

虫白蜡高级烷醇微乳液的制备及其在功能饮料中的应用

马金菊¹, 马李一¹, 李 凯¹, 张雯雯¹, 张玉荣², 杨茂栋³, 陈晓鸣¹, 张 弘^{1,*}

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业局特色森林资源工程技术研究中心, 云南 昆明 650224;

2. 湖南省林业科学院, 湖南 长沙 410000; 3. 芷江县华耘虫白蜡有限责任公司, 湖南 芷江 419100)

摘 要: 为解决虫白蜡高级烷醇不溶于水, 难应用于澄清稳定型功能饮料的瓶颈问题, 制备高负载量的高级烷醇微乳液, 获得其最佳乳化条件, 通过伪三元相图确定微乳区域, 评价其稳定性, 并将其作为功能性添加剂配制高级烷醇功能饮料。结果表明: 当复配乳化剂亲水亲油平衡值为10, 乳化温度为70~75 °C时, 得到各添加剂用量均在食品国家标准允许添加范围内的稳定澄清的高级烷醇微乳液; 微乳的离心、冷热循环和稀释稳定性良好, 室温贮藏65 d后依然稳定透明; 伪三元相图中微乳区域随着 K_m 值的减小而不断缩小; 微乳与其他辅料复配后可以制备成透明稳定的高级烷醇功能饮料。将虫白蜡高级烷醇制备成微乳, 有效解决了其不溶于水以及在饮料中稳定性差、极易上浮等问题, 为制备高品质、透明稳定的高级烷醇功能饮料提供了一条有效途径, 也为高级烷醇新产品的开发研究提供参考。

关键词: 高级烷醇; 微乳液; 伪三元相图; 功能饮料

Preparation of Microemulsion with Policosanol Derived from Insect Wax and Its Application in Functional Beverage

MA Jinju¹, MA Liyi¹, LI Kai¹, ZHANG Wenwen¹, ZHANG Yurong², YANG Maodong³, CHEN Xiaoming¹, ZHANG Hong^{1,*}

(1. Research Center of Engineering and Technology on Forest Resources with Characteristics, State Forestry Administration, Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, China;

2. Hunan Academy of Forestry, Changsha 410000, China; 3. Zhijiang Huayun Insect Wax Co. Ltd., Zhijiang 419100, China)

Abstract: The poor water solubility of policosanol hinders it from being applied in clear and stable functional beverages. To solve this bottleneck problem, a microemulsion with high loading of policosanol was prepared in this study. The optimum emulsification conditions were obtained. The microemulsion area was determined by constructing a pseudo-ternary-phase diagram and the stability was evaluated. The microemulsion was used as a functional ingredient in beverage. The results indicated that the microemulsion, prepared with an emulsifier mixture with a hydrophile-lipophile balance (HLB) value of 10 at emulsifying temperatures of 70–75 °C, was stable and transparent, in which the amount of each additive was within the limits of the national standards for food safety. The microemulsion was stable against centrifugation, alternating hot and cold cycles and dilution. It was stable and transparent for 65 days at room temperature. With the decrease of the K_m value, the microemulsion area in the pseudo-ternary-phase diagram decreased. A stable and transparent functional beverage was prepared based on the policosanol-loading microemulsion. The microemulsification of policosanol effectively improved its poor water solubility and stability in beverage, which provides a valid way of preparing high quality, transparent and stable functional beverage containing policosanol and lays the foundation for the development of new products.

Keywords: policosanol; microemulsion; pseudo-ternary phase diagram; functional beverage

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181028-321

中图分类号: TS275.4; TQ645.9; S899.1 文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2019) 12-0078-07

收稿日期: 2018-10-28

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (CAFYBB2018SY025)

第一作者简介: 马金菊 (1987—) (ORCID: 0000-0002-6612-0393), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为天然产物资源化学。

E-mail: majinju@163.com

*通信作者简介: 张弘 (1963—) (ORCID: 0000-0003-4220-6026), 男, 研究员, 博士, 研究方向为天然产物资源化学。

E-mail: kmzhong@163.com

引文格式:

马金菊, 马李一, 李凯, 等. 虫白蜡高级烷醇微乳液的制备及其在功能饮料中的应用[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 78-84. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181028-321. <http://www.spkx.net.cn>

MA Jinju, MA Liyi, LI Kai, et al. Preparation of microemulsion with policosanol derived from insect wax and its application in functional beverage[J]. Food Science, 2019, 40(12): 78-84. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20181028-321. <http://www.spkx.net.cn>

