

大豆分离蛋白-茶皂素复合乳化剂 制备山茶油纳米乳液及其性质研究

孙亚欣^{1,2}, 郑晓燕^{2,3}, 郑丽丽^{2,3}, 杨 旻^{2,3}, 校 导^{2,3}, 艾斌凌^{2,3}, 张伟敏^{1,*}, 盛占武^{2,3,*}

(1.海南大学食品科学与工程学院, 海南海口 570228;

2.中国热带农业科学院海口实验站, 海南海口 570102;

3.海口市香蕉生物学重点实验室, 海南海口 570102)

摘 要:为提高山茶油稳定性、减少化学合成乳化剂使用量,本研究主要采用微射流高压均质技术,利用大豆分离蛋白(Soy Protein Isolate, SPI)与茶皂素(Tea Saponin, TS)作为复合乳化剂制备山茶油纳米乳液。研究了茶皂素与大豆分离蛋白比例、复合乳化剂质量分数、山茶油质量分数、均质压力对山茶油纳米乳液的平均粒径、多分散性指数(Polydispersity Index, PDI)、 ζ -电位、浊度等性质的影响。结果表明,山茶油纳米乳液的最佳制备工艺参数为:茶皂素与大豆分离蛋白比例为2:1,复合乳化剂质量分数为3%,山茶油质量分数为10%,均质压力为100 MPa,得到山茶油纳米乳液的平均粒径为 (198.800 ± 1.558) nm, PDI为 (0.140 ± 0.017) , ζ -电位为 (-53.600 ± 0.497) mV, 浊度为 (3661.224 ± 45.996) cm^{-1} 。透射电镜观测结果表明,山茶油被包埋于复合乳化剂中且均匀分布在乳液体系中。流变特性研究表明,山茶油纳米乳液具有良好的动力学稳定性。储存稳定性表明,复合乳化剂稳定的山茶油纳米乳液在4、25、50 $^{\circ}\text{C}$ 下具有良好的储藏稳定性。

关键词:大豆分离蛋白, 茶皂素, 复合乳化剂, 山茶油, 纳米乳液, 稳定性

Preparation of Camellia Oil Nanoemulsion by Soy Protein Isolate-Tea Saponin Compound Emulsifier and Properties of Nanoemulsion

SUN Ya-xin^{1,2}, ZHENG Xiao-yan^{2,3}, ZHENG Li-li^{2,3}, YANG Yang^{2,3},

XIAO Dao^{2,3}, AI Bin-ling^{2,3}, ZHANG Wei-min^{1,*}, SHENG Zhan-wu^{2,3,*}

(1.College of Food Science and Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China;

2.Haikou Experimental Station, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 570102, China;

3.Haikou Key Laboratory of Banana Biology, Haikou 570102, China)

Abstract: In order to improve the stability of camellia oil and reduce the use of chemical synthesis emulsifier, this study mainly adopted high-pressure microjet homogenization technology to prepare camellia oil nanoemulsion using soybean protein isolate (SPI) and tea saponin (TS) as compound emulsifier. The ratio of tea saponin to soy protein isolate, the concentration of complex emulsifier and camellia oil, and the homogenization pressure were studied. The results showed that the optimal preparation parameters of camellia oil nanoemulsion were as follows: The ratio of tea saponin to soybean protein isolate was 2:1, the mass fraction of compound emulsifier was 3%, the mass fraction of camellia oil was 10%, and the homogenization pressure was 100 MPa. The mean particle size of the nanoemulsion of camellia oil was (198.800 ± 1.558) nm, PDI was (0.140 ± 0.017) , ζ -potential was (-53.600 ± 0.497) mV and the turbidity was (3661.224 ± 45.996) cm^{-1} . It was observed by transmission electron microscopy that camellia oil was embedded in the composite emulsifier and evenly distributed in the emulsion system. The rheological properties of the camellia oil nanoemulsion showed good kinetic stability. The storage stability showed that the compound emulsifier-stabilized camellia oil nanoemulsion had good storage stability at 4, 25, and 50 $^{\circ}\text{C}$.

Key words: soy protein isolate; tea saponin; compound emulsifier; camellia oil; nanoemulsion; stability

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)22-0027-09

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020020138

引文格式: 孙亚欣, 郑晓燕, 郑丽丽, 等. 大豆分离蛋白-茶皂素复合乳化剂制备山茶油纳米乳液及其性质研究[J]. 食品

收稿日期: 2020-02-16

作者简介: 孙亚欣(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: wysunyxin@163.com。

* 通信作者: 张伟敏(1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 热带特色食物资源开发与综合利用, E-mail: zhwm1979@163.com。

盛占武(1981-), 男, 博士, 青年研究员, 研究方向: 农产品加工, E-mail: shengzhanwu100@163.com。

基金项目: 海南省重大科技计划项目(ZDKJ2017004); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(17CXTD-05, 1630092019001)。

工业科技,2020,41(22):27-34,42.

SUN Ya-xin, ZHENG Xiao-yan, ZHENG Li-li, et al. Preparation of Camellia Oil Nanoemulsion by Soy Protein Isolate-Tea Saponin Compound Emulsifier and Properties of Nanoemulsion[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(22): 27-34, 42. (in Chinese with English abstract) <http://www.spjgkj.com>

山茶油(Camellia Oil)又名茶油、油茶籽油,与橄榄油的脂肪酸组成相似,素有“东方橄榄油”的美誉^[1]。联合国粮农组织已将山茶油作为一种健康型高级食用植物油^[2]。大量研究发现,山茶油所含不饱和脂肪酸高达80%以上,主要为油酸,其含量占60%以上^[3-5]。此外,山茶油富含维生素E、植物甾醇和角鲨烯等多种有益于人体健康的生物活性成分^[5-7],具有降血脂、预防高血压和血管硬化、抗癌^[8]以及调节肠道致病菌群^[9]等作用,有较高的医用价值。因此,山茶油受到许多消费者的青睐,应用也非常广泛。然而,山茶油因含80%以上的不饱和脂肪酸,极易受环境中的空气、光照和水的影响而发生氧化酸败并产生醛酮类等有害物质,使得山茶油的产品形式和推广应用受到极大限制^[10-11]。

纳米乳液能够较好地载运和保护脂溶性活性成分(如多不饱和脂肪酸、 β -胡萝卜素、维生素E等),具有较高的生物利用度和环境耐受性^[12]。由于纳米乳液具有粒度小、尺度均一、稳定性好、黏度低等优点,目前在食品乳液领域显示出广泛的应用前景^[13-14]。在制备乳液的过程中,有时会使用一些小分子表面活性剂(如吐温^[15]、司盘^[16]等)作为乳化剂,但这种化学合成表面活性剂存在一定的安全隐患。吴懿等^[17]研究表明,吐温80对Caco-2细胞表现出一定毒性作用,其毒性效应具有浓度依赖的特征,细胞毒性随浓度的增加而增强。为了避免化学合成表面活性剂使用时带来的潜在毒性,探究新的天然生物分子作为乳化剂越来越重要。

