

高压微射流均质对姜黄素纳米乳液稳定性的影响

伍敏晖 王 磊 何 梅*

(北京市营养源研究所 北京 100069)

摘要 本研究目的是通过高压微射流均质建立 4 种(蛋白质类、多糖类、小分子合成乳化剂、磷脂类)稳定的姜黄素乳液运载体系。以粒径为考察指标,采用 Lumisizer 稳定性分析仪研究不同均质压力、均质次数、乳化剂浓度对姜黄素乳液稳定性的影响。结果显示:4 种乳化剂中吐温 80 对乳液的粒径影响最大,乳清蛋白次之,然后为卵磷脂和阿拉伯胶。当制备稳定的姜黄素乳液体系时,吐温 80、乳清蛋白、卵磷脂和阿拉伯胶所需的均质压力分别为 40,60,40 MPa 和 20 MPa;均质次数分别为 6,4,4 次和 2 次;质量分数分别为 2%,2%,4%和 4%。本文筛选的姜黄素乳液运载体系可广泛应用于各类姜黄素的功能食品及医药品中。

关键词 高压微射流;姜黄素;乳液;粒径;稳定性

文章编号 1009-7848(2018)05-0051-07 doi: 10.16429/j.1009-7848.2018.05.007

姜黄素(curcumin,二阿魏酰基甲烷),一种从姜黄根茎中获得的天然黄色色素,约占总姜黄的 4%^[1]。姜黄素独特的风味和颜色,被广泛作为香料或食品着色剂等在国内使用^[2]。研究发现其具有抗氧化、抗炎、护肝、抗癌和抗肿瘤等多种生物和药理活性,已成为国内外研究热点^[3-4]。然而其在碱性和光照条件下易分解,稳定性及水溶性差,纯水中的溶解度约为 11ng/mL^[5]。此外,直接口服姜黄素后几乎都以粪便和尿液形式被排泄出去,仅有少量被人体吸收,严重影响其在功能性食品和医药品中的应用^[6]。如何提高姜黄素的生物利用率、稳定性与水溶性是目前的研究重点及难点。最近研究表明,将一些脂溶性的,具有生物活性的化合物植入运载体系中,如制备姜黄素纳米乳液^[7],姜黄素磷脂复合物^[8],姜黄素多糖复合物等^[9],姜黄素经处理,其液滴尺寸较小,对姜黄素起到保护作用,大大提高了其稳定性及水溶性等^[12]。

目前,纳米乳液的制备方法大体可分为低能和高能两种乳化法。其中高能乳化法常借用均质机(高压均质机、微射流均质机)匀浆、剪切搅拌、超声等方法制备纳米乳液,然而低能乳化法主要包括相转变温度法、相转变组合法、微乳液稀释法

等^[10]。由于高压微射流具有最短时间对乳液体系进行高速撞击、剪切、气蚀等特点,因此可作为形成均一、稳定及超精细流体的主要方法,其中类型、均质条件是影响乳液理化性质和稳定性的主要因素^[11-12]。本试验中采用高压微射流制备水包油(油/水)型姜黄素纳米乳液,研究均质条件、乳化剂类型和浓度对乳液粒径及稳定性的影响,为制备均一、稳定的姜黄素纳米乳液,以及在强化食品功能因子方面提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

主要材料:姜黄素(货号 C1386)、吐温 80(货号 P1754)、阿拉伯胶(货号 G9752)3 种乳化剂, sigma aldrich 公司;乳清蛋白(WPC-80),恒天然集团;卵磷脂(大豆),Amresco 公司,MCT(中链甘油三酸酯),上海东土化工进出口有限公司;其它试剂均为国产分析纯级。

主要仪器:M133/1281 高速分散器(T_701 FBT10P),IKA 公司;微射流均质机(M-110P),美国 MFIC;激光粒度仪(Zetasizer Nano-ZS90),英国 Malvern 公司;德国 LUM 分散体系分析仪(LUMiSizer611)。

