

黑米麸皮花青素脂质体冻干粉的制备

Preparation of lyophilized powder of anthocyanins liposome from black rice bran

周浙赞^{1,2,3} 吴启月^{1,2,3} 冯所兰^{1,2,3} 刘 琴^{1,2,3}

ZHOU Xi-yun^{1,2,3} WU Qi-yue^{1,2,3} FENG Suo-lan^{1,2,3} LIU Qin^{1,2,3}

(1. 南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心, 江苏 南京 210023; 3. 江苏高校粮油质量安全控制及深加工重点实验室, 江苏 南京 210023)

(1. College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing, Jiangsu 210023, China; 2. Collaborative Innovation Center for Modern Grain Circulation and Safety, Nanjing, Jiangsu 210023, China; 3. Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and Processing, Nanjing, Jiangsu 210023, China)

摘要:用冷冻干燥法制备黑米麸皮花青素脂质体前体——花青素脂质体冻干粉。以脂质体冻干粉复水后的渗漏率、粒径、Zeta 电位等为考察指标,研究预冷冻温度、添加冻干保护剂海藻糖、蔗糖及其分别与甘露醇复配后对黑米麸皮花青素脂质体冻干粉质量的影响。结果表明:预冷冻温度对花青素脂质体冻干粉的质量无显著影响。单独使用海藻糖或蔗糖做保护剂时,当大豆卵磷脂与保护剂质量比为 1:3,制备得到的花青素脂质体冻干粉复水后的渗漏率最低,分别为 16.64% 和 12.50%;海藻糖或蔗糖分别与甘露醇复配均能对花青素脂质体起到协同保护作用,当大豆卵磷脂:蔗糖:甘露醇质量比为 1:3:2 时,所得脂质体冻干粉复水后渗漏率最低,为 7.45%,平均粒径为 346.1 nm;而当大豆卵磷脂:海藻糖:甘露醇为 1:3:2 时,所得脂质体冻干粉复水后的渗漏率为 9.65%,平均粒径为 364.6 nm;脂质体冻干粉复水后 Zeta 电位变得更负,脂质体稳定性有所提高。用蔗糖和甘露醇复配做保护剂制备得到的花青素脂质体冻干粉的质量最佳。

关键词:花青素脂质体;冻干粉制备;海藻糖;蔗糖;冻干保护剂

Abstract: The powder of black rice bran anthocyanins liposome (pre-liposome) was prepared by lyophilized methods. The effects of pre-

frozen temperature and different protectants of mycose, sucrose, mannitol on the qualities of lyophilized anthocyanin liposome were investigated by inspecting the leakage rate, particle size and Zeta potential of reconstituted liposome. The results showed that the pre-frozen temperature had no significant effect on the qualities of lyophilized liposome. The leakage of reconstituted liposome were decreased by using protectant mycose or sucrose alone, and reached lowest value of 16.64% and 12.50% respectively by control the mass ratio between soybean lecithin and protectant at 3:1. Combination using of mannitol with mycose or sucrose showed a synergistic protective effect. When $W_{\text{Soybean lecithin}} : W_{\text{sucrose}} : W_{\text{mannitol}} = 1 : 3 : 2$, the reconstituted anthocyanin liposome had the lowest leakage rate of 7.45% and the average particle size of 346.1 nm. While, when $W_{\text{Soybean lecithin}} : W_{\text{mycose}} : W_{\text{mannitol}} = 1 : 3 : 2$, the leakage of reconstituted liposome was 9.65% with the average particle size of 364.6nm. The Zeta potential became more negative after reconstituted the lypholized liposome, which suggested that the stability was increased. The results indicated that the lyophilized anthocyanin had best quality when the mixture of sucrose and mannitol was used as protectant.

