

# 用大豆蛋白-甜菊糖苷复合稳定剂制备植物甾醇纳米乳液及其稳定性研究

李青, 曹婷, 杨韵仪, 黎荷, 骆士华, 万芝力, 杨晓泉

(华南理工大学食品科学与工程学院蛋白质工程与营养研究中心,  
广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室, 广东广州 510640)

**摘要:** 本研究使用大豆蛋白 (Soy protein isolate, SPI)-甜菊糖苷 (Steviol glycosides, STE) 复合体系作为天然稳定剂制备负载植物甾醇的纳米尺度乳液, 进一步通过喷雾干燥获得油粉。油-水界面张力测试表明, STE 的添加有利于快速降低油-水界面张力。乳液的粒度及稳定性分析结果显示, 单独 SPI 稳定的新鲜乳液平均粒径为 282.9 nm, 而添加 1 wt% 和 2 wt% STE 复合稳定的乳液粒径分别为 217.2 和 193.9 nm; 与单独稳定的乳液相比, 复合稳定的乳液在 4 °C 下放置 30 d 后, 粒径变化较小, 表明 STE 的添加有利于降低乳液粒度及提高贮藏稳定性。SEM 图及油粉结构表征表明, 单独 SPI 稳定的粉剂表面光滑平整, 球形颗粒很少, 但黏性较强; 当添加 STE (尤其是 1 wt%~2 wt%) 时, 复合稳定的油粉无明显黏性, 表面粗糙, 布满了大小均匀的球形颗粒, 表明植物甾醇能被很好地包埋在乳液油滴中; 该分析进一步在 FT-IR 及 XRD 数据中得到证实。本研究以天然 SPI-STE 作为稳定剂制备的植物甾醇纳米乳液及其粉剂, 这样能改善植物甾醇的水溶性, 提高其生物利用度, 而所得的复合稳定的油粉可用作一种新型的植物甾醇功能性食品配料。

**关键词:** 纳米乳液; 大豆蛋白; 甜菊糖苷; 植物甾醇; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2019)03-133-139

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.3.021

## Stability of Phytosterol-loaded Nanoemulsions Prepared Using Soy Protein-stevioside Complex as the Stabilizer

LI Qing, CAO Ting, YANG Yun-yi, LI He, LUO Tu-hua, WAN Zhi-li, YANG Xiao-quan

(Research and Development Center of Food Proteins, College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangdong Province Key Laboratory for Green Processing of Natural Products and Products Safety, Guangzhou 510640)

**Abstract:** In this study, phytosterol-loaded nanoemulsions were prepared using soy protein-stevioside complex as a natural stabilizer, and then spray-dried into oil powder. The oil-water interfacial tension measurements revealed that the addition of STE concentration is beneficial to reduce rapidly the oil-water interfacial tension. The analyses of emulsion particle size and stability showed that the average particle size of the fresh emulsions stabilized by SPI alone was 282.9 nm, while the particle size of the emulsion stabilized by SPI-1 wt% STE and SPI-2 wt% STE complexes were 217.2 and 193.9 nm, respectively. Compared with the emulsion stabilized by SPI alone, the change in the particle size of emulsions stabilized by SPI-STE was smaller after storage at 4 °C for 30 days. This result suggests the addition of STE facilitated the reduction of the particle size of emulsions and improvement of their storage stability. The examinations by SEM and characterization of oil powder structure showed that the powder stabilized by SPI alone had a smooth and flat surface with few in spherical granules but relatively high viscosity. When STE (especially at 1 wt%~2 wt%) was added, the oil powders stabilized by SPI-STE complex hardly exhibited any viscosity with rough surfaces, and were covered with spherical particles of uniform size, indicating that phytosterols have been well encapsulated in the emulsion droplets. This analysis result was further confirmed by FT-IR and XRD examinations. This research used natural SPI-STE as the stabilizer to prepare phytosterol-loaded nanoemulsion and its powder, by which the water solubility and bioavailability of phytosterol have been improved, thus, phytosterol-loaded nanoemulsion stabilized by SPI-STE could be used as a novel phytosterol functional food ingredient.

收稿日期: 2018-07-24

基金项目: 中央高校基本科研业务费资助项目 (2017BQ101); 中国博士后科学基金特别资助项目 (2017T100635); 国家自然科学基金面上资助项目 (2016M600655)

