

pH对燕麦分离蛋白及其稳定的Pickering乳液的影响

王 静, 焦颖雪, 高 伟, 范丽鹏, 梁孙硕, 王慧婷, 路丽娟, 齐文慧, 张志胜

Effects of pH on Oat Protein Isolate and Pickering Emulsion Stabilized by the Protein

WANG Jing, JIAO Yingxue, GAO Wei, FAN Lipeng, LIANG Sunshuo, WANG Huiting, LU Lijuan, QI Wenhui, and ZHANG Zhisheng

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024070173>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

大豆磷脂对汉麻分离蛋白Pickering乳液的形成及其性质的影响

Effect of Soybean Phosphatidyl Ethanolamine on the Formation and Properties of Pickering Emulsion Stabilized by Hemp Protein Isolate

食品工业科技. 2021, 42(23): 66-72 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021020124>

大豆分离蛋白-卡拉胶-黄原胶三元复合Pickering乳液的制备与特性分析

Preparation and Characterization of Pickering Emulsion of Soybean Protein Isolate-Carrageenan-Xanthan Terpolymer

食品工业科技. 2023, 44(15): 16-24 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023010181>

大豆分离蛋白与茶多酚稳定的高内相Pickering乳液替代脂肪对肉丸品质的影响

Effect of Soybean Protein Isolate and Tea Polyphenol Stabilized High Interior Phase Pickering Emulsion Replacing Fat on Meatball Quality

食品工业科技. 2024, 45(6): 59-66 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023050118>

多糖添加对兔肌原纤维蛋白Pickering乳液稳定性及凝胶特性的影响

Effect of Polysaccharide Addition on the Stability and Gel Properties of Rabbit Myofibrillar Pickering Emulsion

食品工业科技. 2023, 44(13): 21-29 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022110340>

慢消化椰油乳液系列体系的构建及其微流变特性和体外消化特性对比

Construction of Slow Digestion Coconut Oil Emulsion System Series and Comparison of Their Microrheological Properties and *in Vitro* Digestive Properties

食品工业科技. 2020, 41(18): 24-32 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.18.004>

水相pH和Na⁺对微晶纤维素与猪油的Pickering乳液稳定性的影响

Effect of Aqueous Phase pH and Na⁺ on the Stability of Microcrystalline Cellulose-Lard Pickering Emulsion

食品工业科技. 2022, 43(20): 87-96 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022010159>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

王静, 焦颖雪, 高伟, 等. pH 对燕麦分离蛋白及其稳定的 Pickering 乳液的影响 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(12): 112–123. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070173

WANG Jing, JIAO Yingxue, GAO Wei, et al. Effects of pH on Oat Protein Isolate and Pickering Emulsion Stabilized by the Protein [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(12): 112–123. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070173

· 研究与探讨 ·

pH 对燕麦分离蛋白及其稳定的 Pickering 乳液的影响

王 静¹, 焦颖雪¹, 高 伟², 范丽鹏², 梁孙硕¹, 王慧婷³, 路丽娟⁴, 齐文慧^{1,*}, 张志胜^{1,*}

(1.河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000;

2.晨光生物科技集团股份有限公司, 河北邯郸 057250;

3.保定市食品药品检验所, 河北保定 071000;

4.石家庄市食品药品检验中心, 河北石家庄 050000)

摘要: pH 通常会影响蛋白颗粒的结构及理化性质, 从而影响以其为乳化剂制备的 Pickering 乳液的性质。本文着重探究了燕麦分离蛋白 (OPI) 在不同 pH (3、5、7、9 和 11) 下的微观结构、Zeta 电位和蛋白质亚基等特性, 以及不同 pH 下以 OPI 作乳化剂的 Pickering 乳液 (固定油水比为 3:7 时) 的乳化特性、氧化稳定性和体外消化特性等。随着 OPI 悬浊液 pH 的升高, 蛋白粒径先增大后减小, 最小约 0.27 μm。蛋白溶解度和 Zeta 电位绝对值先降低后升高, 溶解度最高约 12.96%, Zeta 电位值最大约 -38.01 mV。OPI 悬浊液在 pH 为 5 时因靠近等电点而不稳定, 制备的乳液短时间内出现分层。体系 pH 为 3、9 和 11 时, 乳液粒径较小, 乳化活性较高, 流动性较强, 并且显示更多的纤维结构。其中, pH 为 11 时乳液液滴最小, 约 0.93 μm, Zeta 电位值约 -62.69 mV, EAI 约 38.70 m²/g, 脂质氧化较慢, 乳液较稳定, 且游离脂肪酸最终释放率高达 70.27%。结果表明, OPI 在 pH 为 3、9 和 11 时都可以制备较稳定的 Pickering 乳液。这将有助于拓宽 OPI 的应用范围, 并为 OPI 稳定的 Pickering 乳液提供一定理论基础。

关键词: 燕麦分离蛋白, Pickering 乳液, 乳化特性, 流变特性, 体外消化

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)12-0112-12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024070173

本文网刊:



Effects of pH on Oat Protein Isolate and Pickering Emulsion Stabilized by the Protein

WANG Jing¹, JIAO Yingxue¹, GAO Wei², FAN Lipeng², LIANG Sunshuo¹, WANG Huiting³, LU Lijuan⁴,
QI Wenhui^{1,*}, ZHANG Zhisheng^{1,*}

(1. College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China;

2. Chenguang Biotechnology Group Co., Ltd., Handan 057250, China;

3. Baoding Food and Drug Inspection Institute, Baoding 071000, China;

4. Shijiazhuang Food and Drug Inspection Center, Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: The structural and physicochemical properties of protein particles are typically modulated by pH through alterations in surface charge distribution and secondary structural conformations, consequently influencing the interfacial adsorption capacity and stability of Pickering emulsions stabilized by these protein-based emulsifiers via pH-dependent

收稿日期: 2024-07-15

基金项目: 河北省自然科学基金生物联合基金项目 (C2023204010); 河北农业大学引进人才科研专项 (YJ2021025); 河北省现代农业产业技术体系羊创新团队产品加工与品牌 (HBCT2024250205)。

作者简介: 王静 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品胶体, E-mail: 17793475717@163.com。

* 通信作者: 齐文慧 (1987-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品胶体与界面化学、食品科学, E-mail: wenhui406@yeah.net。

张志胜 (1970-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 肉品科学技术, E-mail: 13833035679@139.com。

interfacial adsorption mechanisms. The structural and functional characteristics of oat protein isolate (OPI) were systematically investigated across varying pH conditions (3, 5, 7, 9, and 11), with emphasis on microstructural properties, Zeta potential dynamics, and protein subunit compositions. Concurrently, the emulsification performance, oxidative stability, and *in vitro* digestibility profiles of Pickering emulsions stabilized by OPI were comprehensively evaluated under fixed oil-water phase ratio of 3:7. The particle size of oat protein isolate (OPI) was observed to initially increase followed by a gradual decrease as the pH of the suspension was elevated, with a minimum diameter of approximately 0.27 μm recorded under alkaline conditions. Concurrently, both solubility and absolute zeta potential demonstrated parabolic profiles, with solubility peaking at 12.96% and surface charge reaching maximal electronegativity (-38.01 mV) under alkaline conditions, correlating with structural rearrangements observed in particle aggregation-disaggregation dynamics. The colloidal stability of oat protein isolate (OPI) was critically compromised at pH5.0 under near-isoelectric conditions, resulting in immediate emulsion phase separation within 30 minutes of preparation. In parallel experimental systems where pH was systematically modulated to 3, 9, or 11, significant improvements were quantified including reduced emulsion particle dimensions, enhanced emulsifying activity indices, improved rheological properties, and distinct fibrous network formations characterized by scanning electron microscopy. The pH-dependent stabilization mechanisms of oat protein isolate (OPI)-based Pickering emulsions were systematically elucidated. Specifically, at pH11, emulsion droplet size was minimized to 0.93 μm through electrostatic repulsion effects, while Zeta potential registered a peak electronegativity of -62.69 mV , correlating with enhanced colloidal stability. Concurrently, emulsifying activity index (EAI) was quantified at $38.70\text{ m}^2/\text{g}$ under alkaline conditions. Lipid oxidation kinetics were significantly decelerated, emulsion stability was augmented through steric hindrance mechanisms, and free fatty acid release rate was elevated to 70.27% during *in vitro* digestion simulations. These findings validated that structurally stable Pickering emulsions could be successfully fabricated using OPI emulsifiers at pH 3, 9, and 11 via pH-modulated interfacial engineering. This investigation was projected to expand the functional applications of plant-derived proteins in emulsion-based delivery systems, while mechanistic insights into OPI's structure-function relationships were established as theoretical guidelines for designing bio-stabilized colloidal matrices.

