

包覆染料木黄酮纳米胶囊的动态光散射研究

娄本浊

(陕西理工学院物理与电信工程学院, 陕西 汉中 723003)

摘要 染料木黄酮具有抗菌与抗氧化效应,但在热加工过程中易氧化裂解而降低其生理活性。故本文以微乳化与复合团聚技术制备包覆染料木黄酮的纳米胶囊,并利用动态光散射法分析该纳米胶囊的表面电位与粒径分布状态。由 Zeta 电位分析可知,纳米胶囊表面负电位差随胶体层数的增加而明显增大,这表明刺槐豆胶与阿拉伯胶的添加能有效增多纳米胶囊表面所带负电荷量,有利于纳米胶囊分散,故可避免纳米胶囊的聚集效应而提高其安定性。粒径分布研究发现,包覆木黄酮纳米胶囊的总平均半径约为 43.7 nm,包含分散单颗胶囊与聚集纳囊两个族群,平均半径分别为 5.9 nm(占 72.3%)与 139.9 nm(占 27.7%)。另外,将包覆木黄酮纳米胶囊置于不同 pH 值环境下可得其总平均直径介于 7.4~10.0 nm 之间,虽无明显差异,但在 pH 值为 6.8 与 7.4 时有聚集的大粒征族群出现。

关键词 动态光散射;纳米胶囊;染料木黄酮;Zeta 电位;粒径分布

中图分类号 O631.3 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/LOP50.101703

Research on Genistein-Encapsulated Nanoparticles Based on Dynamic Light Scattering Technique

Lou Benzhuo

(School of Physics and Telecommunication Engineering, Shaanxi University of Technology,
Hanzhong, Shaanxi 723003, China)

Abstract Genistein possesses antibacterial and antioxidant effects. Thermal processing may lead to a decrease of above biological activities of genistein through oxidative degradation. The genistein-encapsulated nanoparticles are prepared by using the techniques of microemulsion and complex coacervation and their surface potential and particle size distribution are analyzed by using dynamic light scattering method. The analysis of Zeta-potential shows that the negative potential difference of surface of nanocapsule significantly increases with the colloid layers increasing and this indicates that the addition of locust bean gum and Arabic gum can increase the negative charges across the nanocapsule surface. The study of particle size distribution suggests that the total average radius of genistein-encapsulated nanoparticles consisted of two particle groups is about 43.7 nm, corresponding to the dispersed single nanocapsule and aggregated nanocapsule, which have the average particle radii of 5.9 nm (72.3%) and 139.9 nm (27.7%). In addition, the total average diameter of nanocapsule is 7.4~10.0 nm at different pH and is not significantly different, but aggregated nanocapsule is found at pH is 6.8 and 7.4.

Key words dynamic light scattering; nanocapsule; genistein; Zeta potential; particle size distribution

OCIS codes 170.1580; 290.5850; 300.6360

1 引言

染料木黄酮类似于雌性激素,具有多种生理功能、较高的机械性及良好的抗菌与抗氧化效果^[1],可有效预防乳腺癌、大肠癌、前列腺癌等病症,并能降低心脏病、骨质疏松及糖尿病的发生率^[2]。然而,染料木黄酮的生理活性易受环境因素的影响,故一般通过胶囊化处理来提高其对外界环境的安定性^[3]。微乳化技术^[4]

收稿日期: 2013-05-07; **收到修改稿日期**: 2013-06-04; **网络出版日期**: 2013-08-07

基金项目: 国家自然科学基金(41105107)、陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2012JM5014)与陕西省教育厅专项科研计划项目(2013JK0617)

