

植物甾醇 α -亚麻酸酯的制备及在负载虾青素脂质体中的应用

Preparation of phytosterol α -linolenic acid ester and its application in astaxanthin-loaded liposomes

刘彦君¹ 潘丽¹ 常振刚² 孟豪杰¹ 张国治¹

LIU Yan-jun¹ PAN Li¹ CHANG Zhen-gang² MENG Hao-jie¹ ZHANG Guo-zhi¹

(1. 河南工业大学粮油食品学院, 河南 郑州 450001; 2. 河南金谷实业发展有限公司, 河南 郑州 450003)

(1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou, Henan 450001, China; 2. Henan Jingu Industry Development Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450003, China)

摘要:目的:提高虾青素的水溶性、稳定性。方法:以植物甾醇和 α -亚麻酸为原料制备植物甾醇 α -亚麻酸酯;以大豆磷脂为膜材,采用薄膜—超声法构建虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体。结果:红外光谱法和核磁共振法结构分析表明产物为植物甾醇 α -亚麻酸酯,气相色谱测定其纯度为 $(90.72 \pm 2.09)\%$;虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的包封率为 $(95.00 \pm 0.66)\%$,平均粒径为 (158.70 ± 9.70) nm,多相分散系数(PDI)为 0.35 ± 0.02 ,zeta电位为 (-33.87 ± 2.48) mV。透射电子显微镜观察到复合脂质体囊泡近似球形、形状规则、分散性好。结论:植物甾醇 α -亚麻酸酯可用于制备负载虾青素的脂质体。

关键词:植物甾醇; α -亚麻酸;植物甾醇 α -亚麻酸酯;虾青素;复合脂质体

Abstract: Objective: This study focuses on improving the stability and water solubility of astaxanthin. **Methods:** Phytosterol α -linolenic acid ester was synthesized by chemical method with phytosterol and α -linolenic acid as raw materials. Liposomes co-encapsulating astaxanthin and phytosterol α -linolenic acid ester were prepared by employing a thin-film ultrasound technique with the utilization of soybean phospholipid. **Results:** Based on the

structure analysis by infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance, it has been demonstrated that the product was phytosterol α -linolenic acid ester. The purity of phytosterol α -linolenic acid ester was $(90.72 \pm 2.09)\%$ by gas chromatography. The encapsulation efficiency of liposomes co-encapsulating astaxanthin and phytosterol α -linolenic acid ester were $(95.00 \pm 0.66)\%$, the average particle size was (158.70 ± 9.70) nm, the polydispersity index (PDI) was 0.35 ± 0.02 , and the average zeta potential was (-33.87 ± 2.48) mV. Transmission electron microscopy revealed that the complex liposomes were spherical with regular shape and uniform particle size distribution. **Conclusion:** Phytosterol α -linolenic acid ester could be applied in the preparation of astaxanthin-loaded liposomes.

Keywords: phytosterol; α -linolenic acid; phytosterol α -linolenic acid ester; astaxanthin; complex liposomes

虾青素广泛存在于自然界中,是一种酮式类胡萝卜素,具有抗癌、抗炎^[1]、抗氧化^[2]、保护皮肤^[3]等多种生理功能。然而,虾青素水溶性差,易受到光、氧、热等外界条件的影响,容易被氧化、异构化和降解,从而导致生物利用度低^[4]。

脂质体是由两亲性的磷脂分子组成的球状小囊泡,能够包埋亲水性、亲脂性或两亲性分子,具有缓释调控作用^[5]。将虾青素包埋在脂质体中,可以提高虾青素的稳定性、水溶性和生物利用度^[6]。但脂质体在存放过程中容易发生聚集和融合等问题,传统脂质体中通常会添加胆固醇,因为胆固醇可以调节脂质体膜的流动性、通透性,具有提高脂质体膜稳定性的作用^[7-9]。然而,胆固醇含量过高会引发一些健康问题。植物甾醇与胆固醇具有相似的结构

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(编号:32001738);郑州市科技局自然科学项目(编号:21ZZXTCX18);河南工业大学青年骨干教师培育计划项目(编号:20201101)

作者简介:刘彦君,女,河南工业大学在读硕士研究生。

通信作者:潘丽(1982—),女,河南工业大学讲师,博士。

E-mail: panli215@163.com

张国治(1964—),男,河南工业大学教授,硕士。

E-mail: zgzh11@163.com

收稿日期:2022-05-10 **改回日期:**2022-09-23

构,也能调节脂质体膜的性质,如酰链顺序、弹性和侧向组织^[10],并且可以降低血清总胆固醇和低密度脂蛋白水平,具有良好的抗炎、抗氧化及抗癌等生理作用^[11-13]。然而,植物甾醇具有高熔点(135 ℃),并且在水相和油相中的溶解度极低,这导致其难以被直接应用^[14-15]。

