

基于白芨多糖的牡丹籽油纳米乳凝胶的 制备与质量评价

陈 程¹, 杜远东², 廉 婷¹, 闫梦茹¹, 罗国平¹, 苏文静¹, 张存劳¹

(1. 西安医学院 药学院, 西安 710021; 2. 汉中市食品药品检验检测中心, 陕西 汉中 723000)

摘要:采用高速剪切-高压均质-超声波联用技术制备牡丹籽油纳米乳,以白芨多糖交联卡波姆940制得水凝胶,再将牡丹籽油纳米乳加入水凝胶中制得牡丹籽油纳米乳凝胶。对牡丹籽油纳米乳及牡丹籽油纳米乳凝胶质量进行了评价。结果表明:牡丹籽油纳米乳处方组成为牡丹籽油0.9%、PEG-40氢化蓖麻油1.8%、PEG4000.3%,所得牡丹籽油纳米乳外观呈半透明液体,显淡蓝色乳光,粒径为(88.44 ± 1.74)nm,Zeta电位为(-18.6 ± 2.8)mV,PDI为 0.538 ± 0.084 ,电导率为(8.27 ± 0.11) μ S/cm,黏度为(47.24 ± 0.55)mPa·s,该纳米乳在室温下稳定性良好,高速离心后稳定性良好;牡丹籽油纳米乳凝胶外观呈棕黄色,均匀细腻易于涂布,pH为 6.82 ± 0.03 ,黏度为(53.829 ± 14.6)mPa·s,牡丹籽油含量为(2.60 ± 0.03)mg/g,具有良好缓释效果。牡丹籽油纳米乳凝胶的制备工艺简单,可为牡丹籽油在药品和化妆品领域的研究开发提供参考。

关键词:牡丹籽油;白芨多糖;纳米乳凝胶;质量评价

中图分类号:TS427.2;TQ658 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)12-0084-05

Preparation and quality evaluation of peony seed oil nanoemulsion gel based on *Bletilla striata* polysaccharide

CHEN Cheng¹, DU Yuandong², LIAN Ting¹, YAN Mengru¹,
LUO Guoping¹, SU Wenjing¹, ZHANG Cunlao¹

(1. Pharmaceutical Institute, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China;

2. Hanzhong Center for Food and Drug Control, Hanzhong 723000, Shaanxi, China)

Abstract: The combined techniques of high speed shear - high pressure homogenization - ultrasonic were adopted to prepare the peony seed oil nanoemulsion, the *Bletilla striata* polysaccharide was crosslinked with carporated 940 to prepare gel, and the peony seed oil nanoemulsion was added into gel to prepare peony seed oil nanoemulsion gel, then the qualities of the peony seed oil nanoemulsions was obtained as follows: peony seed oil 0.9%, PEG - 40 hydrogenated castor oil 1.8%, and PEG400 0.3%. The appearance of peony seed oil nanoemulsion showed translucent liquid and nattier blue

opalescence, with the diameter of (88.44 ± 1.74) nm, the Zeta potential of (-18.6 ± 2.8) mV, the PDI of 0.538 ± 0.084 , the conductivity of (8.27 ± 0.11) μ S/cm, and the viscosity of (47.24 ± 0.55) mPa · s. The peony seed oil nanoemulsion was stable at room temperature and after high speed centrifugation. The appearance of peony seed oil nanoemulsion gel showed tan, uniform exquisite and easy to spread, with the pH of 6.82 ± 0.03 , the viscosity of (53.829 ± 14.6) mPa · s,牡丹籽油含量为(2.60 ± 0.03)mg/g,具有良好缓释效果。牡丹籽油纳米乳凝胶的制备工艺简单,可为牡丹籽油在药品和化妆品领域的研究开发提供参考。

收稿日期:2020-05-20;修回日期:2020-07-22

基金项目:西安医学院2018年配套基金项目(2018PT63);陕西省教育厅科技计划项目(18JK0671);陕西高校青年创新团队建设项目(陕教[2019]90号);西安医学院2017年国家基金培育项目(2017GJFY10);西安医学院2018年青年科研基金项目(2018QN12)

作者简介:陈 程(1987),男,副教授,主要从事药物新剂型与新技术研究(E-mail)xayxycheng@163.com。

通信作者:张存劳,副教授,硕士(E-mail)1131168159@qq.com。

mPa·s, the peony seed oil content of (2.60 ± 0.03) mg/g, and had a good slow-release effect. The preparation of peony seed oil nanoemulsion gel was simple, and the research could provide a reference for application of peony seed oil in medicine and cosmetics.

