

# 南瓜籽分离蛋白颗粒稳定的高内相皮克林乳液的制备及应用研究

陈凤凤<sup>1,2</sup>, 丁晶晶<sup>1,2</sup>, 王秋博<sup>1,2</sup>, 沈永强<sup>1,2</sup>, 杨成<sup>1,2</sup>, 孙亚娟<sup>1,2</sup>

(1. 江南大学合成与生物胶体教育部重点实验室, 江苏无锡 214122; 2. 江南大学化学与材料工程学院, 江苏无锡 214122)

**摘要:**为了得到一种性能优异的天然来源的颗粒稳定剂,以南瓜籽为原料,采用碱溶酸沉法制备了南瓜籽分离蛋白(PSPI),利用反溶剂法制备了南瓜籽分离蛋白颗粒(PSPI Ps),并以PSPI Ps为稳定剂制备了高内相皮克林乳液(HIPPEs)。考察了水相PSPI Ps质量分数、油相体积分数和水相pH对HIPPEs微观结构、粒径和流变性能的影响,并通过扫描电子显微镜以及激光共聚焦扫描显微镜对HIPPEs的界面结构进行了表征。另外,探究了HIPPEs的耐酸碱能力、常温储存稳定性、热稳定性和光稳定性。结果表明:制备的HIPPEs为O/W型微米级乳液;水相PSPI Ps质量分数在0.2%~2.0%范围时,随着PSPI Ps质量分数的增加,乳液液滴粒径显著减小,凝胶强度显著增加;油相体积分数在50%~84%范围时,随着油相体积分数的增加,乳液液滴粒径增加,而凝胶强度减小;水相pH在3~9范围时,随着水相pH的增加,乳液液滴粒径先增大后减小,凝胶强度先减小后增加;所制备的HIPPEs具有良好的耐酸碱能力、常温储存稳定性、热稳定性以及光照稳定性。综上,PSPI Ps是一种性能优异的高内向乳液稳定剂。

**关键词:**南瓜籽分离蛋白;高内相皮克林乳液;生物相容性;稳定性

中图分类号:TS201.7;TS202.3 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)11-0025-08

## Preparation and application of high internal phase Pickering emulsions stabilized by pumpkin seed protein isolates particles

CHEN Fengfeng<sup>1,2</sup>, DING Jingjing<sup>1,2</sup>, WANG Qiubo<sup>1,2</sup>, SHEN Yongqiang<sup>1,2</sup>, YANG Cheng<sup>1,2</sup>, SUN Yajuan<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Synthetic and Biological Colloids of Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 2. School of Chemical & Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

**Abstract:** In order to obtain a natural particle stabilizer with excellent performance, pumpkin seed protein isolate (PSPI) was prepared by alkali dissolution and acid precipitation with pumpkin seed as raw material. Pumpkin seed protein isolate particles (PSPI Ps) were prepared by anti-solvent method with PSPI as raw material, and then high internal phase Pickering emulsions (HIPPEs) were prepared with PSPI Ps as stabilizer. The effects of mass fraction of PSPI Ps in aqueous phase, volume fraction of oil phase, and pH of aqueous phase on the microstructure, droplet size and rheological properties of the HIPPEs were investigated. The interface structure of HIPPEs was also characterized using scanning electron microscopy and confocal laser scanning microscopy. In addition, the acid and alkali resistance, room temperature storage stability, thermal stability and light stability of the HIPPEs were investigated. The results showed that the prepared HIPPEs were O/W type micron emulsions. When the mass fraction of PSPI Ps in aqueous phase was in the range of 0.2% - 2.0%, with the increase of the mass fraction of

收稿日期:2022-07-27;修回日期:2023-07-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51903108)

作者简介:陈凤凤(1984),女,实验师,硕士,主要从事化妆品配方和工艺研究(E-mail) cff@jiangnan.edu.cn.

通信作者:孙亚娟,副研究员(E-mail) cmsun@jiangnan.edu.cn.

PSPI Ps, the droplet size of emulsion decreased significantly, and the gel strength increased significantly. When the volume fraction of oil phase was in the range of 50% - 84%, increasing the volume fraction of oil phase could increase the

droplet size of emulsion and reduce the gel strength. When the aqueous phase pH was in the range of 3 – 9, with the increase of aqueous phase pH, the droplet size of emulsion first increased and then decreased, and the gel strength first decreased and then increased. The prepared HIPPEs had good acid and alkali resistance, room temperature storage stability, thermal stability and light stability. In conclusion, PSPI Ps is a stabilizer for high internal phase emulsion with excellent performance.

**Key words:** pumpkin seed protein isolate; high internal phase Pickering emulsions; biocompatibility; stability

高内相乳液是指内相体积分数大于 74% 的乳液,其能够将液体油转变为固体状脂肪,可以替代部分氢化油而减少人体对反式脂肪酸的摄入,是一种安全性高的固体脂肪替代品<sup>[1]</sup>,在制药、组织工程、化妆品与石油工业等领域也有极大的应用前景,比如 3D 食品打印机的油墨、组织支架、多孔材料等<sup>[2-6]</sup>。传统高内相乳液由高浓度表面活性剂(质量分数 5% ~ 50%)稳定,但是表面活性剂存在刺激性、毒性和溶血性等安全问题,且生物相容性以及环境友好性较低<sup>[7-8]</sup>。近年来,生物基高内相皮克林乳液(HIPPEs,皮克林乳液是指由固体颗粒不可逆地吸附于油水界面形成的乳液)逐渐受到关注。在该体系中,生物来源的固体颗粒几乎不可逆地吸附在油水界面从而形成具有优异稳定性的高内相乳液。与传统乳液相比,HIPPEs 具有优异的稳定性、安全性、生物相容性、可降解性和环境友好性。

