

负载姜黄素的 Pickering 乳液的制备、表征及释放动力学研究

李家艳¹, 卓玛央几¹, 孙爱娣¹, 高斌¹, 史丽^{2*}, 王雪峰^{1*}

¹云南农业大学食品科学技术学院 昆明 650201

²昆明医科大学第一附属医院内分泌科 昆明 650032)

摘要 目的:姜黄素具有良好的生物活性,然而存在溶解性、稳定性、生物可及性差等问题,限制了其在食品加工中的应用。方法:以乳清分离蛋白(WPI)和大豆分离蛋白(SPI)为固体颗粒制备负载姜黄素的 Pickering 乳液,对其流变特性、微观结构、二级结构等进行表征,并进行体外模拟消化分析。结果:由 WPI/SPI 稳定的 Pickering 乳液对姜黄素具有较好的包埋率,为(74.33±3.3)%,且储藏稳定性良好。流变学特性表明,在低剪切力下 Pickering 乳液表现出良好的凝胶特性。微观结构显示,负载姜黄素的 Pickering 乳液为水包油型。傅里叶红外光谱显示,包埋姜黄素后 Pickering 乳液中的蛋白质二级结构相对含量通过氢键作用发生了改变。体外模拟消化结果表明,WPI/SPI 稳定的 Pickering 乳液显著提高了姜黄素的生物可及性(从 12.60%到 34.31%)和抗氧化活性,且姜黄素的体外释放符合零级动力学模型。结论:以复合蛋白颗粒稳定的 Pickering 乳液具有较好的稳定性,可作为姜黄素的递送载体,提高其生物可及性,研究结果为姜黄素等生物活性成分的稳态化及其开发应用提供参考。

关键词 姜黄素; Pickering 乳液; 结构特征; 生物可及性; 释放动力学

文章编号 1009-7848(2026)01-0096-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2026.01.009

姜黄素是从姜黄根茎中提取的天然多酚类化合物,其粉末呈橙黄色,不仅能够赋予食品良好的感官特性,还表现出多种生物活性功能。作为天然的食用香料和色素,姜黄素在食品工业中的应用范围广泛,还是销量最大的天然食用色素之一^[1]。姜黄素具有抑制肿瘤、抗病毒、调节血脂等多种药理活性,对结肠癌、肺癌和乳腺癌等多种肿瘤细胞的增殖具有明显的抑制作用^[2],可诱导癌细胞凋亡而不影响正常细胞,具有极高的靶向性和安全性^[3]。然而,姜黄素稳定性差,难溶于水,易受光、氧、热等环境因素的影响,导致生物可及性降低,使其应用受到限制^[4]。此外,姜黄素经人体摄入后,在胃肠

液中溶解性差,小肠透过性低,这是由于其在口腔或胃环境中快速降解或代谢,造成小肠吸收率较低,导致其生物利用率较低^[5]。近年来,研究者已开发多种稳态递送体系(如乳液、凝胶^[6]、微胶囊、脂质体^[7]等)对其进行包埋和递送,以改善姜黄素的稳定性和生物可及性^[8]。

Pickering 乳液是一种创新型乳液,其使用固体颗粒替代传统表面活性剂稳定油、水两相。因其具有卓越的稳定性、环境友好性和安全性,故其在食品、营养药物输送等领域应用广泛。Pickering 乳液因优越的包封性能而被广泛作为生物活性物质的递送载体,然而, Pickering 乳液的制备多以蛋白质-多糖复合颗粒为稳定剂,对于利用动植物蛋白复合颗粒稳定的 Pickering 乳液用于包埋姜黄素鲜有研究报道。乳清分离蛋白(WPI)和大豆分离蛋白(SPI)是常见的食品成分,其以优异的乳化性能而闻名^[9]。葛慧娟等^[10]以乳清分离蛋白-果胶复合物为乳化剂,甜橙油香精为油相制备的 Pickering 乳液具有良好的分散性和稳定性。鞠梦楠等^[11]以大豆分离蛋白与花青素共价复合颗粒为稳定剂,制备出稳定性较强的水包油型 Pickering 乳液。可见,以 WPI 和 SPI 为固体颗粒制备的 Pickering 乳液具有很好的应用前景。单一颗粒稳定的

收稿日期: 2025-02-03

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(32360562); 云南省农业联合专项重点项目(202101BD070001-013); 云南省科学技术学会第三届青年科技人才托举工程项目(2022-2024); 国家自然科学基金项目(82160164); 云南省科技厅科技计划项目(202301AY070001-290); 云南省“兴滇英才支持计划”青年人才专项(RLQ820220008)

第一作者: 李家艳,女,硕士生

通信作者: 史丽 E-mail: 980817538@qq.com

王雪峰 E-mail: 364135728@qq.com

Pickering 乳液对环境因素较为敏感,易破乳。而利用复合颗粒制成的 Pickering 乳液则表现出更高的稳定性,能够适应各种环境因素的变化,在营养物质输送等领域展示出很大的潜力^[12]。

在前期工作中,本团队制备了 WPI/SPI 复合蛋白颗粒稳定的 Pickering 乳液,具有较好的稳定性^[13]。为进一步探讨 Pickering 乳液对活性物质的包封效果,本试验以前期制备的 Pickering 乳液作为姜黄素的递送载体,表征其流变、微观结构等特性。通过体外模拟消化行为研究 Pickering 乳液对姜黄素的生物可及性、抗氧化活性等,并分析其释放动力学,为复合颗粒稳定的 Pickering 乳液及姜黄素产品的开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大豆分离蛋白、乳清分离蛋白,临沂山松生物制品有限公司;大豆油,益海嘉里食品营销有限公司;姜黄素,上海国药试剂有限公司;胃蛋白酶、胰蛋白酶,麦克林生化科技有限公司;碳酸氢钠,天津市风船化学试剂科技有限公司;氯化钠,天津市致远化学试剂有限公司;牛胆盐,上海源叶生物科技有限公司;所用的化学试剂均为国产分析纯级。

1.2 仪器与设备

BCD-649WDGK 型-20 °C 冰箱,青岛海尔股份有限公司;WT30002 型电子天平,杭州万特衡器有限公司;PST-JY-80 型超纯水机,深圳莱克有限公司;CR-100S 型超声波清洗机,深圳市春霖超声波科技有限公司;FA1004 型电子天平,海舜宇恒平科学仪器有限公司;Mixer-3000s 型漩涡混匀仪,杭州茂丰仪器有限公司;EPED-ESL-10TH 型纯水器,南京易普易达科技发展有限公司;NEST96 型孔板 UV 紫外检测酶标板,北京索莱宝科技有限公司;YA0602 型酶标仪,BioTek 仪器有限公司;RCD-1A 型高速均质乳化机,FSH-2A 型可调高速均质机,常州越新仪器制造有限公司;DHR-2 型流变仪,北京奥德利诺仪器有限公司;Nicolet iS 10 型傅里叶变换红外光谱仪,上海泽权仪器设备有限公司;Leica TCS SP8 型共聚焦激光扫描显微镜,上海新领生物科技发展有限公司;XHF-D 型高速分散器,宁波新芝生物科技股份有限公司;

