

鱼鳞明胶水解物制备饮料的储藏及模拟消化稳定性

田桂林¹, 李昊昕², 董楠³, 付思⁴, 刘嘉^{1,2,3*}

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025) (2. 贵州医科大学公共卫生学院, 贵州贵阳 550025) (3. 贵州省农业科学院, 贵州省农业生物技术重点实验室, 食品加工研究所, 贵州贵阳 550025) (4. 遵义师范学院食品科技学院, 贵州遵义 563000)

摘要: 前期利用酸碱水解鱼鳞明胶 (Fish Scale Gelatin, FSG) 获得了表面疏水性增强的鱼鳞明胶水解物 (Fish Scale Gelatin Hydrolysate, FSGH), 有望在合成饮料的加工中应用。运用酸水解鱼鳞明胶水解物 (Acid-induced Fish Scale Gelatin Hydrolyzate, AcFSGH) 和碱水解鱼鳞明胶水解物 (Alkali-induced Fish Scale Gelatin Hydrolyzate, AlFSGH) 负载姜黄素, 发现搅拌速率为 600 r/min、温度为 40 °C、明胶水解物质量浓度为 4 mg/mL 时, AcFSGH 溶液中的姜黄素含量达到最高 (22.24 μg/mL); 当搅拌速率为 400 r/min、温度为 30 °C、明胶水解物质量浓度为 2 mg/mL 时, AlFSGH 溶液中的姜黄素含量达到最高 (14.07 μg/mL)。利用 FSGH 负载姜黄素加工了饮料并探究其在热加工及储藏条件下的稳定性, 发现 AcFSGH 负载姜黄素 (Curcumin Loaded Acid-induced Fish Scale Gelatin Hydrolyzate, CL-AcFSGH) 饮料在 70、80、90 °C 下加热 50 min 后, 其中的姜黄素降解速率最慢, 并在储藏第 36 天时, 姜黄素保留率最高 (在 25 °C 下保留率为 72.73%, 在 4 °C 下保留率为 81.35%)。进一步, 在模拟体外消化中发现, 蛋白质和姜黄素的保留率顺序为: AcFSGH>AlFSGH>FSG。综上所述, FSGH 对疏水性营养物质在加工、储藏及胃肠道过程中具有较强的保护效果, 该研究可为 FSG 载体的开发和未来饮料的研发提供一定的参考价值。

关键词: 鱼鳞明胶; 姜黄素; 模拟胃肠消化; 饮料; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2025)02-183-191

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.2.1482

Storage and Simulated Digestion Stability of Fish Scale Gelatin Hydrolysate for Prepared Beverages

TIAN Guilin¹, LI Haoxin², DONG Nan³, FU Si⁴, LIU Jia^{1,2,3*}

(1.College of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China) (2.School of College of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)(3.Guizhou Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Institute of Food Processing Technology, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550025, China)(4.Zunyi Normal university, College of Food Science and Technology, Zunyi 563000, China)

Abstract: Fish scale gelatin hydrolysate (FSGH) with enhanced surface hydrophobicity was obtained by acid-base hydrolysis of fish scale gelatin (FSG), which is expected to be applied in the processing of formulated drinks. Curcumin was loaded with acid-hydrolyzed fish scale gelatin hydrolysate (AcFSGH) and alkali-hydrolyzed fish scale gelatin hydrolysate

引文格式:

田桂林,李昊昕,董楠,等.鱼鳞明胶水解物制备饮料的储藏及模拟消化稳定性[J].现代食品科技,2025,41(2):183-191.

TIAN Guilin, LI Haoxin, DONG Nan, et al. Storage and simulated digestion stability of fish scale gelatin hydrolysate for prepared beverages [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(2): 183-191.

收稿日期: 2023-12-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32060545 ; 32260602); 黔科合基础项目 (ZK [2023]-334)

作者简介: 田桂林 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 1826569002@qq.com

通讯作者: 刘嘉 (1985-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品加工, E-mail: mcgrady456@163.com

(AIFSGH), respectively, and it was found that the curcumin content in the AcFSGH solution reached the highest (22.24 $\mu\text{g/mL}$) under these conditions: stirring rate, 600 r/min; temperature, 40 $^{\circ}\text{C}$; gelatin hydrolysate concentration, 4 mg/mL; the curcumin content in the AIFSGH solution reached the maximum level (14.07 $\mu\text{g/mL}$) at a stirring rate of 400 r/min, 30 $^{\circ}\text{C}$, and a gelatin hydrolysate concentration of 2 mg/mL. The drink was processed with CL-FSGH and its stability under thermal processing and storage conditions was investigated. It was found that the curcumin degradation rate of curcumin-loaded AcFSGH (CL-AcFSGH) drink was the lowest after heating at 70, 80 and 90 $^{\circ}\text{C}$ for 50 min. The curcumin retention rate was the highest on the 36th day of storage (retention rates were 72.73% at 25 $^{\circ}\text{C}$ and 81.35% at 4 $^{\circ}\text{C}$, respectively). Furthermore, the protein and curcumin retention during in vitro simulated digestion followed this order: AcFSGH>AIFSGH>FSG. In summary, FSGH exhibited a relatively strong protective effect on hydrophobic nutrients during processing, storage, and gastrointestinal digestion processes. This study not only provides a certain reference value for the development of FSG carriers and the research and development of future beverages.

Key words: fish scale gelatin; curcumin; simulated gastrointestinal digestion; drink; stability

在水产市场中, 鱼鳞多是作为固体废弃物被丢弃, 其质量约占鱼体总质量分数的 4.5%。鱼鳞中含有大量明胶类物质, 富含胶原蛋白^[1,2], 然而, FSG 因其流变性和凝胶性比哺乳动物明胶差而限制了其应用^[3]。姜黄素是植物姜黄中的一种多酚, 已有研究证实了其在卵巢癌、食管癌等疾病中具有调节糖代谢的潜力^[4,5], 但姜黄素存在难溶解^[6,7]、体内代谢快、生物利用度低^[8]等缺点而限制了其应用范围。有研究通过美拉德反应将鱼胶和甲壳低聚糖结合在一起形成的糖基化鱼胶载体用于荷载姜黄素^[9], 鱼胶溶液中姜黄素的质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 。以上的研究发现说明 FSG 具有荷载疏水性小分子的特性, 若能将 FSG 具有的特性用于市场的生产化利用, 具有较好的发展前景。

