

短直链淀粉基复合颗粒包埋明日叶黄酮 乳液体系制备与表征

李华¹, 吴金鸿^{1*}, 白雪¹, 赵智睿¹, 曾纪豪¹, 盛漪¹, 刘建华², 陈昱铸³

(1. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240) (2. 宜宾学院材料与化学工程学院, 四川宜宾 644007)
(3. 四川陌儒生物科技有限公司, 四川宜宾 644699)

摘要: 该文通过添加短直链淀粉对玉米醇溶蛋白和果胶进行改性, 探究了不同短直链淀粉添加量对三元复合颗粒结构和乳化性的影响, 同时采用傅立叶红外光谱、高效凝胶排阻色谱等方法对三元复合颗粒进行了表征。进一步利用正交试验优化了包埋明日叶黄酮的皮克林乳液的制备参数, 开发一种明日叶黄酮的递送系统, 提高生物利用度。研究表明, 短直链淀粉的加入有效改善了玉米醇溶蛋白和果胶的两亲性, 短直链淀粉添加量为 0.4 g, 即短直链淀粉、玉米醇溶蛋白和果胶三者添加质量比为 0.16:1:1 时, 形成的三元复合颗粒粒径最小仅为 592.6 nm, 电位低至 -45.8 mV, 形成紧密堆积的网络结构, 且该复合颗粒能有效稳定皮克林乳液, 并保护明日叶黄酮耐受口腔及胃的消化环境, 有效提高其生物利用度, 达 49.35%。该研究为短直链淀粉基皮克林乳液的开发、在递送体系方面的应用及黄酮类化合物生物利用度的提高提供了理论参考。

关键词: 明日叶; 黄酮; 短直链淀粉; 皮克林乳液; 生物利用度

文章编号: 1673-9078(2024)08-14-22

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.1432

Preparation and Characterization of a Ternary Complex Particle Emulsion System Embedding *Angelica keiskei* Flavonoids

LI Hua¹, WU Jinhong^{1*}, BAI Xue¹, ZHAO Zhirui¹, ZENG Jihao¹, SHENG Yi¹, LIU Jianhua², CHEN Yuzhu³

(1. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

(2. School of Materials and Chemical Engineering, Yibin University, Yibin 644007, China)

(3. Sichuan Muru Biotechnology Co. Ltd., Yibin 644699, China)

Abstract: Zein and pectin were modified by adding short chain amylose, whereafter the effects of the different added amounts on the structure and emulsibility of the ternary complex particle were investigated. The ternary complex particles were then characterized using methods such as Fourier infrared spectroscopy and high-performance gel exclusion chromatography. Subsequently, the parameters for preparing the pickering emulsion embedded with *Angelica keiskei* flavonoids were optimized using an orthogonal experimental design, aiming to develop a delivery system for flavonoids with

引文格式:

李华, 吴金鸿, 白雪, 等. 短直链淀粉基复合颗粒包埋明日叶黄酮乳液体系制备与表征[J]. 现代食品科技, 2024, 40(8): 14-22.

LI Hua, WU Jinhong, BAI Xue, et al. Preparation and characterization of a ternary complex particle emulsion system embedding *Angelica keiskei* flavonoids [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 14-22.

收稿日期: 2023-11-30

基金项目: 嘉兴市科技特派员专项 (2022K107); 国家自然科学基金项目 (31972017); 宁波市公益性科技计划项目 (2022S141)

作者简介: 李华 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品工程, E-mail: lihual@sjtu.edu.cn

通讯作者: 吴金鸿 (1978-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 功能食品与现代食品加工, E-mail: wujinhong@sjtu.edu.cn

enhanced bioavailability. Results indicated that short chain amylose addition effectively improved the amphiphilicity of zein and pectin, forming ternary complex particles with the smallest particle size of 592.6 nm and the lowest Zeta potential of -45.8 mV with short chain amylose addition of 0.4 g and a mass ratio of short chain amylose, zein, and pectin of 0.16:1:1. Moreover, the ternary complex particles formed a tightly stacked network structure, and flavonoids extracted from *Angelica keiskei* can be protected to tolerate the digestive environment of the oral cavity and stomach, improving the bioavailability up to 49.35%. This study provides a theoretical reference for the development of short chain amylose-based pickering emulsions, their application in delivery systems, and improving flavonoid bioavailability.

Key words: *Angelica keiskei*; flavonoids; short chain amylose; Pickering emulsion; bioavailability

伞形科当归属多年生草本植物明日叶 (*Angelica keiskei* Koidzmi.) 自日本引入后, 已于我国山东、海南和江苏等多省份种植^[1]。大量文献研究表明, 作为药食两用植物, 明日叶化学组分丰富, 包括黄酮类、倍半萜和生物碱等, 目前经提取分离并已鉴定出的黄酮类化合物达 56 种, 代表性查尔酮类成分 (黄当归醇、4-羟基德里辛) 达 42 种^[2,3], 发挥着抗衰老、抗炎、抗肿瘤和抗病毒等生理功能^[4-8]。然而, 黄酮类化合物溶解度低、稳定性差、生物利用度低的特点限制了其在食品行业的应用^[9], 这推动了针对黄酮类化合物递送系统的研发。基于皮克林乳液的递送系统可增强黄酮类化合物的物理和化学稳定性, 提高包封效率, 同时提高其生物利用度^[10]。