高级烷醇一般指含有20~36个碳原子的饱和直链一元醇, 在自然界中广泛存在于昆虫分泌物、植物的茎、叶、皮、籽壳、根等, 常以高级脂肪酸蜡酯的形式存在^[1-2], 具有重要的生理活性。其中, 二十六烷醇对神经元有一定的保护和营养作用, 可应用在神经疾病包括神经退化(如阿尔茨海默症)等方面的治疗^[3-4]。二十六烷醇与二十八烷醇协同使用, 可明显降低总胆固醇和低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)的含量, 提高高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)的含量, 调节HDL/LDL的比例, 还可抑制血栓形成和动脉粥样硬化, 降低冠心病发生率; 二十八烷醇还具有优良的抗疲劳功效, 可明显增强体力和耐力, 提高反应灵敏性, 可作为一种新型功能食品和营养补充品添加剂^[5-7]。三十烷醇是一种天然的植物生长调节剂^[5]。Alemán等^[8]发现小鼠以500 mg/kg的量口服高级烷醇长达12个月, 未表现出任何毒性, 证明高级烷醇非常安全; 有研究报道^[9-10]二十八烷醇的小鼠经口毒性LD₅₀值大于18 g/kg, 比食盐(LD₅₀值为3 g/kg)的安全性更高, 其小鼠骨髓微核实验、Ames实验和小鼠精子畸变实验等均呈阴性。1999年10月, 食品药品监督管理局公布的Dietary Supplement Sales Information中已将二十八烷醇列为天然植物来源的功能性食品添加剂^[11], 我国GB 16740—1997《保健(功能)食品通用标准》^[12]将二十八烷醇列入保健(功能)食品的功效成分之一, 2017年5月31日, 国家卫计委通过了将高级脂肪烷醇混合物添加至新资源食品中的审查并发布了公告^[13], 因此高级烷醇应用于食品领域具有广阔的前景。虫白蜡是由白蜡虫分泌的一种绿色天然产物^[14], 是我国特有的资源昆虫产品, 其中约含有88%~96%的高级脂肪酸酯, 用还原法或皂化法可制备高含量的高级烷醇^[15-16], 即虫白蜡高级烷醇。

高级烷醇熔点较高(72~85℃), 不溶于水, 微溶于部分有机溶剂, 因而大大限制了其应用范围^[17]。有研究^[18]将高级烷醇分散于糊精水溶液中制成不透明的高级烷醇分散液, 但稳定性不佳, 室温放置7 d便会分层, 限制其实际应用。有报道^[19-20]将二十八烷醇制成不透明乳状液, 虽可应用到某些食品领域, 但乳状液是热力学不稳定体系, 易分层, 一经稀释或与其他物质复配后极易破乳, 影响产品的感观和质量。微乳液是一种粒径在10~100 nm之间, 半透明或透明的均匀的热力学稳定体

系^[21]。目前, 微乳液主要作为药物载体, 而应用在食品领域的研究较少, 这主要是由于微乳液体系需要较大量的乳化剂, 其可食用性和安全性限制了微乳在食品领域的应用^[22]。目前, 将虫白蜡高级烷醇制备成微乳液应用于食品领域鲜见报道。基于此, 本实验选用GB 2760—2014《食品添加剂使用标准》^[23]允许使用的几种添加剂作为乳化剂和助乳化剂制备了高负载量的高级烷醇微乳原液, 并严格控制其用量在国家食品标准^[23]允许添加范围内, 当把微乳原液进一步应用于功能饮料等食品领域时, 其中乳化剂含量更微乎其微, 提升了食用安全性, 大大拓展了高级烷醇的应用范围。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

虫白蜡高级烷醇, 由本课题组将虫白蜡进行还原反应所得, 其主要成分为: 二十四烷醇(5.2%)、二十六烷醇(56.0%)、二十八烷醇(32.0%)、三十烷醇(4.0%)^[15]; 大豆油(食用级) 益海嘉里集团; 十聚甘油单油酸酯 湖北巨胜科技有限公司; 聚甘油蓖麻醇酯 上海佑创实业有限公司; 卵磷脂(来源于大豆) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 1,2-丙二醇、吐温-20、葡萄糖、氯化钠、氯化钾、抗坏血酸、VB₁(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

C-MAG HS7加热磁力搅拌器 德国IKA公司; BAS124S电子天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; Nanotracer Wave II Zeta电位及纳米粒度分析仪 美国Microtrac公司; TG16-WS台式高速离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.3 方法

