

功能性脂质纳米分散体研究进展

钟金锋, 覃小丽

(西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

摘要: 功能性脂质(类胡萝卜素、植物甾醇、脂溶性维生素、n-3多不饱和脂肪酸等)具有丰富营养价值和多种生理功能,但其自身存在水溶性差,食品基质中功能性脂质在消化系统中溶解度低、肠胃吸收率低和生物利用度低等缺点,限制了其在食品和医药领域的广泛应用。改善功能性脂质的水溶性、贮存稳定性及提高其生物利用度,已成为普遍关注和急需解决的问题。利用纳米技术制备功能性脂质纳米分散体有望增加功能性脂质的溶解度和生物利用度,从而扩大功能性脂质在食品等行业的应用范围。本文在国内外文文献分析的基础上,综述了功能性脂质纳米分散体制备所需材料和制备方法,并分析了纳米分散体系中功能性脂质理化稳定性的影响因素和初步阐述了功能性脂质纳米分散体的生物利用度和安全性。最后,对目前功能性脂质纳米分散体研究中的科学问题和重点进行了总结和展望。

关键词: 功能性脂质纳米分散体; 制备方法; 稳定性; 吸收

文章编号: 1673-9078(2014)12-294-301

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.12.049

Progress in Functional Lipid Nanodispersion Research

ZHONG Jin-feng, QIN Xiao-li

(College of Food Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Functional lipids such as carotenoids, phytosterols, lipid-soluble vitamins, and n-3 polyunsaturated fatty acids, have high nutritional value and important physiological functions. However, the use of functional lipids in the food and pharmaceutical industries is restricted due to its low solubility resulting in poor absorption in the gastrointestinal tract and low bioavailability in the digestive system from food containing functional lipids. Therefore, improving water solubility, stability during storage, and bioavailability of functional lipids is an immediate requirement. Functional lipid nanodispersions, prepared by using nanotechnology have the potential to improve the solubility and bioavailability of functional lipids, thus expanding the use of functional lipids in the food industry. Based on previous reports on functional lipid nanodispersions in literature, the authors present a review of the requirements and preparation methods for functional lipid nanodispersions. Additionally, the factors affecting the physicochemical stability of functional lipids in the nanodispersion system as well as the bioavailability and food safety of functional lipid nanodispersions are discussed. Finally, the scientific issues and areas of current research on functional lipid nanodispersions are summarized and the prospect of future research is discussed.

Key words: functional lipid nanodispersions; preparation method; stability; uptake

功能性脂质主要包括植物甾醇、类胡萝卜素、脂溶性维生素、n-3多不饱和脂肪酸、结构脂等,由于其具有丰富营养价值和多种生理功能而受到国内外研究者的广泛关注。例如:存在于高等植物中的植物甾醇具有降低胆固醇功效,有助于降低血浆中低密度脂蛋白胆固醇浓度^[1~2];番茄红素是一种重要的类胡萝卜

收稿日期: 2014-05-13

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(SWU112042, SWU113036, XDJK2013B034, XDJK2014B019); 中国博士后科学基金(2013M531927); 重庆市基础与前沿研究计划(cstc2013jcyjA80024)

作者简介: 钟金锋(1984-), 男, 博士, 讲师, 主要从事食品营养化学、碳水化合物改性及其过程的优化控制研究

通讯作者: 覃小丽(1984-), 女, 博士, 讲师, 主要从事油脂化学方面的研究

素,具有防癌、提高免疫力、保护心血管等作用^[3]。随着科学技术的发展和人们健康意识的不断增强,现代人们对摄食食品的营养要求也越来越高,因此,将功能性脂质作为功能因子添加到乳制品、饮料等新型复合型食品将具有广阔的应用前景。然而,功能性脂质自身存在水溶性差,食品基质中功能性脂质在消化系统中溶解度低、肠胃吸收率低和生物利用度低等缺点^[4],这在消化系统功能弱以及部分肠胃功能障碍特殊人群中表现尤为明显。此外,部分具有高度不饱和的功能性脂质,比如类胡萝卜素^[5]、多不饱和脂肪酸^[6]等物质的化学性质不稳定,在普通存放条件下,容易发生异构化及氧化降解,其降解产物(醛、酮类化合物等)可能对人体健康产生不利影响。因此,改善功能性脂质的水溶性、贮存稳定性和吸收率,已成为相

相关产品在食品和医药领域中推广急需解决的问题。

纳米技术是在纳米尺度上对材料进行组装、控制和操纵的一项新技术,在医药、材料科学上取得了丰富的研究成果并逐渐应用于食品行业,促进了食品工艺革新以及提高人体对食品营养成分的吸收率。借助纳米技术,研究者研究并开发了多种具有特殊功能的保健食品,如纳米钙、纳米硒等矿物质制剂^[7]。纳米分散体可以有效改善功能性脂质的水溶性及稳定性以提高其生物利用度,从而扩大功能性脂质在食品等行业的应用范围。运用纳米技术制备功能性脂质纳米分散体已成为近年来现代医学学科和食品功能化学学科共同关注的焦点^[8]。但是迄今为止,国内尚没有关于功能性脂质纳米分散体方面的文献总结。因此,本文对功能性脂质纳米分散体的制备所需材料、制备方法、理化稳定性的影响因素、生物利用度和安全性方面研究进展进行综述,以期为我国功能性脂质的深度研发与应用提供一定的借鉴意义。

