其 DPPH 自由基和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力, 质量浓度为 24 mg/L 的 Dios-NE 对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率为 99%; Dios-NE 可以延缓 Dios 在胃液中降解 (保留率为 87%), 并在肠液中通过胶束化实现靶向释放, 生物可及率为 57%。

**关键词:** 莲子蛋白肽; 茶皂素; 菜籽油; 香叶木素; 复合乳化剂; 模拟消化; 食品化学品

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2026) 05-1121-15

## Preparation and properties of diosmetin-loaded nanoemulsions coated with lotus seed protein peptides/tea saponin

LUO Han<sup>1</sup>, FAN Wei<sup>1</sup>, GUO Shiyin<sup>1</sup>, TANG Zhonghai<sup>1</sup>, ZHANG Na<sup>2\*</sup>

(1. Hunan Engineering Technology Research Center for Rapeseed Oil Nutrition Health and Deep Development, School of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China; 2. Key Laboratory of Southern Xinjiang Special Agricultural Products Deep Processing Corps, College of Food Science and Engineering, Tarim University, Alar 843300, Xinjiang, China)

**Abstract:** A lotus seed protein peptide (LSP)/tea saponin (TS) coated diosmetin (Dios) nanoemulsion (Dios-NE) based on a natural emulsifier system formulated with LSP and TS was prepared by dispersing and encapsulating the lipophilic active ingredient Dios in rapeseed oil, and characterized by FTIR, SEM, nanoparticle size analyzer and polarizing microscopy. The effects of  $m(\text{LSP}) : m(\text{TS})$ , volume ratio of dispersed phase to deionized water (oil-to-water ratio) and homogenization pressure on the particle size of Dios-NE were investigated through response surface experiment. The *in vitro* antioxidant activity of Dios-NE was evaluated using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)diammonium salt (ABTS) cation radical scavenging assays, while the gradient sustained-release performance and bioaccessibility of Dios-NE were assessed through

收稿日期: 2025-04-21; 定用日期: 2025-05-27; DOI: 10.13550/j.jxhg.20250279

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32360579); 新疆建设兵团自然科学支持计划资助项目 (2024DA045); 郴州国家可持续发展议程创新示范区建设专项 (2022SFQ49)

作者简介: 罗 涵 (2001—), 男, 硕士生, E-mail: 3036053542@qq.com。联系人: 张 娜 (1981—), 女, 副教授, 博士, E-mail: 1571040348@qq.com。

simulated digestion experiments. The results indicated that, under the optimal preparation conditions of mass ratio of  $m(\text{LSP}) : m(\text{TS}) = 3 : 20$ , oil-to-water ratio 5 : 95, homogenization pressure 172.375 MPa, Dios-NE showed a particle size of  $(138.8 \pm 0.2)$  nm, with Dios stably embedded within the emulsion core by hydrophobic interactions and hydrogen bonding. Dios-NE maintained stable particle size and Zeta potential across a wide range of conditions, including pH (2~11), NaCl concentration (0~50 mmol/L), and temperature (30~90 °C). The controlled-release properties of Dios-NE and the synergistic antioxidant effects of LSP/TS significantly enhanced the scavenging abilities for DPPH radical and ABTS<sup>+</sup> radical, reaching 99% at a mass concentration of 24 mg/L. Dios-NE could delay the degradation of Dios in gastric fluid (retention rate 87%) and achieve targeted release in intestinal fluid through micellization, with a bioaccessibility of 57%.

**Key words:** lotus peptide; tea saponin; rapeseed oil; diosmetin; composite emulsifiers; simulated digestion; food chemicals

香叶木素 (Dios) 又称桉树素, 是一种黄酮类化合物, 可从多种植物 (柑橘类、豆类等) 中提取得到。Dios 具有抗癌、抗氧化、抗炎、抗菌、调节代谢、改善心血管功能、雌激素作用等多种药理活性<sup>[1]</sup>。然而, 由于 Dios 水溶性较差, 口服后在体内的生物可及性较低, 目前鲜见使用乳液对其进行包埋的报道, 因此, 其在食品和保健品领域的应用仍具有挑战性。为了使其在胃肠道中发挥作用, Dios 需要在消化过程中从食物基质中释放出来, 并且必须在胃肠道环境中保持稳定。黄酮类化合物的胃肠道释放和稳定性都属于生物可及性的一部分, 大多数研究者将营养素和保健品的口服生物可及性定义为摄入量中到达器官和组织并参与基本代谢过程或其他生物过程的部分<sup>[2-3]</sup>。

纳米乳液 (NE) 是一种高度精细的乳剂, 其特点在于由粒径 <200 nm 的微小脂滴构成。这些乳剂可通过低能量方式 (如自发乳化) 或高能量手段 (如高压均质化) 在乳化剂充足的条件下制备而成<sup>[4]</sup>。然而, 为了保持纳米乳剂的稳定性, 需要在制剂中添加大量表面活性剂, 基于油相质量计算, 其添加量达 20%~30%, 这可能会因长期接触而引发潜在的毒理学问题, 进而限制纳米乳液的应用范围<sup>[5-6]</sup>。为应对上述挑战, 食品、饮料及制药行业对于利用可食用纳米乳液来封装、保护和递送亲脂性功能成分 (如油溶性香料、维生素及营养品等) 的兴趣日益浓厚。尽管蛋白质通常被视为两亲性物质, 但某些植物蛋白, 如玉米蛋白和谷蛋白, 因其水溶性不佳, 而不具备足够的表面活性来稳定乳剂<sup>[7]</sup>。

莲子是中国湖南省的特产, 其含量较高的莲子蛋白营养价值较高, 受到人们的广泛关注。将莲子蛋白用蛋白酶进行酶解转化为莲子蛋白肽 (LSP), 使其呈现出莲子蛋白所不具备的多种特性, 如吸收快、易消化、抗原性低、良好的理化性和加工特性等。ZHUANG 等<sup>[8]</sup>采用胰蛋白酶酶解法制备莲子多

肽, 通过测定健康小鼠和免疫抑制小鼠巨噬细胞吞噬功能、一氧化氮生成量和细胞因子水平, 探讨莲子多肽的免疫调节作用。当环境或溶液条件 (如 pH、离子强度和温度) 改变时, 由于小分子蛋白稳定的油滴易于聚集, 限制了其在乳化食品中的应用<sup>[9]</sup>。为了解决此问题, 研究人员尝试添加多糖改善其蛋白性能<sup>[10-12]</sup>, 因为离子多糖可通过带相反电荷的表面基团的静电吸引与蛋白相互作用<sup>[13-14]</sup>, 形成静电复合物, 其乳化性能通常优于任何一种母体物质<sup>[15]</sup>, 蛋白质-多糖复合物可通过改变油滴之间的胶体相互作用和增加连续相的黏度来改善乳剂的稳定性<sup>[16]</sup>。

茶皂素 (TS) 是具有齐墩果烷结构的五环三萜皂甙的组合。这些皂苷具有相似的组成, 由有机酸、糖苷配基和糖部分组成<sup>[17]</sup>。TS 分子具有典型的表面活性剂结构, 即极性亲水基团和非极性疏水基团。亲水基团集中在糖体、有机酸和糖苷配基的连接部分, 而疏水基团集中在配体中。因此, TS 是一种优良的非离子型天然表面活性剂<sup>[18-19]</sup>, 可广泛应用于食品、农业、纺织、建材等领域<sup>[20]</sup>。此外, TS 还是一种具有一定药用价值的生物活性成分。已有研究证明, 皂苷在摄入后对人体几乎无毒, 因为它们通常停留在消化道中并且以低水平吸收<sup>[21]</sup>。有研究将植物蛋白与 TS 进行复合来稳定乳液<sup>[22-24]</sup>, 但目前鲜见 LSP 与 TS 复配的研究。

本文拟以 LSP 和 TS 为原料, 经菜籽油分散和包覆亲脂性活性成分 Dios, 制备一种 LSP/TS 包覆 Dios 纳米乳液 (Dios-NE)。通过响应面实验考察制备条件对 Dios-NE 粒径的影响, 基于 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基和 2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐阳离子 (ABTS<sup>+</sup>) 自由基清除实验, 探究 Dios-NE 的体外抗氧化活性, 通过模拟消化实验, 评价 Dios-NE 的梯度缓释性能和生物可及性。以期天然乳化剂体系的纳米乳液制备提供参考。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

菜籽油, 道道全粮油股份有限公司; 黏蛋白酶 Type II、猪胰脂肪酶, 美国 Sigma-Aldrich 公司。Dios (质量分数 98%), 天津市大茂化学试剂有限公司; LSP (质量分数 98%), 西安新怡然生物科技有限公司; TS (质量分数 98%), 西安天朗源生物科技有限公司; 硝酸铵, AR, 郑州派尼化学试剂厂; 尿酸钠、L-乳酸钠、猪胆盐, AR, 上海源叶生物科技有限公司; 尿素、NaCl、氯化钾、磷酸二氢钾、一水合柠檬酸钾、浓盐酸 (质量分数 36%)、二水合氯化钙、NaOH、DPPH, AR, 国药集团化学试剂有限公司; 乙腈, AR, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐 (ABTS), 西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司; 磷酸缓冲盐溶液 (PBS, 100 mmol/L, pH=7.4), 北京兰杰柯科技有限公司。

Kinexus pro 型旋转流变仪、Zetasizer Nano ZS90 型纳米粒度电位仪, 英国 Malvern 公司; OLYMPUS BX53M 型偏光显微镜, 日本 OLYMPUS 公司; Phenom XL G2 型场发射扫描电子显微镜 (SEM)、1510 型全波长多功能酶标仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; IRprestige-1 型傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR), 日本 Shimadzu 公司; Nano 8080 型微射流均质机, 诺泽流体科技有限公司; Aglient 1100 型高效液相色谱仪 (HPLC), 美国 Aglient 公司; IKA T18 型高速剪切机, 德国 IKA 公司; YMC C18 色谱柱 (250 mm×46 mm×5 μm), 日本 KYA 技术公司。

1.2 方法

首先, 将 150 mg LSP 与 1000 mg TS 加入装有 95 mL 去离子水的烧杯中, 混合均匀, 得到复合乳化剂; 将 3 mg Dios 与 5 mL 菜籽油混合于烧杯中, 用磁力搅拌器在室温下搅拌 30 min, 使其混合均匀, 得到 Dios 油溶液; 然后, 以复合乳化剂为水相, 以 Dios 油溶液为油相, 将水相加入油相中, 混合均匀, 用高速剪切机在 14000 r/min 下剪切 2 min, 得到粗乳液。最后, 用微射流均质机在一定匀质压力下, 均质 5 次, 得到 Dios-NE。空白乳液 (NE) 制作与 Dios-NE 方法相同, 仅不添加 Dios。

1.3 响应面实验

根据响应面 Box-Behnken 设计原理, 以  $m(\text{LSP}) : m(\text{TS})$  ( $A$ )、油水比 ( $B$ )、均质压力 ( $C$ ) 为自变量, 以乳液粒径 ( $Y$ ) 为响应值, 进行三因素三水平的响应面设计和实验, 因素水平的选择见表 1。

表 1 响应面实验因素及水平  
Table 1 Factors and levels of response surface experiment

| 水平 | 因素                                    |                      |                 |
|----|---------------------------------------|----------------------|-----------------|
|    | $A$<br>$m(\text{LSP}) : m(\text{TS})$ | $B$<br>油水比/(mL : mL) | $C$<br>均质压力/MPa |
| -1 | 1 : 4                                 | 4 : 96               | 103.425         |
| 0  | 1 : 5                                 | 8 : 92               | 137.900         |
| 1  | 1 : 6                                 | 12 : 88              | 172.375         |

1.4 结构表征与性能测试

FTIR 表征: 参考文献[25]方法并稍作修改, 采用 KBr 压片法, 波数范围 4000~400  $\text{cm}^{-1}$ , 分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ , 扫描次数 64 次。微观结构表征: 采用偏光显微镜观察 Dios-NE 的显微结构, 采用 50 倍透镜。SEM 表征: 样品喷金, 低位二次电子 (LEI) 模式, 工作电流 20  $\mu\text{A}$ , 电子加速电压 5.0 kV。

纳米粒度测试: 参考文献[26]方法, 使用纳米粒度电位仪测定样品的粒度、多分散指数 (PDI) 和 Zeta 电位, 为了减少多重光散射效应, 在 25  $^{\circ}\text{C}$  下测定前用去离子水将 Dios-NE 稀释 100 倍, 静置 1 min 后进行 Zeta 电位测定, 去离子水折光率为 1.33, 激光波长为 633 nm, 平衡时间为 1 min。

pH 稳定性测试: 用盐酸 (浓度为 0.1 mol/L) 或 NaOH 溶液 (浓度为 0.1 mol/L) 调节体系 pH 为 2~11, 测定每个处理样品的平均粒度、Zeta 电位和微观结构来考察 Dios-NE 的 pH 稳定性。

