

番茄红素微乳液的制备及表征

李淑珍^{1,2}, 白羽嘉^{1,2}, 李晓红³, 冯作山^{1,2}

(1. 新疆农业大学 食品科学与药学学院, 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆果品采后科学与技术重点实验室, 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆科宇科技有限公司, 乌鲁木齐 830010)

摘要:为提高番茄红素的稳定性和水溶性,采用低能乳化法制备番茄红素微乳液,利用伪三元相图优化番茄红素微乳液配方。探讨油相、乳化剂、助乳化剂、乳化剂与助乳化剂质量比(Km值)对微乳液形成的影响,通过计算并比较伪三元相图微乳液区域面积确定各因素的最佳值,并对微乳液的类型、形态、粒径、多分散指数(PDI)和Zeta电位进行测定。结果表明,番茄红素微乳液最佳配方为油相为亚麻籽油、乳化剂为吐温80、助乳化剂为无水乙醇、Km值为2:1,采用最佳配方得到的番茄红素微乳液为O/W型,微乳液液滴呈规则球形,粒径为(167.70±0.45)nm,PDI为0.179±0.006,Zeta电位为(-7.71±0.53)mV。采用该方法制备的番茄红素微乳液均一稳定。

关键词:番茄红素;微乳液;伪三元相图;粒径

中图分类号:TS202;O69

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2023)02-0147-06

Preparation and characterization of lycopene microemulsion

LI Shuzhen^{1,2}, BAI Yujia^{1,2}, LI Xiaohong³, FENG Zuoshan^{1,2}

(1. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2. Xinjiang Key Laboratory for Postharvest Science and Technology of Fruits, Urumqi 830052, China;

3. Xinjiang Keyu Technology Co., Ltd., Urumqi 830010, China)

Abstract: In order to improve the stability and water solubility of lycopene, lycopene microemulsion was prepared by low energy emulsification method. The formulation of lycopene microemulsion was optimized by pseudo-ternary phase diagram. The influences of oil phase, emulsifier, assistant emulsifier, mass ratio of emulsifier to assistant emulsifier (Km value) on the formation of microemulsion were discussed. The optimal value of each factor was determined by calculating and comparing the microemulsion area of the pseudo-ternary phase diagram. The type, morphology, particle size, polydispersity index and Zeta potential of lycopene microemulsion prepared with the optimal formula were measured. The results showed that the best formula of lycopene microemulsion was: oil phase was linseed oil, emulsifier Twain 80, assistant emulsifier anhydrous ethanol, Km value 2:1. Using the best formula, the lycopene microemulsion was O/W type microemulsion in regular spherical shape, and its particle size was (167.70±0.45) nm, the PDI was 0.179±0.006, and the Zeta potential was (-7.71±0.53) mV. The prepared lycopene microemulsion was homogeneous and stable.

Key words: lycopene; microemulsion; pseudo-ternary phase diagram; particle size

番茄红素属于类胡萝卜素类的脂溶性、深红色的晶体^[1-2],最早在番茄和葡萄柚等水果中被发现,是成熟番茄的色素之一^[3]。番茄红素有很强的抗氧

化活性^[4],能预防前列腺癌^[5-6]、乳腺癌^[7-8],增强机体免疫力^[9],保护肝脏^[10]和缓解糖尿病并发症^[11]等。番茄红素现已被认定为A类营养素,是一种具有营养与着色双重作用的食物添加剂^[12]。但番茄红素的稳定性较差,其单品难以保存,且番茄红素的脂溶性大大限制了其在食品中的应用。因此,寻求一种方法改善番茄红素的水溶性,增加番茄红素的稳定性十分必要。

