

铁皮石斛花花青素多囊脂质体的制备 及体外抗氧化活性分析

彭康媛¹ 张存芝² 黄华雯² 张 蓉² 吴娅梅² 袁文娟²

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南农业大学理学院, 云南 昆明 650201)

摘要: [目的] 以铁皮石斛花为原料, 探究花青素多囊脂质体的制备方法, 以提高花青素的抗氧化能力。[方法] 以单因素试验结合响应面法确定铁皮石斛花花青素的最优提取工艺, 再利用复乳法加工花青素, 制成花青素多囊脂质体, 并通过 DPPH 自由基、ABTS 自由基、FRAP、羟自由基试验测定花青素多囊脂质体的抗氧化活性。[结果] 优化后的铁皮石斛花花青素提取的最佳工艺条件为提取时间 3.2 h, 提取温度 65 ℃, 料液比 1:38.7 (g/mL), 乙醇体积分数 52.5%; 制备花青素多囊脂质体的物料比分别为 $m_{\text{卵磷脂}}:m_{\text{三油酸甘油酯}}:m_{\text{胆固醇}}=8:2:1$, $m_{\text{花青素}}:m_{\text{脂质混合物}}=3:220$, $V_{\text{初乳}}:V_{4.0\% \text{ 葡萄糖溶液}}=1:2$ 。所制得的花青素多囊脂质体在体外抗氧化活性测定中均表现出较花青素更高的活性, 对 DPPH 自由基、ABTS 自由基及羟自由基的清除率分别为 80.28%, 63.38%, 95.93%, 对铁离子的还原能力高达 3.12 $\mu\text{mol/L}$ 。[结论] 通过制备花青素多囊脂质体可以增强花青素的抗氧化能力。

关键词: 铁皮石斛花; 花青素; 多囊脂质体; 抗氧化活性

Preparation and *in vitro* antioxidant activity of *Dendrobium officinale* flower anthocyanin-loaded multivesicular liposomes

Peng Kangyuan¹ Zhang Cunzhi² Huang Huawen² Zhang Rong² Wu Yamei² Yuan Wenjuan²

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China;

2. College of Science, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

Abstract: [Objective] To investigate anthocyanin-loaded multivesicular liposome preparation using *Dendrobium officinale* flower as the raw material, aiming to enhance the antioxidant capacity of anthocyanins. [Methods] The optimal extraction process for *D. officinale* flower anthocyanins is determined using single-factor experiments combined with response surface methodology. Then, the obtained anthocyanins are incorporated into multivesicular liposomes via the double emulsion method. The antioxidant activity of the resulting anthocyanin multivesicular liposomes is evaluated through DPPH, ABTS, and hydroxyl free radical, alongside ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. [Results] The optimized extraction conditions for anthocyanins are as follows: an extraction time of 3.2 h, an extraction temperature of 65 ℃, a solid-to-liquid ratio of 1:38.7 (g/mL), and an ethanol concentration of 52.5%. The formulation ratios for anthocyanin multivesicular liposome preparation are as follows: $m_{\text{lecithin}}:m_{\text{triolein}}:m_{\text{cholesterol}}$ is 8:2:1, $m_{\text{anthocyanin}}:m_{\text{lipid composition}}$ is 3:220, and $V_{\text{primary emulsion}}:V_{4.0\% \text{ glucose solution}}$ is 1:2. The resulting anthocyanin multivesicular liposomes exhibit significantly higher *in vitro* antioxidant activity compared to free anthocyanins. The DPPH, ABTS, and hydroxyl free radical scavenging rates are 80.28%, 63.38%, and 95.93%, respectively, while the ferric ion reducing power reaches 3.12 $\mu\text{mol/L}$. [Conclusion] Multivesicular liposome incorporation effectively

基金项目: 云南省农业基础研究联合专项重点项目 (编号: 202301BD070001-025); 国家自然科学基金 (编号: 32060084); 云南省农业联合项目 (编号: 202401BD070001-031)

通信作者: 袁文娟 (1979—), 女, 云南农业大学教授, 博士。E-mail: yuanwj0805@126.com

吴娅梅 (1993—), 女, 云南农业大学讲师, 博士。E-mail: 1395724762@qq.com

收稿日期: 2026-02-03 **改回日期:** 2026-04-07

引用格式: 彭康媛, 张存芝, 黄华雯, 等. 铁皮石斛花花青素多囊脂质体的制备及体外抗氧化活性分析[J]. 食品与机械, 2026, 42(9): 152-161.

Citation: Peng Kangyuan, Zhang Cunzhi, Huang Huawen, et al. Preparation and *in vitro* antioxidant activity of *Dendrobium officinale* flower anthocyanin-loaded multivesicular liposomes[J]. Food & Machinery, 2026, 42(9): 152-161.

enhances the antioxidant capacity of anthocyanins.

Keywords: *Dendrobium officinale* flower; anthocyanin; multivesicular liposome; antioxidant activity

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura & Migo)为兰科石斛属植物^[1]。其茎可入药,具有抗衰老、抗肿瘤、降血糖、促进消化等多种功效^[2-3]。目前,市售的铁皮石斛产品以茎干为主,对于石斛植株的其他部分利用度较低。面对巨大的消费市场,适度开发铁皮石斛植株的其他部位的产品是一个不错的选择。

铁皮石斛花,作为与石斛茎成分相似的铁皮石斛的另一部分^[4-5],正好符合该需求。铁皮石斛花主要由多糖、蛋白质及氨基酸、矿物质、维生素等营养成分组成^[6],与茎干成分相近,同时还含有多种次生代谢产物,如多酚类化合物、挥发性化合物及部分萜类、生物碱等^[7]。这些物质赋予了铁皮石斛花丰富的生物活性,包括抗氧化、抗凝血、抗衰老等功效^[8]。龚庆芳等^[9-10]研究表明,铁皮石斛花中的总酚、总黄酮含量和抗氧化活性均优于其茎干。铁皮石斛中多酚类化合物含量顺序为花>叶>茎,其中花青素、芦丁是主要的多酚组成^[7,11]。

花青素是一种具有C₆—C₃—C₆碳骨架的类黄酮化合物^[12-13],其组成部分主要包括两个苯甲酰基和一个含氧原子的六元杂环^[14]。其抗氧化活性主要受游离羟基,尤其是3-OH的影响^[15]。自然状态下,花青素较少单独存在,通常与葡萄糖、半乳糖^[16]等糖类通过糖苷键结合形成花色苷,也具有较好的抗氧化活性。然而,在光照^[17]、pH、热处理、金属离子等环境条件的刺激下^[18],花青素容易失活。因此,制定一种能够降低环境条件对花青素的影响并保护其抗氧化活性的方法尤为重要。

