

# 乳清分离蛋白 - 葡聚糖接枝物 Pickering 乳液的稳定性研究

戴清源, 傅锡鹏, 朱秀灵, 洪青源, 王慧琴, 陈锦, 方雯

(安徽工程大学生物与食品工程学院, 安徽芜湖 241000)

**摘要:**为提高蛋白基 Pickering 乳液稳定性, 采用美拉德反应制备乳清分离蛋白(WPI) - 葡聚糖(Dex)接枝物, 然后利用该接枝物制得蛋白基固体颗粒, 再与中链甘油三酯制备 Pickering 乳液, 考察 WPI - Dex 接枝物对蛋白基固体颗粒乳化活性、乳化稳定性和蛋白基 Pickering 乳液乳析指数的影响, 以及 Pickering 乳液在不同 pH、加热温度、贮藏时间下粒径的变化。结果表明:扫描电镜观察到共价接枝 Dex 将 WPI 形貌结构由球状转变为片状, 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳证实干法美拉德反应成功制备了 WPI - Dex 接枝物; 与 WPI 相比, WPI - Dex 接枝物的乳化活性和乳化稳定性分别增加了 57.8% 和 138.5%; WPI 和 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液贮藏 30 d 时的乳析指数分别为 52.3% 和 36.0%, WPI - Dex 接枝物使 Pickering 乳液的乳析稳定性提高了 31.2%; WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液具有良好的 pH 稳定性、热稳定性和贮藏稳定性。综上, 蛋白质糖基化接枝修饰是提高天然蛋白质 Pickering 乳液稳定性的有效方法。

**关键词:**乳清分离蛋白; 葡聚糖; 美拉德反应; Pickering 乳液; pH 稳定性; 热稳定性; 贮藏稳定性

**中图分类号:**TS201.7;O648 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2023)10-0064-07

## Stability of whey protein isolate - dextran conjugate Pickering emulsion

DAI Qingyuan, FU Xipeng, ZHU Xiuling, HONG Qingyuan,

WANG Huiqin, CHEN Jin, FANG Wen

(School of Biological and Food Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, Anhui, China)

**Abstract:** In order to improve the stability of protein - based Pickering emulsion, Maillard reaction was used to prepare the whey protein isolate(WPI) - dextran(Dex) conjugate. The WPI - Dex conjugate was used to prepare protein - based solid particles, and then Pickering emulsion was prepared with medium - chain triglyceride. The effects of the WPI - Dex conjugate on the emulsification activity, emulsion stability of protein - base solid particles and creaming index of Pickering emulsion were investigated, as well as the change of diameter of Pickering emulsion under different pH, heating temperature and storage time. The results showed that scanning electron microscopy (SEM) observed the covalently grafted Dex transformed the morphologic structure of WPI from globular to flake. The WPI - Dex conjugate was

successfully prepared by the dry state Maillard reaction, which was confirmed by sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis. Compared with WPI, the emulsification activity and emulsion stability of WPI - Dex conjugate increased by 57.8% and 138.5%, respectively. The creaming indexes of WPI and WPI - Dex conjugate Pickering emulsion stored for 30 d were 52.3% and 36.0%, respectively, and the creaming stability of WPI - Dex conjugate

收稿日期:2022-04-12;修回日期:2023-06-03

基金项目:安徽省高校自然科学研究项目(KJ2018A0105);芜湖市科技计划项目(2022jc22);安徽工程大学校级科研项目(Xjky2022093, Xjky2022097);安徽工程大学研究生实践与创新项目(201811);安徽工程大学大学生科研项目(2022DZ30);大学生创新创业训练计划项目(201910363039, S202110363250)

作者简介:戴清源(1980),男,教授,硕士生导师,研究方向为功能因子稳态化与控释技术(E-mail)daiqingyuan9@126.com。

通信作者:朱秀灵,副教授,博士(E-mail)zhuling78276@163.com。

Pickering emulsion increased by 31.2%. WPI - Dex conjugate Pickering emulsion had good pH stability, thermal stability and storage stability. In conclusion, the glycosylation graft modification of protein is an effective method to improve the stability of natural protein Pickering emulsions.

