

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.12.038

SPI 凝胶颗粒制备及其 Pickering 高内相乳液特性研究

江连洲 温家煜 王禹涵 罗小雪 姜思岐 隋晓楠
(东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 制备了大豆分离蛋白(Soy protein isolate, SPI)凝胶颗粒,并使用该颗粒制备了稳定的 Pickering 高内相乳液。通过粒径和 ζ -电位测定、冷冻扫描电镜和光学显微镜观察以及外观分析,以流变特性为指标,对 SPI 凝胶颗粒和 Pickering 高内相乳液特性进行研究。结果表明, SPI 凝胶颗粒的粒径和 ζ -电位随 pH 值的变化而变化,当 SPI 凝胶颗粒 pH 值为 4.0 ~ 5.0 时,临近 SPI 等电点, ζ -电位的绝对值最小,此时凝胶颗粒相互聚集,不能成功制备稳定的高内相乳液。在 pH 值为 9.0 时,大豆分离蛋白凝胶颗粒紧密结合在一起,呈凝胶网络状结构。在碱性条件下,蛋白质质量分数为 1.00%、内相体积分数为 78% ~ 82% 时,可以制备稳定的 Pickering 高内相乳液。通过增加内相体积分数,使大豆分离蛋白凝胶颗粒稳定的 Pickering 乳液体系分布更加均匀,不易发生聚集,形成更加致密稳定的多孔结构,且具有更强的弹性凝胶乳液特性。

关键词: 大豆分离蛋白; Pickering 高内相乳液; 凝胶颗粒

中图分类号: TS214.9 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2020)12-0348-08 OSID: 

Fabrication and Characterization of High Internal Phase Pickering Emulsion Manipulated by Gel Particles of Soy Protein

JIANG Lianzhou WEN Jiayu WANG Yuhan LUO Xiaoxue JIANG Siqi SUI Xiaonan
(College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: High internal phase Pickering emulsions stabilized by food-grade particles have received much attention in recent years. However, the stabilizing mechanism in the continuous phase of high internal phase Pickering emulsions stabilized by proteins is not well understood. Soy protein isolate (SPI) gel particles were constructed and used to stable high internal phase Pickering emulsion. The SPI gel particles and high internal phase Pickering emulsion were studied with particle size, ζ -potential, cryo-scanning electron microscopy, optical microscope observation, analysis of formation characterization and rheological properties of the emulsions. The results showed that the SPI particle size and ζ -potential of gel particles were varied along with the change of pH value. When the pH value of SPI gel particles was 4.0 ~ 5.0, it was near protein isoelectric point, the absolute value of ζ -potential was the minimum, and particles were gathered at this time. It cannot be successful preparation of stable high internal phase emulsion. At pH value 9.0, the SPI particles were tightly bound together in a gel network structure. Under alkaline conditions, high internal phase Pickering emulsion can be stabled with the soy protein concentration of 1.00% and the internal phase volume fraction in 78% ~ 82%. By increasing the volume fraction of the internal phase, the Pickering emulsion system stabilized by SPI gel particles was more evenly distributed and less prone to aggregation, forming a finer and denser porous structure to make it more stable. And it had stronger properties of elastic gel emulsion.

Key words: soy protein isolate (SPI); high internal phase Pickering emulsion; gel particles

0 引言

Pickering 高内相乳液是一种利用水和油部分润

湿的固体颗粒充当稳定剂、内相体积分数在 74% 以上的乳液。与传统的通过大量小分子表面活性剂稳定的高内相乳液相比,通过固体颗粒稳定的

Pickering 高内相乳液具有乳化剂用量少、稳定性好、生物相容性好、可塑性强等优势^[1]。高内相乳液具有内相比例大、稳定性极佳、模版材料空隙均匀等特性,目前已被应用于食品药品加工^[2]、生物组织工程^[3]、化妆品^[4]等多种领域中。Pickering 高内相乳液的颗粒稳定剂包括改性二氧化硅^[5]、二氧化钛凝胶颗粒^[6]、羟磷灰石^[7]、吐温 80^[8]和微凝胶颗粒^[9]等,这些无机材料和化学合成的颗粒在生物安全性、生物相容性和生物降解性等方面具有毒性风险,极大地限制了 Pickering 高内相乳液在食品医药领域的应用。

大豆分离蛋白(Soy protein isolate, SPI)中蛋白质质量分数在 90% 以上,氨基酸种类有近 20 种,并含有人体所必需的氨基酸,具有凝胶性、吸水性、乳化性、起泡性等多种功能性质^[10]。在受热时,由于球蛋白自身结构的改变,使埋藏在蛋白分子内的疏水基团暴露出来,可以形成自组装的凝胶颗粒聚集体。由于 SPI 凝胶颗粒具有亲水亲油性,已被广泛用作各种乳液的稳定剂^[11]。

近年来,随着人们对低反式脂肪酸食品的关注,有关采用天然材料稳定的 Pickering 高内相乳液方面的研究迅速增多。文献[2]研究发现,小麦淀粉稳定的高内相乳液在成为蛋黄酱替代物方面有巨大潜力。文献[12]使用乳清蛋白微凝胶制备的高内相乳液在 4℃ 下储存 6 个月仍能显示出优异的稳定性,但该研究使用的颗粒需要进行化学改性,以提升界面稳定性。文献[13]用己烷作内相,成功制备了由麦醇溶蛋白-壳聚糖复合颗粒作为稳定剂、内相体积分数可高达 90% 的高内相乳液。此外,许多研究发现,一些食品级颗粒可以成功制备 Pickering 高内相乳液,如乳清蛋白微凝胶^[14]、纤维素凝胶颗粒^[15]、淀粉凝胶晶体^[16]和花生蛋白微凝胶颗粒^[17]等,但这些稳定剂大多需要酸化、糖基化等复杂且费时的修饰,或在制备过程中仍需使用一些有机溶剂(如丙酮等)。因此,繁琐的制备过程和化学材料的残留等问题仍限制了 Pickering 高内相乳液在食品行业中的应用。

