

基于螺旋藻分离蛋白构建的高内相乳液及其光保护性能

毛 燚^{1,2}, 丁晶晶^{1,2}, 孙亚娟^{1,2}, 杨 成^{1,2*}

¹ 江南大学合成与生物胶体教育部重点实验室 江苏无锡 214122

² 江南大学化学与材料工程学院 江苏无锡 214122)

摘要 以螺旋藻分离蛋白(SPI)为乳化剂制备高内相乳液(HIPEs),研究乳化剂质量分数、油相种类和油相占比对构建 HIPEs 的影响,并探究其常温储存稳定性和对 UV 诱导的 β -胡萝卜素降解的保护效果。结果表明:SPI 具有良好的表面润湿性、起泡能力、降低界面张力能力和 UV 吸收能力。对多种油相均具有良好的乳化性能,质量分数 1%即可乳化 75%(体积分数)的油相。基于 SPI 构建的 HIPEs 具有良好的常温储存稳定性,且能有效封装 β -胡萝卜素,经 UV 辐照后,乳液结构完整,且有效抑制了 β -胡萝卜素的光降解, β -胡萝卜素的残留量达 45.56%。结论:制备了一种食品级、生物相容性好、稳定性高以及抵抗紫外性能强的 HIPEs,在食品、化妆品和医药等领域具有潜在的应用前景,为天然蛋白型乳液的制备提供了参考数据。

关键词 螺旋藻分离蛋白;高内相乳液;生物相容性;稳定性;活性物保护

文章编号 1009-7848(2024)12-0028-09 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.003

天然乳化剂具有生物安全性高,皮肤刺激性低,环境亲和等优势^[1-4],尤其是植物和微生物来源的乳化剂,如蛋白质、多糖、糖脂等^[5-9]已成为表面化学领域的研究热点。在多糖类天然乳化剂的报道中,邵佳美^[10]制备了裂片石莼多糖乳化剂,对不同油相具有较好的乳化效果;Zhao 等^[11]制备的柑橘果胶乳化剂,可为乳液带来较高的稳定性。同时,槐糖脂、鼠李糖脂等^[12-13]微生物来源乳化剂目前已进入日用化学品的开发与生产中。在众多天然乳化剂中,蛋白乳化剂展现出其独特的乳化性能^[14-15]。蛋白乳化剂常以两性胶体颗粒的形式参与乳化过程,具有皮克林乳化的特点^[16-17],具有适用范围广,乳液稳定性高的优势。然而,蛋白乳化剂存在构建高内相乳液(HIPEs)困难,对内相活性物的光保护性能不足等缺点。

螺旋藻分离蛋白(SPI)是一种极具潜力的蛋白乳化剂,其来源丰富^[18],含 8 种人体必需氨基酸,且氨基酸比例接近联合国粮农组织(FAO)和世界卫生组织(WHO)的推荐标准,有利于人体的吸收和利用^[19]。研究表明,SPI 具有良好的表面活

性,如起泡性和乳化能力^[20-22]。此外,SPI 具有一定的流体动力学性质,如增稠和胶凝特性^[23]。目前尚无基于 SPI 构建 HIPEs,以及采用 SPI 对乳液内相活性物进行光保护的研究报道。

本研究首先制备 SPI,探究 pH 对 SPI 的 zeta 电位、三相接触角和起泡能力的影响,并考察其动态界面张力和 UV 吸收性能。其次,通过研究多种油相的乳化性能,考察 SPI 乳化能力的普适性。同时,以异构十六烷为油相制备 HIPEs,探索 SPI 质量分数和油相占比对 HIPEs 宏观和微观形貌的影响,考察其常温储存稳定性。最后,以光不稳定的 β -胡萝卜素为模型活性物,探究 SPI 对 UV 诱导的 β -胡萝卜素降解的保护效果。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

螺旋藻粉,上海光语生物科技有限公司;异构十六烷,广州东仕化工科技有限公司; β -胡萝卜素、橄榄油、葵花籽油、液体石蜡、辛酸癸酸甘油三酯(GTCC),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;D5 硅油,安徽艾约塔硅油有限公司;透明质酸(100~200 ku),上海麦克林生化科技有限公司;A 型明胶,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;SDS-PAGE 试剂盒,上海生工生物工程技术有限公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型),碧

收稿日期:2023-12-18

基金项目:中国博士后科学基金项目(2020M671333)

第一作者:毛燚,女,硕士生

通信作者:杨成 E-mail: cyang@jiangnan.edu.cn

云天生物技术有限公司; 羧甲基壳聚糖、盐酸(HCl)、氢氧化钠(NaOH)、正己烷, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