Keywords: anthocyanins liposome; preparation of freeze-dried powder; mycose; sucrose; protectants

花青素具有比较强的抗氧化、抗炎、抑制癌细胞生长等能力^[1-3],然而由于它们在生理条件下(pH=7.4)不稳定,花青素在体内的生物可利用率较低^[4]。利用脂质体载体可以提高花青素的稳定性,进而提高其生物可利用度^[5-7],然而,脂质体混悬液在贮存期间易发生聚集、融合及药物渗漏等,导致乳析、粒径变大等现象^[8],因此通常使用冷冻干燥、喷雾干燥以及超临界流体技术将其制备成脂质体前体,即脂质体粉末进行保存,其中冷冻干燥技术因为能较好地保持脂质体

基金项目:江苏省高校自然科学研究重大项目(编号:11KJA550001);江苏省高校自然科学面上项目(编号:13KJB550008);江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介:周浙赞,女,南京财经大学在读硕士研究生。

通讯作者:刘琴(1968—),女,南京财经大学教授,博士。

E-mail:liuqin31@sina.com

收稿日期:2015-10-23

的囊泡结构,且对热敏感的包埋物具有保护作用而应用较多^[9-11]。但在冻干过程中,脂质体内冰晶的形成、相分离及相转变以及渗透压的改变等因素,都会导致脂质体膜发生折叠、融合、破裂及药物渗漏等现象^[12]。因此在冻干前加入适宜的冻干保护剂,可减轻冻干过程对脂质体的破坏,使复水后脂质体的形态、粒径及包封率不发生显著变化。目前使用较多的冻干保护剂有单糖、二糖、寡聚糖、多糖、多元醇及其他水溶性高分子物质^[13],冻干保护剂中含羟基结构的可与磷脂极性基团形成氢键,在脱水情况下,抑制相邻磷脂间距离的缩小,进而稳定脱水的脂质膜,在脂质体复水后能最大程度保持内容物,减小渗漏率^[14-15]。海藻糖、蔗糖、甘露醇等是目前使用效果较好,也较为普遍的保护剂^[16-18]。Ohtake等^[19]报道了冷冻干燥中海藻糖对磷脂生物薄膜具有保护作用;Zhang等^[20]在制备布洛芬固体脂质纳米粒时也发现,海藻糖能显著降低脂质体的药物渗漏率,当使用15%海藻糖时,冻干前后粒径不变且包封率仍能在90%以上;而Ausborn等^[21]以蔗糖作为EPC或氢化蛋黄卵磷脂脂质体的冻干保护剂,冻干脂质体再水化后,内容物保留率可达75%。胡连栋等^[22]以海藻糖和甘露醇混合作为SLN的冻干保护剂,渗漏率较小且脂质体放置3个月稳定性良好。目前尚无关于花青素脂质体冻干粉制备的相关报道。

考虑到花青素本身的热稳定性差,本研究拟采用冷冻干燥法进行黑米麸皮花青素脂质体的制备,以脂质体冻干粉复水后的包封率变化、脂质体粒径的大小、Zeta电位为考察指标,研究冻干保护剂海藻糖、蔗糖和甘露醇的添加对脂质体冻干粉的质量的影响,旨在获得最优的花青素脂质体冻干粉的制备方法,为花青素脂质体的进一步研究和应用提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

- 黑米:江苏南京苏果超市;
- 胆固醇:生化试剂,国药集团化学试剂有限公司;
- 大豆卵磷脂:≥90%,德国Lipoid公司;
- 海藻糖:分析纯,上海蓝季科技发展有限公司;
- 蔗糖:分析纯,汕头市光华化学厂;
- 甘露醇:分析纯,上海山浦化工有限公司;
- AB-8大孔树脂:天津市海光化工有限公司;
- 其他试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

- 碾米机:JNMJ3型,浙江台州市粮仪厂;
- 高速冷冻离心机:Allegra 64R型,美国Beckman公司;
- pH计:pHS-3C型,上海雷磁分析仪器有限公司;
- 旋转蒸发仪:RE-52AA型,上海亚荣生化仪器厂;
- 电子天平:JA5003N型,上海精密科学仪器有限公司;
- 水浴恒温振荡器:SHA-B型,金坛市荣华仪器公司;
- 超纯水系统:Milli-Q Academic型,美国Millipore公司;

- 紫外可见分光光度计:UV-3900型,日本日立公司;
- 冷冻干燥机:FD-STD型,美国Labconco公司;
- 电位纳米粒度仪:Nano-ZS90 Zeta型,英国Malven公司。