前期研究^[10], 利用酸碱适度水解 FSG, 获得了疏水性增强的鱼鳞明胶水解物, 可荷载姜黄素形成水溶液。饮料作为日常生活中的消遣饮品, 广受消费者的青睐, 然而长期摄入含糖饮料会增加患代谢疾病的风险^[11]。因此, 研发有益于身体健康的饮料是目前饮料市场亟需解决的问题。考虑 FSG 具有一定的营养价值, 若舍弃不仅会造成资源浪费还会污染环境, 用 FSG 荷载姜黄素制备饮料不仅可以帮助人体摄取特定营养素(姜黄素), 还可以减少鱼鳞的浪费和扩大姜黄素的应用范围。因此, 本研究通过调节 FSG 荷载姜黄素的外部环境条件, 以期获得 FSG 对姜黄素的最大荷载量。进一步探讨了该产品在热加工、储藏及模拟胃肠消化过程中姜黄素的稳定性。该研究以期 FSG 的市场化应用寻找突破口, 也为饮料产品开辟有效的技术途径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鲤鱼鱼鳞, 购买于当地市场。首先用自来水冲洗鱼鳞 3 次, 去除粘附的鱼皮和其他杂质。洗净的鱼鳞放入烤箱, 40 $^{\circ}\text{C}$ 下烘干 12 h, 以去除大部分水分, 然后将烘箱温度提高至 60 $^{\circ}\text{C}$, 使鱼鳞最终含水量质量分数达到 15%; 姜黄素(纯度 > 90%), 德国默克-舒哈特集团有限公司; 盐酸 AR 级, 国药集团化学试剂北京有限公司; 胃蛋白酶(4 000 U/g)、考马斯亮蓝 G-250、柠檬酸, 北京索莱宝科技有限公司; 胰蛋白酶(3 000 U/g)、氢氧化钠, 上海源叶生物科技有限公司, 所用其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

BS-223S 型电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; H1650 高速离心机, 湘仪仪器有限公司; ILNESA-L5 紫外分光光度计, 上海仪电分析仪器有限公司制造; HWS-28 型电热恒温水浴锅, 上海-恒科学仪器有限公司; PB-10-pH 计, 北京赛多利斯科学仪器有限公司; MS-H280 型磁力搅拌器, 大龙兴创实验仪器有限公司; SCINTZ-10YD/A 型冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Agilent 1260 高效液相色谱仪, 安捷伦科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 FSG 及 AcFSGH 和 AIFSGH 的制备

FSG 依据前期研究方法^[12]提取, 干燥的鱼鳞用粉碎机研磨 2 min, 然后放入装有蒸馏水(鱼鳞:水

=1 g:15 mL) 的烧瓶中, 用磁力搅拌器在 90 °C 下搅拌 1 h。提取后用自来水冷却至 25 °C, 4 000×g 离心 5 min, 去除残留物。将 FSG 上清液放入透析袋中透析 24 h, 排除球状分子的尺寸为 14 000 g/mol。提取物经过透析后, 转移至冰箱 (-18 °C)。随后, 利用真空冷冻干燥机将冻结样品冻干, 冻干样经粉碎过 100 目筛后放入干燥器中备用以供后续分析, 最终产品得率的质量分数为 25.5% (*m/m*)。用 0.2 mol/L 柠檬酸 (pH 值 2.25) 和 0.1 mol/L 氢氧化钠 (pH 值 12.5) 分别在 25 °C 下对 FSG 水解液 (FSG: 水解液 =1 g:200 mL) 进行水解 3 h 和 2 h, 再用 0.1 mol/L 盐酸和 0.1 mol/L 氢氧化钠中和 (pH 值 7.0)。将得到的溶液透析 12 h (分子量截断 =14 000 g/mol), 透析后的粉末冷冻干燥并储存在 4 °C 下以便进一步分析。

1.3.2 FSG及FSGH荷载姜黄素

参照 Liu 等^[13]的方法, 首先将冻干的 FSG 或 FSGH (40 mg) 分别溶解于蒸馏水 (20 mL) 中, 然后加入 10 mg 姜黄素粉末于上述 20 mL FSG、FSGH 溶液中, 并以 12 000 r/min 的速率均质 1 min。最后, 将此分散液在特定搅拌速率及室温下继续搅拌 24 h。待搅拌结束后, 将混合液在离心机中以 5 600×g 离心 10 min, 收集上清液待测。

1.3.3 FSG及FSGH荷载姜黄素质量浓度的测定

FSG 荷载姜黄素 (Curcumin Loaded Fish Scale Gelatin, CL-FSG) 或 FSGH 荷载姜黄素 (Curcumin Loaded Fish Scale Gelatin Hydrolyzate, CL-FSGH) 中姜黄素的质量浓度通过高效液相色谱 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 测定^[13]。将 CL-FSG、CL-FSGH 溶液分别与甲醇 (1:4, *V/V*) 混合, 以提取疏水性腔体中的姜黄素。混合物在漩涡混合器上混合 2 min, 然后, 在 5 600×g 条件下离心 10 min。离心后, 将溶液过 0.45 μm 的滤膜后待测。色谱分析条件: 色谱柱: Thermo BDS C18 (250×4.6 mm i.d.), 粒径 5 μm; 流动相 A: 0.2% 甲酸; 流动相 B: 100% 乙腈; 梯度洗脱: 开始, A:B=65%:35%, *V/V*; 0 到 10 min, B 从 35% 升高到 65%, *V/V*; 10 到 15 min, B 从 65% 升高到 70%, *V/V*; 15 到 20 min, B 从 70% 升高到 35%, *V/V*; 流量: 0.7 mL/min; 进样量: 10 μL; 柱温: 35 °C; 检测器为 Agilent 1260 Infinity 二极管阵列检测器 (DAD), 检测波长 420 nm。姜黄素浓度通过外部校准曲线进行量化, 并以 mg/mL 表示。

1.3.4 外部因素对FSG及FSGH荷载姜黄素效率的影响

1.3.4.1 搅拌速率对FSG及FSGH荷载姜黄素效率的影响

将姜黄素粉末 (10 mg) 分别加至 2 mg/mL FSG、AcFSGH 和 AIFSGH 溶液中。然后以 12 000 r/min 分散 1 min。最后, 将此三种分散液分别在搅拌速率为 300、400、500、600 和 700 r/min 及 30 °C 下持续搅拌 24 h。

