

利用动态光散射研究包覆材质对纳米茄红素胶囊粒径的影响

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 利用微乳化技术与复合团聚法制备了单层、双层及多层包覆的纳米茄红素胶囊,并以动态光散射法先后测量分析了包覆材质对这些纳米胶囊的粒径大小及其分布的影响。研究表明,以碱处理动物胶单层包覆的纳米茄红素胶囊,其在pH为6.5的磷酸盐缓冲液中会出现比较严重的聚集现象;以碱处理动物胶与 κ -红藻胶双层包覆的纳米茄红素胶囊,其在pH为5.5的磷酸盐缓冲液中也会出聚集现象,但比单层包覆时要小很多;而多层包覆的纳米茄红素胶囊可在pH为5.5的磷酸盐缓冲液中具有良好的分散性,且没有出现聚集现象。

关键词 散射;动态光散射;粒径测量;茄红素;纳米胶囊;包覆材质

中图分类号 TQ645.9 文献标识码 A doi: 10.3788/LOP51.062901

Study on Effect of Coating Materials on Particle Size of Lycopene Nanocapsules by Dynamic Light Scattering

Lou Benzhuo

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

Abstract Single-layer, double-layer and multi-layer coating lycopene nanocapsules are prepared by the micro-emulsion technology and composite reunion method, and the effect of coating materials on particle size and its distribution is analyzed by dynamic light scattering method. The studied results show that the more serious aggregation can be produced in phosphate buffer of pH=6.5 for the single-layer lycopene nanocapsules coated by alkali-treated gelatin. Compared with the single-layer coating lycopene nanocapsules, the weaker aggregation can be observed in phosphate buffer of pH=5.5 for the double-layer lycopene nanocapsules coated by alkali-treated gelatin and κ -carrageenan. However, the multi-layer coating lycopene nanocapsules can be dispersed in stability in phosphate buffer of pH=5.5 and there is no aggregation.

Key words scattering; dynamic light scattering; particle sizing; lycopene; nanocapsules; coating materials

OCIS codes 290.5850; 000.2190; 000.1430

1 引言

茄红素是一种非环状直链排列的碳氢化合物,分子式为 $C_{40}H_{56}$,在自然界中以最安定的全反式存在^[1]。由于长链共轭双键结构使其具有极佳的电子或自由基吸收能力,被视为高活性的抗氧化剂,能够预防前列腺癌、皮肤癌、乳腺癌等症状^[2]。在加工及储存过程中,全反式茄红素往往受到光、热或化学反应的破坏,导致其裂解而丧失活性^[3];为了增加茄红素的热及氧化安定性,常以胶囊化来保护茄红素以避免外在环境的破坏,如以喷雾干燥或冷冻干燥制备茄红素粉末可提高其储存安定性^[4-5]。纳米胶囊是一种粒径介于1~100 nm之间的包覆容器,它是利用多糖或蛋白质作为包覆材质将核心物质包覆于胶囊中^[6]。Vasir等^[7]研究指出纳米颗粒小至40~120 nm之间时能穿透或输出细胞,故可提高所包覆药物的肠道吸收率与生物利用率。纳米胶囊还可将机性能性

收稿日期: 2014-01-05; 收到修改稿日期: 2014-02-07; 网络出版日期: 2014-04-04

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基金(2012JM5014)、陕西省教育厅专项科研项目(2013JK0617)

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

E-mail: benzhuolou@sina.com

成分包覆其中并控制其释放,通过 pH-控制释放使包覆物质在体内适当的地方释放,并维持有效成分浓度以发挥其最大效用^[8]。近年来多醣类广泛用于纳米胶囊制备研究中,并以多种不同比例混合的复合物取代单一种类的使用^[9]。为了制备高安定性且可 pH-控制释放的纳米茄红素胶囊,本文将以微乳化技术和复合团聚法制备不同材质包覆的纳米茄红素胶囊,并利用动态光散射法测量分析包覆材质对纳米胶囊粒径大小及其分布的影响。

2 动态光散射粒径测量原理^[10-11]

