

引用:杨阳,史瑞婕,李明忠,等. 辅酶 Q10 纳米乳的工艺优化及其抗氧化性与体内生物利用率的研究[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2026,39 (1):106-117.

Citation: YANG Yang, SHI Ruijie, LI Mingzhong, XIAO Aiai, WU Hengqian, CAI Jinyi, WANG Zhengping. Optimization of preparation process of coenzyme Q10 nanoemulsion and investigation of its antioxidant activity and bioavailability[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2026, 39(1): 106-117.

文章编号 1672-6634(2026)01-0106-12

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2025010020

辅酶 Q10 纳米乳的工艺优化及其抗氧化性与体内生物利用率的研究

杨阳¹, 史瑞婕¹, 李明忠¹, 肖爱爱², 吴恒乾¹, 蔡金翊¹, 王正平¹

(1. 聊城大学 生物制药研究院, 山东 聊城 252059; 2. 聊城高新生物技术有限公司, 山东 聊城 252059)

摘要 研究以提高辅酶 Q10 的抗氧化性与体内生物利用率为目的, 以中链脂肪酸甘油三酯为油相, 以大豆卵磷脂为表面活性剂, 以吐温-80 为助表面活性剂, 制备辅酶 Q10 纳米乳。通过 Box-Behnken 响应面优化法对辅酶 Q10 纳米乳的制备工艺进行优化, 同时还研究了辅酶 Q10 纳米乳的理化性质、稳定性、抗氧化性及体内生物利用率。结果表明, 辅酶 Q10 纳米乳的最佳制备工艺为中链脂肪酸甘油三酯添加量为 2 g、大豆磷脂添加量为 5.353 g、吐温-80 添加量为 1 g, 在该条件下时辅酶 Q10 纳米乳的平均粒径、多分散指数、Zeta 电位和包封率分别为 $(72.9 \pm 0.32) \text{ nm}$, 0.25 ± 0.0034 , $(-34.9 \pm 1.97) \text{ mV}$, $(97.6 \pm 0.49) \%$ 。傅立叶红外光谱实验结果表明, 辅酶 Q10 被完好的包裹在纳米乳液中。透射电镜观察结果表明辅酶 Q10 纳米乳呈圆形, 无粘连, 均匀分散在体系中。稳定性实验结果表明辅酶 Q10 纳米乳具有良好的离心稳定性、离子稳定性与储存稳定性。抗氧化性结果表明, 相较于辅酶 Q10 悬浮液, 辅酶 Q10 纳米乳的 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟自由基的清除率分别增加了 79.1%、93.1%、72.2%。此外, 最佳条件下制备的辅酶 Q10 纳米乳在大鼠体内的血药浓度为 $0.767 \mu\text{g/mL}$, 是辅酶 Q10 油溶液的 1.405 倍。本研究可为开发辅酶 Q10 纳米乳提供数据支持, 同时为其在保健食品和生物医药等领用中的应用奠定了基础。

关键词 辅酶 Q10; 纳米乳液; 响应面优化; 抗氧化性; 生物利用率

中图分类号 TQ925; TB3833.1

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Optimization of preparation process of coenzyme Q10 nanoemulsion and investigation of its antioxidant activity and bioavailability

YANG Yang¹, SHI Ruijie¹, LI Mingzhong¹, XIAO Aiai²,
WU Hengqian¹, CAI Jinyi¹, WANG Zhengping¹

(1. Institute of Biopharmaceutical Research, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China;

2. Liaocheng High-tech Biotechnology Co., Ltd. Liaocheng 252059, China)

收稿日期: 2025-01-22

基金项目: 山东省外专双百计划(WSR2023087)资助

通信作者: 王正平, 女, 汉族, 博士, 教授, 国家海外特聘专家, 山东省泰山产业领军人才, 江苏省双创人才, 研究方向: 临床营养, E-mail: wangzhengping@lcu.edu.cn.