Key words: oat protein isolate; Pickering emulsion; emulsification properties; rheological properties; *in vitro* digestion

Pickering 乳液是由固体颗粒吸附在油水界面形成屏障而稳定的乳液^[1], 具有环保性、无毒无害、易于降解、抗聚集稳定性^[2]和乳化剂用量少等优势。可以包埋递送脂溶性营养成分和生物活性物质^[3], 并提高功能成分的生物利用率^[4], 广泛应用于食品、制药和化妆品^[5]等领域。选择合适的乳化剂是形成和稳定 Pickering 乳液的关键因素之一。目前, 可食用的常见乳化剂有蛋白、脂肪和大分子多糖^[6]。其中, 植物蛋白质具有便宜、环保^[7]、营养价值高^[8]和出色的乳化性能^[6]等优势。通常被用于制备 Pickering 乳液。目前, 大豆蛋白^[9], 豌豆蛋白^[10]等已被用作乳化剂稳定 Pickering 乳液并进行广泛研究, 对于 OPI 稳定 Pickering 乳液的研究大多通过复配其他大分子物质。例如, 郑凯文^[11]将 OPI 与虫胶结合制备稳定的 Pickering 乳液的能力。汤辉煌^[12]将 OPI 与果胶在酸性条件下制备燕麦蛋白-果胶复合颗粒(OCPs)稳定的 Pickering 乳液。

OPI 主要包含清蛋白(12%)、球蛋白(70%~80%)、醇溶蛋白(4%~14%)和谷蛋白(10%), 是一种优质谷物蛋白^[13], 在燕麦中含量高达 16% 左右^[14]。它具有环保性^[15], 并且来源丰富, 易于提取。OPI 含有多种表面活性球蛋白(3S、7S、12S), 能够降低表面张力, 促进乳液的形成^[16]。其本身又具有一定的凝胶性和脂肪结合能力^[17]。pH 对蛋白稳定 Pickering 乳液性质的研究较多, 如 pH 对玉米醇溶蛋白^[18], 小麦蛋白^[19], 大豆蛋白^[20]等稳定 Pickering 乳液的性质

都有影响。并且对不同来源的蛋白质影响有所不同。pH 的变化导致可溶性或不可溶性聚集体形成, 而不溶性聚集体正是影响蛋白质在水相体系中溶解性以及稳定性的主要成分^[21]。故 pH 对 OPI 及其稳定 Pickering 乳液的影响有待进一步探索。

基于此, 本研究旨在探索 pH 对 OPI 及其稳定的 Pickering 乳液的影响。通过考察不同 pH(3、5、7、9 和 11)下 OPI 的微观形态和理化性质, 以及不同 pH 下 OPI 稳定的 Pickering 乳液的乳化活性、流变特性和消化特性等, 探讨 pH 对其稳定性的影响。本研究为制备 OPI 稳定的 Pickering 乳液提供了新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

燕麦 张家口燕昕食品有限公司; 葵花籽油 安徽中粮油脂有限公司; 尼罗蓝、尼罗红 上海麦克林生化科技有限公司; 十二烷基硫酸钠(SDS)、考马斯亮蓝 R-250 染色剂、其他试剂(均为分析纯) 天津科密欧化学试剂有限公司; 截留分子量 8000~14000 Da 的透析袋 北京索莱宝科技有限公司; 本文除特殊说明外均使用去离子水。

VCX750 型超声细胞破碎仪 美国声学与材料公司; Zetasizer Pro 型纳米粒度及 ZETA 电位分析仪 英国马尔文帕纳科公司; 环境扫描电子显微镜 美国赛默飞世尔科技公司; LSM900 型激光共聚焦显微镜 德国卡尔蔡司公司; ECLIPSE Ci-L 型生物

显微镜 尼康公司; UV-2800 型紫外-可见分光光度计 尤尼柯仪器有限公司; SYNERGY HTX 型酶标仪 美国伯腾仪器有限公司; JY600E 型电泳仪 美国伯乐公司; 全自动化学发光/荧光图像分析系统 上海天能科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 燕麦分离蛋白的提取 将干燥的燕麦碾磨过 100 目筛后, 用石油醚脱脂, 再用 80% 乙醇溶液反复浸泡, 直至上层液体无色, 晾干, 得到脱脂燕麦粉。将脱脂燕麦粉分散于去离子水 (1:12, w/v) 中, 用 1 mol/L NaOH 将 pH 调节至 10。磁力搅拌 2 h 以溶解其中的 OPI, 以 7000×g 离心 15 min。用 1 mol/L HCl 将上清液 pH 调节至 4.5, 并再次以 7000×g 离心 15 min。用去离子水洗涤两次后得到 OPI 沉淀, 将 OPI 沉淀溶解并倒入透析袋中透析数天, 直至透析液的 pH 呈现中性, 倒出 OPI 悬浮液, 冻干, 备用。根据凯氏定氮法^[22] 测得 OPI 粉末中的蛋白质含量为 97.84 g/100 g (N×5.83^[23]), 提取率为 52.27%。测得 OPI 的等电点为 pH4.5。

1.2.2 Pickering 乳液的制备 将 OPI (2%, w/w) 分散于去离子水中, 在室温下磁力搅拌 2 h 使其分散均匀。添加叠氮化钠 (0.02%, w/w) 作为抗微生物剂。充分溶胀后用 1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 调其 pH, 得到 pH 分别为 3、5、7、9 和 11 的 OPI 悬浮液后, 磁力搅拌 2 h 使 OPI 悬浮液完全水合, 4 ℃ 下冷藏 12 h。分别按油水比 3:7 加入葵花籽油, 经超声细胞破碎仪在 40% 振幅 (功率 300 W, 频率 20 Hz) 下以脉冲模式超声 1 min (超声时间 2 s, 间隙时间 2 s), 得到 Pickering 乳液。

1.2.3 燕麦分离蛋白的表征

1.2.3.1 溶解性 制备不同 pH (3、5、7、9 和 11) 下浓度为 2% 的 OPI 悬浮液。磁力搅拌 30 min 后, 5000×g 离心 15 min, 并收集上清液。以牛血清蛋白 (BSA) 为标准蛋白质溶液, 使用 BCA 蛋白测定试剂盒来测定上清液中的 OPI 含量。测定方法: 20 μL 样品溶液与 200 μL BCA 溶液在 96 孔板中混合后, 37 ℃ 下孵育 30 min。使用酶标仪在 562 nm 处测量混合物的吸光度^[24]。溶解度计算公式如下:

$$\text{溶解度}(\%) = \frac{\text{上清液中蛋白质含量}}{\text{原始样品中总蛋白含量}} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

1.2.3.2 粒径和 Zeta 电位 在室温下, 使用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测量不同 pH (3、5、7、9 和 11) 下 OPI 的粒径和表面电位。将 OPI 在相应 pH 的去离子水中稀释 100 倍, 设定水相折射率为 1.330, 计算 3 次测量的平均值。

1.2.3.3 内源性荧光光谱 将 OPI 悬浮液用 1 mol/L HCl 或 NaOH 调到相应的 pH (3、5、7、9 和 11)。实验参数设定为: 激发波长为 290 nm, 发射波长范围为 300~400 nm, 灵敏度设置为 2, 激发和发射狭缝宽

均为 5 nm, 以磷酸盐缓冲液为空白参考^[25]。

1.2.3.4 SDS-PAGE 分析 制备不同 pH (3、5、7、9 和 11) 下的 OPI 悬浮液, 分别与还原型上样缓冲液 4:1 混合, 并在沸水中加热 5 min 待用, 在进行 SDS-PAGE 分析时, 第一个泳道加入 4 μL marker, 其余泳道分别加入 15 μL 的混合物。在 80 V 和 110 V 条件下运行^[26]。电泳结束后, 使用含有考马斯亮蓝 R250 的染色液染色 4 h, 并用 40% 乙醇和 10% 乙酸的混合溶液脱色 4 h, 再用去离子水脱色直至条带清晰, 进行扫描分析。

1.2.3.5 扫描电镜 通过环境扫描电子显微镜对冻干后的粉末进行观察表征。将不同 pH (3、5、7、9 和 11) 下的 OPI 悬浮液冻干后的 OPI 粉末均匀地撒在导电胶上, 进行喷金 1 min, 在加速电压为 30 kV 的条件下将 OPI 放大 5000~10000 倍进行观察。

1.2.4 OPI 稳定的 Pickering 乳液的表征

1.2.4.1 乳化活性和乳化稳定性 将制备好的乳液立即取样, 取样点固定在离烧杯底部 0.5 cm 处, 取 40 μL 乳状液与 10 mL 0.1% (w/v) SDS 溶液均匀混合, 在 500 nm 波长处测定其吸光度值 (A_0), 乳状液静置 30 min 后, 采用相同的方法测定乳状液吸光度值 (A_{30}), 用 0.1% SDS 做空白对照。按照公式计算乳化活性 (EAI) 和乳化稳定性 (ESI):

$$\text{EAI}(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times T \times A_0 \times N}{2 \times a \times c \times \varphi \times 10000} \quad \text{式 (2)}$$

$$\text{ESI}(\text{min}) = \frac{A_0}{A_0 - A_{30}} \times 30 \quad \text{式 (3)}$$

式中: T=2.303; N 表示稀释倍数, 250; c 表示乳化液形成前蛋白质水溶液中蛋白质浓度, g/mL; φ 表示乳化液中油的体积分数, 0.3; a 表示光程, 1 cm。

1.2.4.2 乳液的粒径和 Zeta 电位 通过 ECLIPSE Ci 光学显微镜, 选择 10× 和 40× 物镜拍摄, 观察样品的形貌。根据液滴的大小, 通过 ImageJ^[27] 从放大 100 倍或 400 倍的图像中随机选择至少 250 个乳液液滴计算其平均液滴大小。在室温下, 将乳液在去离子水中稀释 100 倍, 使用纳米粒度及 Zeta 电位仪分析乳液的 Zeta 电位。测量 3 次计算平均值。