LEICA ICC50 光学显微镜, 德国徕卡股份公司; T18 型高速分散机, 德国 IKA 公司; SA-UF-QS1812 膜分离设备, 上海赛普生物科技工程有限公司; OCA 40 光学接触角测量仪, 北京东方德菲仪器有限公司; OCA15EC 视频光学接触角测量仪, 德国德菲仪器股份有限公司; Zeta PALS Zeta 电位及纳米粒度分析仪, 美国布鲁克海文仪器公司; TU-1950 双光束紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; SpectraMax M2 酶标仪, 美谷分子仪器(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 螺旋藻分离蛋白(SPI)的制备 使用冻融法制备螺旋藻蛋白提取物^[24]。首先, 将质量分数 3% 的螺旋藻溶液反复冷冻(-20 °C)和解冻(35 °C)10 次, 以破碎细胞壁。其次, 在 8 000 r/min 下离心 10 min 后取上清液。随后, 使用 10 ku 膜分离设备除去绝大部分低分子质量物质同时浓缩上清液。最后冷冻干燥浓缩液得到 SPI 粉末, -20 °C 保存备用。

1.3.2 SPI 的表征

1.3.2.1 SPI 蛋白质含量的测定 使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)对蛋白含量进行测定。

1.3.2.2 SPI 的 zeta 电位 使用 HCl 和 NaOH 溶液调节 SPI 溶液的 pH 值, 在室温下测量 SPI 溶液的 zeta 电位。在测量前使用去离子水稀释 SPI 水溶液至合适的浓度, 以避免多重散射效应。随后, 使用 zeta 电位及纳米粒度分析仪对样品进行测试。

1.3.2.3 SPI 的三相接触角 使用光学接触角测量仪测量 SPI 的三相接触角(θ)。使用红外压片机(20 kPa, 1 min)将 SPI 粉末压成片状, 置于装有 2/3 体积的异构十六烷的透明玻璃皿的底部。随后, 将水滴滴在 SPI 片剂上, 记录 θ 值。

1.3.2.4 SPI 的动态界面张力 使用视频光学接触角测量仪测量 SPI 的油水动态界面张力(γ)。建立油水界面后, 使用滴体积法基于 Young-Laplace 方程得到 γ 。

1.3.2.5 SPI 的 UV-VIS 吸收 使用双光束紫外可见分光光度计测量质量分数 0.1% 的 SPI、羧甲基壳聚糖、透明质酸和 A 型明胶溶液的 UV 吸收。

1.3.2.6 SPI 的起泡能力 配制质量分数 1% 的 SPI 溶液, 使用 HCl 和 NaOH 溶液调节 SPI 溶液的 pH 值, 使用高速分散机将等体积的不同 pH 值的 SPI 溶液在 10 000 r/min 条件下均质 2 min, 随后快速测量并记录液面的总高度以及泡沫高度。

1.3.3 SPI 稳定乳液的制备与表征

1.3.3.1 SPI 对不同油相的乳化能力 改变油相种类(异构十六烷、液体石蜡、D5 硅油、橄榄油、葵花籽油、GTCC), 将不同油相分别与质量分数 1% 的 SPI 溶液等体积混合, 均质制备乳液, 均质速度为 16 000 r/min, 均质时间为 2 min, 拍摄外观及微观图片。

1.3.3.2 SPI 对异构十六烷的乳化能力 分别改变 SPI 溶液的质量分数(0.5%, 1%, 2% 和 4%) 和异构十六烷的体积分数(75%, 80%, 85% 和 87%), 将异构十六烷与 SPI 溶液混合, 均质制备乳液, 均质速度为 16 000 r/min, 均质时间为 2 min, 拍摄宏观及微观图片。

1.3.4 SPI 稳定的高内相乳液(HIPEs)的常温储存稳定性探究 在观察 HIPEs 外观的同时, 定期使用显微镜拍摄 HIPEs 的液滴并使用 Nano Measurer 1.2 统计液滴的平均尺寸, 统计数量为 200。

1.3.5 β -胡萝卜素在 SPI 稳定的 HIPEs 中的稳定性探究

1.3.5.1 β -胡萝卜素的标准曲线的绘制 使用双光束紫外可见分光光度计测量 0, 2.5, 5, 7.5 和 10 mg/mL 的 β -胡萝卜素在正己烷中的吸光度, 绘制标准曲线。

1.3.5.2 包封 β -胡萝卜素的 HIPEs 的制备 首先将 β -胡萝卜素分散在异构十六烷中制备成油相, 避光搅拌 12 h, 得到浓度为 0.3 mg/mL 的均匀分散液。随后将 SPI 溶液和油相混合, 使用高速分散机在 16 000 r/min 条件下均质 2 min 制备 HIPEs- β -胡萝卜素, SPI 溶液质量分数分别为 2% 和 4%, 油相占比为 75%。

1.3.5.3 β -胡萝卜素保留率探究 将 3 g HIPEs- β -胡萝卜素样品倒入 10 mm×30 mm(高度×直径)的敞口透明培养皿中。在室温下, 在白色长方体泡

沫箱内使用功率为 6~10 W、波长为 365 nm 的 7 珠 220 V 台式 UV 胶固化 LED 灯(78UU,言西早,中国)照射样品,垂直高度为 10 cm。在 0,2,4 h 和 6 h 后,从 HIPEs- β -胡萝卜素中称取 100 mg 样品,加入 1 mL 无水乙醇破乳,再用正己烷稀释至合适浓度,用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度。同样浓度的 β -胡萝卜素分散在异构十六烷中作为对照样品。

