

杜仲籽油冻干脂质体的制备及表征

陈亮^{1,2}, 刘悠¹, 姚茂君^{1,2}, 鲁颖², 余佳^{1,2}, 李加兴²

(1. 吉首大学化学化工学院, 湖南吉首 416000; 2. 吉首大学食品科学研究所, 湖南吉首 416000)

摘要:为增加杜仲籽油的水溶性和稳定性,提高其生物利用度,将杜仲籽油制成冻干脂质体。采用乙醇注入-超声法制备杜仲籽油脂质体悬浮液并进行冻干处理,以冻干后样品外观、再分散性及复溶后包埋率为指标优化其冻干工艺条件,分析杜仲籽油冻干脂质体的微观形态、粒径、*Zeta* 电位与储藏稳定性,利用差示扫描量热仪(DSC)、X射线衍射仪(XRD)分析冻干保护剂在脂质体中的存在状态。结果表明:杜仲籽油冻干脂质体制备的最佳冻干工艺条件为预冻温度 -50°C 、预冻时间12 h、干燥时间36 h、冻干保护剂为甘露醇、甘露醇与大豆卵磷脂质量比8:1。在最佳冻干条件下,杜仲籽油冻干脂质体为白色球状,复溶后包埋率为 $(72.52 \pm 1.95)\%$,粒径为 $(389.67 \pm 4.81)\text{nm}$,PDI为 0.255 ± 0.013 ,*Zeta* 电位为 $(-22.62 \pm 1.66)\text{mV}$,储藏稳定性较好。

关键词:杜仲籽油;冻干脂质体;冻干保护剂;储藏稳定性

中图分类号:TS225.6;TS205 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)03-0068-07

Preparation and characterization of freeze-dried

Eucommia ulmoides seed oil liposome

CHEN Liang^{1,2}, LIU You¹, YAO Maojun^{1,2}, LU Ying², YU Ji^{1,2}, LI Jiaying²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou University, Jishou 416000, Hunan, China;

2. Institute of Food Science, Jishou University, Jishou 416000, Hunan, China)

Abstract: In order to improve the stability, solubility and bioavailability of *Eucommia ulmoides* seed oil, the freeze-dried *Eucommia ulmoides* seed oil liposome was prepared by ethanol injection-ultrasound method and freeze-drying. Using appearance, redispersibility and encapsulation efficiency after rehydration of the samples as indexes, the freeze-drying conditions were optimized. The characteristics of the liposome including microform, particle size, *Zeta* potential and storage stability were determined, and the differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD) were used to analyze the state of freeze-drying protectant. The results showed that the optimal freeze-drying conditions of preparing *Eucommia ulmoides* seed oil liposome were obtained as follows: pre-freezing temperature -50°C , pre-freezing time 12 h, drying time 36 h, with mannitol as freeze-drying protectant, mass ratio of mannitol to soy lecithin 8:1. Under these conditions, the liposome was white spheroid, and the capsulation efficiency after rehydration, particle size, PDI and *Zeta* potential were $(72.52 \pm 1.95)\%$, $(389.67 \pm 4.81)\text{nm}$, 0.255 ± 0.013 and $(-22.62 \pm 1.66)\text{mV}$, respectively. The liposome obtained had good storage stability.

Key words: *Eucommia ulmoides* seed oil; freeze-dried liposome; freeze-drying protectant; storage stability

收稿日期:2020-05-28;修回日期:2020-11-29

基金项目:湖南省科技厅重点研发计划项目(2018NK2045)

作者简介:陈亮(1994),男,硕士研究生,研究方向为天然生物与功能性食品的开发与利用(E-mail)936785438@qq.com。

通信作者:姚茂君,教授(E-mail)yaomaojun@126.com。

杜仲籽油(*Eucommia ulmoides* seed oil)是杜仲籽脱壳处理后,通过低温萃取制得的油脂。杜仲籽油富含饱和和脂肪酸,其中 α -亚麻酸含量高达60%以上^[1]。 α -亚麻酸是必需脂肪酸,不仅能增强免疫力、抗炎、抑制癌症的发生和转移,而且还具有降低血压、调节血脂、抗抑郁、预防心脑血管疾病和延缓衰老等生理功能^[2-3]。然而,杜仲籽油易氧

化生成过氧化脂质,水溶性差,生物半衰期短^[4],影响其在食品、药品领域的应用,而将杜仲籽油包埋在磷脂膜中制成脂质体制剂,可以有效地解决上述问题。然而,普通杜仲油脂质体为液体制剂,性质不稳定,易发生包埋物的泄漏、聚集及磷脂的液态氧化、水解等问题^[5],经真空冷冻干燥后,脂质体的物理、化学、生物性质均保持不变^[6],稳定性提高,可以很好地解决这些问题。本研究制备了杜仲籽油冻干脂质体,考察了预冻时间、预冻温度、干燥时间、冻干保护剂种类及用量对产品包埋率、外观及再分散性的影响,并分析了产品微观形态、粒径、储藏稳定性等理化性质,以期为杜仲籽油的深加工提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

