

基于人工胃液模型下 O/W 型 SPI 乳液降解特性研究

程云龙, 管军军, 李世豪

(河南工业大学生物工程学院, 河南郑州 450001)

摘要: 本研究以大豆分离蛋白(SPI)作为乳化剂和稳定剂, 吸附在油水界面, 形成 O/W (水包油) 型乳液(蛋白浓度 2.0 wt%, 大豆油浓度 20.0 wt%), 在人工胃液的模型中(37℃, pH 1.2, 34 mM NaCl 离子强度, 95 r/min 持续摇动 2 h), 检测乳液的粒径, Zeta 电位和显微结构。通过检测乳液的显微结构和粒径表明, 大豆分离蛋白(pH 7.0)能够形成稳定的乳液, 但在人工胃液的模型中, 乳液液滴会出现絮凝或结合现象。并且, 液滴絮凝或结合程度取决于水解时间。乳液的 Zeta 电位检测结果表明, SPI 乳液与人工胃液混合后, 乳液的 Zeta 电位由 -35.9 ± 0.3 mV 变化到 $+16.3 \pm 0.9$ mV。对未经乳化的 SPI 溶液和乳化后的乳液进行 SDS-PAGE 分析表明, 吸附到油水界面的 SPI 蛋白更容易被胃蛋白酶水解。本研究能够提高人们对 O/W 型 SPI 乳液基于人工胃液模型下降解特性的认识, 对设计以 SPI 乳液为基础的食品系统具有重要的指导意义。

关键词: 大豆分离蛋白; 乳液; 人工胃液; 胃蛋白酶; SDS-PAGE

文章编号: 1673-9078(2015)11-184-189

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.029

Characteristics of An Oil-in-water Emulsion Stabilized by Soybean Protein Isolate in Simulated Gastric Fluid

CHENG Yun-long, GUAN Jun-jun, LI Shi-hao

(College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Soybean protein isolate (SPI) adsorbed on the oil-water interface was used as an emulsifier and stabilizer to form an oil-in-water (O/W) emulsion (2.0 wt% protein and 20.0 wt% soybean oil). The characteristics of SPI-stabilized emulsions, including changes in particle size, zeta potential, and microstructure, under the action of simulated gastric fluid (37 °C, pH 1.2, and 34 mM NaCl ionic strength, with continuous shaking at approximately 95 r/min for 2 h) were investigated. The microstructure and diameter of the emulsion showed that SPI (pH 7.0) was capable of forming a stable emulsion, but underwent extensive droplet flocculation or coalescence when mixed with simulated gastric fluid. The degree of droplet flocculation or coalescence markedly depended upon hydrolysis time. The zeta-potential values gradually changed from -35.9 ± 0.3 mV to $+16.3 \pm 0.9$ mV after the emulsion was mixed with simulated gastric fluid. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis showed that when SPI was present at the interface of the O/W emulsion, it was more easily hydrolyzed by pepsin as compared to native SPI solution. This study improves our understanding of the characteristics of an O/W emulsion stabilized by SPI in simulated gastric fluid and has high significance for guiding the design of food systems based on SPI emulsions.

Key words: emulsion; pepsin; simulated gastric fluid (SGF); soybean protein isolate; SDS-PAGE

大豆分离蛋白(SPI)是由不同成分蛋白质组成的混合物。它的主要组成成分有两种: 大豆球蛋白(酸性亚基 A 和碱性亚基 B)和 β -伴大豆球蛋白(α 、 α' 及 β 亚基)。SPI 在食品工业中具有广泛的应用。在肉类制品中加入 SPI, 不仅能改善肉制品的质构和增加

收稿日期: 2014-12-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31371782); 河南省教育厅科学技术研究重点项目基础研究计划(14A550007); 河南工业大学校级基金基础研究重点培育计划(2013JCYJ04)

作者简介: 程云龙(1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 蛋白资源开发
通讯作者: 管军军(1975-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 蛋白质化学及蛋白资源的开发与利用

