

虾青素囊泡的制备工艺优化及其稳定性考察

韩春然, 马调梅, 黎晨晨, 隋佳琦

Optimization of Preparation Process and Stability Investigation of Astaxanthin Vesicles

HAN Chunran, MA Diaomei, LI Chenchen, and SUI Jiaqi

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024050315>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

雨生红球藻虾青素纳米颗粒的制备及稳定性研究

Preparation and Stability of Nanoparticles Containing Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*

食品工业科技. 2022, 43(16): 98-104 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120295>

南极磷虾油醇提工艺优化及其虾青素热稳定性研究

Optimization of Alcohol Extraction Process of Antarctic Krill Oil and Study on Thermal Stability of Astaxanthins

食品工业科技. 2023, 44(1): 233-241 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022040016>

天然虾青素的稳定性及稳态化技术研究进展

Recent Advances of Stability and Stabilization Technology of Natural Astaxanthin

食品工业科技. 2024, 45(5): 367-376 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030103>

超声协助吐温-20一步法制备水分散性虾青素工艺探究及其表征

One-step Preparation and Characterization of Water-dispersible Astaxanthin Emulsion by Tween-20 under Ultrasonic Condition

食品工业科技. 2023, 44(22): 182-190 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020089>

雨生红球藻对戚风蛋糕品质的影响及其虾青素稳定性

Effect of *Haematococcus pluvialis* on Chiffon Cake Quality and Stability of Astaxanthin

食品工业科技. 2022, 43(19): 76-83 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120269>

湖泊红球藻等离子诱变及其高产虾青素藻株培养条件的优化

Plasma Mutagenesis of *Haematococcus lacustris* and Optimization of Culture Conditions for High-yield Astaxanthin Algae Strains

食品工业科技. 2023, 44(23): 213-220 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030120>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

韩春然, 马调梅, 黎晨晨, 等. 虾青素囊泡的制备工艺优化及其稳定性考察 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(5): 196–208. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024050315

HAN Chunran, MA Diaomei, LI Chenchen, et al. Optimization of Preparation Process and Stability Investigation of Astaxanthin Vesicles[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(5): 196–208. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024050315

· 工艺技术 ·

虾青素囊泡的制备工艺优化及其稳定性考察

韩春然, 马调梅, 黎晨晨*, 隋佳琦

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江哈尔滨 150028)

摘要:目的: 为提高虾青素在水相中的分散性, 制备虾青素囊泡并考察其在不同环境条件下的稳定性。方法: 以不饱和脂肪酸(花生四烯酸)及虾青素为原料, 采用薄膜水化法制备了虾青素囊泡, 并通过单因素实验和响应面试验优化虾青素囊泡的制备工艺, 考察了虾青素囊泡的形态、粒径大小及分布、电位、包封率及贮藏、氧化、体外消化稳定性。结果: 虾青素囊泡的最佳制备条件为: 虾青素添加量 0.14 mg/mL、表面活性剂与脂肪酸比例为 1:1、表面活性剂亲水亲油平衡值为 7、磷酸缓冲溶液 pH 为 7.0、水化时间为 21 min, 此时, 虾青素囊泡包封率平均值为 $89.58\% \pm 1.47\%$ 。透射电子显微镜及粒径分析均表明, 虾青素囊泡具有较好的球形结构, 平均粒径为 (131.74 ± 2.74) nm、PDI 为 0.25 ± 0.01 、Zeta 电位为 (-38.52 ± 2.31) mV。稳定性实验结果表明 16 d 贮藏后虾青素囊泡在 4 ℃、避光贮藏稳定性较好, 与液体状态下贮藏相比, 在冻干复溶后虾青素囊泡中虾青素保留率基本一致, 且对盐离子有一定的耐受力。经过 16 d 贮藏后, 油溶虾青素的 POV 和 TBARS 均为虾青素囊泡的两倍, 经体外消化后, 二者在小肠消化阶段结束后消化保留率分别为 $44.19\% \pm 2.21\%$ 、 $74.99\% \pm 4.37\%$ 。结论: 本实验制备的虾青素囊泡粒径大小合适、分散性好、包封率较高、稳定性较好, 可为开发虾青素衍生产品提供参考依据。

关键词: 虾青素, 囊泡, 制备条件, 结构表征, 稳定性

中图分类号: TS206.4

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2025)05-0196-13

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024050315



本文网刊:

Optimization of Preparation Process and Stability Investigation of Astaxanthin Vesicles

HAN Chunran, MA Diaomei, LI Chenchen*, SUI Jiaqi

(School of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

Abstract: Objective: To enhance the dispersion of astaxanthin in aqueous phases, astaxanthin-loaded vesicles were fabricated, and their stability under various environmental conditions was examined. Methods: Using unsaturated fatty acid (arachidonic acid) and astaxanthin as raw materials, astaxanthin liposomes were prepared by thin film hydration method. The preparation process of astaxanthin liposomes was optimized through single-factor and response surface experiments, investigating the morphology, particle size and distribution, Zeta potential, encapsulation efficiency, and stability during storage, oxidation, and *in vitro* digestion. Results: The optimal conditions for preparing astaxanthin liposomes were as follows: Astaxanthin concentration of 0.14 mg/mL, surfactant to fatty acid ratio of 1:1, hydrophilic-lipophilic balance of surfactant of 7, phosphate buffer solution pH of 7.0, and hydration time of 21 min. Under these conditions, the average encapsulation efficiency of astaxanthin liposomes was $89.58\% \pm 1.47\%$. Transmission electron microscopy and particle size analysis showed that astaxanthin liposomes had a spherical structure with an average particle size of (131.74 ± 2.74) nm, a PDI of 0.25 ± 0.01 , and a Zeta potential of (-38.52 ± 2.31) mV. Stability experiments demonstrated that after 16 days of storage at 4 ℃ in the dark, astaxanthin liposomes showed good stability. The retention rate of astaxanthin in liposomes after freeze-drying and reconstitution was similar to that in liquid state, and they exhibited some tolerance to salt ions. After 16

收稿日期: 2024-05-27

基金项目: 哈尔滨商业大学产业化项目 (XL0077)。

作者简介: 韩春然 (1970-), 女, 硕士, 教授, 研究方向: 农产品加工及贮藏, E-mail: 13704809512@yeah.net。

* 通信作者: 黎晨晨 (1984-), 女, 博士, 工程师, 研究方向: 农产品加工及贮藏, E-mail: 111198418@163.com。

days of storage, the peroxide value (POV) and TBARS of oil-soluble astaxanthin were twice those of astaxanthin liposomes. After *in vitro* digestion, the digestion retention rate of astaxanthin of the two was $44.19\% \pm 2.21\%$ and $74.99\% \pm 4.37\%$ at the end of small intestine digestion. Conclusion: The astaxanthin liposomes prepared in this experiment had suitable particle size, good dispersibility, high encapsulation efficiency, and good stability, providing a reference for the development of astaxanthin-derived products.

Key words: astaxanthin; vesicles; preparation conditions; structural characterization; stability

虾青素(3,3'-二羟基-4,4'-二酮- β,β' 胡萝卜素, astaxanthin, AST)是一种类胡萝卜素,属于萜烯类不饱和化合物^[1]。在天然物质中 AST 具有极强的抗氧化活性^[2],同时可对癌症^[3]、炎症^[4]、心血管病^[5]等疾病具有预防和抵抗作用,因此受到人们越来越多的关注。然而,AST 易受到光照、温度等影响发生氧化降解,导致其化学结构不稳定,从而影响生物活性及生理功能,因此在实际应用中受到限制。许多科学家尝试利用运载体系来解决 AST 不稳定的问题,多种运载体系如脂质体^[6]、乳液^[7]、纳米颗粒^[8]等均已被证明可以提高 AST 的稳定性。但乳液和脂质体最大的缺点在于热力学不稳定,易发生药物泄露,而形成纳米颗粒的一些聚合物价格昂贵,且制备工艺复杂。

脂肪酸囊泡(fatty acid vesicles, FAV)是由脂肪酸的盐溶液通过自组成而形成的封闭脂质双层的胶体悬浮液,具有亲水和亲油特性^[9]。由双亲性分子组合形成的 FAV 化学结构相对稳定,同时原料来源丰富且便宜,具有较高的可选择性^[9];其次,脂肪酸囊泡是抗炎药物输送的潜在抗炎载体^[10],此外,由于其在水相中的高溶解度,可以确保 FAV 在生物膜中分离效果良好^[11]。因此 FAV 可以作为脂质体的替代品,可作为生物活性物质的包埋壁材,达到缓释的效果^[12]。但 FAV 仅在水化介质 pH 为 7~9 范围才能形成囊泡,而加入非离子表面活性剂(脱水山梨醇脂肪酸酯)后囊泡的 pH 范围向弱酸性范围偏移,可与人体弱酸环境匹配^[13-14]。研究发现油酸^[15]、亚麻酸^[16]、亚油酸^[17]、癸酸^[18]等均能形成类似脂质结构的脂肪酸囊泡,且能提高包埋物的稳定性。花生四烯酸(arachidonic acid, AA)是一种多不饱和脂肪酸,属于 ω -6 系列,对人体具有重要的生理功能作用,其广泛分布于动物界,花生四烯酸不仅对虾青素的吸收和生物可及性有促进作用^[19],且负载虾青素后能够提高脂肪酸膜结构稳定性^[6]。

本实验以虾青素为包埋对象,筛选虾青素脂肪酸囊泡(AST-FAV)包埋工艺并进行优化,制备 AST-FAV。从贮藏、氧化、体外消化几方面考察 AST-FAV 稳定性,以期获得稳定性较好的 AST-FAV,同时为囊泡在食品中的应用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

虾青素(纯度>96%) 陕西金康泰生物科技有限公司;虾青素标准品(纯度>98%)、过氧化氢异丙苯、1,1,3,3-四乙氧基丙烷 阿拉丁试剂上海有限公司;

乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、花生四烯酸(纯度 40%) 上海麦克林生化科技有限公司;司盘 60、吐温 85 天津市富宇精细化工有限公司;无水乙醇、氯仿、氯化钡、硫酸亚铁、正丁醇、异丙醇、浓盐酸 分析纯,天津市天力化学试剂有限公司;氯化钠、硫酸氢铵、异辛烷、三氯乙酸 分析纯,天津市致远化学试剂有限公司;硫代巴比妥酸 分析纯,北京化工厂;人工唾液、人工胃液、人工肠液 上海源叶生物科技有限公司。