作者简介: 李青 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 蛋白质化学与营养

通讯作者: 万芝力 (1987-), 男, 副研究员, 研究方向: 蛋白质化学与工程

**Key words:** nanoemulsions; soy protein; steviol glycosides; phytosterol; stability

大豆分离蛋白(Soy protein isolate, SPI)是一种常用的优质植物蛋白质,具有优良的功能性质和较高的营养价值<sup>[1]</sup>。同时,SPI是一种两亲性高分子,可用于稳定油-水界面以制备水包油型乳液体系<sup>[2,3]</sup>。甜菊糖苷(Steviol glycosides, STE)是一类从甜叶菊叶子中提取的天然高甜度、低热值的甜味剂,其甜度是蔗糖的200~300倍,被称为“世界第三糖源”,作为食品添加剂被广泛使用于亚洲、欧盟以及北美等市场<sup>[4]</sup>。此外,STE还具有许多重要的生物功能,如降血压、降血糖、抗肿瘤和免疫调节等。STE的分子结构与三萜皂苷类似,由疏水甜菊醇骨架连接亲水性的双侧糖基(葡萄糖基和鼠李糖基)构成,是一种典型的两亲性分子结构<sup>[5]</sup>。本课题组前期研究已发现STE具有显著的表面活性,是一种新型的天然表面活性剂,与大豆蛋白复合使用可显著提升蛋白的界面活性及乳液、泡沫的稳定性<sup>[6-9]</sup>。目前,国内外较少研究利用蛋白质与STE复合体系制备纳米尺度乳液,使用该体系荷载生物活性成分,提高难溶性生物活性因子的水溶性及生物利用率的应用也相对较少。

植物甾醇是一类天然醇类化合物,生物活性高,不仅可以抑制人体对胆固醇的吸收<sup>[10,11]</sup>,促进降解代谢和生化合成;还能增强免疫力、抗炎、抗衰老、预防糖尿病,广泛地运用于医药、食品、化妆品以及化工、纺织等各个领域<sup>[12,13]</sup>,如今全球47个国家对其认可并将其应用在食品当中。但游离植物甾醇在水与植物油中溶解性都很低,其生物可利用性也较差。人们常将植物甾醇添加于油脂含量较高的食物中,如黄油、饼干和奶油等。随着研究的深入,植物甾醇越来越广泛的包埋在乳液体系中,用于提高植物甾醇在水基食品中的应用<sup>[14]</sup>。其中,纳米乳液(Nanoemulsions)因其液滴尺寸较小、粘度较低等优点,在改善难溶性活性成分的水溶性及生物利用度上显示出比传统乳液更为巨大的应用潜力。

在我们课题组前期研究<sup>[15]</sup>中已证实,大豆蛋白与甜菊糖苷在体相溶液中可通过疏水相互作用结合形成复合体系,本文以天然安全的大豆蛋白-甜菊糖苷复合体系作为稳定剂,利用植物甾醇在油脂中“热熔冷沉”的溶解特点,采用高压微射流均质处理制备出富含植物甾醇的纳米尺度乳液,并进一步将该纳米乳液进行喷雾干燥处理,获得富含植物甾醇的油粉。本研究制备的植物甾醇纳米乳及油粉可改善植物甾醇的水溶性,同时稳定剂为天然、食品级的SPI-STE,具备直接用作植物甾醇功能性食品配料的能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

低温脱脂豆粕由山东禹王实业有限公司提供;甜菊糖苷由济宁奥星甜菊制品有限公司提供,总苷含量大于95%;植物甾醇购于广州博儒实验设备有限公司,其中 $\beta$ -甾醇含量为75%;葵花籽油由中粮集团有限公司生产,购于当地超市;十二水合磷酸氢二钠,氢氧化钠等化学试剂均为国产分析纯,所有实验用水均为去离子水。

### 1.2 主要仪器设备

M-110-EH-30 高压微射流纳米均质机,美国MFIC公司;OCA20 视频光学接触角测量仪,德国Dataphysics公司;VERTEX70 傅里叶变换红外光谱仪,德国Burker公司;D8ADVANCE X射线多晶衍射仪,德国Burker公司;Mini Spray DryerB-2 喷雾干燥仪,德国BUCHI公司;Nano-ZS 纳米粒度及Zeta电位分析仪,英国Malvern公司;TM3000 扫描电镜,日本HITACHI公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 大豆分离蛋白(SPI)的制备

采用碱溶酸沉的方法制备大豆分离蛋白(SPI)。按料液比1:10向粉碎后的低温脱脂豆粕中加入去离子水,用2 mol/L的NaOH将pH调节至8.0,室温下搅拌2 h后用离心机离心(8000 g, 20 min)。用2 mol/L的HCl调节上清液pH至4.5,之后在4℃之下静置30 min进行酸沉,经过离心机离心(8000 r/min, 15 min)后的蛋白沉淀物经去离子水多次洗涤表面,后以料液比1:7加入去离子水,用2 mol/L NaOH调节pH到7.5,搅拌使其充分溶解。获得的蛋白溶液经48 h透析后,冻干备用。经杜马斯定氮仪测定制备的SPI蛋白含量为88.79%±0.51%(N5.71)。

#### 1.3.2 SPI-STE复合体系的制备

称取一定量的大豆分离蛋白(SPI)和甜菊糖苷(STE)样品,分别溶于10 mM磷酸盐缓冲液(pH 7.0)中,在室温下匀速搅拌2 h。将搅拌后的SPI和STE溶液在4℃下放置过夜12 h,以确保蛋白充分水化。将充分水化后的SPI溶液放入95℃的水浴中加热30 min后,立即进行冰浴处理,同时将STE溶液的pH调节至7.0。按一定比例混合SPI溶液和STE溶液,



