

# 葵花籽粕复合肽螯合钙脂质体制备技术研究

詹 萍, 田 洪 磊, 朱 新 荣

(石河子大学 食品学院, 新疆 石河子 832000)

**摘 要:**以课题组前期制备的葵花籽粕复合肽钙螯合物为研究对象,采用薄膜-超声分散法制备其脂质体,研究了卵磷脂与胆固醇配比、温度、芯材浓度、超声处理时间等因素对脂质体中肽螯合钙包埋率的影响。结果表明:胆固醇与卵磷脂的质量比为 2:5、芯壁质量比为 1:10、吐温 80 与卵磷脂质量比为 1:3、包埋温度 50℃、超声时间为 30 min 时包埋效果最好,包埋率达到 53.4%。该研究成果可为葵花籽粕的综合利用及产品开发开辟新途径。

**关键词:**肽螯合钙;脂质体;包埋率

**中图分类号:**TS 202 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)01-0120-04

葵花籽粕复合肽钙螯合物的制备为实施特色副产物的综合利用及高附加值产品开发提供了借鉴。近年来,生物效价与食用安全性高的肽螯合钙已得到了广大消费者及学者的普遍关注,但是相关研究表明,肽与微量元素的螯合产物在胃酸存在的环境中易分解,结合制备过程由褐变反应而造成的营养与外观品质劣变等问题,嫁接适宜的保护技术进行产品形态及性能改良,势必将推进肽钙螯合物产业化开发进程<sup>[1]</sup>,充实微量元素补充营养剂市场。脂膜载体在提高功效因子吸收率的同时,可改善药物体内缓释性质与速度,为肽钙螯合物开发提供潜在基础<sup>[2-3]</sup>。

该试验以提高水溶性肽钙螯合物的包埋率为目标,筛选脂质体包埋材料,采用超声波-薄膜法制备脂质体,研究影响脂质体中肽螯合钙包埋率的因素。该系列产业化技术的深入集成示范可带动新疆资源加工副产物走深加工、高附加值、可持续发展的道路,利用资源的同时,保护有限的资源,防止该地区葵花籽加工产业陷入粗放型发展的困境。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

葵花籽粕由西域金锄生物工程有限责任公司提供;葵花籽粕复合肽及肽钙螯合物由实验室自制;大豆卵磷脂、胆固醇购自上海蓝季科技发展有限公司;吐温 80 购自天津市光复精细化工研究所;其它试剂均为国产分析纯。

雷磁 pH 计(PHS-3C,上海精科实业有限公司);旋

转蒸发仪(RE 52-98,上海亚荣生化仪器厂);超声波清洗机(KQ-200VDE,昆山市超声仪器有限公司);冷冻离心机(NEOFAGE15R,香港力康生物医疗科技控股集团)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 肽螯合钙脂质体制备方法** 将大豆卵磷脂与胆固醇按照不同比例进行混合,并用适量无水乙醚溶解,在 40℃水浴及氮气冲压的条件下旋转蒸发成膜、去除有机溶剂;将溶有适量肽螯合钙、吐温 80 的磷酸缓冲液(0.03 mol/L, pH 6.5)充分混合搅拌、超声处理后,即得肽螯合钙脂质体混悬液<sup>[4-5]</sup>。

**1.2.2 影响脂质体包埋率的单因素试验** 卵磷脂与胆固醇质量比对包埋率影响:设置芯壁质量比为 1:6,吐温 80 与卵磷脂质量比为 1:5,在温度为 30℃、恒频(45 Hz)超声处理时间为 20 min 的条件下,考察胆固醇与卵磷脂不同质量比 1:10、1:5、2:5、3:5、4:5 对包埋率的影响,将各螯合体系充分混合得肽螯合钙脂质体混悬液,计算包埋率。芯壁质量比对包埋率影响:在胆固醇与卵磷脂质量比为 1:10、吐温 80 与卵磷脂质量比为 1:5、温度为 30℃、恒频(45 Hz)超声处理时间为 20 min 的条件下,考察芯壁质量比(1:20、1:15、1:10、1:8、1:6)对包埋率的影响。吐温 80 添加量对包埋率影响:在芯壁质量比为 1:6、胆固醇与卵磷脂质量比为 1:10、在温度为 30℃、恒频(45 Hz)超声处理时间为 20 min 的条件下,考察吐温 80 与卵磷脂质量比(1:5、1:3、1:1、3:1、5:1)对包埋率的影响。包埋温度对包埋率影响:同样控制芯壁质量比为 1:6,胆固醇与卵磷脂质量比为 1:10,吐温 80 与卵磷脂质量比为 1:5,在恒频(45 Hz)超声处理时间为 20 min 的条件下,考察 20、30、40、50、60℃不同包埋温度对包埋率的影响。超声处理时间对包埋率影响:在芯壁质量比为 1:6、胆固醇

