

海藻酸钠-壳聚糖表面修饰 维生素 C/ β -胡萝卜素复合脂质体的制备

刘欣¹, 罗志刚¹, 李小林²

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 广州海莎生物科技有限公司, 广东广州 510530)

摘要: 为了增强脂质体的稳定性, 本研究将壳聚糖、海藻酸钠逐层修饰在维生素 C (Vc)/ β 胡萝卜素 (β C) 复合脂质体 (L) 的表面, 制备出了壳聚糖单层修饰脂质体 (C-L) 和海藻酸钠-壳聚糖双层修饰脂质体 (S-C-L), 并对三种脂质体的包埋率、粒度分布、微观形态、形成机理和贮藏稳定性进行了研究。结果表明, 表面修饰前后, 脂质体中活性成分的包埋率无显著变化, 其中 Vc 的包埋率高于 75%, β C 的包埋率高于 95%; 动态光散射 (DLS) 和透射电子显微镜 (TEM) 结果表明, 经表面修饰后, 脂质体的 z-平均粒径从 250.1 nm 增大到 541.9 nm; Zeta-电位和傅里叶红外光谱 (FT-IR) 分析表明壳聚糖和海藻酸钠通过静电相互作用成功修饰在脂质体表面, 不改变脂质体的内部结构; 贮藏稳定性结果表明, C-L 和 S-C-L 中 Vc 和 β C 的保留率在同一条件下要比 L 中 Vc 和 β C 的保留率约高 2%~10%, 说明脂质体经表面修饰后, 其贮藏稳定性增强。

关键词: 脂质体; 壳聚糖; 海藻酸钠; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2020)11-163-169

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.11.0060

Preparation of Vitamin C/ β -Carotene Composite Liposomes with Their Surfaces Modified by Sodium Alginate-Chitosan

LIU Xin¹, LUO Zhi-gang¹, LI Xiao-lin²

(1. School of Food Science and Technology, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangzhou Hisoya Biological Science & Technology Company, Guangzhou 510530, China)

Abstract: In order to enhance the stability of liposomes, the surface of Vitamin C (Vc)/ β -carotene (β C) composite liposomes (L) were modified by chitosan and sodium alginate with layer-by-layer technique, to prepare monolayered chitosan liposomes (C-L) and bilayered sodium alginate-chitosan liposomes (S-C-L). The encapsulation efficiency, particle size distribution, microscopic morphology, formation mechanism and storage stability of the liposomes were studied. The results showed that there was no significant change in the encapsulation efficiency of the active components in the liposomes before and after a liposomal surface modification, with the encapsulation efficiency of Vc and β C higher than 75% and 95%, respectively. The results obtained dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM) showed that after surface modification, the z-average particle size of liposomes increased from 250.1 nm to 541.9 nm. The Zeta-potential measurements and FT-IR analysis showed that chitosan and sodium alginate could successfully modify the surface of liposomes *via* electrostatic interactions, without changing the internal structure of the liposomes. The results of storage stability tests showed that the retention rates of Vc and β C in C-L and S-C-L were about 2%~10% higher than that of L under the same conditions, indicating that the storage stability of liposomes was enhanced after surface modification.

Key words: liposomes; chitosan; sodium alginate; stability

引文格式:

刘欣, 罗志刚, 李小林. 海藻酸钠-壳聚糖表面修饰维生素 C/ β -胡萝卜素复合脂质体的制备[J]. 现代食品科技, 2020, 36(11): 163-169

LIU Xin, LUO Zhi-gang, LI Xiao-lin. Preparation of vitamin C/ β -carotene composite liposomes with their surfaces modified by sodium alginate-chitosan [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(11): 163-169

收稿日期: 2020-01-16

基金项目: 广东省国际合作项目 (2019A050510005; 2018A050506016); 广州市经济技术开发区国际合作项目 (2018GH21); 广州市科学研究项目 (201904010240); 中央高校基本科研业务费项目 (2018KZ08; 2019MS099)

作者简介: 刘欣 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 活性成分包埋; 通讯作者: 罗志刚 (1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养、活性成分包埋和靶向控释

维生素 C (Vitamin C, Vc) 是一种重要的水溶性抗氧化剂, 也是一种重要的营养物质, 可广泛应用于食品添加剂, 具有多种皮肤、药物和生物功能, 如减少黑色素, 消除自由基, 促进胶原蛋白生物合成, 提高机体免疫力, 并提供光保护^[1]。 β -胡萝卜素 (β -carotene, β C) 是一种脂溶性天然色素, 也是众所周知的活性成分, 具有抗氧化、抗癌、及降低心脏病、白内障、结直肠癌瘤的风险等生理功能^[2-4]。然而, β -胡萝卜素是高度不饱和的, 容易异构化、氧化和降解, 因此必须保护它们免受可能影响其结构完整性和功能的负面环境因素的影响。

