农产品保鲜与食品包装

负载花椒精油的玉米醇溶蛋白-柑橘果胶乳液性能评价

王鑫洋[1]，崔媛[1]，韩相禹[1]，闫圣坤[2]，徐怀德[1]，李梅[1*]
（1.西北农林科技大学 食品科学与工程学院，陕西 咸阳 712100；
2.新疆农业科学院农业机械化研究所，乌鲁木齐 830000）

摘要：目的 研发出一款新型的花椒精油 Pickering 乳液，为花椒精油 Pickering 乳液的制备和花椒精油应用场景的拓宽提供参考。**方法** 以花椒精油为油相，玉米醇溶蛋白-柑橘果胶复合纳米粒子为固体颗粒，制备花椒精油 Pickering 乳液。研究复合纳米粒子质量浓度（20、25、30、35、40 g/L）对 Pickering 乳液粒径、电位、微观结构、稳定性、流变特性等理化性能和抗氧化性能、抑菌性能等功能活性的影响。**结果** 随着复合纳米粒子浓度的提高，乳液的粒径呈先降后增趋势，ζ-电位绝对值、包埋率则呈先增后降趋势，当质量浓度为 35 g/L 的时候，乳液粒径最小为 1 900.3 nm、ζ-电位和包埋率最大分别为 32.7 mV、95%；此浓度下乳液贮藏稳定性最好，且具有优异的温度稳定性，在酸性（pH=2、3、4）和碱性环境（pH=8、9）下稳定性表现良好；所有乳液均显现出明显的剪切变稀行为，属于假塑性流体；在低频下乳液损耗模量大于储能模量，呈流体状态；相较于花椒精油，负载花椒精油的 Pickering 乳液的抗氧化性能和抑菌性能得到了显著提高。**结论** 复合纳米粒子质量浓度为 35 g/L 时制备的负载花椒精油 Pickering 乳液具有较好的稳定性、抗氧化和抑菌性能。

关键词：花椒精油；Pickering 乳液；玉米醇溶蛋白；柑橘果胶；稳定性；抑菌性能
中图分类号：TB34 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-3563(2024)07-0053-10
DOI：10.19554/j.cnki.1001-3563.2024.07.008

Performance Evaluation of Zein-citrus Pectin Emulsion Loaded with Zanthoxylum Bungeanum Essential Oil

WANG Xinyang[1], *CUI Yuan*[1], *HAN Xiangyu*[1], *YAN Shengkun*[2], *XU Huaide*[1], *LI Mei*[1*]
(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Shaanxi Xianyang 712100, China;
2. Institute of Agricultural Mechanization, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830000, China)

ABSTRACT: The work aims to develop a new type of Pickering emulsion loaded with Zanthoxylum bungeanum essential oil, and provide a reference for the preparation of Zanthoxylum bungeanum essential oil Pickering emulsion and the expansion of the application scenarios of Zanthoxylum bungeanum essential oil. The Pickering emulsion loaded with Zanthoxylum bungeanum essential oil was prepared with Zanthoxylum bungeanum essential oil as oil phase and zein-citrus pectin composite nanoparticles as solid particles. The effects of the concentration of composite nanoparticles (20, 25, 30, 35, 40 g/L) on the physical and chemical properties (particle size, potential, microstructure, stability, rheological properties), as well as functional activities (antioxidant and antibacterial capacities) of Pickering emulsion were investigated. The results showed that with the increase of the concentration of composite nanoparticles, the particle size of the emulsion firstly reduced and then raised, the absolute value of ζ-potential and the embedding rate initially

收稿日期：2024-01-22
基金项目：新疆维吾尔自治区重大科技专项项目（2022A02005-5）
*通信作者

increased and then decreased. When the concentration of composite nanoparticles was 35 g/L, the minimum particle size of the emulsion was 1 900.3 nm, the maximum ζ-potential and entrapment rate were 32.7 mV and 95%, respectively. At this concentration, the storage stability of the emulsion was the best. The emulsion had excellent temperature stability, good stability in acidic (pH=2, 3, 4) and alkaline (pH=8, 9) environments. All emulsion presented obvious shear thinning behavior and belonged to pseudoplastic fluid; At low frequency, the loss modulus of the emulsion was greater than the storage modulus, showing a fluid state. Compared with Zanthoxylum bungeanum essential oil, the antioxidant and antibacterial properties of Zein-Citrus pectin Pickering emulsion loaded with Zanthoxylum bungeanum essential oil were significantly improved. In conclusion, when the concentration of composite nanoparticles is 35 g/L, Zein-Citrus pectin Pickering emulsion loaded with Zanthoxylum bungeanum essential oil possess good stability, antioxidant and antibacterial properties.

KEY WORDS: Zanthoxylum bungeanum essential oil; Pickering emulsion; Zein; Citrus pectin; stability; antibacterial

花椒（Zanthoxylum Bungeanum）属于芸香科（Rutaceae）花椒属（Zanthoxylum），主要分布在中国和部分东南亚国家。因其独特的风味和抑菌、抗氧化、镇痛等多种生理功能，花椒的干燥果皮及提取物在中国应用历史悠久[1]。花椒精油（Zanthoxylum Bungeanum Essential Oil，ZBEO）是一类自花椒中提取的具有多种香气成分的挥发状液体，在食品保鲜、医药等领域应用广泛。但因其易挥发、易氧化、稳定性和亲水性差等缺点，导致其应用十分受限[2]。目前，将 ZBEO 制备成水包油（O/W）型 Pickering 乳液被认为是解决花椒精油稳定性差、亲水性低等问题，高效发挥其生物活性的有效手段之一[3]。

Pickering 乳液是一种用固体颗粒充当乳化剂稳定油水界面制成的乳液，O/W 型乳液可以将不稳定、亲水性差的精油包裹起来，提供稳定的载体[4]。Fu 等[5]将对热不稳定的 β-胡萝卜素加入有小麦面筋纳米颗粒-黄原胶复合颗粒制备的 Pickering 乳液体系中，结果证明 Pickering 体系内的 β-胡萝卜素热稳定性大大提高。Shi 等[6]制备了由玉米醇溶蛋白-壳聚糖复合粒子稳定的橄榄油 Pickering 乳液，并将其添加至壳聚糖基膜中，大大减轻了油滴在膜基质中不能溶解的情况。另有诸多研究均发现 Pickering 乳液对植物精油稳定性差和亲水性低等缺点的显著改善[7-8]。

