

## 食品与饲料用化学品

## 高顺式番茄红素纳米乳液的制备及稳定性

黎晨晨, 马调梅, 张莹, 隋佳琦, 韩春然\*

(哈尔滨商业大学 食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150028)

**摘要:** 为了解决脂溶性生物活性物质番茄红素在食品加工过程中易降解和异构化的问题, 以高顺式番茄红素为包埋对象, 筛选天然表面活性剂, 采用高速剪切法制备了高顺式番茄红素纳米乳液(简称纳米乳液, 下同)。采用 HPLC、纳米粒径电位分析仪、TEM 和激光共聚焦显微镜(CLSM)对其进行了表征, 通过单因素和响应面实验优化了纳米乳液的制备工艺, 探究了合理贮藏纳米乳液的方法。结果表明, 在油水比〔V(油相): V(水相)〕为 1:3、酪蛋白酸钠水溶液质量分数 6.0%、剪切时间 15 min、剪切转速 12000 r/min 的最佳制备条件下, 纳米乳液中高顺式番茄红素包埋率最高, 为 88.09%±0.92%。低温(4℃)、避光、充氮、中性或弱碱性环境中贮藏, 添加 Al<sup>3+</sup>、NaCl、抗氧化剂(叔丁基对苯二酚或 2,6-二叔丁基对甲酚)、蔗糖, 可减少和抑制纳米乳液中番茄红素顺式异构体的氧化降解和异构体恢复转化。

**关键词:** 高顺式番茄红素; 纳米乳液; 制备工艺; 恢复转化; 稳定性; 食品化学品

**中图分类号:** TS206.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214(2024)03-0666-13

Preparation and stability of high *cis*-lycopene nano emulsion

LI Chenchen, MA Diaomei, ZHANG Ying, SUI Jiaqi, HAN Chunran\*

(School of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, Heilongjiang, China)

**Abstract:** In order to solve the problems of easy degradation and isomerization for lycopene, a fat-soluble bioactive substance, during food processing, high *cis*-lycopene nano emulsion (hereinafter referred to as nano emulsion) was prepared by high speed shear method with high *cis*-lycopene for encapsulation and natural surfactants screened, and characterized by HPLC, nanoparticle potentiometer, TEM and confocal laser scanning microscopy (CLSM). The preparation process of nano emulsion was optimized by single factor and response surface experiments, and its proper storage method was explored. The results showed that under the conditions of oil-water ratio 1:3 [V(oil phase): V(water phase)] with the solution of lycopene dissolving in a 1:1 volume ratio of linoleic acid/occapric glyceride mixed solvent as oil phase and sodium caseinate aqueous solution as water phase, mass fraction of sodium caseinate solution 6.0%, shear speed 12000 r/min and shear time 15 min, high *cis*-lycopene nano emulsion exhibited the highest embedding rate of 88.09%±0.92%. When the high *cis*-lycopene nano emulsion was stored in dark, nitrogen-filled, neutral or weakly alkaline environment with low temperature (4℃), the addition of Al<sup>3+</sup>, NaCl, antioxidants (*tetra*-butylhydroquinone and dibutyl hydroxy toluene) and sucrose could reduce the oxidative degradation and retro-isomerization of lycopene isomers.

**Key words:** high *cis*-lycopene; nano emulsion; preparation process; retro-isomerization; stability; food chemicals

番茄红素(C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>)是一种不溶于水的脂溶性生物活性物质, 生物利用度低, 在食品加工过程中易氧化分解, 致使其应用范围受到了很大限制<sup>[1-2]</sup>。

番茄红素具有高度不饱和结构, 存在 72 种反式构型异构体, 通过加热等方式可将番茄红素反式构型转变为顺式。从生物活性和生物利用度来说, 番茄红

收稿日期: 2023-11-21; 定用日期: 2024-01-29; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230994

基金项目: 哈尔滨商业大学产业化项目(XL0077)

作者简介: 黎晨晨(1984—), 女, 博士, E-mail: lll198418@163.com。联系人: 韩春然(1970—), 女, 教授, E-mail: 13704809512@yeah.net。

素的顺式构型要高于全反式(all-*E*)。而全反式番茄红素被异构化为顺式后,在一段时间内会自发地恢复到反式构型的状态,引起各种理化性质的改变<sup>[3]</sup>,从而影响异构化番茄红素的生物活性<sup>[4]</sup>。KAZUYA等<sup>[5]</sup>研究表明,顺式番茄红素具有更好的溶解度,比全反式番茄红素具有更高的猝灭活性,其抗氧化活性约为全反式番茄红素的两倍<sup>[6]</sup>。HANH等<sup>[7]</sup>对番茄红素顺式异构体抗氧化性能进行比较,得到的抗氧化活性规律为:all-*E*<13-*Z*<9-*Z*<5-*Z*。而顺式番茄红素更易被身体消化和吸收,是因为顺式异构体链较全反式的短,更易聚集,可以更好地溶解在混合胶束中<sup>[8]</sup>。THOMAS等<sup>[9]</sup>证明了顺式番茄红素比全反式番茄红素能更快地嵌入胶束中。因此,番茄红素顺式构型占比的增加会促进机体对番茄红素的吸收利用。

利用包埋技术如微胶囊、环糊精、脂质体<sup>[10]</sup>,有助于解决番茄红素不溶于水及易被氧化等问题,但上述载体制备过程复杂且成本高。由油、水、表面活性剂等组分在一定条件下制备出的纳米乳液是热力学稳定体系。因此,纳米乳液可作为溶剂或分散介质,负载脂溶性或水溶性物质<sup>[11]</sup>。且纳米乳液制备工艺简单,安全性高,易于实现大规模生产。研究发现,表面活性剂在纳米乳液的形成中起着重要作用,可以降低油相和水相之间的界面张力,减少破坏液滴所需的能量,使液滴尺寸更小;还可以在液滴周围形成一层保护涂层,防止其聚结和聚集,从而提高其稳定性。CHENG等<sup>[12]</sup>采用吐温-20包埋 $\beta$ -胡萝卜素,虽然制备的乳液稳定性较好,但产品风味较差,消费者难以接受。WU等<sup>[13]</sup>筛选天然大分子和小分子表面活性剂作对比,得出天然大分子表面活性剂制备的纳米乳液具有更好的贮存稳定性和更小的粒径。目前,以天然大分子作为表面活性剂同时利用高速剪切法制备高顺式番茄红素纳米乳液的研究较少。

本文拟以高顺式番茄红素作为包埋对象,筛选天然表面活性剂并对包埋工艺进行优化,制备高顺式番茄红素纳米乳液。从环境体系(温度、氧气/氮气、pH)和添加物(金属离子、NaCl、抗氧化剂、蔗糖)两方面探究高顺式番茄红素纳米乳液的稳定性,以期获得稳定性好、生物利用度较高的番茄红素纳米乳液,同时为开发高顺式番茄红素在食品中的应用提供一定参考。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

全反式番茄红素(质量分数96%),宝鸡市森瑞生物化工有限公司;三氯甲烷,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;番茄红素标准品(质量分数>98%)、乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、甲基

叔丁醚、酪蛋白酸钠、乳清蛋白、乳铁蛋白、叔丁基对苯二酚(TBHQ)、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、维生素E( $V_E$ ),分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司;二烯丙基二硫、尼罗红、谷蛋白,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;大豆蛋白、亚油酸,山东西亚化学试剂有限公司;豌豆蛋白,江苏鑫瑞生物科技有限公司;辛酸酸甘油酯,河南馨玉食品有限公司;尼罗蓝,上海源叶生物科技有限公司;蔗糖、硫酸铜,分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司;硫酸亚铁,分析纯,天津市鑫铂特化工有限公司;氯化铁、氯化钠,分析纯,天津市致远化学试剂有限公司;氮气(体积分数>99.99%),哈尔滨卿华工业气体有限公司。

XH-MC-1型微波合成反应仪,北京祥鹤科技有限公司;Infinity-II-126型高效液相色谱仪(HPLC),美国Agilent公司;S-2F型pH计,上海仪电科学仪器股份有限公司;EMS-18A型磁力搅拌器,上海隆拓仪器设备有限公司;TG16-WS型台式高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;FJ200-SH型数显高速分散均质机,上海沪浙实业有限公司;MCR102型流变仪,奥地利Anton Paar公司;HT7800型透射电子显微镜(TEM),美国FEI公司;Zetasizer Nano ZS90纳米粒径电位分析仪,英国Malvern公司;TCSSP8STED-3X型激光共聚焦显微镜(CLSM),德国Leica公司;UVA-T5型光谱测试光触媒应用灯管,东莞市川谷照明科技有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 高顺式番茄红素纳米乳液的制备

按照课题组前期研究<sup>[14]</sup>制备高顺式番茄红素(顺式占比40.19%),具体步骤为:将5 mg全反式番茄红素溶解于3 mL体积比为1:1的亚油酸和辛酸酸甘油酯的混合溶剂中,再加入催化剂二烯丙基二硫(添加量为80 g/L)后,在微波功率为600 W,微波温度为81 °C条件下处理11 min,通过微波干燥法制备了高顺式番茄红素油相(即游离番茄红素)。在此基础上,参照ZHAO等<sup>[15]</sup>的方法,分别将不同质量的天然表面活性剂(酪蛋白酸钠、乳清蛋白、乳铁蛋白、大豆蛋白、谷蛋白、豌豆蛋白)溶解于去离子水中,搅拌过夜,用浓度为0.1 mol/L的NaOH溶液调节pH至7,得到天然表面活性剂水相。将油相与水相按1:3的油水比〔 $V(\text{油相}):V(\text{水相})$ ]混合,并高速剪切均质,制备得到高顺式番茄红素纳米乳液。

#### 1.2.2 高效液相色谱条件

色谱柱:Ultimate C30色谱柱(4.6 m×250 mm×5  $\mu\text{m}$ );检测器:二极管阵列检测器(DAD),检测波长为474 nm;流动相: $A[V(\text{乙腈}):V(\text{甲醇})]=75:25$ ], $B(\text{甲基叔丁基醚})$ ;梯度洗脱条件:0~20 min,

