

β -谷甾醇乙酸酯对脂质膜结构稳定性的影响

Effect of β -sitosterol acetate ester on the structural stability of lipid membrane

侯丽芬^{1,2}宗珊盈³张海臣⁴HOU Li-fen^{1,2} ZONG Shan-ying³ ZHANG Hai-chen⁴潘 丽⁵王宏雁¹谷克仁^{1,4}PAN Li⁵ WANG Hong-yan¹ GU Ke-ren^{1,4}

(1. 河南工业大学化学化工与环境学院, 河南 郑州 450001; 2. 郑州旅游职业学院烹饪食品系, 河南 郑州 450009; 3. 中检集团中原农食产品检测〔河南〕有限公司, 河南 郑州 450003; 4. 吉林工程职业学院粮油食品学院, 吉林 四平 136001; 5. 河南工业大学化学粮油食品学院, 河南 郑州 450001)
(1. College of Chemistry, Chemical and Environmental Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450001, China; 2. Department of Cooking and Food, Zhengzhou Tourism College, Zhengzhou, Henan 450009, China; 3. China Certification & Inspection Group Central Plains Agricultural Products & Food Testing [Henan] Co., Ltd, Zhengzhou, Henan 450003, China; 4. College of Grain, Oil and Food, Jilin Vocational College of Engineering, Siping, Jilin 136001, China; 5. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450001, China)

摘要:通过薄膜—超声法制备 β -谷甾醇乙酸酯脂质体,考察其不同掺入浓度对脂质体粒径、PDI和储藏稳定性的影响,探究 β -谷甾醇乙酸酯与磷脂在膜中的相互作用。试验结果表明,脂质体在 β -谷甾醇乙酸酯添加量为2, 4 mg时,与相同条件下的 β -谷甾醇脂质体Size和PDI相一致;4℃下储藏30 d,低掺入量的 β -谷甾醇乙酸酯脂质体具有较好的储藏稳定性;采用FTIR检测结果显示 β -谷甾醇乙酸酯掺入脂质体中与磷脂的P=O和(CH₃)₃N之间有相互作用;TGA的分析结果也验证了 β -谷甾醇乙酸酯在低掺入量时对其构建脂质体膜结构起稳定作用。

关键词: β -谷甾醇乙酸酯;脂质体;稳定性;影响

Abstract: β -sitosterol acetate liposomes were prepared by thin-film ultrasonic method, and the effects of different incorporation concentrations on the particle size, PDI and storage stability of the liposomes were investigated, besides, the interaction between β -sitosterol acetate ester and phospholipids in the membrane was

explored. The results showed that the size and PDI of the liposomes were consistent with that of the β -sitosterol liposomes under the same conditions when the addition amount of β -sitosterol acetate ester was 2 mg and 4 mg. It has good storage stability for low dosage of the β -sitosterol acetate ester liposomes at 4℃ for 30 days. The results showed that there was interactions between β -sitosterol acetate ester and P=O and (CH₃)₃N of phospholipids by FTIR. There was a stabilizing effect on liposome membrane structure at low dosage of β -sitosterol acetate ester by TGA.

Keywords: β -sitosterol acetate ester; liposomes; stability; impact

近年来,纳米脂质体用于食品中生物活性物质的封装和控释已成为一种有效的手段。脂质体已成功应用于包覆抗菌肽^[1]、儿茶素^[2]、乳铁蛋白^[3]、抗坏血酸^[4]、V_E^[5]和 ω -3脂肪酸^[6]等生物活性物质。脂质体通常是由一个或多个磷脂双分子层包裹一定体积的水相构成的囊泡^[1, 7],主要由两亲性物质(如磷脂和甾醇等)制备^[8]。胆固醇影响天然或合成膜的结构和性质,可以调节脂质膜的刚性、厚度、稳定性和流动性^[9-11]。尽管胆固醇可以改善脂质体膜的特性,但患有高胆固醇血症患者应避免食用含胆固醇的食物。

植物甾醇有降低胆固醇作用,其结构与胆固醇类似,

基金项目:省属高校基本科研业务费专项资金项目(编号:2017XTCX02);河南省谷物资源转化与利用重点实验室开放课题(编号:PL2018005)