作者简介: 娄本浊(1982—),男,硕士,讲师,主要从事光学技术在生化材料领域中的应用研究。

E-mail: benzhuolou@163.com

可有效降低界面张力,故此法制备的液滴比一般乳化液滴的粒径小,理论上微乳化液滴大小范围为 5~100 nm。利用油/水(O/W)微乳化系统包覆生理活性高的染料木黄酮,可增加储存与应用的方便性^[5]。而且利用胶囊化技术可让被包覆物质在特定环境下缓慢释放,甚至延长释放时间,并持续维持合适浓度,具有纳米大小粒径,可提高药物的可利用率与有效性^[6]。动态光散射^[7-8]是一种用于分析纳米与亚微米颗粒在溶液中动态行为的最有效方法,它一般是通过测量散射光强随时间的涨落来获取颗粒的粒径大小及其分布的,常用于胶体化学、高分子及纳米检测等领域^[9],近年来常被用来测量纳米胶囊与超微米胶囊在不同环境因素影响下的安定性^[10]。因此,本文将选用合适包覆物质以油/水(O/W)微乳化技术制备包覆染料木黄酮的纳米胶囊,并利用动态光散射法分析纳米胶囊的表面电位与不同 pH 值环境下的粒径分布,以了解包覆染料木黄酮纳米胶囊的安定性。

2 基本原理

在动态光散射中,散射光强自相关函数强度 $G^{(2)}(\tau)$ 与电场自相关函数 $g^{(1)}(\tau)$ 之间满足 Siegert 关系^[11]:

$$G^{(2)}(\tau) = 1 + \beta g^{(1)}(\tau), \quad (1)$$

式中 β 为相干因子, τ 为延迟时间。对单分散球形颗粒而言,其电场自相关函数为

$$g^{(1)}(\tau) = \exp(-\Gamma\tau), \quad (2)$$

则光强自相关函数可改写为

$$G^{(2)}(\tau) = 1 + \beta \exp(-\Gamma\tau), \quad (3)$$

式中 Γ 为半宽衰减系数,它与平移扩散系数 D 之间满足:

$$\Gamma = Dk^2 = 16D\pi^2 \sin^2(\theta/2)/\lambda^2, \quad (4)$$

式中 k 为散射矢量,且有 $k = 4\pi \sin(\theta/2)/\lambda$ 。利用 Stocks-Einstein 公式^[12]可计算出悬浮颗粒的平均流体力学半径 R ,即:

$$D = k_B T / 6\pi\eta R, \quad (5)$$

式中 k_B 为玻尔兹曼常数, T 为热力学温度, η 为溶剂的黏滞系数;通过(5)式由平移扩散系数 D 就可以反演出流体力学半径 R 。

进行界面电位测量时,特定电压下带电粒子因静电吸引力而朝相反电性的电极移动。由于黏滞力会抑制带电粒子移动,当这两种力达平衡时,带电粒子会以固定速度移动。该速度与电场强度、溶液的介电常数、黏度及界面电位有关,利用动态光散射可测得该移动速度的大小。当电场强度、溶液的介电常数及黏度已知时,即可根据 Henry 方程求得界面电位,即:

$$\mu_E = (2\epsilon\xi/3\eta)f(cR), \quad (6)$$

式中 μ_E 为电泳移动率, ϵ 为溶液的介电常数, ξ 为颗粒的 Zeta 电位, η 为溶液粘度, $f(cR)$ 为分散颗粒的参数。若分散颗粒为球形,且当 cR 很小时,则有:

$$f(cR) = 1 + 1/16 (cR)^2 - 5/48 (cR)^3 - 1/96 (cR)^4 \dots, \quad (7)$$

而当 cR 非常大时,则有:

$$f(cR) = 1.5 - 9/2 (cR) - 75/2 (cR)^2 - 300/ (cR)^3 \dots, \quad (8)$$

式中 R 为球形颗粒的半径, c 为德拜-霍克参数,且 $c = 3.288I^{1/2}$, I 为溶液中的离子强度。

3 实验

将 2~4 g 染料木黄酮溶于 150~200 g 的 Tween 80 中,再加入 300~400 g 碱处理动物胶(type A)与 600~800 g 水,均匀混合后得到水相部分;取 10~20 g 的 Span 80 与 20~30 g 氢化椰子油,均匀混合后得到油相部分。将配好的水相与油相均匀混合后,用超声波振荡器在 45 ℃ 水浴中振荡 10 min,即得 O/W 乳化液,再用高压均质机在 2000 Bar 压力下对该乳化液进行两次均质循环即得 O/W 微乳化液,此时加入 pH=6.0 的 KH_2PO_4 缓冲液均匀混合后,再加入固定比例的 κ -红藻胶、刺槐豆胶与阿拉伯胶进行胶囊化,形成纳

