

# pH 和 NaCl 浓度对核桃蛋白纳米颗粒 Pickering 乳液稳定性的影响

刘炯娜, 张恒瑄, 蒋雨心, 范方宇

(西南林业大学 生命科学学院, 西南地区生物多样性保育国家林业和草原局重点实验室,  
云南省森林灾害预警与控制实验室, 昆明 650224)

**摘要:**为提高核桃蛋白 Pickering 乳液的稳定性,以核桃蛋白纳米颗粒(Nano-WPI)为稳定剂制备 Pickering 乳液,分析不同 pH(2.0~8.0)和 NaCl 浓度(0~400 mmol/L)对 Pickering 乳液乳化活性、粒径、流变特性、热稳定性和贮藏稳定性的影响。结果表明:Pickering 乳液稳定性随 pH 增加先降低后升高;pH 为 8.0 时, Pickering 乳液乳化活性最大(32.79 m<sup>2</sup>/g),平均粒径为 3.33 μm,乳液呈弱凝胶特性,热稳定性和贮藏稳定性良好,综合性能最佳;随 NaCl 浓度增加, Pickering 乳液乳化活性先减小后增大,粒径先增大后减小,NaCl 浓度与表观黏度、储能模量和贮藏稳定性呈正相关;NaCl 浓度为 400 mmol/L 时, Pickering 乳液乳化活性为 13.18 m<sup>2</sup>/g,平均粒径为 9.28 μm,乳液呈凝胶特性,贮藏稳定性良好,但热稳定性降低,综合性能较优。综上,pH 远离 Nano-WPI 等电点(4.0~5.0)或增加 NaCl 浓度可提高 Pickering 乳液的综合性能。

**关键词:**核桃蛋白纳米颗粒; Pickering 乳液; pH; NaCl 浓度; 稳定性

中图分类号: TS229; TS201

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2024)11-0120-08

## Effect of pH and NaCl concentration on stability of Pickering emulsion stabilized with walnut protein nanoparticles

LIU Jiongna, ZHANG Hengxuan, JIANG Yuxin, FAN Fangyu

(Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Biodiversity Conservation in Southwest China, College of Life Sciences, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

**Abstract:** To improve the stability of the walnut protein Pickering emulsion, the Pickering emulsion was prepared using walnut protein nanoparticles (Nano-WPI) as stabilizers, and the effects of pH (2.0-8.0) and NaCl concentration (0-400 mmol/L) on the emulsification activity (EAI), particle size, rheological properties, thermal stability, and storage stability of the Pickering emulsion were analyzed. The results showed that the stability of the Pickering emulsion first decreased and then increased with the increase of pH. At pH 8.0, the Pickering emulsion had the highest EAI (32.79 m<sup>2</sup>/g) with an average particle size of 3.33 μm, and showed weak gel characteristics with good thermal and storage stability. At pH 8.0, the comprehensive property of the Pickering emulsion was the best. With the increase of NaCl concentration, the EAI of the Pickering emulsion decreased and then increased, while the particle size of

the Pickering emulsion was the opposite. NaCl concentration positively correlated with the apparent viscosity, storage modulus, and storage stability of the Pickering emulsion. When the NaCl concentration was 400 mmol/L, the EAI of Pickering emulsion was 13.18 m<sup>2</sup>/g with an average particle size of 9.28 μm, and the

收稿日期: 2023-05-08; 修回日期: 2024-05-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760470); 云南省“万人计划”青年拔尖人才专项资助项目(YNWR-QNBJ-2018-046); 生物学质量工程项目(503190106)

作者简介: 刘炯娜(1998), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工(E-mail)2715537052@qq.com。

通信作者: 范方宇, 教授, 博士(E-mail)ffy118@163.com。

Pickering emulsion showed gel characteristics with good storage stability but low thermal stability. When the NaCl concentration was 400 mmol/L, the comprehensive property of the Pickering emulsion was the best. In conclusion, if the pH is far away from the isoelectric point (4.0 – 5.0) of Nano – WPI or NaCl concentration increases, the comprehensive property of the Pickering emulsion can be improved.

**Key words:** walnut protein nanoparticles; Pickering emulsion; pH; NaCl concentration; stability

Pickering 乳液是由固体颗粒代替传统表面活性剂稳定的乳液,其具有高抗聚结性、低毒性和良好的生物相容性等特点<sup>[1]</sup>。食品级 Pickering 乳液因其无毒性和生物降解性受到广大研究者的关注。目前,食品级 Pickering 乳液的稳定剂有玉米醇溶蛋白<sup>[2]</sup>、纤维素<sup>[3]</sup>、大豆分离蛋白<sup>[4]</sup>、淀粉<sup>[5]</sup>等,其中蛋白质因具有两亲性和构象可调节性,使其在制备食品级 Pickering 乳液领域具有独特优势<sup>[6]</sup>。然而,蛋白质的乳化性易受温度、pH 和盐离子等外界环境的影响,从而影响 Pickering 乳液的稳定性<sup>[7]</sup>。沈永强等<sup>[8]</sup>研究桃仁分离蛋白纳米颗粒 Pickering 乳液时发现,pH 为 8.0 时乳液稳定性最佳,纳米颗粒可稳定油相体积分数达 87% 的高内相乳液,pH 接近蛋白质等电点时乳液稳定性降低。Tan 等<sup>[9]</sup>研究发现,随 NaCl 浓度增加,核桃蛋白 – 黄原胶复合物稳定的乳液粒径和絮凝程度增大,黏度降低。Huang 等<sup>[10]</sup>以辣木籽蛋白为稳定剂制备 Pickering 乳液,在 pH 为 5.0、NaCl 浓度为 0.2 mol/L 时乳液的粒径最小,稳定性最佳。

