

# 核桃蛋白/肉苁蓉多糖稳定白藜芦醇Pickering乳液的制备及其稳定性

刘战霞<sup>1,2</sup>, 李斌斌<sup>1,2</sup>, 赵月<sup>3</sup>, 魏长庆<sup>3</sup>, 付旖旎<sup>3</sup>, 王霆<sup>1,2</sup>, 吴洪斌<sup>1,2,\*</sup>, 付熙哲<sup>3,\*</sup>

(1.新疆农垦科学院农产品加工研究所, 新疆 石河子 832000; 2.新疆特色果蔬加工兵团重点实验室, 新疆 铁门关 841007; 3.农业农村部特色农产品加工与质量安全控制重点实验室(部省共建), 石河子大学食品学院, 新疆 石河子 832000)

**摘要:** 构建核桃蛋白/肉苁蓉多糖(walnut protein/*Cistanche deserticola* polysaccharide, WP/CDPS)复合纳米颗粒, 以粒径、多分散性指数、Zeta电位为指标, 对纳米颗粒和Pickering乳液进行研究。探究WP/CDPS质量比对Pickering乳液的界面张力、贮藏稳定性、热稳定性、包埋率、微观结构以及氧化稳定性的影响。结果表明: 随着CDPS比例的增加, WP/CDPS复合纳米颗粒的Zeta电位逐渐从-22 mV降低到-37 mV, 其中WP与CDPS质量比为1:1时的Pickering乳液(C1W1R)粒径最小(5.927  $\mu\text{m}$ ), 界面张力最低(11.88 mN/m), 且具有良好的贮藏稳定性和热稳定性, 经过480 h贮藏后, 乳化层比例为95.6%, 在不同温度下的热处理过程中, C1W1R的Pickering乳液粒径随温度的变化最小。共聚焦激光扫描显微镜检测结果显示, WP/CDPS可有效包埋白藜芦醇(resveratrol, RT)。WP/CDPS复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液对RT的包埋率超过85%, 均高于核桃蛋白乳液, 贮藏35 d后的RT包埋率仍达到92.9%。由WP/CDPS稳定的Pickering乳液为功能性食品等相关行业中RT的稳态输送提供了一种很有应用前景的替代品。

**关键词:** 核桃蛋白; 肉苁蓉多糖; 白藜芦醇; Pickering乳液; 稳定性

## Preparation and Stability of Resveratrol-Loaded Pickering Emulsion Stabilized by Walnut Protein/*Cistanche deserticola* Polysaccharide Composite Nanoparticles

LIU Zhanxia<sup>1,2</sup>, LI Binbin<sup>1,2</sup>, ZHAO Yue<sup>3</sup>, WEI Changqing<sup>3</sup>, FU Yini<sup>3</sup>, WANG Ting<sup>1,2</sup>, WU Hongbin<sup>1,2,\*</sup>, FU Xizhe<sup>3,\*</sup>

(1. Institute of Agricultural Products Processing, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Sciences, Shihezi 832000, China; 2. Key Laboratory of Xinjiang Characteristic Fruit and Vegetable Processing Corps, Tiemenguan 841007, China; 3. Key Laboratory of Processing and Quality Safety Control of Characteristic Agricultural Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs (Jointly Built by Ministry and Province), School of Food Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

**Abstract:** In this study, walnut protein/*Cistanche deserticola* polysaccharide (WP/CDPS) composite nanoparticles were constructed and employed as a stabilizer to prepare a Pickering emulsion. The nanoparticles and the Pickering emulsion were evaluated in terms of particle size, polydispersity index and zeta potential. The effect of WP/CDPS mass ratio on the interfacial tension, storage stability, thermal stability, encapsulation efficiency, microstructure and oxidation stability of the Pickering emulsion was investigated. The results showed that with the increase in the proportion of CDPS, the zeta potential of the WP/CDPS nanoparticles gradually decreased from -22 to -37 mV. The Pickering emulsion (C1W1R) with a mass ratio of WP to CDPS of 1:1 had the smallest average particle size (5.927  $\mu\text{m}$ ), the lowest interfacial tension (11.88 mN/m),

收稿日期: 2024-03-19

基金项目: 新疆生产建设兵团农业科技创新工程专项(NCG202301); 新疆生产建设兵团指导性科技计划项目(2023ZD086); 新疆植物药资源利用教育部重点实验室开放课题(XPRU202205); 新疆自治区“天池英才”青年博士项目(CZ002310); 石河子大学校级科技计划项目(JCYJ202309); 新疆农垦科学院院级科研项目(2024YJQN10)

第一作者简介: 刘战霞(1992—)(ORCID: 0000-0003-4525-6686), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为农产品加工及副产物综合利用。E-mail: 806796383@qq.com

\*通信作者简介: 吴洪斌(1980—)(ORCID: 0009-0008-4849-2194), 男, 研究员, 硕士, 研究方向为果蔬/油料精深加工及副产物综合利用。E-mail: wuhongbin1980@126.com

付熙哲(1993—)(ORCID: 0000-0003-1804-7707), 男, 副教授, 博士, 研究方向为农产品加工。  
E-mail: xizhefu@zju.edu.cn

good storage stability and thermal stability. After 480 h of storage, the proportion of the emulsified layer was 95.6%. The particle size of C1W1R had the smallest change with temperature. The results of confocal laser scanning microscopy (CLSM) showed that the WP/CDPS-stabilized emulsion could effectively encapsulate resveratrol (RT) with an encapsulation efficiency of more than 85%, which was higher than that of WP-stabilized emulsion, and the encapsulation efficiency reached 92.9% after 35 days of storage. Pickering emulsions stabilized by WP/CDPS offer a promising alternative carrier for steady-state delivery of resveratrol in the functional food industry and other related industries.

