

## 椰子油纳米乳液制备工艺优化及其稳定性分析

黄欢, 田燕, 刘一哲, 白新鹏

### Optimization of Preparation Technology and Stability Analysis of Coconut Oil Nanoemulsion

HUANG Huan, TIAN Yan, LIU Yizhe, and BAI Xinpeng

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022100110>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 酪蛋白酸钠和阿拉伯胶相互作用的研究及纳米粒的制备

Studies on the interaction of sodium caseinate and gum arabic and preparation of nanoparticles

食品工业科技. 2017(15): 68-77 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.15.015>

#### 特种油脂纳米乳液超声制备工艺优化及其特性研究

Optimization of Special Oil Nanoemulsion Prepared using Ultrasonic by Response Surface Methodology and Its Characteristics Analysis

食品工业科技. 2020, 41(16): 131-139 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.022>

#### 不同配方制备紫檀芪纳米乳液及其稳定性

Preparation of pterostilbene nanoemulsions with different formulation and its stability

食品工业科技. 2017(21): 69-75 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.21.014>

#### 大豆分离蛋白-茶皂素复合乳化剂制备山茶油纳米乳液及其性质研究

Preparation of Camellia Oil Nanoemulsion by Soy Protein Isolate-Tea Saponin Compound Emulsifier and Properties of Nanoemulsion

食品工业科技. 2020, 41(22): 27-34,42 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020020138>

#### 油相浓度对姜黄素纳米乳液稳定性的影响

Effect of oil phase concentration on the stability of curcumin nanoemulsion

食品工业科技. 2017(22): 17-21 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.22.004>

#### 慢消化椰油乳液系列体系的构建及其微流变特性和体外消化特性对比

Construction of Slow Digestion Coconut Oil Emulsion System Series and Comparison of Their Microrheological Properties and *in Vitro* Digestive Properties

食品工业科技. 2020, 41(18): 24-32 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.18.004>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

黄欢, 田燕, 刘一哲, 等. 椰子油纳米乳液制备工艺优化及其稳定性分析 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 10–19. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100110

HUANG Huan, TIAN Yan, LIU Yizhe, et al. Optimization of Preparation Technology and Stability Analysis of Coconut Oil Nanoemulsion[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(9): 10–19. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100110

· 青年编委专栏—食品营养素包埋与递送 (客座主编: 黄强、蔡杰、陈帅) ·

# 椰子油纳米乳液制备工艺优化及其 稳定性分析

黄欢<sup>1,2</sup>, 田燕<sup>1,2</sup>, 刘一哲<sup>1,2</sup>, 白新鹏<sup>1,2,3,\*</sup>

(1.海南大学食品科学与工程学院, 海南海口 570203;

2.热带多糖资源利用教育部工程研究中心, 海南海口 570203;

3.海口植之素生物资源研究所有限公司, 海南海口 570100)

**摘要:**为制备较为稳定的椰子油乳液, 将酪蛋白酸钠 (Sodium caseinate, SC) 和黄原胶 (Xanthan gum, XG) 复合作为乳化剂, 椰子油为油相, 采用超声方法制备椰子油乳液。以平均粒径、Zeta-电位、离心稳定性及浊度等为考察指标, 通过单因素实验筛选出超声功率、超声时间、油相质量分数和水相 pH 的合理研究范围。以平均粒径为响应值, 用 Box-Behnken 响应面法对超声功率、超声时间和水相 pH 做进一步优化实验并对制备的乳液进行稳定性实验。结果表明, 最佳制备工艺参数为: 超声功率为 480 W, 超声时间为 18 min, 水相 pH 为 7, 所得椰子油纳米乳液的平均粒径为  $304.5 \pm 13.2$  nm。所制备的椰子油纳米乳液在热处理温度 40~90 °C, pH6~8, 离子浓度 0~0.5 mol/L 条件下具有良好的稳定性, 且经 3 次冻融循环后乳液保持稳定, 为构建用于食品加工的高稳定性椰子油乳液提供了理论支持。

**关键词:**酪蛋白酸钠, 黄原胶, 椰子油, 纳米乳液, 稳定性

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)09-0010-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022100110



本文网刊:

## Optimization of Preparation Technology and Stability Analysis of Coconut Oil Nanoemulsion

HUANG Huan<sup>1,2</sup>, TIAN Yan<sup>1,2</sup>, LIU Yizhe<sup>1,2</sup>, BAI Xinpeng<sup>1,2,3,\*</sup>

(1.College of Food Science and Technology, Hainan University, Haikou 570203, China;

2.Engineering Research Center of Utilization of Tropical Polysaccharide Resources,  
Ministry of Education, Haikou 570203, China;

3.Haikou Zhisu Biological Resources Research Institute Co., Ltd., Haikou 570100, China)

**Abstract:** In order to prepare a more stable coconut oil emulsion, sodium caseinate (SC) and xanthan gum (XG) were combined as emulsifiers, and coconut oil was used as the oil phase, and the coconut oil emulsion was prepared by ultrasonic method. The average droplet sizes, Zeta-potentials, centrifugal stability and turbidity of emulsions were characterized to choose reasonable parameters concerning the ultrasonic treatment time, ultrasonic treatment power, mass fraction of oil phase, and pH values of aqueous phase, by the single factor test. The Box-Behnken response surface methodology (RSM) was used to optimize the parameter (including ultrasonic treatment power, ultrasonic treatment time, and pH values of aqueous phase) to prepare the stable emulsions. The optimal conditions were obtained as follows: Ultrasonic power 480 W, ultrasonic time 18 min, and pH7 of aqueous phase. Under this condition, the smallest droplets size of emulsions was

收稿日期: 2022-10-17

基金项目: 海南省重点科技计划项目 (ZDYF2022XDNY146); 海口市重点科技计划项目 (2020-020)。

作者简介: 黄欢 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 油脂与蛋白质工程, E-mail: 2606920139@qq.com。

\* 通信作者: 白新鹏 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 粮食、油脂与蛋白质工程, E-mail: xinpeng2001@126.com。

obtained  $304.5 \pm 13.2$  nm. All coconut oil-based emulsions showed an extraordinary stability with heat treatment temperature of  $40 \sim 90$  °C, pH  $6 \sim 8$  and ion concentration of  $0 \sim 0.5$  mol/L, and the emulsion remained stable after three freeze-thaw cycles. The findings would provide a facile strategy to prepare stable coconut oil-based emulsions in the food processing.

**Key words:** sodium caseinate; xanthan gum; coconut oil; nano emulsion; stability

椰子油(Coconut oil, CO)是一种主要由多种中链甘油三酯(MCTs)如月桂酸、肉豆蔻酸和辛酸等组成的可食用油,且被认为是 MCT 的重要来源<sup>[1-2]</sup>。而初榨椰子油(Virgin coconut oil, VCO)是不经高温加热和精炼从椰肉中制得的天然植物油<sup>[3-5]</sup>,它极大地保留了油脂中的一些生物活性成分,如多酚、维生素和植物甾醇等<sup>[6]</sup>,因其具有抗氧化、降血脂、抗菌和消炎等作用<sup>[7-9]</sup>,被广泛应用在食品、饮料及化妆品中。但初榨椰子油熔点较高,为  $23 \sim 26$  °C<sup>[10]</sup>,在常温下易凝固,不易流动,水溶性差很难均匀分散在食品基质中<sup>[11]</sup>,这限制了其在工业中的大规模应用,因此开发椰子油递送体系,对扩大其应用范围有重要意义。已有研究表明,纳米乳液可作为一种将椰子油递送到液体食品体系的载体,提高其水溶性和生物利用度<sup>[12-13]</sup>,且开发基于椰子油的乳液产品作为新型营养食品补充剂将间接增加椰子油的价值。