配制出一系列不同浓度比的 SPI-STE 混合溶液, 其中 SPI 最终浓度恒定为 1 wt%, STE 的含量为 0 wt%~2 wt%。混合溶液在室温下匀速搅拌 10~20 min, 以保证 SPI 和 STE 之间通过疏水相互作用充分结合, 形成复合体<sup>[15]</sup>。

### 1.3.3 SPI-STE 复合稳定植物甾醇纳米乳液的制备

称取一定量的植物甾醇, 将其加入至葵花籽油中, 放入恒温水浴锅中进行 95 °C 加热处理, 保证植物甾醇充分溶于葵花籽油中。将 SPI-STE 混合溶液和葵花籽油以一定比例混合, 室温下搅拌 20 min 后, 将混合液经高速剪切机 (5000 r/min, 2 min) 预均质后得到粗乳液, 再经微射流均质 (100 MPa, 3 次) 处理后得到细乳液。最终的乳液组成为: 分散相 (油相) 与连续相 (水相) 比例为 1:9 (*W/W*), 连续相 (水相) 为 10 mM 磷酸盐缓冲液 (pH 7.0), 乳化剂中 SPI 浓度恒定为 1 wt%, STE 浓度为 0 wt%~2 wt%, 植物甾醇 (10 wt% 油相)。用 HCl 和 NaOH 将乳液的 pH 调节为 7.0, 最后加入 0.04 wt% 叠氮钠, 以抑制微生物的生长<sup>[15]</sup>。

### 1.3.4 动态表面张力的测定

采用滴形分析法 (Drop Shape Analysis) 监测待测样品在油-水界面上吸附的过程中表面张力随吸附时间的变化。试验时, 将连接在毛细管上的不锈钢针 (外径为 1.65 mm, 内径为 1.19 mm) 插入装有油相的矩形玻璃透明槽内。将配置的 SPI-STE 复合体系置于注射器中, 静置 30 min, 使样品温度达到平衡。电动注射控制单元通过毛细管注入样液, 在针尖上形成 12  $\mu\text{m}$  的液滴, 并马上利用 CCD 视频摄像系统连续采集液滴外形图像, 测试时间持续 2 h。界面张力通过分析悬滴形状并根据杨氏-拉普拉斯方程计算。所有测试都在 25 °C 完成, 数据是 3~7 次实验的平均值, 测定结果的误差控制在 0.5 mN/m 以内<sup>[15]</sup>。

### 1.3.5 乳液的粒度及稳定性测定

选用制备的新鲜乳液的粒度分布来评估大豆蛋白纳米乳液的乳化性质。将制备好的大豆蛋白纳米乳液用 10 mM 的磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 稀释 200 倍, 装入 2 mL 的塑料密封管中, 采用 Nano-ZS 纳米粒度及电势仪来测定乳液油滴的粒径大小和多分散性指数 (PDI 值)。参数设置为: 颗粒折射率为 1.473; 颗粒吸收率为 0.001; 分散剂为水; 分散剂折射率为 1.330。将乳液于 4 °C 下放置 30 d 后, 测定乳液的粒度的变化, 并记录乳液外观的变化情况, 测定乳液稳定性。

### 1.3.6 乳液的 Zeta-电位测定

将制备好的大豆蛋白纳米乳液用 10 mM 的磷酸盐缓冲液 (pH 7.0) 稀释 200 倍, 装入 2 mL 的塑料密

封管中, 采用 Nano-ZS 纳米粒度及电势仪测定乳液液滴的 Zeta-电势大小 (mV)。

### 1.3.7 乳液稳定性测定

选取微射流均质条件为 100 MPa, 处理次数 3 次制备不同复合浓度体系稳定的乳液。将制备好的细乳液立即分装到可密封的乳液管中。盖紧密封后将乳液于 4 °C 下放置 30 d 后, 测定乳液的粒度的变化, 并记录乳液外观的变化情况。

### 1.3.8 喷雾干燥处理

采用 Mini Spray Dryer B-290 喷雾干燥仪对 SPI-STE 天然复合稳定剂制备的植物甾醇纳米乳液进行喷雾干燥处理。喷雾干燥的条件为: 进出口温度分别为 150 °C 和 45 °C, 压力为 75 MPa。

### 1.3.9 扫描电镜分析

采用 HITACHI, TM3000 扫描电镜观察。取少量乳液经喷雾干燥后制得的粉末样品用导电胶固定于样品台上, 用洗耳球吹掉多余的粉末。将少量样品用导电胶固定于样品台上。喷金后置于扫描电镜中观察。

### 1.3.10 傅里叶变换红外光谱测定

采用 VERTEX70 傅里叶变换红外光谱仪进行组分分析。红外光谱条件: 扫描范围: 4000  $\text{cm}^{-1}$ ~400  $\text{cm}^{-1}$ , 分辨率为 4  $\text{px}^{-1}$ , 峰峰值为 55000:1。