Key words: peony seed oil; *Bletilla striata* polysaccharide; nanoemulsion gel; quality evaluation

牡丹籽油于2011年被国家批准为新资源食品,其不饱和脂肪酸含量近90%,且 α -亚麻酸含量较高^[1-3]。牡丹籽油除了独特的营养价值外,还具有防晒、美白、抗辐射、抗氧化、抗炎等^[4-6]药理作用,这为牡丹籽油在外用制剂和化妆品领域的研发奠定了良好的理论基础,但相关文献报道较少。白芨多糖是从中药白芨中提取的一种多糖,具有抗炎、美白、抗老化、组织修复等药理活性^[7-10],且具有良好的生物兼容性和降解性^[11-13],已作为载体材料应用于医药和日化领域,相关产品已经上市,且受到消费者好评。纳米乳凝胶具备纳米乳和凝胶载体双重优势,具有延长药物滞留时间、涂布性强、稳定性高、血药浓度稳定等特点^[14-17],在皮肤局部外用治疗方面显示了独特优势。基于此,本文以白芨多糖为主要基质制备牡丹籽油纳米乳凝胶并对其进行质量评价,以期为提高牡丹籽油综合利用价值提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

牡丹籽油,陕西兴森源生物科技有限公司;白芨多糖,陕西瑞林尼尔生物科技有限公司;卡波姆940,廊坊具通化工有限公司;PEG-40氢化蓖麻油,山东优索化工科技有限公司;其他试剂为分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

Cary60紫外分光光度计,安捷伦科技有限公司;ZEN-3600Malvern激光粒度仪, Malvern Zetamaster. UK;SNB-1黏度计,上海方瑞仪器有限公司;电热恒温水浴锅,北京市永光明医疗仪器厂;DDS-307电导率仪,上海精密科学仪器有限公司;CP2102电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;Allegra4R高速冷冻离心机,美国贝克曼库尔特有限公司;STARTER2100实验室pH计,奥豪斯仪器有限公司;BT125D电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;KH7200DB数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;ESB-500实验室高剪切均质乳化机,上海易勒机电设备有限公司;XD30A-RFL倒置荧光显微镜,邦亿精密量仪(上海)有限公司;DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限责任公司;ZHWY-100B恒温培养振荡器,上海智城分析仪器制造有限公司;Homolab实验室高压均质机,意大利FBF公司。

1.2 试验方法

1.2.1 牡丹籽油纳米乳的制备

在前期试验的基础上选择PEG-40氢化蓖麻油为乳化剂,PEG400为助乳化剂,通过伪三元相图绘制以及区域面积大小,最终确定牡丹籽油、PEG-40氢化蓖麻油和PEG400质量比为3:6:1。按照比例称取复合表面活性剂(乳化剂和助乳化剂)和油相(牡丹籽油),于恒温加热磁力搅拌器(25℃,30 r/min)充分混匀,逐滴加入纯水,体系发生转相,形成粗乳液,再经高速(10 000 r/min)剪切乳化30 min后,高压(60 MPa)均质5次,最后超声(超声功率250 W)处理15 min,即得牡丹籽油纳米乳(牡丹籽油0.9%,PEG-40氢化蓖麻油1.8%,PEG4000.3%)。