YRE-201D 型旋转蒸发器、HH-WO2 智能数显恒温水油浴锅、SHZ-D III 予华牌循环水真空泵 巩义市予华仪器有限责任公司;KQ-250DE 型数控超声清洗器 昆山市超声仪器有限公司;DZF-6210BZ 真空干燥箱 上海仪昕科学仪器有限公司;1260 型高效液相色谱仪 安捷伦科技中国有限公司;TG16-WS 台式高速离心机 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;Zetasizer Nano ZS90 纳米粒径电位分析仪 英国 Malvern 公司;Spectrum II 傅里叶变换红外光谱仪(FTIR) 美国 Perkin-Elmer 公司;HT7800 型透射电子显微镜(TEM) 美国 FEI 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 虾青素囊泡的制备 采用薄膜水化-超声法制备囊泡^[20]。用司盘 60 和吐温 85 配制不同亲水亲油平衡(hydrophile-lipophile balance, HLB)值的表面活性剂,将有机溶剂(氯仿:乙醇=3:2)、表面活性剂、花生四烯酸和虾青素加入圆底烧瓶中,轻摇至虾青素全部溶解于有机溶剂中。将圆底烧瓶安装在旋转蒸发器上,30 ℃ 水浴,减压条件下将有机溶剂去除,直至圆底烧瓶底部形成橙红色膜,为防止有机溶剂残留,将圆底烧瓶置于 25 ℃ 真空干燥箱过夜;往过夜后的圆底烧瓶中加入配制好的 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 20 mL 于 25 ℃ 40 W 超声清洗仪中辅助处理一定时间,瓶底部所有薄膜再水化,从而形成 0.15 mg/mL 囊泡。水化完成后将形成的虾青素囊泡(AST-FAV)过 0.45 μm 滤膜。空白囊泡的制作过程与 AST-FAV 的制作过程一致,区别是不加 AST。用花生油溶解虾青素最终形成浓度为 0.15 mg/mL 的油溶虾青素。

1.2.2 虾青素包封率的测定

1.2.2.1 虾青素标准曲线的建立 精密称取虾青素标准品 1 mg,用甲醇溶解并定容至 100 mL,用作后续实验的母液。用甲醇将母液稀释成不同浓度梯度(0、1、2、4、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$)的工作液,过 0.22 μm

有机膜后按照下述色谱条件进样。

色谱条件: 采用 Agilent C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm); 检测器为紫外可见检测器; 检测波长设置为 474 nm; 进样量为 10 μL; 流速为 1 mL/min, 运行时间 5 min; 柱温为 25 ℃; 流动相为甲醇: 乙腈=9:1。

以峰面积 $y(\text{mAU} \times \text{S})$ 为纵坐标, AST 的质量浓度 $x(\mu\text{g}/\text{mL})$ 为横坐标, 得到标准曲线为: $y=201.18x+12.942$, $R^2=0.9993$ 。

1.2.2.2 AST 包封率的计算 取 1 mL 已过 0.45 μm 滤膜的虾青素囊泡悬浮液及 10 mL 正己烷溶液至离心管中, 超声 30 min 使其破乳, 吸取 1 mL 于离心管中, 用甲醇定容至 10 mL, 用 1.2.2.1 方法测定虾青素含量(c_0)。另取 1 mL 虾青素囊泡悬浮液于离心管中, 加入 10 mL 正己烷溶液, 在 8000 r/min 离心 20 min, 萃取至正己烷层无色, 然后分液分离出正己烷溶液, 取 1 mL 置于离心管中用甲醇定容至 10 mL, 采用 1.2.2.1 方法测定游离虾青素含量(c_1)。计算包封率, 公式如下:

$$\text{包封率}(\%) = \frac{c_0 - c_1}{c_0} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中: c_0 为虾青素囊泡中虾青素总含量, $\mu\text{g}/\text{mL}$; c_1 为虾青素囊泡中游离虾青素含量, $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.2.3 单因素实验优化 在固定条件: 表面活性剂与脂肪酸比例为 1:2, 表面活性剂 HLB 值 6, 磷酸缓冲溶液 pH6.8, 水化时间为 15 min 的基础上, 以 AST-FAV 包封率为指标, 考察虾青素添加量(0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 mg/mL)、表面活性剂与脂肪酸比例(1:3、1:2、1:1、3:2、2:1)、表面活性剂 HLB 值(5、6、7、8、9)、磷酸缓冲溶液 pH(6.6、6.8、7.0、7.2、7.4)、水化时间(10、15、20、25、30 min)五个因素对 AST-FAV 包封率的影响, 且后续因素的实验均在前一因素实验的较优结果上进行。

1.2.4 Box-Behnken 响应面优化试验 结合单因素实验结果, 选择对虾青素囊泡包封率影响较大的 4 个因素: 输入指标为虾青素添加量(A)、表面活性剂与脂肪酸比例(B)、磷酸缓冲溶液 pH(C)、水化时间(D), 输出指标为 AST-FAV 包封率, 表面活性剂 HLB 值 7 为固定因子, 进行响应面设计。采用 Box-Behnken 响应面法进行工艺优化设计试验, 因素及水平编码见表 1。

表 1 Box-Behnken 响应面因素及水平编码

Table 1 Box-Behnken response surface factor and level coding

水平	因素			
	A 虾青素添加量 (mg/mL)	B 表面活性剂与 脂肪酸比例	C 磷酸缓冲 溶液 pH	D 水化时间 (min)
-1	0.1	1:2	6.8	15
0	0.15	1:1	7.0	20
1	0.2	3:2	7.2	25

1.2.5 结构表征

1.2.5.1 透射电子显微镜(TEM) 将在最佳条件下制备好的 AST-FAV 溶液稀释 50 倍后取一滴滴在铜网上, 用滤纸将周围多余液体吸干, 经自然干燥后再用质量分数 2% 的磷钨酸染色, 干燥 12 h, 最后使用透射电子显微镜在 200 kV 电压下对 AST-FAV 形貌进行表征^[21]。

1.2.5.2 傅里叶变换红外光谱(FTIR) 取适量空白花生四烯酸囊泡和虾青素囊泡悬浮液进行冷冻干燥制备得到冻干粉。分别取适量空白囊泡冻干粉和虾青素囊泡冻干粉, 以质量比 1:100 加入溴化钾碾磨成粉末, 然后压制成薄片, 压片后进行傅里叶红外光谱仪分析测试。测试的条件分别为: 分辨率 2 cm^{-1} ; 测试温度范围 23~25 ℃; 测量范围 4000~400 cm^{-1} ; 扫描次数 32 次^[22]。

1.2.5.3 粒径、PDI、Zeta 电位 取 AST-FAV 混悬液 0.1 mL, 蒸馏水稀释至 5 mL, 室温下采用粒度分析仪测定(粒径入射角 165°), 取 2 mL 装入马尔文比色皿中, 采用纳米粒径电位分析仪测定囊泡的粒径分布、PDI 及 Zeta 电位, 平行 3 份, 取平均值^[23]。

1.2.6 虾青素囊泡稳定性考察

1.2.6.1 贮藏稳定性 将 AST-FAV 分别放置在不同温度(4、25、37 ℃)、光照(自然光、避光)、盐浓度(50、100、150、200、250 mmol/L)、冻溶稳定性(液体、冻干复溶), 除温度及光照条件外其余均置于冰箱 4 ℃ 避光存放, 于第 0、4、8、12、16 d 取出, 观察外观, 测定保留率、平均粒径、PDI、Zeta 电位, 考察虾青素囊泡的贮藏稳定性。

$$\text{保留率}(\%) = \frac{c_1}{c_0} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: c_1 为虾青素囊泡贮藏一定时间后虾青素浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; c_0 为新鲜虾青素囊泡中虾青素浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.2.6.2 氧化稳定性 为了测定贮藏过程中 AST-FAV 的氧化稳定性, 用 100 mL 棕色容量瓶贮藏 100 mL AST-FAV, 在 50 ℃ 恒温条件下加速氧化 16 d。间隔 4 d 测定一次 AST-FAV 中初级和次级氧化产物。

初级氧化产物测定: 参照 Hu 等^[24] 的方法, 并稍作修改。将 1.0 mL AST-FAV 与 5.00 mL 异辛烷: 异丙醇(2:1, v/v)试剂混合, 涡旋 3 次共 30 s, 然后 5000 r/min 离心 5 min。向 2.80 mL 甲醇: 正丁醇(3:1, v/v)混合试剂中加入 100.00 μL 离心后的上清液、40.00 μL 亚铁溶液(等量的 0.132 mol/L 氯化钡和 0.144 mol/L 硫酸亚铁制备)以及 40.00 μL 的 3.94 mol/L 硫氰酸铵溶液。避光反应 20 min 后, 用紫外可见分光光度计在 510 nm 波长下测定吸光值。用 1000 μg/mL 过氧化氢异丙苯标准品制作标准曲线。标准曲线为 $y=0.421x-0.0553$, $R^2=0.9992$ 。

次级氧化产物测定: 参考 Fioramonti 等^[25] 的测定方法。按照体积比 1:2 比例加入 AST-FAV 和 TBA 试剂(将 15 g 三氯乙酸+375 mg 硫代巴比妥酸+1.76 mL 浓盐酸加入少量蒸馏水溶解后, 定容至 100 mL, 50 ℃ 下静置 30 min, 冷却后使用)在试管中混合, 并置于沸水浴中 15 min。将管冷却至室温 10 min, 然后离心(12000 r/min, 15 min), 收集上清液, 用紫外可见分光光度计测定波长 532 nm 处的吸光度。根据 1,1,3,3-四乙氧基丙烷制成的标准曲线测定样品中丙二醛的含量。标准曲线为 $y=0.539x+0.0684$, $R^2=0.9990$ 。

1.2.6.3 体外消化稳定性 参照 Liu 等^[26] 方法进行体外模拟消化实验。口腔阶段: 将模拟口腔唾液与 AST-FAV 样品各取 10 mL 混合, 随后将混合液 pH 调至 6.8, 在 200 r/min 37 ℃ 条件下连续消化 10 min。胃部阶段: 将模拟胃液与经过口腔消化后的样品等量混合, 随后将混合溶液 pH 调至 2.5, 在 100 r/min 37 ℃ 条件下连续消化 2 h。小肠阶段: 将胃部消化后的混合溶液用质量分数为 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 至 7.0, 随后加入 10 mL 模拟肠液。随后, 将混合体系继续在 37 ℃ 100 r/min 的转速连续反应 5 min 及 2 h。

取虾青素囊泡消化的各个阶段(初始、口腔 10 min、胃 2 h、肠 5 min、肠 2 h)的消化液样品, 随后, 使用高效液相色谱, 根据 1.2.2.1 的条件, 计算各时间段溶液中虾青素的含量。根据公式(3)计算虾青素消化过程中各个样品中消化保留率及粒径、电位的改变情况。

$$\text{消化保留率}(\%) = \frac{c_1}{c_0} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

式中: c_1 为消化各阶段消化液中虾青素的浓度, $\mu\text{g/mL}$; c_0 为新鲜虾青素囊泡中虾青素浓度, $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3 数据处理

所有实验平行测定三次, 数据以平均值 $\pm$ 标准差(SD)表示, 采用 Design-Expert 12 进行响应面结果分析, 使用 Origin 2021 软件进行绘图并作数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 虾青素添加量对包封率的影响 不同虾青素添加量对包封率的影响如图 1 所示。如图可知, 不同虾青素添加量对包封率的影响呈先上升后下降趋势。虾青素用量低于 0.15 mg/mL 时, 包封率随虾青素添加量的增大而增大, 可能是由于加入虾青素的量小于 FAV 最大容纳量^[27]; 虾青素添加量大于 0.15 mg/mL 时, 囊泡本身的负载能力是有限的, FAV 内虾青素达到饱和, 过量的活性物质会影响包封率, 进而导致包封率急剧下降^[28]。当添加量为 0.15 mg/mL 时,