### 1.3.11 X 射线多晶衍射仪 (XRD) 测定

采用 X 射线多晶衍射仪 (XRD) 测定植物甾醇纳米颗粒的晶体状态。实验的操作条件为: 辐射源为铜靶, X 射线光源输出功率为 3 kW, 2 $\theta$  测量范围: -100°~150°, 入射波长为 0.15418 nm。LynxExe 阵列探测器的膜面扫描步长为 0.02°, 扫描范围为 5~40°。

### 1.3.12 数据分析

实验数据通过数据分析系统软件 (SAS 软件) 经过单因素方差分析并在结果之间进行相关性统计。显著性分析通过 Duncan 的多范围检验 (Duncan's multiple range test) 得到,  $p < 0.01$  表示极显著,  $p < 0.05$  表示显著,  $p > 0.05$  表示不显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 SPI-STE 复合制备植物甾醇纳米乳液的粒度, Zeta-电位及贮藏稳定性研究

以大豆蛋白-甜菊糖苷复合体系为稳定剂制备植物甾醇纳米乳液, SPI 的浓度恒定为 1 wt%, STE 浓度分别为 0.1 wt%、0.25 wt%、0.5 wt%、1 wt%、2 wt%, 植物甾醇浓度为 10 wt% (相对葵花籽油计算)。表 1 为新鲜乳液粒度、电位及常温 (25 °C) 贮藏 30 d 后

的乳液粒度。如表 1 数据所示, 由单独 SPI 稳定的植物甾醇纳米乳液粒径较大, 达 282.9 nm; 随着 STE 浓度的增加, 乳液粒径逐渐减小, 添加 2 wt% STE 的乳液平均粒径为 193.9 nm, 表明 STE 的添加有利于降低乳液粒度, 制备出纳米乳液, 这可能与表面活性剂在

油-水界面的吸附速度及界面张力降低有关。从 Zeta-电位数据我们可以看出, STE 的添加量对乳液 Zeta-电位并无显著影响, Zeta-电位值皆保持在-28 到-25 mV 范围内, 表明 STE 的添加未对乳液表面电势产生明显影响。

表 1 SPI-STE 复合稳定剂制备的植物甾醇纳米级乳液的乳液粒径、PDI 值、Zeta-电位和储藏稳定性

Table 1 Particle size, PDI values, zeta-potential and storage stability of phytosterol-loaded emulsions prepared by SPI-STE mixtures

| 乳液           | 新鲜乳液平均粒径/nm | PDI       | Zeta-电位/mV  | 贮藏 30 d 乳液平均粒径/nm |
|--------------|-------------|-----------|-------------|-------------------|
| 1%SPI        | 282.9±1.06  | 0.23±0.01 | -25.07±0.83 | 315.3±2.45        |
| SPI+0.1%STE  | 241.0±0.86  | 0.24±0.01 | -17.80±0.36 | 282.7±1.34        |
| SPI+0.25%STE | 237.9±1.93  | 0.28±0.03 | -26.47±0.75 | 268.6±1.62        |
| SPI+0.5%STE  | 252.3±3.25  | 0.29±0.02 | -25.77±0.97 | 260.1±2.75        |
| SPI+1%STE    | 217.2±1.92  | 0.29±0.02 | -26.93±0.77 | 203.2±1.01        |
| SPI+2%STE    | 193.9±1.47  | 0.19±0.01 | -28.00±1.91 | 183.7±0.61        |
| 2%STE        | 155.3±0.63  | 0.21±0.01 | -28.07±1.28 | 245.4±0.49        |

表 1 中还显示了乳液经 30 d 放置后的平均粒径。分析数据可知, 与单独 1 wt% SPI 稳定的乳液相比, SPI-STE 复合体系制备的植物甾醇纳米乳液稳定性显著提高。当 STE 浓度较低时 (0.1 wt%~0.25 wt%), 纳米乳液的粒径变化较大, 在 40 nm 左右, 但随着 STE 浓度的增大 (0.5 wt%~2 wt%), 30 d 后的乳液粒径变化皆在 15 nm 的范围内; SPI-STE 复合稳定的植物甾醇纳米乳液显示了良好的储存稳定性, 表明复合体系稳定界面的能力更强。单独 STE 稳定的乳液在室温下贮藏 30 d 后, 乳液粒径变大更明显, 表明单独 STE 的稳定作用较差, 在贮藏过程中易出现乳滴聚集现象, 导致乳液粒度增大。

