

岩藻多糖对玉米醇溶蛋白稳定 Pickering 乳液性能的影响

刘子琪, 李依蒙, 王 璐, 倪斯芮, 艾春青

(大连工业大学 食品学院, 辽宁 大连 116000)

摘要:为开发天然、可生物降解的食品级纳米颗粒作为 Pickering 乳液稳定剂,采用反溶剂沉淀法制备了玉米醇溶蛋白颗粒分散液,并与岩藻多糖(Fuc)溶液混合,制备玉米醇溶蛋白/Fuc 纳米颗粒(ZFNPs),测定了 ZFNPs 的平均粒径、Zeta - 电位、微观结构、红外光谱及接触角。以 ZFNPs 和含虾青素橄榄油为原料制备了 Pickering 乳液,考察了 Pickering 乳液的储存稳定性、流变特性、热稳定性、pH 稳定性和体外消化特性。结果表明:ZFNPs 的平均粒径大于玉米醇溶蛋白的,随着 Fuc 添加量的增加,ZFNPs 的 Zeta - 电位由正转为负;ZFNPs 表面呈多糖附着蛋白结构,主要通过氢键和静电相互作用进行结合;玉米醇溶蛋白质量浓度为 2 g/100 mL、Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比为 1:1 时制备的 ZFNPs 具有较好的乳化性能,可形成稳定的 Pickering 乳液(油相体积分数 30%),该乳液具有良好的热稳定性和耐酸性能,体外模拟消化后游离脂肪酸释放率达到 79.5% 且高于相应的含虾青素橄榄油的;Pickering 乳液油相体积分数对其流变性能有明显影响。综上,Fuc 提高了玉米醇溶蛋白 Pickering 乳液的稳定性。

关键词:玉米醇溶蛋白/岩藻多糖纳米颗粒;Pickering 乳液;稳定性

中图分类号:TS221;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)06-0071-09

Effect of fucoidan on properties of zein - stabilized Pickering emulsions

LIU Ziqi, LI Yimeng, WANG Lu, NI Sirui, AI Chunqing

(School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116000, Liaoning, China)

Abstract:To develop natural and biodegradable food - grade nanoparticles as stabilizers for Pickering emulsions, zein particle dispersions were prepared using the anti - solvent precipitation method, and then mixed with fucoidan to prepare zein/fucoidan nanoparticles (ZFNPs). The average particle size, Zeta - potential, microstructure, infrared spectrum, and contact angle of ZFNPs were determined. Pickering emulsions were prepared using ZFNPs and astaxanthin - containing olive oil as raw materials, and the storage stability, rheological properties, thermal stability, pH stability, and *in vitro* digestion characteristics of the Pickering emulsions were investigated. The results showed that the average particle size of ZFNPs was larger than that of zein, and as the amount of fucoidan increased, the Zeta - potential of ZFNPs changed from positive to negative. The surface of ZFNPs exhibited a polysaccharide - attached protein structure, bound primarily through hydrogen bonds and electrostatic interactions. ZFNPs prepared with a zein mass concentration of 2 g/100 mL and a fucoidan to zein mass ratio of 1:1 exhibited good emulsifying properties and could form stable Pickering emulsions (with oil phase volume fraction 30%).

These emulsions had good thermal stability and acid resistance, with a free fatty acid release rate of 79.5% after *in vitro* stimulated digestion, which was higher than that of the corresponding astaxanthin - containing olive oil. The oil phase volume fraction of the Pickering emulsion significantly affected its rheological properties. In

收稿日期:2024-05-17;修回日期:2025-03-09

作者简介:刘子琪(2000),女,在读硕士,研究方向为纳米粒子递送(E-mail)1013116279@qq.com。

通信作者:艾春青,副教授(E-mail)acqdongying@163.com。

conclusion, fucoidan enhanced the stability of zein – stabilized Pickering emulsions.

Key words: zein/fucoidan nanoparticles; Pickering emulsion; stability

Pickering 乳液是由固体颗粒代替传统表面活性剂稳定的体系。固体颗粒具有界面活性^[1-3],因此其可以锚定在油水界面,形成紧密的三维屏障,从而稳定 Pickering 乳液^[4]。近年来,Pickering 乳液因其稳定性高而受到广泛关注^[1],有关 Pickering 乳液稳定剂的研究早期主要集中在无机颗粒上,随着消费者对健康和环境保护意识的增强,无机颗粒在生物医药和食品领域的应用受到了极大限制,在此背景下开发可生物降解的食品级 Pickering 乳液已成为一个重要方向^[5]。

玉米醇溶蛋白(Zein)是公认的安全大分子物质,是食品和营养领域的理想资源^[6]。玉米醇溶蛋白是玉米的主要储存蛋白质,由 50% 以上的疏水性氨基酸组成,具有天然的表面活性^[7]。研究证明,玉米醇溶蛋白与壳聚糖^[7]、淀粉^[8]、树胶^[9]、果胶^[1]和普鲁兰多糖(Pullulan)^[10]组成的多糖复合物颗粒对 Pickering 乳液有稳定作用。这些复合颗粒可以在液滴周围形成致密的界面层,并且比玉米醇溶蛋白颗粒具有更高的乳化能力^[11],这是因为玉米醇溶蛋白与多糖之间的静电力有效地提高了颗粒的稳定性。因此,具有不同结构和性质的多糖在制备具有不同性质的玉米蛋白基 Pickering 乳液方面具有巨大的潜力。

岩藻多糖(Fucoidan, Fuc)是一种主要由 L-岩藻糖基团和硫酸盐基团组成的阴离子多糖^[1],其还包括半乳糖、甘露糖、木糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸等其他糖类成分^[10]。电荷密度是蛋白质与多糖相互作用的关键,硫酸酸化多糖的电荷密度高于羧基多糖^[1,11-12],因此作为硫酸酸化多糖的一种,岩藻多糖引起了许多研究者的关注。研究表明,玉米醇溶蛋白/岩藻多糖纳米颗粒(Zein/fucoidan nanoparticle, ZFNPs)具有良好的 pH 稳定性、耐高温、耐盐性和储存稳定性^[13],因此推断岩藻多糖可以提高玉米醇溶蛋白基 Pickering 乳液的稳定性。反溶剂沉淀法是一种通过向一个溶剂体系中加入大量的反溶剂,使指定溶质的溶解度下降而析出的方法,该方法利用不同物质在溶剂和反溶剂之间分配系数的差异,实现混合物中各组分的分离^[10-11],具有高效、快速、选择性高等优点,可用于玉米醇溶蛋白颗粒的制备。当前以玉米醇溶蛋白为稳定剂的 Pickering 乳液研