**第一作者简介:**詹萍(1981-),女,博士,讲师,研究方向为食品科学。

**责任作者:**田洪磊(1979-),男,博士,副教授,研究方向为食品科学。

**基金项目:**石河子大学自然科学研究团队创新资助项目(2011ZRKXTD-0804)。

**收稿日期:**2013-09-10

与卵磷脂质量比为 1:10、吐温 80 与卵磷脂质量比为 1:5、螯合温度为 30℃的条件下,考察恒频(45 Hz)超声处理时间(2、30、40、50、60 min)对包埋率的影响。

1.2.3 肽螯合钙脂质体制备参数优化 采用薄膜-超声分散法制备脂质体,分别考察芯壁比、胆固醇与卵磷脂

质量比、吐温 80 添加量、螯合温度与时间对包埋率的影响,为最佳制备参数方案优化提供借鉴;根据单因素试验结果,以肽螯合钙包埋率为主要指标设计  $L_{27}(3^6)$  正交实验,空列设为其中一因素(表 1 中省略),优化肽螯合钙脂质体制备参数。

表 1

正交实验因素与水平

Table 1

Factors and levels of orthogonal experiment

水平 Levels	胆固醇与卵磷脂质量比 Mass ratio of cholesterol to lecithin	芯材与壁材质量比 Mass ratio of core to wall	因素 Factors 吐温与卵磷脂质量比 Mass ratio of tween 80 to soy lecithin	包埋温度 Embedding temperature/℃	超声时间 Ultrasonic time/min
1	1:5	1:15	1:3	30	30
2	2:5	1:10	1:1	40	40
3	3:5	1:8	3:1	50	50

### 1.3 项目测定

各取 5 mL 肽螯合钙脂质体混悬液,其中一份加入足量的曲拉通 X-10(15%)对体系中的脂质包埋体进行脂膜破壁处理,采用 EDTA 滴定法测定总体系中钙离子含量(M);另 1 份离心分离 12 000 r/min 10 min 后得上清液,加入少量曲拉通 X-10(15%)对上清体系中的半包裹脂质体进行破壁处理,同样采用 EDTA 滴定法测定上清体系中钙离子含量(n)。即得肽螯合钙包埋率计算方法,包埋率 $=[(M-n)/M] \times 100\%$  [6-8]。

### 1.4 数据分析

数据采用 Excel 2007 和 SPSS 20.0 软件处理分析,所有数据均进行 3 次平行试验。

## 2 结果与分析

### 2.1 影响肽螯合钙包埋率的单因素试验结果

2.1.1 胆固醇与卵磷脂质量比对包埋率影响 由图 1 可知,适当增加胆固醇比例可以提升肽螯合物的包埋率,胆固醇在磷脂分子空间的不断填充,致使脂质体的刚性与韧性及粒径增强或增大,使粒子待包裹水相的内

部空间扩张,而提高了水溶性肽螯合物的包埋率<sup>[9]</sup>。但是随着胆固醇比例增加,待形成脂膜的亲水性提升而使脂膜的成膜性能降低,因此可能会使肽螯合物的包埋率降低,最佳胆固醇与卵磷脂质量比为 2:5。

2.1.2 芯壁质量比对包埋率影响 由图 2 可知,定量肽螯合物的包埋率随壁材添加量的降低而呈差异性变化趋势,在包埋体系中肽螯合物浓度较低时,虽然壁材或其形成的脂质包埋体比例较高,但是脂质包埋体与肽螯合物接触机会较少,或接触后趋向包埋的应变幅度较小,致使包埋率相对较低;随着芯壁比适宜改变,可包埋程度提高,但是壁材脂膜的承载能力是有限的,若再次减少壁材用量将显著降低其包埋率,最佳芯壁质量比为 1:10。

