

板栗花精油微乳的制备工艺

邵明辉¹, 王雪青^{1,*}, 宋文军¹, 王素英¹, 赵国强², 付庆伟²

(1.天津市食品与生物技术重点实验室,天津商业大学生物技术与食品科学学院,天津 300134;

2.唐山迁西县板栗产业研究发展中心,河北唐山 064300)

摘要:本文采用转相乳化法制备板栗花精油微乳,并通过伪三元相图考察表面活性剂、助表面活性剂、表面活性剂与助表面活性剂的比值(K_m 值)和油相对微乳形成的影响,以确定板栗花精油微乳的最优制备工艺参数。结果表明:板栗花精油微乳的最佳工艺为:聚乙二醇硬脂酸酯-15(HS-15)为表面活性剂,甘油为助表面活性剂, K_m 为2,油酸乙酯(EO)与精油等比例混合为油相,所制备的板栗花精油微乳为O/W型。以最佳微乳配方中混合表面活性剂与油相比例7:3为试样,微乳的特性参数电导率、黏度和pH分别为180.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 44.7 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ 和6.66。此研究为板栗花精油微乳的制备及应用提供技术支持。

关键词:转相乳化法,板栗花精油,微乳,伪三元相图

Preparation of chestnut flower oil micro-emulsion

SHAO Ming-hui¹, WANG Xue-qing^{1,*}, SONG Wen-jun¹, WANG Su-ying¹, ZHAO Guo-qiang², FU Qing-wei²

(1.Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, College of Biotechnology
and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China;

2.Qianxi Chestnut Industry Research and Development Center, Tangshan 064300, China)

Abstract: The micro-emulsion of chestnut flower oil was prepared by the emulsifying method of phase inversion and the effect of surfactant, co-surfactant, the ratio of surfactant with co-surfactant (K_m) and oil phase on micro-emulsion formation were investigated by pseudo-ternary phase diagrams for determining the process parameters of chestnut flower oil micro-emulsion. The results showed that the best formula of chestnut flower oil micro-emulsion was polyethylene glycol stearate-15 (HS-15) and glycerol as surfactant and co-surfactant, respectively, the K_m was 2, and equal proportional ethyl oleate (EO) and oil as mixing oil phase. The micro-emulsion of chestnut flower oil prepared according above formula was O/W type. Moreover, the conductivity, viscosity and pH of the micro-emulsion characteristic parameters were investigated when the ratio of mixed surfactant with oil phase was 7:3 based on the best micro-emulsion formulations, they were 180.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 44.7 $\text{mPa}\cdot\text{s}$, and 6.66, respectively. Therefore, this study provided technical supports for preparing and applying the micro-emulsion of chestnut flower oil.

Key words: emulsifying method of phase inversion; essential oil of chestnut flower; micro-emulsion; pseudo-ternary phase diagrams

中图分类号: TS221

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)01-0098-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.01.011

板栗花精油是壳斗科栗属植物板栗花中所含的挥发油,水蒸气蒸馏法制得的精油经GC-MS分析,其主要成分为芳樟醇、壬醛、苯乙酮等^[1],具有一定的驱蚊^[2]、抑菌^[3]和抗氧化^[4]等生物学功能,因而在崇尚自然的今天,板栗花精油在植物源驱避剂、食品和日化等领域有着广阔的应用前景。但是,由于精油的某些缺点,如水溶性差、极易挥发、性质不稳定、生物利用度低等,限制了其应用范围。为了改善精油

的以上缺点,目前最常用方法是将其制成微胶囊,但微胶囊技术操作繁琐、成本较高、产品粒径较大^[5],限制了植物精油的进一步应用。

微乳是由水相、油相、表面活性剂和助表面活性剂按适当的比例自发形成的一种透明或半透明的、低黏度、各向同性且热力学稳定,粒径在10~100 nm之间的溶液体系^[6]。由于微乳技术的迅猛发展,现已广泛应用于医药、食品、化工等领域。据报道,李凌

收稿日期: 2015-03-27

作者简介: 邵明辉(1989-),男,硕士研究生,研究方向:天然活性物质的研究与开发, E-mail: smhui2013@163.com。

*通讯作者: 王雪青(1964-),女,博士,教授,主要从事天然活性物质的研究与开发, E-mail: wxqing@tjcu.edu.cn。

基金项目: 天津市高等学校创新团队规划建设资助项目(TD12-5049);天津市高校科技发展基金资助项目(20120603);唐山迁西县板栗产业研究发展中心资助项目(G11034)。

绪^[7]等人将肉桂油制成微乳,对肉桂油有较好的增溶作用。印楝油对家兔疥螨有一定的杀灭活性,由于精油的上述缺点,直接应用杀虫效果不明显,而通过将印楝油制备成 O/W 型微乳,杀螨的半数致死时间(LT₅₀)比其水乳剂、液体石蜡溶液给药方式分别减少了 13.8、74.93 min^[8],可见,印楝油微乳具有更好的杀螨活性。