本文主要研究 SPI 凝胶颗粒在制备 Pickering 高内相乳液中的作用,以为食品工业提供一种制备方法更便捷、材料更安全的稳定剂。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆粉,哈尔滨高新技术有限公司;葵花籽油(市售);正己烷、乙酸乙酯、甲醇、乙醇、邻苯二甲醛(OPA)、盐酸、氢氧化钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、

去离子水等,北京新光化工试剂厂;其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

CJJ-6 型磁力搅拌器,上海仪电科学仪器股份有限公司;GL-25MS 型高速冷冻离心机,宁波 Scientz 生物技术有限公司;PHS-25 型数显台式酸度计,上海雷磁公司;HH-6 型数显恒温水浴锅,金坛市富华仪器有限公司;Scientz-18N 型冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;2500C 型高速研磨机,永康市艾泽拉电器有限公司;T10-Ultra Turrax 型均质器,德国 IKA 公司;NANO ZS90 型粒度与电位分析仪,英国马尔文仪器有限公司;F-4500 型荧光分光光度计,日本日立公司;BX53 型科研正置光学显微镜,日本奥林巴斯有限公司;Quorum PP310T 型低温冷冻系统、Hitachi-S-3400N 型扫描电子显微镜,荷兰皇家飞利浦公司;MCR302 型流变仪,奥地利安东帕公司。

1.3 方法

1.3.1 SPI 的制备

参考文献[18]的制备方法。将大豆粉首先在 45℃ 溶于正己烷(液料比 3 mL/g)脱脂 2 h。将脱脂的大豆粉晾干后溶于去离子水中(液料比 15 mL/g)萃取 2 h,用 1 mol/L NaOH 将 pH 值调节至 8.5 并搅拌 2 h。然后将混合物在 9 000 g、4℃ 下离心 20 min 以除去不溶物,并用 1 mol/L HCl 将上清液 pH 值调节至 4.5 后静置 30 min,然后将上清液在 6 000 g、4℃ 下离心 20 min。收集沉淀物,随后用 0.1 mol/L HCl 将 pH 值调节至 7.0。将沉淀物冷冻干燥后,获得干基蛋白质质量分数为 90.2% 的大豆分离蛋白。

1.3.2 SPI 凝胶颗粒的制备

将冷冻干燥的 SPI 粉末溶解于去离子水(液料比 20 mL/g)中,并搅拌 2 h。然后将悬浮液在 4℃ 下储存 12 h,以使蛋白质完全水化。使用 0.01 mol/L HCl 或 NaOH 将悬浮液的 pH 值调节至 7.0,并在 80℃ 的水浴中缓慢搅拌 30 min。然后将悬浮液自然冷却至室温(20℃)即形成由 SPI 自组装的凝胶颗粒凝胶。用 T10-Ultra Turrax 型均质器以 10 000 r/min 的速度破碎凝胶 3 min,使凝胶颗粒分散得更加均匀。

1.3.3 SPI 凝胶颗粒的粒径和 ζ-电位

利用 NANO ZS90 型粒度与电位分析仪对所有样品进行粒径分布和 ζ-电位测定,参考文献[19]的方法稍加修改。为了研究 pH 值(3.0~10.0)对 SPI 凝胶颗粒的粒径和 ζ-电位的影响,并避免多个凝胶颗粒的相聚集影响测量,将样品用不同 pH 值的 0.01 mol/L 缓冲溶液稀释 100 倍后测量粒径,稀释

1 000 倍后测量电位。

1.3.4 SPI 凝胶颗粒表面疏水性分析

表面疏水性指数 H_0 根据文献[20]的方法稍加修改,使用 ANS 荧光探针测定蛋白质的表面疏水性。将不同 pH 值的 SPI 凝胶颗粒用 0.01 mol/L 磷酸缓冲溶液稀释样品,使最终质量浓度为 0.04 ~ 0.2 mg/mL;同时使用 pH 值 7.0 的磷酸缓冲溶液配制 ANS 储备液(8.0 mmol/L)。取 4 mL 各稀释样品加入 15 μ L ANS 溶液,振荡混合均匀后静置 10 min,使用荧光光度计在激发波长为 370 nm、发射波长为 470 nm 下测量混合物的荧光强度。以荧光强度对蛋白质质量浓度(mg/mL)的初始斜率(通过线性回归分析计算)制图用作表面疏水性指数计算。

1.3.5 SPI 凝胶颗粒微观结构观察

参照文献[21]的方法并稍作修改。使用 Hitachi-S-3400N 型扫描电子显微镜对 SPI 凝胶颗粒进行微观观察。将一滴 SPI 凝胶颗粒样品置于载物台上,并用液氮冷冻。随后在真空条件下,将样品转移至 -160℃ 的制备室(Quorum PP310T 型低温冷冻电镜制备系统)中,并用刀片横切样品。然后将样品在 -100℃ 下升华 15 min。最后,将样品表面喷涂上金,并转移至扫描电子显微镜的冷冻室内拍摄图像,冷冻室温度控制在 -140℃。

