

蟹油纳米乳液制备工艺及特性研究

王枫雅¹, 林琳^{1,2}, 陆剑锋^{1,2}, 姜绍通^{1,2}

(1. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230009)

(2. 安徽省农产品精深加工重点实验室, 安徽合肥 230009)

摘要: 为提高蟹油的稳定性, 采用超声破碎法制备蟹油纳米乳液。通过单因素实验, 考察乳化剂种类、乳化剂添加量、蟹油添加量、水添加量对蟹油粗乳液粒径的影响; 利用 Box-Behnken 试验设计和响应面分析确定蟹油粗乳液的组成。结果表明: 蟹油粗乳液中各成分最佳添加量为乳化剂(大豆磷脂) 1.84 g (6.9%)、蟹油 1.94 g (7.2%)、水 23 mL (85.9%)。对制备的蟹油粗乳液进行进一步超声分散制得平均粒径为 68 nm 的纳米乳液, 与粗乳液相比, 超声分散得到的纳米乳液在不同温度(20~100 °C)、pH (3~9) 及钙离子浓度(100~500 mM CaCl₂) 下均表现出较好的物理稳定性。体外模拟消化实验中, 纳米乳液的脂肪酸释放量及 β-胡萝卜素生物利用率均高于粗乳液。用超声分散法制备蟹油纳米乳液, 可提高蟹油作为添加剂在食品体系中的稳定性, 使其具有更广泛的应用前景。

关键词: 中华绒螯蟹; 蟹油; 超声乳化; 纳米乳液; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2019)04-174-181

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.4.024

Optimization and Characterization of Crab Oil Nanoemulsion

WANG Feng-ya¹, LIN Lin^{1,2}, LU Jian-feng^{1,2}, JIANG Shao-tong^{1,2}

(1. School of Food and Biology Engineering, Hefei University of Technology, Anhui Province, Hefei 230009, China)

(2. Key Laboratory for Agriculture Products Processing of Anhui Province, Anhui Province, Hefei 230009, China)

Abstract: In order to improve the stability of crab oil, the nanoemulsion of crab oil was prepared by ultrasonic emulsification. The effects of emulsifier types, emulsifier concentration, crab oil and water on the particle size of crude emulsion were investigated by single factor experiments. Furthermore, the Box-Behnken experimental design combined with response surface methodology was employed to optimize the composition of crude crab oil emulsion. The results showed that the optimal composition of crude emulsion was 1.84 g (6.9%) of emulsifier (soybean phosphatides), 1.94 g (7.2%) of crab oil and 23 mL (85.9%) of water. Then the crude emulsion was ultrasonically dispersed to obtain a nanoemulsion with an average particle diameter of 68 nm. Compared with the crude emulsion, the nanoemulsion showed good physical stability at different temperatures (20~100 °C), pH (3~9) and calcium ion concentration (100~500 mM CaCl₂). In the digestion experiment *in vitro*, the released fatty acids and the bioavailability of β-carotene of nanoemulsion were better than those of the crude emulsion. The crab oil nanoemulsion prepared by ultrasonic dispersion method could improve the stability of crab oil as an additive in food system, and may have wider application prospects.

Key words: *Eriocheir sinensis*; crab oil; ultrasonic emulsification; nanoemulsion; stability

河蟹 (*Eriocheir sinensis*), 学名中华绒螯蟹, 俗称大闸蟹, 属名贵淡水产品, 是我国传统特色的经济蟹类, 主要分布在我国东部各海域沿岸及通海的河流湖泊中^[1]。近几年来, 在蟹种培育养殖环节, 一龄蟹种性早熟比例逐渐增加, 一定程度影响河蟹养殖效益。蟹种性早熟是指当年个体较大(通常 20 g 以上)、性

收稿日期: 2018-12-03

基金项目: 国家虾蟹产业技术体系专项资金(CARS-48); 安徽省水产产业技术体系项目(AHCYJSTX-08)

作者简介: 王枫雅(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工与贮藏

通讯作者: 林琳(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品加工与贮藏

腺已发育成熟的蟹种, 别称老头蟹。人工养殖条件下, 受温度、营养和盐度等条件的影响, 当年蟹种性早熟率可达 18~98%^[2,3]。早熟蟹不具备养殖成蟹的价值, 而作为成蟹销售又规格偏小, 价值较低^[3]。为解决制约河蟹产业发展的瓶颈问题, 有必要进行河蟹特别是早熟蟹精深加工的研究。

肝胰腺是河蟹的精华所在, 早熟蟹性腺与肝胰腺发育与成熟蟹相近, 其中油脂含量高达 37%^[4], 且含有较高含量的胡萝卜素(653.4 mg/kg)^[5], 如果能合理开发利用将具有很大的经济效益。蟹油中多不饱和脂肪酸含量丰富, 水溶性差, 易氧化且生物利用率低, 很难直接在食品体系中添加和使用, 因此, 需开发稳定的载体以改善蟹油水溶性。纳米乳液, 是一类以液