生物基固体颗粒的来源有蛋白质<sup>[9]</sup>、纤维素<sup>[10]</sup>、淀粉<sup>[11]</sup>等。Yan 等<sup>[12]</sup>使用 OSA 改性淀粉作为优良的皮克林稳定剂。Liu 等<sup>[9]</sup>使用戊二醛交联蛋白质来获得性能较好的皮克林稳定剂。Liu 等<sup>[13]</sup>使用热改性法获得的乳清蛋白颗粒制备了稳定的 HIPPEs。然而,有毒试剂如戊二醛的引入可能会影响材料的生物相容性和生物降解性,同时热处理效果差,不适用于食品行业<sup>[14]</sup>。乙醇处理已被证实是导致蛋白质变性和聚集的有效策略,这主要是由于乙醇破坏了维持蛋白质在自然状态下稳定的非共价相互作用(包括氢键和离子键以及疏水相互作用)<sup>[15-17]</sup>。Peng 等<sup>[16]</sup>使用乙醇处理显著增强了  $\beta$ -伴大豆球蛋白皮克林稳定剂的乳化能力。乙醇处理是一种绿色、温和且有效的制备皮克林稳定剂的方式。目前,还没有关于用乙醇处理南瓜籽分离蛋白(PSPI)制备 HIPPEs 稳定剂的报道。

本文以 PSPI 为原料,利用反溶剂法成功制备了南瓜籽分离蛋白颗粒(PSPI Ps),并以此为稳定剂制备了 HIPPEs。考察了 PSPI Ps 质量分数、油相体积分数和水相 pH 对 HIPPEs 的影响,并对 PSPI Ps 在油-水界面的吸附进行了表征,另外,探究了 HIPPEs 的耐

酸碱能力、常温储存稳定性、热稳定性和光稳定性,以期 PSPI Ps 稳定的 HIPPEs 的综合应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

生南瓜籽,内蒙古巴彦淖尔市大嫂食品有限公司;石油醚、盐酸、氢氧化钠、乙醇、橄榄油、叠氮化钠、尼罗红、异硫氰酸荧光素(FITC),均为分析纯;柠檬烯,化学纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

S-4800 场发射扫描电子显微镜(SEM),TCS SP8 型激光共聚焦扫描显微镜(CLSM),VHX-1000C 型超景深三维显微镜,IKA T18 型高速分散机,Zeta PALS 型 Zeta 电位及纳米粒度分析仪,OCA 40 型光学接触角测量仪,DHR-3 型旋转流变仪,YP-2 压片机,LyoQuest Plus 冷冻干燥机,Nexis GC-2030 气相色谱仪,Nano Measurer 1.2 软件。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 PSPI 的提取与表征

##### 1.2.1.1 PSPI 的提取

参考 Bucko 等<sup>[18]</sup>的碱溶酸沉法并略作改动。其中:碱溶 pH 9.5,酸沉 pH 4.5,经冷冻干燥后得到 PSPI,低温避光保存。

##### 1.2.1.2 PSPI 的表征

蛋白质含量:使用 BCA 试剂盒测定。脂肪含量:参照 GB 5009.6—2016 采用索氏抽提法测定。灰分含量:参照 GB 5009.4—2016 测定。多糖含量:参照 SN/T 4260—2015 使用苯酚-硫酸法测定。乳化性能:配制质量分数为 1% 的 PSPI 溶液,分别用盐酸和氢氧化钠溶液调节 pH 为 2~9,取 5 mL 不同 pH 的 PSPI 溶液与 5 mL 橄榄油混合,使用均质机在 10 000 r/min 下均质 2 min,记录乳化层高度及液面的总高度,以二者的比值衡量乳化性能。起泡性能:取 50 mL 不同 pH 质量分数为 1% 的 PSPI 溶液,在 10 000 r/min 下均质 2 min,然后快速倒入 100 mL 的量筒中,记录泡沫高度及液面的总高度,以二者的比值衡量起泡性能。

### 1.2.2 南瓜籽分离蛋白颗粒(PSPI Ps)的制备与表征

#### 1.2.2.1 PSPI Ps 的制备

利用反溶剂法制备 PSPI Ps。使用去离子水配制质量分数为 1.5% 的 PSPI 分散液并调节 pH 至 9, 将 PSPI 分散液逐滴加入到 3 倍体积的乙醇溶剂中, 搅拌 4 h 后, 离心除去上清液, 干燥, 得到 PSPI Ps。

#### 1.2.2.2 PSPI Ps 的表征

使用去离子水配制质量分数为 2% 的 PSPI Ps 分散液, 加入叠氮化钠(加入后质量分数为 0.05%, 防腐剂), 低温保存备用。SEM 观测形态: 将 PSPI Ps 分散液滴到硅片上, 在烘箱中烘干后使用 SEM 观察 PSPI Ps 的形态。Zeta 电位及粒径分布测定: 将 PSPI Ps 分散液稀释到合适浓度, 使用 Zeta 电位及纳米粒度分析仪测定 PSPI Ps 的粒径分布和 Zeta 电位。三相接触角的测定: 使用压片机将 PSPI Ps 压成薄片, 随后将薄片放入含有橄榄油的透明玻璃皿中, 最后通过注射器将不同 pH 的水滴到薄片上, 使用光学接触角测量仪测定 PSPI Ps 的三相接触角。