1.2 试验方法

1.2.1 黑米麸皮花青素脂质体的制备 根据文献[23]优化后的提取工艺分离提取花青素黑米麸皮花青素:将黑米经砬谷机碾磨分离得到黑米麸皮,然后用石油醚作溶剂,用索氏抽提法除油后再次粉碎并过80目筛,称取20.0g除油后的黑米麸皮粉末加入200mL含15%1mol/LHCl—甲醇溶液,于25℃水浴下提取2h后,将提取液在35℃下旋转蒸发,浓缩至10mL。将花青素浓缩液加入预处理后的AB-8大孔树脂玻璃层析柱(1.5cm×60cm)中,依次用20%,40%,60%的乙醇洗脱,合并所有的洗脱液,在35℃下用旋转蒸发仪旋干,然后用少量pH2的盐酸溶液溶解,经冷冻干燥后得到黑米麸皮的花青素冻干粉。

由于花青素在pH7.4的条件下不稳定,根据本实验室建立的pH梯度结合逆相蒸发法^[24]进行稍许修改制备黑米麸皮花青素脂质体,具体如下:分别称取适量胆固醇和大豆卵磷脂,置于圆底烧瓶中加入适量氯仿将其溶解并于25℃下旋转蒸发去除有机溶剂,直至形成一层均匀的浅黄色薄膜于内壁,然后加入相同量的乙醚将膜脂溶解。称取一定量黑米麸皮花青素用pH为2的磷酸缓冲液溶解,并将其缓慢加入上述乙醚溶解的大豆卵磷脂溶液中,并在超声波仪上短时间间歇超声,直至形成稳定的W/O型乳剂。继续于25℃下旋转蒸发去除有机溶剂,直至瓶壁上形成的凝胶脱落,停止蒸发,然后分别用pH7的磷酸盐缓冲液、含不同浓度的海藻糖、蔗糖及分别与甘露醇混合的磷酸盐缓冲溶液稀释,再过0.45μm的滤膜,得到含不同保护剂的粒径分布均匀的花青素脂质体混悬液。

1.2.2 花青素脂质体冻干粉的制备 将新制备的花青素脂质体混悬液置于冰箱中预冷冻24h后,放入冷冻干燥器中冷冻干燥,采用如下的过程对花青素脂质体进行干燥:将冻干机温度预冷冻至-40℃后将经预冷冻的花青素脂质体放入,在-40℃保持4h,然后按0.5℃/min升温至-20℃并保持6h,之后按0.07℃/min升温至-10℃保持10h,再按0.04℃/min升温至0℃继续干燥6h,最后按0.07℃/min升温至25℃后保持2h取出,得到花青素脂质体冻干粉^[25]。

1.2.3 花青素脂质体包封率、粒径及Zeta电位的测定 参照文献[24]。

1.2.4 预冻工艺对花青素脂质体冻干粉质量的影响 按1.2.1的方法制备花青素脂质体,控制大豆卵磷脂与冻干保护剂的质量比为1:2,将制备得到的脂质体混悬液分别用以下方法进行预冷冻:-20℃冷冻24h、先在-20℃下冷冻4h,再置于-75℃下冷冻24h、直接置于-75℃下冷冻24h,之后按1.2.2的冷冻干燥工艺得到花青素脂质体冻干粉,然后用一定同体积的pH7的磷酸缓冲液复水,并按

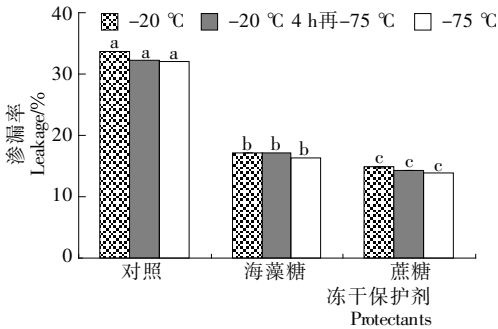
1.2.3中的方法测定脂质体包封率,考察预冷冻温度对花青素脂质体冻干粉质量的影响。

