



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109793836 B

(45) 授权公告日 2021.12.10

(21) 申请号 201910100207.9

(22) 申请日 2019.01.31

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109793836 A

(43) 申请公布日 2019.05.24

(73) 专利权人 华南农业大学
地址 510642 广东省广州市天河区五山路
483号

(72) 发明人 林晓蓉 叶锡光 李斌 陈忠正
张媛媛 穆静静

(74) 专利代理机构 广东广信君达律师事务所
44329
代理人 张燕玲 杨晓松

(51) Int. Cl.
A61K 9/107 (2006.01) (续)

(56) 对比文件
CN 109021262 A, 2018.12.18
CN 107811055 A, 2018.03.20
DE 202004006865 U1, 2004.12.09
CN 108525603 A, 2018.09.14

Zhongyang Ren等.Effect of heat-treated tea water-insoluble protein nanoparticles on the characteristics of Pickering emulsions.《LWT-Food Science and Technology》.2021,第149卷

黄欣琪等.茶褐素-纳米硒的构建及其表征.《中国食品科学技术学会第十六届年会暨第十届

中美食品业高层论坛论文摘要集》.2019,第142-143页.

Zhongyang Ren等.Novel food-grade Pickering emulsions stabilized by tea water-insoluble protein nanoparticles from tea residues.《Food Hydrocolloids》.2019,(第96期),第322-330页.

Xiguang Ye等.Construction, characterization, and bioactive evaluation of nano-selenium stabilized by green tea nano-aggregates.《LWT-Food Science and Technology》.2020,第129卷第109475页.

- .茶-纳米硒构建、表征及其应用研究.《http://www.doc88.com/p%2D18061835074700.html》.2020,

Zhang Wenjing等.Synthesis and antioxidant properties of Lycium barbarum polysaccharides capped selenium nanoparticles using tea extract.《Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology》.2017,第46卷(第7期),第1463-1470页.

穆静静等.茶多糖-纳米硒复合物的制备及表征.《现代食品科技》.2019,第35卷(第12期),第225-231,144页. (续)

审查员 黄大智

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称
利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液及其制备方法和应用

(57) 摘要
本发明属于材料技术领域,公开了一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液及其制备方法和应用。所述方法包括以下步骤:(1)制备黑茶提取物;(2)利用黑茶提取物联用纳米硒稳定Pickering乳液;以黑

茶提取物联用纳米硒为Pickering粒子,调节水分散相pH,与油相混合,进行剪切均质和高压均质后得到稳定的Pickering乳液。本发明采用食品级Pickering稳定剂,以黑茶提取物联用纳米硒为Pickering粒子,两者共同稳定Pickering乳液,构建功能强化型Pickering乳液,拓宽Pickering乳液的应用领域,提高其应用价值。

CN 109793836 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

A61K 8/06 (2006.01)

A61K 8/23 (2006.01)

A61K 8/9789 (2017.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A23L 33/105 (2016.01)

A23L 33/16 (2016.01)

A61K 36/82 (2006.01)

A61K 33/04 (2006.01)

(56) 对比文件

田怀香等. 食品级皮克林乳液制备及应用研究进展.《中国食品学报》.2018,第18卷(第01期),第225-232页.

孙翠霞等. 固体颗粒稳定Pickering乳液的研究进展.《中国食品添加剂》.2015,(第04期),第166-172页.

1. 一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 向黑茶原料加入温度为25~100℃、体积百分比浓度为70%~100%的溶剂,所述溶剂的用量按照每g黑茶原料加入10~250mL溶剂来计;然后在25~100℃水浴条件下浸提或超声波辅助浸提2~120min得到黑茶提取液,减压浓缩后喷雾干燥或冷冻干燥得干粉,即为黑茶提取物,于-20℃保存,待用;所述溶剂为水、甲醇或乙醇;

(2) 制备5~20倍纳米硒稀释液,用纳米硒稀释液溶解黑茶提取物,使得黑茶提取物的质量百分数为0.5%~6.0%;加入质量分数0.02%的叠氮钠,调节黑茶提取物分散相pH为2~11,按油和水的体积比为1:9~6:4加入油相,10000~20000r/min高速剪切均质1~2min,40MPa高压均质1~3次,得到Pickering乳液。