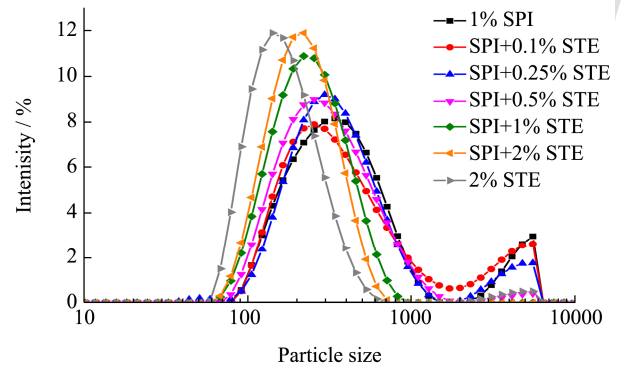


图 1 SPI-STE 复合稳定剂制备的新鲜植物甾醇纳米乳液的粒径分布图

Fig.1 Particle size distribution of fresh phytosterol-loaded emulsions stabilized by 1 wt% SPI with various amounts of STE (0 wt%~2 wt%)

图 1 为 SPI-STE 复合稳定剂制备的新鲜植物甾醇乳液的粒径分布图。由图 1 可知, 随着 STE 添加量的增加, 乳液粒度分布曲线逐渐左移, 粒度分布宽度逐渐变狭窄。表明高浓度的 STE 制备的纳米乳液分散性

更好更均匀, STE 与 SPI 复合使用可显著提升 SPI 的界面活性, 这与表 1 新鲜乳液的平均粒径数据结果一致。值得注意的是, 与较高浓度 STE (1 wt%~2 wt%) 复合稳定的乳液相比, 单独 SPI 与较低浓度 STE (0.1 wt%~0.5 wt%) 复合稳定乳液的粒度分布在 1 μm 后会出现一个光强峰, 这表明乳液中存在一些乳滴絮凝体 (Flocculation), 暗示这些乳液的稳定性相对较差。

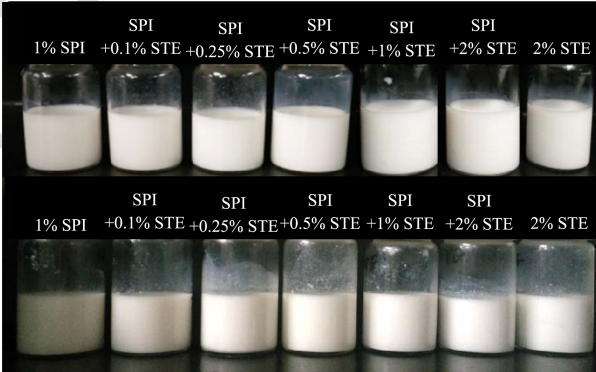


图 2 SPI-STE 复合稳定的植物甾醇纳米乳液储存前后的外观图  
Fig.2 Images of phytosterol-loaded emulsions stabilized by mixed solutions of 1 wt% SPI with various amounts of STE (0 wt%~2 wt%) before and after storage

注: 上图为新鲜乳液, 下图为放置 30 d 后乳液。

图 2 为乳液储存前后 (上图为新鲜乳液, 下图为放置 30 d 后乳液) 的外观图, 从中可看出乳液存放 30 d 后并没有明显的乳析现象, 说明 SPI-STE 复合稳定的植物甾醇纳米乳液有较好的贮藏稳定性。这与表 1 中 30 d 乳液的平均粒径结果相符合。本研究组前期研究已显示<sup>[15]</sup>, STE 与 SPI 在体相溶液中可通过疏水相互作用发生非特异性结合, 该结合能促进大豆蛋白分子的部分解离以及刚性结构的松散, 这些变化可使蛋白质分子在界面上进一步伸展, 使 SPI-STE 复合体表

现了比单独 SPI 和 STE 都要高的界面活性,从而提高乳液的长期贮藏稳定性<sup>[7,9]</sup>,与本次研究结果一致,表明荷载植物甾醇并未影响 SPI-STE 乳液体系的稳定。

## 2.2 SPI-STE 复合体系在油-水界面吸附特性

研究

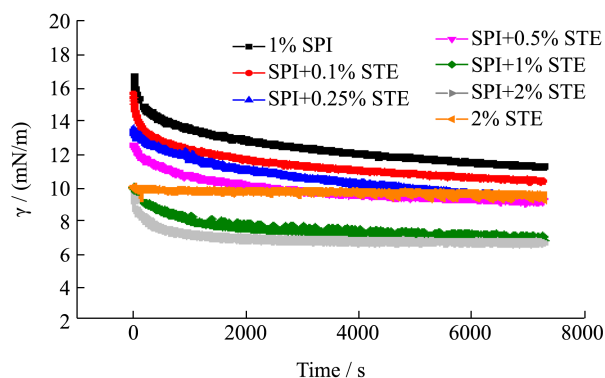


图3 SPI-STE 复合体系在油-水界面的界面张力 ( $\gamma$ ) 随吸附时间 ( $t$ ) 的变化

Fig.3 Dynamic interfacial tension ( $\gamma$ ) for mixed solutions of 1 wt% SPI with various amounts of STE (0 wt%~2 wt%) at the oil-water interface