近年来在 Pickering 乳液的制备领域，天然或改性食品原料被认为是 Pickering 粒子的良好来源。玉米醇溶蛋白独特的自组装行为使得其纳米颗粒可以通过反溶剂沉淀法制得，并用于制备 Pickering 乳液，但其极强的疏水性使得制备的 Pickering 乳液不能长期稳定，因此通常将其与多糖、蛋白等其他物质复合制备复合纳米颗粒再用于制备 Pickering 乳液[9]。柑橘果胶（Citrus Pectin，CP）是一种带负电的生物多糖，它可以通过静电吸附和疏水相互作用同玉米醇溶蛋白吸附在一起，以改善玉米醇溶蛋白表面的亲水性。近年来多项关于柑橘果胶与玉米醇溶蛋白纳米颗粒复合用于稳定 Pickering 乳液的研究均证明了玉米醇溶蛋白-柑橘果胶复合纳米粒子（Zein-Citrus Pectin Nanoparticles，ZCPS）稳定 Pickering 乳液的能力和巨大的发展潜力[10]。但目前尚未有研究探讨以 ZCPS 稳定 ZBEO 制备 Pickering 乳液对 ZBEO 理化性能和功能活性的影响。

因此本文以 ZCPS 为水相，ZBEO 为油相，通过高速剪切注入能量的方式制备 ZCPS 稳定的 ZBEO Pickering 乳液（ZBEO Pickering Emulsion Stabilized by ZCPS，ZCZPE），通过粒径、电位、包埋率、微观结构、稳定性、流变特性、抗氧化性能和抑菌性能等指标探究花椒精油 Pickering 乳液的理化性质，并进一步通过测定乳液的抗氧化性能和抑菌性能评价其功能活性，以期为花椒精油 Pickering 乳液的制备和花椒精油应用场景的拓宽提供参考。

1 实验

1.1 材料与仪器

主要材料：玉米醇溶蛋白（纯度≥92%），上海源叶生物科技有限公司；柑橘果胶（半乳糖醛酸≥58%），北京索莱宝科技有限公司；花椒精油，陕西宏达香料科技有限公司；尼罗蓝 A（Nile Blue A）、尼罗红（Nile red），上海麦克林生化科技股份有限公司；其他试剂均为分析纯。

主要仪器：T18 高速分散机，德国 IKA 集团；IX73 智能电动倒置荧光显微镜，日本奥林巴斯株式会社；ZEN3600 纳米激光粒度仪，英国马尔文仪器有限公司；LEICA TCS SP8 生物激光共聚焦显微镜，德国徕卡公司；DHR-1 旋转流变仪，美国沃特世公司。

1.2 方法

1.2.1 花椒精油 Pickering 乳液的制备

参考 Zhang 等[10]的方法进行修改。首先通过反溶剂沉淀法获得玉米醇溶蛋白纳米粒子（Zein Nanoparticles, ZNPS）。在室温下将 2 g 玉米醇溶蛋白完全溶解于 40 mL 体积分数为 85%的乙醇中，并在 5 000*g* 条件下离心 10 min 以去除沉淀物得到上清液。将得

到的上清液在磁力搅拌下逐滴添加到 120 mL 蒸馏水中，将混合液经超声波（功率 600 W）处理 10 min 后用旋转蒸发仪将溶液总体积减小至 50 mL 获得 40 g/L ZNPS。40 g/L CP 溶液通过将 4 g CP 加入 100 mL 蒸馏水中，25 ℃搅拌过夜至完全水合。然后采用静电吸附法，将 ZNPS 在磁力搅拌的条件下以 1∶3 的比例滴入全水合 CP 溶液中得到 40 g/L ZCPS。

将花椒精油和不同质量浓度的 ZCPS（20、25、30、35、40 g/L）以 1∶9 体积比混合，用高速分散器在 14 000 r/min 的条件下处理 4 min 得到 ZCZPE。

1.2.2　ZCZPE 的微观结构

将 ZCZPE 稀释至适当浓度后，用载玻片和盖玻片制备其临时装片，在智能电动荧光倒置显微镜明场模式下（放大 80 倍）观察并记录乳液的微观结构。

参考 Liu 等[11]的方法，分别使用尼罗红（1 mg/mL，激发波为 488 nm）和尼罗蓝（1 mg/mL，激发波长为 633 nm）对 ZBEO 和玉米醇溶蛋白进行染色，通过激光共聚焦显微镜进行观察并记录荧光图像。

1.2.3　粒径、ζ-电位和包埋率的测定

参考 Xie 等[12]的方法略作修改。使用 Image J 软件对乳液光学显微镜图像分析计算得到乳液粒径尺寸，随机选择光学图像中的计数区域，液滴总数不少于 300 个。

参考 Jiang 等[13]的方法，以去离子水将乳液稀释至适当浓度（衰减值=7）后用 Zetasizer 纳米分析仪测定 ζ-电位。

参考刘珍珍等[14]的方法做一些修改，将 0.5 mL ZCZPE 加入到 4.5 mL 正己烷溶液中，充分混匀后使用离心机于 5 000 r/min 离心 10 min，在波长 268 nm 处测定吸光度。通过花椒精油标准曲线（y=5.820 2x−0.029 2（R^2=0.998 6），其中 x 表示吸光度值，y 表示花椒精油含量）计算花椒精油含量，并根据式（1）计算乳液中花椒精油的包埋率。

$$E=\frac{v_0-v_1}{v_0}\times 100\% \tag{1}$$

式中：E 为花椒精油包埋率，%；V_0 和 V_1 分别为花椒精油总量和表面花椒精油含量，μL/mL；

1.2.4　ZCZPE 的稳定性

1.2.4.1　贮存稳定性

将不同 ZCPS 浓度的 ZCZPE 装入样品瓶后放置于室温下贮存，分别在第 0、5、10、15、30 天测定乳液的粒径变化、ζ-电位变化、光学显微镜图像和外观，评价其贮存稳定性。

1.2.4.2　温度稳定性

将 ZCPS 质量浓度为 35 g/L 的 ZCZPE 分别在 30、50、70、90 ℃下处理 30 min，以未处理的 ZCZPE 作为对照，分析乳液的粒径、ζ-电位变化、光学显微镜图像和外观，评价其温度稳定性。

1.2.4.3　pH 稳定性

将 ZCPS 质量浓度为 35 g/L 的 ZCZPE 的 pH 值分别调至 2、3、4、5、6、7、8、9，在室温下放置 24 h，分析乳液的粒径、ζ-电位变化、光学显微镜图像和外观，评价其 pH 稳定性。

1.2.5　ZCZPE 的流变性能

参考 Guo 等[15]的方法，使用 40 mm 铝玻尔平板夹具对乳液的静态和动态流变特性进行测定。调整剪切速率 0.01~100 s^{-1}，记录乳液表观黏度的变化。在应变固定为 0.1%时调整角频率在 0.1~100 rad/s，记录乳液储能模量（G'）和损耗模量（G''）的变化。