米胶囊后将其冷藏于 4 ℃ 下 24 h 即制备完成。

取 0.1 g 纳米胶囊样品,以质量分数为 1% 的 Tween 80 与 0.005 mol/L 的 KH_2PO_4 缓冲液稀释 100 倍。首先用塑胶吸管将样品分散液注入测量专用的一次性样品池中至 8 分满,注入时要避免产生气泡以免影响到界面电位的测量;然后将样品池放入动态光散射实验系统的样品平台上,分别分析纳米胶囊的粒径分布与 Zeta 电位。所用仪器为英国 Malvern 公司生产的 Nano-ZS 型激光光散射法粒径与界面电位测定仪,测量时温度为 25 ℃,散射角设为 173°。

4 结果与讨论

4.1 Zeta 电位分析

Zeta 电位的意义在于它的数值与胶态分散的稳定性相关。Zeta 电位是对颗粒之间相互排斥或吸引力强度的度量。分子或分散粒子越小,Zeta 电位(正或负)越高,体系越稳定,即溶解或分散可以抵抗聚集;反之,Zeta 电位(正或负)越低,越倾向于凝结或凝聚,即吸引力超过了排斥力,分散被破坏而发生凝结或凝聚。Zeta 电位代表着纳米胶囊表面所带的电荷量。Zeta 电位越接近零表示系统中静电排斥力越小,故发生颗粒聚集的现象越严重,也就是说此时系统的不安定性越高。表 1 给出了以碱处理动物胶、碱处理动物胶/ κ -红藻胶、碱处理动物胶/ κ -红藻胶/刺槐豆胶/阿拉伯胶等不同胶体物质为包覆层时所制备的纳米胶囊在 pH 值为 6.0 与浓度为 0.005 mol/L 的 KH_2PO_4 缓冲液中测得的 Zeta 电位。由该表所示结果可以看出,以碱处理动物胶为胶囊化基质时所得纳米胶囊的 Zeta 电位为 (-0.29 ± 0.01) mV,最接近零。以碱处理动物胶/ κ -红藻胶为胶囊化基质时所得 Zeta 电位大幅降为 (-15.31 ± 0.76) mV,表明纳米胶囊表面负电荷明显增多,这是因为在低于等电位点的 pH 值为 6 环境下带正电的碱处理动物胶与带负电的 κ -红藻胶产生静电相互作用后溶液中仍有多余的负电荷存在。以碱处理动物胶/ κ -红藻胶/刺槐豆胶/阿拉伯胶为胶囊化基质时所得 Zeta 电位又降至 (-18.95 ± 0.92) mV,表示纳米胶囊表面负电荷继续增多,其原因是刺槐豆胶、阿拉伯胶与 κ -红藻胶分子之间的相互作用较强使得包覆层胶体结构更加紧密而令纳米胶囊表面所带负电荷量再度增多。由以上分析可知,刺槐豆胶与阿拉伯胶的添加能有效增多纳米胶囊表面所带的负电荷量,有利于增加纳米胶囊的分散性,故可避免纳米胶囊的聚集效应从而提高其安定性。

表 1 不同胶体包覆层下纳米胶囊的 Zeta 电位

Table 1 Zeta-potential of nanocapsules with different coating gel layers

Coating materials	Zeta-potential /mV
Alkali treatment gelatin	-0.29 ± 0.01
Alkali treatment gelatin/ κ -carrageenan	-15.31 ± 0.76
Alkali treatment gelatin/ κ -carrageenan/Locust bean gum/Arabic gum	-18.95 ± 0.92