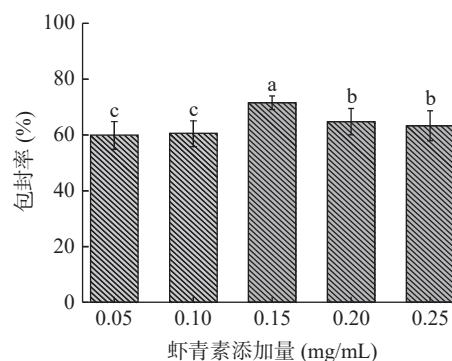


图 1 虾青素添加量对包封率的影响

Fig.1 Effect of astaxanthin supplemental level on encapsulation rate

注: 不同小写字母表示不同样品之间存在显著性差异($P < 0.05$), 图 2~图 5、图 14、图 16 同。

包封率达到最大值 71.52%, 与其他各水平之间存在显著性差异($P < 0.05$)。因此, 确定虾青素的最佳添加量为 0.15 mg/mL。

2.1.2 表面活性剂与脂肪酸比例对包封率的影响

不同表面活性剂与脂肪酸比例对包封率的影响如图 2 所示。由图可知, 当添加不同表面活性剂与脂肪酸比例时, 包封率呈先增加后减少趋势。当表面活性剂与脂肪酸比例小于 1:1 时, 此时表面活性剂用量小于脂肪酸用量, 导致囊泡的流动性较强, 虾青素容易泄露, 从而包封率下降^[29]; 而当表面活性剂与脂肪酸比例大于 1:1 时, 此时表面活性剂用量大于脂肪酸用量而包封率也随之下降, 可能是因为过多的表面活性剂占据了 FAV 的内部空间、导致虾青素不能进入脂肪酸囊泡内部空间, 导致包封率降低^[28]; 当表面活性剂与脂肪酸比例为 1:1 时, 虾青素囊泡的包封率为 76.49%, 与其他各水平之间差异显著($P < 0.05$)。因此, 确定表面活性剂与脂肪酸比例为 1:1。

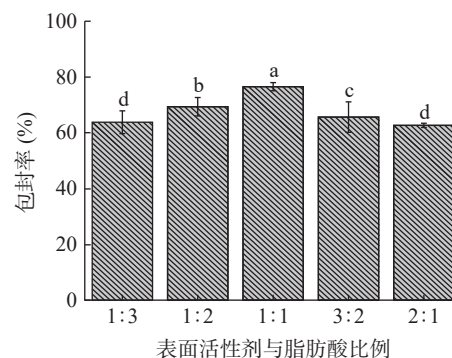


图 2 表面活性剂与脂肪酸比例对包封率的影响

Fig.2 Effect of surfactant to fatty acid ratio on encapsulation rate

2.1.3 表面活性剂 HLB 值对包封率的影响 不同表面活性剂 HLB 值对包封率的影响如图 3 所示。HLB 值在 5 和 9 之间的表面活性剂可以形成囊泡, 表面活性剂 HLB 值在此范围内可以使其在虾青素和水溶液的界面上更好地排列, 从而形成的囊泡包封

率较高^[30]。当表面活性剂 HLB 值为 7 时,此时虾青素囊泡的包封率最大 77.66%,但整体与表面活性剂 HLB 值为 5~9 时差异不显著($P>0.05$)。由于表面活性剂 HLB 值为 7 时,表面活性剂在虾青素表面吸附量最大,因此包封率最高,HLB 值大于 7 时,亲水性增强,界面张力变大,导致包封率下降^[31]。因此,确定表面活性剂 HLB 值为 7。

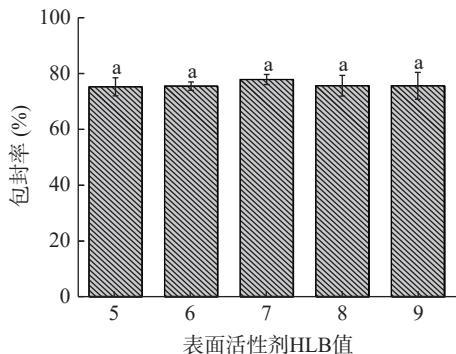


图3 表面活性剂 HLB 值对包封率的影响

Fig.3 Effect of surfactant HLB value on encapsulation rate

2.1.4 磷酸缓冲溶液 pH 对包封率的影响 不同磷酸缓冲溶液 pH 对包封率的影响如图 4 所示。在磷酸缓冲溶液的 pH 为 6.6~7.4 范围内,虾青素囊泡包封率先增大后减小。当 pH 为 7.0 时,虾青素囊泡的包封率最高,达到 85.95%,与其他各水平之间具有显著性差异($P<0.05$)。当 pH 大于或小于 7.0 时,可能是因为脂肪酸在 H^+ 或 OH^- 存在下不稳定容易发生水解反应,导致虾青素外泄,导致包封率降低^[32];此外,磷酸缓冲溶液的 pH 还能够通过改变 AST-FAV 表面的带电性质而改变虾青素囊泡的通透性,导致虾青素外漏^[32]。因此,确定磷酸缓冲溶液 pH 为 7.0。

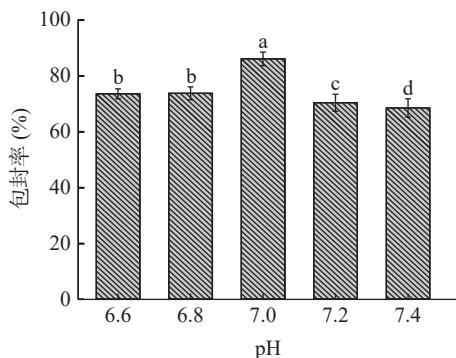


图4 磷酸缓冲溶液 pH 对包封率的影响

Fig.4 Effect of pH of phosphate buffer solution on encapsulation rate

2.1.5 水化时间对包封率的影响 水化时间对包封率的影响如图 5 所示。由图可知,随着水化时间的延长虾青素囊泡的包封率先升高后降低。当水化时间为 20 min 时,包封率最高 88.72%,且水化时间各水平对虾青素囊泡包封率具有显著影响($P<0.05$)。这是由于水化时间在合适范围内可以起到乳化稳定作用^[33]。当水化时间小于 20 min,水化时间对包封

率起到促进作用;当水化时间大于 20 min,水化时间过长会导致包封率下降可能是因为水化过程中使用超声辅助,超声时间过长而导致整个溶液运动速率加快导致环境温度升高,引起 AST-FAV 的破裂,导致虾青素从脂肪酸囊泡中流出,包封率随之下降^[34]。因此,确定水化时间为 20 min。

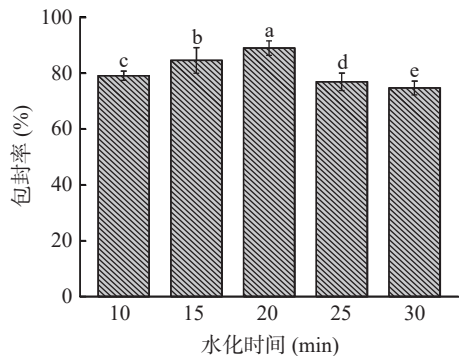


图5 水化时间对包封率的影响

Fig.5 Effect of hydration time on encapsulation rate

2.2 虾青素囊泡制备的响应面试验

2.2.1 响应面试验结果 根据单因素实验结果,结合 Box-Behnken 的试验设计原理,用 4 因素 3 水平响应面分析法优化制备条件。随机设计了 30 组试验,其中中心点试验 6 个,用以估计试验误差。以

表2 响应面试验结果

Table 2 Results of response surface experiment

试验号	A	B	C	D	包封率(%)
1	-1	-1	0	0	73.21
2	1	1	0	0	60.92
3	0	0	0	0	89.65
4	0	0	1	1	84.51
5	0	0	-1	-1	83.72
6	0	0	1	-1	75.62
7	0	0	-1	1	80.93
8	0	0	0	0	89.61
9	1	-1	0	0	69.12
10	-1	1	0	0	68.52
11	0	0	0	0	87.41
12	0	-1	1	0	78.15
13	0	-1	-1	0	84.12
14	1	0	0	-1	75.51
15	1	0	0	1	73.92
16	-1	0	0	-1	71.51
17	0	0	0	0	90.82
18	0	1	1	0	70.61
19	0	1	-1	0	77.62
20	-1	0	0	1	79.72
21	-1	0	-1	0	82.48
22	0	1	0	-1	75.85
23	0	0	0	0	88.27
24	0	0	0	0	88.72
25	0	-1	0	-1	80.62
26	-1	0	1	0	75.73
27	0	-1	0	1	84.51
28	1	0	1	0	75.81
29	1	0	-1	0	73.29
30	0	1	0	1	79.39

A 虾青素添加量、B 表面活性剂与脂肪酸比例、C 磷酸缓冲溶液 pH、D 水化时间为自变量, 以脂肪酸囊泡包封率为响应值, 响应面试验结果见表 2。

2.2.2 模型拟合与方差分析 根据表 2 中数据采用 Design-Expert12 统计分析软件进行数据分析, 得到包封率对虾青素添加量(A)、表面活性剂与脂肪酸比例(B)、磷酸缓冲溶液 pH(C)、水化时间(D)的二次多项式拟合, 对二次多项式拟合方程中各项系数分别进行方差分析。

二次多项式拟合: $Y=88.58-2.05A-2.74B-2.31C+1.51D-0.88AB+2.32AC-1.95AD-0.76BC-0.087BD+2.92CD-10.63A^2-8.02B^2-3.02C^2-2.37D^2$, $P<0.0001$, $R^2=0.9461$ 。

从表 3 可以看出, 模型 $P<0.0001$, 达到极显著水平。分析 4 个因素对虾青素囊泡包封率的影响, 一次项 A、B、C 及 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 在 0.01 水平上对包封率有极显著影响, 而一次项 D、交互项 AC、AD、CD 在 0.05 水平上对包封率影响显著。用该模型进行合理预测, 结果表明, 4 个因素对包封率的影响顺序由小到大依次为 $D<C<A<B$ 。失拟项 P 值为 $0.2495>0.05$, 失拟项差异不显著, 表明该模型的真实值与预测值之间具有较高的相关性, 对实验评价对象的影响不显著, 说明该方程模拟较好, 可以初步评估该方程具有一定的可靠性。 $R^2=0.9642$, 调整后 $R^2=0.9256$, 响应值的变异系数(C.V.)为 2.58%, 说明实验可靠性较高, 可信。综上, 说明该模型拟合程度较好, 可用来分析和预测虾青素囊泡的制备工艺。