滴形式分散于第二相的胶体分散体系, 粒度在 50~200 nm, 呈透明或半透明状, 也被称为细乳液、超细乳液^[6]。纳米乳液能够较好地载运及保护脂溶性活性成分(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^[7], 近年来在食品、日化和医药等领域备受关注。超声乳化法是一种高能乳化法, 相比传统乳化法, 可有效减小乳液粒径及降低分散性, 减少能量的热损耗及乳化剂用量, 具有清洁高效、操控灵活等优势, 在纳米乳液的制备中显现出很大潜力^[8]。本文利用响应面试验优化蟹油粗乳液组成配比, 进一步采用超声乳化法制得蟹油纳米乳液, 以未经超声乳化处理的粗乳液为对照, 评价纳米乳液在不同温度、pH 和钙离子浓度条件下的稳定性, 并通过体外模拟消化过程, 考察纳米乳液脂肪酸释放能力及 β -胡萝卜素的生物利用度, 旨在为蟹油在食品工业中的应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

性早熟中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*): 2017 年 11 月从香涧湖(安徽省五河县) 取样获得, 每只约 40 g。洗去蟹体表污垢后沥干, 在低温环境中手动剥离螃蟹肝胰脏, 迅速置于聚乙烯袋中并在 -20 °C 下储存直至使用。

精制蟹油: 通过水酶法制备。称取 50 g 螃蟹肝胰脏置于锥形瓶中, 按液料比 1:5 (W/V) 加入 200 mL 去离子水, 混匀后均质。用 4 mol/L NaOH 或 HCl 调节 pH 值为 7, 然后加入中性蛋白酶。在 50 °C 水浴锅中酶解 180 min, 期间轻微摇动, 90 °C 灭酶 10 min。趁热 5000 r/min 离心 15 min, 吸取上层红色透明粗蟹油。采用郭无瑕等的方法^[9]对蟹油进行脱胶、脱酸和脱臭后, 得到深红色, 澄清透明的蟹油, 置于冰箱 -20 °C 冷冻保存。

大豆分离蛋白、乳清蛋白、大豆磷脂均为食品级, 河南中泰食化有限公司生产; 罗非鱼皮明胶多肽: 实验室自制^[10]; 氢氧化钠、氯化钙、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠等均为分析纯试剂。

1.1.2 仪器与设备

超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Zetasizer Nano ZS 激光粒度仪, 美国 Malvern 公司; zeta 电位仪, 美国 Malvern 公司; 高速分散均质机, 上海标本模型厂; pH 计, 上海大谱仪器有限公司; 台式高速冷冻离心机, 上海天美生化仪器设备工

程有限公司; 双光束紫外分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 蟹油粗乳液的制备

用 pH 7.0 磷酸盐缓冲液溶解乳化剂, 配制一定质量浓度的溶液, 边搅拌边加入一定质量的蟹油, 经高速分散均质机在 8000 r/min 的转速下均质 3 min 得到蟹油粗乳液。分别考察乳化剂种类(大豆分离蛋白、乳清蛋白、大豆磷脂、鱼皮明胶多肽)、乳化剂用量(0.3、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 g)、蟹油量(0.5、1.0、2.0、4.0、5.0 g) 和去离子水量(10、20、30、40、50 mL) 对蟹油乳液平均粒径的影响。在单因素试验的基础上, 根据 Box-Behnken Design (BBD) 设计原理, 选择乳化剂含量(A)、去离子水含量(B)、蟹油含量(C) 为主要考察因素, 以乳液平均粒径为响应变量, 对蟹油粗乳液各成分配比组成进行优化。

1.2.2 蟹油纳米乳液的制备

将最佳配比组成条件下制备的蟹油粗乳液置于超声波细胞粉碎机中, 选用 ϕ 6 mm 超声变幅杆, 在超声功率 400 W, 超声时间 15 min 条件先对粗乳液进行超声乳化, 制备纳米乳液, 超声乳化过程中用冰水浴降温。

1.2.3 乳液平均粒径、 ζ 电位

用 Malvern Zetasizer Nano ZS 纳米粒径电位分析仪测定不同乳液的平均粒径及 ζ 电位, 蟹油的折射率设置为 1.45, 水相溶液折射率设置为 1.33。为降低多重光散射效应, 测定前需用去离子水稀释溶液。

1.3 蟹油乳液稳定性

1.3.1 热稳定性

将粗乳液和纳米乳液分别置于 60 °C、80 °C、100 °C 恒温水浴中 30 min 后放置室温冷却, 测定乳液粒径。

1.3.2 pH 稳定性

通过用 0.1 M HCl 或 NaOH 调节乳液 pH (3~9), 将样品在 4 °C 条件下放置过夜后测定其粒径。

1.3.3 钙离子稳定性

在乳液中加入相同体积的不同浓度 CaCl_2 溶液 (0~500 mM), 将样品在 4 °C 条件下放置过夜后测定其粒径。

1.4 蟹油乳液的体外模拟肠消化及胡萝卜素生物利用率

对粗乳液及纳米乳液分别做体外模拟消化试验^[11]。

1.4.1 模拟肠消化

在通过消化模型之前,用磷酸盐缓冲液(5 mM, pH 7)将乳液稀释形成含有1%油的样品。将混合物(30 g)置于干净的烧杯中,在水浴(37 °C, 10 min)中加热。然后将溶解在磷酸盐缓冲液(5 mM, pH 7)中的4 mL胆汁提取物(46.8 mg/mL)和溶解在去离子水中的1 mL CaCl₂(110 mg/mL)加入到样品中,然后将混合物调节至pH 7。将分散在磷酸盐缓冲液(5 mM, pH 7)中的胰酶(24 mg/mL)的等份(2.5 mL)掺入所得混合物中,反应4 h。

