

基于中心复合设计法优化虾青素 纳米脂质载体制备工艺

荆永康, 张 炜, 高 红, 隋成博, 乜世成, 宋 林

(青海师范大学 化学化工学院, 西宁 810008)

摘要:为提高虾青素的生物利用度,增加其稳定性,采用均质乳化-探头超声法制备虾青素纳米脂质载体(AST-NLC)。以粒径和包封率为指标,通过单因素试验和中心复合设计法优化AST-NLC的制备工艺,并对制备的AST-NLC进行X射线衍射(XRD)和傅里叶红外光谱(FT-IR)结构表征,以及4、25、50℃下的热稳定性测试。结果表明:制备AST-NLC的最佳工艺条件为甘油三硬脂酸酯与中链甘油三酯质量比1:11(总质量0.99 g)、乳化剂用量(吐温-80+大豆卵磷脂,质量比1:1)3.8%(以水相质量为基准)、油水比1:34(体积比)、均质速度5 000 r/min、超声时间2 min、虾青素添加量2.0 mg,在此条件下制备的AST-NLC粒径为(79.30±1.21) nm,多分散系数(PDI)为0.01±0.01,包封率为(81.36±1.84)%, Zeta电位为(-18.13±2.83) mV;结构表征结果表明,AST-NLC中的虾青素是以分子的状态包裹在脂质体中;热稳定性结果显示,4℃更有利于AST-NLC的保存。综上,成功制备了粒径小、分散均匀且包封率较高的AST-NLC。

关键词: 虾青素纳米脂质载体;中心复合设计法;热稳定性

中图分类号:TS201.1;TS201.4 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)01-0071-08

Optimization of preparation of astaxanthin nanolipid carrier based on central composite design method

JING Yongkang, ZHANG Wei, GAO Hong, SUI Chengbo,
NIE Shicheng, SONG Lin

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Qinghai Normal University, Xining 810008, China)

Abstract: In order to improve the bioavailability and increase the stability of astaxanthin, astaxanthin nanolipid carrier (AST-NLC) was prepared by the homogeneous emulsification-probe ultrasonic method. The preparation process of AST-NLC was optimized by single factor experiment and central composite design method with particle size and encapsulation rate as indexes, and the AST-NLC prepared was structurally characterized by X-ray diffraction (XRD) and Fourier infrared spectroscopy (FT-IR) and tested for thermal stability at 4, 25 °C and 50 °C. The results showed that the optimal process conditions for preparing AST-NLC were mass ratio of glycerol tristearate to medium chain triglyceride 1:11 (total mass 0.99 g), emulsifier dosage (Tween-80+soybean lecithin, mass ratio 1:1) 3.8% (based on water phase mass), oil-water volume ratio 1:34, homogeneous speed 5 000 r/min, ultrasonic time 2 min, astaxanthin dosage 2.0 mg. Under the optimal conditions, the AST-NLC was prepared with a particle size of (79.30±1.21) nm, a polymer dispersity index (PDI) of 0.01±0.01, an encapsulation rate of (81.36±1.84)%, and Zeta potential (-18.13±2.83) mV. The structural analysis revealed that astaxanthin in AST-NLC was encapsulated in liposomes in the state of molecules. The thermal stability results showed 4 °C was more favorable for the

收稿日期:2022-03-21;修回日期:2023-08-30

基金项目:高原人工湿地生态平衡构建与应用示范(2021-SF-139)

作者简介:荆永康(1998),男,硕士研究生,研究方向为天然产物提取与分离(E-mail)738869652@qq.com。

通信作者:张 炜,教授(E-mail)1215089905@qq.com。

preservation of AST - NLC. In conclusion, AST - NLC with small particle size, homogenous dispersion and high encapsulation rate was successfully prepared.

Key words: astaxanthin nanolipid carrier; central composite design method; thermal stability

虾青素(Astaxanthin, AST)是存在于藻类、虾、蟹、鱼等生物中的一种疏水性酮类活性物质,具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗血栓等多种生理活性^[1]。然而,虾青素含有较多共轭双键结构,在遇到光、热、氧等时易发生降解而失效;此外,作为一种油溶性功能成分,虾青素无法均匀分散于水溶液中,导致其生物利用度较低,从而限制了其在药品、食品、保健品等领域的应用^[2],所以如何提高其生物利用度是当前研究的热点之一。

虾青素纳米脂质载体(Astaxanthin nanolipid carrier, AST - NLC)是将活性物质溶于油相或水相中后,通过施加外力将其分散在水相或油相中形成稳定的分散体系^[3],一般情况下制备的纳米乳液脂质载体的粒径在20~200 nm之间^[4]。AST - NLC不仅具有普通脂质体的优点,而且细胞融合性好,稳定性大幅增加,提高了虾青素的生物利用度,同时还能避免体内环境对虾青素的分解和破坏^[5]。有研究者对虾青素进行乳化包埋处理,得到的AST - NLC溶解度、稳定性及降解率均显著提高^[6]。以探头超声仪辅助包埋技术,可显著提高包封率,降低体系粒径,并且可以更大程度地保留被包埋物的生理活性^[7-8],但目前关于均质乳化-探头超声法制备AST - NLC的研究鲜有报道。

