

玉米黄素双棕榈酸酯乳液制备及其稳定性研究

温馨¹ 李茉¹ ERŞAN Sevċan² 胡锐³ 耿娜¹ 倪元颖¹

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 霍恩海姆大学食品科学与生物技术所, 斯图加特 70599;
3. 北京市西城区食品药品监督管理局, 北京 100033)

摘要: 为了探索适宜的玉米黄素双棕榈酸酯(ZDP)乳液制备工艺,通过高压均质方法,采用2种天然乳化剂:大豆卵磷脂(SL)和乳清分离蛋白(WPI)和4种合成乳化剂:十聚甘油单油酸酯(PGE18)、十聚甘油单月桂酸酯(PGE12)、蔗糖酯(SE15)和吐温80(T80),以及2种不同油相:大豆油(SO)和中链甘油三酯(MCT),分别制备了ZDP乳液,研究了不同乳化剂种类和质量分数以及油相种类对ZDP乳液性质和稳定性的影响。同时,在最佳乳化剂条件下,研究了ZDP添加量对乳液性质的影响。研究结果表明:天然乳化剂乳化制备所得ZDP乳液平均粒径大,且稳定性一般。小分子合成乳化剂制得的ZDP乳液平均粒径小,但稳定性差异大。其中,PGE18为乳化剂时制备的乳液各项指标较好,且在质量分数为0.8%时乳化效果最好。MCT为油相较SO为油相制备所得乳液稳定性好。因此,选择质量分数为0.8%的PGE18为乳化剂,MCT为油相,高压均质可以制得粒径小于200 nm的ZDP乳液,且在4℃下贮藏28 d仍可保留约90%的ZDP。ZDP添加量变化在4~32 nmol/g时对ZDP乳液的粒径和电位无显著影响。

关键词: 玉米黄素双棕榈酸酯; 乳液; 类胡萝卜素; 天然色素; 稳定性; 制备

中图分类号: TS201.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2018)06-0354-08

Formation and Stability of Zeaxanthin Dipalmitate Emulsions

WEN Xin¹ LI Mo¹ ERŞAN Sevċan² HU Rui³ GENG Na¹ NI Yuanying¹

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China
2. Institute of Food Science and Biotechnology, University of Hohenheim, Stuttgart 70599, Germany
3. Food and Drug Administration of Beijing Xicheng District, Beijing 100033, China)

Abstract: The impact of emulsifier type (soy lecithin (SL), decaglycerol monooleate (PGE18), decaglycerolmonolaurate (PGE12), sucrose ester (SE15), Tween 80 (T80) and whey protein isolate (WPI)) and carrier oil (soybean oil (SO) and medium chain triglyceride (MCT)) on the properties and stability of zeaxanthin dipalmitate (ZDP)-fortified emulsions was investigated. The oil in water emulsions using MCT as carrier oil exhibited better physical and chemical stability than the SO emulsions among all emulsifiers, with the exception of T80. PGE18 produced emulsions with the best overall properties and stability. The impact of PGE18 concentrations on the property of ZDP-fortified emulsions was therefore investigated further. The results showed PGE18 at concentration of 0.8% produced emulsions with significantly smaller droplet size and higher particle charge, either preparing with SO or MCT, while MCT emulsion (177.7 nm) had smaller droplet size than SO emulsion (200.2 nm). Increasing ZDP contents in emulsion from 4 nmol/g to 32 nmol/g emulsion had no effect on droplet size and particle charge, and produced a color change from light yellow to orange-yellow. Briefly, the ZDP emulsion prepared by PGE18 (0.8%) and MCT through high pressure homogenization had droplet size smaller than 200 nm and adequate particle charge (about -16 mV), and remained about 90% of the original ZDP after 28 days' storage at 4℃, which might be used as a potential zeaxanthin supplement or natural pigment in food and beverage products.

Key words: zeaxanthin dipalmitate; emulsion; carotenoids; natural pigment; stability; formation

收稿日期: 2018-04-09 修回日期: 2018-04-30

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(201503142)

作者简介: 温馨(1991—),女,博士生,主要从事天然产物提取与功能食品开发研究,E-mail: wenxin77@cau.edu.cn

通信作者: 倪元颖(1960—),女,教授,博士生导师,主要从事果蔬加工、天然产物提取与功能食品开发研究,E-mail: niyyc@cau.edu.cn

0 引言

玉米黄素 (Zeaxanthin), 又名玉米黄质, 与叶黄素 (Lutein) 为同分异构体, 属于含氧类胡萝卜素 (Xanthophyll)^[1]。玉米黄素、叶黄素和内消旋玉米黄素 (meso-Zeaxanthin) 被称作黄斑色素^[2]。研究表明玉米黄素具有抗氧化, 预防和治疗老年黄斑变性, 减小白内障患病风险, 预防癌症、心血管疾病和糖脂代谢疾病等生理功能^[3-4]。人体自身不能合成玉米黄素, 主要通过膳食获得。目前已知的富含玉米黄素的食物主要包括枸杞、酸浆、玉米、蛋黄和深绿色蔬菜等^[4], 其中枸杞和酸浆中玉米黄素的含量最高, 是玉米和蛋黄中含量的 10 倍多, 且主要以玉米黄素双棕榈酸酯 (ZDP) 的形式存在^[5-6]。ZDP 为游离态玉米黄素的两侧羟基分别与棕榈酸结合而形成的天然类胡萝卜素酯。研究表明类胡萝卜素酯比其对应的游离态含氧类胡萝卜素具有更好的热稳定性、加工稳定性和贮藏稳定性^[7-9], 因此 ZDP 比其游离态玉米黄素更适宜作为膳食营养补充剂。另外, ZDP 以酯类形式存在, 不像游离态含氧胡萝卜素因有游离羟基而存在一定的助氧化活性, 因此比其游离态类胡萝卜素更适合作为天然色素用于含脂食品的着色^[10]。然而, 由于 ZDP 来源于游离态玉米黄素的双侧羟基被棕榈酸酯化, 导致其拥有比游离态玉米黄素更低的极性, 更强的疏水性和脂溶性, 从而限制了其在水溶体系中作为天然色素的广泛应用, 并且影响其生物利用率。