纳米乳液是由油相、水相和表面活性剂(乳化剂)组成,其液滴尺寸在纳米范围内,在  $10 \sim 1000$  nm 之间<sup>[12]</sup>。目前,人们常用一些小分子的表面活性剂(如吐温、司盘等)作为乳化剂来制备纳米乳液,但这些合成的表面活性剂对人体存在一定的安全隐患<sup>[14]</sup>。因此,使用天然生物分子作为乳化剂制备乳液受到广泛关注。酪蛋白酸钠(Sodium caseinate, SC)被广泛用作乳液制备中的蛋白质基乳化剂,因为它可以吸附在乳液液滴的表面,以防止它们在乳化后通过静电和空间排斥再凝聚<sup>[15]</sup>。然而,有研究发现单一蛋白质的乳化作用有限,致使乳液产生分层,无法维持稳定状态<sup>[16]</sup>。为了提高酪蛋白酸钠制备乳液的稳定性,本试验将酪蛋白酸钠与多糖复合作为乳化剂来制备乳液。黄原胶(Xanthan gum, XG)是一种非吸附性多糖,具有高粘度和强剪切稀化特性。陈玲等<sup>[17]</sup>使用黄原胶和乳清分离蛋白复合乳化剂制备南瓜籽油 O/W 型乳液,发现黄原胶的添加显著改善了乳液的稳定性。目前关于椰子油纳米乳液的研究开发很受关注,高巍等<sup>[13]</sup>使用大豆卵磷脂制备椰子油基纳米乳液并对其特性进行研究;Liu 等<sup>[18]</sup>使用大麻分离蛋白与多糖复合凝聚物制备椰子油乳液并对其稳定性进行研究,但使用蛋白和多糖作为复合乳化剂制备椰子油乳液的研究信息很少。

因此,本研究使用酪蛋白酸钠与黄原胶作为复合乳化剂制备椰子油乳液,通过单因素和 Box-Behnken 响应面法优化椰子油乳液的制备工艺,并对所制备的乳液进行稳定性实验。制备出稳定性较好的椰子油乳液,将为开发和生产基于椰子油的纳米乳产品提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

初榨椰子油 海口植之素有限公司;酪蛋白酸钠、黄原胶(食品级) 河南万邦实业有限公司;氢氧化钠、盐酸(分析纯) 广州化试厂;硫柳汞 阿拉丁试剂有限公司。

PL602-L 电子天平、FE20 实验室 pH 计 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;BL200 搅拌机 江阴市保利科研机械有限公司;GL-20G 冷冻高速离心机 上海安亭科学仪器厂;HR-500 高速剪切乳化均质机 上海沪析实业有限公司;KQ-800KDE 型超声波破碎仪 昆山市超声仪器有限公司;Zetasizer Nano ZS90 激光粒度仪 英国 Malvern 公司;Synergy LX 酶标仪 美国 Biotek Instruments 公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 纳米乳液制备** 将 2 g 酪蛋白酸钠(SC)溶解在 100 mL 的磷酸缓冲液(PBS, pH  $7.2 \sim 7.4$ )中,常温下以 400 r/min 的转速连续搅拌 2 h 后置于 4 °C 冰箱中过夜水化,后通过离心(6000 r/min, 15 min)去除不溶物得到 SC 溶液。加入硫柳汞(0.02wt%)作为抑菌剂。将 1 g 黄原胶溶于 100 mL PBS 缓冲液中,以 800 r/min 的转速搅拌 1.5 h 后放在 4 °C 冰箱中备用。将酪蛋白酸钠溶液与黄原胶溶液 1:1(v/v)混合作为水相,用 0.1 mol/L HCl 调 pH 至 7,再将椰子油按不同比例加入到水相中,先用高速剪切乳化均质机于 20000 r/min 下均质 3 min,然后经过超声进一步处理得到椰子油纳米乳液。在超声过程中须将纳米乳液放在冰浴条件下以避免发生在实验时由于超声处理而导致体系温度上升的现象。

**1.2.2 单因素实验** 以超声功率、超声时间、油相质量分数和水相 pH 为考察因素进行单因素实验,通过测定椰子油纳米乳液的平均粒径、Zeta-电位、离心稳定性及浊度确定制备酪蛋白酸钠-黄原胶椰子油纳米乳液的最佳参数范围。

**1.2.2.1 超声功率对乳液稳定性的影响** 在超声时间为 15 min、椰子油添加量为 10%(w/w)、水相 pH 为  $7 \pm 0.1$  时,测定在超声功率分别为 160、240、320、400、480、560 W 时制备的椰子油纳米乳液的粒径、Zeta-电位、离心稳定性和浊度。

**1.2.2.2 超声时间对乳液稳定性的影响** 在超声功率为 480 W、椰子油添加量为 10%(w/w)、水相 pH  $7 \pm 0.1$  时,测定在超声时间分别为 5、10、15、20、25、30 min 时制备的椰子油纳米乳液的粒径、Zeta-电位、离心稳定性和浊度。



1.2.2.3 油相质量分数对乳液稳定性的影响 在超声功率为 480 W、超声时间为 15 min、水相 pH 7±0.1 时,测定在油相质量分数分别为 5%、10%、15%、20%、25%、30%(w/w)时制备的椰子油纳米乳液的粒径、Zeta-电位、离心稳定性和浊度。

1.2.2.4 水相 pH 对乳液稳定性的影响 在超声功率为 480 W、超声时间为 15 min、椰子油添加量为 10% (w/w)时,测定在水相 pH 分别为 3、4、5、6、7、8 时制备的椰子油纳米乳液的粒径、Zeta-电位、离心稳定性和浊度。

1.2.3 Box-Behnken 响应面试验设计 在上述各单因素的实验结果的基础上,进一步使用 Box-Behnken 响应面法以确定制备酪蛋白酸钠-黄原胶椰子油纳米乳液的最优参数,而粒径是衡量乳液稳定性的重要指标,粒径越小乳液越稳定,且当油水体积比为一固定值时,纳米乳液的离心稳定性和浊度等指标与纳米乳液的平均粒径是呈正相关的<sup>[19]</sup>,故以超声功率(A)、超声时间(B)、水相 pH(C)为自变量,粒径(Y)为响应值,进行三因素三水平响应面试验分析。响应面试验的因素水平表如表 1 所示。

表 1 响应面试验因素水平设计

Table 1 Design of factors and levels of the response surface test

水平	因素		
	A超声功率(W)	B超声时间(min)	C水相pH
-1	400	10	6
0	480	15	7
1	560	20	8

1.2.4 平均粒径和 Zeta-电位的测定 使用 Zetasizer Nano ZS90 激光粒度分析仪测量纳米乳液的平均粒径和 Zeta-电位。椰子油的折射率设置为 1.46,磷酸盐缓冲液的折射率设置为 1.33。为了避免多重散射效应,分析之前用 PBS 缓冲液(pH7.2~7.4)稀释椰子油乳液 500 倍测平均粒径,稀释 50 倍测 Zeta-电位<sup>[19]</sup>。

