

引用格式:

谢文杰, 范伟, 郭时印, 覃静萍, 杨志远, 肖航, 唐忠海. 益智酮乙纳米乳液的制备工艺优化及其稳定性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(4): 119–128.

XIE W J, FAN W, GUO S Y, QIN J P, YANG Z Y, XIAO H, TANG Z H. Optimization of the preparation process of yakuchinone B nanoemulsion and its stability[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(4): 119–128.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



益智酮乙纳米乳液的制备工艺优化及其稳定性

谢文杰^{1,2}, 范伟^{1,2}, 郭时印^{1,2}, 覃静萍^{1,2}, 杨志远³, 肖航⁴, 唐忠海^{1,2*}

(1.湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2.湖南省菜籽油营养健康与深度开发工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128; 3.长沙环境保护职业技术学院环境资源学院, 湖南 长沙 410004; 4.马萨诸塞大学阿莫斯特分校食品科学系, 美国马萨塞诸州 阿莫斯特 01003)

摘要: 以大豆卵磷脂为乳化剂, 菜籽油为油相, 制备一种稳定纳米乳液体系包埋益智酮乙。通过单因素试验、响应面法优化纳米乳液制备条件, 运用纳米粒度仪、激光共聚焦显微镜和傅里叶红外光谱仪等测量乳液的粒径、多分散系数(PDI)、Zeta 电位、包封率、稳定性、光谱特性等。结果表明: 在最佳制备工艺参数(大豆卵磷脂质量浓度 18.4 g/L、均质压强 172.35 MPa、均质次数 7 次和益智酮乙质量浓度 7 mg/mL)下, 益智酮乙纳米乳液平均粒径为(175.37±4.33) nm, PDI 为 0.13±0.02, 包封率为(91.00±0.03)%; 益智酮乙包埋量不影响乳液的粒径和 PDI, 包埋 7 mg/mL 益智酮乙的纳米乳液包封率最高; 益智酮乙纳米乳液的微观结构为球状, 乳液颗粒分布均匀, 于 4℃ 贮藏 28 d 时, 乳液的粒径、PDI 和包封率均无明显变化, 乳液系统稳定, 添加 NaCl 浓度≤30 mmol/L 时, 乳液能维持较为稳定的状态, NaCl 浓度≥50 mmol/L 时, 随着 NaCl 浓度的升高, 乳液的粒径和 PDI 显著升高, Zeta 电位绝对值显著降低, 乳液稳定性下降; 菜籽油、大豆卵磷脂和益智酮乙之间没有形成共价键, 也未发生化学相互作用。

关键词: 益智酮乙; 纳米乳液; 高压微射流均质; 包封率

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)04-0119-10

Optimization of the preparation process of yakuchinone B nanoemulsion and its stability

XIE Wenjie^{1,2}, FAN Wei^{1,2}, GUO Shiyin^{1,2}, QIN Jingping^{1,2}, YANG Zhiyuan³, XIAO Hang⁴, TANG Zhonghai^{1,2*}

(1.College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Hunan Engineering Technology Research Center for Rapeseed Oil Nutrition Health and Deep Development, Changsha, Hunan 410128, China; 3.School of Environmental Resources, Changsha Environmental Protection Vocational College, Changsha, Hunan 410004, China; 4.Department of Food Science, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA)

Abstract: Using soybean lecithin as an emulsifier and rapeseed oil as the oil phase, a stable nanoemulsion system encapsulating yakuchinone B was prepared. The preparation conditions for the nanoemulsion were optimized through single-factor experiments and response surface methodology. Measurement of the emulsion was performed using a nanoparticle size analyzer, a laser confocal microscope, and a Fourier transform infrared spectrometer to assess the particle size, polydispersity index(PDI), Zeta potential, encapsulation efficiency, stability, and spectral characteristics. The results indicated that under the optimal preparation process parameters(soybean lecithin mass concentration of 18.4 g/L, homogenization pressure of 172.35 MPa, homogenization cycles of 7, and yakuchinone B mass concentration of

收稿日期: 2024-03-29

修回日期: 2024-08-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671858); 湖南省自然科学基金项目(2022JJ30295); 郴州国家可持续发展议程创新示范区建设专项(2022SFQ49)

作者简介: 谢文杰(1999—), 男, 湖南郴州人, 硕士研究生, 主要从事膳食功能因子营养与应用研究, x1ewenjie1223@163.com; *通信作者, 唐忠海, 博士, 教授, 主要从事膳食功能因子营养与应用研究, tangzh@hunau.edu.cn

7 mg/mL), the average particle size of the yakuchinone B nanoemulsion was (175.37 ± 4.33) nm, the PDI was 0.13 ± 0.02 , and the encapsulation efficiency was $(91.00 \pm 0.03)\%$. The encapsulation amount of yakuchinone B did not affect the particle size and PDI of the emulsion, and the nanoemulsion with 7 mg/mL of yakuchinone B had the highest encapsulation efficiency. The microstructure of the yakuchinone B nanoemulsion was spherical and uniformly distributed. When stored at 4 °C for 28 days, there were no significant changes in the particle size, PDI, and encapsulation efficiency of the emulsion, demonstrating the system's stability. When the concentration of added NaCl was ≤ 30 mmol/L, the emulsion could maintain a relatively stable state. When the NaCl concentration was ≥ 50 mmol/L, the particle size and PDI of the emulsion increased significantly, and the absolute value of the Zeta potential decreased significantly, leading to a decrease in emulsion stability. There were no covalent bonds formed between rapeseed oil, soybean lecithin, and huperzine B, and no chemical interactions occurred.