1.3.1 虫白蜡高级烷醇金属残留检测

将虫白蜡进行还原反应得到虫白蜡高级烷醇, 并按国标^[24-26]对其中的金属残留(砷、铅、汞、镉、铝)进行检测。

1.3.2 高级烷醇微乳原液的制备

基于一定的预实验, 选用虫白蜡高级烷醇和大豆油为混合油相, 聚甘油蓖麻醇酯、吐温-20、卵磷脂为复配乳化剂, 1,2-丙二醇为助乳化剂, 在一定温度下,

将高级烷醇完全溶于大豆油,依次加入聚甘油蓖麻醇酯、吐温-20、卵磷脂、1,2-丙二醇,完全溶解后,搅拌乳化15 min,逐滴加入去离子水搅拌乳化4 h,后继续加水转相,搅拌乳化一段时间后冷却至室温,即可得到O/W型高级烷醇微乳原液。固定复配乳化剂的总量和乳化温度、时间,筛选出最佳的乳化剂亲水亲油平衡(hydrophilic lipophilic balance, HLB)值(6~12)。

1.3.3 高级烷醇微乳原液的粒径测定

利用Nanotracer Wave II Zeta电位及纳米粒度分析仪对微乳原液的粒径、Zeta电位和聚合物分散指数(polymer dispersity index, PDI)(根据ISO 22412:2008(E)计算)进行测定。

1.3.4 乳化温度对高级烷醇微乳原液制备的影响

据1.3.2节方法,将高级烷醇完全溶于大豆油后,分别于50、55、60、65、70、75、80、85℃加入混合乳化剂进行乳化实验,依据得到的乳液表观形态、粒径大小等确定最佳乳化温度。

1.3.5 高级烷醇微乳原液的稳定性分析

1.3.5.1 离心稳定性测定

按GB/T 11543—2008《表面活性剂中高黏度乳液的特性测试及其乳化能力的评定方法》^[27]将10 mL高级烷醇微乳液注入离心分离管中,于4 000 r/min离心15 min,观察是否分层,离心稳定性分为6个等级(1:良好的均匀性;2:初步可见稠度不均;3:向不均匀清晰转化;4:初步可见相的分离;5:明显可见相的分离;6:两相完全分离)。

1.3.5.2 冷热循环稳定性测定

按GB/T 11543—2008^[27]将高级烷醇微乳液装入100 mL样品瓶中,在(-20±2)℃条件下冷冻24 h,再在(25±2)℃静置8 h,作为一次冷热循环,观察微乳液是否出现破乳、凝结等现象,按前述的6个等级进行目测评定;然后于4 000 r/min离心15 min,完成一次冷热交替-离心循环,观察微乳液状态,进行等级评定,反复循环5次。

1.3.5.3 贮藏稳定性测定

将高级烷醇微乳液装入密封容器中,室温静置不同时间后,按GB/T 11543—2008^[27]对微乳液进行贮藏稳定性的测定,按前述的6个等级进行目测评定并测定其粒径。

1.3.5.4 稀释稳定性测定

将制备好的高级烷醇微乳液分别用去离子水稀释2、5、10倍,然后于4 000 r/min离心15 min,目测评定微乳液的稀释稳定性。

1.3.6 伪三元相图的绘制

依据1.3.2节的实验结果,分别绘制 K_m (乳化剂与助乳化剂质量比)值为1:1、1:2、2:1的伪三元相图。

每个 K_m 对应的油相与混合乳化剂(包含复配乳化剂和助乳化剂)质量之比均为油相:混乳=1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1。固定助乳化剂用量为1.000 0 g。在一定温度条件下,边搅拌边逐滴加水,充分搅拌乳化达到相平衡,以浑浊和澄清为指标,当外观由浑浊变为澄清时,记录临界状态时加入的水量,同时测定其粒径(<50 nm)以辅助判断临界点,绘制伪三元相图。

1.3.7 高级烷醇微乳原液在功能饮料中的应用

将高级烷醇微乳原液作为功能性原料,与葡萄糖、氯化钠、氯化钾、抗坏血酸、VB₁、纯水等按比例复配,灭菌,配制澄清透明的高级烷醇功能饮料,并按照1.3.5节所述方法对高级烷醇功能饮料进行离心稳定性、冷热循环稳定性和贮藏稳定性测定。

2 结果与分析

2.1 虫白蜡高级烷醇中金属残留

虫白蜡高级烷醇是由虫白蜡经氢化铝锂还原反应得到的^[15],欲将其微乳化后作为功能性原料应用于食品中,故对其中的砷、铅、汞、镉、铝等金属残留进行检测,结果如表1所示,虫白蜡高级烷醇中砷、铅、汞、镉、铝的残留量均在国家标准^[23-24,28]规定的最大限量范围内,说明虫白蜡高级烷醇符合国标对食品添加剂的要求,可微乳化后应用于功能饮料。

表1 虫白蜡高级烷醇中的金属残留
Table 1 Concentrations of residual metals in policosan-1-ol derived from insect wax