1.2.5 椰子油纳米乳液离心稳定性测定 参考高健<sup>[19]</sup>的方法并适当修改,将椰子纳米乳液用 PBS 缓冲液(pH7.2~7.4)稀释 50 倍后倒入 50 mL 离心管中,于 2500 r/min 下离心 5 min 后吸取下层样品,用 Synergy LX 酶标仪测其在 500 nm 处的吸光值。计算离心稳定常数 K:

$$K = \frac{|A_1 - A_0|}{A_0} \quad \text{式 (1)}$$

式中:K 为离心稳定常数;A<sub>0</sub> 为样品离心前的吸光度;A<sub>1</sub> 为样品离心后底层溶液吸光度。

1.2.6 椰子油纳米乳液浊度测定 参照江连洲等<sup>[20]</sup>的方法测定乳液浊度。将椰子油纳米乳液用 PBS 缓冲液溶液稀释 40 倍,以 PBS 缓冲液为空白对照,用酶标仪测定 600 nm 处的吸光度,浊度计算公式为:

$$T = \frac{1.302AV}{I} \quad \text{式 (2)}$$

式中:A 为稀释乳液在 600 nm 处的吸光度;V 为稀释倍数;I 为光程差,取 1 cm。

## 1.2.7 乳液稳定性研究

1.2.7.1 热稳定性 取 10 g 最优条件下制备的新鲜乳液于样品瓶中,分别将乳液在 40、50、60、70、80、90 °C 温度下水浴加热 30 min,取出快速冷却后测定平均粒径和 Zeta-电位的变化<sup>[21]</sup>。

1.2.7.2 酸碱稳定性 取 10 g 最优条件下制备的新鲜乳液于样品瓶中,用 0.1 mol/L 的 HCl 或 0.1 mol/L 的 NaOH 调节乳液的 pH 至 3、4、5、6、7、8,测定平均粒径和 Zeta-电位。

1.2.7.3 离子稳定性 参考江连洲等<sup>[20]</sup>的方法并做适当修改,配制 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L 的 NaCl 溶液,用不同浓度的 NaCl 溶液将最优条件制备的酪蛋白酸钠-黄原胶椰子油纳米乳液稀释为原体积的 2 倍,静置 24 h 后测定平均粒径和 Zeta-电位。

1.2.7.4 冻融稳定性 取 10 g 乳液于样品瓶中,放置-20 °C 冰箱 24 h 后取出,在室温下放置 30 min 观察其样品状态,预循环三次对样品进行观察。

## 1.3 数据处理

所有实验均经过 3 次重复实验,实验结果用平均值±标准差表示。用 IBM SPSS Statistics 23 对数据进行 ANOVA 差异显著性分析, $P < 0.05$  为显著性差异,利用 Design-Expert 8.0.6 软件分析制备椰子油纳米乳液的最佳工艺条件,对实验数据进行统计分析,用 Origin 2021 软件制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 椰子油纳米乳液制备的单因素实验

2.1.1 超声功率对乳液稳定性的影响 超声功率对乳液稳定性影响的实验结果如图 1 所示,由图 1(a)可知,椰子油纳米乳液的平均粒径随超声功率的增大呈现先减小后增大的趋势,在 480 W 时达到最低。当超声功率大于 480 W 时,可能因为使用的超声功率过高而使纳米乳液液滴之间的碰撞过于频繁从而破坏液滴的结构,受损的液滴积累导致形成不均匀的聚集体<sup>[22]</sup>,导致纳米乳液的平均粒径变大。也有可能是因为随着空化效应增强,较小的液滴被强制挤压并重新聚集在一起<sup>[23]</sup>。高巍等<sup>[13]</sup>研究了超声功率对稳定纳米乳液粒径的影响与本研究结果相似。Zeta-电位是检验乳液稳定性的关键指标,Zeta-电位的绝对值越大,乳液的稳定性越好<sup>[24]</sup>,由图 1(b)可知,超声功率对乳液 Zeta-电位影响不显著( $P > 0.05$ ),但 Zeta-电位的绝对值是随着超声功率的增加先增大后减小的,在 400 W 时绝对值达到最大。

通常认为离心稳定常数越小纳米乳液的离心稳定性越好,且在 20% 以下是比较稳定的<sup>[19]</sup>。由图 1(c)可知,纳米乳液的离心稳定性随着超声功率的增加先

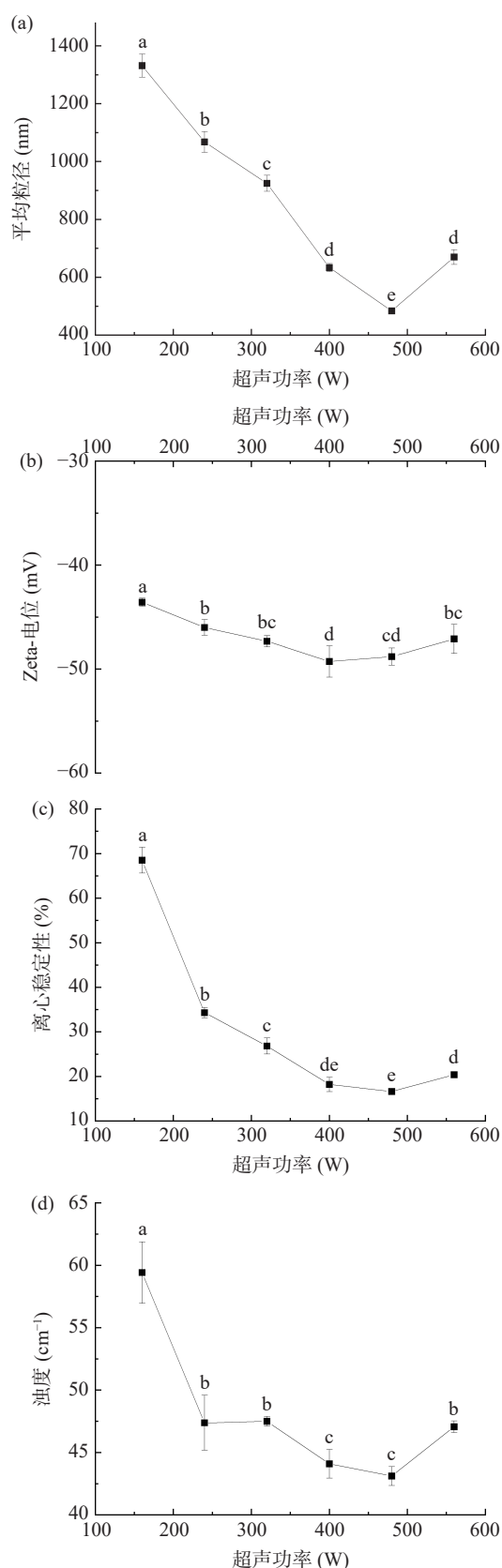


图 1 超声功率对乳液平均粒径(a)、Zeta-电位(b)、离心稳定性(c)和浊度(d)的影响

Fig.1 Effect of ultrasonic power on mean particle size (a), Zeta-potential (b), centrifugal stability (c) and turbidity (d) of emulsions

注: 不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ); 图 2~图 4, 图 6~图 8 同。

减小后增大, 在超声功率大于 400 W 时, 制备乳液的

离心常数在 20% 以下, 椰子油纳米乳液的离心稳定性较好。浊度可以作为衡量乳液的宏观指标, 且乳液的浊度与其稳定性呈负相关<sup>[23]</sup>。由图 1(d)所知, 经超声波处理后, 乳液的浊度发生了明显的变化。浊度随超声功率的增大先降低后增大, 在 480 W 的超声波功率下, 观察到乳液的浊度达到最低。而随着超声功率进一步增加到 560 W, 超声处理的热效应导致液滴聚集, 从而导致乳液浊度增加<sup>[23]</sup>。