1 功能性脂质纳米分散体简介

功能性脂质纳米分散体是指首先将功能性脂质溶于有机溶剂中,接着将该混合体系充分分散于水溶液中并形成纳米级的胶体体系(分散质粒径一般在200 nm以下)。制备功能性脂质纳米分散体的材料通常需要有有机溶剂、功能性脂质、水、表面活性剂和能量等。与纳米乳液制备不同的是:纳米分散体制备过程中功能性脂质分散于水溶液之前需将其先溶解于有机溶剂(非油脂)中,而纳米乳液制备过程中通常是先将功能性脂质溶解于油脂(图1)。在分散体体系中,功能性脂质呈现纳米级粒径形态,主要以晶体或无定形态存在^[9](图1)。

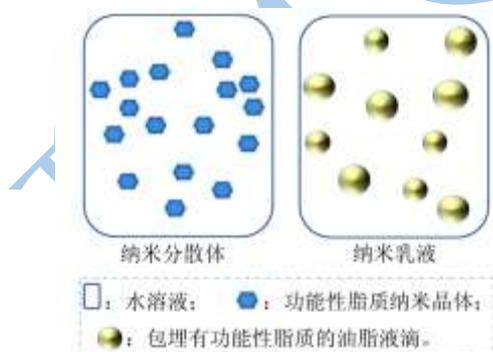


图1 纳米分散体和纳米乳液示意图

Fig.1 Schematic view of nanodispersion and nanoemulsion

2 制备功能性脂质纳米分散体的材料

2.1 功能性脂质

功能性脂质广泛存在于生物界中。由于脂质的水溶性差,其在食品工业中的应用范围受到了一定限制。利用纳米技术可以使脂质以极小的液滴形式分散在水溶液中,形成均匀的混合物(胶体),有利于该类脂质进一步应用。目前,用于制备纳米分散体的功能性脂质主要有 β -胡萝卜素^[4],类胡萝卜素(虾青素^[10]、番茄红素^[11]),植物甾醇^[12],维生素^[13]。

2.2 有机溶剂

脂类化合物需较好地溶解并分散在有机溶剂中,这对制备纳米分散体至关重要。如果脂质在有机溶剂中的溶解度呈现过饱和状态,那么其以针状的晶体悬浮在有机相中,而这些晶体的存在导致制得的脂质纳米分散体的平均粒径显著增加^[14]。同一脂质在不同有机溶剂中的溶解度有所不同。一般地,有机溶剂的类型(亲水性溶剂、亲脂性溶剂和双亲性溶剂)均可用于制备功能性纳米分散体。一般情况下,以乳化-蒸发法、乳化-分散法和溶剂-置换法分别制备功能性脂质纳米分散体时,则分别选择亲脂性溶剂(如正己烷)、双亲性溶剂和亲水性溶剂(如异丙醇,乙醇,丙酮)作为有机相溶解功能性脂质。Anarjan等^[15]考察了二氯甲烷(与水不互溶)和丙酮(完全与水互溶)及两者的混合物(与水部分互溶)分别为有机相形成虾青素分散体粒径大小、粒径分散指数和细胞吸收量等指标的影响,结果表明,二氯甲烷和丙酮的比例为38:62(m/m)时,虾青素纳米分散体具有较小的平均粒径(106 nm)和较低分散性指数(0.191),较高的细胞吸收量(2981 fmol/cell)。

2.3 乳化剂

乳化剂是一种具有亲油基和亲水基的表面活性剂,其在食品工业中的应用非常广泛。乳化剂分子吸附在体系中油-水界面上,能够防止乳液中分散液滴的聚集。乳化剂的种类和结构直接影响功能性脂质纳米分散体的物理化学性质,如粒子的平均直径、粒径尺寸分布特点。目前,常用于制备功能性脂质纳米分散体的乳化剂有:蛋白质(酪蛋白酸钠、乳清蛋白、乳清分离蛋白、乳清蛋白水解物^[16])、蔗糖脂肪酸酯^[12]、聚甘油酯、聚山梨酯(聚山梨酯20、聚山梨酯60、聚山梨酯80)、阿拉伯胶^[17]及多种乳化剂的复配物^[17]。一般情况下,以亲水亲油平衡值(HLB值)越大的乳化剂或亲水性较高的乳化剂制得的O/W型脂质纳米分散体的平均粒径越小。Tan等^[18]分别以不同聚合度聚甘油酯(聚甘油单月桂酸酯ML310、ML500、ML750,聚甘油单油酸酯MO310、MO500、MO750)

为乳化剂制备 β -胡萝卜素纳米分散体, 结果表明随着聚甘油酯的聚合度增大, 相应的 HLB 值也增大, 分散质的平均粒径越小以及 β -胡萝卜素的稳定性越好; 相同聚合度的聚甘油酯中脂肪酸残基碳链数对分散质平均粒径也有显著影响, 即以聚甘油单月桂酸酯制得的 β -胡萝卜素纳米分散体平均直径小于以聚甘油单油酸酯制得的 β -胡萝卜素纳米分散体平均直径。