残留金属	虫白蜡高级烷醇中的金属残留量/(mg/kg)	国标中允许的最大添加量/(mg/kg)
砷	0.054	1.000 ^[24]
铅	<0.100	2.000 ^[24]
汞	<0.010	0.300 ^[24]
镉	<0.050	0.050~2.000 ^[28]
铝	31.700	100.000 ^[23]

2.2 乳化剂HLB值的选择

选择合适的乳化剂组分及适当的比例是食品微乳制备时面临的关键问题,乳化虫白蜡高级烷醇形成O/W型乳状液所需的乳化剂体系的HLB值偏高,根据复合凝聚膜理论^[29-30],使用混合型乳化剂可以调节HLB值,还可提高界面膜的强度和紧密性,多种乳化剂可以混合组成界面膜,也可处于界面的两边。通过反复筛选与调整,课题组选择GB 2760—2014^[23]允许添加到食品中的聚甘油蓖麻醇酯、吐温-20、卵磷脂作为复配乳化剂,并筛选合适的乳化剂HLB值,然后对制得的微乳液进行粒径分析,如表2所示,HLB值为10时微乳液原液的平均粒径最小,且粒径分布均匀(图1),确定HLB值10为最

佳,得到的微乳液原液中高级烷醇、大豆油、聚甘油蓖麻醇酯、吐温-20、1,2-丙二醇、卵磷脂、水质量比为1.00:2.00:2.25:2.25:6.00:1.50:439.40。此时,得到的高级烷醇微乳液粒径为 (12.43 ± 0.12) nm, Zeta电位为 (56.40 ± 0.33) mV, PDI为 0.10 ± 0.04 。Zeta电位是评判分散液稳定性的有效指标之一,理论上来说Zeta电位的绝对值大于30 mV说明分散液的稳定性较好^[31]。可见,此条件下制备的高级烷醇微乳液稳定性良好。高级烷醇微乳液原液中各乳化剂和助乳化剂的用量严格控制在国标^[23]允许添加范围内(表3),符合国家标准,其中,卵磷脂是一种生物相容性好、安全可靠的两性离子乳化剂,美国食品乳化剂的化学分类和条例规定不限定卵磷脂的每日允许摄入量^[32],而且,卵磷脂还具有降血脂、抗疲劳、提高机体免疫力等作用^[33]。原液中,高级烷醇的负载量为0.22%,也可按实际需要,适当减少加入的水量或参照微乳区域制备满足需求的高级烷醇微乳液;而涂志红等^[9]制备的微乳液最多只能负载0.10%~0.15%的二十八烷醇,否则就会出现上浮、沉淀等现象。本实验制备的微乳液原液中高级烷醇的负载量提高了1.5~2.2倍甚至更高,且保持着良好的稳定性,为高级烷醇在有更高含量需求的食品、医药、保健品等领域的应用提供参考依据。

表2 复配乳化剂HLB值的选择
Table 2 Choice of HLB value of emulsifier mixtures

指标	乳化剂HLB值						
	6	7	8	9	10	11	12
平均粒径/nm	837.01±0.26	819.00±0.35	495.16±0.48	87.26±0.06	12.43±0.12	18.83±0.10	192.92±0.13
Zeta电位/mV	11.42±1.21	16.18±1.13	21.10±0.77	35.94±1.51	56.40±0.33	48.11±0.71	18.77±1.23
PDI	29.78±5.46	25.14±6.47	11.23±3.01	0.31±0.10	0.10±0.04	0.15±0.09	0.33±0.10

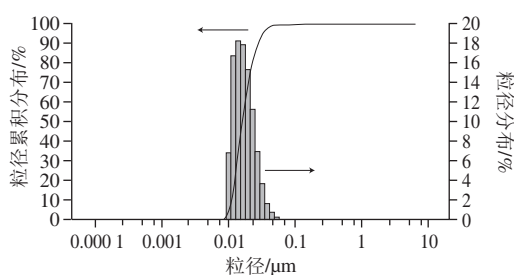


图1 高级烷醇微乳液粒径分布

Fig. 1 Particle size distribution map of microemulsion with policosanol

表3 高级烷醇微乳液原液中各乳化剂和助乳化剂的添加量
Table 3 Addition levels of emulsifiers and co-emulsifiers in microemulsion with policosanol

添加剂	国标规定的最大限量/% ^[23]	微乳液原液中添加量/%
聚甘油蓖麻醇酯	0.50	<0.10
吐温-20	0.05	<0.05
卵磷脂	按生产需要使用	<0.50
丙二醇	0.15	<0.10