**Key words:** whey protein isolate; dextran; Maillard reaction; Pickering emulsion; pH stability; thermal stability; storage stability

与合成两亲表面活性剂分子作为乳化剂的传统乳液相比,以天然生物大分子固体颗粒作为乳化剂的 Pickering 乳液,不仅具有更好的生物相容性、可再生性和可降解性,而且表现出更高的稳定性<sup>[1-2]</sup>。近年来,越来越多的科研工作者聚焦到可食性固体颗粒作为乳化剂的 Pickering 乳液的研究与开发当中,利用蛋白质、多糖或脂质制备的固体颗粒在油水界面形成单层或多层膜结构,相较传统表面活性剂分子赋予界面膜更高的黏度和机械强度,使 Pickering 乳液具有更好的乳化特性,进而提高 Pickering 乳液的应用性能。乳清分离蛋白(Whey protein isolate, WPI)是乳制品加工过程中的副产物,不仅营养价值高,而且具有良好的功能特性,如乳化性、成膜性和凝胶性等,使其成为制备蛋白基(至少含有一种蛋白质组分)Pickering 乳液常用材料<sup>[3]</sup>。但 WPI 对环境条件如 pH、离子浓度和温度等敏感,易发生变性、沉淀或者凝胶化,导致 WPI Pickering 乳液仍易发生絮凝、聚结、乳析、奥斯特瓦尔德熟化等物理失稳现象,降低了 WPI Pickering 乳液的应用性能<sup>[4]</sup>。

研究表明<sup>[5-6]</sup>,美拉德反应可显著提高 WPI 的乳化活性和乳化稳定性。葡聚糖(Dextran, Dex)因具有低黏度、高溶解性、无成胶性的优点,是研究 WPI 美拉德反应体系常用的一种中性多糖,通过与 Dex 的共价接枝可降低 WPI 的环境敏感性,赋予 WPI 接枝物固体颗粒良好的环境稳定性,为解决 WPI Pickering 乳液稳定性问题提供了可行的解决方法。Xi 等<sup>[7-8]</sup>利用美拉德反应将葡萄糖、乳糖或葡聚糖共价接枝到 WPI 上,不仅提高了由其制备的 Pickering 乳液的乳化活性和乳化稳定性,而且显著提高了 Pickering 乳液对  $\beta$ -胡萝卜素的包埋率。尽管目前对 WPI 接枝物的制备条件、物化性能以及应用已有了大量研究<sup>[8-9]</sup>,但在改善接枝物制备的 Pickering 乳液稳定性方面研究还较少。

本研究以 WPI 和 Dex 为原料,采用绿色高效制备蛋白质接枝物的美拉德反应,该方法仅需调控反应体系的相对湿度与反应温度,无需外加化学试剂,即可制备获得 WPI - Dex 接枝物,反应稳定性、安全性高。在制得 WPI - Dex 接枝物固体颗粒基础上,制备 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液,探究美拉德

反应对蛋白基 Pickering 乳液乳化活性、乳化稳定性和乳析指数的影响,进一步探讨不同 pH、加热温度、贮藏时间对 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液稳定性的影响,从而为绿色制备高稳定性的蛋白基 Pickering 乳液提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

WPI,上海江莱生物科技有限公司;以辛酸酸甘油酯为主要成分的中链甘油三酯(Medium chain triglycerides, MCT),广州市耶尚贸易有限公司;葡聚糖(分子质量 40 kDa)、氢氧化钠、盐酸、十二烷基硫酸钠(SDS)等均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

JM - B1003 型电子天平,诸暨市超泽衡器设备有限公司;FD - 1A - 50 + 型冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;DHG - 9070 型烘箱,成都晟杰科技有限公司;TG16 - WS 型离心机,湖南湘仪实验仪器开发有限公司;IKA<sup>®</sup>T18 分散机,艾卡(广州)仪器设备有限公司;ZS90 纳米粒度分析仪,上海思百吉仪器有限公司;S - 4800 扫描电子显微镜,日本日立有限公司;DYY - 6C 型电泳仪,北京六一生物科技有限公司;UV - 5800PC 型分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 WPI - Dex 接枝物的制备

参照文献[10]利用干法美拉德反应制备 WPI - Dex 接枝物。将 WPI 与 Dex 按质量比 1:2 溶于去离子水中,用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 7.0,再置于 -20 °C 冰箱冷冻 24 h 以确保样品完全冻结,将冻结样品于真空冷冻干燥机中冻干 48 h,而后将冻干粉置于底部盛有饱和溴化钾溶液的干燥器中,将干燥器置于干燥箱中在 80 °C 下反应 48 h,取出并置于 -20 °C 冰箱中保存,备用。

#### 1.2.2 Pickering 乳液的制备

固体颗粒溶液的制备:将 WPI、WPI - Dex 混合物(质量比 1:2)和 WPI - Dex 接枝物分别溶于去离子水中,并用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 7.0,同时使各溶液中蛋白质质量浓度为 5 mg/mL,在

