油料蛋白

DOI：10.19902/j.cnki.zgyz.1003－7969.240727

葡聚糖接枝大豆分离蛋白 Pickering 乳液的制备与性质研究

李顺发[1]，邓雨冰[1]，胡　醇[1]，王良俊[2]，张　清[1]

（1.四川农业大学 食品学院，四川 雅安 625014；2.眉山天府新区乡村振兴发展服务中心，四川 眉山 620000）

摘要：旨在为脂溶性生物活性物质的包埋递送提供参考，以大豆分离蛋白（SPI）－葡聚糖共轭物（SDC）为乳化剂和稳定剂，采用两步法运用高压微射流制备 Pickering 乳液（SDC－PEs），通过单因素实验研究了均质压力、均质次数、SDC 添加量对乳液粒径和多分散指数（PDI）的影响，并采用响应面实验对 SDC－PEs 的制备条件进行了优化。另外，对最佳工艺条件下制备的 SDC－PEs 性质进行了分析。结果表明：SDC－PEs 的最佳制备工艺条件为均质压力 140 MPa、均质次数 6 次、SDC 添加量 2.13%、油相体积分数 10%，在此条件下 SDC－PEs 的平均粒径为 210.33 nm，PDI 小于 0.20；SDC－PEs 表现出良好的 pH 稳定性、抗离子强度稳定性、温度稳定性和储存稳定性，且优于以 SPI 稳定的 Pickering 乳液（SPI－PEs）。综上，通过添加 SDC 可以制备出稳定性良好的 Pickering 乳液。

关键词：Pickering 乳液；乳液稳定性；乳液性质；大豆分离蛋白；大豆分离蛋白－葡聚糖共轭物

中图分类号：TS201.2；TS229　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1003－7969（2025）12－0041－08

Preparation and properties of dextran grafted soybean protein isolate－based Pickering emulsions

LI Shunfa[1], DENG Yubing[1], HU Chun[1], WANG Liangjun[2], ZHANG Qing[1]

(1. College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya′an 625014, Sichuan, China; 2. Rural Revitalization and Development Service Center of Meishan Tianfu New District, Meishan 620000, Sichuan, China)

Abstract: To provide a reference for the encapsulation and delivery of lipophilic bioactive substances, Pickering emulsions (SDC－PEs) was prepared by using a two－step method of high－pressure microfluidization process with soybean protein isolate (SPI)－dextran conjugate (SDC) as emulsifier and stabilizer. Single－factor experiments were conducted to investigate the effects of homogenization pressure, homogenization times, and SDC dosage on emulsion particle size and polydispersity index (PDI). The preparation conditions of SDC－PEs were further optimized using response surface methodology. Additionally, the properties of SDC－PEs prepared under the optimal conditions were analyzed. The results showed that the optimal preparation parameters of SDC－PEs were as follows: homogenization pressure 140 MPa, homogenization times 6, SDC dosage 2.13%, and volume fraction of oil phase 10%. Under these conditions, SDC－PEs exhibited an average particle size of 210.33 nm with a PDI below 0.20. The SDC－PEs showed excellent stability against pH, ionic strength, temperature, and storage, outperforming SPI－stabilized Pickering emulsions (SPI－PEs). In conclusion, Pickering emulsions with good stability can be prepared by adding SDC.

Key words: Pickering emulsions; emulsion stability; emulsion property; soybean protein isolate; soybean protein isolate－dextran conjugate

收稿日期：2024－12－28；**修回日期**：2025－08－16

基金项目：四川天府新区眉山管委员会科技合作项目（2322339004）；雅安市－四川农业大学市校合作项目（23ZDYF0003）

作者简介：李顺发（2000），男，在读硕士，研究方向为大豆蛋白加工理论与应用（E-mail）lishunfa2022@163.com。

通信作者：张　清，教授，博士（E-mail）zhangqing@sicau.edu.cn。

乳液具有包埋、携带、运输等多种功能,在医药和食品等领域应用广泛[1]。多种脂溶性生物活性物质[2-4]可以通过乳液进行有效包封递送,从而拓展其实际应用价值。但是,乳液需要表面活性剂在油水界面上发挥稳定作用[5]。大豆分离蛋白(SPI)具有一定的乳化性,通常被用来代替表面活性剂用于食品中油脂的乳化[6]。然而,天然 SPI 的乳化能力有限,难以在苛刻的加工和递送条件下维持乳液的稳定性。研究发现,通过美拉德反应将葡聚糖(Dextran,DX)接枝到 SPI,所得 SPI - DX 共轭物(SDC)相较于 SPI 具有更优的改善乳液乳化性及乳化稳定性的特征,适合乳液的制备[7]。

Pickering 乳液是通过颗粒吸附在两相界面上改变油滴颗粒间空间位阻,形成机械屏障来稳定微小液滴[8]。与传统乳液相比,Pickering 乳液生产工艺简单高效、稳定性高[9],同时具有优异的生物相容性,在食品营养和生物医药等领域均有广泛的应用[10]。Pickering 乳液可对水溶性差或不溶于水的物质进行包埋,提高其溶解性和环境应力,保证目标物质到达吸收部位[11]。因此,本研究以 SPI 为原料,经 DX 接枝后形成 SDC 用于稳定 Pickering 乳液,并通过响应面实验优化乳液制备的关键参数,以实现 SPI 的利用及为脂溶性生物活性物质的包埋递送提供思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大豆分离蛋白(SPI,蛋白质含量≥85%),北京索莱宝科技有限公司;葡聚糖(分子质量 40 kDa),上海源叶生物科技有限公司;山茶油,雅安太时生物科技股份有限公司。