作者简介:侯丽芬,女,河南工业大学在读博士研究生。

通信作者:谷克仁(1957—),男,河南工业大学教授,博士生导师,硕士。E-mail: gukeren988@163.com

收稿日期:2019-05-03

也含有环戊烷全氢菲骨架,仅在支链甲基和双键上存在差别。目前已有很多研究^[12-14]发现植物甾醇能够代替胆固醇来构建稳定的脂质体。与植物甾醇相比,植物甾醇酯具有较高的脂溶性,同等或更优的生物活性^[15-16],而对于植物甾醇酯掺入脂质体中的研究较少。Alexander等^[17]采用植物甾醇酯制备大豆磷脂脂质体提高了水溶性制剂抗坏血酸的包封率。Wang等^[18]采用高压均质法制备植物甾醇和植物甾醇酯大豆磷脂脂质体,为传递生物活性成分提供了一种实用的方法。然而,关于植物甾醇酯作为辅助膜材对脂质体膜结构稳定性的研究尚未见报道。试验拟通过薄膜—超声法制备 β -谷甾醇乙酸酯(β -Sitosterol Acetate Ester, SAE)脂质体,考察其不同掺入浓度对脂质体粒径、PDI、电位及储藏稳定性的影响,并探究SAE与磷脂在膜中的相互作用,以期对相关研究提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂

大豆磷脂(SPC):纯度98%,沈阳天峰生物制药有限公司;

β -谷甾醇(β -Sitosterol, Sito):纯度98%,上海依赫生物科技有限公司;

β -谷甾醇乙酸酯(SAE):纯度97%,实验室自制;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、氯仿、甲醇等:分析纯。

1.2 仪器

超声波信号发生器:HN-500型,上海超声汉诺仪器有限公司;

旋转蒸发器:RE52-AA型,上海亚荣生化仪器厂;

真空冷冻干燥机:VFD-2000型,上海比朗仪器制造有限公司;

傅立叶变换红外光谱仪:PerkinElmer Spectrum TWO型,美国铂金埃尔默股份有限公司;

激光纳米粒度仪:Zetasizer Nano ZS90型,英国马尔文仪器有限公司;

热重仪:TGA Q50型,美国TA仪器公司。

1.3 试验方法

1.3.1 脂质体的制备 分别精密称取一定量的SPC(80 mg)、tween-80(60 mg)和SAE(Sito)(2, 4, 6, 8 mg),置于圆底烧瓶中,加入10 mL有机溶剂(体积比为2:1的三氯甲烷—甲醇溶液,)常温溶解,旋转蒸发除去有机溶剂(控制真空度0.06 MPa,水浴温度50℃),使壁材在圆底烧瓶壁形成一层均匀透明的薄膜,在真空度0.1 MPa下继续旋蒸30 min,注入0.02 mol/L磷酸缓冲溶液(PBS, pH 7.4, 0.15 mol/L NaCl)10 mL水化脂质薄膜10 min。所得乳液在冰浴条件下,探头超声(200 W,

8 min,脉冲1 s/1 s),得到呈现淡蓝色乳光的脂质体,4℃冷藏保存待分析。按相同方法制备不含SAE(Sito)的空白脂质体。

1.3.2 脂质体的粒径、多分散指数(PDI)和电位的测定

用高纯水稀释脂质体100倍,采用Zetasizer Nano ZS90(DLS)测定其平均粒径、PDI和电位。PDI反映的是脂质体粒径分布情况,范围为0~1。PDI<0.3,说明脂质体呈现较好的单一性分散^[19]。样品测量前,25℃下平衡20 s,每个样品测量3次,每次至少运行10次,数据表示为(均值±标准差)。

1.3.3 脂质体乳液的储藏稳定性 将制备好的脂质体放置于冰箱4℃左右,分别选取贮藏0, 7, 15, 21, 30 d的样品,按照1.3.2方法采用DLS测定其粒径、PDI和电位。

1.3.4 脂质体的冷冻干燥 取1.3.1制备的脂质体10 mL于50 mL烧杯中,移入冷冻干燥机,首先在-20℃预冷冻4 h,然后在真空度1.0 MPa下,程序控温保持38 h,得到脂质体冷冻产品。