1.2.2 牡丹籽油纳米乳质量评价

(1) 外观形态。取少量样品于载玻片上,置于倒置荧光显微镜下观察。

(2) 粒径、Zeta电位、分散系数(PDI)。取适量样品,加入适量纯水稀释,置于激光粒度仪中测定相应指标。

(3) 电导率。取适量样品于DDS-307电导率仪中测定。

(4) 黏度。取适量样品于SNB-1黏度计中测定。

(5) 稳定性。取3批样品,分别于25、60、-4℃下贮存15 d,测定其保存0、1、15 d时的粒径和电位,考察样品贮存稳定性;取样品于10 000 r/min条件下离心30、120 min,分别测定粒径和Zeta电位,考察样品高速离心稳定性。

1.2.3 牡丹籽油纳米乳凝胶的制备

称取1.0 g白芨多糖,加入100 mL纯水溶解制成白芨多糖水溶液,再加入0.5 g卡波姆940,置于60℃水浴中6 h,再加入5 g甘油,然后用三乙醇胺调节pH至6.5,即得水凝胶;将50 mL牡丹籽油纳米乳于100 r/min条件下滴加入上述凝胶中,并继续搅拌15 min,即得牡丹籽油纳米乳凝胶。

1.2.4 牡丹籽油纳米乳凝胶的质量评价

(1) 外观性状。观察其外观性状和均匀程度。

(2) pH。取样品适量,以pH计测定。

(3) 黏度。取样品适量置于SNB-1黏度计中测定。

(4) 牡丹籽油含量测定。采用紫外分光光度计测定牡丹籽油含量。精密移取牡丹籽油适量, 正己烷溶解并定容, 超声混匀, 配制成 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牡丹籽油正己烷溶液。以正己烷为空白参照, 于 200~400 nm 进行紫外扫描(见图 1), 发现牡丹籽油正己烷溶液于 230 nm 处存在最大吸收, 故选择 230 nm 作为牡丹籽油紫外检测波长。将牡丹籽油正己烷溶液稀释成系列质量浓度(10、20、30、40、50、60 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 以正己烷为空白参照, 于 230 nm 测定吸光度(A), 以牡丹籽油质量浓度(C)为横坐标, 吸光度(A)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程: $A = 25.348C + 0.0655$ ($r = 0.9996$, 线性范围 10~60 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。取牡丹籽油纳米乳凝胶 0.25 g, 加入正己烷超声 30 min, 并定容至 25 mL 容量瓶中, 于 230 nm 处测定吸光度, 根据标准曲线回归方程计算牡丹籽油纳米乳凝胶中牡丹籽油的含量。

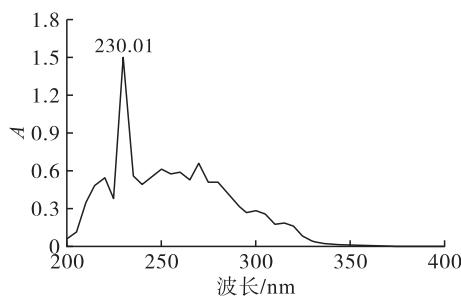


图 1 牡丹籽油正己烷溶液紫外扫描图

(5) 体外释药行为考察。以牡丹籽油纳米乳为对比, 采用透析袋法考察牡丹籽油纳米乳凝胶体外释药特点。分别取牡丹籽油纳米乳和牡丹籽油纳米乳凝胶各 1.0 g 置于透析袋中, 再放置于具塞锥形瓶中, 分别加 pH 7.0 的 PBS 释放介质 100 mL, 将锥形瓶置于恒温培养振荡器(37.0 °C, 转速为 100 r/min), 分别于 0.5、1、2、4、6、8、12、24、36、48 h 取样 2 mL, 同时锥形瓶中补充等量同温度介质, 按照“(4)”中样品处理方法测定释放出来的牡丹籽油量, 以累积释放度为纵坐标, 时间为横坐标绘制体外释药曲线。累积释放度(Q)按照式(1)计算。

$$Q = (C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times 2.0) / m \times 100\% \quad (1)$$

式中: V 为释放介质体积, mL; C_n 为第 n 个取样点测得牡丹籽油质量浓度, mg/mL; 2.0 为取样体积, mL; m 为牡丹籽油纳米乳或牡丹籽油纳米乳凝胶中牡丹籽油质量, mg。