2.2.3 响应面分析 采用 Design-Expert 12 软件绘

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

变异来源	平方和	自由度	均方值	F值	P值	显著性
模型	1459.09	14	104.22	25.00	<0.0001	**
A	42.56	1	42.56	10.21	0.0070	**
B	112.98	1	112.98	27.10	0.0002	**
C	39.35	1	39.35	9.44	0.0089	**
D	33.84	1	33.84	8.12	0.0137	*
AB	3.08	1	3.08	0.74	0.4056	
AC	21.48	1	21.48	5.15	0.0409	*
AD	24.01	1	24.01	5.76	0.0321	*
BC	0.27	1	0.27	0.065	0.8029	
BD	0.031	1	0.031	7.347E-003	0.9330	
CD	34.11	1	34.11	8.18	0.0134	*
A ²	836.83	1	836.83	200.76	<0.0001	**
B ²	459.34	1	459.34	110.20	<0.0001	**
C ²	69.82	1	69.82	16.75	0.0013	**
D ²	53.31	1	53.31	12.79	0.0034	**
残差	54.19	13	4.17			
失拟项	48.27	10	4.83	2.45	0.2496	○
误差项	5.92	3	1.97			
总和	1554.97	29				

注: *表示差异显著, $P<0.05$; **表示差异极显著, $P<0.01$; ○表示差异不显著, $P>0.05$ 。

制虾青素添加量(A)、表面活性剂与脂肪酸比例(B)、磷酸缓冲溶液 pH(C)、水化时间(D)之间的三维曲面图, 结果如图 6 所示。

由图 6 结合表 3 可知, 两因素交互作用中磷酸缓冲溶液 pH 与水化时间(CD)之间交互影响最大 ($P=0.0134<0.05$), 虾青素添加量与水化时间(AD)影响次之。综上, 两因素对应的曲线中对虾青素囊泡的包封率影响由大到小依次为磷酸缓冲溶液 pH 与水

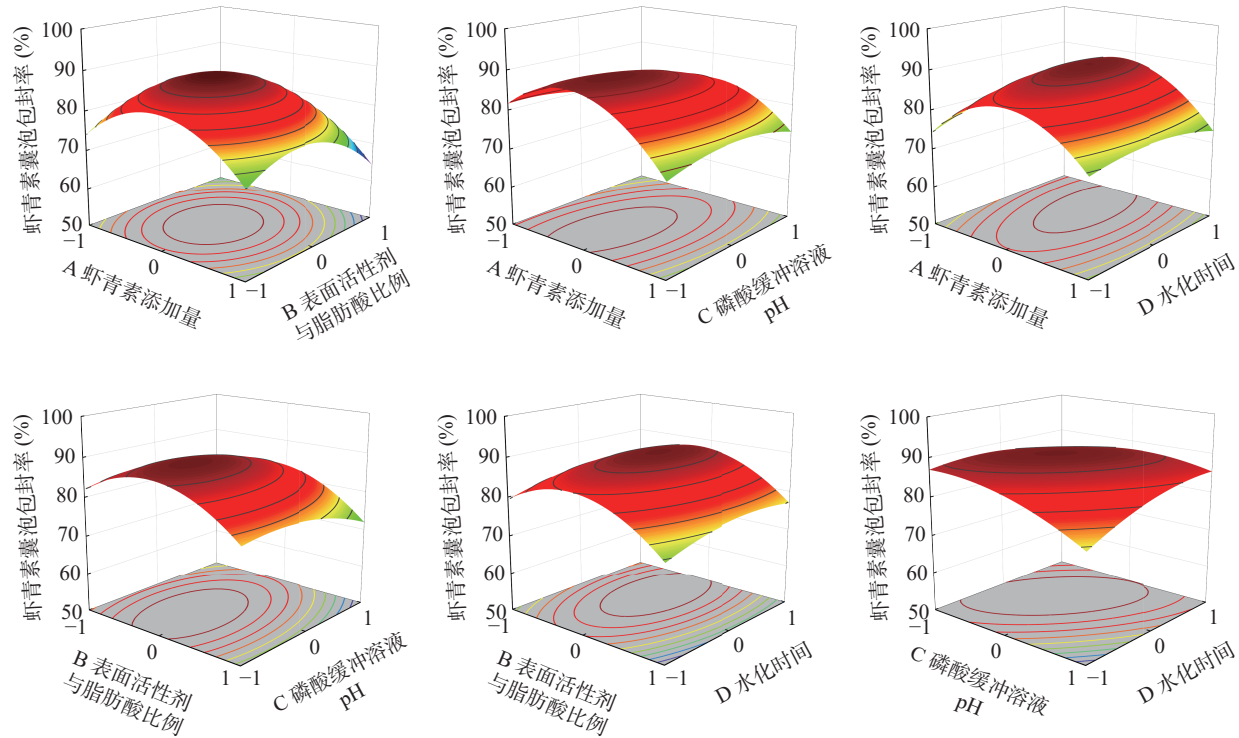


图 6 两因素交互作用对虾青素囊泡包封率影响的曲面图

Fig.6 Surface plots of effect of two-factor interactions on encapsulation rate of AST-FAV

化时间(CD)>虾青素添加量与水化时间(AD)>虾青素添加量与磷酸缓冲溶液 pH(AC)>虾青素添加量与表面活性剂与脂肪酸比例(AB)>表面活性剂与脂肪酸比例与磷酸缓冲溶液 pH(BC)>表面活性剂与脂肪酸比例与水化时间(BD)。

2.2.4 验证实验结果 经 Design-Expert 12 软件分析结果, 虾青素囊泡制备的最佳参考工艺条件为虾青素添加量 0.144 mg/mL、表面活性剂与脂肪酸比例为 0.91:1、磷酸缓冲溶液 pH6.95、水化时间 21.25 min, 此时包封率预测值为 89.86%。根据软件预测最佳制备条件结合实验过程中实际可操作性进行修改, 调整工艺为虾青素添加量 0.140 mg/mL、表面活性剂与脂肪酸比例为 1:1、磷酸缓冲溶液 pH 为 7.0、水化时间为 21 min 条件下进行 3 次平行验证实验, 虾青素囊泡包封率平均值为 $89.58\% \pm 1.47\%$ 。真实值与预测值接近, 说明该回归模型优化虾青素囊泡制备工艺是有效的。因此, 应用此工艺条件进行后续实验。

2.3 虾青素囊泡的表征

2.3.1 透射电子显微镜(TEM) 虾青素囊泡的 TEM 如图 7 所示, 虾青素囊泡(图 7A)得到了类似的球形囊泡, 与空囊泡的 TEM(图 7C)相比, 负载虾青素的囊泡核心颜色比外层深, 这可能是由于囊泡将虾青素

有效包裹于内部^[35], 而空囊泡中内部则被表面活性剂、水分子占据。虾青素囊泡的平均粒径为 136.73 nm; 粒径分布图(图 7B)所示虾青素囊泡的粒径尺寸范围为 110~160 nm。通过上述图可以看出虾青素囊泡呈球形且大小分布均匀。

2.3.2 傅里叶变换红外光谱(FTIR) 为了鉴定虾青素被囊泡包埋过程中是否发生了化学变化, 采用傅里叶红外光谱对其特定吸收峰进行采集及对比。脂肪酸空囊泡(a)、虾青素囊泡(b)、虾青素(c)的 FTIR 红外光谱图如图 8 所示。由常见官能团红外吸收频率可知, 虾青素有以下特征峰^[36]: O-H 伸缩振动吸收峰(3345 cm^{-1})、 $-\text{CH}_3$ 伸缩振动峰(2843 cm^{-1})、C=O 伸缩振动峰(1647 cm^{-1})和 C-H 疏水性伸缩振动峰(961 cm^{-1})。而囊泡是由花生四烯酸组装形成的, 花生四烯酸在红外谱图中, 在 1773 cm^{-1} 的伸缩振动为羧基基团上 C=C^[37]。图中(a)及(b)中的峰形基本一致, 峰位有极小偏移, 说明虾青素和脂肪酸囊泡各组分之间没有发生化学变化, 只有极小的相互影响作用, 使峰位发生偏移。比较虾青素囊泡与虾青素的谱线图, 可知虾青素囊泡谱图中 961 cm^{-1} 处的吸收峰消失, 虾青素与囊泡之间通过氢键和疏水作用相互结合, 并有效包封在囊泡中。袁巧月等^[36]在研究纳米颗粒包埋虾青素时也发现了类似的结果。

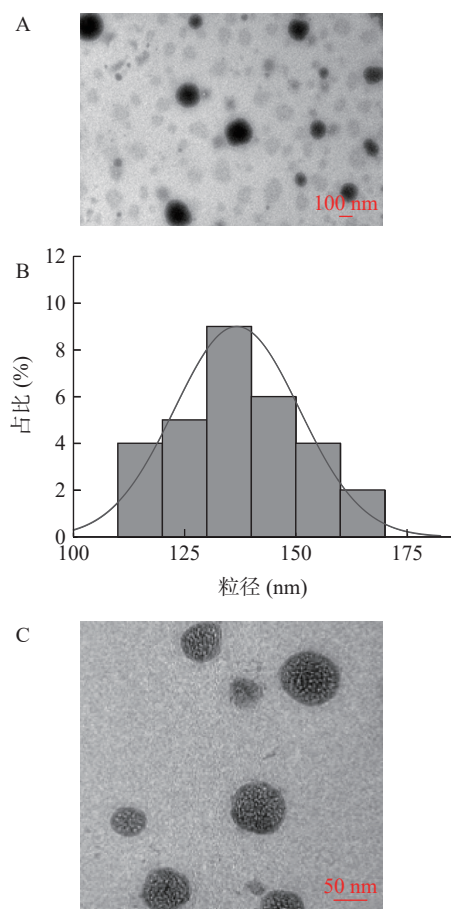


图 7 透射电子显微镜图

Fig.7 Transmission electron microscopic images

注: A: 虾青素囊泡; B: 虾青素囊泡粒径分布图; C: 空囊泡。

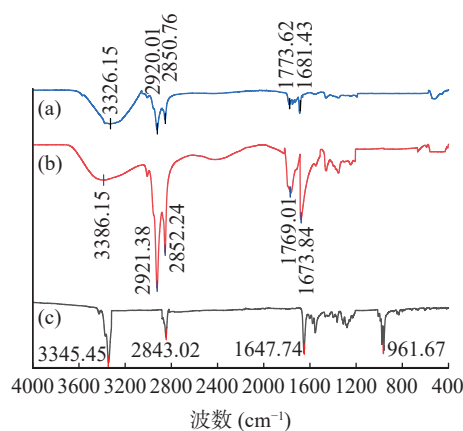


图 8 傅里叶红外光谱图

Fig.8 Fourier infrared spectrum

注: (a)为空气囊泡; (b)为虾青素囊泡; (c)为虾青素。

2.3.3 粒径、PDI、Zeta 电位 虾青素囊泡平均粒径为 $(131.74 \pm 2.74)\text{ nm}$ (图 9), PDI 为 0.25 ± 0.01 , PDI 值低于 0.3, 表明物质的单分散性很高^[38], 证明虾青素囊泡在水溶液中分布均匀, Zeta 电位为 $(-38.52 \pm 2.31)\text{ mV}$, 表面带负电荷且绝对值大于 30 mV, 因此虾青素囊泡之间存在较强的强电排斥力, 有较强的稳定性。