本文采用均质乳化-探头超声法制备AST - NLC,考察了乳化剂种类、均质速度、超声时间、虾青素添加量、乳化剂用量、油水比、固液脂质比对其粒径与包封率的影响;以包封率为指标,通过中心复合设计法(CCD)优化了AST - NLC的制备条件,并对制备的AST - NLC进行结构表征和热稳定性测试,以期为提高虾青素的生物利用度、增加其稳定性及细胞融合性提供一定的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

中链甘油三酯(MCT,食品级),广东润华化工有限公司;大豆卵磷脂(PC)、虾青素(纯度>90%),上海源叶有限公司;吐温-80(T-80,食品级),烟台市双双化工有限公司;甘油三硬脂酸酯(Gly,食品级),上海上德化工有限公司;泊洛沙姆188(F68,食品级),江苏森源生物科技有限公司;溴化钾(光谱纯),国药集团化学试剂有限公司;乙酸

乙酯(分析纯),天津大茂化学试剂厂。

KQ-250DV超声波清洗仪,昆山市超声仪器有限公司;BRANSON探头超声细胞破碎仪,广州南方生化医学仪器有限公司;DelsaMax PRO激光粒度分析仪,贝克曼库尔特商贸有限公司;IKA/T50分散均质机,广州仪科实验室技术有限公司;XRD-6000 X射线粉末衍射仪,日本岛津公司;Nicoletis50傅里叶变换红外光谱仪,美国赛默飞公司;H1850-Cence高速离心机,湖南湘仪实验仪器有限公司;C-MAG-HS10磁力搅拌器,广州仪器设备有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 AST - NLC的制备

称取一定量的Gly和MCT于烧杯中,(80±5)℃下加热至熔融状态,加入一定量虾青素后超声使其溶解,作为油相;称取一定量的乳化剂,(80±5)℃下加热溶解于超纯水中,作为水相;将水相加入到油相中,在一定速度下均质90 s得到初始乳液,采用探头超声细胞破碎仪超声一定时间后得到AST - NLC。

1.2.2 AST - NLC粒径、多分散系数(PDI)和Zeta电位的测定

室温下准确吸取1 mL AST - NLC,用超纯水稀释至7 mL,充分振荡后于激光粒度分析仪比色皿中测定其粒径、PDI和Zeta电位。测定条件:读取时间间隔1 s,电压幅度2.5 V,电场频率10 Hz。

1.2.3 包封率的测定

虾青素含量的测定参考Akhoond等^[9]的方法。准确移取1 mL AST - NLC至离心管中,加入适量乙酸乙酯,2 000 r/min下离心1 min,离心3次后取上层含游离虾青素的乙酸乙酯溶液于470 nm波长处测定吸光度,代入标准曲线方程($y = 0.3079x - 0.0480$, $R^2 = 0.9989$,式中 y 为吸光度, x 为虾青素的质量浓度)计算虾青素含量,按下式计算AST - NLC的包封率(Y)。

$$Y = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为加入虾青素的总质量,mg; m_2 为离心后的游离虾青素质量,mg。

1.2.4 AST - NLC结构表征

1.2.4.1 X射线衍射(XRD)分析

以Cu - K α 作为辐射源,电压40 kV,电流30 mA,扫描范围10°~80°;采用Jade 6.0分析软件

分析样品的结构变化。

1.2.4.2 傅里叶红外光谱(FT-IR)分析

分别取适量虾青素、冷冻干燥后的空白纳米脂质载体(NLC)和AST-NLC,与一定量溴化钾混合,研磨成粉末后压成薄片,进行红外光谱扫描。扫描条件:扫描范围 $400 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$,分辨率 4 cm^{-1} ,扫描次数32次。

1.2.5 热稳定性分析

将最优条件下制备的AST-NLC分别在 $4, 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下避光储藏,分别于1、2、3、5、7、9、16、24 h取样测定AST-NLC粒径和包封率的变化。

2 结果与分析

2.1 AST-NLC制备的单因素试验

2.1.1 乳化剂种类对粒径和包封率的影响

在均质速度 $5\,000\text{ r/min}$,超声时间 2 min (60%的超声振幅,下同),虾青素添加量 2.0 mg ,乳化剂用量3%(以水相质量为基准,下同),油水比1:45(体积比,下同),固液脂质比(Gly与MCT质量比,总质量 0.99 g ,下同)1:10的条件下,考察乳化剂种类对AST-NLC粒径和包封率的影响,结果如图1所示。

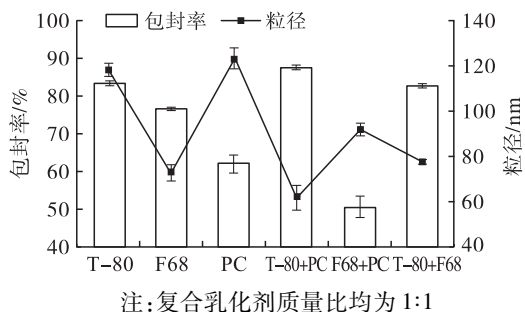


图1 乳化剂种类对AST-NLC粒径和包封率的影响

NLC体系通常是一种类似水包油型的乳液,体系内颗粒的比表面积大,粒子之间容易发生聚集,而添加一定量的乳化剂可以维持体系的稳定性^[10]。由图1可知,当AST-NLC体系中只加入PC时,乳液的粒径最大,且其包封率较低,而当采用复合乳化剂T-80+PC时,AST-NLC的包封率最高,达 $(87.67 \pm 0.50)\%$,且乳液的粒径最小,可能是由于T-80是一种有效的纳米粒子稳定剂,T-80与PC复合使用,可在界面上形成紧密排列的复合物,增加界面强度,有效阻止液滴的聚结,两者具有明显的协同作用,提高了乳液的稳定性^[11]。相较于T-80+PC, F68+PC和T-80+F68两种复合乳化剂所制备的AST-NLC粒径较大且包封率较低,这是由于F68无法阻止纳米粒子絮凝,造成纳米乳液粒径较大,此外,F68的加入促使AST-NLC在微球表面形成孔状结构^[12],增加了虾青素的释放性能,导致了包封率的