脂质体是一种具有双分子层膜结构的闭合囊泡, 它通常由天然磷脂和胆固醇组成, 其结构与细胞膜结构相似, 具有高生物相容性、低毒、低免疫原性等特点。因此, 它在医药、化妆品、农业等领域具有重要的应用价值^[5]。然而, 随着研究的深入, 其易聚集、稳定性差、包载物质易泄露等缺点也渐渐地显露出来, 在脂质体表面修饰上蛋白、多糖等物质可以在磷脂与外界环境形成接触屏障, 从而增强脂质体的稳定性。

壳聚糖 (Chitosan, Ch) 是一种阳离子聚合物, 是自然界唯一的碱性多糖, 由 2-氨基-2-脱氧- β -D-葡萄糖与糖苷键组合而成^[6]。壳聚糖是一类非常丰富的天然高分子材料, 具有生物活性、生物相容性和生物可降解性等特性^[7]。目前, 在医药领域中, 壳聚糖表面修饰的脂质体已经用于药物和疫苗的靶向运输^[8,9]; 在食品领域中, 该脂质体亦可以用于包埋活性成分, 提高活性成分在食品基质中的水分散性及体内生物利用率^[10,11]。海藻酸钠 (Sodium Alginate, Sa) 主要来源于褐藻类和海藻类中的天然多糖^[12], 是由结构单元 β -(1,4)-D-甘露糖醛酸和 α -(1,4)-L-古罗糖醛酸无规则结合构成的线性嵌段聚合物^[13]。海藻酸钠可再生, 具有良好的增稠性、成膜性、生物相容性、安全性, 可以作为食品添加剂、缓释材料、农药的稳定剂^[14]等。

基于前期的研究基础, 以维生素 C 和 β -胡萝卜素为模型营养物质, 制备出复合脂质体 L-Vc- β C (L), 并以此为初脂质体, 制备出壳聚糖单层修饰脂质体 C-L 和海藻酸钠-壳聚糖双层修饰脂质体 S-C-L, 研究它们的活性成分包埋率、粒度分布、微观形态、形成机理和贮藏稳定性, 为表面修饰脂质体的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蛋黄卵磷脂 (纯度>95%), 北京索莱宝科技有限

公司; 维生素 C (纯度>95%), 北京索莱宝科技有限公司; β -胡萝卜素 (纯度>96%), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 胆固醇 (纯度>95%), 上海源叶生物科技有限公司; 壳聚糖 (中粘度), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 固蓝 B 盐 (纯度>95%), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FE-28 standard 精密 pH 计, 梅特勒-托利多仪器有限公司; FA1104 电子分析天平, 上海精密科学仪器有限公司; Hanon i5 紫外可见分光光度计, 济南海能仪器股份有限公司; KQ-250DB 超声清洗机, 昆山禾创超声仪器有限公司; DL-50 高速离心机, 上海安亭科学仪器厂; Zetasizer Nano ZS 马尔文动态光散射仪, 英国马尔文公司; JEM-1400 PLUS 透射电子显微镜, 日本电子株式会社; SHZ-DIII 循环水真空泵, 巩义市予华仪器有限责任公司; Vector-33 傅立叶变换红外光谱仪, 德国 Bruker 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 初脂质体 L 的制备

采用乙醇注入法制备 L-Vc- β C^[15]。将 60 mg 蛋黄卵磷脂、12 mg 胆固醇、12 mg 吐温-80 及 1.5 mg β -胡萝卜素溶于 15 mL 二氯甲烷-乙醇混合溶液 (1:2, V/V), 待充分溶解后, 在 35 °C 条件下边搅拌边将其缓慢注入 15 mL 溶有 2 mg 维生素 C 的磷酸盐缓冲液 (PBS, 0.01 M, pH 6.8) 中, 注入完成后继续恒温搅拌 20 min, 得粗脂质体。将粗脂质体在 40 °C 真空条件下旋转蒸发除去乙醇及二氯甲烷, 加 PBS 缓冲液定容至起始体积后, 冰浴超声 0.5 h (100 W), 过 0.45 μ m 滤膜, 得脂质体悬浮液, 密封后于 4 °C 避光储存。

1.3.2 单层修饰脂质体 C-L 的制备

(1) 壳聚糖溶液的配制^[16]: 用 PBS 缓冲液 (0.01 M, pH 6.8) 配制 1% 的乙酸溶液, 将 0.2 g 壳聚糖粉末溶于 100 mL 1% 的乙酸溶液, 室温下搅拌直至壳聚糖充分溶解, 置于 4 °C 保存待用。