1.2.4.3 激光共聚焦显微镜 (CLSM) 使用蔡司 LSM 900 激光共聚焦显微镜对乳液的微观结构进行表征。取 20 μL 乳液样品, 加入 1 mL 0.1 mol/L SDS、20 μL 0.1% 尼罗红和 20 μL 0.1% 尼罗蓝, 混合均匀, 滴在载玻片上, 并用盖玻片覆盖。设置激发波长为 488 nm 和 633 nm^[28]。

1.2.4.4 乳液外观和乳析指数的测定 参考 Qi 等^[29] 的方法。将制备好的乳液在室温下贮藏 28 d, 拍下 0 d 和 28 d 的照片, 并观察乳液在贮藏期间的分层状态。分别记录乳液和水相的高度, 分析不同乳液的乳析指数:

$$CI(\%) = \frac{H_s}{H_t} \times 30 \quad \text{式 (4)}$$

式中: H_s 表示析出水的高度, cm; H_t 表示乳液的总高度, cm。

1.2.4.5 流变特性分析 使用流变仪分析不同 pH (3、5、7、9 和 11)下的 OPI 稳定 Pickering 乳液乳化层的流变学性质。

稳态流动曲线: 参考 Li 等^[30]的方法并稍作修改。测试在 25 °C 下均匀预热 5 min, 剪切速率从 0.1~100 s⁻¹ 按对数增加, 记录黏度随剪切速率变化曲线。

频率扫描: 参考雷丹丹等^[31]的方法并稍作修改。固定应变为 0.1%, 温度为 25 °C, 测量头间隙 1 mm, 频率变化设定为 0.01~10 Hz。测定 Pickering 乳液的储能模量(G')和损耗模量(G'')随频率变化关系。

1.2.4.6 氧化稳定性 初级氧化产物(POV): 测定初级氧化产物参照马昉新等^[32]的方法, 并稍作修改。将 1.0 mL 乳液和 5.0 mL 异辛烷/异丙醇(3:1, v/v)在 15.0 mL 离心管中混合并涡旋 3 次(10 s/次), 使用冷冻离心机将样品离心(4 °C, 5000×g, 10 min)。离心后, 取 200.0 μL 上清液, 与 2.8 mL 甲醇/正丁醇混合物(2:1, v/v)混合, 将混合物中添加 40.0 μL 3.94 mol/L 硫氰酸铵和 40.0 μL Fe²⁺溶液(通过混合 0.132 mol/L 氯化钡和 0.144 mol/L 硫酸亚铁, 1:1, v/v 制备)。将样品涡旋并在黑暗中孵育 20 min 后将样品转移至石英比色皿(光路, 1.0 cm)中。使用 UV5 紫外-可见分光光度计在 510 nm 处测吸光度。使用过氧化氢标准曲线来计算每个样品中的最终氢过氧化水平。

次级氧化产物(TBARS): 次级氧化产物的测定参照 Chen 等^[33]的方法, 并稍作修改。将 3.0 mL 乳液和 6.0 mL 硫代巴比妥酸混合物(15%TCA 和 0.375%TBA 混合在 0.25 mol/L HCl 中)混合, 将混合物涡旋并煮沸 30 min。取冷却后的反应产物 3.0 mL 与 3.0 mL 三氯甲烷在 15.0 mL 离心管中混合, 使用冷冻离心机将混合物离心(4 °C, 10000×g, 10 min)。最后取上清液转移至石英比色皿(光路, 1.0 cm)中, 使用 UV 紫外-可见分光光度计在 532 nm

处测吸光度。通过使用 1,1,3,3-四乙氧基丙烷标准曲线计算每个样品的 TBARS 水平。

1.2.4.7 体外消化特性 根据 Minekus 等^[34]方法, 按表 1 制备模拟唾液(SLF)、模拟胃液(SGF)或模拟肠液(SIF)等各种消化液的电解质储备液, 将电解质溶液中的 NaHCO₃ 以相同摩尔比替换为 NaCl^[35], 并用 HCl(10.0 mol/L)和 NaOH(1.0 mol/L)调节电解质储备液的 pH, 在体外消化的每个阶段(口服、胃和肠道)之后, 分别取适量模拟口腔、胃和模拟小肠消化后的乳液, 用于观察微观结构。

口腔消化阶段: 将不同乳液样品分别取 5.0 mL (25.0 mg/mL)与 3.5 mL SLF 混合在 50.0 mL 离心管中。向每个试管中加入 0.5 mL α -唾液淀粉酶溶液(1500.0 U/mL)后, 加入 25.0 μL CaCl₂(0.3 mol/L)和 975.0 μL 蒸馏水充分混合。将混合后的溶液置于 37 °C 的恒温培养箱振荡器中, 并以 300 r/min 连续搅拌 2 min。

胃消化阶段: 模拟口腔消化后, 将 10.0 mL 上述口腔消化液与 7.5 mL SGF、1.6 mL 猪胃蛋白酶储备液(25000.0 U/mL)、10.0 μL CaCl₂(0.3 mol/L)和 0.695 mL 蒸馏水混合。使用 HCl(1.0 mol/L)将混合物的最终 pH 调节至 3.0, 以模拟胃消化环境。最后, 将混合物在 37 °C 下以 300 r/min 连续搅拌 2 h。

肠道消化阶段: 模拟胃消化后, 将乳液样品的 20.0 mL 胃消化产物与 11.0 mL SIF、5.0 mL 胰酶溶液(100.0 U/mL)、40.0 μL CaCl₂(0.3 mol/L)、3.81 mL 蒸馏水和 0.15 mL NaOH(1.0 mol/L)混合, 调节 pH 至 7 后, 将最终混合物在 37 °C 下连续搅拌 2 h, 此过程产生的游离脂肪酸会导致体系的 pH 降低。故使用 10 mL 滴定管连续加入 0.1 mol/L NaOH, 以保持 pH 稳定在 7。记录消化过程中加入 NaOH 的量。并使用下式计算脂肪酸释放率:

$$\text{脂肪酸释放率}(\%) = \frac{V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \times M_{\text{oil}}}{W_{\text{oil}} \times 2} \times 100 \quad \text{式 (5)}$$

式中: V_{NaOH} 表示消耗的体积, L; C_{NaOH} 表示浓度, mol/L; M_{oil} 表示油相的平均相对分子量, g/mol; W_{oil} 表示存在于乳液中的油相的含量, g。

表 1 模拟唾液(SLF)、模拟胃液(SGF)和模拟肠液(SIF)中电解质浓度

Table 1 Electrolyte concentrations in simulated saliva (SLF), simulated gastric fluid (SGF) and simulated intestinal fluid (SIF)

组成	浓度(mol/L)	SLF(pH7.0)		SGF(pH3.0)		SIF(pH7.0)	
		体积(mL)	最终浓度(mol/L)	体积(mL)	最终浓度(mol/L)	体积(mL)	最终浓度(mol/L)
KCl	0.5	15.1	15.1	6.9	6.9	6.8	6.8
KH ₂ PO ₄	0.5	3.7	3.7	0.9	0.9	0.8	0.8
NaHCO ₃	1.0	6.8	13.6	12.5	25	42.5	85
NaCl	2.0			11.8	47.2	9.6	38.4
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0.15	0.5	0.15	0.4	0.12	1.1	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	0.5	0.06	0.06	0.5	0.5		
HCl	6.0	0.09	1.1	1.3	15.6	0.7	8.4
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0.3	0.025	1.5	0.005	0.15	0.04	0.6

1.3 数据处理

试验结果用平均值±标准差表示。SPSS 26.0 统计软件对试验数据进行单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)和邓肯(Duncan)多重比较,当 $P<0.05$ 时表示差异显著。采用 Origin 2018 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 不同 pH 下 OPI 的表征

2.1.1 溶解度 不同 pH(3、5、7、9 和 11)下 OPI 的溶解度如图 1(A)所示。pH 为 5 时, OPI 的溶解度低至 $0.57\% \pm 0.05\%$ 。这可能是由于蛋白质在等电点附近, 表面净电荷接近于零, 分子相互之间的静电斥力小, 颗粒碰撞后发生絮凝, 产生沉淀, 溶解度小。pH 为 7 时, 蛋白溶解度为 $4.54\% \pm 0.13\%$, pH 为 3、9 和 11 时, OPI 的溶解度显著升高($P<0.05$), 最高约 12.96%。这可能是由于远离等电点时, 酸或碱处理

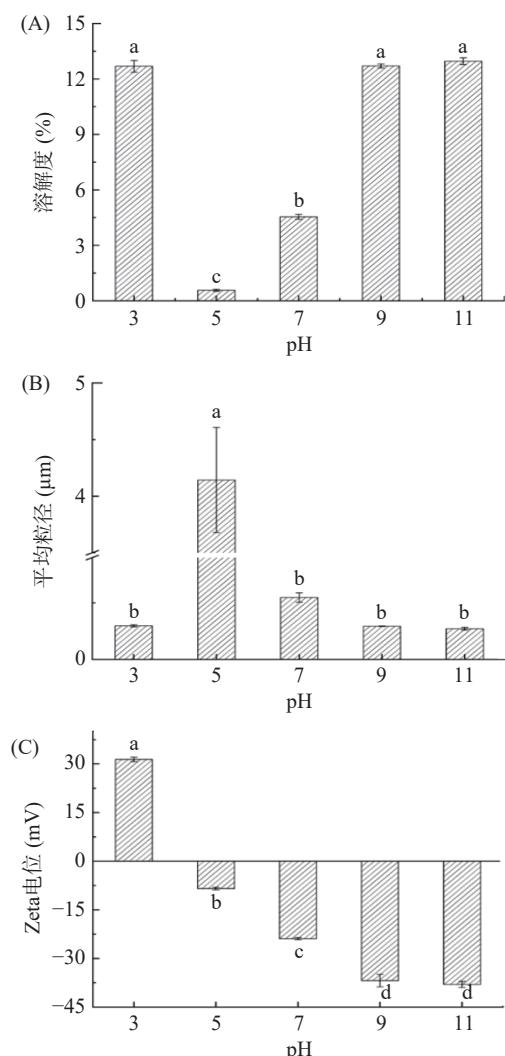


图 1 不同 pH 下 OPI 的溶解度(A)、平均粒径(B)和 Zeta 电位(C)

