

花青素纳米载体的研究进展

冯思敏^{1,2,3}, 王丽玲^{1,3}, 廖杰², 孙培龙^{1,3,*}

(1. 浙江工业大学食品科学与工程学院, 浙江杭州 310014;

2. 浙江华才检测技术有限公司, 浙江绍兴 311800;

3. 中国轻工业食品大分子资源加工技术研究重点实验室(浙江工业大学), 浙江杭州 310014)

摘要:花青素是一种黄酮类的水溶性天然色素,具有抗氧化、抗癌、抗炎、抗菌、降血糖等生理活性。然而,在加工和贮存过程中,不同环境条件下花青素的稳定性较低,容易发生降解。以脂类、多糖和蛋白质为材料制备的纳米载体具有良好的生物相容性、生物降解性和无毒性,能显著提高花青素的稳定性、生物活性和生物利用度。本文综述了近年来载花青素的纳米脂质体、生物大分子纳米载体和纳米乳液的制备技术及其在提高花青素理化稳定性方面的应用,并对花青素纳米载体的未来发展趋势进行了展望。

关键词:花青素, 纳米载体, 理化稳定性, 生物利用度

Progress on Anthocyanidin Nano-carriers

FENG Simin^{1,2,3}, WANG Liling^{1,3}, LIAO Jie², SUN Peilong^{1,3,*}

(1. College of Food Science and Technology, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China;

2. Zhejiang Huacai Testing Technology Company Ltd., Shaoxing 311800, China;

3. China Key Laboratory of Food Macromolecular Resource Processing Technology for Light Industry (Zhejiang University of Technology), Hangzhou 310014, China)

Abstract: Anthocyanidin is a kind of flavonoid water-soluble natural pigment, which has the physiological activities of antioxidation, anticancer, anti-inflammatory, antibacterial, hypoglycemic and so on. However, in the process of processing and storage, the stability of anthocyanidin to different environmental conditions is low, and it is easy to degrade. Nano-carriers made of lipids, polysaccharides and proteins have good biocompatibility, biodegradability and non-toxicity, which can significantly improve the stability, biological activity and bioavailability of anthocyanidin. In this paper, the preparation technology and the applications in improving the physical and chemical stability of anthocyanidin of anthocyanidin-loaded nano-liposomes, biomacromolecule nano-carriers and nano-emulsions in recent years are reviewed, and the developing trend of anthocyanidin nano-carriers in the future is prospected.

Key words: anthocyanidin; nano-carriers; physical and chemical stability; bioavailability

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)04-0330-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020040129

引文格式: 冯思敏, 王丽玲, 廖杰, 等. 花青素纳米载体的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(4): 330-336.

FENG Simin, WANG Liling, LIAO Jie, et al. Progress on Anthocyanidin Nano-carriers[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(4): 330-336. (in Chinese with English abstract) <http://www.spgykj.com>

花青素又称为花色素,是一种水溶性的天然色素,属于植物合成的黄酮类次生代谢产物^[1]。基于许多细胞模型、动物模型和临床试验,花青素已被证明具有抗氧化、抗癌、抗炎、抗菌、降血糖、提高记忆力等功能,被广泛应用于食品、保健品和化妆品行业^[2]。然而,在加工和贮存过程中,不同环境条件(温度、pH、光、水、氧气、金属离子等)下花青素的稳定性较低,容易发生降解,从而导致生物活性和生物利用度降低^[3]。

纳米技术的发展为提高花青素的理化稳定性提供了一种新的思路。纳米技术是研究结构尺寸在1~100 nm范围内的材料的性质和应用的一种技术。其中,纳米包封技术作为纳米技术的一个重要分支,能将生物活性成分包埋于纳米颗粒内部或吸附于纳米颗粒表面,使其免受环境不利因素的影响,从而达到延缓释放、提高生物利用度的目的^[4]。近年来,以脂类、多糖和蛋白质为材料制备的纳米载体具有良好的生物相容性、生物降解性和无毒性,在开发花青

收稿日期: 2020-04-14

作者简介: 冯思敏(1989-),男,博士,副研究员,研究方向:食品科学与工程, E-mail: fengsimin@zjut.edu.cn。

*通信作者: 孙培龙(1964-),男,博士,教授,研究方向:食品化学与资源利用, E-mail: sun_pl@126.com。

基金项目: 浙江省重点研发计划(2020C02046, 2019C02070); 国家自然科学基金(31801536)。

素的功能性食品方面有重要的研究意义^[5]。本文综述了近年来纳米载体在提高花青素稳定性、生物活性和生物利用度方面的研究进展。

1 花青素的结构与性质

如图1所示,花青素的结构特征是具有基本的2-苯基苯并吡喃阳离子结构,其典型的C₆-C₃-C₆结构主链包含一个芳香环(A)、一个芳香环(B)与一个杂环(C),芳香环(B)与杂环(C)通过碳碳键连接^[1]。1号位上的氧离子使得花青素具有高度的活性,并且其稳定性主要取决于pH和温度。自然状态下,花青素常与各种单糖结合形成花色苷,最常见的有葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、木糖和阿拉伯糖,其结合位点常位于3、5、7和4'号位的碳上^[6]。如表1所示,根据羟基和/或甲氧基的位置及数量的不同,自然界中发现了30多种花青素,但其中仅有六种分布广泛——矢车菊色素类(cyanidin, Cy)、飞燕草色素类(delphinidin, Dp)、天竺葵色素类(pelargonidin, Pg)、芍药色素类(peonidin, Pn)、牵牛花色素类(petunidin, Pt)和锦葵色素类(malvidin, Mv)^[1]。花青素的两个最大吸收波长,一个位于465~550 nm的可见光范围内,另一个位于270~280 nm的紫外光范围内^[7]。