Abstract This study aims to enhance the antioxidant activity and bioavailability of Coenzyme Q10 (CoQ10) by preparing CoQ10 nanoemulsion using medium chain triglyceride as the oil phase, soybean phospholipid as the surfactant, and Tween-80 as the co-surfactant. The preparation process of CoQ10 nanoemulsion was optimized using Box-Behnken response surface methodology. Also, the physicochemical properties, stability, antioxidant activity, and bioavailability of the CoQ10 nanoemulsion were investigated. The results show that the optimal conditions for CoQ10 nanoemulsion were 2 g of medium chain triglyceride, 5.353 g of soybean phospholipid, and 1 g of Tween-80. In this case, the average particle size, polydispersity index, zeta potential, and encapsulation efficiency of the CoQ10 nanoemulsion were (72.9 ± 0.32) nm, 0.25 ± 0.034 , (-34.9 ± 1.97) mV, and $(97.6 \pm 0.49)\%$, respectively. Transform infrared spectroscopy results show that CoQ10 was completely encapsulated in the nanoemulsion. Moreover, the result of Transmission Electron Microscopy indicates that the CoQ10 nanoemulsion were round, non-aggregated, and evenly dispersed in the system. The stability experiments demonstrate that CoQ10 nanoemulsion displayed better centrifugal stability, ionic stability, and storage stability. Additionally, compared to CoQ10 suspensions, the DPPH free radical, ABTS free radical, and hydroxyl free radical scavenging rates of CoQ10 nanoemulsion was increased by 79.1 %, 93.1 % and 72.2 %, respectively. The blood concentration of CoQ10 in rats for the optimized CoQ10 nanoemulsion was $0.767 \mu\text{g/mL}$, which was 1.405 times that of CoQ10 oil. This study could provide data support for the development of Coenzyme Q10 nanoemulsion, and lay the foundation for its application in health food and biomedicine fields.

Keywords coenzyme Q10; nanoemulsion; response surface optimization; antioxidant property activity; bioavailability

0 引言

辅酶 Q10, 别名泛醌, 多见于细胞膜的磷脂双分子层的疏水侧, 研究报道辅酶 Q10 具有抗氧化^[1]、增强免疫力^[2]、保护心脏^[3]等功效。随着人们年龄的增加, 机体自身合成的辅酶 Q10 含量不足以满足其能量代谢需求。因此, 需通过外源性辅酶 Q10 的摄取来满足机体的正常代谢。然而, 由于辅酶 Q10 是一种类似维生素的脂溶性高分子化合物, 水溶性差、生物利用率低, 这都很大程度上限制了其在保健食品和生物医药等领域的应用。因此, 探寻新型制剂技术提高辅酶 Q10 的生物利用率已成为保健食品和生物医药等领域的研究热点。目前, 乳剂对运载疏水性物质具有诸多优势, 如提高疏水性物质的溶解性和物理稳定性, 改善其生物利用度等。通过乳化作用, 使疏水性物质在体系中均匀分散, 在药物输送、营养运载等领域应用广泛^[4]。其中, 纳米乳剂(1~100 nm)是一种热力学稳定、黏度较低的胶体分散体系, 常用在亲脂类化合物的递送中, 如 Jia 等^[5]利用纳米乳解决八糖醇的溶解度低和生物利用率低的问题和 Iqbal 等^[6]利用纳米乳解决槲皮素和姜黄素的难溶性问题等。此外, Ahmed 等^[7]发现使用中链脂肪酸制备的姜黄素乳剂的生物可及性高于短链和长链脂肪。中链脂肪酸是碳原子数为 8~10 的饱和脂肪酸, 具有改善非酒精性脂肪肝代谢^[8]、降血糖^[9]等功效。先前研究还报道了辅酶 Q10 的生物利用率会随乳剂粒径减小而增加^[10]。因此, 本文在 Box-Behnken 响应面实验中拟以辛酸甘油三酯作为油相, 粒径的大小作为响应指标对辅酶 Q10 纳米乳的工艺条件进行优化, 同时对辅酶 Q10 纳米乳的理化性质(如粒径及电位、微观形态、红外吸收谱等)、稳定性、体内生物利用率及抗氧化性进行评价, 以期改善辅酶 Q10 的生物利用率提供有效途径, 同时为其在保健食品和生物医药等领域中的应用提供数据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