2.4 不同贮藏条件对 AST-FAV 稳定性的影响

2.4.1 温度对 AST-FAV 稳定性的影响 图 10 和表 4 为不同贮藏温度对虾青素囊泡稳定性的影响。从图 10 可以看出, 所制备出的初始油溶虾青素呈橙红色澄清溶液, 而虾青素囊泡呈橙红色混悬液, 在不

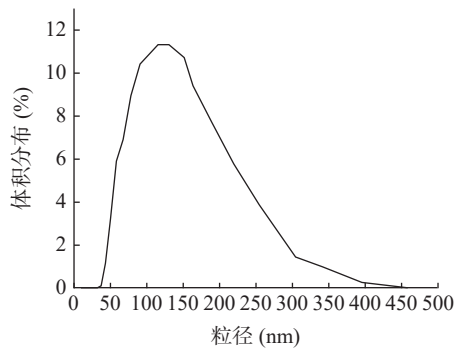


图 9 虾青素囊泡的粒径图
Fig.9 Size of astaxanthin vesicles

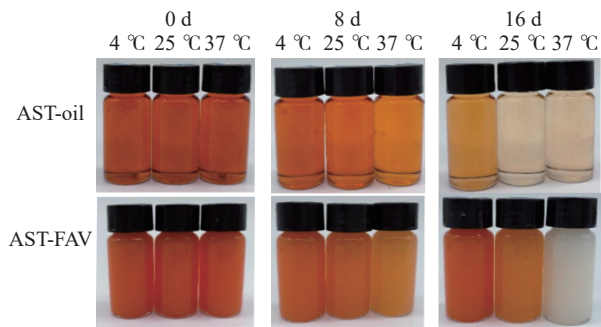


图 10 不同温度条件下 AST-FAV 外观随时间的变化
Fig.10 Appearance change of AST-FAV with time at different temperatures

同温度下,随着贮藏时间的延长两组颜色出现变浅或消失现象。在 25 °C 及 37 °C 贮藏 8 d 后 AST-oil 及 AST-FAV 外观颜色出现变化,当贮藏 16 d 后,AST-oil 在 4、25、37 °C 外观颜色变化明显,而 AST-FAV 在 4 °C 贮藏 16 d 后颜色变化不明显。由表 4 可知贮藏 16 d 后,不同温度下(4、25、37 °C)保留率与初始值相比,AST-FAV 保留率分别下降 22.86%、43.07%、100%($P<0.05$),而 AST-oil 保留率分别下降 87.80%、100%、100%($P<0.05$),当贮藏

温度为 37 °C 时,二者 16 d 后虾青素均完全降解,而 AST-FAV 在 4 °C 贮藏时保留率下降最少。在不同温度条件下贮藏 16 d 后 AST-FAV 粒径分别增加了 28.86、53.78、76.92 nm,而 AST-oil 粒径分别增加了 42.23、56.70、95.15 nm,随着贮藏时间的延长 AST-FAV 和 AST-oil 中液滴发生迁移,液滴聚集导致粒径变大,随着贮藏温度升高,液滴迁移速率加快,粒径变大,温度越高,粒径越大。AST-FAV 在 4 °C 贮藏 16 d 后电位及 PDI 值与制备初始值接近,分布和均一性状态良好,而 AST-oil PDI 值大于 0.3,说明虾青素在油溶介质中稳定性较低。结果表明 AST-FAV 在 4 °C 下贮藏有利于提高其稳定性,在实际应用中具有一定潜力。

2.4.2 光照对 AST-FAV 稳定性的影响 图 11 和表 5 为不同光照对虾青素囊泡稳定性的影响。可以看出不同光照条件下(自然光、避光)AST-oil 在贮藏 16 d 后颜色均出现明显变化,而 AST-FAV 在避光条件下外观颜色变化很小,这是因为虾青素对光敏

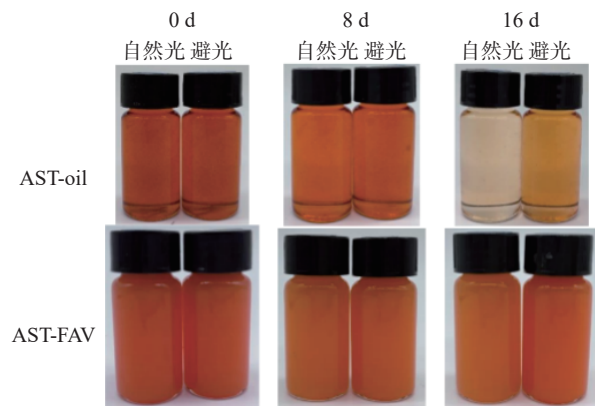


图 11 不同光照条件下 AST-FAV 外观随时间的变化
Fig.11 Appearance change of AST-FAV with time at different lighting conditions

表 4 不同贮藏温度对 AST-FAV 稳定性的影响

Table 4 Effects of different storage temperatures on the stability of AST-FAV

贮藏时间(d)	贮藏温度(°C)	保留率(%)		粒径(nm)		Zeta电位(mV)		PDI	
		AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV
0	4	100 ^a	100 ^a	231.32±4.60 ^b	140.31±1.45 ^b	-31.52±0.75 ^c	-30.59±0.09 ^b	0.24±0.01 ^d	0.22±0.02 ^d
	25	100 ^a	100 ^a	235.99±7.52 ^d	139.91±2.26 ^d	-31.47±0.93 ^c	-30.57±0.28 ^c	0.22±0.01 ^c	0.23±0.02 ^c
	37	100 ^a	100 ^a	221.53±5.14 ^d	140.25±0.30 ^d	-30.96±0.93 ^c	-30.79±0.09 ^d	0.22±0.01 ^c	0.23±0.01 ^c
4	4	79.53±0.72 ^b	94.40±0.48 ^b	244.74±4.21 ^b	146.89±2.96 ^b	-33.01±0.53 ^{bc}	-30.65±0.31 ^b	0.24±0.02 ^d	0.23±0.01 ^c
	25	76.73±0.87 ^b	94.31±0.12 ^b	251.31±1.66 ^c	146.71±1.05 ^d	-33.04±0.27 ^c	-32.24±0.65 ^b	0.23±0.01 ^c	0.23±0.01 ^c
	37	70.98±0.50 ^b	83.30±0.35 ^b	253.04±3.30 ^c	147.91±1.10 ^d	-33.76±0.54 ^b	-32.25±0.38 ^c	0.23±0.01 ^c	0.24±0.01 ^{bc}
8	4	62.79±1.40 ^c	81.82±1.62 ^c	253.96±3.62 ^{ab}	158.28±4.35 ^{ab}	-34.69±0.82 ^b	-30.93±0.09 ^b	0.26±0.01 ^c	0.24±0.01 ^{bc}
	25	57.29±2.51 ^c	74.09±0.36 ^c	263.32±3.73 ^b	155.59±3.96 ^c	-35.34±0.49 ^b	-33.36±0.75 ^b	0.25±0.01 ^b	0.24±0.01 ^{bc}
	37	45.66±6.03 ^c	61.59±1.85 ^c	274.56±3.52 ^b	160.33±1.19 ^c	-35.84±0.76 ^b	-34.66±1.62 ^c	0.28±0.01 ^b	0.25±0.01 ^b
12	4	34.93±3.16 ^d	79.69±0.97 ^d	261.38±5.85 ^a	163.98±3.12 ^a	-35.16±1.18 ^{ab}	-31.72±0.22 ^{ab}	0.28±0.01 ^b	0.25±0.01 ^b
	25	18.67±5.23 ^d	67.53±3.64 ^d	277.76±4.79 ^b	167.34±2.58 ^b	-37.78±1.26 ^b	-34.67±0.96 ^b	0.30±0.01 ^{ab}	0.25±0.01 ^b
	37	0	19.87±6.11 ^d	281.22±2.49 ^b	172.25±1.19 ^b	-40.34±0.93 ^a	-37.46±0.70 ^b	0.33±0.01 ^{ab}	0.25±0.01 ^b
16	4	12.20±8.94 ^e	77.14±2.30 ^e	273.55±4.87 ^a	169.17±1.28 ^a	-37.19±0.69 ^a	-33.23±0.49 ^a	0.32±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a
	25	0	56.93±3.55 ^e	292.69±2.25 ^a	193.69±1.71 ^a	-41.22±0.64 ^a	-39.60±0.45 ^a	0.33±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a
	37	0	0	316.68±9.58 ^a	217.17±6.24 ^a	-43.70±1.55 ^a	-41.48±0.78 ^a	0.35±0.01 ^a	0.32±0.02 ^a

注:不同小写字母表示相同组别、相同贮藏条件,不同贮藏时间之间存在显著性差异($P<0.05$);表5~表7同。

表 5 不同光照对 AST-FAV 稳定性的影响

Table 5 Effects of different lighting conditions on the stability of AST-FAV

贮藏时间(d)	光照	保留率(%)		粒径(nm)		Zeta电位(mV)		PDI	
		AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV
0	自然光	100 ^a	100 ^a	231.53±15.61 ^d	140.91±3.59 ^d	-31.11±0.92 ^d	-30.57±0.28 ^c	0.25±0.01 ^c	0.23±0.02 ^e
	避光	100 ^a	100 ^a	233.46±2.60 ^c	140.31±0.88 ^b	-30.50±0.66 ^c	-30.59±0.09 ^c	0.23±0.01 ^c	0.22±0.02 ^e
4	自然光	76.34±1.09 ^b	97.16±0.13 ^b	264.77±9.77 ^c	163.62±5.12 ^c	-32.83±0.99 ^{cd}	-30.91±0.09 ^c	0.25±0.01 ^c	0.25±0.01 ^d
	避光	79.75±1.23 ^b	97.13±0.05 ^b	244.60±6.20 ^c	146.89±2.96 ^b	-32.67±2.06 ^b	-30.65±0.31 ^c	0.24±0.01 ^d	0.24±0.03 ^d
8	自然光	56.01±0.64 ^c	82.31±0.16 ^c	274.15±8.49 ^c	181.49±6.11 ^b	-33.12±0.71 ^c	-31.30±0.44 ^{bc}	0.25±0.01 ^c	0.24±0.02 ^c
	避光	64.78±2.64 ^c	83.60±0.25 ^c	268.33±4.28 ^b	158.28±4.35 ^{ab}	-34.07±0.48 ^b	-30.93±0.09 ^{bc}	0.26±0.03 ^c	0.22±0.02 ^c
12	自然光	17.69±5.20 ^d	69.12±2.53 ^d	290.65±4.28 ^b	199.11±4.14 ^a	-38.23±0.28 ^b	-32.56±0.45 ^b	0.28±0.01 ^b	0.28±0.02 ^b
	避光	36.55±8.42 ^d	81.39±1.54 ^d	277.16±6.48 ^a	163.98±3.12 ^a	-37.34±1.35 ^a	-31.72±0.22 ^b	0.24±0.02 ^b	0.26±0.02 ^b
16	自然光	0	40.78±7.01 ^e	310.76±6.58 ^a	207.30±6.14 ^a	-42.51±2.30 ^a	-34.29±0.64 ^a	0.36±0.01 ^a	0.29±0.01 ^a
	避光	13.52±5.78 ^c	76.73±1.44 ^c	281.16±8.82 ^a	169.17±1.28 ^a	-39.66±0.37 ^a	-33.23±0.49 ^a	0.34±0.01 ^a	0.28±0.01 ^a