杜仲籽油,湘西和益生物科技有限公司提供;大豆卵磷脂,北京奥博星生物技术有限责任公司; β -谷甾醇(纯度 $\geq 70\%$),上海永瑞生物科技有限公司;吐温-80,成都金山化学试剂有限公司;甘露醇、乳糖、蔗糖,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

JY-ⅡDN 超声波细胞粉碎机,RE-52A 旋转蒸发仪,MDF-C8V1 超低温冰箱,FD-1A-50 真空冷冻干燥机,UV-2450 紫外-可见分光光度计,CF16RX Ⅱ 高速离心机,NanoBrook 90plus 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪,Talos F200x 场发射透射电子显微镜,DSC 200 F3 Maia 差示扫描量热仪,D8 Advance X 射线衍射仪。

1.2 试验方法

1.2.1 杜仲籽油冻干脂质体的制备

采用乙醇注入-超声法制备杜仲油脂质体悬浮液^[7]。称取 10 mg/mL(在磷酸盐缓冲液中的质量浓度,下同)大豆卵磷脂、3 mg/mL β -谷甾醇、2.5 mg/mL 杜仲籽油与 2 mg/mL 吐温-80 溶于 10 mL 无水乙醇中,待其充分溶解后,用无菌注射器将上述混合溶液缓慢注入到 pH 6.9、浓度 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)中,45℃ 搅拌 20 min。然后将样品溶液重新转移到圆底烧瓶中,42℃ 水浴真空旋转蒸发除去乙醇,将所得乳液进行超声处理(180 W,13 min),形成脂质体悬浮液。将所得脂质体悬浮液转移到样品瓶中,加入冻干保护剂,经超低温冰箱预冻一定时间后,放入-48℃ 真空冷冻干燥机中干燥一段时间,即得杜仲籽油冻干脂质体。

1.2.2 杜仲籽油冻干脂质体包埋率的测定

1.2.2.1 杜仲籽油标准曲线的绘制

将杜仲籽油、大豆卵磷脂、 β -谷甾醇分别溶解于石油醚中,以石油醚为空白对照,在 200~400 nm 波长范围扫描,获得最大吸收波长为 302 nm。配制质量浓度梯度为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL 的杜仲籽油石油醚溶液,在 302 nm 处测定不同质量浓度杜仲籽油石油醚溶液的吸光度。以杜仲籽油质量浓度(x)为横坐标,吸光度(y)为纵坐标,得标准曲线方程为 $y = 0.1048x - 0.0034$ ($R^2 = 0.9931$)。

1.2.2.2 包埋率的测定

参照郑景霞^[8]的方法测定杜仲籽油冻干脂质体复溶后包埋率,并稍作修改。将杜仲籽油冻干脂质体复溶于 PBS,取 10 mL 杜仲籽油冻干脂质体复溶液于烧杯中,加入 10 mL 石油醚,混合均匀,4 000 r/min 离心 15 min,取上层石油醚层置于 25 mL 容量瓶,重复提取 2 次后,合并石油醚层,并用石油醚定容至刻度,以石油醚为空白,在 302 nm 处测定样品吸光度(A_0)。选用 10% Triton X-100 甲醇溶液为破乳剂,超声破乳(96 W,10 min),同法测定上述萃取后的脂质体溶液的吸光度(A_1)。将 A_0 和 A_1 分别代入杜仲籽油标准曲线方程,计算游离杜仲籽油含量(C_0)和被包埋的杜仲籽油含量(C_1)。通过下式计算包埋率(Y)。

$$Y = C_1 / (C_0 + C_1) \times 100\% \quad (1)$$

1.2.3 杜仲籽油冻干脂质体微观形态观察

运用负染色法对复溶后杜仲籽油冻干脂质体进行透射电镜观察。用 PBS 将样品复溶,用铜网沾取少量杜仲油脂质体复溶液,待其停留 2 min 后浸入 2% 磷钨酸负染,并用滤纸吸干,在透射电子显微镜下观察杜仲籽油冻干脂质体复溶后的微观形态。

1.2.4 杜仲籽油冻干脂质体粒径及 Zeta 电位的测定

采用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测定杜仲籽油冻干脂质体复溶后的平均粒径、多分散系数(PDI)、Zeta 电位,样品平行测定 3 次。

1.2.5 X 射线衍射(XRD)分析

采用 XRD 分析测试样品。以 Cu-K α 作为辐射源,电压 40 kV,电流 40 mA,扫描速度 4($^\circ$)/min,步长 0.02 $^\circ$,扫描范围 5 $^\circ$ ~60 $^\circ$ ^[9]。