2. 根据权利要求1所述的一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法,其特征在于:所述黑茶原料是以茶树鲜叶和嫩梢为原料,经杀青、揉捻、渥堆、干燥工艺加工制成的产品。

3. 根据权利要求1所述的一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法,其特征在于:所述黑茶原料包括茯砖茶、青砖茶、六堡茶、康砖茶、普洱茶或千两茶。

4. 根据权利要求1所述的一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法,其特征在于:所述溶剂的用量按照每g黑茶原料加入50mL溶剂来计;所述水浴的温度为100℃;所述浸提的时间为30min。

5. 根据权利要求1所述的一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法,其特征在于:所述纳米硒为软模板法制备所得的液相纳米硒;所述油相应与水不相溶。

6. 根据权利要求1所述的一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法,其特征在于:所述纳米硒稀释液的稀释倍数为20倍;所述黑茶提取物的质量百分数为2%;所述黑茶提取物联用纳米硒水分散相pH为7;所述油和水的体积比为4:6;所述高速剪切均质的转速为20000r/min,时间为2min;所述高压均质的压力为40MPa,均质次数为3次。

7. 一种根据权利要求1-6任一项所述的方法制备得到的Pickering乳液。

8. 根据权利要求7所述的Pickering乳液在制备食品、化妆品中的应用。

利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于材料技术领域,特别涉及一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 黑茶是我国六大茶类之一,属于后发酵茶,其初制的基本工序为:鲜叶→杀青→揉捻、晒干→发水、渥堆→陈化及干燥,微生物参与的渥堆过程使黑茶形成独特的品质。黑茶中含有比较丰富的黄酮和黄酮类化合物,此外,还含有茶氨酸、生物碱、茶褐素、茶多糖、蛋白质等多种活性组分,具有羟基、羧基、氨基等亲水性基团及疏水性区域,具有一定亲/疏水性。在生物活性方面,具有抗癌、抗炎、降脂减肥、调节脂质代谢、调节体内糖代谢等作用。

[0003] 硒(Se)是8种人体必需微量元素之一,在自然界以无机硒、有机硒和零价元素硒等形式存在。纳米硒是纳米级无定形零价元素硒,平均直径在1~100nm范围内,与其他形式的硒相比,纳米硒具有高抗氧化、抗癌、低毒性等优势。利用软模板法制备的纳米硒,不仅能强化纳米硒功效,更能赋予纳米硒模板特性,赋予纳米硒新的生物学功效。

[0004] Pickering乳液是利用固体颗粒替代传统表面活性剂稳定的新型乳液。对于Pickering粒子,需具有一定的亲/疏水性,可在油水界面发生不可逆吸附,从而稳定Pickering乳液。与传统乳液相比,其乳化剂用量少、成本低、毒性小,在化妆品、食品等多个领域均有广泛的应用。目前,Pickering乳液稳定剂主要为无机材料颗粒,包括 TiO_2 、 SiO_2 、锂皂石(硅酸镁锂)、蒙脱石(硅铝酸盐)、羟磷灰石(碱式磷酸钙)等,食品级的主要包括淀粉、纤维素、大豆蛋白,乳球蛋白等,但大部分物质由于过于亲水/疏水,不能直接稳定Pickering乳液,需经修饰改性才能有效稳定Pickering乳液,而少部分物质能直接稳定Pickering乳液,但无生物活性

发明内容

[0005] 为了克服现有技术中存在的缺点和不足,本发明的首要目的在于提供一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法;该方法以黑茶提取物联用纳米硒为Pickering稳定剂,制备功能强化型的Pickering乳液。

[0006] 本发明的另一目的在于提供一种上述制备方法制备得到的Pickering乳液。

[0007] 本发明的再一目的在于提供一种上述Pickering乳液的应用。

[0008] 本发明的目的通过下述技术方案实现:

[0009] 一种利用黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液的制备方法,包括以下步骤:

[0010] (1) 制备黑茶提取物;

[0011] (2) 利用黑茶提取物联用纳米硒制备Pickering乳液;

[0012] 步骤(1)所述制备黑茶提取物具体按照以下步骤:向黑茶原料加入温度为25~100

℃、体积百分比浓度为70%~100%的溶剂,所述溶剂的用量按照每g黑茶原料加入10~250mL溶剂来计;然后在25~100℃水浴条件下浸提或超声波辅助浸提2~120min得到黑茶提取液,减压浓缩后喷雾干燥或冷冻干燥得干粉,即为黑茶提取物,于-20℃保存,待用。