降低。综上,选择T-80+PC为最佳乳化剂。

2.1.2 均质速度对粒径及包封率的影响

在以T-80+PC为乳化剂,超声时间 2 min ,虾青素添加量 2.0 mg ,乳化剂用量3%,油水比1:45,固液脂质比1:10的条件下,考察均质速度对AST-NLC粒径和包封率的影响,结果如图2所示。

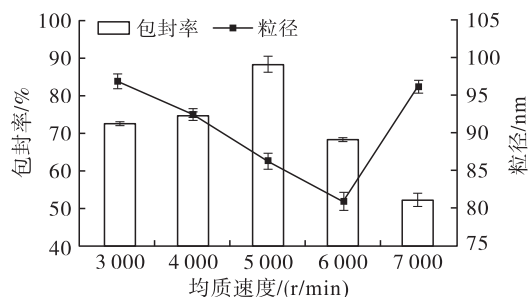


图2 均质速度对AST-NLC粒径和包封率的影响

由于高速均质能使乳液颗粒分布均匀,但是剪切速度在均质阀中产生的能量并不均匀,当AST-NLC处于高能区时容易被破碎,而低能区的AST-NLC不能被破碎,因此选择合适的均质速度是非常重要的^[13]。由图2可知,随着均质速度的增大,AST-NLC的粒径先减小后增大,这是由于随着均质速度的增大,液滴容易被破碎使粒径变小,而均质速度过大增大了碰撞概率,部分液滴又重新凝聚在一起致使粒径增大^[14]。随着均质速度的增大,AST-NLC的包封率先增大后减小,可能是由于均质速度增大,NLC表面积增大,能包裹更多的虾青素,但是过大的均质速度破坏力强,导致虾青素泄漏,包封率降低^[15]。均质速度在 $5\,000\text{ r/min}$ 时包封率最高,达到 $(88.16 \pm 2.03)\%$,此时的粒径为 $(86.25 \pm 1.06)\text{ nm}$ 。因此,选择 $5\,000\text{ r/min}$ 作为最佳的均质速度。

2.1.3 超声时间对粒径及包封率的影响

在以T-80+PC为乳化剂,均质速度 $5\,000\text{ r/min}$,虾青素添加量 2.0 mg ,乳化剂用量3%,油水比1:45,固液脂质比1:10的条件下,考察超声时间对AST-NLC粒径和包封率的影响,结果如图3所示。

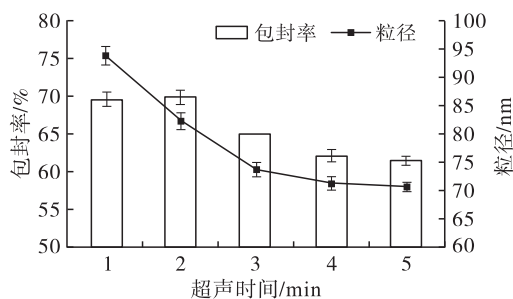


图3 超声时间对AST-NLC粒径和包封率的影响

由图3可知,随着超声时间的延长,AST-NLC的粒径呈下降的趋势,这是由于超声通过外界能量输入使体系中的微粒再分散变小而被乳化剂稳定^[16]。随超声时间的延长,包封率先略有增高,在2 min时包封率最高,为 $(69.83 \pm 0.98)\%$,此后随着超声时间的继续延长,包封率减小,可能是长时间超声导致脂质体被破碎,致使内部的虾青素渗漏分散在乳液体系中^[17]。综合考虑,选择2 min作为最佳超声时间。

2.1.4 虾青素添加量对粒径及包封率的影响

在以T-80+PC为乳化剂,超声时间2 min,均质速度5 000 r/min,乳化剂用量3%,油水比1:45,固液脂质比1:10的条件下,考察虾青素添加量对AST-NLC粒径和包封率的影响,结果如图4所示。

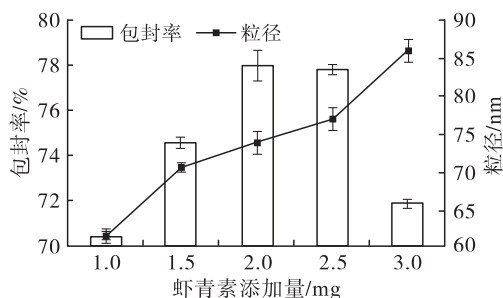


图4 虾青素添加量对AST-NLC粒径和包封率的影响

由图4可知,在虾青素添加量很低的情况下,由于溶质分子的浓度低,粒子间相互堆叠粘连的现象减少,导致乳液体系粒径小。随着虾青素添加量的增多,包封率先增大后减小。这说明NLC的包裹空间有限,对AST的包埋具有饱和性,一旦虾青素添加量超过脂质膜的饱和限度时,一部分虾青素就有可能分散在外面胶团中而无法被包裹^[18]。综合考虑,选择虾青素添加量为2.0 mg。