85 °C 下水浴 30 min, 取出冷却, 即得到蛋白质的固体颗粒溶液。

Pickering 乳液的制备: 按文献[11]的方法, 以蛋白质的固体颗粒溶液为水相, 以 MCT 为油相, 分别向预制得的 WPI、WPI - Dex 混合物和 WPI - Dex 接枝物固体颗粒溶液中, 按油水两相质量比 3:7 加入 MCT, 再利用高速分散机将油水混合物在 12 000 r/min 下分散 3 min, 得到均一的 Pickering 乳液, 室温下避光贮藏。

### 1.2.3 WPI - Dex 接枝物微观形貌的观察

以去离子水为溶剂配制质量浓度为 2 mg/mL 的样品溶液, 吸取适量样品溶液滴于铜网上, 室温干燥 48 h 后进行真空镀金处理, 利用扫描电子显微镜在加速电压 5 kV、放大倍数 400 倍下对样品进行观察并拍照。

### 1.2.4 WPI - Dex 接枝物的十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)

参照文献[12]的方法对样品进行 SDS - PAGE 分析。称取适量样品溶于去离子水中, 使各个样品最终蛋白质质量浓度为 1 mg/mL, 按照体积比 1:3 的比例将样品溶液与上样缓冲液混合后进行 SDS - PAGE。电泳所采用的分离胶质量分数为 12%, 浓缩胶质量分数为 5%, 上样量为 10 μL。电泳结束后用考马斯亮蓝 R - 250 染色 15 min, 然后用洗脱液脱色 3~4 次, 凝胶成像仪上获取蛋白质电泳图。

### 1.2.5 乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)的测定

参照文献[13]的方法测定蛋白基固体颗粒的 EAI 和 ESI。取 50 μL 按 1.2.2 方法制备的 Pickering 乳液于试管中, 加入 5 mL 0.1 g/100 mL SDS 溶液, 混合均匀, 利用紫外分光光度计测定其在 500 nm 波长处的吸光度( $A_0$ )。以 0.1 g/100 mL SDS 溶液作为空白, 重复 3 次。蛋白基固体颗粒的 EAI 和 ESI 分别按公式(1)和(2)计算。

$$I_{EA} = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times D}{C \times 10\,000 \times \varphi} \quad (1)$$

$$I_{ES} = \frac{A_0 \times 10}{(A_0 - A_{10})} \quad (2)$$

式中:  $I_{EA}$  为 EAI,  $m^2/g$ ;  $I_{ES}$  为 ESI, min;  $A_0$  为 Pickering 乳液在 0 min 时的吸光度;  $D$  为稀释系数(本实验中取值 100);  $C$  为初始蛋白质质量浓度, g/mL;  $\varphi$  为油相的体积分数;  $A_{10}$  为 Pickering 乳液在 10 min 时的吸光度。

### 1.2.6 乳析指数(CI)的测定

参照文献[14]的方法测定乳析指数。将 10 mL Pickering 乳液转移至刻度试管(内径 1.5 cm, 高度

20 cm)中, 并用密封膜密封以防止水分蒸发, 然后在室温下贮藏不同时间。记录 Pickering 乳液析出透明清液层的高度( $H_s$ )和 Pickering 乳液的总高度( $H_t$ )。按公式(3)计算乳析指数( $I$ )。

$$I = \frac{H_s}{H_t} \times 100\% \quad (3)$$

### 1.2.7 Pickering 乳液稳定性的测定

#### 1.2.7.1 pH 稳定性

利用 0.1 mol/L HCl 或 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 Pickering 乳液的 pH 分别至 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0, 参照文献[10]在折射率 1.330、平衡时间 3 min 条件下, 采用 ZS90 纳米粒度分析仪测定不同 pH 下 Pickering 乳液液滴的粒径, 以粒径变化为指标考察 Pickering 乳液的 pH 稳定性。

#### 1.2.7.2 热稳定性

将 Pickering 乳液分别置于 25、40、55、70、85 °C 水浴中各 10 min, 然后于冰水浴中冷却至室温, 采用 ZS90 纳米粒度分析仪测定不同加热温度处理后 Pickering 乳液液滴的粒径, 以粒径变化为指标考察 Pickering 乳液的热稳定性。

#### 1.2.7.3 贮藏稳定性

将 Pickering 乳液在室温(约 25 °C)下贮藏, 采用 ZS90 纳米粒度分析仪测定贮藏 1、3、7、15、30 d 时 Pickering 乳液液滴的粒径, 以粒径变化为指标考察 Pickering 乳液的贮藏稳定性。

### 1.2.8 数据处理

每组实验重复 3 次, 采用 SPSS Statistics 25 软件进行 Duncan 法显著性分析, 同一类型不同字母表示同一样品在不同条件下差异显著( $p < 0.05$ ), 采用 Origin 2018 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 WPI - Dex 接枝物的微观形貌

