

## 玉米醇溶蛋白/果胶稳定的肉桂精油皮克林乳液制备工艺的优化

闫紫玮<sup>1</sup>, 郭瑞阳<sup>1</sup>, 王小雪<sup>1</sup>, 李莎莎<sup>1</sup>, 李庆业<sup>1</sup>, 吴贺君<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>四川农业大学食品学院 四川雅安 625014

<sup>2</sup>四川农业大学理学院 四川雅安 625014)

**摘要** 采用反溶剂结合热处理法制备玉米醇溶蛋白/果胶复合胶体颗粒,通过高速均质乳化构建封装肉桂精油的皮克林乳液。为探究蛋白/果胶质量比、体系 pH 值以及油相占比对乳液的影响,选取包封率、平均粒径、粒度分布(PSD)和 $\zeta$ -电位为优化指标,采用响应面方法优化皮克林乳液的制备工艺。结果表明:油相占比对乳液的影响最大,pH 值与油相占比的交互作用最显著,当蛋白/果胶质量比 10:4、体系 pH 3、油相占比 50%时,乳液实际的综合评分最高为 85.52,其包封率(82.14 ± 4.86)%,平均粒径(1.277 ± 0.011)  $\mu\text{m}$ 、PSD(15.69 ± 0.17)、 $\zeta$ -电位(-30.75 ± 1.63) mV。试验结果为含植物精油的皮克林乳液的制备提供试验参考。

**关键词** Pickering 乳液; 肉桂精油; 平均粒径; 包封率; 响应面法

文章编号 1009-7848(2023)03-0260-11 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.03.027

肉桂精油(Cinnamon Essential Oil, CEO)是从肉桂的花、叶、果实和树皮等器官提取的挥发油,其代表性活性成分为丁香酚和肉桂醛<sup>[1]</sup>,是一种具有抗氧化活性及广谱抑菌活性的安全、使用广泛食品添加剂<sup>[2-4]</sup>。然而,肉桂精油中的生物活性成分对环境比较敏感,易挥发,并且大多为亲脂性,在水相体系中表现出溶解度低、相容性差<sup>[5]</sup>。添加精油的食品活性包装薄膜,在制备过程中(如溶剂蒸发阶段)容易高温挥发,在使用时也会导致快速迁移和释放<sup>[6]</sup>,极大地限制了其在食品行业中的高效利用。皮克林乳液是由生物聚合物(蛋白质、多糖等)固体/胶体粒子不可逆地吸附在油-水界面而形成的稳定乳液<sup>[7-8]</sup>,具有安全性、较高的物理稳定性以及良好的负载/释放特性等优点<sup>[9]</sup>,是解决肉桂精油易挥发、溶解度低等问题,高效发挥精油生物活性的有效手段之一<sup>[10-11]</sup>。

玉米醇溶蛋白(Zein)来源广,价格低廉,其纳米粒子具有良好的界面吸附和乳化性能,是制备皮克林乳液的常用材料<sup>[12]</sup>。Zein 纳米颗粒具有极强的疏水性,不能长期有效地稳定皮克林乳液<sup>[13]</sup>。将其与多糖、蛋白质、表面活性剂等物质复合制备

的复合胶体颗粒能在乳液中形成稳定的界面薄膜,从而提高乳液的稳定性,同时扩展其功能特性<sup>[14]</sup>。果胶作为一种带负电的生物多糖,通过静电吸引和疏水相互作用吸附在 Zein 纳米颗粒表面,可在较宽的 pH 范围内稳定复合胶体颗粒,从而提高乳液稳定性<sup>[15]</sup>。根据 Zhang 等<sup>[16]</sup>的研究结果,高甲基化程度的果胶与 Zein 稳定的皮克林乳液对宽 pH 范围和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度表现出高稳定性,并且很好地保护了番茄红素。Cheng 等<sup>[17]</sup>以 Zein/果胶复合颗粒制备含白藜芦醇的薄荷油乳液,结果表明,果胶的添加使乳液的尺寸分布变窄,同时提高了乳液的抗菌活性、物理和化学稳定性。然而,目前封装肉桂精油的 Zein/果胶皮克林乳液的工艺优化研究未见报道。

基于以上分析,本试验中通过添加阴离子果胶调控蛋白颗粒的表面湿润性,通过反溶剂结合热处理方式制备复合胶体颗粒,进而实现肉桂精油的封装。这基于 Wang 等<sup>[18]</sup>的研究,即加热能够制备尺寸更小、分布更均匀的胶体颗粒,更加有利于植物精油等活性成分的封装。据报道,通过改变颗粒浓度、油相、水相和 pH 值等参数调节乳液粒度大小及其分散性,可以调控 Zein/果胶稳定的乳液性能<sup>[19]</sup>。本试验以乳液粒径及其分布、包封率、电位为综合评价指标,探究蛋白/果胶比例、pH 值、油相占比等因素对皮克林乳液的影响。通过响应面法优化其制备工艺,以期获得包封效率高,具

收稿日期: 2022-03-24

基金项目: 国家级大学生创新训练计划项目(202010626051);  
国家级大学生创业实践项目(202110626035)

第一作者: 闫紫玮,女,硕士生

通信作者: 吴贺君 E-mail: hejunwu520@163.com

备一定稳定性的皮克林乳液,为植物精油的高效封装提供试验参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

玉米醇溶蛋白,上海麦克林生化科技有限公司;柑橘果胶(甲氧基化度 $\geq 70\%$ ,半乳糖醛酸 $\geq 65\%$ ),上海瑞永生物科技有限公司;肉桂精油,上海源叶生物科技有限公司;氢氧化钠、盐酸、正己烷(均为分析纯),成都市科隆化学品有限公司;去离子水。

### 1.2 仪器与设备

FA2004N 型电子天平,上海菁海仪器有限公司;PHS-25 型数字酸度计,成都世纪方舟科技有限公司;Varioskan Flash 型全波长多功能荧光酶标仪,美国赛默飞世尔科技;Rise-2006 型激光粒度分析仪,济南润之科技有限公司;85-2A 型恒温磁力搅拌器,天津赛德利斯实验分析仪器制造厂;FJ200-SH 型数显高速分散均质机,上海标本模型厂;RJ-TGL-2000R 型台式高速冷冻离心机,无锡

