

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2026.80153

茶黄素类—牛血清白蛋白复合物 Pickering 乳液的制备、表征及稳定性研究

傅志轩¹ 曹倩¹ 吴远杰² 吴浩人² 石萌¹

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 湖南省茶业集团股份有限公司, 湖南 长沙 410126)

摘要: [目的] 构建茶黄素类(TFs)—牛血清白蛋白复合物 Pickering 乳液, 用于提升 Pickering 乳液的多重稳定性。[方法] 采用不同质量浓度的 TFs (0~20 mg/mL) 与牛血清白蛋白制备复合物, 再与菜籽油制备 Pickering 乳液, 表征乳液的微观结构、粒径电位和流变性质, 并分析 TFs 质量浓度对乳液的离心、贮藏和钠离子胁迫下稳定性的改善作用。[结果] TFs 与牛血清白蛋白形成稳定复合物, 构建 Pickering 乳液的乳滴呈球形, 随 TFs 质量浓度增加, 乳液粒径先减小后增大, 在 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时, 乳液粒径最小 ($D_{4,3}$ 为 34.4 μm), Zeta 电位绝对值最大 (34.96 mV), 并形成了最强的三维凝胶网络。稳定性分析显示, TFs 质量浓度为 10 mg/mL 的乳液具有良好的持水能力 (59.44%), 最高的钠离子稳定性和低温贮藏稳定性 (4 $^{\circ}\text{C}$, 20 d)。[结论] TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时, 其与牛血清白蛋白相互作用形成的复合物能够有效改善 Pickering 乳液的多重稳定性。

关键词: 牛血清白蛋白; 茶黄素类; Pickering 乳液; 表征; 稳定性

Preparation, characterization, and stability of Pickering emulsions stabilized by theaflavins-bovine serum albumin complexes

FU Zhixuan¹ CAO Qian¹ WU Yuanjie² WU Haoren² SHI Meng¹

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Hunan Tea Group Co., Ltd., Changsha, Hunan 410126, China)

Abstract: [Objective] To construct theaflavins (TFs)-bovine serum albumin (BSA) complex-based Pickering emulsions to enhance the multiple stability of Pickering emulsions. [Methods] TFs at different mass concentrations (0~20 mg/mL) were used to prepare complexes with BSA, which were then employed to prepare Pickering emulsions with rapeseed oil. The microstructure, particle size, Zeta potential, and rheological properties of the emulsions were characterized. The effects of TFs mass concentration on the stability of the emulsions under centrifugation, storage, and sodium ion stress were further analyzed. [Results] TFs formed stable complexes with BSA, and the resulting Pickering emulsions exhibited spherical droplets. As the TFs mass concentration increased, the particle size of the emulsions first decreased and then increased. At a TFs mass concentration of 10 mg/mL, the emulsion showed the smallest particle size ($D_{4,3}$ = 34.4 μm) and the highest absolute Zeta potential (34.96 mV), and formed the strongest three-dimensional gel network. Stability analysis revealed that the emulsion at a TFs mass concentration of 10 mg/mL exhibited good water-holding capacity (59.44%), the highest sodium ion stability, and good low-temperature storage stability (4 $^{\circ}\text{C}$, 20 d). [Conclusion] At a TFs mass concentration of 10 mg/mL, the complexes formed through interactions between TFs and BSA can effectively improve the multiple stability of Pickering emulsions.

Keywords: bovine serum albumin; theaflavins; Pickering emulsion; characterization; stability

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (编号: 32502109); 湖南省自然科学基金面上项目 (编号: 2025JJ50116)

通信作者: 石萌 (1990—), 女, 湖南农业大学副教授, 博士。E-mail: shimeng@hunau.edu.cn

收稿日期: 2026-02-26 **改回日期:** 2026-03-20

引用格式: 傅志轩, 曹倩, 吴远杰, 等. 茶黄素类—牛血清白蛋白复合物 Pickering 乳液的制备、表征及稳定性研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(5): 32-41.

Citation: FU Zhixuan, CAO Qian, WU Yuanjie, et al. Preparation, characterization, and stability of Pickering emulsions stabilized by theaflavins-bovine serum albumin complexes[J]. Food & Machinery, 2026, 42(5): 32-41.

乳液是一种由两种互不相溶的液体构成的胶体分散体系,具有热力学不稳定性,通常依靠表面活性剂或两亲性物质维持动态稳定^[1]。这类体系在石油化工与材料科学中已有成熟应用^[2]。与传统乳液不同,Pickering 乳液依赖微纳米尺度的固体颗粒稳定界面,通过存在油水界面不可逆吸附的颗粒物质,构建兼具热力学与动力学稳定性的新型分散体系^[3]。其优势在于能有效抑制液滴的絮凝与聚结,并避免小分子表面活性剂可能引发的生物毒性或环境问题,在普通食品、保健食品和药品等领域备受关注^[4]。近年来,以蛋白质、多糖及其复合物为代表的食品级生物聚合物颗粒,因其良好的界面柔性与可调控的功能特性,已成为构建 Pickering 乳液的理想材料^[4]。研究^[5]表明,蛋白质与多酚等组成的二元复合物,能够通过氢键、疏水作用和范德华力等分子间相互作用,形成结构更稳定、界面性质更优的颗粒。这类复合物的组成比例直接影响其尺寸、界面特性和乳液稳定性^[6]。

牛血清白蛋白(bovine serum albumin,BSA)是从牛血清中分离纯化的球状蛋白质,由 583 个氨基酸残基组成的球状蛋白质^[7]。因其优异的乳化性、成膜性、生物相容性及可降解性,近年来在食品级乳液递送体系的构建中受到广泛关注^[8]。在结构上,BSA 由 α -螺旋结构域 I (1~195)、II (196~383) 和 III (384~583) 3 个结构域组成,每个结构域包括两个子结构域 A 和 B^[9],这种多结构域特征赋予 BSA 多个灵活的结合位点,能通过疏水腔、氢键等作用与多酚等小分子化合物发生特异性结合。BSA 与多酚互作有助于提高其稳定性和生物利用度,并显著改变 BSA 的构象与界面行为,提高乳液的环境耐受性^[10]。