微乳具有稳定性良好、操作简单和生物利用度高优点,可以增大植物精油在水中的溶解度,提高其载油量,展现出潜在的应用潜力。本文以板栗花精油为原料,研究板栗花精油 O/W 型微乳的制备工艺,为进一步探索板栗花精油的应用与开发提供技术和工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

板栗花精油 实验室水蒸气蒸馏法制备; Tween-80、Tween-20、聚氧乙烯蓖麻油-35 (Cremophor EL-35)、聚氧乙烯蓖麻油-40 (Cremophor EL-40)、聚氧乙烯氢化蓖麻油-40 (Cremophor RH-40)、聚乙二醇硬脂酸酯-15 (Solutol HS-15) 德国 BASF 公司;无水乙醇、正丁醇、正丙醇、异戊醇、甘油、聚乙二醇-400 (PEG-400) 均为分析纯;油酸乙酯 (EO)、肉豆蔻酸异丙酯 (IPM)、棕榈酸异丙酯 (IPP) 阿拉丁试剂公司。

EMS-9A 磁力搅拌器 天津市欧诺仪器仪表有限公司; DDS-307 电导率仪 上海精密科学仪器有限公司; 3-18K 高速离心机 Sigma 公司; MCR301 流变仪 Physica 公司; FE20 实验室 pH 计 梅特勒-托利多仪器有限公司; XW-80A 涡旋混合器 上海沪西分析仪器厂有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 微乳制备方法 采用转相乳化法^[9]制备微乳,表面活性剂和助表面活性剂以一定的比例充分混合再与油相以 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 的质量比 (三组分总体质量恒定为 5 g) 精确称量混合于 50 mL 小烧杯中,在常温常压下放置于恒温磁力搅拌器上进行搅拌,然后向混合液中缓慢定量滴加去离子水,并实时测定体系的电导率值,同时仔细观察体系由浑浊变澄清,由黏变稀的状态变化,绘制体系水百分含量-电导率变化曲线,从而判定体系状态变化的临界点,计算混合表面活性剂相、油相和水相在体系中的组成比例,用 Origin8.0 软件绘制伪三元相图,其中三相为相图的三个顶点,相图每条边上的点分别表示相应两相之间的比例,相图中任意一点表示相应体系中各组分比例关系。

1.2.2 微乳配方的初步筛选 采用 Tween-80、Tween-20、EL-35、EL-40、RH-40、HS-15 六种表面活性剂,无水乙醇、正丁醇、正丙醇、异戊醇、甘油、聚乙二醇-400 六种助表面活性剂,EO、IPM、IPP 三种油相与板栗花精油等比例混合作为混合油相,参照 1.2.1 方法制备板栗花精油微乳,通过肉眼观察,以外观均一透明,流动性好作为微乳形成的标准。

1.2.3 微乳配方的优化设计 初步筛选后,再根据

体系水百分含量-电导率变化曲线确定临界点滴水量,将总表面活性剂、油相和水相分别作为伪三元相图的三个顶点,利用 Origin8.0 软件绘制伪三元相图,并用 AutoCAD2007 软件分析比较微乳区面积大小,以微乳区面积为指标做进一步筛选,最终确定最佳微乳配方。

1.2.4 微乳类型的鉴定 染色法^[10]鉴定,将制备的板栗花精油微乳置于试管中,分别加入油溶性染料苏丹红Ⅲ和水溶性染料亚甲基蓝染色液各两滴,静置,观察两种染料 (红色和蓝色) 在微乳中的扩散速度。若红色扩散速度大于蓝色,则是油包水 (W/O) 型微乳,反之,则是水包油 (O/W),若两种染色溶液的扩散速度相同,则该微乳为双连续型。

1.2.5 微乳理化性质测定 常温下,用流变仪测定黏度;用电导率仪测定电导率;用 pH 计测定 pH。

1.2.6 微乳稳定性检测 将制备的微乳,经 12000 r/min、4 ℃ 离心 20 min,观察外观,若分层或浑浊则不稳定,反之,则稳定;同时,将不分层稳定的板栗花精油微乳分别于 4、20、40、60 ℃ 条件下放置 8 d,观察其外观的变化。

2 结果与分析

2.1 微乳配方的初步筛选

2.1.1 表面活性剂的筛选 以板栗花精油与 EO 等比例混合为混合油相,PEG-400 为助表面活性剂,K_m=2,考察 6 种不同表面活性剂形成微乳能力的大小,结果见表 1。

表 1 不同表面活性剂对微乳形成的影响
Table 1 Effect of different surfactants on the formation of micro-emulsion

表面活性剂	总表面活性剂 / 混合油相	外观
Tween-80	9:1、8:2	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
Tween-20	9:1、8:2	浑浊,流动性一般 浑浊,流动性差
EL-35	9:1、8:2	半透明,流动性差 浑浊,流动性差
EL-40	9:1、8:2、 7:3	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
RH-40	9:1、8:2、 7:3	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
HS-15	9:1、8:2、 7:3、6:4	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差

由表 1 可知,Tween-80、Tween-20 和 EL-35 在 9:1 的比例下均可以形成微乳,但是在 8:2 后的比例下,不但颜色开始变的浑浊,而且凝胶现象也比较严重,说明其形成微乳的能力较差,所以选择 EL-40、RH-40 和 HS-15 三种表面活性剂做进一步筛选。