市瑞江分析仪器有限公司。

### 1.3 方法

1.3.1 玉米醇溶蛋白/果胶(ZP)复合胶体颗粒的制备 采用反溶剂沉淀法(Anti-solvent precipitation, ASP)结合加热制备复合胶体颗粒<sup>[18]</sup>。将 Zein 粉末于体积分数 80%乙醇溶液中溶液,10 000 r/min 分散 1 min。将果胶于 70 °C 去离子水中分散,溶液 4 000 g 离心 20 min 除去不溶性组分。随后在 70 °C、800 r/min 磁力搅拌条件下,按照不同质量比将 Zein 纳米颗粒分散液滴加到果胶溶液中,继续搅拌 20 min 蒸发乙醇,冷却后用 0.1 mol/L HCl 或 NaOH 调节复合胶体颗粒分散液 pH 值,并用对应 pH 值的去离子水滴加至原始质量。

1.3.2 肉桂精油皮克林乳液的制备 将不同体积分数的肉桂精油添加到 ZP 复合胶体颗粒分散体中,以高速均质机于 14 000 r/min 的速度剪切 4 min,制备皮克林乳液<sup>[19]</sup>,于室温(25 °C)贮藏。采用反溶剂沉淀结合热处理制备复合胶体颗粒,制备肉桂精油 Pickering 乳液的示意图见图 1。

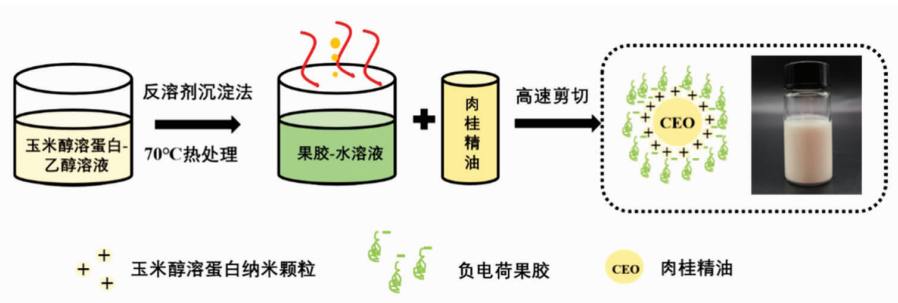


图 1 反溶剂沉淀法结合加热制备皮克林乳液示意图

Fig.1 Schematic diagrams of preparing Pickering emulsion by anti-solvent precipitation combined with heat treatment

### 1.3.3 皮克林乳液的效果评定

1.3.3.1 皮克林乳液粒径的测定 ZP 复合胶体颗粒稳定的皮克林乳液液滴的粒径及其分布由激光粒度分析仪测定,设置油滴和水(分散剂)的折射率分别为 1.52 和 1.33<sup>[1]</sup>。根据公式(1)计算粒径分布 PSD。

$$\text{PSD} = \frac{(D_{90} - D_{10})}{D_{50}} \quad (1)$$

式中: $D_{10}$ 、 $D_{50}$  和  $D_{90}$ ——分别为累积分布的 10%、50%和 90%所对应的粒径。

1.3.3.2 皮克林乳液包封率的测定 使用荧光酶

标仪对质量浓度为 8  $\mu\text{g/mL}$  的肉桂精油进行全波段扫描(200~500 nm),得到其最大吸收峰对应的波长<sup>[20]</sup>。用正己烷将肉桂精油稀释至不同浓度梯度,于最大吸收波长处测定不同浓度时的吸光度,绘制标准曲线。根据孙慧敏<sup>[21]</sup>测定精油包封率的方法,以正己烷提取未包封的游离精油,8 000 r/min 高速离心 10 min,上清液适当稀释后测定其吸光度值,带入标准曲线计算精油浓度,通过公式(2)计算包封率。每个样品重复 3 次。

$$\text{EE}(\%) = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: $C_0$ ——皮克林乳液原始精油的添加量( $\mu\text{g/mL}$ ); $C_1$ ——游离精油的含量( $\mu\text{g/mL}$ )。

1.3.4 皮克林乳液的单因素及响应面试验设计按照 1.3.1 节、1.3.2 节所述方法制备皮克林乳液,以乳液的粒径、PSD、电位及对肉桂精油的包封率为指标,优化皮克林乳液的制备工艺。选取蛋白/果胶质量比(10:2,10:3,10:4,10:5,10:6)、体系 pH 值(2,3,4,5,6)、肉桂精油体积分数(30%,40%,50%,60%,70%)进行单因素实验。

在单因素实验的基础上,利用响应面法,Box-Behnken 中心组合设计,以蛋白/果胶比例( $X_1$ )、pH 值( $X_2$ )、油相占比( $X_3$ )为响应因素,以粒径( $Y_1$ )、包封率( $Y_2$ )、PSD( $Y_3$ )以及电位( $Y_4$ )4 个指标的综合评分为响应值,设计三因素三水平试验。设计方案如表 1 所示。

表 1 响应面试验设计因素与水平

Table 1 The factor and level of Box-behken

Test Design			
因素			
水平	$X_1$	$X_2$	$X_3$
	(蛋白/果胶比例)	(pH 值)	(油相占比)/%
-1	10:3	2	40
0	10:4	3	50
1	10:5	4	60

用主成分分析计算粒径( $Y_1$ )、包封率( $Y_2$ )、PSD( $Y_3$ )及电位( $Y_4$ )4 个指标权重,通过隶属度计算公式计算 4 个指标隶属度,得到乳液的综合评分。其中,粒径、PSD 和电位 3 个指标数值越小越好,包封率越大越好。隶属度分别按照公式(3)、

