

叶黄素纳米脂质体的多聚赖氨酸修饰及其体外释放性能

焦岩^{1,2}, 高嘉宁¹, 常影¹, 佟佳路¹, 韩赫¹, 景文娟¹

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省玉米深加工理论与技术重点实验室, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要:采用亲水性阳离子多肽多聚赖氨酸(ϵ -poly-L-lysine, ϵ -PLL)通过静电吸附作用修饰叶黄素纳米脂质体(LUT-NLP),构建新型 ϵ -PLL修饰纳米脂质体载运体系,提高对脂溶性叶黄素的包封和释放性能。采用反向溶剂法制备LUT-NLP,通过单因素试验和正交试验优化 ϵ -PLL修饰LUT-NLP的工艺条件,并考察修饰前后LUT-NLP的结构特征和体外释放性能。结果表明:在 ϵ -PLL用量0.08%、pH 6.0、修饰时间2.0 h时,叶黄素的包封率可达95.36%;动态光散射分析表明修饰后的脂质体平均粒径为(299.4 ± 8.4) nm,多分散指数(PDI)降低(<0.3),膜电位升高;透射电子显微镜结果显示由于静电吸附作用, ϵ -PLL与脂质体表面结合形成保护包覆结构;体外释放性能评价结果显示,经 ϵ -PLL修饰的LUT-NLP在胃肠液环境中对叶黄素的释放率显著升高。 ϵ -PLL修饰可改善脂质体结构,增强对脂溶性叶黄素的包封效果和胃肠消化释放性能。

关键词:多聚赖氨酸;修饰;叶黄素;纳米脂质体;释放性能

中图分类号:TS202.3;TS201.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)03-0062-06

Polylysine modification of lutein nanoliposomes and its in vitro release performance

JIAO Yan^{1,2}, GAO Jianing¹, CHANG Ying¹, TONG Jialu¹,
HAN He¹, JING Wenjuan¹

(1. College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China;
2. Key Laboratory of Corn Deep Processing Theory and Technology, Qiqihar 161006, Heilongjiang, China)

Abstract: The lutein nanoliposomes (LUT-NLP) were modified with the hydrophilic cationic polypeptide (ϵ -poly-L-lysine, ϵ -PLL) by electrostatic adsorption to develop a new nanoliposome carrier system, in order to improve the encapsulation property and release performance of fat-soluble lutein. The nanoliposomes were prepared by anti-solvent method, and the optimal modification process of lutein nanoliposomes was explored by single factor experiment and orthogonal experiment, and the structural characteristics and in vitro release performance before and after modification were also

收稿日期:2020-06-24;修回日期:2020-07-08

基金项目:黑龙江省教育厅基本业务专项(粮头食尾)(LTSW201712);黑龙江省属高校基本业务专项(植物性食品加工技术特色学科专项)(YSTSK201806);黑龙江省自然科学基金优秀青年项目(YQ2019C024);黑龙江省博士后科研启动金资助项目(LBH-Q19193)

作者简介:焦岩(1981),男,教授,博士,研究方向为活性物质与功能食品(E-mail)jiaoyan_3000@126.com。

通信作者:常影,讲师,硕士(E-mail)achang-01@163.com。

investigated. The results showed that the optimal modification conditions were obtained as follows: ϵ -PLL dosage 0.08%, pH 6.0 and modification time 2.0 h. Under these conditions, the encapsulation efficiency of the lutein nanoliposomes was 95.36%. Dynamic light scattering (DLS) analysis demonstrated that the modified lutein nanoliposomes had an average size of (299.4 ± 8.4) nm, a lower polydispersity index (PDI) (<0.3) and an increasing membrane potential

compared with the lutein nanoliposomes. Transmission electron microscopy (TEM) images showed that due to electrostatic adsorption, ϵ -PLL combined with the liposome surface to form a protective coating structure. In vitro release experiments revealed that ϵ -PLL improved the lutein release from the nanoliposomes in gastrointestinal fluid conditions. Therefore, the modification with ϵ -PLL could improve the structure of lutein nanoliposomes and enhance the encapsulation effect of lutein, and their release in gastric and intestinal fluid environment was also improved.