Keywords: yakuchinone B; nanoemulsion; high-pressure microfluidization; encapsulation efficiency

益智是一种安全性较好的药食同源植物资源,也是四大南药之一。作为益智的主要生物活性成分之一,益智酮乙是一种天然二芳基庚烷化合物,具有广泛的生物活性^[1],如抗炎^[2-3]、抗氧化^[4-5]、抗癌^[6-7]、抗病毒^[8]等。很多研究已经证明了益智酮乙在抗氧化和预防肿瘤等方面的潜力,但是其在食品、营养保健品和功能性食品中的应用仍是一个挑战。益智酮乙水溶性差,生物利用度低且其在环境中存在化学不稳定性,导致其在功能性食品、药物和其他产品中的应用受到了限制。益智酮乙的疏水性限制了其在人体内的生物利用率。应用递送系统提高亲脂性的天然活性物的生物利用度和稳定性是一种比较好的选择^[9]。采用脂质体、水凝胶和纳米乳液等物理改性手段提高脂溶性活性物质的稳定性是研究的热点。MANCA 等^[10]制备的包埋姜黄素的透明脂质体可显著增强姜黄素的稳定性,且能有效地将姜黄素递送到皮肤。LI 等^[11]制备的包埋姜黄素的水凝胶可显著提高姜黄素的稳定性。也有研究^[12]表明,纳米乳液递送系统可以显著提高姜黄素的稳定性、生物可及率和抗氧化性等体内、体外性能。纳米乳液相较于其他物理改性技术,具有粒径小、比表面积大、操作简单、稳定性高、成本较低等优点^[13]。纳米乳液粒径小、比表面积大的特点能加速混合胶束的形成,增加生物活性物质的释放量,增强其穿透上皮细胞的能力,并加快其在黏液层中的扩散速度^[14-15],从而提高其消化率。然而,尚少见有关纳米乳液包埋益智酮乙的报道。

纳米乳液是一种动力学稳定系统,包含 2 种不混溶的液体(通常是油和水),它们由一层表面活性物质稳定,液滴的粒径为 20~200 nm^[16-17]。纳米乳液递送系统在保护、包埋和释放生物活性化合物及提高亲脂性化合物的生物利用度上具有显著的效

果^[18-19],被广泛应用于食品和医药等领域。近年来,高压微射流均质机不断发展并被应用在纳米乳液领域,其生产的纳米乳液具有粒径小、稳定性高等特性^[20],成为制备纳米乳液的一种优先选择。乳化剂是乳液的重要组成部分,主要包括合成表面活性剂和天然表面活性剂。作为一种天然的乳化剂,大豆卵磷脂含有两个非极性烃链和一个两性离子极性头^[21],具有较好的乳化能力^[22]和较高的表面活性^[23],是一种安全性较高且对环境友好的小分子乳化剂^[24]。越来越多的研究^[21,25-27]将大豆卵磷脂作为乳化剂应用在乳液和油脂微胶囊中。

鉴于此,本研究中,以大豆卵磷脂为乳化剂构建益智酮乙纳米乳液递送体系,以平均粒径为主要评价指标对纳米乳液制备过程进行单因素试验及响应面法优化试验,同时考察益智酮乙纳米乳液体系的贮藏稳定性和离子稳定性,以期为益智酮乙应用于食品和医药领域提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

益智酮乙(HPLC 纯度 $\geq 95\%$),济南名可生物科技有限公司产品,笔者测得其在菜籽油中的溶解度为 9.303 mg/mL;大豆卵磷脂,河南四维生物科技有限公司产品;菜籽油,山东西王食品有限公司产品;溴化钾、尼罗红、氯化钠、甲醇(分析纯),国药集团化学试剂有限公司产品。

T18 digital ULTRA-TURRAX 型艾卡分散器, IKA 公司产品; Nano 型台式实验型微射流均质机, 诺泽流体科技(上海)有限公司产品; Zetasizer Nano ZS 型纳米粒度仪, 马尔文仪器有限公司产品; LSM710 型激光共聚焦显微镜, 蔡司公司产品;

Olympus CX31RBSFA 型电子显微镜, 奥林巴斯公司产品; Thermo Fisher 1510 型全波长酶标仪, 赛默飞世尔科技公司产品; IRAffinity-1 型傅里叶红外光谱仪, 岛津公司产品。

1.2 乳液制备

1.2.1 制备流程

按比例在水中加入大豆卵磷脂得到水相, 油相为菜籽油, 均在室温下磁力搅拌至混合均匀; 然后将水相和油相按比例均匀混合, 使用 IKA 分散器高速(11 000 r/min)剪切 2 min, 得到粗乳液; 最后, 在一定压力下, 通过多次循环操控微射流高压均质机对粗乳液进行处理, 最终制备出纳米乳液。

1.2.2 单因素试验设计

根据预试验的结果, 单因素试验条件为大豆卵磷脂质量浓度 10 g/L、菜籽油质量分数 10.0%、均质压强 68.94 MPa、均质次数 3 次, 通过改变其中 1 个条件, 其他条件固定不变以分析各单因素对纳米乳液粒径的影响。各因素水平梯度: 大豆卵磷脂质量浓度 5、10、15、20、25、30 g/L; 菜籽油质量分数 5.0%、7.5%、10.0%、12.5%、15.0%; 均质压强 34.47、68.94、103.41、137.88、172.35 MPa; 均质次数 1、3、5、7、9 次。

1.2.3 响应面法优化试验设计

在单因素试验基础上, 以平均粒径为响应值, 运用 Design Expert 10 设计响应面法优化试验。在得到的纳米乳液最佳制备工艺条件下进行 3 次试验验证。

1.2.4 益智酮乙包埋量的确定

根据响应面所得出的最佳制备条件, 制备包埋不同质量浓度(0.0、0.2、0.3、0.5、0.7、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、9.0 mg/mL)益智酮乙的纳米乳液, 再测定这一系列纳米乳液的粒径、多分散系数(PDI)和包封率。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 乳液平均粒径和 PDI 及 Zeta 电位的测定

取 100 μ L 乳液于 10 mL 离心管中, 加入 9.9 mL 超纯水, 混匀后采用纳米粒度仪分别测定乳液的平均粒径、PDI、Zeta 电位。各参数平行测定 3 次后取

平均值。

1.3.2 包封率的测定

参照 DONG 等^[28]的方法, 取 10 μ L 益智酮乙纳米乳液于 1.5 mL 离心管中, 加入 790 μ L 甲醇, 涡旋 3 min(此步骤使得甲醇对乳液进行彻底破乳, 以便于甲醇充分溶解乳液体系中所包埋的益智酮乙)后, 以 4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 在波长 340 nm 处测定吸光度, 再根据吸光度值计算益智酮乙的量, 最后计算包封率。试验重复测定 3 次, 结果取平均值。

1.3.3 益智酮乙纳米乳液的类型判断

采用稀释分散法判断益智酮乙纳米乳液的类型。将纳米乳液分别滴在超纯水和菜籽油中, 观察其形态并拍照记录。

1.3.4 微观形态观察

参照 LI 等^[29]的方法, 采用激光共聚焦显微镜观察益智酮乙纳米乳液和粗乳液的微观形态。将 2.0 mg 尼罗红染料用 10 mL 无水乙醇溶解; 将 2 mL 益智酮乙纳米乳液和粗乳液分别与 100 μ L 尼罗红染料混合均匀, 吸取 20 μ L 混合液于载玻片上, 盖上盖玻片后用 100 倍物镜倒置观察。微观图像运用 Zen 软件进行分析。