**Keywords:** walnut protein; *Cistanche deserticola* polysaccharide; resveratrol; Pickering emulsion; stability

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240319-138

中图分类号: TS201.7

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 23-0028-07

引文格式:

刘战霞, 李斌斌, 赵月, 等. 核桃蛋白/肉苁蓉多糖稳定白藜芦醇Pickering乳液的制备及其稳定性[J]. 食品科学, 2024, 45(23): 28-34. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240319-138. <http://www.spkx.net.cn>

LIU Zhanxia, LI Binbin, ZHAO Yue, et al. Preparation and stability of resveratrol-loaded Pickering emulsion stabilized by walnut protein/*Cistanche deserticola* polysaccharide composite nanoparticles[J]. Food Science, 2024, 45(23): 28-34. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240319-138. <http://www.spkx.net.cn>

白藜芦醇(resveratrol, RT)是从植物中提取的非黄酮类的天然多酚有机化合物,因具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、神经保护、改善缺血损伤等多种药理活性而受到广泛关注<sup>[1-2]</sup>。近年来,RT被广泛应用于食品、制药、化妆品等行业。在各种功能因子中,RT的反式异构体结构中存在芳香环、酚羟基和双键等功能团,具有更高的生物活性<sup>[3-4]</sup>。然而,据报道RT的异构化现象和较差的水溶性限制了其在食品加工、药物制备和活性膜制备过程中开发与利用。通过纳米颗粒、乳液等运载体系包埋可以显著改善其稳定性及水溶性,可有效控制RT在胃肠道特定环境下缓慢且持续释放,从而提高RT的生物利用度<sup>[5-6]</sup>。

植物蛋白具有良好的生物相容性和表面活性,被应用于食品领域<sup>[7]</sup>,目前越来越多研究发现水不溶性蛋白纳米颗粒是制备Pickering乳液的优良载体材料<sup>[8]</sup>。核桃蛋白(walnut protein, WP)可通过自组装制成核桃蛋白纳米颗粒(walnut protein nanoparticles, WPN),WPN具有良好的生物相容性和生物黏附性,是一种理想的载体材料<sup>[9]</sup>。然而,由于WPN的水溶性较差,WPN稳定的Pickering乳液往往不稳定,通过蛋白质-多糖结合制备复合纳米颗粒来调节WPN的水溶性,如甜菊糖、纳米纤维素、壳聚糖等与蛋白质偶联已被证明是改善Pickering乳液界面性能的有效方法<sup>[10-12]</sup>。鉴于以植物蛋白制备的食品级固体颗粒稳定的Pickering乳液具有的高稳定性、高安全性的特点,可以用来保护和递送RT,拓宽RT在食品领域的应用范围。

肉苁蓉多糖(*Cistanche deserticola* polysaccharide, CDPS),是肉苁蓉中最主要的成分,是由葡萄糖、半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖、果糖等单糖组成的一种酸性杂多糖、具有保护神经、改善肠道菌群、调节免疫、改善记忆等功效,可作为保健品或药物的原料<sup>[13]</sup>。

CDPS与蛋白多糖的复合,使其具有一定的乳化稳定性,代替部分乳化剂应用于食品加工中。因此,利用CDPS的强负电荷、增强的亲水性和更好的分散性,可以尝试与正电荷WP复合制备复合颗粒以稳定Pickering乳液。然而,鲜有研究尝试用不同的WP和CDPS质量比制备WP/CDPS复合纳米颗粒来稳定Pickering乳液。

基于此,本研究通过改变WP和CDPS的质量比制备WP/CDPS复合纳米颗粒,并用其稳定RT。研究不同WP/CDPS复合纳米颗粒的物理性能,研究不同WP/CDPS复合纳米颗粒对Pickering乳液性能的影响,以期为提高WP/CDPS颗粒的乳化性能及乳化稳定性提供理论依据,为利用WP/CDPS作为核材用于保护和递送RT提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

WP粉(纯度90%) 肽爱生物科技(西安)有限公司; NaOH、HCl、无水乙醇、RT(纯度99%)、氯化钠(分析纯) 新疆宏道仪器有限公司; RT标准品(HPLC $\geq$ 98%, 分子质量228.24 Da) 成都德斯特生物技术有限公司; CDPS(80~120目筛后的粉末,纯度98%, 主要成分: 苯乙基苷类、松果菊苷、毛蕊花糖苷、洋丁香酚苷、肉苁蓉苷A等, 分子质量488.44 Da) 上海源叶生物科技有限公司; 尼罗红染料 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司; 异硫氰酸荧光素酯(fluorescein isothiocyanate ester, FITC) 北京索莱宝科技有限公司; 非酯化脂肪酸试剂盒 苏州科铭生物技术有限公司; 甲醇、正己烷、二氯甲烷(色谱纯) 国药集团化学试剂有限公司。