Fig.1 Solubility (A), average particle size (B) and Zeta potential (C) of OPI at different pH

注: 小写字母不同代表不同 pH 下样品存在显著差异($P<0.05$), 图 5~图 6、图 11 同。

破坏了 OPI 聚集体, 使 OPI 颗粒能够更好的分散。在水溶液中, OPI 表面积较大, 从而增加了水-蛋白质相互作用的能力, 能够更好地水合^[24]。也可能是酸性或碱性环境导致 OPI 的结构展开, 提供了更多的水结合位点。张庆等^[36]的研究中, pH 下降使大分子蛋白质解聚, 二硫键断裂, OPI 的溶解度增加。

2.1.2 粒径和 Zeta 电位 如图 1(B)所示, 随着蛋白溶液 pH 的升高, OPI 的粒径先增大后减小。pH 为 5 时粒径最大, 约 $4.14 \mu\text{m}$ 。这可能是由于在等电点附近, 蛋白表面电荷几乎为零, 液滴之间静电斥力较低, 蛋白颗粒形成较大的聚集体, 蛋白溶解度降低。pH 为 7 时, 蛋白粒径显著减小至 $0.55 \mu\text{m}$ ($P<0.05$)。pH 为 3、9 和 11 时, OPI 的粒径最小为 $0.27 \mu\text{m}$, 且相互之间无显著差异($P>0.05$)。这可能是由于在等电点附近, 蛋白表面电荷几乎为零, 液滴之间静电斥力较低, 蛋白颗粒形成较大的聚集体, 蛋白溶解度降低。当溶液的 pH 远离蛋白等电点时, 蛋白分子间的电荷数增多, 分子之间的静电斥力增加导致蛋白分散, 溶解度升高, 这与图 1(A)结果相一致。

如图 1(C)所示, 随着蛋白溶液 pH 的升高, Zeta 电位从正值变为负值。这可能是由于当蛋白溶液 pH 低于等电点时, 氨基基团带正电荷, 羧基基团呈中性。当蛋白溶液 pH 高于等电点时, 氨基基团呈中性而羧基基团带负电荷。Zeta 电位绝对值先减小后增大。pH 为 5 时, Zeta 电位绝对值低至 8.43 mV 。pH 远离等电点时, Zeta 电位的绝对值逐渐增大, 最大约为 38.01 mV 。这可能是由于 pH 远离等电点时, 表面所带的电荷较多, 电荷间的静电斥力会使 OPI 溶液更稳定, 聚集减少, 蛋白的溶解度增大。

2.1.3 内源性荧光光谱 OPI 的荧光峰实际上是色氨酸残基的荧光峰, 内源性荧光分析可以反映蛋白质小分子之间相互作用的信息^[37]。由图 2 可知, 在不同的 pH 条件下, OPI 具有不同的荧光强度。pH 为 3 和 11 时, 蛋白荧光强度较低, 分别为 772.64 a.u. 和 820.55 a.u.。可能是由于酸或碱处理导致蛋白质变性, 色氨酸残基广泛暴露于亲水环境, 引起荧光猝灭^[38]。当 pH 从 3 增加到 5 时, 观察到最大发射波长的红移(从 335.2 nm 移至 334.4 nm 处)。可能是由

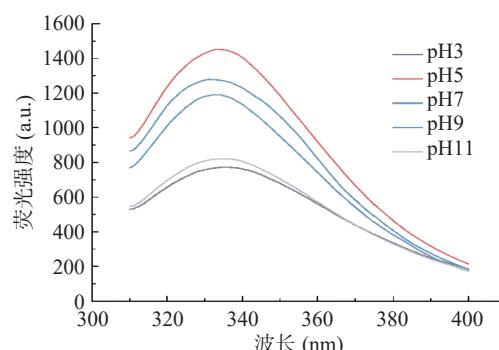


图 2 不同 pH 下 OPI 的内源性荧光光谱

Fig.2 Endogenous fluorescence spectra of OPI at different pH

于蛋白质分子聚集膨胀, 减少了内部荧光猝灭。pH 从 7 增加到 11 时, 最大发射波长出现明显的蓝移(从 331.4 nm 移至 335.4 nm 处)。这可能是由于酸或碱处理导致蛋白质的三级或四级结构发生改变, 色氨酸残基暴露, 使得发射波长变大^[39]。

2.1.4 SDS-PAGE 分析 不同 pH 下 OPI 的电泳图谱如图 3 所示。OPI 在 15~75 kDa 之间有 6 个条带。36 kDa 和 22 kDa 条带分别对应 12 S 球蛋白的酸性亚基与碱性亚基, 该蛋白是 OPI 的主要储藏蛋白。吴寒等^[40]的结果中, OPI 泳道的条带集中在 27.76~35.08 kDa 和 21.18~23.83 kDa 之间, 这与其他学者的研究结论一致^[41]。其中 65 kDa 和 55 kDa 可观察到的条带是 7S 球蛋白的成分。29~30 kDa 对应清蛋白, 在 43~50 kDa 之间观察到燕麦谷蛋白亚基^[13]。该结果表明提取的 OPI 中主要是燕麦球蛋白和部分清蛋白以及谷蛋白。

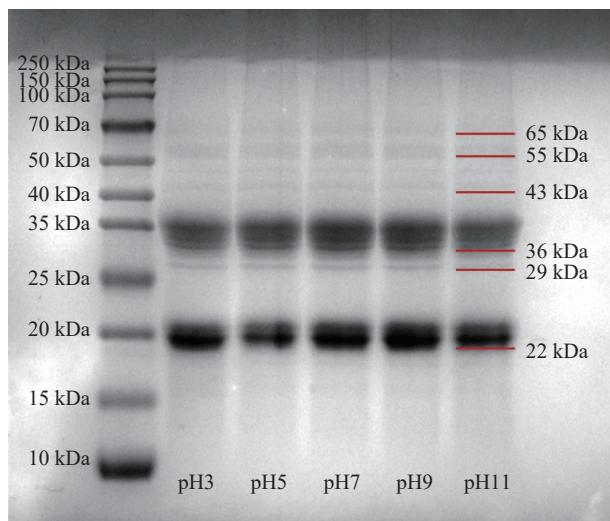


图 3 不同 pH 下 OPI 的凝胶电泳
Fig.3 Gel electrophoresis of OPI at different pH

2.1.5 扫描电镜观察结果 如图 4 所示, 可以观察到 pH 为 5 和 7 时, 悬浊液为乳白色。其他组(pH 为 3、9 和 11)的悬浊液呈现不同程度的棕色。这是由于肽键-CONH 在酸或碱的作用下发生断裂, 致使

蛋白构象发生变化。蛋白质分子的电离状态发生改变, 从而导致颜色和沉淀的变化。静置 1 h 后, pH 为 5、7 和 9 的蛋白悬浊液出现不同程度的分层。这是由于溶液的 pH 靠近蛋白等电点时, 蛋白溶解度较低, 粒径较大, 这与上述图 1(A)结果相一致。在不同 pH 下, OPI 的微观形貌存在较明显的差别。在 pH 为 5 时, 蛋白溶解度低, 颗粒倾向于球形结构, 比远离等电点的其他 pH(3、7、9 和 11)处出现更多的纤维结构和更粗糙的表面。这可能是由于在等电点附近 OPI 分子间的静电斥力减小, 以颗粒形式聚沉析出。在 pH 为 3、7、9 和 11 时蛋白颗粒形成层状结构, 这可能是由于 OPI 在远离等电点的 pH 溶解度较高, 从而在干燥过程中形成层状结构。也可能是由于蛋白的 pH 远离等电点时, 蛋白表面的电荷就越多。由于静电排斥较小, 带电极性基团的侧链和亚基趋于展开, 形成柔性构象^[42]。远离等电点时, OPI 的亲水基团暴露较多, 导致 pH 为 3 和 11 的蛋白显示更多的纤维结构, 具有较大的纵横比。

2.2 不同 pH 下 OPI 稳定 Pickering 乳液的特性

2.2.1 乳液的乳化活性和乳化稳定性 不同 pH 下 OPI 稳定的 Pickering 乳液乳化活性指数(EAI)和乳化稳定性指数(ESI)的变化见图 5。随着体系 pH 的升高, 乳液的 EAI 和 ESI 先降低后增加。体系 pH 为 5 时, 乳液的 EAI 和 ESI 分别为 $6.13 \pm 0.70 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $176.52 \pm 17.80 \text{ min}$ 。乳液乳化活性最低。这是由于接近 OPI 等电点, 蛋白质分子间静电斥力较弱, 溶解度较低, 蛋白质发生絮凝沉淀, 无法吸附于油水界面。体系 pH 为 3、9 和 11 的乳液的乳化活性和稳定性较好。尤其体系 pH 为 11 时, EAI 和 ESI 分别为 $38.70 \pm 0.35 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $1271.36 \pm 72.48 \text{ min}$, 此时乳化活性最高。这是由于 pH 高于或低于蛋白质等电点时, OPI 携带净负电荷或净正电荷, 分子间静电斥力增加, 蛋白溶解度较高, Zeta 电位绝对值较大, 乳液乳化性能增强。刘炯娜等^[43]的研究中也发现了类似结果, 核桃蛋白纳米颗粒 Pickering 乳液在 pH 为 8.0 时乳化活性最大 $32.79 \text{ m}^2/\text{g}$ 。