在动态光散射中,光强自相关函数 $G^{(2)}(\tau)$ 与电场自相关函数 $g^{(1)}(\tau)$ 之间满足

$$G^{(2)}(\tau) = A \left[1 + \beta |g^{(1)}(\tau)|^2 \right], \quad (1)$$

式中 A 为基线, β 为空间相干因子, τ 为延迟时间。对单分散颗粒系统而言,有

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

式中 D 为平移扩散系数, k 为散射波矢的大小,且有

$$k = 4\pi n \sin(\theta/2)/\lambda, \quad (3)$$

式中 n 为散射介质折射率, θ 为散射角, λ 为入射光波长。对于多分散颗粒系统而言,有

$$g^{(1)}(\tau) = \int_{D_{\min}}^{D_{\max}} P(D) \exp(-k^2 D \tau) dD, \quad (4)$$

式中 $P(D)$ 为颗粒平移扩散系数的概率分布函数。故由实验测得的光强自相关函数 $G^{(2)}(\tau)$, 利用相关反演算法即可求得散射颗粒平移扩散系数的概率密度分布 $P(D)$ 。若令散射颗粒的直径为 d , 则根据斯托克斯-爱因斯坦公式可知扩散系数 D 与粒径大小 d 的关系为^[8]

$$D = k_B T / (3\pi\eta d), \quad (5)$$

式中 k_B 为 Boltzmann 常数, T 为热力学温度, η 为溶剂的黏滞系数, 由 (5) 式即可得粒径大小。

3 实验

3.1 纳米茄红素胶囊的制备

油相部分是先取 4~6 g 茄红素萃取浓缩物溶于 10~20 g 石蜡油中, 再加入 10~30 g 乳化剂 S-20、10~20 g 乳化剂 S-80 及 40~50 g 的氢化椰子油均匀混合所得; 水相部分是在 150~250 g 乳化剂 T-80 中加入 15~20 g 碱处理动物胶(ATG, 类型 A)、5~15 g 动物胶(类型 B) 及 60~80 g 水均匀混合所得。将水相与油相混和均匀后在 50 °C 水浴下超声振荡 10 min 即可形成 O/W 乳液, 再将该乳液于 45 °C 下以高压均质机在 2×10^{-2} Pa 压力下均质两循环, 即可制得单层包覆的纳米胶囊; 在加入 1.0~2.0 g 的 κ -红藻胶混匀后, 加入磷酸盐缓冲溶液调整 pH 为 5.5 即得双层包覆的纳米胶囊; 继续添加 0.5~1.0 g 刺槐豆胶与 1.5~2.0 g 阿拉伯胶后即多层包覆的纳米胶囊。所得纳米茄红素胶囊均需在 45 °C 水浴下初化 3 h 后, 冷藏隔夜于 4 °C 备用。

3.2 动态光散射粒径测量

设计搭建的半经典半光纤式动态光散射系统如图 1 所示。从 30 mW 固态激光器发出的 532 nm 连续光

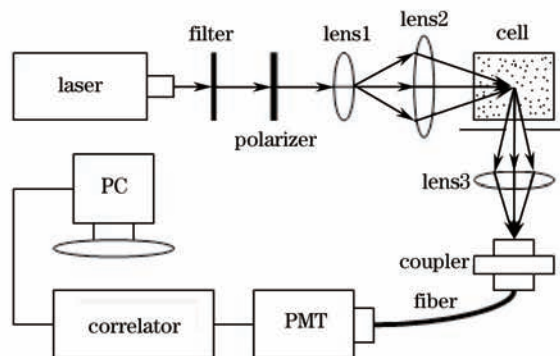


图1 动态光散射粒径测量系统

Fig.1 Dynamic light scattering system for particle sizing

束经滤光片与偏振片后变为垂直偏振光,接着由扩束镜(lens1与lens2)将光束会聚在方形样品池中。悬浮颗粒样品产生的散射光经光阑限束后被短焦透镜(lens3)与耦合器耦合进保偏型单模光纤中,然后传输至光电倍增管(PMT),散射信号经放大甄别处理形成TTL等幅脉冲后输送至BI9000型数字相关器中,数字相关器将TTL信号在单位时间内计数并进行自相关与基线运算,将光强自相关函数送至计算机中反演可得被测颗粒的粒径大小及其分布。将0.1 g的纳米茄红素胶囊分别以pH值为3.5、6.0、6.8、7.4的0.05 mol/L磷酸盐缓冲溶液稀释100倍,混合均匀后用上述动态光散射实验系统测量其粒径大小及其分布。