(2) C-L 的制备^[17,18]: 将 1.3.1.1 中新鲜制备的 L 按照体积比 1:1 于室温下逐滴滴入壳聚糖溶液中, 边滴边搅拌, 滴入完成后继续搅拌 1 h, 制成 C-L, 密封后于 4 °C 避光储存。

1.3.3 双层修饰脂质体 S-C-L 的制备

(1) 海藻酸钠溶液的配制: 称 0.05 g 的海藻酸钠粉末溶于 100 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS, 0.01 M, pH 6.8), 室温下搅拌直至海藻酸钠充分溶解, 置于 4 °C 保存待用。

(2) S-C-L 的制备^[19,20]: 将 1.3.1.2 中新鲜制备的 C-L 按照体积比 1:1 于室温下逐滴滴入海藻酸钠溶液中, 边滴边搅拌, 滴入完成后继续搅拌 1 h, 制成 S-C-L, 密封后于 4 °C 避光储存。

1.4 维生素 C 包埋率的测定

维生素 C 包埋率的测定参考 Chen^[21]和 Yang^[22]等人的方法。通过透析将游离的维生素 C 从脂质体中分离出来, 将 1 mL 的脂质体悬浮液置于一个透析袋(截留分子量为 3500 u MW)中, 将透析袋放入 500 mL PBS (0.01 M, pH 6.8) 透析液中, 在轻微搅拌的条件下透析 4 h, 且每小时更换一次新鲜的透析液。然后, 用紫外可见分光光度法测量透析内液中维生素 C 的含量。简单地, 将 0.5 mL 的脂质体与 2.5 mL 的乙醇混合, 用超声将复合脂质体破乳。将混合溶液置于 10 mL 比色管中, 依次加入 0.3 mL 乙二胺四乙酸二钠溶液 (0.25 M)、0.5 mL 乙酸溶液 (0.5 M)、1.25 mL 固蓝 B 盐溶液 (2 g/L), 用去离子水稀释至 10 mL。20 min 后, 用紫外-可见分光光度计在 420 nm 处测定上述混合物的吸光度值。以同样的方法制作维生素 C 含量随浓度变化的标准曲线, 并依据标准曲线计算维生素 C 的含量。每个实验做三组平行, 维生素 C 的包埋率 (EE_{Vc}) 由下列计算:

$$EE_{Vc}(\%) = \frac{W_{en}}{W_{total}} \times 100\%$$

式中: W_{total} 和 W_{en} 分别为透析前后脂质体悬浮液中维生素 C 的含量。

1.5 β -胡萝卜素包埋率的测定

准确称取 0.5 mg β -胡萝卜素溶于 5 mL 正己烷, 配置成 0.1 mg/mL 的 β -胡萝卜素母液, 然后用正己烷分别稀释成一定浓度梯度的 β -胡萝卜素溶液, 以正己烷为空白对照, 于 450 nm 处测量吸光度, 绘制得到标准曲线。

β -胡萝卜素包埋率的测定参考 Bai^[23]等人的方法, 略有修改。简单来说, 收集适量样本添加到 4 mL 的正己烷中, 涡旋 1 min 后, 5000 r/min 离心 3 min, 取上层液, 以正己烷为空白对照, 在 450 nm 处测定其吸光度值 A_1 。将萃取后的脂质体悬浮液与 3 mL 乙醇混合, 超声破乳 10 min 后, 加入 4 mL 正己烷, 5000 r/min 离心 3 min, 取上层液, 以正己烷为空白对照, 在 450 nm 处测定其吸光度值 A_2 , 将 A_1 和 A_2 代入标准曲线分别计算游离 β -胡萝卜素的含量 (C_{free}) 和包埋 β -胡萝卜素的含量 (C_{loaded})。每个实验做三组平行, β -胡萝卜素的包埋率 ($EE_{\beta C}$) 使用以下方程计算:

$$EE_{\beta C}(\%) = \frac{C_{loaded}}{C_{loaded} + C_{free}} \times 100\%$$

1.6 粒度分布及 Zeta-电位的测定

取适量稀释的脂质体悬浮液装入特定的比色皿中, 使用 Zetasizer Nano ZS 型纳米粒度分析仪测定样品的粒度分布。Zeta-电位的测定步骤与上述方法类似, 采用电位测试专用样品池, 小心移取适量的脂质体悬浮液于样品池中, 避免产生气泡, 每个样品测试 3 次, 取平均值。

1.7 透射电子显微镜 (TEM) 表征

采用磷钨酸负染色法^[24]对制备的脂质体进行微观形貌测定前的样品处理。将适量样品滴到 TEM 样品载网上, 干燥 5 min, 用滤纸小心地吸去样品载网边缘多余的样品后, 滴加适量 1% 磷钨酸钠溶液染色 3 min, 用滤纸吸去多余的染色液, 等待样品自然晾干, 采用日本电子株式会社的 JEM-1400 PLUS 型透射电镜, 观察脂质体样品的形貌。