(4)计算,综合评分按照公式(5)计算。

$$P = \frac{A_{\max} - A_i}{A_{\max} - A_{\min}} \quad (3)$$

$$P = \frac{A_i - A_{\min}}{A_{\max} - A_{\min}} \quad (4)$$

式中, $A_{\max}$ ——该指标各因素的最大值, $A_{\min}$ ——该指标各因素的最小值, $A_{\min}$ ——该指标某因素的数值。

$$S = a_1P_1 + a_2P_2 + a_3P_3 + a_4P_4 \quad (5)$$

式中, $S$ ——综合评分; $a_1, a_2, a_3, a_4$ ——分别为粒径、包封率、PSD 和电位的权重; $P_1, P_2, P_3, P_4$ ——分别为粒径、包封率、PSD 和电位的隶属度。

## 1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 27.0 对数据进行统计分析,试验数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差。使用方差分析和邓肯多重范围检验对数据进行显著性分析( $P < 0.05$ ),以 Origin 2017 软件绘图并拟合数据。利用 Design-Expert (Version 8.0.6.1)对响应面试验进行线性回归和方差分析( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线的绘制

使用荧光酶标仪对  $8 \mu\text{g/mL}$  肉桂精油进行全波段扫描,得到最大吸收峰对应的波长为 284 nm,见图 2a。测定不同浓度的肉桂精油-正己烷溶液于 284 nm 处的吸光度值,绘制标准曲线(图 2b)。其吸光度和浓度的标准曲线: $y = 0.17493x + 0.15537, R^2 = 0.9992$ ,说明该浓度范围精油的吸光度与浓度呈现良好的线性关系。

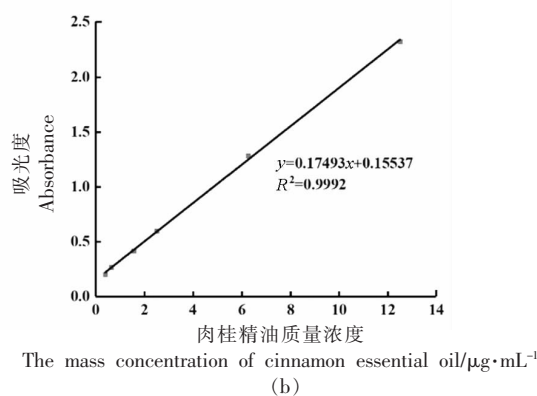
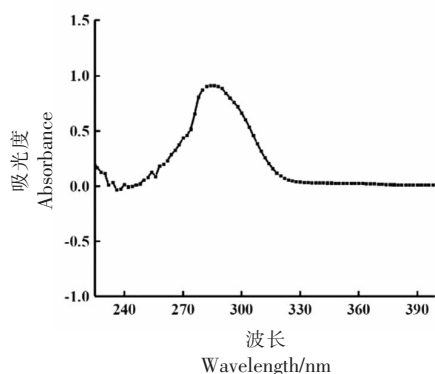


图 2 肉桂精油最大吸收波长(a)及标准曲线(b)

Fig.2 Maximum absorption wavelength (a) and standard curve of cinnamon essential oil (b)

## 2.2 单因素实验结果

2.2.1 蛋白/果胶质量比对乳液电位、粒径及包封率的影响 玉米醇溶蛋白与果胶比例对乳液电位、粒径和包封率的影响如图 3 所示。当蛋白/果胶比例为 10:2 时,乳液出现破乳,即漏油现象,其对应的粒径呈多峰分布,这是由于吸附到蛋白表面的果胶含量较少,导致复合胶体颗粒的疏水性较强,在乳化过程中较多颗粒分散在分散相而非油水界面,因此易发生油滴聚集而析出,此时包封率也较低<sup>[22]</sup>。随着果胶比例的增加,乳液带负电,电位绝对值均在 25 mV 以上,这与阴离子生物聚合物果胶的掺入有关<sup>[7]</sup>。电位增大意味着液滴之间

的静电斥力增强,能够有效避免乳析和/或絮凝现象<sup>[23]</sup>,有利于形成分散均一、稳定的乳液。此时乳液粒径均呈单峰分布,平均粒径与文献[15]报道的相近,约在 27.43~31.96  $\mu\text{m}$ ,包封率由 76.68%提至 92.47%。此外,还发现乳液粒径随果胶含量的增加有略微减小的趋势,这可能是由于多糖颗粒在连续相形成 3D 网络结构,进一步防止液滴的移动和聚集,因此液滴尺寸减小,乳液的粒径分布越窄越集中,包封效果越好<sup>[24]</sup>。当蛋白/果胶比例增至 10:5 时,乳液的电位和包封率未发生显著变化,说明吸附在蛋白表面的果胶达到饱和状态,形成较为稳定的乳液体系。