根据超声功率对椰子油纳米乳液的平均粒径、Zeta-电位、离心稳定性和浊度的影响, 选择超声功率为 400~560 W 做进一步研究。

**2.1.2 超声时间对乳液稳定性的影响** 超声时间对椰子油纳米乳稳定性的影响结果如图 2 所示, 由图 2(a)可知, 平均粒径随超声时间的增加先减小后增大, 在超声时间为 15 min 时达到最小值, 之后呈增大趋势。这是因为纳米乳液遭受长时间的碰撞和过高的空化能, 进而导致其液滴结构遭到破坏<sup>[25]</sup>, 从而导致纳米乳液液滴平均粒径的增大。高巍等<sup>[13]</sup>的相关研究结果与本研究结果相似。由图 2(b)可知, Zeta-电位随超声时间的增加变化不显著( $P>0.05$ )。纳米乳液体系中, 当油水体积比为一固定值时, 纳米乳液的离心稳定性和浊度等指标与纳米乳液的平均粒径是呈正相关的<sup>[19]</sup>。由图 2(c)、图 2(d)可知, 椰子油纳米乳液的离心稳定性和浊度的变化趋势与平均粒径的变化趋势大致一致。因此选择超声时间为 10~20 min 来进一步实验。

**2.1.3 油相质量分数对乳液稳定性的影响** 油相质量分数对乳液稳定性的影响结果如图 3 所示, 由图 3(a)可知, 椰子油纳米乳液的平均粒径随着椰子油添加量的增加而增大, 且当油相质量分数低于 15% 时, 纳米乳液的平均粒径还处在较低的范围内; 而当油相质量分数大于 15% 时, 纳米乳液的平均粒径显著增大( $P<0.05$ )。这可能是因为椰子油的浓度增大, 且超声后产生的分散相也增多, 乳液体系中有些椰子油没有覆盖住, 导致其粘附在乳液液滴表面, 进而导致液滴发生黏连, 增强了液滴的聚集<sup>[19]</sup>, 引起了粒度的增大。通过图 3(b)可以看出, 随着油相质量分数的增加, Zeta-电位绝对值变化不大, 说明乳液的 Zeta-电位与油相的添加量没有很好的相关性, 这一结果与 Ma 等<sup>[26]</sup>的结果相似。由图 3(c)可知, 椰子油纳米乳液的离心稳定性随着油相质量分数的增加而增大, 在油相质量分数小于 15% 时, 乳液的离心常数小于 20%, 说明乳液的离心稳定性较好。由图 3(d)可知, 油相质量分数由 15% 增加至 20% 时, 乳液的浊度显著增大( $P<0.05$ )。故在确保纳米乳液稳定性的条件下, 确定油相质量分数为 15%。

**2.1.4 水相 pH 对乳液稳定性的影响** 水相 pH 对乳液稳定性的影响结果如图 4 所示, 由图 4(a)可知, 乳液随着水相 pH 的增加呈现先增大后减小的趋势, 在 pH3 和 8 下的粒径相似且显著小于其他 pH 下的

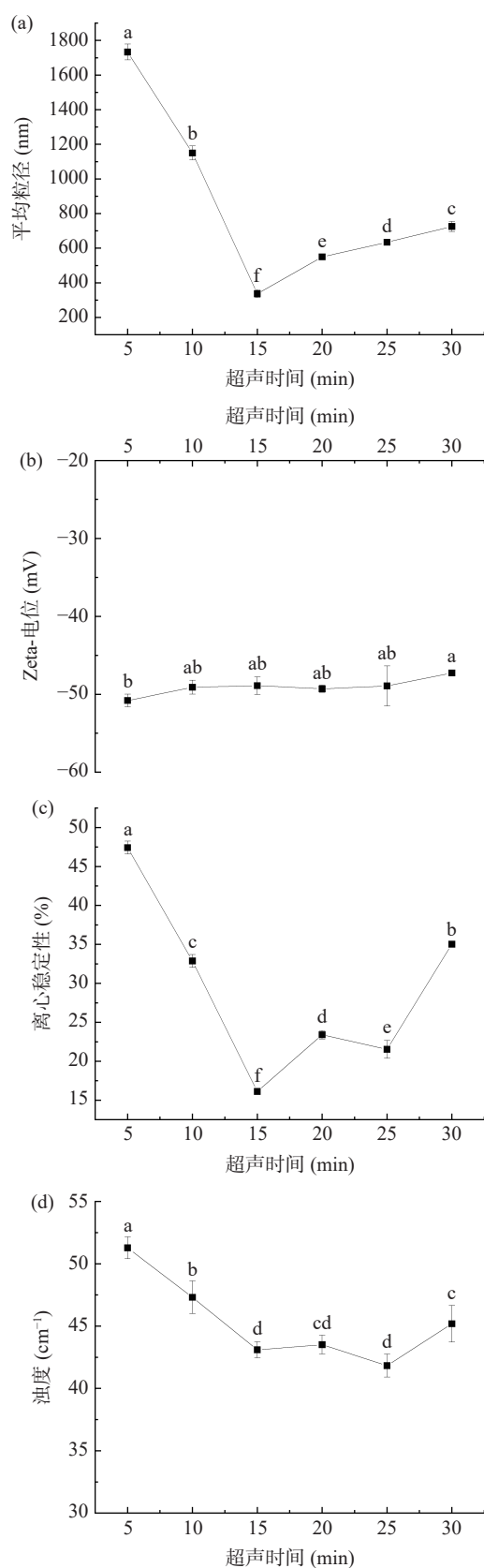


图2 超声时间对乳液平均粒径(a)、Zeta-电位(b)、离心稳定性(c)和浊度(d)的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic time on mean particle size (a), Zeta-potential (b), centrifugal stability (c) and turbidity (d) of emulsions

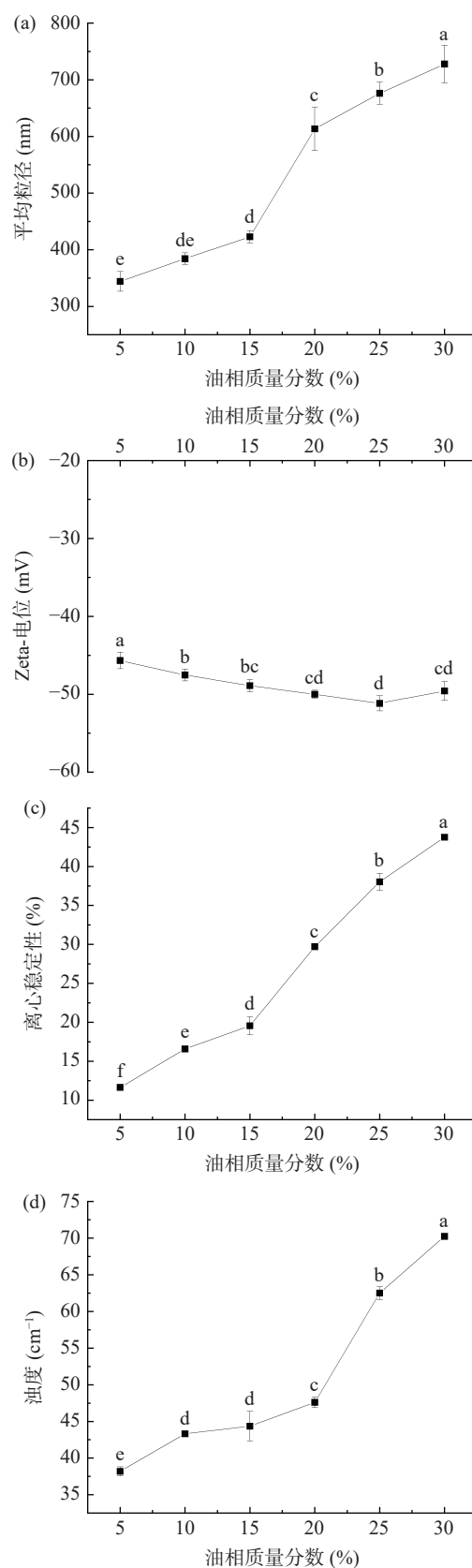


图3 油相质量分数对乳液平均粒径(a)、Zeta-电位(b)、离心稳定性(c)和浊度(d)的影响

Fig.3 Effect of oil phase mass fraction on mean particle size (a), Zeta-potential (b), centrifugal stability (c) and turbidity (d) of emulsions