[0013] 所述黑茶原料是以茶树[*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze]鲜叶和嫩梢为原料,经杀青、揉捻、渥堆、干燥工艺加工制成的产品,优选为茯砖茶、青砖茶、六堡茶、康砖茶、普洱茶或千两茶。

[0014] 所述溶剂为水、甲醇或乙醇。

[0015] 所述溶剂的用量按照每g黑茶原料加入50mL溶剂来计;所述水浴的温度为100℃;所述浸提的时间为30min。

[0016] 步骤(2)所述利用黑茶提取物联用纳米硒制备Pickering乳液具体按照以下步骤:制备5~20倍纳米硒稀释液,用纳米硒稀释液溶解黑茶提取物,使得黑茶提取物的质量百分数为0.5%~6.0%;加入质量分数0.02%的叠氮钠,调节黑茶提取物分散相pH为2~11,按油和水的体积比为1:9~6:4加入油相,10000~20000r/min高速剪切均质1~2min,40MPa高压均质1~3次,得到Pickering乳液。

[0017] 所述纳米硒为软模板法制备所得的液相纳米硒;所述油相应与水不相溶

[0018] 所述纳米硒稀释液的稀释倍数为20倍;所述黑茶提取物的质量百分数为2%;所述黑茶提取物联用纳米硒水分散相pH为7;所述油和水的体积比为4:6;所述高速剪切均质的转速为20000r/min,时间为2min;所述高压均质的压力为40MPa,均质次数为3次。

[0019] 一种根据上述的方法制备得到的Pickering乳液。

[0020] 上述的Pickering乳液在食品、化妆品和生物医药领域中的应用。

[0021] 通过激光光散射技术测定Pickering乳液液滴粒径,评价本发明所得Pickering乳液液滴大小;通过激光多普勒测速技术测定Pickering乳液体系Zeta电位,评价本发明所得Pickering乳液静电稳定性。

[0022] 通过MTT法检测肿瘤细胞存活率,评价本发明所得纳米硒的抗癌活性。

[0023] 上述肿瘤细胞模型包括:HCT 116细胞系、Hepa1c1c7细胞系、MDA-MB-231细胞系、HepG2细胞系、Hela细胞系等,优选HCT 116细胞系。

[0024] 本发明相对于现有技术具有如下的优点及有益效果:

[0025] 本发明采用食品级Pickering稳定剂,以黑茶提取物为Pickering粒子,联用纳米硒共同稳定Pickering乳液。黑茶提取物具有抗氧化、抗癌、降脂、降糖等功效,纳米硒具有较强抗氧化、抗癌活性,两者共同稳定Pickering乳液,可构建功能强化型Pickering乳液,拓宽Pickering乳液的应用领域,提高其应用价值。

附图说明

[0026] 图1为不同添加量的黑茶提取物联用5倍稀释纳米硒Pickering乳液液滴粒径(A)和体系Zeta电位(B)的变化。

[0027] 图2为不同添加量的黑茶提取物联用10倍稀释纳米硒Pickering乳液液滴粒径(A)和体系Zeta电位(B)的变化。

[0028] 图3为不同添加量的黑茶提取物联用20倍稀释纳米硒Pickering乳液液滴粒径(A)和体系Zeta电位(B)的变化。

[0029] 图4为油水比例对Pickering乳液液滴粒径(A)和体系Zeta电位(B)的变化。

[0030] 图5为水分散相pH对Pickering乳液液滴粒径(A)和体系Zeta电位(B)的变化。

具体实施方式

[0031] 下面结合实施例及附图对本发明作进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限于此。

[0032] 为了使本发明的目的、技术方案更加清晰明确,下面以云南普洱茶提取物联用茶-纳米硒作为稳定剂举例,对本发明进行进一步详细说明。本发明所用设备仪器和试剂均为本领域所常用。应当理解,此处所描述的举例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0033] 实施例1:黑茶提取物添加量和纳米硒悬液稀释倍数对Pickering乳液形成的影响。

[0034] (1)准确称取4.5g磨碎茶叶,加入225mL温度为100℃的超纯水,于100℃水浴浸提30min,每隔10min摇一次,浸提结束后用定量滤纸抽滤,定容,经冷冻干燥得到冻干粉,即为茶水提取物(黑茶提取物以黑茶作为浸提原料)。