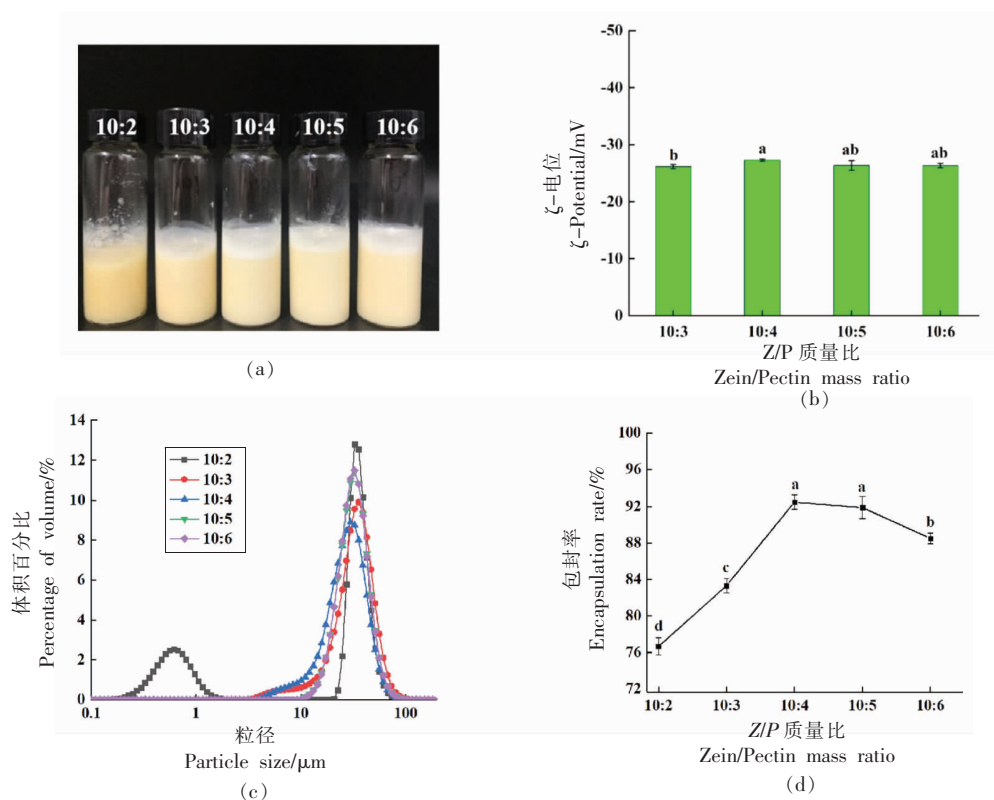


图 3 不同蛋白/果胶比例下皮克林乳液的外观(a)、电位(b)、粒径变化(c)及对精油的包封率(d)

Fig.3 The appearance(a),  $\zeta$ -potential(b), the particle size(c) and the encapsulation rate of CEO (d) of Pickering emulsions with different zein/pectin mass ratios

2.2.2 不同体系 pH 值对乳液电位、粒径及包封率的影响 体系 pH 值对乳液电位、粒径和包封率的影响如图 4 所示。在 pH 2.0 时乳液出现明显的漏油现象,这可能是由于 pH 2.0 较接近果胶的等电点,导致颗粒聚集,不能稳定乳液,此时乳液粒径呈多峰分布,包封率也较低。pH 的变化能够

改变复合颗粒的润湿性和静电性质,从而影响颗粒的界面吸附<sup>[25]</sup>。如图 4b 所示,随着 pH 值的增加,乳液液滴的电位绝对值由 23.95 mV 增到 32.45 mV,说明水相的 pH 值对乳液的稳定性至关重要。此外,pH 值的增加使颗粒的湿润性得到改善,使其具有良好的乳化性能<sup>[22,26]</sup>,因此制备的乳

液稳定,未见漏油现象。在 pH3-4 时,乳液的粒径较小。随着 pH 值的增加,粒径呈增大的趋势,由 10.87  $\mu\text{m}$  显著增至 33.83  $\mu\text{m}$ ,这是由于随着 pH

值的增加,复合颗粒界面吸附能力减弱,更多的复合胶体颗粒在分散相中,导致乳液液滴的絮凝,使乳液的粒径增大<sup>[22]</sup>,包封率也随之降低。

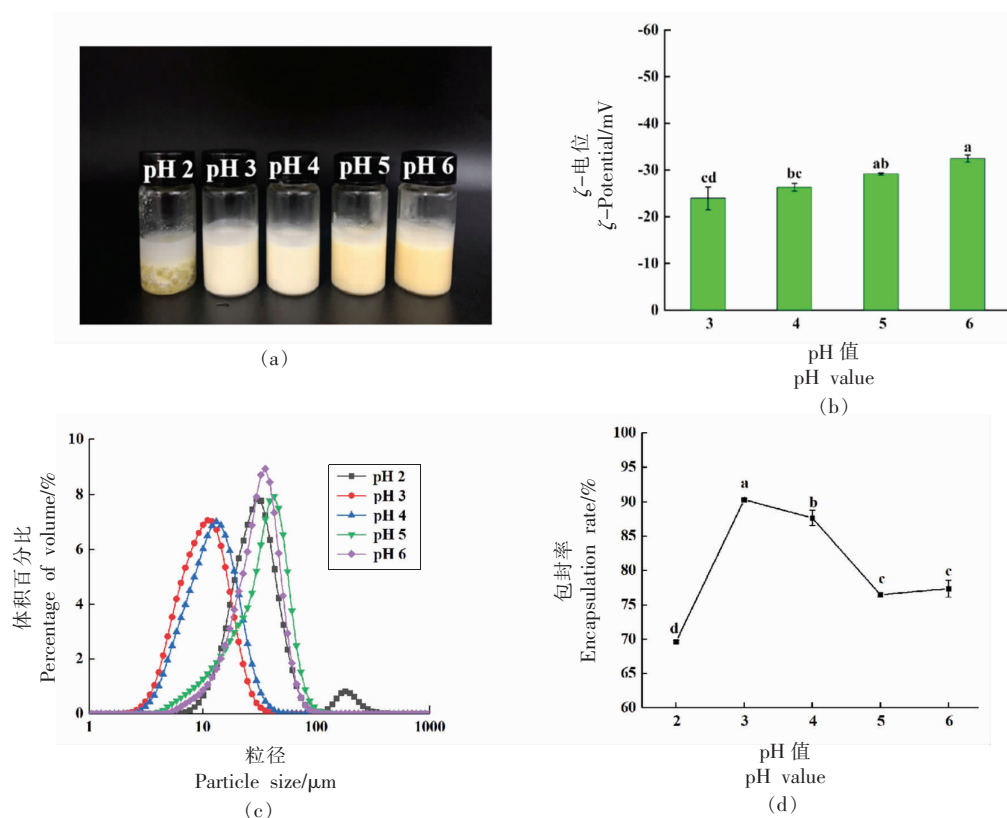


图4 不同 pH 值皮克林乳液的外观(a)、电位(b)、粒径变化(c)及对精油的包封率(d)

Fig.4 The appearance(a),  $\zeta$ -potential(b), the particle size(c) and the encapsulation rate of CEO (d) of Pickering emulsions with different pH values