WPI、Dex、WPI - Dex 混合物和 WPI - Dex 接枝物的扫描电镜图如图 1 所示。

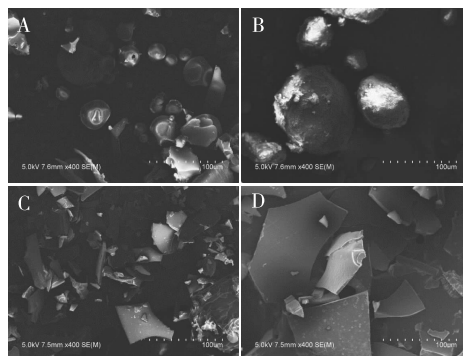


图 1 WPI(A)、Dex(B)、WPI - Dex 混合物(C)和 WPI - Dex 接枝物(D)的扫描电镜图

由图1可见,WPI的形貌呈现典型的球状结构,Dex的物理混合或共价接枝,使WPI的形貌结构转变为WPI-Dex混合物或WPI-Dex接枝物的光滑平整片状结构<sup>[15]</sup>,且WPI-Dex接枝物比WPI-Dex混合物具有更大的片状结构。这可能是因为Dex分子链的空间位阻效应、分子之间氢键相互作用以及由此产生的分子缠绕作用,显著抑制了WPI在干燥失水过程中疏水聚集形成球状结构的趋势,将球状结构的WPI转变为片状结构的WPI-Dex混合物或WPI-Dex接枝物。与WPI-Dex混合物相比,WPI-Dex接枝物中Dex与WPI共价接枝结合更加牢固,分子链也更长,因此WPI-Dex接枝物比WPI-Dex混合物的片状结构更大。天然蛋白质经过修饰后其形貌结构将发生变化,李宛蓉等<sup>[16]</sup>研究发现,WPI经单宁酸修饰后其纳米颗粒中发生了类似的形貌结构转变。WPI-Dex接枝物形成过程推测如图2所示。

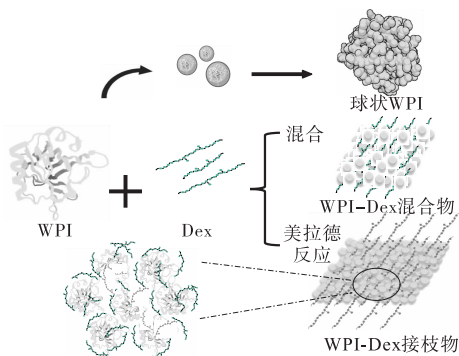
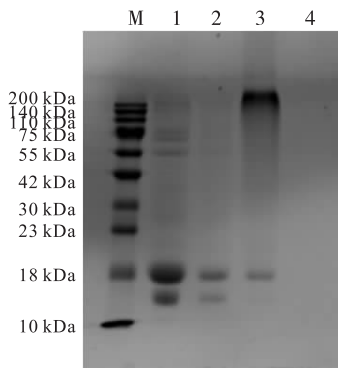


图2 WPI、WPI-Dex混合物与WPI-Dex接枝物形貌形成过程示意图

## 2.2 WPI-Dex接枝物的SDS-PAGE

WPI、Dex、WPI-Dex混合物和WPI-Dex接枝物的SDS-PAGE图如图3所示。



注:M.标准蛋白质;1.WPI;2.WPI-Dex混合物;3.WPI-Dex接枝物;4.Dex

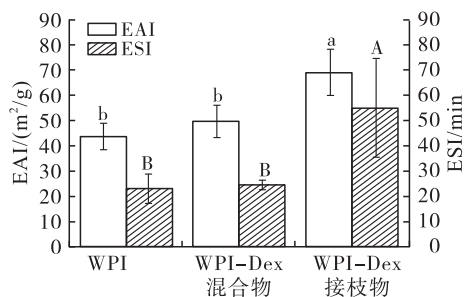
图3 WPI、Dex、WPI-Dex混合物及WPI-Dex接枝物的SDS-PAGE图

由图3可见,Dex分子不存在电泳条带,这是中性Dex分子不带电荷所致。一般来说,分子量较

大的蛋白质在SDS-PAGE中迁移速率慢,在靠近电泳分离胶的顶端会产生较强的蛋白质条带信号。蛋白质共价接枝Dex分子链后分子质量增大,迁移速率变慢,接枝物电泳条带靠后。与泳道3相比,泳道1和泳道2中消失的蛋白质电泳条带如 $\alpha$ -乳白蛋白和 $\beta$ -乳球蛋白,它们与Dex共价接枝生成了分子质量更大的蛋白质接枝物,因此这些接枝物出现在泳道3靠近分离胶顶端处,这一结果证实了WPI-Dex接枝物的生成<sup>[17-18]</sup>。