核桃粕为核桃加工副产物,其蛋白质含量达 50% 以上,是一种优质的植物蛋白资源<sup>[9]</sup>。在实际生产中,核桃粕的综合利用率较低,常用作饲料或肥料,造成蛋白资源严重浪费。因此,对核桃粕进行精深加工,实现对核桃粕蛋白资源的高值化利用,对于核桃加工产业具有重要意义。目前,研究者们通过将核桃蛋白与大分子多糖(黄原胶<sup>[9,11]</sup>、果胶<sup>[12]</sup>)复合制备乳液,乳液的稳定性良好,而以核桃蛋白纳米颗粒(Walnut protein isolates nanoparticle, Nano – WPI)为稳定剂制备 Pickering 乳液,并研究不同 pH 和 NaCl 浓度对 Pickering 乳液稳定性的影响还鲜见报道。

基于此,本研究以 Nano – WPI 为稳定剂制备 Pickering 乳液,探究 pH 和 NaCl 浓度对 Pickering 乳液乳化活性(EAI)、粒径、流变特性、热稳定性及贮藏稳定性的影响,以期核桃粕的开发利用提供新思路,并为核桃蛋白 Pickering 乳液在食品加工中的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

核桃蛋白(采用碱溶酸沉法自制,蛋白质 80.17%,灰分 2.22%,水分 7.83%,脂肪 0.87%);油茶籽油,益海嘉里食品营销有限公司。D – 葡萄糖酸 –  $\delta$  – 内酯(GDL),麦克林生化科技有限公司;十二烷基硫酸钠(SDS)、氢氧化钠,天津市风船化学试剂科技有限公司。所用试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

XINYI – IID 超声波细胞粉碎机,宁波新艺超声设备有限公司;ST3100 pH 计,常州奥豪斯仪器有限公司;FJ200 – SH 数显高速分散均质机,上海沪析实业有限公司;UV – 2600 紫外可见分光光度计,日本 Shimadzu 仪器有限公司;LA – 960V2 激光粒度仪,日本 Horiba 有限公司;HR 20 Discovery 混合型流变仪,美国 TA 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 Nano – WPI 的制备

参照 Lee 等<sup>[13]</sup>的方法并略作改动。配制 0.02 g/mL 的核桃蛋白溶液,用 1 mol/L 的 NaOH 溶液调其 pH 至 11.5,室温下 200 r/min 搅拌 4 h,冰浴超声破碎 5 min(570 W, 25 kHz),静置 1 h,用 10% GDL 溶液调 pH 至 7.0,12 000 r/min 冷冻离心 15 min,取上清液透析 48 h,冷冻干燥,得到 Nano – WPI。经测定,Nano – WPI 平均粒径为(108.2  $\pm$  2.9) nm,粒径分布为 24 ~ 220 nm。

#### 1.2.2 Pickering 乳液的制备

配制 0.02 g/mL 的 Nano – WPI 溶液,用 0.1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 溶液调其 pH,并调其 NaCl 浓度。取 16 mL 不同 pH 和 NaCl 浓度的 Nano – WPI 溶液,12 000 r/min 高速分散 2 min 后,加入 24 mL 油茶籽油混合,12 000 r/min 高速分散 3 min,冰浴超声破碎 2 min(475 W, 25 kHz),得 Pickering 乳液。以 pH 8.0 和 NaCl 浓度 0 mmol/L 为基础条件,研究不同 pH 和 NaCl 浓度对 Pickering 乳液稳定性的影响。

#### 1.2.3 乳化活性的测定

参照范方宇等<sup>[14]</sup>的方法并稍加修改。取 100

$\mu\text{L}$  新鲜 Pickering 乳液,用 0.1% SDS 溶液稀释 300 倍,混匀,以 SDS 溶液为空白对照,500 nm 处测定吸光值。乳化活性(EAI)按公式(1)计算。

$$E = 2 \times 2.303 \times \frac{A_0 \times N}{C \times \varphi \times L \times 10\,000} \quad (1)$$

式中: $E$  为乳化活性, $\text{m}^2/\text{g}$ ;  $A_0$  为吸光值;  $N$  为样品稀释倍数;  $C$  为乳液中 Nano-WPI 质量浓度,  $\text{g}/\text{mL}$ ;  $\varphi$  为油相体积分数;  $L$  为比色皿光程,  $1\text{ cm}$ 。

#### 1.2.4 粒径分析

取一定量新鲜 Pickering 乳液滴入激光粒度仪的进样器中,测定 Pickering 乳液平均粒径与粒径分布。测定条件:循环泵速率 500 r/min,搅拌速率 300 r/min,分散介质为去离子水(折射率 1.33),温度 25  $^{\circ}\text{C}$ 。

#### 1.2.5 流变特性的测定

采用混合型流变仪测定 Pickering 乳液流变特性,测试温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ 。在剪切速率 0.1 ~ 100  $\text{s}^{-1}$  条件下,记录 Pickering 乳液表观黏度的变化趋势;在振荡频率 0.1 ~ 100 Hz 条件下,记录乳液储能模量 ( $G'$ ) 和损耗模量 ( $G''$ ) 的变化趋势<sup>[14]</sup>。

#### 1.2.6 热稳定性的测定

参照 Li 等<sup>[15]</sup> 的方法并略作改动。取 5.0 mL 新鲜 Pickering 乳液于玻璃瓶中,沸水浴加热 0.5 h,观察加热前后乳液的形态变化,并拍照记录。

#### 1.2.7 贮藏稳定性的测定

取 8.0 mL 新鲜 Pickering 乳液于样品瓶中,25  $^{\circ}\text{C}$  贮藏 1、120、240 h 和 360 h,记录乳析相和乳液总高度,按公式(2)<sup>[16]</sup> 计算乳析指数(CI)。

$$C = H/H_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: $C$  为乳析指数;  $H$  为乳析相高度,  $\text{cm}$ ;  $H_0$  为乳液总高度,  $\text{cm}$ 。