究较为广泛^[14],而玉米醇溶蛋白与岩藻多糖协同稳定 Pickering 乳液的研究较少且机制尚未系统阐明。因此,本研究通过采用反溶剂沉淀法制备 ZFNPs,并以 ZFNPs 和含虾青素的橄榄油为原料制备了 Pickering 乳液,对 ZFNPs 的粒径、Zeta-电位、微观结构、红外光谱和接触角等进行了表征,通过流变学测试分析了 Pickering 乳液的凝胶结构,并考察了其储存稳定性、稳定性和 pH 热稳定性,以期食品级 Pickering 乳液的制备提供一种新的方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

岩藻多糖,青岛明月有限公司(中国青岛);玉米醇溶蛋白,美国 Sigma-Aldrich 公司;虾青素,西安 Realin 生物技术有限公司;食品级橄榄油,上海麦克林生化科技股份有限公司;胃蛋白酶(≥ 180 U/mg)、脂肪酶(≥ 180 U/mg),上海生工生物工程有限公司;胰蛋白酶(≥ 180 U/mg),BBI 生命科学有限公司;其余化学试剂均为分析纯,天津大茂化学试剂厂。

1.1.2 仪器与设备

Frontier 变换红外光谱仪,PerkinElmer 公司;S210 pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;Malvern Zetasizer ZS 纳米粒度电位仪, Malvern Instruments 公司;Discovery HR-1 流变仪,美国 TA Instruments 公司;场发射扫描电子显微镜(SEM),株式会社日立制作所;DSA25 接触角计,德国克吕士公司;光学显微镜,德国徕卡(Leica)仪器有限公司;荧光显微镜。

1.2 实验方法

1.2.1 ZFNPs 的制备

采用反溶剂沉淀法制备 ZFNPs。将 2 g 玉米醇溶蛋白溶于 100 mL 70% 乙醇中得到原液,边搅拌边将原液滴加到 300 mL 水中,搅拌 2 h 后,旋转蒸发除去部分水和乙醇,使分散液中玉米醇溶蛋白的质量浓度达到 2 g/100 mL,再调整 pH 至 4.0 得到玉米醇溶蛋白颗粒分散液。然后制备不同质量浓度的 Fuc 溶液,并调整 pH 至 4.0。按一定的 Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比,取 10 mL 不同质量浓度的 Fuc 溶液,加入 10 mL 2 g/100 mL 的玉米醇溶蛋白颗粒分散液,搅拌 2 h,得到 ZFNPs 分散体。将 Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比为 1:50、1:20、1:10、1:5、1:2、1:1

制备的 ZFNPs 分别命名为 ZFNPs 1:50、ZFNPs 1:20、ZFNPs 1:10、ZFNPs 1:5、ZFNPs 1:2 和 ZFNPs 1:1,一部分在 4℃ 保存待用,一部分冻干保存。

1.2.2 ZFNPs 的表征

1.2.2.1 平均粒径、Zeta - 电位的测定

将样品稀释至适当浓度,在 25℃ 下使用纳米粒度电位仪测定样品的平均粒径和 Zeta - 电位。

1.2.2.2 微观结构

将冻干样品固定于铜台,液氮速冻后转移至真空制备室,冷刀断裂并通过 -95℃ 升华暴露界面,使用 SEM(5.0 kV) 观察样品的微观结构^[15]。

1.2.2.3 红外光谱

利用 Frontier 变换红外光谱仪测定样品的红外光谱。将样品与溴化钾按质量比 1:100 混合,压片,放入仪器进行测定。测定条件:光谱扫描范围 400 ~ 4 000 cm⁻¹,分辨率 4 cm⁻¹。

1.2.2.4 接触角

采用接触角计测定样品的 O/W 三相接触角(θ)。将样品压缩成厚度 2 mm、直径 13 mm 的薄片,浸入橄榄油中。用高精度进样器将 2 μ L 水轻滴于薄片表面,达到平衡后,对液滴进行拍照,并用 Young - Laplace 方程模拟其轮廓,得到 θ 值。所有样品平行测定 3 次。

1.2.3 ZFNPs 稳定 Pickering 乳液的制备

将 15 mg 虾青素加入 100 mL 橄榄油中,加热至 40℃,搅拌至溶解,得到含虾青素橄榄油。将 ZFNPs 分散体与含虾青素橄榄油按一定比例混合,用高速分散均质机在 12 000 r/min 转速下剪切 1 min,剪切 3 次,得 Pickering 乳液,在室温下保存。

1.2.4 Pickering 乳液的性能测定

1.2.4.1 储存稳定性

将 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液在室温下储存 10 d,观察其外观,并测定其微观结构(光学显微镜图),以考察 Pickering 乳液储存稳定性。

1.2.4.2 流变特性

使用流变仪测定 Pickering 乳液的流变特性。配备 25 mm 钢平行板,试样在 10 ~ 1 000 s⁻¹ 的剪切速率下进行黏度测定。在振荡频率 0.1 ~ 10 Hz,应变 0.5% 条件下记录样品弹性模量(G')和损耗模量(G'')随频率的变化。所有样品平行测定 3 次。

1.2.4.3 热稳定性和 pH 稳定性

将 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液分别在 4、25、37、50℃ 条件下放置 7 d,测定乳液的层析指数和微观结构(光学显微镜图和荧光显微镜图),以评价乳液热稳定性。通过 2.0 mol/L HCl 或 NaOH 溶液调

节 Pickering 乳液的 pH 分别为 2、4、8、10,于 4℃ 下放置 7 d,测定乳液的层析指数和微观结构(光学显微镜图和荧光显微镜图),以评价乳液的 pH 稳定性。