1.2 试验方法

1.2.1 姜黄素纳米乳液的制备 称取 0.04 g 姜黄

收稿日期:2017-05-10

作者简介:伍敏晖,男,1988 年出生,硕士,工程师

通讯作者:何梅 E-mail: 1005527305@qq.com

素粉末,将其加入热 MCT(10 mL, 80 °C)中,磁力搅拌至完全溶解,形成油相。称取一定量的乳化剂(吐温 80、卵磷脂、乳清蛋白和阿拉伯胶)分别溶解于 90 mL 磷酸盐缓冲溶液(10 mmol/L, pH 7)中,形成水相。将油相缓慢滴加到水相中并高速分散(4 kW, 4 min)得到粗乳液,然后将粗乳液通过微射流均质机(不同的均质条件)获得精细乳液,将其立即冷却至室温备用^[13]。

1.2.2 姜黄素乳液平均粒径的测定 姜黄素乳液的平均粒径采用激光粒度仪测定。上机检测前将细乳液用 10 nmol/L 磷酸盐缓冲溶液(pH7.0)稀释至 0.005%,所测样品均为新鲜配制^[16]。为减小测量误差,所有测量均进行 3 次,然后取平均值。

1.2.3 姜黄素乳液物理稳定性快速分析 用 Lumisizer 稳定性分析仪测定乳液的稳定性。采用现有分析模式(Front tracking)确定合适的均质条件、乳化剂浓度。取乳状液 1.8 mL,缓慢注射至样品试管底部(试管壁上禁止有残留和气泡),温度设定为 25 °C,离心转速 4 000 r/min,每 30 s 记录 1 次样品的透射率特征线,共 255 次^[14]。

2 结果与讨论

2.1 4 种乳化剂对姜黄素乳液物化性能的影响

随着乳化剂浓度的增大,表面张力不断下降,由于乳化剂浓度达到一定值后,乳化剂大分子会在水溶液中形成球状和棒状的胶团,形成胶团的浓度即临界胶团浓度,因此选择合适的乳化剂浓度非常重要^[17]。

从图 1 可以看出,4 种乳化剂在相同均质条件(均质压力 60 MPa, 3 次)下,随着乳化剂添加量的增大(1%, 2%, 3%, 4%, 5%),乳液粒径逐渐减小,之后趋势平缓。其中小分子类合成乳化剂(吐温 80)与蛋白质类(乳清蛋白)对粒径的影响大于多糖类(阿拉伯胶)和磷脂类(卵磷脂),乳化剂类型对乳液粒径的影响较大,可认为乳化剂是影响乳液粒径的主要因素,这与乳化剂能否在油水界面形成致密乳化层,进而迅速降低界面张力,达到较好乳化效果有关^[15]。

图 1 显示当吐温 80 和乳清蛋白的添加量于 2%左右时,乳液粒径大小基本保持不变,维持在 169 nm 与 226 nm 左右。选此值作为后续试验添加

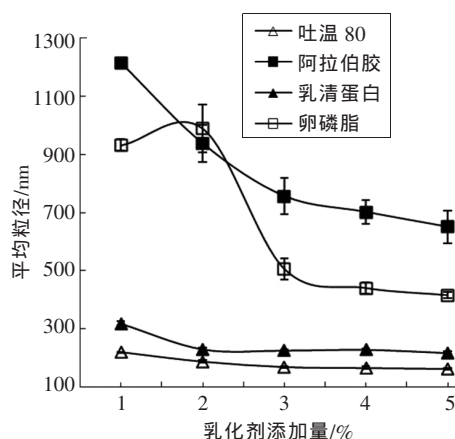


图 1 乳化剂添加量乳液粒径的影响

Fig.1 Effect of emulsifier concentration on the mean particle size of the emulsion