茶黄素类(theaflavins,TFs)是红茶发酵过程中由儿茶素类氧化聚合形成的一类聚酚类化合物,具有抗氧化、抗炎和抗癌等生物学功能,在功能性食品开发中展现出广阔前景^[11]。在食品基质中,多酚常与蛋白质共同存在,多酚与蛋白质的相互作用能改变蛋白质的结构和功能特性^[12]。研究^[13]表明,EGCG 引发了 β -伴大豆球蛋白构象变化, α -螺旋和 β -结构的含量增加,且 EGCG 能够提高 β -伴大豆球蛋白的乳化性能和乳液稳定性。BSA 与 EGCG 的复合也能显著提升乳液的 pH、离子、热及冻融稳定性^[14-15]。然而,目前研究多集中于以 EGCG 为代表的单体黄烷醇。与结构相对柔性的 EGCG 不同,TFs 作为儿茶素的二聚体,其分子骨架具有更大的平面性和刚性^[16],且疏水性基团暴露程度更高。这种显著的结构差异可能导致 TFs 在界面上的吸附构象、分子间作用力以及与蛋白质的结合模式有别于 EGCG^[17],进而赋予复合物独特的界面修饰能力。但目前关于氧化程度更高、生物活性更强的 TFs 与 BSA 复合物用于稳定 Pickering 乳液的研究尚显不足,特别是 TFs 质量浓度对其复合物乳液的表征和稳定性的影响尚不明确。

研究拟以不同 TFs 质量浓度的 TFs-BSA 复合物为稳定剂构建 Pickering 乳液,探究 TFs 质量浓度对乳液表征及稳定性的影响规律。旨在为蛋白质-多酚相互作用的高稳定性的食品级 Pickering 乳液的理性设计与应用提供理论依据和技术方案。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

牛血清白蛋白:食品级,含量>96%,陕西海博生物科技有限公司;

TFs:食品级,质量分数 44.12%,包括 10.34% 茶黄素(theaflavin,TF)、8.17% 茶黄素-3-没食子酸酯(theaflavin-3-gallate,TF-3G)、10.51% 茶黄素-3'-没食子酸酯(theaflavin-3'-gallate,TF-3'G)、15.10% 茶黄素双没食子酸酯(theaflavin-3,3'-digallate,TFDG),湖南艾嘉生物科技有限公司;

低芥酸菜籽油:食品级,上海日清油脂有限公司;

PBS 磷酸盐缓冲液:pH 6.8,0.01 mol/L,安徽雷根生物技术有限公司;

NaCl:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

电子分析天平:ESJ120-4B 型,沈阳龙腾电子有限公司;

磁力搅拌器:JB-13 型,上海仪由科学仪器股份有限公司;

高速均质机:T10 basic ULTRA-TURRAX®型,广州艾卡仪器设备有限公司;

电热恒温水浴锅:HH-11-1 型,上海蚁霖科学仪器有限公司;

光学显微镜:CX31 型,郑州长城科工贸有限公司;

激光粒度仪:MASTERSIZER 3000 型,英国马尔文帕纳科有限公司;

荧光分光光度计:F-7000 型,日本日立高新技术公司;

纳米粒度仪:ZETASIZER NANO ZS 型,英国马尔文帕纳科有限公司;

旋转流变仪:Kinexus pro+型,英国马尔文帕纳科有限公司;

倒置激光共聚焦显微镜:LSM710 型,德国卡尔蔡司管理有限公司。

1.2 方法

1.2.1 BSA 和 TFs 缓冲液制备 参照张倩洁等^[18]的方法并稍作修改。在 25 °C 下,将 BSA(20 mg/mL)溶解于磷酸盐缓冲液(PBS,0.01 mol/L,pH 6.8),并在磁力搅拌器下搅拌 2 h,结束后置于 4 °C 下过夜,获得 BSA 缓冲液。将不

同质量的 TFs 粉末溶解于磷酸盐缓冲液 (PBS, 0.01 mol/L, pH 6.8), 获得不同质量浓度的 TFs 缓冲液 (0, 5, 10, 15, 20 mg/mL) 备用。

1.2.2 TFs-BSA 复合物及其 Pickering 乳液制备 参照崔凤展^[19]的方法并稍作修改。在 25 °C 下, 将制备的 BSA 缓冲液和 TFs 缓冲液按体积比 1:1, 在摇床上以 100 r/min 混合 30 min, 得到含不同质量浓度 TFs 的 TFs-BSA 复合物溶液。将 TFs-BSA 复合物溶液作为水相, 菜籽油作为油相, 按质量比 2:8 混合, 并使用高速均质机在 13 000 r/min 均质 2 min, 获得不同质量浓度 TFs 的 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液。

1.2.3 TFs-BSA 复合物表征

(1) 复合物粒径测定: 使用纳米粒度仪, 采用动态光散射 (DLS) 技术, 在散射角度 173°、温度 25 °C 下测定复合物粒径, 结果以体积平均直径 ($D_{4,3}$) 表示。

(2) 荧光光谱测定: 在 298 K 下, 取不同质量浓度 TFs 的 TFs-BSA 复合物, 设定激发波长 280 nm, 发射波长 300~460 nm, 狭缝宽度 5 nm, 扫描速度 2 400 nm/min, 使用荧光分光光度计测定 BSA 的荧光光谱。

(3) 分子对接: 基于 TFDG 在 TFs 中含量最高, 选择 TFDG 作为代表, 探究 BSA 与 TFDG 的分子间相互作用。从蛋白质数据库 (www.rcsb.org) 获取 BSA (PDB ID: 3V03) 三维晶体结构模型, TFDG 的结构来自 ChemSpider (www.chemspider.com), 并通过 PyMOL 进行修饰。选择球蛋白作为目标受体, TFDG 作为配体。采用 Autodock Vina 软件进行分子对接模拟。其中, BSA (3V03) 的网格框的中心坐标 (x, y, z) 分别为 6.429 6, 2.582 7, 2.830 5 nm, 尺寸 (x, y, z) 为 12.6, 7.0, 9.2 nm。选取对接相互作用能最低的输出位姿作为稳定相互作用构象, 考察配体与蛋白质的相互作用。

1.2.4 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液光学显微镜观察

利用 Olympus 光学显微镜对制备的乳液样品的微观形貌进行表征。使用 40 倍物镜观察乳滴的粒径、形态及其分布情况, 并采集对应显微图像。

1.2.5 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液激光共聚焦显微镜 (CLSM) 在 25 °C 下, 利用尼罗红 (质量分数 0.01%) 染色油相, 尼罗蓝 (质量分数 0.01%) 染色蛋白相。将 5 μ L 乳液样品置于载玻片上, 在 488, 633 nm 激光下观察, 利用 40 倍物镜以 1 024 $\times$ 1 024 分辨率获取 CLSM 图像。

1.2.6 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液粒径测定 利用激光粒度仪测定, 结果以体积平均直径 ($D_{4,3}$) 表示。

1.2.7 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液 Zeta 电位测定 取 1 μ L 乳液样品用超纯水稀释至 10 mL, 振荡使样品分散均匀, 以尽量减少多重散射效应, 并在 25 °C 下测定样品 Zeta 电位。

1.2.8 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液流变性质测定 参

照万俊等^[20]的方法。

1.2.9 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液稳定性分析

(1) 离心稳定性: 用持水能力 (water holding capacity, WHC) 评价乳液的离心稳定性。分别吸取不同质量浓度 TFs 的 TFs-BSA 复合物乳液于离心管中, 4 °C 下以 4 000 r/min 离心 15 min, 测定离心后乳液最下层水相的质量。按文献^[14]的方法计算 WHC。