1.2.4.4 乳液层析指数的测定

参考 Tavernier 等^[15]的方法测定乳液层析指数。层析指数值越大,表示乳液越不稳定。

1.2.4.5 乳液微观结构的测定

分别使用光学显微镜和荧光显微镜观察 Pickering 乳液的微观结构。荧光显微镜观察:用含尼罗红和异硫氰酸荧光素(FITC)(均为 0.1 g/100 mL)的试剂对乳液进行染色,其中用 FITC 对纳米颗粒染色(He - Ne 激光,633 nm 处激发),用尼罗红对油相染色(488 nm 处激发)。

1.2.4.6 体外消化特性

在 1 L 水中加入 3.2 g 胃蛋白酶、2 g NaCl 和 7 mL HCl 搅拌至溶解制备模拟胃液^[16]。模拟肠液包括 1.5 mL 盐溶液(36.7 mg/mL CaCl₂ 和 218.7 mg/mL NaCl)、2.5 mL 酶溶液(2.4 mg/mL 胰蛋白酶和 2.4 mg/mL 脂肪酶)和 3.5 mL 胆汁盐溶液(54 mg/mL),酶和胆汁盐均溶于磷酸盐缓冲液中。

胃消化阶段:将 7.5 mL Pickering 乳液或含虾青素橄榄油与等体积模拟胃液均匀混合。使用 0.1 mol/L 的 HCl 溶液将混合体系 pH 精确调节至 2.5 \pm 0.1,随后转移至 37℃ 恒温振荡培养箱,在 200 r/min 下进行持续 2 h 的模拟胃消化。消化结束后,取 15 mL 胃消化液,通过逐滴添加 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液将体系 pH 调至 7.0,用于后续肠消化阶段实验。肠消化阶段:将 15 mL 上述调整 pH 的胃消化液置于 37℃ 环境中,加入模拟肠液,使用 0.1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 溶液对体系进行微调,维持 pH 在 7.0,随后将混合体系置于 37℃ 恒温振荡培养箱,在 200 r/min 下进行 2 h 的模拟肠消化,实时监测系统 pH 并通过向反应容器中滴加 0.1 mol/L NaOH 溶液维持体系 pH 为 7.0。利用式(1)计算消化过程中游离脂肪酸的释放率(F)。

$$F = \frac{V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \times M}{2m} \times 100\% \quad (1)$$

式中: V_{NaOH} 为中和消化过程中产生的游离脂肪酸所需的 NaOH 溶液的体积, L; C_{NaOH} 为 NaOH 溶液的浓度, mol/L; M 为橄榄油的摩尔质量, g/mol; m 为橄榄油或乳液中橄榄油的初始质量, g。

2 结果与分析

2.1 ZFNPs 的表征

2.1.1 平均粒径和 Zeta - 电位

ZFNPs 的平均粒径和 Zeta - 电位如图 1 所示。

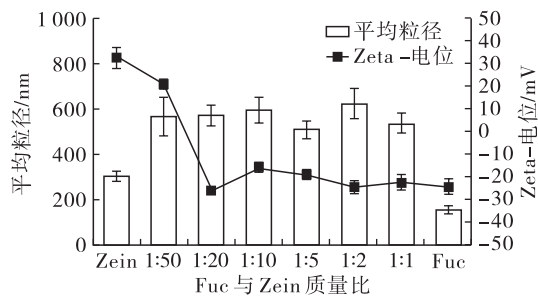


图1 ZFNPs的平均粒径和 Zeta - 电位

Fig. 1 Average particle size and Zeta - potential of ZFNPs

由图1可知,玉米醇溶蛋白颗粒的平均粒径约为310 nm。与玉米醇溶蛋白相比,ZFNPs的平均粒径明显增大。在较低的 Fuc 添加量(Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比 1:50)下,形成并沉淀了大团聚体。这可以解释为 Fuc 阴离子与玉米醇溶蛋白颗粒的阳离子基团结合,导致静电沉积。随着 Fuc 添加量的增加,ZFNPs 的平均粒径稳定在 500 ~ 600 nm,大于玉米醇溶蛋白颗粒的。这可以归因于 ZFNPs 形成了一个玉米醇溶蛋白核和一个 Fuc 壳的核壳结构。值得注意的是,当 Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比从 1:50 增加到 1:1 时,ZFNPs 的平均粒径变化较小,这意味着低比例时 Fuc 可能已充分覆盖玉米醇溶

蛋白表面的活性位点,吸附的 Fuc 会对颗粒的聚集产生位阻。Dai 等^[17] 研究发现,不同质量比(1:5 ~ 1:1)的阿拉伯胶/玉米醇溶蛋白颗粒的平均粒径大于玉米醇溶蛋白纳米颗粒的,与本研究结果一致。

玉米醇溶蛋白的等电点(pI)约为 pH 6.2,当 pH 低于其 pI 时,玉米醇溶蛋白纳米颗粒带正电荷^[18]。由图1可知,在 pH 4.0 条件下,玉米醇溶蛋白纳米颗粒的 Zeta - 电位为 32 mV,随着 Fuc 添加量的增加,ZFNPs 的 Zeta - 电位逐渐下降到 -22 mV。这可能是因为玉米醇溶蛋白与 Fuc 电荷相反而产生静电吸引,导致 Fuc 吸附在玉米醇溶蛋白颗粒表面,改变了颗粒表面电荷性质。随着 Fuc 添加量增加,ZFNPs 的 Zeta - 电位趋于 Fuc 的,这与 Fuc 包覆在玉米醇溶蛋白颗粒表面导致 ZFNPs 形成核壳结构的假设一致。Piriyaprasarth 等^[19] 研究表明,果胶吸附在玉米醇溶蛋白颗粒表面,导致复合颗粒的电荷发生变化,与本研究一致。