## 1.2 仪器与设备

CIENTZ-30ND冷冻干燥机、JY92-II Ne超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司；DF-101S磁力搅拌器 上海力辰邦西仪器科技有限公司；PHS-3C e酸度计 上海仪电科学仪器有限公司；Winner2005e激光粒度分析仪 济南微纳颗粒仪器股份有限公司；JS94H型Zeta电位仪 上海中晨数字技术设备有限公司；AXRP激光共聚焦显微镜（confocal laser scanning microscopy, CLSM）日本Nikon公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 WPN的制备

采用反溶剂沉淀法制备WPN<sup>[14]</sup>。将2 g WP溶解在100 mL 0.5 mol/L NaCl溶液中，75 °C、300 r/min搅拌12~24 h，直到完全溶解。再以3 000 r/min的速度离心10 min，去除大颗粒和其他不溶性物质。最后，将得到的上清液用0.1 mol/L HCl或NaOH溶液将pH值调整为12.0，将分散体在-80 °C的冰箱中预冷冻12 h，然后在-50 °C真空冷冻干燥72 h，得到WPN。

### 1.3.2 WP/CDPS复合纳米颗粒的制备

分别将1.0 g CDPS、WP分别分散到100 mL蒸馏水中，制备质量分数1%的CDPS悬浮液和WP悬浮液。然后将WP悬浮液按CDPS与WP不同质量比（4:1、3:2、1:1、2:3和1:4）加入到CDPS悬浮液中，在搅拌下得到WP和CDPS混合物。过量的水在40 °C的真空（-0.1 MPa）条件下通过旋转蒸发。将纳米颗粒分散体在-80 °C的冰箱中预冷冻12 h，然后在-50 °C真空冷冻干燥72 h，得到WP/CDPS复合纳米颗粒。将CDPS与WP质量比为4:1、3:2、1:1、2:3和1:4的WP/CDPS复合纳米颗粒分别命名为C4W1、C3W2、C1W1、C2W3和C1W4。

### 1.3.3 粒径、多分散性指数（particle size, PDI）和Zeta电位测定

根据文献[15]稍作修改，使用激光粒度分析仪湿法测量WPN和WP/CDPS复合纳米颗粒的粒径。利用动态光散射仪测定PDI。使用Zeta电位分析仪测量Pickering乳液的Zeta电位。在分析之前，将样品用超纯水稀释100倍，以避免多重散射效应。

### 1.3.4 Pickering乳液的制备

制备WPN和不同的WP/CDPS复合纳米颗粒（质量分数1%）的100 mL悬浮液。将RT（体积分数10%）与每个悬浮液混合。超声细胞破碎250 W混合处理4 min。根据不同WP/CDPS复合纳米颗粒，将Pickering乳液分别命名为C4W1R、C3W2R、C1W1R、C2W3R和C1W4R。采用相同的方法制备WPN稳定的Pickering乳液，命名为WPR。

### 1.3.5 Pickering乳液界面张力测定

根据文献[16]的方法确定了WP/CDPS复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液的界面张力，并进行了一些修改。20 μL Pickering乳液加入注射器中，在25 °C条件下测定动态界面张力。每个样品的界面张力测量3次。

### 1.3.6 RT的包埋率测定

采用梅钰琪等<sup>[17]</sup>的方法，使用紫外分光光度法测定RT的包埋率，稀释后的乳液（体积分数1%）在25 °C以9 000 r/min离心10 min。收集上清液，在306 nm处测定吸光度，使RT充分溶出后适当稀释，RT的含量按其标准曲线（ $y=0.124\ 2x+0.035\ 4$ ， $R^2=0.997\ 7$ ）计算。包埋率采用式（1）计算：

$$\text{包埋率}/\% = \frac{V_0 - V_1}{V_0} \times 100 \quad (1)$$

式中： $V_0$ 为包埋前RT的质量浓度（250 μg/mL）； $V_1$ 为包埋后乳液中RT的质量浓度/（μg/mL）。

### 1.3.7 Pickering乳液贮藏稳定性和热稳定性分析

采用Qin Weili等<sup>[8]</sup>报道的方法进行测定，Pickering乳液的贮藏稳定性通过观察外观的变化和测量其体积百分比确定。制备的Pickering乳液（10 mL）室温保存，记录贮藏过程中乳液层的高度，乳化层比例计算公式如下：

$$\text{乳化层比例}/\% = \frac{\text{乳化层高度}}{\text{总乳化层高度}} \times 100 \quad (2)$$

热稳定性采用Li Qi等<sup>[18]</sup>报道的方法进行测定，并进行一些修改。将Pickering乳液分别在40、60 °C和80 °C条件下水浴60 min，然后冷却至25 °C，随后用激光粒度分析仪测定各乳状液的粒径。

### 1.3.8 Pickering乳液脂质过氧化产物的测定及氧化稳定性分析

Pickering乳液（10 mL）在40 °C的恒温箱中放置30 d，以加速氧化。采用过氧化物值法测定初级脂质氧化产物（氢过氧化物）的生成量。根据文献[19-20]的方法略作修改，将0.3 mL乳液与1.5 mL异辛烷-异丙醇溶液（3:1，V/V）混合，然后以10 000 r/min离心5 min。然后将0.2 mL上清液与2.8 mL甲醇-正丁醇（2:1，V/V）和30 μL硫氰酸盐/亚铁溶液混合。20 min后，用分光光度计在510 nm的波长处测定样品的吸光度，其中氢过氧化物的含量以过氧化值（peroxide value, POV）表示。