1.4.2 游离脂肪酸(FFA)释放量的测定

在肠消化过程中,脂肪在酶的作用下不断被水解为游离脂肪酸。试验过程中不断用0.125 mol/L NaOH稳定pH为7.0不变,记录不同时间间隔中NaOH消耗量。

1.4.3 β-胡萝卜素的生物利用率的测定

β-胡萝卜素生物利用度的测定参照Qian^[12]的方法。经过消化后的样品在25 °C, 10000 g的离心力条件下离心40 min,上清液即为溶解生物活性成分的胶束部分。分别向胶束部分及消化物中加入5 mL氯仿,并于25 °C, 3500 r/min条件下离心10 min,底层即为水溶性β-胡萝卜素。以氯仿为空白,在450 nm波长下测定吸光度,计算β-胡萝卜素的浓度。胡萝卜素的生物可利用度计算公式如下:

$$\text{生物利用度}(\%) = \frac{C_{\text{胶束}}}{C_{\text{消化}}} \times 100$$

式中: C_{胶束}为消化后胶束中β-胡萝卜素的质量浓度, mg/mL; C_{消化}为消化后消化物中的β-胡萝卜素的质量浓度, mg/mL。

1.5 数据处理

所有试验均重复3次,结果用平均值±标准差表示,采用SPSS 13.0软件对试验结果进行统计分析, $p < 0.05$ 为差异显著。响应面试验结果数据使用Design-Expert 7.5软件进行分析。

2 结果与讨论

2.1 不同乳化剂的影响

选择大豆分离蛋白、乳清蛋白、大豆磷脂、鱼皮明胶多肽4种材料为乳化剂,添加量为2%,加入去离子水溶解后,加入5%蟹油,通过高速分散剂形成粗乳液。不同乳化剂对蟹油包埋效果见表1。由表1可以看出,大豆磷脂对于蟹油的包埋效果最好,乳液粒径较小且ζ电位绝对值最高。ζ-电位(正或负)越高,体系越稳定,即溶解或分散可以抵抗聚集^[13]。ζ-电位>30 mV(绝对值)将具有静电稳定性,而乳液在-30~30 mV范围内倾向于凝聚或絮凝^[14]。故选择大豆磷脂作为乳化剂对蟹油进行包埋。

表1 不同乳化剂对蟹油粗乳液粒径和ζ电位的影响

Table 1 Effect of different emulsifiers on the particle size and ζ potential of crab oil coarse emulsion

项目	大豆分离蛋白	乳清蛋白	大豆磷脂	鱼皮明胶多肽
粒径/μm	7.03±0.92 ^a	3.80±0.35 ^c	2.72±0.07 ^c	5.50±0.12 ^b
ζ电位/mV	-33.02±1.02 ^a	-37.49±0.89 ^a	-53.21±1.75 ^b	-50.44±1.94 ^b

注:同行小写字母不同表示差异显著($p < 0.05$)。

2.2 单因素实验

2.2.1 乳化剂添加量的影响

以大豆磷脂为乳化剂,在蟹油、去离子水的添加量分别为2 g、30 mL条件下,高速均质形成乳液。不同大豆磷脂添加量对蟹油粗乳液粒径影响见图1a。从图中可以看出,粗乳液粒径随大豆磷脂添加量的增加呈现先降低后升高的趋势,当乳液中磷脂量为1.5 g时,乳液粒径达到最低。这主要是因为当乳化剂用量较少时,不能有效乳化体系中所含油脂,这不仅导致体系粒子粒径变大,还导致油水界面膜强度变小,从而导致体系稳定性降低;而当乳化剂用量过多时,乳化剂不仅能形成紧密的界面膜,过多的乳化剂还可能

吸附在界面上,导致液滴粒径变大。

2.2.2 去离子水添加量的影响

在蟹油、大豆磷脂的添加量分别为2 g、1 g条件下,高速均质形成乳液,不同水添加量对蟹油乳液粒径影响见图1b。从图中可以看出乳液的粒径随着水含量的增加呈现先较小后增加的趋势,当水含量在30 mL时,乳液粒径最小,随着水含量的增加,体系中乳化剂的浓度降低,不易于乳液的形成。

2.2.3 蟹油添加量

在大豆磷脂、去离子水的添加量分别为1 g、30 mL条件下,高速均质形成乳液。不同蟹油添加量对蟹油乳液粒径影响见图1c。从图中可以看出随着蟹油体积分数的提高,蟹油乳液的平均粒径先降低后增大,