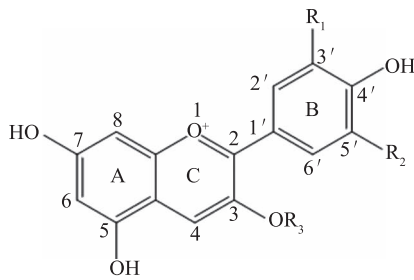


图1 最常见的花青素的化学结构^[1]

Fig.1 Chemical structure of the most common anthocyanins

花青素所具有的八个共轭双键的长发色团以及杂环(C)上带正电荷的氧是酸性条件下花青素颜色浓烈的原因。当羟基数量增加时,花青素呈现出蓝色,而当甲氧基的数量增加时,花青素呈现出红色^[1]。如图2所示,随着pH的变化,花青素的结构也会随之发生变化,从而呈现出不同的颜色。当pH为1~3

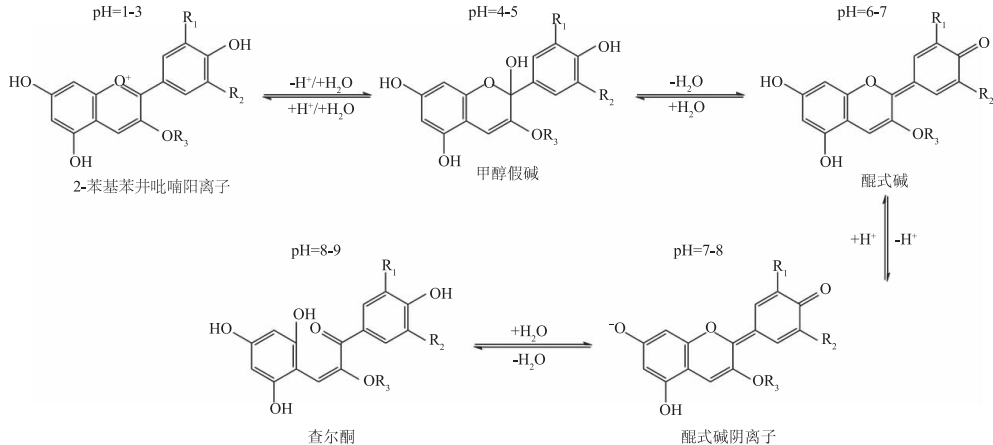


图2 花青素的结构随pH的变化而变化^[2]

Fig.2 Structure of anthocyanidin changes with the change of pH

表1 花青素的结构^[1]

Table 1 Structure of anthocyanidin

花青素	取代基			颜色
	R1	R2	R3	
矢车菊色素类(Cy)	OH	H	H	洋红色
飞燕草色素类(Dp)	OH	OH	H	洋红色
锦葵色素类(Mv)	OCH ₃	OCH ₃	H	红色
天竺葵色素类(Pg)	H	H	H	紫色
芍药色素类(Pn)	OCH ₃	H	H	紫色
牵牛花色素类(Pt)	OH	OCH ₃	H	紫色

时,花青素以2-苯基苯并吡喃阳离子的形式存在,此时花青素呈红色;当pH为4~5时,甲醇假碱为主要存在形式,此时花青素无色;当pH为6~7时,醌式碱为主要存在形式,此时花青素呈蓝色;当pH为7~8时,醌式碱阴离子为主要存在形式,此时花青素呈蓝紫色;当pH为8~9时,查尔酮为主要存在形式,此时花青素呈无色或淡黄色。其中红色的2-苯基苯并吡喃阳离子被认为是最稳定的^[2]。

2 纳米载体研究

花青素具有多种生理活性,但其体内利用度远低于体外起作用的花青素浓度。因此,提高花青素的体内生物利用度以及稳定性也是需要进一步研究的问题^[8]。纳米包封技术可以将花青素包埋于纳米颗粒内部,使其在加工、贮存和消化过程中免受环境不利因素的影响,从而改善其理化性质并增强其保健功效^[9]。目前,国内外学者已针对花青素的纳米载体材料开展了广泛的研究。

2.1 纳米脂质体

脂质体是磷脂分散在水中形成的一个类球状的、包封一部分水相的封闭囊泡,具有类似于生物膜的双分子层结构^[10]。脂质体具有独特的生物相容性、两亲性、无毒性、非免疫原性,作为抗菌剂、维生素、酶和酚类化合物的载体被广泛应用。此外,可以通过在脂质体的表面修饰一些功能性基团(肽、抗体等),实现药物的靶向输送^[2]。目前,纳米脂质体的制备方法有薄膜分散法、注入法、高压均质法、超临界二氧化碳法等。

2.1.1 薄膜分散法 薄膜分散法是制备纳米脂质体的传统方法。将磷脂、胆固醇等类脂质及脂溶性药物溶于有机溶剂中,通过旋转减压蒸发除去溶剂,并使其在瓶壁形成均匀的薄膜。用缓冲液洗膜,再用均质机高速搅匀,即可得到纳米脂质体溶液^[11]。Liang等^[12]采用绿色薄膜分散法制备了矢车菊素-3-O-葡萄糖苷(cyanidin-3-O-glucoside, C3G)脂质体,以提高C3G的稳定性和抗氧化活性。结果表明,C3G脂质体的粒径为 258.9 ± 5.06 nm,包封率为77.5%,且贮存2周内稳定性良好。此外,Liang等^[12-13]还研究比较了C3G脂质体对于人胃粘膜细胞(GES-1细胞)和人结肠癌细胞(Caco-2细胞)的抗增殖效果,发现C3G脂质体能选择性的抑制癌细胞增殖,具有良好的抗癌活性,而对于正在生长的正常细胞没有抑制效果或者抑制效果很小。薄膜分散法制备工艺简单、成本低,但过程中使用的乙醚、氯仿、甲醇等有机溶剂残留会导致纳米脂质体的安全性降低^[14]。

