

# EGCG-CS-PAA纳米粒制备及其稳定性实验研究

侯绍云,洪志勇,应浩,侯善欣,黄美蓉,杜琪珍\*  
(浙江工商大学食品与生物工程学院,浙江杭州 310000)

**摘要:**为保护EGCG的抗氧化活性,利用壳聚糖(CS)和聚天冬氨酸(PAA)之间离子交联作用制备CS-PAA纳米粒载体,装载表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)。结果表明:CS/PAA质量比、溶液pH、搅拌时间以及盐浓度对纳米体系的粒径、Zeta电位、包埋率等具有显著影响。在CS/PAA(w/w)为1.0、pH为3.5、反应时间为60 min时,制备的EGCG-CS-PAA纳米粒在粒径和表面电荷等物理特征为最佳。采用FRAP法对EGCG-CS-PAA纳米粒的抗氧化活性进行分析,结果显示纳米体系对EGCG活性具有良好的保护作用。同时EGCG-CS-PAA纳米体系能在高温、碱性等环境下起到较好的保护EGCG的作用。

**关键词:**EGCG,壳聚糖,纳米粒,抗氧化活性

## Preservation of EGCG antioxidant properties by loading CS-PAA nanoparticles

HOU Shao-yun, HONG Zhi-yong, YING Hao, HOU Shan-xin, HUANG Mei-rong, DU Qi-zhen\*

(Institute of Food and Biological Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310000, China)

**Abstract:** (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) was loaded in chitosan nanoparticles for the preservation of antioxidant activity. The effects of the weight ratio of CS to PAA, pH, the reaction time and the concentration of NaCl on the properties of EGCG-CS-PAA complexes were studied. All four factors significantly influenced the particle size, the Zeta potential, and the entrapment efficiency of EGCG. A stable and clear solution system could be obtained at pH 3.5. The best EGCG-CS-PAA nanoparticles was obtained with the reaction time at 1 hour and the weight ratio of 1:1 (CS:PAA). Sustained free radical (ABTS<sup>•+</sup>) scavenging assays showed that the antioxidant activity of EGCG was retained by the nanoparticles. Meanwhile, EGCG nanoparticles were found to be a better protection of EGCG at high temperature and alkaline.

**Key words:** EGCG; chitosan; nanoparticles; antioxidant activity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)24-0115-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.24.016

EGCG是一种酯型儿茶素,是茶多酚中活性最强的一种儿茶素单体<sup>[1]</sup>。近年的研究表明,EGCG具有抗氧化、抗癌、预防心血管疾病、降低血糖血脂、提高机体免疫力等多种生理功能<sup>[2-5]</sup>。然而EGCG性质很不稳定,易受光、氧、温度、pH等外界因素的影响而发生变化<sup>[6-7]</sup>。其次EGCG在肠胃滞留时间短、渗透性差、容易受胃肠环境(如pH、酶等)的影响而变得不稳定,从而使EGCG口服的生物利用度大大降低<sup>[8]</sup>。因此,EGCG在食品、医药保健等方面的实际应用具有较大的局限性。

纳米微胶囊,其颗粒微小,易于分散和悬浮在水中,形成均一稳定的胶体溶液,并且具有良好的靶向

性和缓释作用<sup>[9]</sup>。通过将功能因子包裹于纳米粒子内部,能够提高功能因子的稳定性,促使其活性的最大发挥。近年来,采用纳米微胶囊技术包埋儿茶素以及茶多酚已经有很多报道<sup>[10-12]</sup>。壳聚糖拥有较好的生物相容性、生物可降解性和粘膜粘附作用等特性<sup>[13]</sup>,常被用来作为制备纳米载体材料。同时,聚天冬氨酸(PAA)具有无毒和生物降解性,也是理想的载体材料<sup>[14]</sup>。因此,本文研究通过壳聚糖(CS)和聚天冬氨酸(PAA)之间离子交联作用制备CS-PAA纳米粒载体,以此装载EGCG,并且研究了EGCG-CS-PAA纳米分散体系对EGCG抗氧化活性的保护作用。研究结果对于EGCG在食品、医药保健等领域的实际应用具有参