2.1.2 微观结构

通过 SEM 观察 ZFNPs 的微观结构,结果见图2。

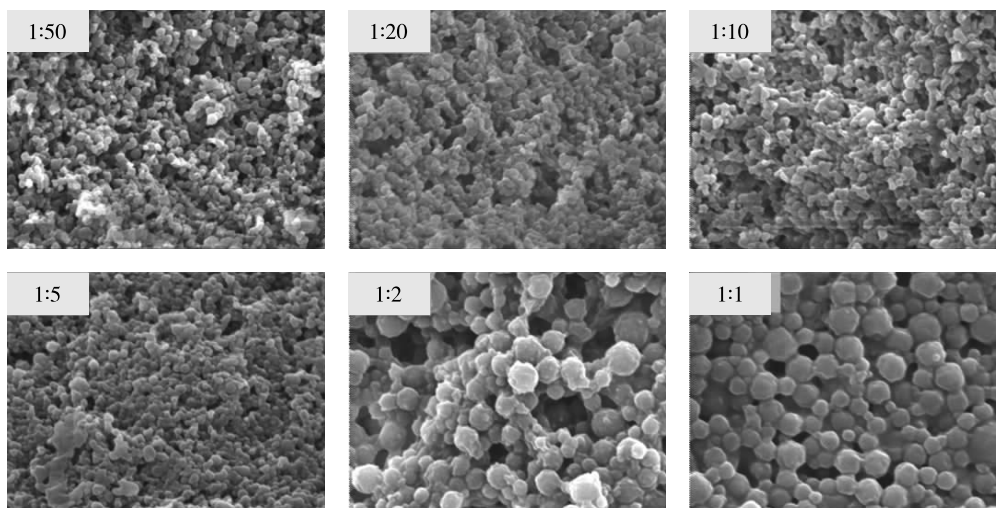


图2 不同 Fuc 与 Zein 质量比下 ZFNPs 的 SEM 图

Fig. 2 SEM image of ZFNPs under different Fuc to zein mass ratios

由图2可知,ZFNPs 呈球形、分散状态。ZFNPs 1:2 和 ZFNPs 1:1 的粒径比其他 ZFNPs 的大,且表面形貌粗糙,这是因为随着 Fuc 添加量的升高,Fuc 包覆在玉米醇溶蛋白纳米颗粒表面,改变了玉米醇溶蛋白纳米颗粒的表面形貌,使 ZFNPs 形状不规则,并且粒径增大。这与羧甲基壳聚糖吸附在玉米醇溶蛋白颗粒表面,导致玉米醇溶蛋白/羧甲基壳聚糖复合纳米颗粒的尺寸更大,形状不规

则的结果^[20]一致。当 Fuc 与 Zein 质量比为 1:1 时,ZFNPs 呈现明显的多糖附着蛋白的结构特征,结合状态更紧密,粒径更大(300 ~ 500 nm),同时表面形貌清晰,表明 ZFNPs 是以共价结合的状态稳定的。

2.1.3 红外光谱

玉米醇溶蛋白、Fuc 和 ZFNPs 的红外光谱见图3。

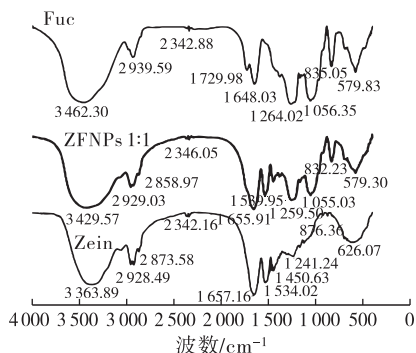


图3 玉米醇溶蛋白、Fuc和ZFNPs的红外光谱
Fig. 3 Infrared spectra of zein, Fuc and ZFNPs

氢键峰在 $3\ 300 \sim 3\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 范围内^[4]。由图3可知,Fuc与玉米醇溶蛋白的氢键峰分别在 $3\ 462.30\ \text{cm}^{-1}$ 和 $3\ 363.89\ \text{cm}^{-1}$ 。加入Fuc后,ZFNPs的氢键峰移至 $3\ 429.57\ \text{cm}^{-1}$,表明Fuc与玉米醇溶蛋

白之间形成了氢键。这与在阿拉伯胶/玉米醇溶蛋白颗粒中发现氢键峰位移^[17]是一致的。玉米醇溶蛋白在 $1\ 657.16\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 241.24\ \text{cm}^{-1}$ 处有2个明显的峰,分别为C=O和C—N的吸收峰^[21]。相比之下,ZFNPs中C=O和C—N的吸收峰分别移动到 $1\ 655.91\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 259.50\ \text{cm}^{-1}$,说明玉米醇溶蛋白与Fuc发生了静电相互作用。有研究表明,阿拉伯胶/玉米醇溶蛋白颗粒中C=O和C—N的吸收峰从 $1\ 658.17$ 、 $1\ 532.73\ \text{cm}^{-1}$ 移动到 $1\ 647.84$ 、 $1\ 528.27\ \text{cm}^{-1}$ ^[17],与本文研究结果一致。因此,氢键和静电相互作用可能是ZFNPs形成的主要相互作用力。

2.1.4 接触角

纳米颗粒的润湿性是决定Pickering乳液稳定性的重要因素,适当的润湿性有利于颗粒在油水界面吸附,防止液滴聚集^[18]。ZFNPs的三相接触角见图4。

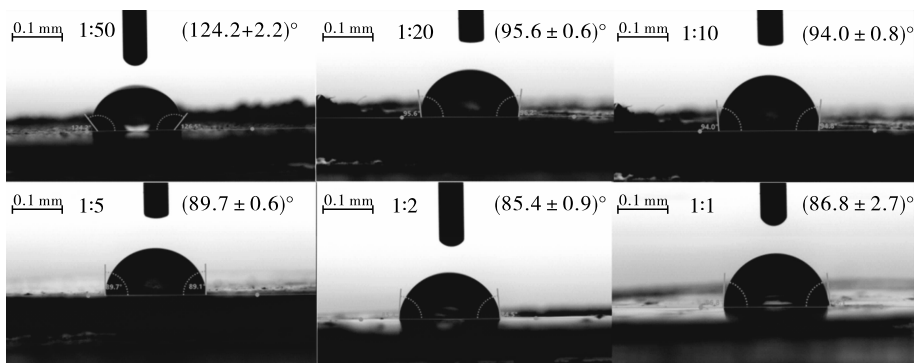


图4 不同Fuc与Zein质量比下ZFNPs的三相接触角

Fig. 4 Three phase contact angles of ZFNPs under different Fuc to zein mass ratios