### 1.2.3 乳液的制备及表征

#### 1.2.3.1 乳液的制备

配制一定质量分数的 PSPI Ps 分散液作为水相, 调节水相 pH, 以橄榄油为油相, 将水相与油相按一定体积比混合, 在 12 000 r/min 下均质 2 min, 得到乳液。

#### 1.2.3.2 乳液的表征

使用超景深三维显微镜拍摄乳液的微观形态。

使用 Nano Measurer 1.2 软件统计液滴尺寸并计算表面积体积平均径( $d_{3,2}$ ,  $d_{3,2} = \sum d_i^3 / \sum d_i^2$ ,  $d_i$  是液滴尺寸), 统计数量为 200。

使用旋转流变仪和平行钢板(直径 40 mm, 间隙 0.5 mm)研究乳液的流变行为。振幅扫描测量条件为应变 0.01% ~ 25%、频率 1 Hz, 得出储能模量( $G'$ )和损耗模量( $G''$ )的线性黏弹区。在线性黏弹区, 对乳液进行频率扫描(0.01 ~ 10 Hz), 分析乳液的黏弹性。

#### 1.2.4 HIPPEs 的结构表征

用 CLSM 表征 HIPPEs 的微观结构: 在制备 HIPPEs 时, 水相 PSPI Ps 中加入 FITC(0.1 mg/mL), 油相中加入尼罗红(0.1 mg/mL)以对乳液进行染色, 将染色的乳液滴在载玻片上, 用盖玻片覆盖, 在一定激发波长下观测微观结构(FITC 的激发波长为 488 nm, 尼罗红的激发波长为 530 nm)。

用 SEM 观测 HIPPEs 的结构: 以异十二烷为油相, 水相 PSPI Ps 质量分数为 1%, 水相 pH 为 8, 油水体积比为 80:20, 均质乳化得到 HIPPEs, 将制得的 HIPPEs 冷冻干燥后黏附在导电胶上, 拍摄 SEM 图片。

#### 1.2.5 HIPPEs 的稳定性分析

常温储存稳定性: 配制质量分数为 1% 的 PSPI Ps

分散液作为水相, 调节水相 pH 为 3、5 和 8, 以橄榄油为油相, 将水相与油相按体积比 20:80 混合, 在 12 000 r/min 下均质 2 min, 得到乳液。定期使用超景深三维显微镜拍摄乳液液滴并统计液滴  $d_{3,2}$ 。使用旋转流变仪和平行钢板测定乳液的流变行为, 方法同 1.2.3.2。

热稳定性: 配制质量分数为 1% 的 PSPI Ps 分散液作为水相, 调节水相 pH 为 3 和 8, 以橄榄油为油相, 将水相与油相按体积比 20:80 混合, 在 12 000 r/min 下均质 2 min, 得到乳液。将 HIPPEs 分别置于 30、50、70 °C 和 90 °C 下 30 min。使用超景深三维显微镜拍摄乳液液滴并统计液滴  $d_{3,2}$ 。使用旋转流变仪和平行钢板测定乳液的流变行为, 方法同 1.2.3.2。

光稳定性: 将质量分数为 2% 的 PSPI Ps 分散液作为水相, 调节水相 pH 为 8, 以柠檬烯作为油相, 将水相与油相按体积比 20:80 混合, 在 12 000 r/min 下均质 2 min, 得到以柠檬烯为油相的 HIPPEs。随后将 HIPPEs 暴露在氙灯下, 以游离柠檬烯为对照, 使用气相色谱仪定期测定柠檬烯含量。气相色谱仪测试条件: RTX-WAX 毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.5 μm), 100% PEG 固定相; 升温程序为初始温度 60 °C, 保持 1 min, 以 5 °C/min 升至 130 °C, 保持 2 min, 再以 10 °C/min 升至 200 °C; 分流比 20:1; 载气为氮气, 柱箱流量 2.48 mL/min。

## 2 结果与讨论

### 2.1 PSPI 的表征

经测定, PSPI 的蛋白质含量为(96.00 ± 0.15)%, 脂肪含量为(1.60 ± 0.13)%, 灰分含量为(1.20 ± 0.12)%, 多糖含量为(1.30 ± 0.23)%。PSPI 的乳化性能和起泡性能如图 1 所示。

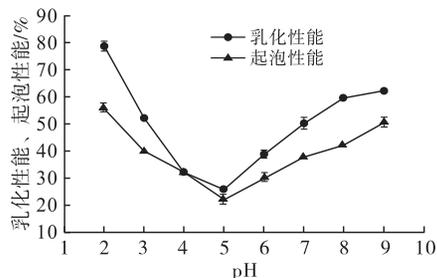


图 1 PSPI 的乳化性能以及起泡性能

由图 1 可知, 在不同 pH 条件下 PSPI 的乳化性能以及起泡性能不同, 其中在接近 PSPI 的等电点(4.5 左右<sup>[18]</sup>)时乳化性能及起泡性能较低, 远离等电点时乳化性能及起泡性能逐渐提升。上述结果表明 PSPI 被成功提取, 同时 PSPI 具有良好的乳化性能和起泡性能。

### 2.2 PSPI Ps 的表征

PSPI Ps 的 SEM 表征结果如图 2 所示。

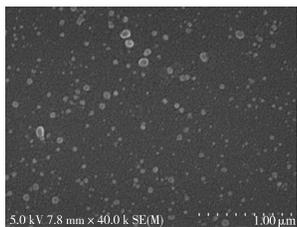


图2 PSPI Ps的SEM图

由图2可知,PSPI Ps皆为纳米级,大多呈球形,且分布比较均匀。PSPI Ps的粒径分布图(本文中略,课题组在前期研究<sup>[19]</sup>中已报道)显示,PSPI Ps的粒径呈单峰分布,约为180 nm。PSPI Ps的粒径分布图与SEM表征结果相符,表明PSPI Ps被成功制备。