(2) 钠离子稳定性: 在水相中添加不同浓度 (50, 100, 200, 300, 400 mmol/L) NaCl 调节离子浓度, 再与菜籽油混合制备乳液, 并测定 TFs-BSA 复合物的粒径和 Zeta 电位。

(3) 冷藏稳定性: 将不同质量浓度 TFs 的 TFs-BSA 复合物 Pickering 乳液放置在 4 °C 冰箱中冷藏, 分别测定冷藏 10, 20 d 时乳液的粒径和 Zeta 电位。

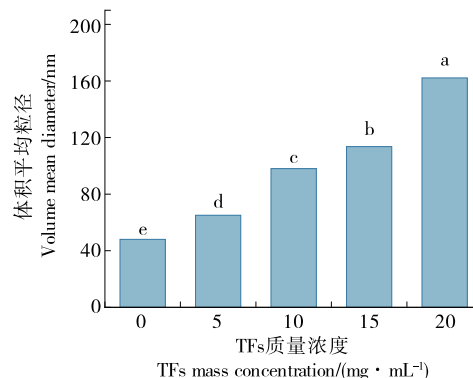
1.3 数据处理

所有数据均用平均值 $\pm$ 标准差表示。并用 Excel 分析处理数据, 图谱用软件 Origin2022 绘制, 所有试验重复 3 次, 采用 IBM SPSS Statistics 20 软件进行单因素方差分析, 当 $P < 0.05$ 时表示样品之间具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 TFs-BSA 复合物表征

2.1.1 TFs-BSA 复合物粒径 不同质量浓度 TFs 的 TFs-BSA 复合物的粒径如图 1 所示。未经 TFs 处理时粒径分布分别集中在 48 nm。随 TFs 质量浓度从 0 mg/mL 逐步升高至 20 mg/mL, 复合物的粒径显著增大 ($P < 0.05$), 且 20 mg/mL 时复合物粒径增至约 160 nm, 这一现象表明 TFs 的介入可能诱导 BSA 分子内部结构发生松散与展开, 导致蛋白质内部的疏水基团暴露^[21]。这与 BSA 与丁香醛相互作用的结果趋势^[22]一致。在较高 TFs 浓度下, 粒径增大可能是 TFs 分子作为桥梁诱导了蛋白质的交联, 从而形成更大粒径的复合物。



小写字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 复合物的粒径

Figure 1 Particle size of the complex

2.1.2 TFs-BSA 复合物荧光光谱分析 BSA 含有芳香族氨基酸,包括色氨酸(Trp)和酪氨酸(Tyr),当激发波长为 280 nm 时,蛋白质内源荧光主要来自 Trp 与 Tyr 残基^[23]。如图 2 所示,单一 BSA 最大发射波长为 350 nm,而加入 TFs 后,发射峰出现轻微红移,且荧光强度均显著下降,表明 BSA 与 TFs 发生了相互作用,BSA 的 Trp 残基从疏水性区域迁移至极性更强的环境,表现出较大的构象松弛^[24]。该红移现象与 TFs 在疏水口袋结合导致荧光微环境亲水性增强有关^[24],表明蛋白质发生了构象变化。当 TFs 质量浓度从 10 mg/mL 增加至 20 mg/mL 时,荧光淬灭幅度变化较小^[25],说明蛋白结合位点相对饱和,结构变化受限。

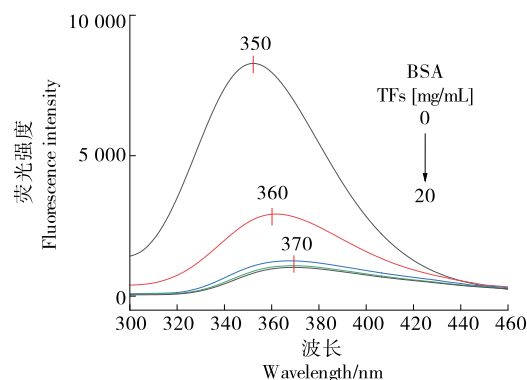


图2 复合物的荧光光谱

Figure 2 Fluorescence spectrum of the complex

2.1.3 TFs-BSA 复合物分子对接分析 如图 3 所示,BSA 与 TFs 的最低结合能为 -47.7 kJ/mol。负结合能反映了相互作用的热力学优势,且数值越低对应复合物状态越稳定^[26],表明 BSA 与 TFs 具备形成稳定复合物的内在驱动力。疏水作用与氢键的共同贡献是复合物稳定的关键。一方面,BSA 分子中的 ILE-455、ARG-432、LYS-431、LEU-489 等氨基酸残基构成了一个疏水口袋,将 TFDG 分子包裹其中,形成了典型的疏水相互作用区域^[27]。另一

方面,TFDG 结构中的羟基能够与 BSA 的 ASP-108、ARG-458、HIS-145 等残基形成多个氢键,键长为 $0.25\sim 0.41$ nm,均处于强相互作用力的范围内,且已有研究证实 TFDG 的羟基可与 BSA 的 C—N 和 C=O 基团结合^[28]。因此,BSA 相对开放的构象使其结合口袋能够有效容纳 TFs 分子,并通过疏水作用和氢键的协同效应,形成稳定的蛋白质—多酚复合物。

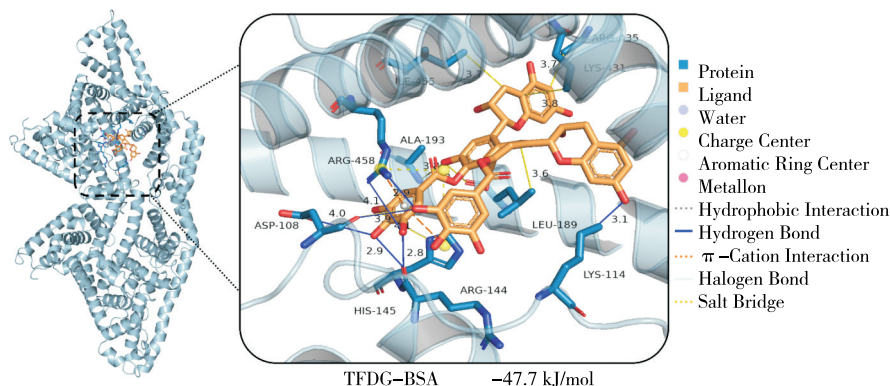


图3 TFDG-BSA 分子对接

Figure 3 Molecular docking of TFDG and BSA

2.2 TFs 质量浓度对 Pickering 乳液微观形貌的影响

如图 4(a)所示,TFs 质量浓度显著影响 Pickering 乳液的外观颜色与宏观流变特性。在直立状态下,未添加 TFs 的对照乳液(0 mg/mL)呈乳白色,而添加不同质量浓度 TFs($5\sim 20$ mg/mL)的乳液则呈浅黄色,且黄色深度随 TFs 质量浓度增加而梯度加深。所制备的 TFs-BSA 乳液体系均具备良好的稳定性,在整个观察期间,未观察到油相析出及明显的宏观相分离。进一步将乳液平铺于桌面,流动行为测试发现,对照乳液呈可流动的液态,而含 TFs 的乳液在平铺状态下仍保持其直立时的固态凝胶形态,无任何铺展流动。如图 4(b)所示,光学显微镜观察结果表明所有乳滴均呈规则的球形,随 TFs 质量浓度增加,乳滴