1.3.4.2 温度对FSG及FSGH荷载姜黄素效率的影响

参考刘嘉^[14]的方法, 将姜黄素粉末 (10 mg) 分别加至 2 mg/mL FSG、AcFSGH 和 AIFSGH 溶液中。然后以 12 000 r/min 分散 1 min。最后, 将此三种分散液分别在搅拌速率为 500、600 和 400 r/min 及 20、30、40、50 和 60 °C 下持续搅拌 24 h。

1.3.4.3 FSG及FSGH的浓度对FSG及FSGH荷载姜黄素效率的影响

分别向质量浓度为 1、2、3、4 和 5 mg/mL 的 FSG、AcFSGH 和 AIFSGH 溶液中加入 10 mg 姜黄素粉末。然后以 12 000 r/min 分散 1 min。最后, 将此三种分散液分别在搅拌速率为 500、600 和 400 r/min 及 30、30 和 40 °C 下持续搅拌 24 h。

1.3.5 CL-FSG及CL-FSGH饮料体系中姜黄素的热降解及储藏动力学

1.3.5.1 CL-FSG、CL-FSGH饮料中姜黄素的热降解动力学研究

将 CL-FSG、CL-FSGH 饮料装入具塞试管中, 分别在 70、80 和 90 °C 下加热, 在 10、20、30、40 和 50 min 时取出试管后迅速冷却至室温。然后, 通过 HPLC 测定饮料中姜黄素的峰面积, 并计算相关动力学参数。

1.3.5.2 CL-FSG、CL-FSGH饮料中姜黄素的储藏动力学研究

取适量 CL-FSG、CL-FSGH 饮料装入具塞塑料管, 避光放置于 4 °C 和 25 °C 下, 样品分别于 1、2、4、6、12、20、28 和 36 d 时取出。然后, 测定饮料中姜黄素的色谱峰面积, 计算相关动力学参数。

1.3.5.3 姜黄素降解动力学的计算

(1) 零级反应动力学参数的计算^[15]

$$-d[A]/dt=k[A]^m \quad (1)$$

$$A_t=A_0-kt \quad (2)$$

$$t_{1/2}=A_0/(2k) \quad (3)$$

式中:

A —加热后姜黄素的色谱峰面积, cm^2 ;

A_0 —初始时刻姜黄素的色谱峰面积, cm^2 ;

A_t —一定温度下加热 t_{\min} 或储藏 t_d 后姜黄素的色谱峰面积, cm^2 ;

$t_{1/2}$ —姜黄素降解的半衰期, d;

k —反应速率常数, min^{-1} 。

(2) 一级反应动力学参数的计算^[16,17]

$$\ln(A_t/A_0)=k \times t \quad (4)$$

$$t_{1/2}=-\ln 0.5 \times k^{-1} \quad (5)$$

式中:

A_0 —初始时刻姜黄素的色谱峰面积, cm^2 ;

A_t —一定温度下加热 t_{\min} 或储藏 t_d 后姜黄素的色谱峰面积, cm^2 。

反应活化能 (E_a) 按式 (6) 计算:

$$k=k_0 \exp \left[\frac{-E_a}{RT} \right] \quad (6)$$

式中:

R —气体常数, $8.314 \times 10^{-3} \text{ kJ}/(\text{mol} \cdot \text{K})$;

k —热降解速率常数, min^{-1} ;

k_0 —频率常数;

T —绝对温度, K 。

1.3.6 CL-FSG及CL-FSGH饮料中蛋白质的体外模拟胃肠稳定性

1.3.6.1 模拟胃肠液的配制

模拟胃液 (Simulated Gastro Fluids, SGF) 由 2.0 g NaCl, 7.0 mL HCl (质量分数为 37%), 900 mL 蒸馏水和 100 mL 含有 3.2 g 胃蛋白酶的酶溶液组成^[18]。650 mL KH_2PO_4 (6.8 g)、160 mL 含有 10.0 g 胰蛋白酶的酶液和 190 mL 0.2 mol/L NaOH 组成模拟肠液 (Simulated Intestinal Fluids, SIF)。用 HCl 和 NaOH 将 SGF 和 SIF 的最终 pH 值分别调整为 1.2 和 7.2。

1.3.6.2 体外模拟胃肠稳定性测试

将 4 mL CL-FSG、CL-FSGH 饮料与 16 mL SGF 或 SIF 在旋涡混合器上混合 (用塑料膜覆盖), 然后在 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的水浴中以 120 r/min 的速度搅拌培养。在设定的时间点 (0、10、20、30、40、60 和 90 min), 对 0.1 mL 混合溶液 (0.1 mL SGF 或 SIF 被重新加入到混合溶液中) 进行采集, 通过考马斯亮蓝法^[19]测定其蛋白质含量。

$$P = \frac{C_t}{C_0} \times 100\% \quad (7)$$

式中:

P —蛋白质保留率, %;

C_t —一定时间间隔后溶液中蛋白质的质量浓度, mg/mL ;

C_0 —初始蛋白质的质量浓度, mg/mL 。

1.3.7 CL-FSG及CL-FSGH饮料中姜黄素的体外模拟胃肠稳定性

1.3.7.1 模拟胃肠液的配制

方法同 1.3.6.1。

1.3.7.2 体外模拟胃肠稳定性测试

方法同 1.3.6.2, 通过 HPLC 测定^[13]其姜黄素含量。

$$L = \frac{C_t}{C_0} \times 100\% \quad (8)$$

式中:

L —姜黄素保留率, %;

C_t —一定时间间隔后姜黄素的质量浓度, mg/mL ;

C_0 —是初始溶液中姜黄素的质量浓度, mg/mL 。

1.4 统计分析

所有实验均重复 3 次, 结果以平均值 \pm 标准差表示, SPSS 26 软件对数据进行 Turkey's 检验显著性分析 ($P < 0.05$), 使用 Origin 2021 作图。