### 1.3.9 CLSM观察

乳液样品（1 mL）用尼罗红（体积分数0.5%）和FITC（体积分数0.5%）的混合物（30 μL）染色15 min。RT被尼罗红染色，WPN被FITC染色。采用CLSM进行观察，设置尼罗红的激发波长为488 nm，FITC的激发波长为633 nm，使用仪器软件拍摄图像并进行进一步处理。

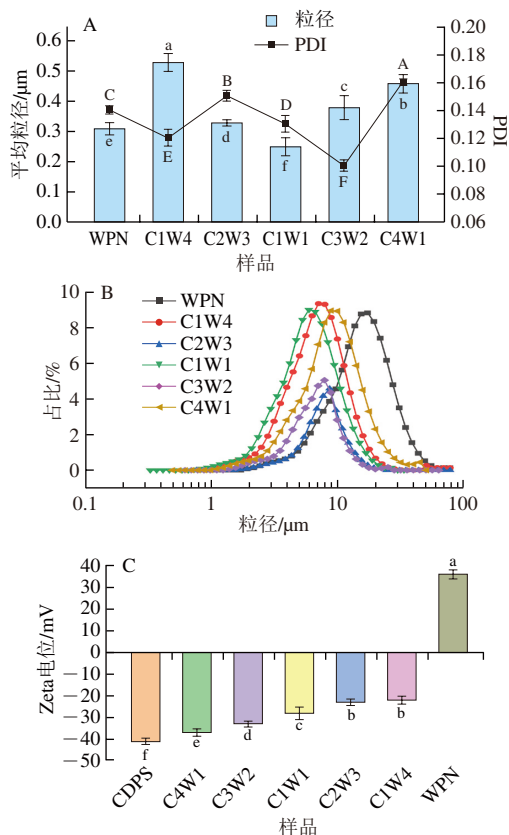


## 1.4 数据统计分析

所有实验至少进行3次,数据采用SPSS 22.0软件进行处理。采用单因素方差分析和Duncan多重范围检验分析实验数据和显著性差异( $P<0.05$ )。使用Origin 2021软件作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 WP/CDPS复合纳米颗粒的表征



相同指标、不同组别字母不同表示差异显著( $P<0.05$ )。

图1 WPN和WP/CDPS复合纳米颗粒的平均粒径、PDI(A),液滴尺寸分布(B)和Zeta电位(C)

Fig. 1 Average particle size, PDI (A), droplet size distribution (B) and zeta potential (C) of WPN and WP/CDPS composite nanoparticles

图1A显示了WPN和所有WP/CDPS复合纳米颗粒的平均粒径。所有纳米颗粒的PDI均低于0.2,说明纳米颗粒分布均匀<sup>[21]</sup>。图1B为WP/CDPS复合纳米颗粒和WPN的液滴尺寸分布,所有纳米颗粒均呈单峰分布。WPN的液滴尺寸约为17.20 μm,WP/CDPS复合纳米颗粒的液滴尺寸明显小于WPN的液滴尺寸,说明CDPS改变了WP的表面和形状,其中C4W1的液滴尺寸最大(8.891 μm),C1W4、C3W2、C2W3尺寸分别为7.063、7.868、8.631 μm。CDPS与WP结合形成的WP/CDPS复合纳米颗粒具有更紧凑的结构,多糖与蛋白进行复合形成杂化颗粒,颗粒能够不

可逆地吸附在油-水表面形成坚固有序的界面结构,多糖与蛋白复合颗粒之间、乳化油滴之间以及乳化油滴和颗粒之间的相互作用能够显著稳定体系<sup>[22]</sup>。当WP含量大于CDPS(C1W4、C2W3)或小于CDPS时(C3W2、C4W1),WP/CDPS的液滴尺寸随WP的减少呈现增大的趋势。而C1W1纳米颗粒液滴尺寸最小,为5.927 μm,明显小于其他WP/CDPS复合纳米颗粒,WP与CDPS颗粒形成最佳的结合覆盖在液滴表面,并在液滴周围形成稳定的结构,可有效防治液滴聚集,进一步增强稳定性。因此,最佳的WP/CDPS复合纳米颗粒质量比为1:1。

不同纳米颗粒分散体的Zeta电位如图1C所示。WPN悬浮液显示正电荷,而CDPS悬浮液显示负电荷。这表明WP和CDPS主要通过静电相互作用形成WP/CDPS核壳复合纳米颗粒。随着CDPS比例的增加,WP/CDPS复合纳米颗粒的Zeta电位逐渐从-22 mV降低到-37 mV。CDPS的低掺入量可以中和WP上的正电荷,减弱粒子的静电斥力。随着CDPS含量的增加,WP/CDPS复合纳米颗粒的Zeta电位降低,可以提供颗粒间足够的静电斥力,防止其聚集。

### 2.2 Pickering乳液的界面张力

界面张力作为表面性能的指标,对乳液的特性起着至关重要的作用<sup>[23]</sup>。图2显示了不同Pickering乳液的界面张力随时间的变化。随着时间的推移,所有Pickering乳液的界面张力都逐渐降低,随后逐渐稳定下来。比较稳定条件下的界面张力,这些Pickering乳液的界面张力随复合纳米颗粒中WP含量的增加呈先降低后增加的趋势。C1W1R的界面张力最低,其表面活性最高,较高的表面活性提高了界面上的吸附效率,导致吸附平衡时的界面张力最低(11.88 mN/m)。综上所述,在适当的WP/CDPS质量比下,可以形成具有低界面张力的WP/CDPS复合纳米颗粒。这一趋势与Qin Weili等<sup>[8]</sup>的玉米醇溶蛋白/羧化纤维素复合纳米颗粒界面张力的研究结果一致,用玉米醇溶蛋白/羧化纤维素纳米晶体复合纳米颗粒稳定的玉米醇溶蛋白或羧化纤维素纳米晶体含量较高的乳状液具有较高的界面张力,表明其纳米颗粒的吸附效率较低。