酪蛋白酸钠是一种常用的优良乳化剂, 与其他蛋白(如乳清蛋白浓缩物、乳清蛋白、乳清蛋白水解物)相比, 以酪蛋白酸钠制得的 β -胡萝卜素纳米分散体的粒子尺寸主要呈现单峰形式分布特点^[19], 是制备纳米分散体理想的乳化剂。另一项研究^[20]表明, 以分子量较大的酪蛋白酸钠为乳化剂制得的 β -胡萝卜素纳米分散体粒径大于较小分子量的乳化剂(如聚山梨酯 20、蔗糖脂肪酸酯)制得的纳米分散体的粒径, 虽然前一种纳米分散体的粒径最大, 但其在 4 °C 贮存 8 周的物理性质(平均粒径大小)没有发生显著变化; 而且, 以酪蛋白酸钠为乳化剂制得的 β -胡萝卜素纳米分散体具有较高的抗氧化稳定性, 可能原因是以酪蛋白酸钠为乳化剂制得的分散体粒径较大、表面积较小, 因此该分散质与水相接触面小, 使得 β -胡萝卜素被氧化程度也较小^[4], 另外一个原因是由于酪蛋白酸钠本身含有抗氧化肽, 因而对 β -胡萝卜素有一定保护作用。

3 功能性脂质纳米分散体的制备方法

纳米技术的持续革新发展为改善亲脂性的生物活性化合物的水溶性和提高其生物利用度提供了切实可行的技术方案。在食品学科和制药学科相关的研究过程中, 已有多种制备方法成功地将具有生物活性的亲脂性化合物分散于水溶液以形成均匀混合物。一般来说, 功能性脂质纳米分散体的制备过程可分为两步: 首先是粗分散体的制备: 将功能性脂质溶解于一定有机溶剂中, 按照工艺将适量功能性脂质、有机溶剂、表面活性剂及缓冲液混合, 在常规搅拌条件下制得一定粒径分布的粗分散体; 接着是纳米分散体的制备: 即利用高压均质机、超声波发生器、动态超高压微射流均质机等设备对粗分散体进行特定条件下的均质处理, 随后经旋转蒸发仪减压蒸发除去其中的有机溶剂, 即可制得功能性纳米分散体。

根据有助于功能性脂质溶解的有机溶剂性质, 可将功能性脂质纳米分散体的制备方法分为亲油性溶剂法、亲水性溶剂法和双亲性溶剂法^[21]。在此基础上, 结合脂质纳米粒子形成特点又将其分别分为乳化-蒸发法, 乳化-扩散法和溶剂-置换法。

3.1 乳化-蒸发法

乳化-蒸发法(emulsification-evaporation method)是制备功能性脂质纳米分散体常用方法之一。该方法是先将脂类化合物充分溶解于亲脂性有机溶剂中, 然后在剧烈搅拌状态下将该混合体系分散到相同温度的含有表面活性剂的水相中得到粗分散体, 接着利用机械设备均质器(如, 高压均质机、超声波发生器)对此粗分散体进行均质处理后得到高度分散的多相均匀体系, 最后将此体系通过减压蒸发去除有机溶剂得到功能性脂质纳米分散体(图 2)^[21]。乳滴中脂质晶体主要在减压蒸发去除有机溶剂过程中形成, 即每个乳滴中的有机溶剂去除后形成一个脂质粒子, 所以可通过调节均质条件控制乳滴大小来控制功能性脂质纳米分散体的粒径分布范围。

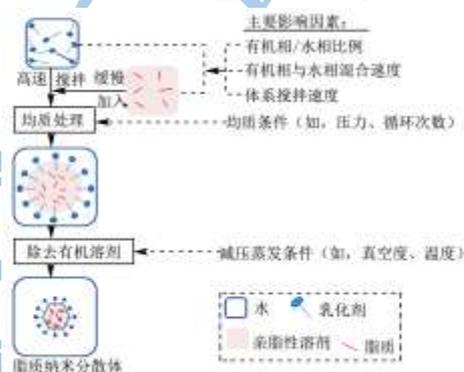


图 2 乳化-蒸发法制备功能性纳米分散体（制备示意图及影响因素）

Fig.2 Preparation of functional lipid nanodispersions by emulsification-evaporation method (schematic procedure and operating variables)

纳米分散体制备工艺参数, 如有机相与水相混合条件(高速搅拌速度、时间)、均质设备类型及条件(压力、循环次数等), 是影响功能性脂质纳米分散体粒径大小及其分布范围的主要因素。高速搅拌主要是为了形成宽范围尺寸分布的大液滴, 是后续高压均质的重要预处理步骤; 没有形成粗乳液而直接单独使用高压均质是不能有效地产生理想的小粒径和低分散性指数的功能性脂质纳米分散体。Leong 等^[23]考察了含植物甾醇(0.5%, *mV*)的正己烷溶液体系在高速搅拌器搅拌下缓慢加入到含聚山梨酯 20(0.2%, *mV*)的水相(连续相)中得到植物甾醇粗分散体, 然后将此粗分散体通过高压均质, 响应面设计优化结果表明增加搅拌速度和均质压力能显著降低分散体粒径, 而多分散性指数随着搅拌速度、搅拌时间和均质压力增加而增大, 可能原因是较高能量的输入提供乳滴碰撞聚结