1.8 傅里叶红外光谱 (FT-IR) 表征

称取适量样品和干燥的溴化钾粉末, 在红外灯的照射下, 研磨混匀。将混合物粉末放入真空压机压片, 取出样品片放到样品架上, 用 Vector-33 傅立叶变换红外光谱仪扫描。具体参数设置如下, 光谱范围: 400~4000 cm^{-1} ; 分辨率: 4 cm^{-1} , 扫描 64 次^[25]。

1.9 贮藏稳定性研究

将新鲜制备的样品于 4 °C 和 25 °C 下避光保存 30 d, 以样品中维生素 C 的保留率或 β -胡萝卜素的保留率为指标, 测定样品的贮藏稳定性。按照 2.3.2 或 2.3.3 中的方法测定新鲜制备的样品中维生素 C 或 β -胡萝卜素的包埋量, 记为 W_1 ; 在贮藏的第 0、3、6、9、12、15 和 30 d 取样测量样品中维生素 C 或 β -胡萝卜素的包埋量, 记为 W_2 。维生素 C 或 β -胡萝卜素保留率 (RR) 按照下列公式计算^[2]:

$$RR(\%) = \frac{W_2}{W_1} \times 100\%$$

1.10 统计分析

所有实验进行三次, 数据以平均值 \pm 标准差 (SD) 表示。采用 SPSS 18.0 软件对结果进行统计学分析 ($p < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 L、C-L、S-C-L 的包封率

初脂质体 L、壳聚糖单层修饰脂质体 C-L、海藻酸钠-壳聚糖双层修饰脂质体 S-C-L 的包埋率如图 1 所示, 结果显示, L、C-L、S-C-L 中维生素 C 的包埋率分别为 77.90%、82.80%、82.23%, β -胡萝卜素的包埋率分别为 97.91%、96.55%和 96.34%, 修饰前后脂质体中维生素 C 和 β -胡萝卜素的包埋率无显著差异 ($p < 0.05$)。可见, 在本实验选取的浓度下, 壳聚糖及海藻酸钠溶液对脂质体进行修饰后, 对脂质体中活性成分的包埋无显著影响, 说明壳聚糖及海藻酸钠的修饰不影响脂质体的包埋效果。郑^[26]将果胶和壳聚糖修饰在脂质体表面, 得到相似的结论。

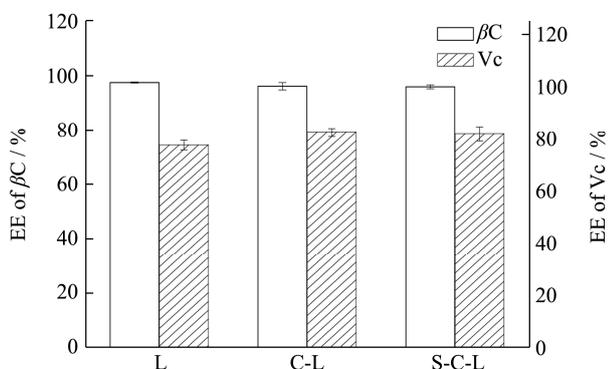


图 1 L、C-L、S-C-L 中 Vc 和 β C 的包封率

Fig.1 EE of Vc and β C of L, C-L, and S-C-L

注: L: 脂质体; C-L: 壳聚糖修饰的脂质体; S-C-L: 海藻酸钠修饰的 C-L。

2.2 L、C-L、S-C-L 的 Zeta-电位

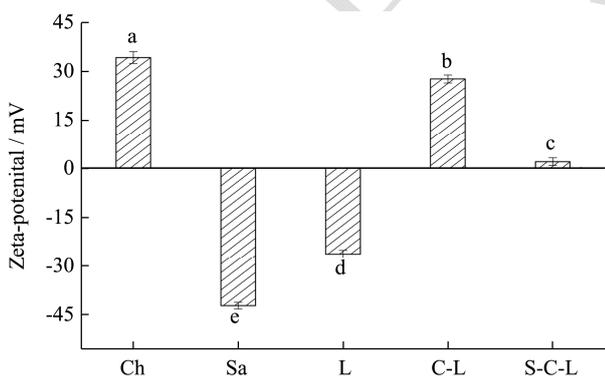


图 2 L、C-L、S-C-L 的 Zeta-电位

Fig.2 Zeta-potential of L, C-L, and S-C-L

L、C-L、S-C-L 的 Zeta-电位如图 2 所示, 结果显示, L、C-L、S-C-L 三种脂质体的 Zeta-电位分别为 -26.33 mV, 27.57 mV、1.93 mV。经壳聚糖单层修饰后, 脂质体的 Zeta-电位值由负到正, 说明壳聚糖成功修饰在 L 表面。相似的结果被 Li 等^[27]观察到, 他们指出与未包覆的脂质体相比, 低分子量壳聚糖包覆的