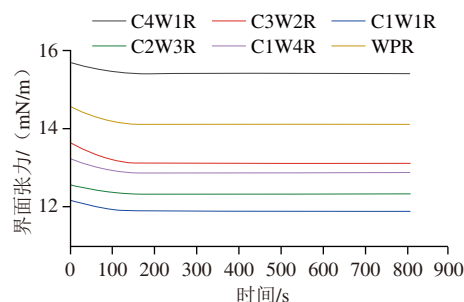


图2 WP/CDPS复合纳米颗粒的稳定的Pickering乳液的界面张力  
Fig. 2 Interfacial tension of Pickering emulsion stabilized by WP/CDPS composite nanoparticles

### 2.3 Pickering乳液的包埋率

如图3所示, WPR中RT贮藏35 d后的包埋率为65.6%, 这表明单一WP作为乳化剂对RT也有一定的保护作用。WP/CDPS复合纳米颗粒的稳定的Pickering乳液在RT上的包埋率均超过85%, 高于WPR。当WP/CDPS比例为4:1和3:2时, RT贮藏35 d后的包埋率为89.2%和88.6%, WP/CDPS比例为1:4和2:3时, 贮藏35 d后包埋率分别为86.2%和87.6%, 而贮藏35 d, 相较于WP/CDPS其他比例, 1:1时的包埋率最高, 为92.9%。Zhang Yali等<sup>[24]</sup>以玉米醇溶蛋白/壳聚糖颗粒稳定的Pickering乳液包埋RT, 实验证明该乳液体系RT的稳定性和缓释性均优于同一研究中纳米乳液包埋的RT。本实验中WP/CDPS添加量为1:1时包埋RT, Pickering乳液具有更好的自由基清除活性、负载能力及稳定性, 可以认为WP/CDPS添加量为1:1时是一种有效的生物活性化合物递送系统。

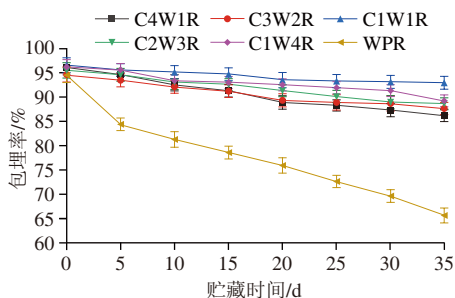


图3 贮藏时间对乳液中RT包埋率的影响

Fig. 3 Effect of storage time on the encapsulation efficiency of RT in the emulsion

### 2.4 Pickering乳液的贮藏稳定性

图4显示了WPR和WP/CDPS复合纳米颗粒稳定Pickering乳液在20 d内的贮藏稳定性的变化。用不同纳米颗粒稳定的新鲜乳剂表现均匀, 呈乳白色。WPR在12 h后出现了少量的水层, 随着贮藏时间的延长而逐渐增加。最终在240 h时达到平衡, 乳化层的比例为63.8%。这主要是由于WP含有大量的非极性氨基酸, 从而导致WP在乳剂中聚集<sup>[25]</sup>。对于WP/CDPS复合纳米颗粒稳定乳剂, C1W1R在480 h时表现出最佳的存储稳定性, 乳化层比例为95.6%。这与Pickering乳液中观察到的界面张力结果一致, 界面张力越低, 复合纳米颗粒表面活性越高, 表面活性的增强在稳定乳液中发挥了关键作用。复合纳米颗粒在油水界面被有效地吸附, 形成了一个保护层, 减少了聚结, 提高了Pickering乳液的稳定性<sup>[26-27]</sup>。当复合纳米颗粒中CDPS含量较高时, 乳化液的稳定性降低。C3W2R在240 h时, 乳化层达到稳定, 为72.5%。C4W1R在300 h时, 乳化层达到稳定, 为75.7%。这主要是由于含有较高CDPS的复合纳米颗粒的高疏水性。乳液中存在较强的静电斥力, 复合纳米颗粒的结构稳定性较差, 导

致乳液的不稳定。随着时间的延长, 复合纳米颗粒在重力作用下发生了絮凝和下沉。C1W4R和C2W3R的贮藏稳定性优于C4W1R和C3W2R, 两者在96 h前均保持均匀稳定状态。它们分别在300 h和252 h时达到稳定状态, 最终乳化层比例均为92.6%左右。因此, 在C1W1R中可以形成更稳定的乳液。Wu Bi等<sup>[28]</sup>通过辛烯基琥珀酸淀粉酸酐改性淀粉制备新型淀粉基Pickering乳液, 用于包封RT, 该体系可以对RT起到很好的缓释作用, 且在4 °C和25 °C条件下可保持稳定60 d, 具有良好的离心和稀释稳定性。