收稿日期:2015-04-09

作者简介:侯绍云(1990-),女,硕士研究生,研究方向:食品化学与功能因子,E-mail:15700070466@163.com。

\* 通讯作者:杜琪珍(1963-),男,教授,研究方向:食品化学与功能因子,E-mail:qizhendu@163.com。

基金项目:十二五国家科技计划项目(2012BAD36B06)。

考价值。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

EGCG (98%) 无锡太阳绿宝科技有限公司; PAA (分子量30~50 ku) 张家港星宇科技有限公司; CS (分子量3~10 ku) 浙江澳兴生物科技有限公司; 其他化学试剂 均为分析纯, 华东医药股份有限公司; 实验用水 均为超纯水。

5810R型离心机 美国Eppendorf公司; Zetasizer Nano-ZS激光粒度仪 英国Malvern; UV3600紫外-可见分光光度计、LC-20A高效液相色谱仪 日本岛津公司; JEM-1230透射电镜 日本JEOL; JB-3漩涡仪 上海雷磁新泾仪器有限公司; DK-S26型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司; Millipore Amicon Ultra-15超滤离心管 上海俊晟生物科技有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 CS-PAA纳米分散体系和EGCG-CS-PAA纳米分散体系的制备 参照Deh-Wei Tang等<sup>[15]</sup>制备壳聚糖纳米粒的方法。称取一定质量的CS溶解在1%乙酸溶液中, 将10 mL CS溶液缓慢滴加到10 mL浓度为2 mg/mL PAA水溶液中, 边滴边搅拌, 以每秒一滴速度滴加, 搅拌速度800 r/min, 滴加完毕继续搅拌60 min, 得到CS-PAA纳米分散体系。

本研究考察下述4个制备因素对CS-PAA纳米粒的影响: (1) 搅拌时间 (5、10、20、30、40、60、90 min), 其他条件为CS/PAA (w/w) 为1.0; (2) 溶液的pH (pH=2.0、2.5、3.5、4.5、5.0、6.0、7.0), 其他条件为CS/PAA (w/w) 为1.0, 搅拌时间60 min; (3) CS与PAA的质量比 (0.75、1.0、1.5、2.0、2.5), 其他条件为搅拌时间60 min, pH为3.5; (4) NaCl的浓度 (0、10、20、30、40、50 mg/mL), 其他条件为CS/PAA (w/w) 为1.0, 搅拌时间60 min, pH为3.5。

选用CS-PAA纳米粒优化的制备参数, 称取一定质量的CS和EGCG (浓度为1、2、3、4、5 mg/mL) 溶解在1%醋酸溶液中, 移取10 mL含有EGCG的CS溶液缓慢滴加到10 mL浓度为2 mg/mL PAA水溶液中, 边滴边搅拌, 以每秒一滴速度滴加, 搅拌速度800 r/min, 滴加完毕继续搅拌60 min, 得到EGCG-CS-PAA纳米分散体系。

1.2.2 粒径及Zeta电位的测定 CS-PAA纳米粒和EGCG-CS-PAA纳米粒的平均粒径(Dh)和粒径的分散情况(PDI)采用英国Malvern公司的Nano-ZS型激光粒度仪, 散射角为90°, 测试温度(25±0.1)°C, 扫描波长633 nm。

1.2.3 包埋率的测定 取2 mL EGCG纳米粒溶液于超滤浓缩离心管, 4 °C条件下4000×g离心30 min, 收集离心后的液体, 通过HPLC对超滤离心管中游离的EGCG进行定量测定。HPLC的检测条件: 流动相A相为0.2%的乙酸; 流动相B相为100%乙腈; 梯度洗脱条件: 0~16 min, 6.5%~25%; 16~30 min, 25%~6.5%; 30~35 min, 6.5%; 色谱柱Symmetry® C<sub>18</sub> (5 μm, 4.6 mm×250 mm), 柱温40 °C, 检测波长280 nm, 进样量10 μL。配制0.5~2.5 mg/mL共5个浓度梯度EGCG标准溶液,