有限公司;THZ-98A 型振荡摇床培养箱,上海一恒科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 负载姜黄素的 Pickering 乳液制备 按照前期的试验方法制备 Pickering 乳液^[13]。简单的将 WPI 和 SPI 按质量比 3:2 混合,在蛋白质量浓度为 0.05 g/mL,pH 值为 7 的条件下,制备的蛋白液作为水相,与大豆油(溶有 0.00625 mg/mL 姜黄素)按体积比 2:8 混合(油相体积分数为 80%)后,于高速分散机 28 000 r/min 分散 10 min,得到负载姜黄素的 Pickering 乳液。

1.3.2 姜黄素标准曲线的制备 配制质量浓度为 0.001563,0.003125,0.00625,0.0125,0.025,0.05 mg/mL 的姜黄素乙醇标准溶液,于波长 425 nm 处测量其吸光度,以姜黄素浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.3 姜黄素包埋率的测定 参照田文妮等^[14]的方法并加以修改,取样品 2 g,无水乙醇 2 mL(按 1:1),漩涡振荡器振荡样品后,在离心机中设定 8 000 r/min 离心 30 min,4 °C 低温保持活性。取出离心管,吸取上层清液,避免扰动沉淀。过膜去除微粒杂质和未溶解物质。取 200 μL 过滤后的上清液至 96 孔板,测定波长 425 nm 处的吸光度,并带入标准曲线计算姜黄素的浓度,姜黄素的包埋率计算如下:

$$\text{包封率}(\%) = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: C_0 为 Pickering 乳液中初始姜黄素的质量浓度,mg/mL; C_1 为游离到 Pickering 乳液外的姜黄素质量浓度,mg/mL。

1.3.4 负载姜黄素的 Pickering 乳液的流变特性测定 采用直径 25 mm 的平行板传感器流变仪研究 Pickering 乳液的流变学行为。参数:间隙 1 mm,频率 1 Hz,剪切应变范围 0.1%~100%。记录储能模量(G')和损耗模量(G'')的变化情况。

1.3.5 负载姜黄素的 Pickering 乳液的微观结构测定 采用激光共聚焦扫描显微镜(Confocal laser scanning microscopy,CLSM)按照 Lv 等^[15]的方法观察 Pickering 乳液的微观结构。制备混合荧光染料溶液,由尼罗蓝(0.1%,m/m)和尼罗红(0.1%,m/m)组成,将 Pickering 乳液用混合染料溶液染

色,每1 mL乳液加入40 μ L染料溶液,染料选择需基于试验需求和样品特性。样品放置在共聚焦显微镜载玻片上,避免气泡和其它干扰。尼罗蓝和尼罗红分别用于对复合蛋白颗粒和大豆油进行染色。CLSM由2个激光激发源处理:633 nm(尼罗蓝)的氦氖激光器(He-Ne)和488 nm(尼罗红)的氩/氦激光器。

1.3.6 负载姜黄素的 Pickering 乳液的二级结构测定 取一定量的 Pickering 乳液,利用傅里叶红外光谱分析负载姜黄素的 Pickering 乳液的二级结构。红外光谱以4 cm^{-1} 的分辨率测量,平均扫描32次,扫描范围400~4 000 cm^{-1} 。

1.3.7 负载姜黄素 Pickering 乳液的储藏稳定性测定 将制备好的 Pickering 乳液样品装入透明小玻璃瓶中于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,记录第1,3,60,180天的 Pickering 乳液的外观图,通过分层情况评估其储藏稳定性。

1.3.8 体外消化动力学释放 参考 Zhuang 等^[16]的方法,分析负载姜黄素的 Pickering 乳液的体外消化行为。试验前所有样品和消化液均需在37 $^{\circ}\text{C}$ 下预热30 min。

口腔相:将5 g样品,0.25 mL NaCl,0.225 mL H_2O ,4 mL模拟口腔液(Simulated salivary fluid, SSF):0.5 mol/L KCl,0.5 mol/L KH_2PO_4 ,1 mol/L NaHCO_3 ,0.15 mol/L $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$,0.5 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$,2 mol/L NaCl,6 mol/L HCl,0.3 mol/L $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$,混合均匀后,将溶液pH值调至7,并在振荡摇床培养箱中于37 $^{\circ}\text{C}$,270 r/min持续振荡10 min。

胃相:将10 mL来自口腔相的样品放置于90 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中,加热煮沸10 min后,在放有冰袋的冷水中快速降温冷却,其后加入0.05 mL CaCl_2 ,0.448 mL H_2O ,0.667 mL胃蛋白酶(20 mg/mL),8 mL模拟胃液(Simulated gastric fluid,SGF):0.5 mol/L KCl,0.5 mol/L KH_2PO_4 ,1 mol/L NaHCO_3 ,2 mol/L NaCl,0.15 mol/L $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$,0.5 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$,0.3 mol/L $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$,6 mol/L HCl,混合均匀后,将溶液pH值调至3,并在振荡摇床培养箱中于37 $^{\circ}\text{C}$,270 r/min持续振荡2 h。

小肠相:先将胃相产生的20 mL样品的pH值调节至7,再置于90 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中加热煮沸10 min后,在放有冰袋的冷水中快速降温冷却,然后

与3 mL胆汁盐溶液(200 mg/mL),5 mL胰酶溶液(133.3 mg/mL),0.004 mL CaCl_2 ,3.16 mL H_2O ,8 mL模拟肠消化液(Simulated intestinal fluid,SGF):0.5 mol/L KCl,0.5 mol/L KH_2PO_4 ,1 mol/L NaHCO_3 ,2 mol/L NaCl,0.15 mol/L $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$,0.3 mol/L $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$,6 mol/L HCl,混合均匀后,将溶液pH值调至3,并在振荡摇床培养箱中于37 $^{\circ}\text{C}$,270 r/min持续振荡2 h。

1.3.8.1 游离脂肪酸的释放 游离脂肪酸(Free fatty acids,FFA)通过pH值恒定法测定,在模拟肠消化过程中,监测该阶段的pH值,并通过0.1 mol/L NaOH将pH值保持在7,持续3 h。通过测定中和消化物所需的0.1 mol/L NaOH的消耗量来测量释放的FFA量,并通过公式(2)计算^[17]:

$$\text{FFA}(\%) = \frac{V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}} \times M_{\text{lipid}}}{W_{\text{lipid}} \times 2} \times 100 \quad (2)$$

式中: V_{NaOH} 为NaOH的体积,mL; C_{NaOH} 为所用NaOH的浓度,0.1 mol/L; M_{lipid} 为大豆油的平均摩尔质量,884 g/mol; W_{lipid} 为消化乳液中大豆油的初始质量,g。

1.3.8.2 生物可及性测定 参照万欣等^[18]的方法测定 Pickering 乳液中姜黄素的生物可及性。体外模拟消化结束后,取1 mL小肠消化液于离心管,并于4 $^{\circ}\text{C}$,10 000 r/min的条件下离心30 min后,用0.22 μm 膜过滤,取上清液作为混合胶束样品测定其吸光度,生物可及性计算公式如下:

$$\text{生物可及性}(\%) = \frac{C_{\text{micelle}}}{C_{\text{digesta}}} \times 100 \quad (3)$$