感,当虾青素暴露在自然光下时稳定性会降低,容易发生降解,从而失去其原有的营养价值。由表 5 可知,贮藏 16 d 后,在自然光组中 AST-FAV 和 AST-oil 保留率分别下降 100%、59.22%($P<0.05$),而在避光组中 AST-FAV 和 AST-oil 保留率分别下降 86.48%、23.27%($P<0.05$),在自然光下 AST-oil 在 16 d 后全部氧化分解,而在避光条件下 AST-FAV 保留率下降最少。贮藏 16 d 后,在光照、避光条件下 AST-FAV 粒径分别增大 66.39、28.86 nm,AST-oil 粒径分别增大 79.22、47.70 nm,可以证明 AST-FAV 在贮藏期间出现的聚集粘连现象少于 AST-oil。贮藏 16 d 后,在避光条件下 AST-FAV 的电位绝对值均大于 30 mV, PDI 值均小于 0.3,说明 AST-

FAV 体系相对稳定,粒径分布相对集中;而囊泡在光照条件下光敏氧化的反应速率大于自动氧化,会造成囊泡体系的失稳,从而引起电位变化^[39]。结果表明在避光条件下 AST-FAV 与 AST-oil 相比,前者能较好地保护虾青素不被分解,从而提高其稳定性。

2.4.3 不同 NaCl 浓度对 AST-FAV 稳定性的影响

图 12 和表 6 为不同 NaCl 浓度对虾青素囊泡稳定性的影响。从图 12 可以看出 AST-FAV 和 AST-oil 两组在 50~150 mmol/L NaCl 贮藏 8 d 后,外观颜色无明显差异,但 AST-oil 组在贮藏 16 d 后与贮藏 8 d 后相比颜色变化明显,而 AST-FAV 组颜色无明显差异。由表 6 可知,与第 0 d 相比,贮藏 16 d 后不同 NaCl 浓度(50、100、150、200、250 mmol/L)中

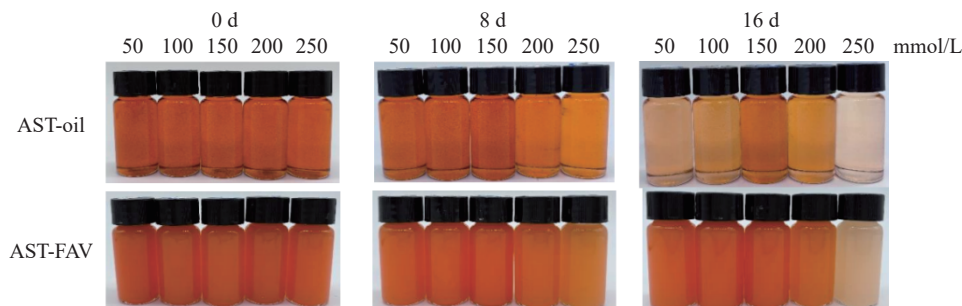


图 12 不同 NaCl 浓度条件下 AST-FAV 外观随时间的变化

Fig.12 Appearance change of AST-FAV with time at different NaCl concentrations

表 6 不同 NaCl 浓度对 AST-FAV 稳定性的影响

Table 6 Effects of different NaCl concentrations on the stability of AST-FAV

贮藏时间 (d)	NaCl 浓度(mmol/L)	保留率(%)		粒径(nm)		Zeta电位(mV)		PDI	
		AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV
0	50	100 ^a	100 ^a	240.74±2.47 ^c	139.91±2.26 ^c	-31.86±0.53 ^a	-30.57±0.28 ^c	0.25±0.01 ^d	0.23±0.02 ^d
	100	100 ^a	100 ^a	225.45±3.59 ^d	136.29±1.05 ^b	-30.54±0.52 ^b	-30.77±0.04 ^c	0.25±0.01 ^c	0.24±0.01 ^d
	150	100 ^a	100 ^a	219.25±3.95 ^c	137.29±0.54 ^b	-31.69±0.78 ^a	-30.97±0.47 ^c	0.25±0.01 ^d	0.24±0.01 ^d
	200	100 ^a	100 ^a	230.71±4.76 ^c	141.26±0.73 ^d	-31.22±0.86 ^a	-31.39±0.52 ^c	0.26±0.01 ^c	0.25±0.01 ^d
	250	100 ^a	100 ^a	239.11±4.67 ^d	142.37±0.40 ^d	-30.64±0.65 ^b	-31.07±0.54 ^c	0.26±0.01 ^c	0.25±0.01 ^c
4	50	80.17±0.94 ^b	92.52±0.50 ^b	242.61±4.91 ^{bc}	146.89±2.96 ^c	-30.56±0.86 ^a	-30.65±0.31 ^c	0.27±0.01 ^c	0.25±0.01 ^c
	100	82.22±0.63 ^b	94.22±0.38 ^b	251.18±3.17 ^c	144.39±3.02 ^b	-30.89±0.47 ^b	-33.40±1.69 ^b	0.27±0.01 ^d	0.25±0.01 ^c
	150	82.66±0.10 ^b	95.44±0.28 ^b	239.28±4.67 ^b	144.64±2.23 ^b	-31.54±1.78 ^a	-34.82±0.08 ^b	0.27±0.01 ^c	0.25±0.01 ^c
	200	76.43±0.13 ^b	92.90±0.47 ^b	258.99±8.37 ^b	156.93±1.59 ^c	-31.83±0.73 ^a	-36.32±0.71 ^b	0.28±0.01 ^d	0.27±0.01 ^c
	250	70.78±1.53 ^b	91.29±0.35 ^b	259.27±4.42 ^c	167.75±2.07 ^c	-31.44±0.44 ^a	-37.81±0.38 ^d	0.30±0.02 ^d	0.26±0.01 ^d

续表 6

贮藏时间 (d)	NaCl 浓度(mmol/L)	保留率(%)		粒径(nm)		Zeta电位(mV)		PDI	
		AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV
8	50	71.72±0.86 ^c	82.94±1.03 ^c	253.76±7.29 ^b	158.28±4.35 ^b	-30.80±0.41 ^a	-30.93±0.09 ^{bc}	0.28±0.01 ^b	0.26±0.01 ^b
	100	72.24±1.61 ^c	82.68±1.08 ^c	272.30±8.41 ^b	160.01±2.82 ^a	-31.17±0.35 ^a	-35.97±1.45 ^{ab}	0.28±0.01 ^c	0.24±0.01 ^d
	150	80.37±0.21 ^c	85.09±0.47 ^c	246.73±7.82 ^b	164.49±0.55 ^a	-31.45±0.45 ^a	-35.98±0.63 ^b	0.27±0.01 ^c	0.26±0.01 ^b
	200	63.98±3.06 ^c	80.39±0.84 ^c	266.53±5.60 ^b	177.40±2.63 ^b	-27.03±0.49 ^b	-38.40±0.43 ^a	0.33±0.01 ^c	0.27±0.01 ^c
	250	53.02±1.88 ^c	77.90±1.16 ^c	280.21±7.00 ^b	185.36±4.05 ^b	-24.95±0.66 ^c	-38.92±0.07 ^c	0.34±0.01 ^c	0.30±0.01 ^c
12	50	27.83±0.53 ^d	81.60±1.38 ^d	263.37±3.78 ^{ab}	163.98±3.12 ^{ab}	-28.84±0.42 ^b	-31.72±0.22 ^b	0.35±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a
	100	47.80±0.95 ^d	80.21±0.32 ^d	278.58±4.15 ^b	165.20±2.55 ^a	-27.48±0.60 ^c	-36.49±0.60 ^a	0.35±0.01 ^b	0.26±0.01 ^b
	150	58.27±1.06 ^d	83.94±0.65 ^d	258.24±7.15 ^{ab}	165.63±4.91 ^a	-29.87±0.36 ^b	-36.72±0.61 ^{ab}	0.28±0.01 ^b	0.26±0.01 ^b
	200	50.04±1.78 ^d	78.26±0.71 ^d	292.29±6.65 ^a	190.07±6.67 ^a	-25.71±0.59 ^c	-39.21±0.43 ^a	0.36±0.01 ^b	0.31±0.01 ^b
	250	42.62±1.65 ^d	60.77±4.33 ^d	303.09±6.69 ^a	191.08±1.96 ^{ab}	-22.21±1.35 ^d	-42.46±1.91 ^b	0.36±0.01 ^b	0.38±0.01 ^b
16	50	7.19±5.24 ^e	80.80±1.36 ^c	275.14±8.54 ^a	169.17±1.28 ^a	-21.15±0.79 ^c	-33.23±0.49 ^a	0.35±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a
	100	14.98±6.23 ^e	79.41±0.70 ^c	289.10±0.97 ^a	164.19±4.46 ^a	-24.29±1.39 ^d	-35.94±0.55 ^b	0.36±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a
	150	32.31±2.92 ^e	81.18±1.61 ^c	267.38±8.99 ^a	165.36±6.48 ^a	-26.10±0.81 ^c	-37.09±0.59 ^a	0.32±0.01 ^a	0.27±0.01 ^a
	200	25.34±2.98 ^e	72.95±1.85 ^c	297.50±1.61 ^a	195.07±1.71 ^a	-23.09±1.67 ^d	-39.37±0.57 ^a	0.37±0.01 ^a	0.34±0.03 ^a
	250	4.20±0.48 ^e	19.11±2.13 ^c	314.91±1.03 ^a	202.27±5.40 ^a	-19.38±0.58 ^c	-44.14±1.54 ^a	0.38±0.01 ^a	0.43±0.01 ^a

AST-oil 组的保留率分别下降 92.81%、85.02%、67.69%、74.66%、95.80%($P<0.05$), 而 AST-FAV 组中保留率分别下降 19.20%、20.59%、18.82%、27.05%、80.89%($P<0.05$)。贮藏 16 d 后, AST-FAV 在小于等于 150 mmol/L NaCl 时粒径变化较小, 在 150 mmol/L 盐离子浓度下 AST-FAV Zeta 电位绝对值保持在 30~40 mV 之间, PDI 保持在 0.3 以下。结果表明, AST-FAV 理化性质在 150 mmol/L 盐离子浓度中有一定的耐受性。

2.4.4 冻干复溶对 AST-FAV 稳定性的影响 图 13 和表 7 为冻干复溶对虾青素囊泡稳定性的影响。由于 AST-oil 无法冻干, 因此只探讨其为液体状态时稳定性。由图可知, AST-FAV 冻干复溶后贮藏 16 d 后, 其颜色与同等天数下液体贮藏无明显变化。由表可知, 在液体状态下贮藏 16 d 后, AST-FAV 和 AST-oil 保留率分别下降 22.31%、88.55%($P<0.05$), 而 AST-FAV 在冻干条件下贮藏 16 d 后保留率下降 19.48%, 冻干后保留率略高于液体状态。AST-FAV 在液体和冻干复溶状态下贮藏 16 d 后粒径分别增加 32.32、35.99 nm, Zeta 电位绝对值均在 30~