1.2.5 冻干保护剂对花青素脂质体冻干粉复水质量的影响 按1.2.1中的方法制备花青素脂质体混悬液,冻干保护剂加入在 pH 7 的磷酸缓冲液中,在单独加糖作为保护剂时分别控制卵磷脂:蔗糖或海藻糖质量比为 1:1,1:2,1:3,1:4,1:5,在加入糖和甘露醇符合保护剂时控制卵磷脂:蔗糖或海藻糖:甘露醇质量比为 1.0:3.0:0.5,1.0:3.0:1.0,1.0:3.0:1.5,1.0:3.0:2.0,1.0:3.0:2.5。将用上述方法制备得到的脂质体冷冻干燥,得到含不同冻干保护剂的花青素脂质体冻干粉,然后用一定同体积的 pH 7 的磷酸缓冲液复水,并按 1.2.3 中的方法测定脂质体包封率、粒径分布和 Zeta 电位,考察不同冻干保护剂在不同添加比例下对花青素脂质体冻干粉复水后的质量的影响。

2 结果与分析

2.1 预冻工艺对花青素脂质体冻干粉质量的影响

由图 1 可知,加入冻干保护剂海藻糖和蔗糖后,脂质体冻干粉复水后的渗漏率显著降低,但无论是对不加冻干保护剂的脂质体还是加入不同冻干保护剂的脂质体,不同的预冷冻温度对脂质体冻干粉复水后的渗漏率并无显著影响,从节省能量的消耗出发,在后面的试验中均选择-20℃作为花青素脂质体的预冷冻温度。



相同小写字母代表差异不显著(P>0.05)

图 1 不同预冻工艺下得到的花青素脂质体冻干粉复水后的渗漏率
Figure 1 The leakage of the reconstituted lyophilized liposome under different pre-frozen temperature

2.2 冻干保护剂对花青素脂质体冻干粉复水质量的影响

2.2.1 海藻糖的影响 按 1.2.5 的方法,在外水相中加入不同浓度的海藻糖后制备得到的花青素脂质体冻干粉复水后的包封率、粒径及渗漏率见表 1。由于脂质体粒径的大小会影响它们在体内的分布、稳定性及靶向性,而预冻会造成脂质体有一定程度聚集,从而影响复水后脂质体粒径的大小,而 Zeta 电位是脂质体表面电荷情况的表征,直接与脂质体的稳定性有关^[26],因此,除了考察脂质体冻干粉复水后的包封率的变化,试验还考察了冻干前后脂质体粒径及 Zeta

电位的变化。由表 1 可知,加入不同浓度海藻糖不会显著影响脂质体包封率,但可以显著增加内容物的保留,降低脂质体冷冻干燥后的渗漏率,且随着海藻糖的增加,渗漏率逐渐减小然后再上升,当大豆卵磷脂与海藻糖的质量比为 1:3,渗漏率最小(16.64%),较不加保护剂时冻干前后粒径都有所增加,且加入海藻糖后 Zeta 绝对值均略有增加,脂质体稳定性有所提高。

2.2.2 蔗糖的影响 除了海藻糖外,含不同浓度的蔗糖对脂质体冻干粉制备也有较好的保护作用,在 pH=7 的磷酸缓冲溶液中加入不同浓度的蔗糖,得到花青素脂质体冷冻干燥前后包封率、粒径及渗漏率的比较见表 2。由表 2 可知,随着蔗糖浓度增加,也能有效降低花青素脂质体冻干粉复水后的渗漏率,当大豆卵磷脂与蔗糖的质量比为 1:3 时,复水后的渗漏率最低(12.5%),且加入蔗糖后 Zeta 的绝对值均略有增加,说明脂质体稳定性有所增加,而粒径的变化较不加保护剂时变化不大,且小于加入海藻糖后冻干复水的花青素脂质体。