采用滴形分析法测定 SPI-STE 复合体系在油-水界面的界面吸附特性,测量时间为 2 h。图 3 为单独 SPI, SPI-STE 复合体系及单独 STE 的油-水界面张力 ( $\gamma$ ) 随吸附时间 ( $t$ ) 的变化曲线,图中显示所有样品的界面张力都随着吸附时间的增加而减小,这归因于表面活性剂在油-水界面的吸附。复合体系的界面张力皆小于单独 SPI 的界面张力值,表明 STE 的加入能明显增加 SPI 的界面活性。在同一吸附时间下,随着添加的 STE 浓度增加,油-水界面张力逐渐减小;当 STE 添加至 1 wt% 以上时,其界面张力低于单独 2 wt% STE 的界面张力,这表明此时 SPI 与 STE 已产生了复合吸附;万芝力<sup>[15]</sup>研究表明 SPI-STE 复合体系能在界面上形成复合吸附层,与该结果一致。当添加较低浓度的 STE (0.1 wt%~0.25 wt%) 时,虽然初始界面张力变化较快,后期开始变缓,但是在 2 h 内并未达到平衡稳定状态,这和单独的 1 wt% SPI 的变化相同,可能原因是 SPI 在界面上占主导作用,稳定界面张力的时间较长;当添加 STE 的浓度较高时 (0.5 wt%~2 wt%),界面张力会迅速减小,并较快速的达到稳定,趋向于与单独 STE 的变化趋势类似,这表明此时复合体系界面吸附层的形成主要由 SPI-STE 复合体共同覆盖,稳定界面张力的速度更快。一般情况下,油-水界面张力的快速降低有利于更小尺度乳滴的形成,因此图 3 的结果与表 1 中新鲜乳液粒度的变化保持一致,

证实了上述分析。

## 2.3 SPI-STE 复合体系制备植物甾醇纳米乳液

经喷雾干燥获得的油粉的结构研究

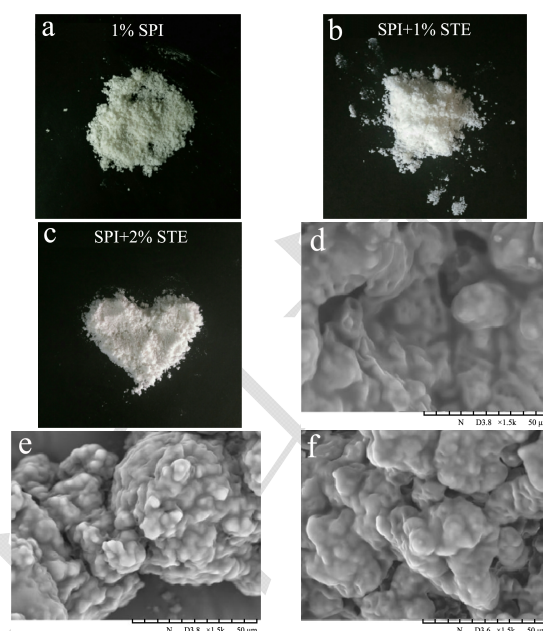


图4 SPI-STE 复合稳定的植物甾醇纳米乳液喷雾干燥处理后的粉末实物图及 SEM 图

Fig.4 Photographs and SEM images of spray-dried phytosterol powders stabilized by the mixtures of 1wt%SPI and different STE concentrations

注: 从左到右分别为 1 wt% SPI、1 wt% SPI+1 wt% STE、1 wt% SPI+2 wt% STE。

将 SPI-STE 复合稳定的纳米乳液进行喷雾干燥以制备油粉。图 4 为植物甾醇纳米乳液喷雾干燥处理后的粉末实物图及粉末表面扫描电镜图。从图中可看出单独添加 1 wt% SPI 并喷雾干燥后的粉末颗粒较大,颜色发黄,用手触摸发现其表面较黏,且有油滴渗出现象。STE 的浓度增加 1 wt% STE 和 2 wt% STE 时,喷雾干燥后的粉末颗粒更小且大小均匀,颜色为乳白色,未发现明显的黏着及油渗出现象,且 2 wt% STE 时的粉剂较 1 wt% STE 稳定的粉末更细腻均匀。

步用扫描电镜 SEM 观察上述油粉的表面形态,结果如图 4 所示。可以看到,不同浓度 STE 制得的油粉表面结构有明显的差异。单独 SPI 稳定的油粉表面光滑平整,球形颗粒较少且尺度较大,可能是因为单独 SPI 降低油-水界面张力的能力较弱,乳滴尺度较大且界面稳定能力较差,导致植物甾醇没有完全被包埋好。而添加较高浓度的 STE (1 wt%~2 wt%) 时,油粉表面粗糙,凹凸不平,布满了大小均匀且尺度较小的球形颗粒。这说明复合体系能制备较均匀尺度较小