1.3.5 红外光谱分析 取少量1.3.4制备的冷冻干燥样品,采用PerkinElmer UATR TWO傅立叶红外光谱仪,全反射光谱测定法进行测定。光谱测定范围4 000~400 cm⁻¹,仪器分辨率4 cm⁻¹,扫描次数16。

1.3.6 热重(TGA)分析 TGA分析脂质体的热稳定性。冷冻干燥样品加热温度范围40~600℃,升温速率10℃/min,氮气流速60 mL/min。

1.4 数据处理与分析

采用Origin 8.0对试验数据进行处理,以(平均值±标准偏差)表示。采用SPSS 21.0对数据进行相关统计学分析, P<0.05有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 粒径与PDI

采用薄膜—超声法制备小单室脂质体,SAE的不同掺入量对脂质体粒径和PDI的影响如图1所示。由图1可知,随着SAE掺入量的增加,保持其他成分不变,加入0~6 mg SAE的脂质体粒径无显著差别(P<0.05),增加至8 mg时,粒径显著增大。PDI随着SAE掺入量的增加而逐渐增大,其中2 mg和4 mg的PDI无明显差异,分别为0.22和0.23。试验中SAE最大添加量8 mg,但是此时得到的脂质体粒径和PDI与对照样品相比均明显增大,可能是因为超出了其溶解度而破坏了脂质体结构。甾醇酯在磷脂膜中的溶解度很低,Zajicek等^[20]报道胆固醇酯在完全水化的磷脂双层膜中溶解度非常有限,远远低于胆固醇。同时,Salmon等^[21]研究表明胆固醇酯的最大掺入量随链长的增加而降低,例如蛋黄卵磷脂构成的多层膜中胆固醇酯的掺入量从胆固醇辛酸酯摩尔分数的5%到硬脂酸酯摩尔分数的1.4%,但是小单室脂质体的

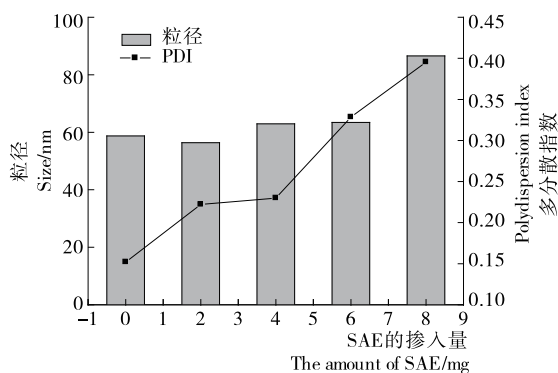


图1 SAE 掺入量对脂质体粒径和 PDI 的影响

Figure 1 The effects of SAE incorporation on particle size and polydispersity index of liposome

最大掺入量比多层膜高 1.2~2.0 倍。

Sito 的不同掺入量对脂质体粒径和 PDI 的影响如图 2 所示。由图 2 可知,随着 Sito 掺入量的增加对粒径无明显影响,而对 PDI 值有缓慢增加的趋势。已有研究^[22]表明少量加入 Sito 对粒径影响不大,可能是少量 Sito 的加入填补了磷脂分子间的空隙,而对粒径无显著影响。同时 Samar 等^[23]研究得出胆固醇在低浓度下(摩尔分数<5%)未显现出增强 DPPC 膜有序性的作用。Sito 与胆固醇结构相似,在脂质体膜中有相似的作用。

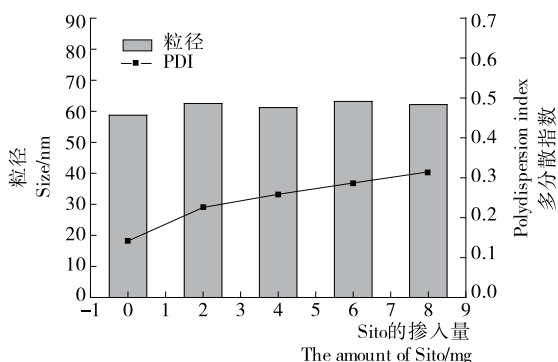


图2 Sito 掺入量对脂质体粒径和 PDI 的影响

Figure 2 The effects of Sito incorporation on particle size and polydispersity index of liposome