离子稳定性测试: 添加与 Dios-NE 相同体积的不同浓度的 NaCl 溶液 (0、10、50 和 100 mmol/L) 得到具有不同离子浓度的样品, 测定每个处理样品的平均粒度、Zeta 电位和微观结构来考察 Dios-NE 的离子稳定性。

热稳定性测试: 将 Dios-NE 在不同温度 (30、40、50、60、70、80、90  $^{\circ}\text{C}$ ) 下加热 1 h, 测定每个处理样品的平均粒度、Zeta 电位和微观结构。

储存稳定性测试: 将 NE 与 Dios-NE 在 4、25 和 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温条件下保存 28 d, 测定每个处理样品的平均粒度、Zeta 电势和微观结构来考察其贮存稳定性。

1.5 Dios-NE 的抗氧化能力测试

1.5.1 DPPH 自由基清除率

首先, 以去离子水为溶剂, 配成不同质量浓度 (0.018、0.024、0.036 和 6 mg/L) 的 Dios-NE 水溶液, 备用。

参考文献[27]方法并稍作修改, 测定 DPPH 自由基清除率。称取 3.94 mg 的 DPPH 固体粉末, 置于 100 mL 棕色容量瓶中, 用去离子水溶解并定容, 得到浓度为  $1 \times 10^{-4}$  mol/L 的 DPPH 水溶液, 避光保存 (现配现用)。分别吸取 100  $\mu\text{L}$  去离子水、Dios-NE

水溶液与 DPPH 水溶液于 96 孔板混合,置于酶标仪孔板槽内中速振荡 5 s,室温 (25 °C) 孵育 30 min,用全波长多功能酶标仪测定溶液在 517 nm 处的吸光度。根据式 (1) 计算 DPPH 自由基清除率 (%)。

### 1.5.2 ABST<sup>+</sup>自由基清除率

参考文献[28]方法测定 ABTS<sup>+</sup>自由基(•ABTS<sup>+</sup>)清除率。称取 0.0384 g 的 ABTS 粉末于 10 mL 棕色容量瓶中,用去离子水定容至刻度,得到浓度为 7 mmol/L 的 ABTS 溶液。称取 0.1654 g 过硫酸钾于 250 mL 容量瓶中,用去离子水定容,得到浓度为 2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液,备用。将 10 mL 的 ABTS 溶液与 10 mL 过硫酸钾溶液等体积混合,在避光处放置 12~16 h,得到 ABTS<sup>+</sup>自由基储备液。将适量•ABTS<sup>+</sup>储备液用 PBS 稀释约 40 倍,使其在 734 nm 处的吸光度为 0.70±0.02,得到•ABTS<sup>+</sup>工作液。取 20 μL 样品与 200 μL 的•ABTS<sup>+</sup>工作液于 96 孔板中混合,放置在酶标仪内中速振荡 10 s,室温下孵育 8 min 后用酶标仪测定溶液在 734 nm 处的吸光度。根据式 (1) 计算•ABTS<sup>+</sup>清除率 (%)。

$$\text{清除率} / \% = \left( 1 - \frac{A_i - A_j}{A_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

式中:  $A_i$  为 Dios-NE 水溶液+DPPH 水溶液 (或•ABTS<sup>+</sup>工作液)反应平衡后的吸光度; $A_j$  为 Dios-NE 水溶液+去离子水的吸光度; $A_0$  为去离子水+DPPH 水溶液 (或•ABTS<sup>+</sup>工作液)的吸光度。

## 1.6 体外模拟消化实验

### 1.6.1 模拟实验

参考文献[29]方法并稍作修改,通过模拟胃肠道 (GIT) 模型,将相同体积的 Dios-NE 和菜籽油/水混合物 (仅菜籽油与去离子水混合,其他操作与 Dios-NE 一致) 以相同的油水体积比 (5:95) 分别进行模拟实验。

首先,制备模拟唾液 (SSF)、模拟胃液 (SGF) 和模拟肠液 (SIF)。人工唾液的配制:将 1.594 g 氯化钠、0.328 g 硝酸铵、0.636 g 磷酸二氢钾、0.202 g 氯化钾、0.308 g 一水合柠檬酸钾、0.021 g 尿酸钠、0.198 g 尿素、0.146 g L-乳酸钠粉末加入到 1 L 超纯水中,搅拌 12 h,备用。人工胃液的配制:将 2 g NaCl 加入到 1 L 超纯水中搅拌至溶解后,加入 7 mL 稀盐酸调节 pH 至 1.2,备用。人工小肠液的配制:将 18.377 g 二水合氯化钙、109.575 g 氯化钠粉末加入到 0.5 L 超纯水中,充分搅拌并溶解后,备用。对于初始系统,将含有 5 mL Dios-NE 和 5 mL 菜籽油/水混合物分别加入含有 15 mL 去离子水的 50 mL 玻璃烧杯置于 37 °C 的恒温水浴中。对于口腔阶段,将含有黏蛋白的 SSF (质量浓度 0.03 g/mL, 20 mL)

与初始系统以体积比 1:1 混合。使用浓度为 1.0 和 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液将 pH 调至 6.8 后,将 SSF 置于 37 °C 的恒温磁力搅拌浴中 (转速 100 r/min, 10 min)。对于胃相,将消化后的口腔相 (20 mL) 与 SGF (20 mL) 混合,并使用浓度为 1.0 和 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液将 pH 调至 2.5。将所得混合物置于 37 °C 的恒温磁力搅拌浴中 (转速 100 r/min, 2 h)。对于小肠溶相,将消化的胃相 (30 mL) 与 SIF (1.5 mL) 混合,加入胆盐溶液 (质量浓度为 5 g/L) 后,使用浓度为 1.0 和 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液将 pH 调至 6.0,立即向 SIF 中加入胰脂肪酶溶液 (质量浓度为 4.8 g/L),并使用自动滴定装置记录系统 pH,通过加入浓度为 1.0 和 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液在 2 h 内将其维持在 7.0。通过记录 SIF 阶段使用的 NaOH 体积,使用 pH-stat 程序测定小肠消化过程中脂肪酸的释放速率。根据式 (2) 计算游离脂肪酸 (FFA) 的释放率 (%)。

$$\text{释放率} / \% = \frac{V_{\text{NaOH}} \times c_{\text{NaOH}} \times M_{\text{Lipid}}}{2 \times m_{\text{Lipid}}} \times 100 \quad (2)$$

式中:  $V_{\text{NaOH}}$  为所用 NaOH 溶液的体积, L;  $c_{\text{NaOH}}$  为 NaOH 溶液浓度, mol/L;  $M_{\text{Lipid}}$  为菜籽油的摩尔质量, 877 g/mol;  $m_{\text{Lipid}}$  为菜籽油的总质量, g (5 mL Dios-NE 中含有 0.25 mL 菜籽油, 即 0.23 g)。

### 1.6.2 模拟行为参数

液滴粒径分布和 Zeta 电位测试:使用纳米粒度分析仪测定液滴尺寸特征,包括 Dios-NE 原液、消化唾液、消化胃液和消化小肠液的平均粒径、粒度分布和 Zeta 电位。分析前,使用去离子水将不同消化阶段的 Dios-NE 稀释 100 倍。

### 1.6.3 Dios 的提取和分析

首先,对每个消化阶段的样品进行涡旋 (13.618 g, 4 °C, 0.5 h) 以获得混合胶束。然后,将混合胶束与乙腈按照体积比 1:9 混合,超声 10 min 并离心 (4446×g, 6 min) 以提取 Dios。对每个样品进行两次提取,并在每个提取步骤收集上清液。使用 HPLC 法分析合并的上清液,并根据标准曲线方程和峰面积计算得到混合胶束中 Dios 的质量浓度。以 Dios 质量浓度 (mg/L) 为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得到的拟合方程为:  $y = (919.72 \pm 5.72)x + (53.16 \pm 32.80)$ ,  $R^2$  为 0.99988。

HPLC 分析条件: YMC C18 色谱柱移动相为乙腈 (有机相 A)/水 (水相 B),流速为 1.0 mL/min,进样量为 20 μL,柱温为 35 °C。根据式 (3) 计算 Dios 的生物可及率 (%)。

$$\text{生物可及率} / \% = \frac{\rho_{\text{micelle}}}{\rho_{\text{initial}}} \times 100 \quad (3)$$

式中:  $\rho_{\text{micelle}}$  为混合胶束中 Dios 的质量浓度, mg/L;  $\rho_{\text{initial}}$  为最初样品中 Dios 的质量浓度, 30 mg/L。

1.7 数据处理

所有实验均至少进行 3 次重复实验。采用 SPSS 25.0 对数据进行统计分析, 结果以“平均值±标准差”表示。通过方差分析 (ANOVA) 和邓肯多重范围检验评估数据的统计学显著性, 显著性水平设定为  $P<0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 响应面实验结果分析

采用 Design expert 10 软件对响应面实验结果 (表 2) 进行二项式拟合, 并对模型进行方差分析, 得到二项式拟合方程为:

$$Y=143.460-5.160A+0.025B+5.760C+4.400AB-0.625AC-1.500BC+2.810A^2+3.580B^2+4.860C^2$$
  
( $P<0.0001$ ,  $R^2=0.9729$ )

表 2 响应面实验结果  
Table 2 Results of response surface experiment

| 序列 | $A$ $m(\text{LSP}):m(\text{TS})$ | $B$ 油水比/<br>(mL:mL) | $C$ 均质<br>压力/MPa | 平均<br>粒径/nm |
|----|----------------------------------|---------------------|------------------|-------------|
| 1  | 0                                | 0                   | 0                | 145.6       |
| 2  | 0                                | -1                  | -1               | 145.5       |
| 3  | 0                                | 1                   | -1               | 148.2       |
| 4  | 0                                | 1                   | 1                | 155.3       |
| 5  | 0                                | 0                   | 0                | 141.9       |
| 6  | 1                                | 1                   | 0                | 149.3       |
| 7  | -1                               | -1                  | 0                | 159.2       |
| 8  | -1                               | 1                   | 0                | 150.8       |
| 9  | 1                                | 0                   | -1               | 140.1       |
| 10 | 0                                | 0                   | 0                | 143.3       |
| 11 | 1                                | -1                  | 0                | 140.1       |
| 12 | -1                               | 0                   | 1                | 163.4       |
| 13 | 0                                | 0                   | 0                | 145.5       |
| 14 | 1                                | 0                   | 1                | 151.8       |
| 15 | 0                                | 0                   | 0                | 141         |
| 16 | -1                               | 0                   | -1               | 149.2       |
| 17 | 0                                | -1                  | 1                | 158.6       |

方差分析结果如表 3 所示。可以看出, 模型  $P<0.01$ , 失拟项  $P=0.8035>0.05$ , 即得到的模型极显著, 而失拟项不显著, 说明所选检验范围内的残差均为随机误差引起, 模型拟合度较好。变异系数 ( $CV$ ) = 1.18%, 校正决定系数 ( $R^2_{\text{Adj}}$ ) = 0.9729, 表明响应值粒度的变异量 97.29% 来自置信区间, 用该模型预测 Dios-NE 的粒度是可靠的<sup>[30]</sup>。通过回归系数显著性分析, 对于模型中的因素,  $P$  值越小,  $F$  值越大, 说明纳米乳液制备效果越好<sup>[31]</sup>。从分析结果中可知,  $A$  [ $m(\text{LSP}):m(\text{TS})$ ]、 $C$  (均质压力)、