淀粉基皮克林颗粒由于具有公认安全 (Generally Recognized as Safe, GRAS)、含量丰富、可生物降解和无毒无害等优势, 受到了广泛关注^[11,12], 但淀粉固有的颗粒尺寸大和亲水性等特点并不利于稳定乳液, 常通过物理和化学方法改性以减小尺寸并增强其疏水性^[13]。普鲁兰酶酶解后制得的短直链淀粉分子量小、链长短, 具有许多功能特性例如回生特性和凝胶特性, 且易于重新组合形成更有序的晶体结构, 也能促进与疏水化合物的相互作用^[14]。玉米醇溶蛋白含有丰富的赖氨酸和谷氨酸, 营养价值高且疏水性强, 具有一定抵抗胃强酸性环境和酶的作用的能力, 常应用作递送系统实现靶向释放。Liu 等^[15]采用反溶剂法制备了玉米醇溶蛋白-短直链淀粉二元复合颗粒并进行了表征, 发现短直链淀粉的存在增强了复合颗粒的稳定性, 改善了玉米醇溶蛋白的润湿性, 证实了该二元复合颗粒可以作为稳定皮克林乳液的理想稳定剂, 紧接着, 该课题组利用该二元复合颗粒稳定的皮克林乳液对山奈素、桔皮素和川陈皮素三种黄酮化合物进行了包封, 发现该乳液递送系统显著提高了黄酮化合物的自由基清除

能力, 延缓了脂质氧化效率, 其形成的高强度凝胶状网络结构在消化时帮助高油体系的脂质消化, 并提高了黄酮化合物的生物利用度^[16]。可见, 二元复合颗粒的形成能够在一定程度上改善消化特性, 提高被包埋物质的生物利用度, 但仍有文献报道在制备复合颗粒及制备皮克林乳液时使用的如高压均质机、高压临界 CO₂ 技术和微射流技术等会破坏玉米醇溶蛋白基复合颗粒的空间结构^[17]。果胶作为一种高分子生物涂层聚合物, 已经被广泛用于保护纳米及微米级蛋白基交替复合颗粒。Li 等^[18]构建了玉米醇溶蛋白-果胶-原花青素三元复合颗粒作稳定剂的皮克林乳液, 该三元复合颗粒在具有良好润湿性的同时, 还展现出作为递送体系的应用潜力, 将姜黄素的生物利用度提高至 39.7%。

因此, 本文在使用短直链淀粉改性玉米醇溶蛋白的同时, 加入果胶作为生物涂层保护蛋白基胶体颗粒以进一步提高其作递送体系的应用潜力。本文制备得到了短直链淀粉-玉米醇溶蛋白-果胶三元复合颗粒, 探究了不同短直链淀粉添加量对复合颗粒理化性质和乳化能力的影响, 随后使用该复合颗粒来稳定皮克林乳液, 并将皮克林乳液用作明日叶黄酮的递送体系, 针对该体系的理化性质和消化特性进行了探究。

1 材料与方法

1.1 原料

蜡质玉米淀粉 (食品级), 鑫瑞生物科技有限公司; 玉米醇溶蛋白: 普鲁兰酶 (2 000 npun/g), 阿拉丁试剂 (上海) 有限公司; 人工胃液 (Chp)、人工小肠液, 雷根生物 (生物试剂); 果胶 (酯化度质量分数为 70%), 新疆阜丰生物科技有限公司; 明日叶, 四川陌儒生物科技有限公司; 其余试剂均为分析纯级别。

1.2 仪器与设备

ICS-5000 型高效阴离子交换色谱, 美国 Dionex 公司; Nicolet6700 型傅里叶红外光谱仪, 美国赛默飞世尔科技公司; DSA100 型接触角测量仪, 德国 Kruss 克吕士科学仪器公司; Omni 型电位仪、纳米粒度仪, 美国布鲁克海文仪器公司; UV-795s 型分光光度仪, 上海上分仪器有限公司。

1.3 明日叶黄酮的提取与制备

在明日叶样品剪碎前, 使用去离子水清洗叶片, 除去表面浮尘和杂质, 随后于 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下真空冷冻干燥 24 h, 粉碎并过 100 目筛, 得到的干燥明日叶样品粉末以提取黄酮。明日叶黄酮提取参考 Li 等^[19]报道的方法, 并做了稍微适当修改, 具体如下, 将样品粉末与体积分数 50% 乙醇溶液以料液比 1:10 混合, 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴加热持续搅拌 3 h, 冷却至室温, 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 2 000 g 条件下低温离心获得上清液, 于 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发直至乙醇完全挥发得流浸膏, 最后, 将流浸膏于 $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 真空冷冻干燥得黄酮粗提物粉末, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.4 明日叶黄酮含量的测定

参照 Liu 等^[20]的方法并稍作修改测定了黄酮含量。使用体积分数为 30% 乙醇将 1.3 中离心获得的明日叶黄酮上清液定容至 100 mL, 取 1 mL 于体积为 25 mL 容量瓶中, 加入 1.4 mL 质量分数为 5% NaNO_2 溶液, 振荡混匀后, 孵育 5 min, 随后加入 1.4 mL 质量分数为 10% 的 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, 反应 6 min 后, 加入 10 mL, 1 mol/L NaOH 溶液, 振荡混匀, 最后加入体积分数为 30% 乙醇溶液定容至 25 mL, 孵育 10 min 后, 于 508 nm 处测定其吸光度, 根据标准曲线 ($Y=5.1577X+0.2471$, $R^2=0.9939$) (图 1) 计算黄酮含量, 以 mg/g 表示。