[0035] (2)移取4mL步骤(1)所述茶水提取物于100KDa超滤管内管,于4℃,4000g,离心20min;收集内/外管溶液得不同粒径范围(平均直径>10nm和平均直径≤10nm)的茶纳米聚集体溶液,冷冻干燥得冻干粉,即为茶纳米聚集体,待用。

[0036] (3)分别配制100mM的亚硒酸钠溶液、500mM的维生素C溶液。固定反应体系中 Na_2SeO_3 浓度为20mmol/L,Vc和 Na_2SeO_3 配比为8:1(20mM:160mM),步骤(1)所得茶水提取物或步骤(2)所得茶纳米聚集体添加量为500mg/L,于40℃水浴条件下静置反应1h,4℃、11000r/min离心30min,重复3次,重悬浮等体积超纯水中,得纳米硒胶体溶液。

[0037] (4)将步骤(3)所得纳米硒胶体溶液分别稀释5倍、10倍、20倍,获得纳米硒稀释液;分别用不同稀释度的纳米硒稀释液溶解质量分数0.5%、1.0%、2.0%、4.0%、6.0%的黑茶提取物,加入质量分数0.02%的叠氮钠,混匀,避光静置过夜(12~14h),按油和水的体积比为1:9(5mL:45mL)加入大豆油,20000r/min高速乳化2min,40MPa高压均质3次,测定Pickering乳液液滴粒径、体系Zeta电位值,结果如图1~3所示,纳米硒胶体溶液稀释20倍,黑茶提取物质量添加量为2%时,Pickering乳液液滴粒径小,乳液静电稳定性高。

[0038] 实施例2:油水比例对Pickering乳液形成的影响。

[0039] 与实施例1相比,区别点仅在于:

[0040] 固定纳米硒稀释液的稀释倍数为20倍,黑茶提取物添加量为质量分数2%,加入质量分数0.02%的叠氮钠,避光静置过夜(12~14h),按油和水的体积比为1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4加入大豆油(总体积50mL),20000r/min高速乳化2min,40MPa高压均质3次,测定Pickering乳液液滴粒径、体系Zeta电位值,结果如图4所示,油水比例增加,乳液液滴粒径增大,黏度增加,稳定性提高。

[0041] 实施例3:黑茶提取物联用纳米硒分散相pH对Pickering乳液形成的影响

[0042] 固定纳米硒稀释液的稀释倍数为20倍,黑茶提取物添加量为质量分数2%,加入质量分数0.02%的叠氮钠,用1mol/L HCl或1mol/L NaOH分别调节水相pH为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11,避光静置过夜(12~14h),按油和水的体积比为4:6加入大豆油(20mL:30mL),20000r/min高速乳化2min,40MPa高压均质3次,测定Pickering乳液液滴粒径、体系Zeta电

位值,结果如图5所示,水分散相pH在6~10范围内,制备的乳液液滴粒径小,体系静电稳定性高。

[0043] 实施例4:乳液液滴粒径及粒径分布测定

[0044] 将本发明新配制或储藏后乳液的粒径及粒径分布利用马尔文3000激光粒度仪测量,分别用去离子水和1%SDS作为分散剂。乳液的相对折光系数设为1.095,系大豆油折光系数(1.456)与水折光系数(1.33)的比值。乳液的粒度以 $d_{4,3}$ (体积加权平均粒径)表示。结果表明:随黑茶水提取物添加量的增加,乳液液滴粒径减小;当纳米硒稀释液的稀释倍数大于10倍、黑茶水提取物添加量为2%时,乳液液滴粒径最小。随油和水的体积比例增大时,乳液液滴粒径增大。改变水分散相pH,乳液液滴在水分散相pH为6~10之间粒径无显著性变化,能耐受水分散相pH在6~10的变化。

[0045] 实施例5:乳液体系静电稳定性测定

[0046] 采用LDV技术测定乳液Zeta电位,研究本发明所得功能强化型Pickering乳液的静电稳定性。结果显示:改变纳米硒稀释倍数、黑茶水提取物添加量、油和水的体积比例和水分散相pH,乳液体系Zeta电位值均大于40mV,乳液体系静电稳定性高。