2 结果与分析

2.1 环境因素对FSGH荷载姜黄素效率的单一因素试验结果

如图 1 所示, FSGH 荷载姜黄素效率受环境因素的影响。由图 1a 可知, 在搅拌速率为 300、400、500 r/min 情况下, AIFSGH 溶液中姜黄素质量浓度明显高于 AcFSGH 组, 当转速进一步提高时, AcFSGH 组高于 AIFSGH, 这是因为通过前期研究^[10], 发现 AcFSGH 与姜黄素之间的疏水相互作用比 AIFSGH 更强, 且与姜黄素的结合位点比 AIFSGH 更多, 使得 AcFSGH 组的姜黄素含量明显高于 AIFSGH 组, 并且能够抵抗高转速带来的姜黄素分散, 与本实验研究结果一致。姜黄素在 AcFSGH 溶液中的质量浓度在 600 r/min 时达到最大值, 为 $20.56 \mu\text{g/mL}$, 而 AIFSGH 溶液中姜黄素质量浓度在 400 r/min 时达到最大值 ($13.71 \mu\text{g/mL}$)。相比之下, FSG 对姜黄素的荷载效果最差, 在速率为 500 r/min 时, 溶液中姜黄素质量浓度达到最大也仅为 $3.85 \mu\text{g/mL}$ 。从上述结果可以推断, AcFSGH 对姜黄素的增溶效果显著高于 AIFSGH 和 FSG, 有研究报道, 柠檬酸的交联会导致更小的粒子具有更高的包封率^[20]。梅钰琪等^[21]利用蛋黄蛋白肽自组装形成纳米颗粒作为输送载体, 姜黄素的溶解度显著增加 ($50 \mu\text{g/mL}$)。当 FSG、FSGH 荷载姜黄素

时, 增大搅拌速率, 可以增加 FSGH 纳米颗粒与姜黄素之间的接触机会^[22], 能够让姜黄素进入纳米颗粒内部。但是, 随着速率的增加, 并不能增加溶液中姜黄素的质量浓度, 这可以解释为, 搅拌速度过快可能会导致姜黄素与 FSG 和 FSG 水解物的疏水基团分离^[10], 从而加速姜黄素的分散。因此, AcFSGH 的最适搅拌速率为 600 r/min, AIFSGH 最适为 400 r/min。

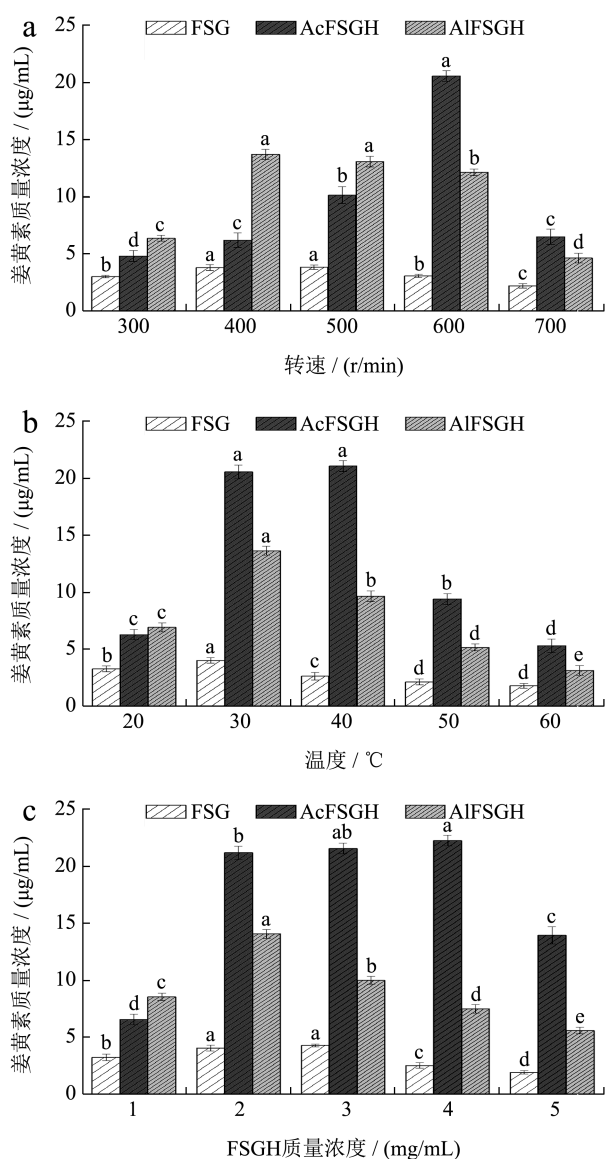


图1 环境因素对荷载姜黄素的 FSGH 中姜黄素质量浓度的影响

Fig.1 Effect of environmental factors on curcumin mass concentration in curcumin-loaded FSGH

注: 图中不同小写字母代表处理间姜黄素质量浓度有显著差异, $P < 0.05$ 。

从图 1b 可以看出, 随着温度的升高, 不同样品溶液中的姜黄素质量浓度呈先升高再降低的趋

势。AIFSGH 的温度在 30 °C 时, 姜黄素溶解度为 13.62 $\mu\text{g/mL}$ 。而 AcFSGH 对姜黄素的荷载量最高 (21.06 $\mu\text{g/mL}$) 时的温度为 40 °C。姜黄素的扩散系数随温度的升高而增加, 并且通过 O (OH 姜黄素)-H (水) 相互作用发生的水分子包围姜黄素分子的倾向也随温度的升高而增加^[23]。Shen 等^[24]通过制备壳聚糖 (CS) 纳米颗粒, 然后添加姜黄素得到姜黄素纳米颗粒 (CNP)。在 25~50 °C 范围内, 发现姜黄素和 CNPs 的水溶性随着温度的升高而显著增加 ($P < 0.05$)。姜黄素在 25 °C 时的水溶性为 0.017 $\mu\text{g/mL}$ 。加入 CS-TPP 纳米颗粒后, CNPs 的水溶性为 35.92 $\mu\text{g/mL}$, 至少提高了 2 100 倍。但较高的温度可能会增加 FSGH 疏水相互作用的强度^[25], 使得 FSGH 更容易形成团聚, 不利于姜黄素的包埋。故 AcFSGH 和 AIFSGH 的最适温度分别为 40、30 °C。

图 1c 说明 FSGH 的质量浓度影响 FSGH 荷载姜黄素的效率, 当 AcFSGH 质量浓度从 1 mg/mL 升高到 4 mg/mL 时, 姜黄素的溶解度最高为 22.24 $\mu\text{g/mL}$ 。而 AIFSGH 溶液中姜黄素含量在 AIFSGH 质量浓度为 2 mg/mL 时达到峰值 (14.07 $\mu\text{g/mL}$)。Sintov 等^[26]构建了邻香草醛改性淀粉纳米颗粒用于负载姜黄素, 姜黄素负载量随着邻香草醛质量浓度的增加而增加, 质量分数为 15% 的邻香草醛交联淀粉纳米粒子的包埋效率为 58.7%。值得一提的是, 进一步增加 FSGH 的质量浓度并不会提高姜黄素的溶解度, 反而使姜黄素质量浓度显著降低 ($P < 0.05$)。可能是由于溶液中的 FSGH 的质量浓度较高时, 纳米粒子发生絮凝沉降^[27], 致使溶液粘度变大, 姜黄素的包埋受到影响。因此, AcFSGH、AIFSGH 的最适质量浓度分别为 4 mg/mL 和 2 mg/mL 时有利于姜黄素的荷载。