磷酸盐缓冲液(PBS,pH 7.2)、PC - 300 防腐剂、标准蛋白质预染 Marker,天根生化科技(北京)有限公司;30%丙烯酰胺溶液、1.0 mol/L Tris - HCl 溶液(pH 6.8)、10 g/100 mL 十二烷基硫酸钠(SDS)溶液。

MF110EH 高压微射流均质机,上海迈克孚生物科技有限公司;Malvern Nano - ZS 粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;MCR 102e 流变仪,奥地利安东帕有限公司;ZEISS Sigma 500 场发射扫描电子显微镜,德国卡尔蔡司公司;MYP11 - 2 磁力搅拌器,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;HH - 4 数显恒温水浴锅,邦西仪器科技(上海)有限公司;Sartorius - CP225D 型电子天平,德国 Sartorius 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 SDC 的制备

参照 Zhang 等[7]的方法并稍作修改,采用干热法制备 SDC。用 10 mmol/L PBS (pH 7.2)将 SPI 溶解并配制成质量浓度为 50 mg/mL 的溶液,室温下磁力搅拌 2 h 后,置于 4 ℃冰箱过夜使其充分水合,然后按 SPI 与 DX 质量比 1∶1.75 加入 DX,室温磁力搅拌 2 h 后,置于 4 ℃冰箱水合过夜。将溶液冷冻干燥、研碎后平铺于培养皿中,置于 60 ℃、相对湿度 79% 的恒温恒湿箱中反应 3.3 d 后取出,立即冷却至室温,再经冷冻干燥后得 SDC,置于 -20 ℃保存备用。

1.2.2 Pickering 乳液的制备

参考 Wang 等[12]的方法并稍作修改,采用“两步法”制备 Pickering 乳液。将一定质量的 SDC 分散于 10 mmol/L PBS(pH 7.2)中,室温下磁力搅拌 2 h,于 4 ℃冷藏水合 12 h,按体积分数 10% 加入山茶油,以 12 000 r/min 剪切 5 min 形成粗乳液,再使用高压微射流均质机在一定压力下均质一定次数后,加入样品总质量 0.1% 的 PC - 300 防腐剂以防止微生物生长,即得到 SDC Pickering 乳液(SDC - PEs)。

以 SPI 稳定的 Pickering 乳液(SPI - PEs)和 SPI + DX 混合物(SPI 与 DX 质量比 1∶1.75)稳定的乳液(SPI + DX - PEs)作为对照,制备方法为将上述 SDC - PEs 制备过程中的 SDC 分别替换为蛋白质含量相同的 SPI 和 SPI + DX 混合物,最后分别制得 SPI - PEs 和 SPI + DX - PEs。

1.2.3 Pickering 乳液性质测定

1.2.3.1 粒径、多分散指数(PDI)和 Zeta - 电位

将新鲜制备的 Pickering 乳液样品用去离子水稀释 600 倍后,加入粒径测定池和 Zeta - 电位测定池,用粒度仪测定乳液粒径、PDI 和 Zeta - 电位。测定条件:测定温度 25 ℃,样品折射率、吸收率及分散剂折射率设定值分别为 1.450、0.001 和 1.330。

1.2.3.2 流变特性

使用流变仪在 25 ℃ 下测定 Pickering 乳液的流变特性。测定条件:平板直径 40 mm,测定间隙 0.500 mm,剪切速率 0.1 ~ 100 s^{-1}。记录乳液的表观黏度随剪切速率($\dot{\gamma}$)的变化。为了更深入地理解乳液的流变行为,对不同剪切速率下的剪切应力(τ)进行了幂律模型($\tau = K\dot{\gamma}^n$,式中:K 为稠度系数;n 为流动性指数)拟合,将剪切应力与剪切速率绘制在对数坐标图上,通过线性拟合方程截距和斜率分别计算 K 值和 n 值。

1.2.3.3 微观形貌

将乳液冷冻干燥后用导电胶固定在样品台上,通过离子溅射在样品上喷金后(5.3 mm),将样品转移到扫描电子显微镜台面上,在加速电压 10.00 kV 的条件下,采用场发射扫描电子显微镜观察样品的微观结构并拍照。

1.2.3.4　稳定性

pH 稳定性[13]：使用 0.5 mol/L NaOH 或 HCl 溶液调节新鲜制备的 Pickering 乳液 pH 为 3、4、5、6、7、8、9、10 和 11，取 5 mL 不同 pH 的 Pickering 乳液至带盖的玻璃瓶中，在室温下静置储存 24 h 后，对 Pickering 乳液的粒径、PDI 和 Zeta－电位进行测定。

离子强度稳定性[14]：向新鲜制备的 Pickering 乳液中加入不同质量的 NaCl，调整 Pickering 乳液的离子浓度为 0、50、100、200、300 mmol/L，取 5 mL 不同离子浓度的 Pickering 乳液至带盖的玻璃瓶中，在室温下静置储存 24 h 后，对 Pickering 乳液的粒径、PDI 和 Zeta－电位进行测定。

温度稳定性[15]：取 5 mL 新鲜制备的 Pickering 乳液至带盖的玻璃瓶中，置于不同温度（0、4、60、75、90 ℃）的水浴锅中 30 min 后，立即取出，冰水浴冷却至室温，在室温下静置储存 24 h 后，对 Pickering 乳液的粒径、PDI 和 Zeta－电位进行测定。