[0047] 实施例6:乳液抗癌活性测定

[0048] 通过胰蛋白酶消化贴壁HCT 116细胞/MDA-MB-231细胞制成单细胞悬液,以 5×10^4 个细胞/孔接种96孔培养板,置于37℃、5%CO₂培养箱中预培养24h,本发明黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液用培养基稀释10倍、20倍、40倍、80倍、160倍、320倍后,按100μL/孔加入培养基,继续培养48h。往培养板加入0.25mg/mL MTT稀释液100μL/孔,放置在37℃、5%CO₂培养箱中继续培养2h后弃上清,每孔加入200μL DMSO溶液,放置在100r/min的摇床中振荡15~20min,测定各孔OD₅₅₀值,以对照组OD₅₅₀值为100%,计算各组纳米硒抑制细胞增殖的半抑制浓度(IC₅₀),如表1所示,黑茶提取物联用纳米硒构建的功能强化型Pickering乳液抑制HCT 116细胞增殖半抑制浓度IC₅₀为40.86±2.19。

[0049] 表1黑茶提取物联用纳米硒Pickering乳液抑制HCT 116细胞增殖的半抑制浓度(IC₅₀)

	稀释倍数
[0050] 乳液	40.86±2.19

[0051] (黑茶提取物联用纳米硒Pickering乳液在此浓度范围内,MDA-MB-231细胞存活率均大于0.5。)