1.1.1 仪器设备。PR223ZH/E 电子天平, 奥豪斯仪器有限公司; PT100 磁力搅拌水浴锅, 天津欧诺仪器股份有限公司; RV 8 S096 旋转蒸发仪, 艾卡仪器设备有限公司; NS1001L 2K 实验型高压匀质机, 意大利;

Clemens/C20 台式微量离心机,德国 Eppendorf 公司;ZEN5600 马尔文纳米粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;Nicolet6700 红外光谱仪,美国;U-3900H UV-vis 紫外可见分光光度计,日立;JEM-2100 高分辨率透射电子显微镜,日本电子株式会社;LPG-3400RS 高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技有限公司;C18 反向色谱柱,北京慧德易科技有限责任公司。

1.1.2 样品与试剂。辅酶 Q10(纯度>98 %),购自金达威;中链脂肪酸甘油三酯和色谱级乙醇,聊城欣越科技有限公司;大豆卵磷脂,青岛中科泰达经贸有限公司;吐温-80,青岛中西生物技术有限公司;磷钨酸,北京伊诺科技有限公司;大鼠(Sprague Dawley, SD),动物伦理编号为 AP2024022965,济南朋悦实验动物繁育有限公司;色谱级甲醇,赛默飞世尔科技有限公司;硫酸亚铁,水杨酸,铁氰化钾,过硫酸钾均购自上海麦克林生化科技股份有限公司;二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH),2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS)均购自成都化夏化学试剂有限公司。

1.2 辅酶 Q10 纳米乳的制备

称取 0.5 g 辅酶 Q10 和适量中链脂肪酸甘油三酯并在 70 °C 下溶解辅酶 Q10 作为油相。称适量双蒸水与吐温-80 作为水相并称取适量大豆磷脂,将水相倒入油相同时加入大豆磷脂进行混合。然后,使用高速剪切机在 6 000 r/min 的转速下剪切 3 min,得到辅酶 Q10 初乳液。将辅酶 Q10 初乳液进行高压均质得到辅酶 Q10 纳米乳。此外,分别配制辅酶 Q10 油溶液(0.5 g 辅酶 Q10 和适量中链脂肪酸甘油三酯混合并在 70 °C 下进行溶解)与其悬浮液(0.01 g 辅酶 Q10 与适量去离子水在 2 mL 离心管中混匀)。

1.3 辅酶 Q10 纳米乳的工艺优化

1.3.1 单因素实验。中链脂肪酸甘油三酯(Medium-Chain Triglycerides, MCT)用量、大豆卵磷脂用量、吐温-80 用量为考察因素进行单因素实验,通过辅酶 Q10 纳米乳的平均粒径与多分散指数(polydispersity index, PDI)为考察指标来确定制备辅酶 Q10 纳米乳的最佳工艺参数范围。

1.3.2 响应面优化试验设计。参考文献^[11]进行响应面优化试验设计。在各单因素实验结果的基础上,进一步使用 Box-Behnken 响应面法以确定辅酶 Q10 纳米乳液制备的最优参数。选择以辅酶 Q10 纳米乳平均粒径作为响应指标,采用 Design-Expert 13.0 软件进行三因素三水平的响应面分析试验(表 1)。