储存稳定性：取 5 mL 新鲜制备的 Pickering 乳液至带盖的玻璃瓶中，25 ℃下静置储存 7 d，分别在储存 0、1、3、5、7 d 时对 Pickering 乳液的粒径、PDI 和 Zeta－电位进行测定。

1.2.4　数据处理

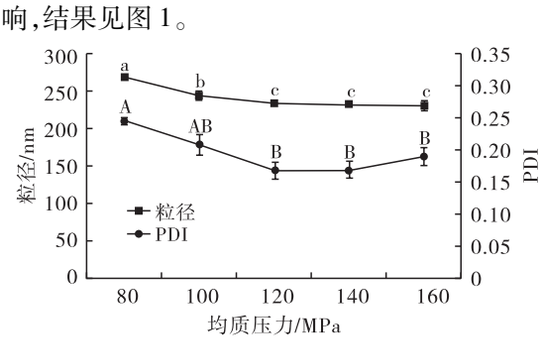
所有实验均进行 3 次平行，用 Microsoft Excel 2022 软件对数据进行统计，采用 Design－Expert 12 软件进行响应面实验设计，采用 SPSS 软件进行 Duncan 显著性差异分析。使用 Origin 2022 软件绘图。

2　结果与分析

2.1　Pickering 乳液制备单因素实验

2.1.1　均质压力对乳液粒径及 PDI 的影响

在均质次数 3 次、SDC 添加量 2%（以总质量为基准）条件下，考察均质压力对乳液粒径及 PDI 的影响，结果见图 1。



注：同一指标不同字母表示具有显著差异（$p<0.05$）。下同

Note：Different letters for the same indicator indicate significant differences（$p<0.05$）. The same below

图 1　均质压力对乳液粒径和 PDI 的影响

Fig.1　Effect of homogenization pressure on emulsion particle size and PDI

由图 1 可知：随着均质压力从 80 MPa 增加到 160 MPa，乳液的粒径持续降低，但在均质压力 120～160 MPa 下没有显著变化；乳液的 PDI 总体上呈先下降后升高的趋势，但在均质压力 120～160 MPa 下升高趋势不显著。乳液粒径的下降可归因于随均质压力的升高，流体在夹缝中经历高剪切力、空穴效应和湍流，形成细小的油滴，但当均质压力达到 120 MPa 时，油滴可能已接近最小可达到的尺寸，同时 SDC 颗粒在油水界面上稳定[16]。而当均质压力超过 140 MPa 后，SDC 在高压力挤压下结构可能发生改变，乳化能力降低，从而使乳液粒径分布变宽，PDI 升高[17]。

2.1.2　均质次数对乳液粒径及 PDI 的影响

在均质压力 120 MPa、SDC 添加量 2% 条件下，考察均质次数对乳液粒径及 PDI 的影响，结果见图 2。

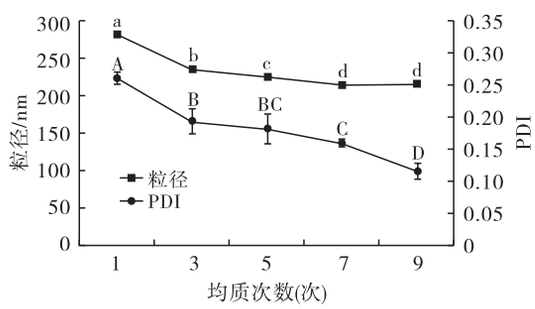


图 2　均质次数对乳液粒径和 PDI 的影响

Fig.2　Effect of homogenization times on emulsion particle size and PDI

由图 2 可知，随着均质次数的增加，乳液粒径先显著下降后趋于稳定，而 PDI 则持续降低，说明乳液的均一性随均质次数增加而增加。

2.1.3　SDC 添加量对乳液粒径及 PDI 的影响

在均质压力 120 MPa、均质次数 3 次条件下，考察 SDC 添加量对乳液粒径及 PDI 的影响，结果见图 3。

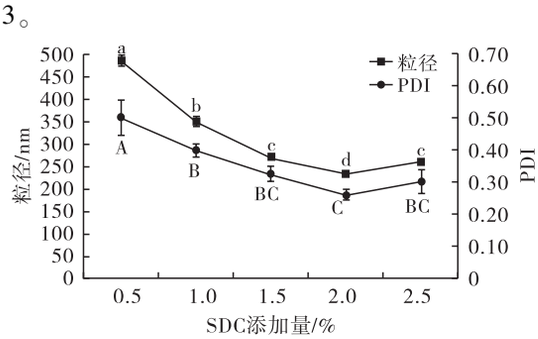


图 3　SDC 添加量对乳液粒径和 PDI 的影响

Fig.3　Effect of SDC dosage on emulsion particle size and PDI

由图 3 可知，随着 SDC 添加量的增加，乳液的粒径和 PDI 均呈先降低后增加的趋势，当 SDC 添加

量为2%时,乳液粒径和PDI均达到最低值。这可能是因为SDC添加量较小时,SDC颗粒数量不足以完全覆盖所有油滴表面,从而使部分油滴聚集,乳液粒径较大和分布较宽(PDI较大)[18],而当SDC添加量过高时,SDC颗粒较多,蛋白质分子之间相互作用影响其在油水界面的排列,油水界面稳定性受到影响,从而使乳液粒径增大、分布变宽。

2.2 Pickering乳液制备响应面优化实验

2.2.1 响应面实验设计与结果

由于乳液的PDI在单因素实验中多数情况呈现出较低的值(<0.3),所以仅以乳液的粒径为响应值,根据单因素实验结果,选择均质压力、均质次数和SDC添加量3个因素,设计三因素三水平的响应面实验。响应面实验因素与水平见表1,响应面实验设计及结果见表2。