式中: C_{micelle} 为混合胶束中姜黄素的质量浓度,mg/mL; C_{digesta} 为初始 Pickering 乳液中姜黄素的质量浓度,mg/mL。

1.3.8.3 抗氧化活性的测定

1) DPPH 自由基清除能力的测定 参照 Angelo 等^[19]的方法,测定 Pickering 乳液中姜黄素 DPPH 自由基清除能力。步骤:①取适量含姜黄素的 Pickering 乳液;②配质新鲜95%乙醇溶解的0.1 mmol/L DPPH溶液;③将样品与DPPH溶液按体积比1:1混合,室温避光反应30 min;④使用酶标仪在波长517 nm处测定吸光度。对照组把DPPH溶液换为无水乙醇,空白组把样品溶液换为去离子水,按公式(4)计算:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \frac{A_{\text{空白}} + A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (4)$$

式中: $A_{\text{空白}}$ 为空白组的吸光度; $A_{\text{样品}}$ 为样品的吸光度; $A_{\text{对照}}$ 为对照组的吸光度。

2) ABTS 自由基清除能力的测定 参照杨宗美等^[20]的方法稍作修改,测定 Pickering 乳液中姜黄素 ABTS 自由基的清除能力。操作时,需精确混合 25 μL 样品与 190 μL ABTS 工作液,使用微量移液器,确保计量准确,混合均匀。室温静置 5 min,避免光照。酶标仪设置波长 734 nm 处检测样品的吸光度,对照组把 ABTS 溶液换为去离子水,空白组把样品溶液换为去离子水,按公式(5)计算:

$$\text{ABTS 自由基清除率}(\%) = \frac{A_{\text{空白}} + A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (5)$$

式中: $A_{\text{空白}}$ 为空白组的吸光度; $A_{\text{样品}}$ 为样品的吸光度; $A_{\text{对照}}$ 为对照组的吸光度。

3) 羟基自由基清除能力的测定 参照徐弦等^[21]的方法稍作修改,测定 Pickering 乳液中姜黄素羟基自由基清除能力。操作时,首先需要准确吸取一定体积的样品溶液、过氧化氢溶液 (6 mmol/L) 以及硫酸亚铁溶液 (6 mmol/L),按照 1:1:1 的体积比,依次小心地加入到预先清洗并干燥的 10 mL 试管中。对试管进行充分振荡,确保溶液混合均匀,随后将其置于阴暗环境中,静置 30 min,以便反应充分后加入同体积的水杨酸醇溶液 (6 mmol/L),再次振荡混匀,并在 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下继续静置 10 min。此步骤的目的是使水杨酸醇与试管中的其它物质充分反应。测定波长 510 nm 处样品的吸光度。空白组用去离子水代替样品溶液,对照组用蒸馏水代替水杨酸酒精溶液。按公式(6)计算:

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = \frac{A_{\text{空白}} + A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (6)$$

式中: $A_{\text{空白}}$ 为空白组的吸光度; $A_{\text{样品}}$ 为样品的吸光度; $A_{\text{对照}}$ 为对照组的吸光度。

1.3.8.4 释放动力学测定 参考 Zhang 等^[22]的方法稍加修改。体外模拟口腔结束后,在胃、肠阶段每个阶段内每间隔 20 min 取样,每次取样 1 mL,并立即补充 1 mL 的释放介质,确保取样过程的准确性与稳定性。随后,将收集到的样品置于波长

425 nm 处,精确测定其吸光度,按公式(7)计算各个取样点的累积释放量,累积释放百分率按式(8)计算。

$$Q_n = C_n \times V_0 + (C_1 + C_2 + C_3 + \dots + C_{n-1}) \times V \quad (7)$$

式中: Q_n 为第 n 个取样点的累积释放量, mol; C_n 为第 n 个取样点时姜黄素的释放浓度, mol/mL; V_0 为释放介质的体积, mL; V 为每次取样的体积, mL。

$$\text{累积释放百分率} = (Q_n / \text{体系中姜黄素的含量}) \times 100 \quad (8)$$

释放动力学是决定姜黄素释放机制的主要描述性特征。在大多数情况下,包埋物中物质的释放符合零级动力学、一级动力学和 Higuchi 模型。具体方程为:

$$Q = k_0 t \quad (9)$$

$$\ln Q = \ln Q_0 - k_1 t \quad (10)$$

$$Q = k_H t^{1/2} \quad (11)$$

式中: Q 为指特定时间点下,体系所释放的姜黄素占其总量的百分比,是量化释放程度的重要参数; k_0 为零级动力学模型的速率常数; k_1 为一级动力学模型的速率常数; k_H 为 Higuchi 动力学模型的速率常数; t 为释放过程中的时间, min。

1.4 数据统计分析

试验中的所有数据测量 3 次,计算其平均值和标准偏差,并使用 Excel 2016 进行数据整理,SPSS 26 进行数据分析,Origin 2021 和 GraphPad Prism 8 绘制图表。

2 结果与分析

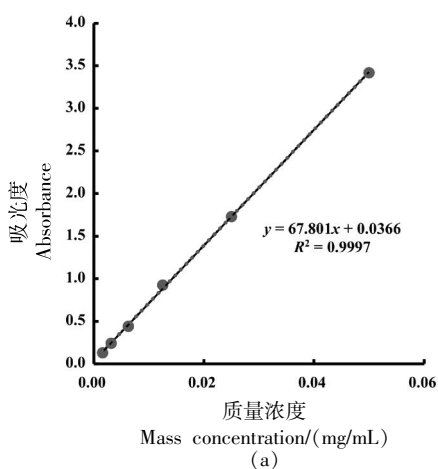
2.1 姜黄素的包埋率分析

如图 1a 所示,姜黄素标准曲线方程为 $y = 67.801x + 0.0366$, $R^2 = 0.9997$,可知,线性回归方程拟合良好。姜黄素在 0.001563~0.05 mg/mL 的质量浓度范围内,其含量与吸光度具有良好的线性关系。

由图 1b 可知,负载姜黄素的 Pickering 乳液外观均一,为淡黄色透明澄清液体(图 1B)。未负载姜黄素的 Pickering 乳液外观均一,为白色透明澄清液体(图 1A)。通过计算得到其包埋率为 $(74.33 \pm 3.3)\%$ 。郑凯文^[23]制备出单一的燕麦蛋白纳米颗粒稳定的 Pickering 乳液对姜黄素的包埋

率为 63.1%, 该结果略低于本研究结果, 说明复合的蛋白颗粒稳定的 Pickering 乳液具有较好的包

裹率, 可以作为负载姜黄素的良好载体。



注:分图 b 中, A 为未负载姜黄素的 Pickering 乳液, B 为负载姜黄素的 Pickering 乳液。

图 1 姜黄素标准溶液线性曲线图和负载姜黄素 Pickering 乳液外观结构

Fig.1 Linear curve of curcumin standard solution and appearance structure of loaded curcumin Pickering emulsion