表 1 响应面优化试验设计表

Tab. 1 Response surface experimental design table

Factors	-1	0	1
中链脂肪酸甘油三酯/g	2	3	4
吐温-80/g	0.2	0.6	1
大豆磷脂/g	4	5	6

1.4 辅酶 Q10 包封率的测定

1.4.1 辅酶 Q10 标准曲线的建立。参考文献^[12]的方法进行辅酶 Q10 标准曲线的建立。称取 5 mg 辅酶 Q10 标准品于 50 mL 容量瓶中,加入无水乙醇并进行超声溶解,冷却至室温后,配置成 0.1 mg/mL 储备液。分别移取 0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 mL 储备液于 50 mL 容量瓶中,再次用无水乙醇稀释为一系列浓度梯度的溶液,取适量样品溶液在 275 nm 处测量其吸光度。以辅酶 Q10 标准品质量浓度为横坐标,以不同浓度标准品的吸光度测量值为纵坐标建立标准曲线。

1.4.2 包封率计算。参考文献^[13]的方法进行辅酶 Q10 纳米乳包封率的检测。取 1 mL 的辅酶 Q10 纳米乳加入离心管中,随后加入 10 mL 的正戊烷避光静置 30 min 萃取。结束后,在 2 000 r/min 条件下离心 5 min 并收集上层液体,下层相继续萃取,循环三次。将收集的上层液体混合并利用旋转蒸发仪悬蒸除去正戊烷。之后加入 5 mL 无水乙醇溶解残留物,利用紫外分光光度计测定其在 275 nm 处的吸光度,根据标准曲线计算出游离辅酶 Q10 的量 W_2 。辅酶 Q10 的加入量记为 W_1 ,其包封率(encapsulation efficiency, EE)的计算公式如

$$\rho_{EE} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \times 100. \quad (1)$$

1.5 辅酶 Q10 纳米乳的理化表征

1.5.1 傅里叶红外光谱。参考文献[14]的方法进行修改。将制备的辅酶 Q10 纳米乳和空白纳米乳滴在空白 KBr 压片上,待滴在空白 KBr 上的纳米乳挥发后,在 $4\,000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$ 范围内,用傅里叶红外光谱激光探头连续扫描滴加过纳米乳的 KBr 压片 32 次,即得到辅酶 Q10 纳米乳和空白纳米乳的红外光谱图。辅酶 Q10 原料作为对照组。

1.5.2 微观形貌观察。参考文献[15]的方法进行透射电镜样品前处理。将新鲜制备的辅酶 Q10 纳米乳稀释 50 倍,滴加到铜网表面,等待铜网下方滤纸吸收多余的液体,随后立即用磷钨酸负染,等待铜网上的液体自然晾干后用透射电镜观察辅酶 Q10 纳米乳的微观形貌。

1.6 稳定性实验

1.6.1 离心稳定性。参考文献[16]的方法对辅酶 Q10 纳米乳的离心稳定性进行检测。制备好的新鲜乳剂稀释 50 倍后用紫外分光光度计在 275 nm 处检测吸光度为 A ,另取新鲜乳剂分别在 2 000、4 000、6 000、8 000、10 000 r/min 条件下离心 15 min 后取上清稀释 50 倍在 275 nm 处检测吸光度为 A_0 。离心稳定常数 (K_e)按照下式计算

$$K_e = \frac{(A - A_0)}{A} \times 100. \quad (2)$$

1.6.2 离子稳定性。参考文献[17]的方法对辅酶 Q10 纳米乳的离子稳定性进行检测。向辅酶 Q10 纳米乳中加入不同浓度的 NaCl 溶液,NaCl 溶液浓度为分别 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L,室温避光放置 4 h 后,测量不同处理样品乳液的平均粒径、PDI 和 Zeta 电位。

1.6.3 储存稳定性。将制备得到辅酶 Q10 纳米乳分别在 4 °C 和常温条件下进行保存,每周观察乳剂的分层情况并测量其粒径、PDI 和 Zeta 电位。

1.6.4 酸碱稳定性。参考文献[18]的方法对辅酶 Q10 纳米乳的酸碱稳定性进行检测。分别用一系列浓度的 NaOH 溶液(1、0.1、0.01 mol/L)和 HCL 溶液(1、0.1、0.01 mol/L)配置 pH 为 2~12 的去离子水。将制备的辅酶 Q10 纳米乳用 pH 为 2~12 的去离子水稀释 50 倍后静置 2 h,随后测量其粒径、PDI 和 Zeta 电位。