通过对比得出,在添加量为 2,4 mg 时,SAE 和 Sito 有相似的粒径和 PDI。

试验中掺入 SAE 的脂质体电位与对照样品无显著差异,为 -19.1~-20.5 mV。Monica 等^[24]同样采用薄膜-超声法制备了含有胆固醇硬脂酸酯的脂质体,发现脂质体电位有稍微的降低。这一点在试验中不明显。

2.2 储藏稳定性

SAE 和 Sito 不同掺入量脂质体在 4 °C 下放置不同时间的粒径变化如图 3 所示。由图 3(a)看出,在 4 °C 下 0~15 d,2~4 mg SAE 脂质体粒径先增加后减小;15 d 后粒

径缓慢增大。而对于 6~8 mg SAE 脂质体来说,放置不同时间后,粒径均比 0 d 小,而且无明显规律性;这主要是由于此浓度下的脂质体在放置过程中出现不同程度的絮状沉淀(试验过程中肉眼观察),导致样品取样不均匀,同时也反映出其储藏稳定性较差。由图 3(b)可知,2~4 mg Sito 脂质体与相同掺入量的 SAE 脂质体变化一致。而 6~8 mg Sito 脂质体随着放置时间的延长,粒径缓慢增大,但无沉淀出现,与杨斌等^[25]的研究结果相一致。

SAE 和 Sito 不同掺入量脂质体在 4 °C 下放置不同时间的 PDI 变化如图 4 所示。SAE 掺入量为 2,4 mg 的脂质体 PDI 变化与 Sito 掺入量为 2~8 mg 的脂质体 PDI 变化一致,呈现先降低然后增加的趋势;且放置 21 d 后,均低于未掺入 SAE 和 Sito 的脂质体。而 6~8 mg SAE 脂质体的 PDI 由于放置过程中出现沉淀导致检测样品不均匀,因此无参考价值。

在 4 °C 下储藏,与 Sito 脂质体相比较,SAE 脂质体掺入量为 2,4 mg 的粒径变化较小,在 30 d 内可以保持较好的粒度分布性,说明其具有较好的储藏稳定性。

2.3 红外光谱分析

经过冷冻干燥的 SAE 和 Sito 脂质体红外光谱见图 5。波数 2 925 cm^{-1} 和 2 850 cm^{-1} 分别与 CH_2 不对称

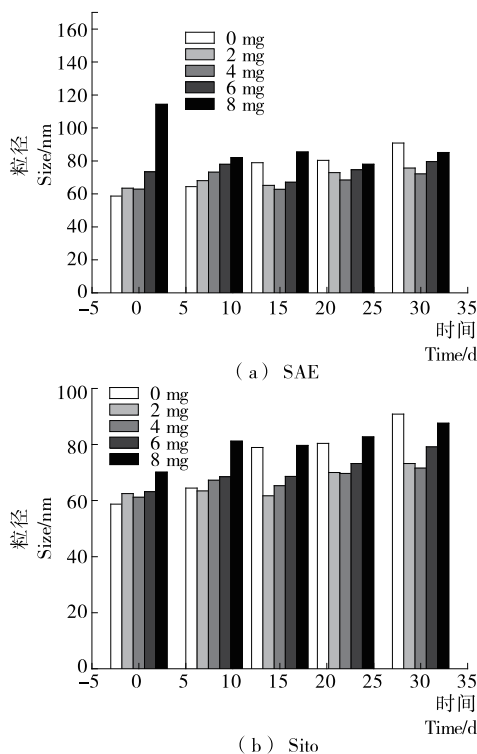


图3 SAE 和 Sito 掺入脂质体在 4 °C 下放置不同时间粒径的变化

Figure 3 The effects of incorporation of SAE and Sito on particle size of liposomes at 4 °C at different times