1.3.6 Pickering 高内相乳液的制备

将新鲜制备的 SPI 凝胶颗粒分散在去离子水中,使分散液中蛋白质质量分数为 1.00%。通过滴加 0.01 mol/L HCl 或 NaOH 将分散液的 pH 值分别调节至 4.5、7.0 和 9.0。然后使用 T10-Ultra Turrax 型均质器以 10 000 r/min 对 SPI 凝胶颗粒分散液均质 1 min。

为了研究乳液形成时的内相体积分数对乳液结构的影响,在上述 SPI 凝胶颗粒分散液中滴加体积分数为 10%、30%、50%、70%、78%、80%、82% 的葵花籽油,用 T10-Ultra Turrax 型均质器于 6 000 r/min 均质 2 min,形成乳液,当内相体积分数大于 74% 时,形成 Pickering 高内相乳液。

1.3.7 Pickering 高内相乳液微观观察

使用光学显微镜观察乳液的微观结构。将一滴乳液和 Pickering 高内相乳液放入显微镜载玻片上,小心地使用盖玻片固定并确保内部没有气泡。图像以 40 倍放大率拍摄。

参照文献[19]的方法并稍作修改。使用冷冻扫描电子显微镜对 Pickering 高内相乳液进行观察。将一滴乳液样品置于载物台上,并用液氮冷冻。随后在真空条件下,将样品转移至 -95℃ 的制备室中,并用刀片横切样品。然后将样品在 -100℃ 下升华

15 min。最后,将样品表面喷涂上金,并转移至扫描电子显微镜的冷冻室内拍摄图像,冷冻室温度控制在 -170℃。

1.3.8 Pickering 高内相乳液流变测量

参照文献[2]的方法,使用旋转黏度计测量乳液的流变行为,在 25℃ 下椎板之间的间隙设置为 0.80 mm。在扫频模式下,设定恒定应变为 0.5%,在 0.1 ~ 10 Hz 频率下测量 Pickering 高内相乳液的弹性模量和黏性模量。

1.4 数据统计分析

所有测量至少进行 3 次,结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。利用 SPSS Statistics 24 软件对数据进行 ANOVA 和 Duncan 检验($p < 0.05$)统计分析。

2 结果与分析

2.1 SPI 凝胶颗粒粒径分析

如图 1 所示,在 pH 值为 4.0 和 5.0 时,0.01% 的 SPI 凝胶颗粒分散液为不稳定的悬浮液,形成了肉眼可见的聚集体,所以不能通过 NANO ZS90 型粒度与电位分析仪准确测量该 pH 值条件下 SPI 凝胶颗粒的平均粒径,测得其聚集体的粒径为 3 443.0 ~ 4 502.0 nm。SPI 凝胶颗粒平均粒径随 pH 值的变化差异显著($p < 0.05$)。当 pH 值为 3.0 时,平均粒径为 258.6 nm。当 pH 值在 6.0 ~ 10.0 时, SPI 凝胶颗粒粒径依次为 170.7、248.8、268.5、302.7、305.2 nm,呈逐渐升高趋势,但整体变化并不明显。该粒径范围与其他作为高内相乳液稳定剂的蛋白颗粒大小研究结果相似,如文献[22]发现明胶颗粒的平均粒径为 235.9 nm,文献[17]发现花生蛋白颗粒的粒径为 40 ~ 150 nm。在碱性条件下, SPI 凝胶颗粒粒径较大。因为该颗粒是一种微凝胶颗粒,具有一定程度的吸水和溶胀能力^[23],所以粒径的轻微增加应为 SPI 颗粒的吸水性引起的,而非颗粒间聚集。本试验中的 SPI 凝胶颗粒平均粒径大于文献[24]报道的大豆蛋白凝胶的流体动力学直径(141.0 ~ 158.0 nm)。该差异是由于本试验制备 SPI 凝胶颗粒时蛋白质质量分数(5%)较高,是文献[24]的 2 倍。蛋白质浓度对热诱导蛋白质聚集产生自组装凝胶颗粒有着重要影响^[25]。在较低的蛋白质浓度下,球状蛋白质之间的热诱导相互作用往往发生在分子内而不是分子间。随着蛋白质浓度的增加, SPI 形成分子间相互作用,并最终形成蛋白质凝胶。所以蛋白浓度对其形成的热凝胶颗粒粒径存在一定影响。