量。阿拉伯胶的质量分数在 4%时乳液粒径最小(650 nm)。当卵磷脂的添加量到 3%时,粒径减小趋势不太明显,粒径为 415 nm。选用 4%与 3%作为阿拉伯胶和卵磷脂后续研究的添加量。

2.2 均质条件对姜黄素乳液粒径、物化性能的影响

从图 2a 看,4 种乳液的平均粒径与均质压力具有一定的相关性。随着均质压力的增大,剪切力与紊流作用力不断增大,4 种乳液的平均粒径逐渐减小,之后趋于平缓。4 种乳化剂制备的粗乳液在均质压力从 10 MPa 增至 40 MPa 时,其粒径减小趋势比较明显。均质压力增大,能耗随之增大,导致温度升高,破坏物质的结构,需综合考虑选择最适压强。4 种粗乳液的均质压力从 10 MPa 增到 80 MPa 时,阿拉伯胶乳液的粒径从 834 nm 降至 600 nm,当压力超过 40 MPa 后粒径基本保持不变,故选此压力做后续试验。卵磷脂乳液的粒径从 362 nm 降至 196 nm,且一直保持减小趋势,这可能与高温、高压下卵磷脂不稳定,进而发生结构变化有关。选择 40 MPa 为其合适压力。乳清蛋白和吐温 80 乳液的粒径分别降至 225 nm 和 130 nm,压力过高可能会引起蛋白变性。综合考虑采用 40 MPa 作为乳清蛋白乳液的均质压力,60 MPa 作为吐温 80 的均质压力。

从图 2b 可看出,4 种乳液的平均粒径随着均质次数的增加,乳液平均粒径减小,之后趋势变小。随着均质次数的增加,乳液粒子之直径(粒径)

分布均匀,对乳液的稳定性有一定的影响。阿拉伯胶乳液在均质压力为 40 MPa,添加量为 4%,均质两次后粒径基本保持在 570 nm 左右。选最适均质次数为 2。卵磷脂在均质压力为 40 MPa,添加量为 3%时,随着均质次数的增加其粒径减小,然而均质 6 次后,粒径减小趋势增大,可能与其结构变化

有关。最终选均质 6 次做后续研究。乳清蛋白则在均质压力 40 MPa,添加量为 2%,均质 6 次时粒径最小(196 nm)。最终选其均质 6 次。吐温 80 在均质压力 60 MPa,添加量 2%,均质超过 6 次后,粒径虽有减小但不明显。综合考虑能耗及时间,选均质 6 次。

