

植物甾醇油酸酯-虾青素复合脂质体的制备工艺优化

常振刚¹, 刘彦君², 潘丽², 李茜², 李亚菲², 马鸣远², 张林³

(1. 河南金谷实业发展有限公司, 郑州 450003; 2. 河南工业大学 国家粮食和物资储备局粮油食品工程技术研究中心/河南省重点实验室, 郑州 450001; 3. 鄯陵县紫荆生物科技有限公司, 河南 许昌 461200)

摘要: 为了改善虾青素的水溶性和稳定性, 探索植物甾醇酯用于构建负载虾青素脂质体的可行性, 以大豆磷脂为主要膜材, 采用薄膜-超声法制备植物甾醇油酸酯-虾青素复合脂质体(L-PA)。以包封率为评价指标, 通过单因素试验和 Box-Behnken 响应面法优化 L-PA 的制备工艺。结果表明: L-PA 制备的最佳工艺条件为植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 1:10、磷酸盐缓冲液 pH 7.4、超声时间 4 min、吐温 80 与大豆磷脂质量比 1:2、有机相与水相体积比 1:4、虾青素与大豆磷脂质量比 1:50, 在此条件下 L-PA 的包封率为 95.24%。因此, 植物甾醇油酸酯可用于构建负载虾青素的脂质体。

关键词: 虾青素; 植物甾醇油酸酯; 复合脂质体; 包封率; 响应面法

中图分类号: TS201.1; TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2023)06-0108-07

Optimization of preparation process of liposomes co-encapsulating phytosterol oleate and astaxanthin

CHANG Zhengang¹, LIU Yanjun², PAN Li², LI Xi²,
LI Yafei², MA Mingyuan², ZHANG Lin³

(1. Henan Jingu Industry Development Co., Ltd., Zhengzhou 450003, China; 2. Grain, Oil and Food Engineering Technology Research Center of the State Grain and Reserves Administration/Key Laboratory of Henan Province, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China; 3. Yanling County Zijing Biotechnology Co., Ltd., Xuchang 461200, Henan, China)

Abstract: In order to enhance the stability and water solubility of astaxanthin, and to explore the feasibility of phytosterol esters for preparing astaxanthin-loaded liposomes, liposomes co-encapsulating phytosterol oleate and astaxanthin (L-PA) were prepared by thin-film ultrasonic method with soybean phospholipid as the main membrane material. The preparation process of L-PA was optimized by single factor experiment and Box-Behnken response surface methodology with the encapsulation efficiency as the index. The results showed that the optimal process conditions were obtained as follows: mass ratio of phytosterol oleate to soybean phospholipid 1:10, pH of phosphate buffer 7.4, ultrasonic time 4 min, mass ratio of Tween 80 to soybean phospholipid 1:2, volume ratio of organic phase to aqueous phase 1:4, and mass ratio of astaxanthin to soybean phospholipid 1:50. Under these conditions, the encapsulation efficiency of L-PA was 95.24%. Therefore, phytosterol oleate can be used to prepare astaxanthin-loaded composite liposomes.

efficiency of L-PA was 95.24%. Therefore, phytosterol oleate can be used to prepare astaxanthin-loaded composite liposomes.

Key words: astaxanthin; phytosterol oleate; composite liposomes; encapsulation efficiency; response surface methodology

收稿日期: 2022-10-23; 修回日期: 2023-03-24

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32001738); 郑州市科技局自然科学项目(21ZZXTCX18); 河南工业大学青年骨干教师培育计划项目; 省部级科研平台开放课题(GO202209); 许昌市英才计划项目

作者简介: 常振刚(1982), 男, 工程师, 研究方向为油料资源开发与利用(E-mail) changzhengang@163.com。

通信作者: 潘丽, 副教授, 博士(E-mail) panli215@163.com。

虾青素是一种脂溶性类胡萝卜素, 具有非常强的抗氧化能力, 并因具有预防癌症、减轻炎症反应、

增强免疫力等多种生理活性而受到广泛关注^[1-4]。但是虾青素水溶性差,结构不稳定,在高温、氧气或光照等条件下容易被破坏,在实际应用中受到很大限制^[5]。采用脂质体包埋能有效提高虾青素的水溶性和稳定性^[6]。脂质体是由两性脂类通过自组装分散在水溶液中形成的胶体体系,结构类似于细胞膜^[7],可以作为营养素的理想载体^[8]。据报道,添加胆固醇能够提高脂质体的稳定性^[9-11],然而胆固醇对人体健康的负面影响限制了其在脂质体中的应用^[12]。植物甾醇是一种三萜类化合物,化学结构与胆固醇相似^[13],也能通过调节脂质体膜的性质来提高脂质体的稳定性^[14],并且具有降低胆固醇浓度、抗氧化及抗炎等生理作用^[15-17],但是植物甾醇熔点高、不溶于水、脂溶性差,很大程度上限制了其应用^[18-19]。

