段雨辰, 闫萍, 康旭, 等. 猪血浆蛋白微酸热纳米聚集体表征及 Pickering 乳化剂属性 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(2): 116−125. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020196

DUAN Yuchen, YAN Ping, KANG Xu, et al. Characterization and Pickering Emulsification of Porcine Plasma Protein Nanoparticles Induced by Mild Acidification and Heat Treatment[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(2): 116−125. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020196

· 研究与探讨 ·

猪血浆蛋白微酸热纳米聚集体表征及 Pickering 乳化剂属性

段雨辰, 闫　萍, 康　旭, 袁江兰*

（工业发酵省部共建协同创新中心, 湖北工业大学生命科学与健康工程学院, 湖北武汉 430068）

摘　要: 为了提高猪血浆蛋白（Porcine plasma protein，PPP）的乳化性能，探究了不同 pH 条件下加热所得 PPP 纳米颗粒（PPP nanoparticles，PPP-NP）的理化特征和稳定油水界面的能力。首先利用纳米粒度仪、圆二色光谱仪、场发射扫描电镜和界面流变仪对 PPP-NP 的粒径、电位、二级结构、微观形貌及降低油水界面张力的能力进行表征，然后以 PPP-NP 为乳化剂制备 Pickering 油水乳液，并通过对贮藏期间乳液的粒度、表观粘度、Zeta 电位、油滴形貌等分析评估了 PPP-NP 的乳化性及乳化稳定性，最后利用稳定性分析仪精确分析了乳液的稳定性。粒径、Zeta-电位、场发射扫描电子显微镜、界面张力等分析结果表明，pH6.5 时 PPP 发生有序聚集，形成了平均粒径约 112 nm、多分散性系数（Polydispersity index，PDI）为 0.19 的纳米颗粒，聚集体形态、大小均一，分散性好，具有很强的降低油水界面张力的能力。相较于对照，这种由 PPP-NP 稳定的 Pickering 乳液粘度高、粒径大但均一性和贮藏稳定性更好，经 45 ℃ 储藏 28 d 后乳液更均一。激光共聚焦显微镜（Confocal laser scanning microscope，CLSM）、背散射光强度和 Turbiscan 稳定性指数（Turbiscan stability index，TSI）等结果表明，相应的 PPP-NP 乳液很稳定，油滴大小均匀无聚集，乳液的 TSI 值相对较低，相比对照组降低了 71.4%。综合分析，PPP 在 pH 6.5 下加热可发生有序自组装形成乳化性能良好的纳米颗粒，这一发现为 PPP 作为乳化剂在食品结构和功能设计中的应用提供了指导。

关键词: 猪血浆蛋白, 纳米聚集体, Pickering 乳化剂, 稳定性

中图分类号: TS201.7　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)02−0116−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020196

本文网刊:

Characterization and Pickering Emulsification of Porcine Plasma Protein Nanoparticles Induced by Mild Acidification and Heat Treatment

DUAN Yuchen，YAN Ping，KANG Xu，YUAN Jianglan*

（Industrial Fermentation Province Co-construction Collaborative Innovation Center, School of Life and Health Sciences, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China）

Abstract: To improve the emulsification properties of porcine plasma protein (PPP), this study focused on investigating the physicochemical characteristics and oil-water interface stabilization capabilities of PPP nanoparticles (PPP-NP) formed through thermal treatment under different pH conditions. Firstly, particle size, zeta potential, secondary structure, microscopic morphology, and oil-water interfacial tension reduction capacity of PPP-NP were characterized by the instruments including nanoparticle size analyzer, circular dichroism spectrometer, field-emission scanning electron microscope (FE-SEM) and interfacial rheometer. Subsequently, the Pickering emulsions were fabricated through using

收稿日期: 2025−02−24

基金项目: 湖北工业大学博士科研启动基金项目（XJ2023010901）。

作者简介: 段雨辰（2000−）, 女, 硕士, 研究方向: 蛋白质资源综合利用, E-mail: 1356530656@qq.com。

*** 通信作者:** 袁江兰（1970−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 蛋白质资源综合利用, E-mail: jlyuan1229@163.com。

PPP-NP as emulsifier, and then the emulsibility and emulsification stability of PPP-NP were evaluated by analyzing the particle size, apparent viscosity, zeta potential, oil droplet morphology of the emulsion during storage. Finally, emulsion stability was quantitatively assessed through a stability analyzer. The results from analyzing the particle size, zeta potential, FE-SEM, interfacial tension indicated that PPP aggregated orderly at pH6.5, and thereby formed the nanoparticles with an average particle size of about 112 nm and a polydispersity index (PDI) of 0.19. The aggregates were uniform in shape and size and showed good dispersibility and strong capability of reducing oil-water interfacial tension. Compared to the control group, the PPP-NP-stabilized Pickering emulsion displayed high viscosity, relatively large droplet size but better uniformity and storage stability. After 28 days of storage at 45 ℃, the emulsion maintained more uniform droplet distribution. The results from confocal laser scanning microscope (CLSM) combined with backscattered light intensity and Turbiscan stability index (TSI) analysis indicated that the corresponding PPP-NP-based emulsions at pH6.5 were very stable, and the oil droplets in it were uniform in size without aggregation. The TSI values of the emulsion were relatively low, which were 71.4% lower than that of the control group. Overall, PPP could aggregate orderly and form the nanoparticles with excellent emulsifying properties through heating the solution at pH6.5, and the finding could provide some valuable insights for the application of PPP as emulsifier in the structural and functional design of food.

Key words: porcine plasma protein (PPP); nanoparticles; Pickering emulsifier; stability

热处理是食品工业中常用的加工单元，蛋白质经热处理会发生变性并进一步聚集，如果蛋白质浓度高于临界凝胶浓度（Critical gel concentration, Cg），则可能导致凝胶化[1−3]，如果蛋白质浓度低于 Cg，则产生稳定的聚集体悬浮液[4]。聚集体的形态和大小受很多因素的影响，包括 pH、离子强度、盐的类型和蛋白质浓度等[5−6]。因此，可以通过控制热处理温度和 pH 来控制聚集体尺寸[7]。在一定的温度和 pH 下，蛋白会聚集形成球状纳米颗粒，已有文献报道的包括马铃薯蛋白[8]、大豆球蛋白[9]、乳清蛋白[10]、牛血清白蛋白[11] 等。研究发现这些蛋白质纳米颗粒可以通过形成粘弹性更高的吸附层，从而极大地增强蛋白质的乳化活性和乳液稳定性[12]。

Pickering 乳液是一种由固体颗粒稳定并吸附于乳液两相界面的新型乳化体系[13]。相较于传统乳液，Pickering 乳液拥有毒性更低、稳定性更高等优点[14]。近年来，蛋白质纳米颗粒凭借其生物可降解性、良好表面活性及生物相容性等特性，成为 Pickering 乳液稳定剂的研究热点[15]。值得注意的是，颗粒的乳化能力与其理化特性（如颗粒形态、尺寸以及表面润湿性）密切相关[16]。因此，通过优化制备条件（如 pH、温度、离子强度等）调控蛋白质纳米颗粒的界面行为，进而提升乳液稳定性，是当前食品领域的重要研究方向。

猪血浆蛋白（Porcine plasma protein, PPP）主要包括三大类蛋白：白蛋白（50%~60%）、球蛋白（40%~50%）和纤维蛋白原（1%~3%）[17−18]。PPP 具有优异的乳化性、起泡性和凝胶性等功能特性[19]，通常在食品中作为鱼糜凝胶增强剂、葡萄酒澄清剂、烘焙食品中的发泡剂和鸡蛋替代品等。据联合国粮农组织统计，2021 年产生了约 34.6 亿升猪血浆，理论上 PPP 的全球年产量约为 30.1 万吨[20]。PPP 不仅资源丰富、价格低廉，而且营养丰富，已经被广泛应用于食品。然而，PPP 功能特性的呈现程度与其聚集状态具有相关性，关于这方面鲜少有研究涉及。研究表明，经加热形成的蛋白质纳米聚集体作为 Pickering 乳液乳化剂，其稳定乳液能力显著优于相应的未聚集蛋白[21]，这为 PPP 乳化能力的提高提供了新思路。