的平均尺寸呈先减小后增大的趋势,并在 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时,粒径最小。

如图 5 所示,通过红色荧光(标记 BSA 及 TFs-BSA 复合物)与绿色荧光(标记油滴)的双通道成像,CLSM 分析揭示了不同 TFs 质量浓度对乳液界面吸附行为与液滴形态的影响。由 BSA 单独稳定的乳液,其油滴尺寸较大、分布松散;而引入 TFs 后,形成典型 Pickering 乳液结构,表现为油滴尺寸减小,且因密集堆积而相互挤压形成多边形结构^[29]。在油滴的周围观察到有红色的荧光环出现,表明 BSA 或 TFs-BSA 复合物可能有效吸附在油水界面上。含 TFs 的乳液体系的红色荧光信号强度与密度显著高于仅 BSA 稳定的乳液体系,表明 BSA 与 TFs 形成的复合物,

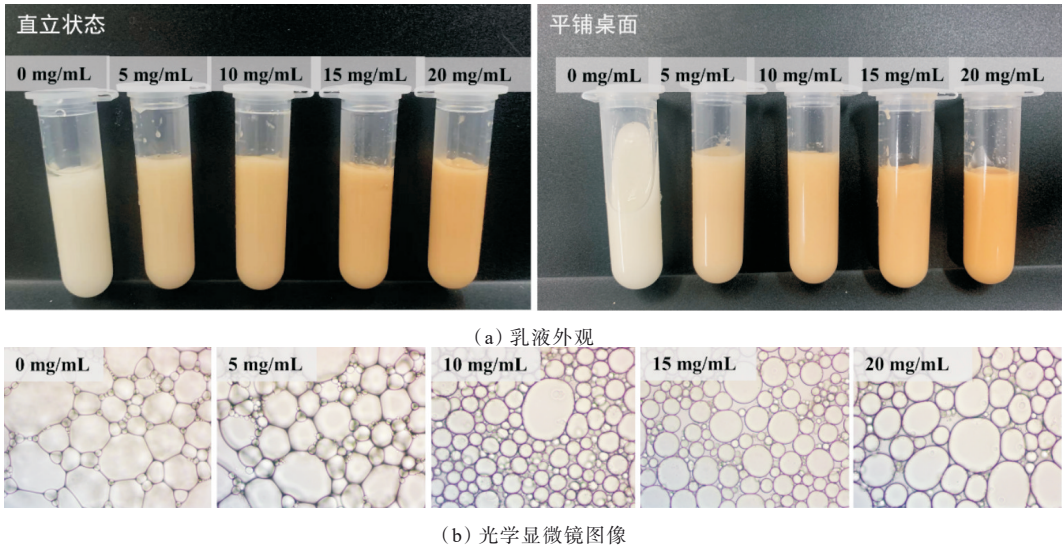


图 4 乳液外观和光学显微镜

Figure 4 Appearance and optical microscopy of emulsions

可能增强了其在界面的吸附密度与锚定强度^[30]。此外,随 TFs 质量浓度从 0 增加至 20 mg/mL,液滴尺寸呈先减小后增大的变化趋势,并在 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时达到最小值,与光学显微镜的观察结果一致。

2.3 TFs 质量浓度对乳液粒径和 Zeta 电位的影响

如图 6(a)所示,TFs 的引入显著降低了乳液粒径。与未添加 TFs 的对照组(53.2 μm)相比,TFs-BSA 复合物稳定的乳液粒径显著降低。随 TFs 质量浓度增加,粒径先减小后增大,并在 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时达到最小值(34.44 μm),较对照组减小了 18.8 μm ,这与上述 CLSM 和光学显微镜的结果一致。在 TFs 质量浓度较低时(0~5 mg/mL),Pickering 乳液仅靠 BSA 和少量 TFs 稳定油水界面,液滴间结构稳定性不佳,易发生碰撞,使乳液粒径增大,降低乳液稳定性^[31]。当 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时,更多的复合物可用于稳定界面,形成较为均匀的吸附层和尺寸较小的液滴^[32]。当 TFs 质量浓度进一步增大时(15~20 mg/mL),过量的 TFs 可能引起 TFs-BSA 复合物聚集,界面载量过大,造成液滴聚结^[33],从而导致乳液的稳定性降低。

如图 6(b)所示,Zeta 电位分析进一步揭示了体系稳定性的静电机制。随 TFs 质量浓度增加,Zeta 电位绝对值呈先升后降的趋势,并在 10 mg/mL 处呈最大绝对值(34.96 mV),显著高于对照组(24.16 mV)。该值已超过 30 mV 的临界阈值,表明此时液滴间具有最强的静电排斥力,能有效防止聚结^[34]。综上,TFs-BSA 复合物能作为高效固体颗粒乳化剂吸附于油水界面,在 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时,能够提供最优的界面覆盖与静电稳定屏障。