植物甾醇酯由植物甾醇和脂肪酸酯化得到,具有植物甾醇的刚性环状结构和烃链分支,有效提高了植物甾醇的脂溶性,降低了植物甾醇的熔点,具有优异的理化性质和生理功能^[20]。因此,国内外学者尝试将植物甾醇酯应用于不同运载体系的构建中。Wang等^[21]研究了植物甾醇和植物甾醇酯在磷脂双分子层中的包埋机制,结果发现,植物甾醇酯优先被包裹在脂质体中。侯丽芬等^[22]研究表明,低剂量的 β -谷甾醇乙酸酯提高了脂质体的储藏稳定性及热稳定性。此外,Chen等^[23]制备了含有鱼油、植物甾醇酯和柠檬烯3种亲脂生物活性成分的微胶囊,发现植物甾醇酯与鱼油共包埋能有效防止多不饱和脂肪酸氧化。目前关于植物甾醇酯应用于负载虾青素的脂质体的构建尚未见报道。

油酸是一种单不饱和脂肪酸,具有抗炎、预防糖尿病及心脑血管疾病等作用^[24],植物甾醇油酸酯兼具植物甾醇和油酸的生理功能,将植物甾醇油酸酯应用于负载虾青素的脂质体的构建中,不仅能够调控脂质体的稳定性,还可以发挥多重生理功效。基于此,本文以大豆磷脂为主要膜材,采用薄膜-超声法构建植物甾醇油酸酯-虾青素复合脂质体(L-PA)。以L-PA的包封率为考察指标,通过单因素试验和响应面优化L-PA的制备工艺,以期能为植物甾醇酯在负载脂溶性营养素的脂质体中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

虾青素(纯度98%),上海研域商贸有限公司;大豆磷脂(纯度98%),沈阳天峰生物制药有限公

司;植物甾醇油酸酯(纯度91%),实验室自制;吐温80(化学纯),天津市鼎盛鑫化工有限公司;三氯甲烷、石油醚等均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

AUY120分析天平,岛津国际贸易(上海)有限公司;RE-52AA旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;JY92-IIN超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;DF-101Z集热式数显恒温磁力搅拌器,山东菏泽正虹科教仪器有限公司;TG16-WS高速台式离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;T6新世纪紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 试验方法

1.2.1 L-PA的制备

采用薄膜-超声法制备L-PA^[25]。称取一定量的植物甾醇油酸酯、虾青素与200 mg大豆磷脂溶于5 mL三氯甲烷(有机相)中,于50℃、50 r/min条件下避光减压旋蒸除去三氯甲烷,在烧瓶内壁形成均匀透明的薄膜后继续旋蒸20 min,加入一定pH、含吐温80的磷酸盐缓冲液(PBS)(水相),在真空度为0.02 MPa条件下旋蒸直至薄膜与PBS充分水合,之后置于冰水浴中进行探针式超声(超声功率为180 W,工作5 s,暂停5 s),即得L-PA。

1.2.2 包封率的测定

参考Pan等^[25]的方法,以三氯甲烷为溶剂,采用分光光度计法得到虾青素标准曲线方程为 $y=0.1403x-0.0009$ ($R^2=0.9999$,线性范围0~2.4 $\mu\text{g/mL}$),式中: y 为吸光度; x 为虾青素的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$ 。

参考Pan等^[26]的方法测定复合脂质体的包封率。取一定量的L-PA置于圆底烧瓶中,加入5 mL石油醚,在30℃水浴条件下采用磁力搅拌的方式萃取10 min,然后吸取萃取液于离心管内,在转速3 000 r/min条件下离心5 min。重复上述操作3次,合并离心后的上清液,在35℃水浴条件下旋蒸去除石油醚。使用三氯甲烷溶解剩余物质,定容于10 mL的棕色容量瓶中,于492 nm处测量吸光度,根据虾青素标准曲线方程得到游离虾青素含量。包封率按照下式计算。

$$y = (m_0 - m) / m_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: y 为包封率; m_0 为虾青素总质量; m 为游离虾青素质量。