由图4可知,随着Fuc添加量的增加,ZFNPs的三相接触角总体呈降低趋势。ZFNPs 1:50、ZFNPs 1:20、ZFNPs 1:10、ZFNPs 1:5、ZFNPs 1:2和ZFNPs 1:1的三相接触角分别为 $(124.2 \pm 2.2)^\circ$ 、 $(95.6 \pm 0.6)^\circ$ 、 $(94.0 \pm 0.8)^\circ$ 、 $(89.7 \pm 0.6)^\circ$ 、 $(85.4 \pm 0.9)^\circ$ 和 $(86.8 \pm 2.7)^\circ$,表明Fuc可以吸附到玉米醇溶蛋白颗粒表面,使玉米醇溶蛋白的亲水性增强。ZFNPs 1:5、ZFNPs 1:2和ZFNPs 1:1的三相接触角分别为 $(89.7 \pm 0.6)^\circ$ 、 $(85.4 \pm 0.9)^\circ$ 、 $(86.8 \pm 2.7)^\circ$,均接近于 90° 的理想润湿状态,这既有利于ZFNPs在油水界面上吸附,又对油滴的聚集形成位阻^[17]。研究表明,质量比为5:1~2:1的阿拉伯胶与玉米醇溶蛋白制备的复合颗粒三相接触角为 $65^\circ \sim 76^\circ$,明显低于 90° ^[17]。另一项研究表明,壳聚糖与玉米醇溶蛋白质量比为1:20时,其复合颗粒的三相接触角为 82° ,是一种良好的Pickering乳液稳定剂^[18]。高疏水性和高亲水性都不利于Pickering乳液的稳定,因为颗粒不能在油水界面上稳定吸附,因此过量的Fuc也不适合形成用于稳定Pickering

乳液的ZFNPs。

2.2 ZFNPs稳定Pickering乳液的性能

2.2.1 储存稳定性

颗粒浓度是影响Pickering乳液平均液滴大小和稳定性的重要参数。研究表明,被玉米醇溶蛋白纳米颗粒稳定的Pickering乳液不稳定,表现为液滴聚集和油的析出^[19]。在不同玉米醇溶蛋白质量浓度下制备ZFNPs 1:1,并在油相体积分数30%下稳定Pickering乳液,考察玉米醇溶蛋白质量浓度对Pickering乳液储存稳定性的影响,结果见图5。

由图5可知,不同质量浓度玉米醇溶蛋白制备的ZFNPs对Pickering乳液均有稳定作用,随着玉米醇溶蛋白质量浓度从 $0.2\ \text{g}/100\ \text{mL}$ 增加到 $2\ \text{g}/100\ \text{mL}$,乳化相体积增加。玉米醇溶蛋白质量浓度为 $0.5 \sim 2\ \text{g}/100\ \text{mL}$ 时,储存10 d后Pickering乳液仍保持稳定。当玉米醇溶蛋白质量浓度小于 $0.5\ \text{g}/100\ \text{mL}$ 时,储存后乳液出现油水分离现象。Dai等^[17]研究表明,高浓度的玉米醇溶蛋白有助于Pickering乳液的稳定,与本研究一致。光学显微镜观察发现,储存

10 d 后 Pickering 乳液中油滴分散在 ZFNPs 的水相中,且随着玉米醇溶蛋白质量浓度的增加,油滴的直径逐渐减小。这可以解释为低浓度的玉米醇溶蛋白

导致 ZFNPs 不足以完全覆盖油滴界面,液滴易聚集。

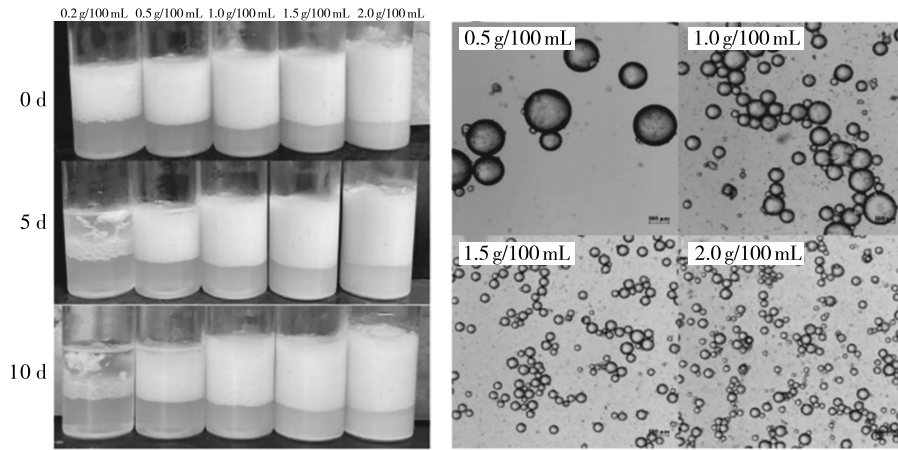


图 5 玉米醇溶蛋白质量浓度对 Pickering 乳液储存稳定性的影响

Fig. 5 Influence of zein mass concentration on the storage stability of Pickering emulsions

Fuc 与玉米醇溶蛋白因相反的电荷而发生静电相互作用,而玉米醇溶蛋白分子的疏水作用使其具有较好的乳化性能^[22]。在玉米醇溶蛋白质量浓度 2 g/100 mL 条件下分别制备 ZFNPs 1:50、ZFNPs 1:20、

ZFNPs 1:10、ZFNPs 1:5、ZFNPs 1:2 和 ZFNPs 1:1,并在油相体积分数 30% 条件下稳定 Pickering 乳液,考察 Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比对 Pickering 乳液储存稳定性的影响,结果见图 6。

