

磷脂与 脂质体技术

编著◎张伟光 姜国玉 康慧珏

HEUP 哈尔滨工程大学出版社
Harbin Engineering University Press

前 言

磷脂从生成、结构与性能上来说,属于生物表面活性剂。磷脂分子既含有疏水性的脂肪酸基,又含有亲水性的磷酸脂基,所以它又是一种两性表面活性剂,具有很多特殊的化学性能。磷脂不仅是一种多功能的天然保健品,而且在化学工业、医药、美容化妆、农业生产等领域也具有广泛的应用。

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。脂质体是一种人工生物膜,在水中,磷脂分子亲水头部插入水中,疏水尾部伸向空气,搅动后形成双层脂分子的球形脂质体。鉴于脂质体的特殊结构和磷脂生物相容性好等特点,可用脂质体作为载体包裹药物,脂质体剂型具有靶向、缓释、低毒、低残留、对生物体无毒、无副作用等特点。

国内介绍磷脂与脂质体技术研究的书籍较少,作者参考了国内外最新的文献综述,并结合多年从事磷脂与脂质体技术研究的工作经验编写了本书。

本书共分八章:第一章磷脂的性质及结构分析,系统介绍了磷脂的理化性质、结构特征及分析方法;第二章磷脂的制备工艺,主要介绍了磷脂的分离提纯、精制、改性、制备方法及工业化生产;第三章大豆脑磷脂的抽提工艺研究及乙酰化改性,主要介绍了大豆脑磷脂抽提工艺条件优化、脑磷脂乙酰化反应条件的优化、乙酰化产物结构的分析、乙酰化脑磷脂的表面物性研究;第四章脂质体的发展历史及应用,主要介绍了脂质体的发展历史、脂质体作为药物载体的应用、皮肤用脂质体的研究进展、脂质体眼部给药系统的研究进展、脂质体技术在化妆品制剂中的应用;第五章脂质体的制备技术,主要介绍了制备脂质体的原料及化学分析、脂质的结构与分类、脂质体的结构性质和分类、脂质体的作用机制和给药方式、脂质体的体内分布和提高靶向性的途径、脂质体的特点及制备方法;第六章脂质体物理性质的研究方法,主要介绍了脂质体形态的观察及粒径的测量、光散射法在脂质体研究中的应用、脂质体膜及微囊物的物理性质研究;第七章阿奇霉素脂质体的制备及性能研究,主要介绍了阿奇霉素脂质体测定方法、阿奇霉素脂质体制备方法、稳定性研究、制备工艺条件及不同处方因素对制备方法的影响、阿奇霉素脂质体的性能研究、大豆磷脂阿奇霉素阳离子脂质体的制备及性质研究;第八章维生素 E、罗红霉素与克拉霉素脂质体的制备及性质研究,主要介绍了维生素 E、罗红霉素与克拉霉素脂质体的制备方法、包封率的测定、制备工艺条件的优化及性质研究。

本书第一章由姜国玉、康慧珏编写;第二章由姜国玉编写;第三章和第四章由张伟光、康慧珏编写;第五章、第七章、第八章由张伟光编写;第六章由张伟光、姜国玉编写。

在本书的编写中,参考了多位作者的著作及研究论文,在此向这些作者表示感谢!另外作者向黑龙江省教育厅科学技术研究项目[11531413]、齐齐哈尔市重点工业攻关及推广科学技术研究项目[GYGG—090012]对于本书出版所给予的支持表示感谢!

由于作者水平有限,书中不足甚至错误之处在所难免,恳请读者批评指正,在此深表谢意。

编 者
2010 年 5 月

目 录

第一章 磷脂的性质及结构分析	1
第一节 磷脂的性质	1
第二节 磷脂的基本结构	16
第三节 磷脂的分析	18
第四节 磷脂的分布与生理功能	43
第二章 磷脂的制备工艺	48
第一节 国内外磷脂生产状况	48
第二节 磷脂的制备及分离	50
第三节 磷脂的工业化生产	74
第四节 磷脂的改性	78
第三章 大豆脑磷脂的抽提工艺研究及乙酰化改性	94
第一节 脑磷脂的制备及乙酰化反应原理	94
第二节 工艺条件的优化及乙酰化产物结构的分析	98
第三节 乙酰化脑磷脂的表面物性研究	110
第四章 脂质体的发展历史及应用	119
第一节 脂质体的发展历史	119
第二节 脂质体作为药物载体的应用	120
第三节 皮肤用脂质体的研究进展	133
第四节 脂质体眼部给药系统的研究进展	136
第五节 脂质体技术在化妆品制剂中的应用	138
第五章 脂质体的制备技术	141
第一节 制备脂质体的原料及化学分析	141
第二节 脂质的结构与分类	148
第三节 脂质体的结构、分类与性质	152
第四节 脂质体的作用机制和给药方式	158
第五节 脂质体的体内分布和提高靶向性的途径	160
第六节 脂质体的特点	164
第七节 脂质体的制备方法	166
第六章 脂质体物理性质的研究方法	172
第一节 脂质体形态的观察及粒径的测量	172
第二节 光散射法在脂质体研究中的应用	175

第三节 脂质体膜及微囊物的物理性质研究	178
第七章 阿奇霉素脂质体的制备及性能研究	184
第一节 研究目的及意义	184
第二节 阿奇霉素脂质体的测定方法	184
第三节 脂质体包封率的测定方法	186
第四节 阿奇霉素脂质体的制备方法及稳定性研究	187
第五节 制备工艺条件及不同处方因素对制备方法的影响	190
第六节 正交实验法优选工艺条件	198
第七节 阿奇霉素脂质体的性能研究	199
第八节 大豆磷脂阿奇霉素阳离子脂质体的制备及性质研究	205
第八章 维生素 E、罗红霉素与克拉霉素脂质体的制备及性质研究	210
第一节 大豆磷脂维生素 E 脂质体的制备	210
第二节 大豆磷脂罗红霉素脂质体的制备及渗漏率研究	214
第三节 克拉霉素脂质体的制备及性质研究	220
参考文献	225