Key words: ϵ -poly-L-lysine; modification; lutein; nanoliposome; release performance

叶黄素是一种不具有维生素 A 活性的油溶性类胡萝卜素,是由 8 个异戊二烯为单元所组成的含有 2 个羟基的共轭烯炔类化合物,具有较强的生物活性^[1]。叶黄素具有清除体内自由基作用,可减少自由基对人体的氧化损伤^[2-3];叶黄素可过滤蓝光,防止视网膜损伤,并可预防老年性黄斑变性,具有较强的护眼功能^[4-5];长期食用叶黄素还可降低血脂,预防心脑血管疾病和癌症等^[6]。但是,叶黄素在人体内生理功能的发挥受其结构性质变化和体内吸收利用的影响。由于叶黄素水溶性差,在光、热和胃肠等条件下不稳定,使得天然叶黄素的吸收利用率较低^[7]。

近年来,采用脂质纳米化技术提高油溶性类胡萝卜素类活性成分的稳定性和利用率成为研究热点。例如:脂质体可用于叶黄素稳定性和溶解性的改善,低浓度的叶黄素在脂质体中有良好的稳定性^[8]; β -胡萝卜素脂质体粉末有较好的水溶性、稳定性和货架期,经过 60 d 贮藏保存率在 90% 以上^[9];番茄红素纳米脂质体能显著提高小鼠体内抗氧化活性等^[10]。但是,脂质体本身还存在脂质体膜容易发生水解和被破坏、黏附力差、包覆的活性物质在胃肠条件下不易释放等问题^[11-12],极大限制了叶黄素作为营养物质和功能性成分在食品和药品领域的应用。

因此,本研究在脂质纳米化技术的基础上,以具有吸附保护和生物相容性功能的阳离子多肽多聚赖氨酸修饰叶黄素纳米脂质体,构建高效负载叶黄素的纳米脂质体载体体系,考察其对脂质体微观结构特性和体外释放效果的影响。本研究对于改善叶黄素及其纳米脂质体的结构稳定性和体内吸收利用从而充分发挥其生物活性具有重要的意义,为脂溶性叶黄素在新型功能食品和医药领域的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

叶黄素晶体(纯度 $\geq 90\%$),上海源叶生物科技

有限公司。多聚赖氨酸(ϵ -poly-L-lysine, ϵ -PLL)、胃蛋白酶(pepsin),美国 Sigma 公司;胰蛋白酶(pancreatin),北京 Solarbio 公司;乙醇、HCl、蛋黄卵磷脂、Tween-80 等均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

Nano-Zs90 动态光散射分析仪,德国新帕泰克有限公司;H-7650 型透射电子显微镜,日本日立公司;RE2000E 型旋转蒸发仪,西安太康生物科技有限公司;CJJ-931 型磁力加热搅拌器,常州万达升实验仪器有限公司;UV-2450 型紫外分光光度计,日本岛津公司。

1.2 试验方法

1.2.1 叶黄素纳米脂质体的制备

参照前期研究采用反溶剂法制备叶黄素纳米脂质体(LUT-NLP)^[13]。将叶黄素溶于无水乙醇中,加入乳化剂 Tween-80 超声溶解,将蛋黄卵磷脂和胆固醇溶液按 4:1 比例加入上述溶液中混合溶解,将该乙醇溶液快速注入到 40 mL、pH 7.4 的缓冲液中,在 50℃ 下搅拌水合 30 min,再经减压浓缩挥干有机溶剂,即得 LUT-NLP 溶液,4℃ 下储存备用。