大豆分离蛋白(Soy Protein Isolate, SPI)是一种廉价易得的优质植物蛋白质。由于其具有两亲性、乳化性等特性,因此非常适用于稳定油-水界面以制备水包油型纳米乳液^[18-19]。但是单独使用蛋白质包被的纳米乳液具有较差的环境稳定性(如pH等),研究通常将大豆分离蛋白和其它乳化剂复配使用(如卵磷脂^[20]、甜菊糖苷^[21]等)。为了解决单独使用大豆分离蛋白制备乳液环境稳定性差的问题,本研究考虑将其与茶皂素进行复合使用。茶皂素(Tea Saponin, TS),又称茶皂苷,是一类从油茶籽饼中提取的五环三萜类糖苷化合物的总称^[22]。茶皂素是一种天然非离子型表面活性剂,具有良好的发泡、稳泡、分散、乳化等功能,还具有抗菌消炎等医用价值^[23]。研究表明,茶皂素是一种有效的表面活性剂,可用于商业产品^[24]。茶皂素的主要来源是油茶饼粕,拓展茶皂素的应用范围对于油茶饼粕的开发利用也具有重要意义。

因此,本研究将大豆分离蛋白和茶皂素作为复合乳化剂制备山茶油纳米乳液,既可避免化学合成表面活性剂可能带来的潜在毒性,又可提高山茶油的稳定性、扩大其使用范围,同时也为新型的复合乳化剂制备提供借鉴。本研究使用SPI-TS作为复合

天然乳化剂,通过高压均质乳化技术制备山茶油纳米乳液,使山茶油均匀的分布于纳米液滴中,以提高其稳定性及吸收利用率。同时对复配比例、乳化剂添加量、山茶油质量分数、均质压力等因素进行优化,为制备均一、稳定的山茶油纳米乳液,提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大豆分离蛋白 纯度98%,河南万邦实业有限公司;茶皂素 纯度65%,上海源叶生物有限公司;山茶油,海南新美特科技有限公司;磷酸氢二钠 磷酸二氢钠,西陇化工股份有限公司;其它试剂均为分析纯。

Nano-ZS90 粒度分析仪 英国马尔文公司;C25 高速剪切分散均质乳化机 上海恒川机械设备有限公司;AMH-3 高压微射流纳米均质机 加拿大ATS Engineering Limited 公司;S210 型实验室 pH 计、AL-104型精密电子天平 上海梅特勒-托利多仪器设备有限公司;Evolution 300 型紫外-可见分光光度计 美国 Thermo Fisher Scientific 公司;HT-7700 型透射电镜 日本日立公司;Discovery HR-2 流变仪 美国 TA 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 大豆分离蛋白-茶皂素山茶油纳米乳液的制备 将一定比例的大豆分离蛋白和茶皂素溶于磷酸盐缓冲液(0.04 mol/L、pH7.0)中,室温(25℃)下连续搅拌2 h,为了确保溶液完全溶解和水合,将其放置于4℃冰箱内过夜,作为水相;之后把山茶油按比例加到水相中,用高速分散器以10000 r/min 均质2 min,形成粗乳液。将粗乳液通过高压均质机进一步均质乳化即得大豆分离蛋白-茶皂素山茶油纳米乳液。

1.2.2 制备山茶油纳米乳液影响因素分析 对不同的茶皂素与大豆分离蛋白的比例、复合乳化剂质量分数、山茶油质量分数、均质压力对纳米乳液性质的影响进行分析,通过测定山茶油纳米乳液的平均粒径、多分散性指数(Polydispersity Index, PDI)、 ζ -电位、浊度确定制备大豆分离蛋白-茶皂素山茶油纳米乳液的最优条件。

1.2.2.1 茶皂素与大豆分离蛋白比例的确定 分别将茶皂素与大豆分离蛋白的比例为1:4、1:2、1:1、2:1、4:1、6:1,质量分数为3%的复合乳化剂溶于磷酸盐缓冲液(0.04 mol/L、pH7.0)中,室温下连续搅拌2 h,放入4℃冰箱过夜,作为水相。取出后缓慢加入相对于水相质量分数为10%的山茶油,制备粗乳液。设置高压均质机均质压力为100 MPa,均质次数为7次,测定山茶油纳米乳液的平均粒径、PDI、 ζ -电位和浊度。

1.2.2.2 复合乳化剂质量分数的确定 分别将茶皂素与大豆分离蛋白的比例为 2:1、质量分数分别为 1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%、3.5% 的复合乳化剂溶于磷酸盐缓冲液(0.04 mol/L、pH7.0)中,室温下连续搅拌 2 h,放入 4 ℃ 冰箱过夜,作为水相。取出后缓慢加入相对于水相 10% 的山茶油,制备粗乳液。设置高压均质机均质压力为 100 MPa,均质次数为 7 次,测定山茶油纳米乳液的平均粒径、PDI、 ζ -电位和浊度。

1.2.2.3 山茶油质量分数的确定 将茶皂素与大豆分离蛋白的比例为 2:1、质量分数为 3% 的复合乳化剂溶于磷酸盐缓冲液(0.04 mol/L、pH7.0)中,室温下连续搅拌 2 h,放入 4 ℃ 冰箱过夜,作为水相。取出后分别加入相对于水相 5%、10%、15%、20%、25%、30% 的山茶油,制备粗乳液。设置高压均质机均质压力为 100 MPa,均质次数为 7 次,测定山茶油纳米乳液的平均粒径、PDI、 ζ -电位和浊度。

1.2.2.4 均质压力的确定 将茶皂素与大豆分离蛋白的比例为 2:1、质量分数为 3% 的复合乳化剂溶于磷酸盐缓冲液(0.04 mol/L、pH7.0)中,室温下连续搅拌 2 h,放入 4 ℃ 冰箱过夜,作为水相。取出后缓慢加入相对于水相 10% 的山茶油,制备粗乳液。设置高压均质机均质压力为 20、40、60、80、100、120 MPa,均质次数为 7 次,测定山茶油纳米乳液的平均粒径、PDI、 ζ -电位和浊度。

1.2.3 山茶油纳米乳液的平均粒径、PDI 及 ζ -电位的测定 用 Zetasizer Nano-ZS90 型光散射粒度分析仪分别测定上述山茶油纳米乳液的平均粒径、多分散指数(PDI)及 ζ -电位变化,山茶油油滴的折射率设置为 1.45,水相溶液折射率设置为 1.33。为了降低多重光散射效应,分析前用 pH7.0、0.04 mol/L 的磷酸盐缓冲液将山茶油纳米乳液稀释 100 倍后测平均粒径、PDI 和 ζ -电位。

1.2.4 山茶油纳米乳液浊度的测定 将山茶油纳米乳液用 pH7.0、0.04 mol/L 的磷酸盐缓冲液稀释 40 倍,以磷酸盐缓冲液为空白对照,用紫外分光光度计测定 600 nm 处的吸光度,浊度计算公式为^[25]:

$$T = 1.302 \times \frac{AV}{I}$$

式中:A-稀释乳液在 600 nm 处的吸光度;V-稀释倍数;I-光程差,取 0.01 m。

1.2.5 山茶油纳米乳液流变特性的测定 采用 DHR-2 型流变仪检测山茶油纳米乳液的流变学特性,选择直径 60 mm 的锥形板,并控制板间距为 50 μ m。将 1 mL 山茶油纳米乳液置于平板上,剪切速率 0.01 ~ 1000 s^{-1} ,温度 25 ℃,记录相应剪切速率下的黏度值并获得流变曲线。