微乳液是一种透明的分散体系,主要由油相、水

收稿日期:2021-11-25;修回日期:2022-09-05

作者简介:李淑珍(1996),女,硕士研究生,研究方向为食品营养与安全(E-mail)415692597@qq.com。

通信作者:冯作山,教授(E-mail) fengzuoshan@163.com;白羽嘉,副教授(E-mail) saintbyj@126.com。

相、乳化剂、助乳化剂组成。微乳液可以理解为两种不混溶液体在乳化剂界面膜的作用下形成各向同性、分散度大且均匀、热力学稳定的体系^[13]。微乳液能大量增溶脂溶性物质,且具有毒性小、安全性高、不需特殊设备即可大量生产等优点^[14],在果蔬、肉制品等的新鲜制品和加工产品中得到广泛应用^[15]。另外,微乳液作为一种先进的载体运输工具,能够显著提高食品功能因子的利用率^[16]。因此,微乳液在食品行业得到越来越多的关注。微乳液的制备方法主要有低能乳化法和高能乳化法。低能乳化法又分为自发乳化法、相变温度法和反向乳化法。其中自发乳化法是一种常用的低能乳化方法,需在油相和含助乳化剂的乳化剂中滴加蒸馏水或去离子水来促进稳定的微乳液体系形成^[17-18]。

本研究采用低能乳化法制备番茄红素微乳液,通过绘制伪三元相图分析微乳液的相行为变化,重点就番茄红素微乳液的油相、乳化剂、助乳化剂、乳化剂与助乳化剂质量比(K_m 值)进行优化,并对其微观结构、平均粒径、多分散指数(PDI)及 Zeta 电位进行研究,从而为低能乳化法制备番茄红素微乳液提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

番茄红素粉末(纯度 90%),西安瑞盈生物科技有限公司;玉米油、菜籽油、亚麻籽油、花生油,市售;吐温 20、吐温 40、吐温 60、吐温 80、无水乙醇、乙酸乙酯、亚甲基蓝,天津市致远化学试剂有限公司;甘油、1,2-丙二醇、正丙醇,天津市光复精细化工研究所;苏丹红Ⅲ,北京化工厂;番茄红素标准品,北京索莱宝科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

FA-2104N 型电子分析天平,上海民桥精密科学仪器有限公司;TU-1810 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;HHS-26 型电热恒温水浴锅,上海东星建材试验设备有限公司;TGL-16G 型高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;HT-7800 型透射电子显微镜,日立科学仪器有限公司;Nanoplus-3 型纳米粒度 Zeta 电位分析仪。

1.2 试验方法

1.2.1 油相的筛选

对于油相的选择主要基于其溶解番茄红素的量,试验中初步选取玉米油、菜籽油、亚麻籽油、花生油作为油相。

将 1.00 g 番茄红素加入到定量(10 g)的油相

中,密封,涡旋 10 min,以促进番茄红素与油相混合均匀。将混合物在 25 °C 避光条件下恒温振荡 24 h 以使其达到溶解平衡,随后将混合物以 10 000 r/min 离心 15 min,取 1 mL 上清液经乙酸乙酯定容至 100 mL 容量瓶,摇匀后稀释 10 倍,使用紫外可见分光光度计在 473 nm 处测定吸光度,根据番茄红素的标准曲线回归方程计算番茄红素在所选油相中的溶解度。

1.2.2 番茄红素微乳液的制备

采用低能乳化法^[19]中的自发乳化法制备空白微乳液,按一定的 K_m 值将乳化剂与助乳化剂混合均匀,将固定好的油相与其充分混合均匀,然后向体系中滴加蒸馏水,温度控制在 35 °C,搅拌 7 min 滴加一次蒸馏水。微乳液体系在某一时刻从浑浊变成澄清透明,即达到临界点,从而得到微乳液,记录此时蒸馏水的添加量。取 1.00 g 番茄红素溶于 10 g 油相中,按照最优空白微乳液的配比制备番茄红素微乳液。