1.2.2 叶黄素纳米脂质体的修饰及包封率测定

取 5 mL 不同浓度的 ϵ -PLL 溶液,分别按照不同比例加入 15 mL 脂质体溶液充分混合,然后调节混合液 pH 后在 50℃ 条件下磁力搅拌修饰 0.5~2.5 h,反应完成后冷却至室温,得到 ϵ -PLL 修饰的 LUT-NLP。取 1 mL 该脂质体,测定叶黄素质量浓度,根据式(1)计算包封率(E)^[14-15]。

$$E = \left(1 - \frac{C \times V}{m}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中: C 为叶黄素质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; m 为叶黄素总质量, μg ; V 为溶液的总体积, mL 。

1.2.3 粒径与电位的测定^[16]

将脂质体溶液用去离子水稀释,充分混匀后,取 1.0 mL 样品放入动态光散射分析仪进行粒径和电位分析测定,得到粒径与电位分布图。

1.2.4 透射电子显微镜(TEM)成像分析

将脂质体稀释 100 倍,滴加约 2 μL 在铜网上晾

干,用2%磷钨酸进行负染,15 min后吸取多余液体,然后用TEM观测其形貌和微观结构^[17]。

1.2.5 叶黄素纳米脂质体体外释放性能评价

人工胃液配制:取8.0 mL HCl加入到400 mL蒸馏水中,另取2.0 g胃蛋白酶加蒸馏水溶解后与上述溶液混合定容至500 mL,用HCl调整pH至2.0,制得的胃液于4℃条件下储存备用^[18]。

人工肠液配制:称取4.0 g磷酸二氢钾(KH₂PO₄)和0.9 g NaOH加水溶解,另称取2.38 g胰蛋白酶和2.58 g胆盐溶解后与上述溶液混合,然后定容至500 mL,调节pH至6.8,制得的肠液于4℃条件下储存备用。

各取10份修饰前后LUT-NLP分别加入到10倍体积的人工胃、肠液中,在37℃恒温培养振荡器中以100 r/min条件下反应2.0~20.0 h,在相应的时间分别取1.0 mL混合液,测定叶黄素质量浓度,按式(2)计算叶黄素的释放率(Y)^[19]。

$$Y = \frac{C_t - C_0}{C} \times 100\% \quad (2)$$

式中: C_t 为叶黄素在 t 时刻的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$; C_0 为叶黄素在胃、肠液中的起始质量浓度, $\mu\text{g/mL}$; C 为叶黄素总量, $\mu\text{g/mL}$ 。

1.2.6 叶黄素质量浓度的测定

将不同质量浓度的叶黄素标准溶液在445 nm处测定吸光值,绘制叶黄素标准曲线,得到叶黄素标准曲线回归方程 $y = 0.1763x + 0.0044$, $R^2 = 0.9991$ (x 为叶黄素的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$; y 为吸光值)。在0.5~3.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,叶黄素的质量浓度与吸光值呈良好的线性关系,可用于纳米脂质体中叶黄素质量浓度的测定^[20-21]。

取1 mL样品,加3 mL石油醚,涡旋振荡1 min后,以3 000 r/min离心5 min,重复提取3次,取上清液在445 nm处测定吸光值,按照标准曲线回归方程计算叶黄素质量浓度^[22]。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 ϵ -PLL用量对包封率的影响

取一定量LUT-NLP,分别加入0.02%~0.1% (以脂质体溶液质量计)的 ϵ -PLL溶液,充分混匀后在50℃、pH 7.0条件下磁力搅拌修饰2.0 h,考察 ϵ -PLL用量对包封率的影响,结果见图1。

由图1可知,随着 ϵ -PLL用量的增大,叶黄素的包封率升高,当 ϵ -PLL用量为0.06%时包封率最大,为92.49%,此时对脂质体的修饰已经达到饱和。继续增大 ϵ -PLL用量,包封率略有减小,可能

是因为过多的 ϵ -PLL会导致竞争性排斥作用,影响脂质体与 ϵ -PLL间的正负电荷吸附结合,使得包封率有所降低。因此,确定最佳 ϵ -PLL用量为0.06%。