1.2.6 山茶油纳米乳液的透射电子显微镜 (Transmission electron microscope, TEM) 测定 将山茶油纳米乳液样品用蒸馏水稀释 20 倍后,滴加在覆盖有碳膜的铜网上,用 2% (w/v) 磷钨酸溶液进行染色处理,用滤纸除去多余的水,并将样品放置在室温下干燥,通过透射电镜(加速电压为 100 kV,放大倍数为 $\times 6.0k$ 倍)观察纳米乳液的形态并拍照。

1.2.7 山茶油纳米乳液的储藏稳定性 将最优条件下制备的山茶油纳米乳液分别放置于 4、25、50 ℃ 的温度环境下密封储藏,每隔 7 d 测量乳液的平均粒径、PDI 和 ζ -电位,观察纳米乳液的形态并拍照。

1.3 数据处理

数据均是 3 次重复实验取平均值,用 SPSS Statistics 22 对数据进行 ANOVA 差异显著性分析, $P < 0.05$ 为显著性差异,用 Origin 8.5 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同茶皂素与大豆分离蛋白的比例对乳液性质的影响

不同茶皂素与大豆分离蛋白的比例对山茶油纳米乳液平均粒径、多分散指数(PDI)、 ζ -电位、浊度的影响如图 1 所示。随着 TS:SPI 比例升高,即茶皂素用量增加,纳米乳液的平均粒径不断减小(图 1a)。当 TS:SPI 比例从 1:4 增加到 2:1 时,平均粒径从约 273 nm 减小到 194 nm,之后保持相对恒定,这一结果与 Xu 等^[26]的研究一致。混合乳化剂在乳液中的作用性质可分为以下情况:一是两种乳化剂可能在水相中形成复合物分子吸附到油滴表面^[27];二是两种乳化剂在油-水界面形成混合层,较小的乳化剂分子填充到较大的乳化剂分子间的缝隙中^[28]。从图 1a 和图 1d 结果可看出,与单独使用大豆分离蛋白相比,茶皂素的加入明显降低了乳液的平均粒径、PDI 和粒度分布范围。PDI 表征分散体系中粒径分布情况,PDI 值越小,说明乳液体系的粒径分布范围越小,液滴分散性越好,体系越稳定^[29]。而与单独使用茶皂素作为乳化剂制备的纳米乳液相比,当 TS:SPI 的比例逐渐达到 2:1 时,两者的平均粒径和粒度分布范围并没有显著性差异。图 1b 电位图显示随着 TS:SPI 比例增加, ζ -电位呈上升趋势。随着 TS:SPI 比例从 1:4 增加到 6:1, ξ -电位值从 -50.9 变为 -58.3 mV,这可能是由于 TS 迫使 SPI 从液滴表面移位,亦或者 TS 可能优先 SPI 存在于界面层的外部^[27-28]。

由图 1b 看出,复合乳化剂制备的山茶油纳米乳液的 ζ -电位绝对值明显高于单独使用大豆分离蛋白作为乳化剂的 ζ -电位绝对值(47 mV)。而 ζ -电位绝对值越大,乳液越稳定,这说明复合乳化剂制备的乳液稳定性更高。单独使用茶皂素作为乳化剂制备的乳液 ζ -电位绝对值高于复合乳液,可能是因为相同乳化剂添加量(3%)下 TS 乳液中皂苷小分子数量更多,或无蛋白质大分子的存在,皂苷小分子能迅速的分布在液滴表面,界面层形成更加密集的电荷分布^[26-28]。乳液的浊度也可以衡量乳液的粒径和稳定性,乳液的浊度越大则表明较大粒径的液滴分布越多,随着 TS:SPI 比例从 1:4 增加到 2:1,乳液浊度发生明显降低,从图 1d 粒度分布图中也可看出,乳液平均粒径向粒径小的方向移动。综上所述,选择 TS:SPI 比例为 2:1 作为制备山茶油纳米乳液的条件。

2.2 复合乳化剂质量分数对乳液性质的影响

复合乳化剂质量分数对山茶油纳米乳液平均粒径、PDI、 ζ -电位、浊度的影响如图 2 所示。从图 2a 和图 2d 可以看出,不同质量分数的复合乳化剂对山

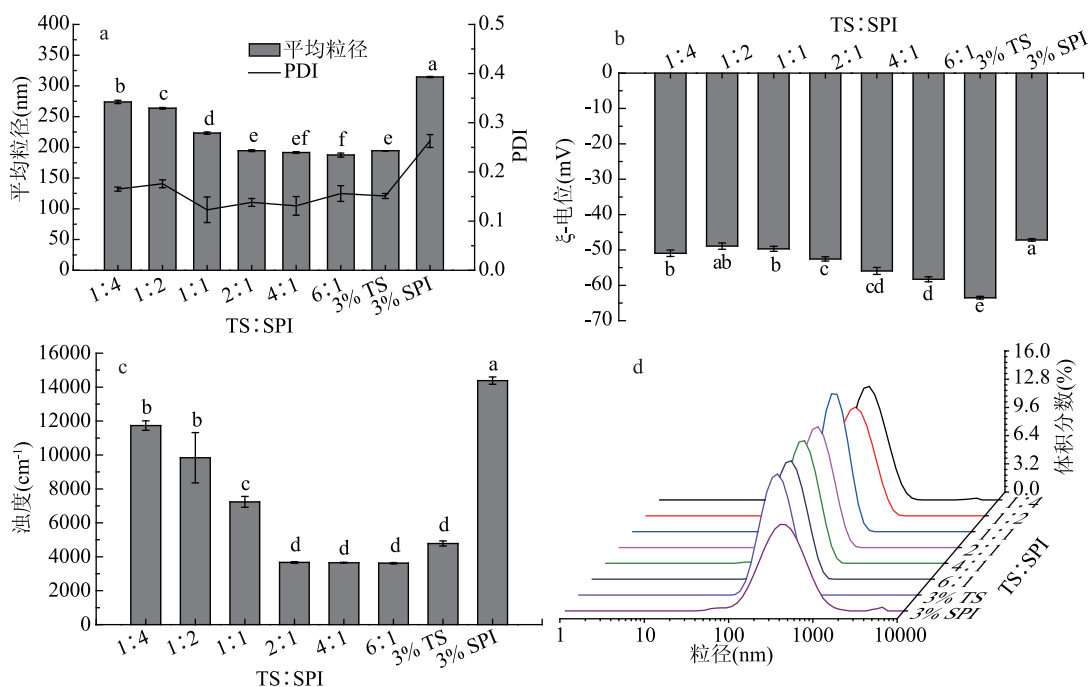


图1 茶皂素与大豆分离蛋白的比例对乳液平均粒径、PDI(a)、 ζ -电位(b)、浊度(c)、粒度分布(d)的影响

Fig.1 Effect of the ratio of tea saponin to soy protein isolate on mean particle size,

PDI(a), ζ -potential(b), turbidity(c), particle size distribution(d)