2.2 CL-FSG和CL-FSGH饮料中姜黄素的热降解和储藏动力学

2.2.1 CL-FSG和CL-FSGH饮料中姜黄素的热降解动力学

如图 2a、2b 和 2c 所示, 姜黄素在三种不同饮料中的降解速率均符合一级动力学方程, 但存在明显差异。图 2d 表示姜黄素在不同饮料中降解的 Arrhenius 曲线, 曲线的斜率分别表示不同样品中姜黄素的降解速率, CL-AcFSGH 饮料中姜黄素的降解动力学曲线的斜率最低, 说明 CL-AcFSGH 饮料中的姜黄素比在 CL-AIFSGH 和 CL-FSG 饮料中更稳定。Liang 等^[28]利用琥珀酸辛烯酯酸酐脱支淀粉基作为姜黄素的纳米载体, 发现这种载体荷载的姜

黄素具有较强的热稳定性。如表 1 所示, CL-AcFSGH 和 CL-AIFSGH 饮料中姜黄素的活化能(分别为 41.57 kJ/mol 和 34.30 kJ/mol)比 CL-FSG 饮料中姜

黄素的活化能(32.74 kJ/mol)高,说明姜黄素在 CL-AcFSGH 和 CL-AIFSGH 饮料中相对稳定,相比之下,姜黄素在 CL-FSG 饮料中的热稳定性较差。

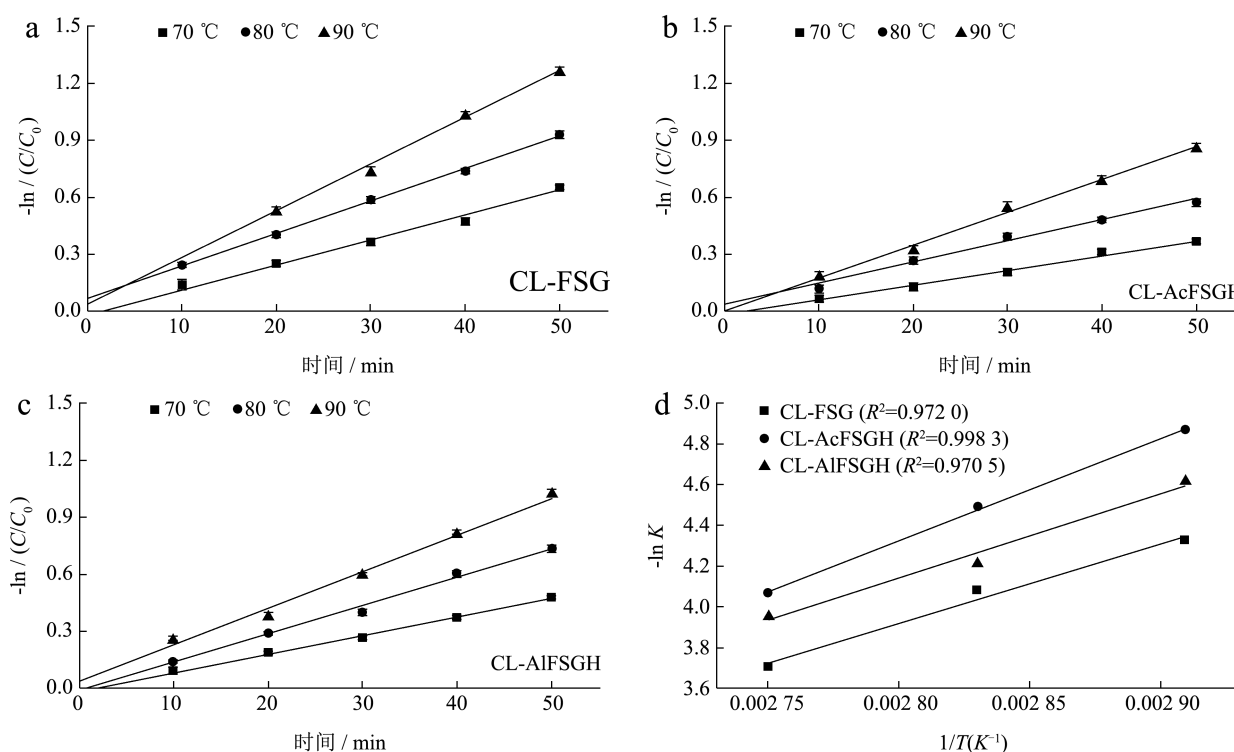


图 2 姜黄素在不同饮料中的降解情况

Fig.2 Degradation of curcumin in different drinks

表 1 不同饮料中姜黄素的热降解动力学参数

Table 1 Thermal degradation kinetic parameters of curcumin in different drinks

种类	温度/°C	降解速率常数 $k(\text{min}^{-1}) (R^2)$	半衰期 $t_{1/2}/\text{min}$	活化能 $E_a/(\text{kJ}/\text{mol}) (R^2)$
CL-FSG	70	0.013 1 (0.986 8)	52.91	32.74 ($R^2=0.972 0$)
	80	0.017 0 (0.998 4)	40.77	
	90	0.024 6 (0.995 6)	28.18	
CL-AcFSGH	70	0.007 7 (0.986 7)	90.02	41.57 ($R^2=0.998 3$)
	80	0.011 3 (0.979 2)	61.34	
	90	0.017 1 (0.995 1)	40.53	
CL-AIFSGH	70	0.009 8 (0.994 7)	70.73	34.30 ($R^2=0.970 5$)
	80	0.014 8 (0.994 3)	46.83	
	90	0.019 1 (0.985 9)	36.29	

表 2 不同饮料中姜黄素在 25 °C 和 4 °C 储藏过程中的降解参数

Table 2 Degradation parameters of curcumin in different drinks during storage at 25 °C and 4 °C

温度/°C	种类	降解速率常数 $k(R^2)$	半衰期 $t_{1/2}/\text{d}$	反应级数
25	CL-FSG	0.032 5 [$\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{d})$] (0.995 8)	47	一级反应动力学
	CL-AcFSGH	0.169 7 [$\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{d})$] (0.995 5)	64	
	CL-AIFSGH	0.127 2 [$\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{d})$] (0.994 8)	52	
4	CL-FSG	0.025 3 [$\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{d})$] (0.987 8)	60	零级反应动力学
	CL-AcFSGH	0.113 9 [$\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{d})$] (0.963 2)	96	
	CL-AIFSGH	0.095 8 [$\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{d})$] (0.930 2)	74	