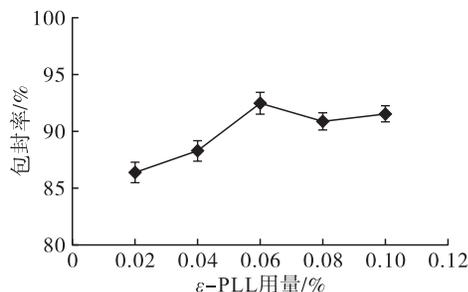


图1 ϵ -PLL用量对包封率的影响

2.1.2 pH对包封率的影响

取一定量LUT-NLP,加入0.06%的 ϵ -PLL溶液充分混合,分别调整体系pH为4.0~8.0,在50℃条件下磁力搅拌修饰2.0 h,考察pH对包封率的影响,结果见图2。

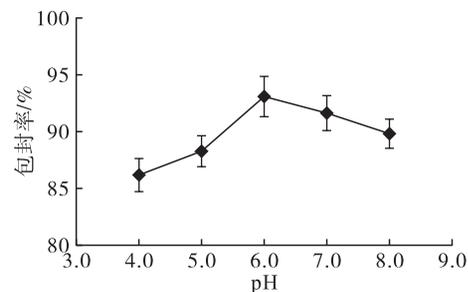


图2 pH对包封率的影响

由图2可知,随着修饰体系pH的增大,叶黄素包封率增大,在pH为6.0时包封率最大,此时带正电的 ϵ -PLL能够与带负电的脂质体通过静电吸附作用使结合效果最佳,pH过低或较高均不利于吸附反应而且影响脂质体中叶黄素的稳定性。因此,确定最佳pH为6.0。

2.1.3 修饰时间对包封率的影响

取一定量LUT-NLP,加入0.06%的 ϵ -PLL溶液充分混合,在50℃、pH 6.0条件下分别磁力搅拌修饰0.5~2.5 h,考察修饰时间对包封率的影响,结果见图3。

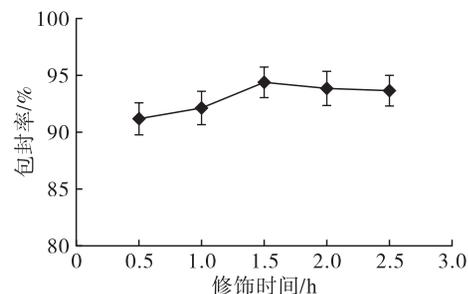


图3 修饰时间对包封率的影响

由图3可知,随着修饰时间的延长,叶黄素包封率逐渐增大,当修饰时间达到1.5 h时包封率最大。说明此时 ϵ -PLL与脂质体膜已经结合得较为充分,继续延长修饰时间,修饰度不再增加且叶黄素会有所损失,使得包封率不再增加甚至略有降低。因此,确定最佳修饰时间为1.5 h。

2.2 正交试验

选取 ϵ -PLL用量、pH和修饰时间作为考察因素,以包封率为指标,通过正交试验优化 ϵ -PLL修饰LUT-NLP的工艺条件。正交试验因素水平见表1,正交试验设计及结果见表2。

表1 正交试验因素水平

水平	A ϵ -PLL用量/%	B pH	C 修饰时间/h
1	0.04	5.0	1.0
2	0.06	6.0	1.5
3	0.08	7.0	2.0

表2 正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	包封率/%
1	1	1	1	91.81
2	1	2	2	93.64
3	1	3	3	92.52
4	2	1	2	91.88
5	2	2	3	94.13
6	2	3	1	94.32
7	3	1	3	94.93
8	3	2	1	94.22
9	3	3	2	94.15
k_1	92.657	92.873	93.450	
k_2	93.443	93.997	93.223	
k_3	94.433	93.663	93.860	
R	1.776	1.124	0.637	