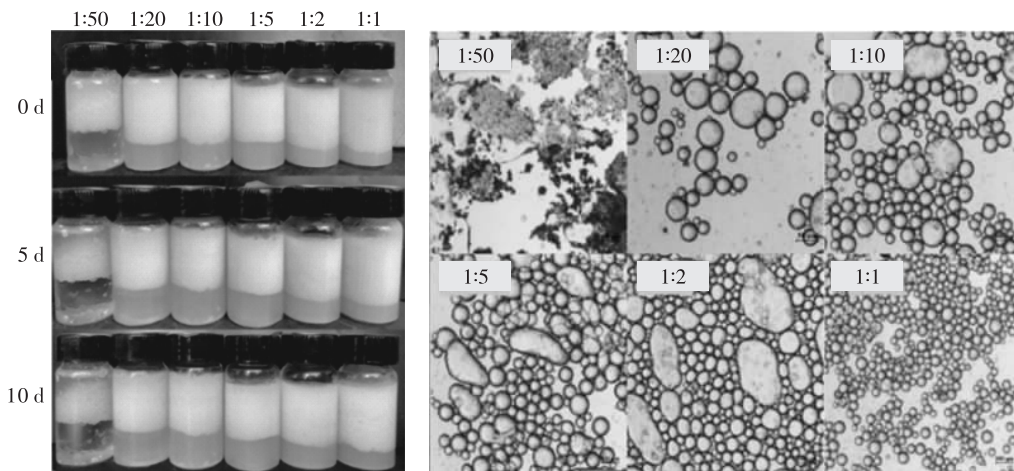


图 6 Fuc 与 Zein 质量比对 Pickering 乳液储存稳定性的影响

Fig. 6 Influence of the mass ratio of Fuc to zein on the storage stability of Pickering emulsions

由图 6 可知, Pickering 乳液乳化相体积随着 Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比的升高而增大。Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比大于 1:10 时 Pickering 乳液储存 10 d 后仍保持稳定,但 Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比小于 1:10 时试管顶部有轻微的油脂析出,结合图 4 说明 ZFNPs 颗粒的润湿性有利于颗粒在油水界面处的吸附。光学显微镜观察发现,储存 10 d 后,随着 Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比的增加,液滴尺寸减小且更加均匀。

综上,玉米醇溶蛋白质量浓度为 2 g/100 mL, Fuc 与玉米醇溶蛋白质量比为 1:1 时, ZFNPs 具有较好的乳化性能,可形成更稳定的 Pickering 乳液,因此采用此条件进行后续实验。

2.2.2 流变特性

在不同油相体积分数(20%、30%、40%、50%)下制备的 Pickering 乳液具有很好的稳定性,通过静态流动和动态振荡测量研究了 Pickering 乳液的流变特性,结果分别见图 7 和图 8。

由图 7 可知,随着剪切速率的增加, Pickering 乳液的黏度逐渐降低,说明其具有剪切稀化流动的特性。Pickering 乳液的黏度随着油相体积分数的增加而增加,这与文献[18]的研究结果一致。由图 8 可知,在 0.1 ~ 10 Hz 的振荡频率范围内, Pickering 乳液的 G' 均低于 G'' ,表明未形成凝胶状结构。总体上 G' 和 G'' 随着油相体积分数的增加而增加,这与高粱

醇溶蛋白纳米颗粒稳定的 Pickering 乳液的 G' 和 G'' 随着油相体积分数的增加而升高^[19]的结果是一致的。由此可见,油相体积分数对 Pickering 乳液的流变性能有明显的影 响,油相体积分数越高,液滴密度越大, G' 越大。

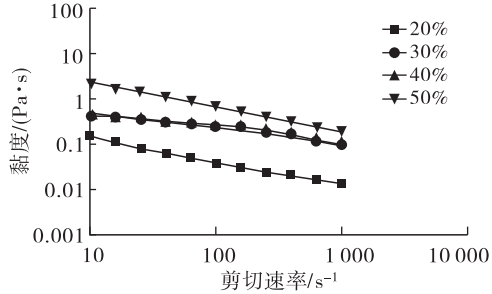


图 7 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液黏度的剪切速率依赖性
Fig.7 Shear rate dependence of the viscosity of ZFNPs – stabilized Pickering emulsions

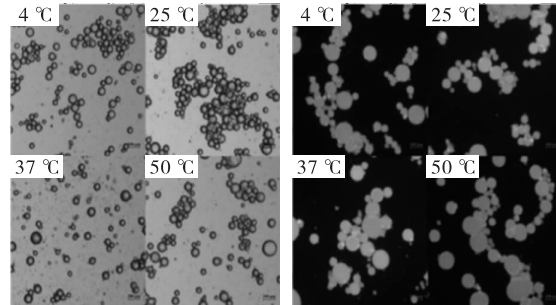
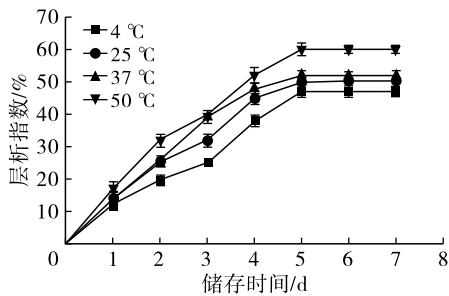


图 9 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液在不同温度下的层析指数、光学显微镜图和荧光显微镜图
Fig.9 Creaming indexes, optical microscopic images and fluorescence microscopic images of ZFNPs – stabilized Pickering emulsions under different temperature conditions

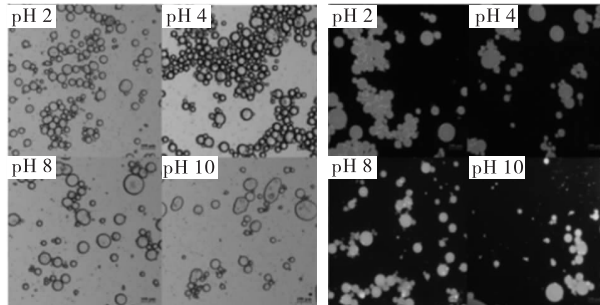
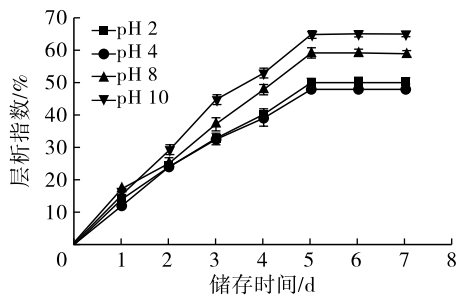