第一章 磷脂的性质及结构分析

第一节 磷脂的性质

一、磷脂概述

磷脂也称磷脂类、磷脂质,是含有磷酸的脂类,属于复合脂。磷脂是组成生物膜的主要成分,分为甘油磷脂和鞘磷脂两大类,这两大类分别由甘油和鞘氨醇构成。磷脂是两性分子,一端为亲水的含氮或磷的尾,另一端为疏水(亲油)的长烃基链。因此,磷脂分子亲水端相互靠近,疏水端相互靠近,常与蛋白质、糖脂、胆固醇等其他分子共同构成脂双分子层,即细胞膜的结构。

纯净的磷脂无色无味,在常温下为一种白色的固体物质。但由于制取的方法、原料种类、储存条件等不同,磷脂产品的颜色可能为淡黄色或棕色,在低温下可结晶。磷脂极易吸水,吸水后呈棕黑色胶状物,而且极易氧化,在空气中放置一段时间后,会由白色或黄色逐渐变成褐色,最后变成棕黑色,这是因为磷脂分子中的大量不饱和脂肪酸被空气氧化所致。磷脂接触空气时或在阳光照射下极不稳定,易氧化酸败从而色泽变深,但在无水分的油脂中比较稳定。所以浓缩磷脂中的油脂可以防止磷脂氧化酸败,有利于磷脂的储存。

二、磷脂研究的历史和现状

在磷脂的开发利用方面,日本、美国、德国处于领先地位。早在 20 世纪 30 年代,德国就已开始进行磷脂的研究,60 年代以后,美国、欧洲和日本等地区和国家将其粗磷脂、精磷脂工业化,70 年代末 80 年代初,世界上对磷脂方面的研究最为活跃。据统计,美国《化学文摘》(CA)所列的有关磷脂的专题文献在 1972—1976 年间为 900 多篇;1977—1981 年间增至 8 000 多篇,其中生物学研究占 70.5%,分析方法占 3.5%,制取研究占 1.2%,特性研究占 16.5%,反应研究占 2.4%,应用研究占 4.7%,伴随物研究占 1.0%;1982—1986 年期间为 1 900 余篇。1981 年第一届国际大豆卵磷脂专题研讨会在意大利首都罗马召开,此后基本上每隔一年召开一次。特别是 1986 年在美国芝加哥召开的第四届国际卵磷脂会议上成立的国际卵磷脂研究集团,每年都举行一次国际性的聚会,互通科研、生产、应用及销售方面的信息。磷脂在世界上已备受人们的青睐,美国食品和药物管理局(FDA)将卵磷脂列为公认的安全物质,联合国粮农组织(FRO)和世界卫生组织(WHO)专家委员会报告规定,对卵磷脂的摄取量不作限量要求。

磷脂作为日常营养补助品的理念已经深入人心,磷脂被称为“头脑补助食品”“天然之精神安定剂”“天然利尿剂”。日本营养学教授小堀博臣在其所著的《大豆磷脂质》一书中称磷脂为“本世纪最伟大的保健食品”。在美国和西欧,人们对磷脂的关心程度仅次于维生素 C 和维生素 E。最近几年,国外许多公司都致力于高附加值磷脂产品的开发及其应用技术

的研究。从磷脂的市场结构来看,目前它已由传统的低级粗制品向高级精制品、酶改性精制品以及复合制品转变。

我国从 20 世纪 60 年代以来不断出现磷脂研究团队,但多数仅限于单一产品或初级分离阶段。80 年代以后,我国才真正开始磷脂的研究工作,并在磷脂制备和应用方面取得了一定成果。这些成果包括浓缩磷脂和粉状磷脂的制取工艺与设备的研究,磷脂在医药、化妆品、面包、速溶乳粉、皮革和涂料等方面的应用研究。到了 90 年代,研究开发工作侧重于大豆磷脂的改性与应用研究、高纯度卵磷脂的提取技术研究和磷脂保健食品的开发,改性大豆磷脂,大豆卵磷脂保健食品胶囊、冲剂、口服液等产品在此期间相继问世。张星辰等人将大豆浸出或预榨,得到大豆毛油;再精炼,得到精炼油脚;经真空脱水,加入丙酮进行高效萃取,得到湿磷脂;再经过负压蒸发,配料,经喷雾干燥,得到饮料颗粒;再经选粒制成大豆固体饮料。何正善、杨群志等人发明一种以提纯精制的天然大豆磷脂为主要原料,加水匀浆的含磷脂脂质体的保健饮品和大豆磷脂脂质体药物。

有关大豆磷脂在医药临床方面的研究,国内一些医学单位相继做了大量细致的研究工作,并取得了可喜的成果。在医药行业中用大豆磷脂替代蛋黄磷脂既降低了成本,又减少了进口量。大豆磷脂脂质体药物经临床试验证明,对降血脂、降低血液黏稠度,有效率达 100%。静脉注射用精制大豆磷脂的开发是医药科技年发展的重要课题,它是用高纯度药用大豆磷脂研制的抗癌新药针剂,日前在国内市场供不应求。鞍山市东方生物保健品有限公司承担了国家科委成果推广计划——“药用及针剂卵磷脂的开发”研究项目,创造性地开发出生产新工艺,用大豆粉末磷脂提取药用及针剂卵磷脂,并建成了国内较大规模的药用和针剂卵磷脂生产线。华东活性磷脂实用技术研究所研制的大豆活性磷脂,经国内外权威部门检测,其人体吸收率达 80%,已处于国际领先水平。天津粮油所研制成功的强化硒卵磷脂是国内首创。

三、磷脂的物理性质

1. 溶解度

磷脂根据加工和漂白程度的不同而呈现不同色泽,可以是乳白色、浅黄色或棕色。磷脂可溶于脂肪烃、芳香烃、卤化烃类有机溶剂,如乙醚、苯、三氯甲烷和石油醚等。它只部分溶于脂肪族的醇类,如乙醇。像其他非极性的表面活性剂一样,磷脂不溶于极性的溶剂,如乙酸甲酯,尤其是丙酮;但当有少量油脂存在时,磷脂在丙酮和乙酸甲酯中的溶解度会增加。卵磷脂可溶解于乙醇中,而脑磷脂则不溶解。磷脂在上述溶剂中溶解度的差异,可作为分离、提纯及定量磷脂的依据。磷脂能溶于动植物油脂、矿物油及脂肪酸中,但实际上不溶于冷的动植物油脂中。在磷脂中加入脂肪酸,可使塑性磷脂软化或液化,成为流体磷脂。磷脂是脂类化合物,能与油脂完全混溶。植物种子榨油或浸油是将磷脂和植物油混合在一起压榨或浸出,所以磷脂存在于各种粗制的植物毛油中,其含量大约为 0.55% ~ 3.5%。然而磷脂易吸水,吸水后会形成磷脂水合物,生成极性化合物而不溶于油脂。精炼植物毛油而采用水法脱胶时,磷脂水合物从油中沉淀出来称为水化油脚,精制后可得到磷脂。