不同pH条件下PSPI Ps的Zeta电位和接触角的变化情况如表1所示。

表1 不同pH条件下PSPI Ps的Zeta电位和三相接触角

pH	Zeta 电位/mV	三相接触角/(°)
2	34.16 ± 6.03	92.0 ± 2.1
3	27.69 ± 7.02	97.0 ± 3.0
4	6.05 ± 5.57	120.0 ± 0.8
5	-4.97 ± 3.72	127.0 ± 0.5
6	-35.94 ± 0.83	125.0 ± 1.0
7	-43.73 ± 1.60	118.0 ± 1.5
8	-56.79 ± 2.90	105.0 ± 0.6
9	-40.53 ± 1.48	103.0 ± 0.4

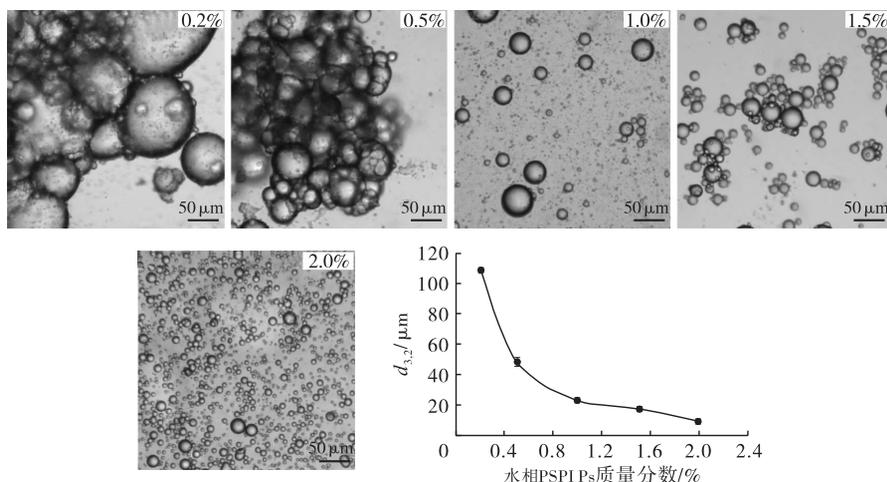
由表1可知,当pH从2增至9时,PSPI Ps的Zeta电位从34.16 mV降为-40.53 mV。Zeta电位的变化主要是由于蛋白质分子中羧基和氨基电离态

的变化<sup>[20]</sup>,当pH高于等电点(4.5)时,PSPI Ps发生酸式电离带负电荷,当pH低于等电点时,PSPI Ps发生碱式电离带正电荷,当pH在4.5左右时,PSPI Ps以两性离子的形式存在,总体上不带电荷,拥有最强的疏水性。由表1还可知,随着pH的增大,三相接触角先增大后减小,在pH为5(等电点附近)时,三相接触角达到最大,为127°,这说明PSPI Ps的疏水性在pH远离等电点时均减小。这可能是由于将PSPI分散液逐滴加入乙醇中,保持蛋白质在自然状态下稳定的主要化学力(非共价键的相互作用,如氢键、离子键和疏水相互作用)被破坏,蛋白质发生三级及以上的构象变化<sup>[21]</sup>,内部亲水基团会形成氢键等非共价相互作用以维持PSPI Ps内部结构的稳定,疏水基团和少量亲水基团会暴露在PSPI Ps表面,赋予PSPI Ps在油相和水相中的双重润湿性,以用于稳定皮克林乳液,而随着pH的变化,PSPI Ps的疏水基团向外层或向内层移动,从而导致PSPI Ps的疏水性随pH的变化而不同。Jiao等<sup>[22]</sup>报道花生蛋白微凝胶颗粒也拥有类似的性质。

### 2.3 乳液制备的单因素调控

#### 2.3.1 水相PSPI Ps质量分数的影响

在水相pH为8,油相体积分数为80%的条件下,改变水相PSPI Ps的质量分数(0.2%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%)制备乳液。实验发现,所制备的乳液均呈凝胶状。测定了不同水相PSPI Ps质量分数制备的乳液的微观形态、 $d_{3,2}$ 、储能模量与损耗模量,结果分别见图3~图4。

图3 不同水相PSPI Ps质量分数制备的乳液的超景深三维显微镜图像及水相PSPI Ps质量分数对乳液 $d_{3,2}$ 的影响

由图3可知,乳液液滴粒径在几微米到几十微米之间,且随着水相PSPI Ps质量分数的增加,乳液液滴粒径不断下降, $d_{3,2}$ 从PSPI Ps质量分数为0.2%时的110  $\mu\text{m}$ 显著降低到PSPI Ps质量分数为2.0%时的7.5  $\mu\text{m}$ 。

由图4可知,所有乳液的储能模量( $G'$ )都大于损耗模量( $G''$ ),表现出类凝胶行为,并且,随着水相PSPI Ps质量分数由0.2%增加到2.0%,储能模量从200 Pa增加到820 Pa。这说明增加PSPI Ps浓度可以显著增强乳液的凝胶强度。这是由于PSPI Ps