研究表明通过制备类胡萝卜素乳液可以有效地提高其水溶性及加工过程和贮藏过程中的化学稳定性, 并且通过调节其在运载体系中的释放、溶解和界面性质来提高其生物利用率^[11]。目前, 关于类胡萝卜素乳液的研究主要集中于 β -类胡萝卜素乳液和番茄红素乳液, 研究人员通过优化乳化方法、配方和条件等来制备稳定性好和生物利用率高的乳液^[11-12]。目前有少量文献报道了关于叶黄素乳液的制备^[13-17], 且主要使用游离态的叶黄素制备乳液, 仅有一篇文献涉及叶黄素酯制备乳液^[14], 尚未发现有玉米黄素乳液制备相关的研究, 仅有一篇文献关于 ZDP 脂质体制备的研究^[18]。

因此, 本文采用几种不同的天然和合成乳化剂通过高压均质制备 ZDP 乳液, 并考察乳化剂种类和浓度、油相种类以及 ZDP 添加量对乳液稳定性的影响, 以期玉米黄素在作为天然安全的植物色素或者作为具有多种生物学活性的膳食营养补充剂产品上的应用提供理论支持和技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料与试剂

ZDP, 法国 Extrasynthèse 公司; 大豆卵磷脂 (SL) 和蔗糖酯 (SE15), 武汉远成共创科技有限公司; 十聚甘油单油酸酯 (PGE18) 和十聚甘油单月桂酸酯 (PGE12), 济南东润精化科技有限公司; 吐温 80 (T80), 德国三颗星食品物料公司; 乳清分离蛋白 (WPI), 河南万邦实业有限公司; 大豆油 (SO), 益海嘉里有限公司; 中链甘油三酯 (MCT), 印度尼西亚 Musim MAS 公司。

试验试剂: 磷酸二氢钠和磷酸氢二钠 (食品级), 连云港科德化工有限公司; 尼罗红, 北京索莱宝科技有限公司; 石油醚、正己烷、无水乙醇均为分析纯 (北京化工厂)。

1.2 试验仪器与设备

T6 型新世纪紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司; T25 型高速分散机, 德国 IKA 公司; FB-110Q 型超高压均质机, 上海励途机械设备有限公司; Zetasizer Nano-ZS 型粒径电位仪, 英国 Malvern 公司; LUMiFuge 型全功能稳定分析仪, 德国 LUM 公司; LSM 880 型激光共聚焦显微镜, 德国卡尔蔡司公司; SC-80 型全自动色差仪, 美国 HunterLab 公司; Sartorius BP221S 型电子天平, 德国 Sartorius 公司; pH S-3C 型精密 pH 计, 德国 Sartorius 公司; Hitachi Himac CR22g 型高速冷冻离心机, 日本日立株式会社; KQ-500DE 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 ZDP 乳液的制备

取定量 ZDP 标准品溶解于石油醚中, 超声处理至完全溶解, 于棕色瓶中充氮保存。在 449 nm 下测定 ZDP 溶液的吸光度, 并通过其在石油醚中的摩尔吸光系数 ($\epsilon_{449\text{ nm}} = 133\,400\text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$), 确定其物质的量浓度^[19]。取定量 ZDP 溶液, 将其加入 SO 或 MCT 中, 超声处理至混合均匀, 氮吹至质量恒定, 即为油相 (质量分数 2%); 称取定量乳化剂于烧杯中, 加入配制好的 10 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH 值 7.0), 搅拌至完全溶解, 即得到水相 (质量分数 98%)。通过高速分散机制备粗乳液, 在 10 000 r/min 下将油相缓慢加入到水相中, 剪切 2 min。将制得的粗乳液通过高压均质机制备乳液, 均质压力 60 MPa, 循环 3 次, 即得 ZDP 乳液, 分装于小瓶中, 4℃ 充氮避光保存。

1.3.2 ZDP 乳液制备参数的优化

(1) 乳化剂种类: 分别以 SL、PGE18、PGE12、

SE15、T80 和 WPI 为乳化剂,以 0.5% 添加量,加入磷酸盐缓冲溶液为水相;在 SO 或 MCT 中添加 400 nmol ZDP 为油相,按照 1.3.1 节所述乳液制备方法制备 ZDP 乳液,测定不同乳化剂制备的 ZDP 乳液理化指标,选择适宜制备 ZDP 乳液的乳化剂。

(2) 乳化剂质量分数:以 PGE18 为乳化剂,质量分数分别为 0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%,加入磷酸盐缓冲溶液制备水相,油相制备同上,测定不同乳化剂质量分数制备的 ZDP 乳液理化指标。

(3) ZDP 添加量:以 PGE18 为乳化剂,质量分数为 0.8%,加入磷酸盐缓冲溶液制备水相;在 MCT 中分别添加 4、8、16、24、32、40 nmol/g 的 ZDP 为油相,制备乳液并测定不同 ZDP 添加量制备的 ZDP 乳液理化指标。

1.3.3 ZDP 乳液的评价指标

(1) 粒径、多分散系数 (Polydispersity index, PdI) 和 zeta 电位:采用 Zetasizer Nano-ZS 型粒径电位仪测定,基于动态光散射检测乳液粒径,基于电泳光散射检测 zeta 电位。PdI 用以表征乳液粒径光强分布, PdI 小于 0.7 时适宜于采用此法分析粒径。样品于测定前用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液稀释 100 倍,以减少多重光散射引起的测量误差。

(2) 激光共聚焦显微镜观察:量取 2 mL 乳液,加入 0.1 mL 尼罗红染液(用无水乙醇配制质量浓度为 1 mg/mL)用于脂肪染色,充分混匀。取适量染色后的乳液于干净的载玻片上,盖上盖玻片,观察并于 60 倍油镜下采集图像。