1.2.6　抗氧化性能评价

1.2.6.1　DPPH·清除率

参考 Wang 等[16]方法，略作修改。所用 DPPH 甲醇溶液浓度为 100 μmol/L，将 400 μL 样品与 4 mL 反应液混合，25 ℃反应 30 min，在 517 nm 处测定吸光度值，全程避光。根据式（2）计算 DPPH·清除率。

$$D=\frac{A_0-A_1}{A_0}\times 100\% \tag{2}$$

式中：D 为 DPPH·清除率，%；A_0 为空白组吸光度值；A_1 为实验组吸光度值。

1.2.6.2　$ABTS^+$·清除率

参考史亚濛[17]的方法，略作修改。制备 7 mmol/L 的 $ABTS^+$溶液和 2.45 mmol/L $K_2S_2O_8$ 溶液，将二者混合后于 25 ℃避光反应 12 h 得到 $ABTS^+$母液。$ABTS^+$工作液的获得是通过稀释母液，直至在 734 nm 处得到（0.700±0.020）的吸光值。以加入去离子水作为空白对照，将 100 μL 样品与 6.0 mL $ABTS^+$稀释液混合，30 ℃反应 15 min 后在 734 nm 处测定吸光度值。根据式（3）计算 $ABTS^+$·清除率。

$$A=\frac{A_0-A_1}{A_0}\times 100\% \tag{3}$$

式中：A 为 $ABTS^+$·清除率，%；A_0 为空白组吸光度值；A_1 为实验组吸光度值。

1.2.7　抑菌性能评价

1.2.7.1　抑菌圈

参考 Zhong 等[18]的方法，略作修改。取 200 μL 大肠杆菌或金黄色葡萄球菌稀释液均匀涂在 LB 琼脂平板上。将直径 6 mm 的无菌滤纸片放在 LB 琼脂培养基平板上，每个滤纸片上滴加 20 μL 样品。以 ZBEO、ZNPS 和 CP 分别稳定的乳液（ZPEO Pickering Emulsion Stabilized by ZNPS, ZNPE; ZPEO Pickering Emulsion Stabilized by CP, CPE）为对照，滴加去离子水的无菌滤纸片为空白对照组，测定 ZCPS 质量浓度 35 g/L 的 ZCZPE 的抑菌能力，将平板在 37 ℃下培养 24 h 后观察抑菌圈的大小，并测量抑菌圈直径，结果取 3 次测量结果的平均值。

1.2.7.2　抑制率

用平板菌落计数法检测抑制率。将 2 mL 稀释菌

液与 30 μL 样品混合后在 37 ℃下震荡培养 2 h，将得到的菌液稀释至合适浓度后取 200 μL 均匀涂在 LB 琼脂培养基平板上，把平板放在 37 ℃下培养 24 h 后对菌落计数。根据式（4）计算抑制率。

$$I=\frac{A-B}{A}\times 100\% \tag{4}$$

式中：I 为抑制率，%；A 为去离子水对照品中的菌落数；B 为样品中的菌落数。

1.2.8　数据处理

所有指标测定至少重复 3 次，数据以平均值±标准差表示。采用 SPSS 26.0 软件中 ANOVA 进行方差分析，$P<0.05$ 表示差异显著。采用 Origin 2021 软件绘制图形。

2　结果与分析

2.1　ZCZPE 的微观形态

在荧光倒置显微镜明场模式下对 ZCZPE 进行光学形态观察，结果如图 1a 所示。不同 ZCPS 浓度的乳液液滴均为规范的圆形，形态良好，分布均匀。

激光共聚焦扫描显微镜图像可以清晰地反应乳液的微观结构和界面框架[19]。从图 1b 中可以看到被尼罗红染成红色的 ZBEO 在乳液体系中呈圆形分布；被尼罗蓝染成绿色的玉米醇溶蛋白呈空心的圆形分布在油相的周边；复合染色可以更清晰地看到染成绿色的玉米醇溶蛋白分布在油水界面上，包裹着内部红色的油相，证明了 ZCZPE 水包油型的乳液构型，也进一步指出了其稳定机制。

2.2　ZCZPE 的粒径、ζ-电位、包埋率

乳液的粒径大小直接影响乳液稳定性，粒径越小，分布越均匀，越不容易聚集形成大液滴，乳液就越稳定。从表 1 可知，乳液的粒径大小随着 ZCPS 浓度升高呈现先降低后增大的趋势。在 ZCPS 质量浓度从 20 g/L 增至 35 g/L 时，更多的 ZCPS 参与稳固油水界面，可以使液滴比表面积减小，以获得更稳定的状态，使得液滴逐渐减小[20]；在 ZCPS 质量浓度上升至 40 g/L 时，乳液粒径增大可能是过量的 ZCPS 裹挟液滴发生了聚集沉淀造成的。

乳液 ζ-电位值反映了乳液液滴的表面带电情况和液滴之间的静电斥力大小。当 ζ-电位绝对值大于 30 mV 时，乳液被视为稳定体系[21]。从表 1 中可知 ZCZPE 液滴均带负电，乳液 ζ-电位值的绝对值在 ZCPS 为不同浓度时均大于 30 mV，没有显著差异，表明制备的 5 种乳液均具有很好的稳定性。乳液的包埋率随 ZCPS 浓度增大呈现先增大后降低趋势，在 ZCPS 质量浓度为 35 g/L 时包埋率达到 95%，与乳液的粒径变化趋势相符合。

2.3　贮存稳定性

在 30 d 的贮存过程中，ZCZPE 的微观形态、外观和粒径、ζ-电位分别见图 2 和图 3。

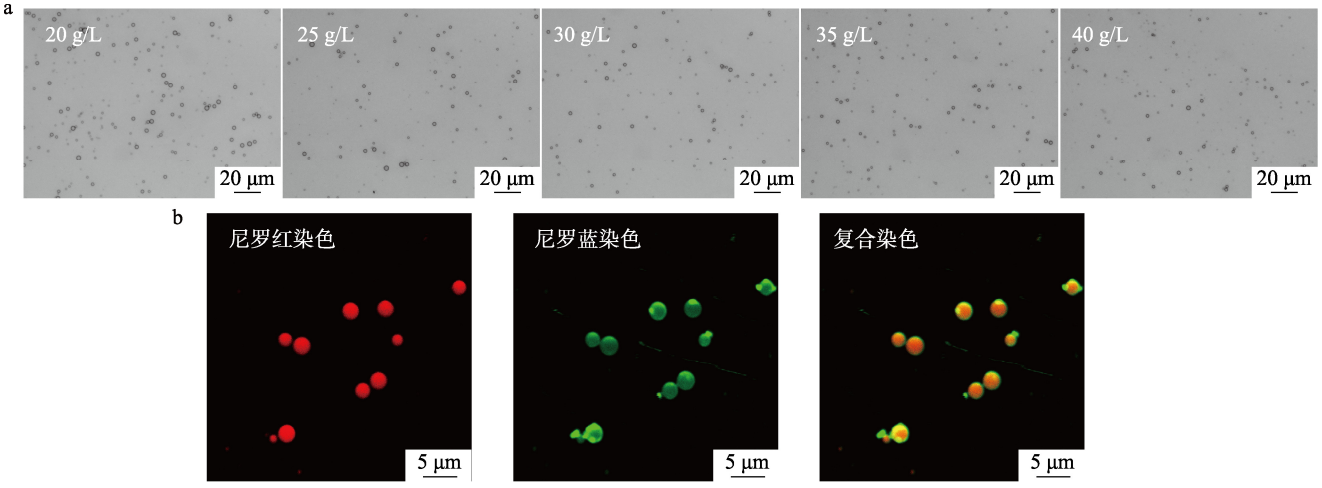


图 1　ZCZPE 的光学显微镜图像（a）和激光共聚焦显微镜图像（b）

Fig.1 Optical microscope images (a) and laser confocal microscope images (b) of ZCZPE