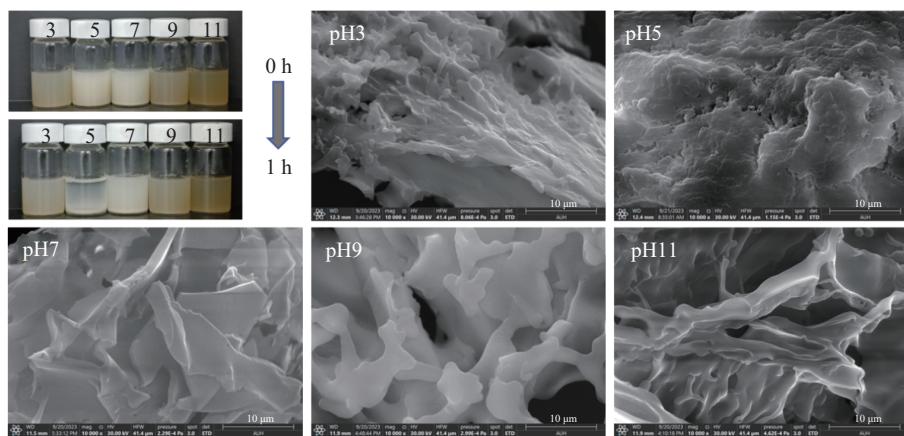


图 4 不同 pH 下 OPI 的悬浊液状态和扫描电镜观察
Fig.4 State of OPI suspensions and scanning electron microscopy images under different pH conditions

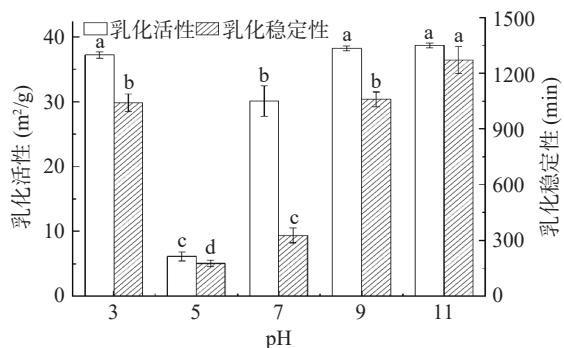


图 5 不同 pH 下 OPI Pickering 乳液的乳化活性和乳化稳定性

Fig.5 Emulsifying activity and stability of OPI Pickering emulsion at different pH

2.2.2 乳液的粒径和 Zeta 电位 由图 6(A) 和图 6(B) 可知, 随着体系 pH 的增加, 乳液的粒径先增大后减小。电位由正值变为负值。pH 为 3、9 和 11 时, 粒径均小于 $1.19 \mu\text{m}$, 且无显著差异 ($P > 0.05$)。pH 为 5 时, Zeta 电位绝对值为 $24.97 \pm 3.20 \text{ mV}$ 。液滴之间的静电斥力小, OPI 溶解度低, 液滴粒径大, 易发生聚集, 乳液不稳定。体系 pH 为 7 时, Zeta 电位绝对值为 $33.47 \pm 0.28 \text{ mV}$, 乳液相对稳定。酸或碱处理后, Zeta 电位绝对值均高于 39.2 mV 。蛋白包裹的液滴表面净电荷量增大, 液滴之间的静电斥力增大, 能使液滴之间保持平衡而不发生聚集, 液滴分布均匀。尤其体系 pH 为 3、9 和 11 时, OPI 溶解度较高, Zeta 电位绝对值较高, 乳液粒径较小, 乳液较稳定。体系 pH 为 11 时, Zeta 电位绝对值高达 $62.69 \pm 1.55 \text{ mV}$, 乳液最稳定。结果表明, pH 为 5 时, OPI

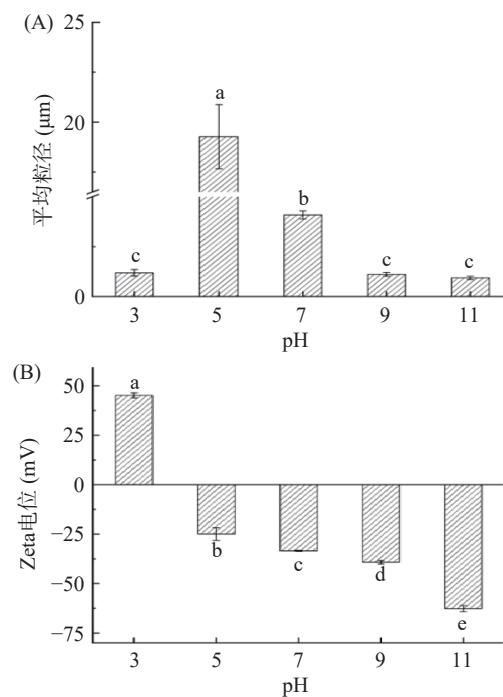


图 6 不同 pH 下 OPI Pickering 乳液的平均粒径 (A) 和 Zeta 电位 (B)

Fig.6 Average particle size (A) and Zeta potential (B) of OPI Pickering emulsion at different pH

颗粒发生聚集, 不容易形成稳定的 Pickering 乳液。其他 pH(3、7、9 和 11)下 OPI 颗粒都能很好地稳定 Pickering 乳液。Karolina 等^[44]的研究中, 远离蛋白等电点的乳液粒径较小, Zeta 电位绝对值较高, 与本实验结果一致。

2.2.3 激光共聚焦扫描显微镜 通过激光共聚焦扫描显微镜有助于明确蛋白质颗粒在油水界面处的定位, 并判断乳液的类型。如图 7 所示, 绿色的油滴外均匀的吸附了一层红色的蛋白颗粒, 表明形成了稳定的水包油 Pickering 乳液。Zhang 等^[45]的研究与此结论一致。随着体系 pH 的增大, 乳液的粒径先增大后减小。体系 pH 为 5 时, 蛋白表面电荷较低, 颗粒粒径较大, 溶解度较低。形成的乳液液滴分布不均匀, 尺寸不规整, 液滴边缘和水相中均存在粒径较大的蛋白质聚集体。不能有效地稳定油水界面。这与溶解度结果相一致。而体系 pH 在 3、7、9 和 11 时, OPI 溶解度较高, Zeta 电位绝对值较大, 制备的乳液粒径较小, 液滴分布较均匀。水相中的 OPI 聚集体较少, 油滴界面均吸附着红色的蛋白膜。表明蛋白有效吸附在油水界面。这些结果表明, 酸或碱处理改善了 OPI 稳定乳液的微观结构和液滴分布。

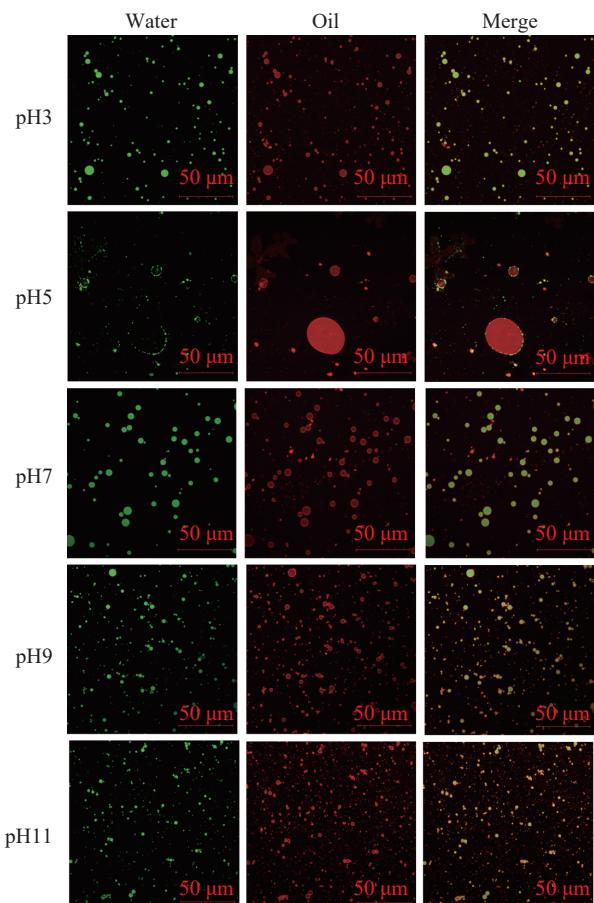


图 7 不同 pH 下 OPI Pickering 乳液的激光共聚焦显微镜图

Fig.7 Laser confocal microscopy of OPI Pickering emulsion at different pH

2.2.4 乳液的外观和乳析指数 不同体系 pH 下, 乳液在室温静置 28 d 的外观及乳析指数见图 8(A) 和

图 8(B), 体系 pH 为 5 时, 制备的乳液短时间内出现分层现象, 24 d 后乳析指数达到 $38.10\% \pm 0.55\%$, 说明乳液不稳定。其他组(pH 为 3、7、9 和 11)乳液静置 3 d 并无明显分层, 静置 28 d 后, 乳析指数均低于 8.70%。其中, 体系 pH 为 3 和 11 时, 乳液在储藏期间无明显分层, 乳液稳定性较高。分析原因可能是体系 pH 为 5 时, 蛋白溶解度较低, 表面电荷减少, 液滴聚集, 乳液粒径较大, 乳液絮凝分层^[46]。酸或碱处理后, 蛋白溶解度较高, 粒子间电荷排斥力升高, 分散性较好, 导致乳液粒径较小, 乳液较稳定。