1.2.3 伪三元相图的绘制

参照付婷婷^[20]的方法并稍作修改。将油相与乳化剂(含助乳化剂)分别按照 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 的质量比混合,按 1.2.2 方法制备微乳液,记录临界点时各相所占的质量分数。以油相、乳化剂(含助乳化剂)混合物相、水相作为伪三元相图的 3 个顶点,利用 Origin 2019 软件绘制即可得到这一体系的伪三元相图。再用 Auto CAD 2021 软件计算出各组微乳液区域的面积,面积越大,表明该微乳液的配比越适宜^[21]。

1.2.4 番茄红素微乳液类型的鉴别及形态观察

1.2.4.1 微乳液类型的鉴别

取相同体积的空白微乳液,分别置于试管中,同时滴入苏丹红Ⅲ(油溶性染料)和亚甲基蓝(水溶性染料)溶液,观察液滴在微乳液中的扩散速度及颜色变化。若滴入苏丹红Ⅲ后溶液皆为染料颜色且染料在溶液中快速扩散,则该乳液为 W/O 型,若滴入苏丹红Ⅲ后溶液出现分层,则为 O/W 型。与前者结果相反,若滴入亚甲基蓝后快速扩散,则为 O/W 型,否则为 W/O 型。

1.2.4.2 微乳液形态的观察

采用 HT-7800 型透射电子显微镜对番茄红素微乳液形态进行观察。用移液枪吸取 20 μ L 样品滴在碳膜铜网放置 5 min,然后用滤纸吸去多余液体。将 2% 磷钨酸滴在碳膜铜网放置 2 min,用滤纸吸去多余液体,室温干燥,待完全干透后置于透射电子显微镜下观察。

1.2.5 番茄红素微乳液粒径及 Zeta 电位的测定

将番茄红素微乳液样品加入清洁的样品池中,

25℃恒温保持2 min,使用纳米粒度 Zeta 电位分析仪测定番茄红素微乳液的粒径、多分散指数(PDI)和 Zeta 电位。

1.2.6 数据处理

利用 SPSS 20.0 软件处理数据,结果以“平均值±标准偏差”表示,采用 Origin 2019 软件绘图,用 AutoCAD 2021 软件计算微乳液区域的面积。

2 结果与讨论

2.1 油相的选择

番茄红素在不同油相中的溶解度见表 1。

表 1 番茄红素在不同油相中的溶解度

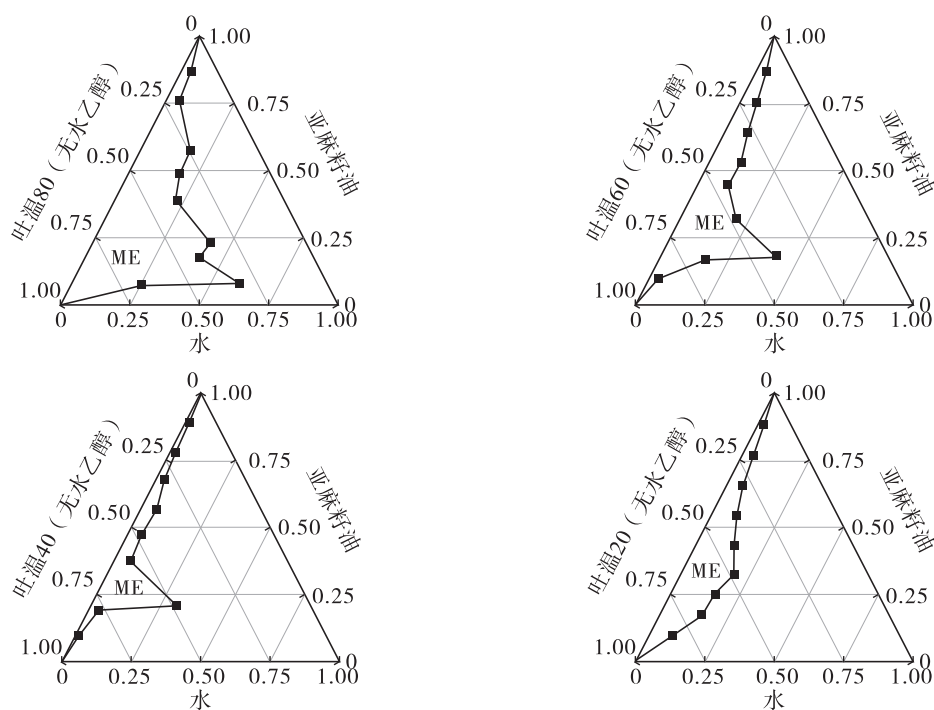
油相	溶解度/($\mu\text{g}/\text{mL}$)
亚麻籽油	13.85 ± 0.16
菜籽油	9.51 ± 0.14
玉米油	11.14 ± 0.26
花生油	4.49 ± 0.48