2.1.5 乳化剂用量对粒径及包封率的影响

在以T-80+PC为乳化剂,超声时间2 min,均质速度5 000 r/min,虾青素添加量2.0 mg,油水比1:45,固液脂质比1:10的条件下,考察乳化剂用量对AST-NLC粒径和包封率的影响,结果如图5所示。

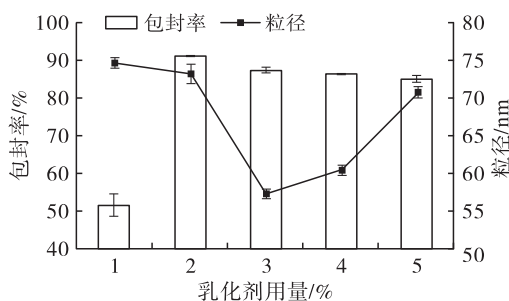


图5 乳化剂用量对AST-NLC粒径和包封率的影响

由图5可知,随着乳化剂用量的增加,AST-NLC的粒径呈现先减小后增大的趋势,包封率呈现先增大后降低的趋势。当乳化剂用量为1%时,乳液的粒径最大,包封率最小,这是由于乳化剂加入过少,乳化作用较弱。当乳化剂用量为3%时,乳液粒径最小且包封率为 $(87.54 \pm 0.65)\%$,这主要归因于乳化剂用量增大,乳化作用增强。当乳化剂用量超过一定范围时,AST-NLC的粒径变大,可能是由于乳化剂用量过大导致体系的黏度增加,颗粒相互附着聚集所致^[19-20]。综合考虑,选择3%为最佳乳化剂用量。

2.1.6 油水比对粒径及包封率的影响

在以T-80+PC为乳化剂,超声时间2 min,均质速度5 000 r/min,虾青素添加量2.0 mg,乳化剂用量3%,固液脂质比1:10的条件下,考察油水比对AST-NLC粒径和包封率的影响,结果如图6所示。

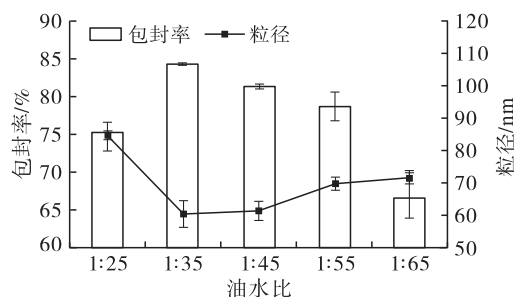


图6 油水比对AST-NLC粒径和包封率的影响

由图6可知,随着油水比的减小(水相体积的增加),AST-NLC的粒径呈现先减小后增大的趋势。在油水比1:25时乳液粒径较大,可能是由于油含量较高,脂质浓度较大,影响了乳化效果所致,油水比超过1:35后乳液粒径增大,可能是乳化剂的亲水基使粒子表面的水分子增多所致^[21]。包封率随着油水比的减小呈现先增大后减小的趋势。乳液的黏度和稳定性与油含量有关^[22],油含量较低时,乳液体系不稳定,虾青素容易泄漏,从而造成其包封率较低。当油水比为1:35时,乳液粒径最小且包封率最高,达 $(84.31 \pm 0.04)\%$ 。因此,选择1:35为最佳的油水比。

2.1.7 固液脂质比对粒径及包封率的影响

在以T-80+PC为乳化剂,超声时间2 min,均质速度5 000 r/min,虾青素添加量2.0 mg,乳化剂用量3%,油水比1:45的条件下,考察固液脂质比对AST-NLC粒径和包封率的影响,结果如图7所示。

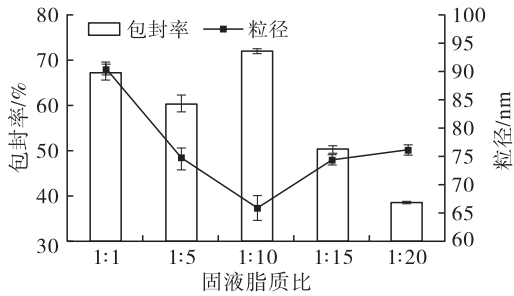


图7 固液脂质比对AST-NLC粒径和包封率的影响

由图7可知,随着固液脂质比的减小(MCT质量的增加),乳液的粒径先减小后增大。增大的原因可能是过多的液体脂质减少了乳液的刚性,增大了乳液体系的乳化效果,加大了与水相之间的相互碰撞率^[23-24],从而导致粒径增大。AST-NLC的包封率随固液脂质比的减小总体呈先增大后降低的趋势,降低的原因可能是液态脂质质量过高形成的非完美晶型脂质载体容纳虾青素的量有限所致^[25]。当固液脂质比为1:10时,AST-NLC体系的包封率最大且粒径最小,二者分别为(72.06 ± 0.50)%、(65.85 ± 2.19)nm。因此,选择1:10为最佳固液脂质比。