2 结果与分析

2.1 牡丹籽油纳米乳的质量

2.1.1 外观形态

牡丹籽油纳米乳外观呈半透明状态, 显淡蓝色

乳光。经倒置荧光显微镜观察发现, 乳滴大小均匀, 形态呈圆球形(见图 2)。

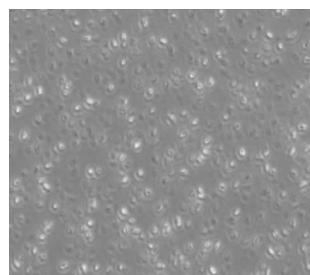


图 2 牡丹籽油纳米乳倒置荧光显微镜下形态(100×)

2.1.2 粒径、Zeta 电位及 PDI(见图 3、图 4)

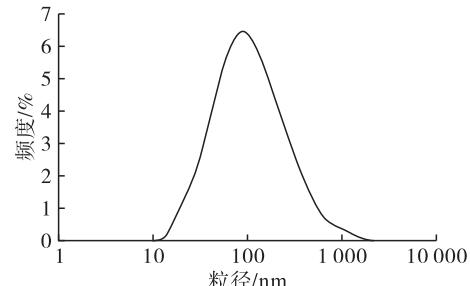


图 3 牡丹籽油纳米乳的粒径分布

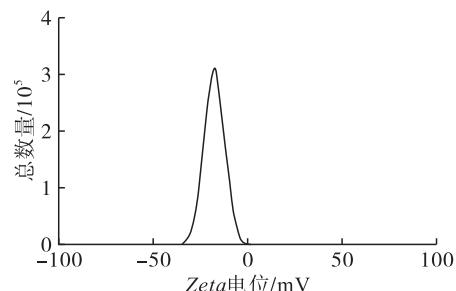


图 4 牡丹籽油纳米乳的 Zeta 电位

由图 3、图 4 可见, 牡丹籽油纳米乳粒径为 (88.44 ± 1.74) nm, 分布较均匀, Zeta 电位为 (-18.6 ± 2.8) mV, 具有较好物理稳定性, PDI 为 (0.538 ± 0.084) , 3 个参数均符合纳米乳基本要求(粒径 200 nm 以内, Zeta 电位绝对值在 25 mV 以内, PDI 在 0.4 左右)。

2.1.3 电导率和黏度(见表 1)

表 1 牡丹籽油纳米乳的电导率和黏度

项目	测定次数			平均值
	1	2	3	
电导率/($\mu\text{S}/\text{cm}$)	8.24	8.39	8.17	8.27
黏度/($\text{mPa} \cdot \text{s}$)	47.78	46.69	47.25	47.24

由表 1 可见, 牡丹籽油纳米乳电导率为 (8.27 ± 0.11) $\mu\text{S}/\text{cm}$, 黏度为 (47.24 ± 0.55) $\text{mPa} \cdot \text{s}$ 。

2.1.4 稳定性(见图 5~图 7)

