

参考文献:

- [1] 王镜岩,朱圣庚,徐长法.生物化学[M].高等教育出版社,2002.66-71.
- [2] 邓必阳,张展霞.鲨鱼软骨营养成分分析及其评价[J].营养学报,1999,21:1.
- [3] 肖凯军,李琳,等.鲨鱼软骨粘多糖及其分离、纯化和应用[J].上海水产大学学报,1999,8:2.
- [4] 宁正祥.食品成分分析手册[M].中国轻工业出版社,1997.52-53,72-74.
- [5] 李玲.多糖的分离纯化与分析[J].新疆工学院学报,1996,17:2.
- [6] 倪杭生,李润,等.透明质酸的离子交换层析纯化[J].中国医药工业杂志,2001,32:11.
- [7] 肖凯军,郭祀远,陈健,等.鲨鱼软骨降解动力学及微观结构分析[J].广西大学学报,2000,25:2.
- [8] 江龙法,吴胜军.鲨鱼软骨粘多糖的制备工艺研究[J].淮海工学院学报,2000,(9):4.

壳聚糖—海藻酸钠微胶囊对葡萄多酚控制释放的研究

张 峻, 吉伟之, 陈晓云, 齐 欣
(天津市园艺工程研究所, 天津 300384)

摘 要: 对壳聚糖—海藻酸钠包埋法制备葡萄多酚微胶囊的工艺进行了研究, 考察了微胶囊在模拟胃液和肠液环境中的控制释放效果。结果表明: 壳聚糖浓度对微胶囊的包埋率影响最大; 在 pH6.0 的条件下制备的微胶囊比 pH5.0 时制备的微胶囊对葡萄多酚具有更好的控释效果; 被包埋物分子量越大, 持续释放时间越长。

关键词: 壳聚糖—海藻酸钠微胶囊; 多酚类物质; 控制释放

Mimic Study on Controlled Release of Grape Polyphenols from Chitosan-sodium Alginate Microcapsules

ZHANG Jun, JI Weizhi, CHEN Xiao-yun, QI Xin
(Tianjin Horticultural Engineering Institute, Tianjin 300384, China)

Abstract: The encapsulation of grape polyphenols by chitosan-sodium alginate was studied. Also the controlled release of grape polyphenols from microcapsules was investigated under the conditions of mimic gastric and intestinal juice. The results showed that the loading efficiency of microcapsules was mostly affected by the concentration of chitosan. The microcapsules prepared at pH6.0 exhibited slower release of grape polyphenols than that at pH5.0. The larger the molecular weight of encapsulated substances, the longer the release time from the chitosan-sodium alginate microcapsules.

Key words: chitosan-sodium alginate microcapsules; polyphenols; controlled release

中图分类号: TQ 033

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)05-0102-03

自从 Abraham^[1]发明海藻酸钠—聚赖氨酸—海藻酸钠微胶囊以来, 微胶囊技术广泛用于人工器官研制、细胞及酶的固定化、药物控制释放等生物技术领域。海藻酸钠是存在于褐藻中的天然高分子, 由 β -1,4-D-甘露糖醛的钠盐和 α -1,4-L-古洛糖醛酸的钠盐共聚而成。海

藻酸钠与多价阳离子(如钙离子)接触时会瞬时凝胶化, 因此可利用此特性对蛋白质、细胞等物质进行包埋, 这一制备过程简单, 并且避免了高温、有机溶剂等有害的条件, 利于保持被包埋物的活性。当用于包埋药物时, 可以增加药物稳定性, 降低药物在体内的副作用,

收稿日期: 2003-08-04

基金项目: 天津市自然科学基金重点资助项目(993804011)

作者简介: 张峻(1968-), 男, 副研究员, 研究方向为食品生物技术。

延长药物疗效^[2]。壳聚糖是由甲壳素(N-乙酰- α -氨基-2-脱氧- β -D-葡聚糖, 广泛存在于节肢动物的外壳及低等动物的细胞壁中)经过脱乙酰基化而制成的直链多糖, 其分子链上的伯氨基可与海藻酸钠分子链上的羧基发生静电相互作用, 从而在海藻酸钠微胶囊表面复合一层聚电解质膜, 这样既提高了微胶囊的稳定性和包埋率, 又可调节被包埋物的释放速度^[3]。

葡萄多酚具有抗氧化、抗炎症、抗诱变、抑制肿瘤、延缓衰老等多重功效, 在国外已广泛用于食品、药品及化妆品等领域^[4]。由于现有的口服葡萄多酚制剂多为胶囊制剂, 是将葡萄多酚粉末直接填充于空心胶囊中, 或将葡萄多酚添加其它辅料制成均匀的粉末或颗粒后再填充于空心胶囊中制成。这种葡萄多酚胶囊制剂无缓释效果, 口服后葡萄多酚被迅速释放, 半衰期短, 作用时间短。因此, 为了延长了口服后葡萄多酚的作用时间与效果, 并增加葡萄多酚的稳定性, 本文利用壳聚糖—海藻酸钠包埋法制备了葡萄多酚缓释微胶囊, 并考察了微胶囊在模拟胃液和肠液环境中的控制释放效果。