$AB$  对响应值具有极显著性影响, 其他因素及其相互作用对响应值的影响不显著。3 个因素对 Dios-NE 粒径的影响大小顺序依次为:  $C>A>B$ 。

表 3 方差分析结果  
Table 3 Results of variance analysis

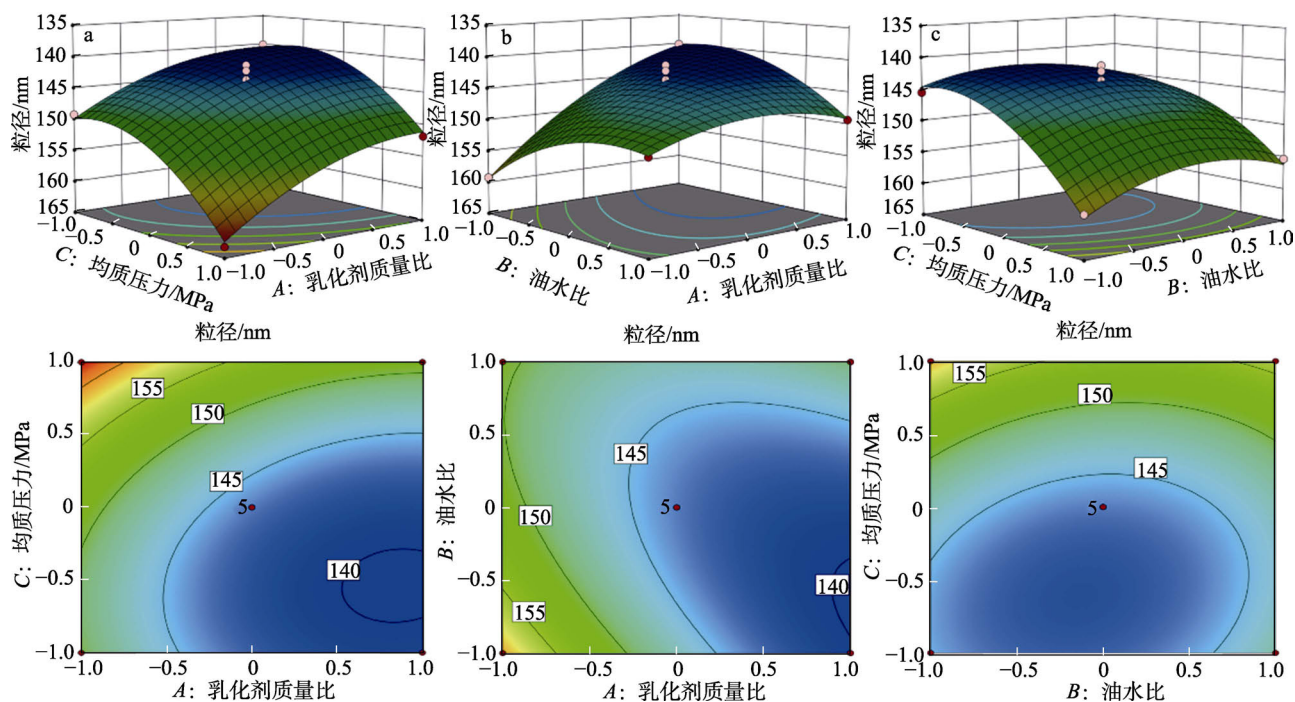
| 变异来源                             | 平方和    | 自由度 | 均方值    | $F$ 值  | $P$ 值   | 显著性 |
|----------------------------------|--------|-----|--------|--------|---------|-----|
| 模型                               | 773.88 | 9   | 85.99  | 27.92  | 0.0001  | **  |
| $A$ $m(\text{LSP}):m(\text{TS})$ | 213.21 | 1   | 213.21 | 69.23  | <0.0001 | **  |
| $B$ 油水比/(mL:mL)                  | 0.0050 | 1   | 0.0050 | 0.0016 | 0.9690  | ○   |
| $C$ 均质压力/MPa                     | 265.65 | 1   | 265.65 | 86.25  | <0.0001 | **  |
| $AB$                             | 77.44  | 1   | 77.44  | 25.14  | 0.0015  | **  |
| $AC$                             | 1.56   | 1   | 1.56   | 0.5073 | 0.4993  | ○   |
| $BC$                             | 9.00   | 1   | 9.00   | 2.92   | 0.1311  | ○   |
| $A^2$                            | 33.19  | 1   | 33.19  | 10.78  | 0.0134  | **  |
| $B^2$                            | 54.04  | 1   | 54.04  | 17.55  | 0.0041  | **  |
| $C^2$                            | 99.35  | 1   | 99.35  | 32.26  | 0.0008  | **  |
| 残差                               | 21.56  | 7   | 3.08   |        |         |     |
| 失拟项                              | 4.31   | 3   | 1.44   | 0.3329 | 0.8035  | ○   |
| 纯误差                              | 17.25  | 4   | 4.31   |        |         |     |
| 校正决定系数                           | 0.9729 |     |        |        |         |     |
| 预测决定系数                           | 0.8795 |     |        |        |         |     |
| CV/%                             | 1.18   |     |        |        |         |     |

注: “\*\*”表示差异极显著 ( $P<0.01$ ); “\*”表示差异显著 ( $P<0.05$ ); “○”表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。

图 1 为各因素相互作用对 Dios-NE 粒径的响应面三维图。

纳米乳液体系是一种不稳定体系。液滴的形成不能通过乳化剂的稳定化和能量的输入自发形成。当均质次数足以促进液滴形成时, 乳化剂的配比和质量分数是导致体系形成的主要因素。响应面三维图越陡峭, 两个因素对响应值的交互作用越显著。响应面图中等值线的形状可以反映各因素间相互作用的强弱。若等高线为椭圆且密集, 则交互作用显著, 反之则不显著。从图 1 可以看出,  $AB$  间交互作用的等高线比较密集, 说明因素  $A$  (乳化剂比例) 与  $B$  (油水比) 之间的交互作用比较显著, 而  $C$  (均质压力) 与其他因素之间的交互作用并不显著。

通过对模型回归方程的优化分析, 得出制备 Dios-NE 的最佳工艺条件为:  $m(\text{LSP}):m(\text{TS})=3:20$ 、油水比 5:95、均质压力 172.375 MPa。在此条件下, Dios-NE 粒径的理论预测值为 139.91 nm。为了验证响应面模型的可靠性和可操作性, 以最佳工艺条件下进行了验证实验。Dios-NE 粒径测量值为 (138.8±0.2) nm, PDI 为 0.147±0.02, 预测值与测量值的一致性为 99.2% (后续性能测试均用此条件制备)。表明粒径的实验值与回归方程的预测值接近。由此可见, 利用 Box-Behnken 实验设计建立的响应曲面模型可以很好地预测 Dios-NE 制备工艺。



a—AC 交互作用; b—AB 交互作用; c—BC 交互作用

图 1 各因素相互作用对 Dios-NE 粒径的影响

Fig. 1 Influence of factor interaction on particle size of Dios-NE

## 2.2 表征结果分析

### 2.2.1 FTIR

图 2 为 TS、LSP、Dios-NE、Dios、菜籽油和 NE 的 FTIR 谱图。

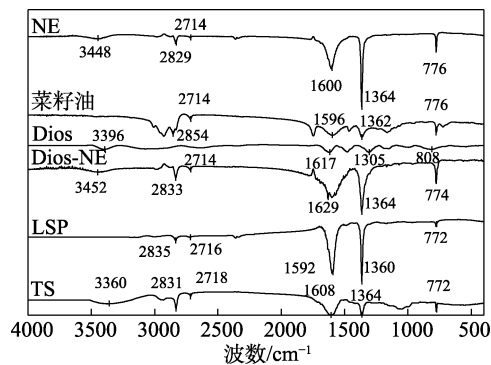


图 2 TS、LSP、Dios-NE、Dios、菜籽油和空白乳液的 FTIR 谱图

Fig. 2 FTIR spectra of TS, LSP, Dios-NE, Dios, rapeseed oil and blank emulsion

Dios-NE、NE、菜籽油、TS 和 LSP 的 FTIR 谱图均在 3050~2800  $\text{cm}^{-1}$  处出现甲基和亚甲基的伸缩振动峰, 峰强度大小排序为菜籽油>TS>Dios-NE>NE>LSP, 且除了 Dios 外其他 5 个样品均约在 2700  $\text{cm}^{-1}$  处出现吸收峰, 表明样品中含有饱和烃链或醛基化合物。Dios 的 FTIR 谱图中, 3396  $\text{cm}^{-1}$  处峰为酚—OH 的伸缩振动, 由于氢键 O—H 基团的拉伸振动, 在 NE 和 Dios-NE 的 FTIR 谱图中均存在

3500~3300  $\text{cm}^{-1}$  内的宽峰, 该峰通常与水与乳化剂之间形成的强分子内/分子间氢键有关<sup>[32]</sup>。与 TS 相比, NE 和 Dios-NE 的 FTIR 谱图吸收峰发生了蓝移 (从 3360  $\text{cm}^{-1}$  移到 3448 和 3452  $\text{cm}^{-1}$ ), 推测乳化剂和菜籽油之间的相互作用导致乳化剂官能团特征峰的移动<sup>[33]</sup>。LSP 的 FTIR 谱图中, 1629  $\text{cm}^{-1}$  处峰为蛋白质的肽键振动, 1617 和 1305  $\text{cm}^{-1}$  处峰分别为苯环骨架振动和羧酸官能团的 C=O 伸缩振动, 证明材料都带有一定酸性, Dios-NE 的 FTIR 谱图中, 1629、1364  $\text{cm}^{-1}$  处也有吸收峰, 但峰位发生了移动, 这可能是含有 Dios 的菜籽油和乳化剂之间极性和表面能作用导致 O—H 拉伸形成的。NE 的 FTIR 谱图中, 1600、1364  $\text{cm}^{-1}$  处也有吸收峰, 但峰位发生了移动且峰强都低于 Dios-NE, 这可能与 LSP、TS 和菜籽油有关。值得注意的是, NE 和 Dios-NE 在 800  $\text{cm}^{-1}$  附近吸收峰的强度均高于菜籽油、TS、LSP 和 Dios, 表明四者之间发生了一定的相互作用, 增强了苯环邻二取代的 C—H 面外弯曲振动, 同时说明乳液的包埋效果良好。NE 和 Dios-NE 的 FTIR 谱图中, 未观察到新的吸收峰, 表明菜籽油、TS、LSP 和 Dios 之间没有形成共价键<sup>[34]</sup>。

### 2.2.2 SEM

图 3 为 NE 和 Dios-NE 的 SEM 图。

从图 3 可以看出, NE 颗粒分布相对松散, 存在明显界面分离现象, 可能导致活性成分易泄漏<sup>[35-36]</sup>; 局部区域存在微米级聚集体 (127  $\mu\text{m}$ ), 可能影响其

功能特性; NE 冻干物在 10 kV 高真空条件下〔工作距离 (WD)=9.130 mm〕出现表面塌陷, 表明其机械强度较低 (图 3a)。相较而言, Dios-NE 的冻干物呈现更致密且连续的结构 (图 3b), 表明 Dios 被有效包埋于复配乳液的基质中, 形成了均匀的复合体系; 其颗粒尺寸分布更为均匀 (约 30  $\mu\text{m}$ ), 且无明显团聚, 表明包埋过程通过分子间相互作用 (如氢键或疏水作用) 优化了分散稳定性; Dios-NE 冻干物在 10 kV 高真空条件下仍保持完整形貌 (WD=9.107 mm), 说明包埋体系通过刚性基质保护了 Dios 的结构稳定性, 减少了冻干过程中的相变损伤 (图 3b), 说明 Dios 对乳液的稳定性也起到了促进作用。

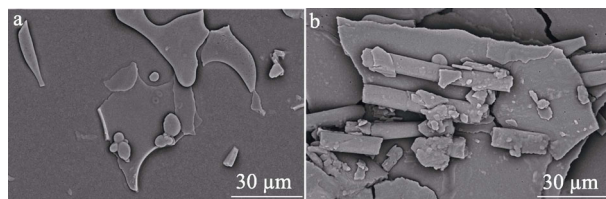
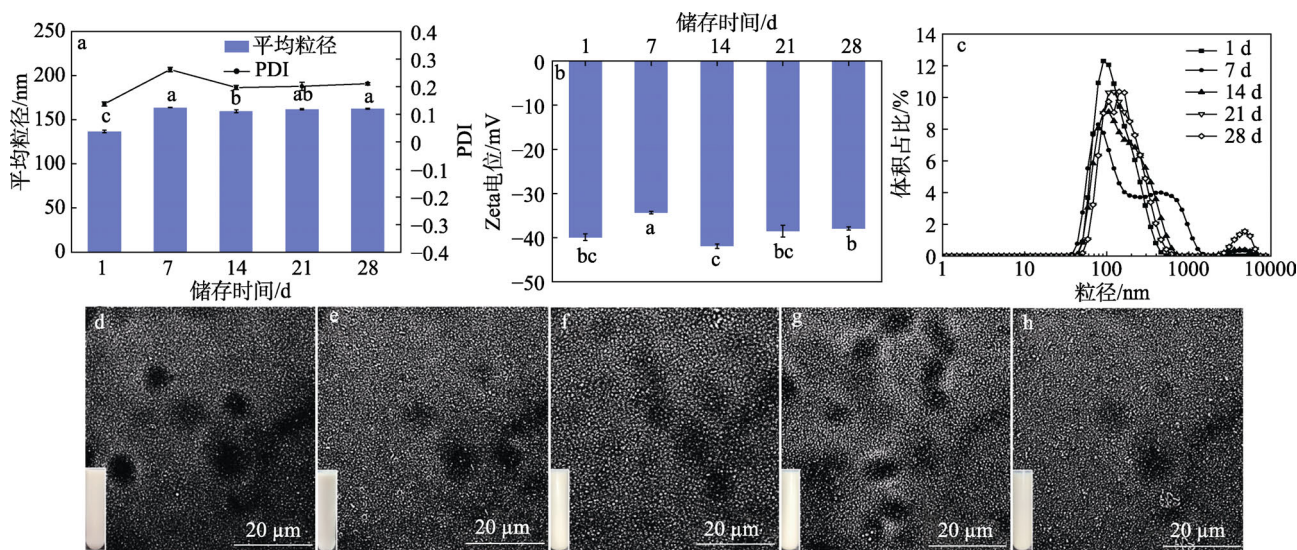