流动相 B 体积分数由 0 增加到 50%, 20~40 min, 流动相 B 维持在 50%; 流速 1 mL/min; 进样量 10  $\mu$ L。

### 1.2.3 标准曲线的绘制

参照 YANG 等<sup>[16]</sup>的方法并稍加改动。准确称取番茄红素标准品 10 mg 溶解于 50 mL 三氯甲烷中, 稀释至不同质量浓度 (1、5、10、20、40、60、80  $\mu$ g/mL), 经 HPLC 测定各质量浓度溶液的峰面积并进行归一化处理, 以番茄红素质量浓度 ( $x$ ) 为横坐标, 峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标, 得到线性回归方程为  $y=22.68x-24.90$ ,  $R^2=0.9988$ 。

### 1.2.4 包埋率测定及异构体占比计算

取 1 mL 高顺式番茄红素纳米乳液样品, 加入等体积无水乙醇破乳, 并用三氯甲烷避光稀释至 100 mL, 根据在 1.2.2 节 HPLC 分析条件下测定样品的峰面积, 根据 1.2.3 节中线性回归方程计算得到番茄红素的质量浓度。按公式 (1) 和 (2) 计算高顺式番茄红素的包埋率和异构体占比。

$$\text{包埋率} / \% = \frac{\rho_1}{\rho_0} \times 100 \quad (1)$$

式中:  $\rho_0$  为油相中番茄红素质量浓度,  $\mu$ g/mL;  $\rho_1$  为包埋番茄红素的质量浓度,  $\mu$ g/mL。

$$\text{番茄红素异构体占比} / \% = \frac{A_i}{A} \times 100 \quad (2)$$

式中:  $A_i$  为异构化后顺式或反式番茄红素异构体的峰面积;  $A$  为未异构化全反式番茄红素的峰面积。

## 1.3 表征和测试

### 1.3.1 平均粒径、多分散指数 (PDI) 及 Zeta 电位的测定

将纳米乳液用蒸馏水稀释后装入样品池, 使用纳米粒径电位分析仪测定高顺式番茄红素纳米乳液的平均粒径、PDI 及 Zeta 电位。

### 1.3.2 流变学特性测定

用流变仪测定不同蛋白制备的纳米乳液的流变学特性。将纳米乳液加载到直径为 40 mm 的测试圆盘上, 测试前平衡 60 s, 测试过程中设定温度 (25.0 $\pm$ 0.1)  $^{\circ}$ C, 板间距 0.1 mm, 在 0.1~100.0  $s^{-1}$  剪切速率下进行频率扫描, 绘制黏度曲线及流变曲线。

### 1.3.3 TEM 表征

在碳膜铜网上滴加纳米乳液样品, 放置 5 min; 在碳支持膜铜网上滴加质量分数为 2% 磷钨酸溶液对纳米乳液进行负染色, 放置 2 min; 室温下进行干燥, 干透后置于 TEM 下观察纳米乳液形态。

### 1.3.4 CLSM 表征

将纳米乳液样品置于载玻片上, 分别滴加尼罗红和尼罗蓝对其中油相和蛋白水溶液进行染色后, 使用配备有 Ar/Kr 和 He/Ne 激光器的 CLSM, 选择荧光模式观察乳液微观结构。

### 1.3.5 稳定性实验

将纳米乳液分别置于不同温度 (4、25、37  $^{\circ}$ C)、

光照 (自然光、避光)、气体环境 (氮气、空气)、pH (5、6、7、8、9)、金属离子 ( $Al^{3+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ )、NaCl 溶液浓度 (50、100、150、200、250 mmol/L)、蔗糖质量分数 (以纳米乳液的质量为基准, 分别为 0、0.5%、1.0%、2.0%、4.0%, 下同)、抗氧化剂添加量 (以纳米乳液的质量为基准, 0.1%、0.2% 的  $V_E$ , 或 0.1%、0.2% 的 TBHQ, 或 0.1%、0.2% 的 BHT) 条件下, 在 4  $^{\circ}$ C 下避光贮藏 (除温度和光照条件外), 定期取样, 按 1.2.4 节经 HPLC 测定其保留率并计算顺反异构体占比。根据反式异构体占比差值, 分析 10 d 内纳米乳液中番茄红素的恢复转化情况。

$$\text{保留率} / \% = \frac{\rho_n}{\rho_0} \times 100 \quad (3)$$

式中:  $\rho_0$  为番茄红素的初始质量浓度,  $\mu$ g/mL;  $\rho_n$  为番茄红素放置第  $n$  天的质量浓度,  $\mu$ g/mL。

## 1.4 单因素实验

根据 1.2.1 节制备方法, 考察  $V(\text{油相}): V(\text{水相})$  (油水比)、酪蛋白酸钠溶液质量分数、剪切时间和剪切转速对高顺式番茄红素纳米乳液包埋率的影响。

(1) 固定酪蛋白酸钠溶液质量分数 5.5%、剪切时间 10 min、剪切转速 12000 r/min, 考察油水比 (1:1、1:2、1:3、1:4、1:5) 对高顺式番茄红素纳米乳液包埋率影响;

(2) 固定油水比 1:3、剪切时间 10 min、剪切转速 12000 r/min, 考察酪蛋白酸钠水溶液质量分数 (5.0%、5.5%、6.0%、6.5% 和 7.0%) 对高顺式番茄红素纳米乳液包埋率影响;

(3) 固定油水比 1:3、酪蛋白酸钠水溶液质量分数 6.0%、剪切转速 12000 r/min, 考察剪切时间 (5、10、15、20 和 25 min) 对高顺式番茄红素纳米乳液包埋率影响。

(4) 固定油水比 1:3、酪蛋白酸钠溶液质量分数 6.0%、剪切时间 10 min, 考察剪切转速 (8000、10000、12000、14000 和 16000 r/min) 对高顺式番茄红素纳米乳液包埋率影响;

## 1.5 响应面实验

根据单因素实验结果, 以油水比 ( $A$ )、酪蛋白酸钠质量分数 ( $B$ )、剪切时间 ( $C$ ) 和剪切转速 ( $D$ ) 作为自变量, 以高顺式番茄红素包埋率为评价指标, 根据 Box-Behnken 响应面原理, 对 4 个因素分别设置 3 个水平, 用 “-1、0、+1” 表示, 根据油水比、酪蛋白酸钠质量分数、剪切时间和剪切转速单因素实验结果中心点取值。

## 1.6 数据统计与分析

所有实验至少平行进行 3 次, 结果以平均值  $\pm$  标准偏差表示, 讨论时使用平均值。采用 Design-Expert 8.0.6 进行响应面结果分析, 用 Origin 2021 软件对所有曲线进行绘制。

## 2 结果与讨论

### 2.1 高顺式番茄红素纳米乳液的工艺优化结果分析

#### 2.1.1 HPLC 分析

图 1 为高顺式番茄红素纳米乳液(以酪蛋白酸钠溶液为水相)中番茄红素异构体的 HPLC 图。

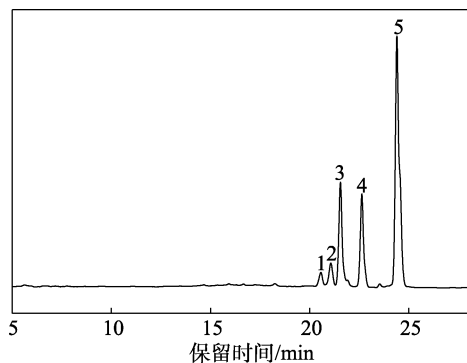


图 1 高顺式番茄红素纳米乳液中番茄红素异构体的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC diagram of lycopene in high *cis*-lycopene nano emulsion

从图 1 可以看出, 根据番茄红素异构体光谱数据对比相关文献<sup>[17-18]</sup>, 可以判定图中 1~5 号峰为番茄红素的顺反异构体。其中, 1 号峰(20.567 min, 保留时间, 下同)和 2 号峰(21.067 min)为其他顺式番茄红素, 3 号峰(21.553 min)为 13-顺式番茄红素, 4 号峰(22.632 min)为 5,9-顺式番茄红素, 5 号峰(24.513 min)为全反式番茄红素。

#### 2.1.2 天然表面活性剂的筛选

图 2 为分别采用不同天然表面活性剂制备的纳米乳液物性结果。

从图 2a 的纳米乳液粒径对比可以看出, 酪蛋白酸钠乳液粒径最小; 从图 2b、c 可以看出, 随着剪切速率的增加, 不同种类纳米乳液的表观黏度均呈下降趋势, 最终趋于稳定; 剪切应力则随着剪切速率的增加而增加。纳米乳液体系产生了切力变稀现象, 表明都是假塑型流体<sup>[19]</sup>。其中, 含有酪蛋白酸钠的乳液在 0.1~100 s<sup>-1</sup> 剪切速率范围内表观黏度最高, 剪切应力最大。

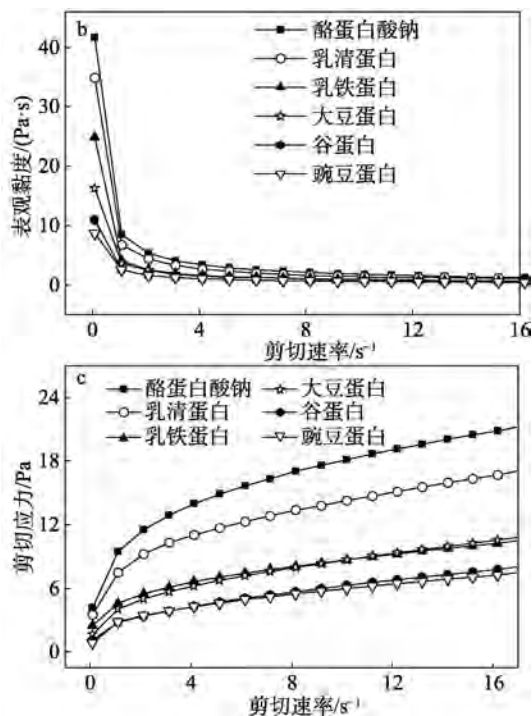
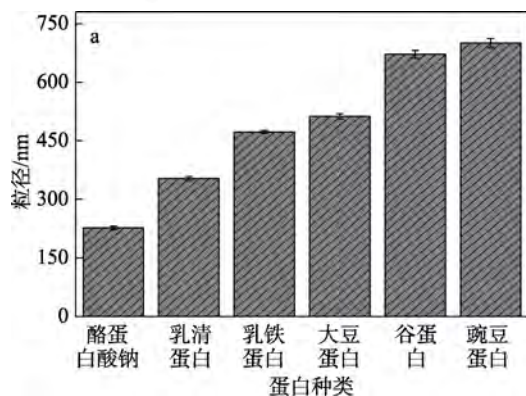