浓度越高,乳液液滴粒径越小,分布越接近,流动越受限,液滴的夹持阻力和流动阻力增加了  $G'$ <sup>[23]</sup>。

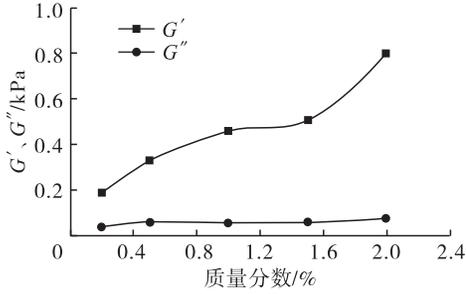


图 4 水相 PSPI Ps 质量分数对乳液储能模量与损耗模量的影响

### 2.3.2 油相体积分数的影响

在水相 PSPI Ps 质量分数为 1.0%, 水相 pH 为 8 的条件下, 改变油相体积分数 (50%、60%、70%、80%、82%、84%、85%), 制备乳液。实验发现: 当油相体积分数小于 70% 时, 乳液出现乳析现象, 并且油相体积分数越高, 乳析程度越低; 当油相体积分数大于或等于 70% 时, 乳液呈凝胶状; 而当油相体积分数大于 84% 时, 无法形成稳定的乳液。测定不同油相体积分数下制备的乳液的微观形态、 $d_{3,2}$ 、储能模量与损耗模量, 结果分别见图 5 ~ 图 6。

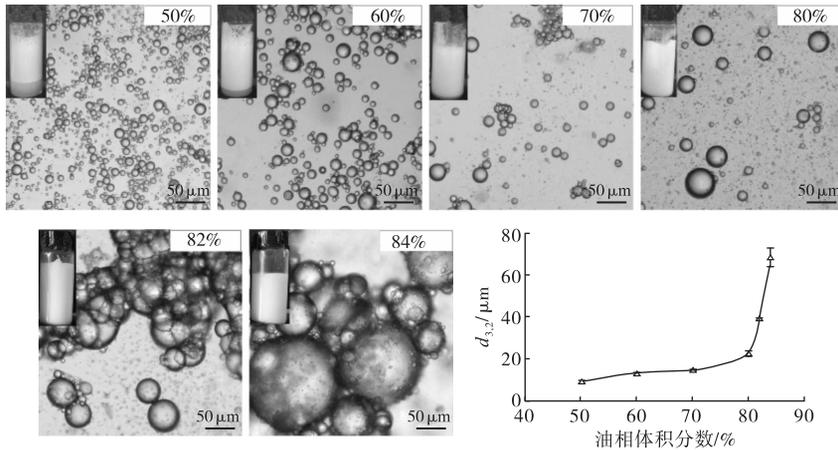


图 5 不同油相体积分数制备的乳液的超景深三维显微镜图像及油相体积分数对乳液  $d_{3,2}$  的影响

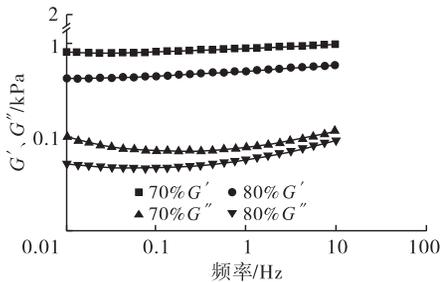


图 6 油相体积分数对乳液储能模量和损耗模量的影响

由图 5 可知, 随着油相体积分数的增加, 液滴粒径逐渐增加。由图 6 可知, 乳液的  $G'$  均高于  $G''$ , 显

示类凝胶行为。油相体积分数为 70% 的乳液的  $G'$  高于油相体积分数为 80% 时的, 这说明液滴的粒径越大, 越不利于乳液凝胶结构的强化。

### 2.3.3 水相 pH 的影响

在水相 PSPI Ps 质量分数为 1.0%, 油相体积分数为 80% 的条件下, 改变水相 pH (3、4、5、6、7、8、9), 制备乳液。实验发现, 在所有测试 pH 条件下, 均能形成外观无明显差别的稳定的 HIPPEs。测定不同水相 pH 下制备的 HIPPEs 的微观形态、 $d_{3,2}$ 、储能模量与损耗模量以及 PSPI Ps 分散液的粒径, 结果分别见图 7 ~ 图 9。