表 1　ZCZPE 的粒径、电位和包埋率

Tab.1 Particle size, potential and embedding rate of ZCZPE

ZCPS 质量浓度/(g·L^{-1})	粒径/nm	ζ-电位/mV	包埋率/%
20	2 423.3±14.0^{a}	−32.4±0.1^{a}	90.4±0.4^{e}
25	2 284.7±28.9^{b}	−32.2±0.6^{a}	91.5±0.1^{d}
30	2 102.1±21.5^{c}	−32.1±0.1^{a}	92.4±0.1^{c}
35	1 900.3±1.4^{e}	−32.7±0.5^{a}	95.0±0.0^{a}
40	1 993.6±22.8^{d}	−32.5±0.3^{a}	93.5±0.1^{b}

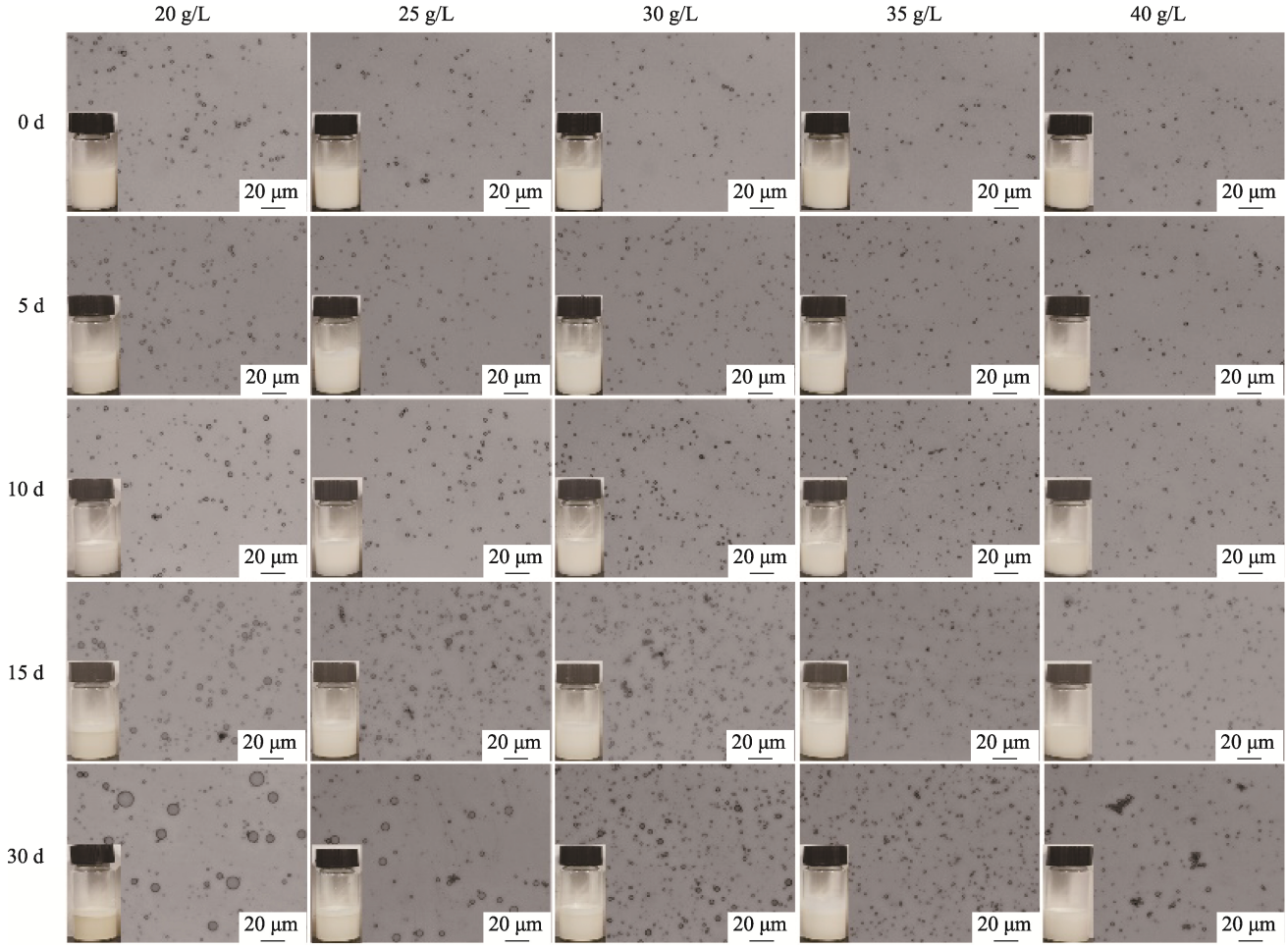


图 2　不同贮存时间 ZCZPE 的光学显微镜图像和外观

Fig.2 Optical microscope images and appearance of ZCZPE at different storage times

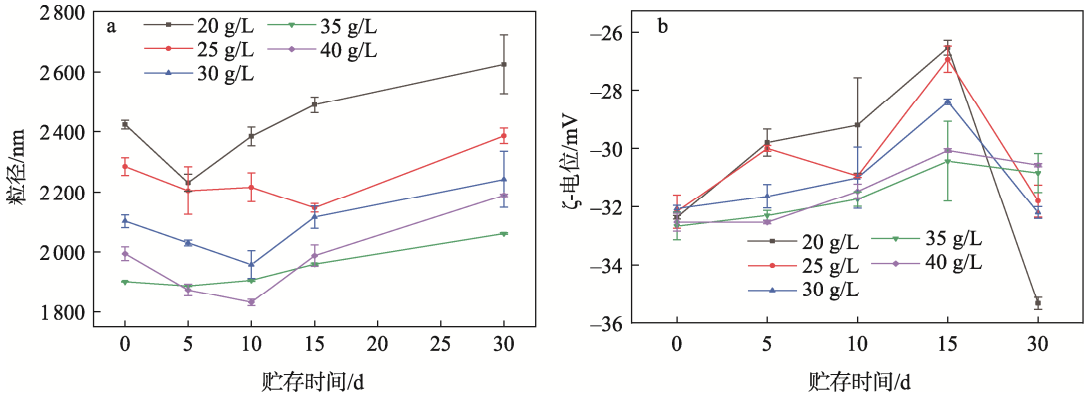


图 3　不同贮存时间 ZCZPE 的粒径（a）和 ζ-电位（b）

Fig.3 Particle size (a) and ζ- potential (b) of ZCZPE at different storage times

从图 2 可见所有乳液在贮存前 10 d 液滴的尺寸和分布状态均无显著变化，在第 15 天时低 ZCPS 质量浓度（20、25、30 g/L）乳液出现液滴聚结现象，质量浓度为 35 g/L 和 40 g/L 的 ZCPS 的乳液液滴形态仍保持稳定。在第 30 天时低 ZCPS 浓度乳液液滴显著增大，质量浓度为 40 g/L 的 ZCPS 的乳液液滴虽保持着较小的尺寸，但过量的 ZCPS 使液滴发生了明显的聚结现象；从外观可以发现低 ZCPS 浓度乳液随贮存时间延长分层情况愈加严重，而高 ZCPS 浓度乳液始终保持着稳定的乳液形态。