在药学领域,Li等^[19]使用多囊脂质体(multivesicular liposomes, MVLs)包裹药物,从而提高了药物的稳定性。该类多囊脂质体是一种基于贮库泡沫技术,通过混合一定比例的磷脂、三油酸甘油酯及胆固醇制成的新型脂质体^[20]。由天然磷脂和胆固醇构成的内部蜂窝状结构的球体,内部含有多个水性腔室,各个腔室之间被磷脂双分子层相隔,与传统脂质体相比,其药物包埋率高,长效缓释效果好^[21]。试验拟将多囊脂质体技术应用于铁皮石斛花中花青素的包载,并通过不同方式探究该多囊脂质体的抗氧化活性,旨在为花青素的高效利用提供新途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

铁皮石斛花:市售,经云南省食品药品监督检验研究院高文分老师鉴定为兰科石斛属植物铁皮石斛的干花;

乙醇、柠檬酸、硫酸亚铁、水杨酸:天津市大茂化学试

剂厂;

矢车菊-3-O-葡萄糖苷:成都普瑞法科技开发有限公司;

无水乙醚:鸿盛精细化工有限公司;

胆固醇、卵磷脂:佳味源实业有限公司;

葡萄糖:弗山西陇化工有限公司;

L-抗坏血酸:上海试四赫维化工有限公司;

醋酸钠、冰醋酸:天津市风船化学试剂科技有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

真空冷冻干燥机:FD-1 A-50型,北京博美医康实验仪器有限公司;

旋转蒸发器:EYEL 4型,上海爱明仪器有限公司;

酶标仪:Mk 3型,赛默飞世尔(上海)仪器有限公司;

万分之一天平:SQP型,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;

电热鼓风干燥箱:101-1 A型,天津市泰斯特仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 铁皮石斛花花青素提取

(1) 单因素试验:根据张佳乐等^[22]的方法并修改。将铁皮石斛花粉碎过筛,取10 g粉末,与等体积的乙醇溶液和柠檬酸(90 g/L)充分混匀,冷凝回流2次提取花青素。以花青素提取量为指标,固定提取时间4 h、提取温度60℃、料液比1:40(g/mL)、乙醇体积分数60%,分别考察提取时间(2,3,4,5,6 h)、提取温度(40,50,60,70,80℃)、料液比(1:30,1:35,1:40,1:45,1:50(g/mL))、乙醇体积分数(40%,50%,60%,70%,80%)对铁皮石斛花花青素提取量的影响。

配制质量浓度为0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/mL的矢车菊-3-O-葡萄糖苷标准溶液,测定518 nm处吸光值,绘制标准曲线方程 $y=0.037\ 77x+0.006\ 14$, $R^2=0.997\ 17$ 。按式(1)计算花青素提取量。

$$Y = \frac{c \times V}{m}, \quad (1)$$

式中:

Y ——花青素提取量,mg/g;

c ——花青素的质量浓度,mg/mL;

V ——提取液体积,mL;

m ——铁皮石斛花粉的质量,g。

(2) 响应面试验:基于单因素试验结果,选择提取时间、提取温度、乙醇体积分数及料液比4个参数作为响应

面优化变量,构建四因素三水平的BBD响应面分析模型优化花青素提取工艺条件。

1.2.2 铁皮石斛花花青素多囊脂质体的制备 参照梁亦龙等^[23]的方法稍作修改。将卵磷脂(EPC)、三油酸甘油酯(TO)和胆固醇(Chol)分别按质量比9:1:1,8:2:1,7:3:1,6:4:1,5:5:1溶于15 mL氯仿乙醚等体积混合液中,形成“油相”。将花青素溶于5%葡萄糖溶液中,配成1 mg/mL花青素溶液。按体积比1:44,1:55,3:220,1:110,1:220涡旋混合花青素溶液与油相,制成“初乳”。按体积比1:1,1:2,1:3,1:4,1:5将初乳缓慢注射到0.1%吐温-80与4%葡萄糖混合液中,涡旋,形成“复乳”,旋蒸,得铁皮石斛花花青素多囊脂质体悬浮液。

取1 mL多囊脂质体悬浮液于Sephadex G-100柱,用Tris-HCl缓冲液(pH 8.8)洗脱。收集洗脱液并测定518 nm处吸光值,根据矢车菊3-O-葡萄糖苷标准曲线计算洗脱液中花青素含量,按式(2)计算铁皮石斛花花青素多囊脂质体包封率。

$$E_E = \frac{M-m}{M} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

E_E ——包封率,%;

M ——加入花青素的总质量,mg;

m ——上清液中花青素质量,mg。

1.2.3 铁皮石斛花花青素多囊脂质体的表征 通过扫描电镜(SEM)、傅里叶红外光谱(FT-IR)等对铁皮石斛花花青素多囊脂质体进行表征。

1.2.4 抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除能力:参照 Zhu 等^[24]的方法并稍作修改。配制质量浓度分别为 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/mL 的花青素、花青素多囊脂质体、维生素 C 乙醇溶液,分别取 100 μ L 与 0.3 mol/L DPPH 无水乙醇溶液等体积混合,为样品组;取相同体积上述溶液与无水乙醇按体积比 1:1 混合,为 con 组;以 DPPH 无水乙醇溶液为空白组。各组室温下避光反应 30 min,测定 517 nm 处吸光值,试验重复 3 次。按式(3)计算 DPPH 自由基清除率。

$$S = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

S ——自由基清除率,%;

A_0 ——空白组吸光值;

A_1 ——样品组吸光值;

A_2 ——con 组吸光值。

(2) ABTS 自由基清除能力:参照 Li 等^[25]的方法并修改。配制 7.4 mmol/L ABTS 溶液和 2.6 mmol/L $K_2S_2O_8$ 溶液,等体积混匀,避光静置 16 h,用无水乙醇稀释至溶液

pH 为 7,得 ABTS 工作液。按质量浓度梯度 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/mL 配制花青素、花青素多囊脂质体、维生素 C 乙醇溶液,与 ABTS 工作液等体积混合,为样品组;取相同体积上述溶液与无水乙醇按体积比 1:1 混匀,为 con 组;以 ABTS 无水乙醇溶液为空白组。各组于 37 $^{\circ}$ C 避光反应 30 min,测定 734 nm 处吸光值,试验重复 3 次。按式(3)计算 ABTS 自由基清除率。

(3) 羟自由基清除能力:根据 Tang 等^[26]的方法稍作修改。按照梯度 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/mL 配制花青素、花青素多囊脂质体、维生素 C 样品溶液。取各浓度溶液 50 μ L 与 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液、10 mmol/L 水杨酸—乙醇溶液按等体积混匀,10 min 后加入 50 μ L 6 mmol/L 过氧化氢,为样品组;10 min 后加入 50 μ L 水,为 con 组;取 50 μ L 无水乙醇与 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液、10 mmol/L 水杨酸—乙醇溶液按等体积混匀,10 min 后加入 50 μ L 过氧化氢,为空白组。各组于 37 $^{\circ}$ C 避光反应 30 min,测定 510 nm 处吸光值,试验重复 3 次。按式(3)计算羟自由基清除率。