2.2.3 海藻糖和甘露醇协同作用的影响 研究^[27]表明,甘露醇在冻干中能够形成饱满的外观,有足够的强度,不会坍塌,但由于结晶的形成对脂质体膜造成机械破坏,因此一般将甘露醇和糖类混合复配使用。由 2.2.1 可知卵磷脂与海藻糖比例为 1:3 时,渗漏率最小,在此基础上考察了加入不同比例的甘露醇,制备含不同比例海藻糖与甘露醇混合物的花青素脂质体冻干粉复水后的包封率、粒径及渗漏率,结果见表 3。由表 3 可知,随着甘露醇的加入,脂质体冻干粉的复水渗漏率逐渐降低,当大豆卵磷脂:蔗糖:甘露醇质量比为 1:3:2 时渗漏率最低(9.65%),之后随着甘露醇的加入,渗漏率增加。而加入甘露醇后脂质体冻干前和复水后的粒径均大于单独加入海藻糖冻干前和复水后的脂质体粒径,Zeta 电位较冻干前略有增加,且当甘露醇达到一定值时,渗漏率反而有所增加,可能由于甘露醇属于容易形成结晶的支持剂,由于结晶本身的支撑能力,使得脂质体外观较为饱满也不会坍塌,但随着甘露醇的增加,结晶的形成又会对脂质体膜造成破坏,引起药物渗漏。

2.2.4 蔗糖和甘露醇协同作用的影响 控制卵磷脂与蔗糖质量比为 1:3,加入不同比例的甘露醇,制备得到了含蔗糖与甘露醇混合保护剂的花青素脂质体冻干粉,它们复水后的包封率、粒径、渗漏率及 Zeta 电位见表 4。由表 4 可知,随着甘露醇的增加,花青素脂质体冻干复水后的渗漏率随甘露醇的加入逐渐降低,当大豆卵磷脂:蔗糖:甘露醇质量比为 1:3:2 时渗漏率最低(7.45%),之后随着甘露醇的加入,渗漏率增加。与海藻糖和甘露醇混合添加相似,加入甘露醇后脂质体的粒径在冻干前后较单独添加蔗糖冻干前后脂质体的粒径都略有增加,但比添加海藻糖和甘露醇混合物时小,Zeta 电位在冻干后的绝对值也略有增加。综合考察结果表明使用蔗糖与甘露醇质量比为 3:2 混合物做保护剂时,得到的黑米麸皮花青素脂质体冻干粉复水后的质量最好。

表 1 加入不同质量比海藻糖作保护剂时花青素脂质体冻干粉复水后的参数变化[†]

Table 1 Changes of encapsulation efficiency, particle size, Zeta potential of the reconstituted lyophilized liposome when using mycose as protectant

卵磷脂：海藻糖	冻干前包封率 <i>EE</i> ₀ /%	冻干后包封率 <i>EE</i> /%	渗漏率 ΔA /%	冻干前粒径/ nm	冻干后粒径/ nm	冻干前 zeta/mV	冻干后 zeta/mV
不加海藻糖	50.99±0.71 ^a	34.73±0.47 ^d	31.89±1.08 ^a	217.8±12.21 ^a	328.5±13.19 ^b	-11.40±0.49 ^a	-10.90±0.31 ^c
1：1	48.40±0.58 ^b	34.85±0.04 ^d	28.00±0.26 ^b	224.9±6.27 ^a	337.2±10.84 ^b	-10.56±0.52 ^b	-12.74±0.38 ^a
1：2	47.33±0.80 ^b	36.96±0.54 ^b	21.90±0.57 ^c	223.4±12.23 ^a	343.7±14.23 ^a	-10.30±0.50 ^b	-10.88±0.36 ^c
1：3	47.00±0.96 ^b	39.18±0.07 ^a	16.64±0.43 ^d	226.8±12.51 ^a	347.1±13.78 ^a	-11.51±0.38 ^a	-12.51±0.69 ^c
1：4	47.22±0.76 ^b	36.17±0.13 ^c	23.40±1.26 ^c	223.3±14.14 ^a	335.2±8.72 ^b	-9.82±0.35 ^b	-11.90±0.30 ^b
1：5	47.20±0.90 ^b	33.66±0.12 ^e	28.67±1.52 ^b	234.2±9.80 ^a	346.7±11.00 ^a	-11.40±0.45 ^a	-11.20±0.32 ^b

† 每行中字母不同代表本列数据之间存在显著性差异(p<0.05)。

表 2 加入不同质量比蔗糖作保护剂时脂质体冻干粉复水后各参数变化[†]

Table 2 Changes of encapsulation efficiency, particle size, Zeta potential of the reconstituted lyophilized liposome when using sucrose as protectant