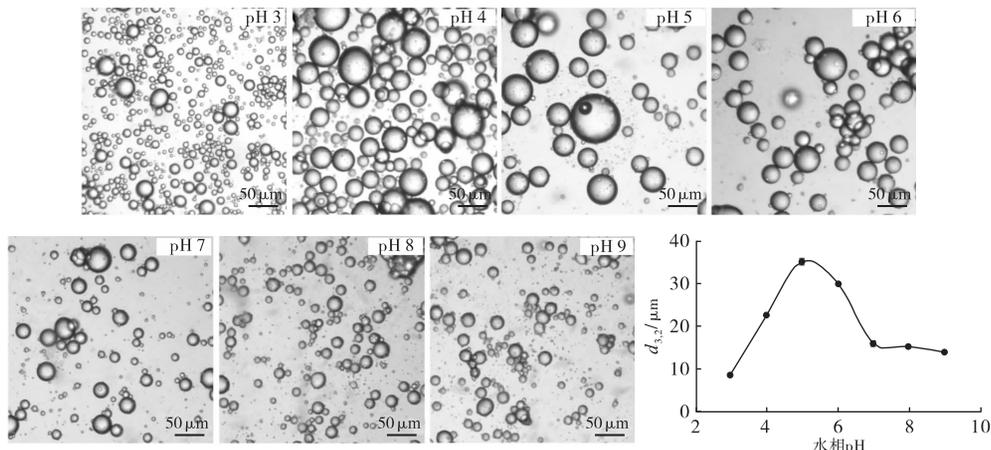


图 7 不同水相 pH 制备的 HIPPEs 的超景深三维显微镜图像及水相 pH 对 HIPPEs 液滴  $d_{3,2}$  的影响

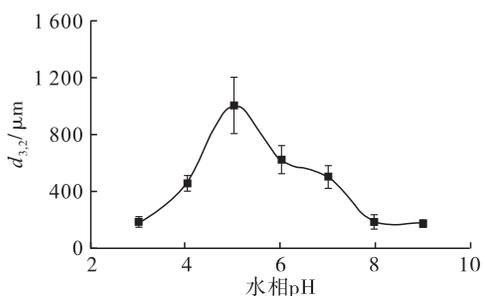


图8 水相 pH 对 PSPI Ps 分散液粒径的影响

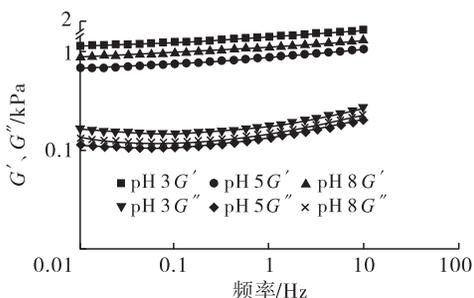


图9 水相 pH 对 HIPPEs 储能模量和损耗模量的影响

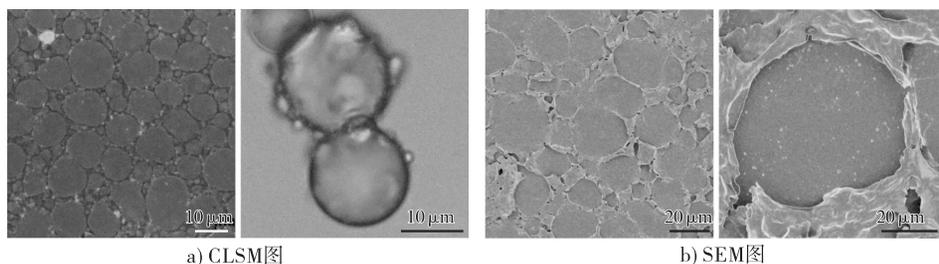


图10 HIPPEs 的 CLSM 和 SEM 图

由图 10a 可知:红色荧光出现在液滴内部,绿色荧光出现在液滴表面以及连续相中,表明该 HIPPEs 为 O/W 型单乳;仅使用 FITC 对 PSPI Ps 进行染色,绿色荧光出现在油水界面,说明 PSPI Ps 吸附在油水界面上,稳定了 HIPPEs。油水界面上,高的 PSPI Ps 吸附,可以形成连续的机械屏障,进而有助于分散液滴的空间稳定<sup>[24]</sup>。此外,在界面吸附的带负电的 PSPI Ps 会增大液滴之间的静电排斥,从而增强乳液的稳定性。相较于普通乳液,稳定的 HIPPEs 能够包封更高层次的脂溶性活性物质,从而更利于构建活性物质递送体系<sup>[6]</sup>。由

由图 7 可知,随着水相 pH 的增加,液滴粒径先增大后减小,在 PSPI Ps 等电点附近,液滴的粒径最大,在远离 PSPI Ps 等电点时,乳液液滴大小分布更均匀。对比图 7、图 8 可知,不同水相 pH 条件下 HIPPEs 液滴粒径的差异与 PSPI Ps 粒径的差异是一致的,这是因为 PSPI Ps 的粒径越大,通常形成的乳液液滴的粒径也越大<sup>[22]</sup>。由图 9 可知,随着水相 pH 的增加,乳液的  $G'$  先降低后升高。这是因为在 PSPI Ps 等电点附近, HIPPEs 的凝胶网络结构最弱,这再次证明了大粒径液滴的出现不利于乳液凝胶结构的强化。随 pH 的增加,  $G''$  也是先降低后升高,但总体变化较小。HIPPEs 的  $G'$  远大于  $G''$ , 这表明 HIPPEs 呈凝胶结构,且结构相对稳定。

## 2.4 HIPPEs 的结构

使用 CLSM 和 SEM 探究在水相 PSPI Ps 质量分数 1%、水相 pH 8、油相体积分数 80% 条件下制备的 HIPPEs 的结构特征,结果如图 10 所示。

图 10b 可知,经过冷冻干燥的 HIPPEs 形成了多孔结构, PSPI Ps 沿着原来的油水界面有序排列,并形成界面膜。液滴-液滴之间共用 PSPI Ps, 发生桥联,形成三维网络结构。此外,连续相中未吸附到界面上的 PSPI Ps 也会形成三维网络,这些都会增强乳液的空间稳定性,这与前人<sup>[25]</sup>的研究结论一致。

## 2.5 HIPPEs 的稳定性

### 2.5.1 常温储存稳定性

按 1.2.5 的方法考察 HIPPEs 的常温储存稳定性,结果如图 11 所示。

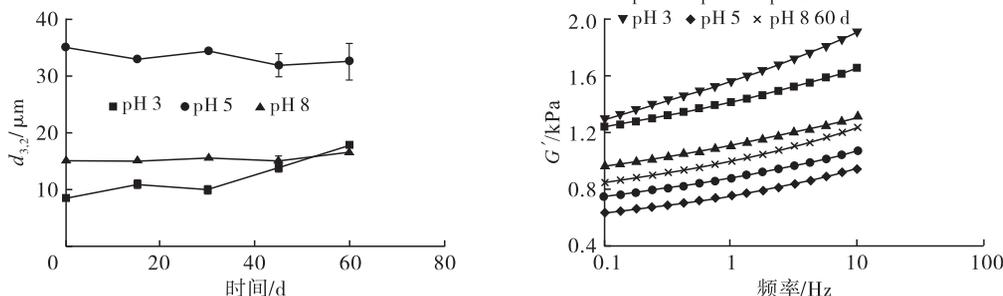


图11 不同 pH 下 HIPPEs 的常温储存稳定性

实验发现,在常温储存 60 d 后,所有 pH 条件下 HIPPEs 的外观都没有变化。由图 11 可知:在常温储存 30 d,所有 pH 条件下 HIPPEs 的粒径均未增加,在常温储存 60 d,pH 为 5 和 8 的 HIPPEs 其粒径依旧未变,而 pH 为 3 的 HIPPEs 其粒径略有增加;HIPPEs 在常温储存 60 d 后  $G'$  变化很小,凝胶强度