1.2.3 数据处理

试验数据使用SPSS Statistics 23软件进行分析,采用Origin 8软件作图,使用Design-Expert V8.0.6软件进行响应面分析。试验至少重复3次,结果取平均值。

2 结果与分析

2.1 L-PA 制备的单因素试验

2.1.1 植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比对 L-PA 包封率的影响

固定 PBS 的 pH 为 7.4、超声时间 4 min、吐温 80 与大豆磷脂质量比 1:2、有机相与水相体积比 1:5、虾青素与大豆磷脂质量比 1:50, 考察植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 (1:20、1:10、3:20、1:5、1:4) 对 L-PA 包封率的影响, 结果见图 1。

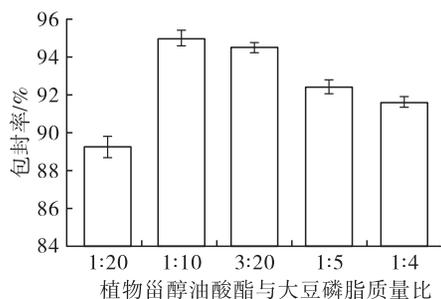


图1 植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比对 L-PA 包封率的影响

由图 1 可知, 当植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比小于 1:10 时, 增加植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比有利于提高 L-PA 的包封率, 植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比为 1:10 时, 包封率最高, 继续增加植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比, 包封率下降。这可能是由于以大豆磷脂为膜材制备的脂质体具有一定的通透性, 添加适量的植物甾醇酯, 可以与磷脂双分子层相互作用, 使脂质体更加稳定, 减少虾青素的渗透率, 从而得到较高的包封率^[22]。然而, 由于脂质体囊泡的容积是有限的, 当植物甾醇油酸酯用量过高时, 会占据脂质体囊泡的空间, 使得虾青素不能被有效包埋, 导致包封率下降。

2.1.2 PBS 的 pH 对 L-PA 包封率的影响

固定植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 1:10、超声时间 4 min、吐温 80 与大豆磷脂质量比 1:2、有机相与水相体积比 1:5、虾青素与大豆磷脂质量比 1:50, 考察 PBS 的 pH (6.2、6.6、7.0、7.4、7.8) 对 L-PA 包封率的影响, 结果见图 2。

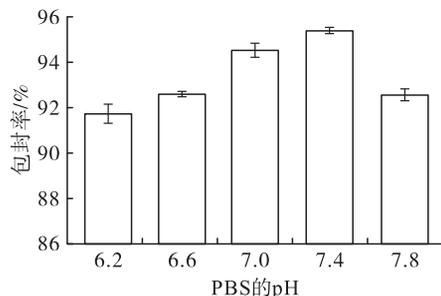


图2 PBS 的 pH 对 L-PA 包封率的影响

由图 2 可知, 在 PBS 的 pH 为 6.2 ~ 7.4 范围内, 随着 pH 的增大, L-PA 的包封率也增大, pH 为 7.4 时, 包封率最高, 当 pH 大于 7.4 时, 包封率降低。这是由于磷脂分子在强酸或者强碱条件下容易发生水解, 从而影响脂质体的稳定性, 导致虾青素泄漏, 影响包封率。此外, pH 还能够通过影响脂质体膜表面的荷电特性而改变脂质体膜的通透性, 造成虾青素的泄漏^[27]。

2.1.3 超声时间对 L-PA 包封率的影响

固定植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 1:10、PBS 的 pH 为 7.4、吐温 80 与大豆磷脂质量比 1:2、有机相与水相体积比 1:5、虾青素与大豆磷脂质量比 1:50, 考察超声时间 (2、4、6、8、10 min) 对 L-PA 包封率的影响, 结果见图 3。

