

植物甾醇对 O/W 型纳米乳液物化稳定性及消化特性的影响

胡梦伟¹, 宋萧萧¹, 代志凯^{1,2}, 孙海辉^{1,2}, 殷军艺¹, 聂少平^{1*}

(¹南昌大学 食品科学与资源挖掘全国重点实验室 中国-加拿大食品科学与技术联合实验室(南昌)

江西省生物活性多糖重点实验室 南昌 330047

²宜春大海龟生命科学股份有限公司 江西宜春 336000)

摘要 植物甾醇(PS)具有不溶于水,难溶于油的特性,构建水包油(O/W)型纳米乳液是目前提升其生物利用度、感官品质的常见方法,然而其乳化作用对 O/W 型纳米乳液的稳定机制尚未得到关注。本研究构建了荷载不同质量分数的植物甾醇(0.1%,0.5%,0.9%)的纳米乳液(PSN),系统探究了 PS 浓度对油-水界面张力,以及乳液的微观结构、粒径、 ζ -电位、储藏稳定性、氧化稳定性以及消化特性的影响。结果表明:PS 可降低油-水界面张力,并可在界面处形成部分结晶,影响 PSN 的物化稳定性;制得的 PSN 粒径为 165.3~247.2 nm, ζ -电位范围为-24.3~-28.4 mV,随着 PS 浓度的增加逐渐增大;4℃储存 28 d,0.1%PSN 及 0.5%PSN 均可保持良好的稳定性,然而在 60℃储存条件下,0.9% PSN 表现出最优的动力学稳定性。此外,加速氧化试验及消化试验的结果均显示,较高浓度的 PS 可有效抑制乳液中的脂质氧化以及游离脂肪酸的释放(<31.41%)。本研究结果可为 PS 功能性食品或辅料的精准开发提供较好的理论参考。

关键词 植物甾醇; 纳米乳液; 稳定性; 界面张力; 体外消化

文章编号 1009-7848(2024)04-0130-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.04.013

植物甾醇(Phytosterol,PS)属于三萜类化合物,包括谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇等^[1],在结构和生物学功能上与胆固醇相似^[2]。PS 具有多种生理功能,被誉为“生命的钥匙”,如可降低血液中胆固醇及低密度脂蛋白的水平,从而降低人体患心血管疾病的风险^[3]。此外,PS 还具有抗糖尿病、抗炎和免疫调节等功能^[4]。现有研究表明,人体通过素食饮食每日可摄入 300~400 mg 的 PS^[5],而 Matsuoka^[6]研究发现 PS 对血清降胆固醇作用的最小有效剂量为 800 mg,因此日常饮食摄入量难以达到发挥其良好生理活性的标准。然而,PS 具有高结晶度、低水溶性等特性,极大地降低了其在食品基质中的稳定性、感官特性及生物利用度^[7],限制了其在功能性食品产业的发展。

研究显示,物理法(制备纳米颗粒)^[8]或化学法改性(化学合成、酶催化合成亲水植物甾醇衍生物等)^[9]可改善 PS 的水溶性及生物利用度。Li 等^[10]使

用反溶剂法制备出 PS 含量为 1%的纳米分散体,冻干后得到的粉末水溶性为原始 PS 的 155 倍,而乙醇等有机溶剂的使用^[11],易造成生产、食用的安全隐患。有关化学法的报道中,Xia 等^[12]对 PS 进行改性,在甲苯的催化下用蔗糖酯化植物甾醇半琥珀酸酯制备出植物甾醇琥珀酰蔗糖酯,其在水中的溶解度达到 2.13 mg/mL。然而,亲水性植物甾醇衍生物在体内的详细代谢途径、毒性和安全性有待进一步评估。相比而言,纳米乳液是解决 PS 应用困难的有效方法,其粒径一般在 20~200 nm 范围^[13]。McClements^[14]研究表明,PS 经纳米乳化作用后,可增强与胆固醇竞争吸收的能力,进而提高生物利用度。不仅如此,均匀分散的微小液滴可减少食用过程中的颗粒感,提高其感官品质^[15]。

表面活性剂的界面修饰作用是影响纳米乳液性能的重要因素^[16]。磷脂、吐温-80 是制备纳米乳液常用的两种乳化剂^[17-18],其中磷脂为亲脂乳化剂且具有抑制 PS 结晶性的功能^[19]。吐温-80 为亲水乳化剂,其不带电荷(非离子),不易受酸、碱的影响^[20],可以稳定水包油乳液。值得注意的是,PS 同样具有表面活性,可以降低油水间的界面张力^[21],然而在植物甾醇纳米乳液(Phytosterol nanoemulsion,PSN)的相关研究中,往往忽略其本身对乳液

收稿日期: 2023-08-29

基金项目: 江西省重大研发专项(20223AAF02015);江西省重点研发计划项目(20223BBF61022);国家科技奖后备培育计划项目(20223AEI91006)

第一作者: 胡梦伟,男,硕士生

通信作者: 聂少平 E-mail: spnie@ncu.edu.cn

油-水界面的影响。不仅如此,PS易结晶,如Wang等^[2]使用PS/壳聚糖复合物制备了稳定的O/W的Pickering乳液,能否赋予该油水界面不同的稳定机制,目前尚未明确。

基于上述问题,本文采用高压均质法制备O/W型PSN,综合探究不同PS浓度对油-水界面张力、PSN的包埋率、微观形貌、物理稳定性、氧化稳定性及消化特性的影响,旨在探讨PS在乳液中的界面行为及对乳液特性的影响,为PS功能性食品的发展提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

植物甾醇(β -谷甾醇含量92.5%,菜油甾醇含量6.3%,豆甾醇0.8%,菜籽甾醇0.1%),宜春大海龟生命科学有限公司;玉米油,益海嘉里粮油食品有限公司;磷脂(磷脂酰胆碱含量 $\geq 20\%$),美国Sigma-Aldrich公司;吐温-80,上海麦克林生化科技股份有限公司;硫代巴比妥酸、1,1,3,3-四乙氧基丙烷,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;人工胃液、人工小肠液,上海源叶生物科技有限公司;其它试剂均为分析纯级。