得标准曲线 $Y=8\times 10^{-7}X-0.0024$  ( $R^2=0.9999$ ), 其中X为峰面积, Y为EGCG浓度(mg/mL)。

包埋率(%)=(EGCG总量-超滤离心管液体中EGCG含量)/EGCG总量×100

1.2.4 EGCG-CS-PAA纳米粒的微观结构 采用透射电镜(transmission electron microscopy, TEM)观察EGCG-CS-PAA纳米粒(1 mg/mL)的表面形态及大小。将EGCG-CS-PAA纳米溶液样品滴在铜网表面, 磷钨酸染色后, 用滤纸擦净多余的样品溶液, 在空气中风干后进行电镜观察。测试加速电压为80 kV。

1.2.5 FRAP测定EGCG-CS-PAA纳米粒的抗氧化活性 采用FRAP法测定抗氧化活性<sup>[16]</sup>, 取0.1 mL待测溶液加入到2.9 mL TPTZ工作液(25 mL pH=3.6的300 mmol/L醋酸盐缓冲液、2.5 mL 10 mmol/L TPTZ溶液、2.5 mL 20 mmol/L FeCl<sub>3</sub>溶液, 现用现配)混匀后于37 °C水浴孵育30 min, 于593 nm处测定其吸光值, 以PBS缓冲液与TPTZ工作液混合作为空白对照。EGCG自由液与EGCG纳米液在室温下存放, 每隔24 h取样测定。

1.2.6 高温下EGCG-CS-PAA纳米粒对EGCG的保护作用 取50 mL EGCG纳米液(1 mg/mL)置于80 °C的恒温条件下孵育, 在不同时间段取样(2、4、6、8、10、12、14、20、44、68、92 h), 采用HPLC分析纳米体系中EGCG的含量, 计算EGCG的保留率。以相同浓度的EGCG溶液为对照。

1.2.7 碱性条件下(pH7.2)EGCG-CS-PAA纳米体系对EGCG的保护作用 取一定量的EGCG-CS-PAA纳米粒, 加入到15 mL的pH 7.2的磷酸缓冲液中, 于37 °C的恒温条件下孵育, 在1、2、3、4 h时间点, 用HPLC分析EGCG纳米液中EGCG的含量, 计算EGCG的保留率。用磷酸缓冲液配制相同浓度的EGCG溶液作为对照。

1.2.8 统计分析 采用统计软件SAS V8进行统计分析。两组样品间的差异显著性分析采用Student's *t*检验, 组间多重比较采用LSD检验,  $p<0.05$ 表示差异显著性。每组实验重复3次。

## 2 结果与分析

### 2.1 CS/PAA质量比对CS-PAA纳米粒的影响

表1 不同CS/PAA质量比制备的CS-PAA纳米粒的平均粒径、分散系数、Zeta电位(mean±SD, n=3)

Table 1 The diameter, polydispersity index and Zeta potential of the nanoparticles (CS-PAA NP) prepared with various ratio of chitosan/polyaspartic acid (mean±SD, n=3)

质量比 CS/PAA (w/w)	粒径Dh (nm)	分散指数 PDI	Zeta电位 (mV)
0.75	84.7±3.2 <sup>E</sup>	0.206±0.004 <sup>C</sup>	22.3±0.2 <sup>E</sup>
1	93.3±2.1 <sup>D</sup>	0.205±0.006 <sup>C</sup>	31.8±0.2 <sup>D</sup>
1.5	110.4±2.5 <sup>C</sup>	0.242±0.009 <sup>B</sup>	40.5±0.4 <sup>C</sup>
2	126.3±1.9 <sup>B</sup>	0.307±0.015 <sup>A</sup>	44.2±0.1 <sup>B</sup>
2.5	136.4±3.8 <sup>A</sup>	0.318±0.017 <sup>A</sup>	45.5±0.3 <sup>A</sup>