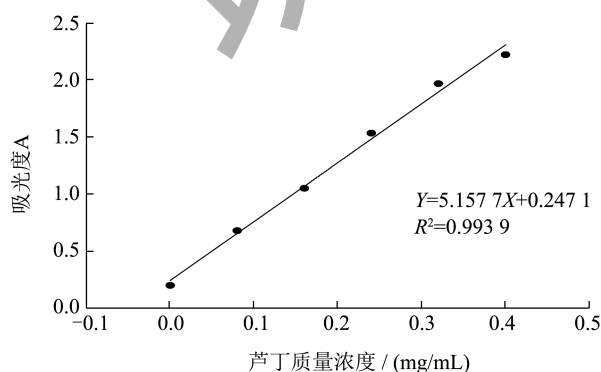


图 1 黄酮标准曲线

Fig.1 The standard curve of the flavonoids

1.5 复合颗粒的制备与表征

1.5.1 短直链脱支淀粉制备

参考 Lu 等^[21]的方法, 将蜡质玉米淀粉以 10% (m/V) 质量分数分散在 pH 值 5.0 的磷酸缓冲溶液中, 搅拌加热悬浮液 30 min 以使得淀粉完全糊化, 随后将糊化的淀粉冷却至 $58\text{ }^{\circ}\text{C}$, 加入鲁普兰酶 (0.5 mL/g) 搅拌酶解 24 h, 酶解完成后的混合物迅速在 4 000 g 离心力下离心 5 min 获得上清液, 获得的上清液在沸水浴中加热 15 min 使酶完全失活后再真空抽滤去除酶等大分子物质, 最后, 加入上清液 3 倍体积的无水乙醇, 将混合物离心取上清液冷冻干燥即得短直链脱支淀粉。

1.5.2 短直链淀粉-玉米醇溶蛋白-果胶三元复合颗粒的制备

采用反溶剂沉淀法制备三元复合颗粒, 方法参照已报道的文献并做了适当修改^[22], 将果胶、玉米醇溶蛋白分散在体积分数为 70% 乙醇溶液和去离子水中, 搅拌过夜使玉米醇溶蛋白和果胶充分溶解, 获得质量分数 2.5% 的溶液, 称取 0.2、0.4、0.8 g 短直链淀粉分别分散于 20 mL 去离子水中, 现配现用。在 50 mL 果胶溶液中, 分别快速加入 20 mL 玉米醇溶蛋白溶液和短直链淀粉溶液, 混合后在 7 000 r/min 下均质 5 min, 随后使用旋转蒸发器除去乙醇和水分, 得到玉米醇溶蛋白质量分数为 2% 的分散液, 并将分散液 pH 值调节至 4。以不添加短直链淀粉的玉米醇溶蛋白和果胶二元复合颗粒作为对照样品。

1.5.3 三元复合颗粒粒径与 Zeta 电位测定

用去离子水将复合颗粒分散液浓度稀释至质量分数为 1%, 随后, 在环境温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下使用纳米粒度仪和电位仪进行测定, 测定时每个样品重复扫描三次, 数据通过机带软件 Zetasizer Software 输出及处理。

1.5.4 三元复合颗粒分子量分布测定

参考 Lu 等^[21]报道的方法, 采用配备了示差检测器的高效凝胶排阻色谱 (High Performance Gel Exclusion Chromatography-Refractive Index Detector, HPSEC-RID) 测定了制备的不同质量浓度短直链淀粉的三元复合颗粒的分子量。检测前, 将三元复合颗粒以 4 mg/mL 的质量浓度分散在去离子水中, 通过沸水浴加热 30 min 使其尽可能溶解, 冷却后, 在 10 000 g 离心力下离心 15 min 除去未溶解样品。HPSEC-DRI 系统由泵 (LC-20AT)、进样阀 (SIL-20A)

和 DRI 检测器组成；带有保护柱的 PL-aquagel-OH 30 分析柱用于分析样品聚合度，柱温保持在 35 °C。

1.5.5 三元复合颗粒傅里叶变换红外光谱分析

将三元复合颗粒与溴化钾以质量分数 1% 的比例混合于研钵并充分研磨至粉末状后，用压片机压片，放入样品夹中，使用红外光谱仪进行分析。设置具体参数为：光谱扫描范围为 4 000~500 cm^{-1} ，分辨率为 4 cm^{-1} ，扫描 64 次后取平均值。

1.6 包埋明日叶黄酮的三元复合颗粒乳液的制备与优化

采用 IBM SPSS 软件 (Version 26) 采用三因素三水平正交设计对三元颗粒乳液制备过程中均质转速、均质时间及明日叶黄酮提取物质量浓度进行了优化，具体水平见表 1，试验结果以明日叶黄酮乳液的包封率 (Encapsulation Efficiency, EE) 为参考指标。乳液的制备采用一步乳化法，即首先将冻干得到的明日叶黄酮粗提粉末分散在 7 mL 玉米油中使得明日叶黄酮提取物最终质量分数 (m/V) 为 0.05%、0.10%、0.15%，再加入等体积的 ($V:V=1:1$) 质量分数为 2% 的三元复合颗粒分散液，使用高速均质机按正交实验设计的不同均质转速和均质时间进行均质得到乳液。

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 The parameters of the orthogonal experiment

因素	水平 I	水平 II	水平 III
均值转速/(r/min)	10 000	15 000	20 000
均质时间/min	1	2	3
明日叶黄酮提取物 质量分数/%	0.05	0.1	0.15

1.7 乳液包封率测定

乳液包封率的测定参照 Wang 等^[23]的方法并做了适量修改，具体操作为将含有明日叶黄酮的包埋乳液 1 mL 与 5 mL 二氯甲烷混合，涡旋 5 min 后溶液分成两相，除去上部混合物，将含有游离黄酮的下层清液用无水乙醇适当稀释后，在 508 nm 波长下测定其吸光度，包封率按以下公式计算：

$$B = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

B ——包封率 (Encapsulation Efficiency, EE), %;

m_0 ——添加至油相中的黄酮总质量, g;

m_1 ——下层清液中游离黄酮的质量, g。

1.8 乳液储藏稳定性测定

将乳液于 25 °C 室温条件下分别放置 1、3、7、10 和 14 d，参照 1.5.3 的方法，测定放置后乳液液滴的粒径和 Zeta 电位的变化情况，以未包埋明日叶黄酮的乳液为对照。