2.2 负载姜黄素的 Pickering 的结构特性分析

2.2.1 负载姜黄素的 Pickering 的流变特性分析

由图 2a 可以看出, 负载姜黄素的 Pickering 乳液的储能模量 (G') 随着剪切应变增加呈降低趋势, 低应变时 $G' > G''$, 说明此时在较低应变范围内 Pickering 乳液的可逆变形程度大于不可逆变形程度, 乳液呈固态弹性特征, 具备一定的弱凝胶性质。随后 $G' < G''$, 说明此时 Pickering 乳液呈黏性, 表现为

液态^[24]。在整个应变范围内, Pickering 乳液的 $\tan\delta$ 逐渐增大, 表明 Pickering 乳液显示出主要的黏性行为(图 2b)。由图 2c 可知, 随着剪切应变的增加, 复合黏度呈下降趋势, 体系呈现出典型的非牛顿流体特征, 即剪切变稀的现象, 可能是乳液的网格结构随着剪切力的增大受到不同程度的破坏, 导致乳液的流动阻力降低, 乳液黏度持续减小^[25]。

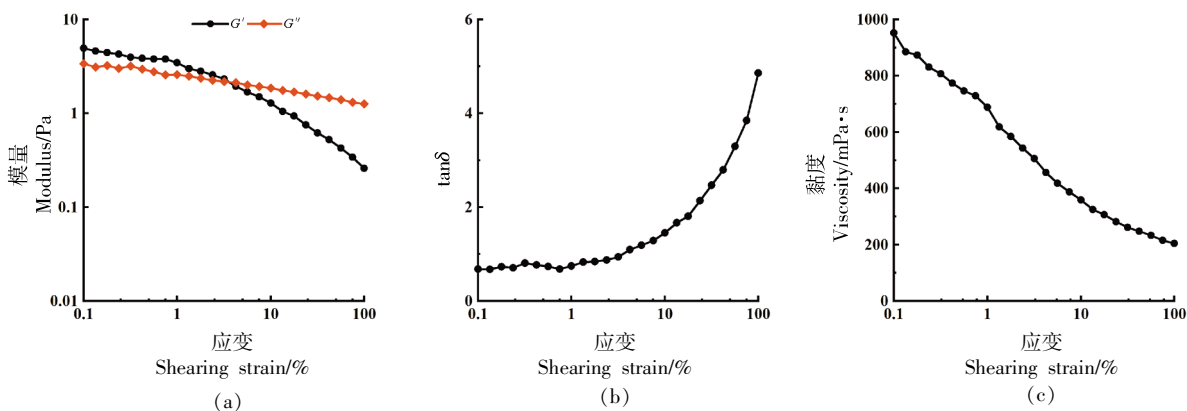


图 2 负载姜黄素 Pickering 乳液动态流变学性质变化曲线

Fig.2 Dynamic rheological property change curve of loaded curcumin Pickering emulsion

2.2.2 负载姜黄素的 Pickering 乳液的微观结构分析 在 CLSM 显微镜下, 可观察到负载姜黄素

的 Pickering 乳液微观结构, 如图 3 所示, 尼罗红染料用于染色大豆油, 结合后呈绿色荧光, 因其脂

溶性特富集在油脂滴内,实现油脂体可视化标记。尼罗红对大豆油进行染色呈现绿色(图 3a),尼罗蓝对复合蛋白颗粒染色呈现红色(图 3b)^[15]。图 3c 为负载姜黄素的 Pickering 乳液的微观结构图,可

以看出大豆油(绿色)被固体复合蛋白颗粒(红色)所包围,说明 Pickering 乳液的类型为水包油型,其姜黄素被成功包埋于 Pickering 乳液内部。

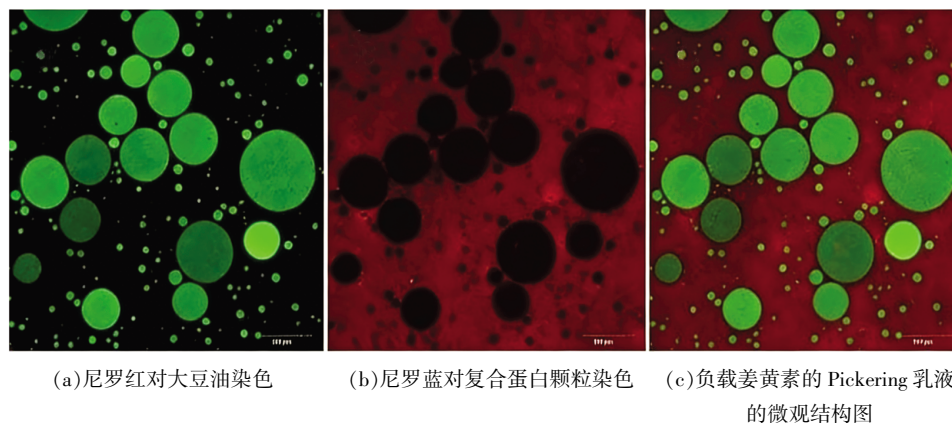


图 3 负载姜黄素的 Pickering 乳液 CLSM 图

Fig.3 CLSM diagram of Pickering emulsion loaded with curcumin

2.2.3 负载姜黄素的 Pickering 乳液的二级结构分析 傅里叶变换红外光谱分析仪主要用于分析蛋白质的二级结构^[26]。如图 4a 所示,与未包埋姜黄素的 Pickering 乳液相比,负载姜黄素的 Pickering 乳液的 FTIR 光谱在 2 922,1 743,1 159,717 cm^{-1} 处具有明显的振动带。在 2 922 cm^{-1} 处的峰归属于 $-\text{CH}_2$ 的振动,在 1 743 cm^{-1} 处的峰归属于 $\text{C}=\text{O}$ 拉伸振动,在 1 159 cm^{-1} 处有较强的 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 的伸缩振动吸收峰,717 cm^{-1} 处的峰 $\text{C}-\text{H}$ 烯烃基团与弯曲振动有关^[27]。在 3 600~3 000 cm^{-1} 处的峰对应蛋白质的 OH 振动,其有减弱趋势,可能是姜黄

素中的羰基苯环与羟基形成一些氢键导致羟基的振动被抑制或改变。在包埋过程中,姜黄素分子的羰基可能与 Pickering 乳液中的蛋白质残基或其它功能基团之间形成了氢键,导致 1 743 cm^{-1} 处的峰增强。

此外,1 700~1 600 cm^{-1} 是分析蛋白质二级结构最有用的红外光谱区域,使用 Peak Fit 4.12 软件对酰胺 I 带(1 700~1 600 cm^{-1})进行基线校正、二阶导数和平滑,并结合曲线拟合计算 Pickering 乳液中蛋白质的二级结构^[28]。图 4b 和 4c 分别为包埋与未包埋姜黄素的 Pickering 乳液的拟合图。