1.2 仪器与设备

Spectra max190酶标仪,美国Molecular Devices公司;多重光散射仪,法国Formulation公司;Zetasizer Nano ZSP型光散射粒径分析仪,英国Malver公司;OCA25界面流变仪,德国Data-physics公司;JEM-1200EX透射电镜,日本电子株式会社;Mettler Toledo XS105型电子分析天平,上海梅特勒-托利多仪器公司;HH-4型数显恒温水浴锅,常州国华电器有限公司;UH-06均质机,上海永联生物科技有限公司;高速剪切仪,宁波新芝生物科技有限公司;IKA-RCT基本型磁力加热搅拌器,德国IKA公司;Milli-Q超纯水仪,美国Millipore公司。

1.3 试验方法

1.3.1 植物甾醇纳米乳液的制备 将磷脂加入玉米油中,50℃搅拌30min,充分溶解后,加入不同质量分数(1.0%,5.0%,9.0%)的PS,70℃搅拌30min得到油相,待用。将吐温-80加入纯水中,室温搅拌30min,得到水相。将水相加热至70℃,与油

相9:1(m/m)混合,8000r/min剪切3min,得到粗乳液,然后于400Bar条件下均质3次,每次3min,最终得到PSN。

1.3.2 纳米乳液制备条件优化 考察磷脂、吐温-80浓度对纳米乳液制备的影响。控制水相中吐温-80质量分数为0.6%,测定磷脂在油相中质量分数分别为1.0%,3.0%,5.0%,7.0%,9.0%时,制备的纳米乳液的粒径、PDI、动力学不稳定性;控制油相中磷脂质量分数为5%,测定吐温-80在水相中质量分数分别为0.2%,0.4%,0.6%,0.8%,1.0%时,制备的纳米乳液的粒径、PDI、动力学不稳定性。

1.3.3 粒径、电位、PDI的测定 使用Zetasizer Nano ZSP测定纳米乳液的粒径、电位、多分散系数(PDI)。将样品溶液用超纯水稀释100倍,于室温下测定颗粒平均粒径、PDI及 ζ -电位。设定测量参数:样品折射率为1.471;分散剂折射率为1.330。

1.3.4 动力学不稳定性 将样品置于Turbiscan多重光散射仪专用的样品瓶中进行测试。设置仪器温度为60℃,取约20mL样品于圆柱形透明玻璃瓶中扫描(每隔0.5h扫描1次,持续24h)。由于样品不透光,因此样品经过不同的放置时间后,选择背散射光强信号的变化情况来反映样品是否发生聚并、聚集、上浮或者沉淀。根据仪器自带的软件TowerSoft计算出体系的不稳定性指数(TSI值)。

1.3.5 界面张力的测定 界面张力的测定参考许杨杨等^[23]的方法并有所修改,将不同质量分数的PS(1.0%,5.0%,9.0%)溶解于玉米油中,使用超纯水作为水相,研究PS浓度对油水界面张力的影响。检测系统为OCA20视频光学接触角测量仪。首先,将连接在毛细管上的不锈钢针(外径为1.65mm)插入盛有油相的玻璃槽内。将针尖端放置在光源和相机(CCD)之间的光学平板上。然后用自动进样单元将10 μ L的样品推送至针尖上并形成完整的滴形。CCD摄像系统立即持续地采集液滴的外形轮廓变化,测试时维持油相温度60℃,尽量避免外界振动的干扰。据Young-Laplace方程^[23]算出界面张力 γ (精确至0.01mN/m)。

1.3.6 包埋率的测定 包埋率的测定方法参考Zhou等^[24]的方法并有所修改。将新制备的纳米乳

液稀释 10 倍,将 5 mL 乳液加入 5 mL 萃取剂(正己烷:二氯甲烷=3:1),超声 10 min。收集上层有机溶液。反复萃取 3 次后,在氮气中吹干结合的有机层。将残留物重新溶解在无水乙醇中,在溶解的溶液(4 mL)与磷硫铁试剂(2 mL)反应 15 min 后,于波长 520 nm 处测定混合物的吸光度。

1.3.7 微观形貌 透射电镜分析:将乳液用去离子水稀释 100 倍,并将每个稀释的样品(2 μ L)滴在 200 目碳涂层铜网上。在 100 kV 加速电压下分析样品的形貌。

1.3.8 乳液物理稳定性测定 探究纳米乳液在不同温度环境中的稳定性。将 10 mL 新制备的纳米乳液转移到不同的样品瓶中,分别贮藏在不同的环境温度下(4, 25 $^{\circ}$ C),在不同贮藏时间(1, 7, 14, 21, 28 d) 测量纳米乳液的平均粒径、PDI 和 ζ -电位;在 60 $^{\circ}$ C 条件下,使用 Turbiscan 多重光散射仪对样品进行动力学不稳定性测试。

1.3.9 氧化稳定性 氧化稳定性的测定参考 Zhu 等^[25]的方法并有所修改。

初级氧化产物过氧化值(POV)的测定:将 0.3 mL 乳液置于小离心管中,加入 1.5 mL 异辛烷和异丙醇混合物(异辛烷和异丙醇体积比为 3:1),并充分振荡(10 s, 3 次)后离心(5 000 \times g, 2 min)。取上清液 0.2 mL,加入到 2.8 mL 甲醇-丁醇混合液(2:1)中,随后分别加入 20 μ L 3.94 mol/L 硫酸铵和 20 μ L FeCl₂ 溶液(含 0.132 mol/L BaCl₂ 和 0.144 mol/L FeSO₄, 1:1 混合),充分混合后避光反应 20 min,于波长 510 nm 处测定吸光度,通过异丙苯氢过氧化物标准曲线计算样品中过氧化物浓度。

二级氧化产物硫代巴比妥酸反应物(TBARS)的测定:取 1 mL 乳液加入到离心管中,加入 2 mL TBARS 测试液(含 0.375% 硫代巴比妥酸、15% 三氯乙酸和 0.25 mol/L HCl 溶液),混合液在沸水中加热 20 min 后,于冰水中冷却 10 min 后,8 000 \times g 离心 15 min。取上清液,于波长 532 nm 处测定吸光度。通过 1,1,3,3-四乙氧基丙烷标准曲线计算样品中 TBARS 浓度。

1.3.10 体外消化 体外消化试验参考 Meng 等^[26]的方法并有所修改。因乳液在口腔停留的时间短,用一个包含胃肠阶段的体外模拟消化模型来进行

体外模拟消化,通过 FFA 释放量来评价其胃肠道行为。

胃消化阶段:取 10 mL 的乳液与模拟胃液等体积混合,并用 1 mol/L 的 HCl 调节混合物的 pH 值至 2.0,将其置于 37 $^{\circ}$ C, 120 r/min 的恒温摇床中,模拟胃消化 12 h。