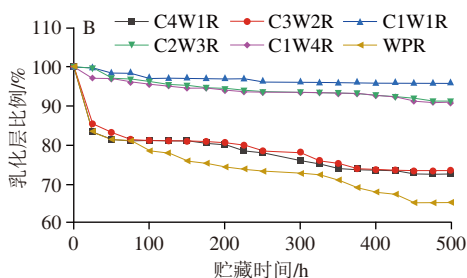
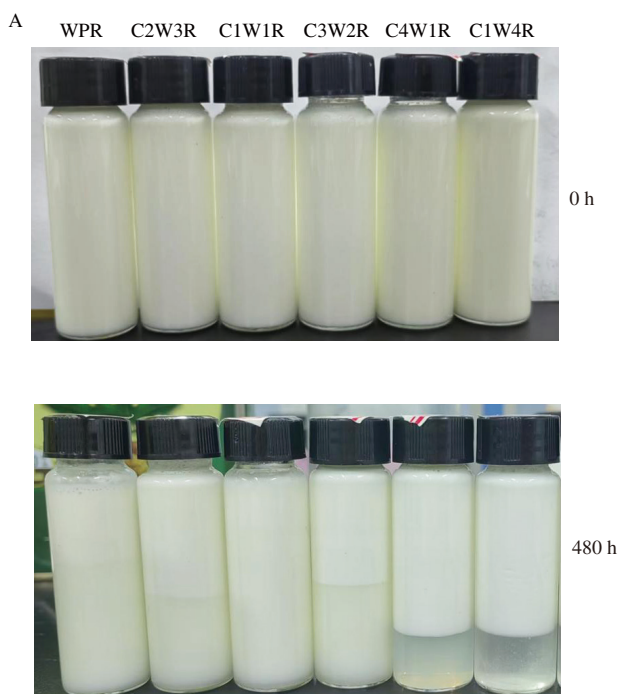


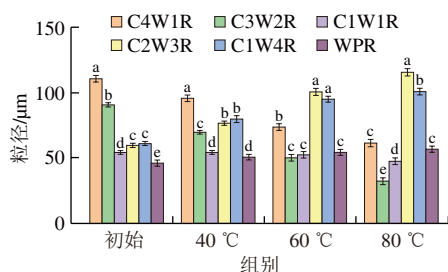
图4 25 °C时WP/CDPS复合纳米颗粒Pickering乳液在不同贮藏时间的外观照片(A)和乳化层比例(B)

Fig. 4 Appearances (A) and proportion of emulsified layer (B) of Pickering emulsion stabilized by WP/CDPS composite nanoparticles at 25 °C

### 2.5 Pickering乳液的热稳定性

WPR和WP/CDPS复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液的热稳定性如图5所示。WPR的初始粒径为45.6 μm。WP/CDPS复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液的初始粒径略有增加。C1W1R的粒径最小(53.8 μm)。当WP或CDPS含量增加时, 乳液的初始粒径均增大, 这可能与

它们相应的复合纳米颗粒有关。在不同温度下的热处理过程中,当WP/CDPS质量比为1:1时,多糖与蛋白进行复合形成杂化颗粒,颗粒够不可逆地吸附在油-水表面形成坚固有序的界面结构,WP/CDPS之间的相互作用形成显著稳定体系,C1W1R的粒径随温度的变化最小,说明其热稳定性最好,表明C1W1R复合颗粒在油滴外形成的包裹结构最强。WP含量越高,C1W4R和C2W3R的粒径也随温度的升高而不断增大,其主要原因可能主要是热处理导致蛋白质变性,暴露疏水基团,促进纳米颗粒之间的聚集,诱导液滴团聚<sup>[29]</sup>。经过热处理后,不同的Pickering乳液表现出不同的絮凝程度,且絮凝程度随加热温度的增加而增大。在不同复合纳米颗粒的稳定乳剂中,C1W1R的表现变化最小,热稳定性最好。与这些结果一致的是,吕思伊等<sup>[30]</sup>利用果胶-核桃蛋白复合物乳液研究了其稳定性,发现贮存14 d后,包封姜黄素的果胶-核桃蛋白复合物乳液粒径( $D_{4,3}$ )略有增加,并未发生相分离,包封姜黄素的核桃清蛋白复合物乳液对NaCl处理(高达300 mmol/L)和热处理(高达90 °C)表现出良好的稳定性,表明该复合物是一种有效的生物活性化合物递送系统,可广泛应用于功能性食品中。



同一条件下小写字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图5 WP/CDPS复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液的粒径

Fig. 5 Particle size change of Pickering emulsion stabilized by WP/CDPS composite nanoparticles

## 2.6 Pickering乳液的脂质氧化稳定性

油脂氧化初级产物是测定乳液的氧化稳定性的指标之一<sup>[31]</sup>。如图6所示,随着贮藏时间的延长,不同比例的WP/CDPS复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液的POV均逐渐增加,这是油脂的自动氧化导致的。随着CDPS比例的增加,乳液POV先明显减少,表明CDPS具有延缓油脂氧化的效果,但随着CDPS比例持续增加,乳液中POV逐渐增加;当WP/CDPS比例为1:1时(C1W1R),乳液中POV的生成量最低。王然<sup>[32]</sup>利用茶多酚-淀粉纳米颗粒稳定Pickering乳液,研究发现茶多酚能显著降低乳液中的POV,有效延缓了油脂氧化,这与本研究结论相符。