图 3 NE (a) 和 Dios-NE (b) 的 SEM 图  
Fig. 3 SEM images of NE (a) and Dios-NE (b)

### 2.3 储存稳定性分析

图 4~9 为 Dios-NE 和 NE 在 4、25 和 37  $^{\circ}\text{C}$  储存 1~28 d 的乳液平均粒径、PDI、Zeta 电位、粒径分布和微观结构的变化。



不同小写字母表示组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 下同

图 4 在 4  $^{\circ}\text{C}$  储存条件下, Dios-NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随储存时间的变化; Dios-NE 储存时间分别为 1 (d)、7 (e)、14 (f)、21 (g) 和 28 (h) d 的偏光显微镜图

Fig. 4 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of Dios-NE over storage time under 4  $^{\circ}\text{C}$  storage conditions; Polarized light microscopy images of Dios-NE stored for 1 (d), 7 (e), 14 (f), 21 (g) and 28 (h) d

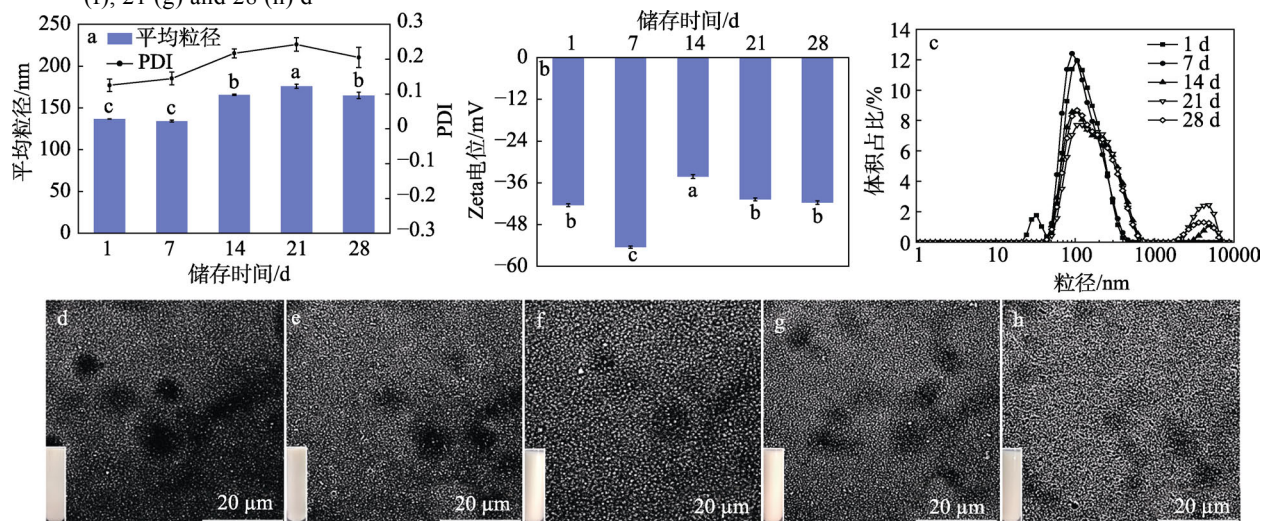


图 5 在 4  $^{\circ}\text{C}$  储存条件下, NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随储存时间的变化; NE 储存时间分别为 1 (d)、7 (e)、14 (f)、21 (g) 和 28 (h) d 的偏光显微镜图

Fig. 5 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of NE over storage time under 4  $^{\circ}\text{C}$  storage conditions; Polarized light microscopy images of NE stored for 1 (d), 7 (e), 14 (f), 21 (g) and 28 (h) d

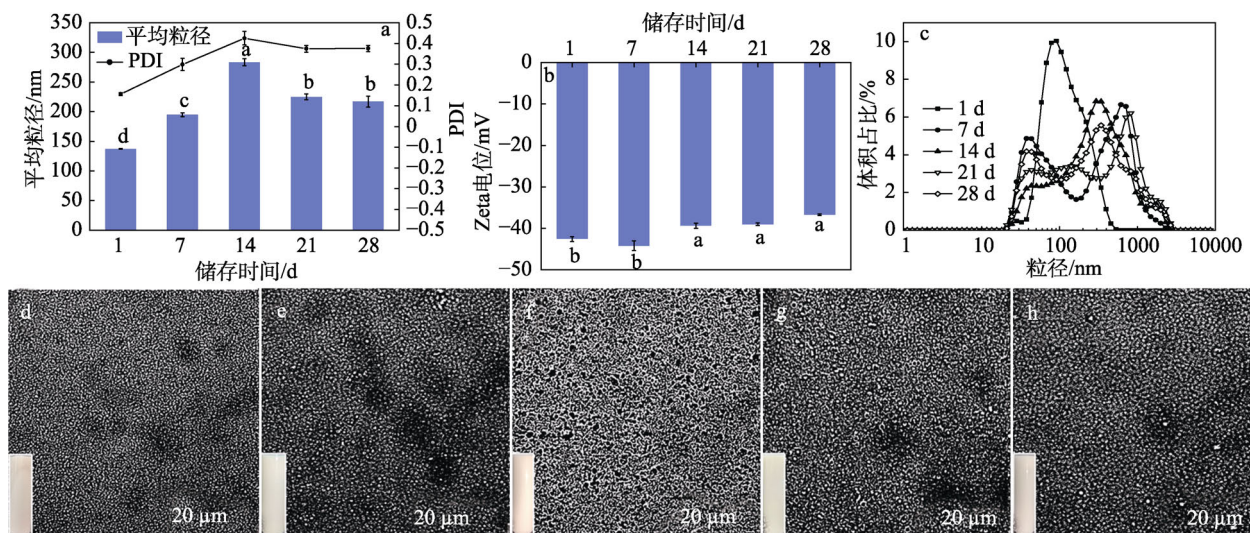


图 6 在 25 °C 储存条件下, Dios-NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随储存时间的变化; Dios-NE 储存时间分别为 1 (d)、7 (e)、14 (f)、21 (g) 和 28 (h) d 的偏光显微镜图

Fig. 6 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of Dios-NE over storage time under 25 °C storage conditions; Polarized light microscopy images of Dios-NE stored for 1 (d), 7 (e), 14 (f), 21 (g) and 28 (h) d

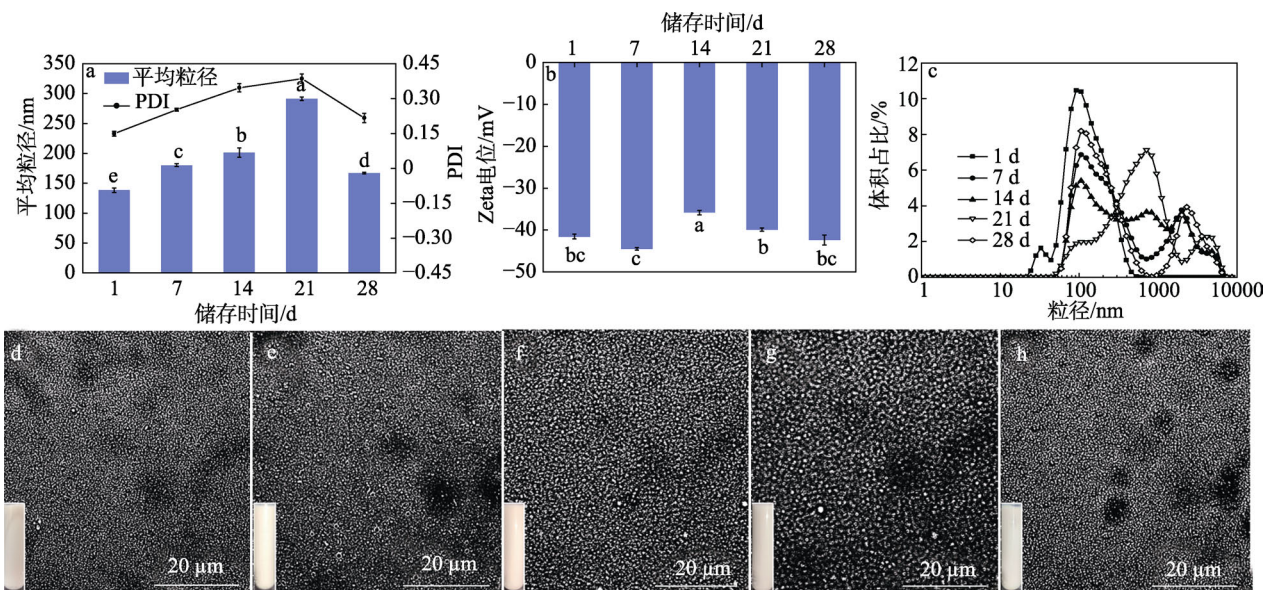
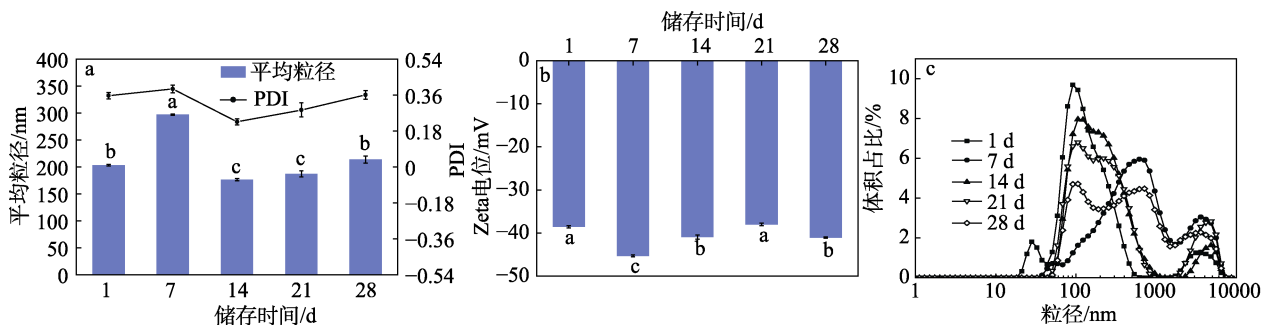


图 7 在 25 °C 储存条件下, NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随储存时间的变化; NE 储存时间分别为 1 (d)、7 (e)、14 (f)、21 (g) 和 28 (h) d 的偏光显微镜图

Fig. 7 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of NE over storage time under 25 °C storage conditions; Polarized light microscopy images of NE stored for 1 (d), 7 (e), 14 (f), 21 (g) and 28 (h) d



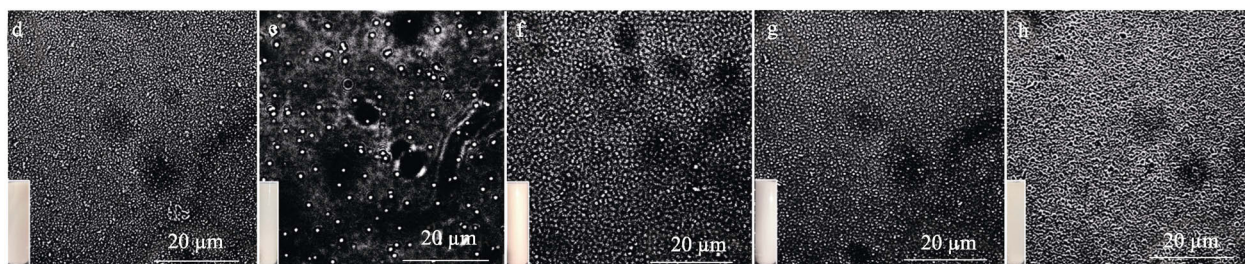


图 8 在 37 °C 储存条件下, Dios-NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随储存时间的变化; Dios-NE 储存时间分别为 1 (d)、7 (e)、14 (f)、21 (g) 和 28 (h) d 的偏光显微镜图

Fig. 8 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of Dios-NE over storage time under 37 °C storage conditions; Polarized light microscopy images of Dios-NE stored for 1 (d), 7 (e), 14 (f), 21 (g) and 28 (h) d