将植物甾醇和脂肪酸进行酯化反应是提高植物甾醇脂溶性的有效方法之一。 α -亚麻酸是一种人体必需脂肪酸,具有降血脂、抗癌和抗过敏等生理作用,但是由于含有 3 个不饱和双键,稳定性较差^[16]。以植物甾醇和 α -亚麻酸为原料制备植物甾醇 α -亚麻酸酯,用于负载虾青素的脂质体的构建,不仅能够发挥植物甾醇和 α -亚麻酸的双重生理功效,降低 α -亚麻酸的氧化速度,提高其稳定性,而且可以提高植物甾醇的脂溶性,拓宽植物甾醇的应用范围。目前,国内外关于使用植物甾醇酯构建负载功能因子的脂质体的研究尚处于初步探索阶段。Hou 等^[17]以大豆磷脂为原料,采用薄膜—超声法制备了植物甾醇丁酸酯脂质体,发现植物甾醇丁酸酯可以提高脂质体的贮藏稳定性、增加疏水烷基链的有序度及提高脂质体膜的热稳定性等。

研究拟以植物甾醇和 α -亚麻酸为原料制备植物甾醇 α -亚麻酸酯,采用薄膜—超声法,以大豆磷脂为主要膜材,构建虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体,研究其包封率、粒径大小及分布、zeta 电位与微观形貌等理化性质,考察虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的潜在优势,为植物甾醇酯应用于脂质体的构建提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

α -亚麻酸游离酸:纯度 80%,河南利诺生化有限责任公司;

植物甾醇:纯度 95%,宜春大海龟生命科学有限公司;

硅胶:60~100 目,青岛海洋化工有限公司;

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;

无水乙醇、正己烷、乙醚、石油醚:分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司;

三氯甲烷:分析纯,洛阳市化学试剂厂;

乙酸:分析纯,西陇科学股份有限公司;

硫酸氢钠:分析纯,郑州派尼化学试剂厂;

吐温 80:化学纯,天津市鼎盛鑫化工有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电子分析天平:AUY120 型,岛津国际贸易(上海)有限公司;

超导核磁共振仪:Bruker Avance 400 MHz 型,瑞士布鲁克公司;

气相色谱仪:GC-2010 型,岛津企业管理(中国)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;

超声乳化分散器:JY92-IIN 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

旋转蒸发器:RE-52AA 型,上海亚荣生化仪器厂;

紫外可见分光光度计:T6 新世纪型,北京普析通用仪器有限责任公司;

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

1.2 方法

1.2.1 植物甾醇 α -亚麻酸酯的合成 参照张品^{[18]26-27}的方法并稍作修改:称取 30 g 质量比为 1:2 的植物甾醇和 α -亚麻酸于 250 mL 的三口烧瓶中,油浴加热至样品溶解,加入 2%的硫酸氢钠,130 ℃恒温反应 8 h 后,冷却至室温,进行水洗和醇洗,以除去催化剂和未反应的 α -亚麻酸。

1.2.2 植物甾醇 α -亚麻酸酯的硅胶柱层析分离 采用硅胶柱层析法,湿法装柱。洗脱剂为正己烷—乙醚—乙酸混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{乙醚}}:V_{\text{乙酸}}=90:10:1$),填料高度为 35 cm,洗脱速度为 1.5 mL/min,每根试管的接收体积为 10 mL。

1.2.3 植物甾醇 α -亚麻酸酯的薄层色谱分析 薄层硅胶板在使用前置于烘箱中 110 ℃活化 1 h。将样品用正己烷稀释后,使用毛细管在薄层硅胶板上均匀点样。在层析缸中加入配制好的洗脱剂,放入点样后的薄层硅胶板,约 20 min 后取出,置于碘缸中显色。

1.2.4 植物甾醇 α -亚麻酸酯的气相色谱测定 色谱柱为 DB-5 色谱柱;进样量 1.0 μL ;载气(N_2)流速 50 mL/min;进样温度 300 ℃;检测器温度 350 ℃;柱压 68 950 Pa;分流比 50:1;空气流量 400 mL/min;氢气流量 40 mL/min;升温程序 200 ℃保持 1 min,30 ℃/min 升至 300 ℃,保持 15 min。

1.2.5 植物甾醇标准曲线 参照陈茂彬^[19]的方法,以角鲨烷为内标物,分别得到植物甾醇中各组分的标准曲线方程见表 1。

1.2.6 植物甾醇 α -亚麻酸酯纯度测定 先对样品进行皂化处理:称取 0.150 0~0.200 0 g 纯化后的植物甾醇 α -亚麻酸酯和 0.030 0 g 内标物角鲨烷于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 2 g 氢氧化钠和 30 mL 无水乙醇,置于磁力搅拌器中,79 ℃冷凝回流 3 h,用超纯水水洗并用正己烷萃取直至下层水相呈中性。取上层有机相清液进行气相色谱测定,根据标准曲线计算得出植物甾醇 α -亚麻酸酯的纯度。

表 1 植物甾醇的标准曲线方程[†]