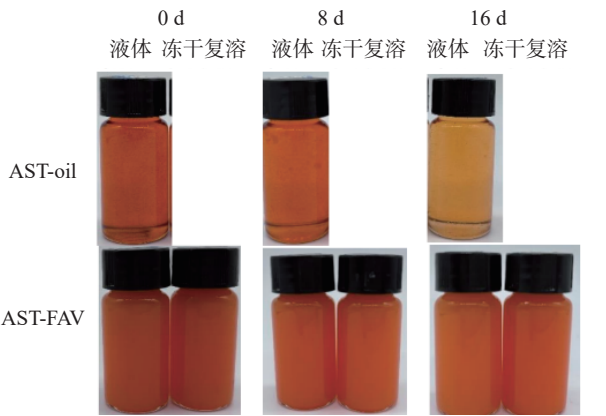


图 13 冻干复溶 AST-FAV 外观随时间的变化
Fig.13 Appearance change of AST-FAV with time at lyophilized redissolved

40 mV 之间, PDI 均小于 0.3, 差异不显著, 说明了冻干复溶后 AST-FAV 具有良好的溶解性, 溶解后液滴大小均一。实验结果表明, AST-FAV 的冻干复溶后保留率与在液体环境下贮藏 16 d 后保留率差异不明显, 在实际应用中为了方便贮藏及运输, 可将其冻干后保存。

表 7 冻干复溶对 AST-FAV 稳定性的影响

Table 7 Effects of lyophilized redissolved on the stability of AST-FAV

贮藏时间(d)	冻干复溶	保留率(%)		粒径(nm)		Zeta电位(mV)		PDI	
		AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV	AST-oil	AST-FAV
0	液体	100 ^a	100 ^a	228.48±1.76 ^c	136.85±0.67 ^c	-31.17±0.69 ^d	-30.45±0.23 ^b	0.26±0.02 ^c	0.24±0.01 ^b
	冻干	—	100 ^a	—	137.81±0.75 ^d	—	-30.44±0.14 ^c	—	0.23±0.01 ^d
4	液体	77.91±0.01 ^b	94.76±0.37 ^b	251.85±4.16 ^b	146.89±2.96 ^b	-33.17±1.10 ^c	-30.65±0.31 ^b	0.25±0.01 ^d	0.23±0.01 ^c
	冻干	—	95.62±0.25 ^b	—	147.40±3.49 ^c	—	-30.86±0.24 ^c	—	0.23±0.01 ^d
8	液体	62.80±1.43 ^c	82.77±1.24 ^c	256.81±6.51 ^b	158.28±4.35 ^a	-34.61±0.60 ^c	-30.93±0.09 ^b	0.25±0.01 ^d	0.24±0.01 ^b
	冻干	—	82.59±1.60 ^c	—	158.96±1.03 ^b	—	-33.91±0.09 ^b	—	0.24±0.01 ^c
12	液体	28.91±3.89 ^d	81.12±1.18 ^c	267.41±6.11 ^b	163.98±3.12 ^a	-36.30±1.67 ^b	-31.72±0.22 ^b	0.28±0.01 ^b	0.24±0.01 ^b
	冻干	—	82.40±1.40 ^c	—	168.68±3.72 ^a	—	-35.01±0.78 ^a	—	0.25±0.01 ^b
16	液体	11.45±8.62 ^e	77.69±0.93 ^d	279.50±3.82 ^a	169.17±1.28 ^a	-38.43±0.83 ^a	-33.23±0.49 ^a	0.33±0.01 ^a	0.25±0.01 ^a
	冻干	—	80.52±0.97 ^d	—	173.79±2.26 ^a	—	-35.23±0.43 ^a	—	0.26±0.01 ^a

2.5 加热氧化对 AST-FAV 稳定性的影响

不同贮藏温度条件下, AST-FAV 的 POV 和 TBARS 变化如图 14A 和图 14B 所示。脂质氧化会影响产品的口感, 折损产品质量。氧化反应一旦产生, 就会产生自由基并在后续反应中传播。在初始阶段, AST-FAV 和 AST-oil 的 POV 和 TBARS 几乎为零, 随着时间的延长, 两组 POV 及 TBARS 逐渐增加, 50 °C 贮藏 4 d 后, AST-oil 组 POV 值迅速攀升, 与 AST-FAV 形成显著性差异($P<0.05$)。经过 16 d 贮藏后, AST-oil 的 POV 和 TBARS 分别为 24.12 ± 1.12 mmol/L、 5.66 ± 0.17 mg/kg, 而 AST-FAV 的 POV 和 TBARS 分别为 11.66 ± 0.58 mmol/L、 2.80 ± 0.18 mg/kg, 且二者在贮藏期内具有显著变化($P<0.05$)。由此可见, AST-FAV 可以有效隔绝油脂接触外界氧气, 避免促进氧化的物质接触, 减慢氧化速度, 有效延长贮藏时间。总的来说, AST-FAV 不仅可以有效提高虾青素在贮藏期间的物理稳定性, 还能有效抑制脂质氧化, 提高虾青素的化学稳定性。

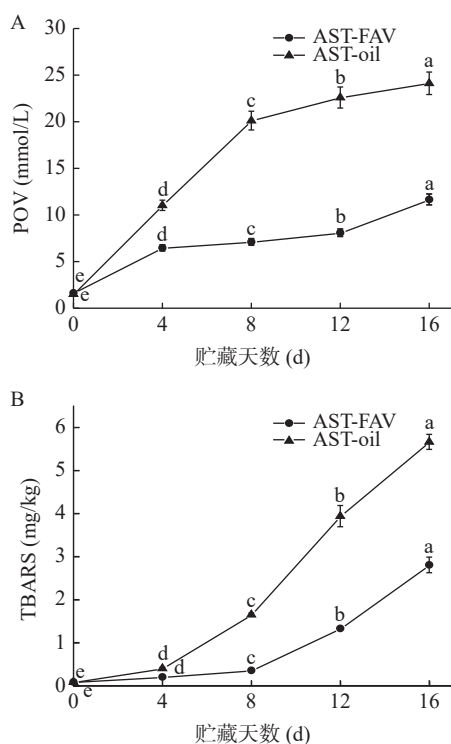


图 14 50 °C 下纯油体系和 AST-FAV 体系中虾青素的 POV(A)和 TBARS(B)含量

Fig.14 POV (A) and TBARS (B) contents of astaxanthin in pure oil system and AST-FAV system at 50 °C

2.6 体外消化对 AST-FAV 稳定性的影响

不同负载方式对虾青素消化各个阶段平均粒径和 Zeta 电位变化如图 15A 和图 15B 所示。如图 15A 所示, 在模拟口腔消化阶段, AST-FAV 和 AST-oil 两组平均粒径稍有增加, 但无显著区别; 在模拟胃消化阶段, 两组都出现了不同程度粒径的增大, 与初始液相比分别增加了 70.07、72.28 nm, 可能是由于消化液 pH 从中性(pH7)降低到强酸(pH2), pH 剧烈变

化会改变液滴之间的相互作用的强度和范围, 使囊泡之间发生液滴聚集, 造成了平均粒径增长较明显; 在肠消化 5 min 后, 两组均与胃相比粒径变化不明显, 可能是由于消化时间过短消化不完全; AST-FAV 和 AST-oil 两组在肠消化 120 min 阶段, 粒径出现明显降低, 与胃消化液相比分别降低了 68.33、69.51 nm, 由于消化过程中加入的脂肪酶水解液滴, 产生游离脂肪酸, 其他物质被水解为小分子肽和氨基酸, 从而导致平均粒径的降低, 且 AST-oil 被水解为游离脂肪酸直接释放到肠道消化液中。从图 15A 可以看出在整个消化阶段 AST-oil 粒径始终大于 AST-FAV, 这表示在整个消化过程中 AST-FAV 与消化液的接触面积都会大于 AST-oil。如图 15B 所示, AST-FAV 和 AST-oil 两组在肠消化阶段电位较高, 可能是因为游离脂肪酸、氨基酸等物质使得样品表面具有强负电荷, 而在水解过程中 AST-FAV 比 AST-oil 产生更多的游离脂肪酸, 因此产生的负电荷更多。

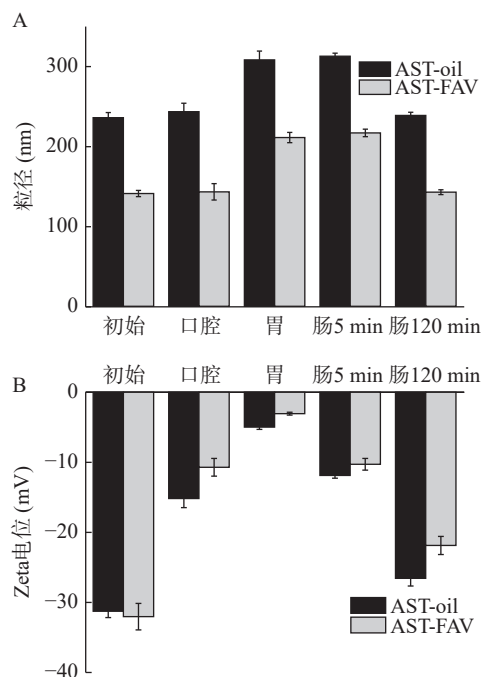


图 15 负载虾青素产品消化各个阶段平均粒径(A)和 Zeta 电位(B)的变化

Fig.15 Changes of mean particle size (A) and Zeta potential (B) at each stage of digestion of astaxanthin loaded products

不同负载虾青素产品消化各个阶段消化保留率的变化如图 16 所示。由图可知, 由于在消化过程中虾青素会发生一定程度的降解, 消化保留率下降, AST-FAV 在各个阶段中消化保留率均高于 AST-oil。而在肠消化结束后 AST-FAV 和 AST-oil 两组消化保留率分别为 $44.19\%\pm 2.21\%$ 、 $74.99\%\pm 4.37\%$ 。相比之下, AST-oil 中保留率发生了显著下降($P<0.05$)。结果表明, 与 AST-oil 相比, AST-FAV 在体外消化过程中更稳定, 这可能是因为虾青素在胃肠道环境中会发生严重降解。上述结果表明 AST-FAV 在 pH 为酸性环境下也能稳定地将虾青素包埋在囊

泡中, 有效提高其在消化过程中的保留率, 提高虾青素的稳定性。

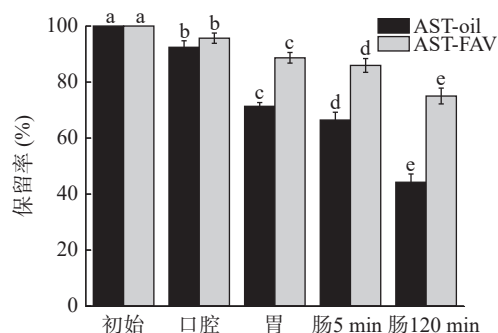


图 16 负载虾青素产品消化各个阶段消化保留率的变化

Fig.16 Changes of digestion retention rate of astaxanthin loaded products at each stage of digestion