由表 1 可知,番茄红素在 4 种油相中的溶解度大小依次为亚麻籽油 > 玉米油 > 菜籽油 > 花生油。亚麻籽油中不饱和脂肪酸含量在 90% 以上,其中 α -亚麻酸含量超过 54%,具有很好的营养价值^[22]。张贝贝等^[22]将亚麻籽油制备成纳米脂质体,可以很好地延缓亚麻籽油在加工、运输、消费过程中的氧化。故本试验选用亚麻籽油作为制备微乳液的固定油相。

2.2 番茄红素微乳液制备的条件选择

2.2.1 乳化剂的选择

本试验选择 4 种吐温类乳化剂,分别为吐温 20、吐温 40、吐温 60 和吐温 80。按 1.2.3 中的比例精确称取亚麻籽油和乳化剂(含助乳化剂),在助乳化剂为无水乙醇、Km 值为 2:1 下,按照 1.2.2 方法制备 9 组空白微乳液。记录体系达到澄清透明时蒸馏水的添加量,绘制伪三元相图,结果见图 1。



注:ME 表示微乳液区域。下同

图 1 不同乳化剂的伪三元相图

由图 1 可知,固定油相为亚麻籽油,助乳化剂为无水乙醇,用 4 种不同乳化剂制备微乳液时形成的微乳液区域面积不同,当乳化剂为吐温 80 时微乳液区域的面积最大,为 42%,且含水量也最大,亲水性强,促进形成 O/W 型微乳液。使用吐温 60、吐温 40、吐温 20 时微乳液区域面积分别为 25%、11%、19%,效果不如吐温 80。吐温 80 属于毒性、刺激性、溶血性都很小的非离子型表面活性剂,亲水亲油平衡值(HLB 值)为 16.7,亲水性较强,亲油性相对

较弱。因此,选用吐温 80 作为乳化剂。

2.2.2 助乳化剂的选择

助乳化剂可以调节乳化剂的 HLB 值,并形成更小的液滴。选取 4 种助乳化剂,分别为无水乙醇、甘油、1,2-丙二醇、正丙醇。按 1.2.3 中的比例精确称取亚麻籽油和乳化剂(含助乳化剂),在乳化剂为吐温 80、Km 值为 2:1 下,按照 1.2.2 方法制备 9 组空白微乳液,记录体系达到澄清透明时蒸馏水的添加量,绘制伪三元相图,结果见图 2。