风味, 还能提高蛋白含量, 强化维生素。在面制品中加入 SPI, 具有比普通面制品更好的营养价值, 能够保证和提高面制品质量, 如在面包中加入 SPI 可改善表皮色泽、增大面包体积和延长货架期。SPI 应用于乳制品和蛋白饮料制品中, 能优化平衡乳品蛋白质组分和比例, 使其营养更加合理。另外, SPI 在发酵食品、营养食品和水产品制品中, 也具有重要应用。

在食品等行业中, 蛋白质吸附在油水界面形成乳液加入到食品中对食品进行处理, 是一种非常重要的食品处理技术。蛋白质的两亲特性, 使其在制备乳液时充当乳化剂和稳定剂。在三大营养素中, 脂肪含有最多的能量, 但在饱腹感和食物摄入需求中则是最差

的^[1]。脂肪的弱饱腹作用可能会导致人们摄入过多的能量,这也是肥胖的主要原因。脂类消化对人类健康造成了很多负面的影响,如肥胖症和很多心血管疾病。如何使食品既降低脂肪含量又能够保持饮食健康均衡,了解食品结构对脂肪消化的影响是非常重要的。近年来,通过设计食品乳液来控制脂类或亲脂性食品化合物在胃肠道中的定点释放,越来越引起人们的关注^[2-3]。但是,人们现在对乳液在人体中的物理化学变化行为了解有限。实际上,当乳液进入人体之后,经过口腔、胃和小肠,受到淀粉酶、胃蛋白酶和胰脂酶等的作用,会发生一系列的物理和化学变化^[4-6]。

在各种不同的食品系统中,由蛋白稳定的 O/W 型乳液代表了大部分的食品系统,成为一个很好的食品模型,引起了广泛的关注。近年来,有人研究了脂肪酶和胆汁盐等对不同界面成分稳定的乳液的影响^[7-8]。还有人研究了 β -乳球蛋白稳定的水包油乳液在体外胃液消化模型中的行为变化^[9]。但是,很少有人了解酸性环境和蛋白水解酶对 SPI 乳液的影响。

本研究用大豆分离蛋白(SPI)作为界面成分,吸附到油水界面,形成稳定的 O/W 型乳液,然后将其放入一个人工胃液模型(37 °C, pH 1.2, 95 rev/min 持续摇动, T \leq 2 h)的生化条件下,通过检测 SPI 乳液在人工胃液模型中液滴粒径、Zeta-电位、显微结构的变化,以及胃蛋白酶对 SPI 乳液的水解过程,从而了解胃蛋白酶和强酸性条件对由 SPI 稳定的乳液的物理化学性质的影响。

1 材料和方法

1.1 材料及设备

黄豆,超市购得;胃蛋白酶,生工生物,效价 1:10000;食用油,金龙鱼调和油;Thermo Heraeus Multifuge X1R 台式高速冷冻离心机,赛默飞世尔科技-实验室产品;纳米粒度及 Zeta 电位分析仪 ZS90,英国马尔文仪器有限公司;KDY-02C 型定氮仪,上海瑞正仪器设备有限公司;FA25 高剪切分散乳化机,德国 FLUKO 公司;冷冻干燥机 FD-1,北京博医康实验仪器有限公司;恒温水浴锅 HH-4,河南智城科技发展有限公司;85-2 恒温磁力搅拌器,河南智城科技发展有限公司;雷磁 PHS-3C 型 pH 计,上海仪电科技仪器服务有限公司;JY600C 电泳仪,北京君意东方电泳设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆蛋白的分离纯化

精选大豆粉碎后过 80 目筛,所得大豆粉用乙醚脱脂。脱脂豆粉用 10 倍体积的蒸馏水搅拌分散完全,而后用 2 N NaOH 调节 pH 至 8.0,50 °C 水浴加热搅拌 1 h 后离心(9000 r/min, 30 min)。离心所得的上清液经 2 N HCl 调节 pH 至 4.8,置于 4 °C 下过夜,之后离心(9000 r/min, 30 min),所得沉淀用蒸馏水洗涤三次,重新分散于蒸馏水中,并调节 pH 至 7.0,该分散液经透析后冷冻干燥即得大豆分离蛋白。