2. 胶体性

磷脂分子中有磷酸根与氨基醇亲水基团和碳氢键疏水基团,能使水与油两个不相溶的相形成稳定的胶体,这是因为磷脂在水与油两相之间形成一个界面层,由于这个界面层的存

在而降低了油与水之间的界面张力。磷脂存在于油脂中,具有明显的亲水胶体性,当与适量的水相混时,磷脂即从油脂中分离出来,特别是在 $\text{pH} > 8$ 呈微碱性的热水中更易吸水膨胀,直至生成胶体溶液。磷脂的这种吸水膨胀产生乳化胶体的特性,是它从毛油中制取和被广泛应用的基础。

3. 水合性

磷脂可分为能水合的和不能水合的两类。磷酸酯基团处于丙三醇 α -位(即 1 或 3-位)的 α -磷脂是能水合的磷脂,磷酸酯基团处于丙三醇 β -位(即 2-位)的 β -磷脂是不能水合的磷脂。磷脂的钙盐、镁盐和溶血磷脂酸也是不能水合的。浓酸或酸酐可以将不能水合的磷脂转化成能水合的磷脂。

4. 旋光性

α -磷脂酰胆碱具有旋光性,在等量的氯仿与甲醇混合物中,其分子旋光为 $+49^\circ$,经推导与甘油醛相比为 L 构型; β -磷脂酰胆碱没有旋光性、不溶于乙醇,也不能被普通的溶剂萃取。磷脂酰乙醇胺及磷脂酰丝氨酸的 α -型与 β -型都没有旋光性。

四、磷脂的化学性质

磷脂由于其本身特殊的两亲结构,可以和多种物质进行反应,并通过这些反应来改善其本身的性能,从而得到性能良好的改性磷脂。

1. 酸解 磷脂与碱的水溶液或醇溶液一起加热,即可发生水解反应,生成皂化物、甘油磷酸酯、磷酸肌醇、胺基化合物和羟基物,长时间加热则生成酸解产物。

2. 乙酰基化 用醋酸酐或乙酸乙酯等酰化剂可使脑磷脂中的胺基酰化,酰化后可使乳液稳定性增强。

3. 羟基化 以含羟基(OH —)的化合物为羟化剂,可使脑磷脂中的羟基酰化,酰化后可使乳液稳定性增强。

4. 酰羟化 先将磷脂用乙酸酐酰化,然后与双氧水发生反应,制得的乳液不但稳定性增强,其亲水性也得到提高。

5. 磺化 在醛、酮或酸存在下,用二氧化硫使磷脂磺化,醛酮等也参加反应,产物在水中能形成透明的溶液,具有抗酸碱的沉淀作用。

6. 饱和化 在酸、镍、过氧化氢等催化剂的作用下,磷脂中不饱和脂肪酸可与双氧水等发生加成反应,使磷脂饱和。

7. 活化 在磷脂分子中引入不饱和基团,使其不饱和度增加,增强其可反应的程度。用苯或甲苯作溶剂可使顺丁烯二酸酐与磷脂发生反应。在磷脂分子中引入一个饱和基团,使产物水溶性大为改善,且活性增强。

8. 氢化 磷脂可以用镍作催化剂在适当条件下进行氢化,氢化后生成白色固体的氢化磷脂。为了便于操作,氢化可在乙酸乙酯等溶剂中进行。氢化后的磷脂可作为润滑油的添加剂。卵磷脂与过氧化氢发生反应,会被羟基化,易分散于水中,而且在油脂中比天然卵磷脂的乳化性更好。卵磷脂与二氧化硫发生反应的产物可以在水中形成清澈的分散体,可抵抗酸和盐的沉淀作用。卵磷脂的不饱和脂肪酸可以与氯、溴、碘发生加成反应。

9. 其他反应 磷脂中的不饱和酸可以溴化而形成各种卤化磷脂质,这些物质的理化性质与磷脂相同。用普通的方法只能勉强地将磷脂加以磺酸化,因为一般用的磺酸化剂都是

强烈的脱水剂,如硫酸及氯磺酸等都会将其碳化;在醛类、酮类、酚类等存在下,磷脂用二氧化硫来处理也很容易成为磺酸化衍生物,而醛、酮或酚都会变成磷脂分子中的一部分。此种磺酸化产品可用于纺织工业及制革业中的揉革用原料。

五、磷脂的表面性质

从生成、结构与性能方面来说,磷脂属于生物表面活性剂。磷脂分子既含有疏水性的脂肪酸基,又含有亲水性的磷酸脂基,所以它又是一种两性表面活性剂。磷脂具有亲油性,使其能以薄膜状包裹在油滴表面;磷脂又具有亲水性,能与水分子相吸引,大大降低了水油之间的界面张力,从而使得水油混合液成为均匀稳定的乳化液。磷脂在水油体系中的添加量为水油混合液的 0.06% ~ 0.1% 时,即具有明显的乳化作用。

从大豆中获得的磷脂可以用于食品乳化剂,也可以用于药物乳化剂,并可在化妆品、食品、饲料等领域中应用。不同含量的磷脂以及不同组分的磷脂可以用于不同领域。

乳化剂在体系中的乳化作用与其亲水-亲油平衡值(HLB)有关。磷脂的 HLB 值通常在 9 ~ 10 之间。HLB 值在 3 ~ 6 之间有利于形成 W/O 型乳状液,HLB 值在 8 ~ 18 之间有利于形成 O/W 型乳状液,磷脂中各组分含量的多少对其乳化性质有一定影响,如 PC(磷脂酰胆碱)含量高,有利于形成 O/W 型乳状液,而 PI(磷脂酰肌醇)含量高,则有利于形成 W/O 型乳状液。