2.2.3 不同油相占比对乳液电位、粒径及包封率的影响 油相占比对乳液电位、粒径及包封率的影响如图5所示。在油相占比为30%~60%的范围,乳液液滴尺寸随油分的增加而增大,油相的增加伴随着颗粒数量的减少,迫使乳液液滴减小比表面积以保持体系的稳定性,油滴趋于靠近,甚至合并在一起,导致粒径增大<sup>[27]</sup>。同时乳液的电位绝对值减小,体系的稳定性降低。油相添加量为70%(体积分数)的乳液出现破乳,表明油相太多,即复合胶体颗粒用量不足会导致重力诱导的油水相的分离<sup>[15]</sup>,此时包封率较低。如图5d所示,乳液包封率随油相的增加呈增大的趋势(不显著),且均在82.09%以上,说明在不破乳的条件下,油相占比对于包封率的影响不大。据相关文献报道,封装马郁兰精油<sup>[7]</sup>、百里酚<sup>[28]</sup>、大蒜精油<sup>[23]</sup>的皮克林乳液包封

率分别为81.58%、67%和70%,说明不同体系的乳液包封率有较大差异,而基于Zein/果胶的乳液体系具有较好的包封效果。

2.2.4 综合评分分析 从单因素实验中随机抽取9组数据(表2),运用SPSS软件进行主成分分析。相关成分特征值、贡献率及特征向量如表3、表4所示。

由表3可知,特征值大于1的两个主成分的方差贡献率分别为50.849%、40.783%,累计方差贡献率91.631%(大于85%)。依据主成分分析的原则,第一、第二主成分可覆盖绝大多数信息,能够反映皮克林乳液全部分析指标的信息。根据表4的特征向量,构建乳液各指标间的线性系数关系: $Z_1 = -0.406Y_1 + 0.349Y_2 + 0.297Y_3 + 0.341Y_4$ ;  $Z_2 = 0.312Y_1 + 0.378Y_2 - 0.468Y_3 + 0.393Y_4$ 。通过计算得到

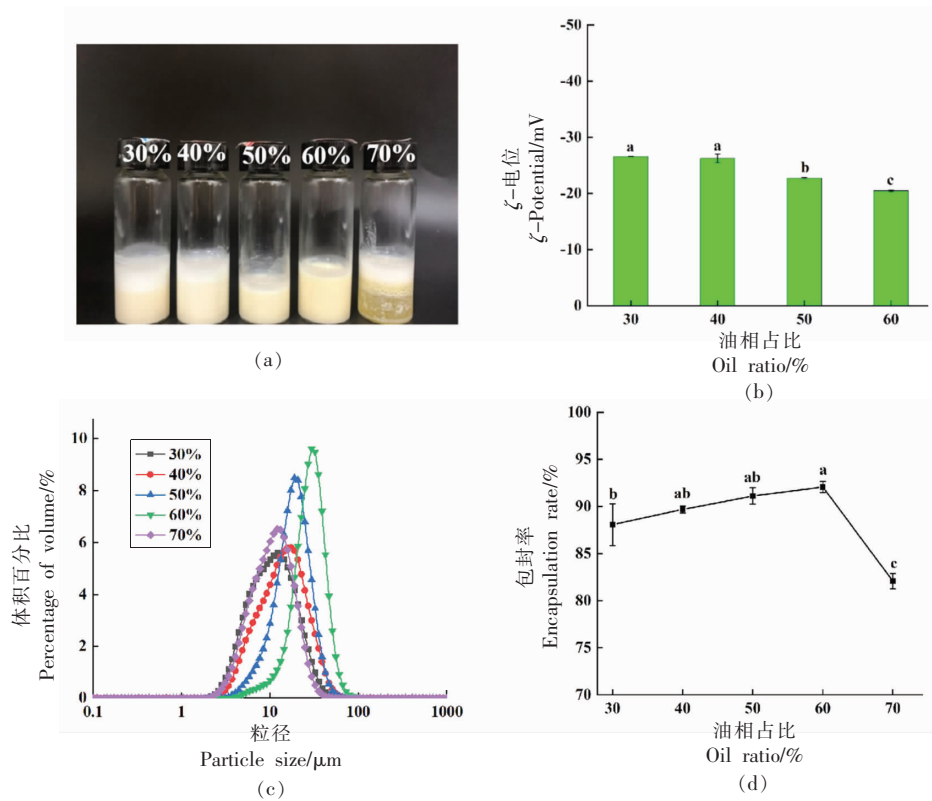


图 5 不同油相占比皮克林乳液的外观(a)、电位(b)、粒径变化(c)及对精油的包封率(d)  
 Fig.5 The appearance(a),  $\zeta$ -potential(b), the particle size(c) and the encapsulation rate of CEO(d) of Pickering emulsions with different oil ratios

表 2 主成分分析试验数据

Table 2 Test data of contribution rate by principal component analysis

编号	粒径/ $\mu\text{m}$	包封率/%	PSD	电位/mV
1	31.963 $\pm$ 0.361	83.32 $\pm$ 0.81	1.047 $\pm$ 0.032	-26.17 $\pm$ 0.35
2	27.431 $\pm$ 0.072	92.47 $\pm$ 0.80	1.101 $\pm$ 0.004	-27.30 $\pm$ 0.20
3	31.317 $\pm$ 0.218	88.50 $\pm$ 0.59	0.846 $\pm$ 0.002	-26.30 $\pm$ 0.40
4	10.872 $\pm$ 0.288	90.31 $\pm$ 0.19	1.315 $\pm$ 0.024	-23.97 $\pm$ 1.75
5	12.200 $\pm$ 0.410	84.85 $\pm$ 4.03	1.375 $\pm$ 0.031	-26.30 $\pm$ 0.60
6	30.850 $\pm$ 0.789	77.35 $\pm$ 1.20	1.120 $\pm$ 0.009	-32.47 $\pm$ 0.55
7	12.291 $\pm$ 0.582	88.08 $\pm$ 1.57	1.678 $\pm$ 0.037	-26.57 $\pm$ 0.06
8	18.669 $\pm$ 0.108	91.11 $\pm$ 0.62	1.166 $\pm$ 0.007	-22.70 $\pm$ 0.10
9	28.283 $\pm$ 0.023	92.07 $\pm$ 0.41	1.012 $\pm$ 0.001	-20.47 $\pm$ 0.15

表 3 相关成分的特征值及贡献率

Table 3 Eigenvalues and cumulative variance contribution rate of related components