1.2.2 人工胃液模型的建立

人工胃液的制备:2 g NaCl, 7 mL HCl、0.32 g 胃蛋白酶(10000 u/mg)混合,定容至 1 L,用 1.0 M HCl 调节 pH 至 1.2^[10]。人工胃液模型的建立:准备一个盛有人工胃液的 250 ml 锥形瓶,放入温度为 37 °C 的恒温水浴锅中,以 95 rev/min 的转速持续摇动^[11]。不断地检测调节 pH 和温度保持恒定。

1.2.3 乳液的制备及与人工胃液的混合

称取一定量的大豆分离蛋白(SPI)分散到超纯水中,室温下搅拌 2 h,使其完全溶解,得到 2.0 wt% 的 SPI 溶液。用 1 M NaOH 或 1 M HCl 调节其 pH 至 7.0。将 20 wt% 的大豆油和 80 wt% 的 SPI 溶液混合,用高剪切分散乳化机以 20000 r/min 的转速乳化 120 s。得到 SPI 稳定的 O/W 型乳液^[12]。

乳液与人工胃液混合(大豆蛋白:胃蛋白酶=3:1 m/m)。最终的混合液含油量为 10.0 wt%,在 37 °C 的人工胃液模型中放置 2 h,并定期取样用于特性分析。同时,用 1 M HCl 调节混合液的 pH 一直保持为 1.2。

1.2.4 SDS-PAGE 电泳

用 SDS-PAGE 电泳分析样品在人工胃液模型不同作用时间下的 SPI 乳液中蛋白质变化情况。取部分乳液样品(200 μ L)立即与 200 μ L 样品缓冲液(0.25 M Tris, 10% SDS, 5% β -巯基乙醇, pH 6.8)混合,水浴(95~100 °C)5 min。待样品冷却至室温后,取 10 μ L 用于进样。其中,分离胶用 pH 8.8 的 Tris-HCl 缓冲液配制,丙烯酰胺的质量分数为 16%;浓缩胶用 pH 6.8 的 Tris-HCl 缓冲液配制,丙烯酰胺的质量分数为 4%。凝胶用考马斯亮蓝 R-250 染色液(0.1% (m/V) 考马斯亮蓝 R-250, 25% (V/V) 异丙醇, 10% (V/V) 乙酸)染色 2 h。然后用脱色液(10% (V/V) 乙酸, 10% (V/V) 乙醇)脱色,脱色完全后,用相机拍照,保存图像,用于分析。

测定连续相(水相)中 SPI(未吸附在油水界面)的变化情况。乳液在 20 °C 下,以 10000 g 的离心力离心 30 min。下清液用注射器小心取出,并用 0.45 μ m 的滤纸过滤,然后放入人工胃液模型中,并用 SDS-PAGE(样品:样品缓冲液=400 μ L:400 μ L,进样

量为 10 μL) 分析。下清液的滤液用凯氏定氮法测定蛋白含量。未经乳化的 SPI 溶液 (蛋白含量与下清液的滤液相同) 经胃蛋白酶水解液处理, 用 SDS-PAGE (样品: 样品缓冲液=400 μL : 400 μL , 进样量为 10 μL) 分析, 用于对比乳液中未吸附 SPI 和未经乳化的 SPI 蛋白水解模式。

乳液经人工胃液水解一段时间后, 界面蛋白成分用 SDS-PAGE 分析。乳液与人工胃液的混合物经消化 2 h 后, 在 20 $^{\circ}\text{C}$ 下, 以 10000 r/min 的离心力离心 30 min。取出上层乳油层, 用超纯水稀释, 然后在 20 $^{\circ}\text{C}$ 下, 以 10000 r/min 的离心力再次离心 30 min。小心取出乳油层, 用滤纸过滤并将滤纸干燥。干燥的乳油与样品缓冲液 (0.25 M Tris, 10% SDS, 5% β -巯基乙醇, pH 6.8) 在玻璃瓶中 (样品: 样品缓冲液=100 μg : 1000 μL , 进样量为 10 μL) 混合, 然后沸水浴加热 5 min。用 SDS-PAGE 分析。