卵磷脂：蔗糖	冻干前包封率 <i>EE</i> ₀ /%	冻干后包封率 <i>EE</i> /%	渗漏率 ΔA /%	冻干前粒径/ nm	冻干后粒径/ nm	冻干前 zeta/mV	冻干后 zeta/mV
不加蔗糖	50.99±0.71 ^a	34.73±0.47 ^d	31.89±1.08 ^a	217.8±12.21 ^b	328.5±13.19 ^b	-11.4±0.49 ^b	-10.90±0.31 ^c
1：1	46.20±0.67 ^{bc}	36.03±0.13 ^c	22.01±0.55 ^b	220.5±10.02 ^{ab}	273.9±10.36 ^d	-10.7±0.45 ^{cd}	-12.80±0.26 ^a
1：2	46.70±0.40 ^b	38.48±0.30 ^b	17.6±0.93 ^c	226.2±7.10 ^{ab}	302.6±6.74 ^c	-12.1±0.30 ^a	-12.75±0.18 ^a
1：3	45.30±0.57 ^c	39.64±0.28 ^a	12.5±1.95 ^e	232.5±9.88 ^{ab}	324.0±6.29 ^b	-11.2±0.35 ^{bc}	-11.59±0.26 ^b
1：4	43.27±0.53 ^d	36.67±0.62 ^c	15.26±0.39 ^d	223.3±10.72 ^{ab}	332.7±8.60 ^{ab}	-10.2±0.25 ^d	-11.60±0.64 ^b
1：5	43.30±0.25 ^d	36.01±0.37 ^c	16.84±0.52 ^{cd}	235.7±6.83 ^a	344.6±12.00 ^a	-12.5±0.26 ^a	-11.30±0.30 ^{bc}

† 每行中字母不同代表本列数据之间存在显著性差异(p<0.05)。

表 3 加入不同质量比海藻糖与甘露醇混合物作复合保护剂时脂质体冻干粉复水后各参数变化[†]

Table 3 Changes of encapsulation efficiency, particle size, Zeta potential of the reconstituted liposome when using the mixture of mycose and mannitol as protectant

卵磷脂：海藻糖：甘露醇	冻干前包封率 <i>EE</i> ₀ /%	冻干后包封率 <i>EE</i> /%	渗漏率 ΔA /%	冻干前粒径/ nm	冻干后粒径/ nm	冻干前 zeta/mV	冻干后 zeta/mV
不加保护剂	50.99±0.71 ^a	34.73±0.47 ^d	31.89±1.08 ^a	217.8±12.21 ^c	328.5±13.19 ^d	-11.40±0.49 ^{ab}	-10.9±0.31 ^d
1.0：3.0：0.5	50.32±0.38 ^a	38.91±0.71 ^c	22.68±1.00 ^b	268.0±6.44 ^b	343.5±12.55 ^{cd}	-9.91±0.37 ^c	-10.0±0.23 ^e
1.0：3.0：1.0	48.99±0.71 ^b	39.06±0.19 ^c	20.26±0.75 ^c	283.7±4.96 ^a	346.7±9.92 ^{bcd}	-10.80±0.56 ^b	-11.9±0.12 ^{bc}
1.0：3.0：1.5	49.24±0.48 ^b	41.40±0.31 ^b	15.92±0.28 ^d	283.7±8.06 ^a	357.8±8.02 ^{bc}	-9.55±0.13 ^c	-11.7±0.26 ^c
1.0：3.0：2.0	48.40±0.54 ^b	43.73±0.11 ^a	9.65±0.78 ^e	281.1±10.61 ^{ab}	364.6±8.51 ^b	-9.99±0.20 ^c	-12.2±0.23 ^{ab}
1.0：3.0：2.5	48.32±0.71 ^b	41.26±0.43 ^b	14.60±0.57 ^d	279.2±7.15 ^{ab}	391.1±13.48 ^a	-11.80±0.63 ^a	-12.5±0.36 ^a

† 每行中字母不同代表本列数据之间存在显著性差异(p<0.05)。

表 4 加入不同质量比蔗糖与甘露醇混合物作保护剂脂质体冻干粉复水后各参数变化[†]

