

# 真空冷冻干燥微藻 DHA 油纳米乳工艺研究

刘维维<sup>1,2</sup>, 吴 鹏<sup>2</sup>, 王昭凯<sup>2</sup>, 林祥志<sup>2</sup>

(1. 福建农林大学 食品科学学院, 福建 福州 350000; 2. 国家海洋局 第三海洋研究所, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 采用超声波法制备微藻 DHA 油纳米乳, 研究了微藻 DHA 油纳米乳真空冷冻干燥工艺, 并对其粉末进行了表征。研究结果表明, 当冻干曲线为: 预冻:  $-40^{\circ}\text{C}$  维持 2 h, 真空度为 0.2 mbar; 升华干燥:  $-30^{\circ}\text{C}$  维持 12 h, 真空度为 0.2 mbar,  $-20^{\circ}\text{C}$  维持 2.5 h, 真空度为 0.15 mbar; 解析干燥:  $25^{\circ}\text{C}$  维持 3 h, 真空度为 0.15 mbar, 且油相与冻干保护剂的质量比为 1:4, 冻干保护剂选择葡萄糖: 甘露醇质量比为 1:3 时, 制备的纳米乳粉末颗粒外观呈乳白色、均匀细腻, 复溶速度在 10s 内, 冻干前粒径为  $(175.6\pm 22.1)\text{nm}$ , 多分散系数(PDI)为  $(0.15\pm 0.62)$ , 冻干后粒径为  $(211.1\pm 23.5)\text{nm}$ , PDI 为  $(0.152\pm 0.116)$ , 差异不大, 依旧在纳米范围内, 不仅保证了 DHA 的长期稳定性, 还扩大了 DHA 的应用范围, 有望成为 DHA 的新型纳米载药系统。

**关键词:** 微藻 DHA 油; 纳米乳; 真空冷冻干燥

中图分类号: TS22 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2017)04-0051-06

DOI: 10.11759/hyxx20160311001

DHA 是二十二碳六烯酸 $\omega$ -3 系多不饱和脂肪酸( $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid,  $\omega$ -3 PUFA)<sup>[1]</sup>, 由于其含有 6 个不饱和双键, 因此对人类健康具有多种特殊生理功能<sup>[2]</sup>。纳米乳是一种平均粒径在纳米级, 半透明状的乳液<sup>[3]</sup>。作为一种新型给药传输系统, 由于其制备方法简单, 稳定性高和生物利用率高而受到广泛关注<sup>[4]</sup>。DHA 是脂溶性物质, 不溶于水, 易氧化, 应用困难, 采用纳米技术将微藻 DHA 油制备成水包油型纳米乳, 可大幅度缓解氧化速度, 并提高 DHA 的生物利用率<sup>[5]</sup>。

纳米乳是热力学不稳定体系<sup>[6]</sup>, 长期放置可能会发生破裂、分层、絮凝或合并等理化现象, 影响纳米乳的稳定性。当前较为普遍的解决办法是采用真空冷冻干燥法(简称冻干法)<sup>[7]</sup>将纳米乳冻干成为干乳剂, 从生产实际上解决了纳米乳剂保存不稳定的问题, 如前列地尔干乳剂、紫杉醇干乳剂。常见的脂肪乳配方并不适用于制成冻干产品, 普通的冻干工艺也无法有效保证乳剂在冻干过程中的稳定性和完整性, 因此, 良好的纳米冻干制剂需要对乳剂的配方、干乳剂制备工艺参数和冻干工艺参数进行全面系统的研究。本文采用真空冷冻干燥法制备微藻 DHA 油纳米乳粉末, 考察冻干过程中重要的影响因素, 优化冻干工艺, 扩大 DHA 的应用范围。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与设备

微藻 DHA 油(武汉嘉必优生物工程有限公司);

聚氧乙烯氢化蓖麻油(RH40)(德国巴斯夫公司); 甘露醇; 海藻糖; 葡萄糖, 以上试剂均为分析纯, 水为蒸馏水。

KQ-300DE 超声波细胞破碎仪(成都一科仪器设备有限公司); Zetasizer Nano ZS 电位粒度仪(英国马尔文仪器有限公司); TECNAI F30 场发射透射电镜(荷兰 FEI 公司); Telstar ly-25 真空冷冻干燥机(西班牙泰事达公司)。涡旋振荡器(德国 IKA 公司)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 微藻 DHA 油纳米乳的制备