1. 乳化性质

(1) 乳状液理论

关于乳状液的理论已有几千年的历史。例如,公元 2 世纪希腊外科医生 Galen 首次记录了蜂蜡的乳化。但乳状液理论的真正发展却是在 19 世纪以后。说起乳状液,人们可能会想到一杯乳白色的牛奶。其实除了食品之外,乳状液在我们的日常生活中还有很多,比如油漆、农药、化妆品等,都属于乳状液。甚至连人体消化也离不开乳状液的作用,比如脂肪必须在胆汁的作用下转变为乳状液才能被人体吸收。微乳液最早由 Schulman 和 Hoar 在 1943 年提出,它的理论和应用发展极为迅速,已经被广泛地应用于三次采油、洗涤去污、催化、化学反应介质和药物传递等领域中。微乳液通常是由水、油与表面活性剂和中等链长醇混合,能自发地形成透明和半透明的分散体系,也可利用极性非离子表面活性剂在不加醇的情况下得到。微乳液与普通乳状液相比,具有特别的性质:界面张力小,通常为 $10^{-9} \sim 10^{-5}$ N/m;胶束粒子很小,热力学更稳定,能够自发形成,不需要外界提供能量,经高速离心分离不发生分层现象;外观透明或接近透明。

乳状液是一种热力学不稳定的多相分散体系,是在表面活性剂存在的条件下,一种或几种液体以液滴(微粒或液晶)形式分散在另一种与之互不相溶的液体中形成的具有乳状外观的混合物。其中,液滴被称为分散相(也称内相或不连续相),另一种连成一片的液体被称为分散介质(也称外相或连续相)。液珠半径一般为 $10^{-7} \sim 10^{-5}$ m,所以乳状液属于粗分散系统。乳状液一般由水和与水不互溶的有机液体(统称为油)组成。根据分散相和连续相的不同,可将乳状液分为水包油和油包水两种类型。前者油是分散相而水是连续相,表示为油/水(或 O/W);后者水是分散相而油是连续相,表示为水/油(或 W/O)。例如牛奶和石油原油就分别是 O/W 型和 W/O 型乳状液。鉴别乳状液的类型的方法如下:染色法,在乳状液中加入少许油溶性或水溶性的染料,在显微镜下观察是内相还是外相被染色;稀释法,取少量乳状液滴入水中或油中,若乳状液能在水中稀释即为

O/W型,若在油中稀释则为 W/O 型。

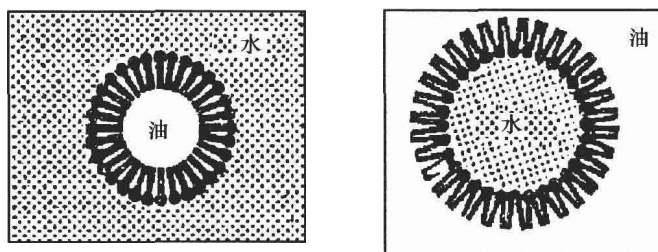
关于微乳液的自发形成,历史上提出了许多理论:如 Schulman 和 Prince 等提出的负界面张力理论、Schulman 与 Bowcoff 提出的双层膜理论、Bobbins 等提出的几何排列理论及 Winsor 等发展的 R 比理论,在这些理论中以 Winsor 的 R 比理论更为完善。 R 比理论从分子间相互作用出发,认为表面活性剂、助表面活性剂、水和油之间存在着相互作用,并定义为

$$R = (A_{co} - A_{oo} - A_{ii}) / (A_{cw} - A_{ww} - A_{hh})$$

式中, A_{co} 和 A_{cw} 分别为油、水与表面活性剂之间的内聚能; A_{oo} 和 A_{ww} 分别为油分子之间和水分子之间的内聚能; A_{ii} 为表面活性剂亲油基之间的内聚能; A_{hh} 为表面活性剂亲水基之间的内聚能。

微乳液体系可以分为 4 个类型:Winsor I, Winsor II, Winsor III 和 Winsor IV。Winsor I, $R < 1$, 是水包油型微乳液; Winsor II, $R > 1$, 是油包水型微乳液; Winsor III 是 I 和 II 的中间相, $R = 1$, 是中相微乳液,也是双连续相结构。其中 Winsor I, Winsor II, Winsor III 为三相体系,在加入合适的表面活性剂时可以形成 Winsor IV。

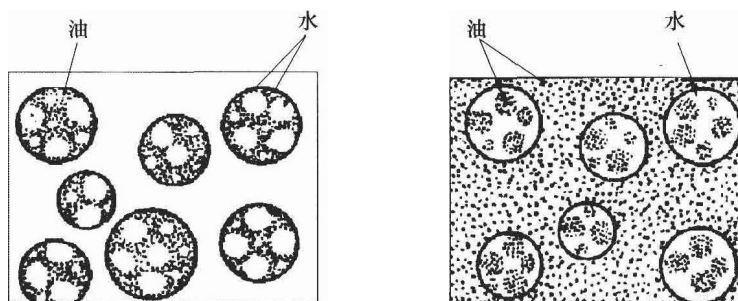
近年来又出现了所谓的双重或多重乳状液。这种乳状液是由两种或两种以上的不互溶液相所组成,即在相当于简单乳状液的分散相或内相中又包含了尺寸更小的分散质点,通常称为包胶相。类似于简单乳状液,多重乳状液也有两种类型,即 W/O/W 型和 O/W/O 型。前者是不互溶的油相将两个水相隔开,后者则是不互溶的水相将两个油相隔开。这类体系与传递现象和分离过程密切相关。例如,在药物的受控释放(缓释)技术中,包胶相被用作活性组分的存储器。简单乳状液和多重乳状液的结构如图 1-1 和图 1-2 所示,乳状液的微观结构示意图与真实形貌如图 1-3 所示。