2.2 SPI 凝胶颗粒 ζ -电位分析

SPI 凝胶颗粒 ζ -电位随 pH 值变化。在 pH 值低于 5.0 时观察到 SPI 凝胶颗粒呈现正电性(pH 值为

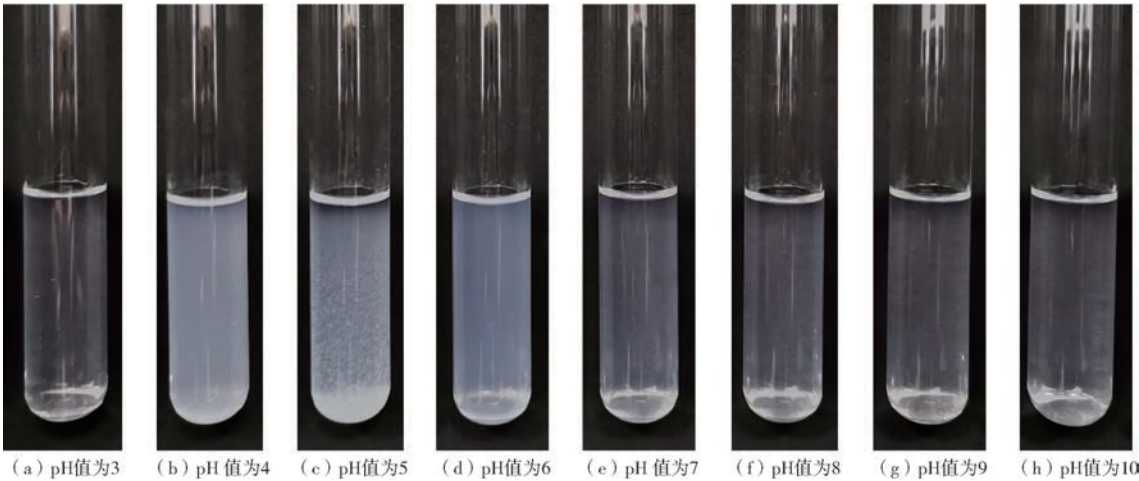


图 1 不同 pH 值条件下的 0.01% 大豆分离蛋白凝胶颗粒悬浮液

Fig.1 0.01% soybean protein isolate gel particle suspension at different pH values

3.0 时 ζ -电位为 22.32 mV, pH 值为 4.0 时 ζ -电位为 9.33 mV), 这是因为 SPI 颗粒表面引入带正电的氨基。当 pH 值超过 5.0 时, 由于羧基的去质子作用, SPI 凝胶颗粒趋于带负电, 在 pH 值为 5.0 ~ 10.0 时, ζ -电位依次为 - 3.17、- 20.00、- 28.25、- 24.20、- 26.94、- 30.83 mV, 在 pH 值为 7.0 ~ 10.0 时变化并不明显。本研究中观察到 SPI 凝胶颗粒的 ζ -电位随 pH 值变化的趋势与文献[26]的结果相似。SPI 凝胶颗粒对 pH 值变化非常敏感, 当 ζ -电位绝对值较小时, 凝胶颗粒表面所带的同性电荷较少, 减小了静电排斥作用。进而降低了分散液稳定性, 使体系中蛋白分子倾向于相互聚集, 这与图 1 和粒径变化中观察到的结果一致。当 SPI 凝胶颗粒的 ζ -电位趋近于零时, pH 值约为 4.5, 与 SPI 的等电点(pH 值为 4.5)相近, 因此 SPI 凝胶颗粒的制备工艺对 SPI 的等电点几乎没有影响。当 pH 值大于 5.0 时, SPI 凝胶颗粒 ζ -电位的绝对值逐渐增大, 并在碱性条件下逐渐趋于稳定。因为在碱性条件下 SPI 凝胶颗粒表面同性电荷增多, 同性电荷间的相互排斥使蛋白质溶液更稳定, 减弱了蛋白颗粒分子间的相互作用, 促进 SPI 凝胶颗粒作为 Pickering 高内相乳液的稳定剂。

2.3 SPI 凝胶颗粒表面疏水性分析

蛋白质的表面疏水性指数 H_0 是影响蛋白颗粒表面相关功能的重要参数。在 pH 值为 3.0 ~ 6.0 时, SPI 颗粒表面疏水性指数很高, 依次为 15 762.00、16 768.40、10 183.00、4 409.80, H_0 在等电点附近 (pH 值为 4.0 ~ 5.0 时) 出现最大值。由图 1 和表面疏水性指数 H_0 对比可知, SPI 蛋白凝胶颗粒的表面疏水性与溶解度呈负相关。蛋白质的溶解度取决于蛋白质分子的亲/疏水平衡, 这种平衡主要取决于暴露于蛋白质分子表面的氨基酸组成。在氨基酸侧

链残基中, 疏水性残基通过疏水键于蛋白质分子中心相互结合, 形成疏水区域; 而亲水性残基排列于能够与水分子接触的蛋白质分子外侧, 形成亲水区域^[27]。当 pH 值从 7.0 增加到 10.0 时, SPI 凝胶颗粒的疏水性维持在较低水平, H_0 依次为 1 541.26、697.56、831.00、673.90, 且 pH 值在 8.0 ~ 10.0 间 SPI 颗粒的表面疏水性指数相差较小, 表明蛋白质倾向于折叠, 这导致疏水残基被掩埋, 阻止了蛋白质颗粒疏水区的暴露, 从而抑制了 SPI 凝胶颗粒的疏水性。文献[28]研究发现, 肉类蛋白热凝胶颗粒在不同 pH 值下的疏水性趋势与本文结果一致。文献[29]的研究表明在中性 pH 值下 SPI 的表面疏水性指数为 55.32。与其相比, 本研究的 SPI 凝胶颗粒的 H_0 明显高于其他研究。其原因可能为热处理诱导 SPI 折叠, 导致更多疏水性基团迁移到分子外部。因此, 疏水相互作用和电荷间排斥作用可能是蛋白质粒子排列形态不同的原因^[30]。