贮存温度对牡丹籽油纳米乳粒径和 Zeta 电位的影响分别见图 5、图 6, 牡丹籽油纳米乳高速离心

稳定性试验结果见图 7。

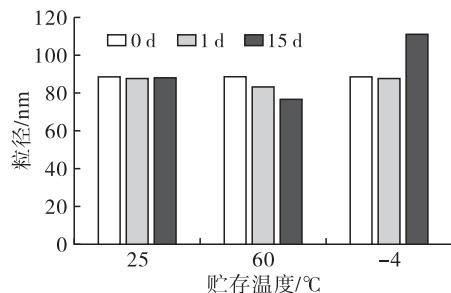


图 5 贮存温度对牡丹籽油纳米乳粒径的影响

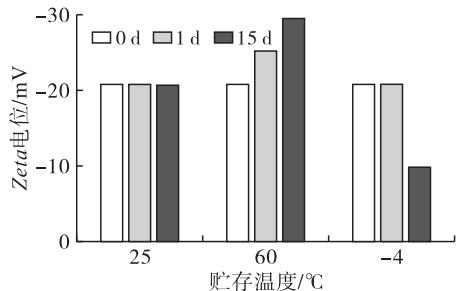


图 6 贮存温度对牡丹籽油纳米乳 Zeta 电位的影响

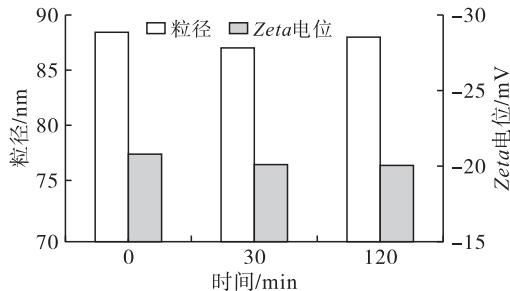


图 7 牡丹籽油纳米乳的高速离心稳定性

由图 5、图 6 可知, 牡丹籽油纳米乳在 25℃ 下较稳定, 15 d 内粒径和 Zeta 电位均变化不大, 60℃ 下随贮存时间延长, 粒径减小, Zeta 电位增大, 而 -4℃ 下粒径增大, Zeta 电位减小。出现不稳定现象的原因与粒子聚集、纳米乳结构受到破坏、布朗运动加剧等有关, 结果说明高温和低温条件对牡丹籽油纳米乳稳定性影响较大, 需 25℃ 常温保存。由图 7 可知, 牡丹籽油纳米乳在高速离心条件下粒径和 Zeta 电位变化不大, 外观均匀, 未出现分层, 稳定性良好。

2.2 牡丹籽油纳米乳凝胶的质量

2.2.1 外观性状

牡丹籽油纳米乳凝胶外观呈棕黄色, 均匀细腻, 涂展性良好。

2.2.2 pH 和黏度(见表 2)

表 2 牡丹籽油纳米乳凝胶的 pH 和黏度

项目	测定次数			平均值
	1	2	3	
pH	6.79	6.85	6.81	6.82
黏度/(mPa·s)	53 983	53 693	53 810	53 829

由表 2 可见, 牡丹籽油纳米乳凝胶 pH 为 6.82 ± 0.03 , 黏度为 (53.829 ± 146) mPa·s。

2.2.3 牡丹籽油含量和体外释药特性

经测定, 所制的牡丹籽油纳米乳凝胶的中牡丹籽油含量为 (2.60 ± 0.03) mg/g。牡丹籽油纳米乳凝胶的体外释药特性见图 8。

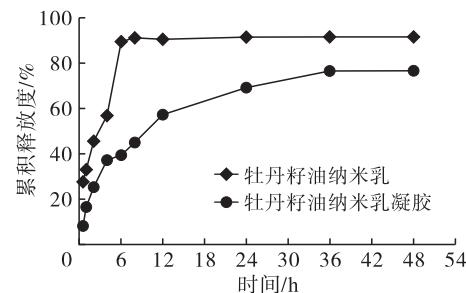


图 8 牡丹籽油纳米乳和牡丹籽油纳米乳凝胶体外释药特性

由图 8 可见, 牡丹籽油纳米乳凝胶 36 h 内释放较快, 然后趋于平缓, 12、24、36 h 累积释放度依次为 57.50%、69.33%、76.54%, 与牡丹籽油纳米乳体外释药特性相比, 牡丹籽油纳米乳凝胶缓释效果更加明显。

3 结论

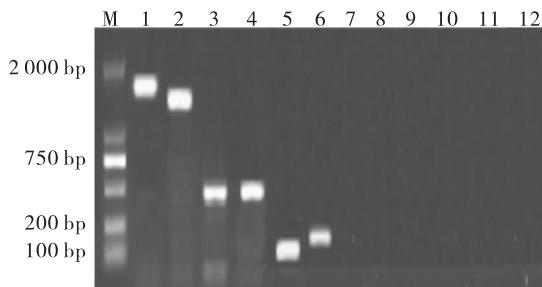
本试验以白芨多糖为主要基质制备牡丹籽油纳米乳凝胶并进行质量评价。牡丹籽油纳米乳外观呈半透明液体, 显淡蓝色乳光, 粒径为 (88.44 ± 1.74) nm, Zeta 电位为 (-18.6 ± 2.8) mV, PDI 为 0.538 ± 0.084 , 电导率为 (8.27 ± 0.11) $\mu\text{S}/\text{cm}$, 黏度为 (47.24 ± 0.55) mPa·s, 稳定性良好; 牡丹籽油纳米乳凝胶外观呈棕黄色, 均匀细腻易于涂布, 牡丹籽油含量为 (2.60 ± 0.03) mg/g, 体外释药缓释效果明显。牡丹籽油纳米乳凝胶的制备工艺简便、稳定, 研究结果可为牡丹籽油的综合开发利用提供参考。