1.2.5 粒径分布

用 Malvern Zetasizer Nano ZS90 型纳米粒度与 Zeta 电位分析仪测定初始乳液和乳液-人工胃液混合物的光均粒径和粒径分布。乳液的相对折射率为 1.095, 即大豆油 (1.456) 与水相 (1.33) 的折射率之比。乳液液滴的吸光度值为 0.001。液滴的粒径测量时用超纯水稀释 400 倍 (样品: 超纯水=20 μL : 3980 μL)。取稀释好的样品放入电泳槽中, 电泳槽的温度保持在 37 $^{\circ}\text{C}$, 开始测量。

1.2.6 Zeta 电位的测定

Zeta 电位的测定用 Malvern Zetasizer Nano ZS 型纳米粒度与 Zeta 电位分析仪测定。取 1ml 稀释样品 (稀释后液滴浓度在 0.005 wt% 左右) 放入电泳槽中, 电泳槽的温度保持在 37 $^{\circ}\text{C}$, 开始测量。单个样品的测量次数应不少于 5 次, 结果取几次测量结果的平均值。

1.2.7 显微镜观察乳液液滴变化

用显微镜观察初始乳液和乳液-人工胃液混合物的显微结构。取少许样品放于载玻片上, 用盖玻片覆盖, 在 40 倍物镜下观察并照相, 用于分析乳液与人工胃液混合 2 h 过程中乳液的显微结构变化情况。

1.3 数据分析

结果用统计学软件 SAS 进行统计分析。P \leq 0.05 时差异显著。测量次数不应少于 5 次用于计算平均值和标准差。

2 结果和讨论

2.1 乳液粒径分布及显微结构

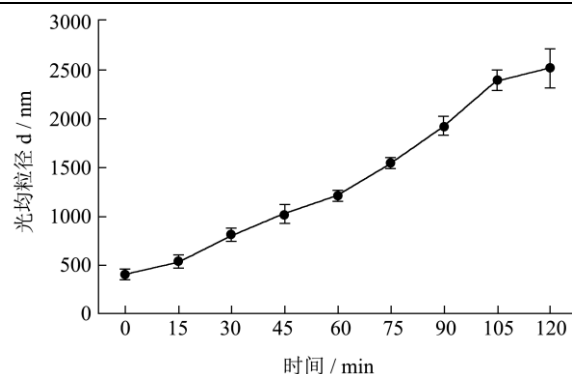


图1 SPI 乳液 (20 wt%大豆油, 2.0 wt%SPI) 与人工胃液混合后的光均直径随时间的变化图

Fig.1 Change in zeta-average diameter (nm) of SPI emulsion droplets (20 wt% soybean oil, 2.0 wt% SPI) after mixing with SGF as a function of time