2.2.2 CL-FSG和CL-FSGH饮料中姜黄素的储藏动力学

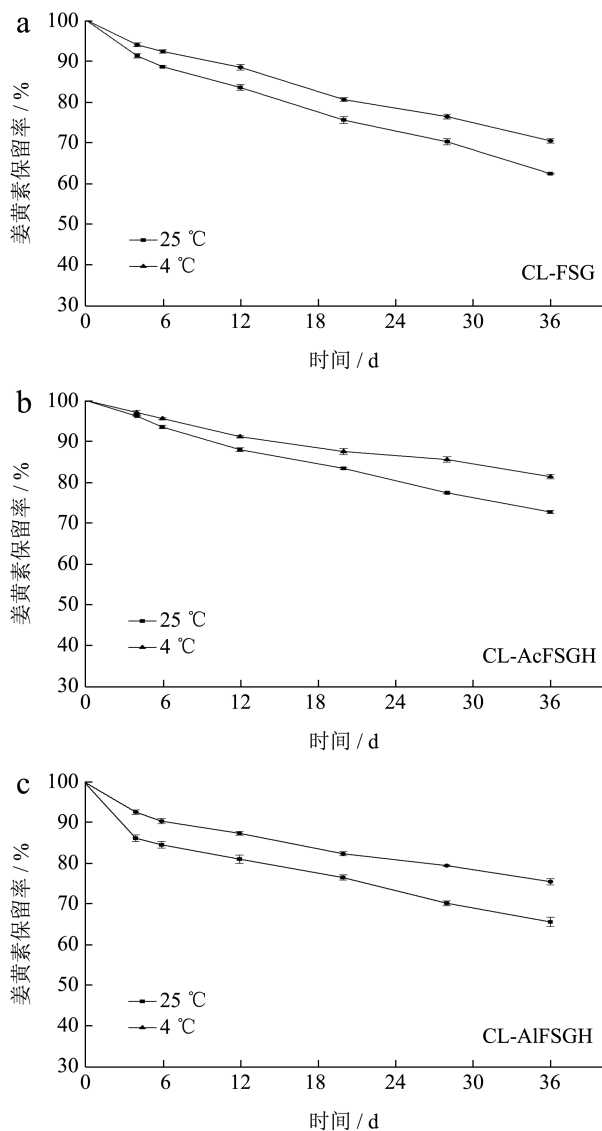


图 3 25 °C和 4 °C下不同饮料中姜黄素的保留率

Fig.3 Curcumin retention in different drinks at 25 °C and 4 °C

由图 3 所示，储藏温度对 CL-FSGH 中姜黄素的稳定性具有一定的影响。当储藏温度为 25 °C，在 36 d 时，CL-FSG、CL-AcFSGH、CL-AIFSGH 中姜黄素的保留率分别为 62.24%、72.73% 和 65.88%。当储藏温度为 4 °C、在 36 d 时，CL-FSG、CL-AcFSGH、CL-AIFSGH 中姜黄素的保留率分别为 70.29%、81.35% 和 75.67%。姜黄素在不同样品中保留率的差异说明 CL-AcFSGH 中姜黄素更稳定，且在不同样品中姜黄素的保留率在 4 °C 下均比在 25 °C 下更高。将姜黄素的保留率与储藏动力学研究结合，获得相关动力学参数。如表 2 所示，根据各贮藏温度下的相关系数 R^2 ，25 °C 和 4 °C 贮藏温度下不同饮

料中的姜黄素降解分别符合一级反应和零级动力学方程。通过计算分别得到不同贮藏温度下饮料中姜黄素的降解速率常数及半衰期。在 4 °C 时，姜黄素在 CL-AcFSGH 饮料中的半衰期最长，即温度越高，半衰期越短，越稳定。阎佳楠等^[29]用虾夷扇贝 / κ -卡拉胶 /KCl 水凝胶珠负载姜黄素，在 4 °C 条件下保存 30 d 后，发现姜黄素保留率达 90% 以上。结果表明，温度可有效改变饮料的物理化学稳定性及姜黄素的降解，适当的低温更有助于延长饮料的保存。

2.3 CL-FSG及CL-FSGH饮料中蛋白质的体外模拟胃肠稳定性

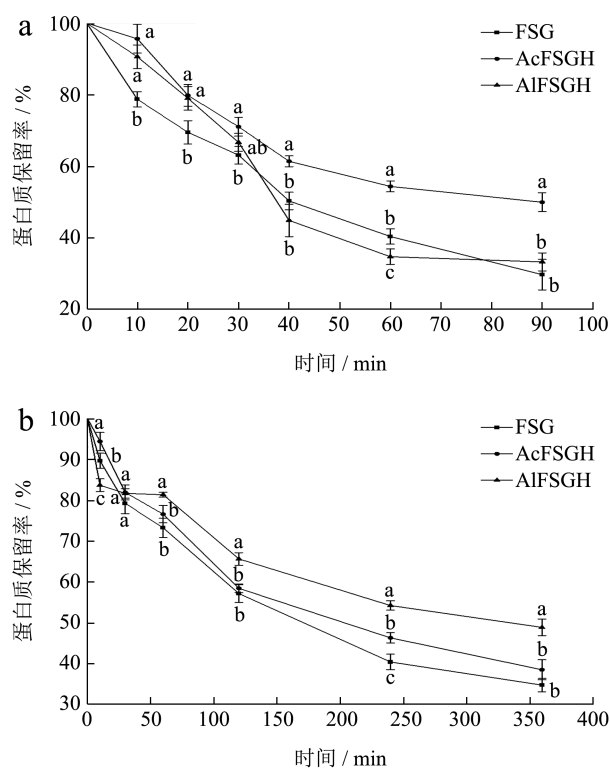


图 4 体外模拟胃 (a) 和肠 (b) 液中 CL-FSG、CL-FSGH 饮料中蛋白质的稳定性

Fig.4 *In vitro* simulation of protein stability in drink of CL-FSG and CL-FSGH in gastral (a) and intestinal (b) fluids

注：不同小写字母代表处理间数据有显著差异， $P < 0.05$ 。

如图 4 可知，FSG、AcFSGH 和 AIFSGH 饮料中蛋白质保留率在体外模拟胃消化结束时分别为 29.79%、50% 和 33.33%。经过胃消化后，不同处理样品的蛋白质保留率呈不同程度下降，这可能是因为蛋白分子经模拟胃液的作用，被模拟胃液 (pH 值 = 1.2) 中的胃蛋白酶分解，蛋白分子结构展开，导致 β -折叠结构含量下降^[30]。在胃消化 40 min 前，