表1 响应面实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of response surface methodology

水平	*A* 均质压力/MPa	*B* 均质次数(次)	*C* SDC添加量/%
-1	100	3	1.5
0	120	5	2.0
1	140	7	2.5

表2 响应面实验设计及结果

Table 2 Design and results of response surface methodology

实验号	*A*	*B*	*C*	粒径/nm
1	-1	-1	0	244.60
2	-1	0	1	251.70
3	0	0	0	224.20
4	0	0	0	225.33
5	-1	1	0	231.63
6	0	1	1	228.67
7	1	1	0	210.33
8	0	0	0	222.43
9	0	0	0	220.30
10	0	-1	-1	259.10
11	0	0	0	221.07
12	1	0	1	224.97
13	0	1	-1	238.27
14	-1	0	-1	255.43
15	0	-1	1	250.07
16	1	0	-1	243.73
17	1	-1	0	231.07

2.2.2 回归模型的建立与显著性分析

使用Design-Expert软件对表2数据进行拟合,得到关于粒径(*Y*)的二次多项式回归模型方程:$Y = 222.67 - 9.16A - 9.49B - 5.14C - 1.94AB - 3.76AC - 0.14BC + 3.34A^2 + 3.4B^2 + 17.95C^2$。对回归模型进行方差分析,结果见表3。

表3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	*F*	*p*
模型	3 198.71	9	355.41	82.19	<0.000 1**
A	671.00	1	671.00	155.18	<0.000 1**
B	720.73	1	720.73	166.68	<0.000 1**
C	211.49	1	211.49	48.91	0.000 2**
AB	15.08	1	15.08	3.49	0.104 1
AC	56.50	1	56.50	13.07	0.008 6**
BC	0.08	1	0.08	0.02	0.895 5
A^2	46.90	1	46.90	10.85	0.013 2*
B^2	48.79	1	48.79	11.28	0.012 1*
C^2	1 357.27	1	1 357.27	313.88	<0.000 1**
残余项	30.27	7	4.32		
失拟项	12.59	3	4.20	0.95	0.496 7
纯误差	17.68	4	4.42		
总和	3 228.98	16			

注:*表示差异显著($p<0.05$);**表示差异极显著($p<0.01$)

Note: * $p<0.05$; ** $p<0.01$

由表3可知,模型*p*值小于0.01,极显著,失拟项*p*值大于0.05,不显著,表明模型拟合良好。模型的决定系数为0.990 6,校正决定系数为0.978 6,表明模型拟合度很高。一次项*A*、*B*和*C*对乳液粒径的影响均极显著;交互项*AC*对乳液粒径的影响极显著,*AB*和*BC*的影响不显著;二次项A^2和B^2对乳液粒径的影响显著,C^2的影响极显著。

2.2.3 最佳工艺条件确定及验证

采用Design-Expert软件对SDC-PEs粒径回归模型方程进行求解,得到乳液制备的最佳工艺条件,即均质压力140 MPa、均质次数6次、SDC添加量2.13%,在此条件下乳液粒径预测值为210.86 nm。在上述最佳工艺条件下进行3次平行实验,乳液粒径平均值为210.33 nm,与预测值的相对误差为0.25%,同预测值基本吻合,乳液的PDI为0.19。因此,运用响应面法获得的SDC-PEs的最佳制备工艺条件可信。

2.3 Pickering乳液的性质

对最佳工艺条件下制备的Pickering乳液(SDC-PEs)性质进行测定,并与SPI-PEs和SPI+DX-PEs作为对照。

2.3.1 表观黏度

Pickering乳液表观黏度随剪切速率变化曲线以及幂律模型参数分别如图4和表4所示。

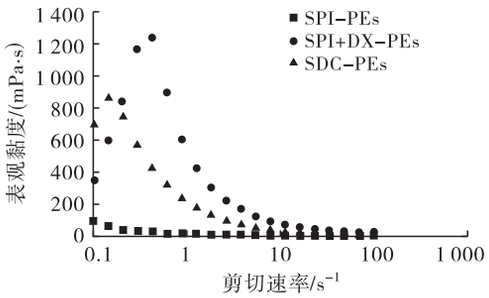


图 4　Pickering 乳液表观黏度随剪切速率的变化曲线

Fig. 4　Apparent viscosity of Pickering emulsion as a function of shear rate

由图 4 和表 4 可知，SPI－PEs 的表观黏度随着剪切速率的增加而降低，其 n 值较小，为 0.295 5，属于非牛顿流体中的假塑性流体。SPI＋DX－PEs 和 SDC－PEs 的表观黏度随着剪切速率的增加先上升后下降，在低剪切速率下表现出膨胀流体的特性，高剪切速率下表现出假塑性流体特性。但根据 n 值以及线性拟合方程的决定系数（R^2）可知，SDC－PEs 仍是假塑性流体。

表 4　Pickering 乳液幂律模型参数

Table 4　Power law model parameters of Pickering emulsion

样品	K	n	R^2
SPI－PEs	0.014 2	0.295 5	0.908 3
SPI＋DX－PEs	0.170 9	0.757 6	0.988 9
SDC－PEs	0.074 5	0.790 6	0.994 3