成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
Z <sub>1</sub>	2.034	50.849	50.849
Z <sub>2</sub>	1.631	40.783	91.631
Z <sub>3</sub>	0.225	5.620	97.251
Z <sub>4</sub>	0.110	2.749	100.000

表 4 前两个主成分的特征向量

Table 4 Eigenvectors of the first two principal components

成分	粒径/ $\mu\text{m}$	包封率/%	PSD	电位/mV
Z <sub>1</sub>	-0.406	0.349	0.297	0.341
Z <sub>2</sub>	0.312	0.378	-0.468	0.393

注:仅提取特征值>1的主成分因子。

4个指标归一化后的权重分别为-0.145, 0.607, -0.073和0.611。乳液分析指标的综合评分为:  
 $S = -0.145P_1 + 0.607P_2 - 0.073P_3 + 0.611P_4$ 。

### 2.3 响应面试验结果

单因素实验表明,蛋白/果胶比例、体系 pH 值和油相占比对乳液粒径及包封效率等均有显著的影响。为验证3个因素的交互作用,做响应面试验。

2.3.1 响应面回归模型的建立与分析 在单因素实验的基础上,做17组响应面试验,试验设计与结果见表5。运用 Design-Expert 8.0.6.1 软件,对表5数据进行回归拟合分析,获得响应值与自变量的逻辑关系,即回归方程:  
 $S = 0.88 + 0.027X_1 + 0.026X_2 + 0.066X_3 - 0.038X_1X_2 + 0.008X_1X_3 + 0.085X_2X_3 - 0.19X_1^2 - 0.33X_2^2 - 0.22X_3^2$ 。

表5 响应面优化试验结果

Table 5 Box-behnken design with experimental results

组别	独立因素水平			综合分 S	组别	独立因素水平			综合分 S
	$X_1$	$X_2$	$X_3$			$X_1$	$X_2$	$X_3$	
1	10:4	4	60	0.46	10	10:4	2	60	0.25
2	10:4	3	50	0.84	11	10:4	2	40	0.36
3	10:3	3	40	0.38	12	10:3	3	60	0.57
4	10:4	3	50	0.88	13	10:4	3	50	0.83
5	10:4	4	40	0.23	14	10:5	3	40	0.35
6	10:5	4	50	0.41	15	10:5	3	60	0.57
7	10:5	2	50	0.42	16	10:3	2	50	0.22
8	10:3	4	50	0.36	17	10:4	3	50	0.93
9	10:4	3	50	0.92					

表6 回归模型方差分析

Table 6 Analysis of variance in regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	1.00	9	0.11	27.87	0.0001	**
$X_1$	0.0057	1	0.0057	1.42	0.2725	
$X_2$	0.0055	1	0.0055	1.39	0.2772	
$X_3$	0.034	1	0.034	8.62	0.0219	*
$X_1X_2$	0.0059	1	0.0059	1.48	0.2630	
$X_1X_3$	0.0002	1	0.0002	0.058	0.8172	
$X_2X_3$	0.029	1	0.029	7.19	0.0315	*
$X_1^2$	0.16	1	0.16	39.31	0.0004	**
$X_2^2$	0.47	1	0.47	117.88	<0.0001	**
$X_3^2$	0.20	1	0.20	50.99	0.0002	**
残差	0.028	7	0.0040			
失拟项	0.020	3	0.0066	3.33	0.1380	
误差项	0.008	4	0.0020			
总变异	1.03	16				

$R^2 = 0.9729$   $R^2_{adj} = 0.9379$

注:\*\*表示  $P < 0.01$ ,相关性极显著;\*表示  $P < 0.05$ ,相关性显著。

由表6可知,回归模型  $P < 0.01$ ,表明模型达到极显著水平;失拟项  $P = 0.1380 > 0.05$ ,表明失拟项

不显著。 $R^2 = 0.9729$ ,  $R^2_{adj} = 0.9379$  表明模型回归方程对试验数据拟合良好。方差分析表明,二次项

中各因素对乳液指标的综合评分均有极显著影响 ( $P < 0.01$ ), 交互项  $X_2X_3$  显著。一次项中影响综合评分的各因素排序为:  $X_3$ (油相占比)  $> X_1$ (蛋白/果胶质量比)  $> X_2$ (体系 pH 值)。

2.3.2 响应面及等高线分析 由图 7 可看出,  $X_2$

(体系 pH 值)、 $X_3$ (油相占比)对乳液指标综合评分影响的等高线图最扁平, 呈椭圆形, 响应面曲图较陡, 说明  $X_2X_3$  交互作用显著;  $X_1$ (蛋白/果胶比例)、 $X_3$ (油相占比)交互作用不显著, 与表 6 的响应面方差分析结果一致。