从图 3a 中可见不同 ZCPS 浓度的乳液在 30 d 的贮存中液滴尺寸先减后增。原因在于新鲜乳液在经过短时间放置后体系趋向稳定。随贮存时间的延长，低 ZCPS 浓度的乳液逐渐无法保持稳定，小液滴在运动

过程中聚结融合成大液滴，而高 ZCPS 浓度的乳液拥有足够数量的 ZCPS 稳定油相，更高的黏度也在一定程度上限制了液滴的运动，因此能始终保持较小的液滴尺寸和均匀分布[22-23]；从图 3b 可见，乳液在贮存过程中随着贮存时间的延长，纳米颗粒所带电荷逐渐减少，因此 ζ-电位绝对值呈现逐渐下降趋势，而在贮存时间到第 30 天时 ZCPS 质量浓度低于 35 g/L 的乳液中纳米颗粒的大量沉积使得测得的 ζ-电位值偏向了 CP 的 ζ-电位值，因此 ζ-电位值绝对值显著上升。而 ZCPS 质量浓度为 35、40 g/L 的乳液在贮存过程中 ζ-电位绝对值变化幅度较小。质量浓度为 35 g/L 的 ZCPS 的乳液在 30 d 的贮存中稳定性表现最好。

2.4　温度稳定性

在不同温度下 ZCZPE（ZCPS 质量浓度为 35 g/L）的微观形态、外观、粒径和 ζ-电位见图 4。

从图 4a 可见，在经过不同的温度处理后，乳液的微观形态并未发生明显变化，液滴形态良好，分布均匀，从外观可发现所有乳液都形态稳定，没有分层或沉淀现象出现；温度的升高会增加液滴的动能，促进液滴运动、碰撞和聚结，从而增加液滴尺寸[24]。从图 4b 可见，乳液的粒径随温度的上升略有升高，但并未达到显著水平；从图 4c 可见，乳液的 ζ-电位值没有显著变化，其绝对值均大于 30 mV，处于稳定状态；乳液的温度稳定性表现优异。

2.5　pH 稳定性

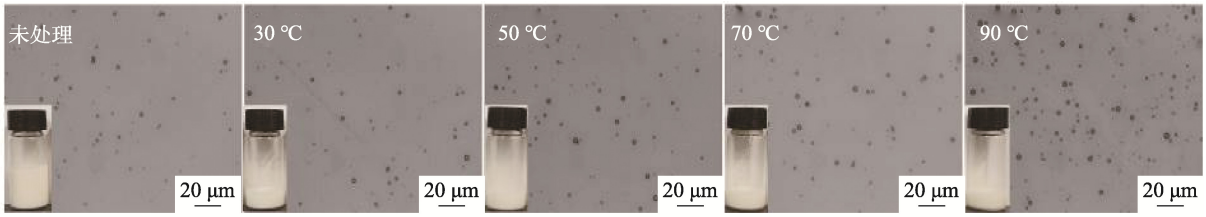
在不同 pH 下 ZCZPE（ZCPS 质量浓度为 335 g/L）的微观形态、外观和粒径、ζ-电位见图 5。

由图 5a 可知，在经不同的 pH 处理后，乳液在偏中性环境（pH=5、6、7）下变化较大，乳液分层、液滴聚集、尺寸增大，甚至有破乳现象出现，在酸性环境（pH=2、3、4）和碱性环境（pH=8、9）下乳液液滴形态和尺寸略有变化，但仍保持着稳定。从图 5b 中可以更直观地看到偏中性环境下液滴尺寸的显著增大。从图 5c 也能看到，乳液在偏中性环境下 ζ-电位的剧烈变化，ζ-电位绝对值显著增大，但这并不代表乳液的稳定性提高，而是在近 Zein 等电点处蛋白所带电荷急剧降低，静电斥力减小，纳米颗粒沉积，因此测得的 ζ-电位值实际上更靠近 CP 的 ζ-电位值[25]。

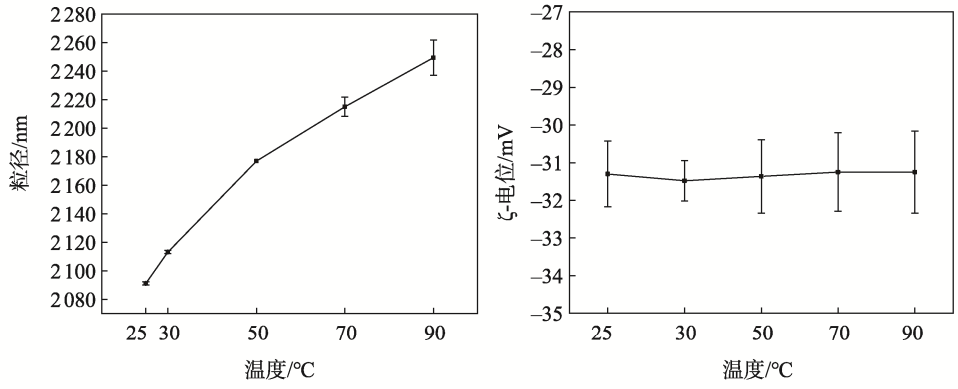
2.6　ZCZPE 的流变性能

不同 ZCPS 浓度对乳液表观黏度、储能模量、损耗模量和损耗正切角的影响见图 6。

如图 6a 所示，随着剪切速率的增大，5 种乳液的表观黏度均逐步降低，呈现出明显的剪切变稀行为，属于假塑性流体，高剪切速率影响了颗粒间的相互作用，也破坏了体系中游离果胶的缠结[13]。同时，乳液表观黏度与 ZCPS 浓度呈现明显的正相关关系，高浓度的 ZCPS 使得乳液体系中颗粒间相互作用的增强，果胶含量的提高也有助于表观黏度的增大。



a 光学显微镜图像和外观



b 粒径　　c 电位

图 4　不同温度下 ZCZPE（ZCPS 质量浓度为 35 g/L）的光学显微镜图像和外观（a）、粒径（b）和 ζ-电位（c）

Fig.4 Optical microscope images and appearance (a), particle size (b) and ζ- potential (c) of ZCZPE (The concentration of ZCPS was 35 g/L) at different temperatures