2.3.2　微观形貌

图 5 是 Pickering 乳液在不同尺度（1 μm 和 200 nm）下的扫描电子显微镜（SEM）图。

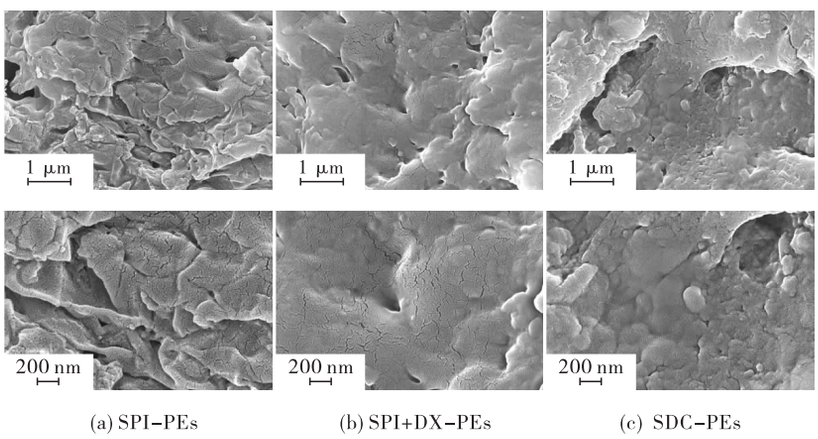


图 5　Pickering 乳液在不同尺度下的 SEM 图

Fig. 5　SEM images of Pickering emulsions at different scales

由图 5 可知：在 1 μm 视野下，SPI－PEs 表面呈不规则的团簇结构，可能是 SPI 聚集的表现，SPI＋DX－PEs 的表面相对光滑，能够观察到部分球状结构，但大部分边界不清晰，存在粘连现象，而 SDC－PEs 则表现出表面光滑的形貌；在 200 nm 视野下，SPI－PEs 和 SPI＋DX －PEs 的表面均出现裂纹，可能是冷冻干燥过程中水分的流失影响了油水界面上 SPI 微粒的排列，同时也说明了这两种乳液的包封稳定性可能不佳，有油脂泄漏的可能，而 SDC－PEs 表面无明显裂纹，能够清晰观察到球体的堆叠，边界相对清晰，说明 SDC 微粒之间联系紧密，减小了内部油脂泄漏的可能，同时从图中观测到球体结构的直径在 200 nm 左右，这与粒径测定结果一致。

2.3.3　Pickering 乳液的稳定性

2.3.3.1　pH 的影响

食品领域中纳米乳液的粒径一般在 20～500 nm 之间，且认为 PDI 小于 0.3 的乳液分布较均一，而 Zeta－电位的绝对值越大则乳液的稳定性越好[19]。pH 对乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响见表 5。

表 5　pH 对 Pickering 乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响

Table 5　Effect of pH on particle size, PDI and Zeta－potential of Pickering emulsion

样品	pH	平均粒径/nm	PDI	Zeta－电位/mV
SPI－PEs	3	1 403.00±373.90^{b}	0.79±0.23^{a}	13.53±0.51^{a}
	4	1 568.67±260.02^{b}	0.62±0.36^{a}	−6.09±0.07^{c}
	5	3 304.67±365.27^{a}	0.90±0.17^{a}	−3.57±0.31^{b}
	6	436.60±1.56^{c}	0.31±0.01^{b}	−25.47±0.21^{d}
	7	394.27±2.80^{c}	0.24±0.01^{b}	−29.53±1.18^{f}
	8	350.90±3.68^{c}	0.28±0.00^{b}	−29.13±0.76^{ef}
	9	345.60±5.19^{c}	0.28±0.01^{b}	−28.27±1.10^{ef}
	10	314.80±2.86^{c}	0.26±0.01^{b}	−27.83±0.65^{e}
	11	307.53±3.33^{c}	0.16±0.01^{b}	−29.20±0.53^{ef}
SPI＋DX－PEs	3～11	N/A	N/A	N/A

续表 5

样品	pH	平均粒径/nm	PDI	Zeta－电位/mV
SDC－PEs	3	237.50±4.33^{e}	0.13±0.03^{b}	8.49±0.17^{a}
	4	270.50±0.40^{a}	0.19±0.04^{a}	0.85±0.47^{b}
	5	263.80±4.07^{b}	0.15±0.02^{ab}	−1.67±0.23^{c}
	6	241.90±1.14^{de}	0.13±0.02^{b}	−5.90±0.14^{d}
	7	244.60±0.98^{cd}	0.15±0.02^{ab}	−16.53±0.15^{e}
	8	241.57±1.78^{de}	0.14±0.00^{b}	−17.33±0.21^{f}
	9	242.50±0.95^{de}	0.10±0.01^{b}	−17.60±0.01^{fg}
	10	244.17±3.31^{cd}	0.14±0.03^{b}	−18.07±0.38^{g}
	11	247.00±1.47^{c}	0.15±0.03^{ab}	−19.37±0.47^{h}

注：N/A 表示无法测定；同列不同字母表示组内具有显著差异（$p<0.05$）。下同

Note: N/A indicates that the relevant index cannot be measured. Different letters in the same column indicate significant difference within groups ($p<0.05$). The same below

由表 5 可知，pH 为 3、4 和 5 时，SPI－PEs 的平均粒径显著大于 pH 为 6～11 时的，同时 PDI 也大于 0.5，这可能是由于 pH 在 SPI 的等电点（pH 4.5）[20] 附近，SPI 聚集成大颗粒，造成粒径较大。随着 pH 的增大，SPI－PEs 的 Zeta－电位绝对值总体上呈先降后升的趋势。SPI＋DX－PEs 在 pH 3～11 时呈固态凝胶状，无法测定其平均粒径、PDI 和 Zeta－电位。SDC－PEs 粒径均小于相同 pH 下 SPI－PEs 的，这归因于 DX 接枝在 SPI 分子上，使得界面层更加致密，抑制了 SPI 的聚集[21]。同样的，得益于 SDC 优良的稳定性，在 pH 3～11 时，SDC－PEs 的 PDI 均小于 0.2。上述结果说明，SDC－PEs 具有良好的 pH 稳定性。