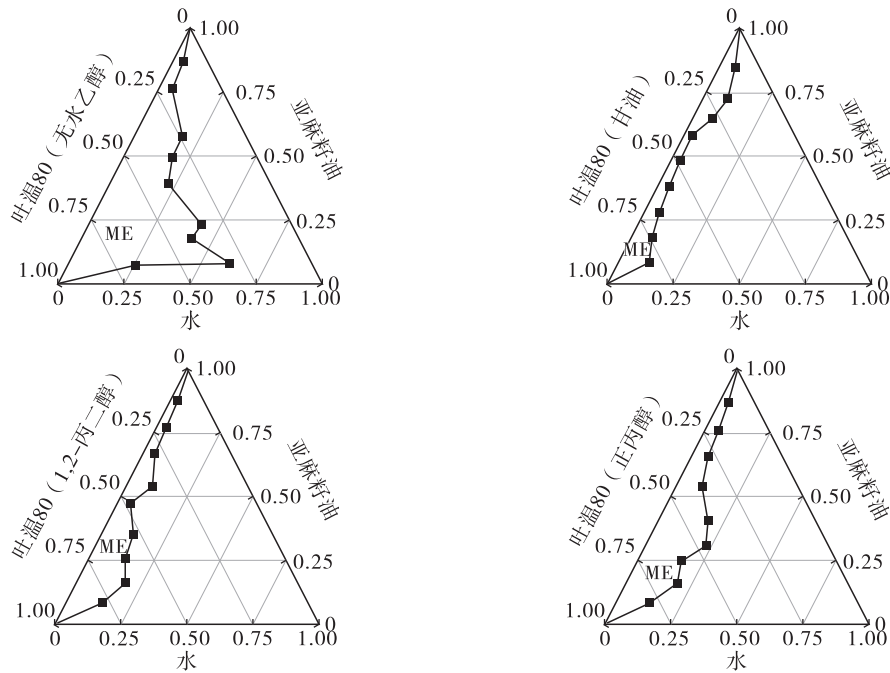


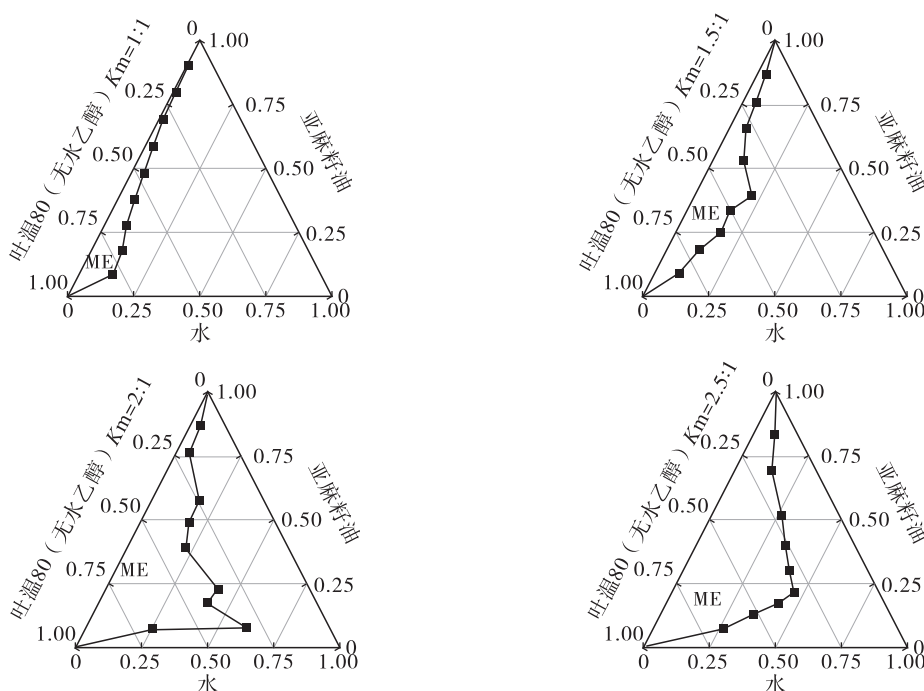
图2 不同助乳化剂的伪三元相图

由图2可知,当选用无水乙醇、甘油、1,2-丙二醇、正丙醇作为助乳化剂时微乳液区域的面积分别为42%、13%、16%、21%。含有甘油的微乳液区域面积小于其他3种助乳化剂,可能是由于甘油表面出现高黏度和低流动性,从而降低了其在界面区和水相中的渗透。与其他助乳化剂相比,使用无水乙醇时更容易促使微乳液形成,在界面膜的乳化剂中无水乙醇更容易插入,从而降低界面膜的表面张力,使体系的稳定性和流动性得以增加,进一步使界面膜伸张和弯曲形成微乳液。因此,选择无水乙醇作