注: 同列中具有不同字母的值有显著性差异( $p<0.05$ ); 表2、表4、表5同。

CS/PAA质量比对CS-PAA纳米粒粒径Dh, PDI及Zeta电位的影响如表1所示。Zeta电位是反应纳米体系稳定性的一个重要指标, Zeta电位绝对值越高, 小颗粒间斥力越大, 不易聚集, 从而更有利于稳定性。通常认为, 稳定体系纳米粒Zeta电位的绝对值应大于30 mV<sup>[7]</sup>。随着CS/PAA质量比的增加, 纳米粒的粒径、Zeta电位以及分散指数逐渐增大。Zeta随着壳聚糖用量的增加, 缠绕在纳米粒表面的CS越来越多, 纳米粒表面电荷增多, Zeta电位逐渐增加, 从而形成亲水性保护膜。在CS/PAA质量比为1.0时, Zeta电位已经显示出较稳定(31.8 mV)。所以本研究选用CS/PAA质量比为1作为后续研究。

### 2.2 pH对CS-PAA纳米粒的影响

pH对CS-PAA纳米粒粒径Dh, PDI及Zeta电位的影响如表2所示, 纳米粒粒径随着pH的不断增大, 粒径先减小后增大, 在pH>5溶液出现浑浊。在pH=3.5时, 粒径最小, Zeta电位的绝对值最大, 纳米体系比较稳定。

表2 不同pH所制备的CS-PAA纳米粒粒径, PDI及Zeta电位  
Table 2 Effect of solution pH values on mean particle size and zeta-potential of CS-PAA nanoparticles

pH	粒径Dh (nm)	分散指数PDI	Zeta电位 (mV)
2.0	191.1±3.2 <sup>E</sup>	0.401±0.015 <sup>C</sup>	9.63±0.3 <sup>E</sup>
2.5	182.3±2.5 <sup>F</sup>	0.424±0.012 <sup>C</sup>	16.8±0.2 <sup>D</sup>
3.5	94.6±1.5 <sup>C</sup>	0.28±0.005 <sup>D</sup>	33±0.6 <sup>A</sup>
4.5	204.2±10.2 <sup>D</sup>	0.288±0.004 <sup>D</sup>	-7.29±0.3 <sup>F</sup>
5.0	400.4±9.5 <sup>C</sup>	0.563±0.016 <sup>B</sup>	-20.2±0.1 <sup>C</sup>
6.0	443.1±6.5 <sup>B</sup>	0.403±0.013 <sup>C</sup>	-30.1±0.4 <sup>B</sup>
7.0	1456.6±4.6 <sup>A</sup>	0.651±0.017 <sup>A</sup>	-19.2±0.5 <sup>C</sup>

### 2.3 搅拌时间对CS-PAA纳米粒的影响

搅拌时间对CS-PAA纳米粒粒径Dh, PDI及Zeta电位的影响如表3所示, 不同的搅拌时间, 平均粒径具有显著性差别, 60 min效果最佳。体系反应60 min

表3 不同搅拌时间制备的纳米粒粒径, PDI和Zeta电位

Table 3 Effect of reaction time on the mean size, PDI and Zeta-potential of nanoparticles

搅拌时间(min)	5	10	20	30	60	90
粒径Dh (nm)	121.6±0.14 <sup>C</sup>	134.4±1.4 <sup>B</sup>	135.35±1.8 <sup>B</sup>	122.9±0.8 <sup>D</sup>	102.8±2.6 <sup>E</sup>	149.5±3.5 <sup>A</sup>
分散指数PDI	0.282±0.015 <sup>B</sup>	0.289±0.015 <sup>B</sup>	0.209±0.015 <sup>D</sup>	0.228±0.015 <sup>C</sup>	0.207±0.015 <sup>D</sup>	0.327±0.015 <sup>A</sup>
电位ζ (mV)	35.7±0.5 <sup>A</sup>	35.3±0.4 <sup>A</sup>	30.2±0.3 <sup>C</sup>	34.3±0.2 <sup>B</sup>	34.2±0.3 <sup>B</sup>	22.4±0.8 <sup>D</sup>