本文探究了不同 pH 条件下热处理制备的 PPP 热聚集纳米颗粒（PPP heat aggregation nanoparticles, PPP-NP），通过粒径、Zeta-电位和场发射扫描电子显微镜等方法分析 pH 对 PPP-NP 粒径、结构、界面吸附特性的影响，通过对 PPP-NP 制备的 Pickering 乳液表观粘度、微观结构和稳定性的分析，阐明 PPP-NP 的乳化性能。本研究为 PPP 作为乳化剂的深度开发和应用提供了数据支持，为开发微酸体系的食品乳液体系提供了新策略。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

喷雾干燥猪血浆蛋白粉　中国襄阳赢加生物科技有限公司；中链甘油三脂（Medium-chain triglyceride, MCT）　广州永晟贸易有限公司；尼罗红（纯度≥95%）　上海阿拉丁生化科技有限公司；其他试剂均为分析级试剂；MD34 型透析袋（截留分子量 7 kDa）　北京梦怡美生物科技有限公司。

SCIENTZ-10ND 冷冻干燥机　宁波新芝生物科技股份有限公司；FA25-D 高剪切分散乳化机　上海弗鲁克流体机械制造有限公司；LM10 高压均质机　上海帝博思生物科技有限公司；Zetasizer Nano ZS 纳米粒度电位仪、Mastersizer 2000 激光粒度分析仪　英国马尔文公司；J-1500 圆二色光谱仪　日本 JASCO 公司；SU8010 场发射扫描电子显微镜　日本日立公司；LEICA SP8 激光共聚焦显微镜　德国徕卡仪器有限公司；TRACKER 界面流变仪　法国 TECLIS 界面技术有限公司；MCR92 安东帕流变仪　奥地利安东帕仪器有限公司；TURBISCAN TOWER 多重光散射仪　法国 Formulaction 仪器有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　PPP 的纯化　参考文献 [22] 的方法纯化 PPP。

将喷雾干燥的 PPP 粉末溶解在超纯水中配制成 10.0% (w/v)的蛋白溶液,在 4 ℃ 条件下10000 r/min 离心 15 min 以除去不溶性杂质,用透析袋(截留分子量为 7 kDa)对上清液进行透析。最后将透析液冷冻干燥即获得 PPP,密封后置于 4 ℃ 保存备用。

1.2.2 不同 pH 下 PPP-NP 的制备 取 1.2.1 制备获得的 PPP 配制 1% (w/v)的 PPP 溶液,室温 300 r/min 搅拌 2 h,冰箱中静置过夜,充分水合,然后在 4 ℃ 条件下 10000 r/min、15 min 离心取上清液,调节 pH 至 4.0、6.5、7.0、7.5、8.0,在 85 ℃ 水浴加热 20 min 后,立即 4 ℃ 冰水浴冷却,获得不同 pH 的 PPP-NP 的稳定悬浮液。同时设置对照样品,不做任何处理。

1.2.3 粒径和 Zeta-电位测定 粒径和 Zeta-电位由 Nano ZS+MPT-2 Malvern 纳米粒度分析仪测定。参考文献 [23] 的方法,并稍作修改。用相应 pH 的超纯水稀释至 0.4 mg/mL,在 25 ℃ 下平衡 120 s 后测定。

1.2.4 表面形貌观察 将 1.2.2 制备的悬浮液使用液氮进行速冻后,再对其进行冷冻干燥获得样品粉末备用,将样品粉末均匀分散于导电胶上,使用场发射扫描电子显微镜观察样品的表面形貌。

1.2.5 圆二色光谱分析 参考文献 [24] 的方法,并在其基础上修改。用相应 pH 的超纯水将 1.2.2 制备的悬浮液稀释至 1 mg/mL。利用 0.1 cm 的石英比色皿,在 190~240 nm 的波长范围内进行扫描,取三次扫描结果的平均值生成数据。

1.2.6 界面张力测定 使用 Tracker 界面流变仪测量了不同 pH 的 PPP-NP 降低油水界面张力的能力。参考文献 [25] 的方法,稍作修改。将 1.2.2 制备的 PPP-NP 用相应 pH 的超纯水稀释 10 倍,然后添加到一个光学玻璃样品皿中(40 mm×40 mm×30 mm),油相 MCT 添加到 U 型注射器(弯曲 G18,内径 0.84 mm,长度 10 cm)。在恒定的油滴体积下,监测了 6000 s 内界面张力值的变化,直到达到平衡。所有测量均在 25 ℃ 下进行。

1.2.7 不同 pH 下 PPP-NP 稳定的 Pickering 乳液的制备 将 1.2.2 制备的悬浮液与油相(MCT)按体积比 9∶1 混合,先高速剪切 3 min 形成粗乳液,再 75 MPa 高压均质制备 Pickering 乳液。

1.2.8 乳液的粒径测定 使用 Mastersizer 2000 激光粒度仪测定乳液液滴的大小和分布情况。测定乳液液滴的大小和分布情况。参考文献 [26] 的方法,测定前使乳液与分散剂(去离子水)充分混匀后进行测试,其中样品折射率设置为 1.47,分散剂折射率为 1.33;泵速为 2000 r/min。液滴的大小用体积加权平均粒径(Volume-weighted diameter, $d_{4,3}$)表示。其中计算公式如下:

$$d_{4,3}=\left(\sum n_i d_i^4\right)\left(\sum n_i d_i^3\right)$$

式中:d_i 表示油滴直径,μm;n_i 表示直径为 d_i 的油滴数量。

1.2.9 乳液表观粘度的测定 通过安东帕 MCR92 流变仪中带有的不锈钢板和板的几何测量单元(pp-25,直径 25 mm)对乳液的表观粘度进行测量。参考文献 [27] 的方法并加以修改。将制备的新鲜乳液放置在两个平行板之间,间隙高度设置为 1 mm。在 0.1~1000 s^{-1} 的剪切速率范围内进行剪切扫描,研究乳液表观粘度的变化。

1.2.10 乳液的储藏稳定性 参考文献 [28] 的方法并加以修改。将新鲜制备的乳液(20 mL)转移到 30 mL 玻璃瓶中,然后在 45 ℃ 进行加速实验,定期监测乳液的视觉外观、粒径和电位的变化,观察其储存稳定性。

1.2.11 乳液的微观结构 采用 LEICA SP8 共聚焦激光扫描显微镜观察乳液的微观结构。参考文献 [29] 的方法并稍加修改。将 20 μL 的尼罗红(2 mg/mL,溶于异丙醇)加入到 1 mL 乳液中,充分混匀完成染色。取染色后的乳液 10 μL 涂在显微镜载玻片上,然后用盖玻片覆盖。在 488 nm(Ar-Kr 激光器)激发波长下,在 25 ℃ 下采集物镜放大倍数为 63×,像素为 1024×1024 的乳液显微图像,并在 45 ℃ 的加速储藏条件下定期监测其乳液微观结构的变化。

1.2.12 多重光散射 利用多重光散射技术通过测定稳定性指数(Turbiscan stability index, TSI)和相对背散射光(Relative backscattered light, ΔBS)的变化来评估 Pickering 乳液的稳定性。实验过程中,将新鲜制备的乳液(20 mL)转移到其样品瓶中,要求乳液不能有气泡,仪器平衡后立即进行测定[30]。设置扫描程序为 45 ℃ 扫描 48 h,每 1 h 进行一次扫描,通过仪器所带软件得到 Pickering 乳液的整体 TSI 值变化情况以及 ΔBS 随时间的变化曲线。通过样品的扫描图谱变化情况,分析乳液的稳定性。