阴离子脂质体的表面负电荷更少。C-L 经海藻酸钠修饰后, Zeta-电位显著降低, 说明海藻酸钠与壳聚糖之间发生了静电相互作用, 成功修饰在 C-L 表面。

2.3 L、C-L、S-C-L 的粒度分布

L、C-L、S-C-L 的粒度分布如图 3 所示, 结果显示, L、C-L、S-C-L 三种脂质体的 z-平均粒径分别为 250.1 nm、436.4 nm、541.9 nm。其原因为: 单层修饰时, 壳聚糖上质子化的氨基通过静电作用与初脂质体上带负电的末端基团结合, 在 L 的表面形成第一层保护层^[26]; 双层修饰时, 海藻酸钠上带负电的羧基通过静电作用与壳聚糖上质子化的氨基结合形成聚电解质复合物, 在 C-L 的表面形成第二层保护层, 导致其粒径逐渐增大。Gibis 等^[28]利用壳聚糖和果胶制备了多层脂质体, 发现与裸脂质体相比, 其体积更大。

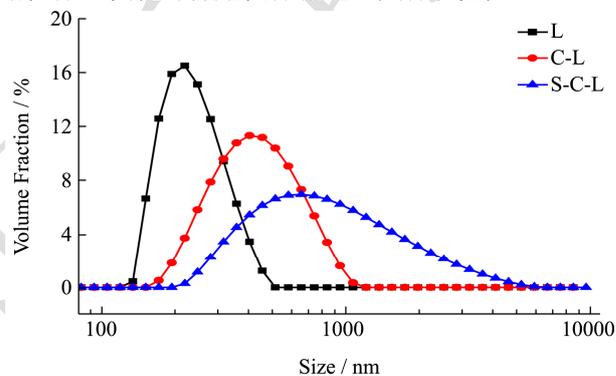


图 3 L、C-L、S-C-L 的粒度分布

Fig.3 Particle size distribution of L, C-L, and S-C-L

2.4 形貌表征

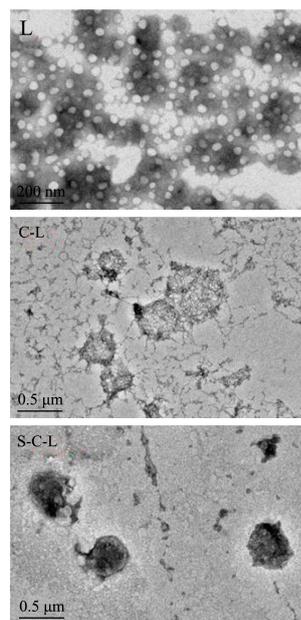


图 4 L、C-L、S-C-L 的透射电镜图

Fig.4 TEM images of L, C-L, and S-C-L

L、C-L、S-C-L 的透射电镜图如图 4 所示，结果显示，三种脂质体都呈现球形结构，且三种脂质体的粒径依次增大，这与 2.3 中脂质体的粒度分布结果趋势一致。此外，可以观察到在 C-L 及 S-C-L 外层存在明显的包裹结构，说明壳聚糖及海藻酸钠成功在脂质体表面形成保护层。

2.5 FT-IR 分析

海藻酸钠、壳聚糖及 L、C-L、S-C-L 三种脂质体的红外光谱图，结果如图 5 所示。其中壳聚糖在 1658 cm^{-1} 处的吸收峰是主氨基峰、1595 cm^{-1} 处的吸收峰是由 N-H 弯曲振动引起^[29]，海藻酸钠在 1606 cm^{-1} 处的吸收峰是由 COO-中 C=O 伸缩振动引起，而 1417 cm^{-1} 是由 COO-对称伸缩振动引起^[30]。

在 L、C-L 和 S-C-L 的红外光谱图中，2926 cm^{-1} 和 2855 cm^{-1} 这两处吸收峰是由磷脂双分子层内部疏水性基团 CH_2 的振动引起的，三种脂质体中这两处峰未发生偏移，说明海藻酸钠和壳聚糖的修饰未对脂质体内部结构产生影响，与前面包埋率等的结果相符。壳聚糖修饰后，C-L 中壳聚糖在 1595 cm^{-1} 处的特征吸收峰消失，说明壳聚糖中 N-H 弯曲振动消失，这可能是由于脂质体表面负电荷与壳聚糖- NH_3^+ 发生静电相互作用引起的，表明壳聚糖修饰在 L 表面。海藻酸钠修饰后，S-C-L 中未发现海藻酸钠的特征吸收峰(1606 cm^{-1} 、1417 cm^{-1}) 和壳聚糖的主氨基峰(1658 cm^{-1})，并在 1651 cm^{-1} 处发现吸收峰，说明- NH_3^+ 和- COO^- 发生反应^[31]，这表明海藻酸钠成功修饰在 C-L 表面，这些发现与文献报道相符^[32]。