乳液( $P<0.05$ ), 且在 pH8 时乳液粒径小于 pH3 的粒径。在水相 pH 为 4~7 时, 粒径变化不显著( $P>0.05$ ),

但在 pH5 时, 达到最大, 这种现象可以解释为蛋白与多糖之间的静电排斥不足以克服吸引相互作用, 并导

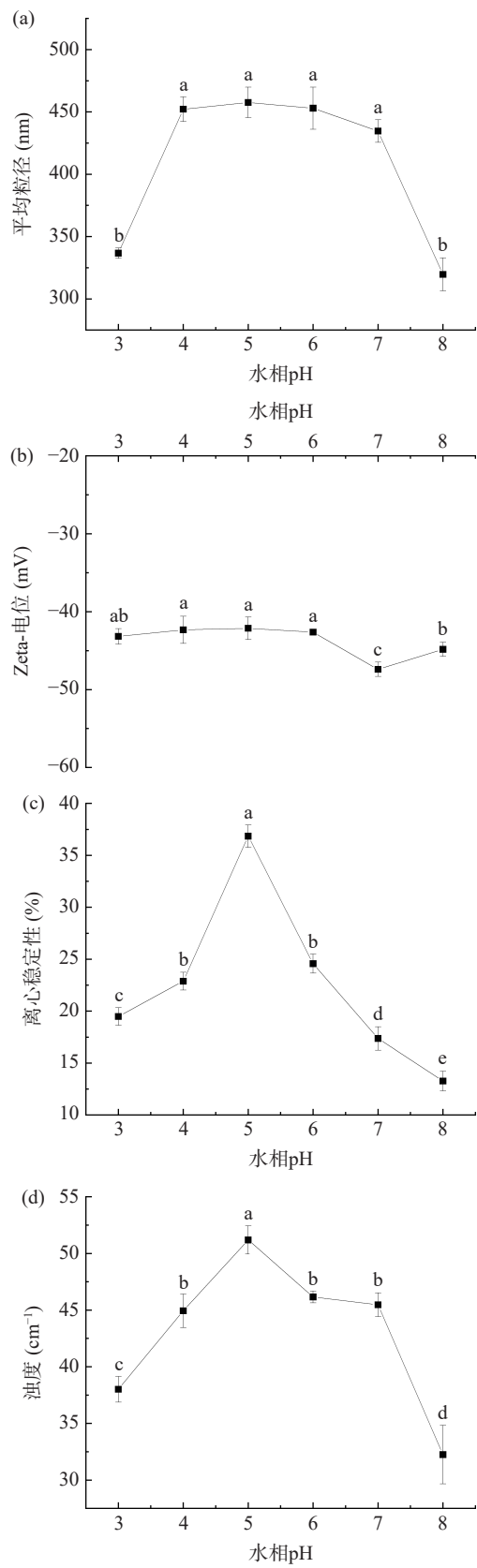


图 4 水相 pH 对乳液平均粒径(a)、Zeta-电位(b)、离心稳定性(c)和浊度(d)的影响

Fig.4 Effect of pH of aqueous phase on mean particle size (a), Zeta-potential (b), centrifugal stability (c) and turbidity (d) of emulsions

致颗粒聚集导致颗粒尺寸增加<sup>[27]</sup>。王曼笛等<sup>[28]</sup>的相关研究也发现了乳液粒径随水相 pH 的增加呈现先

增后减的变化趋势。由图 4(b)可知,随着水相 pH 的增加, Zeta-电位变化不大,但在 pH 为 7 时,其 Zeta-电位的绝对值达到最大。纳米乳液体系中,当油水体积比为一固定值时,纳米乳液的离心稳定性和浊度等指标与纳米乳液的平均粒径是呈正相关的<sup>[19]</sup>。由图 4(c)和(d)可知,离心稳定性和浊度的变化趋势与粒径的变化趋势大致相同,且在 pH 为 8 时乳液的离心稳定性和浊度小于 pH 为 3 时的离心稳定性和浊度。故选择水相 pH 为 6~8 进行下一步研究。

2.2 响应面工艺优化试验

2.2.1 响应面试验结果与分析 在上述各单因素的实验结果的基础上,使用 Box-Behnken 响应面法对制备工艺进行优化,以超声功率(A)、超声时间(B)、水相 pH(C)为自变量,平均粒径(Y)为响应值,进行三因素三水平响应面试验分析。其设计及结果见表 2。

表 2 响应面试验设计及结果

Table 2 Design and results of response surface test				
实验号	A	B	C	平均粒径(nm)
1	0	0	0	304.3±14.5
2	1	0	-1	614.1±29.2
3	0	0	0	308.7±13.5
4	0	-1	-1	405.4±12.5
5	0	-1	1	354.2±12.8
6	-1	0	-1	474.4±32.8
7	0	1	-1	370.9±11.3
8	-1	1	0	392.3±4.5
9	1	-1	0	589.3±42.3
10	-1	-1	0	406.7±3.2
11	0	1	1	323.2±11.2
12	1	1	0	495.8±20.3
13	0	0	0	297.7±15.0
14	1	0	1	579.4±11.0
15	-1	0	1	368.0±4.2
16	0	0	0	317.1±30.4
17	0	0	0	301.3±15.4

对表 2 中的试验结果进行二次多项回归拟合分析,得到拟合回归模型方程为:  $Y=305.82+79.65A-21.67B-30.00C-19.78AB+17.93AC+0.88BC+155.38A^2+9.83B^2+47.78C^2$  (其中: A: 超声功率, B: 超声时间, C: 水相 pH, Y: 平均粒径)。

对回归方程进行方差分析,其分析结果如表 3 所示。由表 3 可以看出,模型  $P<0.0001$ ,说明响应面试验所选用的模型极显著。失拟项不显著( $P>0.05$ ),说明残差均是由随机误差引起的<sup>[13]</sup>。乳液的制备工艺对椰子油纳米乳液的平均粒径的影响从大到小的顺序为:  $A>C>B$ ,即超声功率>水相 pH>超声时间。该模型的  $R^2=0.9934$ ,  $R^2_{adj}=0.9850$ ,说明此模型对试验的拟合程度好,因此,可以选用该模型对椰子油纳米乳液的平均粒径进行可靠的预测。

2.2.2 响应曲面图分析 由图 5(a)可知,超声功率-超声时间交互作用中,超声功率对平均粒径的影响显著,造成曲面有较明显的先减后增的变化,而超声时间引起的变化比较小,说明超声功率在 AB 两因素交



表3 回归模型的方差分析

Table 3 Variance analysis of regression model

方差来源	平方和	自由度	方差	F值	P值	显著性
模型	181300	9	20147	117.56	<0.0001	**
A	50752.98	1	50753.98	296.14	<0.0001	**
B	3758.45	1	3758.45	21.93	0.0023	**
C	7200	1	7200	42.01	0.0003	**
AB	1564.2	1	1564.2	9.13	0.0194	*
AC	1285.22	1	1285.22	7.5	0.0290	*
BC	3.06	1	3.06	0.018	0.8974	
A <sup>2</sup>	101700	1	101700	593.13	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	406.65	1	406.65	2.37	0.1674	
C <sup>2</sup>	9611.32	1	9611.32	56.08	0.0001	**
残余项	1199.66	7	171.38			
失拟项	975.45	3	325.15	5.8	0.0613	
纯误差	224.21	4	56.05			
总和	182500	16				