2 结果与分析

2.1 SPI 的制备与表征

2.1.1 电位 首先,根据作者前期的研究工作^[25],制备了蛋白含量为 87.24%的螺旋藻分离蛋白。然后将 SPI 完全溶解于去离子水后,测量了不同 pH 条件下 SPI 的 zeta 电位,如图 1 所示。随着 pH 从 1 增加到 9,SPI 的 zeta 电位从正值变为负值,当 pH 值为 3.5 时,zeta 电位接近 0,此为 SPI 的等电点。当 pH 值小于 3.5 时,蛋白质发生碱式电离,带正电;当 pH 值大于 3.5 时,蛋白质发生酸式电离,带负电;当 pH 值等于 3.5 时,正离子和负离子数量相等且浓度非常低,蛋白质以内盐的形式存在,呈电中性^[26]。

2.1.2 表面润湿性 随后,测量了不同 pH 值条件下 SPI 的三相接触角,如图 2 所示。在 pH 1.5~9.5 的变化范围内,SPI 的三相接触角先增加后减小,在 pH 3.5 达到峰值 72.3°。三相接触角的变化说明在不同 pH 值条件下 SPI 的亲/疏水性不同,在等电点处疏水性最强,这与 zeta 电位的结果一致。在所测 pH 值范围内,SPI 的三相接触角都小于 90°,呈现比较强的亲水性^[27]。

2.1.3 油水动态界面张力 为评价 SPI 的乳化性能,使用光学接触角测量仪测量了 SPI 的油水动态界面张力,如图 3 所示。选择异构十六烷和葵花籽油作为油相,分别代表链状烷烃类和高级脂肪酸甘油三酯类油脂。由图可知,质量分数为 0.1% 的 SPI 溶液可显著降低异构十六烷-水界面张力以及葵花籽油-水界面张力,并且油相不同,初始界面张力有所不同,降低界面张力的程度也有所不同。葵花籽油的主要成分是高级脂肪酸甘油三酯类物质,属于表面活性剂类的物质,可以降低油-水界面张力,而异构十六烷不属于表面活性

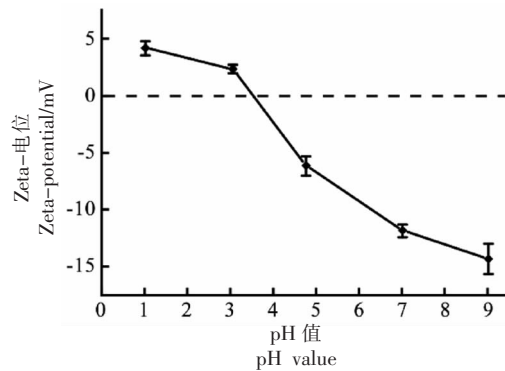


图 1 不同 pH 值下 SPI 的 zeta 电位

Fig.1 Zeta-potential SPI under different pH values

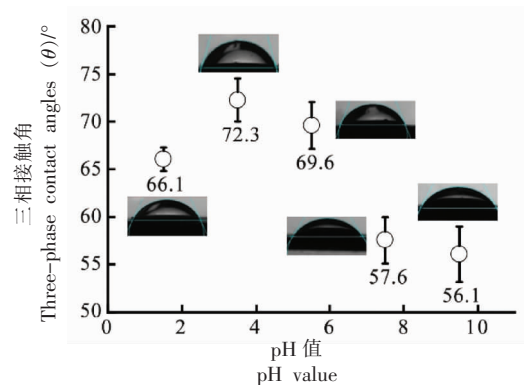


图 2 不同 pH 值下 SPI 的三相接触角 (θ)

Fig.2 Three-phase contact angles (θ) of SPI under different pH values

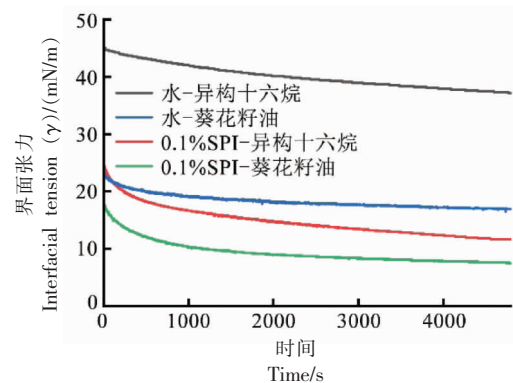


图 3 SPI 的油水动态界面张力

Fig.3 Oil/ water dynamic interfacial tension (γ) of SPI

剂,不可以降低油水界面张力,因此葵花籽油-水的初始动态界面张力低于异构十六烷-水^[28]。以上结果说明,SPI 具有良好的降低油水界面张力的能力,具有乳化潜力。

2.1.4 UV 吸收能力 使用双光束紫外可见分光光度计测量了 SPI、羧甲基壳聚糖、透明质酸和 A 型明胶溶液在 0.1% 质量分数下的 UV 吸收, 如图 4 所示。在 300~800 nm 的紫外-可见光范围内, SPI 溶液的吸光度明显优于其它溶液, 说明 SPI 具备比较优异的光吸收性能。