肠消化阶段:模拟胃消化阶段结束后,立即用 1 mol/L 的 NaOH 调节混合物的 pH 值至 7.0,取 10 mL 消化液加入等量人工小肠液以及 10 mg/mL 猪胆盐。最后将其放置于 37 $^{\circ}$ C 恒温摇床(120 r/min)中,模拟肠消化 2 h。

$$\text{FFA}(\%) = \left(\frac{V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \times M_0}{2 \times m_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

式中, C_{NaOH} ——NaOH 浓度(0.1 mol/L); V_{NaOH} ——滴加的 NaOH 溶液的体积, mL; M_0 ——油的物质的量(如玉米油 880 g/mol); m_0 ——模拟消化过程中所用油的质量, g。

1.3.11 数据处理 所有试验重复 3 次,数据表示为“平均值 \pm 标准差”,采用 Graphpad8.0.2 进行单因素方差和 ANOVA 检验进行统计分析($P < 0.05$ 为显著性差异)。

2 结果与分析

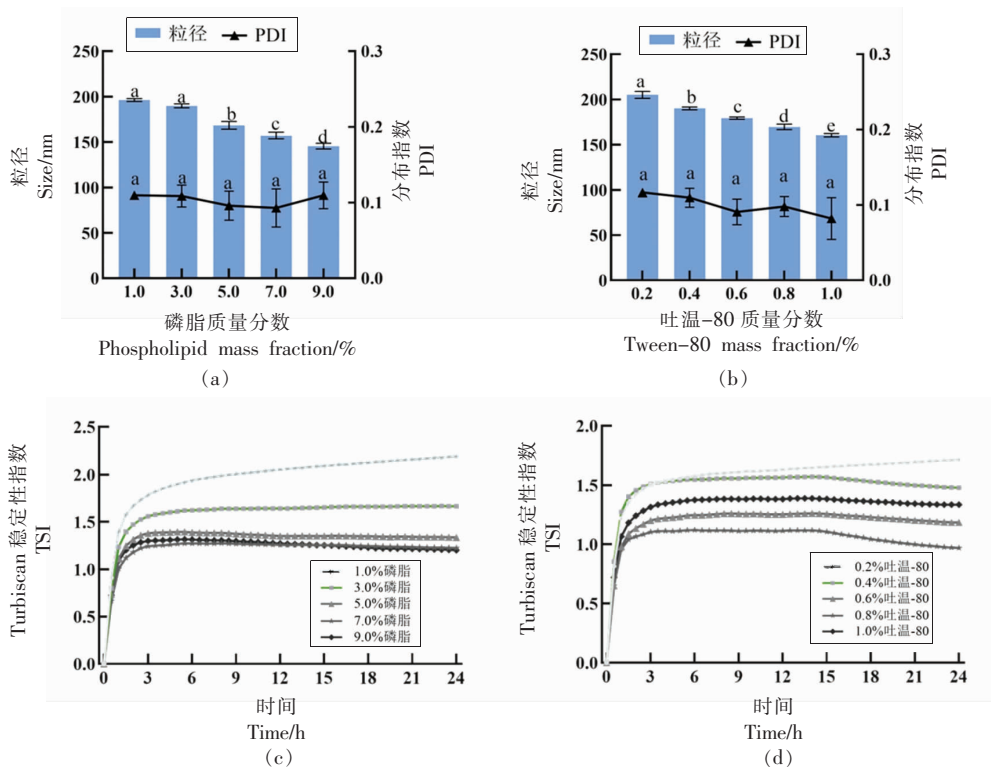
2.1 纳米乳液制备条件优化

磷脂浓度对纳米乳液的粒径、PDI 的影响如图 1a 所示。随着油相中磷脂质量分数的增加,纳米乳液的粒径从 196.4 nm 减小到 145.5 nm ($P < 0.05$)。这表明磷脂发挥明显乳化作用,减少了液滴聚结^[27],并且 PDI 值始终低于 0.30,表明液滴分布均匀。吐温-80 浓度对纳米乳液的粒径、PDI 的影响如图 1b 所示。随着水相中吐温-80 质量分数的增加,纳米乳液的粒径从 205.1 nm 减小到 160.4 nm, PDI 值在吐温质量分数为 1.0% 时达到最低值 0.082。上述试验结果中,纳米乳液的粒径都随乳化剂浓度增加而减小,由于无法有效地筛选出适宜的乳化剂浓度,因此进一步采用多重光散射仪对样品进行动力学不稳定性分析。

多重光散射的测定中,TSI 值越小表明样品体系越稳定,反之稳定性越差,磷脂和吐温-80 对乳液 TSI 值的影响如图 2c、2d 所示。当磷脂质量分数为 7.0% 时,乳液 TSI 达到最低值,进一步提高浓

度至9.0%,无明显变化;当吐温质量分数为 0.8%时,乳液 TSI 值最低,进一步提高浓度至 1.0%,TSI 值反而提高,可能由于过量的乳化剂分子会在水

相中形成胶束,而不是在液滴表面上定向分布,从而造成乳液稳定性的下降^[28]。综上所述,选择 7.0%的磷脂和 0.8%的吐温-80 进行后续研究。



注:图 a、b 中标注不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图 1 磷脂质量分数对纳米乳液的粒径和 PDI(a)及 TSI 值(c)的影响及吐温-80 质量分数对纳米乳液的粒径和 PDI(b)、TSI 值(d)的影响

Fig. 1 Effect of phospholipid mass fraction on particle size and PDI (a), and TSI value (c) of nanoemulsions and effect of Tween-80 mass fraction on particle size and PDI (b), and TSI value (d) of nanoemulsions

2.2 植物甾醇含量对油水界面张力的影响

制备不同 PS 质量分数(1.0%, 5.0%, 9.0%)的油相,探究 PS 浓度对油-水界面张力的影响,如图 2 所示。空白对照组中,油-水初始界面张力由 20.14 mN/m 降至 11.51 mN/m;在质量分数 1.0%~9.0%范围内,油-水界面张力随着 PS 质量分数的提高而降低,9.0%PS 对界面张力的降低最为明显,其界面张力降为 7.56 mN/m(图 2a)。Rossi 等^[29]研究表明由于 β -谷甾醇化学结构中具有疏水性稠环骨架和极性羟基,具有轻微的两亲性,能够与油水界面的水相和油相相互作用,与本试验中甾醇可降低油水界面张力的结果相互印证。图 2b 为水滴在不同质量分数 PS 油相中的形貌。PS 的