的速度大于其破碎的速度。同时, 高速搅拌时间和均质压力的交互作用对粒径多分散性指数有显著影响。粒径多分散性指数与奥氏熟化现象的出现有着直接关系, 多分散性指数越大, 功能性脂质纳米分散体随着放置时间的延长而出现乳滴粒径增大的现象。除了上述工艺因素外, 配方因素(如, 乳化剂类型与浓度、脂质浓度、有机相与水相比例)也影响功能性脂质纳米分散体粒径大小。Chu等^[19]优化乳化剂类型与浓度(0.05~5.0wt%)、 β -胡萝卜素浓度(0.05~0.3wt%)、有机相与水相比例(1:9、2:8、3:7, *m/m*)、微射流均质压力(20、60、100、140、160, MPa)及循环次数(1~3次)对 β -胡萝卜素纳米分散体粒径的影响, 结果表明以含酪蛋白酸钠(1 wt%)和叠氮化钠(0.02wt%)的磷酸盐缓冲液(0.05 M, pH7.0)为水相(连续相), 含 β -胡萝卜素(0.1 wt%)的正己烷为有机相, 有机相与水相按质量比例为1:9在高速搅拌器(5000 r/min, 5 min)混合, 随后通过微射流均质(140 MPa, 1次循环), 最后通过减压蒸发去除正己烷, 得到平均粒径小于20 nm的分散体。虽然该优化工艺得到较小粒径的纳米分散体, 但是, 在一定粒径范围内, 该小粒径纳米分散体的理化性质是否优于较大粒径纳米分散体的理化性质仍需要进一步研究。此外, 有研究发现, 在体外的人类上皮细胞(HEp-2 cells)培养中, 小于70 nm的粒子能进入细胞核^[24], 其是否与细胞内的蛋白质等生物大分子相互作用, 进一步干扰人体正常生命机能呢? 因此, 在优化功能性脂质纳米分散体工艺时, 还应综合后续细胞毒性和安全性评价等方面来确定纳米分散体粒径的可接受范围和最佳工艺。

3.2 溶剂-置换法

溶剂-置换法(solvent-displacement method)是制备纳米分散体较为简单的方法, 是将脂类化合物溶解在亲水性溶剂中, 然后逐滴加入到连续相(水和表面活性剂), 在温和搅拌条件下亲水性溶剂和水相发生相向扩散, 自发形成类乳胶分散体(图3)^[22]。亲水性溶剂在水相中快速扩散, 使得高度过饱和的脂质在有机相和水相的界面沉积, 水相中乳化剂则稳定纳米颗粒和阻止其聚集^[22], 有机溶剂通过减压法去除。该方法只限于与水互溶的有机溶剂, 通过输入低能量获得一定粒径尺寸分布的脂质纳米分散体。其中, 丙酮和乙醇是常用的亲水性溶剂。Chu等^[16]将丙酮(含0.015 wt% β -胡萝卜素)在搅拌下逐滴加入到水相(含1 wt%酪蛋白酸钠、0.02 wt%叠氮化钠的0.05 M磷酸缓冲溶液)中, 有机相与水相的体积比为1:9, 通过减压蒸

发去除丙酮, β -胡萝卜素纳米分散体的平均粒径为171 nm。Leong等^[25]采用溶剂-置换法与高压均质手段结合制备植物甾醇纳米分散体, 经响应面法优化高压均质参数及旋转蒸发溶剂温度后植物甾醇分散体的最小粒径为328 nm。该作者^[26]进一步比较溶剂-置换法(以正己烷溶解植物甾醇, 浓度5 g/L)和乳化-蒸发法(以乙醇、丙酮或异丙醇溶解植物甾醇, 浓度5 g/L), 同时结合高压均质考察这两种方法制得的植物甾醇纳米分散体粒径大小的影响, 结果表明以溶剂-置换法制得的植物甾醇纳米分散体的平均粒径(220~282 nm)均大于乳化-蒸发法(50~154 nm)。

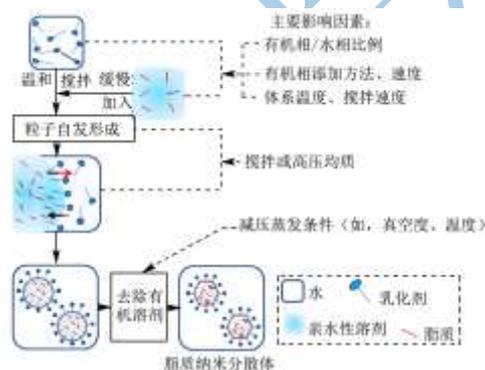


图3 溶剂-置换法制备功能性纳米分散体(制备示意图及影响因素)

Fig.3 Preparation of functional lipid nanodispersions by solvent-displacement method (schematic procedure and operating variables)