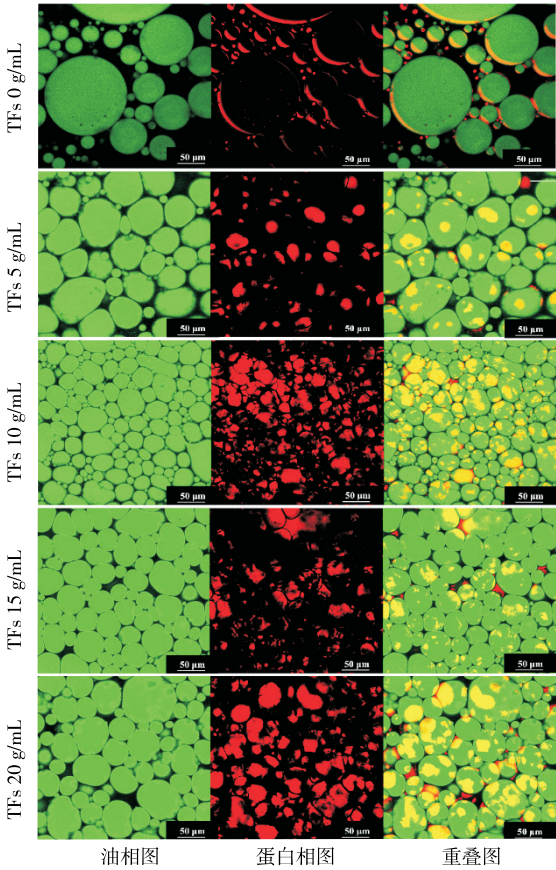
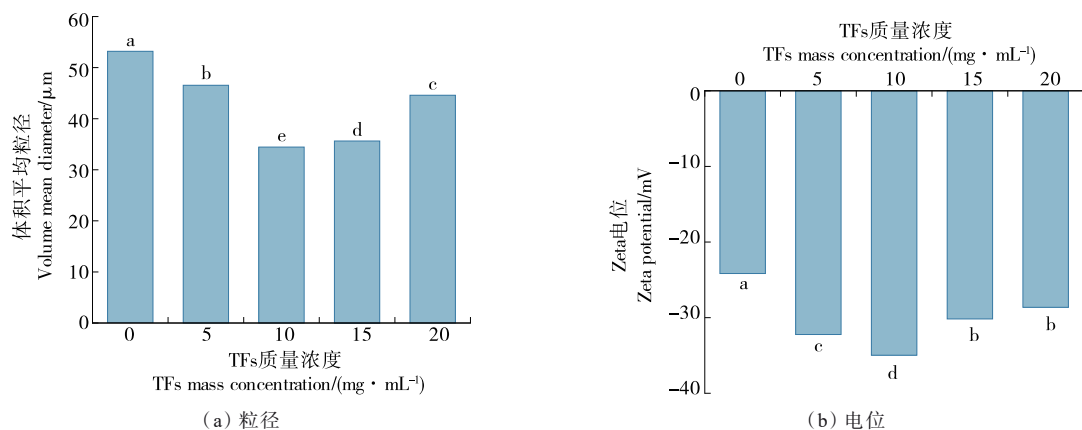


图 5 乳液的激光共聚焦显微镜

Figure 5 CLSM images of emulsions

2.4 Pickering 乳液流变特性分析

应变扫描结果(图 7)表明,所有样品在小振幅振荡剪切下均表现出明显的线性黏弹区(应变 0.01%~1.00%),并



小写字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

图6 乳液的粒径和电位

Figure 6 Particle size and Zeta potential of Pickering emulsion

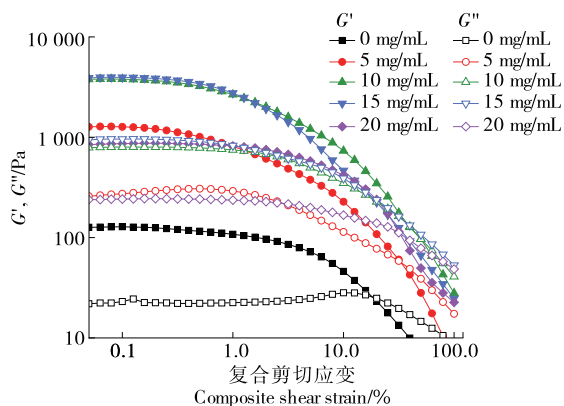


图7 乳液应变扫描曲线

Figure 7 Strain sweep curves of emulsions

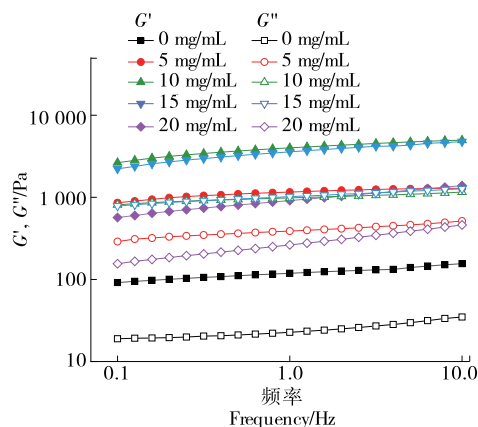


图8 乳液频率扫描曲线

Figure 8 Frequency sweep curves of emulsions

且储能模量(G')始终高于损耗模量(G''),这一流变学特征证实了体系内部形成了具有弹性主导行为的类固体三维网络。凝胶网络的强度并非随TFs质量浓度单调变化,二者之间存在复杂的依赖关系。随TFs质量浓度从0 mg/mL增至10 mg/mL, G' 和 G'' 显著升高,且凝胶-溶胶转变点(即 G' 和 G'' 交点)向更应变(15.85%~50.12%)移动,表明适量的TFs与BSA的相互作用(如氢键、疏水作用等),增强了复合颗粒间的界面交联密度,形成了更稳固的物理凝胶网络^[35]。但过高的TFs质量浓度(15~20 mg/mL)反而导致模量下降与转变点回移,这可能是由于颗粒过载引发界面吸附层聚集,限制了蛋白质构象的柔性及有效水合,削弱了形成长效物理交联的能力,致使网络结构完整性受损。

频率扫描结果(图8)显示,在所有测试频率范围内, G' 始终大于 G'' ,且二者均随扫描频率增加而缓慢升高,呈现典型的弱频率依赖性。此行为是永久性或非永久性凝胶网络的特征,表明体系内部已形成稳固的交联结构,其

特征松弛时间远大于频率扫描的试验时间窗口,因此在测试频率范围内未观察到黏弹转换点(即 G' 和 G'' 的交点)^[36]。 G' 和 G'' 的数值在TFs质量浓度为10 mg/mL时达到峰值,再次验证了该浓度下形成了最致密、最稳定的凝胶网络。

稳态剪切流变测试结果(图9)显示,所有乳液体系均遵循假塑性流体的流动规律,其表观黏度与剪切速率呈负相关,表现出明显的剪切稀化特性,这是由凝胶网络在剪切作用下发生可逆性破坏所致。引入TFs后,乳液在低剪切速率下的零剪切黏度显著提高,且在10 mg/mL时达到最大值。这种高黏度的凝胶基质极大地抑制了油滴的布朗运动与相互靠近,从而高效阻止了液滴的聚集与奥斯特瓦尔德熟化^[34,37]。综合流变学数据可知,TFs质量浓度为10 mg/mL时,乳液实现了黏性耗散(高零剪切黏度)与弹性储能(高 G')的最优协同,为乳液的稳定性提供了重要支撑。