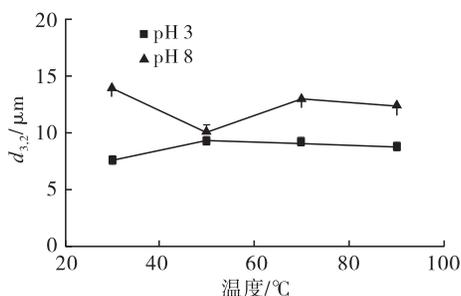


图 11 不同 pH 下 HIPPEs 的热稳定性

实验发现,在 50、70、90 °C 下处理 30 min,所有 pH 的 HIPPEs 的外观都无变化。由图 12 可知:热处理对 HIPPEs 粒径几乎无影响;在 90 °C 处理 30 min 后 HIPPEs 的  $G'$  有所上升,说明热处理会增加 HIPPEs 的凝胶网络结构强度,这可能是由于 PSPI Ps 经加热处理后在界面处形成了更具黏弹性的薄膜<sup>[26]</sup>。总体来说,在酸性条件(pH 3)和碱性条件下(pH 8),该 HIPPEs 都具有较好的热稳定性。

### 2.5.3 光稳定性

柠檬烯是一种植物精油,在光照和空气接触的条件下可氧化成柠檬烯过氧化物、氧化柠檬烯和香芹酮,具有十分活泼的化学性质<sup>[24]</sup>。按 1.2.5 的方法以柠檬烯含量为指标考察 HIPPEs 的光稳定性,结果如图 13 所示。

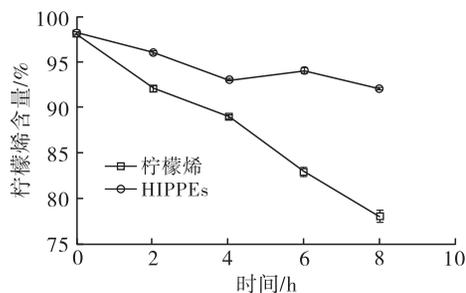


图 13 氙灯照射后封装在 HIPPEs 中的柠檬烯及游离柠檬烯的含量

由图 13 可知,在氙灯照射 8 h 后,由于直接暴露在光和空气之中,游离柠檬烯发生氧化,含量降为原来的 78%,而封装在 HIPPEs 中的柠檬烯含量仅下降至原来的 92%,这说明 PSPI Ps 稳定的 HIPPEs 对柠檬烯具有良好的保护效果,有潜力成为包封活性物质的载体系统。HIPPEs 对柠檬烯具有保护效果可能由以下几方面原因:第一,PSPI Ps 具有一定

略微下降。总体来说,在较宽 pH 范围内(3~8),HIPPEs 具有较好的常温储存稳定性。

### 2.5.2 热稳定性

按 1.2.5 的方法考察 HIPPEs 的热稳定性,结果如图 12 所示。

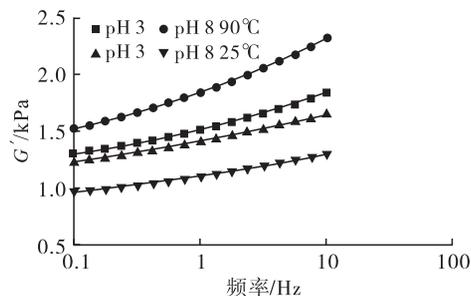


图 12 不同 pH 下 HIPPEs 的热稳定性

的光吸收性,油-水界面吸附的 PSPI Ps、在连续相中的 PSPI Ps 形成的三维网络结构和整个 HIPPEs 凝胶结构在一定程度上降低了直射到柠檬烯的光照强度;第二,蛋白质是有效的抗氧化剂,可以通过多种途径抑制乳液中的氧化反应,包括使活性氧失活、清除自由基、减少氢过氧化物等<sup>[27]</sup>;第三,HIPPEs 对空气起到了一定的隔绝作用。

## 3 结论

本研究使用碱溶酸沉法提取了 PSPI,并利用反溶剂法成功制备了 PSPI Ps,以 PSPI Ps 为乳液稳定剂,成功制备微米级的 O/W 型 HIPPEs。该 HIPPEs 具有较好的耐酸碱能力、常温储存稳定性、热稳定性和光稳定性。本研究证明制备的 PSPI Ps 是一种性能优异的 HIPPEs 稳定剂,在食品、化妆品和药物递送等领域具有潜在的应用价值。