(4) FRAP:参照张兵等^[27]的方法并修改。按质量浓度梯度 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/mL 配制花青素、花青素多囊脂质体、维生素 C 样品溶液。将 300 mmol/L 醋酸缓冲液(pH 3.6)、10 mmol/L 2,4,6-三吡啶基三嗪溶液(TPTZ)和 20 mmol/L $FeCl_3$ 溶液按体积比 10:1:1 混匀,得 FRAP 工作液。取 5 μ L 样品溶液与 150 μ L 工作液混匀,为样品组;取等体积样品溶液与 150 μ L 醋酸缓冲液混匀,为 con 组;取 5 μ L 无水乙醇与 150 μ L 工作液混匀,为空白组。各组于室温反应 30 min,测定 593 nm 处吸光值。以 $FeSO_4$ 标准液绘制标准曲线 $y=0.085x+0.0031$, $R^2=0.99051$,按式(4)计算样品中 Fe^{2+} 当量浓度。

$$S = \frac{A_1 - A_2 - A_0 - b}{k}, \quad (4)$$

式中:

S —— Fe^{2+} 当量浓度, μ mol/L;

A_0 ——空白组吸光值;

A_1 ——样品组吸光值;

A_2 ——con 组吸光值;

b ——标曲的截距;

k ——标曲的斜率。

1.3 数据处理

采用 Design-Expert 13 软件进行响应面试验设计,采用 Origin 2021 软件进行数据分析与绘图。

2 结果与分析

2.1 铁皮石斛花花青素的提取

2.1.1 单因素试验 由图 1(a)可知,当提取时间为 3 h

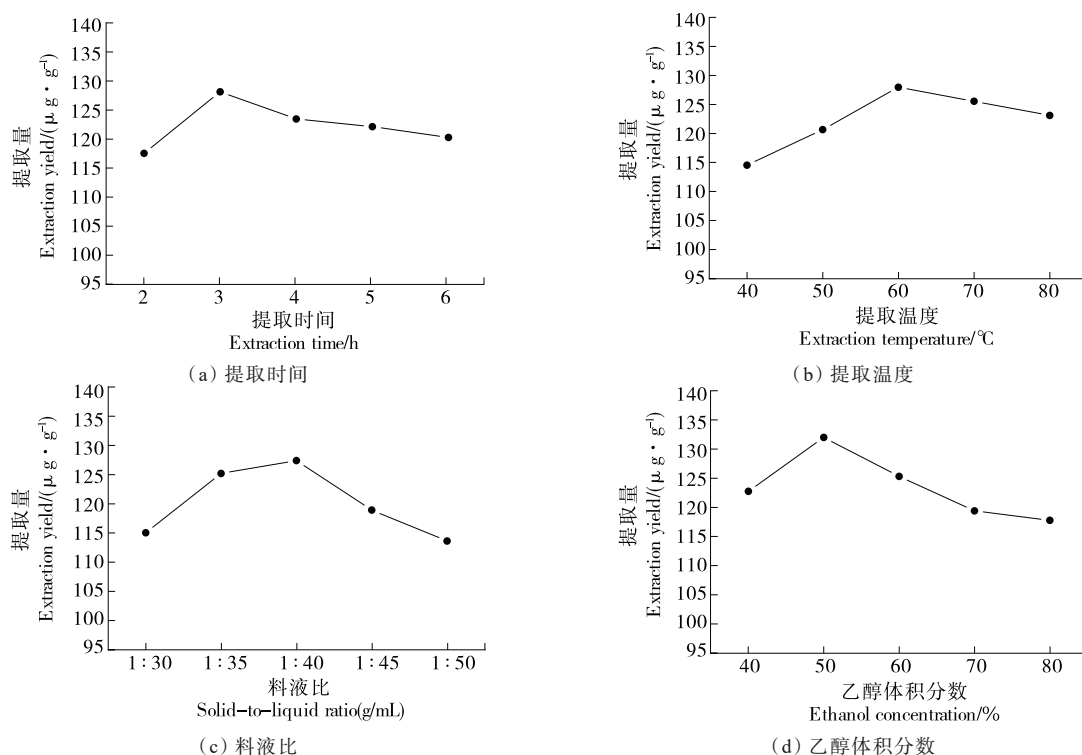


图1 铁皮石斛花青素提取单因素试验

Figure 1 Single-factor experiment results of *D. officinale* flower anthocyanin extraction

时,花青素提取量最大,超过3 h后,花青素提取量开始逐步降低,可能是提取时间较长,体系中有杂质溶出,使得花青素纯度降低,影响了花青素提取量^[28]。因此,最佳提取时间为3 h。

由图1(b)可知,随着提取温度的上升,花青素提取量呈先升后降趋势。这是因为提取温度逐步升高时,分子间热运动增强,花青素浸出速度加快^[29];但随着提取温度的继续升高,花青素的分子结构可能出现变性或降解^[30],使得提取量减少,与孙茂成等^[31]的结果一致。因此,最佳提取温度为60℃。

由图1(c)可知,花青素提取量随着料液比的增加呈先升后降趋势,与吕晨鑫等^[32]的研究趋势一致,可能是物料一定时,适度增加提取溶剂,可促进花青素在溶剂中的扩散,且乙醇的细胞穿透力随着料液比的增加,破壁效果更愈发明显,进而提升了花青素提取量^[33-34]。而过多的溶剂可能影响后期的物质纯化^[35],因此,最佳料液比为1:40 (g/mL)。

由图1(d)可知,当乙醇体积分数<50%时,花青素提取量随着乙醇体积分数的增加而增加;当乙醇体积分数>50%时,花青素提取量与乙醇体积分数呈负相关。这可能是因为乙醇体积分数逐渐增大后,部分醇溶性杂质及强疏水性成分与花青素竞争与乙醇—水分子的结合机会,从而降低了花青素提取量^[36]。因此,最佳乙醇体积分

数为50%。

2.1.2 响应面试验 采用Design-Expert 13进行响应曲面设计,以提取时间、提取温度、液料比和乙醇体积分数为自变量,花青素提取量为响应值,试验因素水平见表1,试验设计及结果见表2。

通过回归拟合,得到二次多项式:

$$Y = 134.40 + 2.58A + 12.17B - 3.42C + 7.33D - 2.50AB - 0.25AC - 1.00AD - 3.75BC - 0.75BD - 2.25CD - 16.99A^2 - 11.87B^2 - 1.49C^2 - 12.62D^2 \quad (5)$$