质量分数低于 1.0%时,液滴表面光滑,而质量分数为 5.0%时,液滴界面逐渐分布大量结晶,说明更多的 PS 分子倾向于移动至界面处聚集结晶;随着质量分数进一步提高至 9.0%,液滴表面覆满针状结晶,并且形态变得不规则。Engel 等^[30]的研究表明界面处水相的存在会诱导 PS 结晶,由此推测在适当质量分数下,PS 可部分聚集在乳液油水界面形成近似“Pickering”乳液的形式,进而起到稳定、防止液滴聚集的作用。Zychowski 等^[21]的研究同样发现,一定 PS 浓度下,乳液液滴表面可能会形成以 PS 为主的界面组成;而当 PS 浓度过高时,过量的结晶可能会破坏液滴形态,进而导致乳液的粒径变大及稳定性下降。

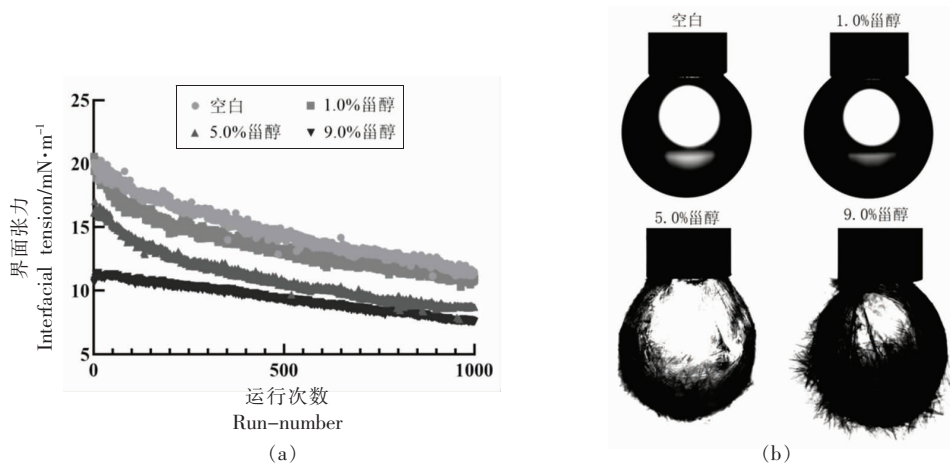


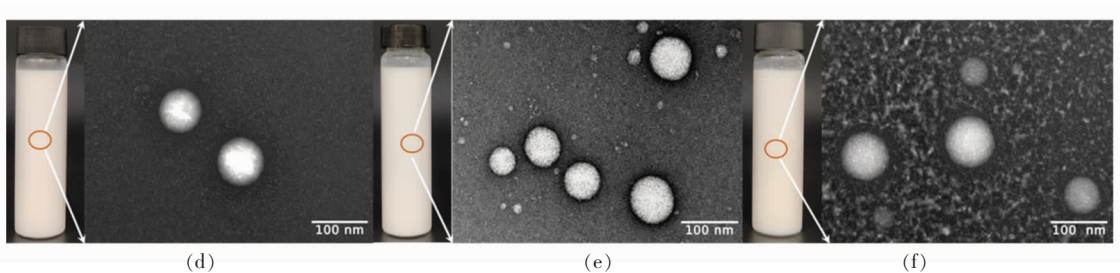
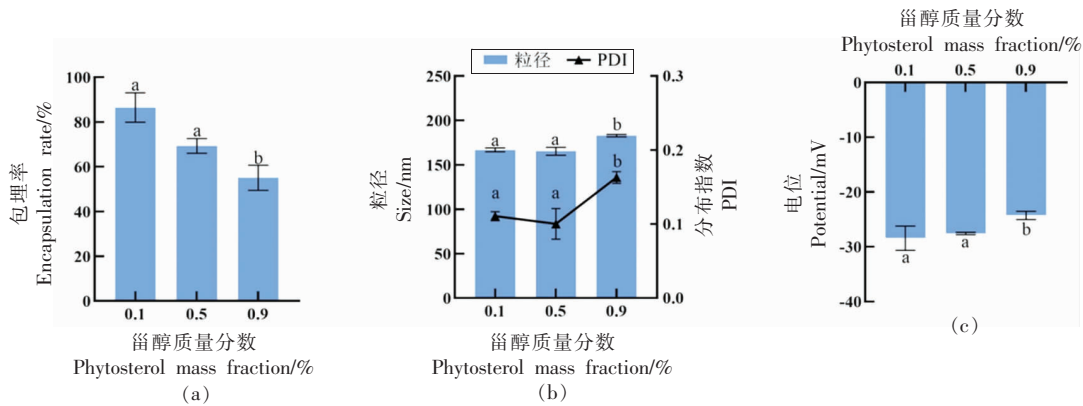
图2 油相的动态界面张力随 PS 质量分数的变化(a)及液滴形貌(b)

Fig.2 Dynamic interfacial tension of the oil phase with sterol mass fraction (a) and droplet morphology (b)

2.3 植物甾醇含量对乳液包埋率及物理性质的影响

制备 PS 质量分数分别为 0.1%、0.5%、0.9% 的纳米乳液, 研究不同质量分数 PSN 的包埋率及物化性质, 如图 3 所示。0.1% PSN 的包埋率最高, 到达了 86.51%, 随着 PS 质量分数的提高包埋率逐渐降低, 0.9% PSN 的包埋率仅有 55.08%, 这可能

是由于随着油相中 PS 含量的提高, 磷脂分子只能和部分 PS 分子相互作用以增加其溶解性。其余过多的 PS 倾向于在乳液液滴表面结晶析出^[1], 导致乳液的包埋率下降。图 3b 显示了不同质量分数 PSN 的粒径、PDI 数据。其中 0.9% PSN 的粒径出现显著增大 ($P < 0.05$), 达到 182.93 nm, PDI 也增大到 0.163, 这表明过高质量分数的 PS 会降低乳液液



注: 图 a、b、c 中标注不同字母表明差异显著 ($P < 0.05$)。

图3 不同浓度 PSN 的包埋率(a)、粒径和 PDI(b)、电位(c)以及微观形貌(d、e、f)