注: 同行中具有不同字母的值有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

表5 EGCG-CS-PAA纳米粒的粒径Dh、PDI、Zeta电位、包封率EE

Table 5 The average diameter, polydispersity index and Zeta potential of the EGCG loaded nanoparticles (EGCG-CS-PAA NP) prepared with chitosan and polyaspartic acid

EGCG (mg/mL)	粒径Dh (nm)	分散指数PDI	Zeta电位 (mV)	包封率EE (%)
1.0	95.3±1.8 <sup>C</sup>	0.196±0.010 <sup>C</sup>	33.7±0.8 <sup>A</sup>	27.20±1.8 <sup>A</sup>
2.0	102.4±3.6 <sup>B</sup>	0.224±0.008 <sup>B</sup>	33.3±0.2 <sup>A</sup>	25.0±2.1 <sup>A</sup>
3.0	104.5±2.5 <sup>B</sup>	0.186±0.012 <sup>C</sup>	31.6±0.6 <sup>B</sup>	19.0±1.8 <sup>B</sup>
4.0	107.6±3.1 <sup>B</sup>	0.218±0.009 <sup>B</sup>	29.3±0.5 <sup>C</sup>	14.58±1.6 <sup>C</sup>
5.0	112.4±2.8 <sup>A</sup>	0.232±0.013 <sup>A</sup>	27.3±0.7 <sup>D</sup>	10.65±1.5 <sup>D</sup>

后, 纳米粒交联达到充分饱和, 继续反应纳米颗粒之间容易聚集, 纳米粒粒径增大, 后续研究选用搅拌时间为60 min。

### 2.4 NaCl的浓度对CS-PAA纳米粒的影响

NaCl的浓度对CS-PAA纳米粒粒径Dh, PDI及Zeta电位的影响如表4所示, 随着体系NaCl浓度的增加, 纳米粒子的平均粒径逐渐增大, 且分散指数不断增大, 粒子的分散呈不均匀状态, 粒子表面电荷也逐渐减小。当NaCl浓度达到50 mg/mL时, 体系出现明显的沉淀。后续研究选用NaCl的浓度为0。

表4 NaCl浓度对纳米粒的粒径, 分散指数及zeta电位的影响

Table 4 Influence of NaCl concentration on the mean size, PI and Zeta-potential

NaCl (mg/mL)	粒径Dh (nm)	分散指数PI	Zeta电位ζ (mV)
0	101.4±1.8 <sup>E</sup>	0.209±0.005 <sup>D</sup>	34.3±0.3 <sup>A</sup>
10	257.3±4.6 <sup>D</sup>	0.448±0.017 <sup>B</sup>	12.6±0.4 <sup>B</sup>
20	507.5±5.5 <sup>C</sup>	0.357±0.006 <sup>C</sup>	12.5±0.6 <sup>B</sup>
30	530.6±4.3 <sup>B</sup>	0.436±0.009 <sup>B</sup>	9.87±0.8 <sup>C</sup>
40	1357±4.5 <sup>A</sup>	0.488±0.015 <sup>A</sup>	5.3±0.5 <sup>D</sup>
50	沉淀	-	-

### 2.5 EGCG-CS-PAA纳米体系的表征

选用上述制备CS-PAA纳米的最佳条件 (CS/PAA质量比1.0, pH为3.5, NaCl的浓度为0, 搅拌时间60 min) 制备EGCG-CS-PAA纳米粒。EGCG-CS-PAA纳米粒的平均粒径Dh、PDI、Zeta电位、包封率EE如表5所示, 随着EGCG浓度的增加, 粒径有所增加, 电位下降, 包封率下降。相比于CS-PGA (聚谷氨酸) 包埋, CS、PAA所制备的纳米粒具有更高的包封率<sup>[8]</sup>。