注:图中小写字母代表乳液的显著差异性, $P < 0.05$ 为显著性差异,图2~图4同。

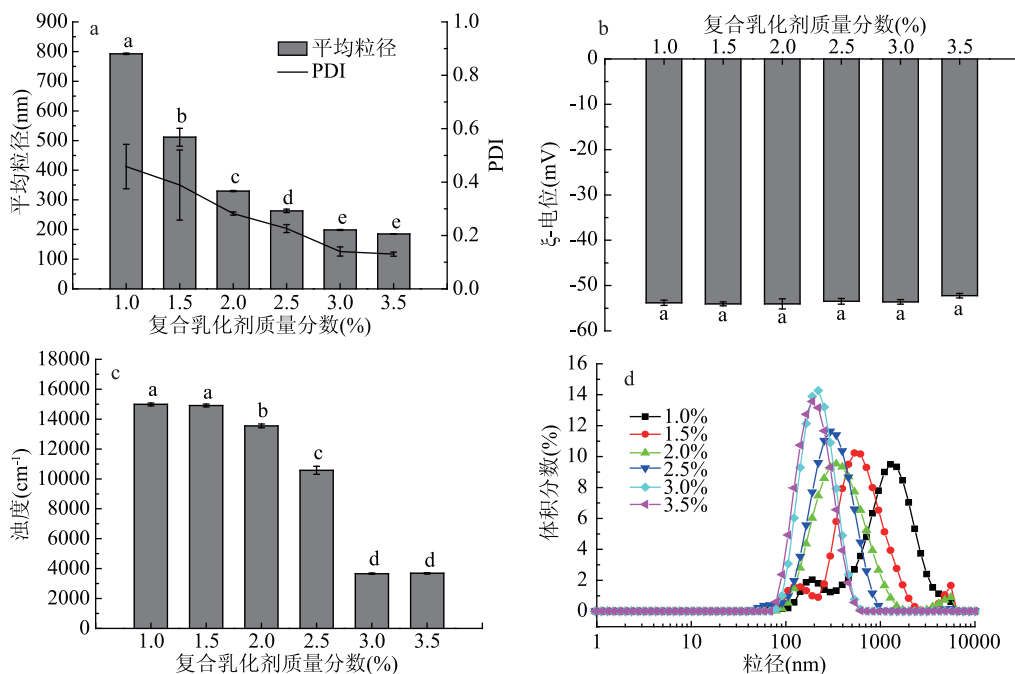


图2 复合乳化剂质量分数对乳液平均粒径、PDI(a)、 ζ -电位(b)、浊度(c)、粒度分布(d)的影响

Fig.2 Effect of concentrations of composite emulsifier on mean particle size,

PDI(a), ζ -potential(b), turbidity(c) and particle size distribution(d)

茶油纳米乳液的平均粒径、PDI、粒度分布产生显著影响($P < 0.05$)。

当复合乳化剂添加量增加时,纳米乳液的平均粒径和 PDI 值显著($P < 0.05$)下降。如复合乳化剂质量分数由 1% 增加至 3% 时,平均粒径从 792.6 nm 降低至 198.8 nm, PDI 值由 0.458 降低至 0.140, 发生显著($P < 0.05$)变化。这可能是由于乳化剂质量分

数较小时,乳化剂不足以覆盖在所有油滴表面,而未被包埋的油滴之间发生了聚集,形成更大的油滴。这一结果与 Tcholakova 等^[30]研究结果相似,即在固定的油量下,乳液液滴的大小在很大程度上受到乳化剂浓度水平的影响。由图 2d 也可以看出,山茶油纳米乳液的粒度分布随着复合乳化剂质量分数的增加,粒度分布范围变窄,由双峰向单峰转变,且粒度

分布不断向粒径小的方向移动,说明大豆分离蛋白-茶皂素复合的乳化剂能够对山茶油进行很好的包埋。当复合乳化剂的质量分数达到3%之后,继续增加复合乳化剂的质量分数,乳液平均粒径和PDI等变化均不显著,说明乳化剂质量分数在3%时,能在油滴表面形成紧密的界面膜。这与 Xu 等^[26]研究结果一致,其研究表明,水解大米谷蛋白和皂树皂苷复配制备的纳米乳液,在复合乳化剂比例恒定,乳化剂质量分数处于高水平时,平均粒径会保持相对恒定,是因为乳化剂足以覆盖所有油滴表面。此时,液滴尺寸主要取决于不同均质条件下其机械作用和所用的操作压力。

从图2b看出,山茶油纳米乳液具有较强的 ζ -电位值。有研究表明,乳液液滴上的负表面电位是吸附了皂苷分子上的羧酸基团所致^[31-33],而从本研究结果可以看出,添加小分子表面活性剂茶皂素能够显著($P < 0.05$)增强乳液的 ζ -电位值。随着复合乳化剂添加量增加, ζ -电位绝对值增加至54 mV后趋于平衡。研究发现,当体系中的油量固定时,乳液粒径是影响浊度的主要因素,乳液平均粒径越大,体系浊度越高,浊度与粒径变化结果保持一致^[34]。由图2c可看出,复合乳化剂质量分数为3%时,乳液浊度最低。综上原因分析,复合乳化剂质量分数3%是制备山茶油纳米乳液的最佳选择。

2.3 山茶油质量分数对乳液性质的影响

山茶油质量分数对纳米乳液平均粒径、PDI、 ζ -电位、浊度的影响如图3所示。平均粒径是衡量乳液是否为纳米乳液的关键指标。当山茶油质量分数从5%增加至10%时,平均粒径和分散指数(PDI)并未发生明显变化,此时山茶油纳米乳液的平均粒径保持在200 nm左右,PDI保持在0.15以内。当山茶油质量分数增加至15%时,此时平均粒径及

PDI显著($P < 0.05$)增加,并且随着山茶油质量分数的继续增加,平均粒径及PDI也逐渐增大,当山茶油质量分数增至30%时,此时纳米乳液的平均粒径为375.17 nm,PDI为0.630。

从图3d粒度分布图可以看出,当山茶油质量分数为25%和30%时,出现了明显的“双峰”,说明过量的山茶油不能被乳化剂很好地包埋,油滴极易发生聚集,从而引起乳液粒径增加,发生奥氏熟化现象^[35],不利于乳液的稳定。当山茶油质量分数为20%时,粒度分布过宽,PDI值较大,也不利于乳液的稳定。当山茶油质量分数为5%和10%时,粒度分布最窄,乳液粒径最小,乳液最稳定。 ζ -电位用于表征油滴之间的静电斥力,当 ζ -电位绝对值小于30 mV时,乳液的稳定性较弱, ζ -电位绝对值大于30 mV时,乳液的稳定性较强^[36]。从图3b中可以看到, ζ -电位绝对值随着山茶油添加量的增加呈减小的趋势,质量分数为10%的时候 ζ -电位绝对值最大,这表明高油量不利于乳液的稳定。在较低的 ζ -电位下,分散油滴之间的空间排斥可能不足以克服液滴和能量位垒之间的分子间吸引力(即范德华力和疏水吸引力)^[37]。从图3c可以看出,乳液的浊度在山茶油质量分数为10%时最小,且随着油量继续增加浊度也随之增加。综合各指标结果,为确保纳米乳液的稳定性,选择山茶油质量分数为10%。