的乳液,突出的球形颗粒可能是植物甾醇被包埋于纳米乳滴中所形成。以上分析与粒度数据保持一致(表1和图1)。

采用 XRD 对上述获得的植物甾醇油粉样品的内部结构进行检测,结果如图 5a 所示。从 XRD 图谱中可看出,单独的植物甾醇样品存在多个结晶峰,且峰值相对较大;但 SPI-STE 复合稳定的油粉样品中植物甾醇的特征结晶峰的数量减少,且峰值有了明显的减小。这说明经过 SPI-STE 复合稳定的油粉样品中植物甾醇被较完整地包埋,其结晶程度明显降低。研究表明当甾醇的结晶体越小,它的自由表面区就越大,水溶性会越好,它在人体肠道内的溶解度也会越高,从而更好地发挥降胆固醇的作用。图 5b 显示的是油粉样品的 FT-IR 结果,可以看到,植物甾醇在 2980 和 2810  $\text{cm}^{-1}$  附近因  $\text{CH}_2$  和  $\text{CH}_3$  中的 C-H 键的不对称伸缩振动出现的特征吸收峰,在 1480 和 1400  $\text{cm}^{-1}$  附近因 C-H 弯曲振动出现的吸收峰,以及在 3650~3200  $\text{cm}^{-1}$  范围内 O-H 基的伸缩振动出现的吸收峰等。通过对比各个油粉样品的 FT-IR 图可以看到, C-H 键和 O-H 键吸收峰均发生一定程度的偏移,这表明植物甾醇可能通过氢键和疏水作用分布在乳滴基质中。(利用红外数据主要是证明植物甾醇与乳液基质之间的相互作用情况)

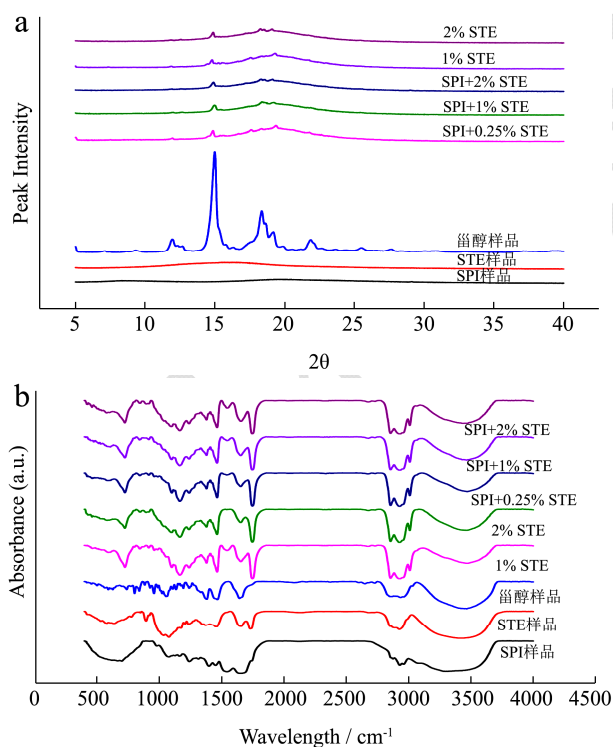


图 5 SPI-STE 复合体系稳定的植物甾醇纳米乳液喷雾干燥处理后的粉末及原料粉末的 XRD 图 (a) 和红外光谱图 (b)

Fig.5 XRD (a) and FTIR (b) patterns of spray-dried phytosterol powders stabilized by the mixtures of 1 wt% SPI and different STE concentrations

### 3 结论

本研究结果表明, SPI-STE 复合体系可作为稳定剂制备出稳定性良好的植物甾醇纳米乳液,并可通过喷雾干燥制得油粉。添加 STE 可显著降低油-水界面张力,改善稳定剂体系的界面活性,有利于形成尺度均匀且粒度较小的纳米乳液,且由 SPI-STE 复合稳定的纳米乳液显示出更好的贮藏稳定性。纳米乳液经喷雾干燥后可得到富含植物甾醇的粉剂,相对于单独蛋白油粉, SPI-STE 复合稳定(尤其在 1 wt%~2 wt% STE 时)的油粉表面无明显粘性,布满了大小均匀的球形颗粒,表明植物甾醇被很好地包埋在纳米乳滴中。本研究采用天然食品级的稳定剂制备植物甾醇纳米乳液及油粉可为植物甾醇功能性食品配料的开发提供技术解决方案。

### 参考文献

- [1] 郭睿.功能性大豆蛋白的制备及应用[D].广州:华南理工大学,2011  
GUO Rui. The preparation and application of functional soy protein [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011
- [2] 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  
WANG Jin-mei. Thermally aggregation behaviors, interfacial and emulsifying properties of soy protein [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012
- [3] 张媛,姜帆,刘骞,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  
ZHANG Yuan, JIANG Fan, LIU Qian, et al. The changes of emulsify properties of soybean protein isolate induced by ultra high pressure homogenization [J]. Food Research and Development, 2017, 38(1): 1-5
- [4] Hellfrisch Caroline, Brockhoff Anne, Stahler Frauke, et al. Human psychometric and taste receptor responses to steviol glycosides [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(27): 6782-6793
- [5] 王飞生,叶荣飞,闵建.甜菊糖苷的特性及应用[J].中国调味品,2009,34(10):91-99  
WANG Fei-sheng, YE Rong-fei, MIN Jian. Characteristics and application of steviol glycosides [J]. China Condiment, 2009, 34(10): 91-99
- [6] WAN Zhi-li, YANG Xiao-quan, SAFIS L M C. Contribution of long fibrils and peptides to surface and foaming behavior of soy protein fibril system [J]. Langmuir, 2016, 32(32):