注: 误差线表示标准偏差。

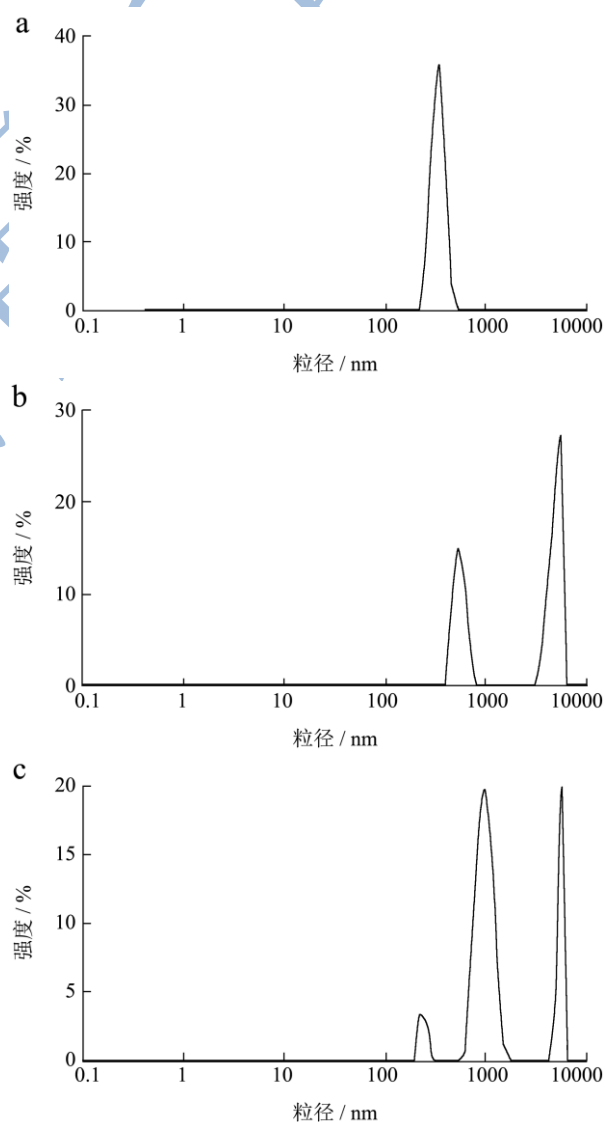


图2 SPI 稳定的乳液与人工胃液混合后的粒径分布

Fig.2 Droplet-size distribution of SPI-stabilized emulsion after mixing with SGF

注: a: 0 min, pH=7.0, b: 60 min, pH=1.2, c: 120 min, pH=1.2。

图1描述了用马尔文NanoSize动态激光粒径仪测得的乳液-人工胃液混合液的光均粒径随时间的变化图。SPI在pH=7.0能够形成光均粒径为408 nm的稳定乳液体系。但是, SPI乳液与人工胃液混合后, 乳液体系的光均粒径在2 h内表现出近似线性增长的趋势 ($p < 0.05$)。

图2a为SPI乳液均质完成后立即检测其粒径分布, 可以看到乳液液滴均匀的分散, 乳液粒径分布形成一个单峰。但是, 乳液与胃蛋白酶水解液混合1 h后, 乳液粒径分布由单峰变为双峰, 第二个峰的峰值范围在3~7 μm 左右, 并且第一个峰的峰面积有所减少, 粒径有所增大(图2b)。乳液与人工胃液混合2 h后, 乳液的粒径分布出现了第三个峰, 呈现多峰状态(图2c)。这表明, 乳液与人工胃液混合后, 在胃蛋白酶的作用下, 由SPI稳定的乳液的稳定状态发生破坏, 乳液液滴发生分裂、絮凝或结合作用。

用显微镜观察由SPI稳定的乳液, 在与人工胃液混合前, 乳液液滴均匀分布, 粒径基本相同(图3A)。然而, 当乳液与人工胃液混合后, 在胃蛋白酶的作用下, 乳液液滴发生絮凝作用(图3B~D)。在混合作用1 h时, 可以发现一些粒径较大(7 μm 左右)的颗粒(图3C), 这与图2B所示的乳液液滴的粒径分布相吻合。这表明乳液液滴在发生絮凝的同时, 有些液滴也会出现结合的现象。

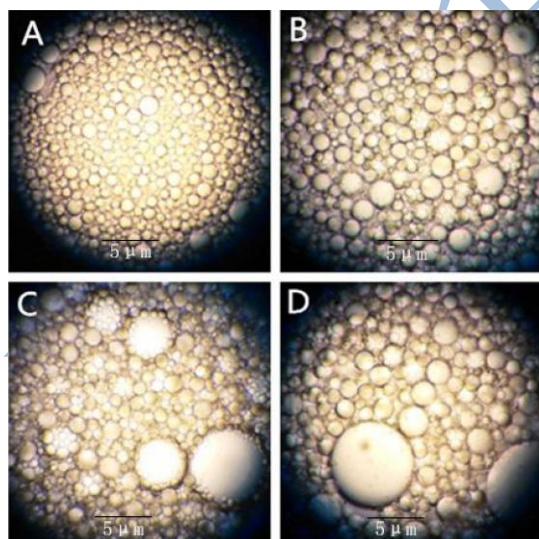


图3. SPI乳液与人工胃液混合后(混合液pH=1.2)乳液液滴微观结构图

Fig.3 Changes in the microstructure of SPI emulsions after mixing with SGF (mixture pH=1.2) as a function of incubation time

注: A: 0 min, B: 30 min, C: 60 min, D: 120 min.