2.1.2 助表面活性剂的筛选 以 HS-15 为表面活性剂,K_m=2,板栗花精油与 EO 等比例混合为混合油相,考察 6 种助表面活性剂形成微乳能力的大小,结果见表 2。

表2 不同助表面活性剂对微乳形成的影响

Table 2 Effect of different co-surfactants on the formation of micro-emulsion

助表面活性剂	总表面活性剂 /混合油相	外观
无水乙醇	9:1、8:2	均一透明,流动性好 浑浊,流动性好
正丁醇	9:1、8:2	均一透明,流动性好 浑浊,流动性好
正丙醇	9:1、8:2	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
异戊醇	9:1、8:2	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
甘油	9:1、8:2、 7:3	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
PEG-400	9:1、8:2、 7:3	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差

由表2可知,无水乙醇、正丁醇、正丙醇和异戊醇在9:1的比例下均可以形成微乳,但是在8:2后的比例下,不但颜色开始变的浑浊,而且具有醇类刺激性气味,说明其形成微乳能力较差,不适合做助表面活性剂,所以选择甘油和PEG-400两种助表面活性剂做进一步筛选。

2.1.3 油相的筛选 以HS-15为表面活性剂,PEG-400为助表面活性剂, $K_m=2$,考察3种油相与精油等比例混合形成微乳能力的大小,结果见表3。

表3 不同油相对微乳形成的影响

Table 3 Effect of different oil phases on the formation of micro-emulsion

混合油相	总表面活性剂 /混合油相	外观
EO/精油=1	9:1、8:2、 7:3	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
IPM/精油=1	9:1、8:2、 7:3	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差
IPP/精油=1	9:1、8:2	均一透明,流动性好 浑浊,流动性差

表3显示,IPP与精油等比例混合作为混合油相在9:1的比例下均可以形成微乳,但是在8:2后的比例下,不但颜色开始变的浑浊,而且凝胶现象也比较严重,说明其形成微乳的能力较差,EO和IPM形成微乳能力相当,所以选择EO和IPM两种油相与精油混合做进一步筛选。

2.2 微乳配方的优化设计

2.2.1 微乳体系水分含量-电导率变化曲线 以板栗花精油与EO等比例混合为混合油相,PEG-400为助表面活性剂,EL-40、RH-40和HS-15为表面活性剂, $K_m=2$,根据电导率仪实时测定微乳体系的电导率,绘制水分含量-电导率变化曲线,见图1。