O/W 型

W/O 型

图 1-1 O/W 型和 W/O 型简单乳状液的结构



W/O/W 型

O/W/O 型

图 1-2 W/O/W 型和 O/W/O 型多重乳状液的结构

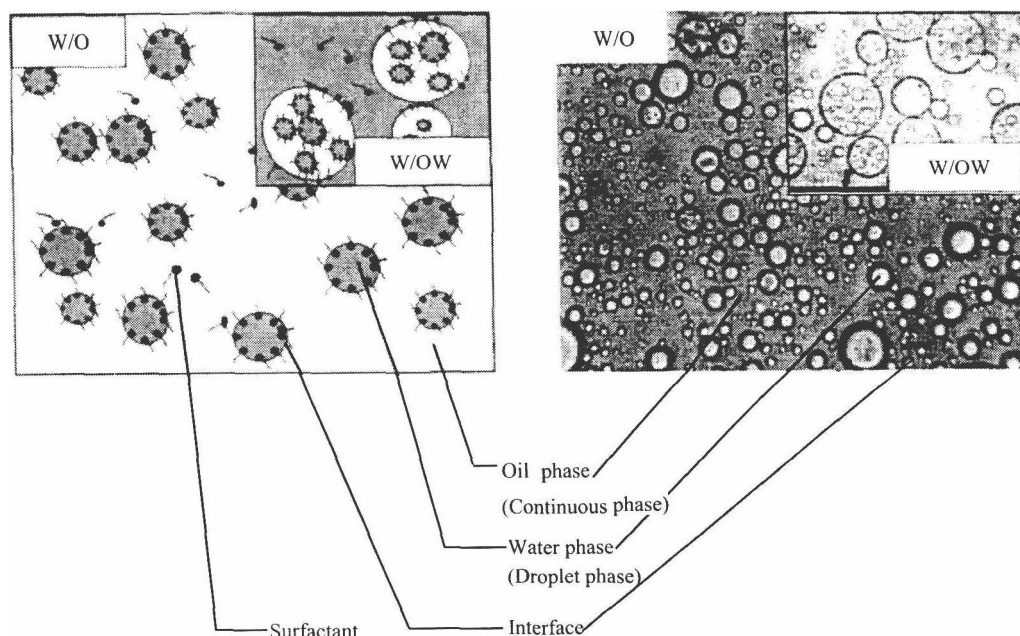


图 1-3 乳状液的微观结构示意图与真实形貌

乳状液的制备方法多种多样。按照乳化剂的添加方式,制备乳状液的方法可以分为乳化剂在水中法、乳化剂在油中法、轮流加液法、初生皂化法和自然乳化法等。按照物理化学原理,制备乳状液的方法又可以分为转相乳化法、D 相乳化法、液晶乳化法和凝胶乳化法等。

上述各种制备方法均是通过高速剪切压力作用向体系内输入大量的能量来实现相分散的。这样制备的乳状液通常具有较宽的粒度分布,稳定性不高;另外有些物质对机械剪切压力十分敏感,例如在高速剪切作用下,蛋白质易降解、淀粉易变性,不能采用上述方法制备其乳状液产品。因此,许多学者致力于开发新型的乳化设备与乳化工艺。近年来出现了膜法乳化和微道法乳化,两者的乳化机理基本相同。以膜法乳化为例,它是使用孔径均匀的微孔膜(有机/无机),利用膜自身所具有的细小孔道作为微分散器,在较低压力驱动下使分散相透过膜,在膜的另一侧受到连续相的流动剪切作用,直接形成微小液滴,从而制得粒径小、分布窄、较稳定的乳状液。这种方法能耗小,操作简单,已成为一个新的研究热点。许多文献已报道了孔道类型、孔径尺度、膜材料、跨膜压差、界面张力、表面活性剂类型与浓度、分散相组成与浓度、分散相与连续相在膜两侧的流型等对乳状液分散相的平均粒径和粒度分布的影响规律,并提出了拽力剪切(Drag with continuous phase)等乳化机理。乳化技术的发展必将推动乳状液产品的进一步研发与 ELM 技术的工业化应用。

制备乳状液的设备也种类繁多,有高速搅拌器、均质器、齿轮泵、超声乳化器、电超声乳化器、静态混合管和胶体磨等。胶体磨一般被用于大规模液膜乳状液的制备;均质器多用于液膜中试和工业过程;高速搅拌器与超声乳化器则常用于实验室研究中。

制备乳状液的最主要方法是分散法,即通过搅拌、超声波作用或其他机械分散作用使两

种流体能够充分混合,最终使得一相分散在另一相中。与分开的两个体相相比,O/W 体系形成乳状液后有两个明显的变化。其中一个变化是 O/W 界面面积大大增加,因此体系的界面能(表面过剩自由能) $\gamma\Delta A$ 很大(γ 为界面张力; A 为界面面积),界面面积增加不仅导致制备过程中要消耗更多的能量,更是引起体系热力学不稳定的根本原因;另一个变化是界面发生变形(由平界面变成弯曲界面)。根据 Laplace 公式,弯曲界面会导致出现附加压力 $\Delta p = 2\gamma/R$ (R 为液珠半径; p 为压力), Δp 亦称 Laplace 压力梯度。因此,外界必须提供足够的能量以克服这一压力梯度,而克服这种界面变形所消耗的能量大约是 $\gamma\Delta A$ 的 1 000 倍。事实上,制备乳状液时,实际需要的能量远远大于界面能,这部分能量显然正是消耗 $\eta_0 dv/dz$ 时产生的(η_0 为连续相的黏度; dv/dz 为速度梯度),而 η_0 通常变化不大,因此主要靠增加 dv/dz 来提供实际需要的能量,如通过提高搅拌速度或增加超声波强度来实现。当有表面活性剂存在时,由于界面张力显著下降, $\gamma\Delta A$ 和 ΔA 皆减小,因此可使所需的能量大大降低,某些情况下可以降低 10 倍甚至更多。但形成乳状液总是需要外界提供能量。相反地,微乳状液是自发形成的。制备乳状液时的一个关键问题是制得的乳状液是哪一种类型。经验证明,影响乳状液类型的因素有:①两相体积比;②两相的黏度差异;③表面活性剂的性质和浓度;④温度。

对于不存在表面活性剂的两个纯液相,①和②是主要因素。Ostwald 提出,对于单分散体系,分散相排列最紧密时 φ 至多为 0.74,因此连续相的体积分数至少要达到 0.26。这一规则被称为 Ostwald 相体积规则,并已被实验所证实。但也有许多体系, φ 可超过 0.74,甚至可以达到 0.9 以上,究其原因是体系的多分散性或液珠的不规则形状所致,如图 1-4 所示。