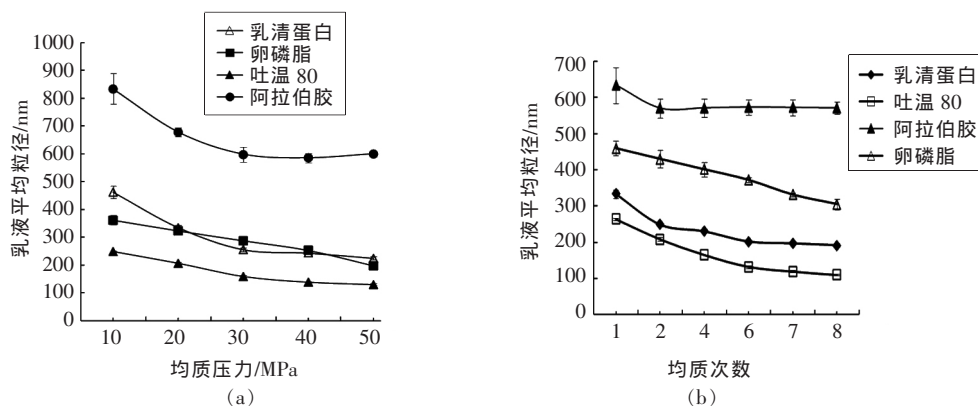


图 2 均质条件对乳液平均粒径的影响

Fig.2 Effect of homogeneous on the mean particle size of the emulsion

2.3 均质条件对姜黄素乳液稳定性的影响

采用 Lumisizer 稳定性分析仪,通过离心加速沉降、悬浮的方法使溶液分层。因溶液中粒子在不同时间会有所移动,进而造成对应位置的光透射强度发生变化,故将每个位置的光强度值连接起来,得到 profile 曲线。随着时间的变化,可得到不同的 profile,通过每条曲线之间的差异表征出稳定性的好坏^[16]。采用 Front tracking 的分析方法分析曲线,能更直观地描述乳液的稳定性。斜率图(正斜率代表沉降,负斜率代表悬浮)见图 3a 至图 6d,斜率绝对值越大越不稳定。图 3a,4a,5a,6a 代表不同均质压力(10,20,40,60,80 MPa)对乳液稳定性的影响,图 3b,4b,5b,6b 均为不同均质次数(1,2,4,6,8 次)对乳液稳定性的影响。

图 3a 为乳清蛋白的添加量 2%,均质次数 3 次时,不同均质压力下所得斜率值 A-E(-8.511, -6.275, -4.435, -4.120, -3.920)。选 60 MPa 作为其合适压强值。图 3b 为乳清蛋白乳液在均质压力为 60 MPa,添加量为 2%时,不同的均质次数所得斜率值 A-E(-4.004, -1.763, -1.190, -1.007, -1.064),可看出均质次数超过 4 次,对其稳定性影响不明

显。最终选用均质 4 次。

从图 4a 同样可看出,吐温 80 乳液的添加量为 2%,均质 3 次时,随着均质压力的增大,乳液的稳定性变好,之后变化不大,斜率值分别为-28.38, -11.68, -5.917, -7.420, 5.563, 在均质压力在大于 40 MPa 后对其稳定性影响逐渐减小。过高的压力容易引起蛋白变性,建议选择压力 40 MPa 做试验。图 4b 显示,吐温 80 乳液的添加量为 2%,均质压力 40 MPa 时,随着均质次数的增大,乳液稳定性变好,斜率值分别为-2.921, -1.884, -1.348, -1.189, -1.073。均质超过 6 次后基本稳定,6 次为其合适的均质次数。

从图 5a 可看出,在乳化剂添加量为 4%,均质 3 次时,均质压力与其稳定性呈负相关,斜率值分别为-4.162, -4.090, -4.195, -4.723, -5.069, 在压力超过 60 MPa 后稳定性开始下降,可能与卵磷脂在高温、高压下不稳定,结构发生变化有关,进而影响其乳化效果。最终选其适宜压力 40 MPa。图 5b 为卵磷脂在均质压力 40 MPa,添加量 4%时,乳液随着均质次数的增加,稳定性的变化,斜率值为-5.528, -4.107, -3.718, -3.491, -3.276。最终选

均质6次。

图6a显示,阿拉伯胶乳液在添加量为4%,均质3次时,随着均质压力的增大,其稳定性差,其斜率值为-2.654, -2.339, -3.587, -4.666, -4.054。压力20MPa为其合适压力。这是因为阿拉伯胶是一种天然的多糖类大分子聚合物,其分子结构中含有2%左右的蛋白质,且与多糖部分共价结

合^[17]。在高压下阿拉伯胶与蛋白质共价结合,自身结构被破坏,影响其乳化效果。图6b显示,阿拉伯胶乳液在均质压力20MPa,添加量为4%时,随着均质次数的增加,其稳定性先好后差,其斜率值分别为-2.403, -1.332, -1.396, -1.658, -1.724。最终选均质2次。