1.2.6 差示扫描量热分析(DSC)

参照 Tang 等^[10]方法,稍作修改。将待测物放置于坩埚中压紧,起始平衡温度为 25℃,升温速率为 10℃/min,N₂ 流量为 20 mL/min,以空白坩埚作参比。

1.2.7 杜仲籽油冻干脂质体储藏稳定性分析

取3批杜仲籽油冻干脂质体分别于4、25、40℃放置5、10、15、20 d, PBS复溶后分别测定其包埋率、粒径及丙二醛(MDA)含量, 研究杜仲籽油冻干脂质体的储藏稳定性。包埋率的测定见1.2.2, 粒径测定见1.2.4。

丙二醛含量的测定, 参照夏书芹等^[11]的方法, 采用硫代巴比妥酸(TBA)法测定。具体为:

TCA-TBA-HCl混合溶液的制备: 取三氯乙酸(TCA)37.5 g、硫代巴比妥酸(TBA)0.925 g、浓HCl 5.25 g溶于去离子水, 80℃水浴并不断搅拌使其充分溶解后定容至250 mL, 过滤备用。

取1.0 mL杜仲籽油冻干脂质体复溶液于10 mL带刻度试管中, 加入TCA-TBA-HCl混合溶液5 mL, 混匀, 沸水浴30 min后, 冷却至室温, 用TCA-TBA-HCl混合溶液定容至刻度, 2 500 r/min离心5 min, 以TCA-TBA-HCl混合溶液为空白, 于535 nm处测定样品溶液的吸光度(A_{535})。按下式计算MDA含量(c)。

$$c = A_{535} \times 4.15 / C \quad (2)$$

式中: 4.15为每毫升样品中丙二醛含量的换算系数; C 为大豆卵磷脂的质量浓度。

2 结果与讨论

2.1 杜仲籽油冻干脂质体制备工艺的优化

2.1.1 预冻温度的考察

以甘露醇为冻干保护剂, 甘露醇与大豆卵磷脂质量比为8:1, 保持预冻时间为12 h, 干燥时间为36 h, 在-20、-50、-80℃3种预冻温度下制得杜仲籽油冻干脂质体, 将脂质体复溶于PBS, 考察预冻温度对杜仲籽油冻干脂质体外观、包埋率和再分散性的影响, 结果如表1所示。

表1 预冻温度对杜仲籽油冻干脂质体的影响

预冻温度/℃	外观	再分散性	包埋率/%
-20	塌陷喷瓶	较差	57.43 ± 2.12
-50	平整饱满	较好	71.53 ± 1.61
-80	平整饱满	较好	69.55 ± 1.45

由表1可知, 预冻温度为-20℃时, 有喷瓶现象, 再分散性较差, 包埋率最低, 为(57.43 ± 2.12)%。这是因为甘露醇玻璃化转变温度为-30℃, -20℃预冻温度高于冻干保护剂的玻璃化转变温度, 导致脂质体在预冻过程中产生大量冰晶, 破坏脂膜, 从而使杜仲籽油脂质体的再分散性较差, 包埋率较低^[12]。预冻温度为-50℃时, 杜仲籽油冻干脂质体外观平整饱满, 包埋率最大, 为(71.53 ± 1.61)%, 再分散性较好。故

选择预冻温度为-50℃。

2.1.2 预冻时间的考察

在预冻温度为-50℃, 改变预冻时间为8、12、16 h, 其他参数及操作同2.1.1, 考察预冻时间对杜仲籽油冻干脂质体的影响, 结果如表2所示。

表2 预冻时间对杜仲籽油冻干脂质体的影响

预冻时间/h	外观	再分散性	包埋率/%
8	塌陷喷瓶	较差	56.18 ± 1.68
12	饱满疏松	较好	69.53 ± 1.39
16	饱满疏松	较好	70.09 ± 0.91

由表2可知: 预冻时间为8 h时, 杜仲籽油脂质体冻结不够, 干燥过程中易发生喷瓶现象, 冻干样品呈塌陷状, 再分散性较差, 包埋率为(56.18 ± 1.68)%; 预冻时间为12 h和16 h时, 杜仲籽油冻干脂质体外形饱满疏松, 再分散性较好, 包埋率分别为(69.53 ± 1.39)%和(70.09 ± 0.91)%, 无明显差别。为节省成本, 选择预冻时间为12 h。

2.1.3 干燥时间的考察

在预冻时间为12 h, 改变干燥时间为24、36、48 h, 其他参数及操作同2.1.2, 考察干燥时间对杜仲籽油冻干脂质体的影响, 结果如表3所示。

表3 干燥时间对杜仲籽油冻干脂质体的影响

干燥时间/h	外观	再分散性	包埋率/%
24	平整塌陷	较差	55.54 ± 2.14
36	平整饱满	较好	70.47 ± 1.76
48	平整饱满	较好	70.68 ± 1.68