3.3 乳化-分散法

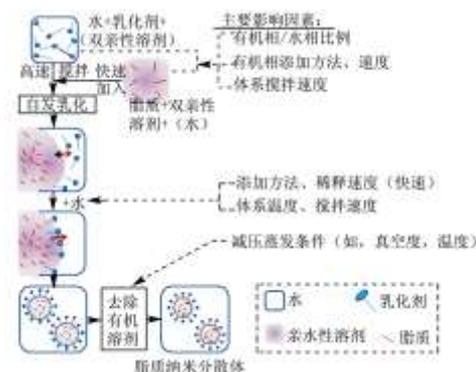


图4 乳化-分散法制备功能性纳米分散体(制备示意图及影响因素)

Fig.4 Preparation of functional lipid nanodispersions by emulsification-diffusion method (schematic procedure and operating variables)

乳化-分散法(emulsification-diffusion method)是以双亲性溶剂或其与适量水混合作为脂质的分散剂(有机相), 在高速搅拌状态下将有机相快速加入水相(含有乳化剂或乳化剂+双亲性溶剂混合液)中, 自

发形成乳液,然后在温和搅拌下迅速加入适量水以破坏体系平衡,使溶剂在水相中快速扩散,在这个传质过程中脂质晶核生成并由于连续的非溶剂相的存在使脂质纳米分散体形成,溶剂通过减压蒸馏去除(图4)^[22]。与溶剂-置换法一样,脂质分散体粒径尺寸分布可以通过控制溶质过饱和水平以及乳化剂类型与浓度实现。在医药领域,乳化-分散法是制备纳米粒子较为常用的方法,需要指出的是,目前用于制备功能性脂质纳米分散体并应用于食品领域的还鲜见报道。与上述两种方法相比,乳化-分散法较为复杂,即含脂质的有机相与含乳化剂水相混合形成乳液后,还需加入第三相(一般为水)促进双亲性溶剂的快速扩散以获得纳米分散体,纳米颗粒尺寸受这两个阶段的混合相关参数(混合比例、混合方式、体系搅拌速度与温度等)的影响。此外,用于溶解脂质的溶剂是非常规有机溶剂且属于食品级溶剂选择性较少。

4 纳米分散体稳定性的影响因素

4.1 影响物理性质的因素

在贮存过程中,功能性脂质纳米分散体的理化性质主要取决于分散质本身的理化性质、热处理和应用食品体系的成分,如金属离子、蛋白质、糖类、pH值。对于纳米分散体,粒径大小是其主要的物理性质。纳米粒子因受到界面力而存在聚集的倾向,同时因纳米粒子之间存在电荷相互作用而相互排斥。因此,纳米粒子的排斥主要依赖于体系pH值。一般地,食品体系的pH值偏离乳化剂的等电点越远,绝对电位越大,其中的功能性脂质纳米分散体粒径越小^[27]。

离子对功能性纳米分散体物理性质的影响主要取决于离子的浓度和价位。研究表明^[28],以酪蛋白酸钠为乳化剂制得的 β -胡萝卜素纳米分散体,当NaCl在较低浓度(<100 mmol/L)时,该纳米分散体的平均粒径基本保持不变,而纳米粒子的粒径随着 Ca^{2+} 浓度的增大而显著增大。另一研究表明^[27],以聚山梨酯20:酪蛋白酸钠:阿拉伯树胶=29%:65%:6%为混合乳化剂,当NaCl浓度小于200 mmol/L时,纳米分散体平均粒径无显著变化,但其随着 Ca^{2+} 浓度的增大而显著增大。可见, Ca^{2+} 浓度对纳米分散体粒径大小的稳定性影响较大,主要原因是酪蛋白酸钠属于钙敏感型蛋白,在 Ca^{2+} 存在的情况下,纳米分散体很容易发生絮凝,粒子之间的静电排斥力降低导致颗粒变大。

含纳米分散体的食品在制备和消费过程中,其可能经历热处理,如消毒、巴氏杀菌和蒸煮。热处理会对纳米分散体粒径尺寸产生负面影响。以酪蛋白酸钠

为乳化剂制备的 β -胡萝卜素和虾青素纳米分散体,在热处理 60 $^{\circ}C$ 以上时,分散体的平均粒径显著增大,可能原因是较高的温度诱导酪蛋白酸钠构象变化,导致酪蛋白酸钠分子的非极性基团暴露于周围非水相,并通过疏水作用增加液滴表面的疏水性和促进分散体聚集^[27-28]。Anarjan等^[27]分别以酪蛋白酸钠和混合乳化剂(29%聚山梨醇酯20,65%酪蛋白酸钠,6%阿拉伯树胶)制得虾青素纳米分散体,后者制得的分散体具有更好的热稳定性,可能原因是聚山梨醇酯乳化剂分子的非极性基团在较高的温度下没有被暴露于非水相中。可见,用其他小分子乳化剂部分替代蛋白质型乳化剂可增加纳米分散体的热处理稳定性。