2.1.2 注入法 注入法是指将磷脂和胆固醇等类脂质及脂溶性药物共溶于有机溶剂中,然后用注射器将该溶液缓慢注入磷酸盐缓冲液中,旋转蒸发至有机溶剂完全挥发,即可得到脂质体^[15]。Chi等^[16]采用乙醇注射联合超声技术制备了花青素纳米脂质体,并用响应面法预测了最佳工艺:卵磷脂浓度为10.75 g/L,卵磷脂与胆固醇的比值为5.98,花青素含量为0.15 g。此时,花青素纳米脂质体的粒径为53.80 nm,花青素保留率为82.38%,包封率为91.13%,多分散指数为0.190,zeta电位为-42.69 mV。花青素纳米脂质体不仅可以提高花青素在贮存过程中的稳定性,而且能使花青素在体外消化时具有缓释性和高稳定性。注入法设备简单、安全无毒,但注入速度不易控制,且生产周期较长^[14]。

2.1.3 高压均质法 高压均质法是通过高压均质机使脂质体粒径减小、粒度分布变窄的方法。该法制备的纳米脂质体多为单室脂质体,平均粒径一般在50 nm到数百纳米之间^[17]。黑胡萝卜提取物含有丰富的花青素,可以抑制多不饱和脂肪酸的氧化。Guldiken等^[18]采用高压均质法制备了包含黑胡萝卜提取物的脂质体,并研究了其贮存稳定性。制备的脂质体的粒径均小于50 nm,多分散指数为0.269~0.352,zeta电位为-25~-28 mV,包封率为40%~66%。在室温和黑暗条件下密封贮存21 d后,脂质体的粒径无明显变化,多分散指数略有增加(0.301~0.429),zeta电位值升高(-26~-29 mV),表明贮存后脂质体的物理条件基本稳定。Gibis等^[19]采用高压均质法制备了富含花青素的木槿提取物脂质体,其平均粒径小于46 nm,平均多分散指数为 0.26 ± 0.42 ,包封率为61%~72%。高压均质法在制备过程中存在均质压力过大、均化次数过多的问题,可能会导致药物渗漏和包封率降低,从而影响产品的稳定性^[14]。

2.1.4 超临界二氧化碳法 作为一种新型的纳米脂质体制备技术,超临界二氧化碳法工艺简单、条件温和,可实现工业化、规模化生产,且无溶剂残留、无污染,是制备纳米脂质体的理想选择^[15]。超临界二氧化碳是一种处于超过二氧化碳的临界温度(31.06 ℃)和

临界压力(7.39 MPa)状态下的流体,是一种无毒、惰性、价廉易得而又对环境友好的反应介质,且能够提供类似于液体有机溶剂的溶解能力^[20]。Zhao等^[2]采用单步超临界二氧化碳(supercritical carbon dioxide, SC-CO₂)法制备了花青素脂质体。当压力为300 bar,减压速率为90 bar/min,温度为50 ℃时,得到的花青素脂质体的平均粒径为 160 ± 2 nm,多分散指数为 0.26 ± 0.01 ,包封率为 $52.2\% \pm 2.1\%$,zeta电位为 -44.3 ± 2.9 mV。与薄膜水化法相比,SC-CO₂法制备的花青素脂质体具有更好的颗粒特性,且不含有有机溶剂或表面活性剂。

脂质体作为花青素的纳米载体,不仅可以提高花青素在体内和体外的理化稳定性,而且可以促进肠道对花青素的吸收,提高其生物利用率。但脂质体的稳定性较差,长期贮存易发生聚集、磷脂氧化、药物泄漏等现象,这在很大程度上限制了脂质体作为花青素纳米载体的应用。因此,可将高分子多聚物与载花青素的脂质体结合,得到一种新型的膜修饰脂质体——包覆脂质体^[10]。与传统的脂质体相比,包覆脂质体不仅可以增加脂质体双分子层膜的稳定性,还可以控制脂质体中花青素的释放^[21]。目前已有研究确定了花青素与双层膜之间的结合亲和力和相互作用,未来可以将研究重点放在载花青素的包覆脂质体的感官评定、氧化稳定性以及与其他食品成分的相互作用上。

2.2 生物大分子纳米载体

生物大分子作为生物体内的天然活性成分,具有良好的生物降解性、生物相容性、生物粘附性和无毒性,是制备纳米载体的理想材料^[22]。其中,多糖和蛋白质是研究最广泛的两种生物大分子。多糖因其分子链上大量可反应的官能团而具有较高的可修饰性、溶解性和结合能力,在利用纳米包封技术开发新型功能性食品方面有着广泛的应用^[23]。蛋白质结构上含有多种不同性质的氨基酸残基,可用于负载极性或非极性活性物质,并进行表面功能性修饰^[24]。目前,负载花青素的生物大分子纳米载体的制备方法主要有乳化法、离子凝聚法和自组合法。