1.3 数据处理

所有实验至少重复 3 次,结果之间的差异用平均值±标准差(Standard deviation, SD)表示,使用 Origin Pro 2017 对结果进行统计分析,实验数据采用 SPSS 23 进行统计学分析,应用 Duncan 检验分析样品之间差异的显著性,并且在 $P<0.05$ 时定义显著差异。

2 结果与分析

2.1 pH 对 PPP-NP 粒径和 Zeta-电位的影响

蛋白质热聚集颗粒的形成是蛋白质分子之间的静电和疏水相互作用的一种竞争现象。当蛋白质溶液中的亲水基团能够提供足够的排斥力时,蛋白质的聚集就会停止。相反,当疏水基团的作用很强时,会给蛋白质的聚集带来动力[31]。粒径和多分散性系数(Polydispersity index, PDI)测量通常用于表征溶液中的聚合物聚集情况;Zeta-电位用于表征溶液的电负性,分析溶液中分子间的静电相互作用[32]。研究表

明，蛋白质分子之间的作用力不仅与它们自身的特性有关，而且还取决于外部的加工环境条件[33]。图 1A 测定了不同 pH 对 PPP-NP 粒径的影响。如图 1A 所示，PPP-NP 的粒径在 45~120 nm 之间，在 pH6.5 时，PPP 溶液的粒径在 110 nm 左右，且拥有最低的 PDI(0.19)，表明 PPP 在 pH6.5 下形成的 PPP-NP 是分布最均一的。由图 1B 可知，PPP-NP 电位的绝对值随着 pH 的增加而增大，大豆蛋白热聚集体也有相同的趋势[34]。在 pH4.0 时，Zeta-电位值为正，主要是由于此时 pH<5.5(PPP 的等电点(Isoelectric point, pI)为 5.5[18])，溶液带正电荷；当 pH≥6.5 时，Zeta-电位的绝对值随 pH 增大的原因是此时溶液距离 pI 越来越远，携带更多的负电荷。综上所述，在 pH6.5 下 PPP-NP 粒径最大，为 110 nm。且 PDI 值最低，说明在此 pH 下，PPP-NP 的粒径分布集中，分散性好。

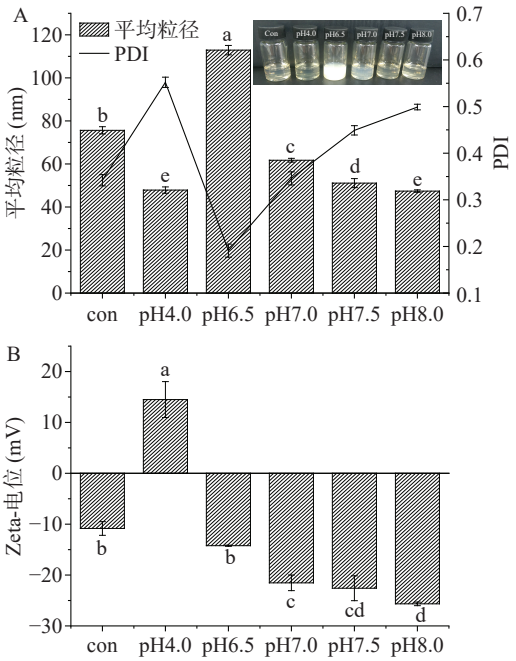


图 1　不同 pH 下 PPP-NP 的粒径和 PDI(A)及 Zeta-电位(B)

Fig.1　Particle size, PDI (A) and Zeta- potential (B) of PPP-NP at different pH

注：不同字母表示样品之间存在显著性差异，$P<0.05$。

2.2　PPP-NP 的表面形貌

用场发射扫描电子显微镜研究的 PPP-NP 的形态如图 2 所示。根据粒径结果，可得出 pH6.5 下 PPP-NP 的 PDI 值低，粒径分布集中，因此以 pH6.5 制备的 PPP-NP 为代表。由图 2A 所示，此条件下 PPP-NP 尺寸均匀。在图 2B 放大 5 万倍下更为清晰地观察到这一现象。颗粒尺寸大小和分布情况符合图 2A 的结果。这些 PPP-NP 以适当的尺寸制造以稳定 Pickering 乳液。由图 2A 可知 PPP-NP 的粒径大小在 45~120 nm 之间，较小的颗粒具有较快的吸附动力学，它们可以更快更准确地吸附在水包油界面上，从而使界面得到更大程度的填充，从而形成更稳定的 Pickering 乳液[35]。均一的粒径分布和低 PDI 值是稳定 Pickering 乳液的关键。在 pH6.5 下制备的 PPP-NP 不仅粒径分布均匀一致，并且兼具吸附动力学优势[36]，因此具有更高的应用价值。

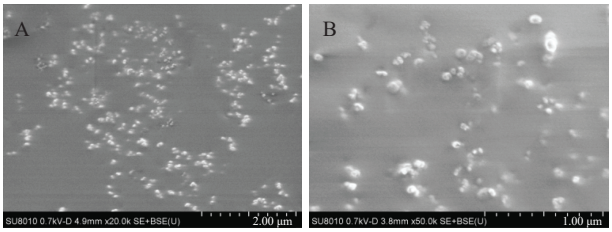


图 2　PPP-NP 的扫描电子显微镜图

Fig.2　Scanning electron microscope image of PPP-NP

注：A、B 分别为 PPP-NP 放大 20000、50000 倍的扫描电子显微镜图。

2.3　pH 对 PPP-NP 二级结构的影响

使用远紫外圆二色光谱测量 pH 对 PPP-NP 二级结构的影响。图 3 为圆二色光谱图，表 1 为二级结构的定量分析。由表 1 可知，PPP 含有 α-螺旋、β-折叠、β-转角和无规卷曲四种二级结构组分：α-螺旋和 β-折叠代表蛋白质的有序结构；β-转角和无规卷曲则代表蛋白质的无序结构。与未经任何处理的对照(control group, con)相比，在调节 pH 后经过加热的样品，α-螺旋结构含量显著减少约 19.2%~34.5%，β-折叠含量显著增加 6.9%~47.2%，无规卷曲含量降低 8.7%~20.2%。α-螺旋减少的原因是由于热处理会导致 α-螺旋中的氢键损伤，而氢键是稳定蛋白质二级结构的主要作用力[37]。β-折叠含量增加是由于热处理能打开蛋白结构，暴露疏水性基团，增强了蛋白质间的相互作用，进而通过分子间 β-折叠形成蛋白聚集体[38]。与中性和碱性条件相比，酸性(pH4.0)条件下的 α-螺旋含量较低，这可能是由于 α-螺旋主要是由氢键稳定的，而 PPP 的 pI 约 5.5，此时蛋白是带负电荷，酸性环境可能会增加由于电荷中和而增加蛋白质之间的静电作用力，从而影响氢键的稳定性。静电作用力和氢键的变化会导致酸性条件下 α-螺旋的损失[39]。研究表明，其他来源的蛋白二级结构变化也有相似的规律，例如，Wu 等[40]将芸豆蛋白进行低 pH 热处理，蛋白结构发生变形和重组，从而使 β-折叠含量增加。在 pH6.5~8.0 范围内，α-螺旋和 β-折叠