4.2 影响化学性质的因素

食品工业中多种乳化剂制得的脂质纳米分散体往往具有不同粒径分布与特性,乳化剂种类对纳米粒子的化学稳定性有一定影响。殷丽君等^[29]分别以酪蛋白酸钠、吐温20、月桂酸十甘油酯和蔗糖脂肪酸酯为乳化剂制得 β -胡萝卜素纳米分散体,粒径分别为206、30、41和32 nm,贮存84 d后所有样品的粒径均没有发生明显变化,而 β -胡萝卜素的保留率分别为63%、44%、52%和57%,分别以酪蛋白酸钠和蔗糖脂肪酸酯作为乳化剂时 β -胡萝卜素较为稳定,主要原因是界面上蛋白有一定的抗氧化作用,并且纳米粒子粒径较大,与外界环境接触面积小。另外,蔗糖脂肪酸酯上的官能团也可能为 β -胡萝卜素提供一定的保护作用,但相关机理还需要进一步研究。

贮藏温度、空气、光照也是影响功能性脂质纳米分散体的化学稳定性的因素。功能性脂质中高度不饱和的结构使得其极易被氧化、光/热降解。通过研究功能性脂质纳米颗粒在贮藏条件(温度、光线、气压)下的降解速率常数,为保持功能性脂质纳米分散体的化学稳定性提供最适的保存条件。由氧化引起的功能性脂质损失是控制产品质量所面临一个重要问题。研究表明,往分散体中注入氮气,同时将空气排出可显著降低其氧化速度^[30],然而,在实际生产和贮存过程中将产品中的空气完全排出在操作上存在一定困难,而且一旦产品向大气开放,又容易重新被氧化。除了往纳米分散体中添加抗氧化剂外,改变其氧化条件(如降低温度、避光)是一种减少功能性脂质损失的有效方法。研究显示虾青素纳米分散体分别在 10 $^{\circ}C$ 和 5 $^{\circ}C$ 下常压存放2周后虾青素的损失率为14.3%和10.9%,显著低于虾青素纳米分散体在 25 $^{\circ}C$ 氮气保护存放3周的损失率(48.5%),这说明了降低温度能显著降低氧化反应,提高虾青素纳米分散体的贮藏稳定性;另

外, 虾青素纳米分散体在避光贮藏条件下虾青素降解的速率常数 ($k=0.622/\text{周}$) 显著低于光照条件 (紫外线: $k=8.165/\text{周}$, 日光灯: $k=4.906/\text{周}$)^[30]。

功能性脂质纳米粒的化学稳定性还易受食品应用体系环境的影响。Anarjan 和 Tan^[10]将虾青素纳米分散体分别加入到 3 种食品模型体系 (脱脂牛奶、橙汁和去离子水) 中, 考察了其在这 3 种食品体系 (初始浓度为 10 mg/L) 在 5 °C 下存放 4 周的化学稳定性, 结果表明, 虾青素在选定的食品体系中的降解速率快慢为: 脱脂牛奶<橙汁<去离子水, 第 4 周时, 虾青素在脱脂牛奶中的浓度仍能保留在 8.5% 左右, 主要原因是牛奶中的酪蛋白、乳铁蛋白在乳液和分散体中起到抗氧化剂的作用。橙汁中低 pH 值和维生素 C 对虾青素化学稳定性保持也有一定贡献。同时, 体外细胞吸收实验表明, 当虾青素应用在含有蛋白或膳食脂肪的乳制品中时具有更好的生物利用度。这提示我们, 需要进一步研究来考察和量化不同的食品成分对功能性脂质纳米分散体的理化稳定性和生物利用度的影响。纳米技术生产的食品在人体内的传统代谢途径可能会发生变化, 因此还应考虑到其安全问题。

5 功能性脂质纳米分散体的生物利用度和安全性

目前, 纳米粒的生物利用度的研究主要集中在药学方面, 而关于食品级纳米分散体的生物利用度的研究还很少。对于亲脂性生物活性成分的吸收和转运, 在体内进行消化时首先需要从食物基质中释放并被乳化形成乳滴, 乳滴在脂肪分解酶和胆汁的作用下进一步被消化, 亲脂性生物活性成分最终被增溶在混合型的胶体微粒中, 接着这种胶体微粒才容易被肠道的上皮细胞吸收并以微乳糜微粒形成分泌到淋巴系统^[31]。功能性脂质纳米分散体的一个重要优势是其具有较大的比表面积, 其与周围介质的接触面积越大, 越有助于功能性脂质的溶出与吸收, 进而提高功能性脂质的生物利用度^[4]。然而, 对于普通食品基质, 其中的功能性脂质的溶出过程往往是吸收过程的限速过程。对于亲脂性生物活性成分在人体内的吸收转运及其生物利用度, 直接利用人体组织和动物模型进行研究容易受到试验设计和设备投入成本高等因素的限制, 而采用体外细胞模型进行研究相对简单和成本低, 其形态和功能与小肠上皮细胞相似, 在细胞水平上提供亲脂性生物活性分子通过小肠粘膜的吸收、转运等信息, 有利于评价亲脂性生物活性成分的相对生物利用度及其影响因素。Anarjan 等^[15]以人结肠癌细胞 (HT-29)