图 10 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液在不同 pH 下的层析指数、光学显微镜图和荧光显微镜图
Fig.10 Creaming indexes, optical microscopic images and fluorescence microscopic images of ZFNPs – stabilized Pickering emulsions under different pH conditions

层析指数表征的是乳液的重力分层程度。由图 9 和图 10 可知,50 °C 和 pH 10 条件下 Pickering 乳液层析指数最高,说明其稳定性较差。25 °C 和 37 °C 下 Pickering 乳液的层析指数相似,4 °C 下层析指数最低。随着储存时间的延长,层析指数呈先升高后平稳的趋势。pH 4 下 Pickering 乳液层析指数最小,表现出最好的稳定性。此外,在 4 ~ 50 °C 下放置 7 d 后,Pickering 乳液的形貌没有发生变化。光学显微

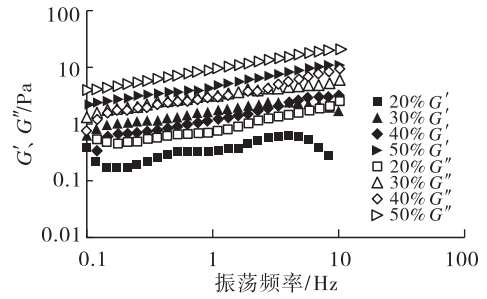


图 8 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液的动态频率扫描
Fig.8 Dynamic frequency sweep of ZFNPs – stabilized Pickering emulsions

2.2.3 Pickering 乳液的热稳定性和 pH 稳定性

在油相体积分数 30% 条件下制备的 Pickering 乳液具有很好的稳定性,其在不同温度和 pH 条件下的层析指数、光学显微镜图和荧光显微镜图分别见图 9 和图 10。

镜和荧光显微镜观察发现,液滴大小和形状保持稳定、均匀。这一结果与阿拉伯胶/玉米醇溶蛋白颗粒稳定的 Pickering 乳液在 60 °C 以下保持稳定的结果^[17]一致。在 pH 为 2 ~ 10 的范围内放置 7 d 后,ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液的形貌变化不明显,说明 ZFNPs 可以耐受较宽的 pH 变化。然而,光学显微镜和荧光显微镜观察发现,pH 为 2 和 4 时,Pickering 乳液液滴尺寸分布更为均匀,随着 pH 的

增加,液滴形状相对不规则。这可能是由于 ZFNPs 的疏水性和静电平衡被破坏,导致液滴聚集。这些结果表明,ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液能够较好地耐受温度、pH 变化。

2.2.4 体外消化特性

在油相体积分数 30% 条件下制备 Pickering 乳液,考察其体外消化特性,结果见图 11。

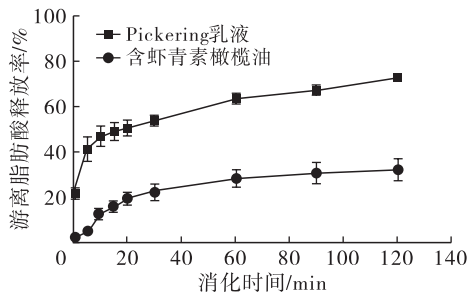


图 11 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液的游离脂肪酸释放率

Fig.11 Release rate of free fatty acids from ZFNPs-stabilized Pickering emulsions

由图 11 可知,随消化时间的延长,Pickering 乳液和含虾青素橄榄油的游离脂肪酸释放率先迅速升高后缓慢增加。消化 120 min 时,ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液的游离脂肪酸释放率为 79.5%,显著高于含虾青素橄榄油的。这可能是由于 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液的液滴尺寸更小,其界面面积比橄榄油大,从而导致 Pickering 乳液与脂肪酶接触更为充分,脂肪分解更快。

3 结论

本文制备了一种由 ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液,研究了 Fuc 对 Pickering 乳液性能的影响。结果表明,随着 Fuc 的加入,ZFNPs 的粒径明显增大,Zeta-电位由高正变为高负。此外,Fuc 的存在影响了玉米醇溶蛋白纳米颗粒的表面形貌,并呈现出明显的多糖附着蛋白结构,证实了氢键和静电相互作用是 ZFNPs 形成的主要相互作用力。流变学结果表明,制备的 Pickering 乳液具有剪切稀化流动的特征,未形成凝胶状结构。制备的 Pickering 乳液具有良好的储存稳定性和热稳定性,耐酸性能也较好,但 pH 大于 8 时,乳液粒径明显增加。消化 120 min,ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液的游离脂肪酸释放率为 79.5%,显著高于含虾青素橄榄油的。综上,ZFNPs 稳定的 Pickering 乳液可作为不稳定生物活性物质的包封载体,该研究为 Pickering 乳液的生产提供了一种潜在的方法,并可能成为新颖有效的递送系统。

参考文献:

[1] JIANG Y, WANG D, LI F, et al. Cinnamon essential oil

- Pickering emulsion stabilized by zein - pectin composite nanoparticles: Characterization, antimicrobial effect and advantages in storage application[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 148: 1280 - 1289.
- [2] RAMSDEN W. Separation of solids in the surface - layers of solutions and 'suspensions' (observations on surface - membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation): Preliminary account[J]. *Proc R Soc Lond*, 1904, 72: 156 - 164.
- [3] GONZALEZ ORTIZ D, POCHAT - BOHATIER C, CAMBEDOUZOU J, et al. Current trends in Pickering emulsions: Particle morphology and applications [J]. *Engineering*, 2020, 6(4): 468 - 482.
- [4] XIAO J, LI Y, HUANG Q. Recent advances on food - grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2016, 55: 48 - 60.
- [5] SHEKARFOROUSH E, JIANG X, MUHAMMED M K, et al. Enzymatic modification and adsorption of hydrophobic zein proteins on lactic acid bacteria stabilize Pickering emulsions [J/OL]. *Food Res Int*, 2022, 161: 111783 [2024 - 05 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111783>.
- [6] DE FOLTER J W J, VAN RUIJVEN M W M, VELIKOV K P. Oil - in - water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the water - insoluble protein zein [J]. *Soft Matter*, 2012, 8(25): 6807 - 6815.
- [7] WANG L J, HU Y Q, YIN S W, et al. Fabrication and characterization of antioxidant Pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs) [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(9): 2514 - 2524.
- [8] JI N, HONG Y, GU Z, et al. Preparation and characterization of insulin - loaded zein/carboxymethylated short - chain amylose complex nanoparticles [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(35): 9335 - 9343.
- [9] SOUZA E M C, FERREIRA M R A, SOARES L A L. Pickering emulsions stabilized by zein particles and their complexes and possibilities of use in the food industry: A review [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2022, 131: 107781 [2024 - 05 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107781>.
- [10] LIU Q, CHANG X, SHAN Y, et al. Fabrication and characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/pullulan complex colloidal particles [J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101(9): 3630 - 3643.
- [11] ZHANG H, JIANG L, TONG M, et al. Encapsulation of curcumin using fucoidan stabilized zein nanoparticles: Preparation, characterization, and *in vitro* release performance [J/OL]. *J Mol Liq*, 2021, 329: 115586