由图1可知,伴随着水量的增加电导率也呈现先增后减的规律性变化,拐点即为形成微乳的临界

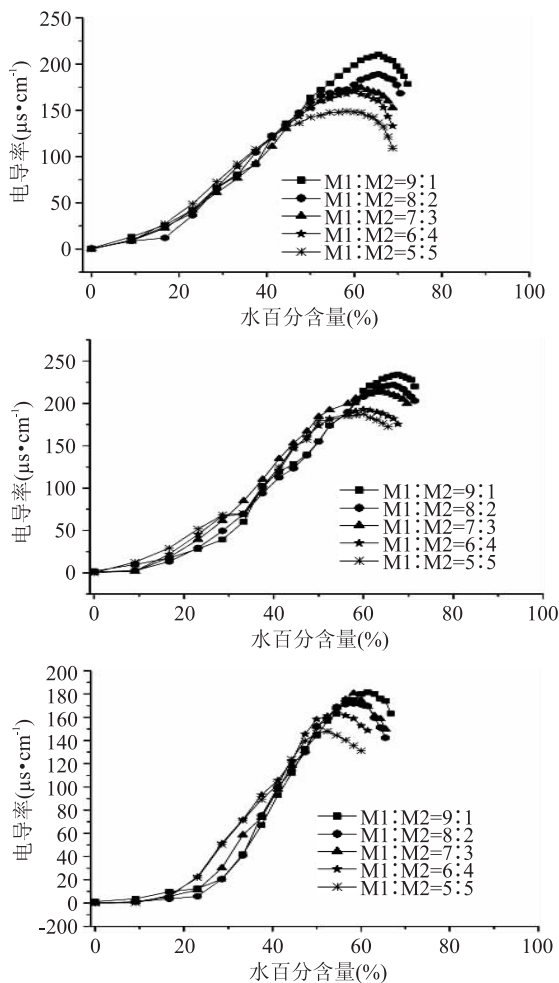


图1 不同表面活性剂水分含量与电导率变化曲线

Fig.1 The conductivity change via the content of water in different surfactants

注:M1代表总表面活性剂;M2代表混合油相。

点,根据临界点的加水量绘制伪三元相图,确定微乳的最佳配方。

微乳的制备方法一般多采用自乳化法,即通过搅拌或涡旋自发形成微乳。判断微乳形成主要通过目测法判定体系的临界点,而采用肉眼观察体系形态变化,结果波动性大,干扰因素多,重复性差,无法准备判断微乳成型的临界点^[11]。电导率是微乳的重要性质之一,在一定程度上反映微乳的结构和性质^[12]。本实验通过绘制含水量-电导率曲线来判定微乳体系临界点,随着含水量的增加,电导率呈现急剧上升、增势变缓、陡然下降的规律变化,对应微乳体系由W/O型变为双连续型,最后变为O/W型的相行为结构变化^[13],从而判定微乳体系临界点,即曲线转折点即为O/W型微乳的临界点。当含水量 $\Phi < 20\%$ 时,此时体系为W/O型,微乳连续相为油相,几乎不导电,体系的渗滤阈值^[14]很小,导致电导率很低;当含水量 $20\% < \Phi < 50\%$ 时,体系渗滤阈值增大,导电微粒增多,相互吸引从而发生频繁的黏性碰撞形成导电链,使体系的电导率直线上升;当含水量 $50\% < \Phi < 60\%$ 时,此时体系处于双连续型结构,即油和水均为局部连续的一种过渡态中间结构,

W/O型和 O/W 型微乳共存,在此区域,电导率随含水量增加偏离原来直线,增势变缓直至最高点;当含水量 $\Phi > 60\%$ 时,体系形成 O/W 型微乳,微乳液滴的浓度随着含水量的增加而降低,电导率也随之下降^[15-16]。

2.2.2 表面活性剂的确定 以 PEG-400 为助表面活性剂, $K_m = 2$, 板栗花精油与 EO 等比例混合为混合油相,绘制不同表面活性剂的伪三元相图,见图 2。使用 AutoCAD2007 软件对图 2 中伪三元相图中微乳区 (ME) 面积进行计算比较,得到表 4 数据。

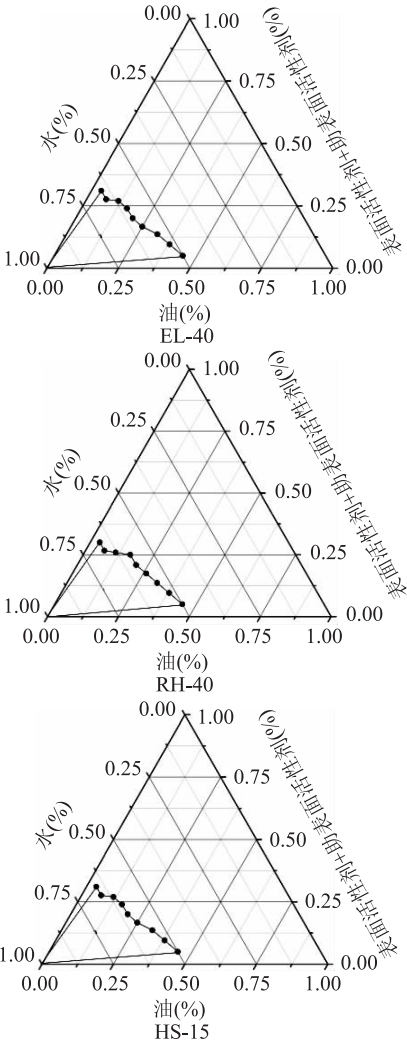


图2 不同表面活性剂的伪三元相图
Fig.2 Pseudo-ternary phase diagrams with different surfactants

表4 不同表面活性剂形成微乳区面积
Table 4 Micro-emulsion areas with different surfactants

表面活性剂	EL-40	RH-40	HS-15
微乳区面积/总面积	30/250	32/250	44/250

由图 2 和表 4 可知,当 HS-15 为表面活性剂时,形成的微乳区 (ME) 面积最大,所以选择 HS-15 为最佳表面活性剂。

表面活性剂是微乳形成所必需的物质,其作用主要是降低油/水界面张力,形成界面膜,促使微乳

形成。表面活性剂的 HLB 值决定微乳的类型,HLB 在 3~8 的表面活性剂可制备 W/O 型微乳,HLB 在 8~18 的表面活性剂可制备 O/W 型微乳^[17]。本实验所采用的 EL-40、RH-40 和 HS-15 的 HLB 值分别为 14、13 和 15,均在 O/W 型微乳要求范围之内。在实验中发现,三者均可形成微乳,但 HS-15 乳化能力更强,能与多种助表面活性剂融合形成微乳且微乳区面积更大。乔飞^[18]等在研究鸦胆子油微乳处方中发现,HS-15 作为一种新型表面活性剂,与 CremoPhor EL 和 CremoPhor RH 相比,乳化能力更强,刺激性和溶血性大大降低,安全性更高,是一种极具应用前景的表面活性剂。

2.2.3 助表面活性剂的确定 以 HS-15 为表面活性剂, $K_m = 2$, 板栗花精油与 EO 等比例混合为混合油相,绘制不同助表面活性剂的伪三元相图,见图 3。使用 AutoCAD2007 软件对图 3 中伪三元相图中微乳区 (ME) 面积进行计算比较,得到表 5 数据。