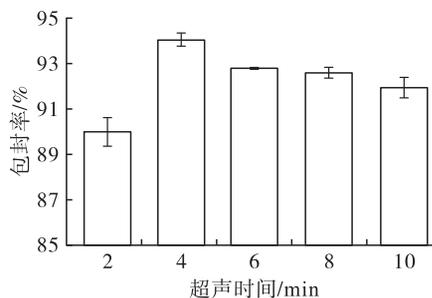


图3 超声时间对 L-PA 包封率的影响

由图 3 可知, L-PA 的包封率随超声时间的延长先升高后降低, 当超声时间为 4 min 时包封率最高。这是由于适当的超声处理可使体系中较大的脂质体囊泡分裂成较小的、均一的囊泡, 起到乳化稳定作用^[28]。但当超声时间过长时, 脂质体系统的温度升高, 囊泡的结构被破坏, 导致虾青素泄漏, 使包封率降低^[29]。

2.1.4 吐温 80 与大豆磷脂质量比对 L-PA 包封率的影响

固定植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 1:10、PBS 的 pH 为 7.4、超声时间 4 min、有机相与水相体积比 1:5、虾青素与大豆磷脂质量比 1:50, 考察吐温 80 与大豆磷脂质量比 (1:5、3:10、2:5、1:2、3:5) 对 L-PA 包封率的影响, 结果见图 4。

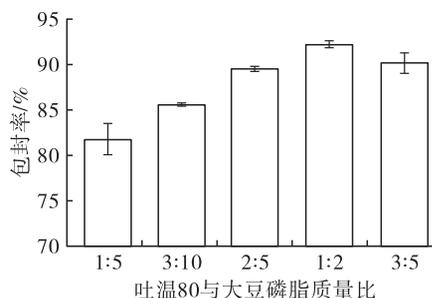


图4 吐温 80 与大豆磷脂质量比对 L-PA 包封率的影响

由图4可知,L-PA的包封率随吐温80与大豆磷脂质量比的增大先增大后减小的趋势,吐温80与大豆磷脂质量比为1:2时包封率最高。这可能是由于吐温80是一种非离子表面活性剂,其疏水性长链可以插入脂质体膜,而亲水端则伸展于脂质体表面,使脂质体膜结构变得疏松,有利于虾青素的嵌入^[30]。然而,吐温80过量时,其胶束逐渐与磷脂增溶为混合胶团,脂质体的稳定性降低,导致虾青素泄漏^[28]。

2.1.5 有机相与水相体积比对L-PA包封率的影响

固定植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比1:10、PBS的pH为7.4、超声时间4 min、吐温80与大豆磷脂质量比1:2、虾青素与大豆磷脂质量比1:50,考察有机相与水相体积比(1:6、1:5、1:4、1:3、1:2)对L-PA包封率的影响,结果见图5。

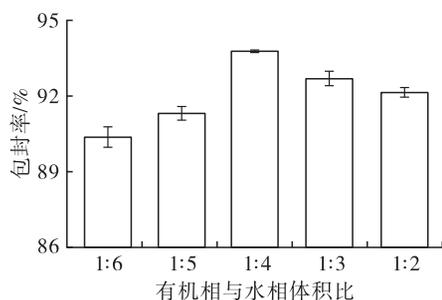


图5 有机相与水相体积比对L-PA包封率的影响

由图5可知,随着有机相与水相体积比的增加,L-PA的包封率先增大后减小,当有机相与水相体积比为1:4时包封率最高。这是由于有机相比比例较小时,脂质体乳液难以形成稳定的体系,因此包封率较低^[31]。而当有机相与水相体积比过大时,混悬液的黏度较高,乳化分散所需要的外力作用较大^[32],因此在相同超声处理条件下脂质体的包封率下降。

2.1.6 虾青素与大豆磷脂质量比对L-PA包封率的影响

固定植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比1:10、PBS的pH为7.4、超声时间4 min、吐温80与大豆磷脂质量比1:2、有机相与水相体积比1:4,考察虾青素与大豆磷脂质量比(1:80、1:70、1:60、1:50、1:40)对L-PA包封率的影响,结果见图6。