3 结论

为了提高虾青素的水溶性, 本文制备了粒径较小、分散性好、包封率较高、稳定性较好的虾青素囊泡, 表明脂肪酸囊泡可以有效提高虾青素在水中的分散性。制备虾青素囊泡的最佳工艺为虾青素添加量 0.14 mg/mL、表面活性剂与脂肪酸比例为 1:1、表面活性剂亲水亲油平衡值为 7、磷酸缓冲溶液 pH 为 7.0、水化时间为 21 min, 此时, 虾青素囊泡包封率平均值为 $89.58\% \pm 1.47\%$, 其形态规则且分散均匀, 平均粒径为 131.74 ± 2.74 nm。与油溶虾青素相比, 在相同贮藏环境下虾青素囊泡在 4 ℃、避光条件下其保留率、粒径、PDI 变化较小, 且虾青素囊泡对盐离子有一定的耐受力。经过 16 d 贮藏后, 虾青素囊泡的 POV 和 TBARS 基本都为油溶虾青素的一半, 经体外消化结束后, 虾青素囊泡及油溶虾青素消化保留率分别为 $74.99\% \pm 4.37\%$ 、 $44.19\% \pm 2.21\%$, 说明虾青素囊泡在 pH 为酸性条件下的稳定性明显优于油溶虾青素。本研究制备了虾青素囊泡, 探究其贮藏、氧化、体外消化稳定性, 为可为疏水性功能性物质的运输体系提供理论支持, 为后续研究虾青素功能活性提供思路。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] LIU X, OSAWA T. Cis Astaxanthin and especially 9-Cis astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity *in vitro* compared to the all-trans isomer[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, 357(1): 187–193.
- [2] ZHAO T, YAN X, SUN L, et al. Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 91: 354–361.
- [3] PONNURAJ N, GANAPASAM S. Astaxanthin inhibits tumor invasion by decreasing extracellular matrix production and induces apoptosis in experimental rat colon carcinogenesis by modulating the expressions of ERK-2, NFκB and COX-2[J]. *Investigational*

New Drugs, 2011, 29(2): 207–24.

- [4] ZHOU X, ZHANG F, HU X, et al. Inhibition of inflammation by astaxanthin alleviates cognition deficits in diabetic mice[J]. *Physiology & Behavior*, 2015, 151: 412–420.
- [5] PASHKOW F J, WATUMULL D G, CAMPBELL C L. Astaxanthin: A novel potential treatment for oxidative stress and inflammation in cardiovascular disease[J]. *The American Journal of Cardiology*, 2008, 101 (10): S58–S68.
- [6] 杨婕, 熊迎欣, 何思琦, 等. 负载虾青素对富含 DHA 的磷脂酰胆碱脂质体膜结构稳定性的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2024, 54(6): 68–76. [YANG J, XIONG Y X, HE S Q, et al. Effect of embedded astaxanthin on membrane stability of DHA-PC liposome[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2024, 54 (6): 68–76.]
- [7] BOONLARO N, SHRESTHA S, SADIQ M B, et al. Influence of whey protein-xanthan gum stabilized emulsion on stability and *in vitro* digestibility of encapsulated astaxanthin[J]. *Journal of Food Engineering*, 2020, 272: 109859.
- [8] WANG Q, ZHAO Y, GUAN L, et al. Preparation of astaxanthin-loaded DNA/chitosan nanoparticles for improved cellular uptake and antioxidation capability[J]. *Food Chemistry*, 2017, 227: 9–15.
- [9] KAUR A, SINGH G, KAUR L, et al. Recent advancements in biomimetic drug delivery system of single-chain fatty acids as ufasomes and ufosomes: A comprehensive review[J]. *Current Nano-science*, 2023, 19(3): 362–371.
- [10] HAMED A S, HASSAN M A. Ufasomes nano-vesicles-based lyophilized platforms for intranasal delivery of cinnarizine: Preparation, optimization, *ex-vivo* histopathological safety assessment and mucosal confocal imaging[J]. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2016, 21(6): 706–715.
- [11] PARDAKHTY A, VARSHOSAZ J, ROUHOLAMINI A. *In vitro* study of polyoxyethylene alkyl ether niosomes for delivery of insulin[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2007, 328(2): 130–141.
- [12] 樊晔, 韩贻陈, 夏咏梅, 等. 共轭亚油酸与海藻酸钠囊泡化自组装纳米容器及其药物缓释性能[J]. *应用化学*, 2018, 35(12): 1478–1484. [FAN Y, HAN Y C, XIA Y M, et al. Investigation on self-assembly of nanocontainers by vesiculation of conjugated linoleic acid and sodium alginate and their drug delivery behavior[J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2018, 35(12): 1478–1484.]
- [13] 李珊珊. 壬酸在囊泡制备上的应用研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2020. [LI S S. Study on the application of nonanoic acid in-vesicle preparation[D]. Guiyang: Guizhou University, 2020.]
- [14] FAN Y, MA J, FANG Y, et al. Neutral and acid-adapted fatty acid vesicles of conjugated linoleic acid[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2018, 167: 385–391.
- [15] GEBICKI J M, HICKS M. Preparation and properties of vesicles enclosed by fatty acid membranes[J]. *Chemistry and Physics of Lipids*, 1976, 16(2): 142–160.
- [16] 涂小艳. 刺梨渣中种子油提取及其在囊泡制备上的应用研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019. [TU X Y. Extraction of seed oil from prickly pear residue and its application in preparation of vesicles[D]. Guiyang: Guizhou University, 2019.]
- [17] NAMANI T, ISHIKAWA T, MORIGAKI K, et al. Vesicles from docosahexaenoic acid[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2007, 54(1): 118–123.
- [18] DEAMER D, SINGARAM S, RAJAMANI S, et al. Self-assembly processes in the prebiotic environment[J]. *Philosophical*

Transactions: Biological Sciences, 2006, 361(1474): 1809–1818.

[19] HUANG L, LI D, MA Y, et al. Dietary fatty acid-mediated protein encapsulation simultaneously improving the water-solubility, storage stability, and oral absorption of astaxanthin[J]. Food Hydrocolloids, 2022(123-Feb.): 107152.

[20] ZHU T F, BUDIN I, SZOSTAK J W. Preparation of fatty acid or phospholipid vesicles by thin-film rehydration[J]. In Methods in Enzymology, 2013, 533: 267–274.

[21] ZHAO L S, TEMELLI F. Preparation of anthocyanin-loaded liposomes using an improved supercritical carbon dioxide method[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2017, 39: 119–128.

[22] SEPLVEDA C T, ALEM N A, ZAPATA J E, et al. Characterization and storage stability of spray dried soy-rape seed lecithin/trehalose liposomes loaded with a tilapia viscera hydrolysate[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 71: 102708.

[23] TAI K, RAPPOLT M, MAO L, et al. Stability and release performance of curcumin-loaded liposomes with varying content of hydrogenated phospholipids[J]. Food Chemistry, 2020, 326: 126973.

[24] HU M, MCCLEMENTS J, DECKER E A. Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate[J]. Agriculture Food Chemistry, 2003, 51(6): 1696–1700.

[25] FIORAMONTI S A, RUBIOLO A C, SANTIAGO L G. Characterisation of freeze-dried flaxseed oil microcapsules obtained by multilayer emulsions[J]. Powder Technology, 2017, 319: 238–244.

[26] LIU W, WANG J, MCCLEMENTS D J, et al. Encapsulation of β -carotene-loaded oil droplets in caseinate/alginate microparticles: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 40: 527–535.

[27] 李贤. 辣椒红色素类脂囊泡的制备及稳定性研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014. [LI X. Preparation and stability of paprika red noisome[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2014.]

[28] 常振刚, 刘彦君, 潘丽, 等. 植物甾醇油酸酯-虾青素复合脂质体的制备工艺优化[J]. 中国油脂, 2023, 48(6): 108–113, 144.

[CHANG Z G, LIU Y J, PAN L, et al. Optimization of preparation process of liposomes co-encapsulating phytosterol oleate and astaxanthin[J]. China Oils and Fats, 2023, 48(6): 108–113, 144.]

[29] 禹瑞, 吕东霞, 谈秀凤. 橙皮苷脂质体的制备及其体内药动学研究[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2443–2449. [YU R, LÜ D X, TAN X F. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of hesperidin liposomes[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(8): 2443–2449.]

[30] CHEN S, HANNING S, FALCONER J, et al. Recent ad-

vances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): Fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications[J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2019, 144: 18–39.

[31] SHARMA S, BHATT S, SAINI V. Formulation development and evaluation of novel vesicular carrier for enhancement of bioavailability of poorly soluble drug[J]. Food Chemistry, 2021, 9(1): 70–82.

[32] 陈亮. 杜仲籽油脂质体制备及其理化性质研究[D]. 吉首: 吉首大学, 2020. [CHEN L. Studies on the preparation and characteristics of *Eucommia ulmoides* seed oil liposome[D]. Jishou: Jishou University, 2020.]

[33] 徐硕, 何颖慧, 张子豪, 等. 高包埋率还原型谷胱甘肽纳米脂质体的制备工艺优化[J]. 山东理工大学学报(自然科学版), 2022, 36(3): 38–44. [XU S, HE Y H, ZHANG Z H, et al. Optimization of preparation process of reduced glutathione nanoliposomes with high entrapment efficiency[J]. Shandong University of Technology, 2022, 36(3): 38–44.]

[34] FAN Y, LIU J, WANG D, et al. The preparation optimization and immune effect of epimedium polysaccharide-propolis flavone liposome[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94(1): 24–30.

[35] BADR-ELDIN S, AHMED O. Optimized nano-transfersomal films for enhanced sildenafil citrate transdermal delivery: *Ex vivo* and *in vivo* evaluation[J]. Drug Design Development and Therapy, 2016: 1323.

[36] 袁巧月, 吴梵, 王孝治, 等. 雨生红球藻虾青素纳米颗粒的制备及稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 98–104.

[YUAN Q Y, WU F, WANG X Z, et al. Preparation and stability of nanoparticles containing astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 98–104.]

[37] YEO L, THOMPSON D B, PETERSON D G. Inclusion complexation of flavour compounds by dispersed high-amylose maize starch (HAMS) in an aqueous model system[J]. Food Chemistry, 2016, 199(MAY 15): 393–400.

[38] KASSEM M A, EL-SAWY H S, ABD-ALLAH F I, et al. Maximizing the therapeutic efficacy of imatinib mesylate-loaded niosomes on human colon adenocarcinoma using box-behnken design[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 106(1): 111–122.

[39] 刘彦君. 植物甾醇酯对虾青素脂质体的性质及膜结构的影响[D]. 郑州: 河南工业大学, 2023. [LIU Y J. Effect of phytosterol esters on the properties and membrane structure of astaxanthin-loaded liposomes[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2023.]