2.1.5 起泡性分析 起泡性描述了蛋白在单位重量或浓度下能够稳定的界面面积, 与分子的高弹性、电荷密度和疏水性有关。如图 5 所示, 测量了不同 pH 值条件下 SPI 溶液的起泡能力。随着 pH 值的增加, SPI 蛋白的起泡能力先增加后减小, 在 pH 3.5 时, 蛋白的起泡能力最大, 达到 81.85%。这是由于 pH 值影响蛋白质的荷电状态, 因而改变了其溶解度、相互作用力和持水力, 也就改变了蛋白质的起泡性质和泡沫的稳定性^[29]。当蛋白质处于或接近等电点时, 有利于界面上蛋白质-蛋白质的相互作用和形成黏稠的膜, 被吸附至界面的蛋白质的数量也将增加, 这两个因素均提高了蛋白质的起泡能力^[30]。

2.2 乳液的制备与表征

2.2.1 油相种类的影响 随后, 测量了 SPI 对不同油相的乳化能力, 如图 6 所示。在常温下放置 24 h 后, 从外观上看, 所有的乳液呈现细腻的状态, 未出现油-水相分离现象, 但都出现乳析现象, 这是由于分散相和分散介质之间存在密度差, 两相密度差不同, 乳析程度有所不同。从微观上看, 加水稀释后, 所有液滴的尺寸分布均匀、为均匀球状液滴, 这说明螺旋藻蛋白提取物是一种优异的乳化剂, 可乳化多种类型的油脂, 有利于其在食品、化妆品、医药等领域的开发和应用。

2.2.2 SPI 质量分数和油相占比的影响 异构十六烷润滑性高, 耐酸碱, 在化妆品中的作用是润肤、保湿, 广泛用于防晒产品和高档护肤品, 因此, 选择异构十六烷为油相。如图 7 所示, 分别改变 SPI 溶液的质量分数和异构十六烷的体积分数, 深入探究了 SPI 对异构十六烷的乳化能力及其形成高内相乳液的能力。如图 7a 所示, 所有的乳液液滴尺寸分布均匀、为均匀球状液滴。控制油相占比为 75%, 在 1%~4% 的范围内逐渐增加水相 SPI 的质量分数, 液滴尺寸逐渐从 31.10 μm 降低到 22.36 μm ; 控制水相 SPI 质量分数为 4%, 在 75%~

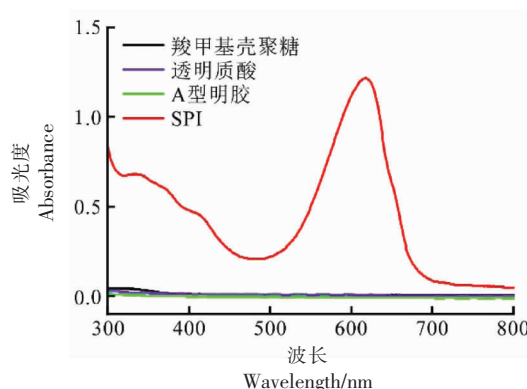


图 4 SPI、羧甲基壳聚糖、透明质酸和 A 型明胶溶液的 UV-VIS 吸收波长

Fig.4 UV-VIS absorption spectra of SPI, carboxymethyl chitosan, hyaluronic acid and gelatin type A solutions

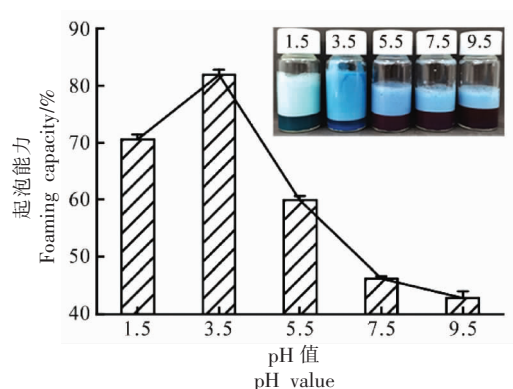


图 5 不同 pH 值条件下 SPI 的起泡能力

Fig.5 Foaming capacity of SPI solutions under different pH conditions

85% 的范围内逐渐增加油相占比, 乳液液滴尺寸逐渐从 22.36 μm 增加到 28.98 μm 。油相体积分数不变, 增加水相乳化剂的质量分数, 会导致乳液的单位体积比表面积增加, 液滴半径减小, 即液滴尺寸减小。随着油相体积分数的增加, 液滴尺寸逐渐增加, 水相乳化剂质量分数不变意味着其能有效稳定油-水界面, 即表面积不变, 单位体积比表面积减小, 液滴半径增大, 即液滴尺寸增大^[31]。从图 7b 可以看出, 质量分数 0.5% 的 SPI 无法完全乳化 75% 的油相, 形成的乳液上层出油。质量分数 1% 的 SPI 最多可以稳定 75% 的油相。质量分数 2% 的 SPI 最多可以稳定 80% 的油相, 并且油相占比为 80% 的乳液倒置不流动, 呈凝胶状。质量分数 4% 的 SPI 最多可以稳定 85% 的油相, 并且油相占比