2.1.3 吐温 80 添加量对包埋率影响 由图 3 可知,可能基于吐温 80 对脂质层的物理吸附作用的存在,随着吐温 80 所占比例的增加,肽螯合物包埋率显著增加,当吐温 80 浓度达到一定限定比例 1:3 后,可能由于其表面活性程度的提升而加剧了脂膜水溶性,再次使包埋率减低。

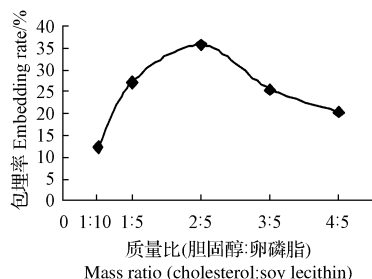


图 1 胆固醇与卵磷脂质量比对包埋率影响

Fig. 1 The effect of mass ratio (cholesterol/soy lecithin) on the embedding rate

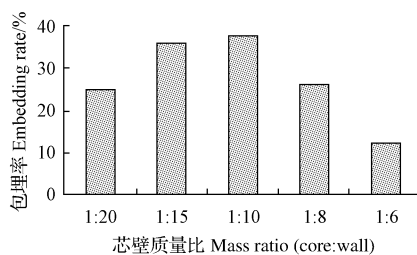


图 2 芯壁质量比对包埋率影响

Fig. 2 The effect of mass ratio (core/wall) on the embedding rate

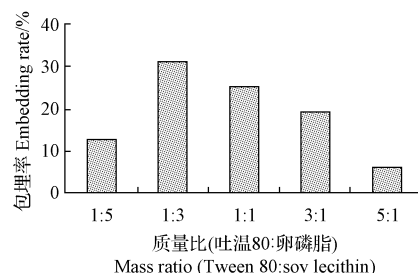


图 3 吐温 80 与卵磷脂质量比对包埋率影响

Fig. 3 The effect of mass ratio (Tween 80/soy lecithin) on the embedding rate

2.1.4 包埋温度对包埋率影响 在相关芯材、壁材比例保持恒定时,包埋温度对肽螯合物包埋率影响较为明显。由图 4 可知,在较低温度范围内,包埋率随温度升高而增加,40℃时包埋率达到最佳状态;而后随温度升

高其包埋率有降低的趋势,可能在温度较高的条件下脂质构象及分子空穴发生改变,而导致水相肽螯合物逆向外流。

2.1.5 超声波处理时间对包埋率影响 由图 5 可知,超

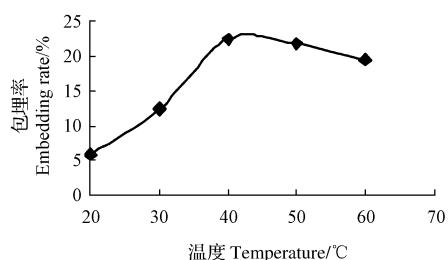


图4 温度对包埋率影响

Fig. 4 The effect of embedding temperature on the embedding rate

声波处理时间对肽钙螯合物的包埋率亦存在影响,随着超声处理时间的延长,可能在超声波分散效力的作用下,芯壁材充分接触包被而使包埋率提高,后期在同一体系基本包被完全或达到脂质体内外相平衡后,包埋率基本保持平稳状态。

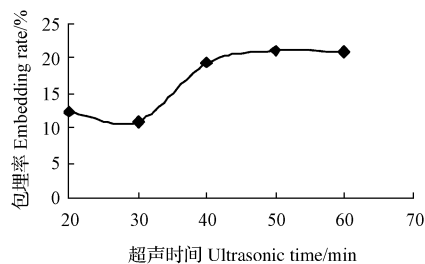


图5 超声时间对包埋率影响

Fig. 5 The effect of ultrasonic time on the embedding rate

## 2.2 肽螯合钙脂质体制备参数优化

由表2可知,吐温80与大豆卵磷脂质量比对包埋率的影响最为显著,其次为胆固醇与卵磷脂质量比,包埋时间对包埋效果影响较小;所得的最优水平组合为 $A_2B_2C_1D_3E_1$ ,即在胆固醇与卵磷脂质量比为2:5、芯壁质量比为1:10、吐温80与大豆卵磷脂质量比为1:3、包埋温度为50℃的条件下恒频(45 Hz)超声处理30 min,可预期达到最佳的包埋效果;根据以上优化参数结果进行组合验证,肽钙螯合物的包埋率达到53.4%,在对脂质体样品制备的基础上,将再次对肽钙螯合物脂质体粒子分布状态及缓释或控释效果进行研究,为依托新疆丰富特色葵花籽粕资源进一步开发安全高效可控的补钙剂提供理论依据。