4 结果与讨论

动物胶是胶原蛋白经部分水解后所得的多肽产物,主要有酸水解的类型A与碱水解的类型B两种形式,其等电点分别为pH为7~9与pH为4.7~5.1。碱处理蛋白质可使之去除酰胺而提高羧基比例,进而提高其亲水性与乳化安定性。以氢氧化钠将类型A动物胶碱处理后使其等电点降至pH为6.5。单独使用碱处理动物胶作为包覆材质来制备纳米茄红素胶囊,由动态光散射测得其粒径大小及其分布如图2所示。由该图可以看出,单层包覆的纳米茄红素胶囊的总平均粒径为 (6.26 ± 0.81) nm;并且出现了两种不同粒径的族群分布,其平均粒径分别为 (2.76 ± 1.37) nm(占64%)与 (10.83 ± 0.29) nm(占36%);其中粒径较小的族群为分散于磷酸盐缓冲溶液中的单层包覆胶囊,而粒径较大的族群则为分散纳米胶囊聚集而成的大颗粒,两族群间的粒径大小差异非常明显。由此可见在碱处理动物胶的等电点pH为6.5时,由于蛋白质与蛋白质之间的相互作用增强,而使碱处理动物胶单层包覆的纳米茄红素胶囊纳间的聚集效应增大。

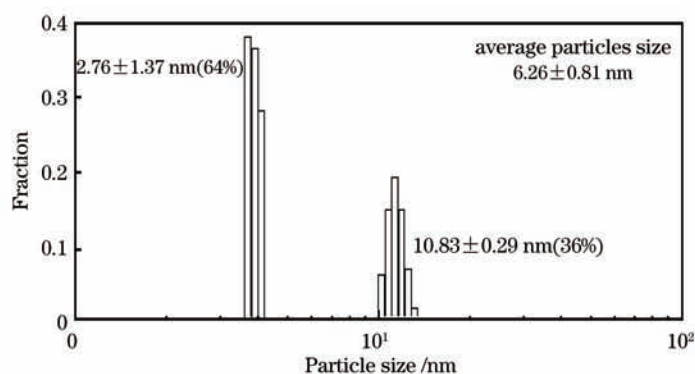


图2 单层包覆的纳米茄红素胶囊的粒径大小及其分布

Fig.2 Particle size and its distribution of single-layer coating lycopene nanocapsules

为了解决单层包覆的纳米胶囊分散性不佳问题,以碱处理动物胶与 κ -红藻胶作为包覆材质来制备纳米茄红素胶囊,这样可以通过碱处理动物胶与 κ -红藻胶之间的静电相互作用形成安定的结合态团聚复合物。将双层包覆的纳米茄红素胶囊分散于pH为5.5的磷酸盐缓冲液中,以动态光散射测得其粒径大小与分布如图3所示。由该图可以发现,双层包覆的纳米茄红素胶囊的总平均粒径为 (9.67 ± 0.32) nm,而且也有两种粒径的族群分布,其平均粒径分别为 (7.49 ± 1.53) nm(占87%)与 (13.88 ± 3.17) nm(占13%);其中粒径较小的族群