### 2.6 EGCG-CS-PAA纳米粒的微观形态观察

通过透射电子显微镜 (TEM) 观察纳米粒微观结构如图1所示, 图1-A显示纳米粒经透射电镜在0.2 μm观察范围内, 纳米粒子呈均匀的球形, 分布均匀, 无明显的聚集。图1-B显示, 所测的纳米粒径在90 nm左右, 由于TEM测量过程中需要干燥, 测量的

粒径比动态光散射测得水合粒径小<sup>[19]</sup>。

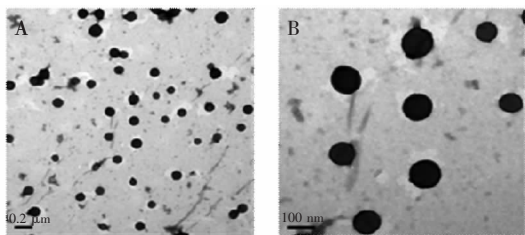


图1 EGCG-CS-PAA纳米粒透射电镜观察的微观结构  
Fig.1 TEM micrographs of EGCG-CS-PAA nanoparticles:  
A×50K, B×150K

## 2.7 FRAP法对EGCG-CS-PAA纳米粒抗氧化活性分析

通过FRAP法对EGCG-CS-PAA纳米粒抗氧化活性分析如图2所示,随着时间的延续,EGCG-CS-PAA纳米粒抗氧化活性大于自由EGCG,说明纳米粒对EGCG具有较好的保护作用。

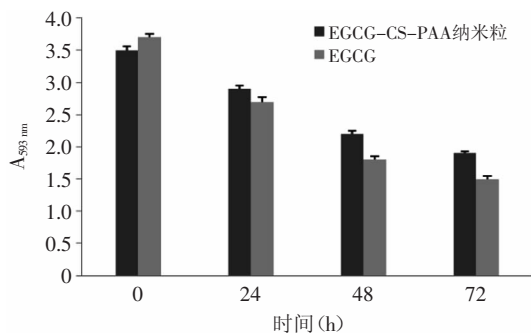


图2 FRAP法测EGCG纳米粒的抗氧化活性  
Fig.2 Antioxidant activities of EGCG nanoparticles by FRAP

## 2.8 EGCG-CS-PAA纳米粒在高温条件对EGCG的保护作用

EGCG-CS-PAA纳米粒在高温条件下对EGCG的保护作用如图3所示,纳米粒组中EGCG含量下降的趋势明显缓于自由EGCG,在高温92 h过后,EGCG纳米体系中EGCG保留率依然45.7%,远高于EGCG自由液的含量。这表明所制备的EGCG-CS-PAA纳米体系能在高温条件下对EGCG的稳定性具有较好的保护作用。

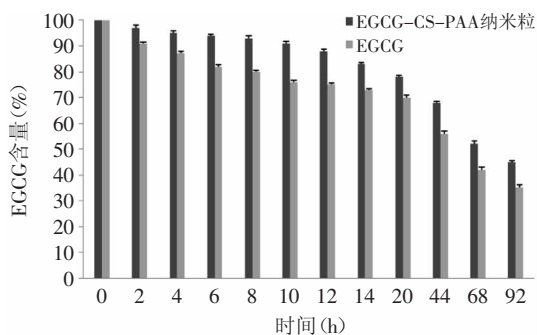


图3 80℃下EGCG纳米粒中EGCG的保留率  
Fig.3 The EGCG remaining in EGCG nanoparticles at high temperature

## 2.9 EGCG-CS-PAA纳米粒在碱性条件(pH7.2)对EGCG稳定性的保护作用

EGCG-CS-PAA纳米粒在高温条件下对EGCG的保护作用如图4所示,EGCG在碱性环境下迅速分解,经过2 h EGCG保留率迅速下降为11.6%,再经过2 h EGCG几乎分解完全。EGCG-CS-PAA纳米粒在前1 h EGCG保留率下降较快56%,可能因为EGCG纳米粒表面吸附的游离EGCG迅速被分解,随后下降趋势平缓,经过4 h后其EGCG保留率还有33.1%。说明EGCG-CS-PAA纳米粒对EGCG在碱性环境下的稳定性具有较好的保护作用。