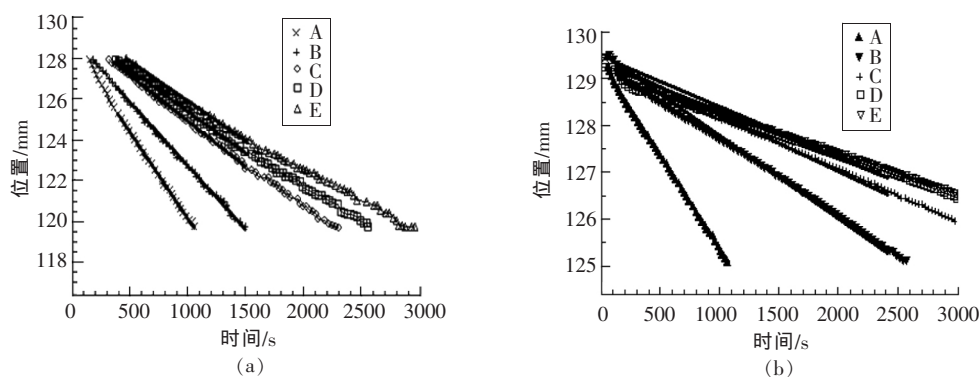


图3 均质条件对乳清蛋白乳液稳定性的影响

Fig.3 Effect of homogenization conditions on whey protein emulsion stability

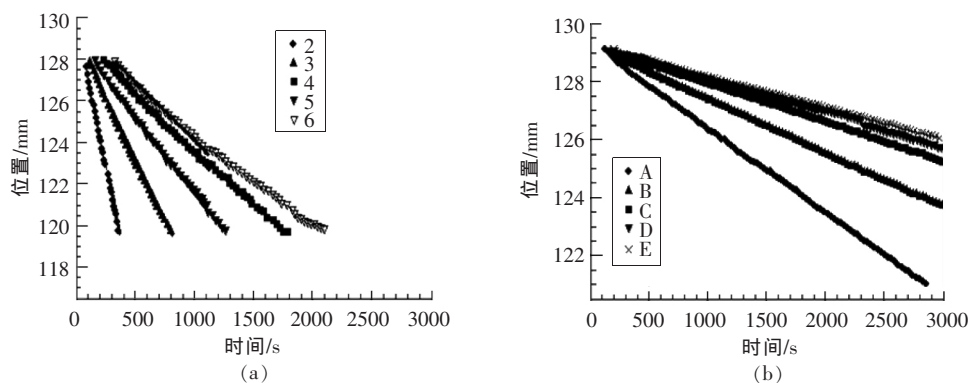


图4 均质条件对吐温80乳液稳定性的影响

Fig.4 Effect of homogenization conditions on tween 80 emulsion stability

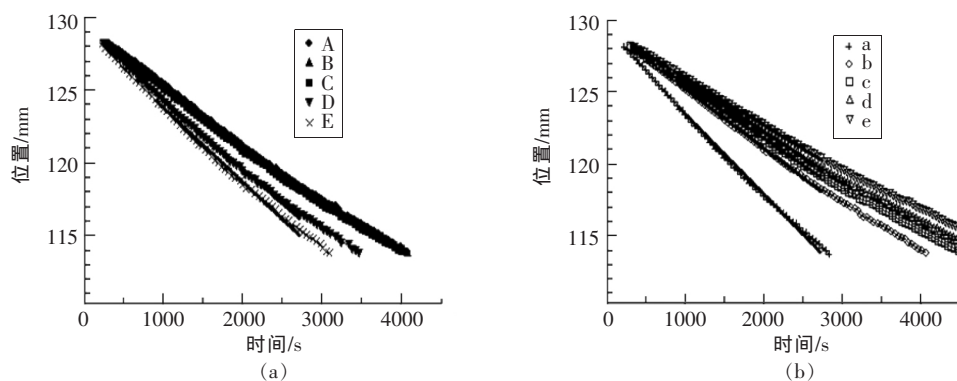


图5 均质条件对卵磷脂乳液稳定性的影响

Fig.5 Effect of homogenization conditions on lecithin emulsion stability

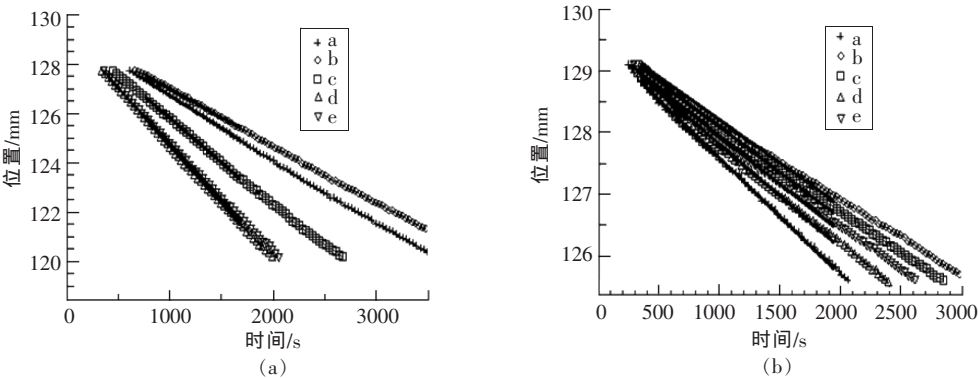


图 6 均质条件对阿拉伯胶乳液稳定性的影响

Fig.6 Effect of homogenization conditions on gum arabic emulsion stability

2.4 乳化剂浓度对乳液稳定性的影响

从图 7a 至 7d 可看出 4 种乳化剂在各自选定的均质条件下,随着乳化剂添加量的增大(0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%),乳液的稳定性提高。

图 7a 显示不同浓度的乳清蛋白乳液分析斜率为-1.849, -1.419, -1.211, -0.9052, -0.5440, 当其添加量为 4%时,斜率线趋于平缓。乳化剂添加

量选择 4%或者略大于 4%。

图 7b 可看出,随着吐温 80 乳液浓度的增大,其稳定性呈先升高后下降的趋势, 其斜率值为-1.254, -1.226, -1.441, -1.552, -1.424。其合适添加量为 2%。吐温 80 乳液粒径较小,之前有研究表明粒径太小容易发生凝聚、沉淀,这可能是影响其稳定性的原因^[19]。