(3) 稳定性分析:采用 LUMiFuge 型全功能稳定分析仪,通过离心加速的同时用近红外检测乳液透光率变化来快速测定乳液稳定性。将约 0.8 mL 乳液注入试管底部,设定温度 25℃,转速 4 000 r/min,每 10 s 采集一次样品透光率的特征曲线,共采集 400 次。

(4) ZDP 保留率测定:取乳液 3 mL,加入 3 mL 提取液(乙醇与正己烷体积比 1:2)提取 3 次,合并上层有机相,氮吹至干。将干提取物溶于 3 mL 石油醚中,振荡混匀,于 449 nm 下测定吸光度,通过摩尔吸光系数计算其含量。结果以 ZDP 保留率表示,即贮藏一段时间后乳液中 ZDP 含量占其原始含量百分比。

(5) 颜色测定:采用全自动色差仪测定乳液颜色。将乳液盛于样品皿中,以标准白板为对照,在反射模式下测定其 CIELAB 三色值,即 L^* 、 a^* 、 b^* 值。其中, L^* 表示亮度, $L^* = 0$ 表示黑色, $L^* = 100$ 表示白色; $a^* > 0$ 表示红色, $a^* < 0$ 表示绿色; $b^* > 0$ 表

示黄色, $b^* < 0$ 表示蓝色。

1.3.4 数据处理与分析

使用 SPSS 20.0 软件对数据进行方差分析($\alpha = 0.05$)和多重比较分析;使用 OriginPro 9 绘制图形。

2 结果与分析

2.1 乳化剂种类对 ZDP 乳液的影响

选取 4 种合成乳化剂 (PGE18、PGE12、SE15、T80) 和 2 种天然乳化剂 (SL 和 WPI) 通过高压均质机制备 ZDP 乳液。图 1 为不同乳化剂制备的 ZDP 乳液的平均粒径和分散系数。由图可知,天然乳化剂 SL 和 WPI 制备的 ZDP 乳液平均粒径 (297.7 ~ 388.7 nm) 显著大于合成乳化剂所制备的 ZDP 乳液平均粒径 (184.8 ~ 306.3 nm)。在合成乳化剂中, PGE18 和 T80 制备的 ZDP 乳液平均粒径 (184.8 ~ 243.2 nm) 显著 ($P < 0.05$) 小于其他 2 种乳化剂 PGE12 和 SE15 (235.6 ~ 306.3 nm)。采用天然大分子乳化剂,如蛋白,制备的乳液粒径大,是由于其相对于小分子的非离子型乳化剂吸附速率低,在快速的高压均质时间内无法迅速吸附到油水界面起到快速乳化作用,同时,大分子乳化剂表面活性低,不能有效地降低界面张力^[20-21]。MAO 等^[22]也发现使用小分子乳化剂(吐温 20 和 PGE12)通过高压均质在不同均质压力下(20、80、140 MPa)制备的 β -胡萝卜素乳液粒径 (121.8 ~ 279.8 nm) 均显著小于大分子乳化剂(辛烯基琥珀酸淀粉和 WPI)制备的乳液 (194.3 ~ 673.8 nm)。而 SL 虽然也是小分子乳化剂,但在本试验中乳化能力仍较差,可能是由于其较低的亲水亲油平衡 (HLB) 值,通常在 7 左右^[23],明显低于其他 4 种小分子乳化剂 HLB 值 13 ~ 15。

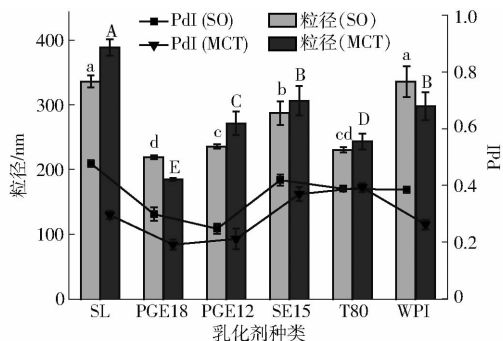


图 1 乳化剂种类对 ZDP 乳液粒径和 PdI 的影响

Fig. 1 Effect of different emulsifiers on size and PdI of ZDP emulsions

注:不同小写字母表示粒径(SO)差异显著;不同大写字母表示粒径(MCT)差异显著。

同时,不同的油脂来源(SO 或 MCT)对以不同乳化剂制备的 ZDP 乳液平均粒径影响不一致。对于 PGE18 和 WPI 制备的 ZDP 乳液,SO 为油相的乳

液平均粒径显著大于 MCT 为油相的乳液 ($P < 0.05$),而对于 SL、PGE12 和 T80 制备的乳液,SO 为油相的乳液平均粒径则显著小于 MCT 为油相的乳液 ($P < 0.05$)。对于 SE15 乳化制备的 ZDP 乳液,油相为 SO 或 MCT 对其平均粒径无显著影响 ($P > 0.05$)。SALVIA-TRUJILLO 等^[24]发现采用不同比例长链甘油三酯(LCT)(玉米油)和 MCT 为油相制备 β -胡萝卜素乳液时,随着 LCT 质量分数由 0 增加至 100%,乳液平均粒径由 146 nm 增加至 415 nm,并认为可能是由于 LCT 比 MCT 有更高的黏度,在高压均质时液滴不易被分散,从而形成了更大的粒径。上述研究中采用的乳化剂是吐温 20,这与本试验中采用 PGE18 和 WPI 为乳化剂时得到的结果一致,与其他 4 种乳化剂结果不同。这可能是因为,除了油脂种类的影响外,乳化剂种类对乳液粒径也有较大的影响。乳液粒径是由乳化剂种类和浓度、油相种类和比例、乳化方法和条件(比如高压均质的压力和循环次数)等多种因素共同决定的。