2.3 乳化温度对高级烷醇微乳液制备的影响

固定搅拌速度,考察乳化温度(50~85℃)对微乳液制备的影响,从表4可以看出,50、55℃条件下高级烷醇乳化很不完全,静置后上浮分层,粒径分布不均匀(12.0 nm~9.0 μm),Zeta电位很低;60、65℃条件下得到未分层的高级烷醇乳液,外观为乳白色、不透明,平均粒径约为866.57 nm;当乳化温度为70~85℃时即可制备得到透明略发蓝光、稳定、平均粒径约为12.33 nm的高级烷醇微乳液。这可能是由于乳化温度升高时分子运动加快,导致水相、混合乳化剂和油相三相间的互相渗透能力增强,油相和水相之间的界面张力减小,更有利于形成微乳。然而,综合考虑到虫白蜡高级烷醇的熔点(72~82℃),卵磷脂在高温下易变性失活以及热动力学成本,确定最佳的乳化温度为70~75℃。

表4 乳化温度对高级烷醇微乳液粒径的影响
Table 4 Effect of emulsifying temperature on the particle size of microemulsion with policosanol

指标	乳化温度/℃							
	50	55	60	65	70	75	80	85
平均粒径/nm	548.01±0.61	499.00±0.45	896.06±0.75	837.07±0.81	12.71±0.14	11.83±0.21	13.92±0.15	10.85±0.09
Zeta电位/mV	0.81±0.42	0.90±0.54	11.88±0.64	17.51±1.17	48.23±0.61	50.12±0.43	49.77±0.95	51.40±0.72
PDI	31.05±6.3	40.57±9.4	23.14±6.10	15.33±5.41	0.10±0.07	0.09±0.08	0.11±0.08	0.09±0.07

2.4 高级烷醇微乳液的稳定性

对制备的高级烷醇微乳液原液进行离心稳定性、冷热循环稳定性、贮藏稳定性和稀释稳定性测定。高级烷醇微乳液原液于4 000 r/min离心15 min后,平均粒径为 (15.42 ± 0.35) nm, Zeta电位为 (48.33 ± 0.81) mV, PDI为 0.11 ± 0.04 ,外观依然透明、无上浮、无沉淀,仍具有良好的均一性,离心稳定性达到1级。在GB/T 11543—2008^[27]要求的冷热循环稳定性基础上,进一步地测定微乳液原液完成每一次冷热循环后的离心稳定性,结果如表5所示,制备的高级烷醇微乳液原液经5次冷热循环后,平均粒径为 (16.63 ± 0.86) nm, Zeta电位为 (40.10 ± 1.14) mV, PDI为 0.12 ± 0.08 ,仍具有良好的均匀性;高级烷醇微乳液原液经5次冷热循环及离心后,平均粒径为 (20.68 ± 0.54) nm, Zeta电位为 (37.55 ± 1.50) mV, PDI为 0.15 ± 0.07 ,仍然保持相当好的稳定性。

表5 高级烷醇微乳液原液的冷热循环稳定性等级评定
Table 5 Grading of the cold-heat stability of microemulsion with policosanol

循环次数	冷热循环稳定性	冷热交替-离心稳定性
0	1	1
1	1	1
2	1	1
3	1	1
4	1	1
5	1	1

将制备的高级烷醇微乳原液装入密闭容器中, 室温静置65 d, 期间测定其粒径并目测评定其稳定性, 结果如表6所示, 微乳原液静置65 d后, 从外观上看依然透明略发蓝光, 无上浮, 无沉淀, 平均粒径、Zeta电位和PDI无明显变化, 说明高级烷醇微乳原液贮藏稳定性良好。将制备好的高级烷醇微乳原液分别用去离子水稀释2、5、10、50倍和100倍后, 粒径分别为 (12.06 ± 0.35) 、 (18.24 ± 0.46) 、 (15.10 ± 0.18) 、 (19.53 ± 0.11) 、 (28.12 ± 1.01) nm, Zeta电位分别为 (41.01 ± 0.61) 、 (43.40 ± 0.72) 、 (36.14 ± 1.13) 、 (40.87 ± 1.54) 、 (38.80 ± 1.92) mV, PDI分别为 0.12 ± 0.08 、 0.10 ± 0.04 、 0.11 ± 0.07 、 0.15 ± 0.04 、 0.11 ± 0.06 , 微乳液依然透明、无上浮、无沉淀, 没有出现破乳、絮凝等现象, 然后于4 000 r/min离心15 min, 依然具有良好的离心稳定性, 说明高级烷醇微乳液具有良好的稀释稳定性, 这为后续高级烷醇的产品开发提供了良好的基础。