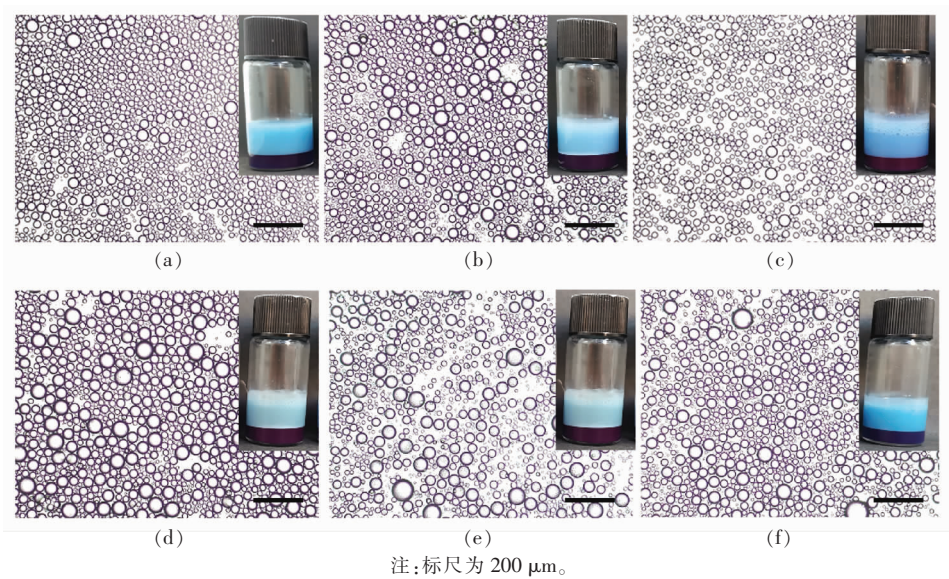


图6 SPI与不同油相异构十六烷(a)、液体石蜡(b)、D5硅油(c)、橄榄油(d)、葵花籽油(e)和辛酸癸酸甘油三酯(f)的乳液图片

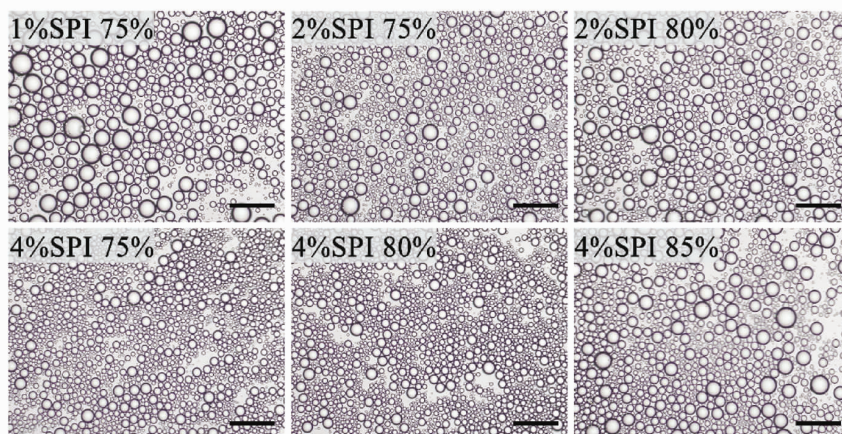
Fig.6 Emulsion pictures of SPI and different oil phases isomeric cetane (a), liquid paraffin (b), D5 silicone oil (c), olive oil (d), sunflower oil (e) and caprylic capric triglyceride (f)

高于(含)75%的乳液都呈现凝胶结构。

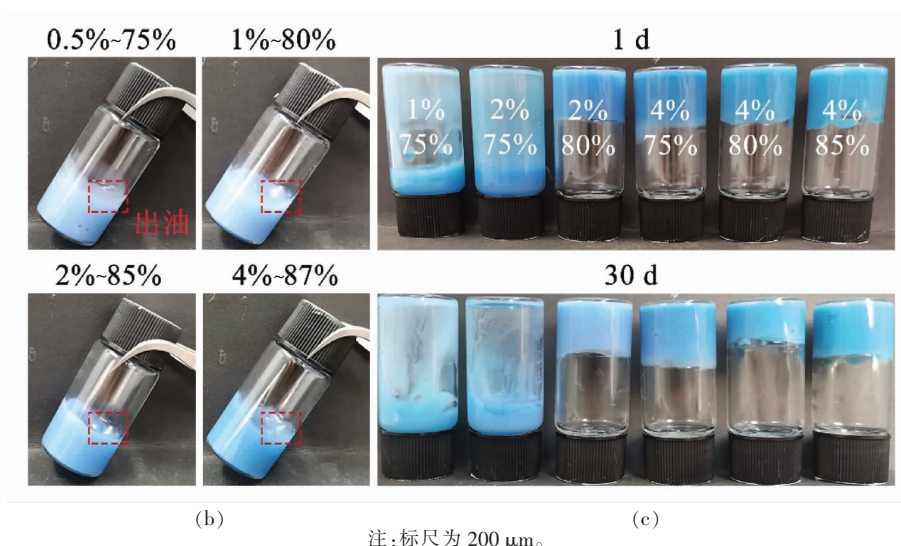
2.2.3 稳定性分析 通过持续观察不同SPI质量分数稳定的乳液在常温储存过程中的粒径变化,我们评价了乳液的常温稳定性。如图7c所示,在常温下储存30d后,所有乳液的外观几乎没有发生任何改变,根据表1可知,粒径变化也不明显。说明SPI稳定的乳液具有良好的常温储存稳定性。