注: \*代表 $P<0.05$ , 差异显著; \*\*代表 $P<0.01$ , 差异极显著。

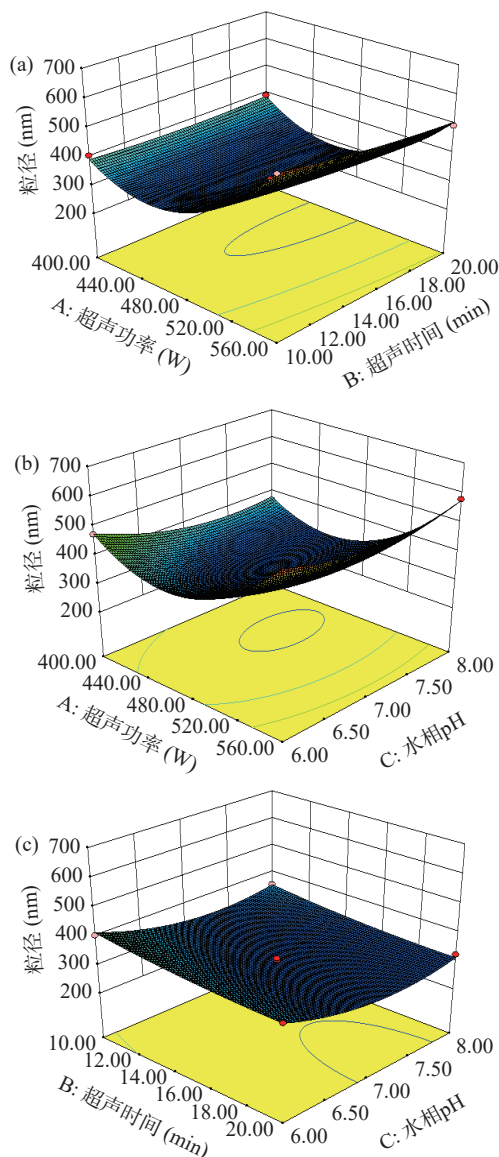


图5 两因素的交互作用对椰子油纳米乳平均粒径的影响

Fig.5 Effects of interactions of two factors on the average particle sizes of coconut oil-based nano-emulsions

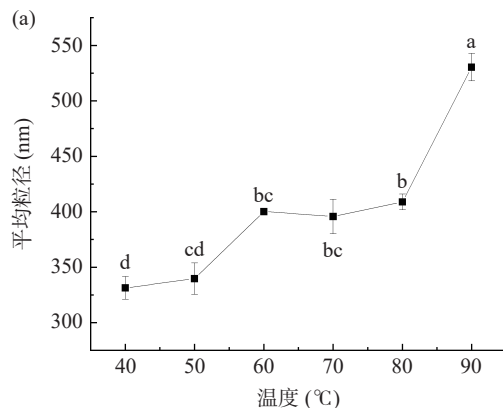
互作用中的贡献比超声时间大。图5(b)可以看出, 此曲面的趋势较其他曲面趋势较陡, 说明对纳米乳的平均粒径影响更加显著<sup>[29]</sup>。当水相 pH 一定时, 粒径随超声功率的增大, 先显著减小后稍有增加; 当超声功率一定时, 粒径大小随 pH 的增加而明显减小。但超声功率方向的曲面波动比水相 pH 大, 说明二者交互作用中, 超声功率对平均粒径的影响比水相 pH 显著。由图5(c)可看出, 当超声时间固定时, 平均粒径随水相 pH 的增加明显减小, 而超声时间方向的曲面波动变化不明显, 表明水相 pH 对平均粒径的影响比超声时间大。此结论与模型的方差分析的结果一致。

**2.2.3 最优制备条件实验验证** 为进一步确定最优制备工艺, 以平均粒径最小为优化目标, 依据 Design-Expert 8.0.6 软件所得最优制备工艺为: 超声功率为 479.26 W, 超声时间为 18.05 min, 水相 pH 为 6.97, 预测在此条件下制备得到的椰子油纳米乳液的平均粒径为 296.507 nm。

为了验证最优制备工艺的可靠性, 结合实际操作工艺条件的可行性, 将最优制备工艺条件改为: 超声功率为 480 W, 超声时间为 18 min, 水相 pH 为 7。在此条件下进行了 3 次重复验证实验, 得到椰子油纳米乳液的平均粒径为  $304.5 \pm 13.2$  nm, 与理论的预测值的相对误差为 2.7%, 说明根据此响应面模型得到的结果与实际测验值吻合良好。

## 2.3 乳液稳定性研究

**2.3.1 热稳定性** 因为在食品加工过程中难以避免对样品进行商业杀菌, 所以对乳液的热稳定性进行检测是必不可少的。乳液的加热稳定性结果如图6所示, 温度在 40~80 °C 的范围内, 乳液的平均粒径和 Zeta-电位的变化不显著( $P>0.05$ ), 超过 80 °C, 平均粒径显著增加, 电位绝对值也显著降低( $P<0.05$ ), 其可能原因是加热处理使酪蛋白酸钠和黄原胶发生变性, 其相互作用减弱<sup>[19]</sup>, 但加热温度在 40~90 °C 的范围内乳液的 Zeta-电位绝对值均大于 30 mV, 有研究表明, 当纳米乳液的 Zeta-电位绝对值高于 30 mV 时, 乳液体系的稳定性是比较理想的<sup>[30]</sup>, 说明本研究在最优条件下制备的乳液具有较好的热稳定性。陈玲等<sup>[17]</sup>对乳清蛋白-黄原胶复合乳剂制备的乳液进行了类似的观察, 发现乳液经热处理后其电位大于





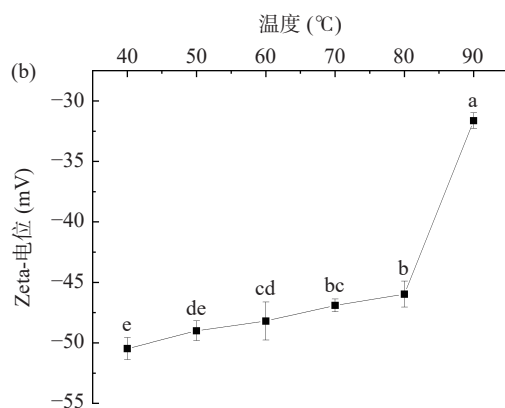


图 6 加热处理对椰子油纳米乳液平均粒径(a)和 Zeta-电位(b)的影响

Fig.6 Effects of heating treatment on the average particle sizes (a) and Zeta-potentials (b) of coconut oil-based nano-emulsions

30 mV, 这与本研究结果相似。

**2.3.2 酸碱稳定性** 在商业食品中,乳液可能必须在一系列不同的 pH 条件下运行,因此研究它们的 pH 稳定性很重要。乳液的酸碱稳定性结果如图 7 所示,乳液的平均粒径在 pH6~8 条件下差异不显著 ( $P>0.05$ ),但在 pH3~5 时的粒径显著大于 pH6~8 ( $P<0.05$ ),说明酪蛋白酸钠-黄原胶稳定的椰子油纳米乳液在酸性条件下不稳定发生絮凝聚集。乳液的 Zeta-电位绝对值随着 pH 的增加呈现先增后减的趋