表6 高级烷醇微乳原液的贮藏稳定性
Table 6 Storage stability of microemulsion with policosanol

指标	第1天	第12天	第23天	第44天	第65天
平均粒径/nm	12.09 ± 0.35	10.52 ± 0.26	11.51 ± 0.15	12.19 ± 0.13	12.31 ± 0.10
Zeta电位/mV	50.02 ± 0.51	49.33 ± 0.28	50.17 ± 0.79	45.77 ± 0.90	41.80 ± 1.15
PDI	0.08 ± 0.04	0.10 ± 0.08	0.11 ± 0.07	0.14 ± 0.09	0.15 ± 0.10
外观	透明, 无上浮, 无沉淀	透明, 无上浮, 无沉淀	透明, 无上浮, 无沉淀	透明, 无上浮, 无沉淀	透明, 无上浮, 无沉淀

2.5 伪三元相图分析

伪三元相图能够反映出不同组分都发生变化时所导致的相态变化, 确定微乳区。微乳的形成需要有恰当的助乳化剂参与, 且乳化剂与助乳化剂的比例会对微乳区域的形成及大小产生重大影响^[34-35], 基于一定的预实验, 发现1,2-丙二醇更有助于高级烷醇微乳液的形成, 根据微乳双重膜理论和负界面张力理论^[29], 亲水性较强的1,2-丙二醇作为助乳化剂, 可与聚甘油蓖麻醇酯、吐温-20、卵磷脂复配乳化剂协同作用形成混合膜, 使界面张力进一步下降至超低, 以致产生瞬间负界面张力, 体系自发扩张界面, 增加界面膜的流动性, 促使微乳液的形成和稳定性的增强。虫白蜡高级烷醇由于其较高的HLB值极难被乳化为微乳液, 在不同的 K_m 值下微乳区域都较小, 当 K_m 为2:1时, 油相:混乳为1:9~4:6可得到高级烷醇微乳液, 油相:混乳为5:5~9:1不能得到微乳液; 当 K_m 为1:2时, 油相:混乳为1:9~2:8才可得到高级烷醇微乳液, 即, 随着 K_m 值的减小, 微乳区域不断减小(图2)。这可能是由于, 虽然1,2-丙二醇会在复配乳化剂膜、水相和油相三相之间进行分配, 且只有当1,2-丙二醇在水中达到一定浓度时, 才会有足量的1,2-丙二醇分配

到乳化剂膜上, 但是, 随着 K_m 值的减小, 过量的1,2-丙二醇不仅会与复配乳化剂中的极性头缔合, 使膜变得松散, 另一方面还会使混合膜的强度和稳定性降低, 反而不利于微乳的形成。

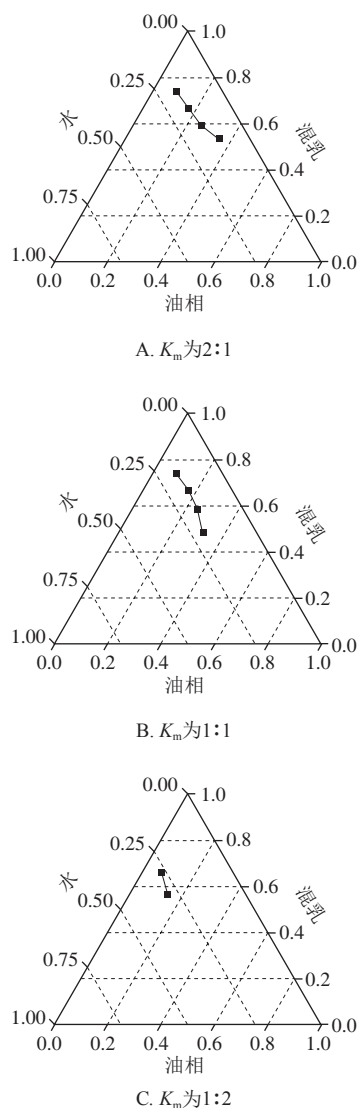


图2 高级烷醇微乳的伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagrams of microemulsion with policosanol

2.6 高级烷醇功能饮料的配制

将前面制备的高级烷醇微乳原液与葡萄糖、氯化钠、氯化钾、氯化镁、柠檬酸、抗坏血酸、VB₁、VB₂、纯水等按比例复配, 灭菌, 配制澄清透明的高级烷醇功能饮料, 从口感、稳定性、色泽等方面综合评价, 确定了500 mL高级烷醇微乳功能饮料的配方, 如表7所示。配制的高级烷醇功能饮料于4 000 r/min离心30 min, 仍然保持澄清透明、无分层、无上浮、无沉淀; 配制的高级烷醇功能饮料经5次冷热循环-离心后, 仍然保持着相当好的稳定性; 将高级烷醇功能饮料室温贮藏45 d, 依然澄