Fig.3 Embedding rate (a), particle size and PDI (b), potential (c), and microscopic morphology (d, e, f) of PSN at different concentrations

滴的均一性,也一定程度上印证了前文界面张力测试中的现象,高质量分数下 PS 分子会倾向于在液滴界面处聚集结晶,导致乳液液滴的粒径增大。PSN 的 ζ -电位范围为 $-24.3 \sim -28.4$ mV (图 3c), 0.9%PSN 电位绝对值显著低于 0.1%PSN 和 0.5%PSN,这说明 PS 的加入会降低乳液的电位。

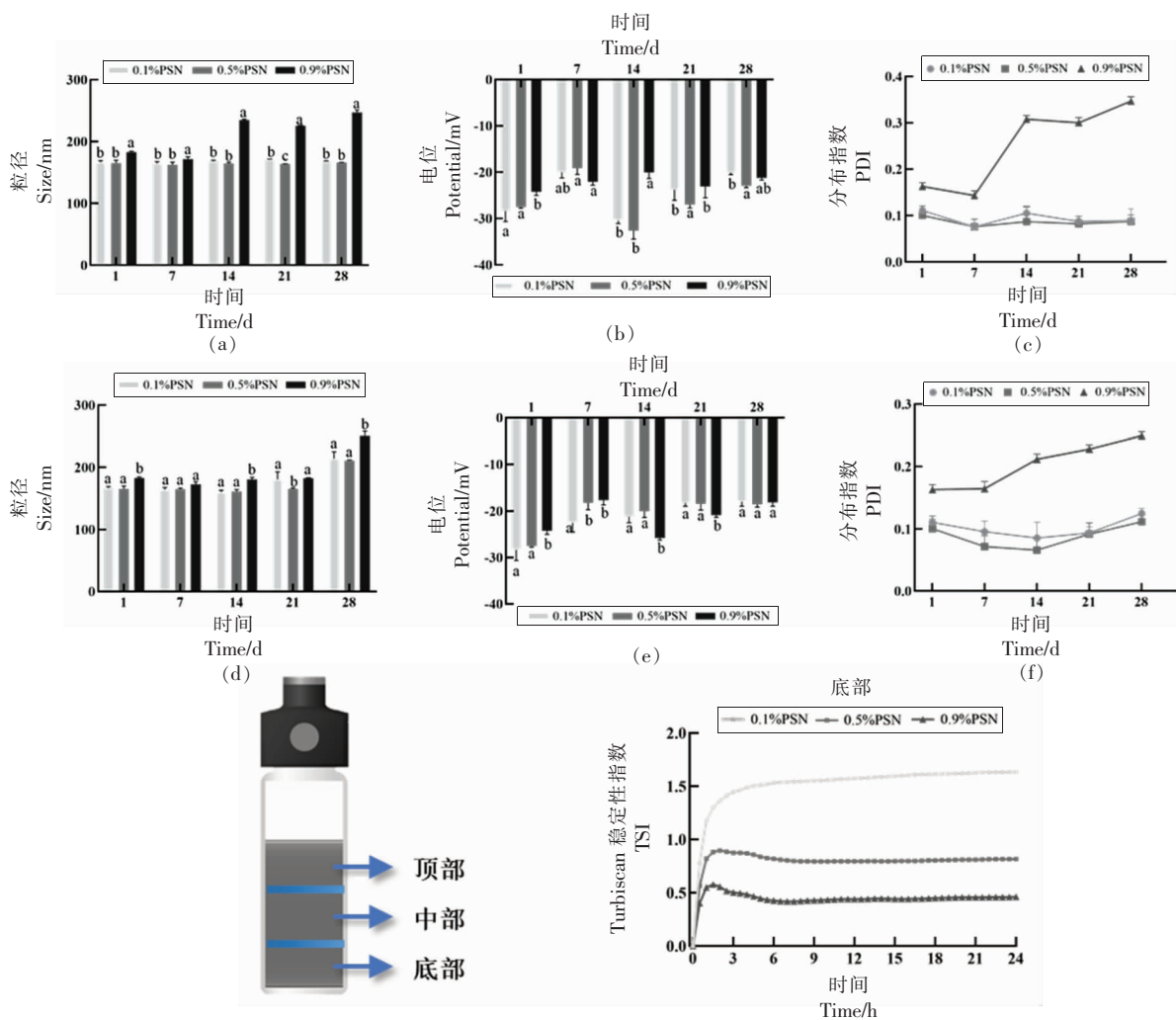
3 种乳液的表观形貌均呈均匀的乳白色,为进一步研究 PS 对乳液液滴微观形貌的影响,对乳液进行透射电镜分析。图 4d、4e、4f 分别为 0.1%、0.5%、0.9%的 PSN 的透射电镜(TEM)结果,乳液中大多数液滴形态为光滑的球形,大小均一,粒径为 100 nm 左右,与纳米粒度仪分析的粒径相符合。

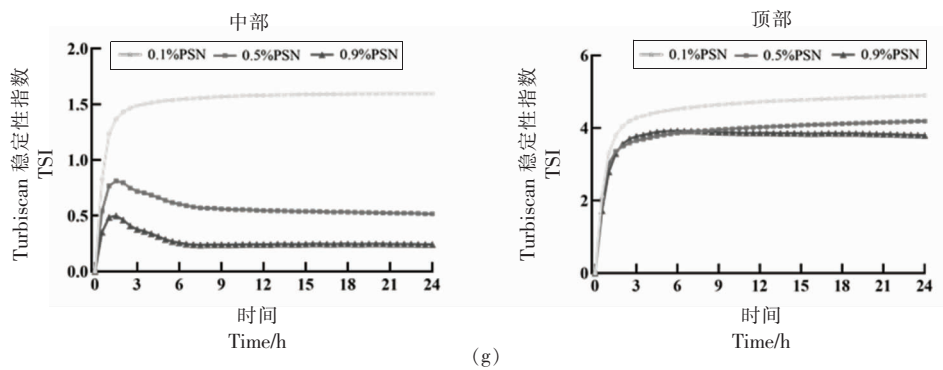
2.4 不同温度下植物甾醇含量对乳液物理稳定性的影响

研究不同质量分数 PSN 在不同温度下的物理稳定性(图 4)。可以看出,4 °C 条件下,28 d 时

0.9%PSN 的平均粒径(247.2 nm)和 PDI(0.347)均显著大于 ($P < 0.05$)0.1%PSN (168.3 nm, 0.089)和 0.5%PSN (166.1 nm, 0.087);25 °C 条件下,乳液的粒径和 PDI 也出现相同的趋势。相比而言, ζ -电位差异不明显,这表明静电相互作用并不是维持此纳米乳液稳定性的唯一因素,综合前文界面张力的试验结果,0.9%PSN 中 PS 可能出现过度结晶现象,使液滴粒径增大并且向不规则形态转变,导致乳液稳定性变差。