#### 1.2.8 数据处理

所有实验均重复 3 次,采用 SPSS 22.0 处理分析数据,  $p < 0.05$  时表示结果存在显著差异,并利用 Origin 9.0 软件作图。

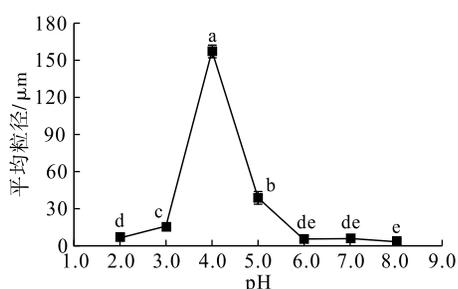


图 2 pH 对 Pickering 乳液平均粒径与粒径分布的影响

Fig. 2 Effect of pH on average particle size and particle size distribution of Pickering emulsion

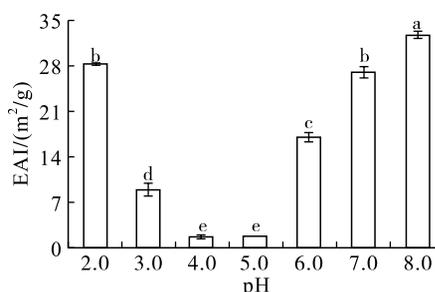
由图 2 可知,随 pH 增加, Pickering 乳液平均粒径先增大后减小。原因为 pH 接近核桃蛋白等电点

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 对 Pickering 乳液稳定性的影响

#### 2.1.1 乳化活性

pH 对 Pickering 乳液 EAI 的影响如图 1 所示。



注:不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。下同

Note: Different letters show significant differences ( $p < 0.05$ ).

The same below

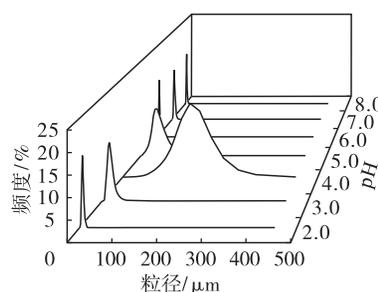
图 1 pH 对 Pickering 乳液 EAI 的影响

Fig. 1 Effect of pH on EAI of Pickering emulsion

由图 1 可知,随 pH 增加, Pickering 乳液 EAI 先减小后增大。pH 为 4.0 和 5.0 时, Pickering 乳液 EAI 显著降低 ( $p < 0.05$ ), 分别为 1.70  $\text{m}^2/\text{g}$  和 1.77  $\text{m}^2/\text{g}$ , 这是由于 pH 接近核桃蛋白等电点 (pH 4.5) 时, 蛋白质分子间静电斥力减弱, 其疏水基团暴露, 蛋白质发生絮凝沉淀, 无法吸附于油水界面所致<sup>[17]</sup>。pH 远离核桃蛋白等电点时, Pickering 乳液 EAI 显著增加 ( $p < 0.05$ ), 原因为 pH 高于或低于蛋白质等电点时, 蛋白质携带净负电荷或净正电荷, 分子间静电斥力增加, 乳液体系有效蛋白质含量增加, 乳化性能增强<sup>[18-19]</sup>。pH 8.0 时, Pickering 乳液 EAI 最高, 达 32.79  $\text{m}^2/\text{g}$ 。

#### 2.1.2 粒径

平均粒径与粒径分布能反映乳液体系的稳定性, 粒径越小乳液越稳定, 粒径分布越集中乳液均匀度越高<sup>[20]</sup>。pH 对 Pickering 乳液粒径的影响如图 2 所示。



时, 蛋白质聚集沉淀, Pickering 乳液粒径增大; pH 远离核桃蛋白等电点时, 蛋白质与水之间的相互作用

增强,蛋白质在水相中的分散性增加<sup>[18]</sup>,Pickering乳液粒径降低。pH为4.0时,Pickering乳液平均粒径最大,达157.43  $\mu\text{m}$ ,其粒径分布范围宽,峰值低;pH为8.0时,Pickering乳液平均粒径最小,仅为3.33  $\mu\text{m}$ ,粒径分布范围窄,Pickering乳液均一性

高。该结果与沈永强等<sup>[8]</sup>的研究结果一致。

### 2.1.3 流变特性

pH对Pickering乳液表观黏度、 $G'$ 和 $G''$ 的影响见图3。

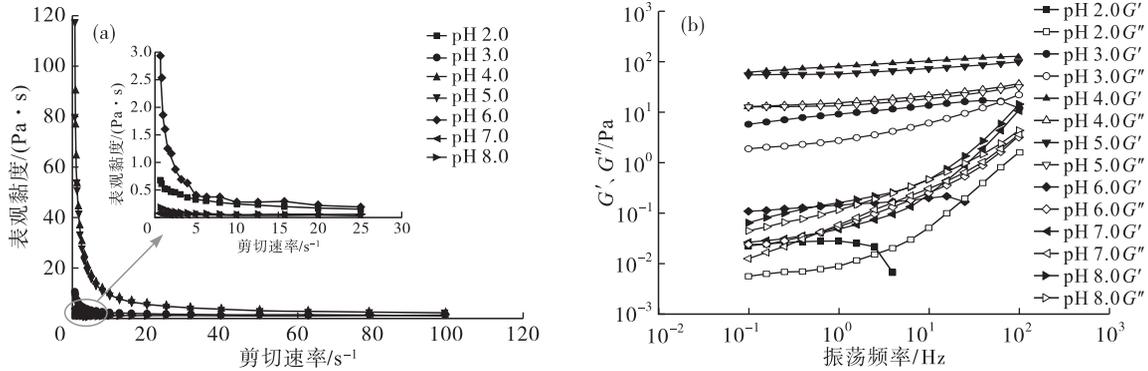


图3 pH对Pickering乳液表观黏度、 $G'$ 和 $G''$ 的影响

Fig.3 Effect of pH on apparent viscosity,  $G'$  and  $G''$  of Pickering emulsion