[0052] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

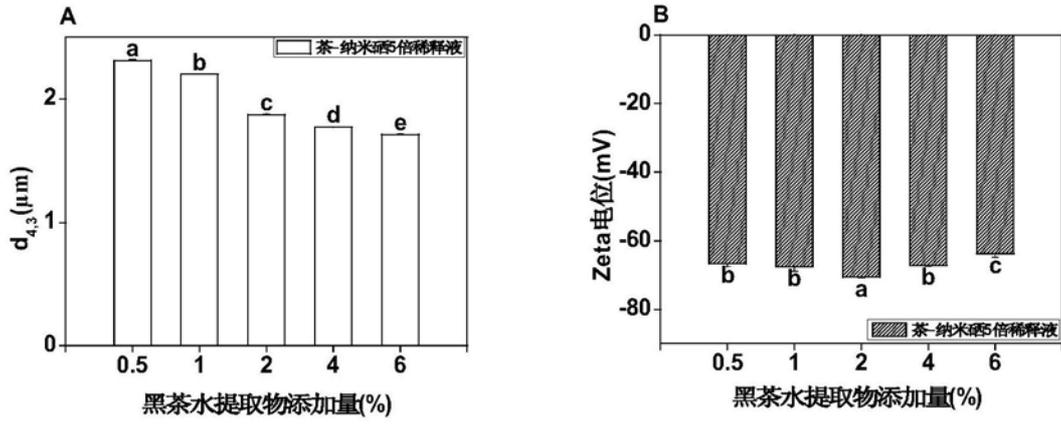


图1

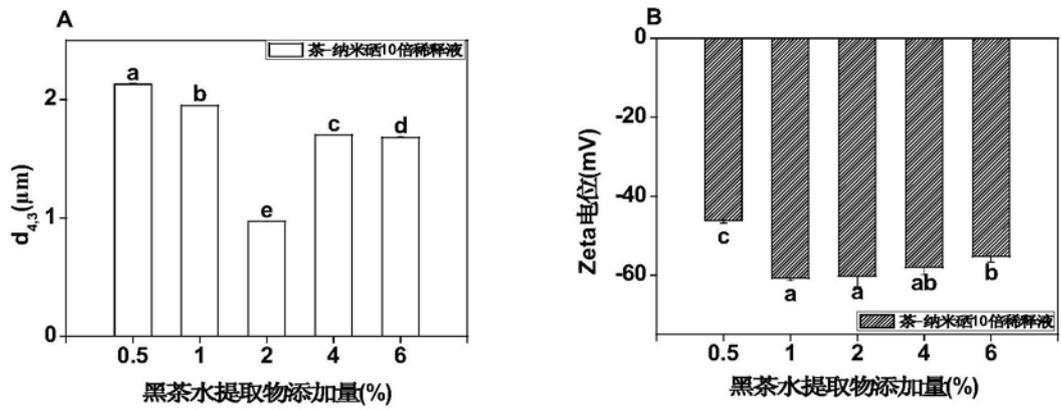


图2

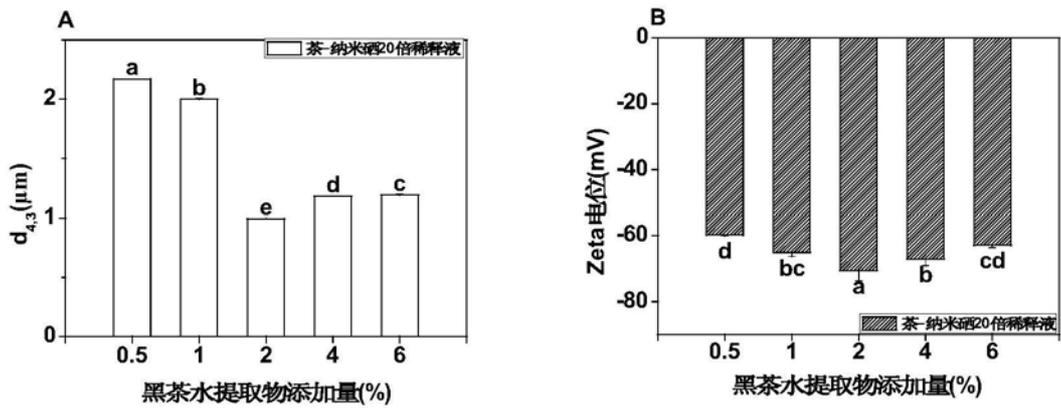


图3

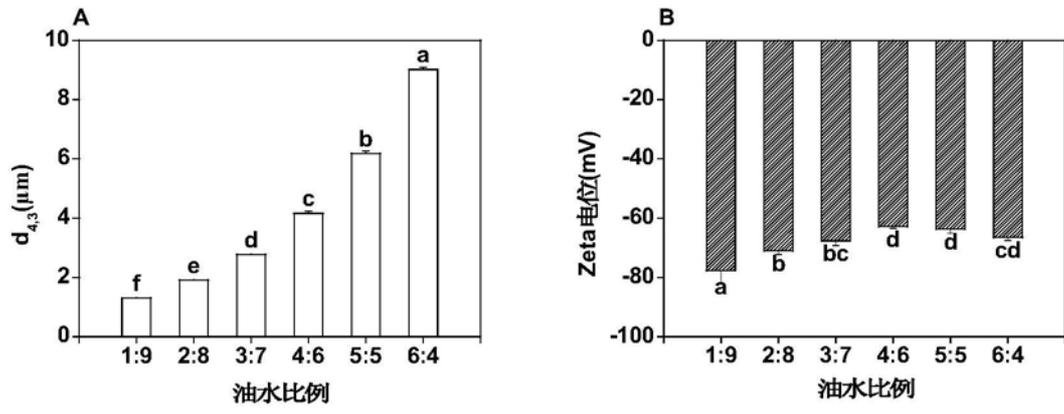


图4

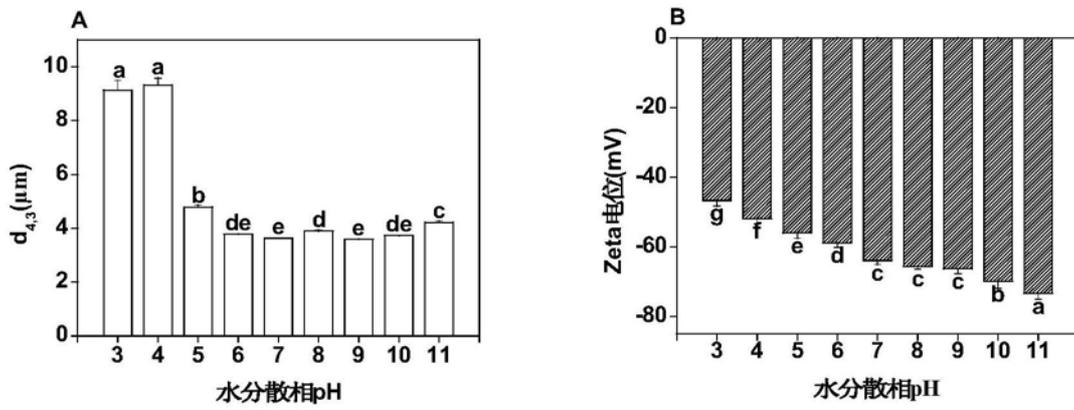


图5