2.4 SPI 凝胶颗粒微观结构分析

可通过冷冻扫描电子显微镜观察 SPI 凝胶颗粒在不同 pH 值下的微观结构。本研究选取 3 个具有代表性的 pH 值, 即等电点 (pH 值为 4.5)、中性点 (pH 值为 7.0) 和中等碱性点 (pH 值为 9.0) 进行 pH 值对 SPI 凝胶颗粒微观结构影响的分析。如图 2 所示, 可以观察到单个的 SPI 凝胶颗粒均具有球形外观, 直径为 70 ~ 250 nm。在不同的 pH 值条件下, SPI 凝胶颗粒处于不同的聚集状态。当 pH 值为 4.5 时, 由于此时处于等电点, SPI 凝胶颗粒间静电斥力降低, 具有较强的范德华力^[21], 因此颗粒形成了较大的圆形聚集体。当 pH 值为 7.0 时, 颗粒以条带型相联, 形成一些椭圆形的聚集体。当 pH 值为 9.0 时, 几乎所有颗粒都被交联且紧密融合在一起, 形成较为均一的微凝胶网络状结构。SPI 凝胶颗粒融合

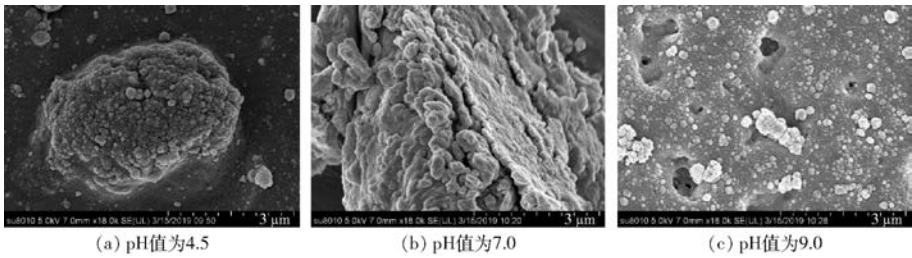


图2 大豆分离蛋白凝胶颗粒冷冻扫描电镜图像

Fig.2 Cryo-scanning electron microscopy analysis of soybean protein isolate gel particles

的凝胶网络状结构可以共同作用于水/油界面,对 Pickering 高内相乳液进行稳定。

2.5 Pickering 高内相乳液外观观察

由图3可以看出,不同 pH 值条件下得到的 SPI 凝胶颗粒制备的 Pickering 高内相乳液具有不同的状态。当 pH 值为 4.5 和 7.0 时,乳液形成了聚集体或絮凝物,出现了明显的相分离情况,表明在此 pH 值条件下无法制备出稳定、均一的高内相乳液。当 pH 值为 9.0 时, Pickering 高内相乳液外观均匀统一,结构细腻,呈乳白色,表明在碱性条件下制备的 SPI 凝胶颗粒更有利于稳定 Pickering 高内相乳液。

如图4所示,为了进一步研究内相体积分数对形成乳液外观稳定性与微观结构的影响,在 pH 值为 9.0 的条件下制备了蛋白质质量分数为 1.00%、内相体积分数不同的 Pickering 乳液。当内相体积分数为 10% ~ 70% 时,此时乳液不能被称为高内相

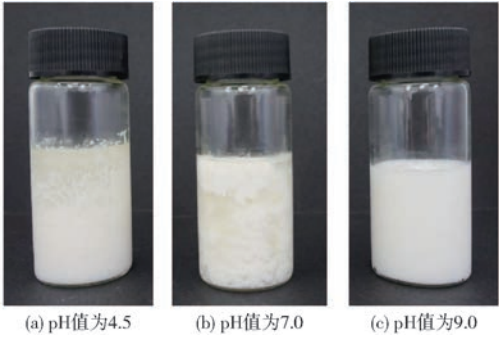


图3 不同 pH 值的大豆分离蛋白凝胶颗粒稳定的 Pickering 高内相乳液

Fig.3 High internal phase Pickering emulsions stabilized by soybean protein isolate gel particles of different pH values

乳液。该乳液体系出现明显的分层现象,并且随着油相浓度的增加,上层乳白色絮状层增厚。当内相体积分数不断增加至 82% 时,形成了稳定的高内相乳液。其表面呈奶油状,细腻均一,较为黏稠,流动性差,在常温下放置 14 d 仍未出现相分离现象。

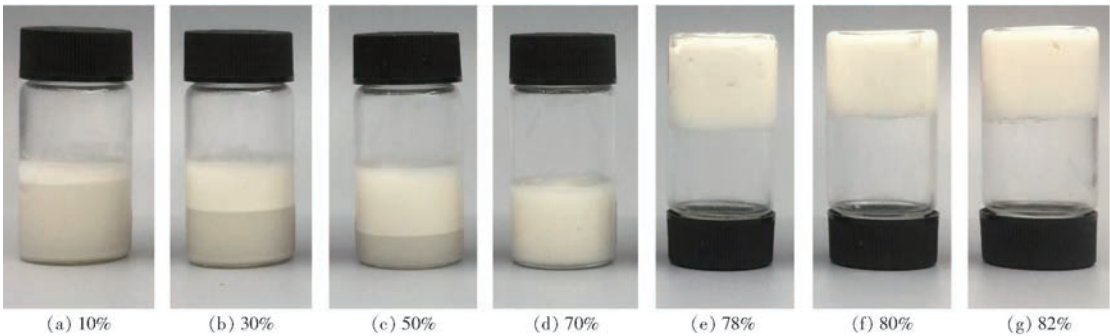


图4 大豆分离蛋白凝胶颗粒稳定的不同内相体积分数的 Pickering 乳液

Fig.4 Pickering emulsions with different internal phase volume fractions stabilized by soybean protein isolate gel particles