以微藻 DHA 油作油相, 聚氧乙烯氢化蓖麻油(RH40)作表面活性剂, 蒸馏水作水相制备微藻 DHA 油纳米乳。制备纳米乳溶液 25 mL, 其中油相含量为 7.5%, 表面活性剂含量为 1.5%, 其余为水相, 放入超声波探头仪中超声处理。得到均一稳定、流动性良好的乳白色微藻 DHA 油水包油型纳米乳。为了防

收稿日期: 2016-03-11; 修回日期: 2016-09-10

基金项目: 厦门南方海洋研究中心项目 (No. 14CZP028HJ02); 国家自然科学基金项目(No. 41476148); 海洋经济创新发展区域示范项目(12PYY001SF08)

[Foundation: Xiamen Southern Oceanographic Center, No.14CZP028HJ02; National Natural Science Foundation of China, No.41476148; Marine economy innovation development area demonstration project, No.12PYY001SF08]

作者简介: 刘维维(1989-), 女, 新疆库尔勒人, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程, 电话: 15606928959, E-mail: 1394022216@qq.com; 林祥志, 通信作者, 研究员, 博士生导师 E-mail: xzlin@tio.org.cn

止超声探头产生的热量对混合溶液的物化性能的影响,整个实验操作在低温下进行。将微藻 DHA 油纳米乳稀释 300 倍,在常温下,置于电位粒度仪样品池中,检测纳米乳粒径及多分散系数。所得微藻 DHA 油纳米乳平均粒径为(175.6±22.1)nm,多分散系数(PDI)为(0.15±0.62)。

### 1.2.2 微藻 DHA 油纳米乳冻干制品的制备

取 1mL 1.2.1 制备的纳米乳液于 10 mL 西林瓶中,按照一定的油相和冻干保护剂的质量比添加冻干保护剂,充分溶解。将此混合液置于真空冷冻干燥机中,寻找合适的冻干曲线,进行真空冷冻干燥。

### 1.2.3 冻干曲线的绘制

冻干曲线是真空冷冻干燥过程中温度、压力与时间之间的关系曲线<sup>[8]</sup>。在真空冷冻干燥的过程中,全面掌握冻干产品和冻干机每一阶段的各项参数是得到优质冻干产品的基础。冻干曲线不仅是手工操作真空冷冻干燥机的依据,同时也是自动控制冻干机操作的保障。整个冻干过程包括三个阶段,分别是预冻、升华干燥、解析干燥。在纳米乳液放入冻干机时,将电极浸入到乳剂中,通过观察乳剂和冻干机各项参数的实时动态来绘制微藻 DHA 油纳米乳的冻干曲线。

冻干曲线的绘制包括很多因素,主要有预冻温度、最低共晶点、升华干燥和解析干燥阶段的温度及时间等。

最低共晶点温度是指整个纳米乳制品中所有水分完全冻结成冰晶时的温度。在升华干燥阶段,冻干制品应该保证其完全处于冰晶状态,冻干制品的温度应始终低于最低共晶点,所以,需对微藻 DHA 油纳米乳剂与冻干保护剂的最低共晶点进行测定<sup>[9]</sup>。采用电阻法测定乳剂最低共晶点,将电极浸入乳剂中,将乳剂冻结成固体,液态电阻低,固态电阻高,样品的电阻会由最低点急剧升至最高点。电极可以实时监测样品的温度和电阻,从而找到最低共晶点。冻干制品电阻和冻干制品温度的交点即为最低共晶点。