其平均粒径在蟹油为 1 g 时达到最小值, 继续提高蟹油含量会对乳液的平均粒径有不利影响。

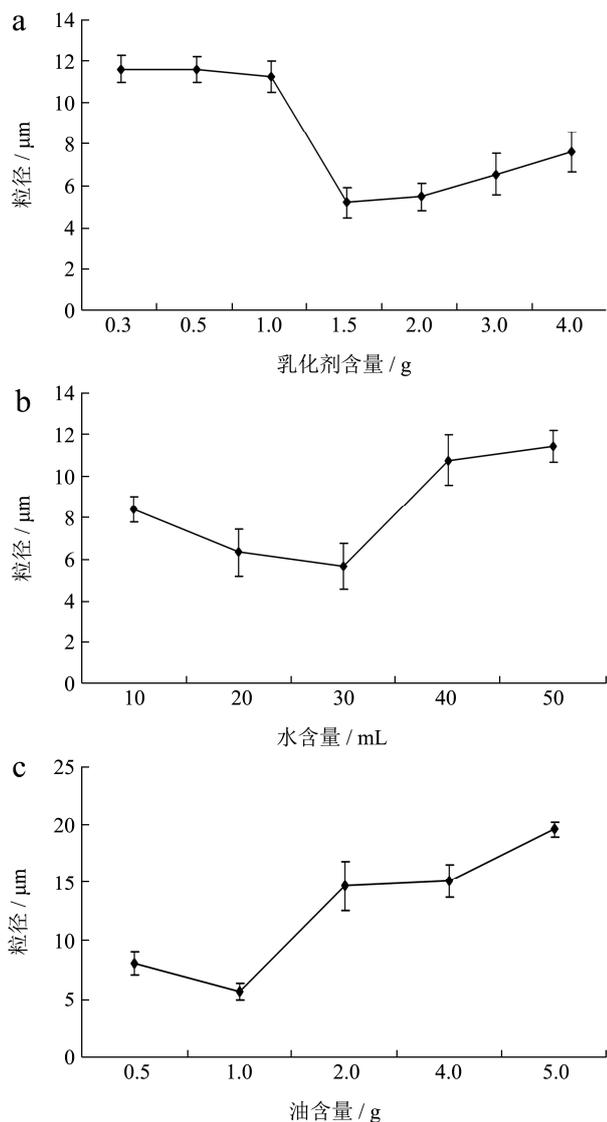


图1 不同单因素条件对蟹油粗乳液粒径的影响

Fig.1 Effect of different single factor conditions on the particle size of crab oil coarse emulsion

2.3 响应面优化试验

2.3.1 回归方程的建立及模型方差分析

表2 响应面试验因素与水平

Table 2 Factors and levels of response surface experiment

编码水平	因素		
	A 乳化剂/g	B 加水量/mL	C 蟹油量/g
-1	1.0	20	0.5
0	1.5	30	1.0
1	2.0	40	2.0

在单因素试验的基础上, 根据 Box-Behnken Design (BBD)设计原理, 选择乳化剂含量 (A)、去离子水含量 (B)、蟹油含量 (C) 为主要考察因素, 以

乳液平均粒径为响应变量, 对蟹油粗乳液各成分配比组成进行优化, 因素与水平见表2。

响应面试验结果见表3, 方差分析见表4。

表3 Box-Behnken 试验设计和结果

Table 3 Box-Behnken experimental design and results

试验号	因素			响应值 (粒径/ μm)	
	A	B	C	实测值	预测值
1	0	-1	1	9.82	11.03
2	0	0	0	8.22	6.95
3	1	1	0	14.28	16.49
4	-1	0	1	3.51	5.71
5	-1	0	-1	15.78	17.17
6	1	0	1	17.63	18.77
7	1	-1	0	7.56	10.57
8	0	-1	-1	11.03	16.09
9	0	0	0	6.86	6.95
10	0	1	1	10.33	11.73
11	0	0	0	10.38	6.95
12	-1	-1	0	6.23	4.05
13	0	1	-1	19.06	21.87
14	0	0	0	8.78	6.95
15	-1	1	0	5.64	4.61
16	1	0	-1	24.14	22.51
17	0	0	0	6.55	6.95

表4 回归模拟的方差分析

Table 4 Analysis of variance of regression simulation

项目	平方和	自由度	均方	F	p
模型	440.31	9	48.92	7.42	0.0075*
A	152.53	1	152.53	23.13	0.0019*
B	20.06	1	20.06	3.04	0.1247
C	110.19	1	110.19	16.71	0.0046*
AB	7.54	1	7.54	1.14	0.3205
AC	15.66	1	15.66	2.37	0.1673
BC	7.17	1	7.17	1.09	0.3319
A2	8.41	1	8.41	1.28	0.2959
B2	13.28	1	13.28	2.01	0.1989
C2	184.78	1	184.78	28.01	0.0011*
残差	46.17	7	6.60		
失拟项	36.56	3	12.19	5.07	0.0754
净误差	9.61	4	2.40		
总离差	486.48	16			

注: *差异显著 ($p < 0.05$)。

由表4可知, 实验选取的蟹油乳液平均粒径不同处理间差异显著, 而失拟项差异不显著, 说明残差由随机误差引起。模型的拟合度 R^2 , R_{Adj} 及 R_{pred} 分别

为 0.9445, 0.9260 及 0.7481, 说明响应值平均粒径的变化有 94.45% 来源于所选变量, 模型拟合度较好。信噪比 Adeq Precision 为 17.989, 远大于需要值 4, 表明使用该模型对蟹油乳液的平均粒径进行预测是可靠的。

在 Z-Ave 模型中, 一次项 A 和 C 对平均粒径影响达到显著水平, 二次项 C² 对平均粒径影响显著。这表明各因素对乳液平均粒径的影响复杂。经回归拟合后, 得二次多项式如下:

$$Y=28.81-0.92B+15.92C-46.47A+0.14BC+0.6BA-3.61AC+0.01BB-4.78CC+13.05AA$$

2.3.2 回归模型的优化及验证

以蟹油乳液平均粒径为指标, 对模型方程最小化分析, 得出制备蟹油乳液的最佳工艺条件为: A=1.84 g, B=23 mL, C=1.94 g。在该优化条件进行验证试验, 实测乳液的平均粒径为 (3.8±0.85) μm, 与模型预测值平均粒径的相对误差为 2.3%, 实测值与模型计算值具有较好的拟合性。