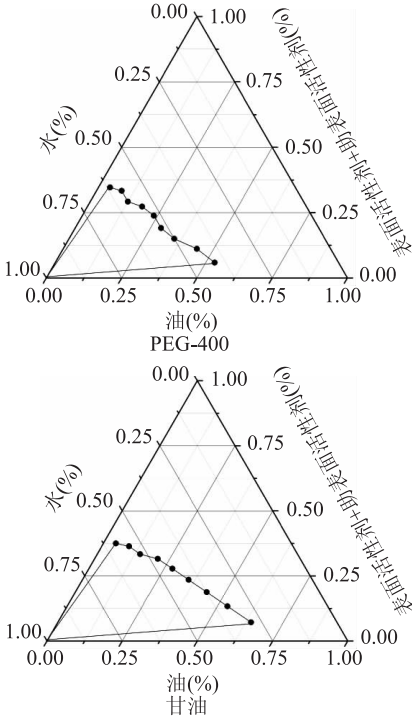


图3 不同助表面活性剂的伪三元相图
Fig.3 Pseudo-ternary phase diagrams with different co-surfactants

表5 不同助表面活性剂形成微乳区面积
Table 5 Micro-emulsion areas with different co-surfactants

助表面活性剂	PEG-400	甘油
微乳区面积/总面积	44/250	58/250

由图 3 和表 5 可知,当甘油为助表面活性剂时,形成的微乳区面积最大,所以选择甘油为最佳助表面活性剂。

助表面活性剂在微乳体系中主要作用是通过渗透到表面活性剂分子之间的空隙,形成一个无序的混合膜,以此增加界面流动性,减少微乳形成时所需的界面弯曲能,使微乳易形成,通常选择短链醇作为

助表面活性剂^[19]。本实验考察 PEG-400 和甘油作为助表面活性剂对形成微乳的影响,发现甘油虽然没有 PEG-400 流动性好,但其形成微乳区面积较大,分析原因可能是甘油羟基较多,亲水性更好,可以与表面活性剂更好的融合,形成混合膜,使界面柔化,减小界面张力。刘晨^[20]等研究枸杞籽微乳和于爱华^[21]等研究葛根素自微乳中发现,甘油作为助表面活性剂形成的微乳效果最好,实验结果与本实验完全一致。

2.2.4 油相的确定 以 HS-15 为表面活性剂,甘油为助表面活性剂, $K_m = 2$,绘制不同油相与精油混合油相的伪三元相图,见图 4。使用 AutoCAD2007 软件对图 4 中伪三元相图中微乳区(ME)面积进行计算比较,得到表 6 数据。

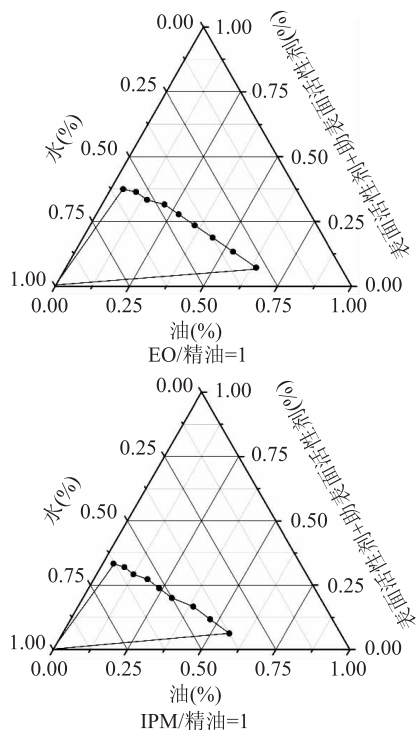


图 4 不同油相的伪三元相图

Fig.4 Pseudo-ternary phase diagrams with different oil phases

表 6 不同油相形成微乳区面积

Table 6 Micro-emulsion areas with different oil phases

油相	EO/精油 = 1	IPM/精油 = 1
微乳区面积/总面积	58/250	45/250

由图 4 和表 6 可知,EO 与精油混合作混合油相时,形成的微乳区面积最大,所以选择 EO 与精油等比例混合为最佳油相。

目前,微乳主要应用于药学领域。O/W 型微乳可增加某些水难溶性药物的溶解度,促进大分子药物在体内更好的吸收,从而提高生物利用度^[22]。所以,一般微乳的制备都是做一系列空白微乳,进而选择增溶药物最好的处方,而本研究中所添加的板栗花精油本身就是一种油相,因其本身性质不利于形成微乳,故将板栗花精油与其他油相等比例混合作

为混合油相进行配方的考察。

2.2.5 K_m 值的确定 以 HS-15 为表面活性剂,甘油为助表面活性剂,板栗花精油与 EO 等比例混合为混合油相,绘制不同 K_m 值的伪三元相图,见图 5。使用 AutoCAD2007 软件对图 5 中伪三元相图中微乳区(ME)面积进行计算比较,得到表 7 数据。