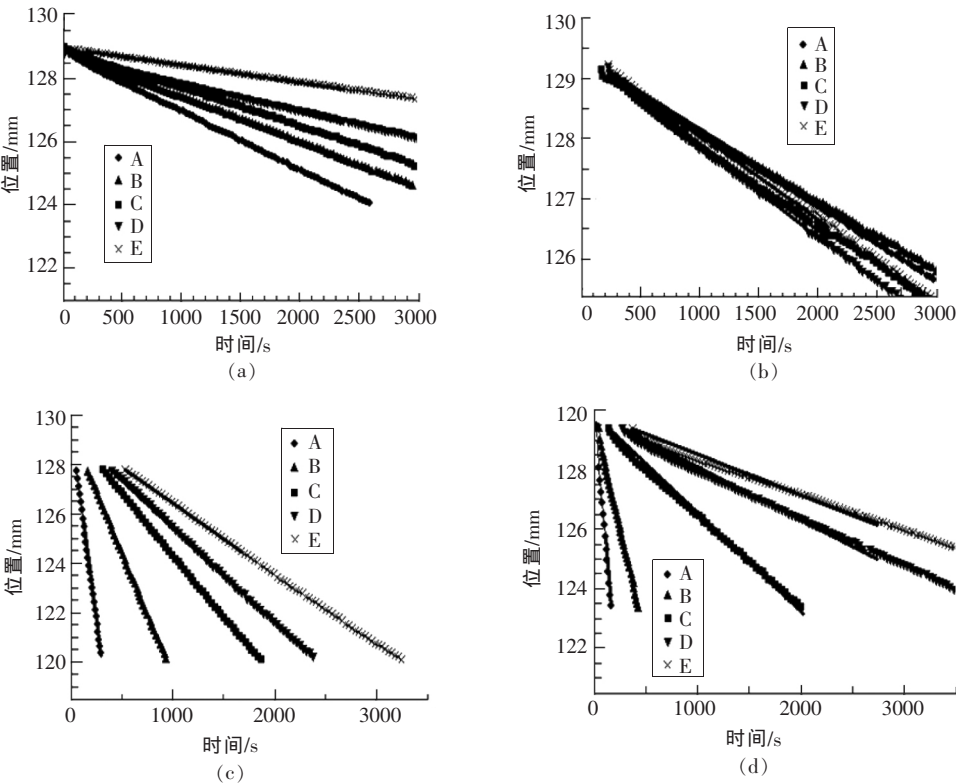


图 7 乳化剂类型与浓度对乳液稳定性的影响

Fig.7 The effect of emulsifier types and concentrations on emulsion stability

图 7c 显示: 分析卵磷脂乳液所得斜率值为 $-30.79, -9.944, -5.305, -3.900, -2.906$ 。当添加量超过 4% 时, 其斜率曲线趋于平缓, 可考虑选择添加量为 4%, 或者略大于 4%。

从图 7d 可以看出, 阿拉伯胶乳液的稳定性受浓度的影响较大, 当添加量为 4% 时, 其减小趋势较大, 它们的斜率值分别为 $-39.14, -14.69, -3.321, -1.773, -1.369$ 。若浓度过高容易造成乳液的黏性过强, 则不适宜应用, 可考虑选择 4% 或略大。

3 结论

4 种乳化剂在相同处理条件下, 吐温 80 乳液的粒径受均质条件、乳化剂浓度的影响最大, 乳清蛋白次之, 然后是卵磷脂、阿拉伯胶。结合均质条件, 乳化剂浓度对乳液粒径及稳定性的影响, 乳清蛋白在均质压力 60 MPa, 均质 4 次, 添加量为 2% 时得到相对稳定的乳液; 吐温 80 在均质压力 40 MPa, 均质 6 次, 添加量为 2% 时得到相对稳定的乳液。卵磷脂可在均质压力 40 MPa, 均质为 4 次, 添加量为 4% 或略大均可。阿拉伯胶在均质压力 20 MPa, 均质 2 次, 添加量为 4% 或略大。

参 考 文 献

- [1] KHANNA N M. Turmeric—nature's precious gift[J]. Current Science, 1999, 76(5): 1351–1356.
- [2] ABDELDAIEM M H. Use of yellow pigment extracted from turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes powder as natural food preservative and colorant[J]. Food Science & Quality Management, 2013, 2(1): 36–47.
- [3] DUVOIX A, BLASIUS R, DELHALLE S, et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin[J]. Cancer Letters, 2005, 223(2): 181–190.
- [4] HUANG M T, LOU Y R, MA W, et al. Inhibitory effects of dietary curcumin in forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice[J]. Cancer Research, 1994, 54(22): 5841–5847.
- [5] KAMINAGA Y, NAGATSU A, AKIYAMA T, et al. Production of unnatural glucosides of curcumin with drastically enhanced water solubility by cell suspension cultures of catharanthus roses[J]. Febs Letters, 2003, 555(2): 311–316.