## 2.3 WPI-Dex接枝物的乳化性质

EAI和ESI是评价乳化剂乳化性质的重要指标。固体颗粒乳化剂的主要作用是通过降低油水界面张力,形成一定黏度和较高机械强度的界面膜,实现对Pickering乳液的乳化作用和稳定作用。WPI、WPI-Dex混合物和WPI-Dex接枝物固体颗粒的EAI和ESI如图4所示。



注:不同字母表示不同蛋白基固体颗粒间存在显著差异( $p < 0.05$ )

图4 WPI、WPI-Dex混合物和WPI-Dex接枝物固体颗粒的EAI和ESI

由图4可知:美拉德反应对蛋白基固体颗粒的EAI和ESI影响存在显著差异( $p < 0.05$ ),与WPI相比,WPI-Dex接枝物的EAI和ESI分别增加了57.8%和138.5%;WPI与WPI-Dex混合物的EAI和ESI并无显著差异。这说明未接枝Dex并没有提高WPI-Dex混合物的EAI和ESI,但共价接枝的Dex显著提高了WPI-Dex接枝物的EAI和ESI。这可能是因为共价接枝Dex分子带有大量的亲水性羟基,改变了WPI分子的柔韧性和表面疏水性,进一步加强了WPI降低表面张力的能力,从而显著提高了WPI-Dex接枝物固体颗粒作为Pickering乳液乳化剂的EAI<sup>[19]</sup>。WPI-Dex接枝物疏水性部分吸附在油相表面上,共价接枝的强亲水性Dex插入水相中,WPI-Dex接枝物在Pickering乳液表面形成的乳化膜有一定的厚度和黏弹性,形成较强的空间位阻效应有效抑制了液滴的聚结,赋予WPI-Dex接枝物较高的ESI<sup>[20]</sup>。

## 2.4 Pickering 乳液的乳析指数

乳液通常会在不同贮藏时间发生分层(乳析或沉淀)、乳滴絮凝、奥斯特瓦尔德熟化和乳滴聚结等物理不稳定的现象,乳滴絮凝和乳滴聚结都会加速乳析现象的发生<sup>[21]</sup>。WPI、WPI - Dex 混合物和 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液在贮藏 30 d 期间乳析指数的变化情况如图 5 所示。

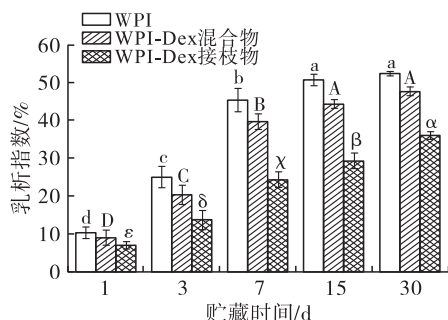


图 5 贮藏时间对 Pickering 乳液乳析指数的影响

由图 5 可知,所有 Pickering 乳液的乳析指数均随着贮藏时间的延长而呈现增加的趋势,但 Dex 的添加降低了 Pickering 乳液的乳析指数,共价接枝的 Dex 比非共价接枝的 Dex 对降低 Pickering 乳液乳析指数更有效。贮藏 30 d 时,WPI、WPI - Dex 混合物和 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液的乳析指数分别为 52.3%、47.6% 和 36.0%,WPI - Dex 混合物和 WPI - Dex 接枝物使 Pickering 乳液的乳析稳定性分别提高了 9.0% 和 31.2%。因此,WPI - Dex 接枝物可以更有效提高 Pickering 乳液的贮藏稳定性。这可能是由于共价接枝 Dex 分子链的较强空间位阻效应使 WPI - Dex 接枝物具有更高的 ESI,从而延缓 Pickering 乳液液滴聚结促发的乳析程度<sup>[22]</sup>。

## 2.5 Pickering 乳液的稳定性

### 2.5.1 pH 稳定性

Pickering 乳液液滴的粒径变化越小稳定性越高,Pickering 乳液失稳后,其液滴的粒径将会显著增大。因此,可通过测定液滴的粒径来评价 Pickering 乳液的稳定性。在不同 pH (3.0 ~ 9.0) 条件下,WPI、WPI - Dex 混合物、WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液的粒径如图 6 所示。