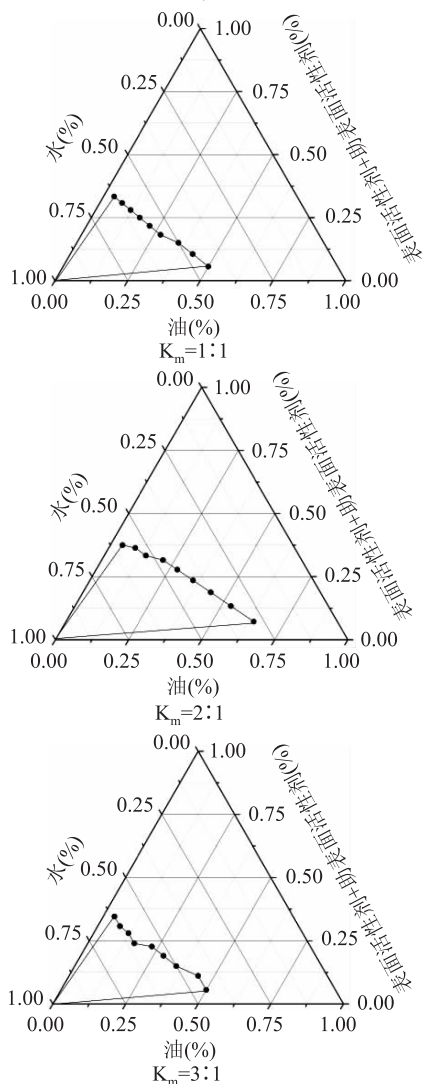


图 5 不同 K_m 值的伪三元相图

Fig.5 Pseudo-ternary phase diagrams of different K_m values

表 7 不同 K_m 值形成微乳区面积

Table 7 Micro-emulsion areas of different K_m values

K_m 值	1	2	3
微乳区面积/总面积	40/250	58/250	42/250

由图 5 和表 7 可知,当 $K_m = 2$ 时,形成的微乳区面积最大,所以选择 $K_m = 2$ 为最佳 K_m 值。

微乳区面积一般与 K_m 值呈正相关,随着 K_m 值增大而增大。本实验中 $K_m = 2$ 时,微乳区面积达到最大; $K_m = 3$ 时,微乳区面积略有减小。这可能是由于助表面活性剂的增加,减小了油水界面张力,体系自发扩张形成微乳,在最佳 K_m 值下,助表面活性剂完全镶嵌到表面活性剂中,微乳结构中增溶空间最

大,稳定性最好;但是当助表面活性剂增加至过量时,可与表面活性剂的极性端缔合使混合膜变得松散,微乳区面积减小,而且会导致混合膜强度降低,影响微乳稳定性^[23]。

综上,板栗花精油微乳的最佳配方为:HS-15 为表面活性剂,甘油为助表面活性剂, $K_m = 2$,板栗花精油与 EO 等比例混合为混合油相。

2.3 微乳类型的鉴定

鉴定结果显示,亚甲基蓝在板栗花精油微乳中的扩散速度明显快于苏丹红Ⅲ的扩散速度,即所制备的板栗花精油微乳为 O/W 型。

2.4 微乳的理化性质

在最佳微乳配方中总表面活性剂/混合油相 = 9:1、8:2、7:3 比例下的微乳外观均一、透明且流动性好,6:4 比例下的微乳已经浑浊且凝胶现象严重。从载油量角度考虑,选取 7:3 的比例为试样,测定其电导率为 180.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$,黏度为 44.7 $\text{mPa}\cdot\text{s}$,pH 为 6.66,所制备的微乳偏酸性。李莉^[24]等人以 EL-40 和 Tween-80 复配为表面活性剂,无水乙醇为助表面活性剂, $K_m = 2$,IPP 与肉桂油等比例混合为混合油相,制备的肉桂油微乳稳定,测定其理化参数分别为:电导率 111 $\mu\text{S}/\text{cm}$,黏度 105 $\text{mPa}\cdot\text{s}$,pH 5.24。相比较,本文制备的板栗花精油微乳的黏度远小于肉桂油微乳,流动性更好,分析其原因可能是 HS-15 比 EL-40 和 Tween-80 具有更强的乳化效果。

2.5 微乳的稳定性

当微乳经离心后,外观仍保持均一透明,说明微乳性质具有一定的稳定性。微乳在不同温度下放置 8 d 后,稳定均一的特性会被破坏。表 8 显示的是在不同温度下放置不同时间后,微乳的稳定性变化。

表 8 温度对微乳稳定性影响

Table 8 Effect of temperature on the stability of the micro-emulsion

贮存时间 (d)	贮存温度(℃)			
	4	20	40	60
0	均一透明	均一透明	均一透明	均一透明
2	均一透明	均一透明	均一透明	轻微浑浊
4	均一透明	均一透明	轻微浑浊	轻微浑浊
6	均一透明	均一透明	轻微浑浊	完全浑浊
8	均一透明	均一透明	完全浑浊	完全浑浊

由表 8 可知,微乳在 4℃ 和室温下放置,性质都比较稳定;在 40℃ 和 60℃ 放置一段时间后,外观均出现一定程度的浑浊,说明较高的温度会降低微乳的稳定性。

3 结论

本研究成功制备了 O/W 型板栗花精油微乳,其最佳配方为:HS-15 为表面活性剂,甘油为助表面活性剂, K_m 为 2,等比例的 EO 与精油混合作为油相。此工艺简单方便且制得的微乳均一透明,性质稳定,这对板栗花精油的潜在应用与开发具有指导意义。

参考文献

[1] 王浩然,魏福祥,桂建业,等.板栗花挥发油成分的提取与

应用研究[J].河北科技大学学报,2011,32(4):384-390.