不同乳化剂制备的 ZDP 乳液多分散系数(PdI)介于 0.191 ~ 0.477 之间,均小于 0.7,颗粒分布均匀(图 1)。其中,不论油相为 SO 或 MCT,十聚甘油单脂肪酸酯(PGE18 和 PGE12)制备的 ZDP 乳液 PdI 均显著低于其他乳液 ($P < 0.05$)。

zeta 电位反映了胶体体系中的界面动电势,zeta 电位的绝对值越高,表明体系稳定性越高,这是由于液滴间的强静电斥力能阻止其聚集^[25]。图 2 为不同乳化剂制备的 ZDP 乳液 zeta 电位。SL 和 SE15 乳化的 ZDP 乳液液滴带有较高的负电荷(- 28.4 ~ - 25.4 mV),PGE18、PGE12 和 WPI 居中(- 17.3 ~ - 9.6 mV),而 T80 乳化的液滴带有最少的负电荷(- 5.0 mV)。SL 为阴离子型乳化剂因而乳液液滴带负电荷,WPI 制备的乳液因体系 pH 值大于其蛋

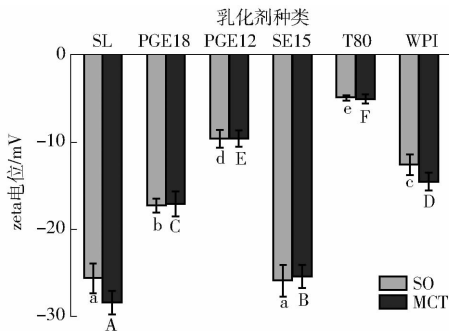


图 2 乳化剂种类对 ZDP 乳液 zeta 电位的影响
Fig. 2 Effect of different emulsifiers on zeta-potential of ZDP emulsions

注:不同小写字母表示 zeta 电位(SO)差异显著;不同大写字母表示 zeta 电位(MCT)差异显著。

白等电点而带负电荷,但是,其他 4 种乳化剂均为非离子型乳化剂,理论上应不带电荷。YIN 等^[26]也发现吐温 20、PGE12 和蔗糖酯制备的 β -胡萝卜素纳米分散体液滴带有负电荷,其 zeta 电位分别为 - 8.2、- 17.6、- 30.9 mV。ANARJAN 等^[27]的研究也表明吐温系列和蔗糖酯系列乳化剂制备的虾青素纳米分散体 zeta 电位为负值(- 30.0 ~ - 14.1 mV)。这可能是由于在中性条件下水中的 OH^- 选择性吸附到油水界面上,或者是在乳化剂产品或油相中存在一些阴离子杂质,比如游离脂肪酸^[28]。

图 3 为不同乳化剂制备的 ZDP 乳液微观结构,使用尼罗红对脂滴染色,并通过激光共聚焦观察采集图像。由图可以看出,不同乳化剂制备的乳液粒径与 Zetasizer Nano - ZS 型粒径电位仪测得的乳液平均粒径和粒径分布结果基本一致。SL 和 SE15 乳化的乳液粒径较大,且粒径大小分布不均匀,这与其 PdI 较大(SO: 0.477、0.419;MCT:0.296、0.369)的结果也相符,并且在乳液观察过程中出现了一定的聚结或絮凝现象。WPI 乳化的乳液虽然粒径较大,

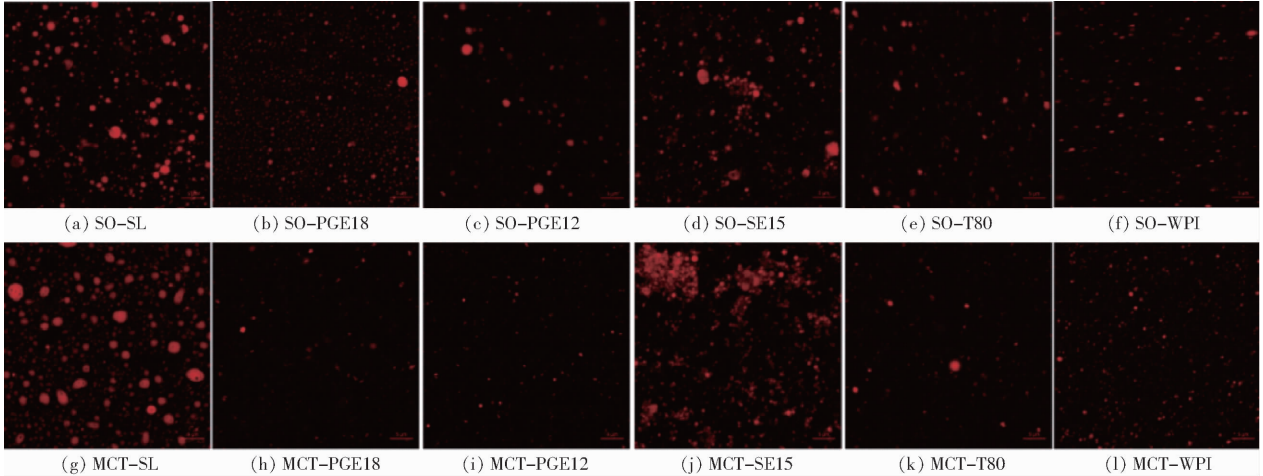


图 3 不同乳化剂制备的 ZDP 乳液激光共聚焦显微镜图像
Fig. 3 Confocal laser scanning microscopy images of ZDP emulsions prepared by different emulsifiers

但是颗粒大小分布均匀,其 PDI(SO: 0.385; MCT: 0.262)也小于 SL 和 SE15。从激光共聚焦图像上看 WPI 乳化的乳液颗粒粒径较小可能是因为乳液颗粒外层为大分子蛋白,核心为脂滴,而本试验中只使用尼罗红给脂滴染色,外层蛋白质不可见。PGE18、PGE12 和 T80 制备的 ZDP 乳液平均粒径较小,但 T80 制备的乳液颗粒分布大小不一,也验证了其较高的 PDI 值(SO: 0.388; MCT: 0.392),高于 PGE18 和 PGE12(SO: 0.298,0.247;MCT:0.191、0.211)。