蛋白质保留率急剧下降, 然后趋于平缓。Hu 等^[31]发现磷酸化处理可引起蛋白质变性, 导致聚集团簇, 不易溶解。而在体外模拟肠道消化结束时, FSG 和 AcFSGH, AIFSGH 饮料中蛋白质保留率分别为 34.90%、38.65% 和 49%, 这可能是酸/碱水解改变了 FSG 的二级和三级结构, 并且随着 pH 值增加会导致有序二级结构的丧失, 并降低明胶的表面疏水性^[32]。CL-FSGH 饮料中蛋白质的体外保留率研究表明, 酸/碱改性的 FSG 并不会显著降低蛋白质的营养价值。

2.4 CL-FSG及CL-FSGH饮料中姜黄素的体外模拟胃肠稳定性

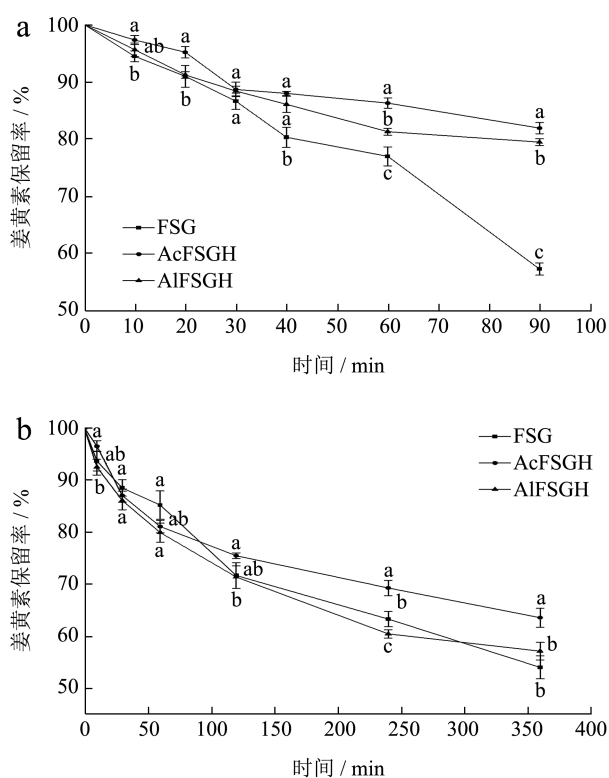


图5 体外模拟胃 (a) 和肠 (b) 液中 CL-FSG、CL-FSGH 饮料中姜黄素的稳定性

Fig.5 *In vitro* simulation of curcumin stability of CL-FSG and CL-FSGH drink in gastric (a) and intestinal (b) fluids

注: 不同小写字母代表处理间数据有显著差异, $P < 0.05$ 。

如图5所示, 在体外模拟胃消化结束时, FSG、AcFSGH 和 AIFSGH 饮料中姜黄素保留率分别为 57.25%、81.88% 和 79.44%。而在体外模拟肠道消化结束时, FSG 和 AcFSGH, AIFSGH 饮料中姜黄素保留率分别为 54.19%、63.69% 和 57.30%。由实验结果可知, 不同饮料中姜黄素在模拟胃肠液中的

保留率具有一定的差异, 其中, AcFSGH 饮料中姜黄素的保留率最高, 而 FSG 最低。造成这种差异的原因可能是姜黄素在 pH 值变化过程中的不稳定性 and 结构变化两个方面: (1) 在酸性 pH 值环境下, 符合自氧化过程条件的自由基驱动的 O_2 的加入, 使姜黄素自氧化为双环戊二酮^[33]。(2) 在碱性 pH 值环境下, 发生水解反应和氧化反应, 会使姜黄素降解为阿魏酰甲烷和阿魏酸^[33]。 H^+ 参与了姜黄素的自氧化过程, 从过氧自由基到螺环氧化物的结构转变。因此, H^+ 穿过 FSG 和 FSGH 构建的物理屏障的渗透率决定了自组装的保护效果。很明显, 荷载姜黄素的样品在模拟肠液 (SIF) 中显示出比在模拟胃液 (SGF) 中更高的降解率。徐紫嫣等^[34]利用微胶囊技术以果胶、壳聚糖为壁材对姜黄素进行包被处理, 发现果胶/壳聚糖姜黄素微胶囊在人工胃液 2 h 后保护率仍 $> 60\%$, 说明经包埋处理的姜黄素能够在人体胃肠得到有效保护免受微环境的影响。综上所述, 经酸碱诱导 FSGH 水解物可以作为姜黄素的理想载体, 在体外模拟胃肠消化过程中对姜黄素发挥了更好的保护作用, 可以有效保证其在人体内的吸收利用。

3 结论

本文以 FSG 作为研究对象, 采用酸水解法和碱水解法改性 FSG, 以姜黄素为荷载物质制备饮料。通过单因素实验研究了搅拌速率、温度和 FSGH 浓度对姜黄素荷载效果的影响, 以确定最适外部环境条件, 探讨了 CL-FSGH 饮料体系中姜黄素的热加工、储藏及体外模拟消化稳定性。研究发现, AcFSGH 荷载姜黄素的最适条件为搅拌速率 600 r/min、温度 40 °C、AcFSGH 质量浓度 4 mg/mL, 而 AIFSGH 荷载姜黄素的量在搅拌速率为 400 r/min、温度 30 °C、质量浓度 2 mg/mL 时达到最高。同时发现 CL-AcFSGH 饮料中的姜黄素在热降解和储藏过程中最稳定, 且 CL-AcFSGH 饮料体系中蛋白质和姜黄素在模拟胃肠消化过程中其保留率最高。因此, AcFSGH 可作为良好的姜黄素载体, 本研究可为 FSG 的高值化利用以及姜黄素饮料的研发提供理论依据。

参考文献

- [1] LI J, YU X, TANG W, et al. Characterization of food gels prepared from the water extract of fish (*Cyprinus carpio* L.) scales: from molecular components to sensory attributes [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112: 106263.
- [2] HUANG C, KUO J, WU S, et al. Isolation and characterization