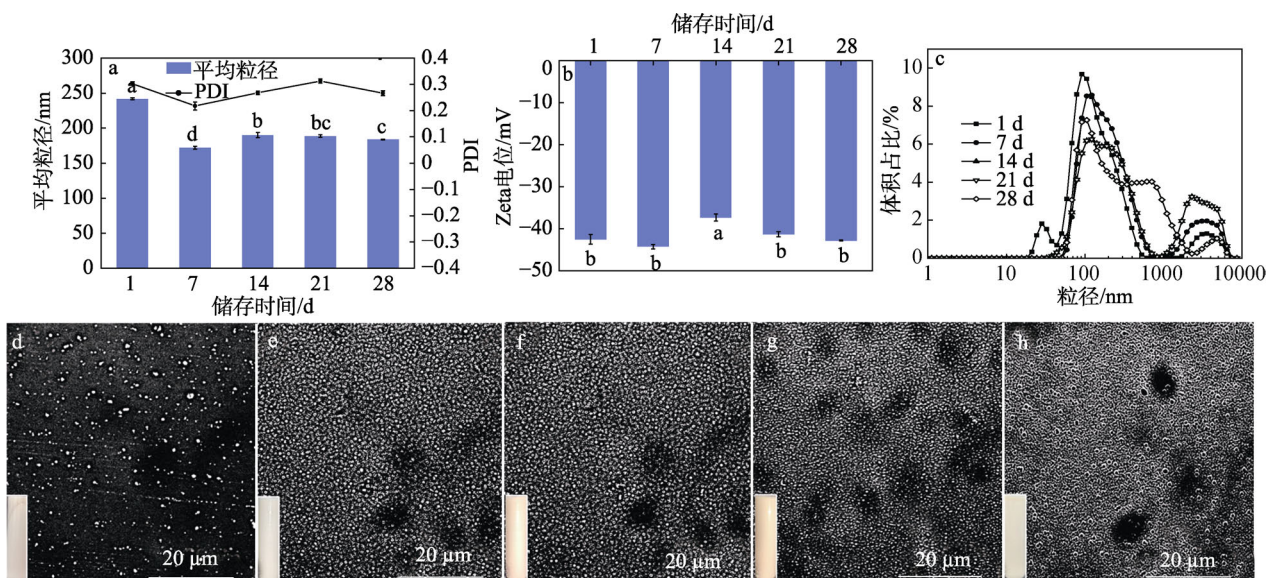


图 9 在 37 °C 储存条件下, NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随储存时间的变化; NE 储存时间分别为 1 (d)、7 (e)、14 (f)、21 (g) 和 28 (h) d 的偏光显微镜图

Fig. 9 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of NE over storage time under 37 °C storage conditions; Polarized light microscopy images of NE stored for 1 (d), 7 (e), 14 (f), 21 (g) and 28 (h) d

乳液的储存温度增加会导致乳液中的液滴吸收更多能量,使布朗运动增强,导致纳米乳液体系容易出现破乳、絮凝、凝聚和奥斯瓦尔德熟化等不稳定现象<sup>[37]</sup>。Zeta 电位是指纳米乳液液滴表面携带的电荷,通常其绝对值>30 被认为是乳液系统高稳定性的一种标志<sup>[38]</sup>。乳液封装效率的变化也可以反映纳米乳液的稳定性。在储存过程中,乳液系统的变化可以通过偏光显微镜直接观察。

从图 4 和图 5 可以看出,4 °C 时, Dios-NE (图 4) 和 NE (图 5) 的 4 个指标 (乳液平均粒径、PDI、Zeta 电位、粒径分布) 均无太大变化,呈现较好的稳定性。

从图 6 和图 7 可以看出,25 °C 时, Dios-NE (图 6a) 和 NE (图 7a) 的平均粒径与 PDI 分别第 14 和 21 d 达到最高点,之后都有一定程度的回落,但粒径的增大并不是乳液自身的破乳导致,而

可能是因为,包埋体系的亲水性基质 (如多糖-蛋白网络) 在吸湿后形成局部高水分微区,且温度适宜,激活休眠真菌孢子。同时,缺乏功能性抑菌成分 (如酚酸或疏水屏障) 导致微生物代谢产物 (如超氧阴离子、黑色素) 积累<sup>[39]</sup>,氧化蛋白质中的氨基酸残基 (如色氨酸、酪氨酸等) 导致蛋白质构象改变、疏水基团暴露,进而使蛋白质从界面解吸或聚集,界面膜强度降低,削弱乳化稳定性<sup>[40]</sup>。Dios-NE (图 6b) 和 NE (图 7b) Zeta 电位的绝对值随储存时间的增加大致呈先升高后下降趋势,这可能是因为,真菌的代谢活动产生了某些物质改变了乳液的环境,影响了表面电位和乳液稳定。Dios-NE (图 6c) 和 NE (图 7c) 的粒径分布随着储存时间的增加均呈现由小粒径单峰向双峰变化的趋势;偏光显微镜图 (图 6d~h 和图 7d~h) 中的白点随储存时间的增加先由密集且细小逐渐变大,随后明显减小。

从图 8 和图 9 可以看出,Dios-NE 在 37 °C 储存条件下,平均粒径与 PDI 随储存时间延长均呈先升高后骤降再逐渐上升的变化,而 NE 呈先下降后趋于平稳的趋势,但仍处于较大的粒径,这主要是因为较高温度下储存时,乳液体系中油相液滴的热运动加剧,导致紧密堆积的液滴逐渐分散。因此,Dios-NE 和 NE 在 37 °C 储存条件 28 d 后均出现了分层现象。

#### 2.4 热稳定性分析

图 10 为 Dios-NE 在不同温度下的乳液平均粒径、PDI、Zeta 电位、粒径分布和储存 28 d 时微观结构的变化。

纳米乳液是一个热力学不稳定系统,且该系统在加工、储存和使用过程中会遇到不同的温度处理<sup>[41]</sup>。

从图 10 可以看出,储存温度为 30、70、80 °C

时,乳液平均粒径、PDI 与粒径分布较为理想;而在 40、50、60、90 °C 下,乳液平均粒径与 PDI 有一定的增大,粒径分布也有偏移。这是因为,90 °C 热条件诱导蛋白质变性,导致界面蛋白质结构展开并暴露疏醇和非极性基团<sup>[42]</sup>。随着储存温度的增加,不同温度下处理的 Dios-NE 的偏光显微镜图中仍然可以观察到 Dios-NE 的液滴较小且均匀分布。这是因为,包被的油滴具有相对较高的负电荷,因此,可以预测它们之间存在相对较强的静电排斥。Dios-NE 在所测温度下都保持相对较低的平均粒径,这表明其静电排斥力足够大,能够克服其他吸引力的相互作用,从而维持较小的粒径<sup>[43]</sup>。Dios-NE 在 30~90 °C 热处理后,偏光显微镜下液滴仍细小均匀,Zeta 电位绝对值始终>30 mV,表明体系具备维持稳定的静电排斥基础。

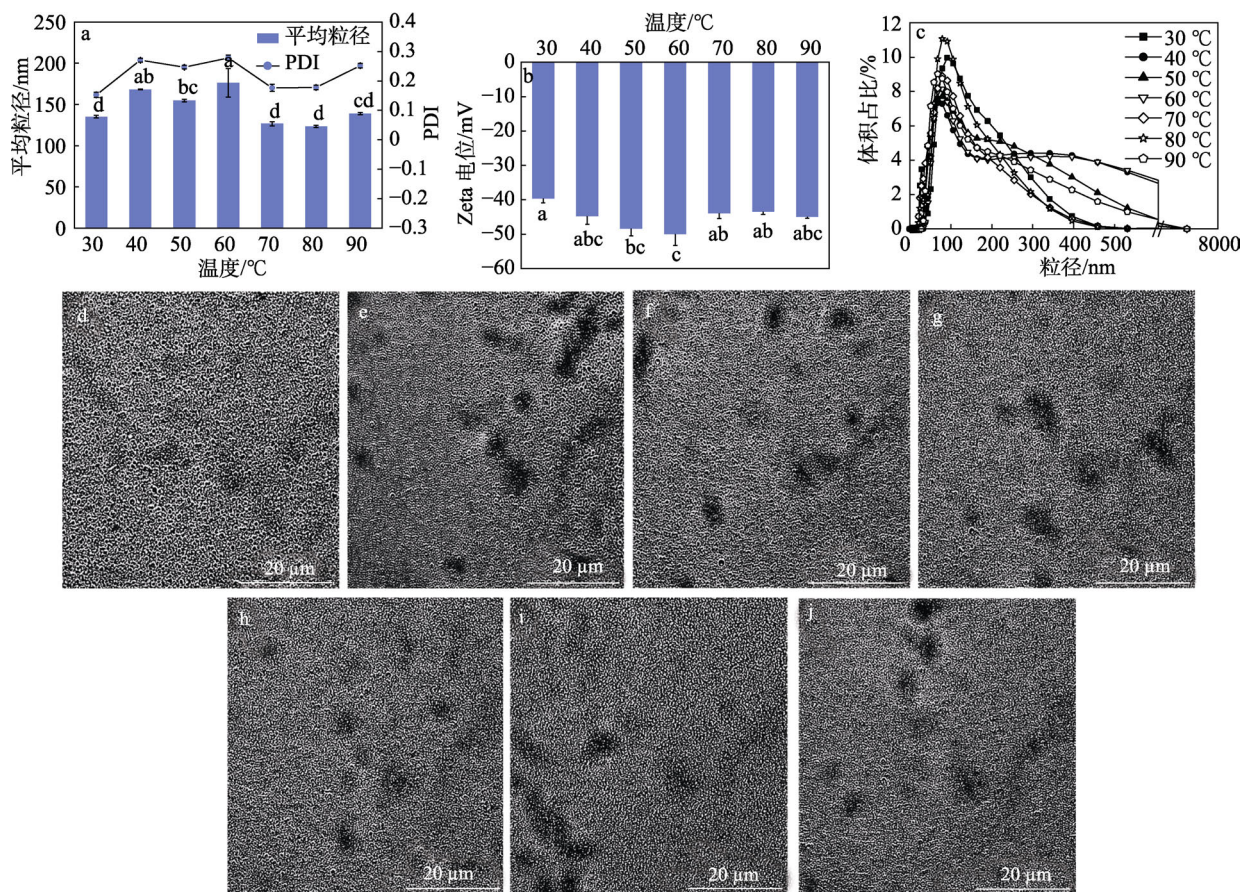


图 10 储存 28 d 条件下, Dios-NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随储存温度的变化; Dios-NE 在不同温度 (30、40、50、60、70、80 和 90 °C) 的偏光显微镜图 (d~j)

Fig. 10 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of Dios-NE over storage time under 28-day storage conditions; Polarizing microscope images of Dios-NE at different temperatures (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 °C) (d~j)

#### 2.5 pH 稳定性分析

图 11 为不同 pH 的 Dios-NE 在 25 °C 静置 24 h 后的平均粒径、PDI、Zeta 电位、粒径分布和微观结构的变化。

调节 pH 后的 Dios-NE 需要静置 24 h, 因为 pH 诱导的离子化可能是一个缓慢的过程<sup>[44]</sup>。从图 11 可以看出, 在 pH=5~8 范围内, Dios-NE 的平均粒径没有显著变化, 但当 pH 为 2~4 或 8~11 时, 平均粒

径与 PDI 发生显著的变化 (图 11a)。在 pH 为 5~8 范围内, 粒径分布在小粒径范围内有单峰分布, 但当 pH 为 2~4 或 8~11 时, 分布图的峰值下降, 且峰整体位置向大粒径方向移动 (图 11c)。当 Dios-NE 的  $\text{pH} \leq 7$  时, 其液滴的 Zeta 电位绝对值都  $> 30 \text{ mV}$  且无显著差异; 当 Dios-NE 的  $\text{pH} > 7$  后, Zeta 电位绝对值显著上升, 这可能是由碱性环境对乳液表面

电荷状态产生影响所致。在 pH 为 2~11 全范围内, Dios-NE 整体保持稳定。尽管在 pH 为 2~3 时出现部分油滴聚合形成大油滴, 但乳液未发生破乳、分层或整体失稳; Zeta 电位绝对值始终  $> 30 \text{ mV}$ , 粒径分布及显微图像显示液滴总体均匀细小 (图 11d~m)。因此, Dios-NE 在 pH 为 2~11 范围内仍可判定为稳定体系。