2.2.1 乳化法 乳化法是指将生物活性物质与生物大分子制备成单乳化或复乳化的乳液体系,随后选择适当的方法使乳液固化成微球^[25]。Fang等^[26]以聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)和壳聚糖(chitosan, CH)作为壁材,采用乳化凝结法对桑葚渣花青素进行包封。当PEG的分子量为4000,CH与PEG的质量比为1:20,芯材与壁材的质量比为1:3.8时,制备的纳米颗粒是一个规则形状的圆形球体,呈深红色,且包封率高达 $93.7\% \pm 1.02\%$ 。Svanberg等^[27]采用非热乳化法实现了越桔中的极性生物活性物质(花青素)和非极性生物活性物质(越桔籽油)的共包封。当pH为3,乳清分离蛋白的质量比浓度为10.8%,乳清分离蛋白水凝胶中花青素的浓度为72.3 ppm时,制备的微胶囊的平均直径为 21.9 ± 9.2 μm。乳化法中使用的有机溶剂、表面活性剂有一定的细胞毒性,可能会破坏天然生物大分子的生物

相容性,因此这不是一个制备生物大分子纳米载体的理想方法^[28]。

2.2.2 离子交联法 多糖、蛋白质等聚电解质可以与带有相反电荷的小分子通过离子交联形成纳米颗粒^[29]。在酸性溶液中,壳聚糖分子中的氨基质子化形成氨基正离子,可与带负电荷的三聚磷酸钠(sodium tripolyphosphate, TPP)等离子交联剂通过静电作用形成分子间或分子内的交联化合物^[30]。Wang等^[31]比较了以纤维素纳米晶体(cellulose nanocrystal, CNC)和TPP作为离子交联剂的载蓝莓花青素提取物的壳聚糖纳米载体。CH-CNC微胶囊的粒径为64.80 nm,总单体花青素回收率为94.02%,约有27%的花青素被封装在微胶囊内部。CH-TPP微胶囊的粒径为33887.00 nm,总单体花青素回收率为32.54%,约99%的花青素均分布在微胶囊表面。研究表明,CNC不仅可以作为离子交联剂作用于壳聚糖的正电荷氨基,还可以作为壳聚糖基质的填充物,形成更稳定的微胶囊。De等^[32]用木槿提取物、菜籽油和果胶制备了W/O/W乳液,并以氯化钙作为离子交联剂制备了木槿提取物花青素微胶囊。该微胶囊的平均粒径为78~1100 μm,封装率为67.9%~93.9%。离子交联法操作简便、条件可控、细胞毒性低、生物相容性好、封装率高,已广泛应用于医药、农业、环境和食品等领域^[30,33]。

2.2.3 复凝聚法 带相反电荷的生物大分子可以通过静电作用直接形成聚电解质复合物。壳聚糖作为自然界中唯一的天然阳离子多糖,可以与其它阴离子型的天然大分子(硫酸软骨素、硫酸葡聚糖、羧甲基纤维素、海藻酸钠等)复合形成复凝聚纳米颗粒^[28-29]。Tan等^[34]以壳聚糖和硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS)作为壁材,采用复凝聚法制备了稳定花青素的纳米颗粒。当pH为3,总多糖浓度为1.5 mg/mL,CH与CS的质量比为1:1,初始花青素浓度为6.67%时,制备的亲水且带正电荷的聚电解质复合物的粒径为352.8 ± 2.7 nm,多分散指数为0.24 ± 0.02, zeta电位为38.5 ± 0.5 mV,封装率为88.5% ± 1.1%。Ge等^[22]通过静电相互作用制备了壳聚糖盐酸盐(chitosan hydrochloride, CHC)、羧甲基壳聚糖(carboxymethyl chitosan, CMC)和花青素的纳米复合物,以提高花青素的稳定性。当壳聚糖盐酸盐与羧甲基壳聚糖的比值为1.2时,载花青素的CHC/CMC纳米复合物的粒径为178.1 ± 0.78 nm,多分散指数为0.315 ± 0.03, zeta电位为25.6 ± 0.5 mV,封装率为44.0% ± 0.03%。蛋白质是一种弱聚电解质,其表面电荷会随着环境pH的变化而变化,因此,可以通过带相反电荷的两种蛋白质或蛋白质与多糖间的静电作用发生凝聚,从而获得纳米结构的聚集体^[28]。Arroyo-Maya等^[35]用乳清分离蛋白和甜菜果胶制备了生物聚合物纳米颗粒。当花青素浓度为600 μg/mL时,纳米颗粒的粒径为197.8 ± 1.3 nm,多分散指数为0.30 ± 0.03, zeta电位为-21.3 ± 0.2 mV,封装率为52% ± 7%。对蛋白质-多糖混合物进行热处理可以诱导蛋白质纳米颗粒的形成,而pH的调节则能促进多糖对蛋白质纳米颗粒的包覆。生物聚合物纳米颗

粒能在一定程度上提高花青素的热稳定性,但不能有效提高其颜色稳定性和抗氧化活性。Shaddel等^[36]以明胶和阿拉伯胶作为壁材,采用复凝聚法对富含花青素的黑树莓水提取物进行封装,得到的微胶囊的平均粒径为35.34 ± 3.21~80.22 ± 5.21 μm, zeta电位为-8.04 ± 0.86~-22.70 ± 3.02 mV,封装率为29.67% ± 0.66%~38.54% ± 0.08%。Ge等^[37]采用复凝聚法制备了载花青素的壳聚糖盐酸盐/羧甲基壳聚糖/β-乳球蛋白(β-Lactoglobulin, β-Lg)纳米复合物,以提高花青素的体外缓释性、稳定性和生物利用度。当β-Lg浓度为5.16 mg/mL, CMC浓度为1.45 mg/mL, pH为6.09时,纳米复合物的花青素保留率为71.3%,粒径为94.70 ± 0.58 nm,多分散指数为0.238 ± 0.02,封装率为69.4% ± 0.58%。β-Lg与壳聚糖通过疏水作用、静电作用和氢键形成双层壁材结构,使载花青素的壳聚糖/β-Lg纳米复合物具有更好的稳定性和缓释性。复凝聚法的制备过程简单、反应条件温和且不需要引入有机溶剂,适用于一些不能经受剧烈条件变化的活细胞和不稳定物质的微胶囊化^[28,38]。