2.2 乳液的 Zeta 电位

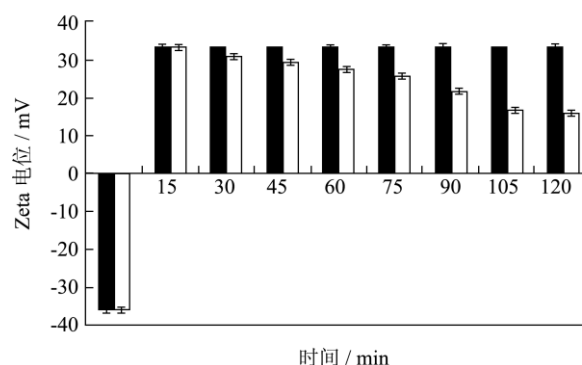


图4 乳液与人工胃液混合物(黑色不加胃蛋白酶, 白色加胃蛋白酶)的 Zeta 电位

Fig.4 Zeta potential of emulsion droplet-SGF mixtures with (white) and without (black) the addition of pepsin. Time 0 represents the zeta potential of emulsion droplets at pH 7.0

注: 0 min 表示乳液在 pH=7.0 时的 Zeta 电位。误差线表示标准偏差。

新制成的 SPI 乳液在 pH 7.0 的 Zeta 电位为 -35.9 mV(如图4)。将乳液放入人工胃液模型中(不加胃蛋白酶), 可观察到乳液的 pH 发生剧烈变化, Zeta 电位由负值变为正值(从 -35.9 mV 变为 +33.4 mV), 这是由于混合液的 pH 值远远低于 SPI 主要组分的等电点(β -伴大豆球蛋白的 pI 为 4.8, 大豆球蛋白的 pI 为 6.4)。乳液的 Zeta 电位在 2 h 之内不会发生太大变化 ($p > 0.05$), 基本趋于稳定。但是, 胃蛋白酶加入到乳液中后会显著影响乳液的 Zeta 电位 ($p < 0.05$), 在 2 h 内乳液的 Zeta 电位由 +33.4 \pm 0.9 mV 下降到 +16.3 \pm 0.9 mV。

加入胃蛋白酶后, 由于胃蛋白酶对乳液界面蛋白的作用, 使界面蛋白一些带正电荷的残基发生损失, 进而导致乳液的净正表面电荷的稳定损耗。这种界面蛋白的水解作用, 会减弱蛋白对乳液的稳定作用, 使乳液液滴发生絮凝。粒径分布和显微镜下观察结果显示, 在较长一段时间水解后, 乳液中出现一些大颗粒的液滴(接近 10 μm)。这表明, 界面蛋白的持续水解产生的小肽会降低界面的粘度, 造成乳液的稳定性降低, 使界面膜发生破坏。结果, 乳液液滴就会开始发生絮凝。必须指出的是, 在不加胃蛋白酶的相同情况下, 即使乳液与人工胃液(37 $^{\circ}\text{C}$, pH=1.2)的混合液摇动 5 h, 混合液依然保持均匀和稳定。混合液的 Zeta 电位是正值(+34 mV \pm 0.7 mV), 乳液液滴均匀分散, 液滴粒径(0.41 \pm 0.02 μm)保持相当稳定(数据未列出)。因此, 在人工胃液模型中, 乳液的去稳定作用主要是由于蛋白水解酶对蛋白的水解作用。