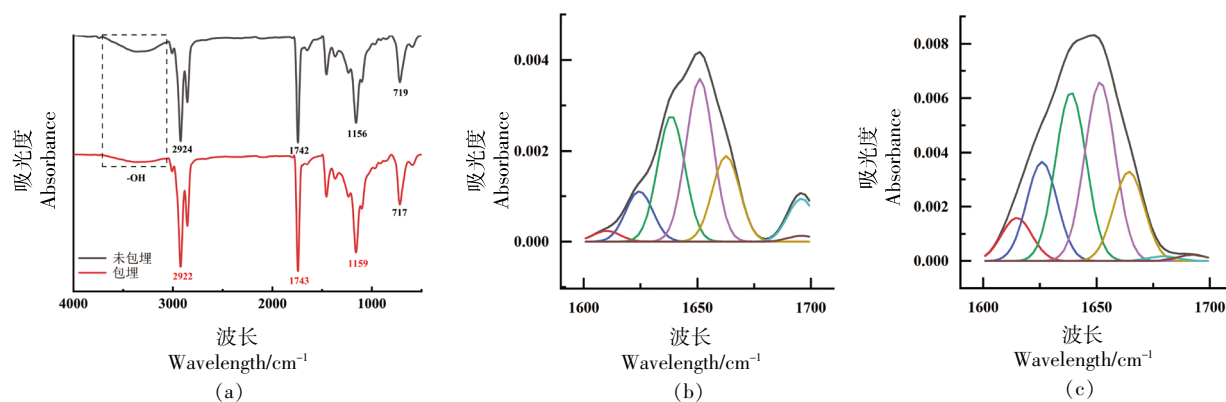


图 4 负载姜黄素的 Pickering 乳液傅里叶红外光谱图和 Pickering 乳液拟合图

Fig.4 Fourier transform infrared spectroscopy of Pickering emulsion loaded with curcumin and Pickering emulsion fitting diagram

如表1所示,与未包埋姜黄素的 Pickering 乳液相比,负载姜黄素的 Pickering 乳液的 β -折叠相对含量降低, β -转角相对含量增加, α -螺旋相对含量变化不大,原因可能是 Pickering 乳液包埋姜黄素

后,姜黄素与蛋白质通过氢键的相互作用影响了蛋白质二级结构的相对含量,此外, β -折叠向 β -转角转换也会影响蛋白质二级结构的相对含量。

表1 蛋白质二级结构相对含量

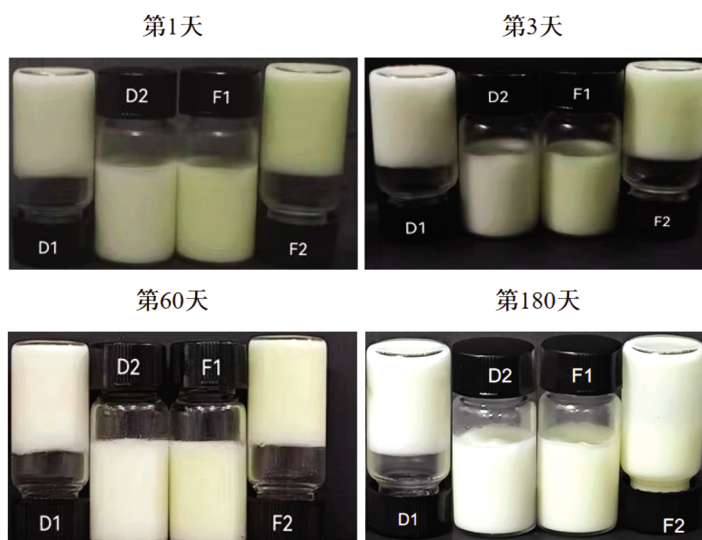
Table 1 Relative content of protein secondary structure

蛋白质二级结构相对含量	β -折叠/%	无规则卷曲	β -转角/%	α -螺旋/%
包埋	38.53	0	27.93	33.54
未包埋	52.79	0	16.81	30.40

2.3 负载姜黄素的 Pickering 乳液的储藏稳定性分析

Pickering 乳液在储藏第1,3,60,180天后,如图5所示,从第1天到第60天,D1、D2为未负载姜黄素的 Pickering 乳液外观图,乳液外观均一,为白色透明澄清液体;F1、F2为负载姜黄素 Pickering 乳液外观图,乳液外观均一,为淡黄色透明澄清液体。随着储藏时间的增加两者的乳状液变化较小。到第180天,未负载姜黄素的 Pickering 乳液未发生明显的分层现象,说明其具有良好的

储藏稳定性。负载姜黄素的 Pickering 乳液未发生明显的分层现象,乳液外观均一,表面未发霉。而负载姜黄素的 Pickering 乳液倒置时呈流动性,这是由于姜黄素的外逸破坏了乳液原有的三维网络结构所致^[29]。王鑫磊^[30]以豌豆蛋白-黄原胶复合颗粒稳定的 Pickering 乳液包埋姜黄素后,4℃下储藏30d出现明显分层情况。可见,本研究制备的 WPI/SPI 复合蛋白颗粒稳定的 Pickering 乳液具有更好的储藏稳定性。



注:D1和D2为未负载姜黄素的 Pickering 乳液;F1和F2为负载姜黄素 Pickering 乳液。

图5 Pickering 乳液的储藏稳定性

Fig.5 Storage stability of Pickering emulsion

2.4 体外消化动力学分析

2.4.1 负载姜黄素 Pickering 乳液的游离脂肪酸释放 图6a为负载姜黄素的 Pickering 乳液的游离脂肪酸的释放情况。在模拟肠道消化环境下,乳

液中的油脂经胰脂肪酶催化发生水解反应,其主要产物包括单甘酯、二甘酯及游离脂肪酸^[12]。可以看出,随着消化时间的延长,游离脂肪酸的释放过程呈明显的阶段性特征:在消化初始阶段表现出

快速释放现象,随后释放速率逐渐降低,最终达到相对恒定的水平。肠道消化 3 h 后,负载姜黄素的 Pickering 乳液的 FFA 释放量远高于大豆油的 FFA 释放量,相关报道也表明油相占比越大,FFA 的释放率越低^[18]。这主要是由于胃蛋白酶对乳状液中可消化蛋白的破坏程度较大,导致胰脂肪酶与油滴之间的接触面增大^[31],从而提高了其游离脂肪酸的释放。

2.4.2 负载姜黄素 Pickering 乳液的生物可及性 由图 6b 可知,姜黄素在 Pickering 乳液中的生物可及性明显高于直接溶解在大豆油中。姜黄素在大豆油中的生物可及性较低,仅有 12.60%,也有报道表明大豆油中游离姜黄素的生物可及性低^[9],而经过乳液负载后姜黄素的生物可及性明显提高,

为 34.31%。二者相比,FFA 的释放率越高其生物可及性越高,原因可能是乳液中油脂的水解程度高有利于姜黄素从油相中释放,提高了其生物可及性,并且相关报道也表明姜黄素的生物可及性与 FFA 的释放率呈正相关^[32]。李艳新等^[33]以 WPI、3% WPI-EGCG 和 4% WPI-EGCG 制备出负载姜黄素的纳米乳液,其生物可及性分别为 19.18%、20.04%、21.53%,此结果与乳液在模拟肠消化阶段 FFA 的最终释放量趋势一致(即 FFA 释放率越高,生物可及性越高)。在模拟胃消化过程中,蛋白质被胃蛋白酶水解,导致初始界面膜的破坏。当油滴被消化吸收后,乳状液结构被打破,释放出大量的姜黄素,提高了其生物可及性。