1 材料与方法

1.1 材料

葡萄籽多酚提取物 1(GSE1): 参照文献^[5]制备, 总酚含量为 80%, 酚类物质中单体为 19%, 低聚原花青素约 45%, 多聚体约 36%; 葡萄籽多酚提取物 2(GSE2): 按文献^[6]制备, 总酚含量为 91%, 酚类物质中单体约 28%, 低聚原花青素占 64%, 多聚体为 8%。

柠檬酸、海藻酸钠 Sigma 公司。

壳聚糖 按文献^[7]制备。

1.2 总酚含量的测定

见文献^[5], 样品总酚含量以 GAE(柠檬酸的相当值)表示。

1.3 微胶囊的制备

取一定浓度的壳聚糖和 CaCl_2 水溶液 100ml 置于烧杯中, 磁力搅拌。另取 20ml 含葡萄多酚的海藻酸钠水溶液(葡萄多酚:海藻酸钠=1:4), 以针头匀速滴入壳聚糖- CaCl_2 溶液中, 滴完后静置 30min, 分离微胶囊, 水洗后真空干燥。

1.4 微胶囊载药量与葡萄多酚包埋率的测定

取一定量已干燥的微胶囊(记为 W_t), 置于 0.2mol/L pH7.4 的磷酸缓冲液中, 待微胶囊充分溶胀并大部分破裂后, 剧烈搅拌, 使微胶囊完全破裂, 滤去不溶物, 检测缓冲液中总酚量(记为 P_t)。

$$\text{微胶囊载药量}(\%) = \frac{P_t}{W_t} \times 100\%$$

$$\text{包埋率}(\%) = \frac{P_t}{\text{葡萄多酚在微胶囊中的理论含量}} \times 100\%$$

其中: 葡萄多酚在微胶囊中的理论含量为制备一定量(W_t)微胶囊所用葡萄多酚的量。

1.5 体外释放实验

1.5.1 在模拟胃液环境中的释放

在 50ml 胃液模拟液^[8](含 0.09mol/L NaCl 的 0.01mol/L HCl 溶液, pH 2.0)中加入一定量已干燥的胶囊, 37℃, 60r/min, 在指定时间取样, 检测总酚含量, 计算释放率。

$$\text{释放率}(\%) = \frac{\text{胃液模拟液中释放的总酚量}}{\text{加入的微胶囊重量} \times \text{载药量}} \times 100\%$$

1.5.2 在模拟肠液环境中的释放

在上述胃液模拟液中处理一定时间的微胶囊, 分离后水洗, 加入 50ml 肠液模拟液^[8](含 76.5mmol/L NaCl 的 29mmol/L pH7.4 的磷酸缓冲液), 37℃, 60r/min, 在指定时间取样, 检测总酚含量, 计算释放率。

$$\text{释放率}(\%) = \frac{\text{肠液模拟液中释放的总酚量}}{\text{加入的微胶囊重量} \times \text{载药量}} \times 100\%$$

+ 已在模拟胃液中的释放量

2 结果与讨论

2.1 包埋试剂浓度的选择

采用 $L_9(3^4)$ 正交实验, 考察了不同浓度的壳聚糖、海藻酸钠和 CaCl_2 对微胶囊的强度及包埋率的影响, 实验方案见表 1。

表 1 确定包埋试剂浓度的实验方案

水平	A 海藻酸钠浓度(%)	B 壳聚糖浓度(%)	C CaCl_2 浓度(%)
1	2	0.25	2
2	3	0.5	5
3	4	1	7

结果表明(数据略), 对微胶囊强度影响最大的是海藻酸钠浓度, 壳聚糖浓度则对微胶囊的包埋率影响最大。综合考虑, 包埋试剂浓度可选为 $A_3B_2C_2$ 或 $A_3B_3C_2$ 。

2.2 pH 值对微胶囊性能的影响

以 4% 海藻酸钠, 1.0% 壳聚糖, 5.0% 的 CaCl_2 , 分别在 pH5.0 与 pH6.0 的条件下对葡萄籽多酚提取物 1(GSE1) 进行包埋, 所得微胶囊性能见表 2。

表 2 pH 值对 GSE1 微胶囊性能的影响

pH	包埋率(%)	在模拟胃液环境中 3h 累积释放率(%)	在模拟肠液环境中 6h 累积释放率(%)
5.0	72	31	57
6.0	65	25	48

注: * 先在模拟胃液环境中处理 1h。

pH 值对壳聚糖、海藻酸钠以及被包埋物质所带电荷、空间构象均有一定影响。壳聚糖的 pK_a 为 6.3, 海藻酸钠中古洛糖醛酸的 pK_a 为 3.5, 甘露糖醛酸的 pK_a 是 4.0, 在 pH5.0 时, 壳聚糖的氨基和海藻酸钠的羧基大部分离子化, 这样两者通过静电作用形成的聚电解质膜较 pH6.0 时致密, 对被包埋物质的扩散限制作用更强, 因此包埋率较高。但在 pH6.0 时海藻酸钠表面的带电量更大, 吸附的壳聚糖也更多, 形成的聚电解质膜较厚。由于在 0.01mol/L 的盐酸溶液中, 微胶囊表面的壳聚糖膜及壳聚糖与海藻酸钠的复合膜遭到一定程度的破坏, 此时对缓释起主要作用的是聚电解质膜的厚度, 因此 pH6.0 时微胶囊对葡萄多酚的控释效果较好。