为助乳化剂。

2.2.3 K_m 值的选择

研究表明,微乳液乳化剂和助乳化剂种类相同的条件下, K_m 值不同会影响微乳液区域面积大小^[23]。按1.2.3中的比例精确称取20g的亚麻籽油和乳化剂(含助乳化剂),在乳化剂为吐温80, K_m 值分别为1:1、1.5:1、2:1、2.5:1下,按照1.2.2方法制备9组空白微乳液,记录体系达到澄清透明时蒸馏水的添加量,绘制伪三元相图,结果见图3。

图3 不同 K_m 值的伪三元相图

由图3可知,在一定范围内,微乳液区域面积随 K_m 值的增大表现出较明显的增大趋势。 K_m 值为1:1、1.5:1、2:1、2.5:1时形成的微乳液区域面积分别为11%、19%、42%、46%。 K_m 值从1:1增加到1.5:1时,微乳液区域面积增加了8个百分点, K_m 值从1.5:1增加到2:1时,微乳液区域面积增加了23个百分点, K_m 值从2:1增加到2.5:1时,微乳液区域面积增加了4个百分点。 K_m 值大于2:1时,由于过多的乳化剂形成的界面膜柔韧性较低,加之没有足够的助乳化剂软化,容易形成凝胶区域。当 K_m 值为2:1时,乳化剂与助乳化剂能很好地吸附于界面上,促进微乳液的形成,从而形成微乳液的效果最好。因此,选择2:1作为 K_m 值。

2.3 番茄红素微乳液类型的鉴别及形态观察

2.3.1 微乳液类型的鉴别

分别在空白微乳液中加入等量亚甲基蓝和苏丹红Ⅲ,鉴别结果如图4所示。由图4可知,亚甲基蓝在微乳液中的扩散速度快于苏丹红Ⅲ,所以制备的微乳液为O/W型。

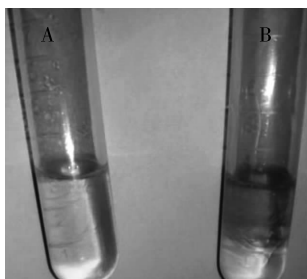


图4 亚甲基蓝(A)、苏丹红Ⅲ(B)在空白微乳液中的扩散结果

2.3.2 微乳液形态的观察

番茄红素微乳液的形态如图5所示。由图5可知,微乳液液滴呈圆整规则的球形,成型性好。

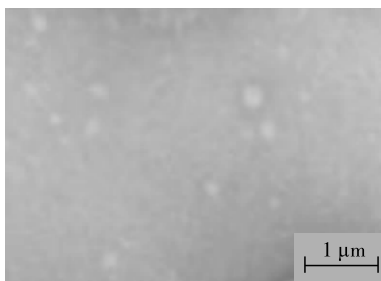


图5 番茄红素微乳液的透射电子显微镜图

2.4 番茄红素微乳液粒径及Zeta电位

粒径是观察微乳液形态及分布的一种重要方法,也是影响稳定性的重要参数之一,较小的粒径可以提供较大的界面面积。番茄红素微乳液粒径分布结果见图6。番茄红素微乳液平均粒径为 (167.70 ± 0.45) nm。多分散指数(PDI)可以反映微乳液中粒子的分散宽度,依据动态光散射国际化标准 ISO

13321 计算得到^[24]。PDI在0.1~0.3之间则表示样品是单分散体系,PDI越大,体系越复杂。番茄红素微乳液的PDI为 0.179 ± 0.006 ,属于单分散体系。