- 8092-8101
- [7] WAN Zhi-li, WANG Li-ying, WANG Jin-mei, et al. Synergistic foaming and surface properties of a weakly interacting mixture of soy glycinin and biosurfactant stevioside [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2014, 62(28): 6834-6843
- [8] WAN Zhi-li, WANG Jin-mei, WANG Li-ying, et al. Complexation of resveratrol with soy protein and its improvement on oxidative stability of corn oil/water emulsions [J]. Food Chemistry, 2014, 161(6): 324-331
- [9] WAN Zhi-li, WANG Li-ying, WANG Jin-mei, et al. Synergistic interfacial properties of soy protein-stevioside mixtures: Relationship to emulsion stability [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 39(39): 127-135
- [10] Rideout T C, Chan Y M, Harding S V, et al. Low and moderate-fat plant sterol fortified soymilk in modulation of plasma lipids and cholesterol kinetics in subjects with normal to high cholesterol concentrations: Report on two randomized crossover studies [J]. Lipids in Health and Disease. 2009, 8(45): 1-7
- [11] Vanstone C A, Raeini-Sarjaz M, Parsons W E. et al. Unesterified plant sterols and stanols lower LDL-cholesterol concentrations equivalently in hypercholesterolemic persons [J]. American Journal of Clinic Nutrition, 2002, 76(6): 1272-1278
- [12] MacKay DS, Jones PJH. Phytosterols in human nutrition: Type, formulation, delivery, and physiological function [J]. European Journal of Lipid Science Technology, 2011, 113: 1427-1432
- [13] Piironen V, Lindsay D G, Miettinen T A, et al. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2000, 80(7): 939-966
- [14] 彭捷.植物甾醇纳米颗粒的制备及其在豆奶中的应用[D].广州:华南理工大学,2016
- PENG Jie. Preparation of phytosterol nanoparticle and its application in soymilk [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016
- [15] 万芝力.大豆蛋白-甜菊糖苷相互作用及对界面主导食品体系的调控研究[D].广州:华南理工大学,2016
- WAN Zhi-li. Tunable soy protein-steviol glycoside interactions and their relationships with interface- dominated food systems [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016

---

(上接第 132 页)

- [14] Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior R L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(10): 4619-4626
- [15] Yu Y, Xiao G, Xu Y, et al. Slight fermentation with *Lactobacillus fermentum* improves the taste (sugar: Acid ratio) of citrus (*Citrus reticulata* cv. *chachiensis*) juice [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(11): 2543-2547
- [16] 周媛,熊泽,邵伟,等.巴氏醋杆菌纤维素微生物合成研究[J].中国酿造,2002,1:19-22
- ZHOU Yuan, XIONG Ze, SHAO Wei, et al. Study on the microbial synthesis of *Acetobacter pasteurella* cellulose [J]. Chinese brewing, 2002, 1: 19-22
- [17] Yu Y, Xiao G, Xu Y, et al. Slight fermentation with *Lactobacillus fermentum* improves the taste (sugar: Acid ratio) of citrus (*Citrus reticulata* cv. *chachiensis*) juice [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(11): M2543-M2547
- [18] Kaplan H, Hutkins R W. Fermentation of fructooligosaccharides by *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(6): 2682-2684
- [19] Reuss R M, Stratton J E, Smith D A, et al. Malolactic fermentation as a technique for the deacidification of hard apple cider [J]. Journal of Food Science, 2010, 75(1): C74-C78
- [20] Zerdin K, Rooney M L, Vermue J. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material [J]. Food Chemistry, 2003, 82(3): 387-395
- [21] Yeo S h, Ewe J A. Advances in fermented foods and beverages [M]. Woodhead Publishing, 2015
- [22] 张珍,李波清.乳酸菌主要代谢产物及其作用研究进展[J].滨州医学院学报,2012,4:274-276
- ZHANG Zhen, LI Bo-qing. Research progress of main metabolites and their functions of *Lactobacillus* [J]. Journal of Binzhou Medical University, 2012, 4: 274-276
- [23] 彭新颜,于海洋,李杰,等.乳酸菌抗氧化作用研究进展[J].食品科学,2012,23(13):370-374
- PENG Xin-yan, YU Hai-yang, LI Jie, et al. Research progress on the antioxidative effect of *Lactobacillus* [J]. Food Science, 2012, 23(13): 370-374

现代食品科技