1.9 包埋明日叶黄酮乳液的模拟消化

模拟消化实验采用体外模拟三步消化模型进行，探究乳液中明日叶黄酮经过三步消化之后的生无可利用度的影响。首先，根据已报道的文献制备了模拟唾液、模拟胃液及模拟小肠液，三类模拟液中均含有一定量的无机盐离子，此外，模拟唾液中还含 α -淀粉酶 (0.5 mL, 750 U/mL)，模拟胃液中含胃蛋白酶 (0.5 mL, 40 000 U/mL) 和脂肪酶 (0.25 mL, 1 000 U/mL)，模拟小肠液中含有胰脂肪酶和新鲜胆汁溶液 (0.625 mL, 320 mmol/L)。

模拟口腔消化时，将 5 mL 乳液与等体积模拟口腔液混合，于 37 °C 平衡后，调节混合液 pH 值至 6.8，在 100 r/min, 37 °C 条件下震荡培养 10 min，测量消化后乳液的颗粒粒径与 Zeta 电位。

模拟胃消化时，将口腔消化完成后的混合液与 15 mL 模拟胃液混合，于 37 °C 平衡后，调节体系 pH 值至 2.5，在 100 r/min, 37 °C 条件下震荡培养 2 h，测量消化后乳液的颗粒粒径与 Zeta 电位。

模拟小肠消化时，先将模拟胃消化完成后的混合液调节 pH 值至 7，随后加入等体积模拟小肠液，于 37 °C 平衡后，在 100 r/min, 37 °C 条件下震荡培养 2 h，测量消化后乳液的颗粒粒径与 Zeta 电位。

三步消化结束后，测定乳液包埋的明日叶黄酮在经过三步消化后的生物可利用度。首先将混合液放入冰浴中以终止消化作用，随后于 10 000 g 条件下离心 40 min，收集上清液，用去离子水适当稀释后，按照 1.4 的方法测定上清液中明日叶黄酮的质量，明日叶黄酮的生物利用度 (Bioavailability, BA) 按以下公式计算：

$$C = \frac{m_2}{m_3} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

C ——生物利用度 (Bioavailability, BA), %;

m_2 ——离心收集的上清液中黄酮的质量, g;

m_3 ——乳液体系中明日叶黄酮的总质量, g。

1.10 数据处理

所有测定均设置三次平行，数据以平均值 \pm

标准差的形式表示。使用 IBM SPSS Statistics 26.0 软件进行单因素方差分析, DUNCAN 事后检验, $P < 0.05$ 时被认为具有统计学意义。Origin 2021 软件被用于绘制图表。

2 结果与讨论

2.1 明日叶黄酮含量

如图 1 所示, 依据标准曲线, 最终测得明日叶提取物中黄酮含量为 38.54 mg/g, 冻干粉中黄酮的纯度为 14.07%。

2.2 三元复合颗粒粒径与 Zeta 电位

含有不同含量短直链淀粉的三元复合颗粒与对照组颗粒的粒径和 Zeta 电位如图 2 所示。不添加短直链淀粉的对照组复合颗粒粒径显著大于其余各组 ($P < 0.05$), 达到了 971.3 nm, 加入短直链淀粉后, 三元复合颗粒的粒径呈现出先减小后增大的趋势。当短直链淀粉添加量达到 0.4 g 时, 复合颗粒粒径最小 ($P < 0.05$), 仅为 592.6 nm; 同时随着短直链淀粉添加量的增加, 三元复合颗粒的 Zeta 电位值 (绝对值) 先增大后趋缓, 当短直链淀粉添加量为 0.4 g 时, 电位值达到 -45.8 mV, 显著低于对照组及 Zein-PEC-DBS-0.2 组样品 ($P < 0.05$), 该现象证实了短直链淀粉的添加增强了复合颗粒表面的电荷密度, 短直链淀粉、玉米醇溶蛋白与果胶之间的相互作用随静电效应的增强而增强, 形成了包裹紧凑严密堆积的空间结构, 降低了颗粒粒径, 并稳定了复合颗粒体系。Liu 等^[15]采用反溶剂法制备得到的普鲁兰糖-玉米醇溶蛋白复合颗粒, 发现复合颗粒的粒径随着普鲁兰糖的增加而减小, Liang 等^[24]使用辛烯基琥珀酸苷改性的脱支淀粉与姜黄素制备得到二元复合颗粒, 发现颗粒粒径随脱支淀粉的添加量增加而显著减小 (由大于 1 000 nm 减小到小于 300 nm); Ji 等^[25]的研究发现羧甲基短直链淀粉添加量的逐渐增加, 制备的羧甲基短直链淀粉-玉米醇溶蛋白二元复合颗粒粒径呈现出与本研究一致的趋势。分析其原因主要是随着短直链淀粉的过量添加, 过多的短直链淀粉不能进一步与玉米醇溶蛋白继续紧密结合, 附着在胶体颗粒表面使颗粒粒径增大, Zeta 电位反而减小, 这揭示了静电相互作用在三元复合颗粒形成和稳定方面的重要作用; 另一方面, 先前研究指出, 相邻颗粒间的渗透压差会随着多糖质量浓度的增大而增大, 导致颗粒间形成聚集体^[15]。根据对颗粒粒径及 Zeta 电位分析的结果显示,

短直链淀粉的最适添加量为 0.4 g, 即玉米醇溶蛋白、果胶和短直链淀粉质量比例为 1:1:0.16 时为制备三元复合颗粒的最佳配比。

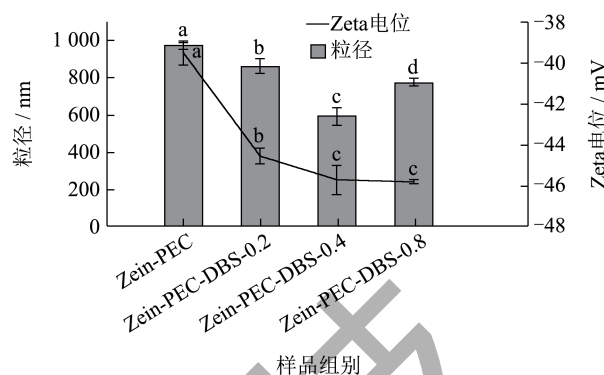


图 2 不同短直链淀粉添加量制备得到的三元复合颗粒及对照样品的粒径与 Zeta 电位

Fig.2 Particle size and zeta potential of the ternary complex particles prepared with different additions of DBS and the control sample