Table 1 Standard curve equation of phytosterol

甾醇组分	标准曲线方程	R^2
菜籽甾醇	$y=0.758\ 8x+0.039\ 7$	0.999\ 6
菜油甾醇	$y=0.992\ 2x+0.097\ 7$	0.999\ 2
豆甾醇	$y=1.686\ 9x+0.015\ 8$	0.999\ 4
β -谷甾醇	$y=1.179\ 8x+0.277\ 5$	0.999\ 3

[†] y 为植物甾醇中某甾醇的峰面积与内标物峰面积之比;
 x 为植物甾醇中某甾醇与内标物的质量之比。

1.2.7 植物甾醇 α -亚麻酸酯红外光谱分析 运用傅立叶变换红外光谱仪对植物甾醇和纯化后的植物甾醇 α -亚麻酸酯产品进行分析。采用全反射光谱测定法,扫描范围为 $4\ 000\sim 400\ \text{cm}^{-1}$,仪器分辨率 $4\ \text{cm}^{-1}$,扫描次数 16 次。

1.2.8 植物甾醇 α -亚麻酸酯核磁共振分析 取少量纯化后的植物甾醇 α -亚麻酸酯,溶解于氘代氯仿(CDCl_3)中,利用核磁共振仪分析植物甾醇 α -亚麻酸酯的核磁共振 ^1H 谱和 ^{13}C 谱。

1.2.9 虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的构建

采用薄膜—超声法构建虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体,参照 Pan 等^[20]的方法并稍作修改:称取 200.0 mg 大豆磷脂、20.0 mg 植物甾醇 α -亚麻酸酯和 4.0 mg 虾青素溶解于三氯甲烷中,避光旋蒸($50\ ^\circ\text{C}$ 、 $60\ \text{r/min}$)除去三氯甲烷,加入含有 Tween-80 的磷酸盐缓冲溶液($\text{pH}\ 7.4$)洗膜 15 min,形成脂质体混悬液后迅速冷却,进行冰水浴超声($180\ \text{W}$,5 s 开,5 s 关),超声 4 min 后即得虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体。

1.2.10 虾青素标准曲线 参照 Pan 等^[20]的方法,采用分光光度计法绘制标准曲线,得标准曲线方程为: $y=0.140\ 3x-0.000\ 9(R^2=0.999\ 9)$ 。

1.2.11 包封率的测定 参照 Pan 等^[21]的方法,按式(1)计算包封率。

$$E_E=[(M_0-M_1)/M_0]\times 100\%,\quad (1)$$

式中:

E_E ——脂质体对虾青素的包封率,%;

M_0 ——脂质体中虾青素的总质量,mg;

M_1 ——脂质体中游离虾青素的质量,mg。

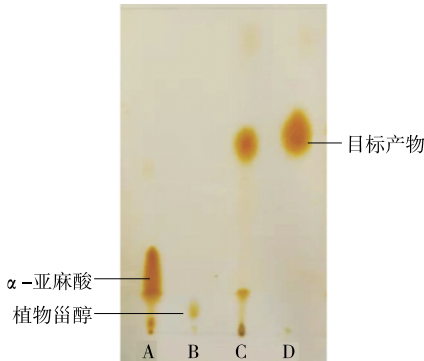
1.2.12 粒径大小及分布、zeta 电位的测定 采用马尔文激光纳米粒度仪测定虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的粒径大小及分布、zeta 电位。测定时将脂质体样品稀释 200 倍,测定温度为 $25\ ^\circ\text{C}$ 。

1.2.13 透射电子显微镜观察 参照 Pan 等^[21]的方法运用透射电子显微镜观察虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的微观形貌。

2 结果与分析

2.1 产物分离纯化

薄层色谱法主要是根据混合物中各组分的极性间的差异,从而使极性不同的物质能够分离。以正己烷—乙醚—乙酸混合液($V_{\text{正己烷}}:V_{\text{乙醚}}:V_{\text{乙酸}}=90:10:1$)作为展开剂对反应底物和反应产物进行薄层层析分离,结果如图 1 所示。植物甾醇与 α -亚麻酸进行反应后有新物质生成,新物质的扩散速度比植物甾醇和 α -亚麻酸快,说明新物质的极性小,因此初步判定新物质为植物甾醇 α -亚麻酸酯^[22]。从图 1 可以看出,经过数次醇洗已洗去大量未反应的 α -亚麻酸,得到的粗产品中只含有少量 α -亚麻酸及一些因酯化反应高温而产生的杂质。植物甾醇的斑点颜色较浅,这是由于植物甾醇的溶解度低。经过柱层析分离纯化后得到的目标产物基本不含其他杂质,且斑点颜色较深,说明经过柱层析纯化后大大提高了植物甾醇 α -亚麻酸酯的纯度。