由表2可知, ϵ -PLL修饰LUT-NLP的各因素对包封率的影响大小顺序为A(ϵ -PLL的量) $>$ B(pH) $>$ C(修饰时间),且最佳因素水平组合为 $A_3B_2C_3$,即 ϵ -PLL用量0.08%、pH 6.0、修饰时间2.0 h,在此条件下进行验证试验,得到 ϵ -PLL修饰LUT-NLP包封率为 $(95.36 \pm 0.85)\%$ ($n=3$)。

2.3 粒径和电位分析

2.3.1 粒径分析(见图4)

从图4可以看出,修饰前后叶黄素纳米脂质体的粒径主要在纳米级范围内,大部分集中在0~500 nm之间,分布较为均匀。LUT-NLP粒径最小值为37.84 nm,粒径分布在0~500 nm范围内部分占整个体系的77.2%;而经 ϵ -PLL修饰后的LUT-NLP粒径最小值为105.7 nm,平均粒径为 (299.4 ± 8.4) nm,0~500 nm范围内粒径占整个体系的75.7%。

说明经 ϵ -PLL修饰后,由于 ϵ -PLL的结合使得LUT-NLP的颗粒变大,可能是由于带正电的 ϵ -PLL与带负电的脂质体交联后导致粒径略有增大。但是分布规律和趋势与修饰前较为一致,说明 ϵ -PLL能够均匀地与LUT-NLP表面结合,形成多分散性的微纳米结构,提高了叶黄素在水溶液体系中的稳定性和分散性。

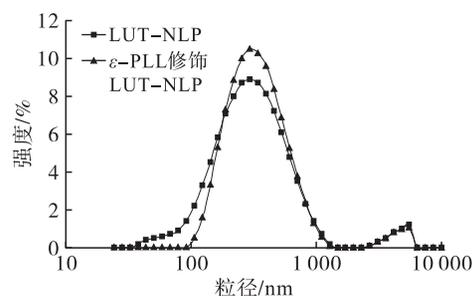


图4 LUT-NLP和 ϵ -PLL修饰LUT-NLP粒径分布

多分散指数(PDI)是脂质体稳定性、生物分散度和脂质体释放性的一项重要指标。经分析可知,LUT-NLP的PDI为 0.451 ± 0.018 ,修饰后LUT-NLP的PDI为 0.291 ± 0.013 ,说明修饰后的脂质体分散性明显提高。因此, ϵ -PLL修饰可提高LUT-NLP在溶液体系中的溶解分散性和均一稳定性。

2.3.2 电位分析(见图5)

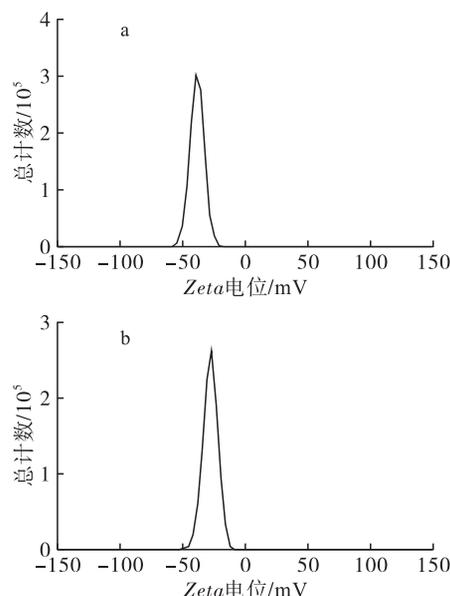


图5 LUT-NLP(a)和 ϵ -PLL修饰LUT-NLP(b)电位

由图5可以看出,LUT-NLP膜Zeta电位 (-38.6 ± 1.06) mV,而修饰的LUT-NLP膜Zeta电位提高到 (-29.5 ± 0.45) mV。这是因为 ϵ -PLL富含阳离子,与带有负电荷的脂质体膜间有强静电作用力,修饰后纳米脂质体电势位大。由此说明, ϵ -PLL是通过静电引力方式修饰到叶黄素脂质体表面,与脂质体进行有效结合而形成包覆结构。