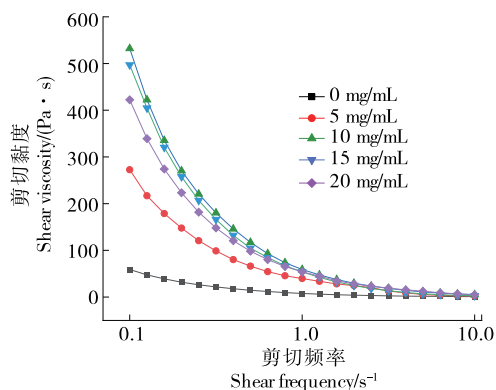


图9 乳液的表观黏度变化曲线

Figure 9 Apparent viscosity curves of emulsions

2.5 Pickering乳液稳定性分析

2.5.1 Pickering乳液离心稳定性 如图10所示,随TFs质量浓度增加,Pickering乳液WHC呈先上升后下降的趋势,引入TFs显著提升了体系的WHC。其中,TFs质量浓度为10 mg/mL时的WHC(59.44%)显著高于对照组(21.67%)($P<0.05$)。然而,TFs质量浓度进一步升高至15,20 mg/mL时,乳液的WHC均呈下降趋势。这一变化趋势与上述乳液微观结构及流变特性的演变规律一致。在适中质量浓度(≤ 10 mg/mL)下,TFs与BSA通过分子间作用力形成稳定复合物,以固体颗粒形式存在的乳化剂,倾向于在油水界面紧密排布,从而形成具有高致密性的界面屏障层。该界面膜与乳液内部形成的三维凝胶网络共同作用,能有效束缚并物理阻隔水相的自由迁移,从而显著提升持水能力^[38]。但当TFs质量浓度过高(>10 mg/mL)时,过量颗粒可能导致界面过载与体相聚集,干扰致密、均一界面膜的形成,还可能削弱凝胶网络的连续性,造成结构缺陷。这些缺陷会成为水分迁移的优先通道,从而降低网络对水分的物理截留能力,导致WHC下降^[39]。因

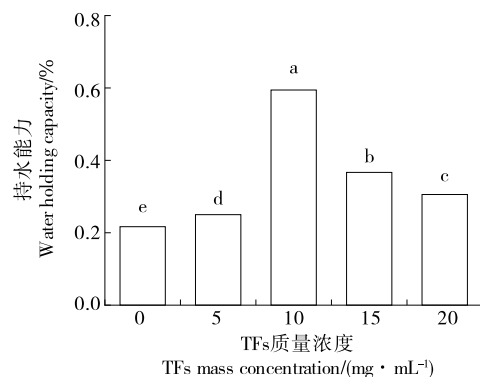
小写字母不同表示组间差异显著($P<0.05$)

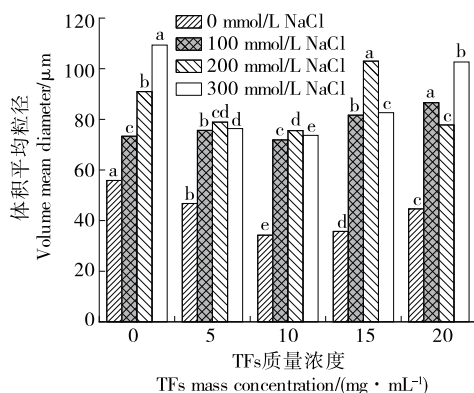
图10 乳液持水能力

Figure 10 Water-holding capacity of emulsions

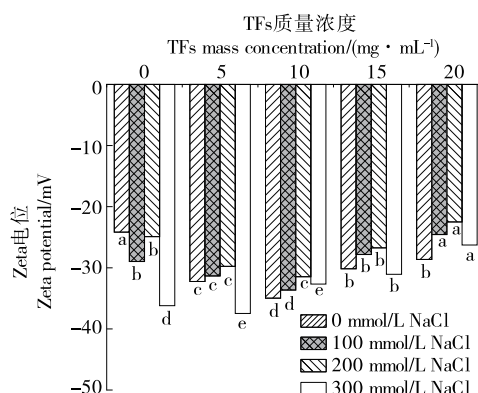
此,添加适量质量浓度(10 mg/mL)TFs的TFs-BSA复合物的乳液具有最高的WHC。

2.5.2 Pickering乳液钠离子稳定性 如图11所示,随着钠离子的加入,所有样品的粒径均显著增大。该现象的产生可归结于钠离子所引发的电荷屏蔽效应:高浓度的钠离子压缩了液滴表面双电层,中和了TFs-BSA复合物的表面负电荷,从而有效屏蔽了液滴表面的电荷,减弱了其相互间的静电排斥作用^[40-41]。在静电作用被抑制的条件下,液滴更易因布朗运动发生碰撞并聚结,导致粒径上升。在钠离子浓度的胁迫作用下,只有TFs质量浓度为10 mg/mL的TFs-BSA复合物Pickering乳液在测试期间维持了最小的粒径波动,且其Zeta电位绝对值均 >30 mV,表明由TFs-BSA复合物形成的致密界面层与凝胶网络可能提供了超越静电作用的物理屏障。

2.5.3 Pickering乳液冷藏稳定性 在4℃冷藏20 d条件下,不同TFs浓度的Pickering乳液呈现出显著的稳定性差异(图12)。与新鲜制备的乳液相比,冷藏10,20 d乳液的



(a) 粒径



(b) 电位

小写字母不同表示不同TFs质量浓度的样品间差异显著($P<0.05$)

图11 Pickering乳液的粒径和电位

Figure 11 Pickering Particle size and Zeta potential of emulsions

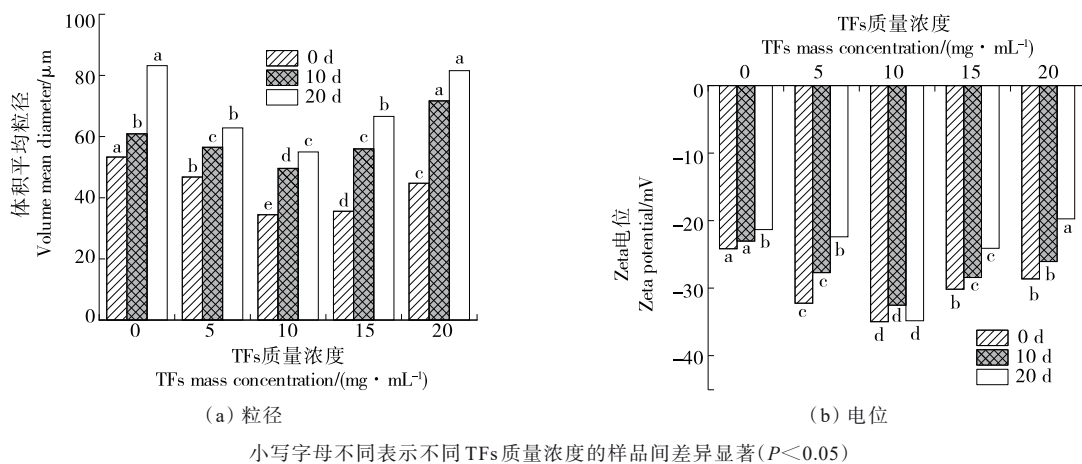


图 12 不同贮藏条件下乳液的粒径和电位
Figure 12 Particle size and Zeta potential of emulsions under different storage conditions