为体外细胞模型, 结果显示虾青素在 HT-29 细胞的吸收量与虾青素纳米分散体的平均粒径大小成反比, 与多分散性指数成正比。Yi 等^[32]以人结肠腺癌细胞 (Caco-2) 为细胞模型, β -胡萝卜素纳米分散体 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 在 Caco-2 细胞的吸收量是相同浓度普通尺度的 β -胡萝卜素 (溶解在 THF/DMSO 溶剂) 的 1.7 倍; 然而, 噻唑蓝 (MTT) 实验结果显示纳米化 β -胡萝卜素的浓度高于 1 mg/mL 时, 纳米化 β -胡萝卜素对 Caco-2 细胞有一定的细胞毒作用, 而溶解在 THF/DMSO 溶剂中相同浓度的 β -胡萝卜素显示无细胞毒作用, 但由 β -胡萝卜素纳米分散体造成的细胞毒性的作用机制有待进一步研究。这提示我们, 尽管大多数食品原料已证实为安全或已确定其安全剂量, 但是该类食品原料经纳米化处理获得纳米尺度食品的安全性还有待进一步探索。越来越多的实验证据表明纳米粒子可以穿过细胞屏障, 引起氧自由基含量上升, 对细胞造成伤害, 影响机体正常功能的发挥^[33]。关于纳米技术在食品工业中的安全性相关研究已有报道^[34~35], 在此就不赘述。功能性脂质纳米分散体在增溶、吸收等方面增大的同时还应考虑由纳米粒子穿透性强可能带来的三致 (致畸、致癌、致突变) 和慢性毒性问题, 这将是今后研究功能性纳米分散体安全性评价的关注点之一。

6 展望

功能性脂质具有多种生理功能, 开发功能性脂质相关的功能食品倍受关注, 显示出巨大的市场潜力。但由于功能性脂质存在不易溶于水, 贮存稳定性差, 不易被吸收等缺点, 因此, 在一定程度上限制了其进一步应用研究。纳米技术的出现为扩大基于功能性脂质的功能食品发展提供了一个新的技术平台。纳米技术可以使食品介质中难溶的功能性脂质从普通尺度 (如微米水平) 缩小至更小的纳米级水平, 稳定分散于多种食品介质中, 通过细胞模型初步研究表明功能性脂质纳米分散体能被细胞较好的吸收。目前, 功能性脂质纳米分散体的研究主要集中在纳米分散体的制备与理化表征, 利用人类细胞 (Caco-2 和 HT-29) 体外培养系统初步探讨纳米分散体对细胞毒性作用和细胞中分散质的吸收量等研究。我国对功能性脂质纳米分散体研究还处于起步阶段, 有些问题仍需要进一步研究。第一, 在制备纳米分散体过程中, 乳化剂是如何影响功能性脂质纳米粒子的形成? 第二, 在食品介质中如何提高功能性脂质的负载效率, 理化稳定性? 第三, 纳米食品进入人体消化道时, 纳米分散体是否受破坏? 若受破坏, 是否影响机体对其的吸收? 第四, 由于纳米粒子的穿透性强, 纳米化食品在人体内的代

谢途径较传统食品可能会发生变化^[33]。此外,功能性脂质纳米分散体及相关应用产品的营养学和毒性学评价也需进一步研究。纳米食品的安全性研究是长久和持续的过程,随着科技不断发展,有理由相信功能性纳米分散体相关产品的功能特性和理化稳定性以及生产中的关键技术在今后的研究将进一步被突破,这需要多学科的研究力量综合采用不同的研究方式,不断完善并开发出丰富多样的功能性纳米脂质分散体,为应用到多种食品体系奠定前期基础,并为潜在市场需求做好前期技术储备。

参考文献

- [1] Expert panel on detection e. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) [J]. The Journal of the American Medical Association, 2001, 285(19): 2486-2497
- [2] Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary fourth joint task force of the european society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts) [J]. European Heart Journal, 2007, 28(19): 2375-2414
- [3] Friedman M. Anticarcinogenic, cardioprotective, and other health benefits of tomato compounds lycopene, alpha-tomatine, and tomatidine in pure form and in fresh and processed tomatoes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(40): 9534-9550
- [4] Tan C P, Nakajima M. B-carotene nanodispersions: preparation, characterization and stability evaluation [J]. Food Chemistry, 2005, 92(4): 661-671
- [5] López-Rubio A, Lagaron J M. Improved incorporation and stabilisation of β -carotene in hydrocolloids using glycerol [J]. Food Chemistry, 2011, 125(3): 997-1004
- [6] Bozan B, Temelli F. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6354-6359
- [7] 刘鹏鹏,关荣发,戴贤君,等.纳米微量元素在食品中的应用现状及前景[J].食品研究与开发,2009,30(11):142-144
LIU Peng-peng, GUAN Rong-fa, DAI Xian-jun, et al. Application status and prospect of nano-trace elements in food [J]. Food Research and Development, 2009, 30(11): 142-144
- [8] Donsì F, Sessa M, Ferrari G. Nanometric-size delivery systems for bioactive compounds for the nutraceutical and food industries In: Bio-nanotechnology: a revolution in food, biomedical and health sciences [M]. Oxford: John Wiley & Sons, 2012
- [9] Yu H, Huang Q. Bioavailability and delivery of nutraceuticals and functional foods using nanotechnology In: Bio-nanotechnology: a revolution in food, biomedical and health sciences [M]. New Brunswick: John Wiley & Sons, 2013
- [10] Anarjan N, Tan C P. Chemical stability of astaxanthin nanodispersions in orange juice and skimmed milk as model food systems [J]. Food Chemistry, 2013, 139(1): 527-531
- [11] 王璇,王晓岚.番茄红素纳米分散体体外清除活性氧自由基研究[J].食品工业科技,2009,10:152-153
WANG Xuan, WANG Xiao-lan. Scavenging effects of lycopene nanodispersion on reactive oxygen species in vitro [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 10: 152-153
- [12] Leong W F, Che Man Y B, Lai O M, et al. Effect of sucrose fatty acid esters on the particle characteristics and flow properties of phytosterol nanodispersions [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(1): 63-69
- [13] CHEONG J N, TAN C P, MAN Y B C, et al. α -Tocopherol nanodispersions: preparation, characterization and stability evaluation [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 89(2): 204-209
- [14] Engel R, Schubert H. Formulation of phytosterols in emulsions for increased dose response in functional foods [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2005, 6(2): 233-237
- [15] Anarjan N, Tan C P, Ling T C, et al. Effect of organic-phase solvents on physicochemical properties and cellular uptake of astaxanthin nanodispersions [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(16): 8733-8741
- [16] Chu B S, Ichikawa S, Kanafusa S, et al. Preparation and characterization of β -carotene nanodispersions prepared by solvent displacement technique [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(16): 6754-6760
- [17] Anarjan N, Tan C P. Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(1): 437-447
- [18] Tan C P, Nakajima M. Effect of polyglycerol esters of fatty acids on physicochemical properties and stability of