2.4 TEM 分析(见图 6)

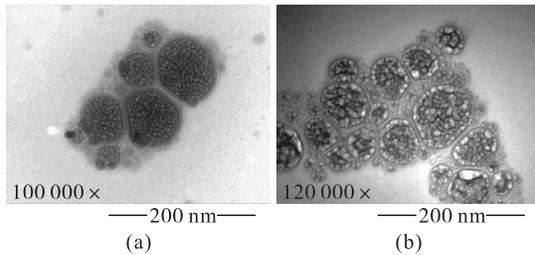


图 6 LUT-NLP(a)和 ϵ -PLL 修饰 LUT-NLP(b)的 TEM 图

由图 6(a)可以看出,叶黄素作为芯材与蛋黄卵磷脂、胆固醇等壁材通过自组装形成纳米脂质体结构,纳米脂质体呈球形微粒分布,粒径主要分布在 200~400 nm 范围内,与 2.3.1 粒径检测结果一致。从纳米脂质体内部可以看到,大部分叶黄素被脂质膜包封在脂质体内,均匀分布在纳米脂质体的内侧,和壁材结合紧密,说明脂溶性的叶黄素能与脂质膜材料形成比较稳定的脂质体结构。由图 6(b)可以看出, ϵ -PLL 与脂质体膜结合并均匀分布在脂质体表面,对脂质体形成保护作用。虽然粒径略有增大,但是修饰后的 LUT-NLP 粒径分布均匀稳定,颗粒分散性良好且无聚集产生,这对于提高叶黄素的水溶性,增强体内吸收利用效果和生物利用率具有重要作用。

2.5 体外释放性能

通过建立体外模拟胃肠释放模型试验,研究了 ϵ -PLL 修饰前后 LUT-NLP 对叶黄素的释放特性,结果见图 7。

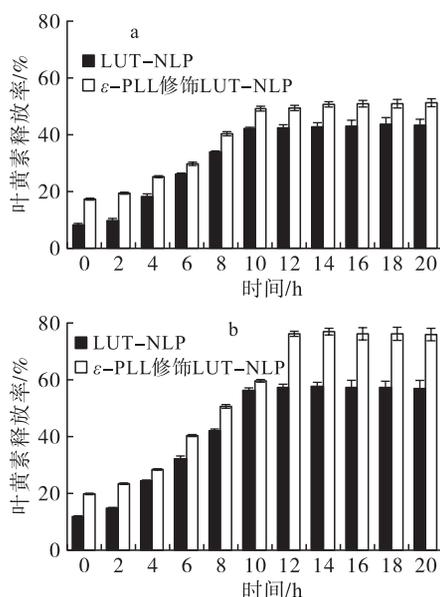


图 7 叶黄素在胃液(a)和肠液(b)中的释放率

由图 7(a)可知,LUT-NLP 在胃液中对叶黄素释放较为缓慢,而修饰后释放率较快,在各时间段明

显高于修饰前。说明 ϵ -PLL 修饰可促进纳米脂质体中叶黄素在胃液中的释放。由图 7(b)可知,在肠液环境中,随着时间的延长 LUT-NLP 中叶黄素释放率增大,在 10 h 后趋于稳定,达到 56.58%。而 ϵ -PLL 修饰后叶黄素释放率较修饰前有较大提高,在 12 h 后趋于稳定,达到 70% 以上。以上结果表明,纳米脂质体中叶黄素在肠液中较容易释放,经 ϵ -PLL 修饰后在胃、肠液中释放率均升高,说明 ϵ -PLL 修饰可提高叶黄素纳米脂质体的释放性能,有助于叶黄素在胃肠中的吸收利用。