- [2024 - 05 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115586>.
- [12] ZHANG C, XU Y, WU S, et al. Fabrication of astaxanthin - enriched colon - targeted alginate microspheres and its beneficial effect on dextran sulfate sodium - induced ulcerative colitis in mice[J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 205: 396 - 409.
- [13] DUBASHYNSKAYA N V, GASILOVA E R, SKORIK Y A. Nano - sized fucoidan interpolyelectrolyte complexes; Recent advances in design and prospects for biomedical applications[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3):2615 [2024 - 05 - 17]. <https://doi.org/10.3390/ijms24032615>.
- [14] 闫紫玮,郭瑞阳,王小雪,等. 玉米醇溶蛋白/果胶稳定的肉桂精油皮克林乳液制备工艺的优化[J]. *中国食品学报*,2023,23(3):260 - 270.
- [15] TAVERNIER I, WIJAYA W, VAN DER MEEREN P, et al. Food - grade particles for emulsion stabilization[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2016, 50: 159 - 174.
- [16] CHERHAL F, COUSIN F, CAPRON I. Structural description of the interface of Pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(2): 496 - 502.
- [17] DAI L, SUN C, WEI Y, et al. Characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/gum arabic complex colloidal nanoparticles[J]. *Food Hydrocolloid*, 2018, 74: 239 - 248.
- [18] XU Y, CHU Y, FENG X, et al. Effects of zein stabilized clove essential oil Pickering emulsion on the structure and properties of chitosan - based edible films[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 156: 111 - 119.
- [19] PIRIYAPRASARTH S, JUTTULAPA M, SRIAMORNSAK P. Stability of rice bran oil - in - water emulsions stabilized by pectin - zein complexes; Effect of composition and order of mixing[J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 61:589 - 598.
- [20] MWANGI W W, HO K W, TEY B T, et al. Effects of environmental factors on the physical stability of Pickering - emulsions stabilized by chitosan particles [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 60: 543 - 550.
- [21] ZHANG T, GUO J, CHEN J F, et al. Heat stability and rheological properties of concentrated soy protein/egg white protein composite microparticle dispersions[J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 100: 105449 [2024 - 05 - 17]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105449>.
- [22] ZHU Q, LU H, ZHU J, et al. Development and characterization of Pickering emulsion stabilized by zein/corn fiber gum (CFG) complex colloidal particles [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 91: 204 - 213.
-
- (上接第 49 页)
- [17] FAN J C, HE H L, REN R, et al. Monochloropropanediol in edible vegetable oils from Hangzhou market in China: Occurrence and exposure risk assessment[J]. *Food Addit Contam A*, 2021, 38(11): 1867 - 1874.
- [18] 赵方蕾,张彤薇,潘峰,等. 2017—2020 年中国 3 ~ 17 岁儿童青少年烹调油消费状况分析[J]. *中国食物与营养*, 2023, 29(11): 52 - 57.
- [19] 赵方蕾,张彤薇,潘峰,等. 2017—2020 年中国 18 ~ 59 岁成年居民烹调油消费状况[J]. *中国食品卫生杂志*, 2023, 35(6): 909 - 914.
- [20] 赵方蕾,张彤薇,潘峰,等. 2017—2020 年中国老年居民烹调油消费状况[J]. *中国食品卫生杂志*, 2023, 35(11): 1644 - 1650.
- [21] 王绪卿,吴永宁,陈君石. 食品污染监测低水平数据处理问题[J]. *中华预防医学杂志*, 2002, 36(4): 278 - 279.
- [22] 刘卿,周萍萍,杨大进. 2015—2017 年中国市售食用植物油中氯丙醇酯和缩水甘油酯的污染状况[J]. *卫生研究*, 2021, 50(1): 75 - 78.
- [23] 张荷香,陈江,陈莉莉,等. 2016—2020 年浙江省市售 9 种食用油中 3 - 氯丙醇酯污染状况[J]. *卫生研究*, 2022, 51(2): 302 - 307.
- [24] 张荷香,陈江,陈莉莉,等. 2016—2020 年浙江省市售食用植物油中 2 - 氯丙醇酯污染状况和暴露评估[J]. *卫生研究*, 2023, 52(4): 618 - 622.
- [25] 朱丽君,王立友,王楷,等. 2016—2020 年山东省食用植物油中氯丙醇酯污染水平及人群暴露评估[J]. *卫生研究*, 2022, 51(5): 823 - 828.
- [26] 刘壮,刘莹,罗日明,等. 植物油精炼过程中缩水甘油酯和 3 - 氯丙醇酯的形成及脱除研究进展[J]. *中国油脂*, 2023, 48(3): 64 - 70.
- [27] 武德银,李媛,王满意,等. 食用油中氯丙醇酯污染及检测方法研究进展[J]. *中国油脂*, 2017, 42(10): 69 - 73, 92.
- [28] SUN C, WU N, KOU S, et al. Occurrence, formation mechanism, detection methods, and removal approaches for chloropropanols and their esters in food: An updated systematic review [J/OL]. *Food Chem X*, 2023, 17: 100529[2024 - 05 - 28]. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100529>.