由表3可知, 干燥时间为24 h时, 杜仲籽油冻干脂质体外观平整塌陷, 再分散性较差, 包埋率为(55.54 ± 2.14)%, 说明干燥不完全, 当干燥时间达到36 h和48 h时, 杜仲籽油冻干脂质体外观平整饱满, 再分散性较好, 包埋率分别为(70.47 ± 1.76)%和(70.68 ± 1.68)%。这是由于悬浮液中大部分水分以分子形式存在, 易冻结, 小部分水分与磷脂头基及酰基链上的极性基团以氢键形式结合, 不易除去, 为了保证杜仲籽油冻干脂质体彻底脱水, 提高储藏稳定性, 需要足够的干燥时间^[13]。考虑成本, 选择干燥时间为36 h。

2.1.4 冻干保护剂种类及用量的考察

在干燥时间为36 h, 改变冻干保护剂种类, 其他参数及操作同2.1.3, 考察冻干保护剂种类对杜仲籽油冻干脂质体的影响, 结果见表4。

由表4可知, 使用甘露醇与蔗糖为冻干保护剂时, 杜仲籽油脂质体的冻干效果较好, 外观平整饱满, 再分散性较好, 说明甘露醇或蔗糖会形成结晶, 对杜仲籽油冻干脂质体起到支撑作用。

表4 冻干保护剂种类对杜仲籽油冻干脂质体的影响

保护剂	外观	再分散性
无	塌陷褶皱	较差
甘露醇	平整饱满	较好
蔗糖	平整饱满	较好
乳糖	塌陷多孔	一般

改变冻干保护剂用量(冻干保护剂与大豆卵磷脂质量比分别为4:1、8:1、12:1),考察冻干保护剂用量对杜仲籽油冻干脂质体包埋率的影响,结果如图1所示。

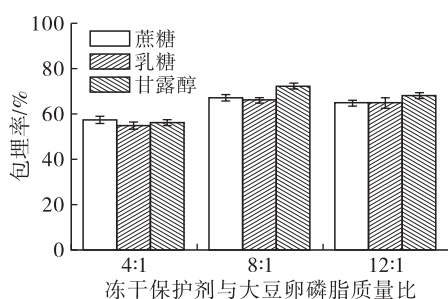


图1 冻干保护剂种类及用量对杜仲籽油冻干脂质体包埋率的影响

由图1可知,冻干保护剂为甘露醇,且当甘露醇与大豆卵磷脂质量比8:1时,杜仲籽油冻干脂质体复溶后的包埋率最高,达 $(72.40 \pm 1.46)\%$,与冻干前包埋率无明显差异。这是因为脂质体在冻干过程中,随着结合水的失去,甘露醇分子的羟基部分与磷脂头部的磷酸部分以氢键形式结合,增大了磷脂基

团的自由体积;同时甘露醇吸附于囊泡之间,形成无定形骨架结构,抑制了脂膜的融合与晶体的形成,保护了磷脂双分子层;此外甘露醇还能抑制冻干脂质体相转变温度的升高,故在复溶过程中无相转变发生,减少了杜仲籽油的泄漏^[14]。