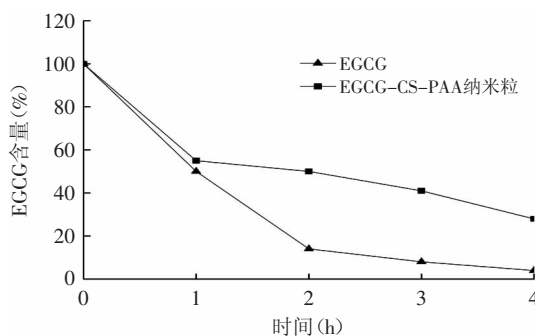


图4 EGCG纳米粒在pH7.2碱性环境下对EGCG的保护作用  
Fig.4 The EGCG remaining of EGCG nanoparticles at alkaline environment, pH7.2

## 3 结论

利用CS和PAA之间离子交联作用制备CS-PAA纳米粒载体,以此装载EGCG。CS/PAA质量比、pH、搅拌时间及离子浓度对纳米粒的粒径、Zeta电位、载药率都有显著的影响。在CS/PAA质量比为1.0、pH为3.5、反应时间为60 min时,制备出的EGCG-CS-PAA纳米粒在粒径和表面电荷等物理特征为最佳。FRAP法对EGCG-CS-PAA纳米粒的抗氧化活性分析表明:纳米体系对EGCG的抗氧化活性具有良好的保护作用。EGCG-CS-PAA纳米体系能在高温、碱性等环境下起到较好的保护EGCG的作用,对EGCG在食品、医药保健等领域的实际应用具有重要意义。

## 参考文献

- [1] Carloni P, Tiano L, Padella L, et al. Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar[J]. Food Research International, 2013, 53(2): 900-908.
- [2] Sang S, Cheng X, Stark R E, et al. Chemical studies on antioxidant mechanism of tea catechins: analysis of radical reaction products of catechin and epicatechin with 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl[J]. Bioorg Med Chem, 2002, 10(7): 2233-2237.
- [3] Shimizu M, Shirakami Y, Sakai H, et al. Epigallocatechin gallate inhibits growth and activation of the VEGF/VEGFR axis in human colorectal cancer cells[J]. Chemico-Biological Interactions, 2010, 185(3): 247-252.
- [4] Raederstorff D G, Schlachter M F, Elste V, et al. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2003, 14(6): 326-332.