A. α -亚麻酸 B. 植物甾醇 C. 粗产品 D. 植物甾醇 α -亚麻酸酯纯化产品

图 1 反应液薄层色谱图

Figure 1 Thin layer chromatography of sample

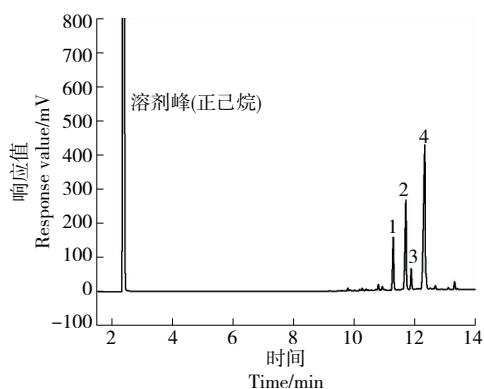
2.2 样品纯度分析

植物甾醇气相色谱图如图 2 所示。植物甾醇各组分的结构相似、性质相近,区别主要是侧链结构不同。菜籽甾醇极性相对较强,最先出峰; β -谷甾醇极性最弱,最后出峰;豆甾醇和菜油甾醇的极性接近,因此出峰时间也较为接近^{[18]34-35}。通过查阅文献^[23],确定图 2 中峰号 1~4 分别为菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇。图 3 为皂化后植物甾醇 α -亚麻酸酯纯化产品(含角鲨烷)的气相色谱图,峰号 5~9 分别为角鲨烷、菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇。将各甾醇与角鲨烷的峰面积比分别代入标准曲线,计算得出植物甾醇 α -亚麻酸酯的纯度为 $(90.72\pm 2.09)\%$ 。

2.3 植物甾醇 α -亚麻酸酯的红外光谱分析

红外光谱可以用于鉴定植物甾醇及其酯衍生物的结构。图 4 中的曲线 a,在 $1\ 055\ \text{cm}^{-1}$ 和 $3\ 427\ \text{cm}^{-1}$ 处

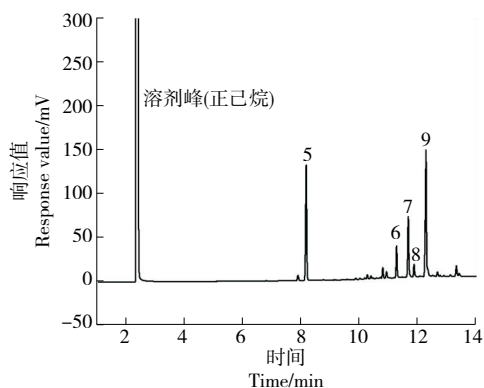
分别是植物甾醇的 C—O 键的伸缩振动吸收峰和—OH 键伸缩振动吸收峰^[24]¹⁰⁶⁻¹¹⁴; $2\,865\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\,934\text{ cm}^{-1}$ 分别是—CH₂和—CH₃的碳氢伸缩振动吸收峰, $1\,375\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,461\text{ cm}^{-1}$ 处分别是—CH₃和—CH₂的碳氢弯曲振动



1. 菜籽甾醇 2. 菜油甾醇 3. 豆甾醇 4. β -谷甾醇

图 2 植物甾醇气相色谱图

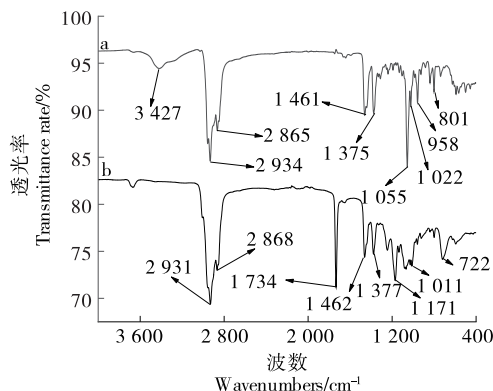
Figure 2 Gas chromatogram of phytosterol



5. 角鲨烷 6. 菜籽甾醇 7. 菜油甾醇 8. 豆甾醇 9. β -谷甾醇

图 3 皂化后植物甾醇 α -亚麻酸酯气相色谱图

Figure 3 Gas chromatogram of saponified phytosterol α -linolenate acid ester



a. 植物甾醇 b. 植物甾醇 α -亚麻酸酯

图 4 植物甾醇和植物甾醇 α -亚麻酸酯的红外光谱

Figure 4 Infrared spectra of phytosterol and phytosterol α -linolenate acid ester

吸收峰^[25]。在图 4 中观察到植物甾醇 α -亚麻酸酯的红外光谱中不存在—OH 键的伸缩振动吸收峰, 表明纯化后的产品不含醇或者有机酸; 同时, 图 4 中的曲线 b 在 $1\,734\text{ cm}^{-1}$ 处出现了强烈的酯羰基(C=O)的特征吸收峰, $1\,171\text{ cm}^{-1}$ 处存在 C—O—C 的强吸收峰, 说明有酯键生成^[26]。以上结果表明纯化后的产品是植物甾醇 α -亚麻酸酯。