图 2 不同蛋白的乳液粒径(a)及其在不同剪切速率下表观黏度(b)和剪切应力(c)

Fig. 2 Particle size (a) of different protein emulsions and their apparent viscosity (b) and shear stress (c) at different shear rates

这是因为乳液的表观黏度与油滴粒径有关, 通常来说, 粒径越小表观黏度越高。后续将以酪蛋白酸钠为天然表面活性剂进行考察实验。

#### 2.1.3 单因素实验结果分析

图 3 为高顺式番茄红素纳米乳液制备单因素实验结果。

从图 3a 可以看出, 随着油水比的减小, 包埋率呈现先增大后减小的趋势, 而粒径则呈现先减小后增加并波动的趋势。当油水比为 1:3 时, 包埋率达到最大(75.48%), 粒径最小(239.22 nm)。这是因为, 当油水比>1:3 后, 水相比比例较小, 油相分散不均, 乳化效果不佳, 导致包埋率较小; 当油水比<1:3 时, 油相含量过低, 乳化过程接触几率降低, 油相中有效成分向水相扩散, 也使包埋率变小。MARWA 等<sup>[20]</sup>研究也表明, 合适的油水比可以提高乳液的包埋率, 进而提高其稳定性。

从图 3b 可以看出, 随着酪蛋白酸钠水溶液质量分数的增加, 包埋率呈现先增大后减小的趋势, 而粒径则呈现先减小后基本不变的趋势。当酪蛋白酸钠水溶液质量分数为 6.0% 时, 包埋率达到最大(81.28%), 粒径较小(225.44 nm)。这是因为, 随着乳化剂溶液质量分数的增加, 在油水界面吸附的乳化剂分子数量增加, 乳化活性增加, 包埋率增加, 蛋白在液滴表面形成紧密的界面膜, 界面蛋白之间的电荷斥力及空间位阻作用使油滴可以保持粒径相对较小, 且其分布较为集中的状态。但当乳化剂溶

液质量分数增加到一定程度后, 乳化剂分子在油水界面的吸附能力不再随其增加而增加, 导致包埋率下降<sup>[21]</sup>, 此时液滴已经基本被乳化剂包裹, 因此, 粒径没有显著变化<sup>[22]</sup>。

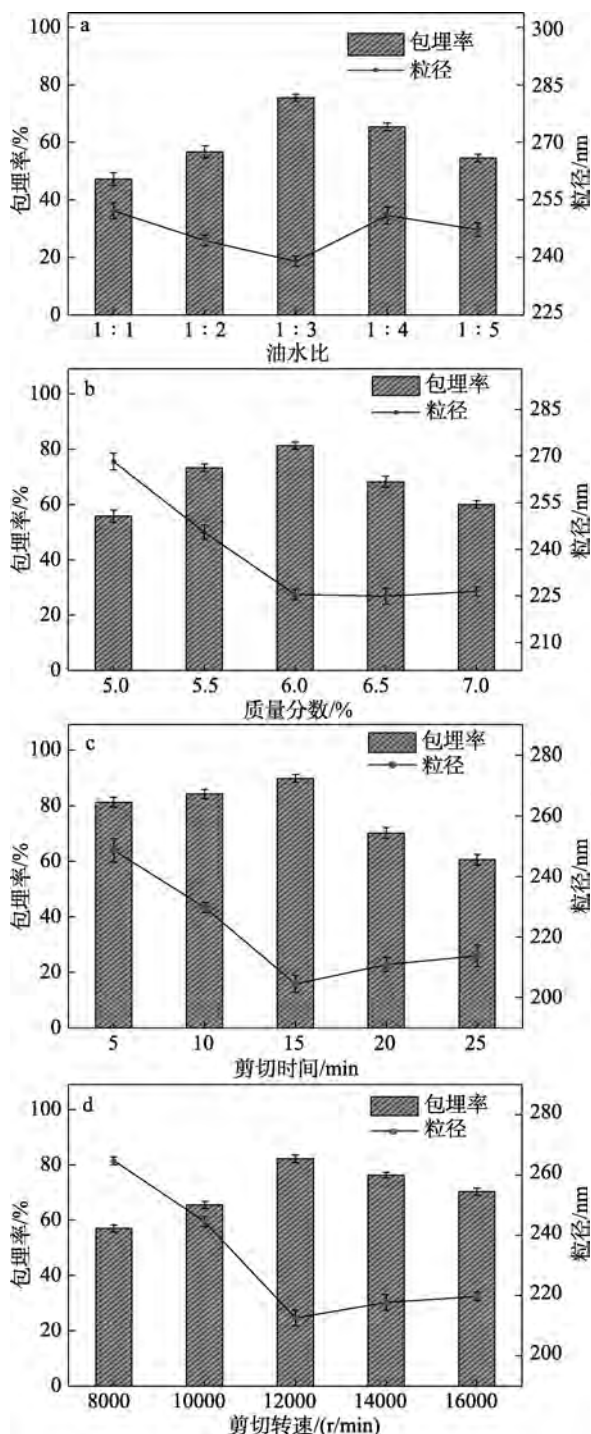


图 3 单因素实验结果

Fig. 3 Single factor experimental results

从图 3c 可以看出, 随着剪切时间的增加, 包埋率呈现先增大后减小的趋势, 而粒径则呈现先减小后增加的趋势。当剪切时间为 15 min 时, 包埋率达到最大 (89.79%), 粒径最小 (204.50 nm)。这是因为, 剪切时间较短, 乳化不完全, 不能将油均匀地

分散到水中形成稳定的纳米乳液; 随着剪切时间延长, 油相可以更好地分散在水相中, 纳米乳液更加均一, 包埋率增加, 许多黏连在一起的乳液分子得以分开, 粒径减小; 但剪切时间过长, 又会破坏已经形成的稳定纳米乳体系, 剪切分散的小液滴发生了碰撞和聚集, 导致纳米乳液的稳定性降低, 包埋率下降<sup>[23]</sup>, 液滴持续充分接触出现聚结, 从而导致乳液液滴粒径变大并影响其单分散性<sup>[24]</sup>。

从图 3d 可以看出, 随着剪切转速的增加, 包埋率呈现先增大后减小的趋势, 而粒径则呈现先剧烈减小后稍增加的趋势。当剪切转速为 12000 r/min 时, 包埋率达到最大 (82.17%), 粒径最小 (212.57 nm)。这是因为, 随着剪切转速的增加, 乳液中的酪蛋白酸钠以及油相更容易形成均匀的小液滴, 可以减少乳液中各成分的聚集, 进而形成均一乳液, 提高乳液的包埋率, 降低乳液的粒径。但随着剪切转速继续增大, 乳液中蛋白形成的界面膜因表面积过大, 表面能升高而不稳定, 易破裂, 导致纳米乳液的包埋率降低<sup>[25]</sup>。并且由于高的剪切转速可能会破坏已经形成的液滴, 液滴碰撞速率较表面活性剂吸附速率更快, 则新界面不会被完全覆盖, 发生聚结现象, 从而导致乳液粒径变大<sup>[26]</sup>。

综合单因素实验结果, 得到高顺式番茄红素纳米乳液的最佳制备条件为: 油水比 1:3, 酪蛋白酸钠溶液质量分数 6.0%, 剪切时间 15 min, 剪切转速 12000 r/min。

#### 2.1.4 响应面实验结果及方差分析

表 1 为响应面实验的因素和水平设计。

表 1 响应面实验因素和水平

Table 1 Response surface experimental factors and levels

水平	因素			
	A 油水比	B 酪蛋白酸钠溶液质量分数/%	C 剪切时间/min	D 剪切转速/(r/min)
-1	1:2	5.5	10	10000
0	1:3	6.0	15	12000
1	1:4	6.5	20	14000

根据单因素实验结果进行响应面实验 [以包埋率 ( $Y$ ) 为考察指标], 结果见表 2。采用 Design-Expert 8.0.6 软件拟合, 得到二次回归模型方程为:

$$Y = 88.54 - 0.31A + 0.08B - 0.34C + 0.19D + 0.67AB - 0.43AC + 0.33AD + 0.03BC - 0.44BD + 0.25CD - 2.36A^2 - 2.14B^2 - 1.65C^2 - 1.88D^2$$

( $P < 0.0001$ ,  $R^2 = 0.9787$ )

表 3 为回归方程方差分析结果。

从表 3 可看出, 模型高度显著 ( $P < 0.0001$ ), 失拟项  $P = 0.4509 > 0.05$ , 失拟项不显著, 其中  $R^2 = 0.9787$ ;  $R^2_{Adj} = 0.9575$ , 证明了该模型拟合程度良好, 能够用于高顺式番茄红素纳米乳液包埋率的预测分析。