由图3a可知,在剪切速率 $0.1\text{ s}^{-1}$ 时,pH 4.0和pH 5.0的Pickering乳液表观黏度最大,分别为 $89.88\text{ Pa}\cdot\text{s}$ 和 $117.45\text{ Pa}\cdot\text{s}$ 。pH接近蛋白质等电点时,静电斥力减弱,多肽链相互靠拢形成具有缠绕的环状和长分子链的聚合物,静止时聚合物保持其内部的不规则次序,其内部流动阻力较大<sup>[21]</sup>,使乳液表观黏度增加。pH 8.0时Pickering乳液的表观黏度为 $0.19\text{ Pa}\cdot\text{s}$ 。pH远离蛋白质等电点时,分子间静电斥力增大,蛋白质趋于折叠化,疏水残基被掩埋,防止乳液絮凝<sup>[22]</sup>,致使乳液表观黏度降低。Zhang等<sup>[23]</sup>也发现类似结果,pH接近豌豆蛋白等电点时,乳液液滴发生絮凝,乳液表观黏度增加。pH 2.0~3.0和pH 6.0~8.0的Pickering乳液,在剪切速率 $0.1\sim 25\text{ s}^{-1}$ 时,其表观黏度随剪切速率增加而降低,呈剪切稀化特性,属假塑性流体,当剪切速率增大至可克服液滴间的布朗运动以及蛋白质-蛋白质或蛋白质-油脂之间弱键产生的综合效应时,液滴沿流线方向有序排列,液滴间摩擦力减小,Pickering乳液表观黏度降低<sup>[19]</sup>;在剪切速率 $25\sim 100\text{ s}^{-1}$ 时,Pickering乳液表观黏度基本保持不变,表现为牛顿流体特性,由于絮凝态和瓦解速率一致,Pickering乳液表观黏度基本不变<sup>[20]</sup>。pH 4.0和5.0的Pickering乳液,在剪切速率 $0.1\sim 60\text{ s}^{-1}$ 时,呈剪切稀化特性,剪切速率增大,剪切应力使聚集体或絮凝液滴发生形变或分解,Pickering乳液表观黏度降低;在剪切速率 $60\sim 100\text{ s}^{-1}$ 时,Pickering乳液呈牛顿流体特性。pH接近蛋白质等电点时,吸附于液滴的蛋白质聚集,增强了液滴间的絮凝和剪切稀化特性。

Pickering乳液动态模量通过 $G'$ 和 $G''$ 表示。 $G' > G''$ 乳液呈以弹性为主的凝胶特性, $G' = G''$ 为凝胶点, $G' < G''$ 乳液呈以黏性为主的液体特性。由图3b可知,振荡频率 $0.1\sim 100\text{ Hz}$ 时,pH 4.0和pH 5.0的Pickering乳液形成了以弹性为主的凝胶网络结构。这是由于蛋白质间静电斥力缺失,疏水相互作用和氢键等吸引作用使蛋白质聚集<sup>[24]</sup>,聚合物发生强絮凝,无法稳定地吸附于油水界面,乳液稳定性降低。pH 2.0、3.0、6.0和pH 7.0时,Pickering乳液形成了弱凝胶网络结构,但随振荡频率增大乳液凝胶结构被破坏。pH 8.0时,Pickering乳液形成了以弹性为主的弱凝胶网络结构。可能由于pH 8.0时,蛋白质分散系数增大,可快速吸附到油水界面,分子间发生物理交联形成致密的界面吸附膜,阻碍了液滴聚结,提高了Pickering乳液的稳定性。

### 2.1.4 热稳定性

pH对Pickering乳液热稳定性的影响如图4所示。由图4可知,pH 3.0~5.0的Pickering乳液加热后出现分层,pH 4.0和pH 5.0时分层严重。这是由于pH接近蛋白质等电点时,乳液体系中起乳化作用的蛋白质含量减少,静电斥力的降低以及聚并作用力的增强,使得油滴间相互吸引形成聚集,从而使Pickering乳液稳定性降低<sup>[25]</sup>。pH 2.0和pH 6.0~8.0时,Pickering乳液加热前后均未出现分层,表明远离蛋白质等电点时,乳液热稳定性增强。这是由于pH远离蛋白质等电点时,蛋白质可扩展性和迁移率增加,蛋白质对油水界面的吸附率增加,Pickering乳液界面膜增厚,稳定性增强<sup>[26]</sup>。热稳定性研究结果与2.1.1及2.1.2结果一致。

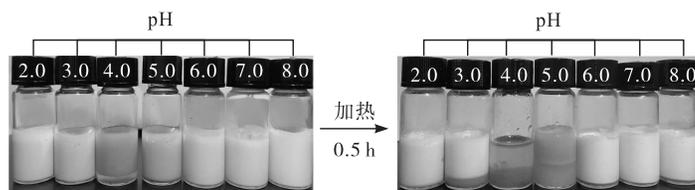


图4 pH对Pickering乳液热稳定性的影响

Fig. 4 Effect of pH on thermal stability of Pickering emulsion

### 2.1.5 贮藏稳定性

pH对Pickering乳液贮藏稳定性的影响如表1所示。

表1 pH对Pickering乳液贮藏稳定性的影响

Table 1 Effect of pH on storage stability of Pickering emulsion

pH	不同贮藏时间下的CI/%			
	1 h	120 h	240 h	360 h
2.0	0 <sup>Cd</sup>	25.87 <sup>Bc</sup>	26.51 <sup>Bc</sup>	29.84 <sup>Ac</sup>
3.0	12.00 <sup>Bc</sup>	15.50 <sup>ABd</sup>	16.68 <sup>Ad</sup>	18.67 <sup>Ad</sup>
4.0	61.50 <sup>Ba</sup>	66.17 <sup>ABa</sup>	66.67 <sup>Aa</sup>	68.17 <sup>Aa</sup>
5.0	22.90 <sup>Bb</sup>	36.67 <sup>Ab</sup>	37.54 <sup>Ab</sup>	37.68 <sup>Ab</sup>
6.0	0 <sup>Bd</sup>	33.79 <sup>Ab</sup>	34.85 <sup>Ab</sup>	35.91 <sup>Ab</sup>
7.0	0 <sup>Bd</sup>	23.79 <sup>Ac</sup>	24.70 <sup>Ac</sup>	26.06 <sup>Ac</sup>
8.0	0 <sup>Dd</sup>	1.00 <sup>Ce</sup>	2.67 <sup>Be</sup>	4.67 <sup>Ac</sup>