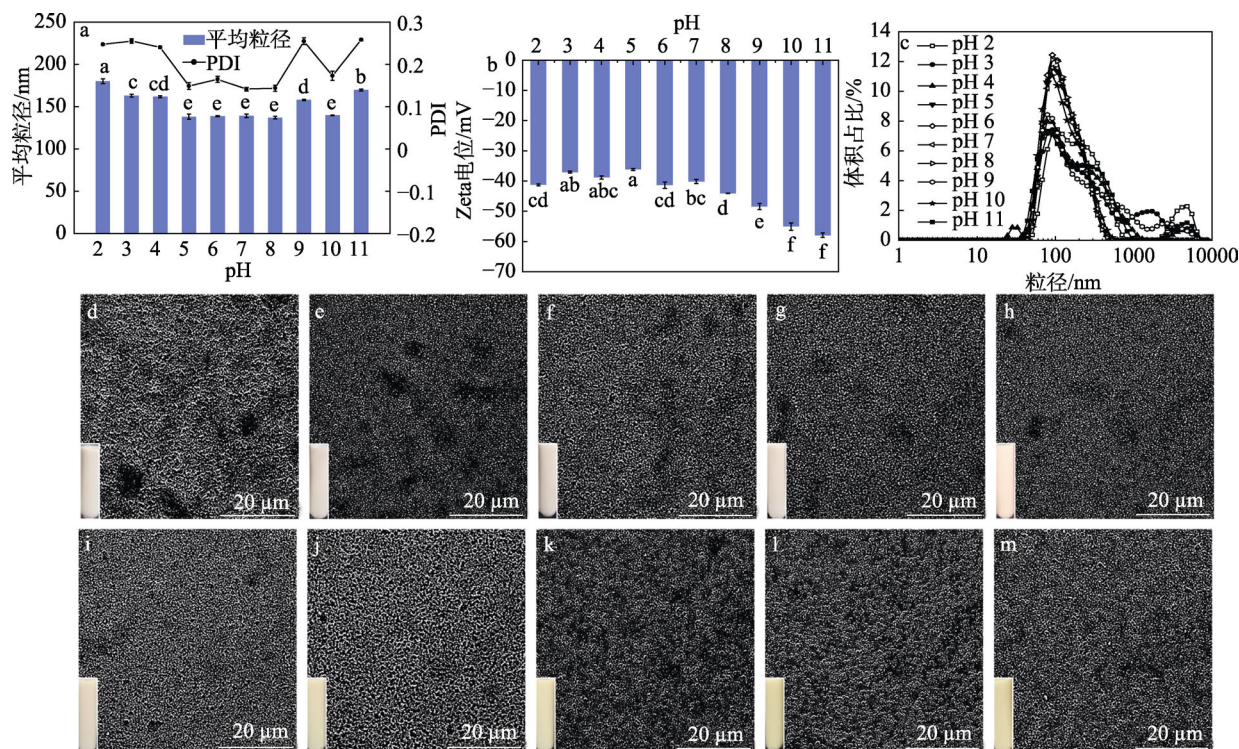


图 11 Dios-NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随 pH 的变化; Dios-NE 在不同 pH (2、3、4、5、6、7、8、9、10、11) 的偏光显微镜图 (d~m)

Fig. 11 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of Dios-NE with respect to pH; Polarizing microscope images of Dios-NE at different pH (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11) (d~m)

## 2.6 离子稳定性分析

图 12 为不同 NaCl 浓度处理的 Dios-NE 在  $25^\circ\text{C}$  静置 24 h 后的平均粒径、PDI、Zeta 电位、粒径分布和微观结构的变化。

NaCl 是常见的食品添加剂, 同时存在于人的胃肠道中, 其浓度可能会影响药物递送系统在产品中或摄入后的功能表现<sup>[45]</sup>。

从图 12 可以看出, 当乳液中加入相同体积的去离子水 (NaCl 浓度为  $0 \text{ mmol/L}$ ) 时, 粒径增大, 且呈现双峰状态, 这可能是因为, 去离子水影响乳液表面的离子排列, 稀释了乳化剂, 影响其浓度; 当 NaCl 浓度  $> 10 \text{ mmol/L}$  后, 乳液平均粒径和 PDI 显著升高, 乳液粒径向大粒径方向偏移, 并逐渐由单峰分布转变为双峰分布。当 NaCl 浓度为  $0$ 、 $10 \text{ mmol/L}$  时, 乳液平均粒径与 PDI 都显著减小, 可能是在一定浓度的离子强度下, 溶液中的离子作

为桥梁连接两个或多个乳液液滴, 形成离子桥联结构, 从而稳定乳液。当 NaCl 浓度  $> 10 \text{ mmol/L}$  后, 小油滴逐渐增大。这是因为, 在高 NaCl 浓度下, 静电屏蔽效应会导致液滴的聚集, 即液滴表面周围带有相反电荷的离子聚集, 从而减弱了液滴之间的静电排斥<sup>[46-47]</sup>。但与其他乳液不同的是, Dios-NE 的 Zeta 电位绝对值随着离子浓度的升高而增加, 这是因为, 在乳液中加入 NaCl 溶液后,  $\text{Na}^+$  选择性吸附在 LSP 与 TS 颗粒表面, 导致颗粒表面电荷量增加, 从而使其 Zeta 电位绝对值增加。Dios-NE 在整个测试离子强度范围内整体保持稳定。NaCl 浓度  $\leq 10 \text{ mmol/L}$  时稳定性优异; NaCl 浓度  $> 10 \text{ mmol/L}$  时虽粒径增大、出现聚集, 但未发生破乳或分层, Zeta 电位持续增强。因此, 在  $0 \sim 50 \text{ mmol/L}$  NaCl 浓度下, Dios-NE 表现出较好的稳定性。

## 2.7 抗氧化能力分析

### 2.7.1 DPPH 自由基清除能力

图 13a 为不同质量浓度 Dios-NE 的 DPPH 自由基清除率。

从图 13a 可以看出, 当 Dios-NE 质量浓度从 0.6 mg/L 增至 1.2 mg/L 时, DPPH 自由基清除率由 41% 快速提升至 65%; 而当 Dios-NE 质量浓度继续增至 6 mg/L 时, 清除率仅缓慢上升至 76%。随着 Dios-NE 质量浓度的增加, 其 DPPH 自由基清除率

呈现先快速上升后缓慢上升的趋势, 表明 Dios-NE 对 DPPH 自由基的清除效果与 Dios-NE 质量浓度呈正相关。这是因为, 当乳液体系中的 DPPH 自由基扩散至油核时, Dios 可快速与其反应, 终止链式反应传播。Dios 的酚羟基结构是活性核心, 可通过提供氢原子或电子与 DPPH 自由基结合, 生成稳定产物, 从而抑制氧化反应。LSP 通过稳定界面膜减少油脂氧化, 而 Dios 在油核中清除渗透至内部的自由基, 二者形成“界面-油核”双层防护体系。

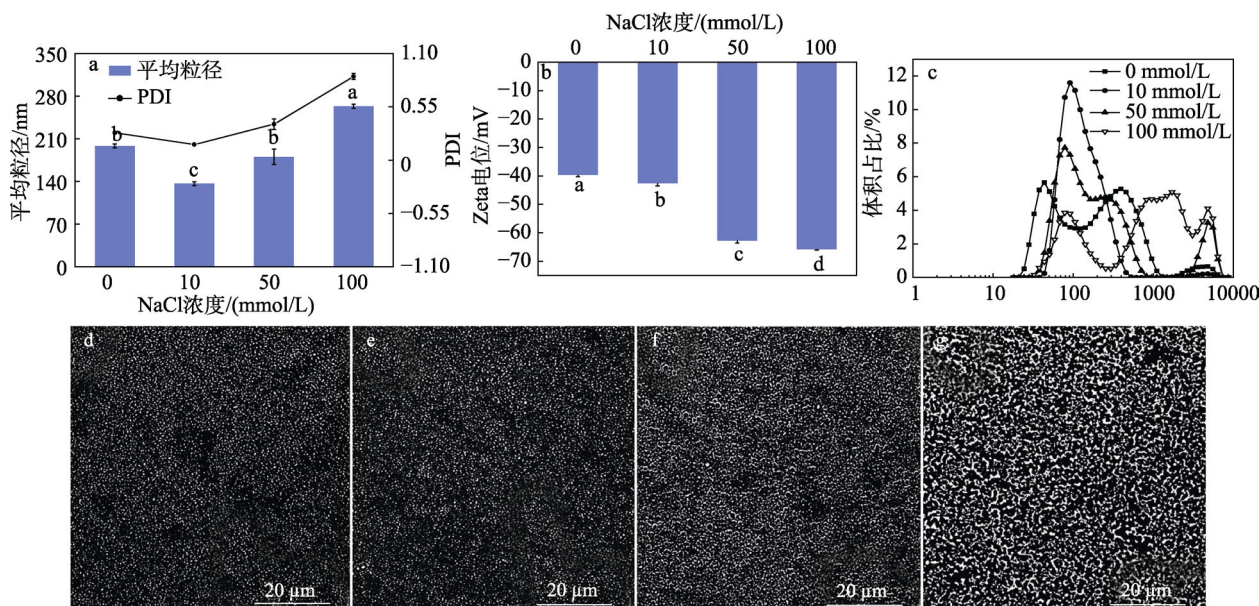


图 12 Dios-NE 的平均粒径和 PDI (a)、Zeta 电位 (b) 和粒径分布 (c) 随 NaCl 浓度的变化; Dios-NE 在不同 NaCl 浓度 (0、10、50、100 mmol/L) 的偏光显微镜图 (d~g)

Fig. 12 Variations in average particle size and PDI (a), Zeta potential (b) and particle size distribution (c) of Dios-NE with respect to NaCl concentration; Polarizing microscope images of Dios-NE at different NaCl concentrations (0, 10, 50, 100 mmol/L) (d~g)

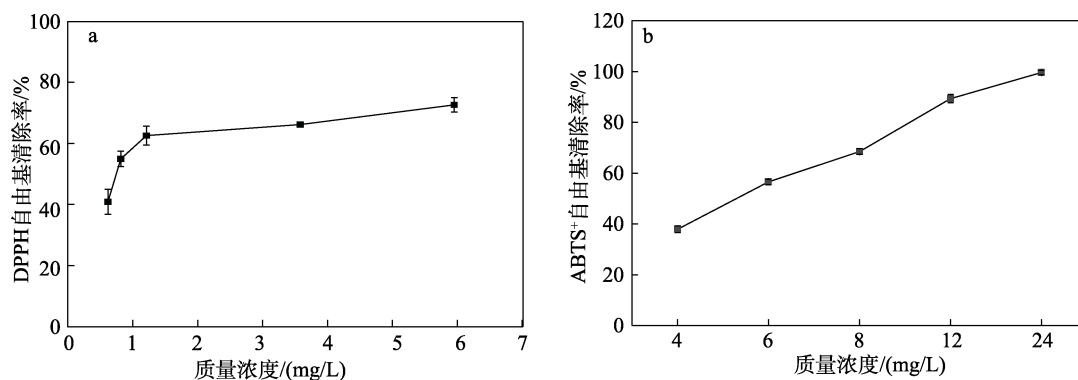


图 13 不同质量浓度 Dios-NE 的 DPPH 自由基 (a) 和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率 (b)

Fig. 13 Scavenging rates of DPPH radicals (a) and ABTS<sup>+</sup> radicals (b) by Dios-NE at different mass concentrations

### 2.7.2 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力

图 13b 为不同质量浓度 Dios-NE 的 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率。

从图 13b 可以看出, Dios 包埋体系的 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率随 Dios-NE 质量浓度的升高呈显著递增

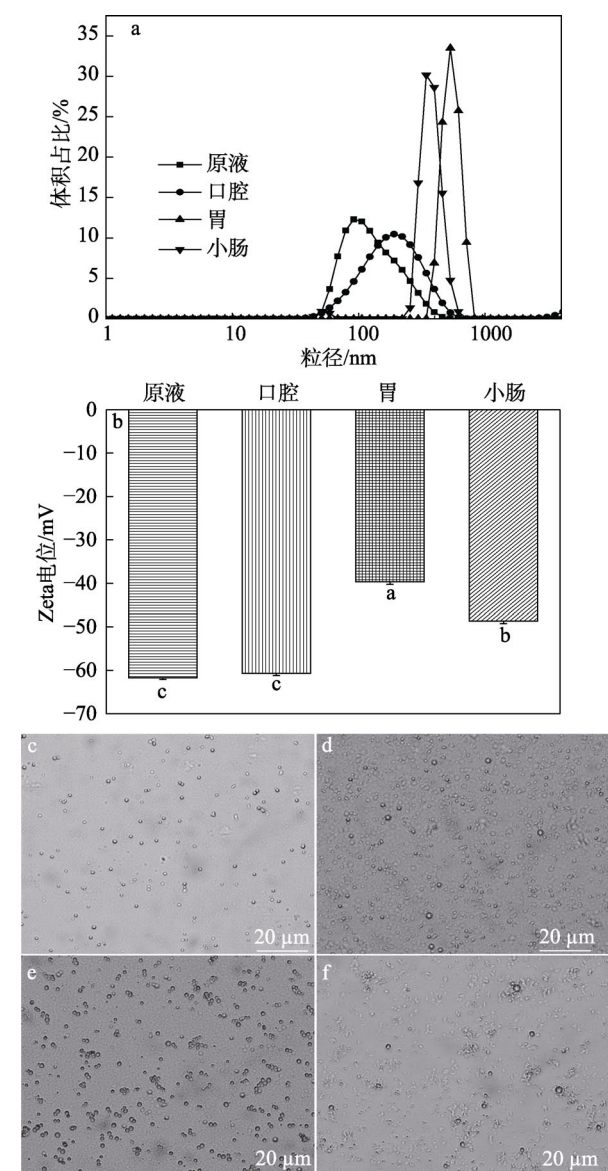
的趋势, 当 Dios-NE 质量浓度为 4 mg/L 时, ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率为 38%; 当 Dios-NE 质量浓度为 24 mg/L 时, ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率可达 99%。表明, Dios-NE 的 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除活性与质量浓度呈相关性。Dios-NE 质量浓度较低 (4~8 mg/L) 时, 清

除率较低, 但呈线性上升, 表明包埋体系在低载量时仍能有效释放 Dios, 且未因界面束缚导致活性损失。Dios-NE 质量浓度较高 (12~24 mg/L) 时, ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率显著提升并接近平台期, 表明 Dios-NE 的载药能力接近饱和, 但未出现因过载导致的聚集或活性下降, 证明体系具有优异的负载稳定性。