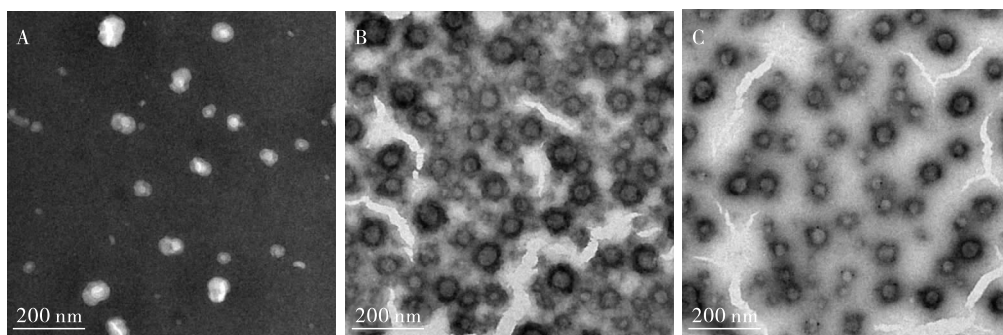
综上所述,冻干保护剂选择甘露醇,甘露醇与大豆卵磷脂质量比选择8:1。

2.1.5 复溶溶剂对杜仲籽油冻干脂质体的影响

按照上述最佳冻干工艺(预冻温度 -50°C ,预冻时间12 h,干燥时间36 h,冻干保护剂为甘露醇,甘露醇与大豆卵磷脂质量比8:1)制备杜仲籽油冻干脂质体,以蒸馏水、生理盐水、PBS为复溶溶剂,结果发现PBS为复溶溶剂时,冻干脂质体再分散性较好,优于生理盐水、蒸馏水。此外PBS为复溶溶剂时,杜仲籽油冻干脂质体粒径为 (389.67 ± 4.81) nm,杜仲籽油包埋率最高,为 $(72.52 \pm 1.95)\%$,比杜仲籽油脂质体悬浮液包埋率 $(75.26 \pm 1.58)\%$ 略低,这是因为当冻干脂质体复溶时,部分水会透过磷脂双分子层,引起油脂的泄漏^[15]。故选择PBS作为杜仲籽油冻干脂质体的复溶溶剂。

2.2 杜仲籽油冻干脂质体的微观形态

杜仲籽油脂质体悬浮液、杜仲籽油冻干脂质体(未加冻干保护剂)、杜仲籽油冻干脂质体(加冻干保护剂)的透射电镜图如图2所示。



注:A. 杜仲籽油脂质体悬浮液;B. 未加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体;C. 加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体。

图2 杜仲籽油脂质体的透射电镜图

由图2可知,杜仲籽油脂质体外观呈现准球形,悬浮液分散均匀,无团聚现象。未加甘露醇的杜仲籽油冻干脂质体复溶后,有一部分黏结和聚集的现象,颗粒大小分布不均一,颗粒形态不规整。而加入甘露醇的杜仲籽油冻干脂质体复溶后,颗粒大小分布较为均一,颗粒较为规整。

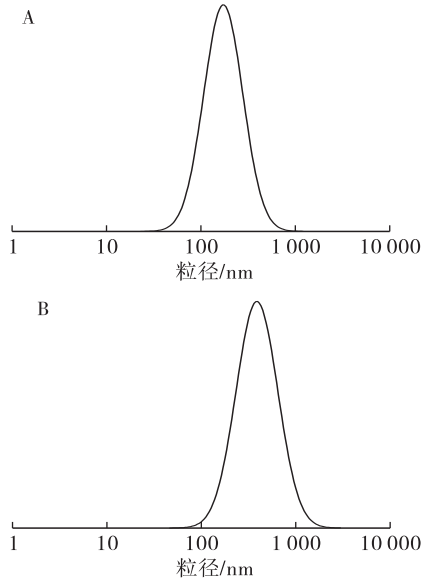
2.3 杜仲籽油冻干脂质体的粒径与Zeta电位

分别取一定量的杜仲籽油脂质体悬浮液、杜仲籽油冻干脂质体复溶液,用纳米粒度及Zeta电位分

析仪测定其粒径和Zeta电位,结果分别如图3、图4所示。

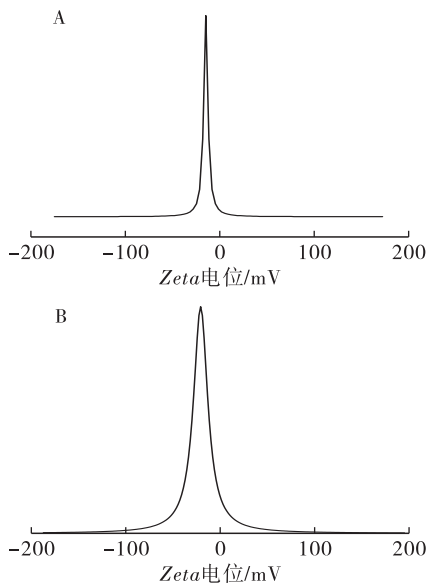
由图3、图4可知:杜仲籽油脂质体悬浮液的粒径、PDI及Zeta电位分别为 (171.85 ± 1.41) nm、 0.219 ± 0.042 、 (-19.3 ± 1.56) mV;经冷冻干燥后,杜仲籽油冻干脂质体复溶后其粒径、PDI及Zeta电位分别为 (389.67 ± 4.81) nm、 0.255 ± 0.013 、 (-22.62 ± 1.66) mV。与冻干前的杜仲籽油脂质体悬浮液相比,杜仲籽油冻干脂质体的粒径明显增加,