注:同列不同小写字母表示差异显著( $p < 0.05$ ),同行不同大写字母表示差异显著( $p < 0.05$ )。下同

Note: Different lower case letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) and different capital letters in the same row indicate significant differences ( $p < 0.05$ ). The same below

由表1可知, Pickering乳液的CI随pH增大总体呈先增大后减小的趋势, 随贮藏时间延长而增加。贮藏1 h后, pH 3.0~5.0的Pickering乳液的CI均显著高于其他pH的( $p < 0.05$ ), pH 4.0的Pickering乳液的CI高达61.50%。原因为pH接近蛋白质等电点时, 分子间静电斥力降低, 范德华力增强, 加速粒子聚集<sup>[23]</sup>, Pickering乳液稳定性降低。贮藏120 h后, 所有乳液分层, pH 2.0和pH 5.0~8.0的Pickering乳液的CI显著增大( $p < 0.05$ )。随贮藏时间延长, 分子运动加剧, 吸附于油水界面的蛋白质发生重排或脱落, 同时重力作用及颗粒的布朗运动, 使液滴聚集, 乳液稳定性降低<sup>[27]</sup>。贮藏360 h后, pH 8.0的Pickering乳液CI最小(4.67%), 相较于pH 4.0的显著降低93.15% ( $p < 0.05$ )。张会等<sup>[21]</sup>研究发现, 乳液pH接近玉米胚芽蛋白等电点时, 玉米胚芽蛋白Pickering乳液的粒径和黏度增大, 但其稳定性降低, 与本文研究结果一致。

## 2.2 NaCl浓度对Pickering乳液稳定性的影响

### 2.2.1 乳化活性

NaCl浓度对Pickering乳液EAI的影响如图5所示。

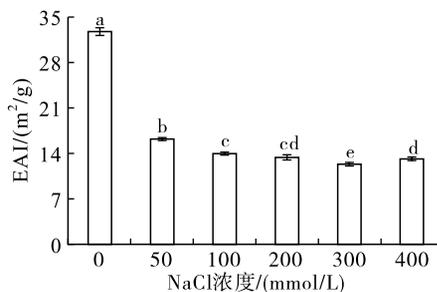


图5 NaCl浓度对Pickering乳液EAI的影响

Fig. 5 Effect of NaCl concentration on EAI of Pickering emulsion

由图5可知, 随NaCl浓度增加, Pickering乳液EAI先减小后增大, NaCl浓度由0 mmol/L增至300 mmol/L时, 乳液EAI由32.79 m<sup>2</sup>/g降至12.40 m<sup>2</sup>/g, 显著降低62.18% ( $p < 0.05$ ), 表明增大NaCl浓度会降低Pickering乳液的乳化性能。原因为随着NaCl浓度增加, Na<sup>+</sup>与蛋白质分子表面的羧基结合, 从而导致蛋白质表面负电荷减少, 静电斥力减弱, 蛋白质分子发生聚集, Pickering乳液体系中有效蛋白质含量降低<sup>[28]</sup>。NaCl浓度由300 mmol/L增至400 mmol/L时, Pickering乳液EAI显著增大( $p < 0.05$ ), 由12.40 m<sup>2</sup>/g增至13.18 m<sup>2</sup>/g。原因为高离子浓度会改变蛋白质与水的结构组成, 使非极性基团的疏水相互作用改变, 增加蛋白质的EAI<sup>[7]</sup>。

### 2.2.2 粒径

NaCl浓度对Pickering乳液粒径的影响如图6所示。

由图6可知, 随NaCl浓度增加, Pickering乳液平均粒径先增大后减小, NaCl浓度由0 mmol/L增至300 mmol/L时, Pickering乳液平均粒径显著增加210.81% ( $p < 0.05$ ), 达10.35 μm, 其粒径分布范围变宽, 峰值降低, 但Pickering乳液粒径分布峰仍为单峰。NaCl使Pickering乳液聚集, 其粒径增大, 但乳液液滴仍均匀分布, 表明Pickering乳液具有良好的耐盐性, 高盐浓度下Nano-WPI仍可稳定地吸附于油水界面。NaCl浓度增加, 破坏了蛋白质分子表面的水化层和双电层, 使得蛋白质聚集; 同时高盐浓度下的盐析作用占主导, 大分子聚集, Pickering乳液粒径增大, 其稳定性降低<sup>[9]</sup>。NaCl浓度由300

mmol/L 增至 400 mmol/L 时, Pickering 乳液平均粒径由 10.35  $\mu\text{m}$  降至 9.28  $\mu\text{m}$ , 显著降低 10.34% ( $p < 0.05$ ), 乳液粒径分布范围变窄, 峰值增高。原

因为离子效应使蛋白质部分疏水基团折叠至分子内部, 蛋白质分子结构更加紧密<sup>[29]</sup>。

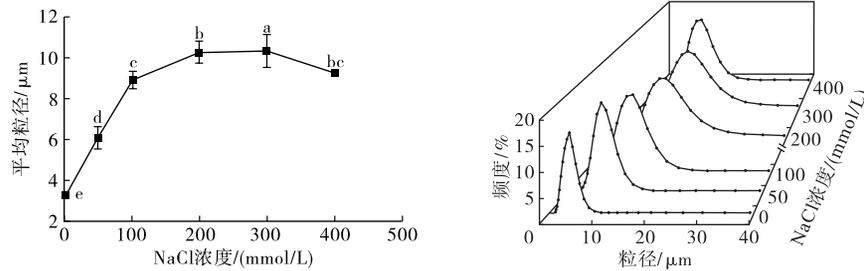


图6 NaCl 浓度对 Pickering 乳液平均粒径与粒径分布的影响

Fig. 6 Effect of NaCl concentration on average particle size and particle size distribution of Pickering emulsion