进一步采用多重光散射对 60 °C 条件下 PSN 的稳定性进行分析,结果如图 4g 所示。值得注意的是样品底部、中部、顶部 3 个部分 TSI 值的变化趋势,与低温情况下相反,0.9%PSN 在 60 °C 条件下具有最低的 TSI 值,说明其具有最优的稳定性,这与 Panpipat 等^[32]的发现相互印证,可能是因为在高温条件下,PS 在油中的溶解度增大导致表面结晶程度降低^[33],可以更加充分的结合在油水界





注:图 a、b、d、e 中标注不同字母表明差异显著 ($P<0.05$)。

图 4 不同质量分数 PSN 在 4 °C 的粒径 (a)、电位 (b)、PDI (c) 的变化,在 25 °C 的粒径 (d)、电位 (e)、PDI (f) 的变化和在 60 °C 的 TSI 值变化 (g)

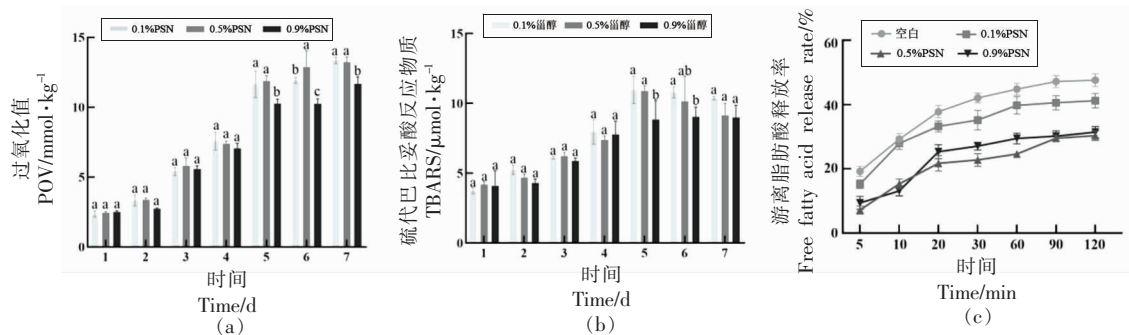
Fig.4 Changes in particle size (a), potential (b), and PDI (c) at 4 °C, changes in particle size (d), potential (e), and PDI (f) at 25 °C, and changes in TSI values at 60 °C for different mass fractions of PSN (g)

面处,从而使液滴更加稳定。

2.5 植物甾醇含量对乳液氧化稳定性的影响

食品中脂质的氧化降解决定了其保质期和可接受性。为了研究不同质量分数 PSN 的氧化稳定性,测定 POV 值和 TBARS 的含量,结果如图 5a、5b 所示。加速氧化期间,乳液的初级代谢产物(图 5a)不断增加,第 7 天时,0.9%PSN 的 POV 值最低,高含量的 PS 对油脂初级氧化表现出了显著的抑制作用 ($P<0.05$),这可能是因为 PS 在油水界面处积聚^[34],对油滴起到包裹及保护、隔绝的作用,

进而有效抑制了油相氧化反应的发生,在一定程度上印证了前文 0.9%PSN 粒径变大的结果。图 5b 显示,乳液的次级氧化产物在 1~5 d 同样出现了明显的增加,之后趋于稳定。值得注意的是,0.9% PSN 相比于 0.1%和 0.5%PSN 具有更低的 TBARS 值,TBARS 值反映丙二醛的含量,而氢过氧化物分解后,除了生成丙二醛以外还有更多的羰基化合物^[35],这说明 PS 可能具有一定抑制丙二醛生成的能力,同样可提高油脂次级氧化的稳定性。



注:图 a、b 中标注不同字母表明差异显著 ($P<0.05$)。

图 5 不同质量分数 PSN 的初级氧化稳定性 (a)、次级氧化稳定性 (b) 及游离脂肪酸释放率 (c)

Fig.5 Primary oxidative stability (a), secondary oxidative stability (b) and free fatty acid release rate (c) of PSN with different mass fractions

2.6 植物甾醇纳米乳液的体外消化

脂质消化主要发生在小肠部位^[36],在胰酶的作用下,迅速发生脂解生成甘油二酯、甘油一酯和游离脂肪酸(FFA)。因此体外检测乳液在小肠消

化过程中释放的 FFA 量,以确定脂质分解的程度和速率。FFA 释放率的测定结果如图 5c 所示,所有样品中的脂质在最初的 20 min 内被快速消化,随后脂质的消化速率逐渐降低。120 min 后,不添

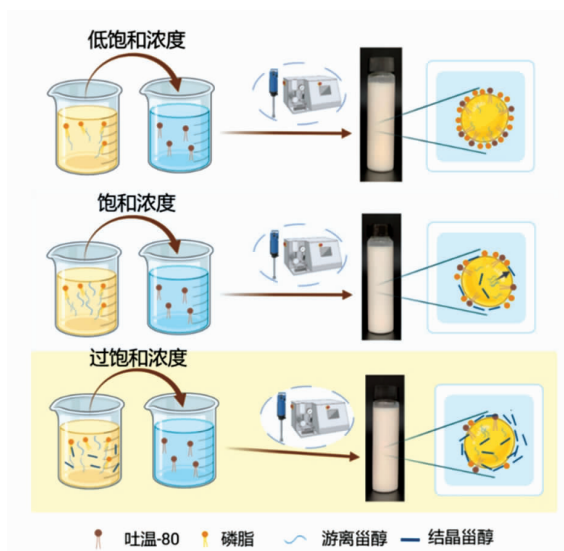


图 6 不同 PS 含量对纳米乳液油水界面的稳定机制示意图(使用 bioRender.com 绘制)

Fig.6 Mechanism of oil-water interface of nanoemulsions with different phytosterol mass fractions (created with bioRender.com)