2.4 植物甾醇 α -亚麻酸酯的核磁共振波谱分析

图 5 为植物甾醇 α -亚麻酸酯的 ¹H 谱图。在 $\delta = 0.5 \times 10^{-6} \sim 2.5 \times 10^{-6}$ 范围内存在许多重叠的亚甲基氢吸收信号, 低于 1.0×10^{-6} 的信号峰主要是由于甲基基团的共振引起^[27]。查阅文献^[18]³⁷⁻³⁸^[24]³⁻²⁰ 得知 $\delta = 7.26 \times 10^{-6}$ 处是 CDCl₃ 的溶剂峰位置, 观察图 5 植物甾醇 α -亚麻酸酯 ¹H 谱图可知, 样品中含有烯氢 ($\delta = 4.5 \times 10^{-6} \sim 6.5 \times 10^{-6}$), 不含羧基氢 ($\delta = 9.0 \times 10^{-6} \sim 12.0 \times 10^{-6}$)、醛基氢 ($\delta = 9.5 \times 10^{-6} \sim 10.0 \times 10^{-6}$) 及烯醇氢 ($\delta = 11.5 \times 10^{-6} \sim 13.5 \times 10^{-6}$), 说明样品中不含羧基。

图 6 为植物甾醇 α -亚麻酸酯的 ¹³C 谱图。查阅文献^[24]³⁵⁻⁴² 得知, 酯碳 δ 为 $165 \times 10^{-6} \sim 175 \times 10^{-6}$, 不饱和碳 δ 为 $100 \times 10^{-6} \sim 155 \times 10^{-6}$, 饱和碳 $\delta < 55 \times 10^{-6}$, CDCl₃ $\delta = 77.019 \times 10^{-6}$ 。由图 6 可知, 样品中含有酯碳 ($\delta = 173.283 \times 10^{-6}$), 次甲基与氧结合 ($\delta = 73.669 \times 10^{-6}$), 表明植物甾醇和 α -亚麻酸反应后生成了酯并且酯化位点在植物甾醇六元环上的一个羟基上。综合以上分析, 产物为植物甾醇 α -亚麻酸酯。

2.5 虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的包封率

虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的包封率为 $(95.00 \pm 0.66)\%$, 表明虾青素可以有效地包埋到脂质体中, 这可能是因为植物甾醇 α -亚麻酸酯的掺入扩大了脂质体囊泡的内部空间, 并且与磷脂双分子层相互作用, 使脂质体膜结构更稳定, 因此制得的脂质体包封率较高^[28-29]。

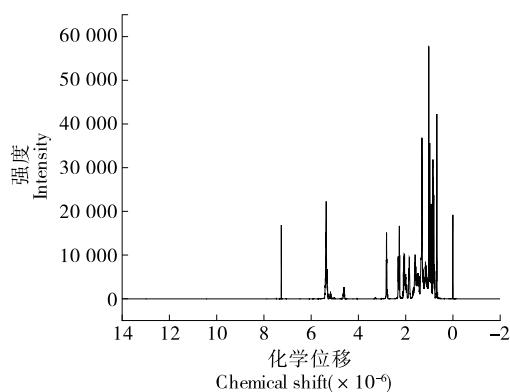
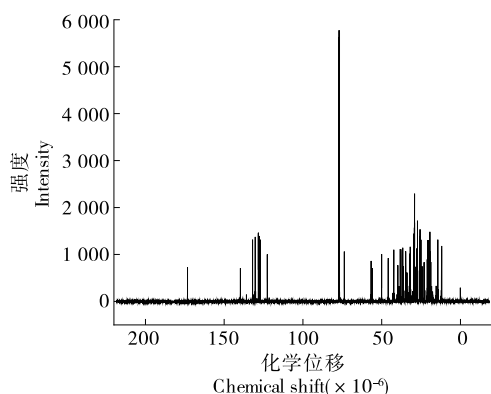


图 5 植物甾醇 α -亚麻酸酯的 ¹H 谱

Figure 5 ¹H spectrum of phytosterol α -linolenate acid ester

图6 植物甾醇 α -亚麻酸酯的 ^{13}C 谱Figure 6 ^{13}C spectrum of phytosterol α -linolenate acid ester

2.6 虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的粒径大小及分布

根据粒径大小可将脂质体分为普通脂质体(1~1 000 nm)和纳米脂质体(1~200 nm),纳米脂质体具有细胞穿透性、靶向作用等优点^[30],可以提高芯材稳定性,控制释放,提高生物利用度。测得复合脂质体的平均粒径为 (158.70 ± 9.70) nm,粒径较小,为纳米脂质体。沈雪^[31]制备的虾青素乳状液粒径较大,为194~287 nm,可能是采用的制备方法不同导致的。