### 2.2.3 流变特性

NaCl 浓度对 Pickering 乳液表观黏度、 $G'$  和  $G''$  的影响见图 7。

由图 7a 可知, 剪切速率为 0.1  $\text{s}^{-1}$  时, Pickering 乳液表观黏度随 NaCl 浓度增加而增加, 其中剪切速率为 0.1  $\text{s}^{-1}$ 、NaCl 浓度为 400 mmol/L 时, Pickering 乳液表观黏度最大, 达 1 179.88 Pa·s。这是由于  $\text{Na}^+$  的静电屏蔽作用, 促进了蛋白质分子聚集与交联<sup>[30]</sup>, Pickering 乳液液滴桥接絮凝, 流动阻力增大; 另外, 添加 NaCl 使乳液体系中蛋白质-盐、蛋白质-水分子、水分子-盐等相互作用增强, 增强了 Pickering 乳液的凝胶网络结构<sup>[29]</sup>。剪切速率为 0.1 ~ 25  $\text{s}^{-1}$  时, 所有 Pickering 乳液呈不同程度的剪切稀化特性, 表明 Pickering 乳液内部网络结构被破坏<sup>[31]</sup>。剪切速率为 25 ~ 100  $\text{s}^{-1}$  时, Pickering 乳液呈牛顿流体特性。这是因为随剪切速率增大, Pickering 乳液液滴发生重排, 由无序状态转变为有序排列, 乳液内部保持相对稳定的状态。

由图 7b 可知, 除 NaCl 浓度 0 mmol/L 的乳液

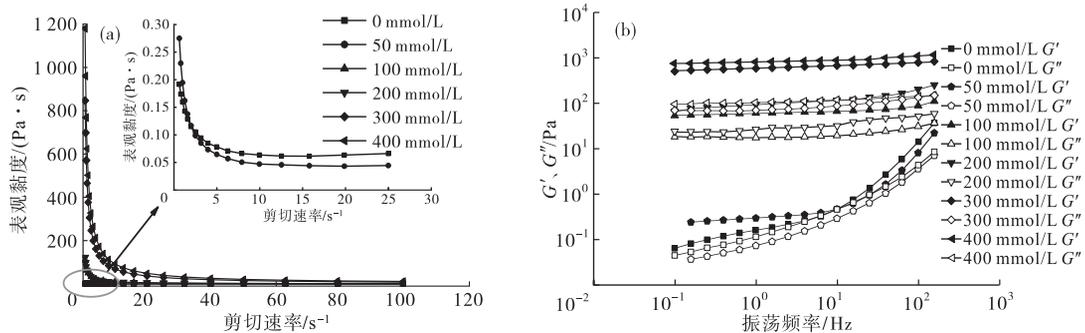


图7 NaCl 浓度对 Pickering 乳液表观黏度、 $G'$  和  $G''$  的影响

Fig. 7 Effect of NaCl concentration on apparent viscosity,  $G'$  and  $G''$  of Pickering emulsion

### 2.2.4 热稳定性

NaCl 浓度对 Pickering 乳液热稳定性的影响如图 8 所示。

由图 8 可知, NaCl 浓度为 0 mmol/L 时, Pickering

外, 振荡频率为 0.1 ~ 100 Hz 时, 所有 Pickering 乳液弹性性能占主导地位, 乳液为凝胶状性质, 呈固态, 网络结构良好。NaCl 浓度为 0 mmol/L 时, Pickering 乳液呈弹性为主的弱凝胶网络结构。振荡频率为 0.1 Hz 时, Pickering 乳液  $G'$  随 NaCl 浓度增加而增加, 表明  $\text{Na}^+$  增强了 Pickering 乳液凝胶网络结构。由于 NaCl 竞争 Pickering 乳液体系中的水分, 使蛋白质浓度间接升高<sup>[19]</sup>, 蛋白质颗粒间相互交联使界面吸附蛋白膜厚度增加。此外,  $\text{Na}^+$  的静电屏蔽作用增强了蛋白质颗粒之间、蛋白质与乳液液滴间的聚集与絮凝, Pickering 乳液发生桥接絮凝, 液滴间适度絮凝, 有利于其凝胶网络结构的形成<sup>[29]</sup>。振荡频率大于 10 Hz 时, NaCl 浓度 0 mmol/L 的 Pickering 乳液  $G'$  和  $G''$  高于 NaCl 浓度 50 mmol/L 的, 表明低浓度 NaCl 对 Pickering 乳液凝胶网络结构影响较小, 可能由于盐离子改变了水和蛋白质的结构组成, 蛋白质疏水基团暴露但未聚集<sup>[32]</sup>。因此, Pickering 乳液体系中适量添加  $\text{Na}^+$  有助于增强其凝胶网络结构。

乳液加热前后均未分层, 具有良好的热稳定性。NaCl 浓度为 50 ~ 400 mmol/L 时, Pickering 乳液加热后发生分层与絮凝, 且随着 NaCl 浓度的增加, Pickering 乳液絮凝程度增强, 表明添加 NaCl 降低了 Pickering 乳

液的热稳定性。这是由于  $\text{Na}^+$  的离子束缚和静电屏蔽作用,使得蛋白质间的静电斥力减弱<sup>[7]</sup>,而加热使吸附于界面的蛋白质部分结构展开和重排;高浓度

$\text{Na}^+$  和高温使蛋白质部分变性, $\text{Na}^+$  诱导了蛋白质分子疏水聚集, Pickering 乳液出现失稳现象<sup>[33]</sup>。