2.3.3.2 离子强度的影响

离子强度对 Pickering 乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响见表 6。

表 6 离子强度对 Pickering 乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响

Table 6 Effect of ionic strength on particle size, PDI and Zeta－potential of Pickering emulsion

样品	NaCl/(mmol/L)	平均粒径/nm	PDI	Zeta－电位/mV
SPI－PEs	0	393.20±3.36^{d}	0.25±0.01^{b}	−28.37±0.60^{c}
	50	402.87±1.45^{c}	0.29±0.02^{a}	−27.97±0.97^{bc}
	100	412.17±2.30^{b}	0.27±0.02^{ab}	−27.40±0.70^{abc}
	200	412.60±7.95^{b}	0.30±0.02^{a}	−26.20±0.85^{a}
	300	425.13±2.45^{a}	0.29±0.02^{a}	−26.67±0.51^{ab}
SPI＋DX－PEs	0～300	N/A	N/A	N/A
SDC－PEs	0	233.23±0.25^{a}	0.15±0.02^{a}	−15.70±0.20^{d}
	50	235.33±2.57^{a}	0.15±0.02^{a}	−16.13±0.21^{d}
	100	235.90±3.91^{a}	0.16±0.03^{a}	−14.27±0.15^{c}
	200	236.80±1.15^{a}	0.14±0.02^{a}	−11.80±0.30^{b}
	300	235.20±2.41^{a}	0.14±0.03^{a}	−11.00±0.26^{a}

由表 6 可知，随着盐离子浓度的增大，SPI－PEs 的平均粒径增大，而 SDC－PEs 的平均粒径则没有显著变化，展现出良好的抗盐离子性。随着盐离子浓度的增大，SDC－PEs 的 PDI 变化不显著，与 SPI－PEs 相比，SDC－PEs 的 PDI 更小，乳液分布更均一。SPI－PEs 和 SDC－PEs 的 Zeta－电位的绝对值均随着盐离子浓度的增加总体缓慢减小，这可能是由于乳液微粒带负电荷，盐离子浓度的增加使静电屏蔽作用增强，把更多反离子（Na^{+}）压入滑动面，导致纳米微粒的带电量变小，Zeta－电位绝对值变小[22]。综上，SDC－PEs 对盐离子表现出良好的抗性。

2.3.3.3 温度的影响

温度对 Pickering 乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响见表 7。

表 7 温度对 Pickering 乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响

Table 7 Effect of temperature on particle size, PDI and Zeta－potential of Pickering emulsion

样品	温度/℃	平均粒径/nm	PDI	Zeta－电位/mV
SPI－PEs	0	394.27±2.80^{d}	0.24±0.01^{b}	−29.47±0.31^{b}
	4	387.30±3.75^{d}	0.26±0.01^{ab}	−28.97±0.06^{b}
	60	439.47±0.45^{c}	0.25±0.01^{b}	−29.27±1.59^{b}
	75	487.57±3.48^{b}	0.25±0.02^{b}	−29.17±0.90^{b}
	90	500.23±12.60^{a}	0.28±0.01^{a}	−27.00±0.79^{a}
SPI＋DX－PEs	0～90	N/A	N/A	N/A
SDC－PEs	0	234.47±3.31^{d}	0.16±0.01^{b}	−16.53±0.15^{b}
	4	235.90±2.14^{d}	0.16±0.05^{b}	−15.70±0.20^{a}
	60	270.60±1.82^{c}	0.18±0.00^{b}	−16.43±0.15^{b}
	75	296.77±2.87^{b}	0.21±0.03^{ab}	−17.00±0.10^{c}
	90	336.43±5.62^{a}	0.25±0.02^{a}	−19.03±0.21^{d}

由表 7 可知，在 60、75、90 ℃处理 30 min 后，SPI－PEs 和 SDC－PEs 的平均粒径与 0 ℃和 4 ℃相比均显著升高。随着温度的升高，SPI－PEs 和 SDC－PEs 的平均粒径和 PDI 呈升高趋势，但 SDC－PEs 的平均粒径及 PDI 均小于 SPI－PEs 的。热处理使蛋白质变性展开从而相互作用，发生蛋白质聚集，粒径增大[23]，另外，高温加热时，液滴中的油相膨胀，蛋白质分子重排，这可能会破坏界面层，液滴聚集[24]，从而使得较高温度热处理时 SPI－PEs 和 SDC－PEs 的粒径和 PDI 均增大。但由于 SDC－PEs 的初始粒径及 PDI 较小，热处理后平均粒径及 PDI 仍然相对较低。因此，温度对 SDC－PEs 具有一定的影响，但其在高温处理后仍能保持较低的平均粒径和 PDI，说明其具有一定的温度稳定性。

2.3.3.4 储存时间的影响

储存时间对 Pickering 乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响见表 8。

表 8　储存时间对 Pickering 乳液粒径、PDI 和 Zeta－电位的影响

Table 8　Effect of storage time on particle size, PDI and Zeta－potential of Pickering emulsion