- of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis* sp.) by a novel extrusion-hydro-extraction process [J]. Food Chemistry, 2016, 190: 997-1006.
- [3] HUANG T, TU Z C, SHANGGUAN X C, et al. Fish gelatin modifications: a comprehensive review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 86: 260-269.
- [4] 刘小平,王劲进,王铭远,等.姜黄素逆转卵巢癌细胞紫杉醇耐药的机制研究[J].湖南师范大学学报(医学版), 2021,18(3):109-113.
- [5] 张凤娟.糖代谢机制在丹参酮II A和姜黄素抑制食管癌细胞增殖的作用研究[D].北京:北京工业大学,2017.
- [6] 李玉倩,李学军.姜黄素抗肿瘤作用基础与临床研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2020,34(5):321-335.
- [7] ANAND P, KUNNUMAKKARA A B, NEWMAN R A, et al. Bioavailability of curcumin: problems and promises [J]. Molecular Pharmaceutics, 2007, 4(6): 807-818.
- [8] DEMPE J S, SCHEERLE R K, PFEIFFER E, et al. Metabolism and permeability of curcumin in cultured caco-2 cells [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2013, 57(9): 1543-1549.
- [9] LIN S, CAI X, CHEN H, et al. Development of fish gelatin-chitoooligosaccharide conjugates through the maillard reaction for the encapsulation of curcumin [J]. Current Research in Food Science, 2022, 5: 1625-1639.
- [10] LI H, WAN MUSTAPHA W A, TIAN G, et al. Enhanced hydrophobic interaction between fish (*Cyprinus carpio* L.) scale gelatin and curcumin: mechanism study [J]. Food Chemistry, 2024, 431: 137102.
- [11] KENDIG M D, CHOW J Y L, MARTIRE S I, et al. Switching from sugar- to artificially-sweetened beverages: a 12-week trial [J]. Nutrients, 2023, 15(9): 2191.
- [12] LI J, TANG W J, LEI Z G, et al. Effect of polysaccharides on the gel characteristics of “Yu Dong” formed with fish (*Cyprinus carpio* L.) scale aqueous extract [J]. Food Chemistry, 2021, 338(15): 127792.
- [13] LIU J, LI J, MA Y, et al. Synthesis, characterization, and aqueous self-assembly of octenylsuccinate oat β -glucan [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(51): 12683-12691.
- [14] 刘嘉.OS-燕麦 β -葡聚糖酯自聚集体的构建及应用[D].重庆:西南大学,2015.
- [15] LABUZA T D. Theory and application of arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods [J]. Food Technology, 1982, 36(10): 55-74.
- [16] VERBEYST L, OEY I, Van der PLANCKEN I, et al. Kinetic study on the thermal and pressure degradation of anthocyanins in strawberries [J]. Food Chemistry, 2010, 123(2): 269-274.
- [17] KIRCA A, CEMEROĞLU B. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate [J]. Food Chemistry, 2003, 81(4): 583-587.
- [18] LIU J, LEI L, YE F, et al. Aggregates of octenylsuccinate oat β -glucan as novel capsules to stabilize curcumin over food processing, storage and digestive fluids and to enhance its bioavailability[J]. Food & Function, 2018, 9(1): 491-501.
- [19] SONMEZ E, KEKECOGLU M, SAHIN H, et al. An evaluation of the chemical composition and biological properties of anatolian royal jelly, drone brood and queen bee larvae [J]. European Food Research and Technology, 2023, 249(5): 1391-1401.
- [20] NOURBAKHS H, EMAM DJOMEH Z, MADADLOU A, et al. Antioxidant peptidic particles for delivery of gallic acid [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(1): e12767.
- [21] 梅钰琪,高亚轩,杨韵仪,等.蛋黄蛋白肽纳米颗粒对姜黄素的包埋与递送特性[J].食品科学,2023,44(21):14-22.
- [22] XIE L, BAI J, ZHANG X, et al. Simultaneous determination of curcuminoids in curcumae longae rhizoma and turmeric tea using liquid-phase microextraction based on solidification of floating deep eutectic solvent drop [J]. Microchemical Journal, 2020, 159: 105341.
- [23] GAZMEH M, KHAJENOORI M, YOUSEFI-NASAB S. Effect of temperature on curcumin solubility in a pressurized hot water solvent: experimental and molecular dynamics simulation [J]. International Communications in Heat and Mass Transfer, 2023, 146: 106918.
- [24] SHEN W, YAN M, WU S, et al. Chitosan nanoparticles embedded with curcumin and its application in pork antioxidant edible coating [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 204: 410-418.
- [25] SUN Q, FU Y, WANG W. Temperature effects on hydrophobic interactions: implications for protein unfolding [J]. Chemical Physics, 2022, 559: 111550.
- [26] SINTOV A C, YARIV D. A new nanoparticulate system based on divanillin-crosslinked starch: mode of manufacturing and *in-vitro* evaluation of skin penetration [J]. Starch-stärke, 2022, 74(1-2): 2100172.
- [27] LI H, WANG X, LI Y, et al. Effect of particle concentration on the flocculation and sedimentation of unstable Al_2O_3 - SiO_2 /water hybrid nanofluid [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2022, 24(12): 263.
- [28] LIANG S, DU J, HONG Y, et al. Octenyl succinate anhydride debranched starch-based nanocarriers for curcumin with improved stability and antioxidant activity [J]. Food Hydrocolloids, 2023, 135: 108118.
- [29] 阎佳楠,王昱乔,张竹君,等.基于 κ -卡拉胶/虾夷扇贝水凝胶珠改善姜黄素的理化稳定性和释放性能研究:中国食品科学技术学会第二十届年会[C].中国湖南长沙,2023.
- [30] 王中江,张潇元,隋晓楠,等.热处理大豆蛋白体外消化产物结构特征分析[J].食品科学,2017,38(1):20-26.
- [31] HU Z, QIU L, SUN Y, et al. Improvement of the solubility and emulsifying properties of rice bran protein by phosphorylation with sodium trimetaphosphate [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 288-299.
- [32] FAN Y, PENG G, PANG X, et al. Physicochemical, emulsifying, and interfacial properties of different whey protein aggregates obtained by thermal treatment [J]. Lwt-Food Science and Technology, 2021, 149: 111904.
- [33] SCHNEIDER C, GORDON O N, EDWARDS R L, et al. Degradation of curcumin: from mechanism to biological implications[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(35): 7606-7614.
- [34] 徐紫嫣,姜洋,刘学涛,等.果胶/壳聚糖姜黄素微胶囊制备及其体外人工胃肠道耐受性研究[J].中国畜牧兽医, 2023,50(6):2312-2320.