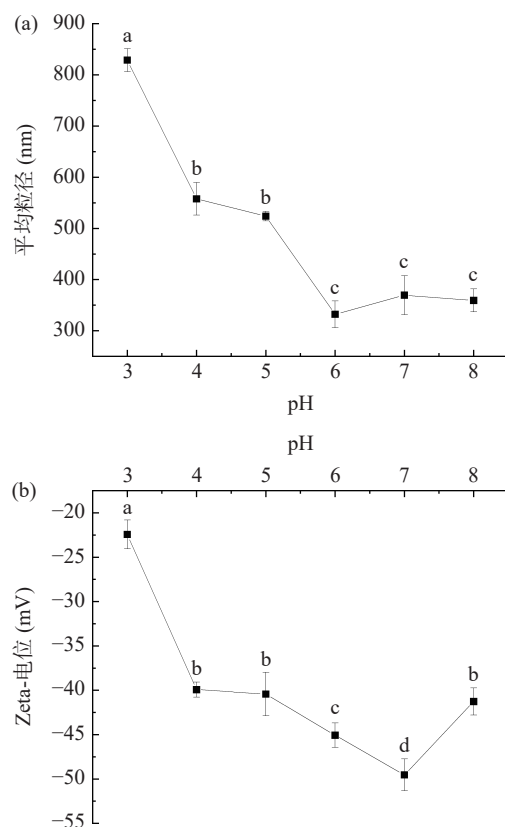


图 7 pH 对椰子油纳米乳液平均粒径(a)和 Zeta-电位(b)的影响

Fig.7 Effects of pH on the average particle sizes (a) and Zeta-potentials (b) of coconut oil-based nano-emulsions

势,但在 pH6~8 范围内,电位绝对值都在 40 以上,说明乳液在中性环境下的稳定性良好。Sharma 等<sup>[31]</sup>对酪蛋白酸钠和果胶混合制备的乳液进行了类似研究,发现乳液在 pH3~5 时由于乳液的静电排斥力减弱导致乳液不稳定,这与本研究结果一致。

**2.3.3 离子稳定性** 不同的食品具有不同的离子组成,只有食品乳剂具有较高的离子强度稳定性,才能更好地应用于食品工业中。乳液的离子稳定性结果如图 8 所示,盐离子的存在使得乳液的平均粒径大体上变大和 Zeta-电位绝对值变小,但其影响不显著 ( $P>0.05$ ),这可能是因为酪蛋白酸钠与黄原胶的结合会在液滴的表面生成较大的电荷密度,Na<sup>+</sup>因静电作用被吸附到蛋白质分子上使附着在椰子油滴表面的蛋白质分子的数量明显增加<sup>[32]</sup>。这也可说是乳液液滴间产生的大量静电排斥力可防止 Na<sup>+</sup>的电荷中和作用<sup>[31]</sup>。随着 Na<sup>+</sup>浓度增大,乳液的 Zeta-电位绝对值呈现下降的趋势,这可能是 NaCl 的静电屏蔽作用导致的,这与陈玲等<sup>[17]</sup>的研究结果相似。在离子浓度为 0~0.5 mol/L 范围内,乳液的 Zeta-电位绝对值均大于 40,说明乳液的离子稳定性较好。

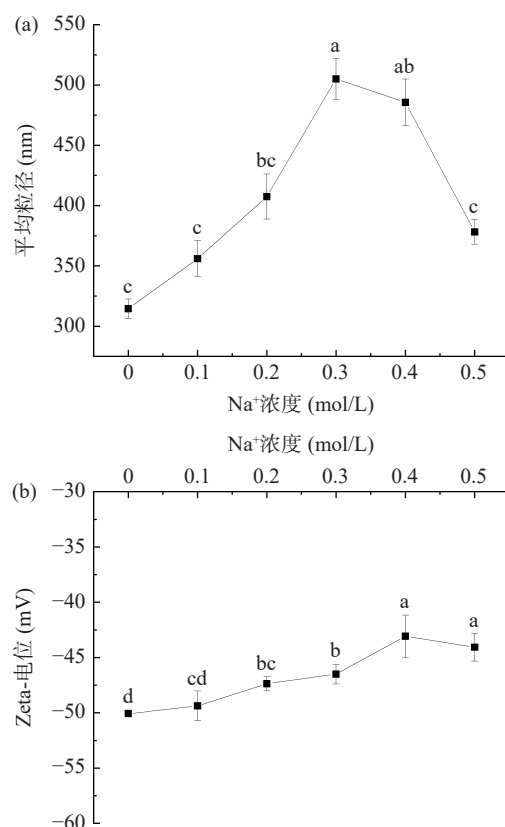


图 8 离子强度对椰子油纳米乳液平均粒径(a)和 Zeta-电位(b)的影响

Fig.8 Effects of ionic strength on the average particle sizes (a) and Zeta-potentials (b) of coconut oil-based nano-emulsions

**2.3.4 冻融稳定性** 食品级乳液需要考察其冻融稳定性,因为在储运过程中会遇到因冻融导致乳液发生破乳的现象。由图 9 可知,此次制备的乳液经过 3 个冻融循环后未出现破乳现象,说明乳液的冻融稳

定性较好。万文瑜等<sup>[33]</sup>考察了核桃蛋白和黄原胶复配乳液的冻融稳定性,发现经一个循环后,乳液就出现明显破乳现象,而本研究所制备的乳液经 3 个冻融循环都还保持稳定,表明酪蛋白酸钠-黄原胶复合制备的乳液具有良好的冻融稳定性。



图 9 乳液经 3 次冻融循环后的表现图

Fig.9 Apparent diagram of emulsion after three freeze-thaw cycles

注:从左到右为 1~3 次循环。

### 3 结论

本实验将酪蛋白酸钠和黄原胶复合作为乳化剂,采用超声的方法制备椰子油乳液。通过响应面优化试验得出其最佳制备工艺参数为:超声功率为 480 W,超声时间为 18 min,水相 pH 为 7,所得椰子油纳米乳液的平均粒径为  $304.5 \pm 13.2$  nm。通过稳定性实验发现:制备的椰子油纳米乳液具有良好热稳定性,中性条件下稳定,离子稳定性和冻融稳定性均比较好,这为之后开发用于食品加工的高稳定性椰子油乳液提供了理论支持。

#### 参考文献

[1] SIRIKARN P, NAWINDA C, CHUTIMA L, et al. The effect of surfactant on the physical properties of coconut oil nanoemulsions[J]. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, 13(5): 409-414.

[2] NORULAINI N A N, SETIANTO W B, ZAIDUL I S M, et al. Effects of supercritical carbon dioxide extraction parameters on virgin coconut oil yield and medium-chain triglyceride content[J]. *Food Chemistry*, 2009, 116(1): 193-197.

[3] MARINA A M, MAN Y B C, AMIN I. Virgin coconut oil: Emerging functional food oil[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2009, 20(10): 480-487.

[4] SENEVIRATNE K N, HAPUARACHCHIL C D, EKANA-YAKE S. Comparison of the phenolic-dependent antioxidant properties of coconut oil extracted under cold and hot conditions[J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(4): 1444-1449.

[5] SENEVIRATNE K N, DISSANAYAKE D. Variation of phenolic content in coconut oil extracted by two conventional methods [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2008, 43(4): 597-602.

[6] 张建国, 李瑞, 宋晨也, 等. 初榨椰子油品质特征及其健康功效研究的进展[J]. *中国油脂*, 2022, 47(12): 84-89, 118. [ZHANG J G, LI R, SONG C Y, et al. Research progress on quality character-

istics and health benefit of virgin coconut oil[J]. *China Oils and Fats*, 2022, 47(12): 84-89, 118. ]

[7] VYSAXH A, RATHEESH M, RAJMOHANAN T P, et al. Polyphenolics isolated from virgin coconut oil inhibits adjuvant induced arthritis in rats through antioxidant and anti-inflammatory action[J]. *International Immunopharmacology*, 2014, 20(1): 124-130.

[8] JAMJAI U, PONGPAIBUL Y, LAILERD N, et al. Antioxidant, anti-tyrosinase and anti-collagenase activities of virgin coconut oil and stability of its cream[J]. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 2020, 14(2): 166-176.