1.3.5 傅里叶红外光谱分析

采用 FTIR 傅里叶红外光谱仪对菜籽油、大豆卵磷脂、益智酮乙、益智酮乙纳米乳液样品的结构特征进行测量。在 25 $^{\circ}$ C 下, 制作 2 种压片: 将干燥后的溴化钾压制成片, 再在这些压片上涂抹菜籽油和益智酮乙纳米乳液样品; 将益智酮乙和大豆卵磷脂与溴化钾混合后也压制成片。2 种压片均在分辨率为 4 cm^{-1} 、扫描次数 64 次、扫描范围 4 000~500 cm^{-1} 的条件下进行傅里叶红外光谱分析。

1.3.6 稳定性分析

取 10 mL 新鲜制备的益智酮乙纳米乳液于 20 mL 血清瓶中, 贮藏在 4 $^{\circ}$ C 条件下, 于贮藏 0、7、14、21、28 d 时分别测定乳液的平均粒径、PDI、Zeta 电位及包封率, 并用激光共聚焦显微镜观察其微观形态, 分析其贮藏稳定性。

取 3 mL 新鲜制备的益智酮乙纳米乳液于 10 mL 离心管中, 再与等体积的不同浓度(10、20、30、50、

70、100、200、300 mmol/L)的 NaCl 混合, 室温保存 24 h 后分别测定乳液的平均粒径、PDI 和 Zeta 电位, 并用激光共聚焦显微镜观察其微观形态, 分析其离子稳定性。

1.4 数据处理与分析

运用 SPSS 25.0 进行统计分析。采用 Prism 绘图。

2 结果与分析

2.1 乳液制备优化结果

2.1.1 单因素试验结果

从图 1 可知, 随着大豆卵磷脂质量浓度从 5 g/L 增加至 25 g/L, 乳液平均粒径逐渐减小, 而 PDI 则先减小, 当大豆卵磷脂质量浓度从 10 g/L 增加至 20 g/L 时 PDI 又逐渐增大, 随后又有所减小; 当大豆卵磷脂质量浓度从 25 g/L 增加至 30 g/L 时, 平均

粒径和 PDI 均大幅增大。综合考虑, 后续试验选择 25 g/L 的大豆卵磷脂。

随着菜籽油质量分数的增加, 平均粒径呈增大趋势; 当菜籽油质量分数从 5.0% 增加到 12.5%, PDI 没有显著变化, 而当菜籽油质量分数继续增大至 15.0%, PDI 显著增大。考虑到后续试验的载药量, 菜籽油质量分数选择 10.0%。

在高压微射流技术处理的过程中, 随着均质压强的增大, 粒径和 PDI 均呈减小趋势。故后续试验选择高压微射流均质压强为 172.35 MPa。

随着均质次数的增加, 纳米乳液的粒径和 PDI 均先减小, 其中, 均质 5 次时粒径和 PDI 均最小, 随后继续增加均质次数, 粒径和 PDI 又逐渐增大。当均质次数大于 5 次后, 微射流内部可能由于均质次数的增加导致温度过高, 从而影响乳液的粒径和 PDI。故后续试验选择均质 5 次。

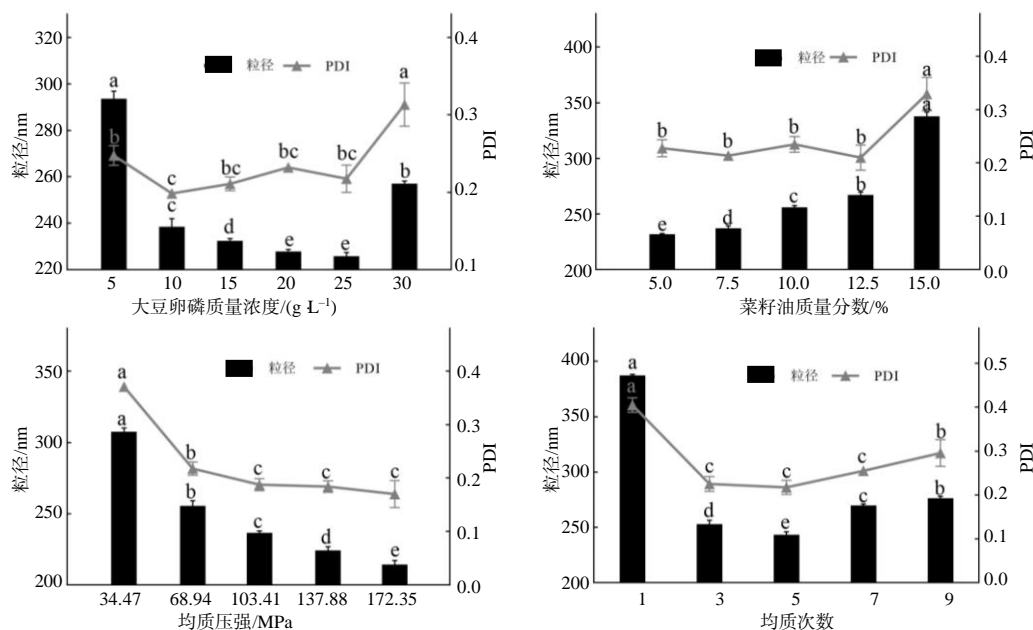


图 1 单因素试验的纳米乳液粒径和 PDI

Fig.1 The particle size and polydispersity of nanoemulsion of single factor test

Fig.1 The particle size and polydispersity of nanoemulsion of single factor test

2.1.2 响应面法优化试验结果

根据单因素试验的结果, 以平均粒径为响应值, 并考虑到后续动物试验载药量的限制, 菜籽油质量分数固定为 10%, 选择大豆卵磷脂质量浓度 (15、20、25 g/L)、均质压强 (103.41、137.88、172.35 MPa) 和均质次数 (3、5、7 次) 作三因素三水平响应面优化试验, 结果列于表 1。

表 1 高压均质制备纳米乳液的响应面试验结果

Table 1 Response surface test results of high-pressure homogenization for preparing nanoemulsion

序号	均质次数 (A)	均质压强 (B)/MPa	大豆卵磷脂质量 浓度(C)/(g L ⁻¹)	平均粒径/nm
1	3	103.41	20	224.6
2	7	103.41	20	202.2
3	3	172.35	20	195.1
4	7	172.35	20	185.9
5	3	137.80	15	240.7