2.2.4 β -胡萝卜素保留率分析 随后,绘制了 β -胡萝卜素在正己烷中的标准曲线,回归方程式 $y = 0.11x + 0.042, R^2 = 0.999$ 。为了研究SPI乳化的

HIPEs包封是否对UV诱导的 β -胡萝卜素降解产生保护作用,测定了UV处理过程中HIPEs中 β -胡萝卜素的残留含量。如图8所示,当SPI乳化的高内相乳液中异构十六烷占比固定为75%,SPI质量分数分别为2%和4%时,在6h的UV照射后, β -胡萝卜素的残余量分别为30.92%和45.56%。相比之下, β -胡萝卜素在纯油相中UV照射6h后则全部降解。这说明SPI乳化的HIPEs对 β -胡萝卜素具有一定的保护作用,并且SPI质量分数越高,保护效果越好^[32]。如图所示,HIPEs对 β -胡萝卜素具有保护作用可能有以下几方面的原



(a)



注:标尺为 200 μm。

图 7 不同质量分数的 SPI 溶液乳化不同含量的异构十六烷的高内相乳液图片

Fig.7 The appearance and microscopic photos of HIPEs emulsified with different amounts of iso-hexadecane by SPI solutions at different concentrations

表 1 SPI 溶液储存 1 d 和 30 d 的液滴尺寸表

Table 1 Drop sizes of SPI solutions before and after storage for 30 days

不同 SPI 以及含油量的乳液	1 d 的液滴尺寸/μm	30 d 的液滴尺寸/μm
1% SPI, 75% 油相	31.10 ± 13.81	31.81 ± 10.74
2% SPI, 75% 油相	23.97 ± 10.13	24.04 ± 8.49
2% SPI, 80% 油相	29.69 ± 12.06	30.71 ± 7.48
4% SPI, 75% 油相	22.36 ± 8.59	22.94 ± 9.40
4% SPI, 80% 油相	24.01 ± 8.25	24.37 ± 7.16
4% SPI, 85% 油相	28.98 ± 11.34	29.41 ± 9.08

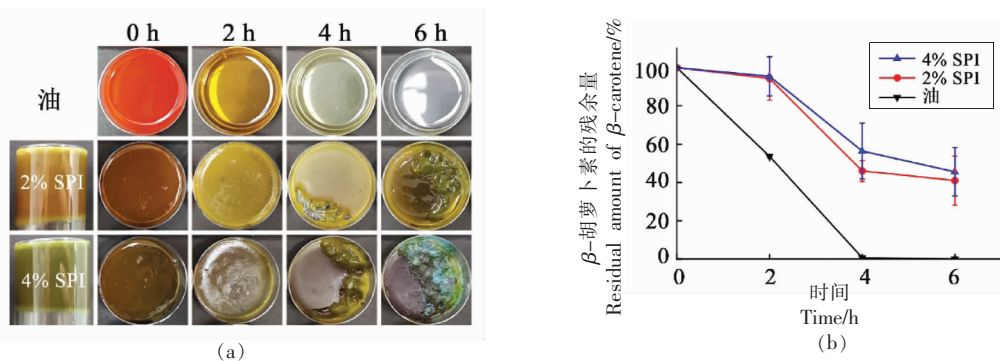


图 8 在紫外照射下,不同的照射时间后含 β-胡萝卜素的异构十六烷以及 2%,4% 的 SPI 乳化的高内相乳液的外观图 (a) 以及 β-胡萝卜素的残余含量折线图 (b)

Fig.8 Appearance of iso-hexadecane or HIPEs emulsified by 2% and 4% of SPI containing β-carotene under UV irradiation (a) as well as broken line of residual content of β-carotene (b)

因:第一,如图 4 所示,螺旋藻蛋白在紫外辐射波段 280~400 nm 具有优异的光吸收性,在高内相乳

液的油-水界面或者连续相中的 SPI 对紫外光都有一定的吸收作用,含有 β-胡萝卜素的油滴被

HIPEs包裹,可防止 β -胡萝卜素直接暴露于紫外线辐射中^[33];第二,界面上以及连续相中的蛋白提供了空间屏障,HIPEs对空气起到了一定的隔绝作用;第三,SPI是有效的抗氧化剂,可以阻碍液滴中的氢过氧化物与水相中的过渡金属离子之间的接触,延缓氧化^[34]。