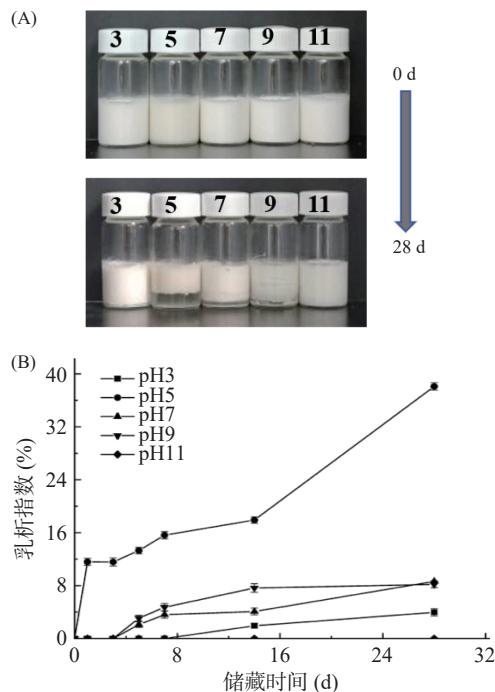


图 8 不同 pH 下 OPI Pickering 乳液贮存 0 d 和 28 d 的外观 (A) 和乳析指数(B)

Fig.8 Appearance of OPI Pickering emulsion stored at different pH for 0 d and 28 d (A) and creaming index (B)

2.2.5 流变特性 不同体系 pH(3、5、7、9 和 11)下的乳液表观黏度如图 9(A)。表观黏度随着剪切速率的增加而降低, 表明乳液产生剪切稀化行为^[47]。在剪切力作用下, 粒子产生流动, 乳液粒子的结构被破坏, 网络结构弱化, 导致这些分子在一定程度上被分离出来。体系 pH 为 5 时, 乳液的初始表观黏度最大。这可能是由于乳液粒径大, 分子间相互排斥力较弱, 颗粒极易凝聚, 这些聚合物溶液具有较大的内部阻力阻碍流动。反之, 体系 pH 为 3、9 和 11 时, 表观黏度较小。这可能是由于远离等电点, 蛋白溶解度高, 颗粒间静电斥力大, 乳液粒径小, 分散性好, 表观黏度较小。总体来看, 在不同 pH 条件下的乳液黏度都较小, 乳液流动性较强。

不同体系 pH(3、5、7、9 和 11)下的乳液在 0.5~10 Hz 频率下的储能模量(G')和损耗模量(G")变化如图 9(B)所示。相同 pH 条件下乳液的 G'值高于整个频率范围内的 G"值, 表明乳液为黏弹性结

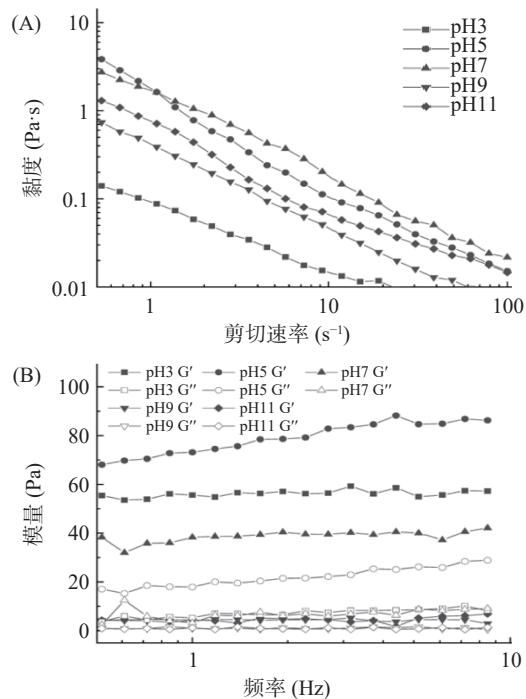


图 9 不同 pH 下 OPI Pickering 乳液的表观黏度(A)和模量(B)

Fig.9 Apparent viscosity (A) and modulus (B) of OPI Pickering emulsion at different pH

构^[48]。从整体来看, 体系 pH 为 5 的乳液 G' 和 G" 大于其他 pH 下的乳液。并且随着频率的增加, 乳液模量也随之上升。这是由于此条件下乳化剂无法稳定油水界面, 较大粒径的乳液对剪切力具有较强的抵抗作用。其他组乳液的 G' 和 G" 几乎不受频率的影响, 表明在整个频率范围内, 乳液具有相对较高的凝胶强度。随着体系 pH(3、7、9 和 11)的升高, 乳液的模量(G' 和 G")降低。可能是由于乳液表面电荷增加、粒径较小, 导致凝胶强度降低。

2.2.6 乳液的氧化稳定性 过氧化氢值(POV)反映了油脂中氢过氧化物的含量, 是衡量油脂质量的一个关键理化指标^[45]。储藏 14 d 内五组乳液的 POV 值变化如图 10(A)所示。随着储存时间的延长, 乳液的 POV 值呈持续增长的趋势。体系 pH 为 3 时, 乳液在 7~10 d 氧化速度较快, 10 d 时达到了 4.80 ± 0.04 mmol/kg, 14 d 后 POV 值增加到了 6.79 ± 0.10 mmol/kg, 这可能是由于 pH 为 3 的蛋白带负电荷, 体系更容易发生氧化反应。体系 pH 为 5 时, 乳液的氧化产物浓度为 2.69 ± 0.04 mmol/kg。这是由于 pH 在蛋白等电点附近时, 分子间静电斥力减弱, 颗粒凝聚而产生沉淀, 蛋白不能很好地包裹油脂, 这增加了油脂和氧气的接触, 发生了油脂氧化反应。其他组乳液在储藏 14 d 后 POV 值均低于 1.73 ± 0.03 mmol/kg。可能是由于碱性条件下, H^+ 浓度太低, 不易发生氧化反应。

五组乳液的次级氧化产物(TBARS)变化如图 10(B)所示。乳化表现较好的乳液(pH 为 3 和 11)对 TBARS 的抑制作用上要弱于体系 pH 为

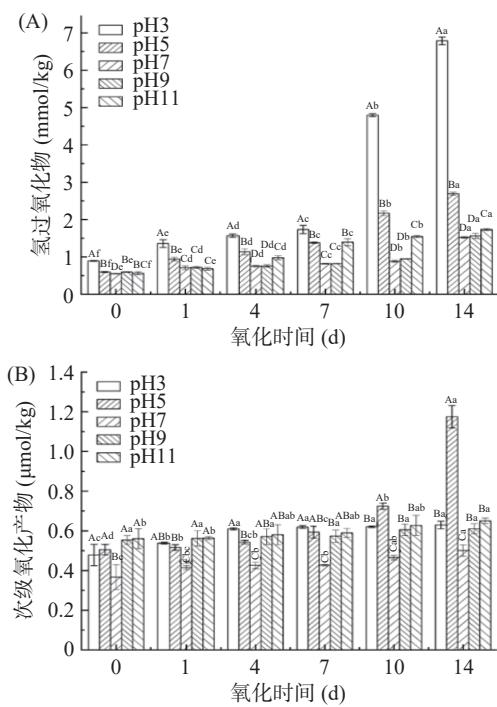


图 10 不同 pH 下 OPI Pickering 乳液的过氧化氢值(A)和次级氧化产物(B)

Fig.10 Hydrogen peroxide value (A) and secondary oxidation products (B) of OPI Pickering emulsion at different pH

注: 小写字母不同代表不同氧化时间下, 同一样品之间存在显著差异($P<0.05$); 大写字母不同代表相同氧化时间下, 不同样品之间存在显著差异($P<0.05$)。