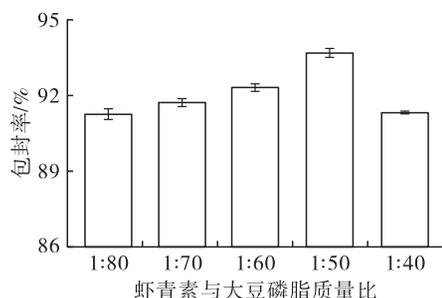


图6 虾青素与大豆磷脂质量比对L-PA包封率的影响

由图6可知,随着虾青素与大豆磷脂质量比的增大,L-PA的包封率先上升后下降,当虾青素与大豆磷脂质量比为1:50时包封率最大。这说明当虾青素用量较低时,并不能被有效包裹在脂质体内,部分虾青素在脂质体间隙游离,投药量的适量增加有利于提高脂质体的包封率^[33];然而,当虾青素过量时,脂质体囊泡难以包埋所有虾青素,过量的虾青素会游离在脂质体外,导致包封率下降^[34]。

2.2 L-PA制备的响应面试验

2.2.1 响应面试验设计及结果

根据单因素试验结果,以L-PA的包封率(Y)作为评价指标,选择对L-PA包封率影响较大的3个因素植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比(A)、PBS的pH(B)和吐温80与大豆磷脂质量比(C),固定超声时间4 min、有机相与水相体积比1:4、虾青素与大豆磷脂质量比1:50,进行响应面试验设计。响应面试验因素与水平见表1,响应面试验设计方案及结果见表2。

表1 响应面试验因素与水平

水平	A 植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比	B PBS的pH	C 吐温80与大豆磷脂质量比
-1	1:20	7.0	2:5
0	1:10	7.4	1:2
1	3:20	7.8	3:5

表2 响应面试验设计方案及结果

试验号	A	B	C	包封率/%
1	1	0	1	91.51
2	0	0	0	95.37
3	-1	-1	0	90.68
4	0	0	0	95.11
5	0	0	0	95.47
6	1	-1	0	90.64
7	-1	1	0	88.75
8	1	0	-1	90.49
9	0	0	0	94.98
10	-1	0	1	89.59
11	0	-1	1	93.36
12	-1	0	-1	90.20
13	0	0	0	95.43
14	0	-1	-1	87.83
15	0	1	-1	92.38
16	1	1	0	90.03
17	0	1	1	88.00

2.2.2 模型拟合

运用Design-Expert V8.0.6软件对表2数据进行分析,得到二次多项式回归方程: $Y = 95.27 + 0.43A - 0.42B + 0.20C + 0.33AB + 0.41AC - 2.48BC - 2.60A^2 - 2.65B^2 - 2.23C^2$ 。响应面模型的方差分析

见表 3。

表 3 响应面模型的方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
模型	116.93	9	12.99	122.00	<0.000 1	**
A	1.49	1	1.49	13.97	0.007 3	**
B	1.40	1	1.40	13.17	0.008 4	**
C	0.30	1	0.30	2.86	0.134 9	
AB	0.44	1	0.44	4.09	0.082 8	
AC	0.66	1	0.66	6.24	0.041 1	*
BC	24.55	1	24.55	230.55	<0.000 1	**
A^2	28.38	1	28.38	266.45	<0.000 1	**
B^2	29.59	1	29.59	277.86	<0.000 1	**
C^2	20.91	1	20.91	196.35	<0.000 1	**
残差	0.75	7	0.11			
失拟项	0.56	3	0.19	4.03	0.105 7	
纯误差	0.19	4	0.05			
总和	117.67	16				

注:**为差异极显著($p < 0.01$); *为差异显著($p < 0.05$)