由表3和图2可知,回归模型 $P < 0.0001$,说明该模型极显著;失拟项 $P = 0.9817 > 0.05$,不显著,反映了模型与数据间的高匹配度。决定系数 $R^2 = 0.9928$,说明构建的模型对试验结果的拟合准确度达到了99.28%,试验误差较小,即该模型可靠性较高。一次项A、B、C、D,交互项BC及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对花青素提取量影响极显著

表1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface methodology

水平	A 提取时间/h	B 提取温度/°C	C 料液比 (g/mL)	D 乙醇体积分数/%
-1	2	50	1:35	40
0	3	60	1:40	50
1	4	70	1:45	60

表 2 响应面试验设计与结果

Table 2 Design and results of response surface methodology

试验号	A	B	C	D	提取量/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	-1	-1	0	0	89
2	1	-1	0	0	97
3	-1	1	0	0	118
4	1	1	0	0	116
5	0	0	-1	-1	96
6	0	0	1	-1	93
7	0	0	-1	1	115
8	0	0	1	1	103
9	-1	0	0	-1	94
10	1	0	0	-1	101
11	-1	0	0	1	111
12	1	0	0	1	114
13	0	-1	-1	0	90
14	0	1	-1	0	122
15	0	-1	1	0	92
16	0	1	1	0	109
17	-1	0	-1	0	98
18	1	0	-1	0	106
19	-1	0	1	0	91
20	1	0	1	0	98
21	0	-1	0	-1	90
22	0	1	0	-1	116
23	0	-1	0	1	106
24	0	1	0	1	129
25	0	0	0	0	136
26	0	0	0	0	132
27	0	0	0	0	138
28	0	0	0	0	135
29	0	0	0	0	131

($P<0.01$);二次项 AB、BC、CD 对花青素提取量影响显著($P<0.05$)。各因素对花青素提取量的影响程度为提取温度>乙醇体积分数>液料比>提取时间。

为进一步核定回归方程的可预测程度,采用工艺试验对预测值加以验证,得最佳工艺条件为提取时间 3.239 h,提取温度 65.511 $^{\circ}\text{C}$ 、料液比 1:38.775 (g/mL)、乙醇体积分数 52.491%,此时花青素提取量为 138.024 $\mu\text{g/g}$ 。结合实操性与便利性,修正工艺条件为提取时间 3.2 h,提取温度 65 $^{\circ}\text{C}$,料液比 1:38.7 (g/mL),乙醇体积分数 52.5%,此条件下花青素提取量为 133.3 $\mu\text{g/g}$,与理论值误差仅为 3.42%,说明试验值与预测值具有良好的拟合性,模型设计有效。

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Analysis of variance on regression model

方差来源	总方差	自由度	均方差	F 值	P 值
模型	6 910.19	14	493.58	138.34	<0.000 1
A	80.08	1	80.08	22.45	0.000 3
B	1 776.33	1	1 776.33	497.87	<0.000 1
C	140.08	1	140.08	39.26	<0.000 1
D	645.33	1	645.33	180.87	<0.000 1
AB	25.00	1	25.00	7.01	0.019 1
AC	0.25	1	0.25	0.07	0.795 1
AD	4.00	1	4.00	1.12	0.306 7
BC	56.25	1	56.25	15.77	0.001 4
BD	2.25	1	2.25	0.63	0.440 4
CD	20.25	1	20.25	5.68	0.031 9
A ²	1 872.76	1	1 872.76	524.90	<0.000 1
B ²	913.41	1	913.41	256.01	<0.000 1
C ²	2 464.38	1	2 464.38	690.72	<0.000 1
D ²	1 032.52	1	1 032.52	289.40	<0.000 1
残差	49.95	14	3.57		
失拟项	16.75	10	1.68	0.20	0.981 7
纯误差	33.20	4	8.30		
总和	6 960.14	28			

2.2 铁皮石斛花花青素多囊脂质体的制备

由图 3(a)可知,随着卵磷脂比例的增大,花青素多囊脂质体的包封率先上升后下降。当 $m_{\text{卵磷脂}}:m_{\text{三油酸甘油酯}}:m_{\text{胆固醇}}=8:2:1$ 时,包封率达到最大值,为 48.03%。这可能是卵磷脂比例较低,相对高比例的胆固醇会干扰脂质体组装,降低结构稳定性^[37],且卵磷脂不足会使脂质体难以完全包载花青素^[38],包封率较小;卵磷脂比例过高,体系黏度增加,磷脂不易分散^[39],从而降低包封率。因此,卵磷脂、三油酸甘油酯与胆固醇的最佳质量比为 8:2:1。

由图 3(b)可知,随着脂质组合物所占比例的增大,铁皮石斛花花青素多囊脂质体的包封率先上升后下降,当 $m_{\text{花青素}}:m_{\text{脂质组合物}}$ 为 3:220 时,包封率达到最大,为 48.78%。这可能是因为初始脂质组合物比例较低,载药空间小,花青素未能被完全包裹^[40];当脂质组合物比例增大时,脂膜变得更加完整,包封率上升;继续增加脂质组合物质量,不利于脂质体膜的稳定性^[41],影响对花青素的包埋,从而降低包封率。因此,花青素与脂质组合物的最佳质量比为 3:220。

由图 3(c)可知,当初乳与 4.0% 葡萄糖溶液等体积混合时,包封率约 45%;增大葡萄糖溶液添加量,包封率上升达到最大值 51.82%,后开始下降。这可能因为葡萄糖溶液体积过大,初乳被稀释,无法有效形成复乳。因此,