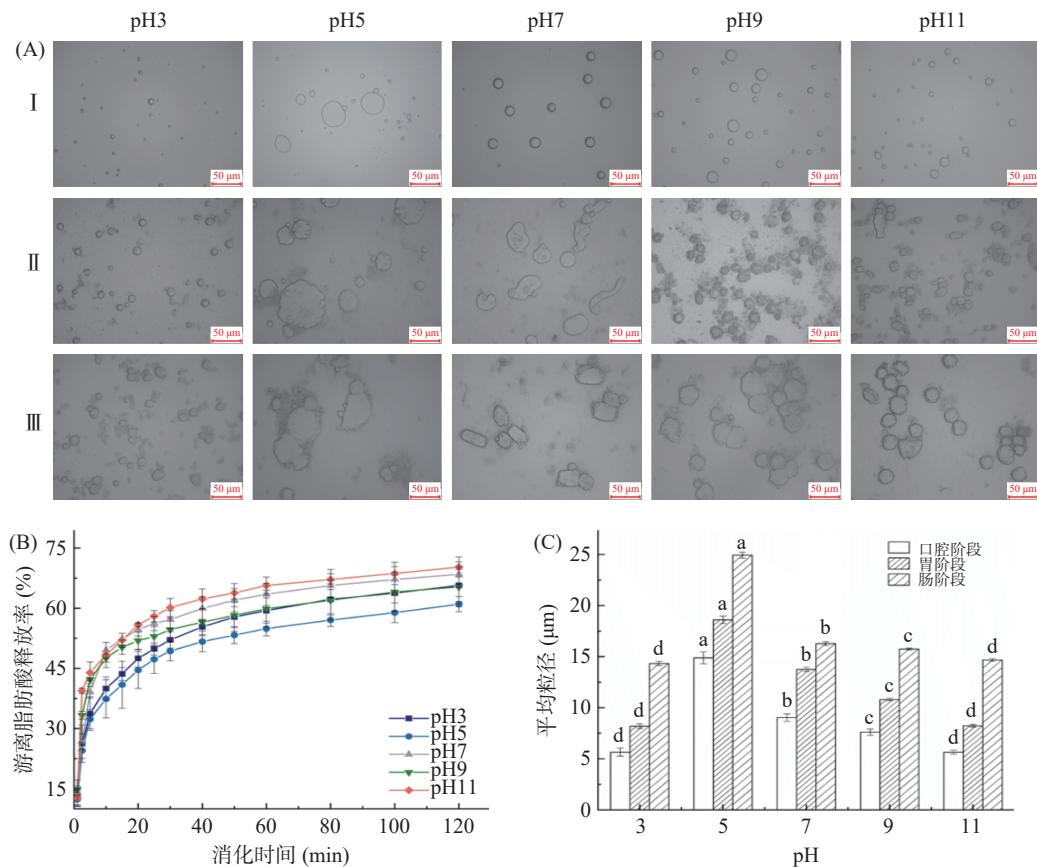


图 11 不同 pH 下 OPI Pickering 乳液的体外消化

Fig.11 *In vitro* digestion of OPI Pickering emulsion at different pH

注: (A)显微镜图, (B)游离脂肪酸释放率, (C)三个阶段液体粒径。

7 和 9 的乳液。体系 pH 为 11 时, TBARS 含量最高为 $0.65\pm0.01 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 。这是由于乳液液滴能够相对均匀地分散在体系中, 能较多机会地接触到氧分子, 以引起油脂氧化反应。体系 pH 为 5 时, 贮藏 14 d 后 TBARS 含量达到 $1.18\pm0.06 \mu\text{mol}/\text{kg}$, 氧化最严重。这可能与乳液在蛋白等电点处的聚集有关。体系 pH 为 7 时, TBARS 含量最少, 14 d 仅有 $0.50\pm0.03 \mu\text{mol}/\text{kg}$ 。表明中性条件下乳液的氧化稳定性最高。其原因可能是 OPI 的粒径较小, 在油水界面处可负载的颗粒数量较多。形成了一个较厚的物理边界层, 致密的三维网状结构能够防止脂质氧化引发剂渗透到油相中, 同时抑制了氢过氧化物和自由基等在脂质内部的扩散迁移^[49]。以上结果表明, OPI 稳定的 Pickering 乳液在中性条件下具有更好的抗氧化性。而脂质氧化在体系 pH 为 11 时比 pH 为 3 时慢, 这归因于 OPI 稳定的 Pickering 乳液在碱性条件下具有更高的抗氧化活性。这些结果强调了界面组成和溶液 pH 对乳液氧化稳定性的重要性。Taherian 等^[50]研究发现, 在 pH 为 3.4 时, 乳清蛋白分离物稳定乳液的较低表面电荷和较高表面积促进了脂质氧化和己醛的产生。与本实验结果一致。

2.2.7 体外消化特性 不同体系 pH(3、5、7、9 和 11)下的乳液的体外消化结果见图 11, 乳液的微观状态变化趋势基本一致。三个阶段乳液的粒径均有不

同程度的增大。在口腔阶段, 乳液液滴均没有明显变化, 这可能是由于在模拟口腔阶段的时间相对较短。胃部消化结束时, 乳液液滴部分被分解, 消化液呈淡黄色, 液面未见大油滴漂浮, 粒径稍有增加, 乳液液滴开始破裂。这是由于在模拟胃液中, 乳液受 pH、酶和盐离子浓度的影响。也可能是存在的强酸和胃蛋白酶对蛋白质界面层造成了一定程度的破坏。肠消化阶段, 体系 pH 会在较短时间升高到 7 左右。乳液液滴表面会带大量负电荷, 其静电排斥作用增强, 油相和 OPI 发生明显分离。这可能是肠道中的胰酶渗透到微粒中, 导致其界面层受到侵蚀, 油相不能被很好的覆盖和保护。小肠消化结束时, 乳液粒径明显增加。

不同体系 pH 的乳液在模拟小肠消化阶段的游离脂肪酸释放率(FFA)曲线如图 11(B)所示。在消化 120 min 左右时, 体系 pH 为 5 和 11 的乳液 FFA 分别为 $61.03\% \pm 1.89\%$ 和 $70.27\% \pm 2.51\%$ 。表明油滴外包裹的蛋白质层不会阻碍肠道对 FFA 的吸收, 但是不同体系 pH 的乳液消化速率有所不同。体系 pH 为 5 时, 乳液消化速率最低, FFA 低至 $61.03\% \pm 1.89\%$ 。可能是由于 pH 在 OPI 等电点处, 界面容易形成更多的蛋白质聚集体, 以抵抗蛋白酶的消化, 最终粒径达到 $24.93 \pm 0.29 \mu\text{m}$ 。而其他组在肠消化阶段粒径最高约为 $16.27 \mu\text{m}$ 。体系 pH 为 3 和 7 时, FFA 分别为 $65.70\% \pm 4.03\%$ 和 $68.44\% \pm 3.10\%$ 。表明在极酸或中性环境下制备的乳液, 可以减少胰脂肪酶通过界面颗粒扩散或渗透到油滴表面, 从而相对减缓活性物质的释放^[5]。除了 pH 在等电点附近的乳液以外, 其他乳液中的脂肪酸最终释放率都在 $65.33\% \pm 4.93\%$ 以上, 可以实现人体的有效利用。

3 结论

本文考察了不同 pH(3、5、7、9 和 11)下 OPI 及其稳定的 Pickering 乳液的理化性质。结果表明, 可以通过调节 pH 改变蛋白的分子结构, 以改善其乳化活性, 并获得稳定性更高的 Pickering 乳液。当 pH 远离等电点时, 蛋白间的疏水作用降低, 溶解度得到改善, 蛋白的三级结构展开, 加强了其凝胶网络结构, 乳液的乳化活性也随之增强, 粒径和表观黏度随之减小。此外, pH 为 11 时, Pickering 乳液的综合性能最佳, EAI 达 $38.70 \text{ m}^2/\text{g}$, 平均粒径仅为 $0.93 \mu\text{m}$, 乳析指数较低。本研究也为 OPI 作为乳化剂稳定 Pickering 乳液提供理论参考, 在蛋白、乳液体系等食品工业中具有理论指导意义以及潜在的应用价值。然而, 本研究仅表征了乳液的特性, 针对包埋活性物质以提高生物利用率等实际应用的研究还有待进一步探讨。

参考文献

- [1] ZHANG S, XU J M, CHEN J H, et al. Protein nanoparticles for Pickering emulsions: A comprehensive review on their shapes, preparation methods, and modification methods[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 113: 26–41.
- [2] WU C, LIU Z, LIN Z Y, et al. Research progress of food-grade high internal phase pickering emulsions and their application in 3D printing[J]. *Nanomaterials*, 2022, 12(17): 2949.
- [3] 温靖, 张炜, 徐玉娟, 等. 基于植物基纳米纤维素 Pickering 乳液在递送体系中的应用研究进展[J]. *南方农业学报*, 2023, 54(2): 564–574. [WEN J, ZHANG W, XU Y J, et al. Research progress on the application of plant-based nanocellulose pickering emulsions in delivery systems[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2023, 54(2): 564–574.]
- [4] FU D W, DENG S M, MCCLEMENTS D J, et al. Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 89: 80–89.
- [5] SHARKAWY A, BARREIRO M F, RODRIGUES A E. New Pickering emulsions stabilized with chitosan/collagen peptides nanoparticles: Synthesis, characterization and tracking of the nanoparticles after skin application[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021, 616: 126327.
- [6] TIAN Y C, SUN F W, WANG Z Y, et al. Research progress on plant-based protein Pickering particles: Stabilization mechanisms, preparation methods, and application prospects in the food industry[J]. *Food Chemistry*, 2024, 21: 101066.
- [7] KAMALESH R, VIJAYASRI K, THIRUVENGADAM S. Seaweeds, an aquatic plant-based protein for sustainable nutrition-A review[J]. *Future Foods*, 2022, 5: 100142.
- [8] WANG C Z, WU J H, WANG C H, et al. Advances in Pickering emulsions stabilized by protein particles: Toward particle fabrication, interaction and arrangement[J]. *Food Research International*, 2022, 157: 111380.
- [9] GAO T T, LIU J X, GAO X, et al. Stability and digestive properties of a dual-protein emulsion system based on soy protein isolate and whey protein isolate[J]. *Foods*, 2023, 12(11): 2247.
- [10] KRSTONOŠIĆ V S, KALIĆ M D, DAPČEVIĆ-HAD-NADEV T R, et al. Physico-chemical characterization of protein stabilized oil-in-water emulsions[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2020, 602: 125045.
- [11] 郑凯文. 燕麦蛋白-虫胶纳米颗粒稳定 Pickering 乳液的机制研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2023. [ZHENG K W. Research on the mechanism of oat protein-chitosan nanoparticles stabilizing pickering emulsions[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2023.]
- [12] 汤辉煌. 燕麦蛋白-果胶 Pickering 乳液和凝胶的性能及应用研究[D]. 天津科技大学, 2022. [TANG H H. Research on the properties and applications of oat protein-pectin pickering emulsions and gels[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2022.]
- [13] MEL R, MALALGODA M. Oat protein as a novel protein ingredient: Structure, functionality, and factors impacting utilization [J]. *Cereal Chem*, 2022, 99(1): 21–36.
- [14] KUMAR L, SEHRAWAT R, KONG Y Z. Oat proteins: A perspective on functional properties[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2021, 152: 9.
- [15] XIA T H, XUE C H, WEI Z H. Physicochemical characteris-