4.2 粒径分布分析

由 Zeta 电位分析可知,以碱处理动物胶/ κ -红藻胶/刺槐豆胶/阿拉伯胶为胶囊化基质时所制备的纳米胶囊之间静电排斥力最大。以这四种胶体为基质制备包覆染料木黄酮的纳米胶囊,经动态光散射测量所得纳米胶囊的粒径分布如图 1(a)所示;若以 type A 动物胶取代碱处理动物胶时所得粒径分布如图 1(b)所示。由图 1 可以看出,以碱处理动物胶/ κ -红藻胶/刺槐豆胶/阿拉伯胶为胶囊化基质时纳米胶囊的总平均粒径约为 (43.7 ± 1.3) nm,并且出现了两种粒径族群,分别为 6.9 nm(占 72.3%)与 139.9 nm(占 27.7%);而以 type A 动物胶取代 30%的碱处理动物胶时纳米胶囊的总平均粒径约为 (46.3 ± 1.4) nm,与图 1(a)所示总平均粒径相差不大,但此时出现了三种粒径族群,除 5.9 nm(61.5%)与

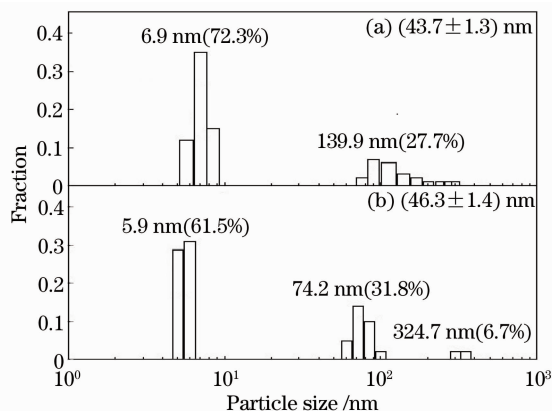


图 1 不同包覆情况下纳米胶囊的粒径分布测量结果
Fig. 1 Particle sizing results of nanocapsules with different cladding gel layers

74.2 nm(31.8%)外,还有较大的粒径族群 324.7 nm(6.7%),由此可发现以 type A 动物胶取代碱处理动物胶时所制备的纳米胶囊可能出现严重的聚集成团现象。

为进一步了解 pH 值对包覆染料木黄酮的纳米胶囊粒径分布的影响,将 KH_2PO_4 缓冲液的 pH 值分别控制在 3.5、6.0、6.8 及 7.4,经动态光散射测量所得纳米胶囊的粒径分布如图 2 所示。由该图可以发现 pH 值为 3.5、6.0、6.8 及 7.4 时所对应纳米胶囊的总平均粒径分别为 (8.8 ± 0.6) 、 (9.9 ± 2.1) 、 (9.5 ± 1.7) 和 (7.4 ± 1.5) nm,可见各种 pH 值环境下纳米胶囊的总平均粒径值相差不大。但单颗纳米胶囊在 pH 值为 3.5、6.0、6.8 及 7.4 环境下所测得的平均直径则分别为 (8.8 ± 0.6) 、 (9.9 ± 2.1) 、 (8.2 ± 2.7) 和 (4.5 ± 1.3) nm,可见 pH 值为 7.4 时所得单颗纳米胶囊的粒径比其它三种情况要明显小很多。此外还可看出,pH 值为 3.5 与 6.0 时所得结果只有一种粒径分布族群,而 pH 值为 6.8 与 7.4 时则出现了两种粒径分布族群。pH 值为 6.8 时对应的两种粒径分布族群分别为 (8.2 ± 2.7) nm(占 97.6%)与 (25.1 ± 4.3) nm(占 3.4%),而 pH 值为 7.4 时对应的两种粒径分布族群分别为 (4.5 ± 1.3) nm(占 65.1%)与 (14.3 ± 0.7) nm(占 34.9%),可见粒径较大的颗粒族群随着 pH 值的增大而增加。这是由于当 pH 值增至大于碱处理动物胶的等电位点(pI 值为 6.5)时,碱处理动物胶表面的负电荷量随着 pH 值的增大而增多,进而减弱了碱处理动物胶与带负电的 κ -红藻胶分子之间的静电相互作用所导致。当仅以碱处理动物胶为胶囊化基质时,由于 pH 值为 6.0 时的 Zeta 电位为 (-0.29 ± 0.01) mV,故纳米胶囊有可能会发生聚集现象;当其 pH 值升至 7.4 时,包覆壁胶体间相互作用瓦解程度变大,因此纳米胶囊的聚集程度随 pH 值的增大而变得更加严重。同时还可发现随着 pH 值增大,未聚集纳米胶囊(即小粒径族群)的瓦解现象越严重,故所得粒径分布范围有缩小的趋势。