Zeta电位常用来描述乳液的稳定性,Zeta电位的绝对值越高,体系内的粒子由于电斥性越不易聚集,因而稳定性越好^[25]。经测定,番茄红素微乳液的Zeta电位为 (-7.71 ± 0.53) mV,其稳定性良好。

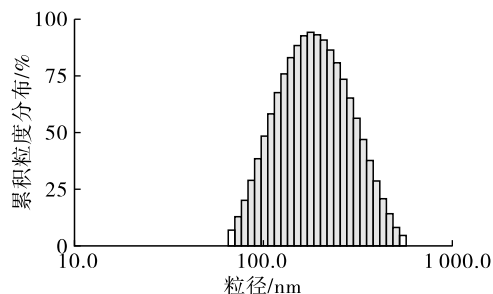


图6 番茄红素微乳液的粒径分布

3 结论

采用低能乳化法制备番茄红素微乳液,通过Origin 2019软件绘制伪三元相图和AutoCAD 2021软件分析计算微乳液区域面积。成功构建了番茄红素O/W型微乳液体系并确定微乳液最优配方为油相选用亚麻籽油,乳化剂选用吐温80,助乳化剂选用无水乙醇, K_m 值为2:1。在最优组合条件下所制备的番茄红素微乳液平均粒径为 (167.70 ± 0.45) nm,多分散指数为 0.179 ± 0.006 ,Zeta电位为 (-7.71 ± 0.53) mV,表明所制备的微乳液均一稳定。本研究为番茄红素微乳液进一步研究提供依据。

参考文献:

- [1] 刘立国,吴晶. 番茄红素及生产应用研究[J]. 食品工业科技,2002,23(4):74-75.
- [2] 李琳,吴永娟,曾凡坤. 番茄红素的研究进展[J]. 食品科学,2000,21(5):8-11.
- [3] 乔强. 番茄红素保健功能研究及其应用进展[J]. 现代食品,2022,28(13):20-22.
- [4] 杨娜,李明,胡家栋,等. 番茄红素对UVA氧化损伤皮肤成纤维细胞的保护作用[J]. 生物技术通报,2013(11):142-147.
- [5] 肖仕全,王利,刘太行,等. 基于生物信息技术挖掘番茄红素对前列腺癌细胞的作用靶点[J]. 重庆医科大学学报,2019,44(7):878-884.
- [6] 赵钦欣,杨飞亚,陈东,等. 番茄红素联合槲皮素、姜黄素对大鼠慢性前列腺炎/慢性骨盆疼痛综合征的治疗作用以及机制的初步探讨[J]. 中华男科学杂志,2021,27(2):99-105.
- [7] 王爱红,张立实. 番茄红素对乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231增殖的影响[J]. 四川大学学报(医学