2.3 蛋白质水解

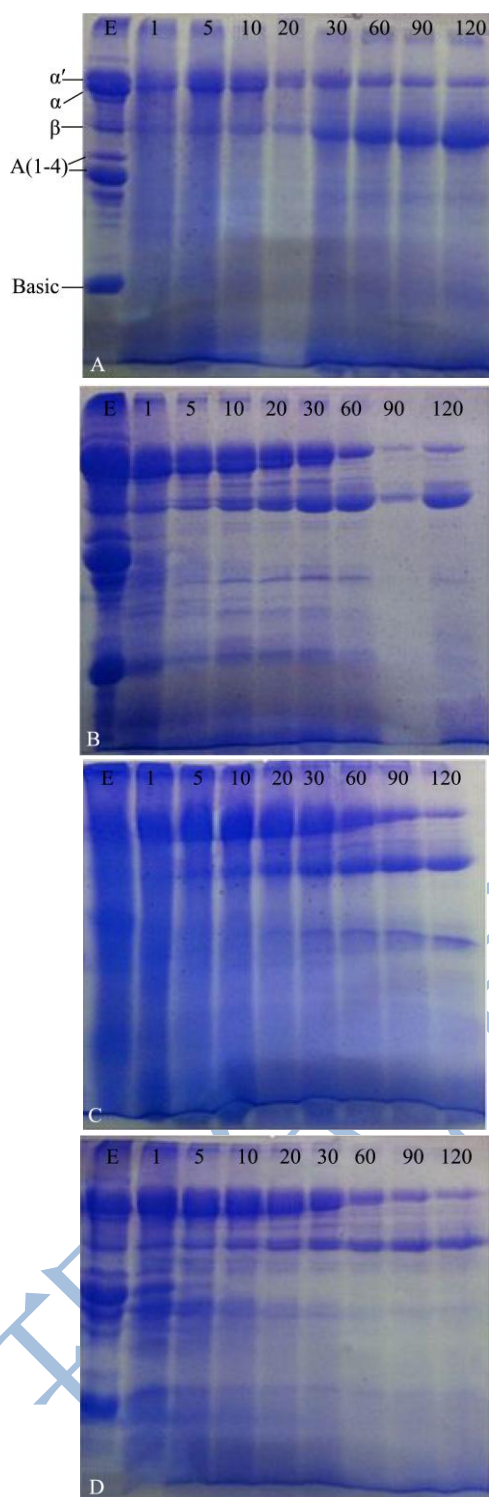


图 5. SDS-PAGE 电泳图

Fig.5 SDS-PAGE electrophoresis

注: A: SPI 乳液, B: SPI 溶液, C: SPI 乳液 10000 r/min 离心后下层未吸附蛋白, D: SPI 乳液 10000 r/min 离心后上层蛋白。其中, E 泳道表示 pH=7.0 时未加入胃蛋白酶的原始样品, 然后由左到右依次为样品在人工胃液模型中降解 1、5、10、20、30、60、90 和 120 min 的电泳条带。

用 SDS-PAGE 检测 SPI 溶液或 SPI 乳液在人工胃液作用下的水解过程 (图 5B 和图 5A)。结果显示, SPI 乳液在人工胃液的作用下, 发生了明显的水解行为, 产生了多种不同的大豆多肽, 并且 SPI 不同组分的降解行为有明显的差异。SPI 由 β -伴大豆球蛋白 (α 、 α' 和 β 亚基) 和大豆球蛋白 (酸性亚基 A₁₄ 和碱性亚基 B) 组成 (如图 A, “E”泳道)。大豆球蛋白极易被胃蛋白酶水解, β -伴大豆球蛋白则相对较难。大豆球蛋白被胃蛋白酶作用, 在一分钟内就被完全降解, 形成小分子量的组分 (图 5A, 第 2 泳道)。相比大豆球蛋白, β -伴大豆球蛋白较难被胃蛋白酶降解。 β -伴大豆球蛋白的不同亚基被消化难易程度有所差异, β 亚基不易被胃蛋白酶消化, α 和 α' 亚基相对 β 亚基而言, 则易被消化 (图 5A, 第 2-9 道)。另外, 随着胃蛋白酶作用时间的增长, α 和 α' 亚基电泳带位置的组分逐渐减少, 而 β 亚基泳带位置的组分却逐渐增多。

在本研究的实验条件下, 大约有 65% 的 SPI 会吸附到油水界面。为了检测未吸附 SPI 在胃蛋白酶水解液中的水解行为, 将乳化后的 SPI 乳液离心, 取出下层清液与人工胃液混合, 取样, 用 SDS-PAGE 检测 (图 5C), 结果显示, SPI 的大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白的 α 和 α' 亚基成分逐渐减少, β -伴大豆球蛋白的 β 亚基成分逐渐增多。但是, SPI 下清液的不同组分被胃蛋白酶水解的速率要低于 SPI 乳液。