升华干燥的时间关乎整个冻干过程的成败,影响因素较多,但主要影响因素为制品的分装厚度。当冰晶体简单且厚度小于 10 mm 时,标准干燥时间一般在 10~30 h 之间,可按照下面公式(1)计算:

$$T=K^{1.5} \quad (1)$$

式中,  $T$  为时间,单位为 h;  $K$  为冻干制品厚度,单位为 mm。

精密量取 1 mL 微藻 DHA 油纳米乳装入 10 mL

西林瓶中,添加适量冻干保护剂,涡旋振荡至冻干保护剂完全溶解,放入真空冷冻干燥机进行冻干。先根据微藻 DHA 油纳米乳冻干样品的具体情况预设一条冻干曲线,其程序为:预冻: -50℃ 维持 3 h,真空度为 0.2 mbar; 升华干燥: -30℃ 维持 11 h,真空度为 0.2 mbar; 解析干燥: 25℃ 维持 3 h,真空度为 0.15 mbar,即为真空冷冻干燥过程的理论曲线。冻干结束后观察样品的冻干曲线,分析找到最适合的冻干曲线,最终优化冻干工艺。

### 1.2.4 冻干保护剂配方的筛选

纳米乳液在冷冻干燥过程中需要加入一定量的冻干保护剂(支撑剂),当连续相的水分子被升华除去后,冻干保护剂起着骨架作用,使得纳米颗粒不会塌陷,皱缩。当加入水相时,支撑剂迅速溶解于连续相,使乳剂恢复原有的状态。冷冻干燥的冻干保护剂可分为结晶型和非结晶型<sup>[10]</sup>。本文对甘露醇、葡萄糖和海藻糖等常用的冻干保护剂进行比较研究,以纳米颗粒的外观、重分散性和复溶后乳剂的平均粒径为指标,考察不同冻干保护剂对纳米乳物理性能的影响。

将冻干保护剂分成三组配方: (1)葡萄糖; (2)葡萄糖和甘露醇; (3)海藻糖和甘露醇,按照油相: 冻干保护剂=1: 4、1: 10、1: 15、1: 20 的质量比分别添加冻干保护剂,并以不添加任何冻干保护剂的纳米乳液作为空白对照组。将添加了冻干保护剂的纳米乳液涡旋振荡至冻干保护剂完全溶解,待其冻干后进行效果评价,主要是形貌和复溶后平均粒径的变化。在此基础上明确冻干保护剂的最佳组合,优化冻干保护剂配方。

## 2 结果与分析

### 2.1 冻干曲线的优化

如图 1 所示,在预冻阶段,冻干制品的温度处于直线下降状态,直至降到 -40℃ 时,制品温度基本保持不变。由此说明微藻 DHA 油纳米乳在 -40℃ 时已经完全从液态变成固态,即预冻温度设为 -40℃。一般来说,预冻温度如果过高,不能将制品完全冻住,在真空冷冻干燥时会有部分液体沸腾,造成制品表面参差不齐,粗糙杂乱,这主要是由于机械效应和溶质效应<sup>[11]</sup>。代表冻干制品电阻的线条和代表冻干制品温度的线条有一交点,即为最低共晶点,此时的温度在 -18℃ 左右,即最低共晶点为 -18℃。

升华干燥为了将样品中游离水直接由固态变为气态,冷凝器收集这些气态,将它们变为液态除去。

这个过程需要吸收热量，故要升高温度，但不能高于最低共熔点，此过程可除去 90%水分，温度大概低于最低共晶点 10℃，而从图 1 可以得出最低共晶点在-18℃左右，故升华阶段温度选择-30℃是合理的。由公式(1)和样品分装厚度估算得知，升华干燥阶段的时间在 10~20 h 内比较合理。

解析干燥为了除去样品中结合水及吸附于干燥层中的水<sup>[12]</sup>，需要足够的热量，温度可大幅升高至允许的最高温度以下，其值一般为室温至 40℃之间，解析干燥阶段温度设为 25℃比较合理，时间不宜过长。

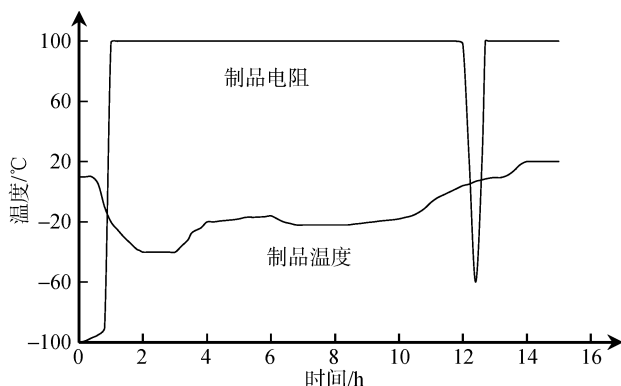


图 1 微藻 DHA 油纳米乳冻干曲线初筛图

Fig.1 The freeze-drying curve of the first selection of microalgae DHA oil nanoemulsion