2.2 AST-NLC制备的中心复合设计法(CCD)工艺优化

2.2.1 CCD试验设计及结果

在单因素试验基础上,以T-80+PC为乳化剂,固定均质速度5000 r/min、超声时间2 min、虾青素添加量2.0 mg,选择乳化剂用量(A)、固液脂质比(B)和油水比(C)为自变量,以AST-NLC的包封率(Y)为响应值,进行三因素五水平的CCD试验,CCD试验因素与水平见表1,CCD试验设计及结果见表2。

表1 CCD试验因素与水平

水平	A 乳化剂用量/%	B 固液脂质比	C 油水比
-1.68	1	1:5	1:25
-1	1.8	1:7.03	1:30
0	3	1:10	1:35
1	4.2	1:12.97	1:40
1.68	5	1:15	1:45

表2 CCD试验设计及结果

试验号	A	B	C	Y/%
1	1	-1	-1	63.96
2	0	0	0	79.68
3	0	1.68	0	79.84
4	-1	-1	1	69.07
5	-1.68	0	0	63.75
6	0	0	0	83.62
7	0	0	1.68	64.65
8	0	0	0	81.02
9	0	0	-1.68	71.25
10	-1	1	1	69.80

续表2

试验号	A	B	C	Y/%
11	-1	-1	-1	63.01
12	0	-1.68	0	67.98
13	1	1	1	72.76
14	0	0	0	83.25
15	0	0	0	85.25
16	1	1	-1	78.15
17	1.68	0	0	76.17
18	0	0	0	79.78
19	1	-1	1	70.84
20	-1	1	-1	71.35

对表2数据进行回归拟合,得到各因素对AST-NLC包封率的回归方程: $Y = 82.10 + 2.44A + 3.31B - 0.37C + 0.87AB - 0.38AC - 2.48BC - 4.30A^2 - 2.90B^2 - 5.01C^2$ 。

2.2.2 方差分析

对表2中的试验结果进行方差分析和显著性检验,结果如表3所示。

表3 回归模型方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F	p
模型	923.62	9	102.62	14.91	<0.0001**
A	81.28	1	81.28	11.81	0.0064**
B	149.44	1	149.44	21.71	0.0009**
C	1.87	1	1.87	0.27	0.6138
AB	6.11	1	6.11	0.89	0.3684
AC	1.18	1	1.18	0.17	0.6878
BC	49.15	1	49.15	7.14	0.0234*
A ²	266.42	1	266.42	38.70	<0.0001**
B ²	121.46	1	121.46	17.64	0.0018**
C ²	361.77	1	361.77	52.55	<0.0001**
残差	68.84	10	6.88		
失拟项	42.88	5	8.58	1.65	0.2976
绝对误差	25.96	5	5.19		
总和	992.46	19			

注:*代表差异显著($p < 0.05$),**代表差异极显著($p < 0.01$)

由表3可知,模型 $p < 0.0001$,说明所建立的模型达到极显著水平,失拟项 p 为0.2976,大于0.05,不显著,表明模型拟合良好。模型的决定系数(R^2)为0.9306,校正决定系数(R^2_{Adj})为0.8682,表明模型拟合度很高,变异系数(CV)为3.56%,小于5%,说明模型置信度较高,重现性较好。各因素对AST-NLC包封率的影响顺序依次为B(固液脂质比)>A(乳化剂用量)>C(油水比);模型的一次项A(乳化剂用量)、B(固液脂质比),二次项A²、B²、C²的 p 值均小于0.01,对包封率影响极显著,交互项BC的 p 值小于0.05,对包封率影响显著。

2.2.3 最佳工艺条件的确定及验证

根据拟合模型方程得到 AST-NLC 包封率的最佳条件为乳化剂用量 3.83%、固液脂质比 1:11.23、油水比 1:34.25,在此条件下 AST-NLC 的理论包封率为 84.87%。考虑到实际操作,将最佳条件调整为乳化剂用量 3.8%、固液脂质比 1:11、油水比 1:34,在此条件下进行 3 次平行验证试验,AST-NLC 的平均包封率为 $(81.36 \pm 1.84)\%$,与理论包封率之间相对误差 4.14%,与预测结果基本吻合。此外,测得最佳条件下制备的 AST-NLC 的平均粒径为 (79.30 ± 1.21) nm, PDI 为 0.01 ± 0.01 , Zeta 电位为 (-18.13 ± 2.83) mV,说明乳液的稳定性较好,乳液体系分布均一。

2.3 AST-NLC 的结构表征

2.3.1 AST-NLC 的 XRD 分析

AST-NLC 的 XRD 图谱如图 8 所示。

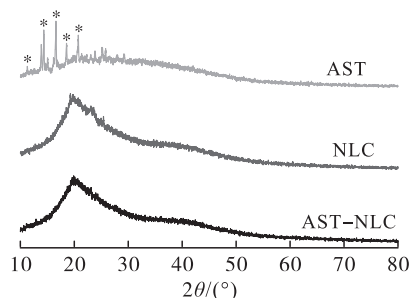


图 8 AST、NLC 和 AST-NLC 的 XRD 图谱

由图 8 可知,AST 在 2θ 为 13.9° 、 14.23° 、 16.56° 、 18.48° 、 20.61° 处均有很强的衍射峰,说明游离 AST 是一种高结晶结构的物质^[26]。然而 AST-NLC 中这些特征衍射峰基本消失,说明在 AST-NLC 中的游离 AST 并不是以结晶态的形式存在,而是以无定形的状态分布于脂质相中或者以分子的形态与其他脂质体互相溶解,处于分子分散状态^[27],该现象与 Mao 等^[28]制备的虾青素固体脂质体现象一致。