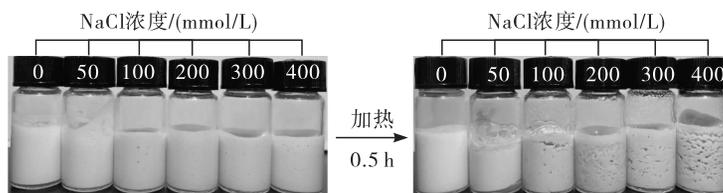


图 8 NaCl 浓度对 Pickering 乳液热稳定性的影响

Fig. 8 Effect of NaCl concentration on thermal stability of Pickering emulsion

### 2.2.5 贮藏稳定性

NaCl 浓度对 Pickering 乳液贮藏稳定性的影响如表 2 所示。

表 2 NaCl 浓度对 Pickering 乳液贮藏稳定性的影响

Table 2 Effect of NaCl concentration on storage stability of Pickering emulsion

NaCl 浓度/ (mmol/L)	不同贮藏时间下的 CI/%			
	1 h	120 h	240 h	360 h
0	0 <sup>Ca</sup>	1.00 <sup>Ba</sup>	2.67 <sup>Aa</sup>	4.67 <sup>Aa</sup>
50	0 <sup>Ba</sup>	0.74 <sup>Bb</sup>	2.41 <sup>Ab</sup>	3.15 <sup>Ab</sup>
100	0 <sup>Ba</sup>	0 <sup>Bc</sup>	0 <sup>Bc</sup>	1.67 <sup>Abc</sup>
200	0 <sup>Ba</sup>	0 <sup>Bc</sup>	0 <sup>Bc</sup>	1.11 <sup>Acd</sup>
300	0 <sup>Aa</sup>	0 <sup>Ac</sup>	0 <sup>Ac</sup>	0 <sup>Ad</sup>
400	0 <sup>Aa</sup>	0 <sup>Ac</sup>	0 <sup>Ac</sup>	0 <sup>Ad</sup>

由表 2 可知,贮藏 1 h 后,所有 Pickering 乳液的 CI 均为 0。贮藏 240 h 后,NaCl 浓度 0 ~ 50 mmol/L 时 Pickering 乳液的 CI 显著增大( $p < 0.05$ ),但 NaCl 浓度 50 mmol/L 时 CI 较小,仅为 2.41%。贮藏 360 h 后,NaCl 浓度 100 ~ 200 mmol/L 时 Pickering 乳液的 CI 显著增加( $p < 0.05$ ),但 NaCl 浓度大于 200 mmol/L 时 CI 为 0,总体表明添加 NaCl 可提高 Pickering 乳液的贮藏稳定性。这是由于 NaCl 浓度的增加,使固液界面的聚电解质膜厚度增加,提高油滴间的排斥力<sup>[9]</sup>。同时 NaCl 增强了 Pickering 乳液的黏度和凝胶网络结构,根据斯托克斯定律,黏度较高有助于防止或延迟乳液液滴之间的聚集和迁移<sup>[34]</sup>,提高 Pickering 乳液贮藏稳定性。Zhang 等<sup>[23]</sup>发现,在高离子浓度下豌豆蛋白颗粒稳定的 Pickering 乳液液滴发生聚集絮凝,呈凝胶相,具有良好的贮藏稳定性,与本文研究结果一致。

### 3 结论

以 Nano - WPI 作为稳定剂制备 Pickering 乳液,探究 pH 和 NaCl 浓度对 Pickering 乳液稳定性的影响。结果表明, Pickering 乳液稳定性与 pH 和 NaCl 浓度密切相关。随 pH 增加, Pickering 乳液 EAI、热稳定性和贮藏稳定性总体先减小后增大,其粒径、表

观黏度和  $G'$  则先增大后减小。pH 为 8.0 时 Pickering 乳液综合性能最佳, EAI 达  $32.79 \text{ m}^2/\text{g}$ , 平均粒径仅为  $3.33 \text{ }\mu\text{m}$ , Pickering 乳液表现为弹性为主的弱凝胶特性,具有良好的热稳定性和贮藏稳定性。随 NaCl 浓度增加, Pickering 乳液 EAI 先减小后增大,粒径先增大后减小; NaCl 浓度与 Pickering 乳液表观黏度、 $G'$  和贮藏稳定性呈正相关,热稳定性则相反。NaCl 浓度为 400 mmol/L 时 Pickering 乳液理化性能较优,该浓度下乳液 EAI 为  $13.18 \text{ m}^2/\text{g}$ , 平均粒径为  $9.28 \text{ }\mu\text{m}$ , Pickering 乳液表观黏度和  $G'$  最大,呈弹性为主的凝胶网络结构,并具有良好的贮藏稳定性,但热稳定性降低。因此,通过调节 pH 或 NaCl 浓度可制备稳定的 Pickering 乳液, pH 8.0 时 Pickering 乳液具有较强的离子稳定性, Nano - WPI 稳定的 Pickering 乳液可应用于高盐食品体系。本研究为后续植物蛋白乳液脂肪替代品及脂溶性活性成分化合物的运输与保存提供了理论基础。

### 参考文献:

- [1] 葛艳争, 石爱民, 冯新玥, 等. 加工条件对食品级 Pickering 乳液稳定性的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(11): 280 - 289.
- [2] SUN C, GAO Y, ZHONG Q. Properties of ternary biopolymer nano complexes of zein, sodium caseinate, and propylene glycol alginate and their functions of stabilizing high internal phase Pickering emulsions [J]. Langmuir, 2018, 34(31): 9215 - 9227.
- [3] ZHANG S, FENG X, HUANG Y, et al. Facile isolation of cellulose nanofibrils from agro - processing residues and its improved stabilization effect on gelatin emulsion [J]. Int J Biol Macromol, 2022, 216: 272 - 281.
- [4] 江连洲, 温家煜, 王禹涵, 等. SPI 凝胶颗粒制备及其 Pickering 高内相乳液特性研究 [J]. 农业机械学报, 2020, 51(12): 348 - 355.
- [5] SHABANA S, PRASANSHA R, KALININA I, et al. Ultrasound assisted acid hydrolyzed structure modification and loading of antioxidants on potato starch nanoparticles [J]. Ultrason Sonochem, 2019, 51: 444 - 450.