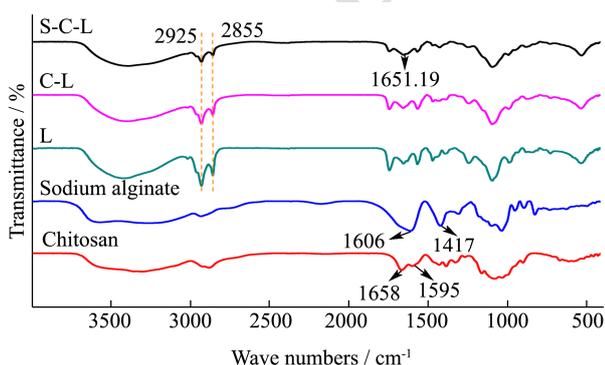


图 5 海藻酸钠、壳聚糖及 L、C-L、S-C-L 的红外光谱图
Fig.5 Infrared spectra of sodium alginate, chitosan and of L, C-L, and S-C-L

2.6 贮藏稳定性

贮藏稳定性的结果如图 6 和图 7 所示。从图 6 我们可以看出，随着贮藏时间的延长，L、C-L 和 S-C-L 中维生素 C 的保留率都有所下降，但是 C-L 和 S-C-L

中维生素 C 的保留率在同一条件下要比 L 中维生素 C 的保留率下降得慢。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏 30 d 之后，L、C-L 和 S-C-L 中维生素 C 的保留率分别为 78.53%、81.66%、80.55%；在 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏 30 d 之后，L、C-L 和 S-C-L 中维生素 C 的保留率分别为 76.90%、79.63%、79.24%，说明脂质体经表面修饰后，其贮藏稳定性增强。

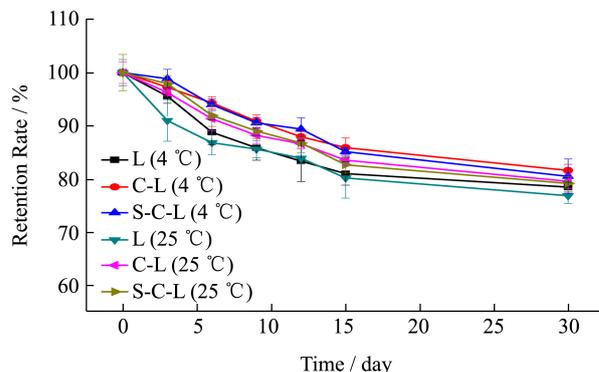


图 6 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 25 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 30 d，L、C-L 和 S-C-L 中 Vc 保留率的变化

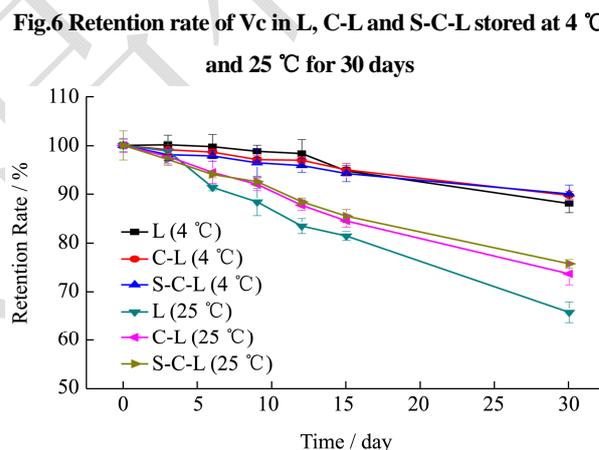


图 7 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 25 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏 30 d，L、C-L 和 S-C-L 中 βC 保留率的变化

Fig.7 Retention rate of βC in L, C-L and S-C-L stored at 4 $^{\circ}\text{C}$ and 25 $^{\circ}\text{C}$ for 30 days

如图 7 所示，随着时间的推移，L、C-L 和 S-C-L 中 β -胡萝卜素的保留率也呈下降趋势。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下贮藏 30 d 之后，L、C-L 和 S-C-L 中 β -胡萝卜素的保留率均在 88% 以上，说明在低温条件下 L、C-L 和 S-C-L 均具有较好的贮藏稳定性。在 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下，三种脂质体中 β -胡萝卜素的保留率都比 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下下降得快得多，这是因为温度对 β -胡萝卜素的氧化降解有很大影响^[23]。贮藏 30 d 后，L、C-L 和 S-C-L 中 β -胡萝卜素的保留率分别为 65.74%、73.63%、75.71%，呈现出 S-C-L>C-L>L 的趋势。谭^[7]将壳聚糖修饰在几种胡萝卜素脂质体的表面，也得出随着贮藏时间的延长，修饰后的脂质体中胡萝卜素的保留率更高的结论。