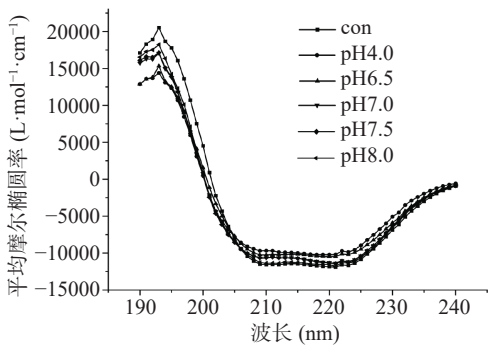


图 3　不同 pH 条件下 PPP-NP 的圆二色光谱图

Fig.3　Circular dichroic spectra of PPP-NP at different pH

表 1 pH 对 PPP-NP 二级结构的影响

Table 1 Effect of pH on secondary structure of PPP-NP

样品	α-螺旋	β-折叠	β-转角	无规则卷曲
con	34.1±1.27^{a}	32.75±4.59^{c}	7.35±2.61^{a}	25.8±0.71^{c}
pH4.0	22.35±0.92^{c}	48.2±1.69^{a}	1.4±0.42^{b}	28.05±0.35^{b}
pH6.5	24.45±1.48^{bc}	43.2±3.11^{ab}	2.2±0.85^{b}	30.15±0.78^{a}
pH7.0	26.2±2.12^{b}	39.3±3.67^{bc}	4.05±0.78^{b}	30.45±0.78^{a}
pH7.5	26.9±0.42^{b}	38.85±0.07^{bc}	3.25±0.64^{b}	31±1.13^{a}
pH8.0	27.55±0.35^{b}	35±0.42^{c}	8.05±0.35^{a}	29.4±0.78^{a}

注：同列不同小写字母表示显著差异，P<0.05。

含量变化不显著，说明在此范围内的 pH 的变化不足以引起蛋白质二级结构的变化。并且，在此范围内，pH6.5 下 PPP-NP 的 β-折叠含量相对最高。已经有相关研究表明，β-折叠含量的增加可能会提高颗粒的界面吸附能力[41]。因此，pH6.5 下 PPP-NP具有较强的降低界面张力能力，这与后面的界面吸附特性实验结果相互论证。

2.4 pH 对 PPP-NP 界面吸附特性的影响

由于从乳液界面去除吸附颗粒需要巨大的解吸能量，因此颗粒的界面吸附被认为是一个不可逆的过程[42]。PPP-NP 在油-水界面的吸附可能包括至少两个阶段：第一阶段 PPP-NP 接近乳液界面并渗透到油-水界面，第二阶段颗粒附着在界面，导致粘弹性界面膜的形成。由于乳化剂的界面特性是评估其稳定乳液能力的关键因素[43]，因此测定了不同 pH 条件下 PPP-NP 的界面张力的变化。如图 4 所示，所有样品在前 200 s 内界面张力值急剧下降，这是由于 PPP-NP 开始附着在油水界面上。界面张力的快速下降是 PPP-NP 具有有效乳化剂的一个基本特征[44]。随后，界面张力值下降速度减慢直至达到平衡，这是由于颗粒在油水界面的堆积和结构重排，接近平衡状态意味着颗粒即将终止分子构象的重排。在所有 pH 条件下，界面张力值均随着时间的推移而降低，表明 PPP 可以在各种 pH 条件下在油水界面处吸附[45]。界面张力的降低会降低吉布斯表面自由能，从而提高界面层的稳定性[44]。与 con 相比，所有样品的最终平衡值均小于 con，这可能是由于 con 未经加热处理，而实验组在热处理过程中球状蛋白质的展开（以及疏水部分的暴露）的结果[46]，说明 PPP-NP 的乳化性优于 PPP。有些蛋白加热聚集后降低界面张力的能力增加，因此稳定油水界面能力增强，乳化性和乳化稳定性改善[47]。

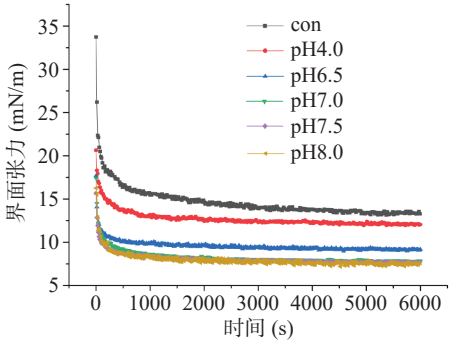


图 4 在油水界面不同 pH 的 PPP-NP 吸附的界面张力值随时间的变化情况

Fig.4 Changes of the interfacial tension values of PPP-NP adsorption at different pH at the oil-water interface with time

2.5 pH 对 PPP-NP 稳定 Pickering 乳液粒径分布的影响

乳液在不同 pH 下的粒径分布如图 5 所示。大多数乳液呈现双峰分布，但峰均不同。这可能是由于 PPP-NP 在油水界面上的重组和重排可能使液滴桥接，从而导致其呈双峰分布[48]。con 与 pH4.0 的乳液的粒径分布在较宽的范围内变化，而在中性及碱性条件下（pH7.0~8.0），乳液的液滴尺寸分布在小范围内相对均匀。乳液液滴粒径分布范围越窄、峰值越小表明乳液越稳定；因此，碱性条件下制备的 Pickering 乳液相对稳定。事实上，较多种类的蛋白质在碱性条件下的热变性和适度聚集均会导致其乳化性增强，包括乳清分离蛋白[10]、卵白蛋白等。而且，虽然 pH6.5 乳液的粒径分布比较窄，但其峰值远远大于其余各组，与较大的液滴尺寸相对应的乳液的峰面积可能是由于桥接机制形成的絮凝[49]。因此可能导致 pH6.5 乳液的长期稳定性低于碱性条件下制备的 Pickering 乳液。

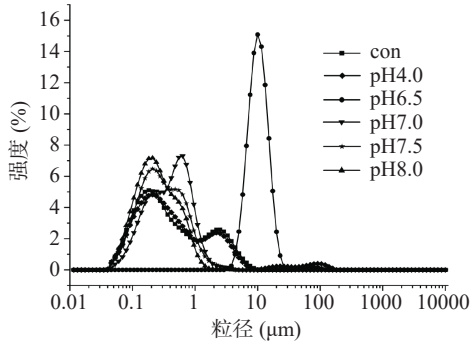


图 5 不同 pH 条件下 PPP-NP 稳定 Pickering 乳液的粒度分布

Fig.5 Particle size distribution of PPP-NP stabilized Pickering emulsion at different pH

2.6 pH 对 PPP-NP 稳定 Pickering 乳液表观粘度的影响

如图 6 所示，所有乳液的表观粘度均随着剪切速率的增加而下降，表现出剪切稀释行为。在 pH 4.0（低于 pI）和 6.5 时，乳液的表观粘度相似，表现出最高的粘度和剪切稀释行为。这时由于乳液液滴的高度絮凝，乳液表现出最高的粘度和剪切稀化行为，这与文献的分析结果一致[50−51]。对于球状蛋白质包裹的油滴，当 pH 接近吸附蛋白质的 pI 时，油滴之间的静电斥力降低，导致油滴聚集[52]。与非絮凝乳液相比，絮凝乳液表现出更高的粘度和剪切稀化行为，因为聚集体在其结构中保留了一些连续相，这导致粘度增加。在施加的剪切作用下，絮凝结构的破坏导致剪

切变稀行为。然而，在高于 pI 的 pH(pH7.0~8.0)下，乳液表现出明显较低的粘度，表明液滴絮凝较低。油水界面处蛋白较高程度的聚集会增加乳液的表观粘度[53]。根据 2.1 的结果可得，碱性条件下形成的热聚集体粒径较小，界面处蛋白聚集程度较低，因此碱性条件下所制备的乳液表现出低粘度。