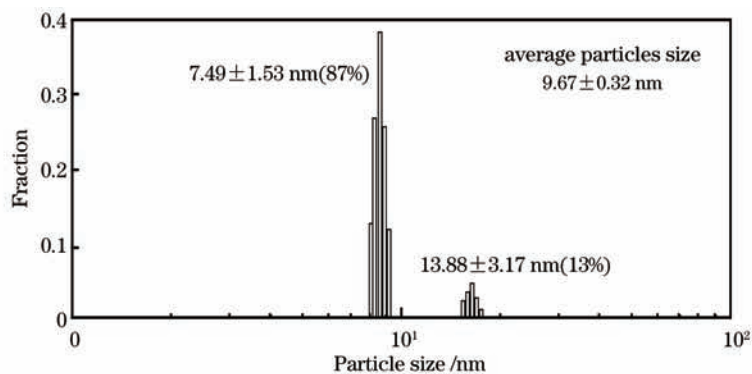


图3 双层包覆的纳米茄红素胶囊的粒径大小及其分布

Fig.3 Particle size and its distribution of double-layer coating lycopene nanocapsules

为分散于磷酸盐缓冲溶液中的双层包覆胶囊,而粒径较大的族群则是分散纳米胶囊聚集形成的大颗粒,且两族群间的粒径大小差异也非常明显。就分散的纳米颗粒而言,双层包覆的纳米茄红素胶囊的粒径要明显大于单层包覆的纳米茄红素胶囊的粒径($p < 0.05$),这是因为碱处理动物胶与 κ -红藻胶形成静电相互作用的团聚复合物而导致小颗粒的粒径增大及聚集而成的大颗粒百分比的下降。Vasir等^[7]研究指出在其等电点以下的pH条件环境中蛋白质带正电荷,这样可与带负电的多糖类产生静电相互作用而形成稳定的复合物。Spagnuolo等^[12]发现在牛乳中 κ -红藻胶不但会吸附在酪蛋白微胶粒的表面,而且会造成数个不同微胶粒表面的 κ -红藻胶有相互交联的情形;这也正是本实验中双层包覆的纳米茄红素胶囊有聚集族群出现的原因。

为了进一步解决双层包覆的纳米胶囊所出现的聚集问题,继续添加刺槐豆胶与阿拉伯胶作为包覆材质来制备多层包覆的纳米茄红素胶囊;刺槐豆胶与 κ -红藻胶所形成的混合胶体具有更好的弹性与胶强度,且不易出现离水现象。多层包覆的纳米茄红素胶囊的动态光散射粒径测量结果如图4所示。由该图可以知,在pH为5.5的磷酸盐缓冲溶液中只有单一粒径的族群,其平均粒径为 (11.34 ± 0.15) nm,这要比单层与双层包覆的纳米茄红素胶囊平均粒径大,同时也表明多层包覆的纳米茄红素胶囊在pH为5.5环境下有良好的分散性且没有聚集现象发生。其原因是 κ -红藻胶可与刺槐豆胶形成较强的分子间相互力而进一步降低空乏凝絮作用;此外,刺槐豆胶的添加也可降低 κ -红藻胶间的自分子交联所造成的纳米胶囊聚集现象。因此,包覆多层的纳米茄红素胶囊具有较佳的分散稳定性。

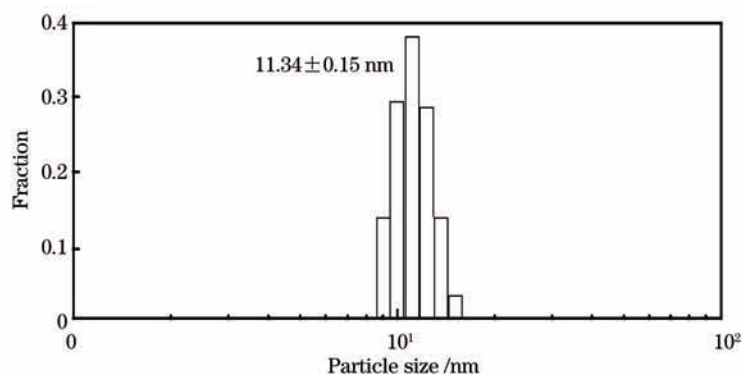


图4 多层包覆的纳米茄红素胶囊的粒径大小及其分布

Fig.4 Particle size and its distribution of multi-layer coating lycopene nanocapsules