注: 同一类型数据中没有相同字母的值表示存在显著差异 ($P < 0.05$)。图 5、6 同。

2.3 三元复合颗粒相对分子量分布测定

表 2 三元复合颗粒的重均分子量、数均分子量及多分散性指数值

Table 2 Weight-average molecular weight, number-average molecular weight, and polydispersity index values of ternary complex particles

样品	峰面积/%		峰 1		
	峰 1	峰 2	重均分子量	数均分子量	多分散性
Zein-PEC	59.16	7.86	247	201	1.23
Zein-PEC-DBS-0.2	85.34	11.90	217	185	1.18
Zein-PEC-DBS-0.4	91.64	8.36	237	192	1.23
Zein-PEC-DBS-0.8	86.49	12.5	214	184	1.17

如图 3 所示, 高效凝胶排阻色谱测定了添加不同质量短直链淀粉制备得到的复合颗粒的相对分子量分布。色谱图中观察到两个主要特征峰, 其中峰 1 主要由短直链淀粉形成, 峰 2 主要是分子量较大的脱支淀粉。所有样品中, Zein-PEC-DBS-0.4 的峰 1 面积占比最高, 达到 91.64% (图 3c), 杂峰最少, 证实在该添加量下, 三元复合颗粒中玉米醇溶蛋白、果胶和短直链淀粉互作效果显著。另一方面, 由表 2 可知, 数均分子量 M_n 由于易受小分子量物质的影响, 随着短直链淀粉的添加, 呈现出逐渐减小的趋势, 样品中, Zein-PEC-DBS-0.4 的

M_n 为 192，最接近对照组样品，结合其与对照组样品相同的多分散性指数，同样反映了该短直链淀粉添加量下，玉米醇溶蛋白、果胶和短直链淀粉发生较强相互作用，形成了均一性、分散性良好的三元复合颗粒。

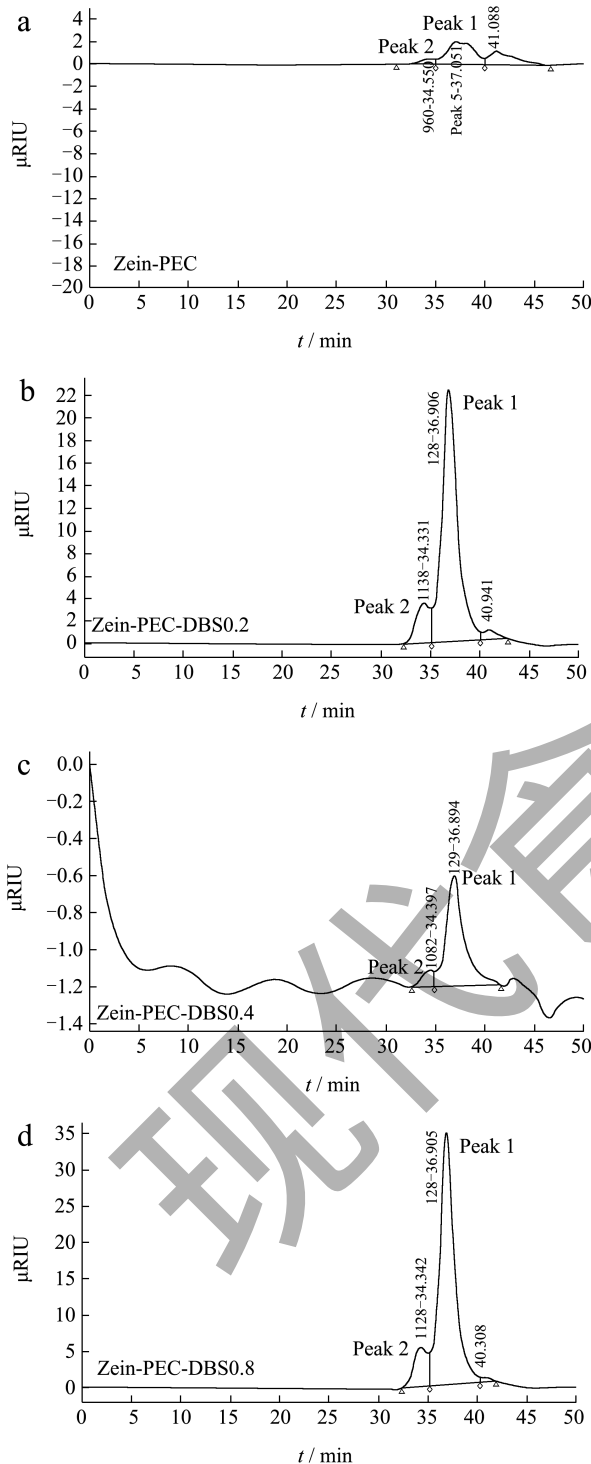


图3 不同短直链淀粉添加量制备得到的三元复合颗粒及对照样品的凝胶排阻色谱图

Fig.3 Gel exclusion chromatograms of ternary composite granules and control samples prepared with different short straight chain starch additions

2.4 傅里叶红外光谱分析

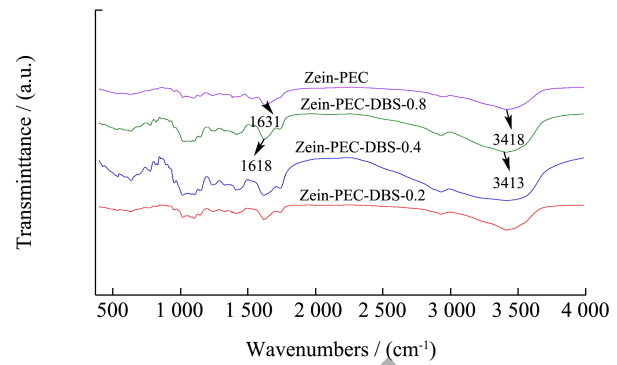


图4 不同短直链淀粉添加量制备得到的三元复合颗粒的傅里叶红外光谱图

Fig.4 The Fourier infrared spectra of ternary complex particles prepared with different additions of DBS