另外, Liu 等^[33]也发现脂质体周围的壳聚糖涂层可以抑制双层核中封装化合物的泄漏。综上所述, 单层及双层表面修饰, 可以在一定程度上提高脂质体中被包埋活性成分的贮藏稳定性。

3 结论

相较初脂质体, 经壳聚糖和海藻酸钠修饰后, 脂质体中活性成分的包埋率无显著变化; 粒度分布和 TEM 结果显示, 修饰后, 脂质体粒径增大, 说明壳聚糖和海藻酸钠成功修饰在脂质体表面; Zeta-电位和 FTIR 结果表明, 壳聚糖和海藻酸钠表面通过电荷相互作用修饰在脂质体表面, 并不改变脂质体的内部结构; 贮藏稳定性结果表明, 在相同的贮藏时间及温度条件下, C-L 及 S-C-L 中维生素 C 和 β -胡萝卜素的保留率较 L 的更高, 说明单层及双层表面修饰可以提高脂质体的贮藏稳定性。

参考文献

- [1] Chio Y K, Rho Y K, Yoo K H, et al. Effects of vitamin C vs. multivitamin on melanogenesis: comparative study *in vitro* and *in vivo* [J]. International Journal of Dermatology, 2010, 49 (2): 218-226
- [2] TAN Chen, XUE Jin, LOU Xiao-wei, et al. Liposome as delivery systems for carotenoids: comparative studies of loading ability, storage stability and *in vitro* release [J]. Food & Function, 2014, 5(6): 1232-1240
- [3] Helgason T, Awad T S, Kristbergsson K, et al. Impact of surfactant properties on oxidative stability of β -Carotene encapsulated within solid lipid nanoparticles [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(17): 8033-8040
- [4] Jung S, Wu K, Giovannucci E, et al. Carotenoid intake and risk of colorectal adenomas in a cohort of male health [J]. Cancer Causes Control, 2013, 24: 705-717
- [5] Pattni B S, Chupin V V, Torchilin V P. New developments in liposomal drug delivery [J]. Chemical Reviews, 2015, 115: 10938-10966
- [6] Agnihotri S A, Mallikarjuna N N, Aminabhavi T M. Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery [J]. Journal of Controlled Release, 2004, 100(1): 5-28
- [7] 谭晨. 类胡萝卜素脂质体的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015
TAN Chen. Study on carotenoid liposomes [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015
- [8] Gonçalves M C F, Mertins O, Pohlmann A R et al. Chitosan coated liposomes as an innovative nanocarrier for drugs [J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2012, 8 (2): 240-250
- [9] Lee J H, Oh H, Baxa U, et al. Biopolymer-connected liposome networks as injectable biomaterials capable of sustained local drug delivery [J]. Biomacromolecules, 2012, 13 (10): 3388-3394
- [10] McClements DJ. Design of nano-laminated coatings to control bioavailability of lipophilic food components [J]. Journal of Food Science, 2010, 75 (1): R30-R42
- [11] Madrigal-Carballo S, Lim S, Rodriguez G, et al. Biopolymer coating of soybean lecithin liposomes *via* layer-by-layer self-assembly as novel delivery system for ellagic acid [J]. Journal of Functional Foods, 2010, 2 (2): 99-106
- [12] 赵红磊. 嗜酸乳杆菌微胶囊化研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009
ZHAO Hong-lei. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009
- [13] 张珊. SiO₂/海藻酸钙-黄原胶互穿网络微球去除水体中 Pb²⁺ [J]. 上海交通大学学报, 2013, 28(6): 431-447
ZHANG Shan. Removal of Pb²⁺ from water by SiO₂ / calcium alginate - xanthan gum interpenetrating network microspheres [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University, 2013, 28(6): 431-447
- [14] 王春霞, 张娟娟, 王晓梅, 等. 海藻酸钠的综合应用进展[J]. 食品与发酵科技, 2013, 49(5): 99-102
WANG Chun-xia, ZHANG Juan-juan, WANG Xiao-mei, et al. Advances in the comprehensive application of sodium alginate [J]. Food and Fermentation Technology, 2013, 49(5): 99-102
- [15] Sebaaly C, Jrajaj A, Fessi H, et al. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded Liposomes [J]. Food Chemistry, 2015, 178(3): 52-62
- [16] Cuomo F, Cofelice M, Venditti F, et al. *In vitro* digestion of curcumin loaded chitosan-coated liposomes [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2018, 168: 29-34
- [17] YANG Zhen-lei, LIU Jun-li, GAO Jin-hua, et al. Chitosan coated vancomycin hydrochloride liposomes: characterizations and evaluation [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2015, 495(1): 508-515
- [18] Park S N, Na R J, Jeon S H. Chitosan-coated liposomes for enhanced skin permeation of resveratrol [J]. Journal of Industrial & Engineering Chemistry, 2014, 20(4): 1481-1485
- [19] Puga A M, Lima A C, Mano J F, et al. Pectin-coated chitosan microgels crosslinked on superhydrophobic surfaces for 5-fluorouracil encapsulation [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(1): 331-340
- [20] Ribeiro L N M, Alcântara A C S, Darder M, et al.