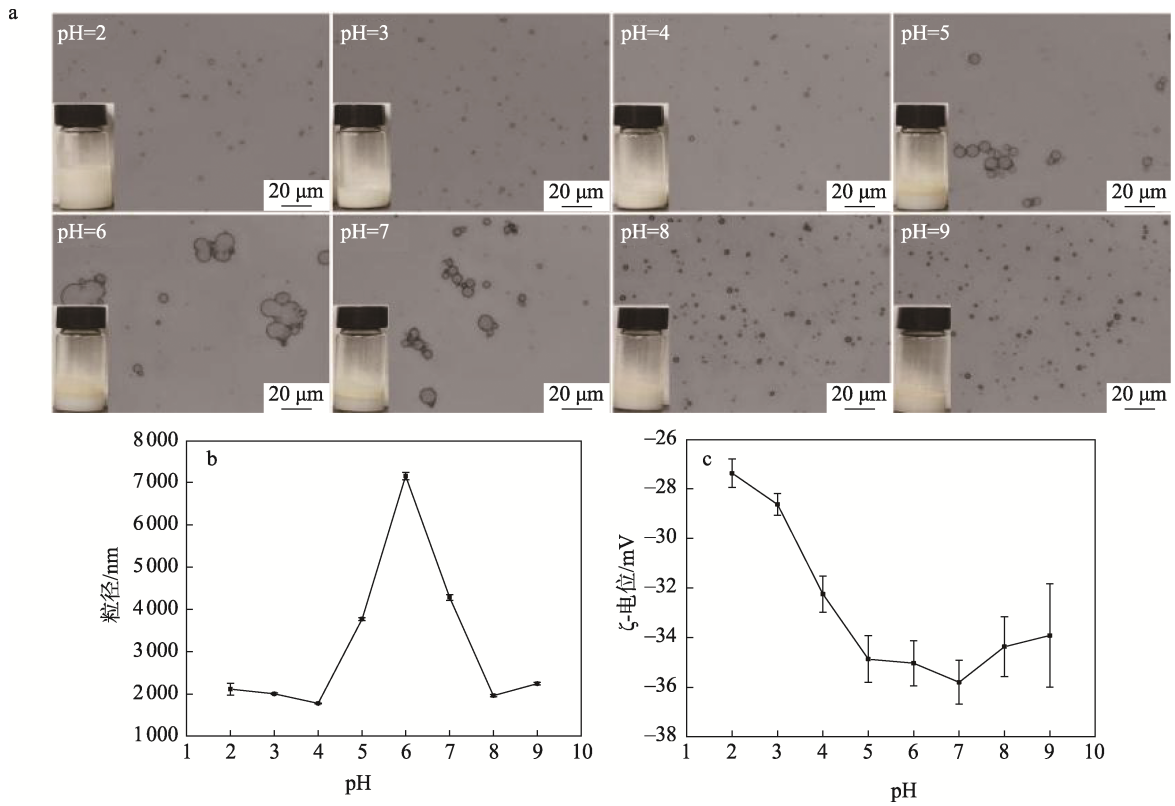


图 5　不同 pH 下 ZCZPE（ZCPS 质量浓度为 35 g/L）的光学显微镜图像和外观（a）、粒径（b）和 ζ-电位（c）

Fig.5 Optical microscope images and appearance (a), particle size (b) and ζ- potential (c) of ZCZPE (The concentration of ZCPS was 35 g/L) at different pH values

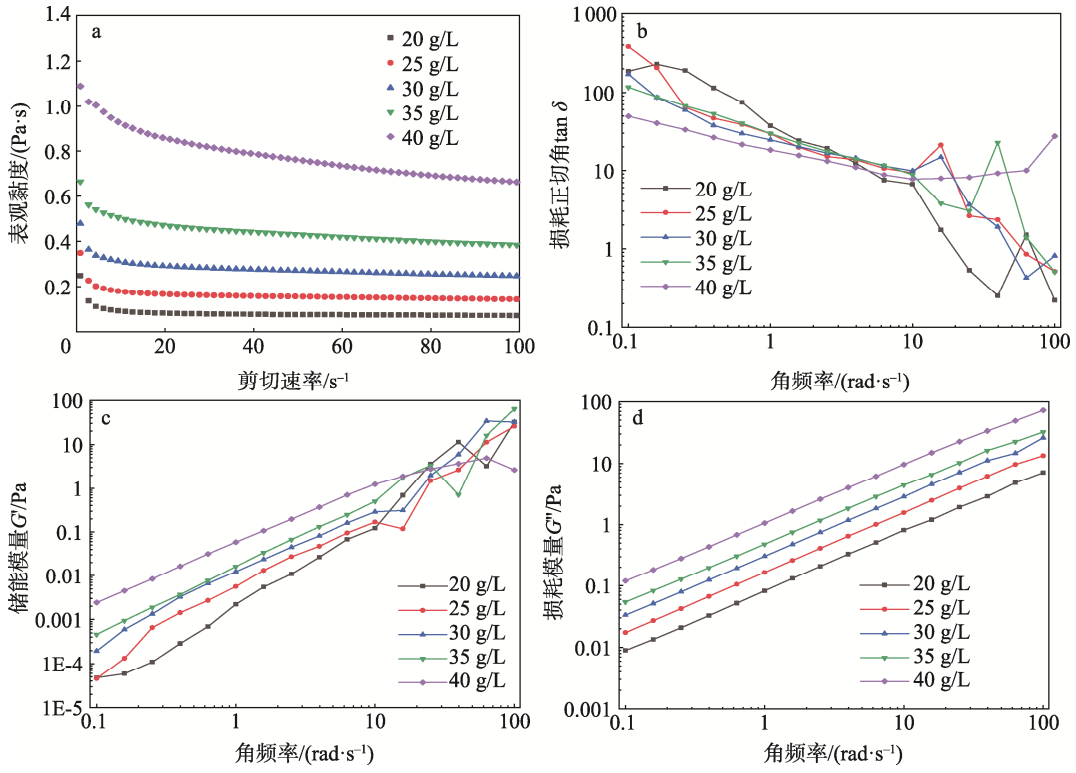


图 6　不同 ZCPS 浓度 ZCZPE 的表观黏度（a）、损耗正切角（b）、储能模量（c）和损耗模量（d）

Fig.6 Apparent viscosity (a), loss tangent angle (b), storage modulus (c) and loss modulus (d) of ZCZPE with different ZCPS concentrations