傅里叶红外光谱揭示了三元复合颗粒间的相互作用，如图4所示，图像中出现了几个相似特征峰。O-H的不对称拉伸在 3415 cm^{-1} 处显示了强烈的振动，而 2930 cm^{-1} 处显示的特征吸收则对应于C-H键的键合；添加短直链淀粉后，由于C-O键的振动伸缩，样品在 $1000\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 范围内出现了三个特征吸收峰；果胶中 $\text{CH}_3\text{-CO=}$ 基团和羧基离子 COO^- 的拉伸在 1745 cm^{-1} 和 1630 cm^{-1} 处出现的特征吸收峰也在复合颗粒的红外光谱图中被观察到^[26]。样品所具备的各组分的特征吸收峰也证实了颗粒间发生了相互作用，成功制备了三元复合颗粒。玉米醇溶蛋白由于酰胺I带中C=O的收缩在 1631 cm^{-1} 处的特征峰在形成三元复合颗粒后，其特征峰位置迁移至 1618 cm^{-1} ，这可能是由于玉米醇溶蛋白与果胶之间的静电相互作用引起的^[27]。此外，氢键相互作用是三元复合颗粒形成的主要原因，主要表现为羟基特征峰的迁移，由 3418 cm^{-1} 迁移至 3413 cm^{-1} ，Liu等^[15]使用傅里叶红外光谱表征制备的玉米醇溶蛋白-普鲁兰糖复合颗粒时，发现其氢键峰由 3310 cm^{-1} 迁移至 3302 cm^{-1} ，证明了氢键在玉米醇溶蛋白的谷氨酰胺基团与糖链中的羟基之间形成。此外，在玉米醇溶蛋白-果胶复合物纳米颗粒^[28]、玉米醇溶蛋白-酪蛋白酸盐-果胶复合物纳米颗粒^[29]中同样发现了类似的结果。考虑到玉米醇溶蛋白大于50%的疏水性氨基酸组成，疏水性相互作用同样可能在玉米醇溶蛋白与果胶的疏水基团中产生。

2.5 包埋明日叶黄酮的三元复合颗粒乳液的工艺优化

正交试验优化结果如表3所示，根据R值可以

判断出三个因素中，对明日叶黄酮包埋率影响最大的因素为明日叶黄酮提取物质量浓度，其次分别为均质压力和均质时间；分析 *K* 值结果，得到制备包埋明日叶黄酮的三元复合颗粒乳液的最佳工艺条件为均质转速 15 000 r/min，均质时间 1 min，明日叶黄酮提取物质量浓度为质量分数 0.15% 时，明日叶黄酮的包埋率最高达 63.21%，验证实验得最终包埋率分别为 57.99%，高于其余试验组。

表 3 正交试验优化制备包埋明日叶黄酮的三元复合颗粒乳液

Table 3 Orthogonal tests to optimize the preparation of the emulsion stabilized by the ternary complex particles encapsulating the flavonoids of *Angelica keiskei* Koidz

试验编号	均值转速/(r/min)	均质时间/min	明日叶黄酮提取物质量分数/%	包封率/%
1	10 000	1	0.05	29.26 ± 2.60 ^{cd}
2	10 000	2	0.15	45.69 ± 2.27 ^b
3	10 000	3	0.1	27.45 ± 2.34 ^{de}
4	15 000	1	0.15	63.21 ± 0.32 ^a
5	15 000	2	0.1	23.36 ± 6.32 ^{de}
6	15 000	3	0.05	29.63 ± 7.96 ^{cd}
7	20 000	1	0.1	18.66 ± 5.34 ^e
8	20 000	2	0.05	37.49 ± 10.08 ^{bc}
9	20 000	3	0.15	40.31 ± 3.58 ^b
<i>K</i> ₁	107.86	112.44	95.12	
<i>K</i> ₂	115.39	108.31	72.69	
<i>K</i> ₃	95.42	97.92	150.86	
<i>k</i> ₁	35.95	37.48	31.71	
<i>k</i> ₂	38.46	36.10	24.22	
<i>k</i> ₃	31.81	32.64	50.29	
<i>R</i>	6.66	3.46	26.06	

注：同一列中没有相同字母的数值表示存在显著差异 ($P < 0.05$)。表 4 同。

2.6 乳液稳定性测试

包埋明日叶黄酮的三元复合颗粒乳液的储藏稳定性结果如图 5 所示，对照组与实验组均呈现乳液粒径逐渐增大，Zeta 电位绝对值逐渐减小的趋势。乳液储藏的前 7 d，乳液的粒径增大趋势缓慢，由 5 646.00 nm 增加至 7 381 nm，随后乳液粒径突然增大至 10 926.67 nm，Zeta 电位也随之由初始的 -52.47 mV 减小至 -38.33 mV，Zeta 电位的显著减小 ($P < 0.05$) 说明了乳液颗粒间排斥力的降低，导致乳液发生聚集，降低了其储藏稳定性，结合粒径与 Zeta 电位分析，可以看出乳液在 7 d 内储