本试验应用 LUMiFuge 型全功能稳定分析仪来测定不同乳液的物理稳定性,结果如图 4 所示,纵坐

标为乳液离心过程中特定位置在不同时间的透光率,横坐标为样品与离心轴的距离。透光率变化越小,说明乳液越稳定。对于以 SO 为油相制备的 ZDP 乳液,PGE18 和 PGE12 为乳化剂的乳液具有较好的物理稳定性,在图中表现为离心过程中透光率变化较小。对于以 MCT 为油相制备的 ZDP 乳液,所有乳化剂均表现出了较 SO 为油相时更好的物理稳定性。其中,PGE18 和 PGE12 较其他几种乳化剂又呈现显著较小的透光率变化。因此,PGE18 和 PGE12 为乳化剂时,不论油相为 SO 或 MCT,ZDP 乳液均呈现出较好的物理稳定性。

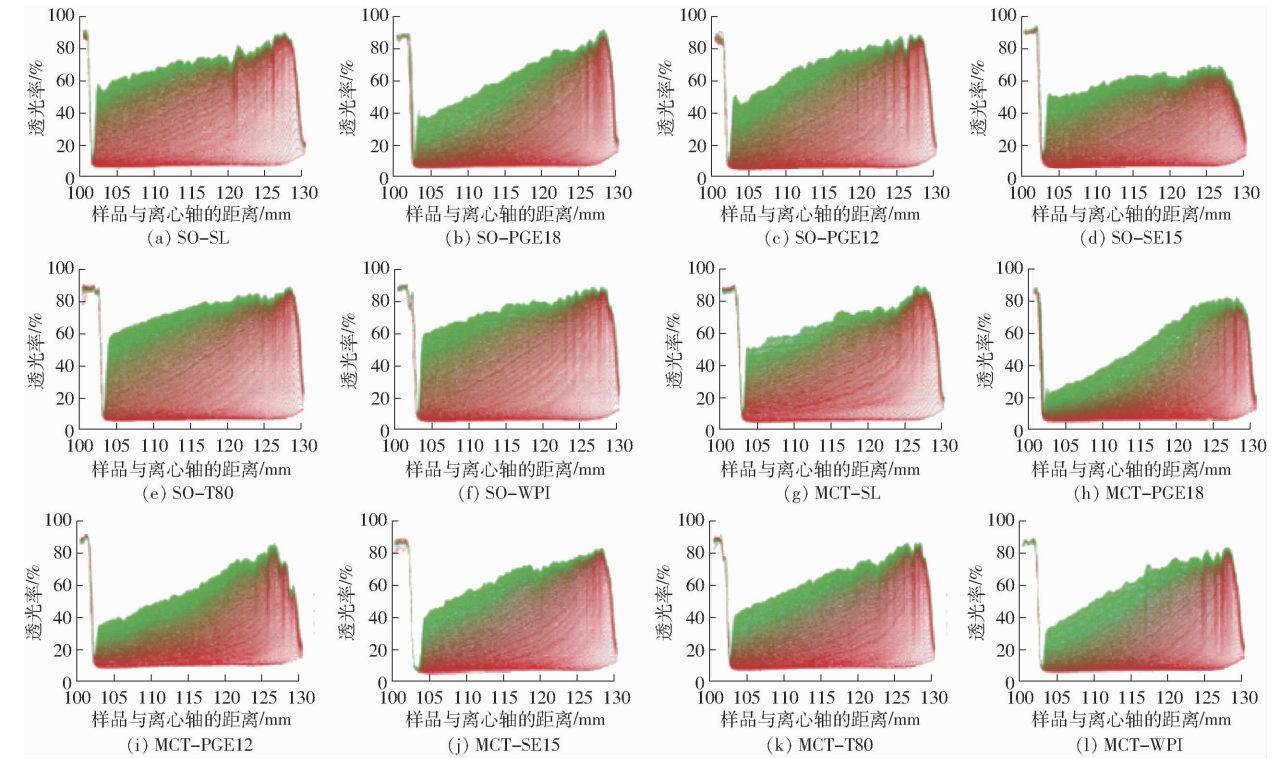


图 4 不同乳化剂制备的 ZDP 乳液 LUMiFuge 分析图

Fig. 4 Transmission profiles of ZDP emulsions prepared by different emulsifiers

为考察不同乳化剂制备的 ZDP 乳液化学稳定性,分别测定了不同乳液在 4℃ 避光贮藏 14 d 和 28 d 后 ZDP 保留率的变化,结果如图 5 所示。贮藏 14 d 后,不同乳化剂制备的乳液中仍保留 84.4% ~ 93.3% 的 ZDP,而当贮藏 28 d 后,不同乳化剂制备的乳液中 ZDP 保留率出现显著差别(58.5% ~ 90.8%)。相比于以 SO 为油相(图 5a),以 MCT 为油相时(图 5b)乳液中 ZDP 降解较慢,除 T80 为乳化剂外(61.4%),28 d 后乳液中仍保留 80% 以上的 ZDP。然而,以 SO 为油相制备的 ZDP 乳液中,SL、PGE18 和 PGE12 为乳化剂制备的乳液仍保留 80% 以上的 ZDP,而 SE15、T80 和 WPI 只分别保留 64.4%、71.2% 和 58.5% 的 ZDP。肉眼观察贮藏 28 d 后的不同 ZDP 乳液,可以发现 MCT 制备的不同乳液中,除 SL、SE15 和 WPI 乳化制备的乳液有轻

微上浮现象和 T80 乳化的乳液液面有些许油滴析出外,其余未见明显变化。然而,以 SO 为油相制备的各不同乳液均出现上浮现象,其中 SE15 和 WPI 乳化制备的乳液出现明显分层,SL 和 T80 制备的乳液出现轻微分层和少量油滴析出,而 PGE18 和 PGE12 制备的乳液仅出现些许油滴析出,表现出了较好的贮藏稳定性。

综上所述,不管是以 SO 还是 MCT 为油相,小分子乳化剂 PGE18 乳化制备的 ZDP 乳液均具有较小的平均粒径(184.8 ~ 219.1 nm),且粒径分布均匀,以及具有较好的物理稳定性和化学稳定性。因此,本试验选用 PGE18 作为乳化剂制备 ZDP 乳液。