- [6] 姜曼. 蛋白质基 Pickering 乳液的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(3): 259-264.
- [7] 张亚珍, 熊文飞, 裴亚琼, 等. 盐离子对花生粕分离蛋白纳米粒子及其稳定 Pickering 乳液特性的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(24): 1-7.
- [8] 沈永强, 孙亚娟, 杨成, 等. 桃仁分离蛋白颗粒的制备及其乳化性能研究[J]. 日用化学工业, 2021, 51(9): 809-816.
- [9] TAN Y, DENG X, LIU T, et al. Influence of NaCl on the oil/water interfacial and emulsifying properties of walnut protein-xanthan gum[J]. Food Hydrocolloid, 2017, 72: 73-80.
- [10] HUANG Z, HUANG X, ZHOU W, et al. Fabrication and stability of Pickering emulsions using moringa seed residue protein: Effect of pH and ionic strength[J]. Int J Food Sci Tech, 2021, 56(7): 3484-3494.
- [11] 万文瑜, 闫圣坤, 孔令明, 等. 核桃蛋白-黄原胶复合 Pickering 乳液的制备工艺优化[J]. 中国油脂, 2023, 48(7): 85-89.
- [12] 吕思伊, 卢琪, 潘思轶. 包封姜黄素的果胶-核桃蛋白复合物乳液稳定性及体外消化[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 1-9.
- [13] LEE H, YILDIZ G, DOS SANTOS L C, et al. Soy protein nano-aggregates with improved functional properties prepared by sequential pH treatment and ultrasonication[J]. Food Hydrocolloid, 2016, 55: 200-209.
- [14] 范方宇, 赵国瑜, 黄瑾, 等. 改性纳米 SiO<sub>2</sub>-壳聚糖乳液的制备及性质研究[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2021, 41(5): 1-9, 2.
- [15] LI Y, XIANG D. Stability of oil-in-water emulsions performed by ultrasound power or high-pressure homogenization[J/OL]. PLoS One, 2019, 14(3): e0213189[2023-05-08]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213189>.
- [16] BENETTI J V M, DO PRADO SILVA J T, NICOLETTI V R. SPI microgels applied to Pickering stabilization of O/W emulsions by ultrasound and high-pressure homogenization: Rheology and spray drying[J]. Food Res Int, 2019, 122: 383-391.
- [17] 程赞, 赵晓燕, 张晓伟, 等. 核桃分离蛋白酶解产物结构与功能的变化[J]. 中国油脂, 2022, 47(6): 85-91.
- [18] KONG X, ZHANG L, LU X, et al. Effect of high-speed shearing treatment on dehulled walnut proteins[J/OL]. LWT - Food Sci Technol, 2019, 116: 108500[2023-05-08]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108500>.
- [19] 彭松林, 张伊依, 赵紫悦, 等. 酪蛋白酸钠-大豆油乳化体系的影响因素[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(1): 107-115, 124.
- [20] 赵国瑜, 范方宇, 黄瑾, 等. 纳米 SiO<sub>2</sub> 改性 4 种大分子材料的乳液制备及性质[J]. 食品科学, 2022, 43(8): 22-28.
- [21] 张会, 任健. pH 对玉米胚芽蛋白 Pickering 乳液稳定性及流变学性质的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(3): 48-51, 57.
- [22] 纪雪花, 杜启伟, 苏琪皓, 等. 基于油-水界面行为解析蛋白质乳液絮凝机制及其控制方法研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(13): 281-288.
- [23] ZHANG S, HOLMES M, ETELEAIE R, et al. Pea protein microgel particles as Pickering stabilisers of oil-in-water emulsions: Responsiveness to pH and ionic strength[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2020, 102: 105583[2023-05-08]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105583>.
- [24] NICOLAI T, BRITTEN M, SCHMITT C.  $\beta$ -Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications[J]. Food Hydrocolloid, 2011, 25(8): 1945-1962.
- [25] 赵福权, 王铖, 周嘉玲, 等. 米糠蛋白-亚麻籽油乳液体系构建及其稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(15): 234-243.
- [26] LI J, WANG C, LI X, et al. Effects of pH and NaCl on the physicochemical and interfacial properties of egg white/yolk[J]. Food Biosci, 2018, 23: 115-120.
- [27] 陈玲, 张立伟, 雷芬芬, 等. 乳清分离蛋白-黄原胶复合乳化剂制备南瓜籽油 O/W 型乳液及其稳定性[J]. 中国油脂, 2022, 47(12): 76-83.
- [28] 冯美琴, 刘雯燕, 孙健, 等. 不同 NaCl 浓度条件下亚麻籽胶对肌原纤维蛋白凝胶作用力及乳化特性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 26-31.
- [29] 来昊. 乳液粒径及盐离子对乳清分离蛋白稳定乳液冻融稳定性的影响研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [30] 刘培玲, 张晴晴, 高增丽, 等. 乳清蛋白改性研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(23): 333-348.
- [31] LI J, XU X, CHEN Z, et al. Zein/gum arabic nanoparticle-stabilized Pickering emulsion with thymol as an antibacterial delivery system[J]. Carbohydr Polym, 2018, 200: 416-426.
- [32] 刘佩, 陈澄, 秦新光, 等. 乳清分离蛋白聚集体乳化性能及其 Pickering 乳液稳定性[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 24-30.
- [33] FUTAMI J, MIYAMOTO A, HAGIMOTO A, et al. Evaluation of irreversible protein thermal inactivation caused by breakage of disulphide bonds using methanethiosulphonate[J/OL]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12471[2023-05-08]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12748-y>.
- [34] LI Z, ZHENG S, ZHAO C, et al. Stability, microstructural and rheological properties of Pickering emulsion stabilized by xanthan gum/lysozyme nanoparticles coupled with xanthan gum[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 165(Pt B): 2387-2394.