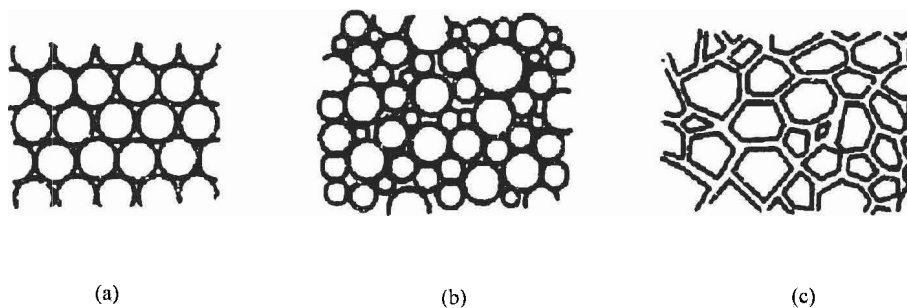


图 1-4 乳状液

乳状液虽然是热力学不稳定的因素,但在适当的条件下却能长期保持相对的动态稳定。这个条件主要是界面要存在刚性吸附膜。尽管乳状液最终被破坏是由于液珠的完全聚结,分成油、水两相,但沉降或乳析、絮凝、转相、Ostwald 陈化等都可视为不稳定的表现,并且将促进液珠聚结。

(2) 不同磷脂酰胆碱含量的大豆磷脂的乳化性质

① 乳化能力

下面研究一下不同 PC 含量的磷脂对苯、豆油、石蜡、柴油、硅油的乳化能力,并与 OP 的乳化能力进行比较,测定结果如表 1-1 所示。

表 1-1 不同 PC 含量磷脂乳化能力的测定结果

PC 含量/%	豆油	苯	石蜡	柴油	硅油
25.6	21'32"	21'36	6'27"	13'23"	1 小时 19 分
39.7	19'21"	19'46	4'09"	12'56"	1 小时 28 分
52.1	17'20"	18'40	4'02"	12'15"	2 小时 11 分
63.5	16'55"	16'48	2'37"	12'12"	2 小时 16 分
69.6	16'30"	15'09	3'15"	11'26"	2 小时 28 分
OP	27'19"	24'78	5'20"	17'37"	3 小时 12 分

由表 1-1 可知,磷脂对苯、豆油、石蜡、柴油、硅油的乳化能力强弱依次为:硅油 > 豆油 > 柴油 > 石蜡 > 苯,此规律与 OP(辛基酚聚氧乙烯醚-10)相同,但磷脂的乳化能力低于 OP。除了对硅油是随着 PC 含量的增加,磷脂的乳化能力增大外,对其他油都是随着 PC 含量的增加,磷脂的乳化能力略有下降。但作为一种天然表面活性剂,磷脂可以根据组成的不同,替代其他合成乳化剂应用于食品、医药、化妆品、饲料等领域。

②乳化稳定性

乳状液的珠滴粒径细小,比表面积大,界面能高。大的比表面积和高的界面能使油水界面存在界面减小、能量降低的变化倾向,这是乳状液不稳定的动因。乳状液的不稳定性主要表现为以下几种形式:分层/沉降(creaming)、絮凝(floculation)、聚并(coalescence)、奥氏熟化(ostwald ripening)、相变(phase inversion)和破乳(demulsification)。

a. 分层/沉降 是指由于连续相和分散相之间存在密度差,分散相的珠滴在重力作用下将上浮或下沉,并在乳状液中建立起稳定的珠滴浓度梯度的过程。

b. 絮凝 是指乳状液中分散相的珠滴相互靠拢、接触并聚集成团的过程。引起絮凝的作用力是珠滴间的吸引力。絮凝速率取决于引起珠滴相互聚集的范德华引力和珠滴间双电层斥力的平衡关系。

c. 聚并 是指絮凝珠滴发生排液合并,原来小珠滴的液膜被破坏,形成体积较大而界面面积较小的珠滴的过程。影响聚并的因素包括液膜体系中的作用力和液膜厚度的局部变化等。聚并是乳状液被破坏的直接原因。

d. 奥氏熟化 通常被认为是穿越连续相的分子扩散过程。分子由高曲率的表面部分向低曲率的表面部分扩散,导致高曲率的表面消失、低曲率的表面增大,体系的总能量降低。该过程与诸多因素有关,如珠滴的尺度及其分布、分散相在连续相中的溶解度、两相组成、表面活性剂的种类与浓度以及界面的张力、强度和厚度等。

e. 相变 乳状液由于乳化条件或外界环境的改变,由 W/O 型转化为 O/W 型,或由 O/W 型转化为 W/O 型。

f. 破乳 是指乳状液变成油、水两相分离状态的过程。破乳速率的大小取决于界面膜

的物理化学性质、分散相的珠滴的表面电荷或立体位阻、连续相的黏度、珠滴尺度分布、油水两相体积比以及环境温度等。

在上述各种不稳定形式中,分层和絮凝是可逆的,而聚并、奥氏熟化和相变是不可逆的。这些不可逆过程一旦发生就会引起乳状液的严重破坏,最终导致油水分相。要想得到比较稳定的乳状液,首先要考虑乳化剂在界面上的吸附性质:吸附强者,界面浓度大,界面张力降低较多,界面分子排列紧密,相互作用强。因而界面强度大,形成的乳状液就较稳定。

在研究大豆磷脂(PC 含量为 54.48%)作乳化剂的乳化稳定性时发现,当油水比为 0.2~0.8,加入的乳化剂质量分数为 0.2%~2.0%时,可以观察到稳定的 O/W 型乳状液的浓度区。由乳化剂含量随油/水(体积分数)的变化情况及实验现象可知,高 PC 含量磷脂作乳化剂,在低含量乳化剂(质量分数为 0~0.5%)和油水比为 0.2~0.8 时,油层乳化约 1 h 后会分层,首先出现油滴凝结和聚集现象,慢慢地乳状液出现分层。而在高浓度乳化剂和高油水比时在 24 h 内不会发生聚集、分层现象。一般在油相中大约含 1.5%的乳化剂时,乳状液才能保持稳定。