表 1(续)

序号	均质次数 (A)	均质压强 (B)/MPa	大豆卵磷脂质量 浓度(C)/(g L ⁻¹)	平均粒径/nm
6	7	137.88	15	213.8
7	3	137.88	25	211.5
8	7	137.88	25	187.9
9	5	137.88	15	236.1
10	5	172.35	15	205.0
11	5	103.41	25	207.4
12	5	172.35	25	181.4
13	5	137.88	20	204.8
14	5	137.88	20	198.5
15	5	137.88	20	204.5
16	5	137.88	20	198.7
17	5	137.88	20	204.7

对试验结果进行回归拟合分析,得到以平均粒径(Y)为因变量,均质次数(A)、均质压强(B)、大豆卵磷脂质量浓度(C)为自变量的二次多项回归方程 $Y=202.24-10.26A-12.86B-13.42C+3.30AB+0.82AC+1.27BC+2.85A^2-3.15B^2+C^2$ 。

从表 2 可知,模型 $P<0.000\ 1$,表明模型极显著,拟合程度良好;失拟项 $P=0.277\ 6$,差异不显著。模型的变异系数为 1.89% ,说明实测值具有较高的精度,同时 R^2 为 $0.974\ 4$,说明该模型拟合良好,可以用于益智酮乙纳米乳液工艺优化的分析和预测。通过回归系数显著性分析,模型的 P 越小, F 越大,则说明纳米乳液制备效果越好。从分析结果可知, A 、 B 、 C 和 C^2 对响应值具有极显著的影响,其他因素及其相互作用对响应值的影响不显著。

根据 Design Expert 10 计算出乳液制备的最佳条件为均质次数 7 次、均质压强 172.35 MPa、大豆卵磷脂质量浓度 18.4 g/L,在此条件下得到的纳米乳液粒径的预测值为 178.30 nm。使用优化后的工

艺制备益智酮乙纳米乳液并进行试验验证,得到的平均粒径为 (175.37 ± 4.33) nm, PDI 为 0.13 ± 0.02 ,与预测值接近。由此可见,采用 Box–Behnken 试验设计建立的响应曲面模型可以很好地预测益智酮乙纳米乳液的制备工艺参数值。

表 2 高压均质制备纳米乳液响应面试验结果的回归模型的方差分析结果

Table 2 Variance analysis result of regression model for the response surface test results of high-pressure homogenization in preparing nanoemulsion					
来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	4 029.20	9	447.69	29.61	<0.000 1
A	842.55	1	842.55	55.73	0.000 1
B	1 323.55	1	1 323.55	87.55	<0.000 1
C	1 441.84	1	1 441.84	95.37	<0.000 1
AB	43.56	1	43.56	2.88	0.133 4
AC	2.72	1	2.72	0.18	0.684 0
BC	6.50	1	6.50	0.43	0.532 9
A^2	34.32	1	34.32	2.27	0.175 6
B^2	41.65	1	41.65	2.75	0.140 9
C^2	295.68	1	295.68	19.56	0.003 1
残差	105.82	7	15.12		
失拟项	61.59	3	20.53	1.86	0.277 6
净误差	44.23	4	11.06		

2.1.3 益智酮乙质量浓度对益智酮乙纳米乳液粒径和 PDI 及包封率的影响

从表 3 可知,包埋不同质量浓度的益智酮乙,乳液粒径和 PDI 没有明显变化,且 PDI 均小于 0.3,这说明所有样品均处于稳定状态,这也表明该纳米乳液可被认为是单分散和均匀的体系,比多分散体系更不容易受到物理环境因素的影响;随着益智酮乙质量浓度从 0.2 mg/mL 升高至 7.0 mg/mL,包封率由 81.67%逐渐在波动中增加至 91.00%,当益智

表 3 不同质量浓度益智酮乙的纳米乳液的粒径和 PDI 及包封率

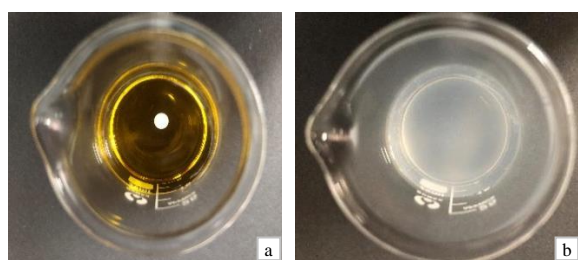
Table 3 Particle size, polydispersity and encapsulation efficiency of yakuchinone B nanoemulsion with different yakuchinone B concentrations							
益智酮乙质量浓度/ (mg mL ⁻¹)	粒径/nm	PDI	包封率/%	益智酮乙质量浓度/ (mg mL ⁻¹)	粒径/nm	PDI	包封率/%
0.0	173.07±0.15	0.15±0.01		3.0	175.67±0.70	0.12±0.01	86.37±0.02
0.2	178.07±0.40	0.13±0.01	81.67±0.01	4.0	176.10±1.21	0.13±0.01	86.33±0.03
0.3	180.37±1.27	0.16±0.01	81.23±0.00	5.0	175.93±1.48	0.14±0.01	85.83±0.01
0.5	179.80±0.82	0.13±0.03	80.97±0.01	6.0	177.73±1.12	0.14±0.03	90.07±0.02
0.7	182.40±1.42	0.15±0.01	80.87±0.03	7.0	176.93±0.50	0.16±0.00	91.00±0.03
1.0	178.17±1.11	0.13±0.02	83.87±0.03	9.0	176.00±0.53	0.12±0.02	88.87±0.02
2.0	176.60±1.21	0.14±0.00	83.53±0.02				

酮乙质量浓度为 7 mg/mL 时,益智酮乙纳米乳液具有最高的包封率,而当益智酮乙质量浓度为 9 mg/mL 时,包封率又略有下降,这可能是由于该质量浓度与所测得的益智酮乙溶解度(9.303 mg/mL)接近,从而导致益智酮乙无法完全溶解。