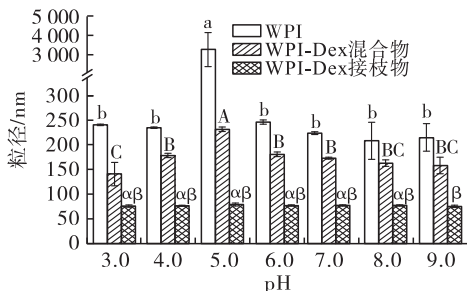


图 6 pH 对 Pickering 乳液液滴粒径的影响

由图 6 可知,WPI、WPI - Dex 混合物、WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴的粒径均在 pH 5.0 时最大,这可能是因为 WPI 的等电点在 pH 4.8 ~ 5.2 之间,此时分子之间的静电排斥作用相对最弱、疏水相互作用相对增强,导致蛋白质分子之间发生疏水性聚集或絮凝<sup>[4]</sup>。而当 pH 远离等电点时,WPI 固体颗粒作为乳化剂的 Pickering 乳液液滴的粒径由 pH 5.0 时的 3 260.3 nm 降低至 pH 7.0 时的 224.2 nm,这可能是由于较强的静电排斥作用抑制液滴之间的聚结,使液滴维持相对较小的粒径。与 WPI 固体颗粒作为乳化剂的 Pickering 乳液相比,Dex 的添加使 WPI - Dex 混合物 Pickering 乳液在 pH 5.0 时液滴的粒径显著减小为 232.0 nm,但液滴粒径仍然存在 pH 敏感性问题。这一结果表明混合物中非共价结合的 Dex 分子链的空间位阻效应虽然能在一定程度上提高 Pickering 乳液的 pH 稳定性,但不能彻底解决其 pH 稳定性的问题。WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液在 pH 3.0 ~ 9.0 范围内液滴的粒径和粒径变化均最小,在 pH 5.0 时液滴的粒径为 79.6 nm,在实验 pH 范围表现出最高的 pH 稳定性。这可能是由于具有大量亲水性羟基的 Dex 分子链共价结合到 WPI 分子表面,提供了足够多的亲水性羟基和非常牢固的空间位阻效应,赋予 Pickering 乳液较强黏弹性和机械强度的界面膜结构,足以补偿静电排斥作用降低和疏水相互作用相对增加所导致的 Pickering 乳液聚结或絮凝,改善液滴间的相互作用,从而保持较小的粒径和表现出最高的稳定性,这一结果与 Qin 等<sup>[23]</sup>的研究结果一致。

### 2.5.2 热稳定性

不同温度处理的 WPI、WPI - Dex 混合物和 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴的粒径如图 7 所示。

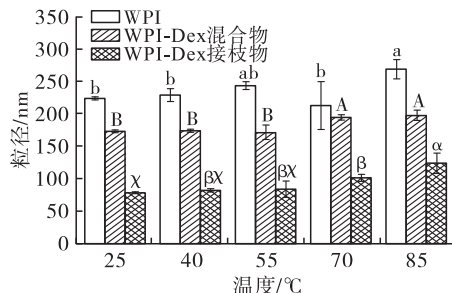


图 7 温度对 Pickering 乳液液滴粒径的影响

由图 7 可知,WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴的粒径和粒径变化均最小。WPI、WPI - Dex 混合物与 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴的粒径分别从 25 °C 时的 224、173、78 nm 增加到 85 °C 时的 269、198、124 nm。这可能是由于温度越高氢键相互

作用强度越弱,而疏水相互作用强度越强,高温促进了 Pickering 乳液经疏水相互作用诱发的液滴聚结,最终导致液滴粒径增大。共价接枝的 Dex 分子链比非共价接枝的 Dex 分子链提供了更加牢固可靠的空间位阻效应,更加有效地抑制疏水相互作用促发的液滴聚结,因此 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴在不同加热温度条件下具有最小的液滴粒径,表现出最高的热稳定性<sup>[24-25]</sup>。

### 2.5.3 贮藏稳定性

不同贮藏时间下 WPI、WPI - Dex 混合物和 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴的粒径如图 8 所示。

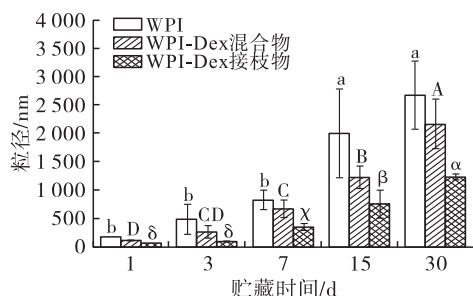


图 8 贮藏时间对 Pickering 乳液液滴粒径的影响

由图 8 可知, WPI、WPI - Dex 混合物与 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴的粒径均随着贮藏时间的延长而增大,但 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液始终保持最小的液滴粒径和粒径变化。贮藏 15 d 时 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液液滴的粒径 (761.5 nm) 比贮藏 7 d 时 WPI Pickering 乳液液滴的粒径 (837.7 nm) 还小,表明 WPI - Dex 接枝物具有延长 Pickering 乳液贮藏期的应用潜能。Dex 分子链一方面含有大量的亲水性羟基,有助于维持液滴的结构稳定性;另一方面共价接枝的 Dex 分子链比非共价接枝的 Dex 分子链能提供更加牢固的空间位阻效应,一定程度上减弱 WPI 分子间疏水相互作用的强度,使 WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液具有更高的贮藏稳定性<sup>[26]</sup>。Zhang 等<sup>[27]</sup>同样发现在贮藏期间糖基化蛋白可显著抑制纳米乳液液滴粒径的增加。