- 版),2007(6):958-960,976.
- [8] 李丽,李蕴成. 番茄红素与常见肿瘤关系研究进展[J]. 现代预防医学,2008,35(1):17-18.
- [9] 陈垚,卢连华,吕志敏,等. 番茄红素增强免疫力和抗氧化作用的研究[J]. 预防医学论坛,2018,24(5):393-396.
- [10] 张配配. 番茄红素补充对非酒精性脂肪肝大鼠糖脂代谢和铁过载的改善作用及机制研究[D]. 山东 青岛:青岛大学,2020.
- [11] 刘艳峰,段丽萍,郭艳敏,等. 番茄红素对糖尿病肾病大鼠内质网应激的影响[J]. 中医药导报,2021,27(9):36-40.
- [12] SALVIA - TRUJILLO L, VERKEMPINCK S, RIJAL S K, et al. Lipid nanoparticles with fats or oils containing β - carotene; storage stability and in vitro digestibility kinetics [J]. Food Chem, 2019, 278:396-405.
- [13] PRINCE L M. Microemulsions: theory and practice[M]. New York: Academic Press, 1977:10-30.
- [14] 马新辉. 花青素微乳的制备及体外抗氧化活性评价[D]. 海口:海南大学,2017.
- [15] 孙琪,邱斌,徐同成,等. 微乳液在食品中的研究、应用和前景展望[J]. 食品工业,2021,42(11):301-304.
- [16] 张婷,赵苏安,王贺. 食品级微乳液的制备及其稳定性研究进展[J]. 农产品加工,2019(16):67-70.
- [17] SANTANA R C, PERRECHIL F A, CUNHA R L. Lowenergy emulsifications for food applications; a focus on process parameters[J]. Food Eng Rev, 2013, 5(2):107-121.
- [18] YUAN X, XIAO J, LIU X, et al. The gastrointestinal behavior of emulsifiers used to formulate excipient emulsions impact the bioavailability of β - carotene from spinach[J]. Food Chem, 2019, 278:811-819.
- [19] 杨冠杰,梁鹏. 微乳液在食品营养与安全领域的研究进展[J]. 食品研究与开发,2020,41(8):210-217.
- [20] 付婷婷. 番茄红素微乳的制备及特性研究[D]. 江苏 无锡:江南大学,2012.
- [21] 涂行浩,张帅中,唐景华,等. 澳洲坚果油微乳体系的构建[J]. 热带作物学报,2019,40(2):359-367.
- [22] 张贝贝,田少君. 亚麻籽油纳米脂质体的制备及体外释放性能研究[J]. 中国油脂,2017,42(9):49-54.
- [23] 闫圣坤,张连富. 番茄红素微乳化体系的制备[J]. 食品工业科技,2012,33(2):322-325.
- [24] GARTI N, SPERNATH A, ASERIN A, et al. Nano - sized self - assemblies of nonionic surfactants as solubilization reservoirs and microreactors for food systems [J]. Soft Matter, 2005, 1(3):206-218.
- [25] 马雪松. 紫甘薯色素的微乳化和微胶囊化[D]. 天津:天津科技大学,2015.
-
- (上接第122页)
- [10] ZOU X Q, HUANG J H, JIN Q Z, et al. Lipase - catalyzed synthesis of human milk fat substitutes from palm stearin in a continuous packed bed reactor[J]. J Am Oil Chem Soc, 2012, 89(8):1463-1472.
- [11] NORIZZAH A R, CHONG C L, CHEOW C S, et al. Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of palm stearin and palm kernel olein blends [J]. Food Chem, 2004, 86:229-235.
- [12] 薛元强,刘思敏,韩立娟,等. 甘二酯对油脂中抗氧化剂活性的影响[J]. 中国油脂,2020,45(10):57-61.
- [13] ZOU X Q, HUANG J H, JIN Q Z, et al. Preparation of human milk fat substitutes from lard by lipase - catalyzed interesterification based on triacylglycerol profiles [J]. J Am Oil Chem Soc, 2014, 91(12):1987-1998.
- [14] ZOU X Q, JIN Q Z, GUO Z, et al. Preparation and characterization of human milk fat substitutes based on triacylglycerol profiles[J]. J Am Oil Chem Soc, 2016, 93(6):781-792.
- [15] ÁLVAREZ C A, AKOH C C. Enzymatic synthesis of infant formula fat analog enriched with capric acid[J]. J Am Oil Chem Soc, 2015, 92(7):1003-1014.
- [16] ZOU X Q, JIN Q Z, GUO Z, et al. Preparation of 1,3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol - rich structured lipids from basa catfish oil; combination of fractionation and enzymatic acidolysis[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2016, 118(5):708-715.
- [17] ZOU X Q, HUANG J H, JIN Q Z, et al. Preparation of human milk fat substitutes from palm stearin with arachidonic and docosahexaenoic acid; combination of enzymatic and physical methods[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60:9415-9423.
- [18] 宋戈,亢美娟,杨金宝. 正相液相色谱法测定婴幼儿配方乳粉中1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯[J]. 色谱,2016,34(3):351-355.