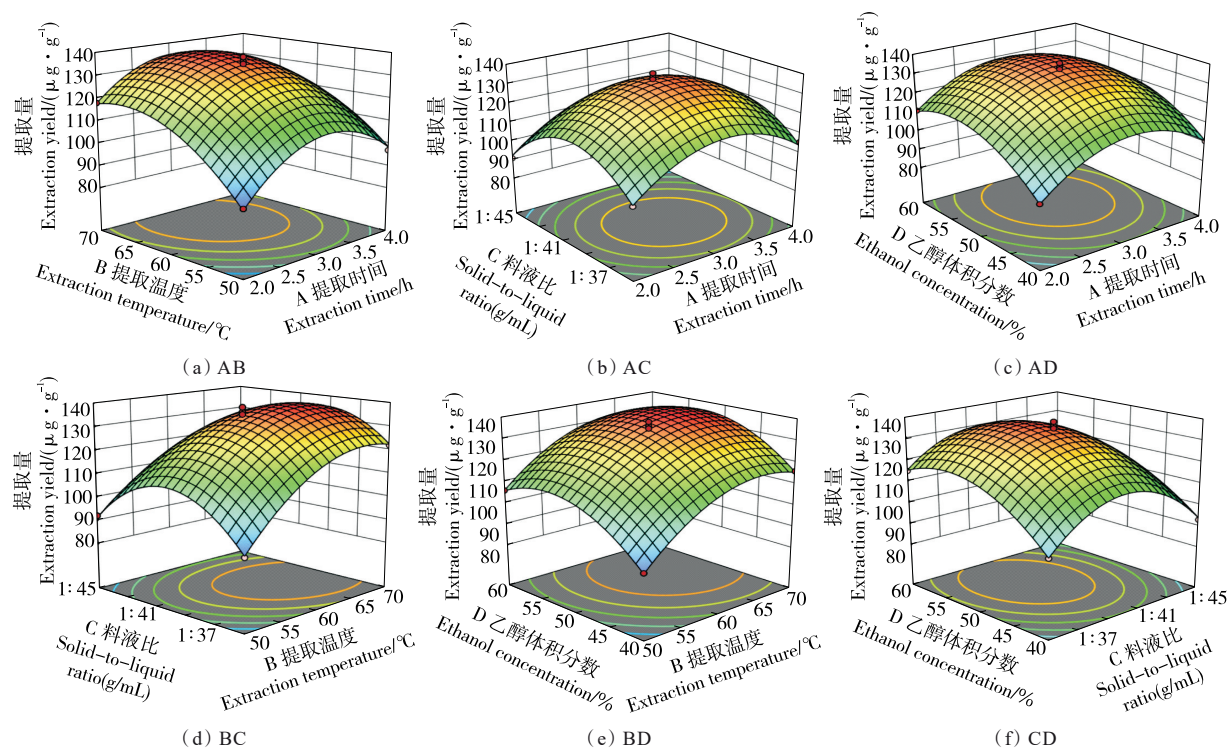


图2 花青素提取条件间的交互响应面图

Figure 2 Response surface plots of interaction terms for anthocyanin extraction conditions

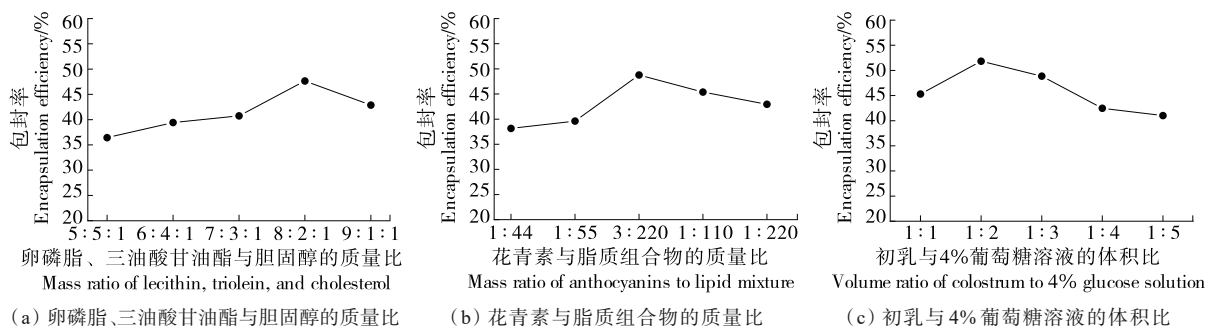


图3 制备条件对花青素多囊脂质体封装率的影响

Figure 3 Effects of different preparation conditions on encapsulation efficiency of anthocyanin multivesicular liposomes

初乳与4.0%葡萄糖溶液最佳体积比为1:2。

2.3 铁皮石斛花青素多囊脂质体的表征

由图4可知,多囊脂质体外观不规则,棱角多但较圆滑,囊壁完整密封,边界清晰,表明脂质体具有良好的完整性和稳定性。脂质体颗粒表面粗糙,分布着大量细微的凸起和凹陷,与尤晓颜等^[42]的结果一致,可能是多囊脂质体内部被脂膜分割成多个隔间,形成了细小囊泡^[43]。

由图5可知,花青素特征官能团展现出明显的吸收峰。铁皮石斛花青素和多囊脂质体分别在3396, 3499 cm^{-1} 处有吸收,这是由花青素的酚羟基伸缩振动引起的,该峰形较宽,可能是其与样品中的水分子的峰重合

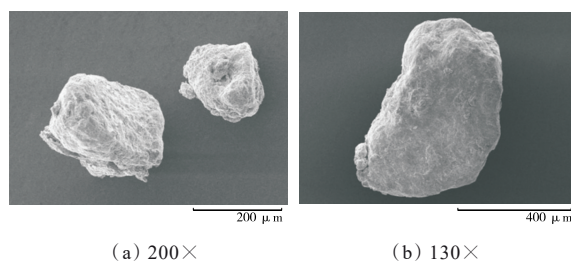


图4 铁皮石斛花青素多囊脂质体在不同放大倍数下的扫描电镜图

Figure 4 Scanning electron microscope images of *D. officinalis* anthocyanin-loaded multivesicular liposomes at different magnifications

所致。2 931, 2 924 cm^{-1} 处弱峰是由两个样品苯环上的 C—H 基伸缩振动引起的, 1 739, 1 741 cm^{-1} 处的峰是由花青素和多囊脂质体的 C=O 伸缩振动造成的, 相比可知, 多囊脂质体在此处的峰高明显大于花青素的, 这是由脂质体中卵磷脂的酯羰基造成的, 据此可推测已形成了铁皮石斛花青素多囊脂质体。1 589 cm^{-1} 处显示了花青素芳香环的骨架振动吸收峰, 与指纹区中 803, 801 cm^{-1} 处苯环上 C—H 的面外弯曲振动对应。1 417 cm^{-1} (花青素), 1 413 cm^{-1} (花青素多囊脂质体)可观察到 C—H 弯曲振动引起的波峰。来自糖苷键的 C—O—C 键分别于 1 258, 1 252 cm^{-1} 处显示有吸收, 这是花青素糖基化的标志峰。1 099, 1 078 cm^{-1} 处可检测到吸收峰, 这是多酚结构特征酚羟基的变形振动引起的。经过多囊脂质体包裹后, 铁皮石斛花青素的部分特征吸收峰出现一定程度的减弱, 这可能是包裹后脂质体与花青素间形成了氢键, 抑制了峰强^[44]。

2.4 抗氧化活性分析

由图 6 可知, 随着样品质量浓度的增加, 花青素及多囊脂质体的 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟自由基清除率逐渐增强。当质量浓度为 1.2 mg/mL 时, 铁皮石斛花青素对 DPPH 自由基的清除率为 66.68%, 多囊脂质体的为 80.28%; 花青素对 ABTS 自由基的清除率为 43.63%, 多囊脂质体的为 63.38%; 花青素对羟自由基的清除率为

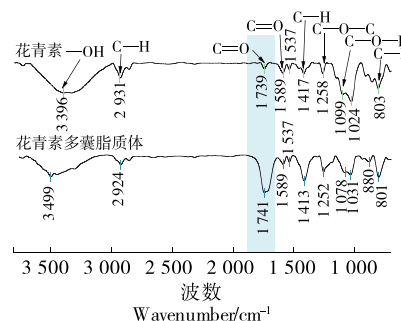


图 5 花青素与花青素多囊脂质体的傅里叶红外光谱图
Figure 5 Fourier transform infrared spectra of anthocyanins and anthocyanin-loaded multivesicular liposomes