## 3 结论

葵花籽粕复合肽螯合钙脂质体制备的最佳技术参数组合为:胆固醇与卵磷脂质量比为2:5、芯壁质量比为1:10、吐温80与大豆卵磷脂质量比为1:3、包埋温度为50℃、恒频(45 Hz)超声处理时间为30 min,在此条件下肽钙螯合率达到53.4%。

表2 肽螯合钙脂质体制备条件优化

Table 2 The recipe optimization of peptides chelated calcium liposome

编号 No.	因素 Factor					包埋率 Embedding rate/%
	A 胆固醇与 卵磷脂质量比 Mass ratio of cholesterol to lecithin	B 芯材与 壁材质量比 Mass ratio of core to wall	C 吐温 80 与 卵磷脂质量比 Mass ratio of Tween 80 to soy lecithin	D 包埋 温度 Embedding temperature	E 超声 时间 Ultrasonic time	
1	1	1	1	1	1	32.1
2	1	1	1	1	2	35.7
3	1	1	1	1	3	25.5
4	1	2	2	2	1	31.6
5	1	2	2	2	2	29.3
6	1	2	2	2	3	20.1
7	1	3	3	3	1	15.4
8	1	3	3	3	2	13.2
9	1	3	3	3	3	13.0
10	2	1	2	3	1	47.9
11	2	1	2	3	2	40.1
12	2	1	2	3	3	38.2
13	2	2	3	1	1	23.5
14	2	2	3	1	2	30.4
15	2	2	3	1	3	29.5
16	2	3	1	2	1	35.2
17	2	3	1	2	2	41.7
18	2	3	1	2	3	31.5
19	3	1	3	2	1	19.7
20	3	1	3	2	2	17.4
21	3	1	3	2	3	10.3
22	3	2	1	3	1	45.3
23	3	2	1	3	2	43.6
24	3	2	1	3	3	37.7
25	3	3	2	1	1	15.2
26	3	3	2	1	2	11.4
27	3	3	2	1	3	11.1
$K_1$	215.9	266.9	328.3	214.4	265.9	
$K_2$	318.0	291.0	244.9	236.8	262.8	
$K_3$	211.7	187.7	172.4	294.4	216.9	
$R$	106.3	103.3	155.9	80.0	49.0	

## 参考文献

- [1] 孙莉洁,梁金钟. 响应面法优化大豆肽与钙离子螯合的研究[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(1): 22-27.
- [2] 余学英,王刚,常明泉,等. 正交试验优选白及多糖柔性脂质体制备工艺[J]. 中国药师, 2012, 15(11): 1620-1623.
- [3] 孙欣欣,金楠. 脂质体研究进展[J]. 医学研究杂志, 2009, 38(12): 20-22.
- [4] Ding B M, Zhang X M, Hayat K, et al. Preparation, characterization and the stability of ferrous glycinate nanoliposomes[J]. J Food Eng, 2011, 102: 202-208.
- [5] 丁保森. 甘氨酸螯合铁脂质体制备及其体外释放的研究[J]. 食品科技, 2012, 37(4): 253-256.
- [6] 牛瑞,孙溢,于建生,等. 抗氧化肽纳米柔性脂质体的制备及配方优化研究[J]. 渔业科学进展, 2011, 32(2): 89-95.
- [7] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 92-2003. 食品中钙的测定[S].
- [8] 彭巧云,沈菊泉,魏东芝,等. 正交试验优化胶原多肽螯合钙的制备工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(8): 94-99.
- [9] 范明辉. 红景天苷纳米脂质体的研制[D]. 无锡: 江南大学, 2008.