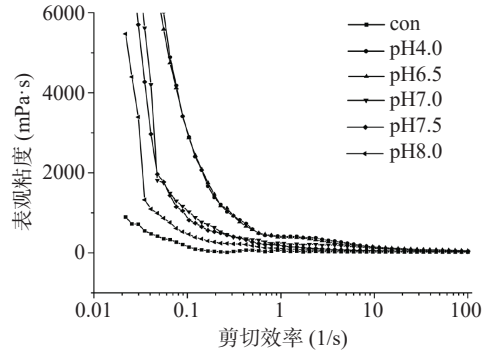


图 6　不同 pH 条件下 PPP-NP 稳定 Pickering 乳液的表观粘度

Fig.6　Apparent viscosity of PPP-NP stabilized Pickering emulsion at different pH

2.7　pH 对 PPP-NP 稳定 Pickering 乳液储藏稳定性的影响

制备了不同 pH 下 PPP-NP 稳定的水包油 Pickering 乳液，并在 45 ℃ 下加速储存 28 d，每 7 d 进行拍照记录其视觉外观的变化。乳液的视觉外观监测照片如图 7 所示。con 和 pH4.0 的乳液在加速储藏 7 d 后发生分层和聚结等现象；pH6.5 的乳液在第 14 d 时底部出现分层现象；pH7.0~8.0 的乳液在储藏 28 d 后仍保持良好的视觉外观，未出现相分离、聚结等现象，在整个实验过程中均保持均匀稳定。这些现象直观地表明 PPP-NP 具有良好的乳化能力，且制备出的乳液具有较好的稳定性，这可能与蛋白聚集体表面疏水性提高，从而有效降低其在油水界面上吸附所需的能量[54]。

粒径和 Zeta-电位是用于评估乳液体系稳定性的重要指标[55]。在 45 ℃ 下储存 4 周，在制备出后立即测量液滴大小和 Zeta-电位，在为期 4 周的储存期间每 7 d 测量一次。$d_{4,3}$ 用于评估乳液的粒径，发现其随 pH 而变化。如表 2 所示，第 0 d 时，pH7.0~8.0 的乳液粒径为纳米级；con、pH4.0、pH6.5 的乳液粒径则为微米级。较小的粒径会形成更稳定的乳液[56]，表明 pH7.0~8.0 乳液的长期稳定性可能优于其他组。由图 1A 可知，在 pH8.0 时的 PPP-NP 粒径明显小于其他 pH 条件下的，因此更容易吸附到油水界面上降低界面张力值，从而拥有更优异的乳化性能，这

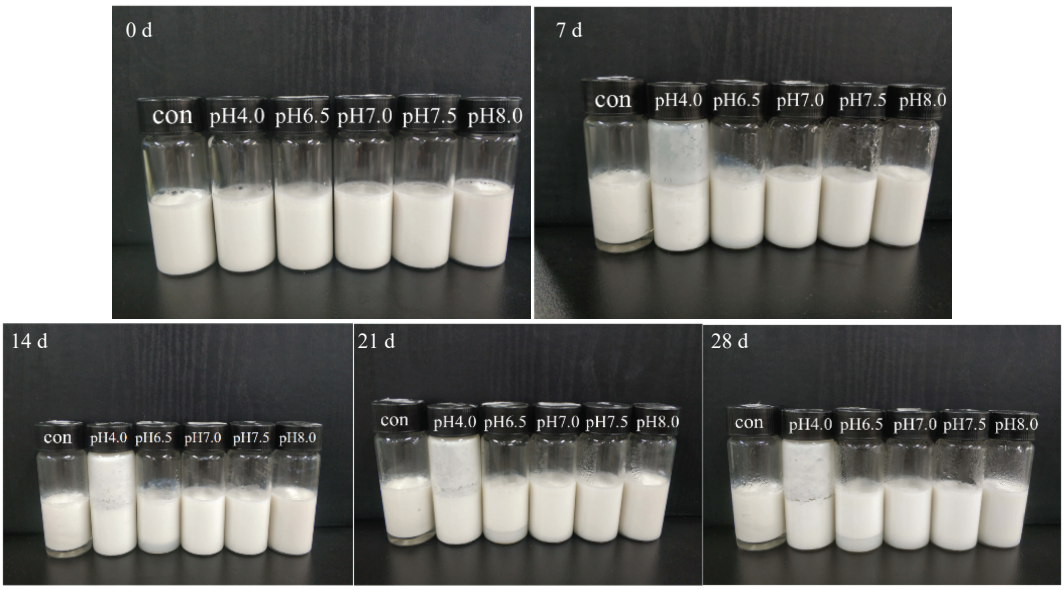


图 7　Pickering 乳液在 45 ℃ 储藏 28 d 的视觉直观图

Fig.7　Visual visualization of Pickering emulsion stored at 45 ℃ for 28 d

表 2　Pickering 乳液在 45 ℃ 储藏 28 d 的粒径监测

Table 2　Particle size monitoring of Pickering emulsions stored at 45 ℃ for 28 d

样品	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
con	1.396 ± 0.83^{Cc}	22.740 ± 2.66^{Ab}	26.306 ± 1.70^{Bb}	28.245 ± 0.81^{Bb}	44.876 ± 6.72^{Ba}
pH4.0	3.490 ± 1.12^{Bd}	20.372 ± 2.39^{ABd}	78.791 ± 17.33^{Ac}	123.222 ± 21.95^{Ab}	171.663 ± 14.99^{Aa}
pH6.5	9.963 ± 0.70^{Ac}	18.250 ± 0.95^{Bb}	23.499 ± 1.32^{Ba}	24.003 ± 0.78^{Ba}	23.169 ± 0.48^{Ca}
pH7.0	0.431 ± 0.01^{Cb}	0.452 ± 0.005^{Cb}	0.493 ± 0.004^{Cb}	0.606 ± 0.11^{Ca}	0.658 ± 0.004^{Da}
pH7.5	0.373 ± 0.006^{Cb}	0.376 ± 0.006^{Cb}	0.378 ± 0.007^{Cb}	0.379 ± 0.002^{Cb}	0.428 ± 0.004^{Da}
pH8.0	0.280 ± 0.01^{Cbc}	0.278 ± 0.005^{Cc}	0.292 ± 0.004^{Cab}	0.291 ± 0.106^{Cabc}	0.302 ± 0.004^{Da}

注：同列不同大写字母表示同样储藏时间不同pH乳液存在显著性差异；同行不同小写字母表示同一pH不同储藏时间乳液存在显著性差异，$P<0.05$，表3同。

表 3 Pickering 乳液在 45 ℃ 储藏 28 d 的 Zeta-电位

Table 3 Zeta-potential of Pickering emulsions stored at 45 ℃ for 28 d

样品	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
con	21.03±1.10^{Ba}	13.63±2.63^{Ab}	12.43±1.60^{Abc}	9.33±1.53^{Ac}	6.13±0.51^{Ad}
pH4.0	37.90±0.69^{Aa}	9.80±0.80^{Bb}	4.54±0.38^{Bc}	3.40±0.15^{Bd}	1.75±0.46^{Be}
pH6.5	−31.20±0.36^{Cc}	−29.27±1.75^{Cbc}	−27.37±0.80^{Cb}	−27.47±0.81^{Cb}	−22.97±0.61^{Ca}
pH7.0	−35.73±0.35^{Dbc}	−36.93±1.03^{Dc}	−34.00±2.46^{Dbc}	−33.20±1.42^{Dab}	−30.53±0.50^{Da}
pH7.5	−38.67±0.78^{Ec}	−37.87±1.17^{Dbc}	−37.63±0.76^{Ebc}	−35.80±2.46^{DEab}	−34.26±0.58^{Ea}
pH8.0	−44.33±1.84^{Fc}	−38.67±0.78^{Db}	−37.57±0.90^{Eb}	−37.43±0.95^{Eab}	−35.23±0.75^{Ea}

与 Lee 等[57] 获得的结果相似。Gao 等[58] 也报道了 SPI 稳定的乳液在碱性 pH 下稳定性更好。当储藏第 7 d 时，con 和 pH4.0 乳液粒径显著增加，说明其稳定性差，这与图 7 的外观图的表现一致。pH4.0 的乳液稳定性差的原因是蛋白质之间的静电排斥不足以克服吸引相互作用，导致颗粒聚集从而粒径增加[55]。PPP-NP 稳定的乳液在酸性条件下的 $d_{4,3}$ 随着贮藏天数的延长而逐渐增加，但随着 pH 的升高，$d_{4,3}$ 的增长速度逐渐减慢；当 pH 大于等于 7.0 时，其乳液粒径未发生显著性增加，说明乳液在碱性条件下保持稳定。可以得出结论，PPP-NP 稳定的 Pickering 乳液的稳定性随着水相从酸性变为碱性而增加，这可能是由于 pH 对 PPP 吸附的影响。