加 PS 的空白对照乳液脂质消化程度最高,游离脂肪酸释放率为 47.63%,0.5%和 0.9%PSN 脂质消化程度显著低于空白对照,仅分别为 30.30%和 31.41%。因为胰酶必须通过纳米乳液液滴的界面结构与脂质接触才能产生作用^[24],而高含量的 PS 在油水界面处形成的结晶提供了物理屏障,阻止胰酶接近脂质,这可能是 0.5%和 0.9%PSN 抑制脂质消化的原因。因此,本试验结果表明 PSN 可以降低脂质的消化率。

2.7 讨论

不同 PS 含量对纳米乳液油水界面的稳定机制如图 6 所示。适宜质量分数的 PS 可在液滴界面处形成结晶,与非结晶形态共同发挥界面稳定作用;而过高质量分数的 PS 会产生过量结晶,虽对乳液油脂氧化反应及消化起到抑制作用,但同时会导致乳液粒径增大,物理稳定性下降。Zychowski 等^[37]使用乳清蛋白为乳化剂制备的纳米乳液,PS 的最高添加含量仅为 0.6%,若进一步提高 PS 含量,乳液稳定性会变得极差,预均质后即分离。此外,本研究中的 PS 以 β -谷甾醇为主,未来可进一步研究其它类甾醇的界面作用及对乳液稳定性的影响,这将有助于更新 PS 基纳米乳液的制备策略

与精准应用。

3 结论

本研究系统地探究了不同 PS 质量分数对纳米乳液物化性质、稳定性、消化特性的影响。结果表明,PS 可改变油水界面的张力,并在界面处形成两亲的非结晶态及结晶态,共同影响乳液体系的稳定机制,另外,结晶区域的“阻隔”作用,可抑制脂质氧化反应的发生及模拟胃肠液消化过程中游离脂肪酸的释放。本研究为开发高生物利用度、稳定性的 PS 功能性食品或辅料提供理论支持。

参 考 文 献

- [1] 田丹丹,李艳,梅晓宏.牛油果中植物甾醇的鉴定及抗氧化、抑菌活性[J].食品科学,2019,40(3):30-35.
TIAN D D, LE Y, MEI X H. Identification, antioxidant and antibacterial activity of phytosterols in avocado[J]. Food Science, 2019, 40(3): 30-35.
- [2] SALEHI B, QUISPE C, SHARIFI-RAD J, et al. Phytosterols: From preclinical evidence to potential clinical applications[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 11: 599959.
- [3] MAKHMUDOVA U, SCHULZE P C, LÜTJOHANN D, et al. Phytosterols and cardiovascular disease[J]. Current Atherosclerosis Reports, 2021, 23(11): 68.
- [4] NATTAGH - ESHTIVANI E, BARGHCHI H, PAHLAVANI N, et al. Biological and pharmacological effects and nutritional impact of phytosterols: A comprehensive review[J]. Phytotherapy Research, 2022, 36(1): 299-322.
- [5] LUETJOHANN D, JACELDO-SIEGL K, SIRIRAT R, et al. Plasma plant sterols and plant sterol intake vary across plant-based dietary patterns among adults from North America[J]. Atherosclerosis, 2016, 252(9): e92.
- [6] MATSUOKA R. Property of phytosterols and development of its containing mayonnaise-type dressing[J]. Foods, 2022, 11(8): 1141.
- [7] WANG T, MA C G, HU Y Y, et al. Effects of food formulation on bioavailability of phytosterols: Phytosterol structures, delivery carriers, and food matrices[J]. Food & Function, 2023, 14(12): 5465-

- 5477.
- [8] 杨婷婷, 任李顺, 陈光未, 等. 玉米醇溶蛋白负载植物甾醇纳米颗粒的制备及性能[J]. 食品科学, 2023, 44(18): 40-48.
YANG T T, REN L S, CHEN G W, et al. Preparation and properties of zein loaded phytosterol nanoparticles[J]. Food Science, 2023, 44(18): 40-48.
- [9] FENG S M, WANG L L, SHAO P, et al. A review on chemical and physical modifications of phytosterols and their influence on bioavailability and safety[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(20): 5638-5657.
- [10] LI A, ZHU A X, KONG D, et al. Water-dispersible phytosterol nanoparticles: Preparation, characterization, and *in vitro* digestion[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 8: 793009.
- [11] UBEYITOGULLARI A, CIFTCI O N. *In vitro* bioaccessibility of novel low-crystallinity phytosterol nanoparticles in non-fat and regular-fat foods[J]. Food Research International, 2019, 123(9): 27-35.
- [12] XIA X, REN M, HE W S, et al. The preparation of phytosteryl succinyl sucrose esters and improvement of their water solubility and emulsifying properties[J]. Food Chemistry, 2022, 373(7): 131501.
- [13] ASHAOLU T J. Nanoemulsions for health, food, and cosmetics: A review[J]. Environmental Chemistry Letters, 2021, 19(4): 3381-3395.
- [14] MCCLEMENTS D J. Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance[J]. Soft Matter, 2011, 7(6): 2297-2316.
- [15] LI G T, ZHANG Z G, LIU H F, et al. Nanoemulsion-based delivery approaches for nutraceuticals: Fabrication, application, characterization, biological fate, potential toxicity and future trends[J]. Food & Function, 2021, 12(5): 1933-1953.
- [16] PAVONI L, PERINELLI D R, CIACCIARELLI A, et al. Properties and stability of nanoemulsions: How relevant is the type of surfactant?[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2020, 58(4): 101772.
- [17] ZHAO S Q, WANG Z Y, WANG X F, et al. Characterization of nanoemulsions stabilized with different emulsifiers and their encapsulation efficiency for oregano essential oil: Tween 80, soybean protein isolate, tea saponin, and soy lecithin[J]. Foods, 2023, 12(17): 3183.
- [18] 李静雯, 钟金锋, 刘敏, 等. γ -谷维素对淀粉酯-磷脂纳米乳液氧化稳定性的影响机制[J/OL]. 食品与发酵工业: 1-11. (2023-07-03)[2023-08-29].<https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.035918>.
LI J W, ZHONG J F, LIU M, et al. Influence mechanism of γ -oryzanol on oxidation stability of nanoemulsion prepared with starch ester and phosphatidylcholine[J]. Food and Fermentation Industries: 1-11. (2023-07-03)[2023-08-29].<https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.035918>.
- [19] ZYCHOWSKI L M, LOGAN A, AUGUSTIN M A, et al. Phytosterol crystallisation within bulk and dispersed triacylglycerol matrices as influenced by oil droplet size and low molecular weight surfactant addition[J]. Food Chemistry, 2018, 264(27): 24-33.
- [20] BU X T, WANG X H, DAI L, et al. The combination of starch nanoparticles and Tween 80 results in enhanced emulsion stability[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 163(22): 2048-2059.
- [21] ZYCHOWSKI L M, METTU S, DAGASTINE R R, et al. Physical and interfacial characterization of phytosterols in oil-in-water triacylglycerol-based emulsions[J]. Food Structure, 2019, 19(1): 100101.
- [22] WANG C L, JIANG H, LI Y X. Water-in-oil Pickering emulsions stabilized by phytosterol/chitosan complex particles[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2023, 657(2): 130489.
- [23] 许杨杨, 朱力杰, 刘秀英, 等. 蛋白种类对大豆皂苷-蛋白 W/O/W 型乳液稳定性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 36-42.
XU Y Y, ZHU L J, LIU X Y, et al. Effect of protein type on the stability of soyasaponin-soybean protein water-in-oil-in-water type emulsion[J]. Food Science, 2022, 43(10): 36-42.
- [24] ZHOU S J, HAN L, LU K Y, et al. Whey protein isolate-phytosterols nanoparticles: Preparation, characterization, and stabilized food-grade pickering emulsions[J]. Food Chemistry, 2022, 384(19): 132486.
- [25] ZHU W, ZHENG F, SONG X Y, et al. Influence of formulation parameters on lipid oxidative stability of Pickering emulsion stabilized by hydrophobically modified starch particles[J]. Carbohydrate Polymers,