[2] 邵明辉,王雪青,赵文越,等.板栗花精油的化学组成及对白纹伊蚊驱避作用研究[J].中国媒介生物学及控制杂志,2015,01:62-65.

[3] 赵文越,王雪青,邵明辉,等.水蒸气蒸馏法制备板栗花精油及其抑菌活性[J].食品研究与开发,2014,35(13):48-53.

[4] 吴雪辉,张喜梅,李廷群,等.板栗花粗提物的抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2008,01:14-19.

[5] 王延圣,苏平.微胶囊技术在植物精油中的应用及研究进展[J].食品工业科技,2012,10:453-456.

[6] Hoar T P, Schulman J H. Transparent water-in-oil dispersions theoleopathic hydro micelle[J]. Nature, 1943, 152(102): 23-29.

[7] 李凌绪,陈彦翠,郝双红. O/W 微乳对肉桂油的增溶作用[J].时珍国医国药,2012,01:17-18.

[8] 熊翼.印楝油微乳的制备及其体外杀螨活性研究[D].雅安:四川农业大学,2008.

[9] 申进宝,孙红武. 绞股蓝总皂苷纳米乳的制备及其抗衰老作用研究[J].中国药房,2012,39:3654-3658.

[10] 刘玮琳,刘成梅,刘伟,等. O/W 型中链脂肪酸微乳的制备及其性质研究[J].食品科学,2009,06:102-105.

[11] 陈丽华,赵小婷,吴德智,等.电导率法筛选微乳处方及对其相行为的研究[J].中国药理学杂志,2011,01:40-43.

[12] Moulik S P, Paul B K. Structure dynamics and transport properties of microemulsions [J]. Advances in Colloid and Interface science, 1998, 78(2): 99-195.

[13] Chen H, Mou D, Du D, et al. Hydrogel - thickened microemulsion for topical administration of drug molecule at an extremely low concentration [J]. International journal of pharmaceutics, 2007, 341(1): 78-84.

[14] Lagourette B, Peyrelasse J, Boned C, et al. Percolative conduction in microemulsion type systems[J]. Nature, 1979, 281: 60-62.

[15] Lagües M, Ober R, Taupin C. Study of structure and electrical conductivity in microemulsions: evidence for percolation mechanism and phase inversion[J]. Journal de Physique Lettres, 1978, 39(24): 487-491.

[16] Huang Q, Zhang W, She D, et al. Electrical conductivity properties of a beta - cypermethrin microemulsified dispersion system[J]. Pesticides, 2006, 45(8): 522.

[17] Constantinides P P, Scalart J P. Formulation and physical characterization of water-in-oil microemulsions containing long-versus medium - chain glycerides [J]. International journal of pharmaceutics, 1997, 158(1): 57-68.

[18] 乔飞. 鸦胆子油微乳的处方研究及质量评价[D].广州:广东药学院,2009.

[19] Constantinides P P, Scalart J P, Lancaster C, et al. Formulation and intestinal absorption enhancement evaluation of water - in - oil microemulsions incorporating medium - chain glycerides [J]. Pharmaceutical research, 1994, 11(10): 1385-1390.

[20] 刘晨,王文革,戴贵东.不同方法制备枸杞籽油微乳的比较研究[J].中国药房,2012,19:1749-1752.

(下转第 109 页)

大豆异黄酮对人乳腺癌细胞的增殖有显著的抑制效果,且其效果有浓度依赖性。根据文献报道,大豆异黄酮能通过抑制癌细胞的增殖来发挥其抗癌作用^[19-22]。本实验用 MCF-7 细胞验证了大豆异黄酮对人乳腺癌细胞的抑制增殖作用。

3 结论

萃取法粗提的最佳萃取溶剂为乙酸乙酯与正丁醇(体积比 1:1)的混合液,萃取后大豆异黄酮纯度为 26.45%,提取率为 70.47%;树脂吸附纯化的最佳条件为:树脂型号,LSA-8;上样浓度,0.8 mg/mL;上样流速,0.5 BV/h;洗脱液,75% 的乙醇;洗脱流速,6 BV/h;洗脱体积,1.5 倍上样体积,异黄酮提取率为 83.71%,纯度为 72.09%。抗肿瘤实验表明,大豆异黄酮浓度达到 100 mg/L 时,能显著($p < 0.01$)抑制 MCF-7 细胞的增殖,其作用有一定的剂量依赖性。