3 结论

以螺旋藻分离蛋白(SPI)为乳化剂制备了高内相乳液(HIPEs),通过研究水相乳化剂质量分数和油相占比对HIPEs特性的影响发现,在水相pH 1.5~9.5的范围内,SPI的zeta电位、三相接触角和起泡能力均有所差异,在等电点处(pH 3.5)三相接触角和起泡能力最大;同时SPI具有较强的UV吸收能力。SPI对多种油相均具有良好的乳化性能,当质量分数为1%时,即可乳化75%的油相。基于SPI制备的HIPEs具有良好的常温储存稳定性,在室温30d后依旧保持稳定。并且,HIPEs能有效地封装和保护 β -胡萝卜素,能有效地抑制UV诱导的 β -胡萝卜素的降解。本研究制备了一种绿色、安全、稳定的食品级HIPEs和一种高效的生物活性物保护载体,为其在食品、化妆品和医药等领域的应用提供了数据支撑。

参 考 文 献

- [1] MA Z X, KHALID N, SHU G F, et al. Fucoxanthin-loaded oil-in-water emulsion-based delivery systems: Effects of natural emulsifiers on the formulation, stability, and bioaccessibility[J]. ACS Omega, 2019, 4(6): 10502-10509.
- [2] DAMMAK I, SOBRAL P J D A, AQUINO A, et al. Nanoemulsions: Using emulsifiers from natural sources replacing synthetic ones—a review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(5): 2721-2746.
- [3] KIM W, WANG Y, SELOMULYA C. Dairy and plant proteins as natural food emulsifiers[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 105: 261-272.
- [4] DROŻŁOWSKA E, BARTKOWIAK A, ŁOPUSIEWICZ Ł. Characterization of flaxseed oil bimodal emulsions prepared with flaxseed oil cake extract applied as a natural emulsifying agent[J]. Polymers, 2020, 12(10): 2207.
- [5] MCLEMENTS D J. Protein-stabilized emulsions[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2004, 9(5): 305-313.
- [6] TANG Q, HUANG G L. Improving method, properties and application of polysaccharide as emulsifier[J]. Food Chemistry, 2022, 376(15): 131937.
- [7] MAO L K, XU D X, YANG J, et al. Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization[J]. Food Technology and Biotechnology, 2009, 47(3): 336-342.
- [8] 璩瞿, 侯晓艳, 黎杉珊, 等. 酶解青花椒籽仁谷蛋白的乳液稳定性研究[J]. 中国食品学报, 2020, 20(6): 146-153.
QU Y, HOU X Y, LI S S, et al. Emulsion stability of *Zanthoxylum armatum* DC. seed kernel glutelin by enzymatic hydrolysis[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(6): 146-153.
- [9] LIU J N, ZHOU H L, TAN Y B, et al. Comparison of plant-based emulsifier performance in water-in-oil-in-water emulsions: Soy protein isolate, pectin and gum arabic[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 307: 110625.
- [10] 邵佳美. 裂片石莼多糖肉桂醛精油乳液制备及其特性研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2015.
SHAO J M. Research on the preparation and characteristics of cinnamaldehyde emulsion using *Ulva fasciata* polysaccharide as emulsifier[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2015.
- [11] ZHAO S J, REN W B, GAO W, et al. Effect of mesoscopic structure of citrus pectin on its emulsifying properties: Compactness is more important than size[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2020, 570(15): 80-88.
- [12] LIU Y L, LI Y, SI Y F, et al. Synthesis of nanosilver particles mediated by microbial surfactants and its enhancement of crude oil recovery[J]. Energy, 2023, 272(1): 127123.
- [13] HABA E, BOUHDID S, TORREGO-SOLANA N, et al. Rhamnolipids as emulsifying agents for essential oil formulations: Antimicrobial effect against *Candida albicans* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. International Journal of Pharmaceutics,