- [5] Hwang H S, Feng W, Yang T, et al. Effect of (-)-epigallocatechin Gallate (EGCG), a green tea extract, on excitation-contraction coupling of murine cardiomyocytes [J]. *Biophysical Journal*, 2009, 96(S3): 121a.
- [6] Zimeri J, Tong C H. Degradation Kinetics of (-)-Epigallocatechin Gallate as a Function of pH and Dissolved Oxygen in a Liquid Model System[J]. *Journal of Food Science*, 1999, 64(5): 753-758.
- [7] Sang S, Lee M, Hou Z, et al. Stability of tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate and formation of dimers and epimers under common experimental conditions[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2005, 53(24): 9478-9484.
- [8] Shpigelman A, Israeli G, Livney Y D. Thermally-induced protein-polyphenol co-assemblies: beta lactoglobulin-based nanocomplexes as protective nanovehicles for EGCG[J]. *Food Hydrocolloids*, 2010, 24(8): 735-743.
- [9] 吴克刚, 李向华. 食品微胶囊技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006: 71-72.
- [10] Chen YC, Yu S H, Tsai GJ, et al. Novel technology for the preparation of self-assembled catechin/gelatin nanoparticles and their characterization[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58: 6728-6734.
- [11] 梁进. 纳米茶多酚的制备及其抗肿瘤作用研究[M]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [12] Dube A., Nicolazzo JA, Larson I. Chitosan nanoparticles enhance the intestinal absorption of the green tea catechins(+)-catechin and(-)-epigallocatechin gallate[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 41: 219-225.
- [13] Kang M L, Cho C S, Yoo H S. Application of chitosan microspheres for nasal delivery of vaccines[J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(6): 857-865.
- [14] Cheng Y, Qu H, Ma M, et al. Polyamidoamine(PAMAM) dendrimers as biocompatible carriers of quinolone antimicrobials: An *in vitro* study[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, 42(7): 1032-1038.
- [15] Shu S, Zhang X, Teng D, et al. Polyelectrolyte nanoparticles based on water-soluble chitosan-poly(1-aspartic acid)-polyethylene glycol for controlled protein release[J]. *Carbohydrate Research*, 2009, 344(10): 1197-1204.
- [16] Gong J, Liu J. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2009, 42(2): 477-482.
- [17] Müller R H, Jacobs C, Kayser O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy rationale for development and what we could expect for the future[J]. *Ad Drug Deliv Re*, 2001, 47(1): 3-19.
- [18] Shu S, Zhang X, Teng D, et al. Polyelectrolyte nanoparticles based on water-soluble chitosan-poly(1-aspartic acid)-polyethylene glycol for controlled protein release[J]. *Carbohydrate Research*, 2009, 344(10): 1197-1204.
- [19] Zhu S, Li Y, Li Z, et al. Lipase-catalyzed synthesis of acetylated EGCG and antioxidant properties of the acetylated derivatives[J]. *Food Research International*, 2014, 56: 279-286.

(上接第114页)

制提供理论依据; 梔子黄 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制物质对于靶酶的来源表现出不同的活性, 说明每种 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制成分针对靶酶的来源具有一定的选择性。

### 3 结论

梔子黄能有效抑制体外 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性, 这可能是其有效控制血糖, 尤其是餐后血糖的原因。作为安全性高的中药材梔子的重要活性成分梔子黄在最佳反应体系为底物浓度为3 mmol/L、酶量为50  $\mu$ L、反应时间为50 min时具有较强的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性。梔子黄对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性为竞争性抑制。其嗜热芽孢杆菌来源的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶没有表现出抑制活性, 而对猪胰肠来源的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶、大米来源 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和酵母来源 $\alpha$ -葡萄糖苷酶均表现出抑制活性。这为今后开展梔子降血糖活性的研究, 开发无毒无副作用的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂具有重要的意义。

### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [2] 王钢力. 梔子属植物化学成分研究进展[J]. *中国中药杂志*, 1996, 21(2): 67.
- [3] 高桥崧. 水溶性胶体在美国休闲食品中的应用[J]. *食品工业*, 1996(3): 35-37.
- [4] Che N Y, Zhang H, Tian X, et al. Antioxidant potential of crocins and ethanol extract of *Gardenia jasminoides* ELLIS and *Crocus sativus* L: a relationship investigation between antioxidant activity and crocin contents[J]. *Food Chemistry*, 2008, 109(3): 484-492.
- [5] He S Y, Qian Z Y, We N N, et al. Influence of crocetin on experimental atherosclerosis in hyperlipidemic-diet quails[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2007, 554: 191-195.
- [6] Chen Y I, Cheng Y W, Tzeng C Y, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor activating hypoglycemic effect of *Gardenia jasminoides* Ellis aqueous extract and improvement of insulin sensitivity in steroid-induced insulin resistant rats[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 14: 30.
- [7] 费曜, 罗华丽, 刘凡, 等. 梔子对四氧嘧啶糖尿病小鼠糖代谢及肾功能的影响[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(1): 42
- [8] 肖小华, 王丽华, 徐丽瑛, 等. 梔子抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性成分研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(8): 210-212
- [9] Pierre C, Roland R, Tremblay D, et al. P-Nitrophenol- $\alpha$ -gluco-pyranoside, as substrate for measurement of maltase activity in human semen[J]. *J Clin Chem*, 1978, 24: 208-211.