2.2.4 自组装法 自组装是指基本结构单元在非共价键的作用下自发形成有序结构的一种技术。多糖分子链上有大量可反应的官能团,因此可以通过接枝改性得到具有两亲性的多糖衍生物。在水溶液中,这种两亲性的多糖衍生物能在疏水相互作用下自组装形成纳米颗粒^[30]。由于蛋白质分子中氨基酸残基结构和官能团的差别,使其具有不同的亲疏水性和极性,因此可以通过分子间和分子内的氢键、疏水作用力、范德华力等实现蛋白质分子的自组装^[28]。Ma等^[39]研究发现丝素蛋白冻干粉溶液在pH为6时可自组装形成直径小于20 nm的纳米纤维,该丝素蛋白纳米纤维在与C3G结合后能显著提高C3G的热稳定性。姚惠芳等^[40]在pH为7.4的磷酸盐缓冲液中制备了牛血清白蛋白-花青素自组装纳米颗粒,当花青素与牛血清白蛋白的浓度比值为10时,纳米颗粒的粒径小于15 nm, zeta电位约为-20 mV。在中性条件下,牛血清白蛋白-花青素纳米颗粒能显著提高花青素的氧化稳定性,并且具有很好的缓释作用。因为不需要添加有机溶剂和化学交联剂,所以自组装法具有反应温和、迅速、可逆的优点,是一种绿色、安全、可控的纳米封装技术^[41]。

由于分子内和分子间的氢键作用,大部分多糖都呈紧密的晶态结构,不溶于水和大多数有机溶剂,这限制了其在花青素纳米载体中的应用。因此,需要对这些多糖进行化学改性,制备具有不同理化性质的多糖衍生物,改善其生物活性和生理活性^[42]。带正电荷的壳聚糖盐酸盐和带负电荷的羧甲基壳聚糖是两种不同的水溶性壳聚糖衍生物。CHC和CMC可以形成一种具有缓释作用的聚电解质膜,提高纳米载体在胃肠道中的稳定性,延迟花青素的释放。此外,CHC和CMC对肠道粘膜有粘附力,能延长花青素在肠腔的停留时间,提高花青素的生物利用度^[43]。蛋白质与花青素在溶液中的相互作用已被广泛研究。结果表明,蛋白质与花青素可以通过氨基酸侧链与花青素芳香环之间的多个弱相互作用(主要是

疏水作用)相结合,从而将花青素运输到胃肠道的下方^[44-45]。这是一种提高花青素生物利用度的方法,同时也能保持其对肿瘤细胞的抗增殖活性,说明蛋白质是一种良好的花青素纳米载体。目前蛋白质纳米载体的制备方法容易引起蛋白质的分解与变性,因此,未来需要开发一种绿色、简易、安全的方法来制备蛋白质纳米载体。

2.3 纳米乳液

纳米乳液是由水、油、乳化剂混合形成的动力学稳定和热力学不稳定的胶体分散体系。根据组分和内外相分布不同,纳米乳液可分为用于包封亲油性物质的水包油型(O/W)和用于包封亲水性物质的油包水型(W/O)^[1]。作为一种功能活性成分的载体,纳米乳液可以显著提高芯材的溶解性、稳定性和生物利用度,在食品领域有广阔的应用前景。常见的纳米乳液的制备方法有高能乳化法和低能乳化法。

2.3.1 高能乳化法 高能乳化法利用能产生强烈破坏力的机械装置打破油水相界面,从而在短时间内使大液滴分散破碎和细微化^[46]。Bamba等^[47]用聚甘油蓖麻醇酸酯、乳清分离蛋白和富含花青素的蓝莓渣提取物制备了水包油包水(W₁/O/W₂)双纳米乳液。当W₁/O乳液的均质速度和均质时间分别为10000 r/min和10 min,W₁/O/W₂乳液的均质速度、均质时间和均质压力分别为6000 r/min、15 min和50 MPa时,W₁/O/W₂双纳米乳液的液滴直径为377 ± 11.5 nm,多分散指数小于0.25,zeta电位为-44.53 ± 0.47 mV,包封率为81.2%。Rabelo等^[48]采用两步均质法制备了载巴西莓提取物的油包水(W/O)纳米乳液,其液滴直径在131.5~195.3 nm之间。随着花青素浓度的增加,纳米乳液的液滴直径反而减小,这是因为巴西莓中富含苏氨酸、赖氨酸和甲硫氨酸,这些氨基酸能起到稳定纳米乳液的作用。富含花青素的蔓越莓和富含儿茶素的绿茶都具有很高的抗菌活性,可用于治疗尿路感染。Kaur等^[49]以油酸为油相,以Tween 20为表面活性剂,以甘油为助表面活性剂,制备了纳米乳液。当绿茶儿茶素浓度为11 mg/mL,蔓越莓浓度为30 mg/mL,油相质量分数为5%,乳化剂质量分数为16.4%,超声时间为300 s,振幅为30%时,纳米乳液的液滴直径为58 ± 1 nm,多分散指数为0.2 ± 0.015,zeta电位为-16 ± 0.2 mV。