2.4 蟹油粗乳液超声乳化

在大豆磷脂量 1.84 g (6.9%)、加水量 23 mL (85.9%)、加油量 1.94 g (7.2%), 8000 r/min 的转速下均质 3 min 的条件下得到的粗乳液, 置于超声波细胞粉碎机中进行超声乳化, 对制得乳液粒径进行测定, 结果如图 2。从图中可以看出, 经过超声乳化后乳液的平均粒径为 68.32 nm, 呈半透明状, 可作为食品配料应用于透明食品中, 而粗乳液呈乳黄色, 平均粒径为 3800.21 nm, 两种乳液分散均比较均匀。

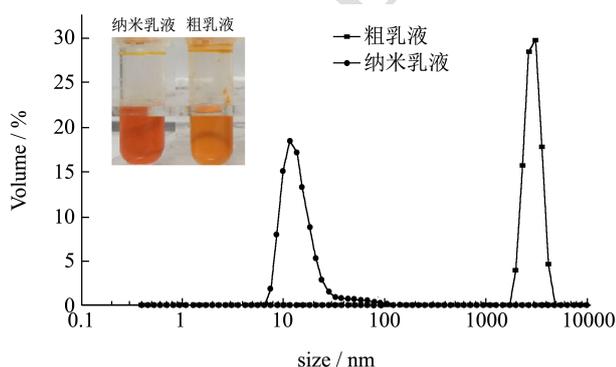


图2 粗乳液及纳米乳液的粒度分布及外观形态

Fig.2 Particle size distribution and appearance of coarse emulsion and nanoemulsion

高速分散是在借助高速分散机的定子和同心高速转动的转子组成之间的微小间隙, 在高速转动下形成高剪切使液滴分散。该方法常用于初乳的制备, 形成的分散液滴粒径较大^[15]。超声乳化通过两种机制发生: 首先, 在超声波中界面变得不稳定, 最终导致油

相以液滴的形式喷射到水介质中^[16]; 其次, 低频超声的应用引起空化效应, 即受到简单声波的压力波动下微气泡的形成及坍塌, 每次气泡坍塌(微观尺度上的内爆)都会导致高度局部化湍流, 湍流微内爆作为一种非常有效的方法可将分散油的初级液滴分解成亚微米级的液滴^[17]。

2.5 蟹油乳液稳定性

2.5.1 热稳定性

热处理后粗乳液和纳米乳液的粒径变化见图 3a。在所有热处理后, 纳米乳液的液滴尺寸没有明显变化, 表明它们在高温下物理稳定。相比之下, 粗乳液在 60 °C 下稳定, 在 80 °C 时乳液变得浑浊并发生相分离, 在 100 °C 加热后管顶部观察到红色油层。值得注意的是, 粗乳液在高温条件下粒径减小, 特别是对于在 100 °C 下处理 30 min 后粗乳液粒径减小至约 4500 nm。这一结果与有些报道不一致, Sari 等人利用乳清蛋白和吐温-80 制备的纳米乳液在沸水处理后粒径显著增加^[18], 他们认为在较高温度下, 乳清蛋白可能会变性, 从而导致乳液聚集。而在最近的一项研究中, Guan 等人研究了卵磷脂和乳清蛋白分离物乳化的 β-胡萝卜素纳米乳液的热稳定性同样出现了热处理后乳液的平均尺寸略微减小的情况^[19]。Li^[20] 等人认为较高的温度增加了乳液中油的水溶性, 因此从乳液中“提取”进入水中, 而回到室温后, 提取的油可以与表面活性剂形成乳液, 从而减小平均尺寸。

2.5.2 pH 稳定性

不同的食品和饮料需要不同的操作 pH, 为了考察蟹油纳米乳剂的广泛功能性, 研究了 pH 对乳液的影响。不同 pH 下, 两种乳液的粒径变化如图 3b 所示。纳米乳液在所研究的 pH 范围内相对稳定, 乳滴尺寸保持恒定且没有相分离的迹象, 这一结果与 Khalid 等的研究^[21]一致。卵磷脂是两亲分子, 其由磷酸基团而产生负电荷, 通过静电排斥作用稳定乳液体系避免聚结^[22]。Khalid 等^[21]认为磷脂包埋的纳米乳液高稳定性可以通过在整个 pH 范围内的液滴上的负电荷来解释。在酸性 pH 条件下, 离子浓度较强, 导致粗乳液的粒径有所增加, 表明其稳定性降低^[23]。

2.5.3 钙离子稳定性

图 3c 展示了 0~500 mM CaCl₂ 溶液对两种乳液粒径的影响。纳米乳液在 CaCl₂ 存在下表现出良好的稳定性, 直至 CaCl₂ 浓度为 500 mM, 粒径几乎没有变化。在食品加工过程中, 加入 CaCl₂ 或其它盐类会增加食品体系的离子强度。在盐离子存在的条件下, 液滴之间的静电排斥变弱, 会促进液滴聚集^[24]。粗乳液在