由图 6c 和图 6d 可知，所有乳液的 *G*'和 *G*"均随着角频率的增大而增大，呈现出明显的频率依赖性[26]。随着 ZCPS 浓度的增加，*G*'和 *G*"均增大，这可能是由于 ZCPS 含量增多影响了乳液体系中颗粒间的相互作用。此外，在角频率处于低频段时，所有的乳液 *G*" 大于 *G*',这说明乳液主要以黏性为主,呈流体状态[27]。随着角频率的升高,除 ZCPS 质量浓度为 40 g/L 的乳液外其他乳液 *G*'和 *G*"均陆续出现交点，即乳液在角频率逐步升高的过程中其结构发生了变化,即在低频下形成交联聚合物链的聚合网络,在高频下呈现凝胶状行为[28]。损耗角正切角(tan δ)代表着损耗模量(*G*") 和储能模量（ *G*' ）的比值，当 tan δ=1 时即代表着 *G*' 和 *G*"曲线的交点出现。从图 6b 中可以看到,当 ZCPS 质量浓度为 40 g/L 时无交点出现，其他 4 种乳液 *G*' 和 *G*"曲线交点出现顺序基本符合 ZCPS 浓度的增大趋势，因此可能是 ZCPS 浓度的增大增强了乳液中颗粒间的相互作用,从而增强了乳液在角频率增大时保持自身聚合网络的能力，以至于 *G*'和 *G*"曲线交点处的角频率数值不断增大，甚至不出现交点。

2.7　ZCZPE 的抗氧化性能

ZCZPE 对 $ABTS^{+}$·和 DPPH·清除率见图 7。

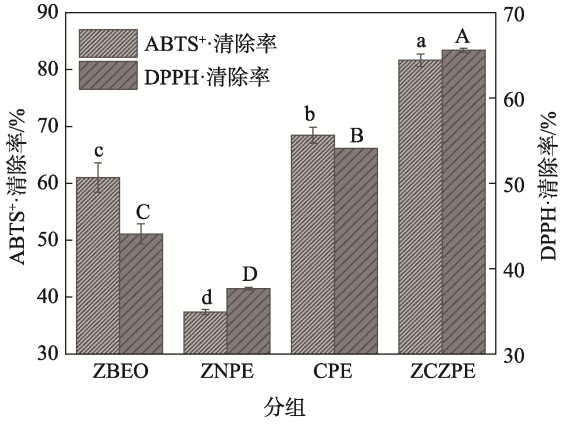


图 7　乳液的 DPPH·和 $ABTS^{+}$·清除率

Fig.7 DPPH·and $ABTS^{+}$·clearance rates of emulsions

由图 7 可知，ZBEO 对 2 种自由基均有不错的清除效果。因为 ZNPS 不能很好地稳定 ZBEO，在制备过程中又造成了一部分精油损失,因此 ZNPE 自由基清除效果反而弱于 ZBEO。CPE 和 ZCZPE 显著提高了精油的自由基清除能力，并且 ZCZPE 的精油包埋效果更好，乳液液滴尺寸小，分散能力好，因此清除效果强于 ZNPE、CPE 和 ZBEO[29]。

2.8　ZCZPE 的抑菌性能

ZCZPE 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈大小和抑制率见表 2 和图 8。

表 2　乳液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径

Tab.2 Inhibition zone diameter of emulsions against Escherichia coli and Staphylococcus aureus

样品	抑菌圈直径/mm	
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
无菌水	0^{d}	0^{e}
ZBEO	12.53 ± 0.12^{a}	9.46 ± 0.05^{c}
ZNPE	9.87 ± 0.07^{c}	6.98 ± 0.09^{d}
CPE	10.15 ± 0.07^{b}	11.67 ± 0.14^{a}
ZCZPE	9.95 ± 0.12^{bc}	11.25 ± 0.16^{b}

从表 2 可知,花椒精油对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都有很好的抑制作用,对大肠杆菌的抑制作用更强。ZNPE 的抑菌效果最差，原因是单独 ZNPS 对花椒精油的包埋效果差，不能制成稳定的乳液。ZCZPE 显现出了良好的抑菌性,但抑菌效果相比其他组并没有显著优势。原因可能是其黏度大、在培养基平板上流动性差，因此进一步做了抑制率实验。

从图 8 中可知，在经过 ZCPS 的包埋后，花椒精油在水中的分散效果被显著提高,而且乳液较小的液滴尺寸也增大了花椒精油跟细菌的接触面积,因此显著提高了花椒精油的抑菌能力[30]。

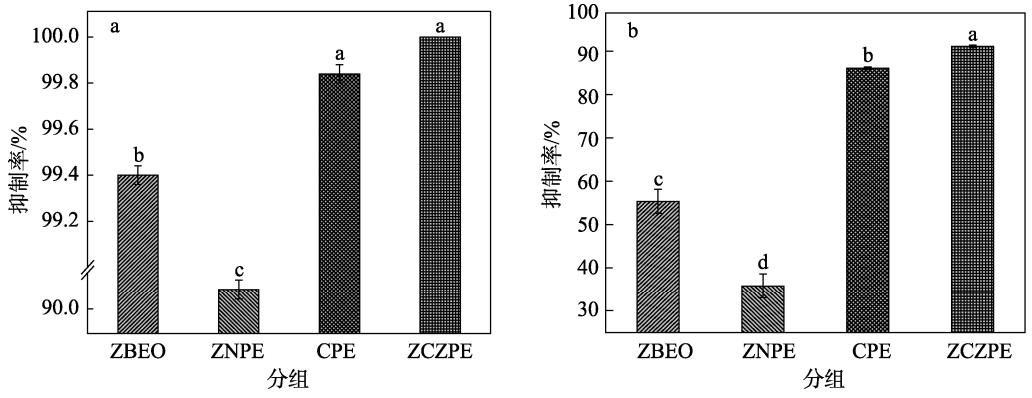


图 8　乳液对大肠杆菌（a）和金黄色葡萄球菌（b）的抑制率

Fig.8 Inhibition rates of emulsions on Escherichia coli (a) and Staphylococcus aureus (b)

3　结语

当ZCPS质量浓度为35 g/L时所制得的乳液粒径最小、电位绝对值最大、包埋率最高、贮存稳定性最好；乳液的温度稳定性表现优异，在酸性环境和碱性条件下的稳定性良好；乳液表现出明显的剪切变稀行为，属假塑性流体，在低频条件下乳液呈流体状态；乳液的抗氧化性能和抑菌性能显著强于 ZBEO。综上所述，以质量浓度为 35 g/L 的 ZCPS 稳定 ZBEO 制得的 Pickering 乳液很好地改善了 ZBEO 稳定性和亲水性差的缺点，为花椒精油 Pickering 的制备和拓宽 ZBEO 的应用场景提供了重要的参考价值。

参考文献：

[1] 张海龙. 花椒精油对小尾寒羊胃肠道功能及细菌菌群结构的调控[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2023.
ZHANG H L. Modulation of Gastrointestinal Tract Function and Bacterial Structure by Zanthoxylum Bungeanum Essential Oil on Small-Tailed Han Sheep[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2023.

[2] 胡婷婷. 花椒精油 Pickering 乳液的制备、表征及其抑菌活性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2022.
HU T T. Preparation, Characterization and Antibacterial Activity of Pickering Emulsion of Zanthoxylum Bungeanum Essential Oil[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2022.

[3] SHI A, FENG X Y, WANG Q, et al. Pickering and High Internal Phase Pickering Emulsions Stabilized by Protein-Based Particles: A Review of Synthesis, Application and Prospective[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 109: 106117.