藏相对稳定。

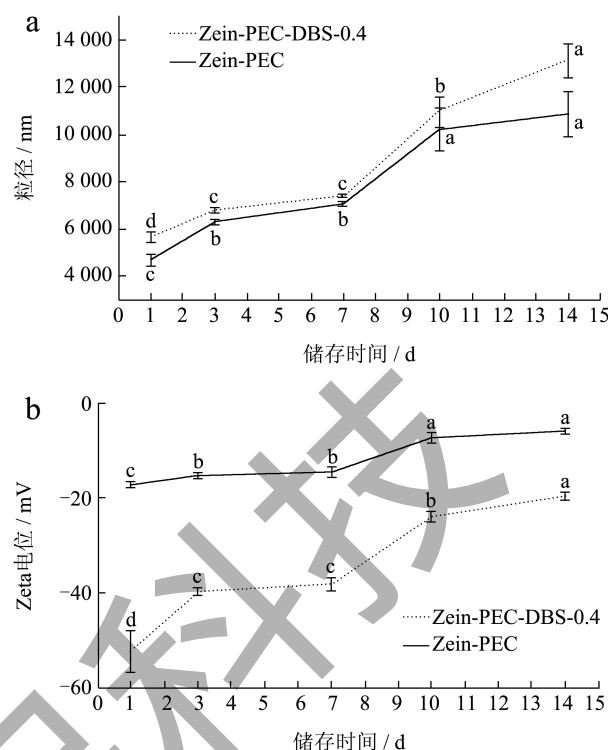


图 5 乳液 (a) 粒径及 (b) Zeta 电位在储藏稳定性实验中的变化趋势图

Fig.5 Trends of emulsion (a) particle size and (b) zeta potential in storage stability experiments

2.7 体外模拟消化分析

整个模拟消化阶段，乳液粒径呈现出先增大，后减小的趋势。口腔消化阶段，颗粒粒径突然增大（表 4），这主要是由于 Zeta 电位的减小导致了乳液液滴的聚集，另一方面，液滴和黏蛋白之间的相互作用也导致了絮凝、桥接的发生^[30]。但由于样品在口腔阶段停留的时间较短，乳液难以与唾液相互所用而发生降解，此时明日叶黄酮的生物利用度仅为 5.58%（图 6），证实三元复合颗粒稳定的乳液对黄酮的包埋效果显著，起到缓释效果。

在经历过胃消化阶段后，颗粒粒径较口腔阶段显著减小，但较初始阶段颗粒粒径仍有显著增大 ($P < 0.05$)，Zeta 电位较初始也有显著减小（表 4）。此时，模拟胃液 pH 值的变化导致电位的降低，胃蛋白酶水解了部分蛋白质都是导致这一现象出现的原因^[30]。此时，乳液包埋的明日叶黄酮生物利用度稍有升高，为 19.64%（图 6），仍可以说明乳液能够抵抗强酸环境，包埋效果良好。

在经历最后的肠液消化后，由于脂质在消化后大油滴消失或尺寸减小，产生了相对较小的胶体颗

粒, 如不溶性钙皂、胶束和囊泡等^[31], 乳液的粒径和电位再次减小(表4), 明日叶黄酮的生物利用率迅速上升至49.35%(图6), 证实了短直链淀粉基乳液包埋体系能够有效包埋黄酮并在小肠中有效释放和利用, 提高了明日叶黄酮的生物利用度。

表4 不同消化阶段乳液粒径、Zeta电位与PDI变化

Table 4 Variation of particle size, zeta potential, and PDI of emulsion at different digestion stages

消化阶段	粒径/nm	Zeta 电位/mV	PDI
初始	5 646±206.87 ^c	-52.47±4.46 ^d	0.40±0.10 ^{ab}
口腔	8 021.33±457.67 ^a	-39.73±4.10 ^c	0.61±0.13 ^a
胃	6 231.33±315.12 ^b	-32.30±2.49 ^b	0.28±0.22 ^b
小肠	5 274.00±100.85 ^c	-6.50± 0.36 ^a	0.46±0.07 ^{ab}

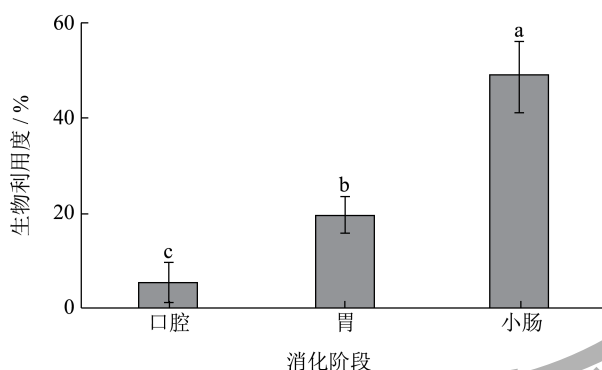


图6 模拟消化过程中明日叶黄酮生物利用度的变化趋势

Fig.6 Trends in bioavailability of flavonoids from *Angelica keiskei* Koidz during the simulated digestion process

3 结论

本文采用玉米醇溶蛋白和果胶对短直链淀粉进行改性, 探究了三元复合颗粒制备的最佳条件, 并通过正交试验优化了包埋明日叶黄酮的皮克林乳液的制备工艺, 旨在提高明日叶黄酮的生物利用度。本文主要通过傅立叶红外光谱、高效凝胶排阻色谱对复合颗粒的结构和分子量分布进行了表征, 结果表明, 玉米醇溶蛋白、果胶和短直链淀粉最优质量比为1:1:0.16, 且该条件下制备得到的三元复合颗粒的粒径最小、电位最低; 进一步利用三元复合颗粒制备乳液的最佳工艺条件为均质转速15 000 r/min, 均质时间1 min, 明日叶黄酮提取物终质量分数0.15%, 该条件下制备的乳液表现出良好的储藏稳定性, 并有效提高了明日叶黄酮的体内生物利用度, 达49.35%, 使其在小肠中有良好的释放。

参考文献

[1] 莫颖华,冯白茹.HPLC法同时测定明日叶干品和茶叶中3

种成分的含量[J].山东化工,2022,51(24):128-131.