Table 4 Changes of encapsulation efficiency, particle size, Zeta potential of the reconstituted liposome when using the mixture of sucrose and mannitol as protectant

卵磷脂：蔗糖：甘露醇	冻干前包封率 <i>EE</i> ₀ /%	冻干后包封率 <i>EE</i> /%	渗漏率 ΔA /%	冻干前粒径/ nm	冻干后粒径/ nm	冻干前 zeta/mV	冻干后 zeta/mV
不加保护剂	50.99±0.71 ^a	34.73±0.47 ^d	31.89±1.08 ^a	217.8±12.21 ^d	328.5±13.19 ^{bc}	-11.40±0.49 ^a	-10.90±0.31 ^c
1.0：3.0：0.5	48.89±0.51 ^b	38.97±0.27 ^c	20.29±0.70 ^b	273.0±9.28 ^{bc}	309.9±12.15 ^c	-9.12±0.17 ^d	-11.20±0.32 ^{bc}
1.0：3.0：1.0	48.18±0.70 ^{bc}	40.94±0.43 ^b	15.03±2.18 ^c	277.7±6.76 ^{abc}	338.0±8.99 ^{ab}	-11.50±0.26 ^a	-12.00±0.40 ^a
1.0：3.0：1.5	47.16±0.44 ^{cd}	40.72±0.59 ^b	13.65±0.91 ^c	294.3±7.20 ^a	318.1±8.59 ^c	-10.10±0.21 ^b	-10.74±0.37 ^{cd}
1.0：3.0：2.0	48.62±0.36 ^b	45.00±0.25 ^a	7.45±1.07 ^d	289.3±11.48 ^{ab}	346.1±12.34 ^{ab}	-9.96±0.22 ^{bc}	-11.70±0.40 ^{ab}
1.0：3.0：2.5	46.23±0.67 ^d	38.99±0.61 ^c	15.67±0.02 ^c	269.7±9.87 ^c	357.6±11.05 ^a	-9.52±0.31 ^{cd}	-10.12±0.43 ^d

† 每行中字母不同代表本列数据之间存在显著性差异(p<0.05)。

3 结论

花青素作为一种对 pH 极为敏感的黄酮类化合物,其体内的生物利用度及其稳定化一直是研究关注的焦点。基于脂质体具有较好的生物兼容性,为提高花青素脂质体在体内的稳定性及生物利用度,本试验制备得到了具有较高稳定性的黑米麸皮花青素脂质体,并以海藻糖、蔗糖及它们与甘露醇的混合物为保护剂研究了花青素脂质体冻干粉的制备。结果表明,当采用蔗糖与甘露醇复配,按照大豆卵磷脂:蔗糖:甘露醇质量比为 1:3:2 时,可以获得复水后渗漏率低、粒径变化较小和稳定性较高的黑米麸皮花青素脂质体冻干粉,解决了花青素脂质体混悬液不易储存的缺点,但下一步仍需通过体外模拟消化系统考察其稳定性,并通过动物试验对其进行体内生物利用度评价。

参考文献

[1] Wang Hong, Cao Guo-hua, Prior R L. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins[J]. J. Agric. Food Chemistry, 1997, 45(2): 304-305.

[2] Seong A R, Yoo J Y, Choi K, et al. Delphinidin, a specific inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses inflammatory signaling via prevention of NF- κ B acetylation in fibroblast-like synovioocyte MH7A cells[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2011, 410(3): 581-586.

[3] Nohynek L J, Alakomi H L, Kahkonen M P, et al. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens[J]. Nutrition and Cancer, 2006, 54(1): 18-32.

[4] Rodrigo N C, Diego T S, Maria A A, et al. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems: An overview[J]. Food Research International, 2011, 44(2): 499-509.

[5] Gao Hui-le, Zhang Qian-yu, Yu Zhi-zhang, et al. Cell-penetrating peptide-based intelligent liposomal systems for enhanced drug delivery[J]. Current Pharmaceutical Biotechnology, 2014, 15(3): 210-219.

[6] Park J, Wrzesinski S H, Stern E, et al. Combination delivery of TGF- β inhibitor and IL-2 by nanoscale liposomal polymeric gels enhances tumour immunotherapy[J]. Nature Materials, 2012, 11(10): 895-905.