图 4 为两因素交互作用的 3D 响应面和等高线图。

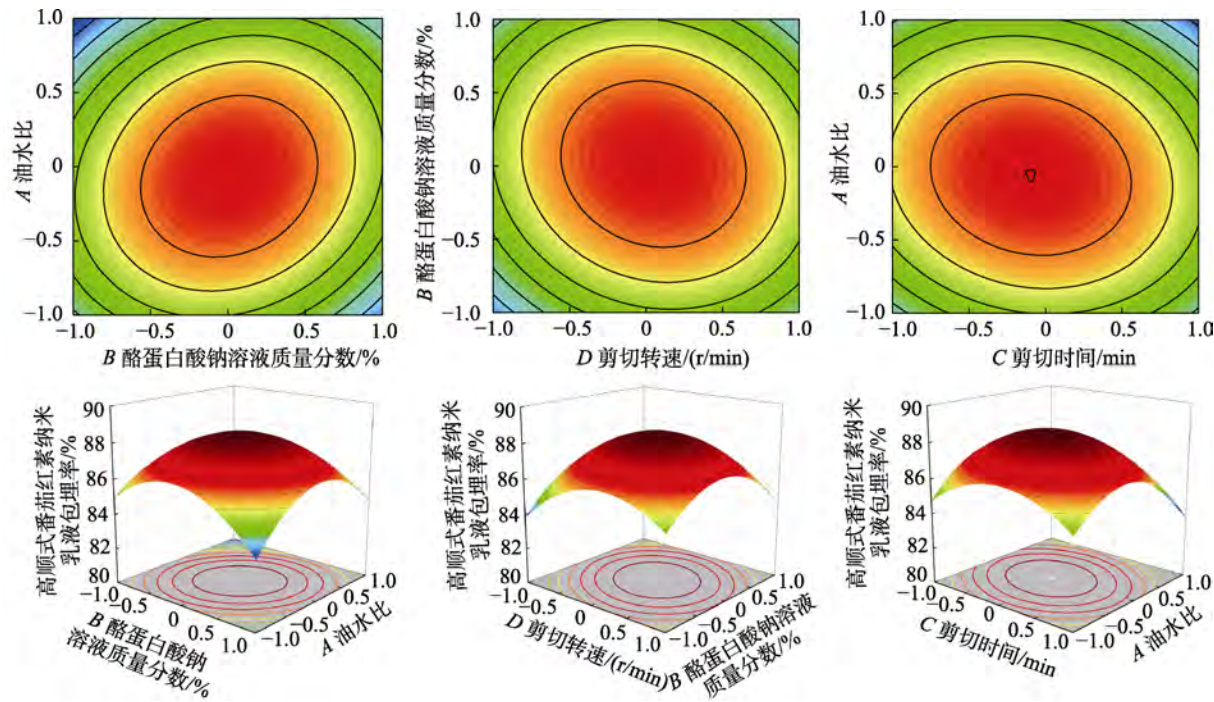
表 2 响应面实验设计与结果  
Table 2 Design and results of response surface experiment

序号	编码值				Y/%	序号	编码值				Y/%
	A	B	C	D			A	B	C	D	
1	-1	1	0	0	83.39	16	0	-1	-1	0	85.28
2	0	0	1	-1	84.11	17	1	0	0	-1	83.49
3	1	0	0	1	84.61	18	0	0	0	0	88.29
4	0	-1	0	1	85.02	19	0	1	-1	0	85.61
5	0	1	0	-1	84.73	20	0	0	0	0	88.69
6	0	1	0	1	84.21	21	0	0	1	1	84.92
7	1	-1	0	0	83.22	22	0	0	0	0	88.61
8	0	-1	1	0	84.13	23	-1	0	0	-1	84.96
9	-1	0	1	0	85.27	24	-1	0	-1	0	84.51
10	1	0	1	0	83.53	25	0	1	1	0	84.56
11	-1	-1	0	0	84.69	26	-1	0	0	1	84.75
12	1	0	-1	0	84.47	27	0	-1	0	-1	83.77
13	1	1	0	0	84.58	28	0	0	0	0	88.94
14	0	0	0	0	88.15	29	0	0	-1	1	85.27
15	0	0	-1	-1	85.44						

表 3 回归方程的方差分析  
Table 3 Variance analysis of regression equation

模型来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性	模型来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	75.90	14	5.42	46.01	<0.0001	***	CD	0.24	1	0.24	2.04	0.1754	○
A	1.12	1	1.12	9.53	0.0080	**	A <sup>2</sup>	36.00	1	36.00	305.55	<0.0001	***
B	0.078	1	0.078	0.67	0.4283	○	B <sup>2</sup>	29.73	1	29.73	252.33	<0.0001	***
C	1.37	1	1.37	11.66	0.0042	**	C <sup>2</sup>	17.71	1	17.71	150.27	<0.0001	***
D	0.43	1	0.43	3.68	0.0758	○	D <sup>2</sup>	22.92	1	22.92	194.50	<0.0001	***
AB	1.77	1	1.77	15.01	0.0017	**	残差	1.65	14	0.12			○
AC	0.72	1	0.72	6.13	0.0267	*	失拟项	1.25	10	0.12	1.24	0.4509	○
AD	0.44	1	0.44	3.75	0.0732	○	纯误差	0.40	4	0.10			
BC	0.0025	1	0.0025	0.021	0.8863	○	总和	77.55	28				
BD	0.78	1	0.78	6.65	0.0219	*							

注：“\*”表示差异显著 ( $P<0.05$ )；“\*\*”表示差异极显著 ( $P<0.01$ )；“\*\*\*”表示差异高度显著 ( $P<0.0001$ )；“○”表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。



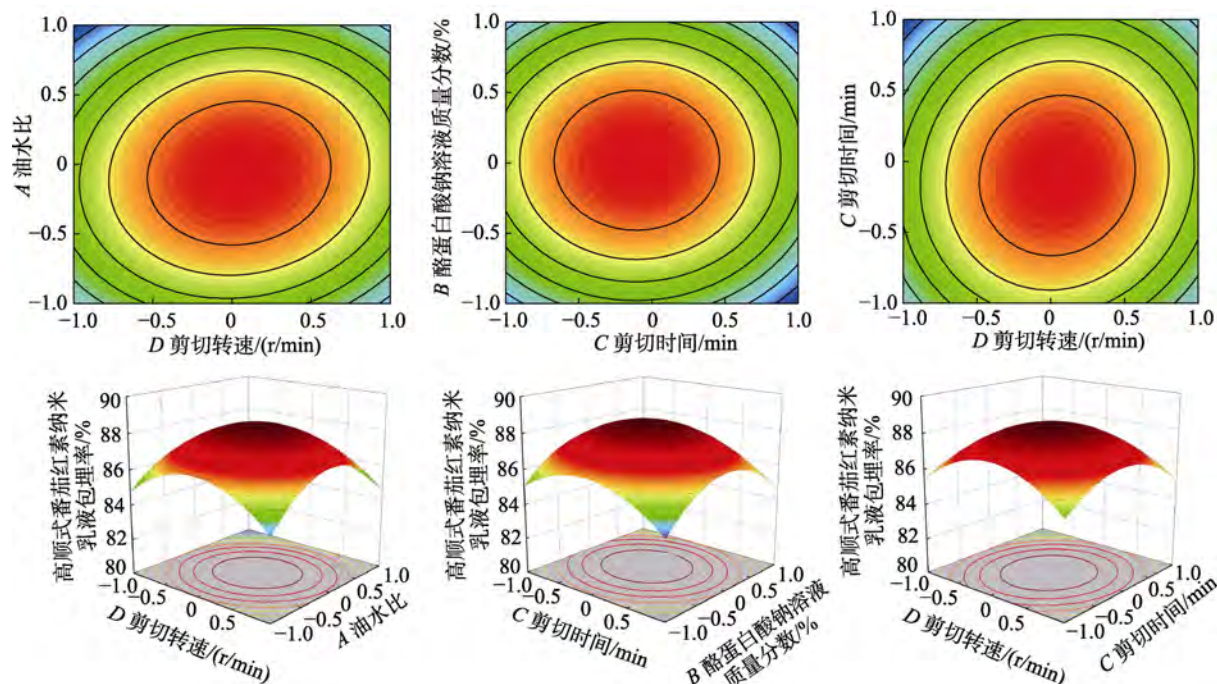


图 4 两因素间交互作用对高顺式番茄红素纳米乳液包埋率的影响

Fig. 4 Effect of interaction between two factors on embedding rate of high *cis*-lycopene nano emulsion

从图 4 可以看出,两因素交互作用的等高线呈椭圆形,且椭圆的中心轴线均与  $AB$ 、 $AC$  及  $BD$  坐标轴存在一定角度,说明油水比和酪蛋白酸钠溶液质量分数 ( $AB$ )、油水比和剪切时间 ( $AC$ )、酪蛋白酸钠溶液质量分数和剪切转速 ( $BD$ ) 均存在一定的交互作用。

根据方差分析显著性结果可知,  $AB$ 、 $AC$ 、 $BD$  对高顺式番茄红素纳米乳液包埋率具有显著影响,影响程度依次为  $AB > BD > AC$ 。根据 Design-Expert 8.0.6 软件分析结果,预测最优的包埋工艺为:油水比为 1:2.95、酪蛋白酸钠溶液质量分数 6.0%、剪切转速 11813.84 r/min、剪切时间 15.19 min,在此工艺条件下乳液的包埋率最大理论值为 88.56%。

根据 Design-Expert 8.0.6 软件预测的最佳工艺条件,结合实验实际操作进行修正,得到最优的制备工艺为:油水比 1:3、酪蛋白酸钠溶液质量分数 6.0%、剪切时间 15 min、剪切转速 12000 r/min,在此条件下进行 3 次平行实验,制备纳米乳液的包埋率为  $88.09\% \pm 0.92\%$ ,与模型预测结果仅相差 0.47%,表明该制备工艺经响应面优化后有效可行,可应用于实际操作。后续均以最优制备条件得到的高顺式番茄红素纳米乳液进行表征测试。

## 2.2 高顺式番茄红素纳米乳液的表征结果

### 2.2.1 粒径分析

图 5 为高顺式番茄红素纳米乳液粒径分布图。从图 5 可以看出,乳液的平均粒径为  $199.80 \pm 2.32$  nm。经测定,其 PDI 为  $0.26 \pm 0.016$ , Zeta 电位

为  $(-23.40 \pm 0.26)$  mV。

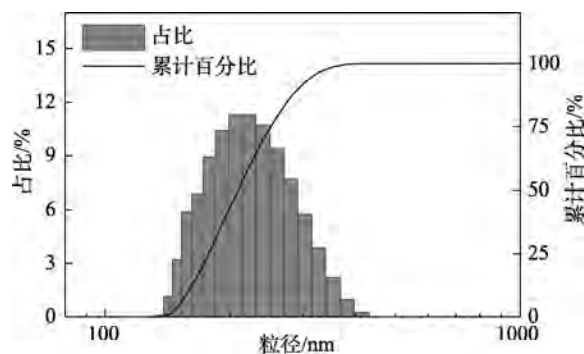
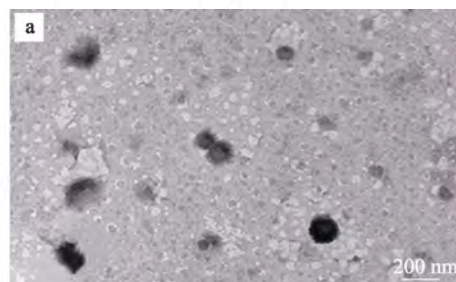