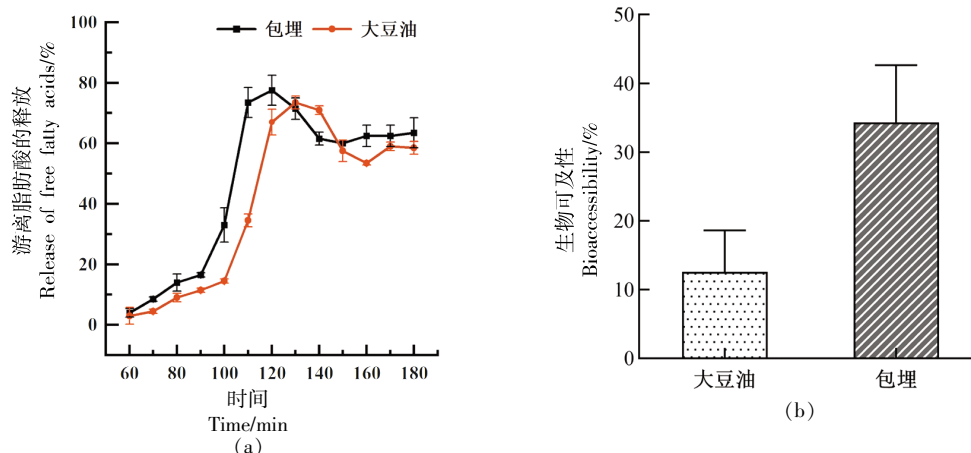


图 6 负载姜黄素的 Pickering 乳液的游离脂肪酸的释放和生物可及性

Fig.6 Release of free fatty acids and bioaccessibility of Pickering emulsion loaded with curcumin

2.4.3 负载姜黄素 Pickering 乳液的抗氧化性

2.4.3.1 ABTS 自由基清除率 ABTS 法是国际常用的检测样品抗氧化活性的方法之一,ABTS 试剂为蓝绿色,在与抗氧化剂反应后颜色逐渐褪去^[15]。由图 7a 可知,包埋姜黄素后,体系的 ABTS 抗氧化活性在消化过程中,ABTS 自由基的清除率增大,大豆油的 ABTS 自由基清除率较稳定,受胃液影响较小,而到肠阶段 ABTS 的自由基清除率有所下降,原因可能是姜黄素在胃阶段已经有了较好的释放。

2.4.3.2 羟基自由基清除率 羟基自由基是氧自由基中活性最强的一种自由基,因此,用羟基自由基清除能力评价抗氧化剂对过氧化氢等自由基的

清除能力^[34]。由图 7b 可知,随着消化反应的进行,两组羟基自由基的清除活性均逐渐增强。在肠阶段,负载姜黄素的 Pickering 乳液对羟基自由基的清除效果更好,说明姜黄素在肠消化过程中得到了较好的释放。

2.4.3.3 DPPH 自由基清除率 DPPH 作为一种稳定的含氮自由基化合物,其乙醇溶液呈现特征性的深紫色光谱特性。在抗氧化剂作用下,溶液颜色由紫色转变为黄色。测定 DPPH 自由基清除活性可评估样品的抗氧化能力。如图 7c 所示,负载姜黄素的 Pickering 乳液随着消化进行,DPPH 自由基清除活性逐渐增强。包埋姜黄素之后,体系在口腔、胃阶段姜黄素释放过多。姜黄素含酚羟基和羰

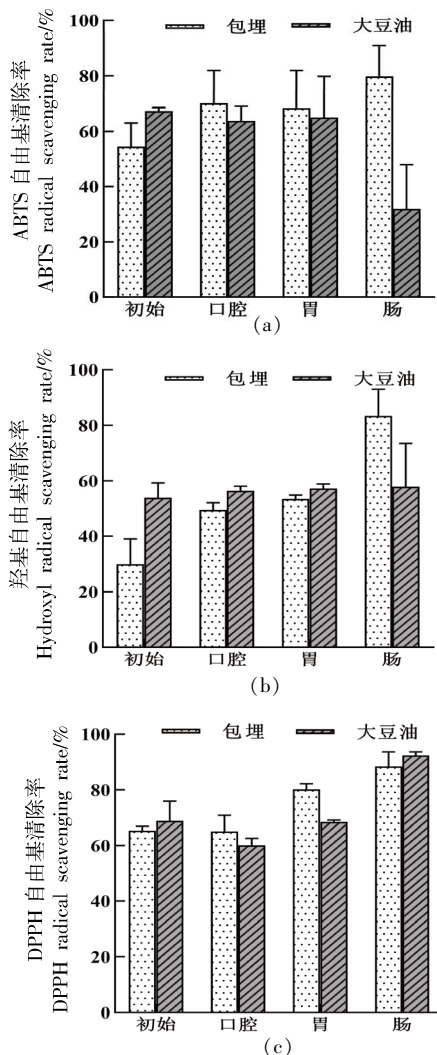


图7 负载姜黄素的Pickering乳液的ABTS自由基的清除率、羟基自由基的清除率和DPPH自由基清除率
Fig.7 ABTS radical scavenging rate, hydroxyl radical scavenging rate, and DPPH radical scavenging rate of Pickering emulsion loaded with curcumin

基,作为质子供体,提供电子阻断自由基链式反应,从而具有较好的抗氧化活性^[35]。酚羟基和羰基的存在使姜黄素成为有效抗氧化剂,能够保护体系其它成分免受氧化损伤。

2.4.4 释放动力学 由图8可知,在模拟胃肠消化条件下,负载姜黄素的Pickering乳液累计释放率为80.34%,其中,小肠消化环境对姜黄素的释放率影响较大,可能由于其长度和微绒毛结构使得食物消化吸收更充分。因此,在小肠消化阶段,其释放速度和总量明显增加,可能因其在碱性条

件下溶解度增加或受消化酶作用,胃部酸性较强,姜黄素稳定、不易分解,使模拟胃消化环境对姜黄素释放率影响相对较低。由表2可知,通过拟合释放模型的结果表明,零级动力学模型($R^2=0.9079$)与其它动力学模型拟合所得 R^2 相比,具有更高的相关系数,可以认为姜黄素的释放符合零级动力学模型。

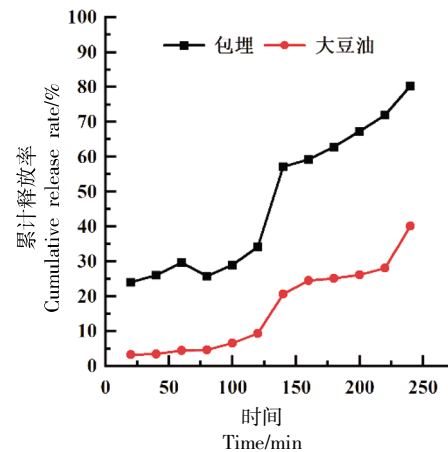


图8 负载姜黄素的Pickering模拟消化条件下累计释放率
Fig.8 Cumulative release rate of curcumin loaded Pickering under simulated digestion conditions

表2 体外释放模型拟合结果

Table 2 Results of *in vitro* release model fitting

拟合模型	相关系数	斜率
零级动力学	$R^2 = 0.9079$	$K_0 = 0.27915$
一级动力学	$R^2 = 0.8355$	$K_1 = -9.0471$
Higuchi	$R^2 = 0.83246$	$K_H = 5.5441$