3 结论

本研究以生物活性多肽多聚赖氨酸为修饰供体对叶黄素纳米脂质体进行了修饰,探讨了多聚赖氨酸修饰叶黄素纳米脂质体的工艺条件,得到了最佳的修饰条件。经修饰后的叶黄素纳米脂质体粒径增大,平均粒径为 (299.4 ± 8.4) nm,且分布均匀,在脂质纳米体系中分散良好;叶黄素纳米脂质体修饰后电位升高,说明多聚赖氨酸主要是通过静电吸附作用与脂质体有效结合,形成包覆结构,进而提高了脂质体对叶黄素的包封性能。由于多聚赖氨酸亲水性和生物穿膜性能强,可以改善脂质体的吸收和释放性能,因此能够在胃肠环境下提高脂质体中叶黄素的渗透性和溶解分散性,因而经过胃、肠液消化后脂质体中叶黄素的释放率显著增强。研究结果证明,多聚赖氨酸修饰可以明显改善叶黄素纳米脂质体的结构特性,提高对叶黄素的负载和保护能力,增强胃肠消化的稳定性和释放性能,进而能够有效改善脂溶性叶黄素的消化吸收利用率。因此,采用多聚赖氨酸修饰叶黄素纳米脂质体是提高脂溶性叶黄素稳定性和体内生物活性的有效手段之一,在叶黄素类功能食品的开发和应用等方面具有较大的发展潜力。

参考文献:

- [1] CHENG C J, FERRUZZI M, JONES O G. Fate of lutein-containing zein nanoparticles following simulated gastric and intestinal digestion [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 87: 229-236.
- [2] 易建勇, 侯春辉, 毕金峰, 等. 果蔬食品中类胡萝卜素生物利用度研究进展[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(9): 286-297.
- [3] PAPADOPOULOS G A, CHALVATZI S, KOPECKY J, et al. Effects of dietary fat source on lutein, zeaxanthin and total carotenoids content of the egg yolk in laying hens during the early laying period[J]. *Brit Poultry Sci*, 2019, 60(4): 431-438.
- [4] FENG L W, NIE K L, JIANG H, et al. Effects of lutein supplementation in age-related macular degeneration[J].