还监测了不同 pH 条件下乳液液滴的 Zeta-电位值。如表 3 所示，在第 0 d 时，随着 pH 从 4.0 变化到 8.0，Zeta-电位值从正值（37.90±0.69）变为负值（−44.83±1.84）。这种趋势可归因于 PPP 的 pI 出现在 5.5 左右，且 Zeta-电位的绝对值随着 pH 从 6.5 增加到 8.0 而显著增加，这是由于高于蛋白质的 pI 时的静电排斥从而抑制液滴的絮凝[51]。除 pH7.0~8.0外，其他样品的 Zeta-电位的绝对值随着储藏天数的延长而显著降低（P<0.05），同表 2 的粒径监测变化趋势相似。综上所述，pH6.5 下 PPP-NP 制备的乳液的初始稳定性良好，但于 14 d 后出现分层，因此 pH6.5 更适应于需要快速乳化的应用情况，比如肉制品加工；而中性和碱性条件下的 PPP-NP 制备的乳液，通过静电排斥机制可以较好的维持长期稳定性，适合储存型食品体系。

2.8 pH 对 PPP-NP 稳定 Pickering 乳液微观结构的影响

共聚焦激光扫描显微镜（Confocal laser scanning microscope，CLSM）常用于分析乳液的微观结构，它可以内在地反映乳液颗粒的尺寸分布、分散性和稳定性[51]。不同 pH 下形成的 PPP-NP 稳定的 Pickering 乳液如图 8 所示。油滴被尼罗红染色显示绿色，因此绿色区域代表油滴。由于乳液液滴的粒径较小，因此在 CLSM 下显现出满屏的绿色小点。由图 8 可知，当储藏 14 d 时，Con、pH4.0 的乳液均出现大面积的油滴聚集，pH6.5 的乳液出现局部小聚集，而 pH7.0~8.0 的乳液微观结构显示其分布仍然均匀，无任何油滴聚集现象。当储藏 28 d 后，Con、pH4.0、pH6.5 的乳液中聚集程度明显加强，pH7.0 的乳液也有较微弱的局部小聚集现象；而 pH7.5 与 pH8.0 的乳液仍保持良好的分布状态，这与图 7 的视觉直观图、表 2 粒径监测和表 3 电位监测的结果保持一致。CLSM 的结果再次证实 PPP-NP 稳定的乳液酸性条件下的长期稳定性较差，在中性和碱性条件下有着更好的乳液稳定性。这一结果与 He 等[59] 的结果相似，其所制备的样品同样在碱性条件下稳定性更高。

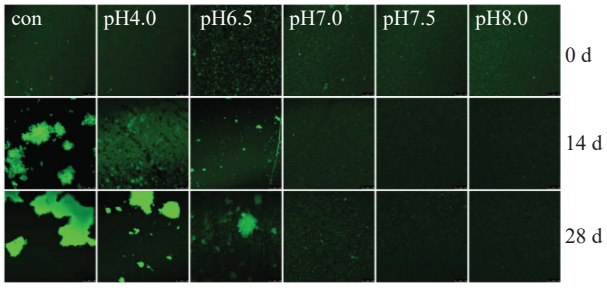


图 8 通过 CLSM 监测 Pickering 乳液的微观结构的变化

Fig.8 Microstructural evolution of Pickering emulsions monitored by CLSM

注：图像在 65×放大倍数下记录和捕捉，比例尺为 25 μm。

2.9 pH 对 PPP-NP 稳定 Pickering 的背散射光强度和 TSI 的影响

作为稳定性研究的一部分，在 45 ℃ 连续测量 48 h 的乳液光散射衍射。这些测量可用于评估乳液短期或长期稳定性，并阐明不稳定机制。图 9A 显示了在不同 pH 条件下 PPP-NP 稳定的 Pickering 乳液 ΔBS 的演变。乳液稳定性的定义表明，如果液滴的数量、尺寸分布和空间分布不随时间变化，则乳液是稳定的[60]。而 BS 则可直观反映乳化体系整体或局部的不稳定现象。因此，乳液越稳定，观察到的 BS 变化就越小。由图 9A 可知，con 的 ΔBS 随扫描时间的延长出现大尺度平行平移，说明类似光强对应的液体体积在增加，结合视觉直观图，该乳液出现明显的相分离，大液滴上升，小液滴残留。pH4.0 的底部（0~15 mm）曲线下移，这表明发生了明显的聚结/絮凝现象[60]，这与 Cao 等[61] 报道的 pH4.0 下界面蛋白桥接絮凝机制相吻合。pH6.5~8.0 的 ΔBS 曲线基本保持不变，说明 pH6.5~8.0 的乳液稳定性较好。

虽然 BS 可以直观反映乳液体系的局部不稳定现象，但无法量化比较多个样品的不稳定程度。因此

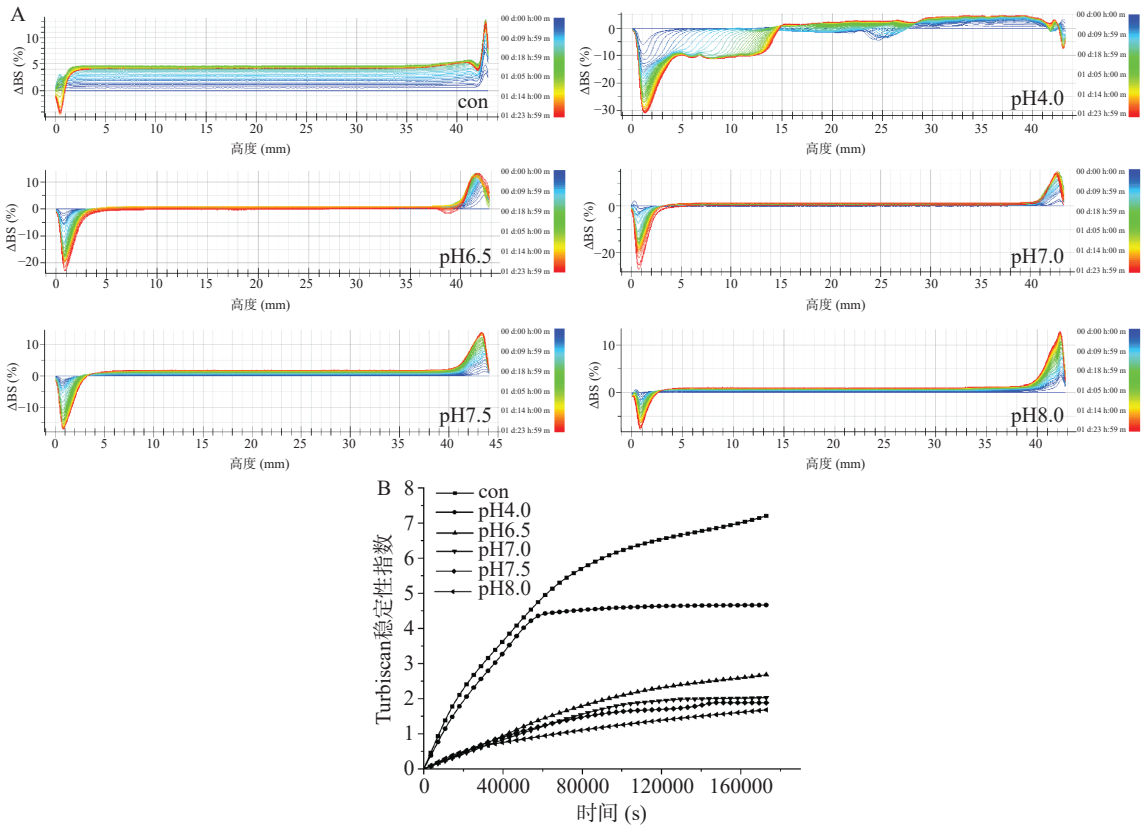


图 9　pH 对 Pickering 乳液的背散射光强度(A)和 TSI(B)的影响

Fig.9　Effect of pH on the backscattered light intensity (A) and TSI (B) of Pickering emulsion