- tics, applications and research trends of edible Pickering emulsions [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 107: 1–15.
- [16] ARNO G B W, TACO N. Self-assembly of oat proteins into various colloidal states as function of the NaCl concentration and pH [J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 149: 109603.
- [17] 郑凯文, 胡海玥, 周彩莹, 等. 燕麦蛋白-虫胶纳米颗粒稳定 Pickering 乳液机理及其性质 [J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(16): 18–24. [ZHENG K W, HU H Y, ZHOU C Y, et al. Mechanism and properties of stabilized Pickering emulsion with oat protein-shellac nanoparticles [J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(16): 18–24.]
- [18] GAO Z M, YANG X Q, WU N N, et al. Protein-based pickering emulsion and oil gel prepared by complexes of zein colloidal particles and stearate [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(12): 2672–2678.
- [19] 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]. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2018, 39(6): 826–835.
- [20] ZHU X F, ZHENG J, LIU F, et al. Freeze-thaw stability of Pickering emulsions stabilized by soy protein nanoparticles. Influence of ionic strength before or after emulsification [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 74: 37–45.
- [21] SARKAR A, KAMARUDDIN H, BENTLEY A, et al. Emulsion stabilization by tomato seed protein isolate: Influence of pH, ionic strength and thermal treatment [J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 57: 160–168.
- [22] 杨甲忠, 王然然, 高婧, 等. 基于凯氏定氮法的杏仁露中蛋白质含量检测条件优化 [J]. *现代食品*, 2023, 29(9): 194–197.
- [23] YANG J Z, WANG R R, GAO J, et al. Optimization of detection conditions for protein content in almond milk based on Kjeldahl nitrogen determination [J]. *Modern Food*, 2023, 29(9): 194–197. [24] 李洋. 燕麦蛋白分离提纯工艺及功能性研究 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2012. [LI Y. Study on separation and purification of oat protein and its function [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2012.]
- [25] LI R N, XIONG Y L. Sensitivity of oat protein solubility to changing ionic strength and pH [J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(1): 78–85.
- [26] LIAO X Z, WANG S S, LI Y Q, et al. Effects of “nine steaming nine sun-drying” on proximate composition, protein structure and volatile compounds of black soybeans [J]. *Food Research International*, 2022, 155: 111070.
- [27] 冯芳, 刘文豪, 陈志刚. 大豆 7S、11S 蛋白的结构与热致凝胶特性的分析 [J]. *食品科学*, 2020, 41(2): 58–64. [FENG F, LIU W H, CHEN Z G. Analysis of structure and thermal gel properties of soybean 7S and 11S proteins [J]. *Food Science*, 2020, 41(2): 58–64.]
- [28] 齐文慧. 以蜂蜡为凝胶因子的水包油凝胶 Pickering 乳液构建及性能研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2020. [QI W H. Construction and properties of oil-in-water gel Pickering emulsion using beeswax as gel factor [D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2020.]
- [29] LI X M, ZHU J, PAN Y, et al. Fabrication and characterization of pickering emulsions stabilized by octenyl succinic anhydride-modified gliadin nanoparticle [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 90: 19–27.
- [30] LI X M, ZHU J, PAN Y, et al. The effects of ultra-high pressure on the structural, rheological and retrogradation properties of lotus seed starch [J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 44: 285–291.
- [31] 雷丹丹, 王立敏, 张文, 等. OSA 淀粉调节玉米醇溶蛋白颗粒的界面性质及其 Pickering 乳液稳定性分析 [J]. *食品科学*, 2023, 44(20): 62–70. [LEI D D, WANG L M, ZHANG W, et al. Effects of OSA starch on the interfacial properties of zein olysins granules and stability of Pickering emulsion [J]. *Food Science*, 2023, 44(20): 62–70.]
- [32] 马昉新, 齐文慧, 淑英, 等. β -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*, 2023, 45(17): 131–138. [MA F X, QI W H, SHU Y, et al. Inhibitory effect of β -carotene on lipid oxidation in Pickering emulsion [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 45(17): 131–138.]
- [33] CHEN J X, LI N X, CAO C A, et al. Effects of different pH conditions on interfacial composition and protein-lipid co-oxidation of whey protein isolate-stabilised O/W emulsions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 131: 107752.
- [34] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus [J]. *Food & Function*, 2014, 5(6): 1113–1124.
- [35] DIAO X Y, KE W X, LI S S, et al. Effect of wheat aleurone on lard emulsions during *in vitro* digestion [J]. *Food Chemistry*, 2024, 435: 137530.
- [36] 张庆, 王凤, 黄卫宁, 等. 植物乳杆菌发酵对燕麦蛋白溶解度和营养特性的影响 [J]. *食品科学*, 2011, 32(17): 204–209.
- [37] ZHANG Q, WANG F, HUANG W N, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* fermentation on solubility and nutritional properties of oat protein [J]. *Food Science*, 2011, 32(17): 204–209.]
- [38] LI C H, DAI T T, CHEN J, et al. Protein-polyphenol functional ingredients: The foaming properties of lactoferrin are enhanced by forming complexes with procyanidin [J]. *Food Chemistry*, 2021, 339: 128145.
- [39] WU S S, ZHANG Z F, LIU C X, et al. Effect of pH-shifting and sonication-assisted treatment on properties and stability of vegetable oil-based whipped cream stabilized by kidney bean protein aggregates [J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 141: 108736.
- [40] ZHANG S L, TIAN L, YI J H, et al. Mixed plant-based emulsifiers inhibit the oxidation of proteins and lipids in walnut oil-in-water emulsions: Almond protein isolate-camellia saponin [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 109: 106136.
- [41] 吴寒, 芮昕, 李春阳, 等. 多菌种固态发酵法提高燕麦全谷物的蛋白质营养品质 [J]. *食品科学*, 2018, 39(16): 168–175. [WU H, RUI X, LI C Y, et al. Multi-strain solid-state fermentation method to improve the protein nutritional quality of oat whole grains [J]. *Food Science*, 2018, 39(16): 168–175.]
- [42] 黄馨禾, 王长艳, 范龙彬, 等. 燕麦蛋白耦合异源共架技术对大米蛋白水溶性的影响 [J]. *食品工业科技*, 2024, 45(7): 134–141.
- [43] HUANG X H, WANG C Y, FAN L B, et al. Effect of oat protein coupling heterologous co-scaffold technology on water solubility of Rice protein [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(7): 134–141.]
- [44] TANG T C. Nano-architectural assembly of soy proteins: A promising strategy to fabricate nutraceutical nanovehicles [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2021, 291: 102402.
- [45] 刘炳娜, 张恒瑄, 蒋雨心, 等. pH 值和 NaCl 浓度对核桃蛋白纳米颗粒 Pickering 乳液稳定性的影响 [J]. *中国油脂*, 2019, 49(11): 120–127. [LIU J N, ZHANG H X, JIANG Y X, et al. Ef-

- fects of pH value and NaCl concentration on the stability of Pickering emulsion of walnut protein nanoparticles[J]. Chinese Oils and Fats, 2019, 49(11): 120–127.]
- [44] KAROLINA Ö, MARÍA M, ALI M, et al. The Effect of pH and storage temperature on the stability of emulsions stabilized by rapeseed proteins[J]. *Foods*, 2021, 10(7): 1657.
- [45] ZHANG S L, TIAN L, YI J H, et al. Impact of high-intensity ultrasound on the chemical and physical stability of oil-in-water emulsions stabilized by almond protein isolate[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2021, 149: 111972.
- [46] MCCLEMENTS D J, JAFARI S M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2018, 251: 55–79.
- [47] NAJI-TABASI S, RAZAVI S M A. New studies on basil (*Ocimum basilicum* L.) seed gum: Part III-Steady and dynamic shear rheology[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 67: 243–250.
- [48] XUAN M, FRANCESCA A, NING X, et al. Recent advances in 3D printing with protein-based inks[J]. *Progress in Polymer Science*, 2021, 115: 101375.
- [49] OSPINA M, MONTAÑA-OVIEDO K, DiAZ-DUQUE Á, et al. Utilization of fruit pomace, overripe fruit, and bush pruning residues from Andes berry (*Rubus glaucus* Benth) as antioxidants in an oil in water emulsion[J]. *Food Chemistry*, 2018, 281: 114–123.
- [50] TAHERIAN A R, BRITTEN M, SABIKH H, et al. Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(5): 868–878.
- [51] TORRES O, MURRAY B S, SARKAR A. Overcoming *in vitro* gastric destabilisation of emulsion droplets using emulsion microgel particles for targeted intestinal release of fatty acids[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 89: 523–533.