清透明, 无上浮、无沉淀。前面制备的高级烷醇微乳原液中高级烷醇的负载量为0.22%, 根据日本油脂株式会社的报道, 通常每人每天口服0.2~0.8 mg高级烷醇即可达到增强体力和耐力、消除疲劳的目的^[36], 因此配制一瓶500 mL的高级烷醇运动饮料只需要0.5mL高级烷醇微乳原液即可满足消除疲劳的需求。此外, 有大量的研究表明^[1,5,37-40], 每天摄入5~20 mg的高级烷醇后, 血液中总胆固醇被有效降低了17%~21%, LDL降低了21%~29%, 同时, HDL升高了8%~15%, 因此, 每天喝5~10 mL高级烷醇负载量为0.22%的微乳原液即可达到降低胆固醇等保健功效。

表 7 虫白蜡高级烷醇微乳功能饮料配方
Table 7 Ingredients of functional beverage based on microemulsion with policosanol

成分	用量
高级烷醇微乳原液 (0.22%)	0.500 mL
葡萄糖	30.000 g
氯化钠	0.350 g
氯化钾	0.180 g
柠檬酸	0.500 g
VC	0.200 g
VB ₁	0.001 g
VB ₂	0.001 g
水	定容至500 mL

3 结 论

本实验制备出高负载量的虫白蜡高级烷醇微乳原液, 确定最佳乳化温度为70~75 °C, 此时所得微乳粒径约为12.43 nm, 分布均匀, Zeta电位约为56.40 mV, 微乳原液中各乳化剂和助乳化剂的用量严格控制在食品国家标准允许添加范围内。微乳原液的离心稳定性、冷热循环稳定性等均为1级; 微乳原液室温静置65 d后, 依然透明, 无上浮和沉淀, 平均粒径无变化, 具有良好的贮藏稳定性; 微乳原液具有良好的稀释稳定性, 分别稀释2、5、10、50 倍和100 倍后依然透明稳定、无破乳现象。虫白蜡高级烷醇微乳的微乳区域随着 K_m 值的减小而不断缩小。本实验制备的微乳简单易行, 有效解决了虫白蜡高级烷醇不溶于水、分散性较差等问题, 作为新型功能原料所制备的功能饮料澄清透明、稳定性良好且工艺简单, 此外, 高级烷醇微乳还可应用于其他保健品、药品制剂等产品的开发研究, 具有广阔的市场前景。

参考文献:

[1] SIBEL I, NURHAN T D. Policosanol contents and compositions of wheat varieties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(14): 5583-5586. DOI:10.1021/jf050508r.
[2] 马李一, 张重权, 王有琼. 气相色谱分析测定高级烷醇的方法研究[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 288-291.

[3] MOOSBRUGGER I, BISCHOFF P, BECK J P, et al. Studies on the immunological effects of fatty alcohols: I. Effects of *n*-hexacosanol on murine macrophages in culture[J]. International Journal of Immunopharmacology, 1992, 14(2): 293-302. DOI:10.1016/0192-0561(92)90042-J.
[4] JACQUES B, PATRICK J K, CARL W C. Peripheral administration of a long-chain fatty alcohol promotes septal cholinergic neurons survival after fimbria-fornix transection[J]. Brain Research, 1990, 518(1): 295-298. DOI:10.1016/0006-8993(90)90985-K.
[5] 段琼芬, 马李一, 郑华, 等. 几种高级烷醇的研究概述[J]. 林产化工通讯, 2005, 39(2): 42-47.
[6] SATHYA V R, NIRMAL U, JACKSON O L, et al. Policosanol, α -tocopherol, and moisture content as a function of timing of harvest of switchgrass (*Panicum virgatum* L.)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(9): 3500-3505. DOI:10.1021/jf803846e.
[7] JAE K K, SOO Y P, JONG K N, et al. Metabolite profiling based on lipophilic compounds for quality assessment of perilla (*Perilla frutescens*) cultivars[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(9): 2257-2263. DOI:10.1021/jf204977x.
[8] ALEMÁN C L, MÁS R, HERNÁNDEZ C. A 12-month study of policosanols oral toxicity in Sprague Dawley rats[J]. Toxicology Letters, 1994, 70: 77-87. DOI:10.1016/0378-4274(94)90147-3.
[9] 涂志红, 文震, 刘佳欣. 二十八烷醇微乳液的制备及其在运动饮料中的应用[J]. 中国食品学报, 2013, 13(9): 108-112.
[10] 孙赞, 张慧颖, 饶高雄. 天然二十八烷醇的研究与开发进展[J]. 云南中医学院学报, 2006, 29(5): 52-54.
[11] Food & Drug Administration. Dietary supplement sales information: FDA 223-96-2290-1999[S]. US: Food & Drug Administration, 1999.
[12] 全国食品工业标准化技术委员会. 保健(功能)食品通用标准: GB 16740—1997[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997: 2.
[13] 国家卫生和计划生育委员会. 关于乳木果油等10 种新食品原料的公告: 2017年第7号[B]. 2017-05-31.
[14] YANG P, ZHU J Y, GONG Z J, et al. Transcriptome analysis of the Chinese white wax scale *Ericerus pela* with focus on genes involved in wax biosynthesis[J]. PLoS ONE, 2012, 7(4): e35719-e35728. DOI:10.1371/journal.pone.0035719.
[15] 王有琼, 马李一, 张重权, 等. 虫白蜡还原法制备高级烷醇混合物研究[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(5): 6-10.
[16] 马李一, 王有琼, 张重权, 等. 虫白蜡制备高级烷醇工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(2): 179-181.
[17] 陈金婷, 邢薇薇. 高级烷醇的研究进展[J]. 天津化工, 2012, 26(1): 8-10.
[18] KIM J Y, LEE J H, JEONG D Y, et al. Preparation and characterization of aqueous dispersions of dextrin and policosanols composites[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 121: 140-146. DOI:10.1016/j.carbpol.2014.12.050.
[19] 张泽生, 刘薇. 二十八烷醇乳液稳定性的研究及其抗疲劳运动饮料的开发[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(3): 65-69.
[20] 刘元法, 王兴国, 金青哲. 二十八烷醇O/W乳液稳定性的研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(10): 55-57.
[21] 陈梦洁, 王道源, 李志勇. 基于食用油为连续相的茶多酚反相微乳液的制备[J]. 食品科学, 2018, 39(6): 39-44. DOI:10.7506/spkx1002-6630201806007.
[22] RAO J J, MCCLEMENTS D J. Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: fabrication from sucrose monopalmitate & lemon oil[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(6): 1413-1423. DOI:10.1016/j.foodhyd.2011.02.004.
[23] 国家卫生和计划生育委员会. 食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 9-116.