图 5 纳米乳液粒径分布

Fig. 5 Particle size distribution of nano emulsion

### 2.2.2 TEM 分析

图 6 为高顺式番茄红素纳米乳液的 TEM 图及其粒径分布图。从图 6 可以看出,纳米乳液颗粒表面光滑,呈现圆整规则的球形,成型性好,在乳液中分散较为均匀,粒径尺寸在 150~200 nm,结果与 2.2.1 节粒径测定结果一致。说明该纳米乳液具有良好的分散性和离散性。



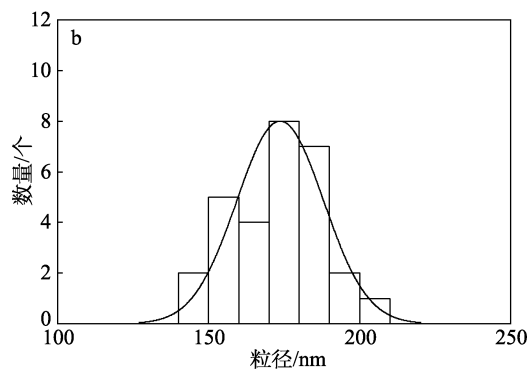
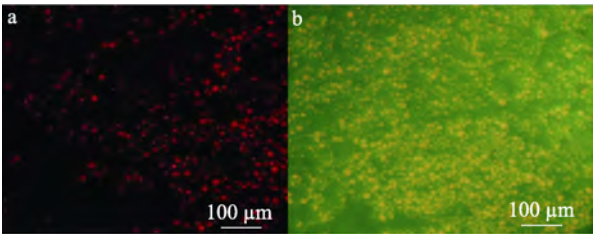


图 6 纳米乳液的 TEM 图 (a) 及粒径分布 (b)  
Fig. 6 TEM image (a) and particle size distribution (b) of nano emulsion

2.2.3 CLSM 分析

图 7 为高顺式番茄红素纳米乳液的 CLSM 图。



a—尼罗红标记图; b—叠加图  
图 7 纳米乳液的 CLSM 图  
Fig. 7 CLSM images of nano emulsion

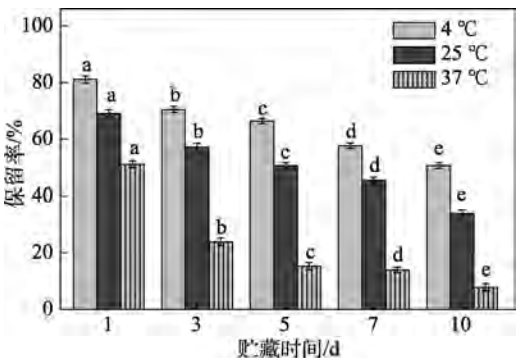
从图 7 可以看出, 纳米乳液中油相被尼罗红标记后, 液滴显示红色荧光, 而液滴的外部无荧光 (图 7a), 说明乳液类型为水包油 (O/W) 型纳米乳液<sup>[27]</sup>; 而尼罗红标记的红色油滴和尼罗蓝标记的绿色蛋白水溶液的叠加, 可以非常明显地看出红色油滴被绿色的蛋白水溶液包围 (图 7b), 同样说明乳液类型为 O/W 纳米乳液<sup>[28]</sup>。这可能是由于在油相的表面蛋白能够形成稳定的网状结构, 在一定程度上油滴间的相互聚集被抑制<sup>[29]</sup>, 使纳米乳液得以保持较好的分散性和稳定性。

2.3 高顺式番茄红素纳米乳液的稳定性结果

2.3.1 温度的影响

图 8 和表 4 为温度对纳米乳液中番茄红素保留率及异构体恢复转化的影响。可以看出, 贮藏 10 d 后, 不同温度下 (4、25、37 °C), 纳米乳液中番茄红素保留率分别与贮藏 1 d 后同比下降 30.45%、35.12%、43.30% ( $P<0.05$ )。从表 4 可以看出, 在不同温度下 (4、25、37 °C), 贮藏 10 d 后, 番茄红素的总顺式占比分别与第 0 d 同比下降 17.98%、28.67%、37.29%, 且 4 °C 下恢复转化占比 (即贮藏 10 d 后反式异构体占比与 0 d 反式异构体占比的差值) 为 1.67% ( $P<0.05$ ), 说明在低温下贮藏有利于

提高纳米乳液中番茄红素保留率及抑制顺式番茄红素的恢复转化, 表明低温可以维持高顺式番茄红素纳米乳液的稳定性。



不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 下同  
图 8 温度对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 8 Effect of temperature on stability of lycopene in nano emulsion

表 4 温度对纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化的影响  
Table 4 Effect of temperature on retro-isomerization of lycopene isomers in nano emulsion

温度/°C	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
4	0	43.14 <sup>a</sup> ±1.11	38.84 <sup>a</sup> ±1.13
	5	33.42 <sup>b</sup> ±0.54	32.41 <sup>b</sup> ±1.73
	10	44.81 <sup>c</sup> ±1.51	20.86 <sup>c</sup> ±1.40
25	0	43.36 <sup>a</sup> ±1.03	38.11 <sup>a</sup> ±1.24
	5	35.46 <sup>b</sup> ±0.62	20.51 <sup>b</sup> ±1.83
	10	20.32 <sup>c</sup> ±1.41	9.44 <sup>c</sup> ±1.16
37	0	43.57 <sup>a</sup> ±1.05	37.29 <sup>a</sup> ±1.35
	5	10.73 <sup>b</sup> ±1.04	3.31 <sup>b</sup> ±1.35
	10	4.36 <sup>c</sup> ±1.21	0

注: 不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 下同。

2.3.2 光照的影响

图 9 和表 5 为光照条件对纳米乳液中番茄红素保留率及异构体恢复转化的影响。

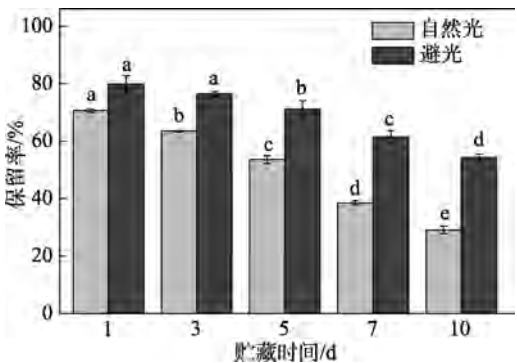


图 9 光照对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 9 Effect of illumination on stability of lycopene in nano emulsion

表 5 光照对纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化的影响  
Table 5 Effect of illumination on retro-isomerization of lycopene isomers in nano emulsion

光照	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
自然光	0	40.27 <sup>a</sup> ±0.90	35.36 <sup>a</sup> ±2.28
	5	30.62 <sup>b</sup> ±0.92	23.66 <sup>b</sup> ±2.29
	10	18.46 <sup>c</sup> ±0.55	3.97 <sup>c</sup> ±1.59
避光	0	41.92 <sup>a</sup> ±1.25	38.25 <sup>a</sup> ±0.23
	5	43.54 <sup>ab</sup> ±1.00	30.30 <sup>b</sup> ±0.12
	10	45.78 <sup>b</sup> ±0.28	18.66 <sup>c</sup> ±1.40

从图 9 可以看出, 贮藏 10 d 后, 不同光照条件下(自然光、避光), 纳米乳液中番茄红素保留率分别同比下降 41.49%、25.59% ( $P<0.05$ )。从表 5 可以看出, 在不同光照下(自然光、避光), 贮藏 10 d 后, 番茄红素的总顺式占比分别同比下降 31.39%、19.59%, 在避光条件下恢复转化占比为 3.86% ( $P<0.05$ ), 说明在避光下贮藏有利于提高纳米乳液中番茄红素保留率及抑制顺式番茄红素的恢复转化。表明避光对高顺式番茄红素纳米乳液起到一定的保护作用, 可以提高相应产品的贮藏稳定性。

### 2.3.3 pH 的影响

图 10 和表 6 为 pH 对纳米乳液中番茄红素保留率及异构体恢复转化的影响。

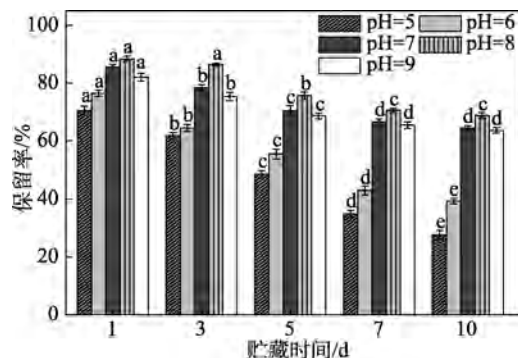


图 10 pH 对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 10 Effect of pH on stability of lycopene in nano emulsion

从图 10 和表 6 可以看出, 在不同 pH (5、6、7、8、9) 条件下, 纳米乳液中番茄红素保留率均随贮藏时间延长呈下降趋势, 贮藏 10 d 后保留率分别与贮藏 1 d 后同比下降 42.85%、37.13%、21.05%、19.65%、18.44% ( $P<0.05$ )。贮藏 10 d 后番茄红素总顺式占比分别与贮藏 0 d 同比下降 35.53%、32.37%、22.30%、18.44%、22.61%。且在 pH 为 7、8、9 条件下, 番茄红素恢复转化占比分别为 4.58%、2.10%、5.94%, 说明纳米乳液在酸性条件 ( $pH=5、6$ ) 下极不稳定, 在 pH 为 8 时恢复转化占比最少 ( $P>0.05$ )。这可能是由于酸性条件下促进了番茄红素与反应性过氧化自由基或不饱和脂肪自由基之间的相互作用, 从而加速了番茄红素的降解<sup>[30]</sup>; 而酪蛋白酸

钠的等电点为 4.6, 在接近等电点时, 其乳化能力小。因此, 所制备的高顺式番茄红素纳米乳液在中性和弱碱性范围内具有一定稳定性<sup>[31-32]</sup>。所以, 在食品应用中尽可能将高顺式番茄红素纳米乳液贮藏在中性和弱碱性环境下, 降低其恢复转化, 增加其保留率。