2.6 Pickering 高内相乳液光学显微镜观察

SPI 凝胶颗粒稳定的 Pickering 高内相乳液的 40 倍光学显微镜下微观结构如图5所示,由图5可知,所有由 pH 值 9.0 的 SPI 凝胶颗粒稳定的高内相乳液微观结构均呈现圆形液滴状,液滴粒径在 5 ~ 50 μm 之间,变化较大。当内相体积分数小于 70% 时,液滴随机分散分布,随着内相体积分数的增加,形成高内相乳液后,液滴处于更紧密的填充状态,排列整齐,相互连接,形成一个致密的网络状油滴体系。随着内相体积分数的增加,乳液的液滴尺

寸逐渐减小,表明较高的内相体积分数有利于形成更稳定的凝胶状结构,这与文献[31]的试验结果一致。

2.7 Pickering 高内相乳液冷冻电镜观察

如图6所示,用冷冻电镜对 SPI 凝胶颗粒稳定的 Pickering 高内相乳液进行了表征,有利于更清晰直观地了解高内相乳液的微观结构。所有的油滴都被包裹在由 SPI 凝胶颗粒构成的三维网状结构中。SPI 凝胶颗粒在油滴表面形成的紧密填充层为 Pickering 高内相乳液整体充当空间屏障,增强液滴

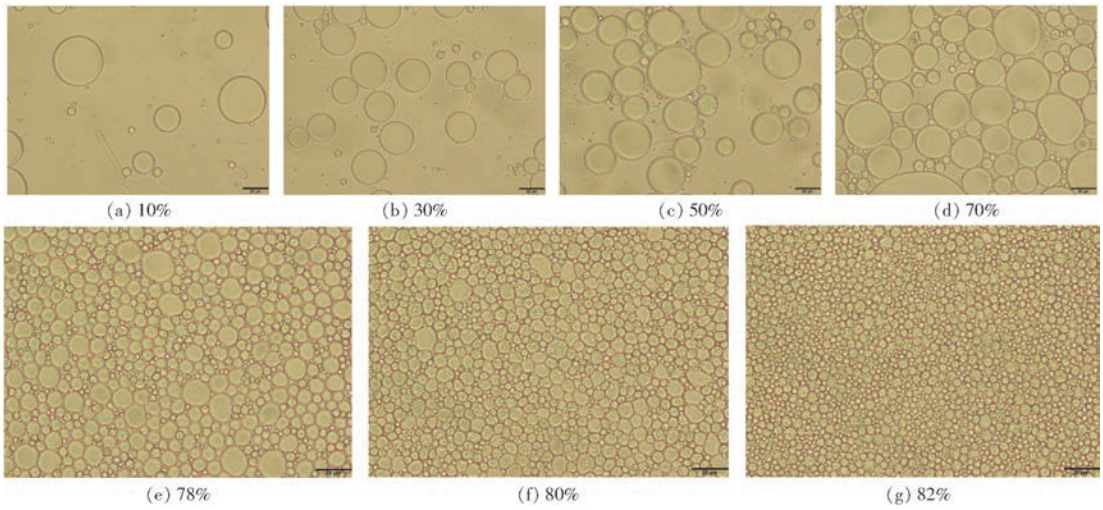


图 5 不同内相体积分数的 Pickering 乳液的光学显微镜图像

Fig. 5 Observation of Pickering emulsion optical microscope with different internal phase volume fractions

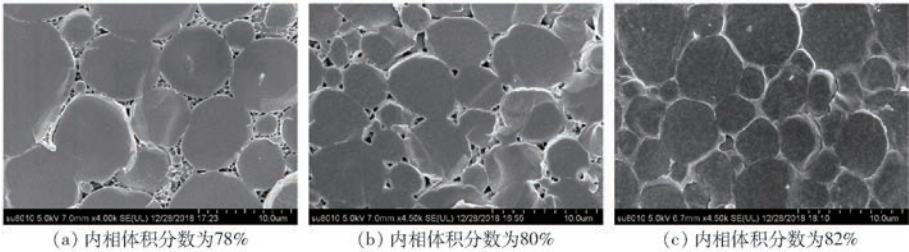


图 6 Pickering 高内相乳液的冷冻电镜图像

Fig. 6 Observation of Pickering high internal phase emulsion cryo-scanning electron microscope

间稳定性^[32]。此外,SPI 凝胶颗粒可以桥接相邻液滴,从而形成自组装结构,这也是 Pickering 乳液的特点之一^[19]。随着内相体积分数从 78% 增加到 82%,油滴尺寸减小,且油滴间分布更加紧密。这一结果与光学显微镜观察结果一致。

2.8 Pickering 高内相乳液流变分析

图 7a 显示了在内相体积分数为 78% ~ 82%、蛋白质质量分数为 1.00% 时,Pickering 高内相乳液的静态流变分析图。随着剪切速率的增大乳液黏度逐渐下降,表现出典型非牛顿假塑性行为。这是乳液间的弱缔合相互作用所导致的,文献[33]所报道的钙离子诱导交联的乳清蛋白纳米颗粒稳定的高内

相乳液也具有这种显著的剪切稀化行为。此外,在相同的剪切速率下,Pickering 高内相乳液的内相体积分数越高,表观黏度越大。文献[34]得到相似的结论,即随着辛烯基琥珀酸酐淀粉浓度和分散相体积分数的增加,乳液的表观黏度和假塑性特性都有所增加。图 7b 显示了在内相体积分数为 78% ~ 82%、蛋白质质量分数为 1.00% 时,Pickering 高内相乳液的弹性模量和黏性模量的变化。随着频率的增加,Pickering 高内相乳液的弹性模量和黏性模量逐渐增大,并且弹性模量始终大于黏性模量,证实了 SPI 凝胶颗粒稳定的 Pickering 高内相乳液具有弹性凝胶特征,并且弹性模量的变化与频率变化无关。