2.2 乳化剂质量分数对 ZDP 乳液的影响

乳化剂质量分数是乳液制备中需要考虑的一个重要因素。当乳化剂质量分数过低时,乳化剂无法

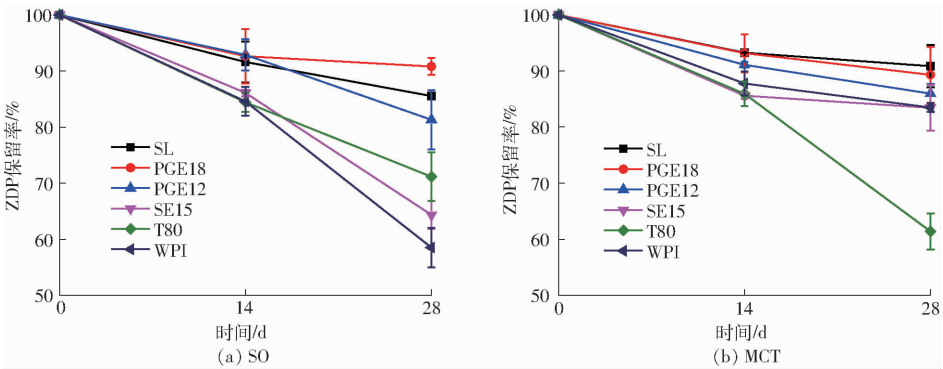


图 5 ZDP 乳液在贮藏过程中 ZDP 保留率的变化
Fig. 5 Degradation of ZDP in different emulsions during storage at 4℃

充分覆盖液滴表面,容易引起液滴聚集或分层现象,而乳化剂质量分数过高时又会造成浪费,提高成本,且不利于乳液的稳定^[29]。因此,采用不同质量分数的 PGE18 为乳化剂,分别以 SO 或 MCT 为油相,高压均质制备 ZDP 乳液,以找到适宜的乳化剂质量分数。由图 6 可以看出,随着乳化剂质量分数的增加,ZDP 乳液的平均粒径和 PdI 逐渐减小,且在质量分数为 0.8% 时达到最小值 (SO: 200.2 nm; MCT: 177.7 nm)。进一步增加乳化剂质量分数至 1.0%,以 SO 为油相的乳液粒径大小和分布无显著变化。继续增加乳化剂质量分数至 1.2%,ZDP 乳液粒径大小显著增加,粒径分布不均匀 (PdI 增加)。

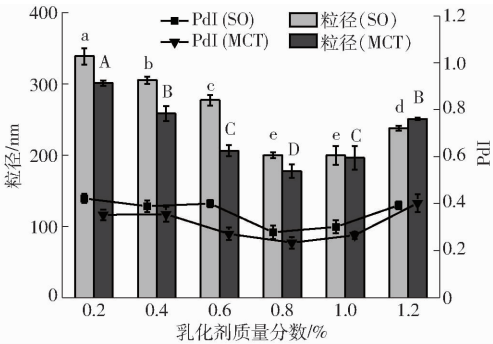


图 6 乳化剂质量分数对 ZDP 乳液粒径和 PdI 的影响
Fig. 6 Effect of different PGE18 concentrations on size and PdI of ZDP emulsions

注:不同小写字母表示粒径(SO)差异显著;不同大写字母表示粒径(MCT)差异显著。

对于 zeta 电位的变化,乳化剂质量分数对 SO 为油相的 ZDP 乳液无明显影响,对于以 MCT 为油相的 ZDP 乳液,随着乳化剂质量分数的增加,zeta 电位绝对值逐渐增加,在乳化剂质量分数为 0.6% 时达到最高值,之后再增加乳化剂质量分数无显著变化(图 7)。因此,本试验选用质量分数为 0.8% 的 PGE18 作为乳化剂,MCT 为油相来制备 ZDP 乳液,贮藏试验结果表明 4℃ 贮藏 28 d ZDP 保留率高达 90%。

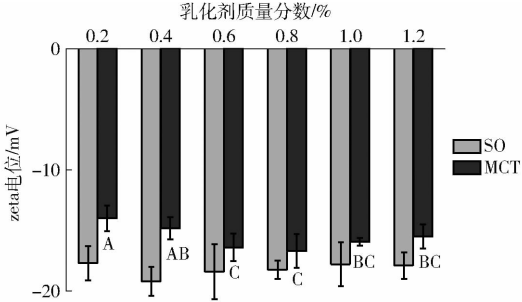


图 7 乳化剂质量分数对 ZDP 乳液 zeta 电位的影响
Fig. 7 Effect of different PGE18 concentrations on zeta-potential of ZDP emulsions

注:以 SO 为油相制备的不同乳化剂质量分数的 ZDP 乳液 zeta 电位无显著差异;不同大写字母表示 zeta 电位 (MCT) 差异显著。

2.3 ZDP 添加量对 ZDP 乳液的影响

ZDP 在人体消化系统内可水解为玉米黄素单体和两分子棕榈酸,玉米黄素在小肠上皮细胞吸收进入血液循环系统并发挥其在人体视觉和大脑中的重要作用^[30]。尽管大量研究表明每天定量摄入玉米黄素和叶黄素的益处,但至今仍未有机构给出玉米黄素的可耐受最高摄入量。欧洲食品安全局 (EFSA) 根据大鼠试验结果除以 200 倍安全因子给出的日允许摄入量 (Acceptable daily intake, ADI) 为 0.75 mg/(kg·d) 或 53 mg/d (70 kg 成人)^[31]。基于 VAN DE KRAATS 等^[32] 进行的人体试验研究表明连续 6 个月摄入玉米黄素 20 mg/d 对人体无副作用,因此本试验在 4 nmol/g 乳液的基础上,逐步增加 ZDP 在乳液中的添加量 (摩尔质量浓度) 至 40 nmol/g,即每 500 mL 乳液中含约 20 mg ZDP。