2.3.2 AST-NLC 的 FT-IR 分析

AST-NLC 的 FT-IR 图谱如图 9 所示。

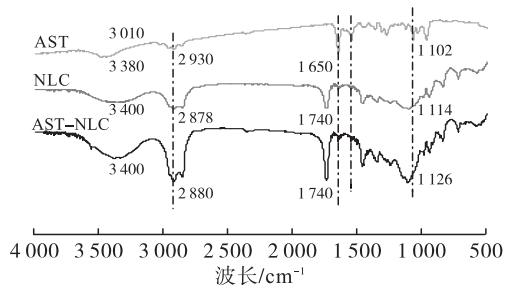


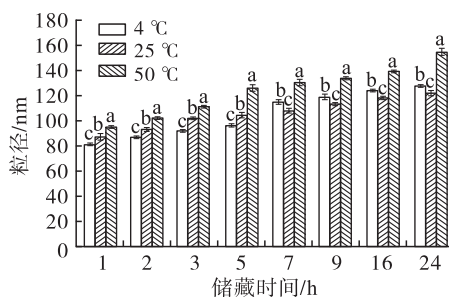
图 9 AST、NLC 和 AST-NLC 的 FT-IR 图谱

由图 9 可知,对于 AST, 3380 cm^{-1} 为 —OH 伸缩振动, 3010 cm^{-1} 为 =C—H 伸缩振动, 2930 cm^{-1}

为 —CH_2 伸缩振动, 1650 cm^{-1} 为 C=O 伸缩振动(是由于 AST 的共轭体系使 C=O 从 1740 cm^{-1} 峰移动所致^[29])。对于 NLC, 3400 cm^{-1} 处有宽的吸收峰,是油脂分子中存在 O—H 伸缩振动(AST-NLC 中此处振动强度增大), 2878 cm^{-1} 处有 —CH_2 伸缩振动吸收峰(AST-NLC 中在 2880 cm^{-1} 处振动强度增大);此外,在 AST-NLC 中, 1650 cm^{-1} 处 AST 特有的 C=O 峰并没有出现,而出现了 NLC 中对应的 1740 cm^{-1} 处的 C=O 峰。综上所述,AST 被包裹在脂质体中。Sarabandi^[30]、Ramezanzade^[31] 等分别在制备酪蛋白水解物和虹鳟皮衍生肽纳米脂质体的研究中也发现了类似吸收峰移动的现象。以上现象可由 NLC 包覆活性物质核心模型来解释,相对制备 NLC 的成分,虾青素具有较高的熔点,在热均质冷却后最先凝固成粒子的核心,随后其他物质包裹在其外部^[32]。

2.4 AST-NLC 的热稳定性分析

图 10 为不同储藏温度下 AST-NLC 的粒径变化。



注:在同一储藏时间内,不同小写字母表示有显著性差异 ($p < 0.05$)。下同

图 10 不同储藏温度下 AST-NLC 的粒径变化

由图 10 可知:在 24 h 内, 4°C 恒温储藏条件下 AST-NLC 的粒径从 81.23 nm 增大至 128.00 nm , 变化率为 57.58%; 25°C 常温储藏条件下 AST-NLC 的粒径从 87.33 nm 增大至 122.33 nm , 变化率为 40.08%; 50°C 高温储藏条件下 AST-NLC 的粒径从 95.50 nm 增大至 155.00 nm , 变化率为 62.30%。

图 11 为不同储藏温度下 AST-NLC 包封率的变化。

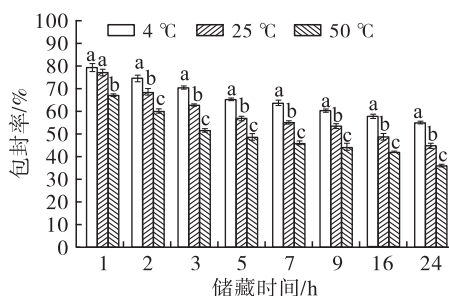


图 11 不同储藏温度下 AST-NLC 包封率的变化

由图 11 可知:在 24 h 内,4℃ 恒温储藏条件下 AST - NLC 的包封率从 79.45% 减小到 55.18%,变化率为 30.55%;25℃ 常温储藏条件下 AST - NLC 的包封率从 76.92% 减小到 44.73%,变化率为 41.85%;50℃ 高温储藏条件下 AST - NLC 的包封率从 69.38% 减小到 36.02%,变化率为 48.08%;4℃ 下储藏 24 h 包封率仍然有 55.18%,且此条件下包封率的变化率是最低的。储藏温度 50℃ 下 AST - NLC 的包封率与储藏温度 4、25℃ 下的包封率存在显著性差异。AST - NLC 在保存过程中粒径变化要尽可能小,且包封率应该相对稳定。因此,4℃ 相较于 25℃ 与 50℃,能更好地保存 AST - NLC。