样品	时间/d	平均粒径/nm	PDI	Zeta－电位/mV
SPI－PEs	0	254.53 ±3.62^{e}	0.19 ±0.01^{c}	－31.53 ±0.40^{b}
	1	350.07 ±3.76^{d}	0.26 ±0.02^{b}	－29.53 ±1.18^{a}
	3	691.13 ±25.76^{c}	0.27 ±0.03^{b}	－32.30 ±0.30^{b}
	5	787.43 ±7.81^{b}	0.46 ±0.02^{a}	－29.53 ±1.18^{a}
	7	865.30 ±11.77^{a}	0.41 ±0.06^{a}	－31.30 ±0.92^{b}
SPI＋DX－PEs	0	477.70 ±11.03^{b}	0.33 ±0.04^{ab}	－30.77 ±1.78^{a}
	1	498.73 ±15.69^{b}	0.39 ±0.03^{a}	－30.73 ±0.96^{a}
	3	1 183.33 ±32.13^{a}	0.33 ±0.05^{ab}	－30.80 ±0.61^{a}
	5	1 161.33 ±4.93^{a}	0.33 ±0.04^{ab}	－30.73 ±0.50^{a}
	7	1 242.00 ±146.26^{a}	0.28 ±0.05^{b}	－30.70 ±0.85^{a}
SDC－PEs	0	211.60 ±1.10^{d}	0.19 ±0.01^{a}	－15.77 ±0.15^{a}
	1	216.73 ±2.12^{c}	0.19 ±0.01^{a}	－15.67 ±0.42^{a}
	3	218.63 ±0.40^{c}	0.20 ±0.01^{a}	－15.53 ±0.35^{a}
	5	226.97 ±2.14^{b}	0.19 ±0.01^{a}	－15.70 ±0.10^{a}
	7	230.70 ±1.35^{a}	0.21 ±0.00^{a}	－15.73 ±0.40^{a}

由表 8 可知，随着储存时间的延长，3 种乳液的平均粒径总体均呈增长趋势，但 SPI－PEs 和 SPI＋DX－PEs 的增长幅度较大，而 SDC－PEs 的增长幅度较小。储存 7 d 时，SDC－PEs 的平均粒径仅为 230.70 nm，而 SPI－PEs 和 SPI＋DX－PEs 的则分别为 856.30 nm 和 1 242.00 nm。Li 等[25]研究发现，乳化液滴通过布朗运动从而引起乳液聚集而使粒径增大，而较小的液滴则因具有较高的布朗运动能而抵抗聚集。因此，SDC－PEs 因较小的平均粒径而在储存过程中最稳定。

由表 8 可知，新鲜制备的 SPI－PEs 和 SDC－PEs 的 PDI 均小于 0.20，说明乳液初始时分布均匀。随着储存时间的延长，SDC－PEs 的 PDI 无显著变化且小于另外两种乳液的。SPI－PEs 的 PDI 随着储存时间的延长呈先上升后下降的趋势，可能是乳液中小液滴随着储存时间延长不断聚集形成大液滴，而这一过程是逐渐形成的，所以粒径分布变得不均一，PDI 增大。SPI＋DX－PEs 的 PDI 随储存时间的延长呈先增大后减小的趋势，结合粒径分析，储存 1～3 d，乳液的粒径骤升，而后趋于稳定，说明该乳液中液滴的聚集速度较快且在一定大小后趋于稳定，所以粒径增加阶段由于大小液滴共存，PDI 增大，而粒径稳定阶段，多数小液滴聚集形成大液滴，大液滴相对稳定，因此粒径分布逐渐趋于稳定，则 PDI 减小。综上，SDC－PEs 在对抗液滴聚集上效果显著。

由表 8 可知，随储存时间的延长，SPI＋DX－PEs 和 SDC－PEs 的 Zeta－电位无显著变化，而 SPI－PEs 的 Zeta－电位出现了一定的波动，但是总体上是稳定的。Geng 等[26]认为，在整个储存过程中 Zeta－电位保持不变是乳液稳定的重要因素。

综上，SDC－PEs 具有良好的储存稳定性。另外，实验发现，在整个储存过程中，3 种乳液从外观上均未发现显著变化，但是通过前面的结果分析，其微观上已经发生显著变化。

3　结　论

本研究成功开发了基于葡聚糖接枝糖基化大豆分离蛋白稳定的 Pickering 乳液（SDC－PEs）。通过系统优化，确定了制备高稳定性 SDC－PEs 的最佳工艺参数为均质压力 140 MPa、均质次数 6 次、SDC 添加量 2.13%、油相体积分数 10%。在最佳条件下制备的乳液具有较小的粒径和较低的 PDI。性质测定结果表明，SDC－PEs 展现出良好的 pH 稳定性、温度稳定性、抗离子强度能力以及长期储存稳定性。这些特性表明 SDC－PEs 能够有效包封油相并稳定存在于水相环境中。本研究证实 SDC－PEs 是一种环境友好且高效的乳液体系，为脂溶性生物活性成分在水基食品体系中的包埋与递送提供了可靠的技术方案，其在开发新型功能性乳液类食品方面展现出显著的应用潜力。

参考文献：

[1] PEI Y, ZHANG Z, DUAN Z, et al. Preparation and characterization of high－methoxyl pectin/glycerides emulsion for pH－responsive, targeting, and sustained release of fat－soluble substances[J/OL]. Int J Biol Macromol, 2024, 282: 136675[2024－12－28]. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136675.

[2] HAO Y, LI S, GUO X, et al. Preparation of shellac nanoparticles－chitosan complexes stabilized Pickering emulsion gels and its application in β－carotene delivery[J/OL]. Int J Biol Macromol, 2024, 281: 136583[2024－12－28]. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136583.