2.4 均质压力对乳液性质的影响

均质压力对山茶油纳米乳液平均粒径、PDI、 ζ -电位、浊度的影响如图4所示。由图4结果可知,微射流均质压力对纳米乳液的制备具有重要影响,主要是由于高压均质过程中会产生强大的机械作用力,如剪切力、撞击力、空穴作用^[19]。图4a和图4d结果显示,随着均质压力的增加,山茶油纳米乳液的

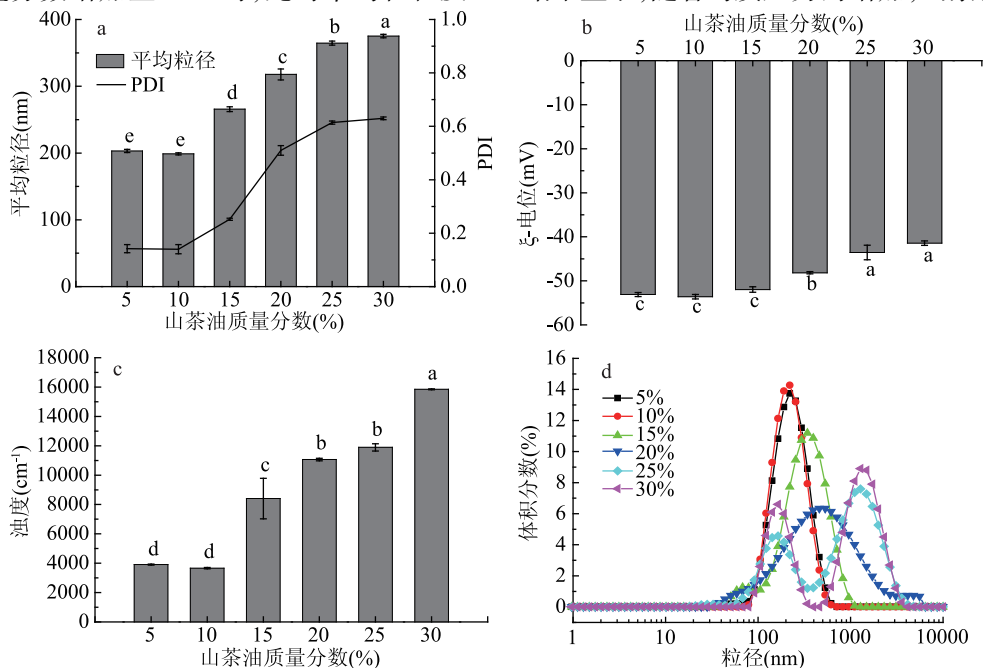


图3 山茶油质量分数对乳液平均粒径、PDI(a)、 ζ -电位(b)、浊度(c)、粒度分布(d)的影响

Fig.3 Effect of concentrations of camellia oil on mean particle size, PDI(a), ζ -potential(b), turbidity(c) and particle size distribution(d)

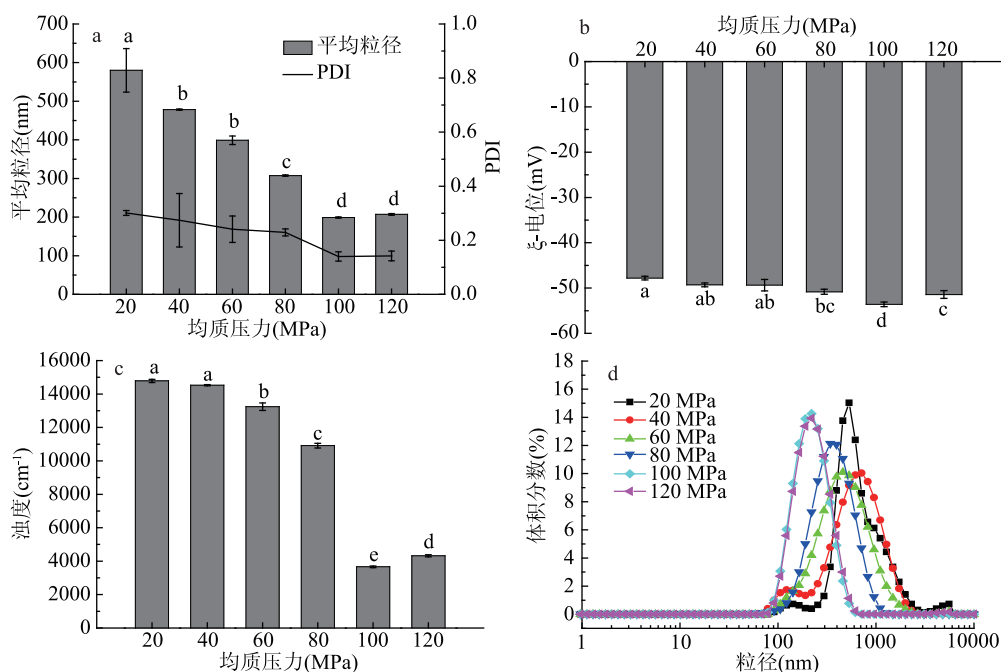


图4 均质压力对乳液平均粒径、PDI(a)、 ζ -电位(b)、浊度(c)、粒度分布(d)的影响

Fig.4 Effects of homogenization pressure on mean particle size, PDI(a), ζ -potential(b), turbidity(c), particle size distribution(d)

粒径呈减小趋势,粒度分布也越来越窄,并且粒度范围向粒径小的方向移动。在本研究中,乳液的平均粒径随着压力的增加而不断降低,当均质压力为100 MPa时,乳液的平均粒径及PDI值达到最小值,此时的乳液稳定性最好。

研究表明均质压力过高、乳液的液滴过小,会导致颗粒之间的布朗运动速率加快、相互碰撞的次数增加,这将会破坏油水之间的界面膜而导致乳液发生聚集^[38]。另外,当油滴过小时,油滴的比表面积增大,所需的乳化剂数量也就越多,若乳化剂数量不足以覆盖在油滴表面,油滴就易发生聚集且乳液粒径增大。此外,高压会导致蛋白质变性,变性的蛋白质分子相互作用形成聚集体,从而引起乳液发生不稳定聚集^[39]。从图4b可以看出, ζ -电位绝对值随着压力的升高略有增加,在压力为100 MPa时, ζ -电位绝对值最大。图4c可看出,浊度随着压力的增加,逐渐降低,和粒径变化规律一致。当压力为20 MPa时,乳液的浊度最大,当压力为100 MPa时,乳液浊度最小。综上分析,为保证乳液的稳定,选择100 MPa作为制备山茶油纳米乳液的最佳均质压力。

2.5 纳米乳液流变特性研究

乳液的流变特性与其内部体系密切相关,反映乳液的微观结构性质。食品和饮料产品中的乳液体系,大都具有剪切变性的行为,包括剪切变稀(假塑性)和剪切增稠(胀塑性)^[14]。纳米乳液体系的黏度变化曲线在一定程度上可以反映乳液的动力学稳定性。图5是山茶油纳米乳液在剪切速率0.01~1000 s⁻¹下的黏度变化曲线,由结果可以看出乳液的黏度很小,属于低黏度体系^[40]。且随着剪切速率的增大,乳液的黏度呈逐渐降低趋势,在较小的剪切速率(0~100 s⁻¹)时,山茶油纳米乳液的黏度急剧下降,此为剪切变稀的特征,其原因可能是由于絮凝态的油滴在剪切过程中发