400~500 mM 浓度下粒径有所增加, 证明其稳定性下降, 液滴之间发生聚集。

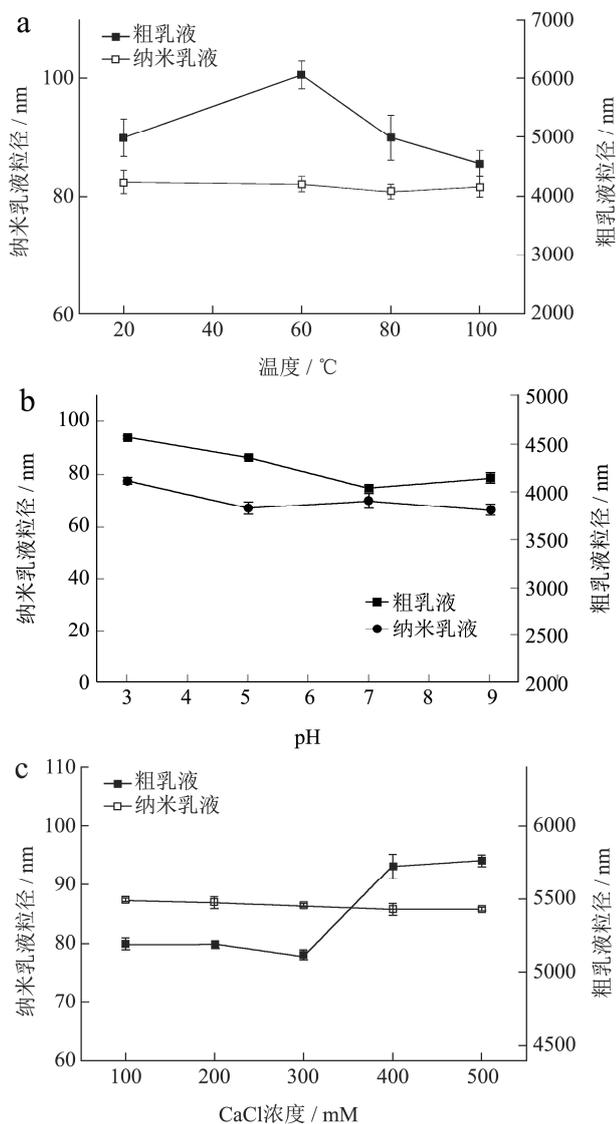


图3 不同物理条件对蟹油乳液粒径的影响

Fig.3 Effect of different physical conditions on the particle size of crab oil emulsion

2.6 蟹油乳液的体外模拟消化

随着消化时间的延长, 蟹油乳液相释放的游离脂肪酸量(NaOH 消耗量)如图 4a 所示。最初(1~50 min)从乳液中释放的游离脂肪酸量急剧增加, 然后在较长时间(50~150 min)内逐渐增加, 直至达到相对恒定的最终值。纳米乳液在初始阶段, 消化速率快, 并且在消化 150 min 后最终释放的脂肪酸量高于粗乳液。其它研究报道, 单位时间释放的脂肪酸量随着乳滴尺寸的减小而增加, 这归因于暴露于消化酶的油的表面积^[25,26]。

粗乳液与纳米乳液体外消化后β-胡萝卜素的生物利用度变化见图 4b, 从图中可以看出纳米乳液β-胡

萝卜素的生物利用度显著高于粗乳液。一般而言, 乳液的生物利用度与其 NaOH 消耗量呈正相关^[20]。Salviatrujillo^[27]等认为β-胡萝卜素生物利用度随乳液粒径的增大而减小, β-胡萝卜素的生物利用度减小可能有以下两方面原因:(1)存在较多未被消化的油脂, 其可保留β-胡萝卜素;(2)存在较少的混合胶束以溶解β-胡萝卜素。食物中的膳食类胡萝卜素的吸收包括以下几个步骤: 类胡萝卜素从食物基质中释放, 然后在胃乳液下掺入脂滴, 最后在肠道条件下溶解在混合胶束中^[28]。包封在乳化脂质相中的β-胡萝卜素比天然水果和蔬菜中存在的β-胡萝卜素更容易生物接触^[29]。因此, 纳米乳液可以有效提高蟹油中β-胡萝卜素在人体胃肠道中的消化和吸收。

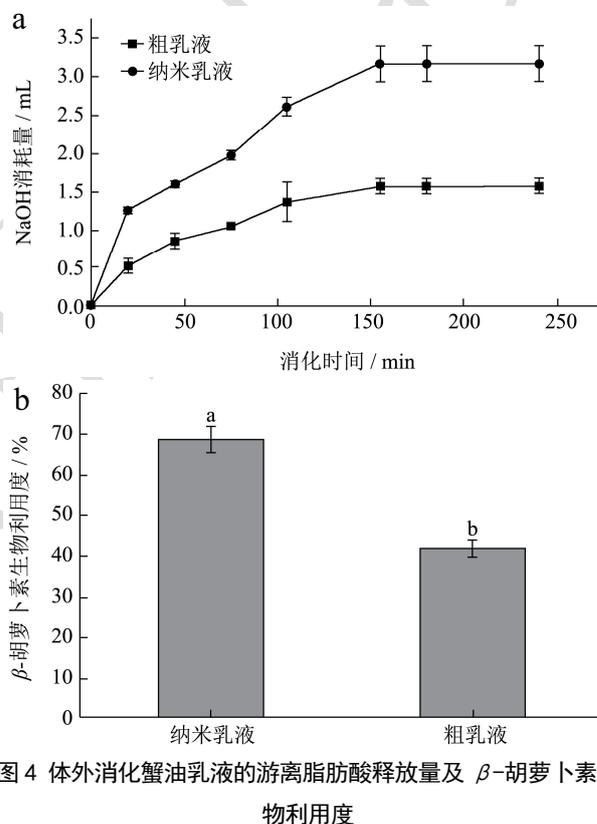


图4 体外消化蟹油乳液的游离脂肪酸释放量及β-胡萝卜素生物利用度

Fig.4 Free fatty acid reasing and β-carotene bioavailability of crab oil emulsion in vitro digestive