- β -carotene nanodispersions prepared by emulsification/evaporation method [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005, 85(1): 121-126
- [19] Chu B S, Ichikawa S, Kanafusa S, et al. Preparation of protein-stabilized β -carotene nanodispersions by emulsification-evaporation method [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2007, 84(11): 1053-1062
- [20] Yin L J, Chu B S, Kobayashi I, et al. Performance of selected emulsifiers and their combinations in the preparation of β -carotene nanodispersions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(6): 1617-1622
- [21] 王盼, 酃金龙, 刘欢, 等. 食品功能性脂质纳米粒的制备[J]. *中国食物与营养*, 2010, 8:34-37
- WANG Pan, LI Jin-long, LIU Huan, et al. Research progress on the preparation of food functional lipid nanoparticle [J]. *Food and Nutrition in China*, 2010, 8: 34-37
- [22] Horn D R J. Organic nanoparticles in the aqueous phase: theory, experiment, and use [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2001, 40(23): 4330-4361
- [23] Leong W F, Cheong K W, Lai O M, et al. Response surface modeling of processing parameters for the preparation of phytosterol nanodispersions using an emulsification-evaporation technique [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2010, 88(5): 717-725
- [24] Chen M, Von Mikecz A. Formation of nucleoplasmic protein aggregates impairs nuclear function in response to SiO₂ nanoparticles [J]. *Experimental Cell Research*, 2005, 305(1): 51-62
- [25] Leong W F, Che Man Y B, Lai O M, et al. Optimization of processing parameters for the preparation of phytosterol microemulsions by the solvent displacement method [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(18): 8426-8433
- [26] Leong W F, Lai O M, Long K, et al. Preparation and characterisation of water-soluble phytosterol nanodispersions [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(1): 77-83
- [27] Anarjan N, Jafarizadeh Malmiri H, Ling T C, et al. Effects of pH, ions, and thermal treatments on physical stability of astaxanthin nanodispersions [J]. *International Journal of Food Properties*, 2014, 17(4): 937-947
- [28] Chu B S, Ichikawa S, Kanafusa S, et al. Stability of protein-stabilised β -carotene nanodispersions against heating, salts and pH [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2008, 88(10): 1764-1769
- [29] 殷丽君, 韩清华, 刘海杰, 等. 溶剂替换法制备 β -胡萝卜素纳米粒子与稳定性[J]. *农业机械学报*, 2009, 40(4): 112-116
- YIN Li-jun, HAN Qing-hua, LIU Hai-jie, et al. Preparation of β -carotene nanodispersions by solvent displacement technique and their stability [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2009, 40(4): 112-116
- [30] Anarjan N, Tan C P. Effects of storage temperature, atmosphere and light on chemical stability of astaxanthin nanodispersions [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2013, 90(8): 1223-1227
- [31] Failla M L, Chitchumronchokchai C. In vitro models as tools for screening the relative bioavailabilities of provitamin A carotenoids in foods [M]. Washington: International Food Policy Research Institute, 2005
- [32] Yi J, Lam T I, Yokoyama W, et al. Cellular uptake of beta-carotene from protein stabilized solid lipid nanoparticles prepared by homogenization-evaporation method [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(5): 1096-1104
- [33] Chaudhry Q, Scotter M, Blackburn J, et al. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2008, 25(3): 241-258
- [34] Hoet P H, Bruske-Hohlfeld I, Salata O V. Nanoparticles-known and unknown health risks [J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2004, 2(1): 12
- [35] 李佳洁, 李江华. 纳米保健食品安全性及研究动向[J]. *食品科学*, 2011, 32(17): 366-370
- LI Jia-jie, LI Jiang-hua. Safety and prospects of nanotechnology in functional foods [J]. *Food Science*, 2011, 32(17): 366-370