[7] Ghosh D, Ghosh S, Sarkar S, et al. Quercetin in vesicular delivery systems: evaluation in combating arsenic-include acute liver toxicity associated gene expression in rat model[J]. Chemco-Biological Interactions, 2010, 186(1): 61-71.

[8] Chen Cheng-jun, Han Dan-dan, Cai Cui-fang, et al. An overview of liposome lyophilization and its future potential[J]. Journal of Controlled Release, 2010, 142(3): 299-311.

[9] Moeller S, Kegler R, Sternberg K, et al. Influence of sirolimus-loaded nanoparticles on physiological functions of native human polymorphonuclear neutrophils[J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, Medicine, 2012, 8(8): 1 293-1 300.

[10] Agashe H, Lagisetty P, Awasthi S, et al. Improved formulation of liposome-encapsulated hemoglobin with an anionic non-phospholipid[J]. Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces, 2011, 75(2): 573-583.

[11] SanAnna V, Malheiros P, Brandelli A. Liposome encapsulation protects bacteriocin-like substance p34 against inhibition by maillard reaction products[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 326-330.

[12] 王健, 李明轩. 冷冻干燥对提高脂质体稳定性的研究概况[J]. 中国医药工业杂志, 2005, 36(9): 576-580.

[13] Wang Ting, Wang Ning, Wang Tong-yan, et al. Preparation of submicron liposomes exhibiting efficient entrapment of drugs by freeze-drying water-in-oil emulsions[J]. Chemistry and Physics of Lipids, 2011, 164(2): 151-157.

[14] 唐文雅, 宋艳志, 邓意辉. 脂质体冻干保护剂的种类及其作用机制研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(7): 560-569.

[15] Chen Cheng-jun, Han Dan-dan, Cai Cui-fang, et al. An overview of liposome lyophilization and its future potential[J]. Journal of Controlled Release, 2010, 142(3): 299-311.

[16] 周晖, 贺霞, 杨文涛, 等. 表柔比星长循环脂质体冻干粉的制备[J]. 医药导报, 2014, 33(7): 917-921.

[17] 张鑫, 谭睿, 顾健, 等. 波棱素脂质体的制备工艺及处方优化研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(6): 1 007-1 010.

[18] 林虎, 渠晨曦, 俞毅杰, 等. 冬凌草甲素长循环冻干脂质体的制备及大鼠体内药动力学研究[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2013, 42(6): 638-643.

[19] Ohtake S, Schebor C, J J de Pablo. Phase behavior of phospholipid-cholesterol liposomes stabilized with trehalose [J]. Food Engineering Series, 2008, 383: 331.

[20] Zhang Li-juan, Liu Lei, Qian Yu, et al. The effects of cryoprotectants on the freeze-drying of ibuprofen-loaded solid lipid microparticles (SLM) [J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2008, 69(2): 750-759.

[21] Ausborn M, Schreier H, Brezesinski G, et al. The protective effect of free and membranebound cryoprotectants during freezing and freeze-drying of liposomes[J]. Journal of Controlled Release, 1994, 30(2): 105-116.

[22] 胡连栋, 唐星, 崔福德. 维甲酸固体脂质纳米粒冷冻干燥工艺研究[J]. 中国医药工业杂志, 2007, 38(1): 22-26.

[23] 刘琴, 李敏, 胡秋辉. 黑米麸皮与紫包菜花青素提取物的组成、抗氧化性与稳定性比较研究[J]. 食品科学, 2012, 33(9): 113-118.

[24] 牛文慧, 冯所兰, 周浙赟, 等. pH 梯度结合逆向蒸发法制备黑米麸皮花青素脂质体研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(16): 238-247.

[25] 王刚, 余学英, 常明泉, 等. 槲皮素纳米脂质体冻干粉针的制备及其质量评价[J]. 中国药师, 2012, 15(8): 1 079-1 083.

[26] 周伟, 刘玮琳, 刘伟, 等. 不同因素对中链脂肪酸脂质体 Zeta 电位的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(19): 128-132.

[27] 张蓓. 紫杉醇脂质体及其冻干制剂的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2006: 37-38.