乳液稳定性也可以使用 TSI 值[62] 来表征。TSI 可以表征多种不稳定现象对光强度变化的综合影响，还可以比较出不同样品间的稳定性差异；TSI 值越大，乳液体系越不稳定。不同 pH 制备的 PPP-NP 稳定的 Pickering 乳液的 TSI 如图 9B 所示。所有样品的 TSI 值均随着扫描时间的增加而增大。从图 9B 可以看出，乳液稳定性结果为 pH8.0>pH7.5>pH7.0>pH6.5>pH4.0>con。这与图 7 的储藏稳定性直观图相一致。在瓶装直观图中，肉眼仅方便观察并记录由乳液液滴上升引起的乳液分层，然而，在 TSI 测量中，TSI 值不仅记录了分层现象，而且还记录了絮凝和聚结。絮凝和聚结被认为是乳液稳定性中影响因素的一部分。因此 TSI 值的变化能更全面、系统的表征乳状液体系的稳定性。

3　结论

在 pH6.5 条件下，PPP 通过有序自组装形成平均粒径为 112 nm、PDI 低至 0.19 的纳米粒子，显著优于其他 pH 条件的 PPP-NP。场发射扫描电镜实验进一步证实了 pH6.5 下 PPP-NP 的均一形态和优异分散性，表明 pH6.5 是调控 PPP 聚集行为的理想 pH 条件。界面张力实验表明，PPP-NP 在 200 秒内迅速降低油水界面张力至平衡值，这归因于热处理后疏水基团的暴露及分子间 β-折叠结构的增加。此类结构特性增强了颗粒在界面的粘弹性膜形成能力，从而提升乳化效率。表观粘度和乳液稳定性实验表明，pH6.5 制备的 Pickering 乳液在中短期内具有显著稳定性优势，其表观粘度最高，液滴粒径分布集中，且在 45 ℃ 加速储存 14 d 后仍保持均匀。尽管中性/碱性条件(pH7.0~8.0)的乳液在长期储存(28 d)中表现更优(TSI 值最低)，但其较小的颗粒尺寸(0.28~0.43 μm)可能需更高能量输入以实现快速乳化。因此，pH6.5 在加工效率与稳定性之间取得了平衡，尤其适用于肉制品等需即时乳化的场景。综上所述，pH6.5 条件下制备的 PPP-NP 凭借均一的纳米结构、快速界面吸附及中短期稳定性，为更优异的食品乳化剂的开发提供了新思路，并为接下来设计一种更有效的活性物质递送系统提供了新的策略和理论基础。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] AMIN S, BARNETT G V, PATHAK J A, et al. Protein aggregation, particle formation, characterization & rheology[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2014, 19(5): 438−449.

[2] NICOLAI T, DURAND D. Controlled food protein aggregation for new functionality[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2013, 18(4): 249−256.

[3] NICOLAI T, BRITTEN M, SCHMITT C. β-Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(8): 1945−1962.

[4] KHARLAMOVA A, CHASSENIEUX C, NICOLAI T. Acid-

induced gelation of whey protein aggregates: Kinetics, gel structure and rheological properties[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 81: 263−272.

[5] CHI E Y, KRISHNAN S, RANDOLPH T W, et al. Physical stability of proteins in aqueous solution: Mechanism and driving forces in nonnative protein aggregation[J]. Pharmaceutical Research, 2003, 20(9): 1325−1336.

[6] MEZZENGA R, FISCHER P. The self-assembly, aggregation and phase transitions of food protein systems in one, two and three dimensions[J]. Reports on Progress in Physics. Physical Society, 2013, 76(4): 046601.

[7] SOBHANINIA M, NASIRPOUR A, SHAHEDI M, et al. Fabrication of whey proteins aggregates by controlled heat treatment and pH: Factors affecting aggregate size[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 74−82.

[8] KHATI P, LE PARC R, CHEVALIER-LUCIA D, et al. High pressure and heat-induced potato protein aggregates: A comparison of aggregation kinetics, structure modifications, and protein interactions[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 151: 109838.

[9] CHEN Nannan, ZHAO Mouming, CHASSENIEUX C, et al. Thermal aggregation and gelation of soy globulin at neutral pH[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 740−746.

[10] FAN Yuting, PENG Gaofei, PANG Xiang, et al. Physicochemical, emulsifying, and interfacial properties of different whey protein aggregates obtained by thermal treatment[J]. LWT, 2021, 149: 111904.

[11] KISHORE N. Influence of amino acids on alkaline pH induced partially folded molten globule like intermediate of bovine serum albumin: Conformational and thermodynamic insights[J]. Journal of Molecular Liquids, 2022, 368: 120599.

[12] DISSANAYAKE M, VASILJEVIC T. Functional properties of whey proteins affected by heat treatment and hydrodynamic high-pressure shearing[J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92(4): 1387−1397.

[13] ZHANG Ting, XU Jiamin, CHEN Jiahui, et al. Protein nanoparticles for Pickering emulsions: A comprehensive review on their shapes, preparation methods, and modification methods[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 113: 26−41.

[14] LU Dandan, ZHANG Furong, HUI Fuyi, et al. Structure, interface properties and curcumin encapsulation of hogskin particles stabilized novel Pickering emulsions[J]. LWT, 2023, 182: 114830.

[15] DING Mengzhen, ZHANG Ting, ZHANG Huan, et al. Gelatin-stabilized traditional emulsions: Emulsion forms, droplets, and storage stability[J]. Food Science and Human Wellness, 2020, 9(4): 320−327.

[16] GONZALEZ ORTIZ D, POCHAT-BOHATIER C, CAMBEDOUZOU J, et al. Current trends in Pickering emulsions: Particle morphology and applications[J]. Engineering, 2020, 6(4): 468−482.

[17] LI Weifeng, HUANG Mengmeng, WANG Peng, et al. Rheological and nuclear magnetic resonance characterization of porcine plasma protein-stabilized gel-like emulsion affected by pH and heating[J]. LWT, 2017, 75: 460−465.

[18] ZHANG Yu, YUAN Jianglan, FAN Chao, et al. Fabrication and characteristics of porcine plasma protein cold-set gel: Influence of the aggregates produced by glucono-δ-lactone acidification on microbial transglutaminase catalysis[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 115: 106597.

[19] ALAGIA M, BENGOECHEA C, LA FERLA B, et al. Effects of the green cross-linking agent tannic acid and its oxidation on the properties of porcine plasma protein superabsorbent materials[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 304(Pt 1): 140584.

[20] SAMSALEE N, SOTHORNVIT R. Effect of natural cross-linkers and drying methods on physicochemical and thermal properties of dried porcine plasma protein[J]. Food Bioscience, 2017, 19: 26−33.

[21] BURGOS-DÍAZ C, WANDERSLEBEN T, OLIVOS M, et al. Food-grade Pickering stabilizers obtained from a protein-rich lupin cultivar (AluProt-CGNA®): Chemical characterization and emulsifying properties[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 847−857.

[22] LIU Xiaocui, YUAN Jianglan, CHEN Rui, et al. Chitooligosaccharide assisted in the construction of Pickering high internal phase emulsion near the isoelectric point of porcine plasma protein[J]. LWT, 2024, 198: 116032.