Zeta 电位及 PDI 稍有增加。



注:A. 杜仲籽油脂质体悬浮液;B. 杜仲籽油冻干脂质体复溶液。

图3 杜仲籽油脂质体的粒径图



注:A. 杜仲籽油脂质体悬浮液;B. 杜仲籽油冻干脂质体复溶液。

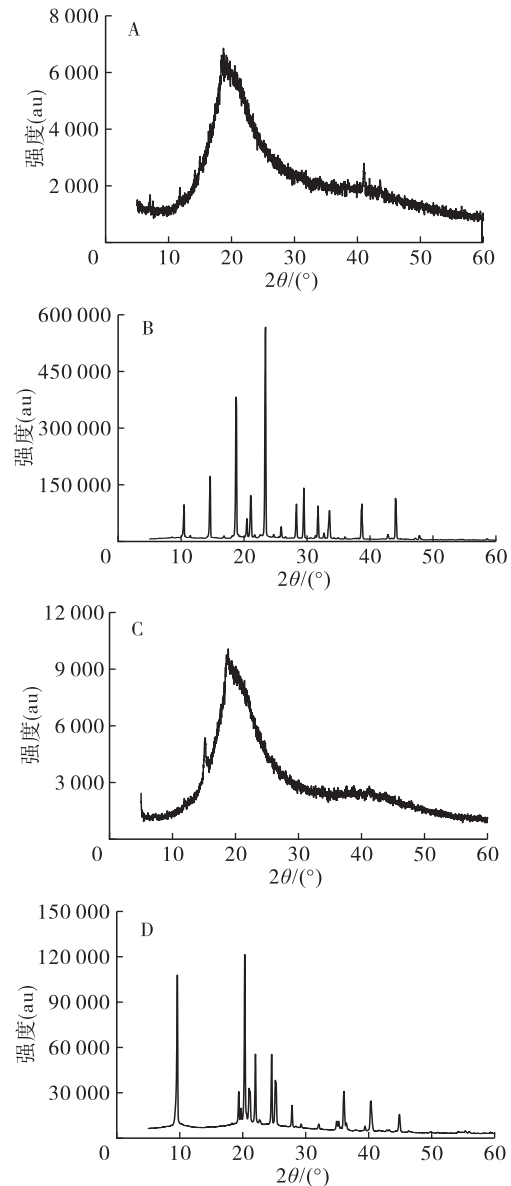
图4 杜仲籽油脂质体的 Zeta 电位图

2.4 XRD 分析

采用 XRD 分析测试样品(反应混合物、甘露醇、未加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体、加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体),结果见图 5。

由图 5 可知,反应混合物(图 5A)与未加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体(图 5C)的 XRD 图谱类似,基本为无定型结构。脂质体自组装是物理形态的转换,一般认为脂质体的磷脂双分子层符合流动镶嵌模型,因而存在一定的晶体特性,并可以加强体系的整体结晶度,故形成脂质体后衍射强度增大。

甘露醇在 2θ 为 10.46° 、 14.62° 、 18.74° 、 21.06° 、 23.40° 、 29.48° 、 31.74° 、 33.56° 、 38.70° 、 44.04° 时有特征衍射峰,在冷冻干燥过程中加甘露醇的杜仲籽油冻干脂质体的晶格衍射特征与其类似,但少了 14.62° 、 31.74° 2 个特征衍射峰,并且衍射强度明显下降,说明在真空冷冻干燥过程中,甘露醇进入杜仲籽油脂质体中与脂膜相结合,产生了新的晶相,能够有效地保护脂质体。



注:A. 反应混合物;B. 甘露醇;C. 未加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体;D. 加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体。

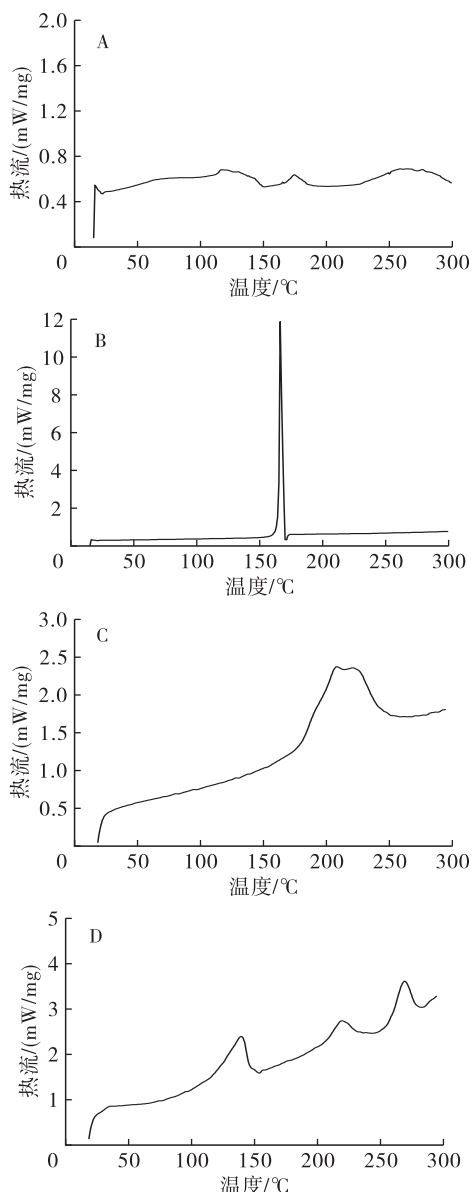
图5 杜仲籽油冻干脂质体的 XRD 图谱

2.5 DSC 分析

将反应混合物、甘露醇、未加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体、加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体进行 DSC 分析,结果见图 6。