# 1-甲基环丙烯处理对软枣猕猴桃果实软化的影响

曾照旭, 朴一龙, 金东淳, 冉丽萍, 李 旭

(延边大学 农学院, 吉林 延吉 133000)

**摘 要:**以软枣猕猴桃为试材,研究了果实采后不同浓度 1-甲基环丙烯(1-MCP)处理对软枣猕猴桃果实软化中果实品质、乙烯释放量和呼吸强度、细胞壁成分含量和果胶分解酶活性的影响。结果表明:1-MCP 处理明显延缓了软枣猕猴桃果实可溶性固形物含量的上升、可滴定酸含量的下降和果实硬度下降速度;1-MCP 处理抑制了软枣猕猴桃果实的呼吸峰值,推迟了软枣猕猴桃果实乙烯发生高峰出现的时间;抑制了软枣猕猴桃果实中果胶、纤维素和半纤维素的降解;降低了软枣猕猴桃果实多聚半乳糖醛酸酶活性峰值,而且推迟了软枣猕猴桃果实  $\beta$ -半乳糖醛酸酶活性峰值的出现。可见,1-MCP 处理显著延缓了软枣猕猴桃果实的软化。

**关键词:**1-甲基环丙烯(1-MCP);软枣猕猴桃;品质;细胞壁;果胶酶

**中图分类号:**S 663.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)01-0123-04

软枣猕猴桃(*Actinidia arguta*)属猕猴桃科猕猴桃属多年生落叶藤本浆果类果树,是在中国地域分布最广泛的野生果树之一。主要分布于我国东北、华北、西北及长江流域各省亦有分布,朝鲜、日本、俄罗斯、韩国分布亦较多。

软枣猕猴桃果实营养丰富,香甜可口,而且果实、

根、茎、叶具有止泻、解烦热、利尿、祛痰、健胃等作用,有油脂减肥、抗衰老的功效,对胃癌及癌肿有一定疗效,同时也是城市绿化的理想树种。软枣猕猴桃果实软化迅速是美中不足之处,它极大地限制了软枣猕猴桃的开发利用。

1-甲基环丙烯(1-MCP)是一环丙烯类化合物,是近年来发现的一种新型乙烯受体抑制剂。1-MCP 处理能降低果实呼吸强度、抑制乙烯发生和延迟果实衰老,已在梨<sup>[1]</sup>、苹果<sup>[2-3]</sup>、桃<sup>[4-6]</sup>、柿<sup>[7]</sup>、樱桃<sup>[8]</sup>等果实中得到证实。1-MCP 处理抑制‘布鲁诺’<sup>[9]</sup>、‘秦美’<sup>[10]</sup>、‘金魁’<sup>[11]</sup>、‘亚特’<sup>[12]</sup>猕猴桃果实呼吸和乙烯发生,延缓果实硬度的下降、可溶性固形物含量上升和有机酸含量的下降,有效地缓解了‘金魁’猕猴桃果实果胶的降解,抑制淀粉酶和果胶酶的活性,而且在贮藏后期,果实保持了较高的

**第一作者简介:**曾照旭(1986-),男,吉林桦甸人,硕士研究生,研究方向为果树栽培生理。

**责任作者:**朴一龙(1962-),男,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事果树栽培生理和果实采后生理等教学与科研工作。E-mail: piaoly@ybu.edu.cn.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31060254)。

**收稿日期:**2013-09-09

## Study on the Preparation Technology of Sunflower Meal Peptides Chelated Calcium Liposome

ZHAN Ping, TIAN Hong-lei, ZHU Xin-rong

(College of Food Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000)

**Abstract:** The film-ultrasonic dispersion method was used to prepare the liposome with sunflower meal composite peptide chelated calcium. The effect of the mass ratio between cholesterol and lecithin, the core material concentration, embedding temperature and ultrasonic time on the encapsulation efficiency of peptide chelated calcium liposome were studied. The results showed that the embedding rate of peptide chelated calcium could reach 53.4% under the conditions of mass ratio between cholesterol and lecithin 2:5, the mass ratio (core/wall) 1:10, the mass ratio (Tween 80/soy lecithin) 1:3, temperature 50°C, ultrasonic time 30 min. The results could open up new avenues for the comprehensive utilization and development of sunflower meal.

**Key words:** peptide chelated calcium; liposome; embedding rate