## 3 结论

本实验采用 SDS - PAGE 证实干法美拉德反应成功制备了 WPI - Dex 接枝物,扫描电镜观察到 Dex 分子的添加,使 WPI 由球状结构转变为片状结构,并且共价接枝 Dex 分子链的 WPI 比未共价接枝 Dex 分子链的 WPI 具有更大的片状结构。与 WPI 相比, WPI - Dex 接枝物的 EAI 和 ESI 分别增加了 57.8% 和 138.5%。WPI - Dex 接枝物使 WPI Pickering 乳液贮藏 30 d 时的乳析指数从 52.3% 降低至 36.0%,乳析稳定性提高了 31.2%。选择粒径作为评价

Pickering 乳液稳定性的指标,结果发现, WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液相较 WPI、WPI - Dex 混合物 Pickering 乳液在不同 pH、温度和贮藏时间下液滴的粒径及粒径变化均最小, WPI - Dex 接枝物 Pickering 乳液表现出良好的 pH 稳定性、热稳定性和贮藏稳定性。因此, WPI - Dex 接枝物可显著抑制 Pickering 乳液的聚结,为提高蛋白基 Pickering 乳液的稳定性提供了新途径。

### 参考文献:

- [1] 王健, 邓苏梦, 戴燕, 等. 不同包埋技术构建的食品级运载体系负载  $\beta$ -胡萝卜素的进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(3): 380-385.
- [2] 谢桂杰, 梁蓉, 杨成. 运载  $\beta$ -胡萝卜素的 Pickering 乳液的制备及表征[J]. 精细化工, 2018, 35(9): 1582-1588.
- [3] ALISEDAGHAT D, NASRABADI M N, WU J F, et al. Maillard conjugation as an approach to improve whey proteins functionality: a review of conventional and novel preparation techniques [J]. Trends Food Sci Technol, 2019, 91: 1-11.
- [4] SEDAGHAT D A, NIKBAKHT N M, KASSOZI V, et al. Pickering stabilization of thymol through green emulsification using soluble fraction of almond gum - whey protein isolate nano-complexes [J]. Food Hydrocolloid, 2019, 88: 218-227.
- [5] CHEN W J, WANG W J, GUO M M, et al. Whey protein isolate - gum Acacia Maillard conjugates as emulsifiers for nutraceutical emulsions: impact of glycation methods on physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of  $\beta$ -carotene emulsions [J/OL]. Food Chem, 2022, 375: 131706 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131706>.
- [6] LIU H, ZHU X F, JIANG Y, et al. Physicochemical and emulsifying properties of whey protein isolate (WPI) - polydextrose conjugates prepared via Maillard reaction [J]. Int J Food Sci Tech, 2021, 56(8): 3784-3794.
- [7] XI C Y, KANG N X, ZHAO C H, et al. Effect of reaction temperature on the protein structure and the ability to encapsulate  $\beta$ -carotene of WPI - dextran conjugates [J]. J Food Sci, 2020, 85(2): 1707-1716.
- [8] XI C, KANG N, ZHAO C, et al. Effects of pH and different sugars on the structures and emulsification properties of whey protein isolate - sugar conjugates [J/OL]. Food Biosci, 2020, 33: 100507 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100507>.
- [9] LIU G, ZHONG, Q X. Thermal aggregation properties of whey protein glycosylated with various saccharides [J]. Food Hydrocolloid, 2013, 32: 87-96.
- [10] FAN Y T, YI J, ZHANG Y Z, et al. Physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of  $\beta$ -carotene nanoemulsions stabilized with whey protein - dextran conjugates [J]. Food Hydrocolloid, 2017, 63: 256-264.