参考文献:

- [1] 王顺利, 任秀霞, 薛璟祺, 等. 牡丹籽油成分、功效及加工工艺的研究进展 [J]. 中国粮油学报, 2016, 31(3): 139–146.
- [2] 程安玮, 孙金月, 王维婷, 等. 牡丹籽油的研究进展 [J]. 食品科学技术学报, 2016(3): 79–84.
- [3] 代慧慧, 魏安池, 李晓栋, 等. 牡丹籽油开发利用的研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2016, 29(1): 4–6.
- [4] 毛善巧, 李西俊. 牡丹籽油的研究进展及油用牡丹资源综合利用价值分析 [J]. 中国油脂, 2017, 42(5): 123–126.
- [5] 朱献标, 翟文婷, 董秀勋, 等. 牡丹籽油化学成分及功能研究进展 [J]. 中国油脂, 2014, 39(1): 88–91.
- [6] 饶鸿雁, 王成忠, 袁亚光. 水-有机溶剂提取牡丹籽油及其抗氧化活性分析 [J]. 中国粮油学报, 2015, 30(10): 61–66.

(下转第 125 页)

炼大豆油 DNA, 定性 PCR 未扩增出大豆内、外源基因条带。这是由于精炼大豆油中 DNA 量甚微, 需要高效的 DNA 富集技术结合灵敏度高的检测方法如实时荧光定量 PCR、巢式 PCR 才能检测^[10-13]。说明氨基化二氧化硅法不适用于精炼大豆油 DNA 的提取。



注:M. Marker; 1. 转基因大豆引物 *Lectin - 1*; 2. 转基因大豆引物 *CP4EPSPS - 1*; 3. 转基因大豆引物 *Lectin - 2*; 4. 转基因大豆引物 *CP4EPSPS - 2*; 5. 转基因大豆引物 *Lectin - 3*; 6. 转基因大豆引物 *CP4EPSPS - 3*; 7. 精炼大豆油引物 *Lectin - 1*; 8. 精炼大豆油引物 *CP4EPSPS - 1*; 9. 精炼大豆油引物 *Lectin - 2*; 10. 精炼大豆油引物 *CP4EPSPS - 2*; 11. 精炼大豆油引物 *Lectin - 3*; 12. 精炼大豆油引物 *CP4EPSPS - 3*。

图3 精炼大豆油 PCR 扩增结果

3 结论

(1)本研究以正电荷的氨基化二氧化硅颗粒为载体, 富集大豆毛油中的 DNA。和国标法相比, 氨基化二氧化硅法提取大豆毛油中的 DNA 质量浓度较高。

(2)氨基化二氧化硅法提取的大豆毛油 DNA 定性 PCR 扩增出了内、外源基因及外源基因调控元件的清晰条带, 而精炼油 DNA 未扩增到内、外源基因条带。该方法只适用于大豆毛油的 DNA 提取, 不适用于精炼油的 DNA 提取。

参考文献:

- [1] 夏义苗, 陈复生, 郝莉花, 等. 大豆油 DNA 提取及检测研究 [J]. 中国油脂, 2019, 44(12): 10-14.
- (上接第 87 页)
- [7] 程安媛. 新型胃黏附材料——白芨多糖的制备及膜黏附性体内外评价 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2008.
- [8] 俞林花, 聂绪强, 潘会君, 等. 白芨多糖对糖尿病溃疡创面愈合的作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(11): 1487-1491.
- [9] 仰莲, 彭成, 李小红, 等. 白芨的化学成分及生物活性研究进展 [J]. 中药与临床, 2014, 5(6): 59-64.
- [10] 彭美, 万峰, 熊亮, 等. 白芨抑菌作用及其活性部位的初步研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(5): 1061-1063.
- [11] 郭婷婷, 朱峻霄, 杨野, 等. 白芨多糖作为纳米药物递送系统的分子设计及其应用进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2019, 50(9): 958-962.
- [12] 朱峻霄, 林亚蒙, 杨野, 等. 白芨多糖在生物医药材料领域中的应用研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2019, 50(9): 958-962.

- 究进展 [J]. 中国食品学报, 2019, 19(10): 353-356.
- [2] NIKOLIC Z, VASILJEVIC I, ZDJELAR G, et al. Detection of genetically modified soybean in crude soybean oil [J]. Food Chem, 2014, 145(7): 1072-1075.
- [3] 袁翠, 万谦宏. 磁性二氧化硅微球的表面修饰及其在植物基因组核酸纯化中的应用 [J]. 分析化学, 2007(1): 31-36.
- [4] 张敏, 张俊平, 杨美娟, 等. 不同修饰磁纳米颗粒提取 DNA 对 *HRM* 基因分型能力的影响探讨 [J]. 国际检验医学杂志, 2019(11): 1293-1298.
- [5] 潘钰, 杨明华, 原韬, 等. 三种方法提取肠道腺病毒核酸的比较 [J]. 黑龙江科学, 2016(12): 33-35.
- [6] 蒋娜. 一种核酸提取磁球和四种脑炎病毒核酸检测试剂盒 (荧光 PCR 法) 的研制 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.
- [7] 刘玲玲. 赖氨酸修饰二氧化硅粒子的制备及其在 DNA 分离中的应用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [8] 林霞. 纳米基因载体酶切保护机理的研究及新型基因载体的制备与应用 [D]. 长沙: 湖南大学, 2005.
- [9] 郑昆, 杨红, 葛雅琨, 等. 氨基化的介孔二氧化硅纳米材料与 pDNA 作用 [J]. 吉林大学学报, 2015, 53(6): 1316-1320.
- [10] 付淑君, 周明, 解晓红, 等. 荧光定量 PCR 对大豆油中转基因成分的检测 [J]. 食品与机械, 2014(2): 68-71.
- [11] 王华, 梁怀宇, 李华. SYBR Green 实时荧光 PCR 高通量检测转基因大豆油 [J]. 生物技术通报, 2011(8): 103-107.
- [12] 白立群, 吴亚君, 韩建勋, 等. 一种有效的大豆精炼油 DNA 提取新方法——冷冻干燥法 [J]. 食品与发酵工业, 2009(12): 155-159.
- [13] 李向丽, 谭贵良, 刘垚, 等. 实时 LAMP 法快速检测食用植物油中的转基因成分 *CaMV - 35S* [J]. 现代食品科技, 2014(2): 244-248.
- 域中的应用研究进展 [J]. 中药材, 2018, 41(4): 1011-1016.
- [13] 李伟泽, 赵宁, 陈卓, 等. 基于白芨多糖的苦参碱微球的制备 [J]. 药学学报, 2018, 53(2): 284-290.
- [14] 王小媛, 王爽爽, 纵伟. 杜仲籽油纳米乳的制备及稳定性评价 [J]. 食品工业, 2019, 40(6): 121-126.
- [15] 季方圆, 何艳琳, 隋箐, 等. 深海鱼油纳米乳制备方法研究 [J]. 中国油脂, 2018, 43(3): 75-79.
- [16] 魏玉, 康冰亚, 张明昊, 等. 紫草素纳米乳的制备及其稳定性考察 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(12): 2932-2936.
- [17] 王小宁, 曹斌, 张存劳, 等. 牡丹籽油纳米乳凝胶的制备及体外透皮特性研究 [J]. 化工科技, 2017, 25(6): 42-46.