由图 6 可知,反应混合物有 3 个吸热峰(图 6A),分别是 117.2°C 的 β -谷甾醇、 174.2°C 的大豆

卵磷脂、264.2℃的杜仲籽油,而形成杜仲籽油脂质体(图6C)后只有2个吸热峰,分别为208.7、221.2℃,说明大豆卵磷脂发生自组装形成脂质体后, β -谷甾醇由结晶状态向非晶状态转变,导致其吸热峰消失,而大豆卵磷脂吸热峰向后移,杜仲籽油吸热峰向前移^[16]。由图6B可知,甘露醇的吸热峰在165.4℃,而加甘露醇的杜仲籽油冻干脂质体分别在139.7、219.4、259.2℃有吸热峰(图6D),说明部分甘露醇以单体形式与脂质载体形成物理混合物,使得脂质载体吸热峰后移^[17]。



注:A.反应混合物;B.甘露醇;C.未加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体;D.加冻干保护剂的杜仲籽油冻干脂质体。

图6 杜仲籽油冻干脂质体DSC分析图谱

2.6 杜仲籽油冻干脂质体的储藏稳定性(见表5)

由表5可知:在4、25℃放置20 d,杜仲籽油冻干脂质体的各项指标均无明显变化;而40℃条件下放置,冻干脂质体的储藏稳定性较差;在相同储藏时间下,随储

藏温度升高,杜仲籽油冻干脂质体粒径增大(除20 d的),MDA含量呈上升趋势,包埋率一直下降。

表5 杜仲籽油冻干脂质体储藏稳定性试验结果

储藏时间/d	储藏温度/℃	粒径/nm	MDA含量/ ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	包埋率/%
0		389.67 ± 4.81	0.014	72.52 ± 1.95
5	4	390.68 ± 4.44	0.014	73.21 ± 1.61
	25	392.59 ± 5.11	0.015	72.13 ± 2.02
	40	458.07 ± 6.67	0.025	68.13 ± 2.94
10	4	390.69 ± 4.45	0.015	72.44 ± 1.68
	25	394.75 ± 5.86	0.017	71.43 ± 2.37
	40	493.86 ± 7.58	0.038	61.18 ± 3.16
15	4	389.58 ± 5.69	0.014	72.34 ± 1.99
	25	398.71 ± 5.23	0.020	71.05 ± 2.19
	40	424.17 ± 6.48	0.053	52.57 ± 3.53
20	4	390.99 ± 6.54	0.015	71.44 ± 2.05
	25	393.26 ± 4.04	0.024	70.29 ± 1.65
	40	305.32 ± 3.75	0.047	40.66 ± 1.42

3 结论

在预冻温度-50℃、预冻时间12 h、干燥时间36 h、冻干保护剂为甘露醇、甘露醇与大豆卵磷脂质量比8:1条件下,所制备的杜仲籽油冻干脂质体可见明显的疏松结构,外形饱满,呈纯白色,复溶后包埋率为(72.52 ± 1.95)%,平均粒径为(389.67 ± 4.81)nm,分布均匀,Zeta电位为(-22.62 ± 1.66) mV,有较好的储藏稳定性,在4、25℃条件下储藏20 d,各项指标均无显著变化。

参考文献:

- [1] 赵德义,徐爱遐,张博勇,等.杜仲籽油与紫苏籽油脂脂肪酸组成的比较研究[J].西北植物学报,2005(1):191-193.
- [2] SANGIOYANNI J P, CHEW E Y. The role of ω -3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina[J]. Prog Retin Eye Res, 2005, 24(1): 87-138.
- [3] 吴俏瑾,杜冰,蔡尤林,等. α -亚麻酸的生理功能及开发研究进展[J].食品工业科技,2016,37(10):386-390.
- [4] BAI C, PENG H, XIONG H, et al. Carboxymethylchitosan-coated proliposomes containing coix seed oil: characterisation, stability and in vitro release evaluation[J]. Food Chem, 2011, 129(4): 1695-1702.
- [5] 王永利,王立华,张江伟,等.大黄酮冻干脂质体的制备工艺研究[J].中草药,2013,44(8):960-964.
- [6] 何昊,苏力,王兴中,等.甘草酸脂质体冷冻干燥工艺研究[J].应用化工,2016,45(8):1473-1476.
- [7] 陈亮,詹桂萍,鲁颖,等.杜仲籽油脂质体的制备及其稳定性研究[J].林产化学与工业,2020,40(1):68-76.