- [24] 国家卫生和计划生育委员会. 保健食品: GB 16740—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 1-4.
- [25] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中镉的测定: GB 5009.15—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 3-6.
- [26] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品中铝的测定: GB 5009.182—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 3-9.
- [27] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 表面活性剂中高黏度乳液的特性测试及其乳化能力的评定方法: GB/T 11543—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-7.
- [28] 卫生部. 食品中污染物限量: GB 2762—2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012: 6-7.
- [29] 王军. 乳化与微乳化技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 31-51.
- [30] 梁新丽, 赵国威, 刘红宁. 静脉注射用载药脂肪乳的应用及研究近况[J]. 世界中医药, 2015, 10(3): 327-330.
- [31] HOYOS-LEYVA J, BELLO-PÉREZ L A, AGAMA-ACEVEDO E, et al. Potential of taro starch spherical aggregates as wall material for spray drying microencapsulation: functional, physical and thermal properties[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 237-244. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.093.
- [32] EL-NOKALY M, CORMELL D. Microemulsion and emulsions in foods[M]. Washington: American Chemical Society, 1991: 7-24.
- [33] 方嘉坚, 陈龙. 大豆卵磷脂的提纯[J]. 食品科学, 2000, 21(3): 25-27.
- [34] 吴顺芹, 李三鸣, 赵国斌. 微乳及其在药剂学中的应用[J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(5): 381-385.
- [35] 刘跟新, 张继瑜, 吴培星. 不同表面活性剂对药用微乳形成的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(3): 177-180.
- [36] 加藤茂明. 二十八烷醇对脂肪代谢的影响[J]. 日本农艺化学会志, 1990, 65(3): 589-591.
- [37] TORRES O, AGRAMONTE A J, ILLNAIT J, et al. Treatment of hypercholesterolemia in NIDDM with policosanols[J]. Diabetes Care, 1995, 18: 393-397. DOI:10.2337/diacare.18.3.393.
- [38] IOANNA G B, HEINER K B. Policosanol: clinical pharmacology and therapeutic significance of a new lipid-lowering agent[J]. American Heart Journal, 2002, 143(2): 356-365. DOI:10.1067/mhj.2002.119997.
- [39] GLADYS C, LEONE T, MIGUEL C, et al. Effects of policosanols in hypertensive patients with type II hypercholesterolemia[J]. Current Therapeutic Research, 1996, 57(9): 691-699. DOI:10.1016/S0011-393X(96)80074-9.
- [40] ARRUZAZABALA M L, CARBAJAL D, MAS R, et al. Effects of policosanols on platelet aggregation in rats[J]. Thrombosis Research, 1993, 69(3): 321-327. DOI:10.1016/0049-3848(93)90030-R.