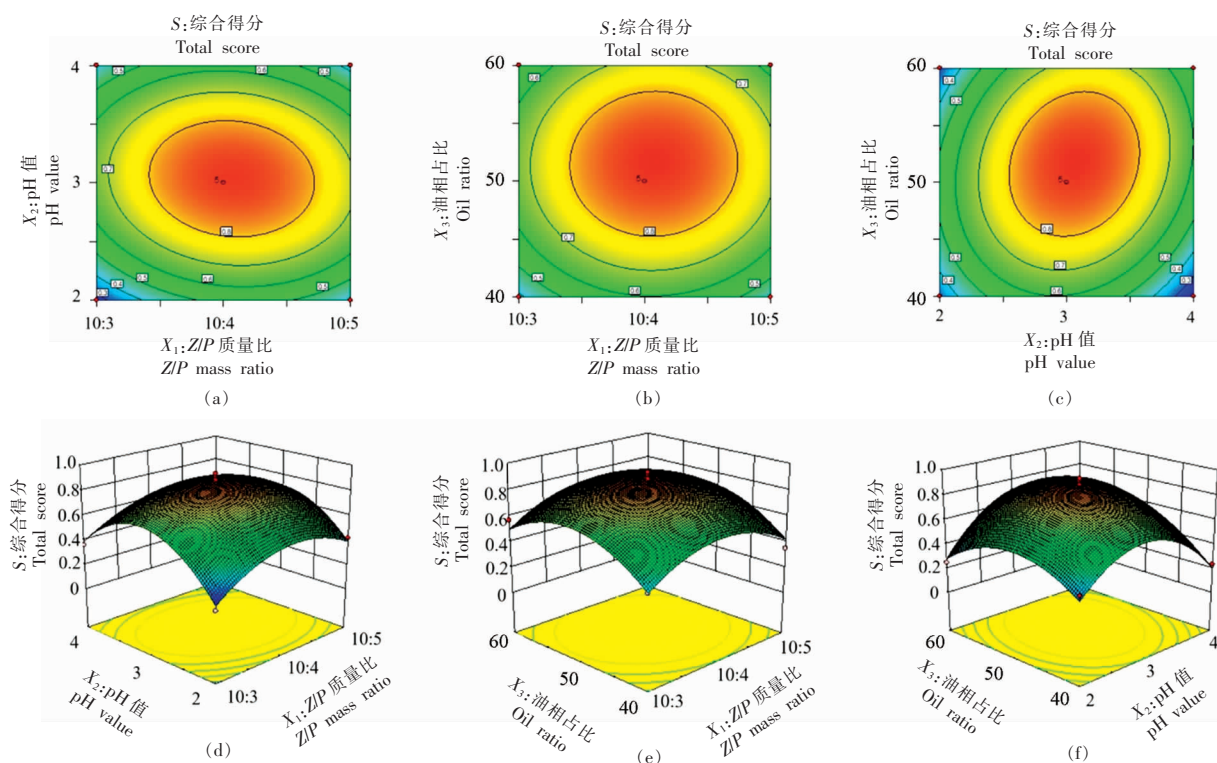


图 7 蛋白/果胶比例, 体系 pH 值和油相对乳液指标综合评分影响的等高线图(a-c)和响应面图(d-f)

Fig.7 Corresponding contour plots (a-c) and response surface plots (d-f) showing the effect of zein/pectin (Z/P) mass ratio, pH value and oil ratio on the comprehensive score of Pickering emulsions

2.3.3 验证试验 结合回归方程和响应面曲图可以得到肉桂精油皮克林乳液的最佳工艺参数: 蛋白/果胶质量比 10:4.07、体系 pH 3.06、油相占比 52%, 此时综合评分预测值为 88.70。结合实际情况, 修正优化后, 蛋白/果胶质量比 10:4、体系 pH 3、油相占比 50%, 得到乳液的包封率 ( $82.14 \pm 4.86$ )%、平均粒径 ( $15.69 \pm 0.17$ ) $\mu\text{m}$ 、PSD ( $1.277 \pm 0.011$ ) 及  $\zeta$ -电位 ( $-30.75 \pm 1.63$ )mV, 此时实际的综合评分 85.52, 与预测值接近, 表明响应面优化得到的方案可靠。

### 3 结论

以玉米醇溶蛋白、果胶为材料, 通过反溶剂沉

淀法结合热处理制备肉桂精油皮克林乳液。单因素实验表明: 添加果胶能够改善玉米醇溶蛋白的疏水性, 有利于稳定油-水界面, 可以避免乳液破乳, 制备的乳液粒径较小, 均匀分散, 包封率提高。乳液的电位绝对值随 pH 值的增大而增大, 粒径和包封率呈先增加后减小的趋势, 说明适当的 pH 值才能保持复合颗粒的界面吸附能力, 从而稳定乳液。乳液的电位绝对值随油相的增加而降低, 粒径随之增加, 说明添加高油相不利于乳液的稳定。在单因素实验基础上, 通过主成分分析和隶属度综合评分确定各指标权重, 对乳液进行综合评分。采用响应面法优化制备工艺, 结果显示, 油相对乳液的影响最大, pH 值与油相占比的交互作用最



显著。得到的最佳参数为蛋白/果胶质量比 10:4、体系 pH 3、油相占比 50%，此时乳液的包封率 ( $82.14 \pm 4.86$ )%、平均粒径 ( $15.69 \pm 0.17$ ) $\mu\text{m}$ 、PSD ( $1.277 \pm 0.011$ )及  $\zeta$ -电位 ( $-30.75 \pm 1.63$ )mV。

### 参 考 文 献

- [1] SUN H M, LI S, CHEN S S, et al. Antibacterial and antioxidant activities of sodium starch octenylsuccinate-based Pickering emulsion films incorporated with cinnamon essential oil[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 159: 696-703.
- [2] 牛彪, 金川, 梁剑平, 等. 三种植物精油化学成分分析及体外抑菌活性研究[J]. 动物医学进展, 2019, 40(12): 18-23.  
NIU B, JIN C, LIANG J P, et al. Chemical constituents and antibacterial activities *in vitro* of three plant essential oils[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2019, 40(12): 18-23.
- [3] 李娜, 乔宏萍, 刘地, 等. 肉桂精油成分分析及其抗氧化性和抑菌活性的研究[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(9): 96-102  
LI N, QIAO H P, LIU D, et al. Chemical components and its *in vitro* antioxidant capacity, antimicrobial activities of essential oil from Cinnamon Bark [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2020, 35(9): 96-102.
- [4] BONILLA J, SOBRAL P. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts[J]. Food Bioence, 2016, 16: 17-25.
- [5] 彭群, 段翰英, 王超. 甜橙油纳米乳液的制备与表征[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(18): 148-153.  
PENG Q, DUAN H Y, WANG C et al. Preparation and characterization of sweet orange oil nanoemulsion[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(18): 148-153.
- [6] ATARÉ S L, CHIRALT A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 48: 51-62.
- [7] 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: 105338.1-105338.13.
- [8] SHE Y, NI Z J, THAKUR K. Preparation and characterization of clove essential oil loaded nanoemulsion and pickering emulsion activated pullulan-gelatin based edible film[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 181(): 528-539.
- [9] 阮少龙, 周建伟, 高德, 等. 纳米淀粉基皮克林乳液的研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(6): 312-320.  
RUAN S L, ZHOU J W, GAO D, et al. Research progress on nanostarch-based Pickering emulsion[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(6): 312-320.
- [10] XIA T H, XUE C H, WEI Z H. Physicochemical characteristics, applications and research trends of edible Pickering emulsions[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 107: 1-15.
- [11] LIU Q R, WANG W B, QI J R, et al. Oregano essential oil loaded soybean polysaccharide films: Effect of Pickering type immobilization on physical and antimicrobial properties[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 165-172.
- [12] YAN X J, MA C C, CUI F Z, et al. Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 103(1): 293-303.
- [13] 李梦帆. 醇溶蛋白-多糖复合颗粒的构建及其在 Pickering 乳液的应用研究[D]. 广州: 广州大学, 2019: 1-5.  
LI M F. Construction of gliadin polysaccharide composite particles and its application in Pickering emulsion[D]. Guangzhou: Guangzhou University, 2019: 1-5
- [14] 焦博, 石爱民, 刘红芝, 等. 基于食品级固体颗粒稳定的 Pickering 乳液研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(5): 296-303.  
JIAO B, SHI A M, LIU H Z, et al. A review on food-grade particle stabilized Pickering emulsion[J]. Food Science, 2018, 39(5): 296-303.
- [15] JIANG Y, ZHU Y Z, LI F, et al. Antioxidative pectin from hawthorn wine pomace stabilizes and protects pickering emulsions via forming zein-pectin