3 结论

采用均质乳化 - 探头超声法制备 AST - NLC,以粒径和包封率为指标,采用单因素试验和中心复合设计法优化得到的 AST - NLC 最佳制备工艺条件为固液脂质比 1:11(总质量 0.99 g)、乳化剂用量(T-80 + PC,质量比 1:1)3.8%、油水比 1:34、均质速度 5 000 r/min、超声时间 2 min、虾青素添加量 2.0 mg,最终得到 AST - NLC 的粒径为(79.30 ± 1.21) nm、PDI 为 0.01 ± 0.01,包封率为(81.36 ± 1.84)%, Zeta 电位为(-18.13 ± 2.83) mV。通过对 AST - NLC 进行 FT - IR、XRD 分析得出,AST - NLC 中的虾青素是以分子的状态包裹在脂质体中;4℃ 条件下储藏 24 h 后,AST - NLC 的包封率相较于 25℃ 和 50℃ 变化较小,且粒径变化适当,说明低温有利于 AST - NLC 的保存。该工艺在一定程度上制备了粒径小、分散均匀且包封率较高的 AST - NLC,为虾青素的研究开发提供了一定的参考。

参考文献:

- [1] ALAVI S, HAERI A, DADASHZADEH S. Utilization of chitosan - caged liposomes to push the boundaries of therapeutic delivery[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 157: 991 - 1012.
- [2] OTA A, ISTENIĆ K, SKRT M, et al. Encapsulation of pantothenic acid into liposomes and into alginate or alginate - pectin microparticles loaded with liposomes[J]. *J Food Eng*, 2018, 229:21 - 31.
- [3] HATEGEKIMANA J, BWENGYE M K, MASAMBA K G, et al. Formation and stability of vitamin E enriched nanoemulsions stabilized by octenyl succinic anhydride modified starch[J]. *Int J Food Eng*, 2014, 10(4):633 - 643.
- [4] KHALID N, SHU G, HOLLAND B J, et al. Formulation and characterization of O/W nanoemulsions encapsulating high concentration of astaxanthin[J]. *Food Res Int*, 2017, 102(12):364 - 371.
- [5] ANAL A K, SHRESTHA S, SADIQ M B. Biopolymeric - based emulsions and their effects during processing, digestibility and bioaccessibility of bioactive compounds in food systems[J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 87(2):691 - 702.
- [6] LIU X, MCCLEMENTS D J, CAO Y, et al. Chemical and physical stability of astaxanthin - enriched emulsion - based delivery systems[J]. *Food Biophys*, 2016, 11(3): 302 - 310.
- [7] HE Y, LUO L, LIANG S, et al. Influence of probe - sonication process on drug entrapment efficiency of liposomes loaded with a hydrophobic drug[J]. *Int J Polym Mater Polym Biomater*, 2019, 68(4): 193 - 197.
- [8] OMER N, CHOO Y M, AHMAD N, et al. Ultrasound - assisted encapsulation of pandan (*Pandanus amaryllifolius*) extract[J/OL]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 79: 105793[2022 - 03 - 21]. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105793>.
- [9] AKHOOND ZARDINI A, MOHEBBI M, FARHOOSH R, et al. Production and characterization of nanostructured lipid carriers and solid lipid nanoparticles containing lycopene for food fortification[J]. *J Food Sci Technol*, 2018, 55(1):287 - 298.
- [10] MEHNERT W, MÄDER K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(2/3):165 - 196.
- [11] 叶锐. 鱼卵水解蛋白 - 大豆卵磷脂复配乳化剂的乳化特性研究及其在β - 胡萝卜素饮料中的应用[D]. 福州:福建农林大学, 2020.
- [12] 马桂蕾, 张琳华, 宋存先. 紫杉醇聚己内酯/泊洛沙姆 188 载药纳米粒及其抗肿瘤活性[J]. *生物医学工程与临床*, 2009, 13(6):481 - 485.
- [13] AGRAWAL M, SARAF S, SARAF S, et al. Recent strategies and advances in the fabrication of nano lipid carriers and their application towards brain targeting[J]. *J Control Release*, 2020, 321:372 - 415.
- [14] THATIPAMULA R P, PALEM C R, GANNU R, et al. Formulation and *in vitro* characterization of domperidone loaded solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers[J]. *Daru*, 2011, 19(1):23 - 32.
- [15] 马永强, 谭振洪, 黎晨晨, 等. 遗传算法结合响应面法优化番茄红素纳米结构脂质载体的制备[J]. *包装工程*, 2022, 43(7):52 - 62.
- [16] 林云伟. 南极磷虾油基纳米结构脂质载体的制备及性质研究[D]. 广州:华南理工大学, 2020.
- [17] 修伟业. 番茄红素纳米结构脂质载体制备及稳定性与抗氧化性研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨商业大学, 2021.
- [18] 麦婉婷, 钟华帅, 苏晓丹, 等. Box - Behnken 响应面优化