生互相分离^[41]。当剪切速率继续增加时,山茶油纳米乳液的黏度并未发生明显变化,可能是因为乳液体系形成与瓦解絮体的速率保持恒定,絮体具有相对稳定的状态^[42]。本研究结果从流变学特性方面说明高压均质制备的山茶油纳米乳液的动力学稳定性良好。

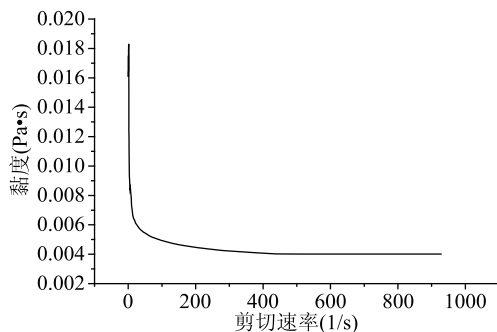


图5 山茶油纳米乳液的流变特性

Fig.5 Rheological property of camellia oil nanoemulsion

2.6 纳米乳液透射电镜(TEM)

图6为山茶油纳米乳液的透射电镜图。从图6中可直观地看出,乳液液滴分散均匀,成型性好,小液滴数量多。大豆分离蛋白-茶皂素复合乳化剂在高压均质作用下能够很好的包埋山茶油,形成许多小粒径乳滴,纳米乳液的粒径小,可防止液滴之间的絮凝和聚集,越有利于乳液体系的稳定性。

2.7 纳米乳液的储藏稳定性

从食品工业的角度来看,在大多数实际应用中,确定基于纳米乳液递送系统的产品货架期是必要的。表1是山茶油纳米乳液在不同温度下的储藏稳定性,通过表1可知,在4、25、50℃下储藏28 d后,SPI-TS复合乳化剂稳定的山茶油纳米乳液的平均粒径、PDI、 ζ -电位并未发生明显的变化。通过表1还可知,与在25和50℃温度下储存的纳米乳液相比,

表1 储存温度对山茶油纳米乳液稳定性的影响
Table 1 Effect of storage temperature on the stability of camellia oil nanoemulsion

测定指标	温度(℃)	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
平均粒径 (nm)	4	198.800 ± 1.558 ^b	204.567 ± 1.922 ^a	205.100 ± 2.736 ^a	207.433 ± 1.040 ^a	209.033 ± 0.094 ^a
	25	198.800 ± 1.558 ^c	208.333 ± 2.125 ^d	216.600 ± 1.152 ^c	222.633 ± 2.380 ^b	229.967 ± 0.680 ^a
	50	198.800 ± 1.558 ^b	206.267 ± 2.598 ^{ab}	207.133 ± 3.492 ^a	206.800 ± 1.499 ^{ab}	211.733 ± 2.829 ^a
PDI	4	0.140 ± 0.017 ^a	0.147 ± 0.001 ^a	0.148 ± 0.004 ^a	0.157 ± 0.005 ^a	0.161 ± 0.002 ^a
	25	0.140 ± 0.017 ^b	0.141 ± 0.005 ^b	0.154 ± 0.010 ^{ab}	0.163 ± 0.004 ^{ab}	0.177 ± 0.002 ^a
	50	0.140 ± 0.017 ^a	0.157 ± 0.003 ^a	0.155 ± 0.003 ^a	0.160 ± 0.031 ^a	0.166 ± 0.016 ^a
ξ-电位 (mV)	4	-53.600 ± 0.497 ^b	-51.200 ± 0.990 ^a	-51.267 ± 0.759 ^a	-50.733 ± 0.694 ^a	-50.833 ± 0.450 ^a
	25	-53.600 ± 0.497 ^c	-51.167 ± 0.205 ^b	-50.333 ± 0.865 ^{ab}	-49.567 ± 0.094 ^{ab}	-49.000 ± 0.455 ^a
	50	-53.600 ± 0.497 ^c	-51.900 ± 0.535 ^{bc}	-50.367 ± 0.741 ^b	-50.667 ± 0.386 ^b	-48.100 ± 0.374 ^a

注:所有样品均重复实验3次取平均值,同一行数据后不同字母表示数据的显著性差异, $P < 0.05$ 。

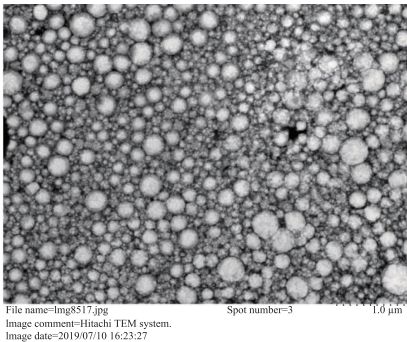


图6 山茶油纳米乳液的透射电子显微镜图

Fig.6 TEM pictures of camellia oil nanoemulsion

在4℃温度下储存的纳米乳液略显优势。

对最优制备条件下的山茶油纳米乳液进行了形态观察,并与相同制备条件下制备的TS纳米乳液和SPI纳米乳液进行了比较。从图7中可以看出,在4℃储存条件下的3种纳米乳液形态稳定,在60 d内没有发生明显变化,没有出现絮凝或分层现象。在25℃储存条件下,单独使用SPI稳定的纳米乳液在14 d后出现了絮凝,乳液开始出现凝结变稠的现象。而其它两种乳液未发生此现象。从图7中可知,在50℃储存条件下,由SPI稳定的乳液在第14 d已经出现了凝结变稠的现象,且在第21 d时出现了结块分层现象。而其它两种乳液在21 d内并未出现明显变化,但在储存60 d后,稍微出现分层现象但并未发生凝结变稠,且单独使用TS稳定的乳液分层现象略明显于复合乳化剂稳定的乳液。有研究表明,在长期高温储存期间由于布朗运动增加,乳液液滴发生碰撞的机率更大,次数更多,从而导致乳滴发生絮凝现象^[43]。

综上所述,由表1和图7可知,SPI-TS复合乳化剂稳定的山茶油纳米乳液在4、25和50℃储存条件下更加稳定且至少能够稳定存在28 d左右。

3 讨论与结论

基于纳米乳液运载体系在商业环境中的应用问题(如不同pH、离子浓度、储藏条件等)及为改善大豆分离蛋白的乳化作用,本研究将其与茶皂素作为复合乳化剂,以改善单独使用大豆分离蛋白制备的乳液环境耐受力差的缺陷。后续对复合乳化剂和