在研究大豆混合磷脂(粉状,PC 含量为 25.6%)作乳化剂的乳化稳定性时发现,稳定的水包油性乳状液的油水比为 0.1~0.6,乳化剂的浓度为 0.5%~2%(在油相中大约为 1.5%)。在低浓度乳化剂和低油水比的条件下,不稳定区域也会出现凝结、聚集,且不久乳状液会分层。PC 含量高的混合磷脂较 PC 含量低的混合磷脂不易形成稳定的乳状液。这可能是由于混合磷脂中的 PA 和 PI 带有电荷,它们在水中的溶解性更好,比中性磷脂作乳化剂更易分散,从而形成更强的界面膜,提高了乳状液的稳定性。

以上是在乳化前先将乳化剂分散在油中。如果在乳化前先将乳化剂粉状磷脂分散在水中,然后剪切乳化,获得稳定的乳状液,则需要的乳化剂会有所不同。在乳化前先将乳化剂分散在水相时,要形成稳定的乳状液则需要较多的乳化剂;并且要获得稳定性好的乳化液,低油水比所需要的乳化剂要比高油水比所需要的乳化剂多一些。

在电解质 NaCl 存在的情况下,磷脂乳状液的稳定性与没有电解质就达到乳化状态时的稳定性不同。PC 含量为 54.48%的大豆磷脂和粉状大豆混合磷脂作乳化剂在添加 1% NaCl 时,乳状液要达到稳定状态所需要的乳化剂的量与没有电解质时有所不同。乳状液在有电解质存在的条件下需要比没有电解质时多出约 2 倍的乳化剂来达到稳定状态。在有 NaCl 时,不稳定的乳状液分层速度更快些,但出现絮凝和聚集现象则少一些。

根据胶体稳定性理论,有两种力影响分散乳状液聚集成液滴,分别为 London-范德华力和双电层间的静电斥力。由于这些力是独立的,总的结果表现为加和性。如果潜在的表面被减少或离子的引力被加强,则反抗凝结的潜在能量将降低。当加入盐时,由于反离子的作用,静电排斥力在抗凝结而产生稳定乳液方面的性能将降低。

在 PC 的乳化稳定性方面,可以观察到悬浮及油层分出的现象,而在低浓度乳化剂的条件下,混合磷脂作为乳化剂时可以获得稳定的乳状液。这些乳状液在油水界面比精制磷脂作乳化剂时更易形成。这可能是由于在混合磷脂中的 PA 和 PI(带电荷)在水中更易溶。因此,乳状液在油水界面比在中性(磷脂)界面作乳化剂时更易分散。

(3) 不同磷脂醇磷脂含量的大豆磷脂的乳化性质

下面再研究一下不同 PI 含量磷脂对石蜡、柴油、豆油、苯、硅油的乳化能力,并与 OP 的乳化能力进行比较,测定结果见表 1-2。

表 1-2 不同 PI 含量磷脂乳化能力的测定结果

PI 含量/%	石蜡	柴油	豆油	苯	硅油
30	315	12.26	17.32	16.48	2 小时 40 分
40	341	13.28	19.54	17.24	2 小时 06 分
50	452	13.89	20.08	19.83	1 小时 50 分
60	510	15.16	22.35	22.65	1 小时 26 分
70	527	1 642	24.95	24.36	1 小时 04 分
75	607	1 732	26.98	25.32	1 小时 14 分
OP	528	1 739	2 786	25.21	3 小时 16 分

由表 1-2 可知,除了对硅油是随着 PI 含量的增加,磷脂的乳化能力减小以外,随着 PI 含量的增加,磷脂对石蜡、柴油、豆油及苯的乳化能力都逐渐增强,当 PI 含量为 75% 时,对它们的乳化能力接近 OP。

2. 界面活性

磷脂不溶于水而溶于多种有机溶剂,所以应多研究它在油水界面上的性质。关于界面吸附,Johnson 等使用卵磷脂和不同链长的合成卵磷脂的环己烷溶液,用 Wil-helmy 法测定了界面张力。该界面张力有很强的时间信赖性,6 h 后多数仍达不到恒定值,属于被扩散支配的界面吸附。根据菲克扩散定律,并忽略从界面向溶液相溶解的初期过程,可得界面过剩浓度公式为

$$\Gamma = 2C_0 \left(\frac{t}{d} \right)^{1/2}$$

式中, C_0 为溶液浓度; d 为扩散系数。

若考虑解吸过程(吸附的逆过程),将其作为一级反应,则净吸附速度可用下式表示为

$$\left(\frac{dn}{dt} \right)_{\text{net}} = B_1 c_0 (1 - \theta) - B_2 n$$

式中, c_0 为溶液浓度; n 为界面浓度, $\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2}$; θ 为界面已占分数; B_1, B_2 为吸附及脱附速度常数。

在吸附平衡时,净吸附速度为零,结合初始条件 $t=0, n=0$, 可得

$$-\log(\Gamma_{\infty} - \Gamma) = \frac{B_2 t}{2.303} - \log \Gamma_{\infty}$$

式中, Γ 为 t 时间的界面浓度; Γ_{∞} 为平衡界面浓度。

以 $-\log(\Gamma_{\infty} - \Gamma)$ 对 t 作图,通过直线斜率即可求得 B_2 , B_2 与磷脂分子中非极性基大小有关。

我们研究了不同组分的大豆磷脂油-水界面张力,不同 PI 含量的大豆磷脂油-水界面张力的测定方法是:将不同 PI 含量的大豆磷脂溶于正己烷中,配制成一定浓度的溶液,测定其正己烷-水的界面张力,结果见表 1-3、表 1-4。

表 1-3 高 PI 含量磷脂的油-水界面张力

质量浓度/(10 ⁻² g/mL)	0.08	0.15	0.20	0.50	0.80	1.00	2.00	3.00
界面张力(γ)	29.2	16.0	4.84	2.40	1.41	2.56	1.83	1.76

表 1-4 不同组分磷脂的油-水界面张力

质量浓度/(10 ⁻² g/mL)	混合磷脂	高 PI 含量磷脂(γ)	高 PC 含量磷脂(γ)
0.08	29.64	29.31	34.52
0.15	12.65	16.24	21.62
0.20	8.96	4.82	15.86
0.50	3.54	2.43	9.84
0.80	6.65	1.42	10.63
1.00	5.96	2.95	8.67
2.00	5.48	1.83	7.95
3.00	5.69	1.78	7.03