3 结论与讨论

本研究以WPI和SPI复合蛋白颗粒为稳定剂制备的Pickering乳液用于包埋姜黄素,表现出良好的储藏稳定性,提高了姜黄素的生物可及性。由WPI/SPI稳定的Pickering乳液对姜黄素具有较好的包埋率,可达 $(74.33 \pm 3.3)\%$;流变学特性表明在低剪切力下Pickering乳液表现出良好的凝胶特性;负载姜黄素的Pickering乳液为水包油型,并且包埋了姜黄素后,Pickering乳液中的蛋白质二级结构相对含量通过氢键作用发生了改变,储藏稳定性良好。体外消化结果表明,WPI/SPI稳定的Pickering乳液促使姜黄素的生物可及性提高到了

34.31%,符合零级释放动力学模型。本研究可为姜黄素靶向递送载体的构建提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] 刘嘉欣,张韵,黄慧贤,等.姜黄素联合花姜酮对非小细胞肺癌细胞生物学行为的协同作用及机制研究[J].中国药房,2024,35(7):787-792.
LIU J X, ZHANG Y, HUANG H X, et al. Study on the synergistic effect and mechanism of curcumin combined with zerumbone on the biological behavior of non-small cell lung cancer cells[J]. China Pharmacy, 2024, 35(7): 787-792.
- [2] 刘冠廷,胡流云,马诗经,等.姜黄素乳液的工艺优化及其抗炎活性研究[J].日用化工业,2021,51(8):741-747.
LIU G T, HU L Y, MA S J, et al. Process optimization and anti-inflammatory activity of the curcumin emulsion[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2021, 51(8): 741-747.
- [3] 潘洪明,费洪新,卢长方,等.姜黄素纳米微粒对体外胃癌 MGC803 细胞凋亡机制的影响[J].医药导报,2012,9(29):16-18,21.
PAN H M, FEI H X, LU C F, et al. Effect of curcumin nanoparticle on apoptosis of human gastric carcinoma cell lines MGC803 *in vitro*[J]. China Medical Herald, 2012, 9(29): 16-18, 21.
- [4] 傅双庆,杜洁,贾新超,等.姜黄素生物可降解纳米胶囊制备综合实验设计[J].实验技术与管理,2022,39(6):30-33.
FU S Q, DU J, JIA X C, et al. Comprehensive experimental design for preparation of biodegradable curcumin nano-capsules[J]. Experimental Technology and Management, 2022, 39(6): 30-33.
- [5] 代小琳,李小芳.纤维素纳米晶/壳寡糖复合物稳定的姜黄素皮克林乳液的制备及其研究[J].中药与临床,2024,15(1):35-39,57.
DAI X L, LI X F. Preparation and study of curcumin pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals/chitooligosaccharide complexes[J]. Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica, 2024, 15(1): 35-39, 57.
- [6] 刘玫君,乔蕾蕾,杨敏.酪蛋白-海藻酸钠基乳液凝胶性质及其在姜黄素负载中的应用[J].食品科学技术学报,2024,42(2):58-74.
LIU M J, QIAO L L, YANG M. Properties of emulsion gels based on casein-sodium alginate and their application on curcumin delivery[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(2): 58-74.
- [7] 方素琼,陈文荣,梁珊,等.高负载姜黄脂质体粉的构建及生物利用度的研究[J].食品与发酵工业,2024,50(7):166-172.
FANG S Q, CHEN W R, LIANG S, et al. Study on construction and bioavailability of high-loading turmeric liposome powder[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(7): 166-172.
- [8] 吴彤,冯进,黄午阳,等.牛蒡果胶多糖/玉米醇溶蛋白复合颗粒稳定的 Pickering 乳液构建及对姜黄素的递送功效[J].食品科学,2023,44(14):37-46.
WU T, FENG J, HUANG W Y, et al. Fabrication of Pickering emulsions stabilized by burdock rhamnogalacturonan I (RG-1)-type pectin/zein composite particles and their utilization for the delivery of curcumin[J]. Food Science, 2023, 44(14): 37-46.
- [9] HUANG G, LIU G C, XU Z J, et al. Stability, rheological behavior and microstructure of Pickering emulsions co-stabilized by soy protein and carboxymethyl chitosan[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 142: 1-12.
- [10] 葛慧娟,肖军霞,黄国清.乳清分离蛋白-果胶复合物在 Pickering 乳液制备中的应用[J].中国食品学报,2021,21(3):161-172.
GE H J, XIAO J X, HUANG G Q. The application of whey protein isolate-pectin complex in the preparation of Pickering emulsions[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology 2021, 21(3): 161-172.
- [11] 鞠梦楠,祝钢,刘英杰,等.大豆分离蛋白-花青素共价复合物制备纳米颗粒及其 Pickering 乳液特性分析[J].食品科学,2019,40(20):8-13.
JU M N, ZHU G, LIU Y J, et al. Fabrication and characterization of Pickering emulsions stabilized by covalent composite nanoparticles of soy protein isolate and anthocyanins[J]. Food Science, 2019, 40(20): 8-13.
- [12] 隋心,宋士新,陶立,等.负载藜麦皂苷 Pickering 乳液的制备、性质表征和体外消化特性[J].中国食品添加剂,2024,35(2):79-87.
SUI X, SONG S X, TAO L, et al. Preparation, characterization and *in vitro* digestion properties of