3 结论

3.1 以大豆磷脂为乳化剂, 经高速分散及超声乳化制备蟹油纳米乳液。在单因素试验基础上, 以乳液粒径为响应值, 采用响应面法对乳液各成分组成配比进行优化, 获得乳液最佳组成为: 大豆磷脂 1.84 g (6.9%)、蟹油 1.94 g (7.2%)、水 23 mL (85.9%), 在此条件下蟹油乳液的粒径为 3.8 μm, 进一步通过超声乳化法制备蟹油纳米乳液, 经超声乳化后所制得的蟹油乳液粒径为 68 nm。蟹油乳液的稳定性研究表明, 纳米乳液较

粗乳液有更高的热、pH 和钙离子稳定性。对蟹油乳液进行体外模拟消化,发现纳米乳液中蟹油游离脂肪酸的释放量和 β -胡萝卜素生物利用率均较粗乳液有较大提高。

3.2 通过超声波乳化法制备蟹油纳米乳液,可为蟹油在食品体系中的进一步应用提供参考,对性早熟河蟹的高值化利用有一定指导意义。为使蟹油乳液更好的应用,在超声乳化法制备蟹油纳米乳液的工艺条件和纳米乳液贮藏稳定性等方面,还有待进一步系统研究。

参考文献

- [1] 车斌,王倩倩.江苏省河蟹养殖产业 SWOT 分析及对策[J].山西农业科学,2011,39(7):736-739
CHE Bin, WANG Qian-qian. SWOT analysis and measures for crab aquaculture industry in Jiangsu province [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2011, 39(7): 736-739
- [2] 张列士,徐琴英.自然及养殖水体河蟹性成熟和性早熟的研究[J].水产科技情报,2001,28(3):106-111
ZHANG Lie-shi, XU Qin-ying. Studies on sex maturity and early maturity of mitten crab (*Eriocheir sinensis*) in natural and farming water [J]. Aquatic Science and Technology Information, 2001, 28(3): 106-111
- [3] 付龙龙,周刚,李跃华,等.中华绒螯蟹种性早熟研究进展[J].江苏农业科学,2017,45(12):19-23
FU Long-long, ZHOU Gang, LI Yue-hua, et al. Advances in research on seed precocious puberty of *Eriocheir sinensis* [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2017, 45(12): 19-23
- [4] 邵利平,夏文水,姜启兴,等.蟹黄油的理化性质及其营养成分分析[J].食品工业科技,2015,36(4):362-364
SHAO Li-ping, XIA Wen-shui, JIANG Qi-xing, et al. Analysis of physicochemical properties and nutritive and functional composition of crab oil [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(4): 362-364
- [5] Li K, Cai C, Ye Y, et al. Comparison of non-volatile compounds and sensory characteristics of Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) reared in lakes and ponds: Potential environmental factors [J]. Aquaculture, 2012, 364-365(1): 96-102
- [6] McClements D J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance [J]. Soft Matter, 2011, 7(6): 2297-2316
- [7] 邓伶俐,余立意,买尔哈巴·塔西帕拉提,等.纳米乳液与微乳液的研究进展[J].中国食品学报,2013,13(8):173-180
DENG Ling-li, YU Li-yi, Maierhaba Taxipalati, et al. Research progress on nanoemulsions and microemulsions [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(8): 173-180
- [8] Homayoonfal M, Khodaiyan F, Mousavi S M. Optimization of walnut oil nanoemulsions prepared using ultrasonic emulsification: A response surface method [J]. Journal of Dispersion Science and Technology, 2014, 35(5): 685-694
- [9] 郭无瑕,胡建恩,王秀武,等.鲑鱼肝脏鱼油的制备及其脂肪酸组成分析[J].大连水产学院学报,2007,22(1):77-80
GUO Wu-xia, HU Jian-en, WANG Xiu-wu, et al. Preparation and fatty acid compositions of squid liver oil [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2007, 22(1): 77-80
- [10] Zhang Y, Duan X, Zhuang Y. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin [J]. Peptides, 2012, 38(1): 13-21
- [11] Chen Z, Shu G, Taarji N, et al. Gypenosides as natural emulsifiers for oil-in-water nanoemulsions loaded with astaxanthin: Insights of formulation, stability and release properties [J]. Food Chemistry, 2018, 261: 322
- [12] Qian C, Decker E A, Xiao H, et al. Nanoemulsion delivery systems: Influence of carrier oil on β -carotene bioaccessibility [J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1440-1447
- [13] 李双洋,黎振球.利用 Zeta 电位分析蝎酒稳定性[J].中国酿造,2015,34(7):101-103
LI Shuang-yang, LI Zhen-qiu. Analysis of scorpion wine stability by Zeta potential electrophoresis [J]. China Brewing, 2015, 34(7): 101-103
- [14] Takeungwongtrakul S, Benjakul S, H-Kittikun A. Micro-encapsulation of Pacific white shrimp oil as affected by emulsification condition [J]. Food Science and Human Wellness, 2014, 3(3-4): 175-182
- [15] 许晓鹏.稳定的 W/O/W 型复乳的研制及其胰岛素包埋性质的研究[D].无锡:江南大学,2006
XU Xiao-peng. Study on the preparation of W/O/W multiple-emulsions and it's insulin entrapment property [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2006
- [16] Li M K, Fogler H S . Acoustic emulsification. Part 1. The instability of the oil-water interface to form the initial droplets [J]. Journal of Fluid Mechanics, 1978, 88(3): 499-511
- [17] Li M K, Fogler H S . Acoustic emulsification. Part 2. Breakup of the large primary oil droplets in a water medium [J]. Journal of Fluid Mechanics, 1978, 88(3): 513-528
- [18] Sari T P, Mann B, Kumar R, et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin [J].