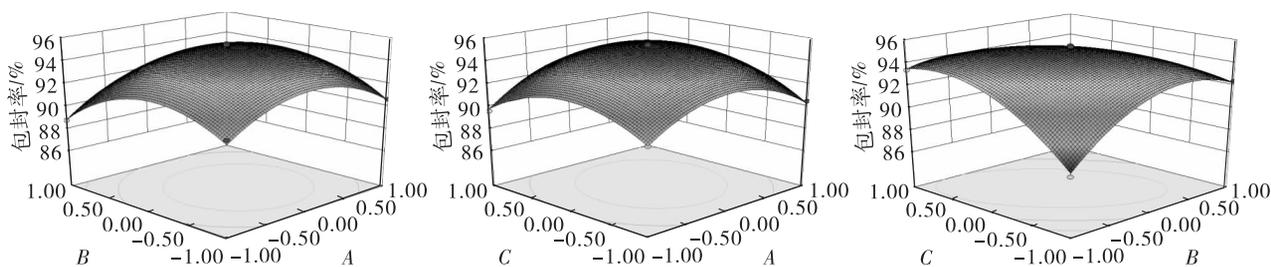


图 7 交互作用对 L-PA 包封率的影响

由图 7 可知:随着植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比和 PBS 的 pH 的增加,L-PA 的包封率先增大后减小,等高线为偏圆形,说明两因素之间的交互作用较小,且因素 A 的变化使得包封率的增加幅度稍大于因素 B,说明植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比对 L-PA 的包封率的影响较大;L-PA 的包封率随植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比和吐温 80 与大豆磷脂质量比的增加先升高后降低,等高线呈椭圆形,表明植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比和吐温 80 与大豆磷脂质量比之间的交互作用显著;随着 PBS 的 pH 和吐温 80 与大豆磷脂质量比的逐渐增大,L-PA 的包封率先增大后缓慢降低,坡度陡峭,等高线为椭圆形,说明两因素之间的交互作用极显著。

2.2.4 验证试验

通过 Design-Expert V8.0.6 软件优化确定 L-PA 的最佳制备工艺条件为植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 1.042:10、PBS 的 pH 7.35、吐温 80 与大豆磷脂质量比 1.025:2,在此条件下 L-PA 的理论包封率为 95.33%。考虑到实际情况,确定 L-PA 的最佳制备工艺条件为植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 1:10、PBS 的 pH 7.4、吐温 80 与大豆磷

由表 3 可知:该拟合模型的 F 值为 122.00, p 值小于 0.000 1,表明该拟合模型极显著,而失拟项不显著($F = 4.03, p > 0.05$),说明模型具有统计学意义; R^2 为 0.993 7, R^2_{Adj} 为 0.985 5,均大于 0.95,说明方程高度拟合;变异系数(CV)为 0.36%,小于 1%,表明模型能够较为准确地预测实际值。综上所述,可以采用该二次多项式回归方程对试验结果进行分析。由表 3 还可知, A 、 B 、 BC 、 A^2 、 B^2 、 C^2 对 L-PA 包封率的影响极显著($p < 0.01$), AC 对 L-PA 包封率的影响显著($p < 0.05$)。3 个因素对 L-PA 包封率的影响大小顺序为 $A > B > C$,即植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 > PBS 的 pH > 吐温 80 与大豆磷脂质量比。

2.2.3 Box-Behnken 响应面交互作用分析

根据二次多项式回归方程,对 A 、 B 和 C 这 3 个因素之间的交互作用进行分析,结果如图 7 所示。

脂质量比 1:2、超声时间 4 min、有机相与水相体积比 1:4、虾青素与大豆磷脂质量比 1:50。在最佳制备工艺条件下,经过 3 次验证试验,测得 L-PA 的包封率为 95.24%,与理论预测值之间的相对误差为 0.09%,实际包封率与理论包封率偏差较小,表明该模型的预测效果良好。

3 结论

本研究以 L-PA 的包封率为指标,通过单因素试验和响应面试验得到制备 L-PA 的最佳工艺条件为:植物甾醇油酸酯与大豆磷脂质量比 1:10、PBS 的 pH 7.4,超声时间 4 min,吐温 80 与大豆磷脂质量比 1:2,有机相与水相体积比 1:4,虾青素与大豆磷脂质量比 1:50。在最佳工艺条件下,L-PA 的包封率为 95.24%。研究结果为植物甾醇酯应用于负载脂溶性功能因子的脂质体的构建提供了理论依据和技术支持。

参考文献:

- [1] LIU L, LI J, CAI X N, et al. Dietary supplementation of astaxanthin is superior to its combination with *Lactococcus lactis* in improving the growth performance, antioxidant capacity, immunity and disease resistance of white shrimp