此外，从图 1 可以看出，样品在进入解析干燥时发生了熔融现象，造成样品电阻大幅下降。微藻 DHA 油纳米乳液是混合物，没有固定熔点，在冻干的过程中随着冻干制品内部结构状态的变化，熔点也在不断发生变化。故升华干燥阶段需要有一个升温的过程，这使升华干燥和解析干燥之间有一个过渡的过程，不会使样品中某些未冻住的部分在进入解析干燥时由于温度升高幅度很大而造成样品沸腾。故改变冻干曲线为：预冻：-40℃维持 2 h，真空度为 0.2 mbar；升华干燥：-30℃维持 12 h，真空度为 0.2 mbar，-20℃维持 2.5 h，真空度为 0.15 mbar；解

析干燥：25℃维持 3 h，真空度为 0.15 mbar，即为真空冷冻干燥过程的理论曲线，待冻干结束后，观察冻干曲线。如图 2 所示，搁板温度、制品温度和理论曲线基本重合在一起，符合冻干规律。

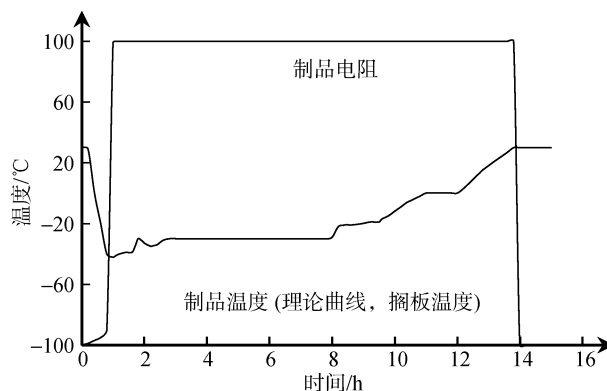


图 2 微藻 DHA 油纳米乳冻干曲线

Fig.2 The freeze-drying curve of microalgae DHA oil nanoemulsion

## 2.2 冻干保护剂配方筛选结果

如表 1 所示，从外观效果来看，冻干保护剂对冻干产品有明显的保护作用。在试验条件下，当油相与冻干保护剂质量比为 1 : 4 时，冻干微藻 DHA 油纳米乳外观特征最好；当油相与冻干保护剂质量比为 1 : 15 和 1 : 20 时，冻干微藻 DHA 油纳米乳的外观特征较差，造成这种现象的原因可能是冻干保护剂含量过多，乳剂会过饱和，从而影响冻干后的外观特征。结合表 1 和图 3 可知，当油相与冻干保护剂的比例为 1 : 4 时，可得到外观及平均粒径都较为理想的微藻 DHA 油纳米乳干颗粒，且选用甘露醇和海藻糖、甘露醇和葡萄糖的混合物作为冻干保护剂比单独使用葡萄糖作为冻干保护剂更能保障微藻 DHA 油纳米乳的冻干效果。因此，选择油相与冻干保护剂的比例为 1 : 4，以甘露醇和海藻糖的混合物或甘露醇和葡萄糖的混合物作为冻干保护剂。

表 1 油相和冻干保护剂的比例对冻干微藻 DHA 油纳米乳外观的影响

Tab.1 The impact of the oil and freeze-drying protectant ratio on the appearance of DHA oil nanoemulsion after lyophilization

冻干保护剂	油相和冻干保护剂的比例				空白
	1 : 4	1 : 10	1 : 15	1 : 20	
葡萄糖	B	B	B	D	
甘露醇和葡萄糖	A	D	D	C	D
甘露醇和海藻糖	A	C	C	C	