1.6.5 温度稳定性。将制备的辅酶 Q10 纳米乳加入到离心管中放置于 25、30、60、90 °C 的水浴锅中 0.5 h,将离心管中的辅酶 Q10 纳米乳稀释 50 倍并测其粒径、PDI 和 Zeta 电位。

1.7 辅酶 Q10 纳米乳体外抗氧化性测定

1.7.1 DPPH 自由基清除能力检测。参考文献[19]的方法进行 DPPH 自由基清除能力检测。取 0.5 mL 辅酶 Q10 纳米乳加入到 3.5 mL 0.04 g/L 的 DPPH 无水乙醇溶液中,混合均匀,反应 30 min,测其在 517 nm 波长处吸光度,记为 A_1 。另取 0.5 mL 辅酶 Q10 纳米乳加入无水乙醇 3.5 mL,反应 30 min,测其在 517 nm 波长处吸光度,记为 A_2 。测定 3.5 mL 0.04 g/L DPPH 无水乙醇溶液和 0.5 mL 无水乙醇在 517 nm 波长处吸光度 A_0 ,所有测定平行进行 3 次。将辅酶 Q10 纳米乳换成辅酶 Q10 悬浮液作为对照组,操作方法同上来测量辅酶 Q10 悬浮液的 DPPH 自由基清除率。DPPH 自由基清除率(DPPH Radical Scavenging Rate, DPPH-RSR)的计算公式如

$$\rho_{\text{DPPH-RSR}} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100, \quad (3)$$

式中 A_1 为样品+DPPH 的吸光度, A_2 为样品+无水乙醇的吸光度, A_0 为无水乙醇+DPPH 的吸光度。

1.7.2 ABTS 自由基清除能力。参考文献[20]的方法进行 ABTS 自由基清除能力检测。取 0.5 mL 辅酶 Q10 纳米乳与 3.5 mL ABTS 充分混匀 6 min 后于 734 nm 处测定吸光度 A_1 。同样方法,取 3.5 mL 蒸馏水与 0.5 mL 样品溶液混合,测定吸光度 A_2 。取 3.5 mL ABTS 与 0.5 mL 蒸馏水混合,测定吸光度 A_0 。将辅酶 Q10 纳米乳换成辅酶 Q10 悬浮液,操作方法同上来检测辅酶 Q10 悬浮液的 ABTS 自由基清除率。ABTS 自由基清除率(ABTS Radical Scavenging Rate, ABTS-RSR)的计算公式如

$$\rho_{\text{ABTS-RSR}} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100, \quad (4)$$

式中 A_1 为样品组吸光度, A_2 为对照组吸光度, A_0 为空白组吸光度。

1.7.3 羟离子自由基清除能力检测。参考文献[21]的方法进行羟自由基清除能力检测。取 0.5 mL 辅酶 Q10 纳米乳, 向其中依次加入 0.5 mL 9 mmol/L 的 FeSO_4 , 0.5 mL 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇以及 7 mL 去离子水, 0.5 mL 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 溶液混合均匀, 在 37 °C 下条件下反应 15 min, 之后在 510 nm 处测定吸光度 A_1 。蒸馏水代替 FeSO_4 , 在 510 nm 吸光度记 A_2 。蒸馏水代替辅酶 Q10 纳米乳为空白对照, 在 510 nm 吸光度记 A_0 。将辅酶 Q10 纳米乳换成辅酶 Q10 悬浮液, 操作方法同上来测量辅酶 Q10 悬浮液的羟离子自由基清除率。按下列公式计算辅酶 Q10 纳米乳和辅酶 Q10 悬浮液的羟自由基的清除率。羟自由基清除率(Hydroxyl Radical Scavenging Rate, HRSR)的计算公式如

$$\rho_{\text{HRSR}} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100, \quad (5)$$