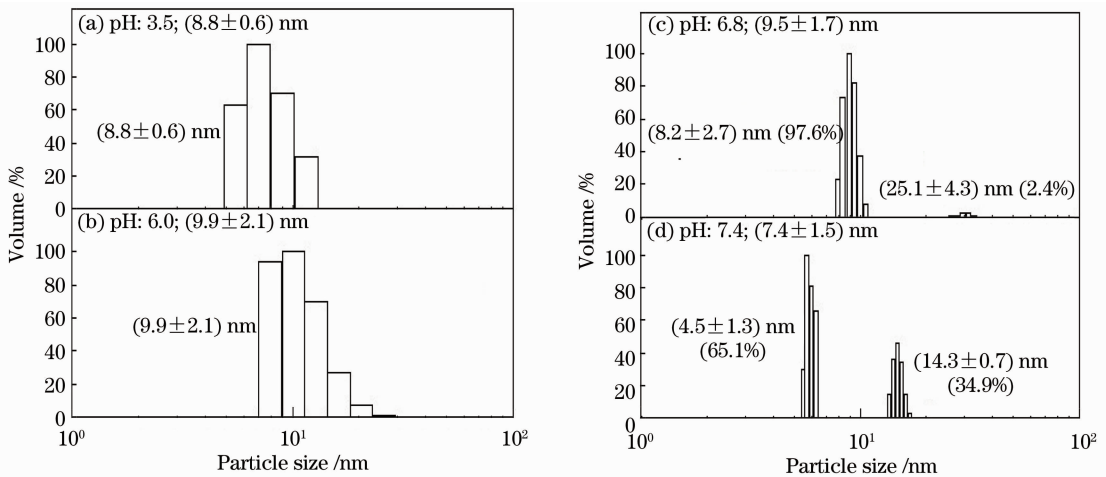


图 2 不同 pH 值环境下纳米胶囊的粒径分布测量结果

Fig. 2 Particle sizing results of nanocapsules with different pH values

5 结 论

本文利用微乳化与复合团聚技术制备包覆染料木黄酮的纳米胶囊,并以动态光散射法分析这种纳米胶囊的表面电位与粒径分布状态。研究表明,纳米胶囊表面负电位差随胶体层数的增加而明显增大,即越多胶体包覆层的纳米胶囊表面所带负电荷也越多。这表明刺槐豆胶与阿拉伯胶的添加能有效增加纳米胶囊表面所带负电荷量,使纳米胶囊具有良好的分散性,因而可避免纳米胶囊的聚集效应,从而提高其安定性。粒径分布研究发现包覆木黄酮纳米胶囊的总平均半径约为 43.7 nm,它包含分散单颗胶囊与聚集胶囊两种粒径族群,其平均半径分别为 6.9 nm(占 72.3%)与 139.9 nm(占 27.7%)。另外,将包覆木黄酮纳米胶囊置于不同 pH 值环境下可得其总平均直径无明显差异,介于 7.4~10.0 nm 之间,而单颗纳米胶囊的平均直径在 pH 值为 3.5 与 7.4 时有显著差异,且在 pH=6.8 与 7.4 时有聚集的大粒径族群出现。

参 考 文 献

- 1 Lin Jinghan, Zhou Shanshan, Zhang Liming. Research progress of genistein antihypertensive mechanism [J]. Medical