表 6 pH 对纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化的影响  
Table 6 Effect of pH on retro-isomerization of lycopene isomers in nano emulsion

pH	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
5	0	42.27 <sup>a</sup> ±1.04	38.35 <sup>a</sup> ±0.95
	5	30.46 <sup>b</sup> ±1.14	18.23 <sup>b</sup> ±1.33
	10	19.42 <sup>c</sup> ±0.93	2.82 <sup>c</sup> ±0.84
6	0	42.73 <sup>a</sup> ±0.87	38.32 <sup>a</sup> ±1.45
	5	37.11 <sup>b</sup> ±1.14	20.69 <sup>b</sup> ±0.91
	10	27.46 <sup>c</sup> ±0.76	5.95 <sup>c</sup> ±1.44
7	0	43.09 <sup>a</sup> ±1.17	38.49 <sup>a</sup> ±1.08
	5	45.35 <sup>ab</sup> ±1.17	24.60 <sup>b</sup> ±1.06
	10	47.67 <sup>b</sup> ±1.08	16.19 <sup>c</sup> ±0.92
8	0	43.13 <sup>a</sup> ±1.38	38.77 <sup>a</sup> ±1.21
	5	44.96 <sup>a</sup> ±0.98	30.50 <sup>b</sup> ±1.16
	10	45.23 <sup>a</sup> ±1.02	20.33 <sup>c</sup> ±1.04
9	0	42.75 <sup>a</sup> ±1.02	38.46 <sup>a</sup> ±1.03
	5	45.30 <sup>a</sup> ±1.14	21.66 <sup>b</sup> ±1.12
	10	48.69 <sup>b</sup> ±1.06	15.85 <sup>c</sup> ±1.48

### 2.3.4 氮气的影响

图 11 和表 7 为氮气对纳米乳液中番茄红素保留率及异构体恢复转化的影响。

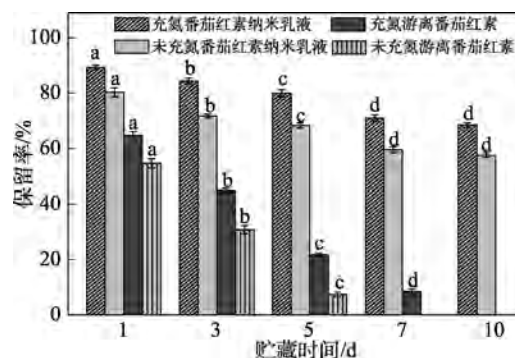


图 11 氮气对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 11 Effect of nitrogen on stability of lycopene in nano emulsion

从图 11 可以看出, 充氮贮藏 7 d 后, 游离番茄红素保留率仅为 8.41%, 10 d 后全部降解; 纳米乳液在贮藏 10 d 后, 充氮和不充氮条件下保留率均维持在 50% 以上, 说明番茄红素被纳米乳液包埋后稳定性明显高于游离的番茄红素。这是因为, 纳米乳液中的液滴布朗运动足够强大, 足以抵消由重力或黏性引起的动能不稳定<sup>[33-34]</sup>, 可以避免沉淀和凝聚现象。从表 7 可以看出, 充氮与未充氮贮藏 10 d 后,

纳米乳液中番茄红素总顺式占比分别同比下降 9.63% 和 20.73%，恢复转化占比分别为 4.42% 和 10.15%。这是因为充入氮气后可以驱赶氧气，抑制番茄红素的氧化降解及恢复转化，提高番茄红素的利用率<sup>[28]</sup>。因此，填充氮气保护，可提高纳米乳液中高顺式番茄红素的稳定性。

表 7 氮气对纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化的影响  
Table 7 Effect of nitrogen on retro-isomerization of lycopene isomers in nano emulsion

氮气	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
充氮纳米乳液	0	41.70 <sup>a</sup> ±0.67	38.48 <sup>a</sup> ±1.12
	5	44.37 <sup>b</sup> ±1.48	34.62 <sup>b</sup> ±0.99
	10	46.12 <sup>c</sup> ±0.93	28.85 <sup>c</sup> ±1.40
未充氮纳米乳液	0	41.58 <sup>a</sup> ±0.53	38.91 <sup>a</sup> ±1.20
	5	50.38 <sup>b</sup> ±0.82	25.13 <sup>b</sup> ±1.06
	10	51.73 <sup>c</sup> ±0.75	18.18 <sup>c</sup> ±1.08
充氮游离番茄红素	0	41.47 <sup>a</sup> ±0.88	37.58 <sup>b</sup> ±0.97
	5	6.85 <sup>b</sup> ±1.27	1.71 <sup>b</sup> ±0.83
	10	0	0
	10	0	0
未充氮游离番茄红素	0	40.69 <sup>a</sup> ±1.41	36.24 <sup>b</sup> ±1.02
	5	0	0
	10	0	0
	10	0	0

2.3.5 金属离子的影响

图 12 和表 8 为金属离子对纳米乳液中番茄红素保留率及异构体恢复转化的影响。

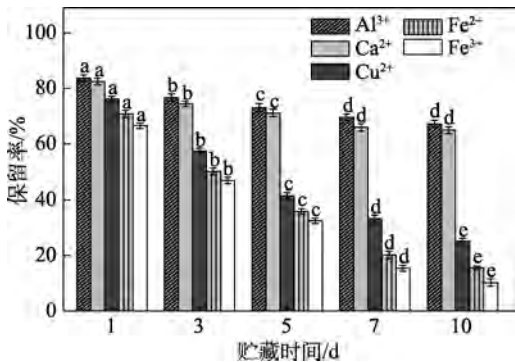


图 12 金属离子对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 12 Effect of metal ions on stability of lycopene in nano emulsion

从图 12 和表 8 可以看出，添加不同金属离子（ $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ ），贮藏 10 d 后纳米乳液中番茄红素保留率分别与贮藏 1 d 后同比降低 16.64%、17.61%、50.97%、55.26%、56.34%。番茄红素总顺式占比分别与贮藏 0 d 同比下降 13.03%、19.97%、32.15%、28.90%、25.33%。且添加金属离子  $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ ，番茄红素异构体发生恢复转化，占比分别为 2.81%，6.65%，而  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 使番

茄红素发生氧化降解。这可能是由于  $\text{Fe}^{3+}$  具有强氧化性，与其共存时，番茄红素会不断降解<sup>[35]</sup>。而  $\text{Fe}^{2+}$  在贮藏过程中易被氧化成  $\text{Fe}^{3+}$ ，然后导致番茄红素氧化降解的发生。 $\text{Al}^{3+}$  是一种高效番茄红素顺反异构催化剂<sup>[36]</sup>，它可以通过降低旋转势能来实现全反式碳正离子的快速旋转，与双键结合形成中间体，激活相应的位点形成反应产物，因此，可以抑制高顺式番茄红素恢复转化。WANG 等<sup>[37]</sup>研究结果证实， $\text{Al}^{3+}$  使番茄红素具有更高的保留率，与本实验结果相似。

表 8 金属离子对纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化的影响  
Table 8 Effect of metal ions on retro-isomerization of lycopene isomers in nano emulsion

金属离子	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
$\text{Al}^{3+}$	0	43.30 <sup>a</sup> ±1.03	38.40 <sup>a</sup> ±0.94
	5	44.09 <sup>ab</sup> ±0.99	31.05 <sup>b</sup> ±1.37
	10	46.11 <sup>b</sup> ±1.20	25.37 <sup>c</sup> ±1.50
$\text{Ca}^{2+}$	0	42.70 <sup>a</sup> ±1.35	38.63 <sup>a</sup> ±1.23
	5	47.69 <sup>b</sup> ±1.38	23.64 <sup>b</sup> ±0.84
	10	49.35 <sup>b</sup> ±0.95	18.66 <sup>c</sup> ±1.40
$\text{Cu}^{2+}$	0	42.89 <sup>a</sup> ±1.50	38.99 <sup>a</sup> ±1.00
	5	40.87 <sup>b</sup> ±1.35	14.19 <sup>b</sup> ±1.14
	10	36.76 <sup>b</sup> ±1.31	6.84 <sup>c</sup> ±1.11
$\text{Fe}^{2+}$	0	42.46 <sup>a</sup> ±1.45	38.25 <sup>a</sup> ±1.38
	5	38.33 <sup>b</sup> ±1.29	19.76 <sup>b</sup> ±0.87
	10	34.69 <sup>b</sup> ±1.33	9.35 <sup>c</sup> ±1.29
$\text{Fe}^{3+}$	0	41.09 <sup>a</sup> ±1.34	38.71 <sup>a</sup> ±1.33
	5	35.44 <sup>b</sup> ±1.10	21.91 <sup>b</sup> ±1.20
	10	33.71 <sup>b</sup> ±1.12	13.38 <sup>c</sup> ±1.17

2.3.6 NaCl 的影响

图 13 和表 9 为 NaCl 浓度对纳米乳液中番茄红素保留率及异构体恢复转化的影响。

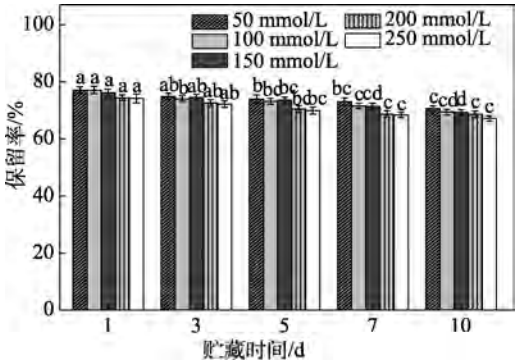


图 13 NaCl 浓度对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 13 Effect of NaCl concentration on stability of lycopene in nano emulsion

表 9 NaCl 浓度对纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化的影响

Table 9 Effect of NaCl concentration on retro-isomerization of lycopene isomers in nano emulsion