## 2.8 Dios-NE 通过 GIT 模型的体外行为分析

### 2.8.1 模拟消化结果

图 14 为 Dios-NE 在模拟体外消化过程的每个阶段的乳液平均粒径、PDI、Zeta 电位和微观结构的变化。



c—原液; d—口腔; e—胃; f—小肠; 图中不同小写字母表示数据间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同

图 14 Dios-NE 在模拟体外消化过程的每个阶段的乳液粒径分布曲线(a)、Zeta 电位(b)和微观结构(c~f)的变化

Fig. 14 Variations in emulsion particle size profiles (a), Zeta potential (b) and microstructure (c~f) of Dios-NE at each stage of the simulated *in vitro* digestion process

从图 14 可以看出, 在初始阶段, Dios-NE 的粒径相对较小, 具有单峰粒径分布 (图 14a)。Dios-NE 中液滴的 Zeta 电位为  $-61.7$  mV (图 14b), 表示体系具有较好的物理稳定性。Dios-NE 中的液滴相对较小且分布均匀, 这是液滴之间的高静电排斥带来絮凝稳定所致。在口服阶段, Dios-NE 的粒径显著增加, 这与 CLSM 观察到的液滴聚集一致。这种现象是 SIF 中黏蛋白引起的脂肪滴耗竭和桥接絮凝的结果<sup>[48-49]</sup>。进入口服阶段后, Dios-NE 液滴的表面电荷降低, 这可归因于矿物离子的静电屏蔽效应和黏蛋白分子在液滴上的吸附<sup>[50]</sup>。这一现象与文献相似, 在口服条件下, 纳米乳液的表面电荷从  $-62.0$  mV 变化至  $-60.6$  mV<sup>[51]</sup>。在暴露于模拟的胃条件后, Dios-NE 的粒径显著增大, 这可能是由于, 胃部酸性条件引起疏水区域的暴露导致乳液聚集。此外, 观察到 Dios-NE 的表面电荷绝对值明显降低, 这可能是因为, SGF 中存在丰富的氢离子、其他带电物种以及矿物离子<sup>[52]</sup>。Dios-NE 含有相对较大的聚集体 (图 14b), 这与平均粒径的增加是一致的。在小肠阶段, Dios-NE 的粒径分布较宽, 平均粒径较大, 这是因为, 混合胶束、囊泡、钙盐和未消化的菜籽油滴同时存在。由于在消化的 Dios-NE 中出现了由胆汁酸和游离脂肪酸等阴离子物种组成的胶体颗粒<sup>[53]</sup>, 其表面负电荷 ( $-48.8$  mV) 较多。脂质消化的开始以附着在油滴表面的脂肪酶分子为标志, 然后催化三酰甘油分子的水解, 最终释放游离脂肪酸<sup>[29]</sup>。Dios-NE 的偏光显微镜图像中液滴逐渐变大且开始裂解变性, 表明脂滴被完全消化 (图 14c~f)。这种现象可能是因为, 随着消化环境的变化以及酶的加入, Dios-NE 中菜籽油以及乳化剂成分开始分解, 从而将 Dios 运送到小肠并促进了脂肪的消化。

### 2.8.2 脂质消化

图 15a 为模拟小肠消化阶段 Dios-NE 释放游离脂肪酸 (FFAs) 变化。

为了有效地从纳米乳液中释放负载的 Dios, 纳米乳液的脂质成分必须被胰脂肪酶消化和分解。因此, 乳化剂系统中脂质消化的程度是确保 Dios 释放和运输的关键。此前, 游离脂肪酸的释放率已被确定为影响  $\beta$ -胡萝卜素生物可利用性的重要参数<sup>[29]</sup>。从图 15a 可以看出, Dios-NE 组和对照组的 FFAs 释放率变化趋势是一致的。在最初的 20 min 内, FFAs 释放率迅速增加, 此后缓慢增加, 直到达到恒定的最终值。Dios-NE 的 FFAs 释放率显著高于对照组, 这可能是因为, Dios-NE 液滴的比表面积比对照组大, 增加了脂质和脂肪酶之间的接触面积, 可以促进脂质消化和随后 FFAs 的释放<sup>[29]</sup>。

### 2.8.3 生物可及率分析

图 15b 为消化的 Dios-NE 的生物可及率。

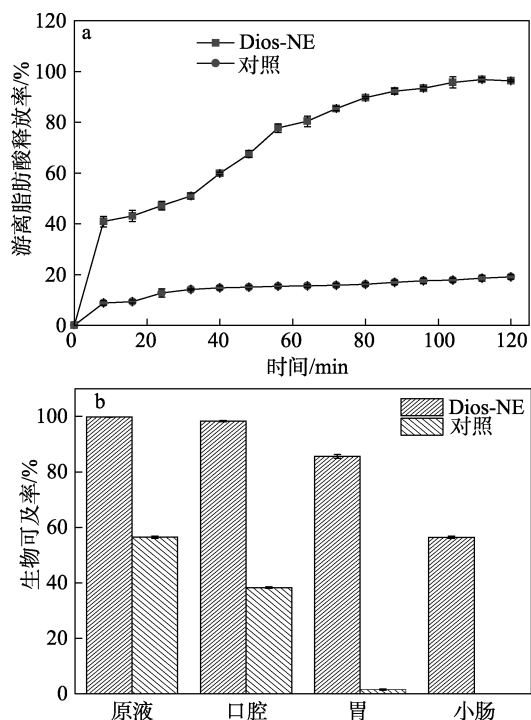


图 15 模拟小肠消化阶段 Dios-NE 释放 FFAs 变化 (a) 和消化的 Dios-NE 的生物可及率 (b)

Fig. 15 Variations in release of free fatty acids (a) and bioaccessibility of digested Dios-NE (b) during simulated small intestinal digestion phase

众所周知,油会被脂肪酶和胆汁盐水解,产生脂质消化产物,这些产物可以与胆汁盐和磷脂形成混合胶束<sup>[54]</sup>。由于这些胶束颗粒非常小,它们可以很容易地穿透黏液层<sup>[55]</sup>。因此,这种混合胶束可以溶解 Dios-NE 释放的 Dios 分子。从图 15b 可以看出,与自由悬浮的 Dios 相比,Dios 在纳米乳液递送系统中的包封使生物可利用性大大提高(小肠消化阶段最终生物可及率为 57%),且在胃与小肠阶段混合胶束中 Dios 的质量浓度保留率分别为 87%与 57%。对照组的生物可利用性较低,这可能是因为,大部分菜籽油未被消化,且缺乏足够的胶束来溶解 Dios。因此,Dios 很大一部分仍被困在未消化的菜籽油相中。另一种可能性是,在恶劣的胃条件下,对照组的 Dios 没有受到保护,导致消化后 Dios 含量相对较低。相比之下,纳米乳液保护了 Dios 分子。这与文献[56]报道的姜黄素在乳液中的生物可利用性高于散装中链甘油三酯油的结论相似。

## 3 结论

本文通过利用可食用组分之间氢键-静电相互作用分子自组装构建基于 LSP/TS 复配乳液的 Dios 递送体系。

(1) Dios-NE 粒径分布均匀,粒径为 $(138.8 \pm 0.2)$  nm, PDI 为  $0.147 \pm 0.02$ ,体系分散性良好。

(2) 环境稳定性优异,在 pH=2~11、NaCl 浓度为 0~50 mmol/L 和温度为 30~90 °C 的条件下,Dios-NE 的粒径与 Zeta 电位稳定。

(3) 质量浓度为 24 mg/L 的 Dios-NE 对 ABTS<sup>+</sup> 自由基的清除率达 99%,抗氧化能力显著提升。

(4) Dios-NE 的体外模拟消化结果显示,其可以实现梯度缓释,胃液阶段混合胶束中 Dios 的质量浓度保留率为 87%,小肠阶段为 57%,生物可及率为 57%。

本文只基于体外实验,未来需结合体内实验评估生物利用度。为推动实际应用,进一步优化工业化生产工艺。本文制备的 Dios-NE 可以为绿色安全天然递送系统开发提供重要参考,有望推动其在功能性食品和口服药物递送领域的广泛应用。

### 参考文献:

- [1] SUN Z H, LIU K, LIANG C P, *et al.* Diosmetin as a promising natural therapeutic agent: *In vivo*, *in vitro* mechanisms, and clinical studies[J]. *Phytotherapy Research: PTR*, 2024, 38(7): 3660-3694.
- [2] CATTIVELLI A, ZANNINI M, ANGELI M D, *et al.* Bioaccessibility of flavones, flavanones, and flavonols from vegetable foods and beverages[J]. *Biology*, 2024, 13(12): 1081.
- [3] CRISTIAN D, ELHAM A, STEFAN D, *et al.* Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds: Overview and assessment by *in vitro* methods[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19(6): 2862-2884.
- [4] WANG Y H, WAN Z L, YANG X Q, *et al.* Colloidal complexation of zein hydrolysate with tannic acid: Constructing peptides-based nanoemulsions for alga oil delivery[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 54: 40-48.
- [5] ADJIONU R, DORAN G, TORLEY P, *et al.* Formation of whey protein isolate hydrolysate stabilised nanoemulsion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 41: 169-177.
- [6] WANG M (王婉), CHEN S (陈爽), LIU H E (刘会娥), *et al.* Effect of cosurfactant and oil/water volume ratio on the phase behavior of microemulsion[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(8): 1645-1652.
- [7] WANG Y H, WANG J M, YU X Q, *et al.* Amphiphilic zein hydrolysate as a novel nano-delivery vehicle for curcumin[J]. *Food & Function*, 2015, 6(8): 2636-2645.
- [8] ZHUANG W J, LU X, ZHENG Y F, *et al.* Immunomodulatory effects of lotus seed (*Nelumbo nucifera Gaertn.*) peptides on macrophages in mice[J]. *Food Bioscience*, 2024, 57: 103494.
- [9] LIU Q R, QI J R, YIN S W, *et al.* The influence of heat treatment on acid-tolerant emulsions prepared from acid soluble soy protein and soy soluble polysaccharide complexes[J]. *Food Research International*, 2016, 89(P1): 211-218.
- [10] ALBANO K M, CAVALLIERI A L F, NICOLETTI V R. Electrostatic interaction between soy proteins and pectin in O/W emulsions stabilization by ultrasound application[J]. *Food Biophysics*, 2020, 15(3): 1-16.
- [11] LI L J, GENG M J, TAN X Y, *et al.* Insight on the interaction between soybean protein isolate and ionic/non-ionic polysaccharides: Structural analysis, oil-water interface properties investigation and double emulsion formation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 150: 109754.
- [12] ZHANG L N, LIANG R W, LI L. The interaction between anionic polysaccharides and legume protein and their influence mechanism on emulsion stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 131: 107814.