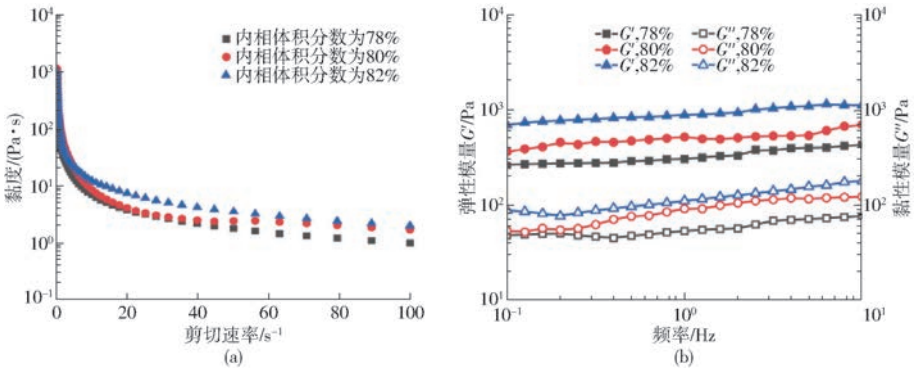


图 7 Pickering 高内相乳液流变分析图

Fig. 7 Rheological analysis diagram of Pickering high internal phase emulsions

乳清蛋白、小麦醇溶蛋白和玉米醇溶蛋白稳定的高内相乳液^[35-36]都具有相似的弹性凝胶乳液特征。在同一频率下,随着内相体积分数的增大,弹性模量与黏性模量都逐渐增大。说明 Pickering 高内相乳液的流变性能受内相体积分数的影响,较高内相体积分数的油滴间具有更紧密的网络状结构,对形成刚性乳液有一定的作用。

3 结论

(1)以 pH 值为 9.0 的大豆分离蛋白凝胶颗粒作为 Pickering 高内相乳液稳定剂,制备了无表面活性剂的食品级 Pickering 高内相乳液,其内相体积分

数可达到 82%。

(2)pH 值对大豆分离蛋白凝胶颗粒具有显著的影响。在碱性条件下,SPI 凝胶颗粒平均粒径较大,约为 300 nm, ζ -电位绝对值最大,颗粒相互交联且紧密融合,形成均匀的凝胶网络状结构。以此大豆分离蛋白凝胶颗粒制备出了稳定性较强的 Pickering 高内相乳液。

(3)对大豆分离蛋白凝胶颗粒稳定的不同内相体积分数的 Pickering 高内相乳液进行了宏观与微观观察,发现随着内相体积分数的增大,高内相乳液更为粘稠,形成更加细小致密的多孔结构,保证了乳液的机械稳定性。

参 考 文 献

- [1] KIM C, KAMIYA S, SATO T, et al. Improvement of nutritional value and functional properties of soybean glycinin by protein engineering [J]. Protein Engineering, Design and Selection, 1990, 3(8): 725-731.
- [2] LIU F, ZHENG J, HUANG C, et al. Pickering high internal phase emulsions stabilized by protein-covered cellulose nanocrystals [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82(32): 96-105.
- [3] WANG J, LI Y, GAO Y, et al. Cinnamon oil-loaded composite emulsion hydrogels with antibacterial activity prepared using concentrated emulsion templates [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 112(1): 281-289.
- [4] XU Y, TANG C, LIU T, et al. Ovalbumin as an outstanding Pickering nano-stabilizer for high internal phase emulsions [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2018, 66(33): 8795-8804.
- [5] WU R, MENNER A, BISMARCK A. Tough interconnected polymerized medium and high internal phase emulsions reinforced by silica particles [J]. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2010, 48(9): 1979-1989.
- [6] MENNER A, IKEM V, SALGUEIRO M, et al. High internal phase emulsion templates solely stabilised by functionalised titania nanoparticles [J]. Chemical Communications, 2007, 41: 4274-4276.
- [7] WANG A, PATERSON T, OWEN R, et al. Photocurable high internal phase emulsions (HIPEs) containing hydroxyapatite for additive manufacture of tissue engineering scaffolds with multi-scale porosity [J]. Materials Science and Engineering: C, 2016, 67: 51-58.
- [8] ZOU S, WEI Z, HU Y, et al. Macroporous antibacterial hydrogels with tunable pore structures fabricated by using Pickering high internal phase emulsions as templates [J]. Polymer Chemistry, 2014, 5(14): 4227-4234.
- [9] LI Z, MING T, WANG J, et al. High internal phase emulsions stabilized solely by microgel particles [J]. Angewandte Chemie, 2009, 121(45): 8642-8645.
- [10] 朱晓烨, 迟玉杰, 许岩, 等. 大豆分离蛋白凝胶稳定性的研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 422-425.
ZHU Xiaoye, CHI Yujie, XU Yan, et al. Current progress in gel stability of soy protein isolate [J]. Food Science, 2010, 31(19): 422-425. (in Chinese)
- [11] SUI X, BI S, QI B, et al. Impact of ultrasonic treatment on an emulsion system stabilized with soybean protein isolate and lecithin: its emulsifying property and emulsion stability [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 727-734.
- [12] ZAMANI S, MALCHIONE N M, SELIG M J, et al. Formation of shelf stable Pickering high internal phase emulsions (HIPE) through the inclusion of whey protein microgels [J]. Food & Function, 2018, 9(2): 982-990.
- [13] ZHOU F, YU X, ZENG T, et al. Fabrication and characterization of novel water-insoluble protein porous materials derived from Pickering high internal-phase emulsions stabilized by gliadin-chitosan-complex particles [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(12): 3423-3431.
- [14] SU J, WANG X, LI W, et al. Enhancing the viability of lactobacillus plantarum as probiotics through encapsulation with high internal phase emulsions stabilized with whey protein isolate microgels [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(46): 12335-12343.
- [15] CAPRON I, CATHALA B. Surfactant-free high internal phase emulsions stabilized by cellulose nanocrystals [J]. Biomacromolecules, 2013, 14(2): 291-296.
- [16] YANG T, ZHENG J, ZHENG B, et al. High internal phase emulsions stabilized by starch nanocrystals [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 230-238.
- [17] LIAO W, LIU Z, ZHANG T, et al. Enhancement of anti-inflammatory properties of nobletin in macrophages by a nano-emulsion preparation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(1): 91-98.
- [18] 隋春霞, 江连洲, 于国萍. 大豆分离蛋白-瓜尔胶生物材料混合体系疏水性的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(7):