NaCl 浓度/ (mmol/L)	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
50	0	44.10 <sup>a</sup> ±1.09	33.62 <sup>a</sup> ±1.14
	5	46.29 <sup>ab</sup> ±1.14	30.39 <sup>b</sup> ±1.09
	10	48.70 <sup>b</sup> ±0.96	26.21 <sup>b</sup> ±1.17
100	0	43.44 <sup>a</sup> ±1.12	34.64 <sup>a</sup> ±1.18
	5	46.49 <sup>b</sup> ±1.23	31.19 <sup>a</sup> ±1.02
	10	47.30 <sup>b</sup> ±1.22	25.95 <sup>b</sup> ±1.27
150	0	43.10 <sup>a</sup> ±1.35	33.91 <sup>a</sup> ±1.12
	5	46.45 <sup>b</sup> ±1.17	30.86 <sup>ab</sup> ±1.19
	10	48.18 <sup>b</sup> ±1.42	26.11 <sup>b</sup> ±1.56
200	0	41.81 <sup>a</sup> ±0.94	33.14 <sup>a</sup> ±1.33
	5	44.33 <sup>ab</sup> ±1.56	28.33 <sup>b</sup> ±0.94
	10	46.33 <sup>b</sup> ±1.11	24.00 <sup>b</sup> ±0.96
250	0	42.61 <sup>a</sup> ±0.98	32.02 <sup>a</sup> ±1.35
	5	44.29 <sup>ab</sup> ±1.00	29.25 <sup>a</sup> ±1.25
	10	45.42 <sup>b</sup> ±0.95	23.46 <sup>b</sup> ±0.86

不同食品体系中 NaCl 含量是不同的<sup>[38]</sup>，从图 13 和表 9 可以看出，在不同 NaCl 浓度（50、100、150、200、250 mmol/L）中贮藏 10 d 后，纳米乳液中番茄红素的保留率、总顺式占比及恢复转化占比均无显著变化（ $P>0.05$ ）。同时，添加 NaCl 的纳米乳液随着贮藏时间的延长，表观状态未发生改变。这可能是由于 NaCl 的加入屏蔽了高顺式番茄红素纳米乳液之间的静电斥力，降低了分子间的空间位阻，使酪蛋白酸钠更好地包裹住油滴表面，进而提高了乳液的稳定性<sup>[39]</sup>。沈雪<sup>[40]</sup>在制备虾青素乳液包埋体系应用研究中发现，随着 NaCl 浓度的增加，蛋白质稳定乳状液的粒径增加，但虾青素的保留率未受影响。这表明，NaCl 可以维持高顺式番茄红素纳米乳液的稳定性，在加工中可以适量添加 NaCl，提高相应产品的贮藏稳定性。

2.3.7 抗氧化剂的影响

图 14 和表 10 为不同种类的抗氧化剂对纳米乳液中番茄红素保留率及异构体恢复转化的影响。

从图 14 和表 10 可以看出，纳米乳液中添加不同质量分数抗氧化剂（0.1%  $V_E$ 、0.2%  $V_E$ 、0.1% TBHQ、0.2% TBHQ、0.1% BHT、0.2% BHT）贮藏 10 d 后，番茄红素保留率分别与贮藏 1 d 后同比降低 21.57%、21.01%、18.37%、16.16%、17.30%、15.93%，番茄红素总顺式占比分别与贮藏 0 d 同比下降 22.78%、22.47%、13.22%、11.33%、16.85%、14.87%，恢复转化占比分别为 7.91%、7.78%、3.87%、3.91%、4.33%、4.28%。与对照组相比，添加 0.1%  $V_E$ 、

0.2%  $V_E$  的  $V_E$  组保留率、总顺式占比及恢复转化占比无显著性差异（ $P>0.05$ ），表明纳米乳液中添加  $V_E$  对抑制番茄红素的氧化降解及异构体的恢复转化作用不大。TBHQ 和 BHT 能够猝灭纳米乳液中油相的单线态氧，防止自由基的产生<sup>[41]</sup>，从而提高其贮藏过程中番茄红素的稳定性，抑制番茄红素异构体的恢复转化。

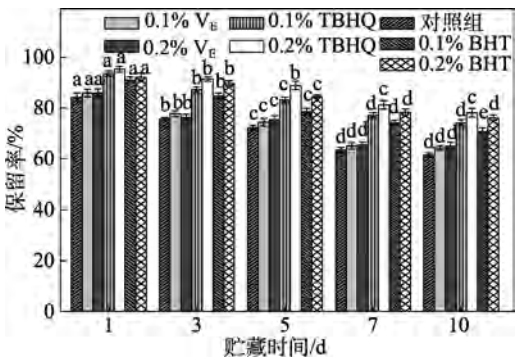


图 14 抗氧化剂对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 14 Effect of antioxidants on stability of lycopene in nano emulsion

表 10 抗氧化剂对纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化的影响

Table 10 Effect of antioxidants on retro-isomerization of lycopene isomers in nano emulsion

抗氧化剂	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
对照组	0	42.93 <sup>a</sup> ±1.34	38.39 <sup>a</sup> ±1.10
	5	48.51 <sup>b</sup> ±0.81	23.25 <sup>b</sup> ±1.16
	10	50.95 <sup>b</sup> ±1.03	14.79 <sup>c</sup> ±1.20
0.1% $V_E$	0	43.50 <sup>a</sup> ±1.00	39.04 <sup>a</sup> ±1.33
	5	47.71 <sup>b</sup> ±1.56	25.29 <sup>b</sup> ±1.27
	10	51.41 <sup>b</sup> ±1.20	16.26 <sup>c</sup> ±1.35
0.2% $V_E$	0	42.81 <sup>a</sup> ±1.37	38.18 <sup>a</sup> ±1.27
	5	47.41 <sup>b</sup> ±1.20	25.25 <sup>b</sup> ±1.63
	10	50.59 <sup>b</sup> ±1.43	15.71 <sup>c</sup> ±1.40
0.1% TBHQ	0	42.08 <sup>a</sup> ±1.29	38.93 <sup>a</sup> ±1.27
	5	44.98 <sup>ab</sup> ±1.36	31.55 <sup>b</sup> ±1.23
	10	45.95 <sup>b</sup> ±1.22	25.71 <sup>c</sup> ±0.76
0.2% TBHQ	0	42.57 <sup>a</sup> ±1.34	40.34 <sup>a</sup> ±1.19
	5	44.58 <sup>ab</sup> ±1.20	33.65 <sup>b</sup> ±1.22
	10	46.48 <sup>b</sup> ±1.46	29.01 <sup>c</sup> ±1.60
0.1% BHT	0	43.27 <sup>a</sup> ±1.36	38.43 <sup>a</sup> ±1.01
	5	46.72 <sup>b</sup> ±1.16	28.63 <sup>b</sup> ±1.15
	10	47.60 <sup>b</sup> ±1.10	21.58 <sup>c</sup> ±1.20
0.2% BHT	0	43.04 <sup>a</sup> ±1.52	39.31 <sup>a</sup> ±1.37
	5	46.53 <sup>b</sup> ±1.29	30.55 <sup>b</sup> ±1.21
	10	47.32 <sup>b</sup> ±1.17	24.44 <sup>c</sup> ±1.23

2.3.8 蔗糖的影响

图 15 和表 11 为蔗糖质量分数对纳米乳液中番

茄红素保留率及及异构体恢复转化的影响。

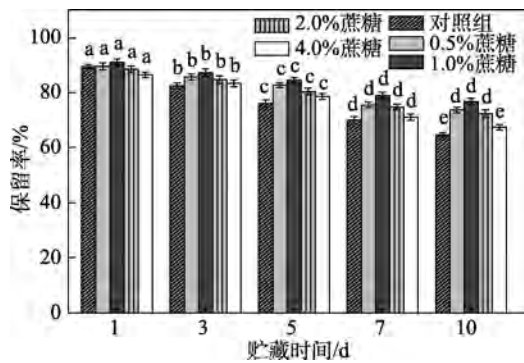


图 15 蔗糖质量分数对纳米乳液中番茄红素稳定性的影响  
Fig. 15 Effect of sucrose mass fraction on stability of lycopene in nano emulsion

表 11 蔗糖质量分数对纳米乳液中番茄红素恢复转化的影响  
Table 11 Effect of sucrose mass fraction on retro-isomerization of lycopene in nano emulsion

蔗糖质量 分数/%	贮藏时间/d	异构体占比/%	
		反式	总顺式
0	0	43.35 <sup>a</sup> ±1.08	38.39 <sup>a</sup> ±1.10
	5	47.71 <sup>b</sup> ±0.93	25.38 <sup>b</sup> ±1.13
	10	49.81 <sup>c</sup> ±1.05	15.86 <sup>c</sup> ±1.17
0.5	0	43.89 <sup>a</sup> ±1.00	39.06 <sup>a</sup> ±1.51
	5	47.51 <sup>b</sup> ±0.69	27.14 <sup>b</sup> ±1.09
	10	48.32 <sup>b</sup> ±1.23	20.44 <sup>c</sup> ±1.32
1.0	0	42.64 <sup>a</sup> ±1.12	38.85 <sup>a</sup> ±1.29
	5	44.40 <sup>ab</sup> ±0.90	29.17 <sup>b</sup> ±1.29
	10	45.61 <sup>b</sup> ±1.04	25.64 <sup>c</sup> ±1.43
2.0	0	43.03 <sup>a</sup> ±0.83	37.83 <sup>a</sup> ±1.32
	5	46.24 <sup>b</sup> ±1.39	27.03 <sup>b</sup> ±1.63
	10	47.36 <sup>b</sup> ±1.21	23.34 <sup>c</sup> ±1.03
4.0	0	43.44 <sup>a</sup> ±1.16	37.51 <sup>a</sup> ±1.10
	5	46.48 <sup>b</sup> ±0.86	24.73 <sup>b</sup> ±1.38
	10	47.36 <sup>b</sup> ±1.08	19.41 <sup>c</sup> ±0.96

从图 15 可以看出, 各组纳米乳液中番茄红素的保留率, 随着贮藏时间的延长均出现不同程度的降低。贮藏 10 d 后, 与对照组相比, 蔗糖质量分数为 0.5%~2.0% 的纳米乳液, 番茄红素保留率差异显著 ( $P<0.05$ ), 而蔗糖质量分数为 4.0% 时, 差异不显著 ( $P>0.05$ )。从表 11 可以看出, 贮藏 10 d 后, 对照组中番茄红素总顺式占比同比下降最多 (22.53%), 蔗糖质量分数为 1.0% 时番茄红素总顺式占比下降最少 (13.21%), 而添加蔗糖的纳米乳液中番茄红素异构体恢复转化占比均低于对照组, 这可能是由于蔗糖能够降低乳液水相中氧的含量, 从而减缓和抑制番茄红素的氧化降解及异构体的恢复转化, 表明适量添加蔗糖有利于增强高顺式番茄

红素纳米乳液的稳定性。

3 结论

以高顺式番茄红素为包埋对象, 优选天然乳化剂酪蛋白酸钠制备高顺式番茄红素纳米乳液。

(1) 通过单因素和响应面优化实验, 得到乳液制备最佳条件为: 油水比 1 : 3、酪蛋白酸钠溶液质量分数 6.0%、剪切时间 15 min、剪切转速 12000 r/min, 此时, 高顺式番茄红素包埋率为 88.09%±0.92%。

(2) 高顺式番茄红素纳米乳液在避光、低温 (4℃)、充氮的条件下可减少纳米乳液中高顺式番茄红素的氧化降解, 抑制顺式异构体向反式构型的恢复转化。贮藏在中性或弱碱性环境中可以提高其稳定性, 增加顺式异构体占比。适量添加金属离子  $Al^{3+}$ 、NaCl、抗氧化剂 (TBHQ 或 BHT)、蔗糖均可以提高纳米乳液中番茄红素的保留率, 减少番茄红素异构体的恢复转化。

本文优化了制备性能稳定的纳米乳液的工艺条件, 可以为寻找合适的高顺式番茄红素纳米乳液的贮存方法提供参考, 但未进行高顺式番茄红素纳米乳液在体内吸收及生物利用度方面的研究, 这可作为后续研究开发番茄红素功能性食品的新内容。

参考文献:

[1] LI Y X, CUI Z, HU L D. Recent technological strategies for enhancing the stability of lycopene in processing and production[J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134799.