- [2] 张睦焘,费文婷,吕瑞琳,等.外来中药明日叶的文献研究及中药药性探析[J].北京中医药大学学报,2022,45(7):719-727.
- [3] 张焯,邓琦,魏敏,等.基于UPLC-Q-OrbitrapHRMS技术的明日叶化学成分鉴定[J].亚太传统医药,2022,18(2):40-49.
- [4] CARMONA-GUTIERREZ D, ZIMMERMANN A, KAINZ K, et al. The flavonoid 4,4'-dimethoxychalcone promotes autophagy-dependent longevity across species [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 651.
- [5] MOTTIN M, CAESAR L K, BRODSKY D, et al. Chalcones from *Angelica keiskei* (ashitaba) inhibit key Zika virus replication proteins [J]. Bioorganic Chemistry, 2022, 120: 105649.
- [6] PANG X N, GAO X, Feng L, et al. Xanthoangelol modulates Caspase-1-dependent pyroptotic death among hepatocellular carcinoma cells with high expression of GSDMD [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 84: 104577.
- [7] GAO X, JIANG Y H, XU Q, et al. 4-hydroxyderricin promotes apoptosis and cell cycle arrest through regulating PI3K/AKT/mTOR pathway in hepatocellular cells [J]. Foods, 2021, 10(9): 2036.
- [8] KIMURA Y, BABA K. Xanthoangelol isolated from angelica keiskei roots prevents dextran sulfate sodium-treated colitis in mice [J]. Natural Products Journal, 2020, 10(5): 655-663.
- [9] REZAEI A, FATHI M, JAFARI S M. Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 88: 146-162.
- [10] WACHIRA MWANGI W, HUI PENG L, LIANG EE L, et al. Food-grade Pickering emulsions for encapsulation and delivery of bioactives [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 100: 320-332.
- [11] APOSTOLIDIS E, STOFOROS G N, MANDALA I. Starch physical treatment, emulsion formation, stability, and their applications [J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 305: 120554.
- [12] REMANAN M K, ZHU F. Encapsulation of rutin in Pickering emulsions stabilized using octenyl succinic anhydride (OSA) modified quinoa, maize, and potato starch nanoparticles [J]. Food Chemistry, 2023, 405: 134790.
- [13] JIA Y H, KONG L Y, ZHANG B, et al. Fabrication and characterization of Pickering high internal phase emulsions stabilized by debranched starch-capric acid complex nanoparticles [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 207: 791-800.
- [14] FENG T, HU Z S, WANG K, et al. Emulsion-based

- delivery systems for curcumin: Encapsulation and interaction mechanism between debranched starch and curcumin [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 161: 746-754.
- [15] LIU Q, CHANG X, SHAN Y, et al. Fabrication and characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/pullulan complex colloidal particles [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(9): 3630-3643.
- [16] YU Y, LIU Q, WANG C, et al. Zein/pullulan complex colloidal particle-stabilized Pickering emulsions for oral delivery of polymethoxylated flavones: protection effect and *in vitro* digestion [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(10): 3952-3963.
- [17] HU D, LIN C, LIU L, et al. Preparation, characterization, and *in vitro* release investigation of lutein/zein nanoparticles via solution enhanced dispersion by supercritical fluids [J]. *Journal of Food Engineering*, 2012, 109(3): 545-552.
- [18] LI W, HUANG D, SONG W, et al. Pickering emulsions stabilized by zein-proanthocyanidins-pectin ternary composites (ZPAAPs): Construction and delivery studies [J]. *Food Chemistry*, 2023, 404: 134642.
- [19] LI L, ALDINI G, CARINI M, et al. Characterisation, extraction efficiency, stability and antioxidant activity of phytonutrients in *Angelica keiskei* [J]. *Food Chemistry*, 2009, 115(1): 227-232.
- [20] LIU X M, LIU Y, SHAN C H, et al. Effects of five extraction methods on total content, composition, and stability of flavonoids in jujube [J]. *Food Chemistry: X*, 2022, 14(30): 100287.
- [21] LU H, XIONG L, LI M, et al. Separation and characterization of linear glucans debranched from normal corn, potato and sweet potato starches [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 89: 196-206.
- [22] HUANG X L, LIU Y, ZOU Y, et al. Encapsulation of resveratrol in zein/pectin core-shell nanoparticles: Stability, bioaccessibility, and antioxidant capacity after simulated gastrointestinal digestion [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 93: 261-269.
- [23] WANG R, LI M, LIU M, et al. Characterization of Pickering emulsion by SCFAs-modified debranched starch and a potent for delivering encapsulated bioactive compound [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 231: 123164.
- [24] LIANG S Y, 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.
- [25] JI N, HONG Y, GU Z B, et al. Preparation and characterization of insulin-loaded zein/carboxymethylated short-chain amylose complex nanoparticles [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(35): 9335-9343.
- [26] ZHANG W, GU X Z, LIU X H, et al. Fabrication of pickering emulsion based on particles combining pectin and zein: Effects of pectin methylation [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 256: 117515.
- [27] HUANG X, LI T, LI S. Encapsulation of vitexin-rhamnoside based on zein/pectin nanoparticles improved its stability and bioavailability [J]. *Current Research in Food Science*, 2023, 6: 100419.
- [28] WANG X J, PENG F, LIU F G, et al. Zein-pectin composite nanoparticles as an efficient hyperoside delivery system: Fabrication, characterization, and *in vitro* release property [J]. *LWT*, 2020, 133: 109869.
- [29] CHANG C, WANG T R, HU Q B, et al. Zein/caseinate/pectin complex nanoparticles: Formation and characterization [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 104: 117-124.
- [30] MENG R, WU Z 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: 106020.
- [31] NIKBAKHT NASRABADI M, SEDAGHAT DOOST A, GOLI S A H, et al. Effect of thymol and Pickering stabilization on *in-vitro* digestion fate and oxidation stability of plant-derived flaxseed oil emulsions [J]. *Food Chemistry*, 2020, 311: 125872.