### 参考文献:

- [1] YAN C, MCCLEMENTS D J, ZHU Y Q, et al. Fabrication of OSA starch/chitosan polysaccharide-based high internal phase emulsion via altering interfacial behaviors [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(39):10937-10946.
- [2] WAHYU W, PAUL M D V, HANNY C W, et al. High internal phase emulsions stabilized solely by whey protein isolate-low methoxyl pectin complexes: effect of pH and polymer concentration [J]. Food Funct, 2017, 8(2):584-594.
- [3] MOGLIA R S, WHITELY M, DHAVALIKAR P, et al. Injectable polymerized high internal phase emulsions with rapid in situ curing [J]. Biomacromolecules, 2014, 15(8):2870-2878.
- [4] BRUN N, UNGUREANU S, DELEUZE H, et al. Hybrid foams, colloids and beyond: from design to applications [J]. Chem Soc Rev, 2011, 40(2):771-788.
- [5] TAN H, ZHAO L F, TIAN S S, et al. Gelatin particle-

- stabilized high – internal phase emulsions for use in oral delivery systems; protection effect and in vitro digestion study[J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(4):900 – 907.
- [6] GAO H X, MA L, CHENG C, et al. Review of recent advances in the preparation, properties, and applications of high internal phase emulsions [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 112:36 – 49.
- [7] CSERHATI T, FORGACS E, OROS G. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants [J]. *Environ Int*, 2002, 28(5): 337 – 348.
- [8] BADMUS S O, AMUSA H K, OYEHAN T A, et al. Environmental risks and toxicity of surfactants; overview of analysis, assessment, and remediation techniques [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2021, 28(44): 62085 – 62104.
- [9] LIU F, OU S Y, TANG C H.  $\text{Ca}^{2+}$  – induced soy protein nanoparticles as pickering stabilizers: fabrication and characterization [J]. *Food Hydrocolloid*, 2017, 65: 175 – 186.
- [10] KALASHNIKOVA I, BIZOT H, CATHALA B, et al. New pickering emulsions stabilized by bacterial cellulose nanocrystals[J]. *Langmuir*, 2011, 27(12):7471 – 7479.
- [11] TAN Y, XU K, NIU C, et al. Triglyceride – water emulsions stabilised by starch – based nanoparticles [J]. *Food Hydrocolloid*, 2014, 36:70 – 75.
- [12] YAN C, MCCLEMENTS D J, ZOU L, et al. A stable high internal phase emulsion fabricated with OSA – modified starch: an improvement in  $\beta$  – carotene stability and bioaccessibility[J]. *Food Funct*, 2019, 10(9):5446 – 5460.
- [13] LIU W, GAO H, MCCLEMENTS D, et al. Stability, rheology, and  $\beta$  – carotene bioaccessibility of high internal phase emulsion gels [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 88: 210 – 217.
- [14] XI Z W, LIU W, MCCLEMENTS D J, et al. Rheological, structural, and microstructural properties of ethanol induced cold – set whey protein emulsion gels; effect of oil content[J]. *Food Chem*, 2019, 291:22 – 29.
- [15] NIKOLAIDIS A, MOSCHAKIS T. On the reversibility of ethanol – induced whey protein denaturation [J]. *Food Hydrocolloid*, 2018, 84:389 – 395.
- [16] PENG L P, XU Y T, LI X T, et al. Improving the emulsification of soy  $\beta$  – conglycinin by alcohol – induced aggregation [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 98: 105307 [2022 – 07 – 27]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105307>.
- [17] OTZEN D E, SEHGAL P, NESGAARD L W. Alternative membrane protein conformations in alcohols [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(14):4348 – 4359.
- [18] BUCKO S D, KATONA J M, POPOVIC L M, et al. Functional properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed protein isolate and hydrolysate [J]. *Serb Chem Soc*, 2016, 81(1):35 – 46.
- [19] SUN Y J, SHEN Y Q, DING J J, et al. High ethanol tolerance of oil – in – water Pickering emulsions stabilized by protein nanoparticles [J/OL]. *Colloid Surface A*, 2022, 632:127777 [2022 – 07 – 27]. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127777>.
- [20] ZHU Y Q, CHEN X, MCCLEMENTS D J, et al. Pickering – stabilized emulsion gels fabricated from wheat protein nanoparticles: effect of pH, NaCl and oil content [J]. *J Disper Sci Technol*, 2018, 39(6):826 – 835.
- [21] DING J J, LI Y X, WANG Q B, et al. Pickering high internal phase emulsions with excellent UV protection property stabilized by *Spirulina* protein isolate nanoparticles [J/OL]. *Food Hydrocolloid*, 2023, 137: 108369 [2022 – 07 – 27]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108369>.
- [22] JIAO B, SHI A M, WANG Q, et al. High – internal – phase Pickering emulsions stabilized solely by peanut – protein – isolate microgel particles with multiple potential applications [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57(30):9274 – 9278.
- [23] WEI Z H, CHENG Y J, ZHU J Y, et al. Genipin – crosslinked ovotransferrin particle – stabilized Pickering emulsions as delivery vehicles for hesperidin [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 94:561 – 573.
- [24] DICKINSON E. Stabilising emulsion – based colloidal structures with mixed food ingredients [J]. *J Sci Food Agric*, 2013, 93(4):710 – 721.
- [25] 陈凤凤,陶胜男,龚穗菁,等. 化妆品乳液及乳化新技术 ( I ):皮克林乳液的基本原理及其在化妆品中的应用 [J]. *日用化学工业*, 2021, 51(2):89 – 97,114.
- [26] XU Y, TANG C, LIU T, et al. Ovalbumin as an outstanding Pickering nanostabilizer for high internal phase emulsions [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(33): 8795 – 8804.
- [27] DJORDJEVIC D A, CERCACI L B, ALAMED J A, et al. Chemical and physical stability of protein and gum arabic – stabilized oil – in – water emulsions containing limonene [J]. *Food Sci*, 2008, 73(3):167 – 172.