- Food Hydrocolloids, 2015, 43: 540-546
- [19] Guan Y, Wu J, Zhong Q. Eugenol improves physical and chemical stabilities of nanoemulsions loaded with β -carotene [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 787-796
- [20] Li J, Hwang I C, Chen X, et al. Effects of chitosan coating on curcumin loaded nano-emulsion: Study on stability and *in vitro*, digestibility [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 138-147
- [21] Khalid N, Shu G, Holland B J, et al. Formulation and characterization of O/W nanoemulsions encapsulating high concentration of astaxanthin [J]. Food Research International, 2017, 201: 364-371
- [22] Zhang H Y, Tehrani E A, Kahn C J F, et al. Effects of nanoliposomes based on soya, rapeseed and fish lecithins on chitosan thin films designed for tissue engineering [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(2): 618-627
- [23] Campelo P H, Junqueira L A, Resende J V D, et al. Stability of lime essential oil emulsion prepared using biopolymers and ultrasound treatment [J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(S1): S564-S579
- [24] 王轩轩,孙娜娜,李伟,等.无机盐浓度促进微波破乳的机理分析[J].广东化工,2013,40(13):21-22
- WANG Xuan-xuan, SUN Na-na, LI Wei, et al. The mechanism analysis for inorganic salt concentration promoting microwave demulsifying [J]. Guangdong Chemical Industry, 2013, 40(13): 21-22
- [25] Golding M, Wooster T J. The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2010, 15(1): 90-101
- [26] Li Y, Mc Clements D J. New mathematical model for interpreting pH-stat digestion profiles: impact of lipid droplet characteristics on *in vitro* digestibility [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 8085-8092
- [27] Salviatrujillo L, Qian C, Martínbeloso O, et al. Influence of particle size on lipid digestion and β -carotene bioaccessibility in emulsions and nanoemulsions [J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 1472-1480
- [28] Wisutiamonkul A, Promdang S, Ketsa S, et al. Carotenoids in durian fruit pulp during growth and postharvest ripening [J]. Food Chemistry, 2015, 180: 301-305
- [29] Vingerhoeds M H, Blijdenstein T B J, Zoet F D, et al. Emulsion flocculation induced by saliva and mucin [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(5): 915-922

(上接第 60 页)

- [4] Lagrain B, Brijs K, Delcour J A. Reaction kinetics of gliadin-glutenin cross-linking in model systems and in bread making [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(22): 10660-10666
- [5] Joye I J, Nelis V A, McClements D J. Gliadin-based nanoparticles: Fabrication and stability of food-grade colloidal delivery systems [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 44: 86-93
- [6] Tan H W, Aziz A R A, Aroua M K. Glycerol production and its applications as a raw material: A review [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2013, 27: 118-127
- [7] Liu X, Chen X W, Guo J, et al. Wheat gluten based percolating emulsion gels as simple strategy for structuring liquid oil [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 747-755
- [8] Golemanov K, Tcholakova S, Denkov N, et al. Remarkably high surface visco-elasticity of adsorption layers of triterpenoid saponins [J]. Soft Matter, 2013, 9(24): 5738-5752
- [9] Kotsmar C, Pradines V, Alahverdijeva V S, et al. Thermodynamics, adsorption kinetics and rheology of mixed protein-surfactant interfacial layers [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2009, 150(1): 41-54
- [10] Bhattacharyya M, Chaudhuri U, Poddar R K. Evidence for cooperative binding of chlorpromazine with hemoglobin: equilibrium dialysis, fluorescence quenching and oxygen release study [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1990, 167(3): 1146-1153
- [11] Wan Z L, Wang L Y, Wang J M, et al. Synergistic foaming and surface properties of a weakly interacting mixture of soy glycinin and biosurfactant stevioside [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(28): 6834-6843
- [12] Chen X W, Yang D X, Zou Y, et al. Stabilization and functionalization of aqueous foams by Quillaja saponin-coated nanodroplets [J]. Food Research International, 2017, 99: 679-687
- [13] Alahverdijeva V S, Grigoriev D O, Fainerman V B, et al. Competitive adsorption from mixed hen egg-white lysozyme / surfactant solutions at the air- water interface studied by tensiometry, ellipsometry, and surface dilational rheology [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2008, 112(7): 2136-2143