2.2 乳液理化性质分析

2.2.1 益智酮乙纳米乳液的类型

从图 2 可知,益智酮乙纳米乳液液滴在水中呈分散状态,而在菜籽油中则呈聚集状态,由此可判断该乳液体系为 O/W 型乳液。



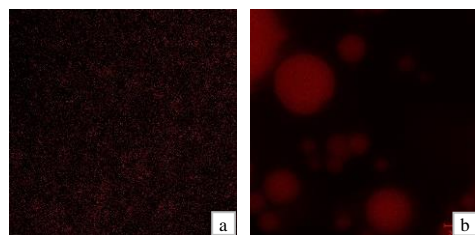
a 菜籽油; b 水。

图 2 益智酮乙纳米乳液在菜籽油和水中的分散状态

Fig.2 Dispersion state of yakuchinone B nanoemulsion in rapeseed oil and water

2.2.2 益智酮乙纳米乳液的微观形态

从图 3 可知,纳米乳液粒径较小,分布均匀,所使用的激光共聚焦显微镜无法对其进一步放大;观察粗乳液的微观形态可见,液滴颗粒呈球状。



a 益智酮乙纳米乳液; b 粗乳液。

图 3 益智酮乙纳米乳液和粗乳液的激光共聚焦图像

Fig.3 Laser confocal microscopy images of yakuchinone B nanoemulsion and crude emulsion

2.2.3 傅里叶红外光谱分析结果

从图 4 可知:益智酮乙纳米乳液、空白纳米乳液、菜籽油和益智酮乙在 3 050.0~2 858.0 cm^{-1} 均出现甲基和亚甲基的伸缩振动峰,且菜籽油、空白乳液、益智酮乙纳米乳液、益智酮乙的振动强度依次降低;除益智酮乙外的 3 个样品皆在 1 747.0 cm^{-1}

附近有不同强度的吸收峰,为甘油三酯的羰基基团拉伸振动峰,且菜籽油、空白乳液、益智酮乙纳米乳液的振动强度依次降低,从这一现象可推测该液体体系有效地包埋了益智酮乙;在益智酮乙光谱中,3 340.0 cm^{-1} 处的吸收峰代表酚—OH 的伸缩振动,由于氢键 O—H 基团的拉伸振动,在空白乳液和益智酮乙乳液中均存在 3 500.0~3 300.0 cm^{-1} 波数范围内的 1 个宽峰,该峰通常与水和乳化剂之间形成的强分子内/分子间氢键有关;另外,与大豆卵磷脂相比,空白乳液和益智酮乙乳液吸收峰发生了蓝移(从 3 385.0 cm^{-1} 变为 3 458.0 cm^{-1}),通过这一现象推测可知,乳化剂和菜籽油之间的相互作用导致乳化剂官能团特征峰发生移动;益智酮乙在 1 639.0 cm^{-1} 处的吸收峰由双键共轭羰基伸缩振动产生,在 1 463.0 cm^{-1} 和 1 165.0 cm^{-1} 处的吸收峰分别由苯环骨架振动和酚 C—OH 伸缩振动产生,而在益智酮乙纳米乳液的 FTIR 光谱中也发现这些峰(1 643.3、1 463.9、1 165.0 cm^{-1} 处)的存在,但部分峰的位置发生了移动,可能是由于含益智酮乙的菜籽油和乳化剂之间的极性作用和表面能作用,导致了 O—H 拉伸所形成的;而空白乳液的 FTIR 也发现了这些峰(1 652.9、1 465.2、1 166.4 cm^{-1} 处)的存在,但都发生了移动且强度都低于益智酮乙纳米乳液的峰强度,这些峰的存在与大豆卵磷脂和菜籽油有关。在空白乳液和益智酮乙乳液的光谱中,未观察到新的吸收峰,这表明菜籽油、大豆卵磷脂和益智酮乙之间没有形成共价键,也未发生化学相互作用。

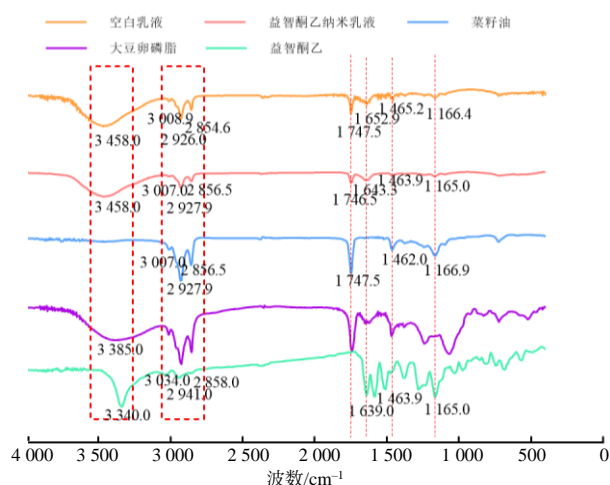


图 4 不同样品的 FTIR 图谱

Fig.4 FTIR spectrum of different samples

2.2.4 贮藏稳定性

从表 4 可知，与 0 d 时相比，在贮藏 7、14、21、28 d 时，益智酮乙纳米乳液的粒径、PDI 和包封率没有明显变化，这表明乳液整体仍处于较为稳定的状态，同时也说明该乳液体系能很好地保护包埋在其中的益智酮乙，使其不受外界环境的影响；在 28 d 贮藏过程中，测得的 Zeta 电位均为负值，

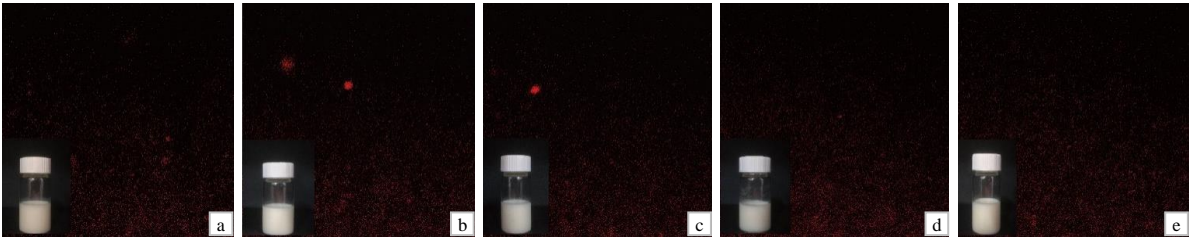
这主要是由于卵磷脂带负电荷且存在于油滴表面，在整个过程中，Zeta 电位绝对值仍然大于 30 mV，说明乳液系统稳定。

从图 5 可知，乳液外观变化差异小，呈乳白色，分布均匀，未发现相分离、分层和沉淀等明显变化；液滴颗粒直径小，分布均匀。可见，在 4 ℃条件下贮藏的益智酮乙纳米乳液能维持良好特性。