式中 A_1 为样品组吸光度, A_2 为对照组吸光度, A_0 为空白组吸光度。

1.8 体内生物利用率试验

1.8.1 动物分组及血样采集。SD 雄性大鼠 18 只, 300 g 左右, 实验前 12 h 光暗循环, 适应一周。实验前禁食 12 h, 自由获得水, 口服给药 4 h 后正常给食。将 18 只雄性 SD 大鼠随机平均分为 A、B、C(每组六只): A 组用于空白对照, B 组灌胃辅酶 Q10 纳米乳、C 组灌胃辅酶 Q10 油溶液。参考文献[22]的方法进行血样采集。B、C 组于给药后按时间点(15 min、30 min、1 h、1.5 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h、24 h)从大鼠眼眶静脉丛取血 0.3 mL 于装有肝素钠的离心管中, 冰箱 -20 °C 保存备用。

1.8.2 样品处理与辅酶 Q10 含量测定。参考文献[23]的方法进行样品处理。在 2.0 mL 离心管中混合 100 μL 大鼠血浆、200 μL 甲醇和 20 μL 内标 CoQ9(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 将混合物涡旋 2 min。加入 400 μL 正己烷萃取, 涡旋 2 min, 随后在 10 000 r/min 转速下离心 5 min, 收集离心管中的正己烷并在氮气流下干燥, 将残留物溶解在 200 μL 无水乙醇中。将溶解的无水乙醇在 10 000 r/min 转速下离心 5 min, 用注射器吸取离心管中的液体并用 0.45 μm 的尼龙膜滤器过滤。将 50 μL 试样注入 HPLC 系统进行分析, CoQ10 与 CoQ9 的峰面积比值用于 CoQ10 的定量。

1.8.3 色谱条件。C18 反向色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm 柱), 流动相为甲醇:乙醇(v/v, 10:90), 流速为 1 mL/min, 检测波长为 275 nm, 柱温为 35 °C, 进样量为 50 μL 。

1.9 数据处理

使用 Design-Expert 13.0 进行响应面优化试验设计并进行数据处理, 使用 SPSS Statistics 26 进行数据分析, 每组实验数据设置三组平行, 实验数据以平均值 $\pm$ 标准误差来表示, 使用 origin 2021 进行图片绘制。