- 2014, 476(1/2): 134–141.
- [14] DAI L X, HINRICHS J, WEISS J. Emulsifying properties of acid-hydrolyzed insoluble protein fraction from *Chlorella protothecoides*: Formation and storage stability of emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 105954.
- [15] AZIZ A, KHAN N M, ALI F, et al. Effect of protein and oil volume concentrations on emulsifying properties of acorn protein isolate[J]. Food Chemistry, 2020, 324(15): 126894.
- [16] SRIDHARAN S, MEINDERS M B J, BITTER J H, et al. On the emulsifying properties of self-assembled pea protein particles[J]. Langmuir, 2020, 36(41): 12221–12229.
- [17] RIBEIRO E F, MORELL P, NICOLETTI V R, et al. Protein- and polysaccharide-based particles used for Pickering emulsion stabilisation[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 119: 106839.
- [18] 王娜, 向清豪, 赵肖荣, 等. 螺旋藻全蛋白与家族分类[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 201–207.
WANG N, XIANG Q H, ZHAO X R, et al. Family classification of the whole proteins of *Spirulina*[J]. Food Science, 2018, 39(16): 201–207.
- [19] CLÉMENT G, GIDDEY C, MENZI R. Amino acid composition and nutritive value of the alga *Spirulina maxima*[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1967, 18(11): 497–501.
- [20] PASCAL B, LUKAS B, ALEXANDER M, et al. Proteins from microalgae for the stabilization of fluid interfaces, emulsions, and foams[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 108: 326–342.
- [21] SCHWENZFEIER A, LECH F, WIERENG P A, et al. Foam properties of algae soluble protein isolate: Effect of pH and ionic strength[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 33(1): 111–117.
- [22] BENELHADJ S, GHARSALLAOUI A, DEGRAEVE P, et al. Effect of pH on the functional properties of arthrospira (*Spirulina*) platensis protein isolate[J]. Food Chemistry, 2016, 194(1): 1056–1063.
- [23] BERNAERTS T M M, GHEYSEN L, FOUBERT I, et al. The potential of microalgae and their biopolymers as structuring ingredients in food: A review[J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(8): 107419.
- [24] TAN H T, KHONG N M H, KHAW Y S, et al. Optimization of the freezing-thawing method for extracting phycobiliproteins from arthrospirasp [J]. Molecules, 2020, 25(17): 3894.
- [25] DING J J, LI Y X, WANG Q B, et al. Pickering high internal phase emulsions with excellent UV protection property stabilized by *Spirulina* protein isolate nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 137: 108369.
- [26] BÖCKER L, BERTSCH P, WENNER D, et al. Effect of arthrospira platensis microalgae protein purification on emulsification mechanism and efficiency [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2021, 584(15): 344–353.
- [27] WANG Z G, ZHANG N, CHEN C, et al. Rape-seed protein nanogels as novel Pickering stabilizers for oil-in-water emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(11): 3607–3614.
- [28] CONG Y X, ZHANG W N, LIU C S, et al. Composition and oil-water interfacial tension studies in different vegetable oils[J]. Food Biophysics, 2020, 15: 229–239.
- [29] 姚海霞. 竹豆清蛋白的理化性质及功能性质研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.
YAO H X. Research on physical and chemical properties and functional properties of bamboo bean albumin[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2018.
- [30] MARTÍNEZ-VELASCO A, LOBATO-CALLEROS B C, HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ B E, et al. High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2018, 44: 97–105.
- [31] 陈凤凤, 丁晶晶, 王秋博, 等. 南瓜籽分离蛋白颗粒稳定的高内相皮克林乳液的制备及研究[J]. 中国油脂, 2022, 48(11): 25–32.
CHEN F F, DING J J, WANG Q B, et al. The preparation and research of high internal phase Pickering emulsions stabilized by pumpkin seed protein isolates particles[J]. China Oils and Fats, 2022, 48(11): 25–32.
- [32] 孙亚娟, 丁晶晶, 杨成, 等. 一种高效光防护螺旋藻基高内相凝胶乳液的制备及应用: CN202210412658.8[P]. 2023–04–21.
SUN Y J, DING J J, YANG C, et al. Preparation and application of a high-efficiency photoprotective *Spirulina* based high endophase gel emulsion: CN202210412658.8[P]. 2023–04–21.

- [33] LIU R G, LI Y, ZHOU C F, et al. Pickering emulsions stabilized with a *Spirulina* protein–chitosan complex for astaxanthin delivery[J]. *Food & Function*, 2023, 14(9): 4254–4266.
- [34] MOHAMMADI M, SOLTANZADEH M, EBRAHIMI A R, et al. *Spirulina* platensis protein hydrolysates: Techno–functional, nutritional and antioxidant properties[J]. *Algal Research*, 2022, 65: 102739.

High Internal Phase Emulsion Constructed Based on *Spirulina* Protein Isolate and Its Photoprotective Properties

Mao Yi^{1,2}, Ding Jingjing^{1,2}, Sun Yajuan^{1,2}, Yang Cheng^{1,2*}

(¹Key Laboratory of Synthetic and Biological Colloids, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu

²School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu)

Abstract *Spirulina* protein isolate (SPI) was used as an emulsifier to prepare high–internal phase emulsions (HIPEs), and the effects of emulsifier mass fraction, oil phase type and oil phase proportion on the construction of HIPEs were studied, and their storage stability at room temperature and protective effect on UV–induced β –carotene degradation were explored. The results showed that SPI has good surface wettability, foaming ability, interfacial tension reduction ability and UV absorption ability. It had good emulsifying properties for a variety of oil phases, and 75% (volume fraction) of oil phases could be emulsified with a mass fraction of 1%. HIPEs constructed based on SPI had good storage stability at room temperature, and could effectively encapsulate β –carotene, and after UV irradiation, the emulsion structure was intact, and the photodegradation of β –carotene was effectively inhibited, and the residue of β –carotene reached 45.56%. Conclusion: HIPEs with food grade, good biocompatibility, high stability and strong ultraviolet resistance were prepared, which have potential application prospects in food, cosmetics and medicine, and provide reference data for the preparation of natural protein–based emulsions.

Keywords *Spirulina* protein isolate; high internal phase emulsion; biocompatibility; stability; active substance protection