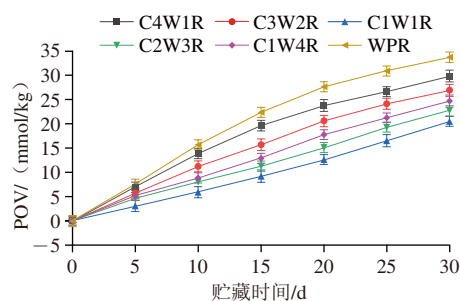
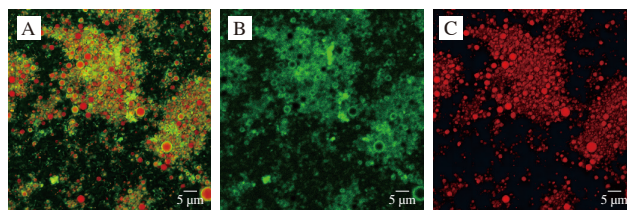


图6 不同WP/CDPS复合纳米颗粒的稳定的Pickering乳液贮藏30 d的POV

Fig. 6 POV of Pickering emulsions stabilized by different WP/CDPS composite nanoparticles as a function of storage time up to 30 days

## 2.7 Pickering乳液的微观结构

利用CLSM观察质量比为1:1的WP/CDPS制备的Pickering乳液,其Pickering乳液的微观结构及RT在乳液体系中的分布情况。图7A为在488 nm和633 nm同时激发下的堆叠状态图像,显示为黄色(绿色和红色的叠加颜色),观察到WP/CDPS在包裹油滴周围的网络结构,这可能是由于WP/CDPS之间的强静电相互作用。图7B显示在488 nm波长激光激发下用FITC蛋白染料染色后的WPN的绿色图像,表明油滴外存在WPN包裹层。图7C显示了在633 nm激光激发下用尼罗红染色后的RT红色图像。在CLSM图像中可以观察到WP/CDPS Pickering乳液油滴的球形呈现分散。重叠的荧光显微图显示,RT(红色部分)被致密的WP/CDPS(绿色部分)包裹,表明质量比为1:1的WP/CDPS能吸附在油水界面上有效稳定Pickering乳液。Yang Tang等<sup>[15]</sup>探究了新型可食用的高内相乳液凝胶由独特的多糖-蛋白混合纳米颗粒有效稳定,在研究中观察到乳液相似的球形分散。



A. 合并图像; B. FITC蛋白染料发射图像; C. 尼罗红发射图像。

图7 C1W1复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液CLSM图

Fig. 7 Confocal micrographs of Pickering emulsion stabilized by C1W1 composite nanoparticles

## 3 结论

采用WP和CDPS构建了WP/CDPS复合纳米颗粒,以其作为稳定剂制备Pickering乳液,并进一步探究其稳定性及RT的包埋率。WP/CDPS复合纳米颗粒的液滴尺寸明显小于WPN的液滴尺寸,CDPS改变了WP的表面和形



状,与WP结合形成了WP/CDPS复合纳米颗粒更紧凑的结构,可有效防治液滴聚集,进一步增强稳定性。其中WP与CDPS质量比为1:1时Pickering乳液的平均粒径最小(5.927  $\mu\text{m}$ ),界面张力最低(11.88 mN/m),且具有良好的贮藏稳定性和热稳定性,经过480 h贮藏后,乳化层化率为95.6%,在不同温度下的热处理过程中,C1W1R的乳液粒径随温度的变化最小。CLSM检测结果显示,WP/CDPS可有效包埋RT。WP/CDPS复合纳米颗粒稳定的Pickering乳液对RT的包埋率超过85%,均高于WPR乳液,贮藏35 d后的RT包埋率高达92.9%。