- [13] WANG S N, YANG J J, SHAO G Q, *et al.* pH-induced conformational changes and interfacial dilatational rheology of soy protein isolated/soy hull polysaccharide complex and its effects on emulsion stabilization[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 109: 106075.
- [14] XU Y, YANG N, YANG J X, *et al.* Protein/polysaccharide intramolecular electrostatic complex as superior food-grade foaming agent[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105474.
- [15] HUAN S Q, ZHU Y, XU W Y, *et al.* Pickering emulsions via interfacial nanoparticle complexation of oppositely charged nanopolysaccharides[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2021, 13(10): 12581-12593.
- [16] ZHANG X Z, WU Y H, LI Y, *et al.* Effects of the interaction between bacterial cellulose and soy protein isolate on the oil-water interface on the digestion of the Pickering emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 126: 107480.
- [17] LIU Y N, GENG Y Y, ZHANG S X, *et al.* Quantitative analysis and screening for key genes related to tea saponin in *Camellia Oleifera* Abel. seeds[J]. Food Bioscience, 2022, 49: 101901.
- [18] SUN S, ZHANG C H, LI S H, *et al.* Improving emulsifying properties using mixed natural emulsifiers: Tea saponin and golden pompano protein[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2023, 656: 130311.
- [19] SUN Y, ZOU M T, LI C Y, *et al.* The solubilization of naphthalene using tea saponin as a biosurfactant: Effect of temperature[J]. Journal of Molecular Liquids, 2021, 335: 116475.
- [20] FENG J, CHEN Y, LIU X, *et al.* Efficient improvement of surface activity of tea saponin through Gemini-like modification by straightforward esterification[J]. Food Chemistry, 2015, 171: 272-279.
- [21] SHARMA K, KAUR R, KUMAR S, *et al.* Saponins: A concise review on food related aspects, applications and health implications [J]. Food Chemistry Advances, 2023, 2: 100191.
- [22] ZHAO S Q, LI Y X, LIU Q, *et al.* Characterization, release profile, and antibacterial properties of oregano essential oil nanoemulsions stabilized by soy protein isolate/tea saponin nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 151: 109856.
- [23] YAN S Z, XU J W, LIU G N, *et al.* Emulsions co-stabilized by soy protein nanoparticles and tea saponin: Physical stability, rheological properties, oxidative stability, and lipid digestion[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132891.
- [24] LIU X, LIU Y Y, MENG F J, *et al.* Oleogels by zein-tea saponin complex nanoparticles-stabilized Pickering emulsions templating and application as animal fat replacers in beef burger[J]. LWT, 2024, 203: 116328.
- [25] SUN Y N, ZHANG M, BHANDARI B, *et al.* Nanoemulsion-based edible coatings loaded with fennel essential oil/cinnamaldehyde: Characterization, antimicrobial property and advantages in pork meat patties application[J]. Food Control, 2021, 127: 108151.
- [26] MOGHADDASI F, HOUSAOUSAINDOKHT M R, DARROUDI M, *et al.* Synthesis of nano curcumin using black pepper oil by O/W nanoemulsion technique and investigation of their biological activities[J]. LWT, 2018, 92: 92-100.
- [27] CARPENTER J, GEORGE S, SAHARAN V K. Curcumin encapsulation in multilayer oil-in-water emulsion: Synthesis using ultrasonication and studies on stability and antioxidant and release activities[J]. Langmuir, 2019, 35(33): 10866-10876.
- [28] DAS S S, VERMA P R P, SINGH S K. Screening and preparation of quercetin doped nanoemulsion: Characterizations, antioxidant and anti-bacterial activities[J]. LWT, 2020, 124: 109141.
- [29] HU Y, WANG L, DAVID J M. Design, characterization and digestibility of  $\beta$ -carotene-loaded emulsion system stabilized by whey protein with chitosan and potato starch addition[J]. Food Chemistry, 2024, 440: 138131.
- [30] WANG R, ZHANG M, MUJUMDAR A S. Effect of food ingredient on microwave freeze drying of instant vegetable soup[J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(7): 1144-1150.
- [31] LI Q H, FU C L. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein[J]. Food Chemistry, 2004, 92(4): 701-706.
- [32] AYDOGDU A, RADKE C J, BEZCI S, *et al.* Characterization of curcumin incorporated guar gum/orange oil antimicrobial emulsion films[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 148: 110-120.
- [33] ROGERS M A, WRIGHT A J, MARANGONI A G. Engineering the oil binding capacity and crystallinity of self-assembled fibrillar networks of 12-hydroxystearic acid in edible oils[J]. Soft Matter, 2008, 4(7): 1483-1490.
- [34] SINGH V K, PANDEY P M, AGARWAL T, *et al.* Development of soy lecithin based novel self-assembled emulsion hydrogels[J]. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2016, 55: 250-263.
- [35] ZHANG Z, WANG Y, QIN B, *et al.* Novel poly(catechol-amine)-modified graphene oxide nanosheets for enhancing conventional heavy oil recovery[J]. Energy & Fuels, 2024, 38(12): 10778-10788.
- [36] LI M Y, LI X Y, REN H M, *et al.* Preparation and characterization of agarose-sodium alginate hydrogel beads for the co-encapsulation of lycopene and resveratrol nanoemulsion[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 277: 133753.
- [37] MCCLEMENTS D J. Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance[J]. Soft Matter, 2011, 7(6): 2297-2316.
- [38] SABET S, SEAL C K, SWEDLUND P J, *et al.* Depositing alginate on the surface of bilayer emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105385.
- [39] SHAHAN T A, SORENSON W G, LEWIS D M. Superoxide anion production in response to bacterial lipopolysaccharide and fungal spores implicated in organic dust toxic syndrome[J]. Environmental Research, 1994, 67(1): 98-107.
- [40] ZHANG M, FAN L P, LIU Y F, *et al.* Effects of proteins on emulsion stability: The role of proteins at the oil-water interface[J]. Food Chemistry, 2022, 397: 133726.
- [41] 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.
- [42] MA Y Q, SUN H X, ZHANG S S, *et al.* Structural modification of whey protein isolate via electrostatic complexation with *Tremella* polysaccharides and its effect on emulsion stability at pH 4.5[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 297: 139870.
- [43] TEO A, GOH K K T, WEN J, *et al.* Physicochemical properties of whey protein, lactoferrin and Tween 20 stabilised nanoemulsions: Effect of temperature, pH and salt[J]. Food Chemistry, 2016, 197(PA): 297-306.
- [44] SUN X X, PAN C Q, YING Z Y, *et al.* Stabilization of zein nanoparticles with *k*-carrageenan and tween 80 for encapsulation of curcumin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 146: 549-559.
- [45] SARI T P, MANN B, KUMAR R, *et al.* Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 540-546.
- [46] KOMAIKO J, SASTROSUBROTO A, MCCLEMENTS D J. Encapsulation of  $\omega$ -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: Sunflower phospholipids [J]. Food Chemistry, 2016, 203: 331-339.
- [47] ZHAO G L, WANG S N, YANG L N, *et al.* Stability of electrostatically stabilized Pickering emulsion of silica particles and soy hull polysaccharides: Mechanism of pH and ionic strength[J]. Food Chemistry, 2025, 471: 142804.
- [48] HU Y Y, LI C M, TAN Y B, *et al.* Insight of rheology, water distribution and *in vitro* digestive behavior of starch based-emulsion gel: Impact of potato starch concentration[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 132: 107859.

- [4] YU X W, MANTHIRAM A. Recent advances in lithium-carbon dioxide batteries[J]. *Small Structures*, 2020, 1(2): 2000027.
- [5] TSENG C M, HUANG C C, PAI J Y, *et al.* Co single atom-FeCo alloy-carbon nanotube catalysts on graphene for lithium-oxygen and lithium-carbon dioxide batteries[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2023, 11(21): 8120-8130.
- [6] SHU C Z, WANG J Z, LONG J P, *et al.* Understanding the reaction chemistry during charging in aprotic lithium-oxygen batteries: Existing problems and solutions[J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(15): 1804587.
- [7] QIAO Y, YI J, WU S C, *et al.* Li-CO<sub>2</sub> electrochemistry: A new strategy for CO<sub>2</sub> fixation and energy storage[J]. *Joule*, 2017, 1(2): 359-370.
- [8] ZHANG X, ZHANG Q, ZHANG Z, *et al.* Rechargeable Li-CO<sub>2</sub> batteries with carbon nanotubes as air cathodes[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(78): 14636-14639.
- [9] ZHANG Z, ZHANG Q, CHEN Y N, *et al.* The first introduction of graphene to rechargeable Li-CO<sub>2</sub> batteries[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(22): 6550-6553.
- [10] LI J, QIN X, LI X, *et al.* Boron-doped carbon microspheres as a new catalyst for rechargeable Li-CO<sub>2</sub> batteries[J]. *Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures*, 2020, 28(8): 680-685.
- [11] XIAO Y, DU F, HU C G, *et al.* High-performance Li-CO<sub>2</sub> batteries from free-standing, binder-free, bifunctional three-dimensional carbon catalysts[J]. *ACS Energy Letters*, 2020, 5(3): 916-921.
- [12] BIE S Y, DU M L, HE W X, *et al.* Carbon nanotube@RuO<sub>2</sub> as a high performance catalyst for Li-CO<sub>2</sub> batteries[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(5): 5146-5151.
- [13] LI S W, YU D, ZHOU J W, *et al.* Carbon dioxide in the cage: Manganese metal-organic frameworks for high performance CO<sub>2</sub> electrodes in Li-CO<sub>2</sub> batteries[J]. *Energy & Environmental Science*, 2018, 11(5): 1318-1325.
- [14] ZHANG X, WANG C Y, LI H H, *et al.* High performance Li-CO<sub>2</sub> batteries with NiO-CNT cathodes[J]. *Journal of Materials Chemistry A, Materials for Energy and Sustainability*, 2018, 6(6): 2792-2796.
- [15] ZHOU L J, WANG H, ZHANG K, *et al.* Fast decomposition of Li<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/C actuated by single-atom catalysts for Li-CO<sub>2</sub> batteries[J]. *Science China Materials*, 2021, 64(9): 2139-2147.
- [16] OUBRAHAM A, IORDACHE M, MARIN E, *et al.* Preparation of copper-based catalysts for obtaining methanol by the chemical impregnation method[J]. *Materials*, 2024, 17(4): 847.
- [17] TONG Y C, FENG M, WEI J H, *et al.* One-step synthesis of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanomaterials by solvothermal method[J]. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2022, 95(7): 1086-1090.
- [18] TÜRK M, ERKEY C. Synthesis of supported nanoparticles in supercritical fluids by supercritical fluid reactive deposition: Current state, further perspectives and needs[J]. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2018, 134: 176-183.
- [19] LI S X, QIANG J W, LU L F, *et al.* *In situ* synthesis mechanism and photocatalytic performance of cyano-bridged Cu( I )/Cu( II ) ultrathin nanosheets[J]. *Front Chem*, 2022, 10: 911238.
- [20] ZHANG M, LIU J H, LI R P, *et al.* Comparative study on coprecipitation and microwave hydrothermal synthesis of magnesium aluminum spinel[J]. *Applied Physics A, Materials Science & Processing*, 2022, 128(7): 590.
- [21] LI F W, MACFARLANE D R, ZHANG J. Recent advances in the nanoengineering of electrocatalysts for CO<sub>2</sub> reduction[J]. *Nanoscale*, 2018, 1(14): 6235-6626.
- [22] JIMÉNEZ C, GARCÍA J, MARTÍNEZ F, *et al.* Deposition of Cu on CNT to synthesize electrocatalysts for the electrochemical reduction of CO<sub>2</sub>: Advantages of supercritical fluid deposition technique[J]. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2020, 166: 104999.
- [23] AYMONTIER C, DENIS A, ROIG Y, *et al.* Supported metal NPs on magnesium using SCFs for hydrogen storage: Interface and interphase characterization[J]. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2010, 53(1): 102-107.
- [24] BOZBAĞ S E, ERKEY C. Supercritical deposition: Current status and perspectives for the preparation of supported metal nanostructures [J]. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2015, 96: 298-312.
- [25] MORÈRE J, ROYUELA S, ASENSIO G, *et al.* Deposition of Ni nanoparticles onto porous supports using supercritical CO<sub>2</sub>: Effect of the precursor and reduction methodology[J]. *Philosophical Transactions A*, 2015, 373(2057): 20150014.
- [26] LI H (李好), CHANG S H (常少华), ZHANG M M (张萌萌). Research progress on properties tuning and products of Cu-based catalyst in electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction[J]. *Copper Engineering (铜业工程)*, 2023(6): 38-50.
- [27] WEI W (魏炜), WANG T (王焘), DONG C (董超). Effect of supercritical fluid deposition method on preparation of palladium-copper nanoparticles[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(6): 1134-1140, 1154.
- [28] HU A J, SHU C Z, XU C X, *et al.* Design strategies toward catalytic materials and cathode structures for emerging Li-CO<sub>2</sub> batteries[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2019, 7(38): 21605-21633.

( 上接第 1135 页 )

- [49] SARKAR A, GOH K K, SINGH H. Properties of oil-in-water emulsions stabilized by  $\beta$ -lactoglobulin in simulated gastric fluid as influenced by ionic strength and presence of mucin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2010, 24(5): 534-541.
- [50] ZHENG B J, PENG S F, ZHANG X Y, *et al.* Impact of delivery system type on curcumin bioaccessibility: Comparison of curcumin-loaded nanoemulsions with commercial curcumin supplements[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(41): 10816-10826.
- [51] ZHOU H L, ZHENG B J, JULIAN M D. *In vitro* gastrointestinal stability of lipophilic polyphenols is dependent on their oil-water partitioning in emulsions: Studies on curcumin, resveratrol, and quercetin[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(11): 3340-3350.
- [52] TAN Y B, LI R Y, LIU C Z, *et al.* Chitosan reduces vitamin D bioaccessibility in food emulsions by binding to mixed micelles[J]. *Food & Function*, 2019, 11(1): 187-199.
- [53] ZHOU H L, TAN Y B, LYU S S, *et al.* Nanochitin-stabilized pickering emulsions: Influence of nanochitin on lipid digestibility and vitamin bioaccessibility[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 106: 105878.
- [54] JIANG T, LIAO W, CHARCOSSET C. Recent advances in encapsulation of curcumin in nanoemulsions: A review of encapsulation technologies, bioaccessibility and applications[J]. *Food Research International*, 2020, 132: 109035.
- [55] ANAL A K, BOONLAO N, RUKTANONCHAI U R. Emulsion systems stabilized with biopolymers to enhance oral bioaccessibility and bioavailability of lipophilic bioactive compounds[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2023, 50: 101001.
- [56] ARAIZA-CALAHORRA A, WANG Y Q, BOESCH C, *et al.* Pickering emulsions stabilized by colloidal gel particles complexed or conjugated with biopolymers to enhance bioaccessibility and cellular uptake of curcumin[J]. *Current Research in Food Science*, 2020, 3: 178-188.