伸缩振动和对称伸缩振动有关,表明脂质膜双层酰基链的变化^[26]。由表 1 可知,少量 SAE 和 Sito 的掺入并未与酰基链发生明显作用,同时与膜的界面羰基水化状态有关的 C=O 对称伸缩振动峰(V C=O)也未发生明显变化。但是,空白脂质体的 P=O 反对称伸缩振动峰(Vas P=O)为 1 246 cm⁻¹,而 SAE 脂质体迁移至 1 241 (2 mg),1 245(4 mg) cm⁻¹,Sito 脂质体迁移至 1 243 (2 mg),1 245(4 mg)cm⁻¹。同时,可以看到 P=O 对称伸缩振动峰(Vs P=O),从空白脂质体的 1 096 cm⁻¹移至 SAE 脂质体的 1 088,1 094 cm⁻¹,Sito 脂质体移至 1 089,1 092 cm⁻¹,且相应的峰强度也发生了变化。Vas

P=O 和 Vs P=O 降低说明脂质体与外来物质间的氢键增强了^[27]。与 Sito 脂质体不同的是 (CH₃)₃N 对称伸缩峰 [V (CH₃)₃N], SAE 脂质体由 968 cm⁻¹变为 970 cm⁻¹(2 mg)和 965 cm⁻¹(4 mg);而 Sito 脂质体无明显变化,丁武孝等^[28]也研究发现胆固醇的羟基与季铵基团无静电作用。

由上可知,SAE 掺入脂质体中与磷脂的 P=O 和 (CH₃)₃N 之间有明显相互作用,而 Sito 仅与磷脂的 P=O 产生氢键。氢键的形成说明掺入物质与磷脂在脂质膜中结合紧密,有利于膜结构的稳定^[29]。

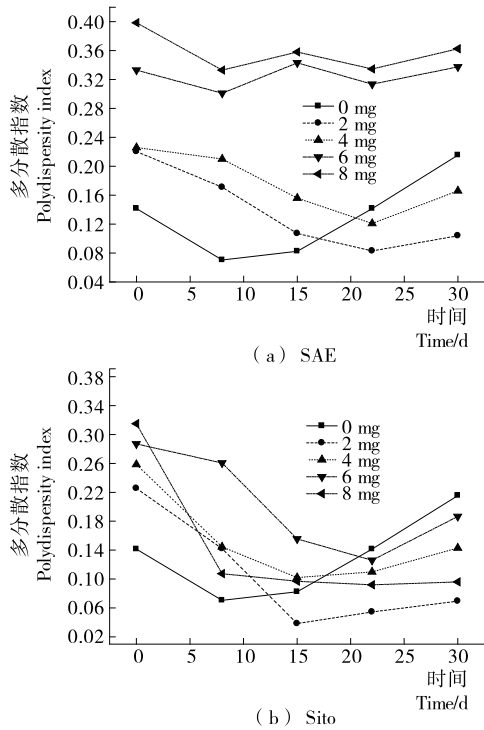


图 4 SAE 和 Sito 掺入脂质体在 4 °C 下放置不同时间 PDI 的变化

Figure 4 The effects of SAE and Sito incorporation on polydispersity index of liposomes placed at 4 °C at different times

表 1 不同脂质体对应的红外特征峰的波数

Table 1 The wavenumbers of infrared characteristic peaks corresponding to different liposomes

样品	Vas CH ₂	Vs CH ₂	V C=O	Vas P=O	Vs P=O	V (CH ₃) ₃ N
对照	2 924	2 856	1 736	1 246	1 096	968
2 mg SAE	2 924	2 855	1 736	1 241	1 088	970
4 mg SAE	2 924	2 857	1 735	1 245	1 094	965
2 mgSito	2 924	2 855	1 737	1 243	1 089	969
4 mg Sito	2 924	2 855	1 736	1 245	1 092	968