[2] WAQAS A, ANAM L, ZHANG L F. Technological advancement in the processing of lycopene: A review[J]. Food Reviews International, 2022, 38(5): 857-883.

[3] LI H (李红). Study on the production and stability improvement of high *cis*-isomers ratio lycopene[D]. Wuxi: Jiangnan University (江南大学), 2014.

[4] SHI K X, HU T, ZHANG P P, *et al*. Thermal conditions and active substance stability effect the isomerization and degradation of lycopene[J]. Food Research International, 2022, 162: 111987.

[5] KAZUYA M, MOTONOBU G, MASAKI H. High-temperature supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lycopene from tomato powder for enhancing Z-isomerization and recovery of lycopene[J]. Journal of Oleo Science, 2022, 71(9): 1289-1297.

[6] HARTONO T, SIEW Y Q, KAREN S B. Screening of *in vitro* health benefits of tangerine tomatoes[J]. Antioxidants, 2019, 8(7): 230.

[7] HANH P T, YVES W. Isomerization and increase in the antioxidant properties of lycopene from *Momordica cochinchinensis* (gac) by moderate heat treatment with UV-Vis spectra as a marker[J]. Food Chemistry, 2014, 156: 58-63.

[8] RAMESH K S, ALAA E D A B, SHAHIN R, *et al*. Chemical stability of lycopene in processed products: A review of the effects of processing methods and modern preservation strategies[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(3): 712-726.

[9] THOMAS W M B, AMY C B, JOHN W E. Bioavailability of all-*trans* and *cis*-isomers of lycopene[J]. Experimental Biology and Medicine, 2002, 227(10): 914-919.

[10] DAI L, ZHAN X Y, WEI Y, *et al*. Composite zein-propylene glycol

- alginate particles prepared using solvent evaporation: Characterization and application as Pickering emulsion stabilizers[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 85: 281-290.
- [11] XIE T (谢甜), FAN W (范伟), QIN J P (覃静萍), *et al.* *In vitro* biocompatibility of paradol in food-grade nanoemulsion-based delivery system[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2022, 39(9): 1908-1916.
- [12] CHENG P, SVIRSKIS D, LEE S J, *et al.* Design of microemulsion system suitable for the oral delivery of poorly aqueous soluble beta-carotene[J]. Pharmaceutical Development and Technology, 2018, 23(7): 682-688.
- [13] WU W Y, LI L, HONG Z H, *et al.* Comparison of emulsifying characteristics of different macromolecule emulsifiers and their effects on the physical properties of lycopene nanoemulsions[J]. Journal of Dispersion Science and Technology, 2020, 41(4): 618-627.
- [14] HAN C R (韩春然), ZHANG Y (张莹), LI C C (黎晨晨), *et al.* Study on preparation of high *cis*-lycopene[J]. Journal of Food Safety and Quality (食品安全质量检测学报), 2022, 13(13): 4289-4296.
- [15] ZHAO C C, WEI L P, YIN B B, *et al.* Encapsulation of lycopene within oil-in-water nanoemulsions using lactoferrin: Impact of carrier oils on physicochemical stability and bioaccessibility[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 153: 912-920.
- [16] YANG C, YAN H X, JIANG X, *et al.* Preparation of 9Z- $\beta$ -carotene and 9Z- $\beta$ -carotene high loaded nanostructured lipid carriers: Characterization and storage stability[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(47): 13844-13853.
- [17] MASAKI H, HARUYUKI I, TAKAHIRO K, *et al.* Photosensitized *E/Z* isomerization of (all-*E*)-lycopene aiming at practical applications[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(47): 11353-11356.
- [18] MELÉNDEZ-MARTÍNEZ A J, PAULINO M, STINCO C M, *et al.* Study of the time-course of *cis/trans* (*Z/E*) isomerization of lycopene, phytoene, and phytofluene from tomato[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(51): 12399-12406.
- [19] KACIE K H Y H, KARIN S, FERNANDA M, *et al.* Physicochemical stability of lycopene-loaded emulsions stabilized by plant or dairy proteins[J]. Food Structure, 2017, 12: 34-42.
- [20] MARWA C, IOANNA T, VASSILIKI P, *et al.* Encapsulation of carotenoids extracted from halophilic *Archaea* in oil-in-water (O/W) micro- and nano-emulsions[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2018, 161: 219-227.
- [21] MOHAMAD W A F W, MCNAUGHTON R D, MOHAMAD W A B F W, *et al.* Stability and partitioning of  $\beta$ -carotene in whey protein emulsions during storage[J]. Food & Function, 2017, 8(11): 3917-3925.
- [22] LI D H, LI L, XIAO N, *et al.* Physical properties of oil-in-water nanoemulsions stabilized by OSA-modified starch for the encapsulation of lycopene[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2018, 552: 59-66.
- [23] SLAVEN J, MARINA J, GIOVANNA F, *et al.* Lycopene-rich cream obtained *via* high-pressure homogenisation of tomato processing residues in a water-oil mixture[J]. International Journal of Food Sciences & Technology, 2021, 56(10): 4907-4914.
- [24] ZHOU L, ZHANG W G, WANG J Y, *et al.* Comparison of oil-in-water emulsions prepared by ultrasound, high-pressure homogenization and high-speed homogenization[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 82: 105885.
- [25] LIANG X P, YAN J, GUO S Q, *et al.* Enhancing lycopene stability and bioaccessibility in homogenized tomato pulp using emulsion design principles[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 67: 102525.
- [26] LIU Z, SHEN R, YANG X B, *et al.* Characterization of a novel konjac glucomannan film incorporated with Pickering emulsions: Effect of the emulsion particle sizes[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 179: 377-387.
- [27] WEI L J (魏丽娟). Fabrication and performance of mesoporous SiO<sub>2</sub> microspheres through a Pickering emulsion template strategy[D]. Taiyuan: Shanxi University (山西大学), 2020.
- [28] LIU P. Preparation of glycosylated whey protein isolate/proanthocyanidins compounds and fabrication on anti-lipid oxidation emulsion[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University (武汉轻工大学), 2021.
- [29] EMMA B A H, LEONARD S, KARIN S, *et al.* Sequential adsorption and interfacial displacement in emulsions stabilized with plant-dairy protein blends[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2021, 583: 704-713.
- [30] LIN D Q, KELLY A, MIAO S. The impact of pH on mechanical properties, storage stability and digestion of alginate-based and soy protein isolate-stabilized emulsion gel beads with encapsulated lycopene[J]. Food Chemistry, 2022, 372: 131262.
- [31] ZHANG Y X, HE S H, LI Y M, *et al.* The physical stability and digestibility of  $\beta$ -carotene in oil-in-water sodium caseinate nanoemulsion[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2017, 11(2): 864-871.
- [32] WANG C, CHEN L, LU Y C, *et al.* pH-Dependent complexation between  $\beta$ -lactoglobulin and lycopene: Multi-spectroscopy, molecular docking and dynamic simulation study[J]. Food Chemistry, 2021, 362: 130230.
- [33] BADIN E E, QUEVEDO-LEON R, IBARZ A, *et al.* Kinetic modeling of thermal degradation of color, lycopene, and ascorbic acid in crushed tomato[J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(2): 324-333.
- [34] HAN L, PENG X, ZHOU S J, *et al.* Development of whey protein isolate-phytosterols complexes stabilized oil-in-water emulsion for  $\beta$ -carotene protection and delivery[J]. Food Research International, 2022, 160: 111747.
- [35] SONG H Y, MOON T W, CHOI S J. Storage stability of  $\beta$ -carotene in model beverage emulsions: Implication of interfacial thickness[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2018, 120(9): 1800127.
- [36] LING N N A, HABER A, GRAHAM B F, *et al.* Quantifying the effect of salinity on oilfield water-in-oil emulsion stability[J]. Energy & Fuels, 2018, 32(9): 10042-10049.
- [37] WANG Q, YANG C, LIU Y Y, *et al.* Efficient *E/Z* conversion of (all-*E*)-lycopene to *Z*-isomers with a high proportion of (5Z)-lycopene by metal salts[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 160: 113268.
- [38] WANG D Q, QI B K, XU Q Q, *et al.* Effect of salt ions on an ultrasonically modified soybean lipophilic protein nanoemulsion[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2021, 56(12): 6719-6731.
- [39] LI Q, HE S H, XU W L, *et al.* Formation, stability and *in vitro* digestion of  $\beta$ -carotene in oil-in-water milk fat globule membrane protein emulsions[J]. Food Biophysics, 2018, 13(2): 198-207.
- [40] SHEN X (沈雪). Effects of ultrasound on functional properties of whey proteins and whey protein-based delivery system for functional ingredients[D]. Changchun: Jilin University (吉林大学), 2017.
- [41] HEJRI A, KHOSRAVI A, GHARANJIG K, *et al.* Effect of edible antioxidants on chemical stability of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers[J]. LWT, 2019, 113: 108272.