[4] ZHU Y L, LI C Z, CUI H Y, et al. Encapsulation Strategies to Enhance the Antibacterial Properties of Essential Oils in Food System[J]. Food Control, 2021,123: 107856.

[5] 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, 2019, 89: 80-89.

[6] SHI W J, TANG C H, YIN S W, et al. Development and Characterization of Novel Chitosan Emulsion Films via Pickering Emulsions Incorporation Approach[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 253-264.

[7] XU Y Y, CHU Y F, FENG X, et al. Effects of Zein Stabilized Clove Essential Oil Pickering Emulsion on the Structure and Properties of Chitosan-Based Edible Films[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 156: 111-119.

[8] ALMASI H, AZIZI S, AMJADI S, Development and Characterization of Pectin Films Activated by Nanoemulsion and Pickering Emulsion Stabilized Marjoram (Origanum Majorana L.) Essential Oil[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 99: 105338.

[9] 焦博. 花生蛋白-多糖 Pickering 乳液的制备及稳定机理研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
JIAO B. Preparation and Stability Mechanism of Peanut Protein Polysaccharide Pickering Emulsion[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018.

[10] ZHANG S K, HE Z Y, XU F Z, et al. Enhancing the Performance of Konjac Glucomannan Films Through Incorporating Zein-Pectin Nanoparticle-Stabilized Oregano Essential Oil Pickering Emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 124: 107222.

[11] LIU C K, WANG L S, CHEN H, et al. Interfacial Structures and Processing Stability of Surimi Particles-Konjac Glucomannan Complexes Stabilized Pickering Emulsions via One-Step and Layer-by-Layer[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 147: 109349.

[12] XIE Y X, RUAN M G, ZHANG J, et al. Water-in-Water Pickering Emulsion Stabilized by Cellulose Nanocrystals as Space-Confined Encapsulating Systems: From Establishment to Stability[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 141: 108719.

[13] JIANG Y, ZHANG C, YUAN J H, et al. Effects of Pectin Polydispersity on Zein/Pectin Composite Nanoparticles (ZAPs) as High Internal-Phase Pickering Emulsion Stabilizers[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 219: 77-86.

[14] 刘珍珍, 辛颖, 张家豪, 等. 乳清分离蛋白-苹果果胶协同稳定百里香精油 Pickering 乳液的制备及其抑菌保鲜性能研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(19): 1-9.
LIU Z Z, XIN Y, ZHANG J H, et al. Preparation and Antibacterial Properties of Thyme Essential Oil-Loaded Pickering Emulsion Stabilized with Whey Protein Isolate-Apple Pectin Nanoparticle[J]. Food Research and Development, 2022, 43(19): 1-9.

[15] GUO J T, DONG S T, YE M Y, et al. Effects of Hydroxypropyl Methylcellulose on Physicochemical Properties and Microstructure of K-Carrageenan Film[J]. Foods, 2022, 11(19): 3023.

[16] WANG X G, YONG H M, GAO L, et al. Preparation and Characterization of Antioxidant and pH-Sensitive Films Based on Chitosan and Black Soybean Seed Coat Extract[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 56-66.

[17] 史亚濛. 花椒精油纳米乳液的制备、特性表征及其应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
SHI Y M. Preparation, Characterization and Application of Nano Emulsion of Zanthoxylum Bungeanum Essential Oil[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.

[18] ZHONG W Q, LI D J, LI L, et al. PH-Responsive Pickering Emulsion Containing Citrus Essential Oil Stabilized by Zwitterionically Charged Chitin Nanofibers: Physicochemical Properties and Antimicrobial Activity[J]. Food Chemistry, 2024, 433: 137388.

[19] CAI J, ZHANG D, XIE F. The Role of Alginate in Starch Nanocrystals-Stabilized Pickering Emulsions: From Physical Stability and Microstructure to Rheology Behavior[J]. Food Chemistry, 2024, 431: 137017.

[20] ZENG M, LI X, ZHANG Y C, et al. Tailoring the Droplet Size of Pickering Emulsions by PISA Synthesized Polymeric Nanoparticles[J]. Polymer, 2020, 206: 122853.

[21] FAN S M, WANG D B, WEN X G, et al. Incorporation of Cinnamon Essential Oil-Loaded Pickering Emulsion for Improving Antimicrobial Properties and Control Release of Chitosan/Gelatin Films[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 138: 108438.

[22] EBRAHIMI R, FATHI M, GHODDUSI H B. Pickering Emulsions Stabilized by Cellulose Nanocrystals Extracted from Hazelnut Shells: Production and Stability under Different Harsh Conditions[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 258: 128982.

[23] LU X X, ZHANG H W, LI Y Q, et al. Fabrication of Milled Cellulose Particles-Stabilized Pickering Emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 427-435,

[24] MWANGI W W, HO K W, TEY B T, et al. Effects of Environmental Factors on the Physical Stability of Pickering-Emulsions Stabilized by Chitosan Particles[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 543-550.

[25] 景成童, 涂安, 赵春昊, 等. 玉米醇溶蛋白-假酸浆子胶二元复合物的制备及在 Pickering 乳液中的应用[J]. 食品工业科技,2024, 45(9): 1-8.
JING C T, TU A, ZHAO C H, et al. Preparation of Zein Pseudophysalis Gum Binary Complex and Its Application in Pickering Emulsion[J]. Food Industry Technology, 2024, 45(9): 1-8.

[26] 周中玉, 胡飞. 改性柑橘果胶-乳清蛋白稳定的精油 Pickering 乳液[J]. 精细化工, 2023, 40(5): 1090-1099.
ZHOU Z Y, HU F. Essential Oil Pickering Emulsions Stabilized by Modified Citrus Pectin-Whey Proteins[J]. Fine Chemicals, 2023, 40(5): 1090-1099.

[27] 宿华林, 吴迪, 孙爽, 等. 高强度超声辅助乳化对金鲳鱼蛋白－茶皂苷复合乳液性质的影响[J]. 中国油脂, 2023, 49(1): 35-42.
SU H L, WU D, SUN S, et al. Effect of High Intensity Ultrasonic-Assisted Emulsification on Properties of Golden Pomfret Protein-Tea Saponin Composite Emulsion[J]. Chinese Oils and Fats, 2023, 49(1): 35-42.

[28] LIU Z, SHEN R, YANG X B, et al. Characterization of a Novel Konjac Glucomannan Film Incorporated with Pickering Emulsions: Effect of the Emulsion Particle Sizes[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 179: 377-387.

[29] REN G R, LIU J C, SHI J Y, et al. Improved Antioxidant Activity and Delivery of Peppermint Oil Pickering Emulsion Stabilized by Resveratrol-Grafted Zein Covalent Conjugate/Quaternary Ammonium Chitosan Nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 253(Pt 4): 127094.

[30] HUI A P, DUAN F Z, ZHU Y F, et al. Sapindus Mukorossi Modified Palygorskite Particles for Stabilizing Pickering Emulsions and Enhancing Antibacterial Activities[J]. Colloid and Interface Science Communications, 2023, 53: 100702.