5 结 论

茄红素具有较高的生物活性,能够清除体内自由基及预防癌症等;但在加工与储存过程中,由于受光、热或化学反应的破坏而导致其裂解丧失活性。为了增加茄红素的热及氧化安定性,常以胶囊形态来保护茄红素以避免外在环境的破坏以提高其储存安定性。故本文利用微乳化技术与复合团聚法制备了单层、双层及多层包覆的纳米茄红素胶囊,并以动态光散射法测量分析了包覆材质对其粒径大小及其分布的影响。研究结果揭示,在pH为6.5的磷酸盐缓冲液中,由于蛋白质与蛋白质之间的相互作用增强,致使碱处理动物胶单层包覆的纳米茄红素胶囊的聚集效应较大。以碱处理动物胶与 κ -红藻胶双层包覆的纳米胶囊在pH为5.5的磷酸盐缓冲液中也会出现聚集现象,其原因是碱处理动物胶与 κ -红藻胶形成静电相互作用的团聚复合物而导致小颗粒的粒径增大及聚集而成的大颗粒百分比的下降;但相对于单层包胶囊而言其聚集效应要小很多。多层包覆的纳米胶囊在pH为5.5环境下有良好的分散性且没有聚集现象发生,这是因为 κ -红藻胶可与刺槐豆胶形成较强的分子间相互力而进一步降低空乏凝絮作用的结果。

参考文献

- 1 M M Rafi, S Kanakasabai, M D Reyes, *et al.*. Lycopene modulates growth and survival associated genes in prostate cancer [J]. *J Nutritional Biochemistry*, 2013, 24(10): 1724-1734.
- 2 Liu Rui, Zhu Xiqiang. Progress on physiological health functions and application of lycopene [J]. *Food and Drug*, 2013, 15(5): 364-366.

- 刘蕊, 朱希强. 番茄红素的生理保健功能及应用研究进展[J]. 食品与药品, 2013, 15(5): 364-366.
- 3 M T Lee, B H Chen. Stability of lycopene during heating and illumination in a model system [J]. Food Chemistry, 2002, 78(4): 425-432.
- 4 Y T Chiu, C P Chiu, J T Chien, *et al.*. Encapsulation of lycopene extract from tomato pulp waste with gelatin and poly (gamma-glutamic acid) as carrier [J]. J Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(13): 5123-5130.
- 5 B Shu, W L Yu, Y P Zhao, *et al.*. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 76(4): 664-669.
- 6 B Saliou, O Thomas, N Lautram, *et al.*. Development and in vitro evaluation of a novel lipid nanocapsule formulation of etoposide [J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 50(2): 172-180.
- 7 J K Vasir, K Tambwekar, S Garg. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2003, 255(1-2): 13-32.
- 8 Yan Huiqiong, Li Jiacheng, Feng Yuhong, *et al.*. Properties of nanocapsules prepared by modified sodium alginate in the release of cyhalothrin [J]. Fine Chemicals, 2013, 30(9): 975-984.
- 颜慧琼, 李嘉诚, 冯玉红, 等. 改性海藻酸钠纳米胶囊对氯氟氰菊酯的释放性能[J]. 精细化工, 2013, 30(9): 975-984.
- 9 Shi Zhenbin, Tian Huaixiang, Yi Fengping, *et al.*. Preparation of citral nanocapsules and study on its aroma stability [J]. Food and Machinery, 2012, 28(4): 38-41.
- 时臻彬, 田怀香, 易封萍, 等. 柠檬醛纳米胶囊的制备及其稳定性研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(4): 38-41.
- 10 H Xia, Y Y Xiao, H Huang, *et al.*. Particle sizing of colloidal suspensions by low-coherence fiber optic dynamic light scattering [J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2012, 367(1): 527-530.
- 11 Lou Benzhuo. Research on genistein-encapsulated nanoparticles based on dynamic light scattering technique [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2013, 50(10): 101703.
- 娄本浊. 包覆染料木黄酮纳米胶囊的动态光散射研究[J]. 激光与光电子学进展, 2013, 50(10): 101703.
- 12 P A Spagnuolo, D G Dalgleish, H D Goff, *et al.*. Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19(3): 371-377.