多相分散系数(PDI)可以用来表征脂质体的粒径分布均匀性,较小的PDI值表示脂质体样品分布更加均匀^[32]。当PDI值大于0.5时,表明脂质体囊泡分布不均匀,体系中可能存在较大的囊泡^[33]。粒径大的脂质体囊泡范德华吸引力强,更容易发生聚集和融合,因此体系不稳定^[34]。测得复合脂质体PDI值为 0.35 ± 0.02 ,表明制得的虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体囊泡分布较为均匀。复合脂质体的粒径分布图(图7)为单峰形态且呈正态分布,表明该复合脂质体分布均匀、分散性好。

2.7 虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的 zeta 电位

zeta 电位的绝对值越高,表明脂质体体系越稳定。这

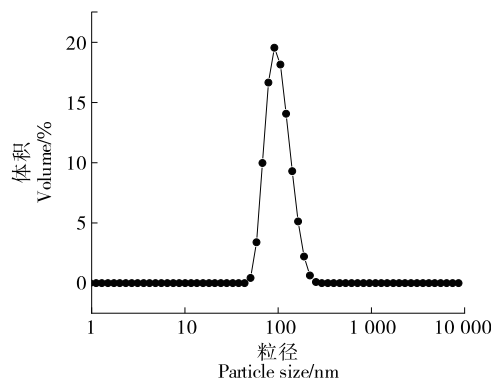


图7 复合脂质体粒径分布图

Figure 7 Size distribution of complex liposomes

是因为当电位绝对值较大时,脂质体的表面电荷高,粒子之间的静电斥力大,因此体系更加稳定,不易发生聚集或融合。一般认为当zeta电位的绝对值大于30 mV时体系是稳定的^[35]。测得复合脂质体的平均zeta电位为 (-33.87 ± 2.48) mV,表明制得的复合脂质体具有稳定性,脂质体囊泡之间的静电斥力可以有效避免聚集、融合。

2.8 虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的透射电子显微镜观察

如图8所示,虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体粒径大小约为160 nm,脂质体囊泡呈球形,分散均匀,形状规则,与马尔文激光纳米粒度仪的测定结果一致。

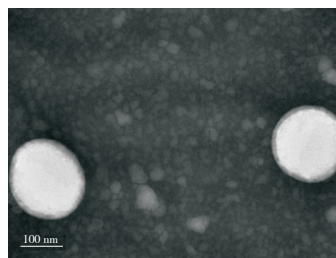


图8 复合脂质体的透射电子显微镜图

Figure 8 Transmission electron microscope image of complex liposomes

3 结论

以植物甾醇和 α -亚麻酸为原料制备植物甾醇 α -亚麻酸酯,通过柱层析法和薄层层析法进行分离纯化,获得了纯度较高的产物,红外光谱法和核磁共振法证实产物为植物甾醇 α -亚麻酸酯。采用薄膜—超声法构建虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体,测得该复合脂质体的包封率较高 $[(95.00 \pm 0.66)\%]$,马尔文激光纳米粒度仪测定结果显示复合脂质体粒径较小并且分布较为均匀。透射电子显微镜观察显示虾青素—植物甾醇 α -亚麻酸酯复合脂质体的微观形貌呈近似球形,形状规则且分散性好,与马尔文激光纳米粒度仪测定结果一致。研究表明植物甾醇 α -亚麻酸酯可用于构建脂质体,这为植物甾醇酯应用于负载脂溶性功能因子的脂质体中的构建提供了理论指导。植物甾醇 α -亚麻酸酯保留了甾醇的刚性环状结构和烃链分支,掺入脂质体中还可能会引起脂质体稳定性和释放特性等性能的改变,因此,后续应进一步开展相关研究。

参考文献

- [1] PENG Y J, LU J W, LIU F C, et al. Astaxanthin attenuates joint inflammation induced by monosodium urate crystals[J]. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American