84.48%, 多囊脂质体的为 95.93%。表明纯花青素与花青素多囊脂质体具有良好的抗氧化效果。其中, 多囊脂质体的自由基清除效果显著优于纯花青素。由花青素与多囊脂质体的 FRAP 值随着质量浓度的增加而增加, 表明二者具有一定抗氧化能力, 且与浓度呈正相关。其中, 多囊脂质体的铁还原能力明显高于花青素。

花青素与多囊脂质体均具有良好的抗氧化能力, 是因为花青素的 $\text{C}_6-\text{C}_3-\text{C}_6$ 碳骨架上含有多个酚羟基, 且花青素的吡喃环和苯环形成的共轭双键体系导致电子离域程度高, 使其极易失去氢原子, 从而具有良好的还原能力。但是花青素本身稳定性较差, 容易受到金属离子、光

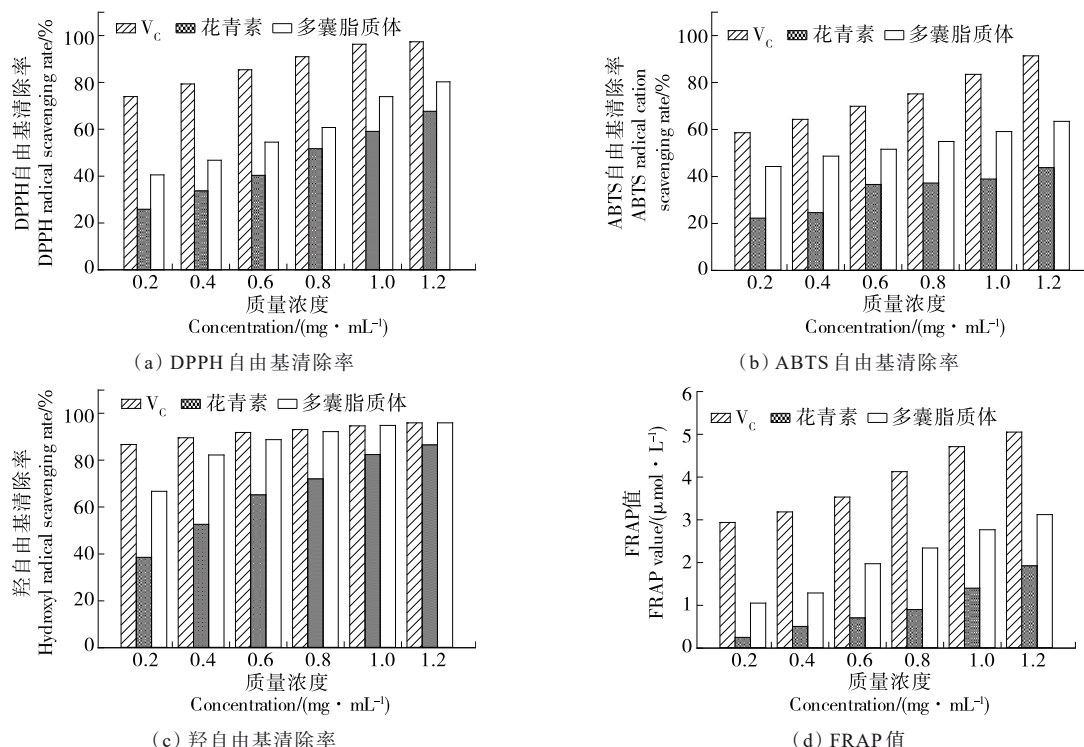


图 6 花青素与花青素多囊脂质体的抗氧化活性

Figure 6 Antioxidant activity results of anthocyanins and anthocyanin-loaded multivesicular liposomes

线等环境因素刺激而失活,从而降低抗氧化效果。多囊脂质体的包裹材料对于上述刺激条件具有一定的抵抗作用。脂质体的磷脂双分子层形成了封闭的囊泡结构,可将被包裹物很好地包裹在内,从而隔绝外部氧气、光照等环境条件的影响,维持其生物活性。试验制备的多囊脂质体为多个非同心圆囊泡的结合体,相比普通脂质体,花青素在该体系下包被程度更高,外部的氧气、金属离子等破坏被包裹物需要经过若干层磷脂双分子层,难度相对更高。且外层囊泡的破坏不影响内层囊泡中花青素的包被结构,可最大程度保护花青素的稳定性。这与刘梦哲等^[38]的研究结果一致。

3 结论

铁皮石斛花花青素的最佳提取工艺条件为提取时间 3.2 h,提取温度 65 ℃,料液比 1:38.7 (g/mL),乙醇体积分数 52.5%,该条件下花青素提取量为 133.3 μg/g,与理论值误差仅为 3.42%。采用复乳法制备花青素多囊脂质体的工艺条件为 $m_{\text{卵磷脂}}:m_{\text{三油酸甘油酯}}:m_{\text{胆固醇}}=8:2:1$, $m_{\text{花青素}}:m_{\text{脂质组合物}}=3:220$, $V_{\text{初乳}}:V_{\text{4.0\%葡萄糖溶液}}=1:2$,该条件下制备的多囊脂质体(1.2 mg/mL)的 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟自由基清除率分别为 80.28%,63.38%,95.93%,铁还原能力为 3.12 μmol/L,均高于花青素的。因此,同等质量浓度下,花青素多囊脂质体的抗氧化能力优于单纯花青素,可能是由于脂质体的磷脂双分子层形成的封闭囊泡可以有效防止花青素被氧气、金属离子、光照等环境因素破坏而失活。后续可进一步研究多囊脂质体强化花青素抗氧化能力的内在机理及具体产品的开发应用。

参考文献

[1] 闫显辛,何美军,李宇,等.铁皮石斛叶多糖美白和抗氧化活性[J].植物研究,2025,45(1):111-118.
Yan Y X, He M J, Li Y, et al. Whitening and antioxidant activities of leaf polysaccharide from *Dendrobium officinale*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2025, 45(1): 111-118.

[2] 唐文文,夏俊丽,陈垣.铁皮石斛茎、叶、花功能性成分、抗氧化活性及其相关性[J].食品与机械,2021,37(7):45-50.
Tang W W, Xia J L, Chen Y. Analysis of functional composition, antioxidant activity and their correlation in stem, leaf and flower from *Dendrobium officinale*[J]. Food & Machinery, 2021, 37(7): 45-50.

[4] 钱亦纯,陆秋君,梁大刚,等.铁皮石斛花和叶营养成分及资源开发研究进展[J].浙江农业科学,2023,64(12):2 891-2 896.
Qian Y C, Lu Q J, Liang D G, et al. Research progress on nutritional components and resource development of flowers and leaves of *Dendrobium officinale*[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2023, 64(12): 2 891-2 896.