- Recapitulate, 2012, 18(19): 3163–3165.
- 林婧涵, 周珊珊, 张黎明. Genistein 抗高血压机制的研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(19): 3163–3165.
- 2 Xu Yinyan, Guang Jing. Research progress on biological function of genistein [J]. Medical Recapitulate, 2010, 16(5): 735–737.
- 许银燕, 管 静. Genistein 的生物学功能研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(5): 735–737.
- 3 Wang Dengwu, Wang Fang, Zhao Xiaopeng. Preparation of nanocapsules containing diphasic core materials by complex coacervation [J]. Fine Chemicals, 2012, 29(7): 632–636.
- 王登武, 王 芳, 赵晓鹏. 复合凝聚法制备双相核材料纳米胶囊[J]. 精细化工, 2012, 29(7): 632–636.
- 4 Chen Lei, Chen Jianmin, Zhou Huidi. Application and development of MET in the synthesis of inorganic nanomaterials [J]. Journal of Materials Science and Engineering, 2004, 22(1): 138–141.
- 陈 磊, 陈建敏, 周慧娣. 微乳化技术在无机纳米材料制备中的应用及发展[J]. 材料科学与工程学报, 2004, 22(1): 138–141.
- 5 Xie Ling, Ding Xiaoping, Yan Xiuhua. Study on microemulsion of vitamin M [J]. GuangZhou Chemical Industry and Technology, 2012, 40(15): 117–119.
- 谢 玲, 丁晓平, 颜秀花. 维生素 M 的微乳化研究[J]. 广州化工, 2012, 40(15): 117–119.
- 6 Gao Han, Sun Junliang, Liu Benguo, *et al.*. Microencapsulation of hawthorn flavonoids [J]. Food Science, 2009, 30(16): 86–88.
- 高 晗, 孙俊良, 刘本国, 等. 山楂黄酮微胶囊化技术研究[J]. 食品科学, 2009, 30(16): 86–88.
- 7 Xia Hui, Chen Zhiquan, Li Fushi, *et al.*. Influence of wall-drag effect on particle sizing in low-coherence dynamic light scattering [J]. Acta Optica Sinica, 2010, 30(8): 2257–2261.
- 夏 辉, 陈智全, 李富石, 等. 拖曳效应对低相干动态光散射测量粒径的影响[J]. 光学学报, 2010, 30(8): 2257–2261.
- 8 Xia Hui, Li Fushi, Chen Zhiquan, *et al.*. Diffusion properties of brownian particles in dense suspensions by low-coherence dynamic light scattering [J]. Acta Optica Sinica, 2010, 30(10): 3059–3063.
- 夏 辉, 李富石, 陈智全, 等. 低相干动态光散射研究浓悬浮液中布朗运动粒子的扩散特性[J]. 光学学报, 2010, 30(10): 3059–3063.
- 9 B N Khlebtsov, N G Khlebtsov. On the measurement of gold nanoparticle sizes by the dynamic light scattering method [J]. Colloid Journal, 2011, 73(1): 118–127.
- 10 A E Aleksenskii, A V Shvidchenko, E D Eidel'man. The applicability of dynamic light scattering to determination of nanoparticle dimensions in sols [J]. Technical Physics Letters, 2012, 38(12): 1049–1052.
- 11 Liu Xiaoyan, Shen Jin, Zhu Xinjun, *et al.*. Angular dependence of dynamic light scattering [J]. Acta Optica Sinica, 2012, 32(6): 259–264.
- 刘晓艳, 申 晋, 朱新军, 等. 动态光散射技术的角度依赖性[J]. 光学学报, 2012, 32(6): 259–264.
- 12 Xia Hui, Huang Shengxiang, Li Jianhong. Measuring the quality of milk using low-coherence dynamic light scattering [J]. Chinese J Lasers, 2008, 35(1): 102–105.
- 夏 辉, 黄生祥, 李宏建. 应用低相干动态光散射检测乳制品品质[J]. 中国激光, 2008, 35(1): 102–105