- Societies for Experimental Biology, 2020, 34(8): 11 215-11 226.
- [2] PEREIRA C P M, SOUZA A C R, VASCONCELOS A R, et al. Antioxidant and anti-inflammatory mechanisms of action of astaxanthin in cardiovascular diseases (Review) [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2021, 47(1): 37-48.
- [3] DAVINELLI S, NIELSEN M E, SCAPAGNINI G. Astaxanthin in skin health, repair, and disease: A comprehensive review [J]. Nutrients, 2018, 10(4): 1-12.
- [4] 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]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(3): 1-12.
- [5] AJEESHKUMAR K K, ANEESH P A, RAJU N, et al. Advancements in liposome technology: Preparation techniques and applications in food, functional foods, and bioactive delivery: A review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(2): 1 280-1 306.
- [6] LIMA S G M, FREIRE M C L C, OLIVEIRA V D S, et al. Astaxanthin delivery systems for skin application: A Review [J]. Marine Drugs, 2021, 19(9): 1-17.
- [7] NAKHAEI P, MARGIANA R, BOKOV D O, et al. Liposomes: Structure, biomedical applications, and stability parameters with emphasis on cholesterol [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021, 9: 1-23.
- [8] SINGH N, KUSHWASA P, AHMAD U, et al. Proliposomes: An approach for the development of stable liposome [J]. Ars Pharmaceutica (Internet), 2020, 60(4): 231-240.
- [9] LEE D U, PARK H W, LEE S C. Comparing the stability of retinol in liposomes with cholesterol, β -sitosterol, and stigmasterol [J]. Food Science and Biotechnology, 2021, 30(3): 389-394.
- [10] 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]. Nanomaterials (Basel, Switzerland), 2020, 10(12): 1-25.
- [11] 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]. Pharmaceutics, 2021, 13(2): 1-17.
- [12] 贾硕, 张帆, 周寰, 等. 食源性甾醇类化合物生物活性及应 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(8): 310-316.
- JIA S, ZHANG F, ZHOU H, et al. Biological activity and application of food-derived sterol components [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(8): 310-316.
- [13] HE W S, LI L L, HUANG Q J, et al. Highly efficient synthesis of phytosterol linolenate in the presence of Bronsted acidic ionic liquid [J]. Food Chemistry, 2018, 263: 1-7.
- [14] HOU L F, SUN X Y, PAN L, et al. Studies on phytosterol acetate esters and phytosterols liposomes [J]. Food Science and Technology, 2021, 41(4): 1 062-1 068.
- [15] WANG X P, XIAO B, YANG G L, et al. Enzymatic preparation of phytosterol esters with fatty acids from high-oleic sunflower seed oil using response surface methodology [J]. RSC Advances, 2021, 11(25): 15 204-15 212.
- [16] 陆燕婷. 富含 α -亚麻酸的中长碳链结构甘油三酯合成及精制工艺研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2021: 3-4.
- LU Y T. Preparation and purification of medium-and-longchain triacylglycerols rich in α -linolenic acid [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021: 3-4.
- [17] HOU L F, SUN X Y, PAN L, et al. Effects of phytosterol butyrate ester on the characteristics of soybean phosphatidylcholine liposomes [J]. Journal of Oleo Science, 2021, 70(9): 1 295-1 306.
- [18] 张品. α -亚麻酸甾醇酯的合成及品质特性研究 [D]. 武汉: 中国农业科学院, 2009.
- ZHANG P. Research on synthesis and quality properties of phytosterol α -linolenate [D]. Wuhan: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Dissertation, 2009.
- [19] 陈茂彬. 植物甾醇酯的制备、生物活性及应用研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2005: 16-22.
- CHEN M B. Studies on preparation, bioactivities and application of phytosterols ester [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2005: 16-22.
- [20] PAN L, ZHANG S W, GU K R, et al. Preparation of astaxanthin-loaded liposomes: Characterization, storage stability and antioxidant activity [J]. Cyta Journal of Food, 2018, 16(1): 608-609.
- [21] PAN L, ZHANG X, FAN X Z, et al. Whey protein isolate coated liposomes as novel carrier systems for astaxanthin [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2020, 122(4): 2-3.
- [22] 林惠颖, 辛嘉英, 么婷婷, 等. 利用大豆油脱臭馏出物酶法合成植物甾醇酯 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 62-66.
- LIN H Y, XIN J Y, YAO T T, et al. Enzymatic synthesis of phytosterol ester from soybean oil deodorizer distilled [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(11): 62-66.
- [23] 杜杰, 刘春梅, 林春兰, 等. 气相色谱法测定食用油中的植物甾醇 [J]. 中国油脂, 2021, 46(9): 145-148.
- DU J, LIU C M, LIN C L, et al. Determination of phytosterols in edible oil by GC [J]. China Oils and Fats, 2021, 46(9): 145-148.
- [24] 宁永成. 有机波谱学谱图解析 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- NING Y C. Spectrum analysis of organic spectroscopy [M]. Beijing: Science Press, 2010.
- [25] LIU W, XIAO B, WANG X P, et al. Solvent-free synthesis of phytosterol linoleic acid esters at low temperature [J]. RSC Advances, 2021, 11(18): 10 738-10 746.
- [26] 黄瑶. 酶法合成聚甘油脂肪酸酯及其功能研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2017: 38-39.
- HUANG Y. Study on enzymatic synthesis of polyglycerol fatty acid ester and its function [D]. Nanchang: Nanchang University, 2017: 38-39.