[5] Zhao M, Fan J K, Liu Q T, et al. Phytochemical profiles of

edible flowers of medicinal plants of *Dendrobium officinale* and *Dendrobium devonianum*[J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9 (12): 6 575-6 586.

[6] 李彤玉,余有祥,闫宇潇,等.铁皮石斛不同部位活性成分及加工利用研究进展[J].食品与机械,2025,41(4):206-213.
Li T Y, Yu Y X, Yan Y X, et al. Research progress on active components in different parts of *Dendrobium officinale* and their processing and utilization[J]. Food & Machinery, 2025, 41 (4): 206-213.

[7] 单薰元,梁正维,陈秋月,等.铁皮石斛的化学成分与生物活性研究进展[J].现代食品科技,2025,41(10):413-423.
Shan X Y, Liang Z W, Chen Q Y, et al. Research progress on the chemical constituents and biological activities of *Dendrobium officinale* flowers[J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(10): 413-423.

[8] 姜雨露,汪媛,焦莹莹,等.响应面法优化铁皮石斛花总黄酮的提取工艺及抗氧化活性研究[J].农产品加工,2025(23):54-60.
Jiang Y L, Wang Y, Jiao Y Y, et al. Optimization of extraction technology and antioxidant activity of total flavonoids from *Dendrobium officinale* by response surface method[J]. Agricultural Products Processing, 2025(23): 54-60.

[9] 龚庆芳,何金祥,黄宁珍,等.铁皮石斛花化学成分及抗氧化活性研究[J].食品科技,2014,39(12):106-110.
Gong Q F, He J X, Huang N Z, et al. Chemical composition and antioxidant activities effects of *Dendrobium officinale* flower[J]. Food Science and Technology, 2014, 39(12): 106-110.

[10] 李芳,魏云,陈艳杰.铁皮石斛茎、叶、花中黄酮含量及其体外抗氧化活性研究[J].中医学报,2019,34(5):1 020-1 023.
Li F, Wei Y, Chen Y J. Study on the content of flavonoids in stems, leaves and flowers of *Dendrobium officinale* Kimura & Migo and its antioxidant activity *in vitro*[J]. Acta Chinese Medicine, 2019, 34(5): 1 020-1 023.

[11] 黄彪,何伟,吴建鸿,等.UPLC-MS/MS同时测定铁皮石斛茎、叶、花中酚类组分的含量[J].食品科学,2021,42(10):262-268.
Huang B, He W, Wu J H, et al. Simultaneous determination of phenolic components in *Dendrobium officinale* stems, leaves and flowers by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2021, 42(10): 262-268.

[12] 邵淑萍,杨朝霞,王剑锋,等.啤酒中多酚类物质研究进展[J].食品与发酵工业,2026,52(2):439-448.
Shao S P, Yang Z X, Wang J F, et al. Research progress on polyphenolic compounds in beer[J]. Food and Fermentation Industries, 2026, 52(2): 439-448.

[13] 陈绍依,周鸿翔,邱美娟,等.水果类发酵酒中花色苷的辅色效应研究进展[J].中国酿造,2025,44(1):13-19.
Chen S Y, Zhou H X, Qiu M J, et al. Research progress on the

- copigmentation of anthocyanins in fermented fruit wine[J]. China Brewing, 2025, 44(1): 13-19.
- [14] 张小花, 郭亚宾, 镇翊远, 等. 温度和金属离子对黑米花青素稳定性的影响[J]. 中国食品学报, 2025, 25(2): 143-157.
- Zhang X H, Guo Y B, Zhen Y Y, et al. Effects of temperature and metal ions on the stability of anthocyanins from black rice [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(2): 143-157.
- [15] Baba S A, Malik S A. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume[J]. Journal of Taibah University for Science, 2015, 9(4): 449-454.
- [16] Zhang Y J, Li Y, Li W P, et al. Metabolic and molecular analysis of nonuniform anthocyanin pigmentation in tomato fruit under high light[J]. Horticulture Research, 2019, 6: 56.
- [17] 舒雨婷, 高锦红, 周小强, 等. 废弃紫甘蓝菜叶中花青素的提取工艺及稳定性[J]. 化工科技, 2025, 33(4): 46-50.
- Shu Y T, Gao J H, Zhou X Q, et al. Extraction process and stability of anthocyanins from purple waste cabbage leaves[J]. Science & Technology in Chemical Industry, 2025, 33(4): 46-50.
- [18] He H S, Lu Y, Qi J P, et al. Adapting liposomes for oral drug delivery[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2019, 9(1): 36-48.
- [19] Li S X, Wang J F, Zhang L L, et al. Preparation of *Dendrobium officinale* flower anthocyanin and extended lifespan in *Caenorhabditis elegans*[J]. Molecules, 2022, 27(23): 8 608.
- [20] 匡坤, 周利梅, 王翔, 等. 三七总皂苷多囊脂质体的制备及其质量评价[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(24): 2 259-2 266.
- Qiu K, Zhou L M, Wang S, et al. Preparation and quality evaluation of *Panax notoginseng* saponins multivesicular liposomes[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2023, 58(24): 2 259-2 266.
- [21] 樊星, 岳华, 王晓军. 多囊脂质体研究进展[J]. 过程工程学报, 2023, 23(10): 1 371-1 380.
- Fan X, Yue H, Wang X J. Research process of multivesicular liposomes[J]. The Chinese Journal of Process Engineering, 2023, 23(10): 1 371-1 380.
- [22] 张佳乐, 赵佳轩, 蔡昊甫, 等. 响应面法优化苹果皮中原花青素的提取工艺研究[J]. 微量元素与健康研究, 2025, 42(1): 58-62.
- Zhang J L, Zhao J X, Cai H F, et al. Optimization of proanthocyanidin extraction from apple pericarp using response surface method[J]. Studies of Trace Elements and Health, 2025, 42(1): 58-62.
- [23] 梁亦龙, 戴传云, 刘火安, 等. 荠菜总黄酮多囊脂质体的制备和体外释放行为研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(3): 720-722.
- Liang Y L, Dai C Y, Liu H A, et al. Preparation of total flavone in shepherd's-purse multivesicular liposomes and release from the liposomes in vitro[J]. Journal of Li-shizhen Traditional Chinese Medicine, 2008, 19(3): 720-722.
- [24] Zhu P Y, Wang X T, Liu X L, et al. Characterization of the composition of bioactive fractions from *Dendrobium officinale* flowers that protect against H₂O₂-induced oxidative damage through the PI3K/AKT/Nrf2 pathway[J]. Foods, 2024, 13(19): 3 116.
- [25] Li W J, Niu M Y, Bao C X, et al. Inhibitory mechanism of CMP-LSOPC nanoparticles on advanced glycation end products released during digestion[J]. Food Science and Human Wellness, 2025, 15(5): 9250481.
- [26] Tang W, Lin L H, Xie J H, et al. Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 151: 305-312.
- [27] 张兵, 陈聪, 彭彦芬, 等. 广西“桂十味”药材体外抗氧化活性及保护作用[J]. 华夏医学, 2024, 37(4): 9-19.
- Zhang B, Chen C, Peng Y f, et al. Antioxidant activity and protective effect of ten varieties geo-authentic traditional Chinese medicine of Guangxi[J]. Acta Medicinæ Sinica, 2024, 37(4): 9-19.
- [28] 杜超. 超声波辅助提取黑薯皮中花青素的工艺研究[J]. 贵阳学院学报(自然科学版), 2024, 19(2): 54-58.
- Du C. Process study of ultrasonic-assisted extraction of anthocyanins from black potato peels[J]. Journal of Guiyang University (Natural Sciences), 2024, 19(2): 54-58.
- [29] 徐亚维, 吕红英, 刘晓丹, 等. 荞麦皮中原花青素的提取工艺研究[J]. 种子, 2010, 29(12): 45-47.
- Xu Y W, Lyu H Y, Liu X D, et al. Study on the extraction technology of proanthocyanidins from buckwheat peer[J]. Seed, 2010, 29(12): 45-47.
- [30] Nazareth M S, Shreelakshmi S V, RAO P J, et al. Micro and nanoemulsions of *Carissa spinarum* fruit polyphenols, enhances anthocyanin stability and anti-quorum sensing activity: comparison of degradation kinetics[J]. Food Chemistry, 2021, 359: 129876.
- [31] 孙茂成, 杨丰硕, 范秀娟, 等. 食品加工条件对黑枸杞花青素稳定性的影响[J]. 中国调味品, 2024, 49(3): 182-186.
- Sun M C, Yang F S, Fan X J, et al. Effects of food processing conditions on stability of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr[J]. China Condiment, 2024, 49(3): 182-186.
- [32] 吕晨鑫, 李杨心慧, 杨晋一, 等. 洛神花花青素提取工艺优化及性质研究[J]. 食品与机械, 2024, 40(12): 32-42.
- Lyu C X, Li Y H X, Yang J Y, et al. Optimisation of the extraction process of anthocyanins from roselle and study of their properties[J]. Food & Machinery, 2024, 40(12): 32-42.
- [33] Mu H J, Wang Y Y, Chu Y C, et al. Multivesicular liposomes for sustained release of bevacizumab in treating laser-induced choroidal neovascularization[J]. Drug Delivery, 2018, 25(1):