以质量分数为 0.8% 的 PGE18 为乳化剂,以 MCT 为油相,添加不同量的 ZDP 制备乳液,试验结果如表 1 所示。可以看出,随着 ZDP 添加量的增加,乳液平均粒径逐渐增大,但除 ZDP 添加量 4 nmol/g 和 40 nmol/g 时有显著差异 ($P < 0.05$),其余各添加量并无显著差异。并且,不同 ZDP 添加量的乳液 zeta 电位并无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 1 不同 ZDP 添加量乳液的粒径、PdI 和 zeta 电位

Tab.1 Size, PdI, and zeta-potential of emulsions with different concentrations of ZDP

ZDP 添加量/ (nmol·g ⁻¹)	粒径/nm	PdI	zeta 电位/mV
4	179.8 ± 6.6	0.217 ± 0.026	-16.4 ± 0.5
8	184.2 ± 3.4	0.243 ± 0.005	-15.6 ± 0.7
16	181.1 ± 6.9	0.217 ± 0.010	-16.4 ± 1.2
24	193.4 ± 12.6	0.277 ± 0.046	-16.1 ± 1.2
32	194.0 ± 13.0	0.314 ± 0.030	-15.9 ± 0.8
40	197.6 ± 3.3	0.265 ± 0.022	-15.8 ± 1.1

图 8 为不同 ZDP 添加量的乳液的颜色变化图像(从左到右 ZDP 添加量增大)和 CIELAB 三色值。由图像可以看出,随着 ZDP 添加量的增加,乳液的

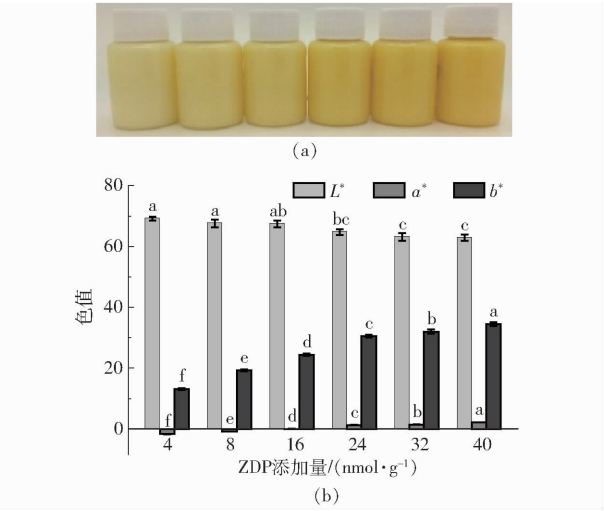


图 8 不同 ZDP 添加量的乳液颜色变化
Fig.8 Colors of emulsions with different concentrations of ZDP

注:不同字母表示不同 ZDP 添加量乳液的色值差异显著。

颜色由淡黄色逐渐变深至橙黄色。与图像一致,随着 ZDP 添加量的增加,乳液的亮度值 L^* 逐渐降低,而红绿值 a^* 和黄蓝值 b^* 逐渐显著增加($P < 0.05$)。因此,ZDP 乳液除了作为功能乳饮料外,还有作为天然的食用色素使用的潜力。

3 结论

(1)选用不同乳化剂通过高压均质制备 ZDP 乳液,结果表明乳化剂种类对 ZDP 乳液粒径、电位、物理稳定性和贮藏稳定性有显著影响。天然乳化剂 SL 和 WPI 制备的 ZDP 乳液平均粒径大,且稳定性一般。小分子乳化剂中 T80 制备的乳液虽然平均粒径小,但贮藏稳定性较差。PGE18 制备的 ZDP 乳液平均粒径小,分布均匀,且物理稳定性和贮藏稳定性好,为制备 ZDP 乳液的较佳乳化剂。

(2)油相种类(SO 和 MCT)对 ZDP 乳液粒径、PdI 和稳定性均有影响,对乳液电位无明显影响。以 MCT 为油相制备的 ZDP 乳液,相比以 SO 为油相制备的乳液在快速稳定性和贮藏稳定性上有显著优势,但以 T80 为乳化剂时例外。

(3)乳化剂质量分数对 ZDP 乳液粒径、PdI 和电位有显著影响。以 PGE18 为乳化剂,质量分数为 0.8% 时,制得的乳液粒径小,分布均匀,zeta 电位绝对值高。

(4)以质量分数为 0.8% 的 PGE18 为乳化剂,以 MCT 为油相,所制得的 ZDP 乳液平均粒径小,分布均匀,物理稳定性和贮藏稳定性好。并且,增加 ZDP 添加量至 40 nmol/g 乳液仍能制得粒径小于 200 nm、分布均匀和较为稳定的 ZDP 乳液。

参 考 文 献

1 惠伯棣.类胡萝卜素化学及生物化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005.

2 BONE R A, LANDRUM J T, TARSIS S L. Preliminary identification of the human macular pigment[J]. Vision Research, 1985, 25(11): 1531 - 1535.

3 刘美宏,刘回民,郑明珠,等.玉米黄素生物活性及其在食品中应用研究进展[J].食品工业,2016(12):242 - 248. LIU Meihong, LIU Huimin, ZHENG Mingzhu, et al. Research progress on bioactivities of zeaxanthin and its application in foods [J]. The Food Industry, 2016(12): 242 - 248. (in Chinese)

4 蔡靳,惠伯棣,蒋继志.玉米黄素及在食品中的应用研究进展[J].中国食品添加剂,2012(3):200 - 207. CAI Jin, HUI Bodi, JIANG Jizhi. Progress on research in zeaxanthin and its application in foods[J]. China Food Additives, 2012 (3): 200 - 207. (in Chinese)

5 HEMPEL J, SCHÄDLE C N, SPRENGER J, et al. Ultrastructural deposition forms and bioaccessibility of carotenoids and carotenoid esters from goji berries (*Lycium barbarum* L.)[J]. Food Chemistry, 2017, 218:525 - 533.

6 WEN X, HEMPEL J, SCHWEIGGERT R M, et al. Carotenoids and carotenoid esters of red and yellow *Physalis* (*Physalis alkekengi* L. and *P. pubescens* L.) fruits and calyces[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(30): 6140 - 6151.