[3] DING M, ZHANG T, ZHANG H, et al. Gelatin molecular structures affect behaviors of fish oil－loaded traditional and Pickering emulsions[J/OL]. Food Chem, 2020, 309: 125642[2024－12－28]. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125642.

[4] PENG Q, HUANG Z, LIANG G, et al. Preparation of protein－stabilized *Litsea cubeba* essential oil nano－emulsion by ultrasonication: Bioactivity, stability, *in vitro* digestion, and safety evaluation[J/OL]. Ultrason Sonochem, 2024, 107: 106892[2024－12－28]. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106892.

[5] LAN T, WANG X, DONG Y, et al. Fabrication of soy protein nanoparticles based on metal－phenolic networks for

stabilization of nano – emulsions delivery system[J/OL]. Food Chem, 2024, 448: 139164[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139164.

[6] THRANE M, PAULSEN P V, ORCUTT M W, et al. Sustainable protein sources[M]. San Diego, CA, USA: Academic Press, 2017:23 – 45.

[7] ZHANG Q, YUE W, ZHAO D, et al. Preparation and characterization of soybean protein isolate – dextran conjugate – based nanogels[J/OL]. Food Chem, 2022, 384: 132556[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132556.

[8] PANG B, LIU H, ZHANG K. Recent progress on Pickering emulsions stabilized by polysaccharides – based micro/nanoparticles[J/OL]. Adv Colloid Interface Sci, 2021, 296: 102522[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102522.

[9] XU Y T, TANG C H, LIU T X, et al. Ovalbumin as an outstanding Pickering nanostabilizer for high internal phase emulsions[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(33): 8795 – 8804.

[10] DE CARVALHO – GUIMARÃES F B, CORREA K L, DE SOUZA T P, et al. A review of Pickering emulsions: Perspectives and applications[J/OL]. Pharmaceuticals, 2022, 15(11): 1413[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.3390/ph15111413.

[11] TING Y, JIANG Y, HO C T, et al. Common delivery systems for enhancing *in vivo* bioavailability and biological efficacy of nutraceuticals[J]. J Funct Foods, 2014, 7: 112 – 128.

[12] WANG C, WANG X, LIU C, et al. Application of LF – NMR to the characterization of camellia oil – loaded Pickering emulsion fabricated by soy protein isolate[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2021, 112: 106329[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106329.

[13] WANG S, YANG J, SHAO G, et al. Soy protein isolated – soy hull polysaccharides stabilized O/W emulsion: Effect of polysaccharides concentration on the storage stability and interfacial rheological properties[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2020, 101: 105490[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105490.

[14] YI J, LAM T I, YOKOYAMA W, et al. *Beta* – carotene encapsulated in food protein nanoparticles reduces peroxyl radical oxidation in Caco – 2 cells[J]. Food Hydrocolloid, 2015, 43: 31 – 40.

[15] CHEN Y, ZHANG R, XIE B, et al. Lotus seedpod proanthocyanidin – whey protein complexes: Impact on physical and chemical stability of β – carotene – nanoemulsions[J/OL]. Food Res Int, 2020, 127: 108738[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108738.

[16] SCHROËN K, SHEN X, HASYYATI F I, et al. From theoretical aspects to practical food Pickering emulsions: Formation, stabilization, and complexities linked to the use of colloidal food particles[J/OL]. Adv Colloid Interface Sci, 2024, 334: 103321[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103321.

[17] LI L, WU X, GAO T, et al. Fabrication of nanoemulsion stabilized by high – pressure modified soy protein isolate – genistein for the encapsulation of lutein[J/OL]. J Food Eng, 2023, 358: 111686[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111686.

[18] BI C H, QIE A X, LIU Y, et al. Chickpea protein stabilized Pickering emulsions: As a novel mayonnaise substitute[J/OL]. J Food Eng, 2024, 382: 112180[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2024.112180.

[19] SALEM M A, EZZAT S M. Nanoemulsions in food industry[M]//MILANI M J. Some new aspects of colloidal systems in foods. London: IntechOpen, 2019.

[20] 刘永创, 杨晓泉, 郭健, 等. 等电点附近大豆分离蛋白乳化稳定性的研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(5): 84 – 89.

[21] GUO Y, LIN K, WANG Y, et al. Investigation on the interfacial and emulsion stabilized behavior of dextran/ferritin/resveratrol composite nanoparticles[J/OL]. Int J Biol Macromol, 2024, 283: 137533[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137533.

[22] TU Y, ZHANG X, WANG L. Effect of salt treatment on the stabilization of Pickering emulsions prepared with rice bran protein[J/OL]. Food Res Int, 2023, 166: 112537[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112537.

[23] ÇAKIR – FULLER E. Enhanced heat stability of high protein emulsion systems provided by microparticulated whey proteins[J]. Food Hydrocolloid, 2015, 47: 41 – 50.

[24] YANG T, LI X T, TANG C H. Novel edible Pickering high – internal – phase – emulsion gels efficiently stabilized by unique polysaccharide – protein hybrid nanoparticles from Okara[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2020, 98: 105285[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105285.

[25] LI B, SHI X, YANG S, et al. Impact of storage temperature on physical stability and protein – lipid co – oxidation in whey protein functional emulsions[J/OL]. Food Biosci, 2024, 62: 105433[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105433.

[26] GENG Q, HU T, CHEN J, et al. Emulsion stability enhancement against storage and environment stresses using complex plant protein and betanin[J/OL]. Food Biosci, 2024, 59: 104075[2024 – 12 – 28]. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104075.