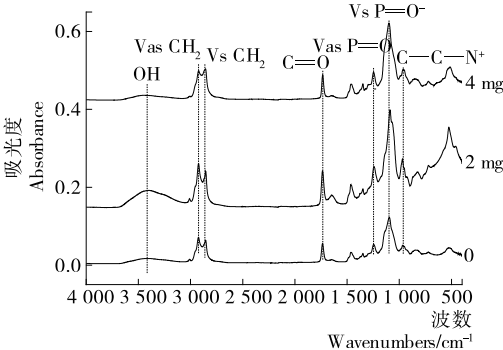


图 5 SAE 掺入脂质体的红外图谱

Figure 5 The infrared spectra of SAE mixed with liposomes

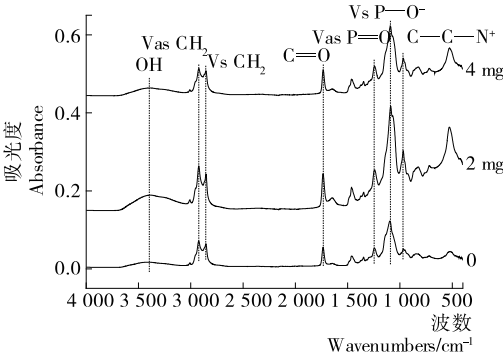


图 6 Sito 掺入脂质体的红外图谱

Figure 6 The infrared spectra of Sito mixed with liposomes

2.4 热重分析

采用热重法(TGA)测定冷冻干燥后 SAE、Sito 和未掺入脂质体经历高温的物理化学变化,如图 7 所示。热重分析结果显示,未掺入脂质体最后剩余质量的 48.0%;2,4 mg SAE 脂质体分别为 46.4%和 46.7%;Sito 脂质体为 47.1%,无显著差异($P<0.05$)。图 7 中显示了不同脂质体的降解曲线,第一阶段重量的减少主要与样品中含有水分和挥发性物质有关^[30-31],未掺入脂质体减少 2.5%、2 mg SAE 和 4 mg SAE 脂质体分别减少为 3.4%和 3.7%、4 mg Sito 脂质体减少 1.8%。在较高速率降解阶段,2,4 mg SAE 脂质体分别在 187~358,218~337 °C 时,稳定性高于未掺入脂质体;4 mg Sito 脂质体在 183~314 °C 时,稳定性高于未掺入脂质体。这是由于掺入 SAE 和 Sito 能使脂质体极性基团的氢键增强。张继芬等^[29]也发现外来物质与磷脂形成氢键后会一定程度提高脂质体的热稳定性。

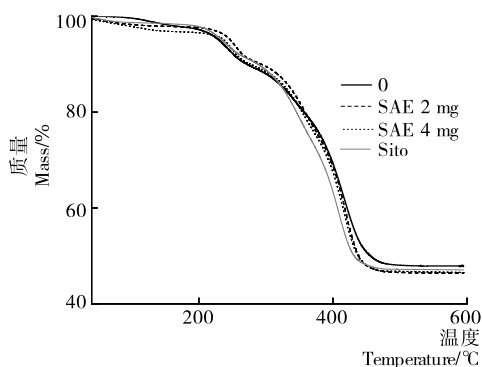


图 7 SAE、Sito 和未掺入脂质体的 TGA 分析

Figure 7 TGA analysis of SAE, Sito and unadulterated liposomes

3 结论

试验将 SAE 掺入大豆磷脂脂质体中,考察其对所构建的脂质膜结构稳定性的影响。研究证明低掺入量的 SAE 脂质体粒度分布均匀,微观形貌较好,且具有较好的储藏稳定性。少量添加 SAE 与膜中磷脂分子极性头基形成氢键,提高了脂质体的热稳定性,起到了与 Sito 相似的稳定膜结构的作用。SAE 保留了 Sito 大部分的官能团,掺入脂质体中还可能会引起脂质体的抗氧化性、包埋和释放性能的改变,因此,需要进一步开展相关的研究。

参考文献

[1] PATRICIA DA S M, DAROIT D J, BRANDELLI A. Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides [J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21(6): 284-292.
[2] WU Jie-yu, GUAN Rong-fa, HUANG Hai-zhi, et al. Effect of catechin liposomes on the nitrosamines and quality of tra-

ditional Chinese bacon[J]. Food & Function, 2019, 10(2): 625-634.