- [6] SHARMA R A, GESCHER A J, STEWARD W P. Curcumin: The story so far[J]. European Journal of Cancer, 2005, 41(13): 1955–1968.
- [7] AHMED K, YAN, L, MCCLEMENTS D J, et al. Nanoemulsion- and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties[J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 799–807.
- [8] LIN C C, LIN H Y, CHI M H, et al. Preparation of curcumin microemulsions with food-grade soybean oil/lecithin and their cytotoxicity on the HepG2 cell line[J]. Food Chemistry, 2014, 154(1): 282–290.
- [9] ZHOU J P, YAO J. Curcumin – polysaccharide conjugate and preparation method and application: CN102988999A [P]. 2013–03–27.
- [10] LEONG T S H, WOOSTER T J, KENTISH S E, et al. Minimising oil droplet size using ultrasonic emulsification [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2009, 16(6): 721–727.
- [11] TADROS T, ADROS T, IZQUIERDO P, et al. Formation and stability of nano-emulsions[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2004, 108/109(10): 303–318.
- [12] LIU W, WEI U, LIU J H, et al. Characterization and high-pressure microfluidization-induced activation of polyphenoloxidase from Chinese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(12): 5376–5380.
- [13] WANG X Y, LIU F G, LIU L, et al. Physicochemical characterisation of β -carotene emulsion stabilized by covalent complexes of α -lactalbumin with (–)-epigallocatechin gallate or chlorogenic acid[J]. Food Chemistry, 2015, 173(2): 564–568.
- [14] 袁芳, 梁春璇, 许朵霞等. 超高压对蛋白质和多糖相分离的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2012.