表 4 益智酮乙纳米乳液在 4 ℃下贮藏不同时间的粒径和 PDI 与 Zeta 电位及包封率

Table 4 Particle size, polydispersity, zeta potential and encapsulation efficiency of yakuchinone B nanoemulsion at 4 ℃ during different storage time

贮藏时间/d	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV	包封率/%
0	170.13±0.50	0.13±0.02	-66.97±2.53	93.63±0.01
7	175.57±1.99	0.15±0.03	-61.63±1.02	80.85±0.06
14	174.33±1.42	0.13±0.02	-63.30±1.11	83.95±0.08
21	174.50±0.35	0.15±0.01	-62.30±0.69	82.37±0.08
28	178.47±3.26	0.14±0.01	-55.83±1.24	87.84±0.05



a~e 分别为 0、7、14、21、28 d 时的结果。

图 5 益智酮乙纳米乳液在 4 ℃下贮藏不同时间的外观和激光共聚焦图像

Fig.5 Pictorial views and laser confocal microscopy images of yakuchinone B nanoemulsion at 4 ℃ during different storage time

2.2.5 离子稳定性

由表 5 可知，当 NaCl 浓度≥50 mmol/L，乳液粒径和 PDI 显著升高，乳液粒径分布向大粒径方向偏移。从图 6 可知，当 NaCl 浓度≥50 mmol/L，小油滴都聚集成大油滴，且随着离子浓度的升高，油滴也越来越大。当乳液中 NaCl 的浓度从 10 mmol/L 增加到 300 mmol/L 时，乳液 Zeta 电位的绝

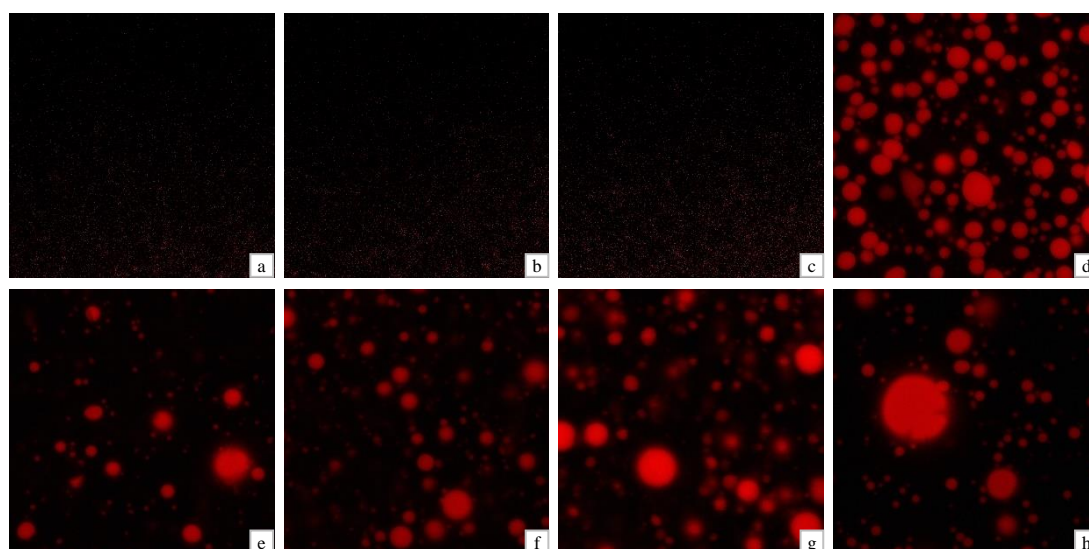
对值也显著降低，这是由于在乳液中加入 NaCl 溶液后，Na⁺的静电屏蔽效应随着离子浓度的升高变得更加明显，最终导致整个乳液体系稳定性下降；当 NaCl 浓度≤30 mmol/L 时，乳液能维持较为稳定的状态，这是由于在相对较低的离子浓度下，静电排斥力仍足以克服微弱的范德华力和疏水吸引力，益智酮乙纳米乳液能维持良好特性。

表 5 不同 NaCl 浓度下的纳米乳液的粒径和 PDI 及 Zeta 电位

Table 5 The particle size, PDI and Zeta potential of nanoemulsion at different NaCl concentrations

NaCl 浓度/(mmol L ⁻¹)	粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV
10	(173.63±3.58)e	(0.13±0.02)e	(-66.77±0.94)a
20	(171.30±2.45)e	(0.11±0.01)e	(-62.90±0.42)b
30	(186.27±1.92)e	(0.19±0.00)d	(-52.40±0.43)c
50	(267.87±4.27)d	(0.35±0.02)c	(-45.30±2.30)d
70	(416.40±8.68)c	(0.50±0.02)b	(-31.87±0.92)e
100	(427.17±11.34)c	(0.49±0.03)b	(-29.24±0.39)e
200	(722.57±5.07)b	(0.60±0.00)a	(-21.81±0.81)f
300	(948.20±13.81)a	(0.62±0.04)a	(-17.99±1.12)g

同列不同字母示 NaCl 浓度间的差异有统计学意义(P<0.05)。



a~h NaCl 浓度分别为 10、20、30、50、70、100、200、300 mmol/L。

图 6 益智酮乙纳米乳液在不同离子浓度下的激光共聚焦图像

Fig.6 Laser confocal microscopy images of yakuchinone B-loaded nanoemulsion at different ionic concentrations

3 结论与讨论

本研究中,以大豆卵磷脂作为乳化剂,采用高压均质法制备益智酮乙纳米乳液,并研究大豆卵磷脂质量浓度、菜籽油质量分数、均质压强和均质次数对乳液的平均粒径和 PDI 的影响。当大豆卵磷脂质量浓度 18.4 g/L、菜籽油质量分数 10%、均质压强 172.35 MPa、均质 7 次、包埋益智酮乙质量浓度为 7 mg/mL 时,制备出的益智酮乙纳米乳液平均粒径小、分布均匀,且包封率最高。在单因素试验中,随着大豆卵磷脂质量浓度增加,乳液平均粒径和 PDI 均先减后增,这可能是因为大豆卵磷脂质量浓度过高会导致囊状卵磷脂聚集体的产生,进而引起絮沉现象^[30]。这不仅影响乳液的粒径和 PDI,还可能使得体系在 PDI 大于 0.3 时变得不稳定^[31-32]。随着均质压强的增大,纳米乳液粒径和 PDI 均呈减小趋势,这可能是因为增加均质压强可增强高速剪切作用,促使大豆卵磷脂迅速吸附在新形成的更小脂滴上,从而减小乳液的粒径^[33],这与李畅等^[34]的研究结果一致。随着均质次数的增加,纳米乳液的粒径和 PDI 均先减后增,这是由于均质次数过高会使均质机内部温度过高,从而导致纳米乳液结构的破坏^[35]。