- [3] TIAN Meng-meng, HAN Jian-zhong, YE Ai-qian, et al. Structural characterization and biological fate of lactoferrin-loaded liposomes during simulated infant digestion [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(4): 2 677-2 684.
[4] KIRBY C J, WHITTLE C J, RIGBY N, et al. Stabilization of ascorbic acid by microencapsulation in liposomes[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 26(5): 437-449.
[5] DANG Qi-feng, LIU Cheng-sheng, YAN Jing-quan, et al. The preparation and characterization of CMCS-coated VE liposome[J]. Journal of Functional Materials, 2011, 235(3): 741-745.
[6] MARSANASCO M, CALABR V, PIOTRKOWSKI B, et al. Fortification of chocolate milk with omega-3, omega-6 and vitamins E and C by using liposomes[J]. European Journal of Lipid Science & Technology, 2016, 118(9): 1 271-1 281.
[7] BARENHOLZ Y. Liposome application: Problems and prospects[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2001, 6(1): 66-77.
[8] CHIAHUNG W, BLALECHAFANALI M, NEWMAN D K. Methylation at the C-2 position of hopanoids increases rigidity in native bacterial membranes[J]. Elife, 2015, 4(4): 1-18.
[9] NAJAFINOBAR N, MELLANDER L J, KURCAY M E, et al. Cholesterol alters the dynamics of release in protein independent cell models for exocytosis [J]. Scientific reports, 2016, 6: 33 702.
[10] MIAO Zhi-lin, DENG Ying-jie, DU Hong-yan, et al. Preparation of a liposomal delivery system and its in vitro release of rapamycin[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2015, 9(3): 941-946.
[11] TAKECHI-HARAYA Y, SAKAI-KATO K, ABE Y. Atomic force microscopic analysis of the effect of lipid composition on liposome membrane rigidity[J]. Langmuir, 2016, 32(24): 6 074-6 082.
[12] DONG Xu-yan, KONG Fan-pi, YUAN Gang-you, et al. Optimisation of preparation conditions and properties of phytosterol liposome-encapsulating nattokinase[J]. Natural Product Research, 2012, 26(6): 548-556.
[13] VARSHOSAZ J, JAFARIAN A, SALEHI G, et al. Comparing different sterol containing solid lipid nanoparticles for targeted delivery of quercetin in hepatocellular carcinoma [J]. Journal of Liposome Research, 2014, 24(3): 191-203.
[14] ZHAO Li-sha, TEMELLI F, CURTIS J M, et al. Preparation of liposomes using supercritical carbon dioxide technology: Effects of phospholipids and sterols[J]. Food Research International, 2015, 77: 63-72.
[15] BERRY C J, BIERENBAU M L. Anticholesterolemic edible oil: US, 6277431[P]. 2001-08-21.