注：A. 乳白色，均匀细腻，光滑平整；B. 瓶内壁裹着一层乳白色物质，与瓶中间干乳粉分离，冻干后的乳剂量明显减少；C. 乳白色，明显断层，疏松多孔，粗糙杂乱；D. 黏稠状，淡油黄色

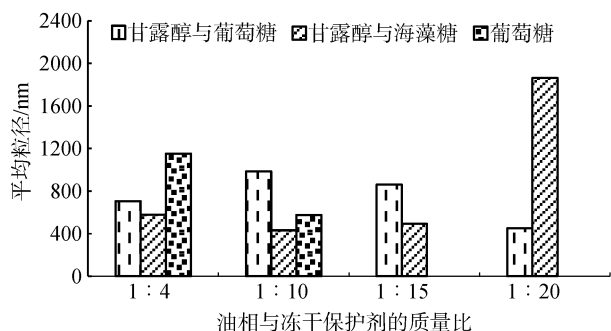


图3 不同含量冻干保护剂对冻干后微藻 DHA 油纳米乳平均粒径的影响

Fig.3 The impact of different contents of freeze-drying protective additives on the average particle size of microalgae DHA oil nanoemulsion after lyophilization  
 1:15和1:20两组只加葡萄糖组冻干后无法复溶,无检测结果。  
 The 1:15 and 1:20 groups with glucose cannot be dissolved after freeze-drying, no results

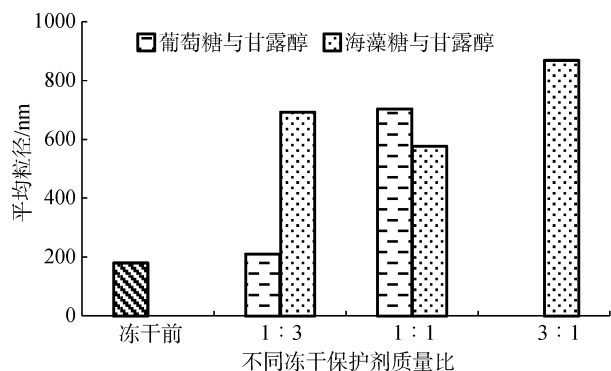


图4 冻干保护剂之间不同比例对微藻 DHA 油纳米乳粒径的影响

Fig.4 The impact of different ratios of freeze-drying protective additives on the average particle size of microalgae DHA oil nanoemulsion

由于葡萄糖不易冻干,故不单独使用葡萄糖作为冻干保护剂或者添加较多葡萄糖。不同冻干保护

剂比例对冻干微藻 DHA 油纳米乳粒径的影响如图4所示,从图中可知,当葡萄糖:甘露醇质量比为1:3时,冻干微藻 DHA 油纳米乳的粒径与冻干前的粒径基本没有变化;而在其他冻干保护剂比例时,冻干微藻 DHA 油纳米乳的粒径较冻干前则有明显的增大。因此,在试验条件下,最佳的冻干保护剂及比例为:葡萄糖:甘露醇为1:3。

综上所述,冻干微藻 DHA 油纳米乳的最佳条件为:油相与冻干保护剂的比例为1:4,冻干保护剂选择葡萄糖:甘露醇为1:3。

### 2.3 微藻 DHA 油纳米乳冻干粉表征

冻干后的微藻 DHA 油纳米乳呈乳白色干颗粒,无微藻 DHA 油的腥味,复溶速度快。将其加水复溶后用透射电镜(TEM)观察其内部形态,发现纳米颗粒冻干后平均粒径及形态均没有明显变化,用电位粒度仪检测其平均粒径为(211.1±23.5)nm, PDI 为(0.152±0.116),均匀分散在水相中,见图5。

## 3 讨论

本实验通过高能乳化法中的超声波法制得微藻 DHA 油纳米乳。为了提高其稳定性,根据微藻 DHA 油纳米乳的配方及其性质,添加冻干保护剂,设计冻干曲线,最终可以得到不坍塌,不结块,不皱缩,表面平滑,均匀乳白色的纳米粉体。冻干后粒径为(211.1±23.5)nm, PDI 为(0.152±0.116),仍维持在纳米范围内,不仅提高了 DHA 的消化吸收率,还保障了其长期稳定性。