- (*Litopenaeus vannamei*) [J/OL]. Aquacult Rep, 2022, 24: 101124[2022-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101124>.
- [2] QIANG M D, PANG X, MA D X, et al. Effect of membrane surface modification using chitosan hydrochloride and lactoferrin on the properties of astaxanthin-loaded liposomes [J/OL]. Molecules, 2020, 25(3): 610[2022-10-23]. <https://doi.org/10.3390/molecules25030610>.
- [3] WANG H, HE W Z, DANSOU D M, et al. Astaxanthin improved the storage stability of docosahexaenoic acid-enriched eggs by inhibiting oxidation of non-esterified polyunsaturated fatty acids [J/OL]. Food Chem, 2022, 381:132256[2022-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132256>.
- [4] GAO S S, YANG M S, XU K J, et al. Shift and interaction of intestinal bacterial community in juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* upon astaxanthin feeding [J/OL]. Aquaculture, 2022, 555: 738203[2022-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738203>.
- [5] PITACCO W, SAMORI C, PEZZOLESI L, et al. Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* with hydrophobic deep eutectic solvents based on oleic acid [J/OL]. Food Chem, 2022, 379: 132156[2022-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132156>.
- [6] PAN L, WANG H Y, GU K R, et al. Nanoliposomes as vehicles for astaxanthin: characterization, in vitro release evaluation and structure [J/OL]. Molecules, 2018, 23: 2822 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.3390/molecules23112822>.
- [7] BELTRAN-GRACIA E, LOPEZ-CAMACHO A, HIGUERA-CIAPARA I. Nanomedicine review: clinical developments in liposomal applications [J/OL]. Cancer Nanotechnol, 2019, 10(1): 11 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.1186/s12645-019-0055-y>.
- [8] LARGE D E, ABDELMESSIH R G, FINK E A, et al. Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application [J/OL]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 176: 113851 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113851>.
- [9] 邵克东, 赵苏茂, 杨紫恒, 等. 高压均质对脂质体囊泡特性和稳定性的影响 [J]. 食品科学, 2019, 40(17): 169-177.
- [10] NAKHAEI P, MARGIANA R, BOKOV D O, et al. Liposomes: structure, biomedical applications, and stability parameters with emphasis on cholesterol [J/OL]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 705886 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.705886>.
- [11] SRIHERA N, LI Y, ZHANG T T, et al. Preparation and characterization of astaxanthin loaded liposomes stabilized by sea cucumber sulfated sterols instead of cholesterol [J]. J Oleo Sci, 2022, 71(3): 401-410.
- [12] LI R, ZHANG L Y, LI Z J, et al. Characterization and absorption kinetics of a novel multifunctional nanoliposome stabilized by sea cucumber saponins instead of cholesterol [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(2): 642-651.
- [13] LEE D U, PARK H W, LEE S C. Comparing the stability of retinol in liposomes with cholesterol, β -sitosterol, and stigmasterol [J]. Food Sci Biotechnol, 2021, 30(3): 389-394.
- [14] TOOPKANLOO S P, TAN T B, ABAS F, et al. Impact of quercetin encapsulation with added phytosterols on bilayer membrane and photothermal-alteration of novel mixed soy lecithin-based liposome [J/OL]. Nanomaterials, 2020, 10(12): 2432 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.3390/nano10122432>.
- [15] ZHANG R Y, HAN Y H, MCCLEMENTS D J, et al. Production, characterization, delivery, and cholesterol-lowering mechanism of phytosterols: a review [J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(8): 2483-2494.
- [16] GACHUMI G, POUDEL A, WASAN K M, et al. Analytical strategies to analyze the oxidation products of phytosterols, and formulation-based approaches to reduce their generation [J/OL]. Pharmaceutics, 2021, 13(2): 268 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020268>.
- [17] 贾硕, 张帆, 周寰, 等. 食源性甾醇类化合物生物活性及应用 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(8): 310-316.
- [18] PAVANI M, SINGHA P, DASH D R, et al. Novel encapsulation approaches for phytosterols and their importance in food products: a review [J/OL]. J Food Process Eng, 2022, 45(8): 1-18 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.1111/JFPE.14041>.
- [19] HOU L F, SUN X Y, PAN L, et al. Studies on phytosterol acetate esters and phytosterols liposomes [J]. Food Sci Technol, 2021, 41(4): 1062-1068.
- [20] PEREIRA A D, DESOUZA A H, FRAGE J L, et al. Lipases as effective green biocatalysts for phytosterol esters' production: a review [J/OL]. Catalysts, 2022, 12(1): 88 [2022-10-23]. <https://doi.org/10.3390/catal12010088>.
- [21] WANG F C, ACEVEDO N, MARANGONI A G. Encapsulation of phytosterols and phytosterol esters in liposomes made with soy phospholipids by high pressure homogenization [J]. Food Funct, 2017, 8(11): 3964-3969.
- [22] 侯丽芬, 宗珊盈, 张海臣, 等. β -谷甾醇乙酸酯对脂质膜结构稳定性的影响 [J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 20-25.