- [11] LIU G, LI W R, QIN X G, et al. Pickering emulsions stabilized by amphiphilic anisotropic nanofibrils of glycosylated whey proteins [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 101: 105503 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105503>.
- [12] 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 Sci Technol*, 2016, 66: 305-310.
- [13] ASHAOLU T J, ZHAO G H. Fabricating a Pickering stabilizer from okara dietary fibre particulates by conjugating with soy protein isolate via Maillard reaction [J]. *Foods*, 2020, 9(2): 143-160.
- [14] 陈艾霖, 洪鹏志, 宋春勇, 等. 热处理对负载叶黄素的罗非鱼分离蛋白乳液稳定性和体外消化的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(16): 173-180.
- [15] 陈悦, 陈季旺, 周琦, 等. 壳聚糖-乳清分离蛋白复合膜的制备、形态结构及理化性质 [J]. *食品科学*, 2014, 35(9): 106-111.
- [16] 李宛蓉, 刘佩, 余静怡, 等. 乳清分离蛋白与单宁酸相互作用提高稻米油 Pickering 乳液的稳定性 [J]. *食品科学*, 2020, 41(18): 1-7.
- [17] ZHU D, DAMODARAN S, LUCEY J A. Formation of whey protein isolate (WPI) - dextran conjugates in aqueous solutions [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 7113-7118.
- [18] TURAN D, GIBIS M, GUNES G, et al. The impact of the molecular weight of dextran on formation of whey protein isolate (WPI) - dextran conjugates in fibers produced by needleless electrospinning after annealing [J]. *Food Funct*, 2018, 9: 2193-2200.
- [19] HONG Z, XIAO N, LI L, et al. Glycation of whey protein isolate and emulsions prepared by conjugates [J/OL]. *J Food Eng*, 2022, 316: 110852 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110852>.
- [20] CHEN W J, MA X B, WANG W J, et al. Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound Maillard reaction [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 95: 298-307.
- [21] 李松南. 淀粉基 Pickering 乳液稳定机理及在叶黄素递送中的应用研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [22] LILLARD J S, CLARE D A, DAUBERT C R. Glycosylation and expanded utility of a modified whey protein ingredient via carbohydrate conjugation at low pH [J]. *J Dairy Sci*, 2009, 92: 35-48.
- [23] QIN X G, YU J Y, WANG Q, et al. Preparation of camellia oil pickering emulsion stabilized by glycosylated whey protein isolate and chitoooligosaccharide: effect on interfacial behavior and emulsion stability [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2022, 153: 112515 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112515>.
- [24] YI P, WU Z Z, XIE Q T, et al. Insight into the stabilization mechanism of emulsions stabilized by Maillard conjugates: protein hydrolysates - dextrin with different degree of polymerization [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 99: 105347 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105347>.
- [25] DOOST A S, NASRABADI M N, GOLI S A H, et al. Maillard conjugation of whey protein isolate with water-soluble fraction of almond gum or flaxseed mucilage by dry heat treatment [J/OL]. *Food Res Int*, 2020, 128: 108779 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108779>.
- [26] CHEN C, SHI K, QIN X, et al. Effect of interactions between glycosylated protein and tannic acid on the physicochemical stability of Pickering emulsions [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2021, 152: 112383 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112383>.
- [27] ZHANG B, LEI M, HUANG W J, et al. Improved storage properties and cellular uptake of casticin-loaded nanoemulsions stabilized by whey protein-lactose conjugate [J/OL]. *Foods*, 2021, 10(7): 1640 [2022-04-12]. <https://doi.org/10.3390/foods10071640>.
- (上接第 63 页)
- [25] RAZI SM, MOTAMEDZADEGAN A, SHAHIDI A, et al. The effect of basil seed gum (BSG) on the rheological and physicochemical properties of heat-induced egg albumin gels [J]. *Food Hydrocolloid*, 2018, 82: 268-277.
- [26] GONG K J, SHI A M, LIU H Z, et al. Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein isolate [J]. *J Food Eng*, 2016, 170: 33-40.
- [27] 阮奇珺. 大豆蛋白热诱导二硫键连接物的形成及巯基变化亚基水平研究 [D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2015.
- [28] 汪长青, 李兴江, 穆冬冬, 等. 预处理对大豆分离蛋白结构及凝胶性质的影响 [J]. *中国粮油学报*, 2018, 33(10): 40-46, 52.
- [29] 陈振家, 王晓闻, 荆旭, 等. 不同温度处理对红芸豆蛋白热稳定性及结构的影响 [J]. *农业工程学报*, 2020, 36(19): 306-312.
- [30] MALIK M A, SANINI C S. Heat treatment of sunflower protein isolates near isoelectric point: effect on rheological and structural properties [J]. *Food Chem*, 2019, 276: 554-561.
- [31] 王晓琳, 朱力杰, 陈妍婕, 等. 不同干热处理对花生蛋白二级结构及乳化性的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42(5): 86-90.
- [32] 畅鹏, 杜鑫, 杨东晴, 等. 蛋白质热聚集行为机理及其对蛋白质功能特性影响的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2018, 39(24): 318-325.