- Pectin-coated chitosan-LDH bionanocomposite beads as potential systems for colon-targeted drug delivery [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, 463(1): 1-9
- [21] CHEN Wei-jun, ZOU Ming-ming, MA Xiao-bin, et al. Co-encapsulation of EGCG and quercetin in liposomes for optimum antioxidant activity [J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(1): 111-120
- [22] YANG Shui-bing, LIU Wei, LIU Cheng-mei, et al. Characterization and bioavailability of Vitamin C nanoliposomes prepared by film evaporation-dynamic high pressure microfluidization [J]. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2012, 33: 1608-1614
- [23] BAI Chun-qing, ZHENG Jing-xia, ZHAO Li, et al. Development of oral delivery systems with enhanced antioxidant and anticancer activity: coix seed oil and β -Carotene coloaded liposomes [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67: 406-414
- [24] Charcosset C, Juban A, Valour J P, et al. Preparation of liposomes at large scale using the ethanol injection method: Effect of scale-up and injection devices [J]. *Chemical Engineering Research & Design*, 2015, 94, 508-515
- [25] Rondeau-Mouro C, Le B P, BulãOn A. Structural investigation of amylose complexes with small ligands: inter- or intra-helical associations? [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2004, 34(5): 309-315
- [26] 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
ZHENG Jing-xia. Preparation and functional properties of β -carotene-coix seed oil composite liposomes [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018
- [27] LI Ning, ZHUANG Chun-yang, WANG Mi, et al. Liposome coated with low molecular weight chitosan and its potential use in ocular drug delivery [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, 379: 131-138
- [28] Gibis M, Zeeb B, & Weiss, J. Formation, characterization, and stability of encapsulated hibiscus extract in multilayered liposomes [J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 38: 28-39
- [29] CHENG Li-chun, MA Hui, SHAO Ming-kun, et al. Synthesis of folate-chitosan nanoparticles loaded with ligustrazine to target folate receptor positive cancer cells [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 16(2): 1101-1108
- [30] Sood A, Arora V, Shah J, et al. Multifunctional gold coated iron oxide core-shell nanoparticles stabilized using thiolated sodium alginate for biomedical applications [J]. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 2017, 80: 274-281
- [31] LIU Wei-lin, LIU Jian-hua, LIU Wei, et al. Improved physical and *in vitro* digestion stability of a polyelectrolyte delivery system based on layer-by-layer selfassembly alginate-chitosan-coated nanoliposomes [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61: 4133-4144
- [32] Mady M M, Fathy M M, Youssef T, et al. Biophysical characterization of gold nanoparticles-loaded liposomes [J]. *Physical Medicine*, 2012, 28: 288-295
- [33] LIU Yu-jia, LIU Dan-dan, ZHU Li, et al. Temperature-dependent structure stability and *in vitro* release of chitosan-coated curcumin liposome [J]. *Food Research International*, 2015, 74: 97-105

(上接第 201 页)

- [22] 从彦丽,彭梦雪,王慧清,等.梨体外模拟胃肠消化过程中多酚、黄酮及抗氧化活性的变化规律[J].*现代食品科技*, 2016,32(6):29-34
CONG Yan-li, PENG Meng-xue, WANG Hui qing, et al. Changes in polyphenol and flavonoid content and antioxidant activity of pears during *in vitro* simulated gastrointestinal digestion [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(6): 29-34
- [23] 李多.藜麦糠黄酮类化合物的分离纯化及体外活性研究 [D].太原:山西大学,2019
LI Duo. isolation, purification, *in vitro* activity of flavonoids from *Chenopodium quinoa* Chaff [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2019
- [24] 封易成,牟德华.体外模拟胃肠消化过程中山楂的活性成分及抗氧化性规律[J].*食品科学*,2018,39(7):139-145
FENG Yi-cheng, MOU De-hua. Changes in active components and antioxidant activity of hawthorn during simulated gastrointestinal digestion *in vitro* [J]. *Food Science*, 2018, 39(07): 139-145