(下转第92页)

- apoptosis in human bladder cancer cells [J]. *Urol Oncol - Semin Ori*, 2012, 30(3):339-345.
- [33] LIN G L, WANG H, DAI J, et al. Conjugated linoleic acid prevents age - induced bone loss in mice by regulating both osteoblastogenesis and adipogenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(3): 813 - 820.
- [34] GARCIA C, DUBY C, CATHELINE D, et al. Synthesis of the suspected *trans*-11, *cis*-13 conjugated linoleic acid isomer in ruminant mammary tissue by FADS3 - catalyzed Δ 13 - desaturation of vaccenic acid [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(1): 783 - 796.
- [35] PARIZA M W, LORETZ L J, STORKSON J M, et al. Mutagens and modulator of mutagenesis in fried ground beef [J]. *Cancer Res*, 1983, 43(5):2444s - 2446s.
- [36] HA Y L, GRIMM N K, PARIZA M W. Anticarcinogens from fried ground beef: heat - altered derivatives of linoleic acid [J]. *Carcinogenesis*, 1987, 8(12): 1881 - 1887.
- [37] YAMASAKI M, NISHIDA E, NOU S, et al. Cytotoxicity of the *trans*10, *cis*12 isomer of conjugated linoleic acid on rat hepatoma and its modulation by other fatty acids, tocopherol, and tocotrienol [J]. *In Vitro Cell Dev - An*, 2005, 41(7):239 - 244.
- [38] ZENG Y H, LIU P, YANG X H, et al. The dietary *c9*, *t11* - conjugated linoleic acid enriched from butter reduces breast cancer progression in vivo [J/OL]. *J Food Biochem*, 2020, 44(4): e13163 [2020 - 06 - 10]. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13163>.
- [39] SŁOWIKOWSKI B K, DRZEWIECKA H, MALESZA M, et al. The influence of conjugated linoleic acid on the expression of peroxisome proliferator - activated receptor - γ and selected apoptotic genes in non - small cell lung cancer [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 466(1/2):65 - 82.
- [40] SHIRAIISHI R, IWAKIRI R, FUJISE T, et al. Conjugated linoleic acid suppresses colon carcinogenesis in azoxymethane - pretreated rats with long - term feeding of diet containing beef tallow [J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45(6):625 - 635.
- [41] SHAHZAD M M K, FELDER M, LUDWIG K, et al. *Trans*10, *cis*12 conjugated linoleic acid inhibits proliferation and migration of ovarian cancer cells by inducing ER stress, autophagy, and modulation of Src [J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(1):e0189524 [2020 - 06 - 10]. <https://doi.org/10.1371/journal.phone.0189524>.
- [42] CESANO A, VISONNEAU S, SCIMECA J A, et al. Opposite effects of linoleic acid and conjugated linoleic acid on human prostatic cancer in SCID mice [J]. *Anticancer Res*, 1998, 18(3A):1429 - 1434.
- [43] LARSSON S C, BERGKVIST L, WOLK A. High - fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort [J]. *Am J Clin Nutr*, 2005, 82(4):894 - 900.

(上接第 73 页)

- [8] 郑景霞. β -胡萝卜素-薏苡仁油复合脂质体的制备及功能特性研究[D]. 南昌:南昌大学, 2018.
- [9] 于桐, 吴超, 季鹏, 等. 黄芩素固体脂质纳米粒冻干粉制备及体外释药性质的研究[J]. *中草药*, 2015, 46(18): 2720 - 2726.
- [10] TANG B, FANG G, GAO Y, et al. Liposomes loading paclitaxel for brain - targeting delivery by intravenous administration: in vitro characterization and in vivo evaluation [J]. *Int J Pharmac*, 2014, 475(1/2): 416 - 427.
- [11] 夏书芹, 许时婴. 辅酶 Q10 纳米脂质体稳定性的研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2006, 32(2): 28 - 32.
- [12] 陈光明. 甘露醇冻干特性的实验研究 [C]//第八届全国冷冻干燥学术交流会议论文集. 北京:中国制冷学会, 2005: 39 - 43.
- [13] 王立华, 王永利, 黄慧婷, 等. 脂质体冻干因素研究概况 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(24): 371 - 374.
- [14] 张玉华, 凌沛学, 籍保平, 等. 糖类在生物活性物质冷冻干燥中的保护作用及其作用机制 [J]. *中国生化药物杂志*, 2006, 27(4): 247 - 249.
- [15] 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.
- [16] 邬瑞光, 周洪伟, 张小华, 等. DSC 和 XRD 法研究丹皮酚和脂质体的相互作用 [J]. *中医药信息*, 2011, 28(5):10 - 13.
- [17] 林菁. 甘露醇修饰食品脂质纳米粒:冻干稳定作用、结构特征与抗氧化活性 [D]. 广东 深圳:深圳大学, 2015.