- gel-like shell structure[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 151: 193–203.
- [16] ZHANG W, GU X Z, LIU X H, et al. Fabrication of Pickering emulsion based on particles combining pectin and zein: Effects of pectin methylation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 256(6): 117515.
- [17] CHENG H, KHAN M A, XIE Z F, et al. A peppermint oil emulsion stabilized by resveratrol-zein-pectin complex particles: enhancing the chemical stability and antimicrobial activity in combination with the synergistic effect[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 103: 105675.
- [18] WANG L, ZHANG Y. Heat-induced self-assembly of zein nanoparticles: Fabrication, stabilization and potential application as oral drug delivery[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 90: 403–412.
- [19] JIANG Y, WANG D, LI F, et al. Cinnamon essential oil Pickering emulsion stabilized by zein-pectin composite nanoparticles: characterization, antimicrobial effect and advantages in storage application[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 148: 1280–1289.
- [20] 夏亚文. 缓释作用对精油微胶囊抑菌行为影响研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2019: 17–18.  
XIA Y W. Effect of sustained release on the antimicrobial behavior of essential oil microcapsules[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology, 2019: 17–18.
- [21] 孙慧敏. 聚乳酸/皮克林乳液抑菌抗氧化双层薄膜的制备及性能研究[D]. 长春: 吉林大学, 2020: 39–40.  
SUN H M. Preparation and properties of polylactic acid /Pickering emulsion antibacterial and antioxidant bilayer film[D]. Changchun: Jilin University, 2020: 39–40.
- [22] 吴滋灵. 玉米醇溶蛋白胶体颗粒稳定的高内相 Pickering 乳液制备及其营养输送特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018: 30–34.  
WU Z L. Fabrication of high internal Pickering emulsions stabilized by zein colloid particles and the research of its nutrient transport characteristics[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018: 30–34.
- [23] PEREZ-CORDOBA L J, NORTON I T, BATCHELOR H K, et al. Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 79: 544–559.
- [24] CUI F Z, ZHAO S L, GUAN X, et al. Polysaccharide-based pickering emulsions: formation, stabilization and applications[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 119: 106812.
- [25] 孙翠霞, 刘夫国, 杨伟, 等. 生物来源的固体颗粒制备 Pickering 乳液的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(15): 370–375, +381.  
SUN C X, LIU F G, YANG W, et al. Research progress in Pickering emulsion stabilized with biomass-based solid nanoparticles[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36 (15): 370–375, 381.
- [26] 田怀香, 卢卓彦, 胡静. 食品级皮克林乳液制备及应用研究进展[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(1): 225–232.  
TIAN H X, LU Z Y, HU J. Preparation and application of food-grade Pickering emulsion[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(1): 225–232.
- [27] 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(1): 377–387.
- [28] ROBLEDO N, VERA, P, LOPEZ L, et al. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes[J]. *Food Chemistry*, 2018, 246: 211–219.

### Optimization of Preparation Process for Cinnamon Essential Oil-Encapsulated Pickering Emulsion Stabilized by Zein/Pectin Composite Colloidal Particles

Yan Ziwei<sup>1</sup>, Guo Ruiyang<sup>1</sup>, Wang Xiaoxue<sup>1</sup>, Li Shasha<sup>1</sup>, Li Qingye<sup>1</sup>, Wu Hejun<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan

<sup>2</sup>College of Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan

**Abstract** Zein/pectin composite colloidal particles were prepared by anti-solvent combined with heat treatment, which were further used to construct cinnamon essential oil-encapsulated Pickering emulsion by high-speed homogeneous emulsification. The effect of zein/pectin mass ratio, pH value and the proportion of oil phase on the  $\zeta$ -potential, average particle size, particle size distribution (PSD) and encapsulation efficiency of the emulsion were investigated, and the response surface methodology (RSM) was used to optimize the preparation process. The RSM results showed that the proportion of oil phase was a critical factor affecting Pickering emulsion and the interaction between pH value and the proportion of oil phase was the most significant. When zein/pectin mass ratio was 10:4, pH value was 3 and proportion of oil phase was 50%, the comprehensive score of the emulsion could reach 85.52. Under the above optimized conditions, the encapsulation efficiency, average particle size, PSD and  $\zeta$ -potential of Pickering emulsion were  $(82.14 \pm 4.86)\%$ ,  $(15.69 \pm 0.17) \mu\text{m}$ ,  $(1.277 \pm 0.011) \mu\text{m}$ , and  $(-30.75 \pm 1.63) \text{mV}$ , respectively. The experimental results provide an experimental reference for the preparation of Pickering emulsion containing plant essential oils.

**Keyword** Pickering emulsion; cinnamon essential oil; average particle size; encapsulation efficiency; response surface methodology