- 2020, 246(20): 116649
- [26] MENG R, WU Z, XIE Q T, et al. Zein/carboxymethyl dextrin nanoparticles stabilized pickering emulsions as delivery vehicles: Effect of interfacial composition on lipid oxidation and *in vitro* digestion [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 108(11): 106020.
- [27] LUO X, ZHOU Y Y, BAI L, et al. Production of highly concentrated oil-in-water emulsions using dual-channel microfluidization: Use of individual and mixed natural emulsifiers (saponin and lecithin)[J]. *Food Research International*, 2017, 96(6): 103–112.
- [28] MARHAMATI M, RANJBAR G, REZAIE M. Effects of emulsifiers on the physicochemical stability of oil-in-water nanoemulsions: A critical review[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2021, 340 (20): 117218.
- [29] ROSSI L, SEIJEN TEN HOORN J W M, MELNIKOV S M, et al. Colloidal phytosterols: Synthesis, characterization and bioaccessibility[J]. *Soft Matter*, 2010, 6(5): 928–936.
- [30] ENGEL R, SCHUBERT H. Formulation of phytosterols in emulsions for increased dose response in functional foods[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2005, 6(2): 233–237.
- [31] CHEN X W, GUO J, WANG J M, et al. Controlled volatile release of structured emulsions based on phytosterols crystallization[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 56(5): 170–179.
- [32] PANPIPAT W, DONG M, XU X, et al. Thermal properties and nanodispersion behavior of synthesized β -sitosteryl acyl esters: A structure-activity relationship study[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2013, 407(19): 177–186.
- [33] LAN M, ZHENG J, HUANG C, et al. Water-in-oil Pickering emulsions stabilized by microcrystalline phytosterols in oil: Fabrication mechanism and application as a salt release system[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70 (17): 5408–5416.
- [34] CERCACI L, RODRIGUEZ-ESTRADA M T, LERCKER G, et al. Phytosterol oxidation in oil-in-water emulsions and bulk oil [J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(1): 161–167.
- [35] 曹文明, 王鑫, 包杰, 等. 油脂氧化评价研究进展 [J]. *粮食与油脂*, 2013, 26(4): 1–5.
- CAO W M, WANG X, BAO J, et al. Research progresses on lipids rancidity and oxidation evaluation[J]. *Cereals & Oils*, 2013, 26(4): 1–5.
- [36] SARKAR A, YE A, SINGH H. On the role of bile salts in the digestion of emulsified lipids[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 60(9): 77–84.
- [37] ZYCHOWSKI L M, LOGAN A, AUGUSTIN M A, et al. Effect of phytosterols on the crystallization behavior of oil-in-water milk fat emulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(34): 6546–6554.

Effects of Phytosterols on the Physical and Chemical Stability and Digestive Properties of O/W Nanoemulsions

Hu Mengwei¹, Song Xiaoxiao¹, Dai Zhikai^{1,2}, Sun Haihui^{1,2}, Yin Junyi¹, Nie Shaoping^{1*}

¹State Key Laboratory of Food Science and Resources, China-Canada Joint Laboratory of Food Science and Technology (Nanchang), Key Laboratory of Bioactive Polysaccharides of Jiangxi Province, Nanchang University, Nanchang 330047

²Yichun Big Turtle Life Science Co., Ltd., Yichun 336000, Jiangxi

Abstract Phytosterols (PS) are water-insoluble and oil-insoluble, and the construction of oil-in-water (O/W)-type nanoemulsions is a common method to enhance their bioavailability and organoleptic qualities, while the stabilizing mechanism of O/W-type nanoemulsions by its own emulsification has not yet been received attention. In this study, phytosterol nanoemulsion (PSN) loaded with different mass fractions of phytosterols (0.1%, 0.5% and 0.9%) was firstly constructed, and the effects of PS concentration on oil-water interfacial tension, as well as microstructure, particle size, ζ -potential, storage stability, oxidative stability, and digestive properties of the emulsion were systematically investigated. The results showed that PS could reduce the oil-water interfacial tension and could form some crystals at the interface, which affected the physical and chemical stability of PSN; the particle sizes of the produced PSN ranged from 165.3 nm to 247.2 nm, and the ζ -potentials ranged from -24.3 mV to -28.4 mV, which increased gradually with the increase of the PS

concentration; the emulsions could maintain a good stability after being stored at 4 °C for 28 days at 0.1% and 0.5% PSN. However, the storage stability, oxidative stability and digestive properties of the emulsions were not affected by the concentration of PS. However, 0.9% PSN showed optimal kinetic stability under 60 °C storage conditions. In addition, the results of the accelerated oxidation test and digestion test showed that higher concentrations of PS could effectively inhibit lipid oxidation and the release of free fatty acids in emulsions (<31.41%). The results of this study may provide theoretical support for the precise development of PS functional foods or excipients.

Keywords phytosterols; nanoemulsions; stability; interfacial tension; *in vitro* digestion