- [16] 许青青, 金文彬, 苏宝根, 等. 植物甾醇酯的化学合成及其分离研究进展[J]. 中国粮油学报, 2014(3): 120-128.
- [17] ALEXANDER M, ACERO LOPEZ A, FANG Ying, et al. Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: Encapsulation efficiency and stability[J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 47(2): 427-436.
- [18] WANG Fan-cendy, ACEVEDO N, MARANGONI A G. Encapsulation of phytosterols and phytosterol esters in liposomes made with soy phospholipids by high pressure homogenization[J]. Food & Function, 2017, 8(11): 3 964-3 969.
- [19] MENDEZ N, HERRERA V, ZHANG Ling-zhi, et al. Encapsulation of adenovirus serotype 5 in anionic lecithin liposomes using a bead-based immunoprecipitation technique enhances transfection efficiency[J]. Biomaterials, 2014, 35(35): 9 554-9 561.
- [20] ZAJICEK J, PEARLMAN J D, MERICKEL M B, et al. High-resolution proton NMR spectra of human arterial plaque[J]. Biochemical & Biophysical Research Communications, 1987, 149(2): 437-442.
- [21] SALMON A, HAMILTON J A. Magic-angle spinning and solution ^{13}C nuclear magnetic resonance studies of medium- and long-chain cholesteryl esters in model bilayers[J]. Biochemistry, 1995, 34(49): 16 065-16 073.
- [22] 杨贝贝. 甾醇对卵磷脂脂质体性质的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 12-13.
- [23] KADDAH S, KHREICH N, KADDAH F, et al. Cholesterol modulates the liposome membrane fluidity and permeability for a hydrophilic molecule[J]. Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2018, 113: 40-48.
- [24] MOSCA M, CEGLIE A, AMBROSONE L. Effect of membrane composition on lipid oxidation in liposomes[J]. Chem Phys Lipids, 2011, 164(2): 158-165.
- [25] 杨斌, 刘新铭, 宫泽阳夫, 等. 胆固醇衍生物脂质体的物理稳定性和细胞相容性研究[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(30): 5 801-5 805.
- [26] MAR N D, ALEM N A, MONTERO P, et al. Encapsulation of food waste compounds in soy phosphatidylcholine liposomes: Effect of freeze-drying, storage stability and functional aptitude [J]. Journal of Food Engineering, 2018, 223: 132-143.
- [27] AZAMBUJA C R L D, SANTOS L G D, RODRIGUES M R, et al. Physico-chemical characterization of asolectin-genistein liposomal system: An approach to analyze its in vitro antioxidant potential and effect in glioma cells viability[J]. Chemistry & Physics of Lipids, 2015, 193: 24-35.
- [28] 丁武孝, 齐宪荣, 陈玉武, 等. 琥珀酸胆固醇酯作为脂质体膜稳定剂的研究及其在制备柴胡皂苷-D 脂质体中的应用[J]. 药学报, 2005, 40(7): 623-627.
- [29] 张继芬, 唐勤, 莫婷, 等. 姜黄素磷脂载体的表征及肠吸收研究[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(21): 1 736-1 740.
- [30] PINILLA C M B, THYS R C S, BRANDELLI A. Antifungal properties of phosphatidylcholine-oleic acid liposomes encapsulating garlic against environmental fungal in wheat bread [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 293: 72-78.
- [31] LEE H, CHANG J H. Spherical silica hybrid liposome particles with controlled release of citrus unshiu peel extracts[J]. Materials Chemistry and Physics, 2018, 208: 183-188.

(上接第 14 页)

- [31] KANG Ming-li, PAN Si-yi, FAN Gang, et al. Changes in volatile compounds in satsuma mandarin wine with different fermentation periods[J]. Food Science, 2015, 36(18): 155-161.
- [32] GLENDINNING J I, CHAUDHARI N, KINNAMON S C. Taste transduction and molecular biology[J]. The Neurobiology of Taste and Smell, 2000, 2: 315-351.
- [33] 谢春梅, 焦红茹, 曹芳玲. 宁夏青铜峡小产区不同品种干红葡萄酒的香气成分分析[J]. 中国酿造, 2018, 37(1): 170-176.
- [34] 王露, 高智明, 刘玉梅, 等. 酒花中萜烯醇类化合物的研究进展[J]. 中国酿造, 2013, 32(11): 1-6.
- [35] KISHIMOTO T, WANIKAWA A, KAGAMI N, et al. Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar-sorptive extraction method with GC-MS [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53(12): 4 701-4 707.
- [36] 张薇薇, 张秀玲. 基于主成分分析和聚类分析的苹果香气成分比较及品种分类研究[J]. 食品工业科技, 2018(17): 217-224.

(上接第 19 页)

- [13] 张敬敬, 李冰, 高秀瑞, 等. 河北省不同厚皮甜瓜品种的品质测定与综合评价[J]. 黑龙江农业科学, 2018(4): 116-118.
- [14] 王成, 吴东峰, 何伟忠, 等. 新疆骏枣营养品质特点及其表征指标初探[J]. 中国农业科技导报, 2018, 20(12): 91-98.
- [15] 管学玉. 网纹甜瓜品质形成特点的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006: 2-3.
- [16] 刘润秋, 张红梅, 徐敬华. 砧木对嫁接西瓜生长及品质的影响[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2003(4): 2-6.
- [17] 张银欢, 耿新丽, 郑贺云, 等. 甜瓜果品质构成及其影响因素[J]. 现代农业科技, 2018(10): 94-95.
- [18] 张先亮, 刘恩虹, 霍治邦, 等. 西瓜口感的研究方法探讨[J]. 农业科技通讯, 2018(8): 224-228.