2.3.2 低能乳化法 低能乳化法主要依赖体系中组分自身的理化性质和体系内部的化学能来完成乳化过程,具有能耗较少、反应条件温和等优点^[50]。Chen等^[51]以棕榈酸异丙酯为油相,以Tween 80/Span 80为表面活性剂,以乙醇为助表面活性剂,制备了载蓝莓花青素的油包水(W/O)微乳液。当亲水亲油平衡值为7.5,表面活性剂与助表面活性剂的质量比为2:1时,微乳液的液滴直径为70 ± 9 nm,花青素含量为425.54 ± 1.58 μg/g。W/O微乳液提高了花青素的热稳定性和光稳定性,且常用的食品添加剂(NaCl、葡萄糖和蔗糖)对微乳液的稳定性无显著影响。为了在胃肠道的恶劣环境下稳定紫甘蓝中的花青素,Ravanfar等^[52]采用微乳稀释法制备了固体脂质纳米

粒,并利用Plackett-Burman和Box-Behnken试验设计优化了配方参数。当脂质相与外水相的体积比为0.1,内水相的体积百分比为10%,总表面活性剂百分比为50%时,得到的固体脂质纳米粒的粒径为455 ± 2 nm,包封率为89.2% ± 0.3%。固体脂质纳米粒提高了花青素在相对较高的pH和高温下的短期稳定性。

与传统乳液相比,纳米乳液能构建光学透明体系,提高花青素的稳定性和生物利用度,在食品的研究和开发中具有深远的意义。然而,纳米乳液的工业化还存在许多问题:用于制备纳米乳液的表面活性剂不适合在食品中大量使用、实验室制备纳米乳液的加工工艺不一定适合工业生产、在食品中应用纳米乳液还存在一些安全隐患等等,这些问题都需要进一步的研究和明确。

3 总结

以脂类、多糖和蛋白质为材料制备的纳米载体在提高花青素的稳定性和生物利用度方面效果显著,但仍存在一些问题。脂质体的稳定性较差,长期贮存易发生聚集、磷脂氧化、药物泄漏等现象;壳聚糖易受到体系酸碱性的干扰,不能在相对酸性的环境下存在;纳米乳液热力学不稳定,会由于奥斯瓦尔德熟化、絮凝、聚集或重力作用而导致粒径粗化。从已发表的相关文献报道来看,纳米载体的制备和应用尚处于起步阶段,今后的研究重点应放在制备粒径较小(小于100 nm)、zeta电位较高(绝对值大于30 mV)、包封率较高(大于80%)的纳米载体上。

参考文献

- [1] Chen B H, Stephen Inbaraj B. Nanoemulsion and nanoliposome based strategies for improving anthocyanin stability and bioavailability[J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): 1052.
- [2] Zhao L S, Temelli F. Preparation of anthocyanin-loaded liposomes using an improved supercritical carbon dioxide method[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2017, 39: 119-128.
- [3] Zhao L S, Temelli F, Chen L Y. Encapsulation of anthocyanin in liposomes using supercritical carbon dioxide: Effects of anthocyanin and sterol concentrations[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 34: 159-167.
- [4] 张杨波, 饶甜甜, 刘仲华. 茶多酚的抗癌作用机制及EGCG纳米载体技术研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(16): 343-348.
- [5] 陈帅, 孙翠霞, 代蕾, 等. 基于生物来源和纳米技术的姜黄素传递载体的研究进展[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(8): 294-302.
- [6] Satué-Gracia M T, Heinonen M, Frankel E N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45(9): 3362-3367.
- [7] 韩海华, 梁名志, 王丽, 等. 花青素的研究进展及其在茶叶中的应用[J]. *茶叶*, 2011, 37(4): 217-220.
- [8] 崔建, 李晓岩. 花青素抗肿瘤作用机制研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(13): 310-315.
- [9] Rehman A, Tong Q Y, Jafari S M, et al. Carotenoid-loaded