本研究中,益智酮乙纳米乳液在 4 °C 下贮藏 28 d 后,其粒径、PDI 和包封率相较于 0 d 时没有明显变化,Zeta 电位绝对值均大于 30 mV,外观和微观观察均无明显变化,益智酮乙纳米乳液具有良好的稳定性;但有 NaCl 存在的情况下,当 NaCl 浓度 \geq

50 mmol/L,乳液粒径和 PDI 均显著升高,Zeta 电位的绝对值也显著降低,当离子浓度 \leq 30 mmol/L 时,乳液能维持较为稳定的状态。在商业应用中,乳液的稳定性对于保持产品在整个货架期内的质量至关重要^[36],而油水界面产生的排斥力通常足以克服液滴之间的相互吸引作用^[37],维持乳液的稳定性。然而,食品添加剂可能影响递送给药系统的功能表现^[38],尤其是在高离子浓度下,静电屏蔽效应可能导致液滴聚集^[39-40],一旦盐浓度超过临界点,静电排斥力就不足以克服液滴间的吸引力,从而导致液滴聚集^[36],影响乳液的稳定性。此外,Zeta 电位的显著下降可能是由于小油滴的破裂^[41-42],这可能会对乳液稳定性产生负面影响。

参考文献:

- [1] YAMAZAKI R, HATANO H, AIYAMA R, et al. Diarylheptanoids suppress expression of leukocyte adhesion molecules on human vascular endothelial cells[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2000, 404(3): 375-385.
- [2] SURH Y J. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2002, 40(8): 1091-1097.
- [3] LEE S H, LIM S Y, CHOI J H, et al. Benzylideneacetophenone derivatives attenuate IFN- γ -induced IP-10/CXCL10 production in orbital fibroblasts of patients with thyroid-associated ophthalmopathy through STAT-1 inhibition[J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2014, 46(6): e100.

- [4] BAYATI S, YAZDANPARAST R. Antioxidant and free radical scavenging potential of yakuchinone B derivatives in reduction of lipofuscin formation using H₂O₂-treated neuroblastoma cells[J]. Iranian Biomedical Journal, 2011, 15(4): 134–142.
- [5] OH S, JANG S, KIM D, et al. Synthesis and evaluation of biological properties of benzylideneacetophenone derivatives[J]. Archives of Pharmacal Research, 2006, 29(6): 469–475.
- [6] CHUN K S, SOHN Y, KIM H S, et al. Anti-tumor promoting potential of naturally occurring diarylheptanoids structurally related to curcumin[J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 1999, 428(1/2): 49–57.
- [7] FLYNN D L, RAFFERTY M F, BOCTOR A M. Inhibition of 5-hydroxy-eicosatetraenoic acid(5-HETE) formation in intact human neutrophils by naturally-occurring diarylheptanoids: inhibitory activities of curcuminoids and yakuchinones[J]. Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine, 1986, 22(3): 357–360.
- [8] NINOMIYA Y, SHIMMA N, ISHITSUKA H. Comparative studies on the antirhinovirus activity and the mode of action of the rhinovirus capsid binding agents, chalcone amides[J]. Antiviral Research, 1990, 13(2): 61–74.
- [9] SARI T P, MANN B, KUMAR R, et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 540–546.
- [10] MANCA M L, CASTANGIA I, ZARU M, et al. Development of curcumin loaded sodium hyaluronate immobilized vesicles(hyalurosomes) and their potential on skin inflammation and wound restoring[J]. Biomaterials, 2015, 71: 100–109.
- [11] LI X Y, CHEN S, ZHANG B J, et al. *In situ* injectable nano-composite hydrogel composed of curcumin, N, O-carboxymethyl chitosan and oxidized alginate for wound healing application[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2012, 437(1/2): 110–119.
- [12] LI J L, HWANG I C, CHEN X G, et al. Effects of chitosan coating on curcumin loaded nanoemulsion: Study on stability and *in vitro* digestibility[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 138–147.
- [13] SUN Y, XIA Z Y, ZHENG J K, et al. Nanoemulsion-based delivery systems for nutraceuticals: influence of carrier oil type on bioavailability of pterostilbene[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 13: 61–70.
- [14] SIVAKUMAR M, TANG S Y, TAN K W. Cavitation technology: a greener processing technique for the generation of pharmaceutical nanoemulsions[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2014, 21(6): 2069–2083.
- [15] YU H L, HUANG Q R. Investigation of the cytotoxicity of food-grade nanoemulsions in Caco-2 cell monolayers and HepG2 cells[J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 29–33.
- [16] LING J K U, CHAN Y S, NANDONG J. Insights into the release mechanisms of antioxidants from nanoemulsion droplets[J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 59(5): 1677–1691.
- [17] MCCLEMENTS D J, RAO J J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2011, 51(4): 285–330.
- [18] CARPENTER J, GEORGE S, SAHARAN V K. Curcumin encapsulation in multilayer oil-in-water emulsion: synthesis using ultrasonication and studies on stability and antioxidant and release activities[J]. Langmuir, 2019, 35(33): 10866–10876.
- [19] JIANG T, LIAO W, CHARCOSSET C. Recent advances in encapsulation of curcumin in nanoemulsions: a review of encapsulation technologies, bioaccessibility and applications[J]. Food Research International, 2020, 132: 109035.
- [20] LI L W, CHEN X Y, LIU L C, et al. Oil-in-water camellia seeds oil nanoemulsions via high pressure microfluidization: formation and evaluation[J]. LWT: Food Science and Technology, 2021, 140: 110815.
- [21] YANG Q Q, SUI Z Q, LU W, et al. Soybean lecithin-stabilized oil-in-water(O/W) emulsions increase the stability and *in vitro* bioaccessibility of bioactive nutrients[J]. Food Chemistry, 2021, 338: 128071.
- [22] GARCÍA-MORENO P J, FRISENFELDT HORN A, JACOBSEN C. Influence of casein-phospholipid combinations as emulsifier on the physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(5): 1142–1152.
- [23] 何成艳. 基于卵磷脂与蛋白质为乳化剂的美藤果油微胶囊的制备及研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- [24] YANG Y, LESER M E, SHER A A, et al. Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: *Quillaja* saponin(Q-Naturale®)[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(2): 589–596.
- [25] TANG X D, DONG Q R, LI J, et al. Anti-melanogenic mechanism of tetrahydrocurcumin and enhancing its topical delivery efficacy using a lecithin-based nanoemulsion[J]. Pharmaceutics, 2021, 13(8): 1185.
- [26] KOO C K W, CHUNG C, FU J T R, et al. Impact of sodium caseinate, soy lecithin and carrageenan on functionality of oil-in-water emulsions[J]. Food Research International, 2019, 123: 779–789.
- [27] PIROZZI A, DEL GROSSO V, FERRARI G, et al. Edible coatings containing oregano essential oil nanoemulsion for improving postharvest quality and shelf life of tomatoes[J]. Foods, 2020, 9(11): 1605.
- [28] DONG H L, WANG P, YANG Z Y, et al. Dual improvement in curcumin encapsulation efficiency and lyophilized complex dispersibility through ultrasound regulation of curcumin-protein assembly[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 90: 106188.