- Pickering emulsion loaded with quinoa saponin[J]. *China Food Additives*, 2024, 35(2): 79–87.
- [13] SUN A D, DONG W M, LI S, et al. Preparation and characterization of Pickering emulsion gel stabilized by WPI/SPI composite particles and encapsulation of milk-derived peptide FDRPFL[J]. *LWT*, 2024, 199: 116093
- [14] 田文妮, 宋增柳, 杨淦, 等. 蜂蜡含量对纳米结构脂质载体消化释放行为及巨噬细胞摄取率的调控影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(21): 35–43.
- TIAN W N, SONG Z L, YANG L, et al. Modulatory effect of beeswax content on the digestive release and macrophage uptake of nanostructured lipid carriers[J]. *Food Science*, 2023, 44(21): 35–43.
- [15] LV P F, WANG D, CHEN Y L, et al. Pickering emulsion gels stabilized by novel complex particles of high-pressure-induced WPI gel and chitosan: Fabrication, characterization and encapsulation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 108: 1–12.
- [16] ZHUANG H, LI X Q, WU S J, et al. Fabrication of grape seed proanthocyanidin-loaded W/O/W emulsion gels stabilized by polyglycerol polyricinoleate and whey protein isolate with konjac glucomannan: Structure, stability, and *in vitro* digestion[J]. *Food Chemistry*, 2023, 418: 135975.
- [17] 何青. 猪肉肌原纤维蛋白颗粒稳定高内相 Pickering 乳液的制备及营养输送特性研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2020.
- HE Q. Preparation and nutrient delivery characteristics of high internal phase Pickering emulsion stabilized by pork myofibrillar particles[D]. Jinzhou: Bohai University, 2020.
- [18] 万欣, 陆佳燕, 高蕊, 等. 载姜黄素纳米乳液的制备及体外模拟消化特性研究[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(6): 244–252.
- WAN X, LU J Y, GAO R, et al. Preparation of curcumin nanoemulsion and its *in vitro* simulated digestion characteristics[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(6): 244–252.
- [19] ANGELO A F B, KARIME C W, JAMES T T, et al. Antioxidant activity of aqueous extracts of roasted bean seeds of *Coffea canephora* rubiaceae[J]. *American Journal of Pharmacological Sciences*, 2022, 9(2): 63–68.
- [20] 杨宗美, 王飞, 李媛, 等. 酚类化合物体外自由基清除能力的研究[J]. *广东化工*, 2022, 49(13): 40–43.
- YANG Z M, WANG F, LI Y, et al. Study on free radical scavenging ability of phenolic compounds *in vitro* [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2022, 49(13): 40–43.
- [21] 徐弦, 安兆祥, 李晓明, 等. 柑橘皮蛋白质提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(16): 154–162.
- XU X, AN Z X, LI X M, et al. Optimization of extraction process of protein from citrus peel and its antioxidant activity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(16): 154–162.
- [22] ZHANG L Y, XIAO Q, XIAO Z C, et al. Hydrophobic modified agar: Structural characterization and application in encapsulation and release of curcumin[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 308: 120644.
- [23] 郑凯文. 燕麦蛋白-虫胶纳米颗粒稳定 Pickering 乳液的机制研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2023.
- ZHENG K W. Study on the mechanism of stabilized Pickering emulsion by oat protein-shellac nanoparticles[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2023.
- [24] 周琳, 胡斐南, 许晨阳, 等. 基于动态振荡剪切的砒砂岩浆体流变行为研究[J]. *水土保持学报*, 2024, 38(3): 45–53.
- ZHOU L, HU F N, XU C Y, et al. Study of the rheological behavior of Pisha sandstone slurry based on dynamic oscillatory shear[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2024, 38(3): 45–53.
- [25] 魏晓晶, 陈红, 张迈, 等. 荷载姜黄素的 Pickering 乳液流变学特性和稳定性研究: 姜黄素溶解在乙醇和油中的比较[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(13): 98–107.
- WEI X J, CHEN H, ZHANG M, et al. Rheological properties and stability of curcumin-loaded Pickering emulsions: A comparison of curcumin in aqueous and oil phases[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50(13): 98–107.
- [26] BARBARA G, ANNA S, PAULINA K, et al. Effect of gelation temperature on the molecular structure and physicochemical properties of the curdilan matrix: Spectroscopic and microscopic analyses[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6154–6154.
- [27] WANG Z J, ZHAO Z W, KHAN N R, et al. Mi-

- crowave assisted chitosan-polyethylene glycol hydrogel membrane synthesis of curcumin for open incision wound healing [J]. *Die Pharmazie*, 2020, 75(4): 118-123.
- [28] 谢安国, 王廷敏, 张芹华, 等. 二维相关红外光谱技术解析牛肉热加工过程中蛋白质二级结构变化[J]. *肉类研究*, 2024, 38(8): 1-7.
- XIE A G, WANG T M, ZHANG Q H, et al, Analysis of changes in protein secondary structure during thermal beef processing by two-dimensional correlated infrared spectroscopy [J]. *Meat Research*, 2024, 38(8): 1-7.
- [29] 杨翦秋, 毕会敏, 范方宇. 负载姜黄素/花色苷的木薯淀粉基 W1/O/W2 型 Pickering 双重乳液的制备及性质[J]. *食品科学技术学报*, 2024, 42(2): 46-57.
- YANG J Q, BI H M, FAN F Y. Preparation and properties of cassava starch-based W1/O/W2 Pickering double emulsions loading curcumin/anthocyanin [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2024, 42(2): 46-57.
- [30] 王鑫磊. 负载姜黄素 Pickering 乳液的制备及其对乳化和肠品质的影响研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023.
- WANG X L. Preparation of loaded curcumin Pickering emulsion and its influence on the quality of emulsified sausage[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2023.
- [31] 倪莹宙. 乳清分离蛋白乳状液/冷凝胶制备和消化研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- NI Y Z. Study on the preparation and *in vitro* digestion of whey protein isolate emulsions/cold-set gels[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [32] 余振宇. OSA 改性芋头淀粉基 Pickering 乳液运载体系稳定机制及特性研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2020.
- YU Z Y. Stabilization mechanism and characteristics of Pickering emulsion delivery system based on OSA modified taro starch[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2020.
- [33] 李艳新, 陈立莹, 李雁, 等. WPI 和 WPI-EGCG 构建姜黄素纳米乳液的体外消化差异[J]. *食品科学*, 2024, 45(1): 1-7.
- LI Y X, CHEN L Y, LI Y, et al. Differences in *in vitro* digestibility of curcumin nanoemulsions stabilized by whey protein isolate and whey protein isolate-(-)-epigallocatechin-3-gallate[J]. *Food Science*, 2024, 45(1): 1-7.
- [34] 岳文婷. SPI-葡聚糖衍生物-姜黄素纳米凝胶的构建及其对橙汁饮料品质的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2022.
- YUE W T. Construction of soy protein isolate-dextran conjugate-curcumin nanogels and its effects on the quality of orange juice beverage [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2022.
- [35] 谢荷香. 抗菌及抗氧化性米肽-壳聚糖膜的形成及姜黄素和纳米氧化锌的负载应用研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2023.
- XIE H X. Development of antioxidant and antibacterial rice protein hydrolysate/chitosan film and its incorporation with curcumin and ZnO nanoparticles[D]. Nanchang: Nanchang University, 2023.

Studies on Preparation, Characterization and Release Kinetics of Pickering Emulsion Loaded with Curcumin

LI Jiayan¹, ZHUOMA Yangji¹, SUN Aidi¹, GAO Bin¹, SHI Li^{2*}, WANG Xuefeng^{1*}

¹College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201

²Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032)

Abstract Objectives: Curcumin has good biological activity, but its application in food is limited because of its poor solubility, stability and bioaccessibility. Methods: Curcumin loaded Pickering emulsion was prepared by using whey protein isolate (WPI) and soy protein isolate (SPI) as solid particles. The rheological properties, microstructure and secondary structure of the emulsions were characterized and simulated digestion *in vitro*. Results: The Pickering emulsion stabilized by WPI / SPI had a good embedding rate of curcumin, with a maximum of 74.33%, and had good storage stability. The rheological properties show that the Pickering emulsion exhibits good gel properties under low shear force.

The microstructure showed that the curcumin-loaded Pickering emulsion was oil-in-water type. The Fourier results showed that the relative content of protein secondary structure in Pickering emulsion was changed by hydrogen bonding after embedding curcumin. *In vitro* digestion results showed that WPI/SPI stabilized Pickering emulsion significantly improved the bioaccessibility (from 12.60% to 34.31%) and antioxidant activity of curcumin, and the release of curcumin *in vitro* conformed to the zero-order kinetic model. Conclusions: The Pickering emulsion stabilized by composite protein particles has good stability and can be used as a delivery carrier of curcumin to improve its bioaccessibility and further provide a reference basis for the stabilization, development and application of curcumin and other bioactive components.

Keywords curcumin; Pickering emulsion; structural characterization; bioaccessibility; release kinetics