- Plos One, 2019, 14(12): 1 – 13.
- [5] JIAO Y, ZHENG X Q, CHANG Y, et al. Zein – derived peptides as nanocarriers to increase the water solubility and stability of lutein[J]. Food Funct, 2018, 9(1): 117 – 123.
- [6] MEURER M C, MEES M, MARIANO L N B, et al. Hydroalcoholic extract of *Tagetes erecta* L. flowers, rich in the carotenoid lutein, attenuates inflammatory cytokine secretion and improves the oxidative stress in an animal model of ulcerative colitis[J]. Nutr Res, 2019, 66: 95 – 106.
- [7] 常景芝, 王琛, 李宜川, 等. 叶黄素对乳腺癌细胞活力的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(5): 930 – 933.
- [8] TAN C, XIA S Q, XUE J, et al. Liposomes as vehicles for lutein: preparation, stability, liposomal membrane dynamics, and structure[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(34): 8175 – 8184.
- [9] MORAES M, CARVALHO J M P, SILVA C R, et al. Liposomes encapsulating *beta* – carotene produced by the proliposomes method: characterization and shelf life of powders and phospholipid vesicles [J]. Int J Food Sci Technol, 2013, 48(2): 274 – 282.
- [10] FAN Y J, XIE X, ZHANG B F, et al. Absorption and antioxidant activity of lycopene nanoliposomes in vivo[J]. Curr Top Nutr Res, 2011, 9(4): 131 – 137.
- [11] CADDEO C, PUCCHI L, GABRIELE M, et al. Stability, biocompatibility and antioxidant activity of PEG – modified liposomes containing resveratrol[J]. Int J Pharmaceut, 2018, 538(1/2): 40 – 47.
- [12] TAN C, XUE J, LOU X W, et al. Liposomes as delivery systems for carotenoids: comparative studies of loading ability, storage stability and in vitro release [J]. Food Funct, 2014, 5(6): 1232 – 1240.
- [13] 焦岩, 常影, 林巍, 等. 三聚磷酸钠修饰叶黄素纳米脂质体及释放性能研究[J]. 食品工业, 2017, 38(12): 63 – 67.
- [14] SEBAALY C, GREIGE – GERGES H, STAINMESSE S, et al. Effect of composition, hydrogenation of phospholipids and lyophilization on the characteristics of eugenol – loaded liposomes prepared by ethanol injection method[J]. Food Biosci, 2016, 15: 1 – 10.
- [15] GÜLTEKIN – ÖZGÜVEN M, KARADA Ğ A, DUMAN S, et al. Fortification of dark chocolate with spray dried black mulberry (*Morus nigra*) waste extract encapsulated in chitosan – coated liposomes and bioaccessibility studies [J]. Food Chem, 2016, 201: 205 – 212.
- [16] FATHIMA S J, FATHIMA I, ABHISHEK V, et al. Phosphatidylcholine, an edible carrier for nanoencapsulation of unstable thiamine[J]. Food Chem, 2016, 197: 562 – 570.
- [17] UZUN S, KIM H, LEAL C, et al. Ethanol – induced whey protein gels as carriers for lutein droplets[J]. Food Hydrocolloid, 2016, 61: 426 – 432.
- [18] 马愈迪, 李琳琳, 夏强. 复合维生素纳米乳液的表征及性能评价[J]. 中国油脂, 2019, 44(2): 51 – 54.
- [19] HAN X X, HUO P P, DING Z F, et al. Preparation of lutein – loaded PVA/sodium alginate nanofibers and investigation of its release behavior [J/OL]. Pharmaceutics, 2019, 11(9) [2020 – 06 – 24]. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11090449>.
- [20] 卜丽双, 王婷, 刘登帅, 等. 叶黄素微囊粉中叶黄素、玉米黄质检测方法的建立[J]. 中国食品添加剂, 2020, 31(2): 166 – 171.
- [21] 焦岩, 李大婧, 刘春泉, 等. 叶黄素纳米脂质体的制备工艺优化及其氧化稳定性[J]. 食品科学, 2017, 38(18): 259 – 265.
- [22] 郝静梅, 孙志高, 盛冉, 等. 柠檬烯纳米脂质体的制备及其性质测定[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(4): 173 – 179.
-
- (上接第 61 页)
- [10] 蒲首丞, 王金水. 酶解蛋白制备生物活性肽进展[J]. 粮食与油脂, 2005(3): 16 – 17.
- [11] CHEN H M, MURAMOTO K, YAMAUCHI F. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean *beta* – conglycinin[J]. J Agric Food Chem, 1995, 43(3): 574 – 578.
- [12] 谢翠品, 敬思群, 刘帅, 等. 核桃蛋白酶解物分离纯化及体外抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2013, 38(3): 67 – 70.
- [13] OSBORNE T B, CAMPBELL G F. Conglutin and vitellin [J]. J Am Chem Soc, 2002, 18(7): 609 – 623.
- [14] 于婷婷, 韩飞, 陈光. 大豆降压肽研究进展[J]. 粮油食品科技, 2008, 16(2): 27 – 29.
- [15] NAKAJIMA Y, NAKASHIMA T, INABA K, et al. Effects of nitric oxide on the redox status of liver microsomes – electron spin resonance monitoring using nitroxide probes[J]. Hepatol Res, 2002, 24(1): 72 – 79.
- [16] 孔令明, 李芳, 陶永霞, 等. 多肽的功能活性与研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2009(3): 71 – 73.
- [17] 陈永浩, 裴晓惠, 王春霞, 等. 核桃蛋白肽制备及脱苦研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(24): 12219 – 12221, 12224.
- [18] 高盼, 杨歆萌, 马开创, 等. 核桃蛋白制备工艺研究[J]. 中国油脂, 2021, 46(1): 52 – 56, 75.