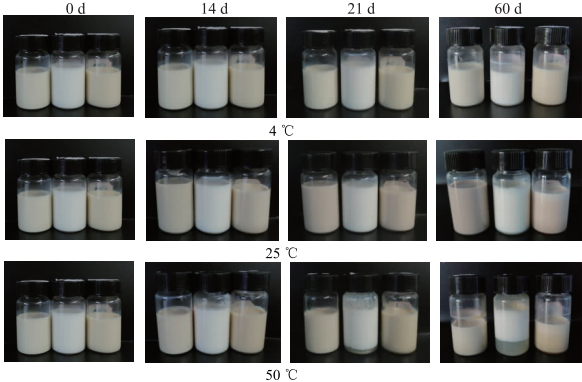


图7 山茶油纳米乳液在不同储存温度条件下的图片

Fig.7 Pictures of camellia oil nanoemulsion

under different storage temperature conditions

注;每张图片从左到右依次是

SPI-TS、SPI、TS稳定的山茶油纳米乳液。

SPI乳化剂制备的山茶油纳米乳液的稳定性进行比较研究。本研究对大豆分离蛋白(SPI)-茶皂素(TS)复合物作为乳化剂制备山茶油纳米乳液进行了工艺优化,将大豆分离蛋白和茶皂素复合乳化剂的比例、复合乳化剂质量分数、山茶油质量分数、均质压力作为考察因素,研究它们对乳液的平均粒径、PDI、ξ-电位、浊度等指标的影响,最终得到复合物比例(TS:SPI)为2:1、复合乳化剂添加量为3%、山茶油添加量为10%、均质压力为100 MPa为最佳制备条件。在此条件下得到的乳液平均粒径为198.800 ± 1.558 nm,稳定性好。并通过透射电子显微镜(TEM)验证了山茶油纳米乳液以小液滴的状态均匀分散在乳液体系中,同时流变学特性结果说明了山茶油纳米乳液具有良好的动力学稳定性。在4、25、50℃的储存条件下能够至少稳定存在28 d。因此,此方法能够用于制备山茶油纳米乳液,改善山茶油易腐败变质的问题,保证山茶油的高营养价值,同时可利用此山茶油纳米乳液对一些山茶油纳米乳液对一些易氧化、难吸收的脂溶性物质(如维生素、β-胡萝卜素,番茄红素等)进行包埋,提高其稳定性和生物利用度。此研究同时证实了大豆分离蛋白和茶皂素复合乳化剂,是一种较为实用、高效的天然乳化剂,为油茶籽饼废物充分利用提供参考依据。

参考文献

- [1] Yang J Y, Peng B, Wang M, et al. Characteristics and emulsifying properties of two protein fractions derived from the emulsion formed during aqueous extraction of camellia oil[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 644–652.
- [2] 仲山民, 杨凯, 王超, 等. 不同种类油茶籽油的品质分析与比较[J]. 经济林研究, 2015, 33(2): 26–33.
- [3] 葛杭丽, 彭丽, 孟祥河, 等. 不同提取方法所得山茶油的品质比较[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(7): 1195–1200.
- [4] 谭传波, 田华, 赖琼玮, 等. 鲜榨山茶油中生物活性物质研究[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(11): 19–21.
- [5] 张善英, 郑丽丽, 艾斌凌, 等. 蒸汽爆破预处理对油茶籽水代法提油品质的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 124–130.
- [6] Wu H, Li C Z, Li Z M, et al. Simultaneous extraction of oil and tea saponin from *Camellia oleifera* Abel. seeds under subcritical water conditions [J]. Fuel Processing Technology, 2018, 174: 88–94.
- [7] 谭传波, 田华, 赖琼玮, 等. 不同工艺山茶油中生物活性物质含量的比较[J]. 中国油脂, 2018, 43(12): 41–44, 49.
- [8] Jin X C. Bioactivities of water-soluble polysaccharides from fruit shell of *Camellia oleifera* Abel: Antitumor and antioxidant activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(3): 2198–2201.
- [9] 皮柔, 何良梅, 陈亚运, 等. 茶油和油茶皂苷对肠道菌群的影响[J]. 赣南医学院学报, 2017, 37(6): 839–843.
- [10] Kaushik P, Doeling K, Barrow C J, et al. Microencapsulation of Omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 19(B): 868–881.
- [11] 周丹, 汪杰, 彭银, 等. 油茶籽油的脂肪酸成分分析及其微胶囊化的制备[J]. 现代食品科技, 2018, 34(4): 137–142.
- [12] 洪泽翰, 吴婉仪, 李璐, 等. 不同大分子乳化剂构建番茄红素纳米乳液的体外消化[J]. 食品科学, 2019, 40(10): 1–7.
- [13] Anton N, Benoit J P, Saulnier P. Design and production of nanoparticles formulated from nanoemulsion templates—a review [J]. Journal of Controlled Release, 2008, 128(3): 185–199.
- [14] McClements D J. Food emulsions principles, practices, and techniques [M]. United States: CRC Press, 2004: 353.
- [15] 何君, 姚晓玲, 冯桂仁, 等. 胡柚精油纳米乳的制备及品质评价[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(1): 3–6.
- [16] 季方圆, 何艳琳, 隋菁, 等. 深海鱼油纳米乳制备方法研究[J]. 中国油脂, 2018(3): 75–78.
- [17] 吴懿, 朱容慧, 赵军宁, 等. 3种表面活性剂对Caco-2细胞的细胞毒性研究[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(5): 157–158.
- [18] 王金梅. 大豆蛋白热聚集行为及界面、乳化性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- [19] 张媛, 姜帆, 刘莺, 等. 超高压均质对大豆分离蛋白乳化特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(1): 1–5.
- [20] 吴长玲, 聂鑫, 史志玲, 等. 大豆蛋白-磷脂酰胆碱纳米乳液高压均质工艺研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(9): 93–102.
- [21] 李青, 陶祎晨, 万芝力, 等. 大豆分离蛋白-甜菊糖苷复合稳定剂制备纳米乳液[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 9–15.
- [22] 曹江绒. 茶皂素的提取、纯化及在洗发液中的应用研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2014.
- [23] Hao W N, Zhong G H, Hu M Y, et al. Control of citrus postharvest green and blue mold and sour rot by tea saponin combined with imazalil and prochloraz[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 56(1): 39–43.
- [24] Zhu Z B, Wen Y, Yi J H, et al. Comparison of natural and synthetic surfactants at forming and stabilizing nanoemulsions: Tea saponin, quillaja saponin, and tween 80[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2019, 536: 80–87.
- [25] 葛玉曼, 寻崇荣, 李杨, 等. 薄荷油纳米乳液的制备及其性质的研究[J]. 食品科学, 2019, 40(10): 29–35.
- [26] Xu X F, Sun Q J, McClements D J. Enhancing the formation and stability of emulsions using mixed natural emulsifiers: Hydrolyzed rice glutelin and quillaja saponin [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 396–405.
- [27] McClements, D J, Jafari S M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2018(251): 55–79.
- [28] Wojciechowski K, Orczyk M, Gutberlet T, et al. Unusual penetration of phospholipid mono- and bilayers by quillaja bark saponin biosurfactant [J]. BBA – Biomembranes, 2014, 1838(7): 1931–1940.
- [29] Primožic M, Duchek A, Nickerson M, et al. Effect of lentil proteins isolate concentration on the formation, stability and rheological behavior of oil-in-water nanoemulsions [J]. Food Chemistry, 2017, 237: 65–74.
- [30] Tcholakova S, Denkov N D, Danner T. Role of surfactant type and concentration for the mean drop size during emulsification in turbulent flow [J]. Langmuir, 2004, 20(18): 7444–7458.
- [31] S Böttcher, S Drusch. Saponins – self-assembly and behavior at aqueous interfaces [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2017, 243: 105–113.
- [32] Yang Y, Leser M E, Sher A A, et al. Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q – Naturale) [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 589–596.
- [33] Uluata S, McClements D J, Decker E A. Physical stability, autooxidation, and photosensitized oxidation of ω -3 oils in nanoemulsions prepared with natural and synthetic surfactants [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2015, 63(42): 9333–9340.
- [34] 姚艳玉, 马培华, 曾庆晗, 等. 油相种类对姜黄素纳米乳液稳定性的影响[J]. 食品科技, 2017(9): 238–242.
- [35] 刘晓丽, 康亚男, 吴克刚, 等. 肉桂精油纳米乳液制备工艺研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(8): 161–167, 122.
- [36] Vallars, Houivet D, Fallah J E, et al. Oxide slurries stability and powders dispersion: Optimization with zeta potential and rheological measurements [J]. Journal of the European Ceramic Society, 1999, 19(6/7): 1017–1021.
- [37] Kundu P, Agrawal A, Mateen H, et al. Stability of oil-in-water macro-emulsion with anionic surfactant: Effect of electrolytes and temperature [J]. Chemical Engineering Science, (下转第42页)