3. 电导率

电导率在某种程度上反映了乳状液的结构和性能。下面对不同 PC 含量的大豆磷脂以及粉状磷脂的电导性能作以下研究。

(1) 磷脂水溶液电导率的测定

① 磷脂水乳液的电导率

分别测定粉状磷脂和高 PC 含量磷脂不同含量水溶液的电导率,结果见表 1-5 和表1-6。

表 1-5 粉状磷脂的水乳液的电导率

磷脂/水/(质量分数%)		0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
电导率/(μs/cm)	12 h	29.9	46.0	74.8	99.6	125.7	146.6
	24 h	34.5	48.1	76.3	101.7	127.5	148.7
磷脂/水/(质量分数%)		1.4	1.8	2.2	2.6	3.0	
电导率/(μs/cm)	12 h	174	209	235	245	270	
	24 h	187.3	213.2	246.6	259.8	284.5	

表 1-6 高 PC 含量磷脂(PC 含量:54.48%)的水乳液的电导率

磷脂/水/(质量分数%)		0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
电导率/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	12 h	24.9	44.0	76.3	185.6	213.4	174.2
	24 h	25.1	45.3	79.8	186.4	233.5	176.5
磷脂/水/(质量分数%)		1.2	1.6	2.0	2.6		
电导率/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	12 h	156	129.7	103.8	95.8		
	24 h	175.3	136.2	114.2	103.2		

在 0.1% ~ 0.4% 较低的浓度时,粉状磷脂的水乳液的电导率与高 PC 含量磷脂的水乳液的电导率相差不大;但在大于 0.4% 的浓度时,粉状磷脂的电导率仍按原趋势变化,而高 PC 含量磷脂的电导率则迅速增大到最大值后又很快地减小。PC, PE, PI, PA 等磷脂中 PC 的极性最大,亲水性最强,因此在水中溶胀时 PC 起主要作用,从而高 PC 含量的磷脂及其水乳液的电导率较大,变化也快。但当磷脂浓度增大到一定程度后,磷脂分子间相互结合成为胶团的概率增大,因此乳液中电荷量的变化趋势也有所改变,电导率也随之发生变化。另外,电导率在低浓度时随时间的延长基本没有变化,在较高浓度时则略有增加,说明在较高浓度时,磷脂溶胀的时间效应较大。

②磷脂 + 乙醇 + 水的电导率

下面研究一下粉状磷脂、高 PC 含量磷脂及不同 PC 含量磷脂加入乙醇时水乳液的电导率,结果如表 1-7 至表 1-11 所示。

表 1-7 0.5%的粉状磷脂/水 + 乙醇乳液的电导率

磷脂/水/(质量分数%)		0.5					
乙醇/水/(质量分数%)		0.0	1.0	2.5	5.0	10.0	20.0
电导率/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	0 h	84.1	78.3	76.8	69.4	56.5	39.5
	6 h	84.3	79.2	75.4	68.6	58.6	39.0
	12 h	84.6	80.5	75.6	67.8	59.6	38.9
	24 h	86.7	82.2	78.2	70.2	62.3	40.2

表 1-8 0.5%PC 含量为 54.48%的磷脂/水 + 乙醇乳液的电导率

磷脂/水/(质量分数%)		0.5					
乙醇/水/(质量分数%)		0.0	1.0	2.5	5.0	10.0	20.0
电导率/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	0 h	108.1	92.6	92.8	96.4	78.2	57.7
	6 h	108.3	95.2	93.7	98.6	81.6	59.1
	12 h	109.4	96.9	95.2	99.8	81.6	59.2
	24 h	108.1	96.2	94.2	98.2	79.3	56.2

表 1-9 加入 5%乙醇的粉状磷脂/水溶液的电导率

乙醇/水/(质量分数%)		5					
磷脂/水/(质量分数%)		0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.4
电导率/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	0 h	42.3	67.2	89.8	112.4	121.2	157.7
	12 h	48.3	65.2	87.1	111.6	118.6	153.1
	24 h	41.4	66.9	85.2	112.1	119.3	152.2

表 1-10 加入 5%乙醇的 PC 含量为 54.48%的磷脂/水溶液的电导率

乙醇/水/(质量分数%)		5					
磷脂/水/(质量分数%)		0.2	0.4	0.6	0.8	1.2	1.4
电导率/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	0 h	36.3	68.2	132.8	188.4	151.2	107.7
	12 h	36.3	64.2	130.1	183.6	147.6	113.1
	24 h	36.7	65.9	130.2	184.1	111.3	72.2

表 1-11 加入 5%乙醇的 PC 含量为 23.5%~78.6%的磷脂/水溶液的电导率

磷脂/水/(质量分数%)		0.5					
乙醇/水/(质量分数%)		5					
磷脂中 PC 含量/%		23.5	31.6	42.3	54.2	63.5	78.6
电导率/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	0 h	66.8	74.2	82.8	98.4	105.2	112.7
	12 h	66.3	75.6	83.1	97.6	106.6	113.1
	24 h	67.2	75.3	84.2	98.1	106.3	112.6

由以上结果可以看出,加入乙醇后乳液电导率随时间的延长变化很小,可以认为是测量误差,也就是说乳液是稳定的。粉状磷脂的水乳液的电导率随乙醇加入量的增大而线性减小,高 PC 含量磷脂的电导率则出现了转折点。不同 PC 含量磷脂水乳液的电导率随 PC 含量的增加而增加,并呈线性关系。因此可以认为 PC 含量对水乳液的电导率尤其是磷脂水乳液的电导率贡献较大,进一步的验证工作还有待于继续研究。

据此可以认为,乙醇能够增加磷脂水乳液的稳定性。同时乙醇能够降低磷脂水乳液的电导率,这主要通过两种机理起作用。当乙醇加入量较小时,乙醇分子吸附于靠近磷脂的胶团/水“界面”的外部,从而减小了磷脂离子头之间的排斥力,使胶团易于形成;当乙醇加入量较大时,则改变了溶剂的性质,使溶剂的介电常数变小,从而改变了磷脂与水的相互作用,使乳液的电导率变小。

(2)高 PI 含量磷脂水溶液(乳液)的电导率的测定

下面再分别研究一下粉状磷脂和高 PI 含量磷脂(PI 含量为 50%)的不同浓度水溶液的电导率,并作出 24 h 的浓度-电导率曲线图,其结果如表 1-12、表 1-13 所示。