(下转第 144 页)

- of the American Oil Chemists' Society, 2020, 97(9): 1 021-1 028.
- [9] ALAALVAR H, ERINC H, SALUR F, et al. Production of conjugated linoleic acid by microwave-assisted and ultrasound-assisted alkali isomerization: Effects of microwave power and ultrasound amplitude[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2019, 96(7): 839-846.
- [10] SILVA-RAMIREZ A S, ROCHA-URIBE A, GONZALEZ-CHAVEZ M M, et al. Synthesis of conjugated linoleic acid by microwave-assisted alkali isomerization using propylene glycol as solvent[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2017, 119(4): 1600079.
- [11] 李静, 王永, 杨耀东, 等. 棕榈油与常见食用油脂脂肪酸组分的比较分析[J]. 南方农业学报, 2016, 47(12): 2 124-2 128.
- LI J, WANG Y, YANG Y D, et al. Comparison of fatty acid component between palm oil and common edible oils[J]. Journal of Southern Agriculture, 2016, 47(12): 2 124-2 128.
- [12] NIEZGODA N, GLISZCZYNSKA A, GLADKOWSKI W, et al. Production of concentrates of CLA obtained from sunflower and safflower and their application to the lipase-catalyzed acidolysis of egg yolk phosphatidylcholine [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2016, 118(10): 1 566-1 578.
- [13] 马燕, 许铭强, 李喜弟, 等. 响应面法优化辣椒籽油碱异构化制备共轭亚油酸工艺及其氧化稳定性[J]. 新疆农业科学, 2022, 59(4): 908-915.
- MA Y, XU M Q, LI X D, et al. Optimization of preparation of conjugated linoleic acid by alkali isomerization of pepper seed oil by response surface methodology and its oxidation stability [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2022, 59(4): 908-915.
- [14] 张鹤. 花生脂肪酸近红外模型的建立及高油酸种质的筛选[D]. 长春: 吉林农业大学, 2017: 22-23.
- ZHANG H. The establishment of near-infrared model of peanut fatty acids and the screening of high oleic acid germplasm[J]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017: 22-23.
- [15] 郑云武, 杨晓琴, 黄元波, 等. 橡胶籽油碱催化异构化合成共轭亚油酸的制备工艺研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(16): 253-258.
- ZHENG Y W, YANG X Q, HUANG Y B, et al. Study on preparation technology of conjugated linolenic acid of rubber seed oil by alkali catalytic isomerization[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(16): 253-258.
- [16] 彭永健, 许新德, 张莉华, 等. 红花籽油制备共轭亚油酸工艺优化及其组成分析[J]. 中国油脂, 2015, 40(6): 72-76.
- PENG Y J, XU X D, ZHANG L H, et al. Optimization of preparation of conjugated linoleic acid from safflower seed oil and its composition analysis[J]. China Oils and Fats, 2015, 40(6): 72-76.
- [17] 刘芸, 苏平, 宋思圆. 响应面法优化黄秋葵籽油中亚油酸的共轭转化率[J]. 食品工业科技, 2015, 36(24): 273-277.
- LIU Y, SU P, SONG S Y. Optimization of conjugate conversion rate of linoleic acid in okra seed oil by response surface method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(24): 273-277.
- [18] 张绍绍, 张慧, 李昊昊, 等. 葵花油碱异构化法制备共轭亚油酸研究[J]. 中国食品添加剂, 2019, 30(9): 100-105.
- ZHANG S S, ZHANG H, LI H H, et al. Study on preparation of conjugated linoleic acid by alkali isomerization of sunflower oil[J]. China Food Additives, 2019, 30(9): 100-105.
- (上接第 138 页)
- [27] CHANG M, ZHANG T, FENG W H, et al. Preparation of highly pure stigmasteryl oleate by enzymatic esterification of stigmasteryl enriched from soybean phytosterols[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 128: 1-9.
- [28] MARITIM S, BOULAS P, LIN Y Q. Comprehensive analysis of liposome formulation parameters and their influence on encapsulation, stability and drug release in glibenclamide liposomes[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2021, 592: 1-13.
- [29] 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.
- HOU L F, ZONG S Y, ZHANG H C, et al. Effect of β -sitosterol acetate ester on the structural stability of lipid membrane[J]. Food & Machinery, 2019, 35(9): 20-25.
- [30] 郑景霞. β -胡萝卜素-薏苡仁油复合脂质体的制备及功能特性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018: 1-2.
- ZHENG J X. Preparation and functional properties of β -carotene-coix seed oil composite liposomes [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018: 1-2.
- [31] 沈雪. 乳清蛋白的超声改性及其包埋体系的应用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017: 71-72.
- SHEN X. Effects of ultrasound on functional properties of whey proteins and whey protein-based delivery system for functional ingredients[D]. Changchun: Jilin University, 2017: 71-72.
- [32] LUO M, ZHANG R F, LIU L, et al. Preparation, stability and antioxidant capacity of nano liposomes loaded with procyanidins from lychee pericarp[J]. Journal of Food Engineering, 2020, 284: 1-10.
- [33] TAMJIDI F, SHAHEDI M, VARSHOSAZ J, et al. Design and characterization of astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2014, 26: 366-374.
- [34] 彭盛峰. pH 驱动法制备姜黄素食品运载体及其生物利用率[D]. 南昌: 南昌大学, 2019: 28-29.
- PENG S F. The preparation and bioavailability of curcumin loaded food delivery system by pH-driven method [D]. Nanchang: Nanchang University, 2019: 28-29.
- [35] ZHAO L S, TEMELLI F, CURITS 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.