- nanocarriers: A comprehensive review [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2020, 275: 102048.
- [10] 王建新, 吕晓玲, 李静, 等. 花青素脂质体的修饰及体外稳定性[J]. *食品科技*, 2018, 43(1): 277-281.
- [11] 王艳, 方建军, 芮昶, 等. 茶多酚纳米脂质体的制备方法及其在食品工业中的应用前景[J]. *广东化工*, 2013, 40(4): 75-76.
- [12] Liang T S, Guan R F, Quan Z, et al. Cyanidin-3-O-glucoside liposome: Preparation via a green method and antioxidant activity in GES-1 cells [J]. *Food Research International*, 2019, 125: 108648.
- [13] Liang T S, Guan R F, Wang Z, et al. Comparison of anticancer activity and antioxidant activity between cyanidin-3-O-glucoside liposomes and cyanidin-3-O-glucoside in Caco-2 cells *in vitro* [J]. *RSC Advances*, 2017, 7(59): 37359-37368.
- [14] 陈琼玲, 刘红芝, 刘丽, 等. 白藜芦醇纳米脂质体研究进展[J]. *核农学报*, 2013, 27(7): 962-967.
- [15] 王东, 张德权, 张柏林. 纳米脂质体的制备技术研究现状[J]. *中国食物与营养*, 2009, 15(5): 34-36.
- [16] Chi J P, Ge J, Yue X Y, et al. Preparation of nanoliposomal carriers to improve the stability of anthocyanins [J]. *LWT*, 2019, 109: 101-107.
- [17] 梁巧余. 牛血清白蛋白纳米脂质体的制备与表面修饰[D]. 天津: 天津大学, 2009.
- [18] Guldiken B, Gibis M, Boyacioglu D, et al. Physical and chemical stability of anthocyanin-rich black carrot extract-loaded liposomes during storage [J]. *Food Research International*, 2018, 108: 491-497.
- [19] Gibis M, Zeeb B, Weiss J. Formation, characterization, and stability of encapsulated *Hibiscus* extract in multilayered liposomes [J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 38: 28-39.
- [20] 王东. 纳米脂质体超临界二氧化碳制备技术研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.
- [21] Laye C, McClements D J, Weiss J. Formation of biopolymer-coated liposomes by electrostatic deposition of chitosan [J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(5): N7-N15.
- [22] Ge J, Yue P X, Chi J P, et al. Formation and stability of anthocyanins-loaded nanocomplexes prepared with chitosan hydrochloride and carboxymethyl chitosan [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 74: 23-31.
- [23] Akbari-Alavijeh S, Shaddel R, Jafari S M. Encapsulation of food bioactives and nutraceuticals by various chitosan-based nanocarriers [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 105: 105774.
- [24] 王志高. 菜籽蛋白基纳米载体的构建及其生物学效价研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- [25] 邓阳全, 邵丽, 杨银, 等. 乳化交联法在载药微球制备中的应用及研究进展[J]. *世界科技研究与发展*, 2009, 31(1): 36-39.
- [26] Fang J L, Luo Y, Yuan K, et al. Preparation and evaluation of an encapsulated anthocyanin complex for enhancing the stability of anthocyanin [J]. *LWT*, 2020, 117: 108543.
- [27] Svanberg L, Wassén S, Gustinelli G, et al. Design of microcapsules with bilberry seed oil, cold-set whey protein hydrogels and anthocyanins: Effect of pH and formulation on structure formation kinetics and resulting microstructure during purification processing and storage [J]. *Food Chemistry*, 2019, 280: 146-153.
- [28] 陈孟婕, 姚晋荣, 邵正中, 等. 基于生物大分子的纳米药物载体[J]. *化学进展*, 2011, 23(1): 202-212.
- [29] 杨彦伟. 壳聚糖-硫酸软骨素聚电解质纳米粒的研究[D]. 开封: 河南大学, 2014.
- [30] 谭啸, 邱婷婷, 李若男, 等. 壳聚糖纳米粒子的制备和在食品抑菌中的研究进展[J/OL]. *食品科学*: 1-10 [2020-11-27]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20200330.1550.079.html>.
- [31] Wang W J, Jung J, Zhao Y Y. Chitosan-cellulose nanocrystal microencapsulation to improve encapsulation efficiency and stability of entrapped fruit anthocyanins [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 157: 1246-1253.
- [32] De Moura S C S R, Berling C L, Germer S P M, et al. Encapsulating anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. calyces by ionic gelation: Pigment stability during storage of microparticles [J]. *Food Chemistry*, 2018, 241: 317-327.
- [33] 孙涛, 刘伟佳, 谢晶, 等. 纳米壳聚糖的制备及其在食品保鲜应用中的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(8): 293-299.
- [34] Tan C, Selig M J, Abbaspourrad A. Anthocyanin stabilization by chitosan-chondroitin sulfate polyelectrolyte complexation integrating catechin co-pigmentation [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 181: 124-131.
- [35] Arroyo-Maya I J, McClements D J. Biopolymer nanoparticles as potential delivery systems for anthocyanins: Fabrication and properties [J]. *Food Research International*, 2015, 69: 1-8.
- [36] Shaddel R, Hesari J, Azadmard-Damirchi S, et al. Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107(Pt B): 1800-1810.
- [37] Ge J, Yue X Y, Wang S, et al. Nanocomplexes composed of chitosan derivatives and β -Lactoglobulin as a carrier for anthocyanins: Preparation, stability and bioavailability *in vitro* [J]. *Food Research International*, 2019, 116: 336-345.
- [38] 董春玲, 冷延国, 缪进康, 等. 明胶与壳聚糖复凝聚过程的研究[J]. *明胶科学与技术*, 1998, 18(4): 178-186.
- [39] Ma Z, Jing P. Stabilization of black rice anthocyanins by self-assembled silk fibroin nanofibrils: Morphology, spectroscopy and thermal protection [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 146: 1030-1039.
- [40] 姚惠芳, 董学艳, 景浩. 牛血清白蛋白与花青素纳米颗粒的特性及稳定性研究[J]. *食品科学*, 2014, 35(1): 1-6.
- [41] 张茵, 孟晨, 常俊, 等. 自组装法制备茶多酚-明胶-壳聚糖纳米粒及其性质表征[J]. *中国药科大学学报*, 2014, 45(2): 178-184.
- [42] 汪源浩, 隋卫平, 王恩峰. 壳聚糖的化学改性及应用研究进展[J]. *济南大学学报(自然科学版)*, 2007, 21(2): 140-144.
- [43] He B, Ge J, Yue P X, et al. Loading of anthocyanins on chitosan nanoparticles influences anthocyanin degradation in gastrointestinal fluids and stability in a beverage [J]. *Food Chemistry*, 2017, 221: 1671-1677.
- [44] Thongkaew C, Gibis M, Hinrichs J, et al. Polyphenol interactions with whey protein isolate and whey protein isolate-