[23] HAN Xiaoyue, NIU Xukai, XU Mengyan, et al. *Flammulina velutipes* protein-*Flammulina velutipes* soluble polysaccharide-tea polyphenols particles stabilized Pickering emulsions for the delivery of β-carotene[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 285: 138299.

[24] ZHOU Xin, SHI Jie, YU Na, et al. Casein-grape seed proanthocyanidins complexes stabilized Pickering emulsion gels based on *Lycium* Barbarum seed oil with excellent mechanical properties and oxidation resistance[J]. Food Chemistry, 2025, 468: 142416.

[25] WANG Jing, YANG Cheng, JIANG Jianzhong. Pickering emulsions with controllable rheological properties stabilized by oat globulin at different pH levels[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2025, 716: 136694.

[26] LIU Zhe, SHEN Rui, YANG Xingbin, 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.

[27] LIU Lili, ZHANG Xiaodan, YU Ying, et al. Construction and characteristics of EGCG-porcine serum albumin Pickering emulsion: Based on noncovalent interactions mechanism[J]. Food and Bioproducts Processing, 2024, 148: 464−477.

[28] LI Bailiang, SHI Xiaodan, YANG Shengjun, et al. Impact of storage temperature on physical stability and protein-lipid co-oxidation in whey protein functional emulsions[J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105433.

[29] MA Yanlan, YANG Xinyi, ZHU Zongshuai, et al. Study on the stability, functional activity and preservation effect of oregano essential oil Pickering emulsion with different proportions of chicken bone gelatin/bacterial cellulose during storage[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 282: 137309.

[30] RAIKOS V. Encapsulation of vitamin E in edible orange oil-in-water emulsion beverages: Influence of heating temperature on physicochemical stability during chilled storage[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 72: 155−162.

[31] 郭增旺, 郭亚男, 李柏良, 等. 高压均质条件下大豆蛋白热聚集体结构和乳化特性研究[J]. 农业机械学报, 2021, 52(4): 351−358,374. [GUO Zengwang, GUO Yanan, LI Bailiang, et al. Effects of high-pressure homogenization on structural and emulsifying properties of soybean protein thermal aggregates[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(4): 351−358,374.]

[32] QU Danni, WANG Shengnan, ZHAO Hekai, et al. Structure and interfacial adsorption behavior of soy hull polysaccharide at the

oil/water interface as influenced by pH[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 116: 106638.
[33] GONG Kuijie, CHEN Lirong, XIA Haiyong, et al. Driving forces of disaggregation and reaggregation of peanut protein isolates in aqueous dispersion induced by high-pressure microfluidization [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 130: 915−921.
[34] SU Ruihan, ZHANG Xueqing, CAO Jia, et al. Exploring the interfacial behavior and foam characteristics of various soy protein aggregates: Insights of morphology and conformational flexibility [J]. Food Hydrocolloids, 2025, 166: 111362.
[35] MATOS M, MAREFATI A, BORDES R, et al. Combined emulsifying capacity of polysaccharide particles of different size and shape[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 169: 127−138.
[36] WEI Zihao, ZHOU Qi, LIU Qingqing, et al. Oleogel-based Pickering emulsions stabilized by pea protein isolate aggregates with different morphologies: Curcumin protection and microencapsulation[J]. Food Chemistry, 2025, 473: 143108.
[37] SANO T, OHNO T, OTSUKA-FUCHINO H, et al. Carp natural actomyosin: Thermal denaturation mechanism[J]. Journal of Food Science, 1994, 59(5): 1002−1008.
[38] CHEN L, ETTELAIE R, AKHTAR M. Improved enzymatic accessibility of peanut protein isolate pre-treated using thermosonication[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 308−316.
[39] LIU Ru, ZHAO Siming, XIONG Shanbai, et al. Role of secondary structures in the gelation of porcine myosin at different pH values[J]. Meat Science, 2008, 80(3): 632−639.
[40] WU Sisi, ZHANG Zifan, LIU Chunxiu, 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.
[41] AFKHAMI R, VARIDI M J, VARIDI M, et al. Boosting emulsion properties: The role of β-sheet content and fibril length in soy protein isolate emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 149: 109513.
[42] XIAO Jie, LI Yunqi, HUANG Qingrong. Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 55: 48−60.
[43] WEI Zihao, HUANG Qingrong. Edible Pickering emulsions stabilized by ovotransferrin–gum Arabic particles[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 590−601.
[44] JIANG Yang, XU Yuhua, LI Feng, et al. Pectin extracted from persimmon peel: A physicochemical characterization and emulsifying properties evaluation[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 101: 105561.
[45] HAN Yu, CHENG Zhe, ZHANG Yuntian, et al. Effect of metal ions and pH on the emulsifying properties of polysaccharide conjugates prepared from low-grade green tea[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 102: 105624.
[46] DAMODARAN S, PARKIN K L. Amino acids, peptides, and proteins[M]//Fennema's food chemistry. CRC press, 2017: 235−356.
[47] CAO Y Y, XIONG Y L, CAO Y G, et al. Interfacial properties of whey protein foams as influenced by preheating and phenolic binding at neutral pH[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 379−387.
[48] KEERATI-U-RAI M, CORREDIG M. Heat-induced changes in oil-in-water emulsions stabilized with soy protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(8): 2141−2148.
[49] PALAZOLO G G, SOBRAL P A, WAGNER J R. Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions prepared with native and thermally-denatured soybean isolates[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(3): 398−409.
[50] SRIPRABLOM J, LUANGPITUKSA P, WONGKONGKATEP J, et al. Influence of pH and ionic strength on the physical and rheological properties and stability of whey protein stabilized o/w emulsions containing xanthan gum[J]. Journal of Food Engineering, 2019, 242: 141−152.
[51] ZHANG Xiaoying, QI Baokun, XIE Fengying, et al. Emulsion stability and dilatational rheological properties of soy/whey protein isolate complexes at the oil-water interface: Influence of pH[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106391.
[52] DICKINSON E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 81(1): 130−140.
[53] DU Qiwei, JI Xuehua, LYU Fei, et al. Heat stability and rheology of high-calorie whey protein emulsion: Effects of calcium ions[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 114: 106583.
[54] LI Meng, XU Heyang, ZHAO Yue, et al. Phase behavior, physicochemical and rheological characteristics of low oil phase Pickering emulsion gels stabilized by whey protein isolate-γ-oryzanol aggregated particles: Roles of pH and temperature[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 304: 140772.
[55] QI Baokun, DING Jian, WANG Zhongjiang, et al. Deciphering the characteristics of soybean oleosome-associated protein in maintaining the stability of oleosomes as affected by pH[J]. Food Research International, 2017, 100: 551−557.
[56] MCCLEMENTS D J. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2007, 47(7): 611−649.
[57] LEE H, YILDIZ G, DOS SANTOS L C, et al. Soy protein nano-aggregates with improved functional properties prepared by sequential pH treatment and ultrasonication[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 55: 200−209.
[58] GAO Hao, MA Ling, LI Tianqi, et al. Impact of ultrasonic power on the structure and emulsifying properties of whey protein isolate under various pH conditions[J]. Process Biochemistry, 2019, 81: 113−122.
[59] HE Jinsong, AZUMA N, YANG Hongwei. Effects of pH and ionic strength on the rheology and microstructure of a pressure-induced whey protein gel[J]. International Dairy Journal, 2010, 20(2): 89−95.
[60] FELIX M, ROMERO A, GUERRERO A. Influence of pH and Xanthan Gum on long-term stability of crayfish-based emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 72: 372−380.
[61] CAO Jia, TONG Xiaohong, CAO Xinru, et al. Effect of pH on the soybean whey protein–gum Arabic emulsion delivery systems for curcumin: Emulsifying, stability, and digestive properties [J]. Food Chemistry, 2024, 456: 139938.
[62] MENGUAL O. TURBISCAN MA 2000: Multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis[J]. Talanta, 1999, 50(2): 445−456.