参考文献

- [1] Xi YD, Ding J, Han J, et al. The Effect of Soybean Isoflavone on the Dysregulation of NMDA Receptor Signaling Pathway Induced by β -Amyloid Peptides 1-42 in Rats [J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2015, 35(4): 555-562.
- [2] Roghani M, Mahdavi MRV, Jalali - Nadoushan MR, et al. Chronic administration of daidzein, a soybean isoflavone, improves endothelial dysfunction and attenuates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Phytotherapy Research, 2013, 27(1): 112-117.
- [3] Takasugi M, Shimada K, Yamada K, et al. Effects of Soybean Isoflavones on the release of chemical mediators from rat peritoneal exudate cells by allergic reaction *in vitro* [J]. Food Science and Technology Research, 2014, 20(3): 725-730.
- [4] Wang Q, Ge X, Tian X, et al. Soy isoflavone: the multipurpose phytochemical (Review) [J]. Biomed Rep, 2013, 1(5): 697-701.
- [5] Ding BJ, Ma WW, He LL, et al. Soybean isoflavone alleviates β -amyloid 1-42 induced inflammatory response to improve learning and memory ability by down regulation of Toll-like receptor 4 expression and nuclear factor- κ B activity in rats [J]. International Journal of Developmental Neuroscience, 2011, 29(5): 537-542.
- [6] Lee YK, Park OJ. Soybean isoflavone genistein regulates apoptosis through NF- κ B dependent and independent pathways [J]. Experimental and Toxicologic Pathology, 2013, 65(1-2): 1-6.
- [7] Bao ZS, Hong L, Guan Y, et al. Inhibition of airway inflammation, hyperresponsiveness and remodeling by soy isoflavone in a murine model of allergic asthma [J]. Int.

Immunopharmacol., 2011, 11(8): 899-906.

- [8] Xi YD, Li XY, Ding J, et al. Soy isoflavone alleviates Abeta1-42-induced impairment of learning and memory ability through the regulation of RAGE/LRP-1 in neuronal and vascular tissue [J]. Curr Neurovasc Res, 2013, 10(2): 144-156.
- [9] Cao YF, Xing HB, Yang QW, et al. Separation of soybean isoflavone aglycone homologues by Ionic Liquid-Based Extraction [J]. J Agric Food Chem., 2012, 60(13): 3432-3440.
- [10] 张佳秀, 侯俊财, 邹艳楠, 等. 大孔树脂对酶解大豆肽脱盐效果影响及其最佳条件研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(3): 203-206.
- [11] Baglia ML, Gu K, Zhang X, et al. Soy isoflavone intake and bone mineral density in breast cancer survivors [J]. Cancer Causes Control, 2015, 26(4): 571-80.
- [12] 李雪玲. 大豆异黄酮的提取分离技术研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2006.
- [13] 苏小红. Ab-8 型大孔吸附树脂分离纯化大豆异黄酮的研究. [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2006.
- [14] 袁建, 鞠兴荣. 大豆异黄酮分离与精制工艺研究 [J]. 食品科学, 2002, 23(8): 118-121.
- [15] 蔡立, 郁建平, 占建波. 豆粕中大豆异黄酮提取纯化工艺研究 [J]. 食品科学, 2008, 29(4): 185-188.
- [16] 牛新春, 张守勤, 王长征, 等. 大孔树脂对豆粕中异黄酮吸附特性的研究 [J]. 食品研究与开发, 2007, 28(4): 36-39.
- [17] 井乐刚, 张永忠. 用大孔树脂从大豆乳清中纯化大豆异黄酮的一种有效方法 [J]. 化工学报, 2006, 57(5): 1209-1214.
- [18] 潘廖明. 大豆异黄酮提取分离技术及检测方法研究 [D]. 成都: 四川大学, 2003.
- [19] Yang X, Belosay A, Hartman JA, et al. Dietary soy isoflavones increase metastasis to lungs in an experimental model of breast cancer with bone micro-tumors [J]. Clin Exp Metastasis, 2015, 32(4): 323-333.
- [20] 孙权, 徐俊萍, 许惠仙, 等. 大豆异黄酮抗肿瘤作用的研究 [J]. 食品科技, 2009, 34(8): 60-62.
- [21] Hejazi E, Nasrollahzadeh J, Fatemi R, et al. Effects of combined soy isoflavone extract and docetaxel treatment on murine 4T1 breast tumor model [J]. Avicenna J Med Biotechnol, 2015, 7(1): 16-21.
- [22] Liu Y, Hilakivi-Clarke L, Zhang Y, et al. Isoflavones in soy flour diet have different effects on whole-genome expression patterns than purified isoflavone mix in human MCF-7 breast tumors in ovariectomized athymic nude mice [J]. Mol Nutr Food Res, 2015, 27. doi: 10.1002/mnfr.201500028. [Epub ahead of print].

(上接第 103 页)

- [21] 于爱华, 翟光喜, 崔晶, 等. 葛根素固体自微乳的研制 [J]. 中药材, 2006, 08: 834-838.
- [22] 王雨青, 刘瑾, 马红岩. 不同表面活性剂对 O/W 型微乳形成的影响 [J]. 中国医药工业杂志, 2011, 12: 907-909.
- [23] Li P, Ghosh A, Wagner R F, et al. Effect of combined use of

- nonionic surfactant on formation of oil-in-water microemulsions [J]. International journal of pharmaceuticals, 2005, 288(1): 27-34.
- [24] 李莉. 肉桂油微乳的制备及质量评价 [D]. 南昌: 南昌大学, 2011.