酶解时间 2 h, 活性白土用量为 4%; 酶解-絮凝联用最优化工艺产生为果胶酶用量为 0.2%, 酶解时间 4 h, 壳聚糖用量 0.12%, 絮凝时间 2.5 h; 冻融细胞破碎法最优参数为冷冻温度-30 ℃, 解冻温度 10 ℃。

经琼脂絮凝法、酶解-吸附联用、酶解-絮凝联用和细胞冻融破碎等四种澄清方法处理的柠檬清汁在贮存过程中, 柠檬苦素降解速度明显加快, 不利于其含量的维持。

参考文献

- [1] Dubey A K, Sharma R M. Effect of rootstocks on tree growth, yield, quality and leaf mineral composition of lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.) [J]. *Scientia Horticulturae*, 2016, 200: 131-136.
- [2] Mishra P, Rai G K, Mahanta C L. Process standardization for development of spray-dried lemon juice powder and optimization of amla - lemon based RTS (Ready - to - Serve) drink using response surface methodology [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2015, 39(6): 1216-1228.
- [3] Lorente J, Vegara S, Martí N, et al. Chemical guide parameters for Spanish lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.) juices [J]. *Food Chemistry*, 2014, 162: 186-191.
- [4] 丁帆, 刘宝贞, 邓秀新, 等. 6 个甜橙品种果汁的后苦味分析 [J]. *华中农业大学学报: 自然科学版*, 2010, 29(4): 497-501.
- [5] Boneza M M, Niemeyer E D. Cultivar affects the phenolic composition and antioxidant properties of commercially available lemon balm (*Melissa officinalis* L.) varieties [J]. *Industrial Crops and Products*, 2018, 112(2): 783-789.
- [6] 金丽梅, 王旭, 田伟, 等. 不同预处理方式对柠檬果汁超滤澄清效果和膜污染情况的影响 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(11): 98-101, 107.
- [7] 汪开拓, 廖云霞, 阙建全, 等. 核黄素复合羟丙基甲基纤维素涂膜处理对采后杨梅果实冷藏品质及抗氧化活性的影响 [J]. *食品工业科技*, 2015, 36(6): 331-336.
- [8] Simpson B K, Egyankor K B, Martin A M. Extraction, purification and determination of pectin in tropical fruit [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1984, 8(2): 63-72.
- [9] Alamo J M, Maquieira A, Puchades R, et al. Determination of titratable acidity and ascorbic acid in fruit juices in continuous-flow systems [J]. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 1993, 347(6): 293-298.
- [10] Slinkard K, Singleton V L. Total phenol analysis: Automation

(上接第 34 页)

2013, 102: 176-185.

- [38] McClements D J. Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions [J]. *Langmuir*, 2005, 21(21): 9777-9785.
- [39] Desrumaux A, Marcand J. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high - pressure homogenization (up to 350 MPa): Effect of pressure on emulsion characteristics [J]. *International journal of food science & technology*, 2002, 37(3): 263-269.
- [40] Helmut G, Manuela R. Food matrices - determination of odorant partition coefficients and application of models for their

and comparison with manual methods [J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1977, 28(1): 49-55.

- [11] 陈静, 高彦祥, 吴伟莉, 等. 高效液相色谱法测定柑橘汁中的柠檬苦素和柚皮苷 [J]. *色谱*, 2006, 24(2): 157-160.
- [12] Eggleston G, DeLucca A, Sklanka S, et al. Investigation of the stabilization and preservation of sweet sorghum juices [J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 64: 258-270.
- [13] Sharma H P, Patel H, Sugandha. Enzymatic added extraction and clarification of fruit juices - A review [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(6): 1215-1227.
- [14] 徐启杰, 孙楠, 李伟, 等. 活性白土/壳聚糖复合物吸附剂对果汁的澄清作用研究 [J]. *化学试剂*, 2017, 39(3): 247-250.
- [15] Tastan O, Baysal T. Clarification of pomegranate juice with chitosan: changes on quality characteristics during storage [J]. *Food Chemistry*, 2015, 180: 211-218.
- [16] Nadulski R, Kobus Z, Wilczyński K, et al. Application of freezing and thawing in apple (*Malus domestica*) juice extraction [J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81(11): E2718-E2725.
- [17] Ribeiro D S, Henrique S M B, Oliveira L S, et al. Enzymes in juice processing: A review [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, 45(4): 635-641.
- [18] Begum K, Arefin S, Islam S, et al. Preservation of sugarcane juice using herbal clarificant [J]. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2015, 4(5): 530-534.
- [19] 饶炎炎, 冯建文, 公丽凤, 等. 红树莓果汁澄清剂的选择及澄清工艺的优化 [J]. *食品工业科技*, 2018, 39(24): 209-215.
- [20] 楼乐燕, 沈清, 尹培, 等. 分阶段酶解法与膜处理结合制备杨梅汁工艺研究 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(9): 40-44.
- [21] Mirsaeedghazi H, Emam - Djomeh Z, Mousavi S M, et al. Clarification of pomegranate juice by microfiltration with PVDF membranes [J]. *Desalination*, 2010, 264(3): 243-248.
- [22] 谭蔚, 汪露, 苏艳霞, 等. 冻融对蚕砂提取液澄清效果的影响研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(17): 2338-2341.
- [23] 王珊珊, 马红竹, 王静, 等. 活性白土的改性及其对苯酚废水的吸附研究 [J]. *硅酸盐通报*, 2015, 34(1): 84-89.
- [24] Erkan - Koç B, Türkyılmaz M, Yemiş O, et al. Effects of various protein- and polysaccharide-based clarification agents on antioxidative compounds and colour of pomegranate juice [J]. *Food Chemistry*, 2015, 184: 37-45.
- [25] 王松林, 彭荣, 崔榕, 等. 类柠檬苦素生物转化与脱苦研究进展 [J]. *食品科学*, 2015, 36(9): 279-283.

prediction [J]. *Food Chemistry*, 2008, 108(4): 1208-1216.

- [41] Dickinson E, Merino L M. Effect of sugars on the rheological properties of acid caseinate - stabilized emulsion gels [J]. *Food Hydrocolloids*, 2002, 16(4): 321-331.
- [42] Campanella O H, Dorward N M, Singh H. A study of the rheological properties of concentrated food emulsions [J]. *Journal of Food Engineering*, 1995, 25(94): 427-440.
- [43] Liang R, Xu S, Shoemaker C F, et al. Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(30): 7548-7555.