纳米乳在冷冻干燥阶段其浓度逐渐增大,会引起纳米粒子的聚合,甚至是不可逆的合并。此外,逐渐增大的冰晶对纳米乳产生机械压力,破坏其稳定性。所以,在冷冻干燥之前添加冻干保护剂可以提高

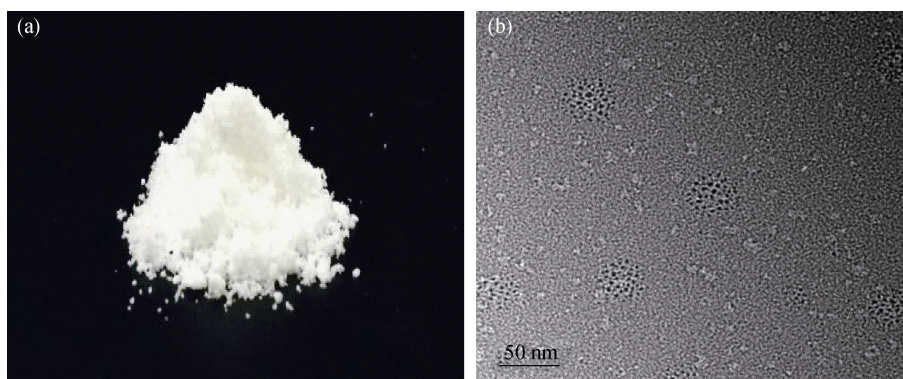


图5 微藻 DHA 油纳米乳冻干粉外观图(a)及 TEM 图(b)

Fig.5 The appearance (a) and TEM image (b) of microalgae DHA oil nanoemulsion lyophilized powder

纳米乳的稳定性<sup>[13-14]</sup>。海藻糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖和甘露醇等由于其在玻璃化转变温度时具有玻璃化状态,因而常用作冻干保护剂<sup>[15]</sup>。