60–63.

SUI Chunxia, JIANG Lianzhou, YU Guoping. Study on hydrophobicity of biomaterial mixture from soy protein isolate-guar gum system [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(7): 60–63. (in Chinese)

- [19] JU M, ZHU G, HUANG G, et al. A novel Pickering emulsion produced using soy protein-anthocyanin complex nanoparticles [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 99:105329.
- [20] 鞠梦楠, 祝钢, 陈红宇, 等. 大豆球蛋白-花青素 Pickering 乳液性质 [J]. 食品科学, 2020, 41(2): 1–7.
JU Mengnan, ZHU Gang, CHEN Hongyu, et al. Physiochemical haracterization of Pickering emulsions stabilized by anthocyanin and soybean protein isolate composite nanoparticles [J]. Food Science, 2020, 41(2): 1–7. (in Chinese)
- [21] JIAO B, SHI A, WANG Q, et al. High-internal-phase Pickering emulsions stabilized solely by peanut-protein-isolate microgel particles with multiple potential applications [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2018, 57(30): 9274–9278.
- [22] TAN H, ZHAO L, TIAN S, et al. Gelatin particle-stabilized high-internal phase emulsions for use in oral delivery systems: protection effect and in vitro digestion study [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(4): 900–907.
- [23] PIKABEA A, AGUIRRE G, MIRANDA J I, et al. Understanding of nanogels swelling behavior through a deep insight into their morphology [J]. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2015, 53(17): 2017–2025.
- [24] GUO J, ZHOU Q, LIU Y, et al. Preparation of soy protein-based microgel particles using a hydrogel homogenizing strategy and their interfacial properties [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 58: 324–334.
- [25] ZAYAS J F. Gelling properties of proteins [M]//Functionality of proteins in food. Springer, 1997: 310–366.
- [26] CHEN N, LIN L, SUN W, et al. Stable and pH-sensitive protein nanogels made by self-assembly of heat denatured soy protein [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(39): 9553–9561.
- [27] 王中江, 江连洲, 魏冬旭, 等. pH 值对大豆分离蛋白构象及表面疏水性的影响 [J]. 食品科学, 2012, 33(11): 47–51.
WANG Zhongjiang, JIANG Lianzhou, WEI Dongxu, et al. Effect of pH on conformation and surface hydrophobicity of soybean protein isolate [J]. Food Science, 2012, 33(11): 47–51. (in Chinese)
- [28] LI R, HE Q, GUO M, et al. Universal and simple method for facile fabrication of sustainable high internal phase emulsions solely using meat protein particles with various pH values [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105444.
- [29] KARACA A C, LOW N H, NICKERSON M T. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction [J]. Food Research International, 2011, 44(9): 2742–2750.
- [30] MÉSZÁROS B, TOMPA P, SIMON I, et al. Molecular principles of the interactions of disordered proteins [J]. Journal of Molecular Biology, 2007, 372(2): 549–561.
- [31] LI Y, LIU B, FAN J, et al. Effects of ultrasound and high pressure homogenization treatment on the interaction of soybean protein-phosphatidylcholine [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 218(1): 165–172.
- [32] HOROZOV T S, BINKS B P. Particle-stabilized emulsions: a bilayer or a bridging monolayer? [J]. Angewandte Chemie, 2006, 45(5): 773–776.
- [33] YI J, GAO L, ZHONG G, et al. Fabrication of high internal phase Pickering emulsions with calcium-crosslinked whey protein nanoparticles for β -carotene stabilization and delivery [J]. Food & Function, 2020, 11(1): 768–778.
- [34] DOKIC L, KRSTONOSIC V, NIKOLIC I. Physicochemical characteristics and stability of oil-in-water emulsions stabilized by OSA starch [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 29(1): 185–192.
- [35] ZHOU F, ZENG T, YIN S, et al. Development of antioxidant gliadin particle stabilized Pickering high internal phase emulsions (HIPEs) as oral delivery systems and the in vitro digestion fate [J]. Food & Function, 2018, 9(2): 959–970.
- [36] RUAN Q, YANG X, ZENG L, et al. Physical and tribological properties of high internal phase emulsions based on citrus fibers and corn peptides [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 53–61.