7 AHMAD F T, ASENSTORFER R E, SORIANO I R, et al. Effect of temperature on lutein esterification and lutein stability in wheat grain[J]. Journal of Cereal Science, 2013, 58(3): 408 - 413.

8 MELLADO-ORTEGA E, HOMERO-MÉNDEZ D. Effect of long-term storage on the free and esterified carotenoids in durum wheat (*Triticum turgidum* conv. *durum*) and tritordeum (× *Tritordeum* Ascherson et Graebner) grains[J]. Food Research International, 2017, 99(2): 877 - 890.

9 SCHWEIGGERT U, KURZ C, SCHIEBER A, et al. Effects of processing and storage on the stability of free and esterified

- carotenoids of red peppers (*Capsicum annuum* L.) and hot chilli peppers (*Capsicum frutescens* L.)[J]. European Food Research and Technology, 2007, 225(2): 261 – 270.
- 10 SUBAGIO A, MORITA N. Prooxidant activity of lutein and its dimyristate esters in corn triacylglyceride[J]. Food Chemistry, 2003, 81(1): 97 – 102.
- 11 SOUKOULIS C, BOHN T. A comprehensive overview on the micro- and nano-technological encapsulation advances for enhancing the chemical stability and bioavailability of carotenoids[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58: 1 – 36.
- 12 MCCLEMENTS D J, RAO J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2011, 51: 285 – 330.
- 13 WEIGEL F, WEISS J, DECKER E A, et al. Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: influence of emulsifiers and antioxidants on physical and chemical stability[J]. Food Chemistry, 2018, 242: 395 – 403.
- 14 KHALIL M, RAILA J, ALI M, et al. Stability and bioavailability of lutein ester supplements from Tagetes flower prepared under food processing conditions[J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(3): 602 – 610.
- 15 FREDE K, HENZE A, KHALIL M, et al. Stability and cellular uptake of lutein-loaded emulsions[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 8: 118 – 127.
- 16 DAVIDOV-PARDO G, GUMUS C E, MCCLEMENTS D J. Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: influence of pH and temperature on physical and chemical stability[J]. Food Chemistry, 2016, 196: 821 – 827.
- 17 GUMUS C E, DAVIDOV-PARDO G, MCCLEMENTS D J. Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: impact of Maillard conjugation on physicochemical stability and gastrointestinal fate[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 38 – 49.
- 18 米佳, 禄璐, 罗青, 等. 枸杞玉米黄素双棕榈酸酯脂质体的制备及其体外抗氧化活性研究[J/OL]. 食品工业科技: 1 – 12 [2018 – 04 – 08]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20180308.1434.030.html>.
- MI Jia, LU Lu, LUO Qing, et al. Preparation and *in vitro* antioxidant activity determination of *Lycium barbarum* L. zeaxanthin dipalmitate liposome[J]. Science and Technology of Food Industry: 1 – 12[2018 – 04 – 08]. (in Chinese)
- 19 BRITTON G. Carotenoids. Spectroscopy [M]. vol. 1B. Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser Verlag, 1995: 13 – 62.
- 20 STANG M, KARBSTEIN H, SCHUBERT H. Adsorption kinetics of emulsifiers at oil-water interfaces and their effect on mechanical emulsification[J]. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 1994, 33: 307 – 311.
- 21 KARBSTEIN H, SCHUBERT H. Developments in the continuous mechanical production of oil-in-water macro-emulsions[J]. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 1995, 34: 205 – 211.
- 22 MAO L, YANG J, XU D, et al. Effects of homogenization models and emulsifiers on the physicochemical properties of β -carotene nanoemulsions[J]. Journal of Dispersion Science and Technology, 2010, 31: 986 – 993.
- 23 MCCLEMENTS D J, BAI L, CHUNG C. Recent advances in the utilization of natural emulsifiers to form and stabilize emulsions [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2017, 8(1): 205 – 236.
- 24 SALVIA-TRUJILLO L, QIAN C, MARTIN-BELLOSO O, et al. Modulating β -carotene bioaccessibility by controlling oil composition and concentration in edible nanoemulsions[J]. Food Chemistry, 2013, 139(1 – 4): 878 – 884.
- 25 丁俭, 齐宝坤, 姜楠, 等. 超声处理大豆分离蛋白-壳聚糖复合物结构性性质研究[J/OL]. 农业机械学报, 2017, 48(9): 352 – 358. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20170945&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.09.045.
- DING Jian, QI Baokun, JIANG Nan, et al. Structural properties of soybean protein isolate-chitosan complex treated by ultrasonic [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(9): 352 – 358. (in Chinese)
- 26 YIN L J, CHU B S, KOBAYASHI I, et al. Performance of selected emulsifiers and their combinations in the preparation of β -carotene nanodispersions[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(6): 1617 – 1622.
- 27 ANARJAN N, TAN C P. Effects of selected polysorbate and sucrose ester emulsifiers on the physicochemical properties of astaxanthin nanodispersions[J]. Molecules, 2013, 18(1): 768 – 777.
- 28 MCCLEMENTS D J. Food emulsions: principles, practices, and techniques[M]. Boca Raton: CRC Press, 2005.
- 29 刘夫国, 王迪, 杨伟, 等. 乳铁蛋白-多酚对 β -胡萝卜素乳液稳定性的影响[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(6): 212 – 217. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20150630&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.06.030.
- LIU Fuguo, WANG Di, YANG Wei, et al. Effect of lactoferrin-polyphenol conjugates on stability of β -carotene emulsions [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(6): 212 – 217. (in Chinese)
- 30 SAJILATA M G, SINGHAL R S, KAMAT M Y. The carotenoid pigment zeaxanthin—a review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2008, 7(1): 29 – 49.
- 31 EDWARDS J A. Zeaxanthin: review of toxicological data and acceptable daily intake[J]. Journal of Ophthalmology, 2016, 2016: 1 – 15.
- 32 VAN DE KRAATS J, KANIS M J, GENDERS S W, et al. Lutein and zeaxanthin measured separately in the living human retina with fundus reflectometry[J]. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2008, 49(12): 5568 – 5573.