升华干燥是真空冷冻干燥的关键,本实验将升华干燥阶段分为两部分,可以有效的避免由于制品不均一或者浓度过大而引起的制品上下有温差,制品下部的结晶不是从固体升华成为气体,而是从固体转变为液体再到气体蒸发,形成表面凹凸不平的现象<sup>[16]</sup>。在升华干燥的结束阶段,会形成均匀致密的小孔,这些小孔就是在预冻阶段形成的冰晶体升华所留下的<sup>[17]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 彭全材, 宋金明, 张全斌, 等. 四种绿藻和四种褐藻脂肪酸组成的比较研究[J]. 海洋科学, 2014, 38(4): 27-33.  
Peng Quancai, Song Jinming, Zhang Quanbin, et al. Comparative study on fatty acid composition of four kinds of green algae and brown alga[J]. Marine Sciences, 2014, 38(4): 27-33.
- [2] 王一兵, 柯珂, 张荣灿. 马尾藻多不饱和脂肪酸提取、分离及成分分析[J]. 海洋科学, 2014, 38(7): 57-62.  
Wang Yibing, Ke Ke, Zhang Rongcan. Extraction, separation and analysis of polyunsaturated fatty acids in sargassum[J]. Marine Sciences, 2014, 38(7): 57-62.
- [3] Mason T G, Wilking J N, Meleson K, et al. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties[J]. Journal of Physics Condensed Matter, 2006, 19(7): 635-666.
- [4] McClements D J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance[J]. Soft Matter, 2011, 7(6): 2297-2316.
- [5] Walker R M, Decker E A, McClements D J. Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size[J]. Journal of Food Engineering, 2015, 164: 10-20.
- [6] Nicolas A, Jean-Pierre B, Patrick S. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-a review[J]. Journal of Controlled Release, 2008, 128(3): 185-199.
- [7] 李超峰, 邹晓兰, 于艳卿, 等. 加工工艺对刺参体壁氨基酸和脂肪酸的影响[J]. 海洋科学, 2012, 36(1): 42-48.  
Li Chaofeng, Zou Xiaolan, Yu Yanqing, et al. Effects of Processing Technology on Amino Acids and Fatty Acids in body-wall of oplopanax elatus[J]. Marine Sciences, 2012, 36(1): 42-48.
- [8] 王洁, 黄传伟, 安源, 等. 真空冷冻干燥的工艺流程[J]. 医疗卫生装备, 2012, 33(9): 90-91.  
Wang Jie, Huang Chuanwei, An Yuan, et al. Vacuum freeze-drying process[J]. Chinese Medical Equipment Journal, 2012, 33(9): 90-91.
- [9] Kukizaki M, Goto M. Preparation and evaluation of uniformly sized solid lipid microcapsules using membrane emulsification[J]. Colloids & Surfaces A Physicochemical & Engineering Aspects, 2007, 293(s 1-3): 87-94.
- [10] Higashi S, Tabata N K, Maeda Y, et al. Size of lipid microdroplets effects results of hepatic arterial chemotherapy with an anticancer agent in water-in-oil-in-water emulsion to hepatocellular carcinoma.[J]. Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics, 1999, 289(2): 816-819.
- [11] Sugiura S, Nakajima M, Yamamoto K, et al. Preparation characteristics of water-in-oil-in-water multiple emulsions using microchannel emulsification[J]. Journal of Colloid & Interface Science, 2004, 270(1): 221-228.
- [12] Pikal M J, Shah S, Roy M L, et al. The secondary drying stage of freeze drying: drying kinetics as a function of temperature and chamber pressure[J]. International Journal of Pharmaceutics, 1990, 60(3): 203-207.
- [13] Wassim A, Ghania D, Serge S, et al. Freeze-drying of nanoparticles: formulation, process and storage considerations[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2006, 58(15): 1688-1713.
- [14] D Julian M. Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions[J]. Langmuir, 2005, 21(21): 9777-9785.
- [15] Liuquan Lucy C, Deanna S, Joanna S, et al. Mechanism of protein stabilization by sugars during freeze-drying and storage: native structure preservation, specific interaction, and/or immobilization in a glassy matrix?[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2011, 36(2): 267-275.
- [16] 郭树国. 人参真空冷冻干燥工艺参数实验研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2012.  
Guo Shuguo. Experiment study on technology parameters for freeze-drying of ginseng slice[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2012.
- [17] Williams N A, Polli G P. The lyophilization of pharmaceuticals: a literature review.[J]. Journal of Parenteral Science & Technology A Publication of the Parenteral Drug Association, 1984, 38(2): 48-59.

# Study on the vacuum freeze-drying process on microalgae oil nanoemulsion powder

LIU Wei-wei<sup>1, 2</sup>, WU Peng<sup>2</sup>, WANG Zhao-kai<sup>2</sup>, LIN Xiang-zhi<sup>2</sup>

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China; 2. Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China)

**Received:** Mar. 11, 2016

**Key words:** microalgae DHA oil; nanoemulsion; vacuum freeze-drying

**Abstract:** This study explores the vacuum freeze-drying process and characterizes microalgae DHA oil nanoemulsion nanopowder, which is synthesized via ultrasonic. Result shows that the nanopowder is milky white and delicate with a constant dissolution rate of 10 s under the following conditions of the freeze-drying curve with oil phase to freeze-drying protective additive ratio of 1 : 4 and glucose to mannitol ratio of 1 : 3: (1) Pre-freezing at  $-40^{\circ}\text{C}$  for 2 h under 0.2 mbar pressure; (2) Sublimation drying at  $-30^{\circ}\text{C}$  for 12 h under 0.2 mbar pressure followed by drying at  $-20^{\circ}\text{C}$  under 0.15 mbar pressure for 2.5 h; (3) Analytical drying at  $25^{\circ}\text{C}$  for 3 h under 0.15 mbar pressure. Before freeze-drying, the particle size and polydispersity coefficient were  $(175.6\pm 22.1)$  and  $(0.15\pm 0.62)$  nm, respectively, and these values changed to  $(211.1\pm 23.5)$  and  $(0.152\pm 0.116)$ , respectively, after freeze-drying, indicating that the difference between these values is small and in the range of nanometers. The vacuum freeze-drying technology not only ensures the long-term stability of DHA but also expands the scope of its application. DHA is therefore expected to become a new nano-loaded drug system.

(本文编辑: 康亦兼)