平均粒径均呈现增大趋势,且除 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 的样品外 Zeta 电位绝对值显著减小 ($P < 0.05$),这一现象可归因于低温条件下界面蛋白构象的转变及其相互作用的改变,二者共同作用加剧了液滴的聚结和奥斯特瓦尔德熟化。当 TFs 质量浓度为 10 mg/mL 时,乳液呈现出最优的稳定性:不仅有效抑制了液滴的粒径增长,还抑制了 Zeta 电位绝对值的降低,形成了最为稳固的体系结构。推测适量添加 TFs 能提供强大的空间位阻屏障,物理隔离液滴,并增强界面稳定性,有效抵抗油滴聚结^[42-43]。

3 结论

该研究利用茶黄素类与牛血清白蛋白形成复合物,成功构建了茶黄素类—牛血清白蛋白食品级高内相 Pickering 乳液,探究了茶黄素类质量浓度对乳液多重稳定性的影响。结果表明,茶黄素类因其独特的刚性二聚体结构及较强的疏水性,能通过疏水和氢键相互作用,与牛血清白蛋白结合,形成茶黄素类—牛血清白蛋白复合物。利用复合物构建的高内相 Pickering 乳液体系中,当茶黄素类质量浓度为 10 mg/mL 时,茶黄素类—牛血清白蛋白复合物在水相形成三维网络结构,降低了乳液粒径和 Zeta 电位,增大了乳液黏度。稳定性评估结果表明,当茶黄素类质量浓度为 10 mg/mL 时,乳液体系在离心条件下结构保持最为完好,且长期贮藏稳定性最为突出。该研究所选的茶黄素类非单体组分,更适合于食品产业应用。研究虽明确了茶黄素类质量浓度对 Pickering 乳液的相关表征和稳定性影响规律,但仅基于乳液体系,未拓展至真实食品中应用。后续需将乳液应用于功能性饮品和脂肪替代,作为脂溶性活性成分的递送体系,或替代黄油、人造奶油中的饱和脂肪,开发低脂健康食品,并分析真实食品体系中基质的相互作用,推动 Pickering 乳液的

产业化应用。

参考文献

- [1] 李丽华,周玉璠.世界红茶发展史略初探[J].福建茶叶,2019,41(4):215-217.
LI L H, ZHOU Y F. A preliminary exploration of the development history of black tea in the world[J]. Tea in Fujian, 2019, 41(4): 215-217.
- [2] BAJPAI S K, BAJPAI M, SHAH F F. Alginate dialdehyde (AD)-crosslinked casein films: synthesis, characterization and water absorption behavior[J]. Designed Monomers and Polymers, 2016, 19(5): 406-419.
- [3] BAJPAI S K, SHAH F F, BAJPAI M. Dynamic release of gentamicin sulfate (GS) from alginate dialdehyde (AD) -crosslinked casein (CAS) films for antimicrobial applications [J]. Designed Monomers and Polymers, 2017, 20(1): 18-32.
- [4] 刘逸佳,杨涛,傅志轩,等.表没食子儿茶素没食子酸酯—牛血清白蛋白—高酯果胶 Pickering 乳液构建和稳定性差异研究[J].食品与发酵工业,2025,51(14):265-272.
LIU Y J, YANG T, FU Z X, et al. Stability of epigallocatechin gallate-bovine serum albumin-high-esterified pectin Pickering emulsion[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(14): 265-272.
- [5] 余振宇. OSA 改性芋头淀粉基 Pickering 乳液运载体体系稳定机制及其特性研究[D].合肥:合肥工业大学,2020:43-44.
YU Z Y. Stabilization mechanism and characteristics of Pickering emulsion delivery system based on OSA modified taro starch[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2020: 43-44.
- [6] 王浩宇,张舒,冯玉超,等.双蛋白纳米颗粒 Pickering 乳液的构建及稳定性研究[J].中国粮油学报,2024,39(3):98-109.
WANG H Y, ZHANG S, FENG Y C, et al. Construction and stability study of Pickering emulsion with dual protein