- pectin coacervates[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 41: 103-112.
- [45] Jakobek L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins[J]. Food Chemistry, 2015, 175: 556-567.
- [46] 李季楠, 吴艳, 胡浩, 等. 食品纳米乳液的研究进展[J]. 食品与机械, 2019, 35(2): 217-225.
- [47] Bamba B, Shi J, Tranchant C, et al. Coencapsulation of polyphenols and anthocyanins from blueberry pomace by double emulsion stabilized by whey proteins: Effect of homogenization parameters[J]. Molecules, 2018, 23(10): 2525.
- [48] Rabelo C A S, Taarji N, Khalid N, et al. Formulation and characterization of water-in-oil nanoemulsions loaded with açai berry anthocyanins: Insights of degradation kinetics and stability evaluation of anthocyanins and nanoemulsions[J]. Food Research International, 2018, 106: 542-548.
- [49] Kaur A, Gupta S, Tyagi A, et al. Development of

(上接第 318 页)

- 制研究[J]. 亚太传统医药 2019, 15(12): 196-198.
- [22] 刘广飞, 程才, 王璐, 等. 淫羊藿苷治疗骨质疏松的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015, 26(47): 5185-5187.
- [23] 卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知[Z]. 卫法监发[2002]51号.
- [24] Hoban C, Byard R, Musgrave I. Hypersensitive adverse drug reactions to glucosamine and chondroitin preparations in Australia between 2000 and 2011[J]. Postgrad Med J, 2020, 96(1134): 190-193.
- [25] Sawitzke A D, Shi H, Finco M F, et al. Clinical efficacy and safety of glucosamine, chondroitin sulphate, their combination,

(上接第 329 页)

- 聚糖酶的酶学性质及其在干酪乳杆菌中的表达[J]. 微生物学报, 2015, 55(12): 1576-1583.
- [40] Lin J Z, Zou Y X, Ma C J, et al. Heterologous expression of mannanase and developing a new reporter gene system in *Lactobacillus casei* and *Escherichia coli*[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142886.
- [41] Intaratrakul K, Nitisinprasert S, Nguyen T H, et al. Secretory expression of β -mannanase from *Bacillus circulans* NT6.7 in *Lactobacillus plantarum*[J]. Protein Expression and Purification, 2017, 139: 29-35.
- [42] Sak-Ubol S, Namvijitr P, Pechrichuang P, et al. Secretory production of a beta-mannanase and a chitosanase using a *Lactobacillus plantarum* expression system[J]. Microbial Cell Factories, 2016, 15: 81-93.
- [43] 崔月倩, 王菁蕊, 王艳萍. 乳酸菌基因表达载体及其应用研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(9): 224-229.
- [44] Chen Y, Qi M, Xu M Q, et al. Food-grade gene transformation system constructed in *Lactobacillus plantarum* using a GlnS-encoding selection marker[J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(21): fny254.
- [45] Yin S P, Zhu H B, Shen M Y, et al. Surface display of heterologous β -galactosidase in food-grade recombinant *Lactococcus lactis*[J]. Current Microbiology, 2018, 75(10):

- nanoemulsion based gel loaded with phytoconstituents for the treatment of urinary tract infection and *in vivo* biodistribution studies[J]. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2017, 7(4): 611-619.
- [50] 童柯锋. 纳米乳液的研究进展及其在化妆品中的应用[J]. 日用化学品科学, 2019, 42(8): 48-56.
- [51] Chen J, Ma X H, Yao G L, et al. Microemulsion-based anthocyanin systems: Effect of surfactants, cosurfactants, and its stability[J]. International Journal of Food Properties, 2018, 21(1): 1152-1165.
- [52] Ravanfar R, Tamaddon A M, Niakousari M, et al. Preservation of anthocyanins in solid lipid nanoparticles: Optimization of a microemulsion dilution method using the Plackett-Burman and Box-Behnken designs[J]. Food Chemistry, 2016, 199: 573-580.

- celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: 2-year results from GAIT[J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(8): 1459-1464.
- [26] Dostrovsky N R, Towheed T E, Hudson R W, et al. The effect of glucosamine on glucose metabolism in humans: A systematic review of the literature. Osteoarthritis Cartilage[J]. 2011, 19(4): 375-380.
- [27] 王丹, 贾德贤, 李真真, 等. 淫羊藿的安全性评价与风险控制措施探讨[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(8): 1715-1723.
- [28] 田文杨, 兰姗, 张力, 等. 补骨脂的安全性评价与风险控制措施探讨[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4059-4066.

- 1362-1371.
- [46] Michon C, Langella P, Eijsink V G H, et al. Display of recombinant proteins at the surface of lactic acid bacteria: Strategies and applications[J]. Microbial Cell Factories, 2016, 15: 70.
- [47] Nguyen H M, Mathiesen G, Stelzer E M, et al. Display of a β -mannanase and a chitosanase on the cell surface of *Lactobacillus plantarum* towards the development of whole-cell biocatalysts[J]. Microbial Cell Factories, 2016, 15(1): 169.
- [48] Nguyen H M, Pham M L, Stelzer E M, et al. Constitutive expression and cell-surface display of a bacterial β -mannanase in *Lactobacillus plantarum*[J]. Microbial Cell Factories, 2019, 18(1): 76-88.
- [49] Sharma A N, Kumar S, Tyagi A K. Effects of mannan-oligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* supplementation on growth performance, nutrient utilization and faecal characteristics in Murrah buffalo calves[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2018, 102(3): 679-689.
- [50] Ghosh A, Verma A K, Tingirikari J R, et al. Recovery and purification of oligosaccharides from copra meal by recombinant endo- β -mannanase and deciphering molecular mechanism involved and its role as potent therapeutic agent[J]. Molecular Biotechnology, 2015, 57(2): 111-127.