#### 参考文献:

- [1] TIAN B R, LIU J Y. Resveratrol: a review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(4): 1392-1404. DOI:10.1002/jsfa.10152.
- [2] 田艳杰,石爱民,刘红芝,等.白藜芦醇的生物活性及其运载体系研究进展[J].食品科学,2023,44(1): 371-379. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220308-104.
- [3] XIE Z F, CHEN X. Healthy benefits and edible delivery systems of resveratrol: a review[J]. Food Reviews International, 2023, 39(7): 3879-3905. DOI:10.1080/87559129.2021.2013873.
- [4] KUMAR S, CHANG Y C, LAI K H, et al. Resveratrol, a molecule with anti-inflammatory and anti-cancer activities: natural product to chemical synthesis[J]. Current Medicinal Chemistry, 2021, 28(19): 3773-3786. DOI:10.2174/0929867327999200918100746.
- [5] HUANG X L, LIU Y, ZOU Y, et al. Encapsulation of resveratrol in zein/pectin core-shell nanoparticles: stability, bioaccessibility, and antioxidant capacity after simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 261-269. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.02.039.
- [6] 孟令莉,张晗,侯惠静,等.卵清白蛋白-没食子酸-葡聚糖共聚物对白藜芦醇稳定性和抗氧化性的影响[J].食品科学,2022,43(16): 135-144. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220320-235.
- [7] CHEN F P, LI B S, TANG C H. Nano complexation between curcumin and soy protein isolate: influence on curcumin stability/bioaccessibility and *in vitro* protein digestibility[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3559-3569. DOI:10.1021/acs.jafc.5b00448.
- [8] QIN W L, TANG S T, CHEN C W, et al. Preparation and characterization of cinnamon essential oil Pickering emulsion stabilized by zein/carboxylated cellulose nanocrystals composite nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 147: 109321. DOI:10.1016/j.foodhyd.2023.109321.
- [9] 王鲁明.核桃油体的物理破乳及油体膜的乳化性质研究[D].无锡:江南大学,2023. DOI:10.27169/d.cnki.gwqgu.2023.002027.
- [10] 李青,陶祎晨,万芝力,等.大豆分离蛋白-甜菊糖苷复合稳定剂制备纳米乳液[J].食品科学,2019,40(12): 9-15. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180625-464.
- [11] 牛付阁,韩备竞,寇梦璇,等.纳米纤维素颗粒稳定的Pickering乳液的性能研究[J].中国食品学报,2020,20(6): 166-172. DOI:10.16429/j.1009-7848.2020.06.020.
- [12] WANG R, ZHOU J. Waxy maize starch nanoparticles incorporated tea polyphenols to stabilize Pickering emulsion and inhibit oil oxidation[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 296: 119991. DOI:10.1016/j.carbpol.2022.119991.
- [13] CHENG N, WANG H, HAO H F, et al. Research progress on polysaccharide components of *Cistanche deserticola* as potential pharmaceutical agents[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2023, 245: 114892. DOI:10.1016/j.ejmech.2022.114892.
- [14] 代喝鑫,徐莹,毕爽,等.核桃粕蛋白提取纯化工艺优化及其功能性分析[J].食品工业科技,2023,44(2): 241-252. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2022040141.
- [15] 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]. Food Hydrocolloids, 2020, 98: 105285. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.105285.
- [16] GUO X, WANG X R, WEI Y B, et al. Preparation and properties of films loaded with cellulose nanocrystals stabilized *Thymus vulgaris* essential oil Pickering emulsion based on modified tapioca starch/polyvinyl alcohol[J]. Food Chemistry, 2024, 435: 137597. DOI:10.1016/j.foodchem.2023.137597.
- [17] 梅钰琪,高亚轩,杨韵仪,等.蛋黄蛋白肽纳米颗粒对姜黄素的包埋与递送特性[J].食品科学,2023,44(21): 14-22. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230428-277.
- [18] LI Q, WANG Y X, WU Y H, et al. Flexible cellulose nanofibrils as novel Pickering stabilizers: the emulsifying property and packing behavior[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 88: 180-189. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.09.039.
- [19] 谭莹.含血红素蛋白触发藻油乳液失稳和脂质过氧化的研究[D].杭州:浙江工商大学,2022. DOI:10.27462/d.cnki.ghzhc.2022.000395.
- [20] 王然,钟玉珍,张丽红.茶多酚对淀粉酯纳米颗粒及其稳定的Pickering乳液性质的影响[J].农业工程学报,2022,38(17): 303-310. DOI:10.11975/j.issn.1002-6819.2022.17.033.
- [21] CUI S, MCCLEMENTS D J, SHI J L, et al. Fabrication and characterization of low-fat Pickering emulsion gels stabilized by zein/phytic acid complex nanoparticles[J]. Food Chemistry, 2023, 402: 134179. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.134179.
- [22] 赵钊阳,陈逸玉,徐朔,等.蛋白质-脂质/多糖复合递送系统的形成机制与应用研究进展[J].食品工业科技,2024,45(7): 360-369. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2023060080.
- [23] YANG Y X, NIU F G, CUI S W, et al. Spray-drying microencapsulation of citral with soy protein-soy polysaccharide Maillard reaction products: stability and release characteristics[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 132: 107842. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.107842.
- [24] ZHANG Y L, XU X, WANG Q, et al. Preparation and characterization of colloidal particles synergistic with emulsifier stabilizing Pickering emulsion[J]. Integrated Ferroelectrics, 2017, 180(1): 24-36. DOI:10.1080/10584587.2017.1336420.
- [25] 李方斯.大米蛋白与核桃蛋白异源共架体的构建及其在高内相乳液制备中的应用[D].无锡:江南大学,2021. DOI:10.27169/d.cnki.gwqgu.2021.001006.
- [26] ZHANG N, HAN J, CHEN F L, et al. Chitosan/gum arabic complexes to stabilize Pickering emulsions: relationship between the preparation, structure and oil-water interfacial activity[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 129: 107532. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.107532.
- [27] FAN S M, YANG Q F, WANG D B, et al. Zein and tannic acid hybrid particles improving physical stability, controlled release properties, and antimicrobial activity of cinnamon essential oil loaded Pickering emulsions[J]. Food Chemistry, 2024, 446: 138512. DOI:10.1016/j.foodchem.2024.138512.
- [28] WU B, GU L Y, WANG W J, et al. Skin targeting of resveratrol-loaded starch-based Pickering emulsions: preparation, characterization, and evaluation[J]. Colloid and Polymer Science, 2021, 299(8): 1383-1395. DOI:10.1007/s00396-021-04856-z.
- [29] WU D, GENG Y, ZHANG Y Q, et al. Features and drivers of China's urban-rural household electricity consumption: evidence from residential survey[J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 365: 132837. DOI:10.1016/j.jclepro.2022.132837.
- [30] 吕思伊,卢琪,潘思铁.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. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200406-069.
- [31] 马防新,齐文慧,淑英,等. $\beta$ -胡萝卜素对Pickering乳液中脂质氧化的抑制作用研究[J].食品工业科技,2024,45(17): 131-138. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2023110246.
- [32] 王然.茶多酚-淀粉纳米颗粒稳定Pickering乳液的特性[J].食品科学,2023,44(24): 81-87. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230412-113.