- nanoparticles[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2024, 39(3): 98-109.
- [7] 胡杏梅. 基于牛血清白蛋白与席夫碱的组合而构建多输出分子逻辑电路[D]. 漳州: 闽南师范大学, 2023: 27.
- HU X M. Construction of multi-output molecular logic circuit based on the combination of bovine serum albumin and schiff base[D]. *Zhangzhou: Minnan Normal University*, 2023: 27.
- [8] 蔡鸿辉. 荧光探针的合成及其对金属离子和牛血清白蛋白的检测研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020: 19.
- CAI H H. Research on the synthesis of fluorescent probe and its detection of metal ions and bovine serum albumin[D]. *Nanning: Guangxi University*, 2020: 19.
- [9] TABASSUM S, AL-ASBAHY W M, AFZAL M, et al. Synthesis, characterization and interaction studies of copper based drug with human serum albumin (HSA): spectroscopic and molecular docking investigations[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2012, 114: 132-139.
- [10] 朱国飞, 滕腾, 邓斌. 分子对接模拟与光谱法研究没食子酸丙酯和牛血清白蛋白相互作用[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(18): 158-164, 191.
- ZHU G F, TENG T, DENG B. Study on the interaction between propyl gallate and bovine serum albumin using fluorescence spectroscopy and molecular docking[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(18): 158-164, 191.
- [11] SHI M, LU Y T, WU J L, et al. Beneficial effects of theaflavins on metabolic syndrome: from molecular evidence to gut microbiome[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(14): 7 595.
- [12] HAN S, CUI F Z, MCCLEMENTS D J, et al. Structural characterization and evaluation of interfacial properties of pea protein isolate-EGCG molecular complexes[J]. *Foods*, 2022, 11(18): 2 895.
- [13] ABDULLAH S M S, FATMA S, RABBANI G, et al. A spectroscopic and molecular docking approach on the binding of tinzaparin sodium with human serum albumin[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2017, 1 127: 283-288.
- [14] LIU Y J, WU Y J, ZHANG J Y, et al. Bovine serum albumin-EGCG particles increase high internal phase Pickering emulsions stability: the leading role of EGCG concentrations [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2025, 218: 117496.
- [15] 崔朋. 《红茶中茶黄素类化合物的提取与鉴定》实验综述报告[J]. *科技风*, 2022(34): 145-147.
- CUI P. Overview of a comprehensive experiment of extraction and identification of theaflavins from black tea[J]. *Technology Wind*, 2022(34): 145-147.
- [16] VU H T, SONG F V, TIAN K, et al. Systematic characterisation of the structure and radical scavenging potency of Pu'Er tea polyphenol theaflavin[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2019, 17(46): 9 942-9 950.
- [17] PHAN H T T, YODA T, CHAHAL B, et al. Structure-dependent interactions of polyphenols with a biomimetic membrane system[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1 838(10): 2 670-2 677.
- [18] 张倩洁, 王平礼, 张冬梅, 等. 天然固体颗粒稳定 Pickering 乳液的研究进展及其在化妆品中的应用[J]. *精细化工*, 2022, 39(12): 2 377-2 386, 2 397.
- ZHANG Q J, WANG P L, ZHANG D M, et al. Research progress and cosmetic applications of Pickering emulsion stabilized with natural solid particles[J]. *Fine Chemicals*, 2022, 39(12): 2 377-2 386, 2 397.
- [19] 崔凤展. 乳清分离蛋白纤维 Pickering 乳液体系的构建及其递送功能因子的应用[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2022: 32-33.
- CUI F Z. Construction of whey protein isolate fibrils Pickering emulsion and its application for delivery of functional ingredients[D]. *Xianyang: Northwest A & F University*, 2022: 32-33.
- [20] 万俊, 张孝芹, 邓博文, 等. 糖基化结合单宁酸改性对溶球态蛋清蛋白乳化特性的影响[J]. *食品与机械*, 2024, 40(11): 12-18.
- WAN J, ZHANG X Q, DENG B W, et al. Effects of glycosylation combined with tannic acid modification on the emulsification properties of molten globule egg white protein [J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(11): 12-18.
- [21] XUE F, LI C, ADHIKARI B. Physicochemical properties of soy protein isolates-cyanidin-3-galactoside conjugates produced using free radicals induced by ultrasound[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020, 64: 104990.
- [22] SKRT M, BENEDIK E, PODLIPNIK Č, et al. Interactions of different polyphenols with bovine serum albumin using fluorescence quenching and molecular docking[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(4): 2 418-2 424.
- [23] 孙冰玉, 高远, 刘琳琳, 等. 大豆亲脂蛋白-多酚互作及复合物性质研究进展[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(6): 382-389.
- SUN B Y, GAO Y, LIU L L, et al. Research progress in the interaction of soybean prolipoprotein-polyphenol and the properties of complex[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(6): 382-389.
- [24] LI Z K, WANG X H, ZHANG M, et al. The loading of epigallocatechin gallate on bovine serum albumin and pullulan-based nanoparticles as effective antioxidant[J]. *Foods*, 2022, 11(24): 4 074.
- [25] LIU H H, WANG B, BARROW C J, et al. Relating the variation of secondary structure of gelatin at fish oil-water interface to adsorption kinetics, dynamic interfacial tension and emulsion stability[J]. *Food Chemistry*, 2014, 143: 484-491.
- [26] XU J, HUANG Y, WEI Y, et al. Study on the interaction mechanism of theaflavin with whey protein: multi-spectroscopy analysis and molecular docking[J]. *Foods*, 2023,

- 12(8): 1 637.
- [27] LI X X, JIANG H T, PU Y J, et al. Inhibitory effect of condensed tannins from banana pulp on cholesterol esterase and mechanisms of interaction[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(51): 14 066-14 073.
- [28] SHI J H, PAN D Q, JIANG M, et al. Binding interaction of ramipril with bovine serum albumin (BSA): insights from multi-spectroscopy and molecular docking methods[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 2016, 164: 103-111.
- [29] ZHANG R J, CHENG L R, LUO L, et al. Formation and characterisation of high-internal-phase emulsions stabilised by high-pressure homogenised quinoa protein isolate[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021, 631: 127688.
- [30] CHEN Y, YAO M Y, PENG S, et al. Development of protein-polyphenol particles to stabilize high internal phase Pickering emulsions by polyphenols' structure[J]. *Food Chemistry*, 2023, 428: 136773.
- [31] 龚穗菁. 玉米醇溶蛋白纳米颗粒和纤维素纳米晶协同稳定的皮克林双重乳液[D]. 无锡: 江南大学, 2022: 2-3.
- GONG S Q. Pickering double emulsion synergistically stabilized by zein nanoparticles and cellulose nanocrystals[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022: 2-3.
- [32] WANG C Z, WU J H, WANG C H, et al. Advances in Pickering emulsions stabilized by protein particles: toward particle fabrication, interaction and arrangement[J]. *Food Research International*, 2022, 157: 111380.
- [33] ZHAO Q L, ZAABOUL F, LIU Y F, et al. Recent advances on protein-based Pickering high internal phase emulsions (Pickering HIPEs): fabrication, characterization, and applications[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19(4): 1 934-1 968.
- [34] KULSHRESHTHA A K, WALL O N S, WALL G M. Pharmaceutical suspensions[M]. New York: Springer, 2010: 978.
- [35] CHEN X W, FU S Y, HOU J J, et al. Zein based oil-in-glycerol emulgels enriched with β -carotene as margarine alternatives[J]. *Food Chemistry*, 2016, 211: 836-844.
- [36] VAN VLIET T. Rheological properties of filled gels. Influence of filler matrix interaction[J]. *Colloid and Polymer Science*, 1988, 266(6): 518-524.
- [37] 陶胜男. 玉米醇溶蛋白纳米粒子和淀粉纳米晶协同稳定的 Pickering 乳液[D]. 无锡: 江南大学, 2021: 61.
- TAO S N. Pickering emulsion synergistically stabilized by zein nanoparticles and starch nanocrystals[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021: 61.
- [38] BASYIGIT B, ALTUN G, YUCETEPE M, et al. Locust bean gum provides excellent mechanical and release attributes to soy protein-based natural hydrogels[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 231: 123352.
- [39] CAO M M, ZHANG X C, ZHU Y Q, et al. Enhancing the physicochemical performance of myofibrillar gels using Pickering emulsion fillers: rheology, microstructure and stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 128: 107606.
- [40] YUAN F, LI X D, DOU J Y, et al. Preparation of poly (butadiene-styrene-vinyl pyridine)/poly (acrylonitrile-butadiene) core-shell nanoparticles by intermittent seeded emulsion polymerization and their catalytic latex hydrogenation[J]. *Catalysts*, 2024, 14(4): 277.
- [41] CHENG J R, SHEN S W, YANG H G, et al. Improved physicochemical stability and bioaccessibility of astaxanthin-loaded oil-in-water emulsions by a casein-caffeic acid - glucose ternary conjugate[J]. *Food Research International*, 2023, 163: 112153.
- [42] GAO W, WU T, CHENG Y M, et al. Highly water-resistant paper via infiltration with polymeric microspheres from nanocellulose-stabilized plant oil-derived monomer[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 267: 131539.
- [43] WANG L C, CHENG X Y, LAN H Y, et al. Development and characterization of novel ultra stable high internal phase Pickering emulsions gel: interface structure, stabilization mechanism, and applications[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 151: 109817.