- 蛇葡萄素纳米结构脂质载体处方工艺及体外评价[J]. 中草药, 2022, 53(16):4982-4991.
- [19] LI M, MA Y, CUI J. Whey - protein - stabilized nanoemulsions as a potential delivery system for water - insoluble curcumin[J]. LWT - Food Sci Technol, 2014, 59(1):49-58.
- [20] 马永强, 修伟业, 黎晨晨, 等. 星点设计 - 响应面法优化番茄红素纳米结构脂质载体的制备[J]. 食品科学, 2021, 42(3):121-127.
- [21] 凌慧. 包覆防晒剂的纳米结构脂质载体的制备及防晒效果研究[D]. 广州: 广州大学, 2019.
- [22] DONG B, QIN Z Y, WANG Y W, et al. Investigating the rheology and stability of heavy crude oil - in - water emulsions using APG08 emulsifiers [J]. ACS Omega, 2022, 7(42):37736-37747.
- [23] TSAI W C, RIZVI S S H. Microencapsulation and characterization of liposomal vesicles using a supercritical fluid process coupled with vacuum - driven cargo loading [J]. Food Res Int, 2017, 96(6):94-102.
- [24] HYDER M N, HUANG R Y M, CHEN P. Pervaporation dehydration of alcohol - water mixtures: Optimization for permeate flux and selectivity by central composite rotatable design[J]. J Membr Sci, 2009, 326(2):343-353.
- [25] 熊文慧. 番茄红素纳米结构脂质载体工艺优化及生物可给率[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2019.
- [26] MAO X Y, TIAN Y, SUN R, et al. Stability study and *in vitro* evaluation of astaxanthin nanostructured lipid carriers in food industry[J]. Integr Ferroelectr, 2019, 200(1):208-216.
- [27] CHENG X Y, XIONG Y J, YANG M M, et al. Preparation of astaxanthin mask from *Phaffiarhodozyma* and its evaluation[J]. Process Biochem, 2019, 79:195-202.
- [28] MAO X Y, SUN R, TIAN Y, et al. Development of a solid self - emulsification delivery system for the oral delivery of astaxanthin[J/OL]. Eur J Lipid Sci Technol, 2019, 121(5):1800258 [2022-03-21]. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800258>.
- [29] LIU J, CHEN X, YANG X, et al. Astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* observed through Fourier - transform infrared microspectroscopy imaging [J]. J Mol Struct, 2019, 1182:119-122.
- [30] SARABANDI K, MAHOONAK A S, HAMISHEHKAR H, et al. Protection of casein hydrolysates within nanoliposomes: Antioxidant and stability characterization [J]. J Food Eng, 2019, 251:19-28.
- [31] RAMEZANZADE L, HOSSEINI S F, NIKKHAH M. Biopolymer - coated nanoliposomes as carriers of rainbow trout skin - derived antioxidant peptides[J]. Food Chem, 2017, 234:220-229.
- [32] 秦尧, 张新蕾, 韩鑫桐, 等. 大麻二酚纳米结构脂质载体的制备及其性质研究[J]. 化学通报, 2022, 85(7):845-852.
-
- (上接第 70 页)
- [6] 韩丽丽, 王学敏, 陈朝青, 等. 特医食品中油脂的设计及氧化稳定性研究[J]. 中国食物与营养, 2022, 28(4):38-41.
- [7] SANDUPAMA P, MUNASINGHE D, JAYASINGHE M. Coconut oil as a therapeutic treatment for Alzheimer's disease: A review[J]. J Future Foods, 2022, 2(1):41-52.
- [8] 张文君, 吴梦婷, 张国锋, 等. 白藜芦醇纳米传递系统的研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(3):371-377.
- [9] 李藤藤, 徐东升, 吴迪, 等. 蛇油纳米乳的制备及稳定性评价[J]. 中国油脂, 2021, 46(11):21-25, 49.
- [10] 张彩虹, 黄立新, 谢普军, 等. 三种乳化剂对橄榄油乳液稳定性的影响[J]. 中国油脂, 2021, 46(3):28-33, 47.
- [11] 鲁梦齐. 椰子油微乳体系的构建及其在细菌纤维素凝胶中递送油溶物的渗透动力学研究[D]. 海口: 海南大学, 2017.
- [12] 胡伟, 李湘洲, 穆园园. 响应面法优化超声乳化制备油茶籽油纳米乳液及其稳定性研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(9):14-19.
- [13] 刘雪梅, 王兆石, 刘露, 等. 橙皮苷 - 乳清蛋白基鱼油纳米乳液的制备及稳定性研究[J]. 食品工业, 2022, 43(4):91-96.
- [14] SHARMA M, MANN B, POTHURAJU R, et al. Physico - chemical characterization of ultrasound assisted clove oil - loaded nanoemulsion: An enhanced antimicrobial potential [J/OL]. Biotechnol Rep, 2022, 34:e00720 [2022-09-08]. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00720>.
- [15] 曹梦梦, 刘一鲲, 陈兴, 等. 动态高压微射流技术制备乳液运载体的研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(18):474-482.
- [16] 魏晓莉. 超声乳化生物燃油/柴油工艺、机理及装置的优化研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015.
- [17] 冯棋琴, 胡爱军. 超声处理对红花籽油理化性质及脂肪酸组成的影响[J]. 中国油脂, 2015, 40(7):37-39.
- [18] 郝慧敏, 靳学远, 刘艳芳. 超高压均质制备牡丹籽油纳米乳液及稳定性研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(9):78-81.
- [19] 樊晔, 牛田, 方云, 等. SCL@ SiO₂ 纳米颗粒的制备及其稳定的 Pickering 乳液[J]. 精细化工, 2018, 35(12):1987-1992.