- [29] LI Y, ZHAO R N, LI Y, et al. Limonin enhances the antifungal activity of eugenol nanoemulsion against *Penicillium italicum* in vitro and in vivo tests[J]. Microorganisms, 2021, 9(5): 969.
- [30] KLANG V, VALENTA C. Lecithin-based nanoemulsions[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2011, 21(1): 55–76.
- [31] HEURTAULT B, SAULNIER P, PECH B, et al. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles[J]. Biomaterials, 2003, 24(23): 4283–4300.
- [32] HE Q, GUO M M, JIN T Z, et al. Ultrasound improves the decontamination effect of thyme essential oil nanoemulsions against *Escherichia coli* O157: H7 on cherry tomatoes[J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 337: 108936.
- [33] GADKARI P V, SHASHIDHAR M G, BALARAMAN M. Delivery of green tea catechins through oil-in-water(O/W) nanoemulsion and assessment of storage stability[J]. Journal of Food Engineering, 2017, 199: 65–76.
- [34] 李畅, 薛璐, 芦晶, 等. 高压微射流均质法制备二十二碳六烯酸藻油脂质体及其性质分析[J]. 食品科学, 2022, 43(19): 110–117.
- [35] 史亚濛. 花椒精油纳米乳液的制备、特性表征及其应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [36] MCCLEMENTS D J. Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques[M]. 3rd ed. Boca Raton, USA: CRC Press, 2015.
- [37] HUNTER R J. Foundations of Colloid Science[M]. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2001.
- [38] SARI T P, MANN B, KUMAR R, et al. Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 540–546.
- [39] KOMAIKO J, SASTROSUBROTO A, MCCLEMENTS D J. Encapsulation of ω -3 fatty acids in nanoemulsion-based delivery systems fabricated from natural emulsifiers: sunflower phospholipids[J]. Food Chemistry, 2016, 203: 331–339.
- [40] 姜欣雨. 姜黄素纳米乳液的制备及其在香菇保鲜中的应用[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [41] FLORES-ANDRADE E, ALLENDE-BALTAZAR Z, SANDOVAL-GONZÁLEZ P E, et al. Carotenoid nanoemulsions stabilized by natural emulsifiers: whey protein, gum Arabic, and soy lecithin[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 290: 110208.
- [42] ÖZTÜRK B. Nanoemulsions for food fortification with lipophilic vitamins: production challenges, stability, and bioavailability[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2017, 119(7): 1500539.

责任编辑: 邹慧玲
英文编辑: 柳 正

(上接第 110 页)

- [4] 周群华, 李元发, 吕志宏, 等. 一种用于烟草片烟松散回潮机热风温度控制装置: CN208850665U[P]. 2019-05-14.
- [5] 张天驿, 蒋红海, 忽正熙. 基于红外图像边缘检测的松散回潮过程中烟草运动轨迹分析[J]. 新技术新工艺, 2016(3): 103–105.
- [6] 刘栋, 李华杰, 罗登炎, 等. 滚筒加工设备烟丝停留时间分布的测定方法[J]. 烟草科技, 2011, 44(5): 5–10.
- [7] 周凯敏, 何晋, 盛科, 等. 滚筒烘丝机内烟丝滞留时间模型的建立及数值模拟[J]. 烟草科技, 2016, 49(5): 94–99.
- [8] 周学政, 何蓉, 李东亮, 等. 松散回潮工艺参数对卷烟叶丝常规化学成分的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2011, 33(7): 137–140.
- [9] 唐军, 周冰, 唐丽, 等. 松散回潮工序加工强度对烟丝致香物质的影响[J]. 江西农业学报, 2015, 27(3): 66–69.
- [10] 万云飞, 王广超, 王彬彬, 等. 松散回潮工序对卷烟感官质量的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(10): 101–103.
- [11] 沈凯, 潘凡达, 李旭, 等. 松散润叶筒三维传热传质过程数值模拟[J]. 轻工学报, 2023, 38(5): 96–103.
- [12] 耿凡, 徐大勇, 袁竹林, 等. 滚筒干燥器中颗粒混合运动的三维数值模拟[J]. 应用力学学报, 2008, 25(3): 529–534.
- [13] ANSYS Inc. ANSYS Fluent Theory Guide[M]. Canonsburg, USA: ANSYS Inc., 2011.
- [14] 任述光, 陈赛, 吴明亮, 等. 小型油菜联合收获机双风道气流清选装置的设计与试验[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(4): 472–479.
- [15] ALVAREZ P I, SHENE C. Experimental study of residence time in a direct rotary dryer[J]. Drying Technology, 1994, 12(7): 1629–1651.
- [16] VERSTEEG H K, MALALASEKERA W. An Introduction to Computational Fluid Dynamics: The Finite Volume Method[M]. New York: John Wiley & Sons Inc., 1995.
- [17] SHIH T H, LIOU W W, SHABBIR A, et al. A new k - ϵ eddy viscosity model for high reynolds number turbulent flows[J]. Computers & Fluids, 1995, 24(3): 227–238.
- [18] 段兵兵, 王恒旭, 张学军, 等. 湿空气与水直接接触冷凝 CFD 模拟研究[J]. 制冷技术, 2019, 39(1): 28–33.
- [19] 王洪远. 基于动态双网格的鼓泡流化床传热特性的数值模拟[D]. 保定: 华北电力大学, 2021.
- [20] 晏丽红, 谢中华. 间壁式单程换热器两侧流体温度分布的研究[J]. 天津科技大学学报, 2016, 31(3): 48–53.

责任编辑: 邹慧玲
英文编辑: 柳 正