天然 SPI 溶液, 浓度为 2.0% (与 SPI 乳液蛋白浓度相同), 与人工胃液混合, 并用 SDS-PAGE 检测 (图 5B)。相比于 SPI 乳液的水解过程, SPI 溶液的水解过程要稍微轻缓。

3 结论

本研究以 SPI 作为乳化剂和稳定剂吸附到油水界面, 形成稳定的 O/W 乳液。在人工胃液模型中, 观察乳液的降解特性, 得出以下结论: (1) 在人工胃液模型中, 强酸性条件 (不加胃蛋白酶, pH 1.2) 下, SPI 乳液液滴均匀分散, 液滴粒径 ($0.41 \pm 0.02 \mu\text{m}$) 保持相当稳定; 加入胃蛋白酶 (37°C , pH 1.2) 后, 乳液液滴会发生絮凝或结合, 光均粒径呈现近似线性增长的趋势, 并且乳液絮凝或结合程度取决于胃蛋白酶作用时间; (2) 在人工胃液模型中, 强酸性条件 (pH 1.2) 会使 SPI 乳液 (pH 7.0) 的 Zeta 电位发生突变 (从 -35.9 mV 变为 $+33.4 \text{ mV}$); 由于胃蛋白酶对乳液界面蛋白的作用, 使界面蛋白一些带正电荷的残基发生损失, 进而导致乳液净正表面电荷稳定损耗, SPI 乳液的 Zeta 电位会逐渐下降 ($T \leq 2 \text{ h}$); (3) 胃蛋白酶会使乳液界面蛋白成分发生改变, 在胃蛋白酶的作用下,

SPI的大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白的 α 和 α' 亚基成分逐渐减少, β -伴大豆球蛋白的 β 亚基成分逐渐增多。另外,吸附到油水界面的SPI蛋白更容易被胃蛋白酶降解。

参考文献:

- [1] Mattes R D. The role of macronutrients in appetite regulation [J]. Can J Diet Pract Res, 2007, 68(2): 3
- [2] Li Y, Hu M, Xiao H, et al. Controlling the functional performance of emulsion-based delivery systems using multi-component biopolymer coatings [J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2010, 76(1): 38-47
- [3] Scholten E, Moschakis T, Biliaderis C G. Biopolymer composites for engineering food structures to control product functionality [J]. Food Structure, 2014, 1(1): 39-54
- [4] Nik A M, Corredig M, Wright A J. Changes in WPI-stabilized emulsion interfacial properties in relation to lipolysis and β -carotene transfer during exposure to simulated gastric-duodenal fluids of variable composition [J]. Food Digestion, 2010, 1(1-2): 14-27
- [5] Sarkar A, Horne D S, Singh H. Interactions of milk protein-stabilized oil-in-water emulsions with bile salts in a simulated upper intestinal model [J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24(2): 142-151
- [6] A Sarkar, K K T Goh, H Singh. 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: 534-541
- [7] Beysseriat M, Decker E A, McClements D J. Preliminary study of the influence of dietary fiber on the properties of oil-in-water emulsions passing through an *in vitro* human digestion model [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(6): 800-809
- [8] Mun S, Decker E A, McClements D J. Influence of emulsifier type on *in vitro* digestibility of lipid droplets by pancreatic lipase [J]. Food Research International, 2007, 40(6): 770-781
- [9] A Sarkar, K K T Goh, R P Singh, et al. Behaviour of an oil-in-water emulsion stabilized by beta-lactoglobulin in an *in vitro* gastric model [J]. Food Hydrocolloids, 2009(23): 1563-1569
- [10] Pharmacopoeia U S. the National Formulary. Simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid, TS [J]. The United States Pharmacopeia, 1995, 23
- [11] Beysseriat M, Decker E A, McClements D J. Preliminary study of the influence of dietary fiber on the properties of oil-in-water emulsions passing through an *in vitro* human digestion model [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(6): 800-809
- [12] 李欣荣,唐传核.大豆分离蛋白包埋特性的研究[J].现代食品科技,2012,28(6):617-621
- LI Xin-rong, TANG Chuan-he. Research of Encapsulation Properties of Soy Protein Isolate [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(6): 617-621