- 1 372-1 383.
- [34] 张玉清, 毕可海, 张玉莹, 等. 超声辅助有机溶剂法提取葡萄皮原花青素工艺条件[J]. 食品工业, 2021, 42(2): 1-5.
- Zhang Y Q, Bi K H, Zhang Y Y, et al. Extraction of proanthocyanidins from grape skin by ultrasound-assisted organic solvent[J]. The Food Industry, 2021, 42(2): 1-5.
- [35] 薛菲, 阴新负, 彭效明, 等. 葡萄籽原花青素溶剂浸提工艺研究[J]. 农业科学研究, 2015, 36(4): 30-36.
- Xue F, Yin X F, Peng X M, et al. The process of solvent extraction of the procyanidin from grape seeds[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2015, 36(4): 30-36.
- [36] Hcini K, Bahi A, Zarroug M B, et al. Polyphenolic profile of Tunisian thyme (*Thymra capitata* L.) post-distilled residues: evaluation of total phenolic content and phenolic compounds and their contribution to antioxidant activity[J]. Molecules, 2022, 27(24): 8 791.
- [37] 杨佳琦, 王蓉蓉, 王锐利, 等. 双氢青蒿素脂质体的制备及其缓解小鼠银屑病样皮损的作用[J]. 药物评价研究, 2025, 48(7): 1 853-1 868.
- Yang J Q, Wang R R, Wang R L, et al. Preparation of dihydroartemisinin-loaded liposomes and their topical efficacy in alleviating psoriasis-like lesions in mice[J]. Drug Evaluation Research, 2025, 48(7): 1 853-1 868.
- [38] 刘梦哲, 韩康佳, 王文博, 等. 6'-O-咖啡酰熊果苷脂质体的制备工艺优化及其活性研究[J]. 食品工业科技, 2025, 46(13): 207-217.
- Liu M Z, Han K J, Wang W B, et al. Optimization of the preparation process of 6'-O-caffeoylarbutin liposomes and its activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(13): 207-217.
- [39] 高玥媛, 周浩, 张宇, 等. 5-氟尿嘧啶长循环脂质体的制备及表征[J]. 锦州医科大学学报, 2024, 45(6): 22-30.
- Gao Y Y, Zhou H, Zhang Y, et al. Preparation and characterization of 5-fluorouracil long-circulating liposomes[J]. Journal of Jinzhou Medical University, 2024, 45(6): 22-30.
- [40] 刘艳菊, 闫晓宇, 王永飞, 等. 聚乙二醇修饰大黄素/大黄酸脂质体温敏凝胶的制备、表征及对溃疡性结肠炎的治疗作用[J]. 中草药, 2025, 56(14): 5 006-5 018.
- Liu Y J, Yan X Y, Wang Y F, et al. Preparation, characteratation and therapeutic effects on ulcerative colitis of PEGylated emodin/rhein-liposomes thermosensitive gel[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2025, 56(14): 5 006-5 018.
- [41] Vergara D, Shene C. Encapsulation of lactoferrin into rapeseed phospholipids based liposomes: optimization and physicochemical characterization[J]. Journal of Food Engineering, 2019, 262: 29-38.
- [42] 尤晓颜, 刘慧, 段续, 等. 人参皂苷Rb₁脂质体的制备及对脂肪细胞中脂滴积聚的抑制作用[J]. 食品与机械, 2024, 40(7): 1-6, 80.
- You X Y, Liu H, Duan X, et al. Investigating the inhibitory effect of β -Rb₁-Lip on lipid droplet accumulation in 3T3-L1 adipocytes[J]. Food & Machinery, 2024, 40(7): 1-6, 80.
- [43] 毛阿曼. 奥沙利铂多囊脂质体的制备与表征[D]. 北京: 北京化工大学, 2024: 3-5.
- Mao A M. Multivesicular liposomes for sustained release of oxaliplatin treating colorectal cancer[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2024: 3-5.
- [44] 杨雅煊, 郭晓彤, 傅璇, 等. 壳聚糖修饰辅酶Q₁₀脂质体的制备与性能研究[J]. 食品科技, 2024, 49(8): 39-47.
- Yang Y X, Guo X T, Fu X, et al. Preparation and properties of chitosan modified coenzyme Q₁₀ liposomes[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(8): 39-47.