2.3 体外释放实验

分别以 GSE1 和 GSE2 为被包埋样品, 以 4% 海藻酸钠, 1.0% 壳聚糖, 5.0% $CaCl_2$, 在 pH6.0 的条件下制备葡萄多酚微胶囊, 并在模拟胃液环境中进行体外释放实验, 结果见图 1~3。

由图 1 可见, 在模拟胃液环境中停留 210min 后, GSE1 微胶囊中酚类物质的释放率为 28%, 而 GSE2 微胶囊中约 65% 的酚类物质被释放。说明在酸性条件下, 微胶囊表面的壳聚糖膜及壳聚糖与海藻酸钠的复合膜遭到破坏, 导致内容物释放, 被包埋物分子量越小, 释放率越高。此外, 在酸性溶液中停留时间越长, 微胶囊表面的复合膜破坏越严重, 对被包埋物的扩散限制作用

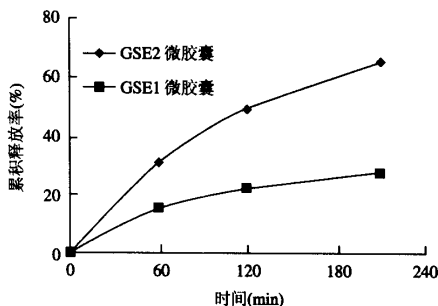


图1 GSE1及GSE2微胶囊在模拟胃液环境中的释放曲线

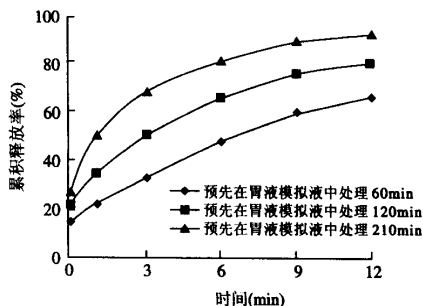


图2 GSE1微胶囊在模拟肠液环境中的释放曲线

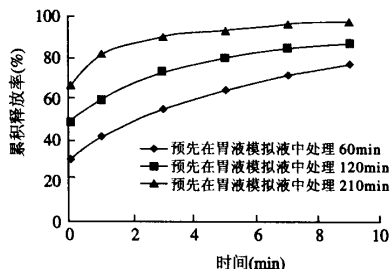


图3 GSE2微胶囊在模拟肠液环境中的释放曲线

越差, 进而导致微胶囊在模拟肠液环境中的控释能力降低(图2,3)。如 GSE2 微胶囊在模拟胃液环境中处理 60min 后, 在模拟肠液环境中 9h 约释放 78%, 而若在模拟胃液环境中处理 210min 后, 在模拟肠液环境中 1h 累积释放率就达 82%。GSE1 微胶囊的缓释效果稍好一些, 在模拟胃液环境中处理 60min 后, 在模拟肠液环境中 12h 才释放 68%。

3 结论

3.1 以 4% 海藻酸钠, 0.5%~1.0% 壳聚糖和 5.0% $CaCl_2$ 制备的微胶囊强度及对葡萄多酚的包埋率均较高。

3.2 在 pH5.0 时制备的微胶囊对葡萄多酚的包埋率比 pH6.0 时制备的微胶囊包埋率高, 但在 pH6.0 的条件下制备的微胶囊对葡萄多酚具有更好的控释效果。

3.3 被包埋物分子量越大, 体外持续释放时间越长。

参考文献:

- [1] Abraham S M, Vieth R F, Burgess D J. Novel technology for the preparation of sterile alginate-poly-L-lysine microcapsules in a bioreactor[J]. Pharm Dev Tech, 1996,(1):63-68.
- [2] Gombotz W R, Wee S F. Protein release from alginate matrices [J]. Adv Drug deliv Rev, 1998,31: 267-258.
- [3] 王勇,解玉冰,马小军.壳聚糖/海藻酸钠生物微胶囊的研究进展[J].生物工程进展,1998,19:13-16.
- [4] Hollman P C H, Katan M B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability[J]. Food Chemical Toxicology, 1999,37:937-942.
- [5] 张峻,吉伟之,齐欣.葡萄籽中多酚类物质的提取及其对油脂的抗氧化作用[J].食品科学,2001,22(10):43-45.
- [6] 张峻,吉伟之,陈晓云,等.吸附层析法制备低聚原花青素[J].天然产物研究与开发,2002,14(4):31-33.
- [7] 齐欣,熊何建,张峻,等.壳聚糖制备及其对鸡蛋保鲜效果的研究[J].食品科学,2000,21(5):64-66.
- [8] Fordtran J, Lockear T W. Ionic constituents and osmolality of gastric and small-intestinal fluids after eating [J]. Am J Digest Disease, 1966,(1): 503-521.