[9] ROHMAN A, IRNAWAT I, ERWANTO Y, et al. Virgin coconut oil: Extraction, physicochemical properties, biological activities and its authentication analysis[J]. *Food Reviews International*, 2021, 37(1): 46-66.

[10] 姜宗伯, 徐军, 石芬, 等. 羟丙基甲基纤维素和黄原胶浓度对初榨椰子油乳液及其模板油凝胶构建的影响[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(7): 102-109. [JIANG Z B, XU J, SHI F, et al. Effects of hydroxypropyl methylcellulose and xanthan gum concentrations on virgin coconut oil emulsion and construction of template oleogel[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(7): 102-109. ]

[11] 李夏, 苏谕涵, 谢光杰. 椰子油微胶囊制备工艺优化及其在代餐粉中的应用[J]. *粮食与油脂*, 2022, 35(1): 87-91. [LI X, SU Y H, XIE G J. Preparation process optimization of coconut oil microcapsules and its application in meal replacement powder[J]. *Cereals & Oils*, 2022, 35(1): 87-91. ]

[12] JAISWAL M, DUDHE R, SHARMA P K. Nanoemulsion: An advanced mode of drug delivery system[J]. *3 Biotech*, 2015, 5(2): 123-127.

[13] 高巍, 白新鹏, 刘亚文, 等. 特种油脂纳米乳液超声制备工艺优化及其特性研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(16): 131-139. [GAO W, BAI X P, LIU Y W, et al. Optimization of special oil nanoemulsion prepared using ultrasonic by response surface methodology and its characteristics analysis[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(16): 131-139. ]

[14] 孙亚欣, 郑晓燕, 郑丽丽, 等. 大豆分离蛋白-茶皂素复合乳化剂制备山茶油纳米乳液及其性质研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(22): 27-34, 42. [SUN Y X, ZHENG X Y, ZHENG L L, et al. Preparation of camellia oil nanoemulsion by soy protein isolate-tea saponin compound emulsifier and properties of nanoemulsion[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(22): 27-34, 42. ]

[15] WANG C X, LI X J, SANG S Y, et al. Preparation, characterization and in vitro digestive behaviors of emulsions synergistically stabilized by  $\gamma$ -cyclodextrin/sodium caseinate/alginate[J]. *Food Research International*, 2022: 160.

[16] ZHANG M, FAN L P, LIU Y F, et al. A mechanistic investigation of the effect of dispersion phase protein type on the physicochemical stability of water-in-oil emulsions[J]. *Food Research International*, 2022: 157.

[17] 陈玲, 张立伟, 雷芬芬, 等. 乳清分离蛋白-黄原胶复合乳化剂制备南瓜籽油 O/W 型乳液及其稳定性研究[J]. *中国油脂*, 2022, 47(12): 76-83. [CHEN L, ZHANG L W, LEI F F, et al. Preparation of pumpkin seed oil O/W emulsion by whey protein iso-

- late-xanthan gum compound emulsifier and its stability[J]. *China Oils and Fats*, 2022, 47(12): 76–83. ]
- [ 18 ] LIU X Y, XUE F, ADHIKARI B. Hemp protein isolate-polysaccharide complex coacervates and their application as emulsifiers in oil-in-water emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 137: 108352.
- [ 19 ] 高健. 络合—解离法提纯姜黄色素及其纳米乳液的制备[D]. 无锡: 江南大学, 2015. [ GAO J. Curcumin purification via complex-dissociation and its preparation of nanoemulsions[D]. Jiangnan University, 2015. ]
- [ 20 ] 江连洲, 蔡玉曼, 马春芳, 等. 鱼油纳米乳液载体体系构建与稳定性研究[J]. *农业机械学报*, 2018, 49(10): 387–395. [ JIANG L Z, QI Y M, MA C F, et al. Formation and stability of fish oil enriched biocompatible nano-emulsion[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018, 49(10): 387–395. ]
- [ 21 ] ZHU Z B, WEN Y, YI J H, et al. Comparison of natural and synthetic surfactants at forming and stabilizing nanoemulsions: Tea saponin, Quillaja saponin, and Tween 80[J]. *Journal of Colloid And Interface Science*, 2018, 536: 80–87.
- [ 22 ] PAEZ-HERNANDEZ G, MONDRAGON-CORTEZ P, ESPINOSA-ANDREWS H. Developing curcumin nanoemulsions by high-intensity methods: Impact of ultrasonication and microfluidization parameters[J]. *LWT*, 2019, 111: 291–300.
- [ 23 ] WANG W N, WANG R Y, YAO J, et al. Effect of ultrasonic power on the emulsion stability of rice bran protein-chlorogenic acid emulsion[J]. *Social Science Electronic Publishing*, 2022, 84: 105959.
- [ 24 ] 徐明进, 李明远, 彭勃, 等. Zeta 电位和界面膜强度对水包油乳状液稳定性影响[J]. *应用化学*, 2007, 24: 623–627. [ XU M J, LI M Y, PENG B, et al. Effects of strength of interfacial film and Zeta potential on oil-inwater emulsion stability[J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2007, 24: 623–627. ]
- [ 25 ] JIN H, WANG X Y, CHEN Z J, et al. Fabrication of  $\beta$ -conglycinin-stabilized nanoemulsions via ultrasound process and influence of SDS and PEG 10000 co-emulsifiers on the physicochemical properties of nanoemulsions[J]. *Food Research International*, 2018, 106(11): 800–808.
- [ 26 ] MA P H, ZENG Q H, TAI K D, et al. Preparation of curcumin-loaded emulsion using high pressure homogenization: Impact of oil phase and concentration on physicochemical stability[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 84: 34–46.
- [ 27 ] ZHANG X Y, QI B K, XIE F Y, et al. Emulsion stability and dilatational rheological properties of soy/whey protein isolate complexes at the oil-water interface: Influence of pH[J]. *Food Hydrocoll*, 2021, 113: 106391.
- [ 28 ] 王曼笛, 谢岩黎, 李倩, 等. 艾草精油 Pickering 乳液稳定性的研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2022, 43(6): 67–72, 79. [ WANG M D, XIE Y L, LI Q, et al. Study on the stability of *Artemisia argyi* essential oil Pickering emulsion[J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2022, 43(6): 67–72, 79. ]
- [ 29 ] MARIA K, VASILIKI P, CONSTANTINA T. Optimization of water in olive oil nano-emulsions composition with bioactive compounds by response surface methodology[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 89: 740–748.
- [ 30 ] JACOBS C, KAYSER O, MULLER R H. Nanosuspensions as a new approach for the formulation for the poorly soluble drug tarazepide[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 196(2): 161–164.
- [ 31 ] SHARMA M, MANN B, SHARMA R, et al. Sodium caseinate stabilized clove oil nanoemulsion: Physicochemical properties[J]. *Journal of Food Engineering*, 2017, 212: 38–46.
- [ 32 ] XU J, MUKHERJEE D, CHANG S K C. Physicochemical properties and storage stability of soybean protein nanoemulsions prepared by ultra-high pressure homogenization[J]. *Food Chemistry*, 2018, 240: 1005–1013.
- [ 33 ] 万文瑜, 闫圣坤, 孔令明, 等. 核桃蛋白-多糖复合 pickering 乳液的制备工艺优化[J/OL]. *中国油脂*: 1–9 [2022-12-30]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1099.TS.20220615.1047.010.html>. [ WANG W y, YAN S k, KONG L M, et al. Optimization of walnut protein-polysaccharide complex pickering emulsion[J/OL]. *China Oils and Fats*: 1–9 [2022-12-30]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1099.TS.20220615.1047.010.html>. ]