- [15] CHENG Q, ANDREW D E, XIAO H, et al. Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: Influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type[J]. Food Chemistry, 2012, 132(3): 1221–1229.
- [16] WEI Z H, GAO Y X. Physicochemical properties of β -carotene bilayer emulsions coated by milk proteins and chitosan-EGCG conjugates[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 52(5): 590–599.
- [17] 卢锦丽. 食品级纯胶 O/W 乳液稳定性及流变特性研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2013.

Effect of High-pressure Micro-jet Homogeneous on Curcumin Nanoemulsion Stability

Wu Minhui Wang Lei He Mei*

(Beijing Research Institute for Nutritional Resources, Beijing 100069)

Abstract The purpose of this study was to establish four types (proteins, polysaccharides, small molecule synthetic emulsifier, phospholipids) of stable curcumin emulsions carrier system by microfluidiser. The effects of different homogenization conditions (pressure, number of passes) and the concentration of the emulsifiers on stability of emulsions were studied with particle size and LUMiSizer dispersion analyser. The results showed that the tween 80 emulsion presents the greatest impact on particle size among the four emulsifiers, followed by whey protein, lecithin and gum arabic. A stable curcumin emulsion system for tween 80, whey protein, lecithin and gum arabic can be prepared, which respectively need to satisfy the conditions: homogenizing pressure (40, 60, 40 MPa and 20 MPa), homogenization times (6, 4, 4, 2 times), concentration (2%, 2%, 4% and 4%). This paper describes the optimization of emulsion carrier system preparation, and it can be widely used in various types of curcumin functional foods and pharmaceuticals.

Keywords high-pressure microfluidiser; curcumin; emulsion; particle size; stability

信 息 窗

多吃豆和鱼 更年期来得晚

英国科学家近日发现,富含鱼类和豆类的饮食有助于延缓更年期的到来,而爱吃精制碳水化合物(如大米和意面)则容易过早进入更年期。

专家对 3.5 万名 35~69 岁女性的健康数据进行梳理分析。数据包含她们的体育运动强度、体重变化曲线、生育史和激素使用情况等。参试者同时填写食物摄入种类及摄入量的调查问卷。追踪访问的 4 年间,共有约 1.4 万名参试妇女经历了自然绝经。研究人员收集并对比了她们的资料信息后发现,每日多摄入一份大米、意面等精制碳水化合物,更年期可能提前 1.5 年;多摄入一份富脂鱼肉或新鲜豆类,更年期则可推迟 1.5~3 年。此外,维生素 B6 和锌元素也有助于延缓更年期的到来。

新发现证实饮食与更年期来临的年龄有关。大量摄入含有抗氧化剂的豆类可部分抵消活性氧对卵子的负面影响;富脂鱼肉中所含有的欧米伽 3 脂肪酸也能激发人体的抗氧化能力。相反地,精制碳水化合物会增加胰岛素抵抗,进而干扰性激素水平,缩短月经周期,更快耗尽卵子供应。

(消息来源:生命时报)