2 结果与分析

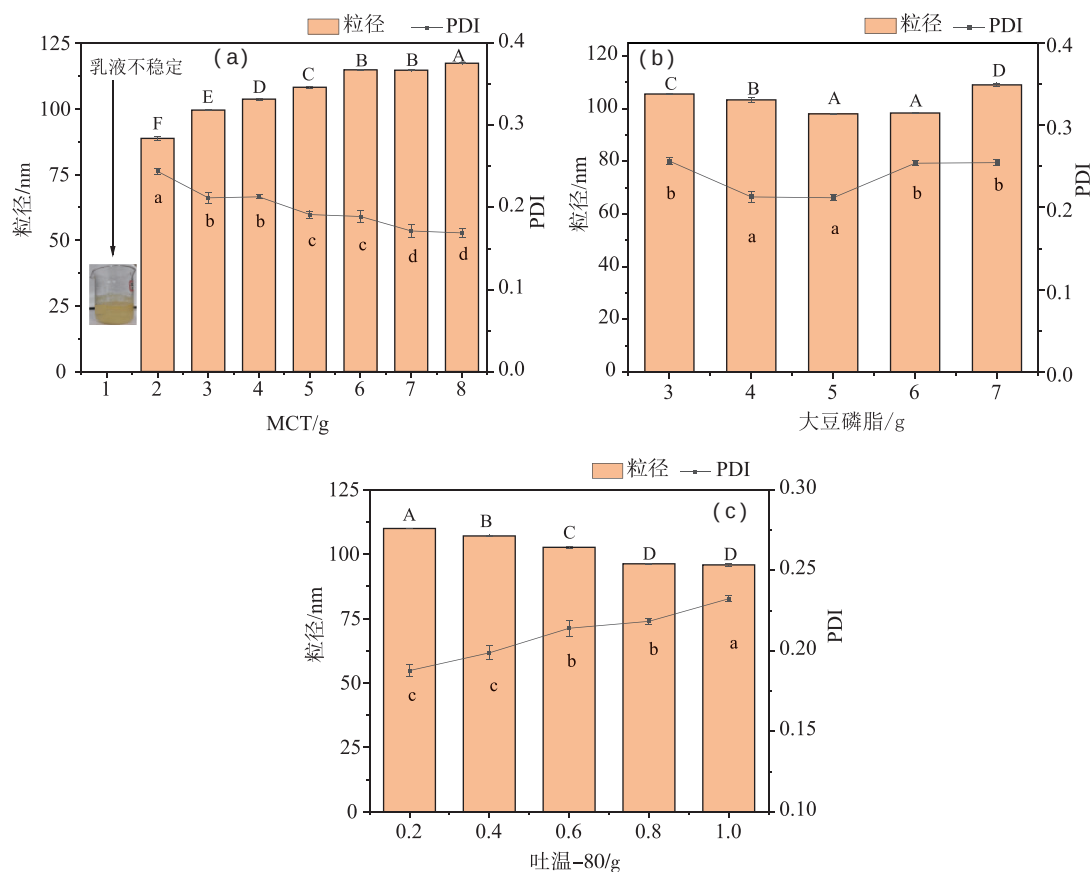
2.1 工艺优化

2.1.1 单因素实验结果。(1) MCT 添加量对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响。如图 1A 所示, 随着 MCT 添加量的增加, 辅酶 Q10 纳米乳液的平均粒径呈增大趋势, PDI 呈降低趋势。这可能是因为 MCT 的添加量较高会降低表面活性剂在油-水界面的相对含量, 使油滴周围吸附层变薄, 空间位阻作用减弱, 进而导致油滴发生黏连, 产生聚集, 引起了粒径增大^[24]。由图 1A 可知, 在 MCT 添加量为 1 g 时, 剪切制备的辅酶 Q10 初乳出现分层现象, 说明该条件下辅酶 Q10 乳液不稳定。因此, 选择 MCT 添加量为 3 g 为最佳值, 2、3、4 g 分别为响应面优化 -1, 0, +1 水平。

(2) 大豆磷脂用量对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响。大豆磷脂添加量对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响如图 1B 所示。辅酶 Q10 纳米乳的平均粒径和 PDI 均随着大豆磷脂添加量增加呈先下降后上升的趋势。在大豆磷脂的用量为 5 g 时, 辅酶 Q10 的粒径和 PDI 降至最低。该实验结果的原因可能是在大豆磷脂添加量较低时, 较多的大豆磷脂吸附在油-水界面来形成界面膜, 降低表面张力, 且其吸附界面膜产生的空间位阻

会阻止油滴聚集,使油滴分散较好,导致其平均粒径和 PDI 下降^[25];而当大豆磷脂添加量超过一定限度时,过多的乳化剂分子可能由于分子间相互作用形成聚集体,破坏油滴的分散稳定性,使油滴间吸引力增加,导致其粒径增大且分布变宽,进而表现出其平均粒径和 PDI 上升。因此,选择大豆磷脂添加量 5 g 为最佳值,4,5,6 g 分别为响应面优化-1,0,+1 水平。

(3) 吐温-80 用量对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响。吐温-80 添加量对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响如图 1C 所示。随吐温-80 添加量的增加辅酶 Q10 纳米乳的平均粒径和 PDI 分别呈下降和增加趋势,这可能是由于在吐温-80 添加量较多的情况下,更多的吐温-80 吸附于油-水界面,形成更稳定的界面膜,产生更强空间位阻效应,阻止油滴碰撞聚并,有利于油滴以小粒径分散^[25]。《保健食品备案产品可用辅料及其使用规定(2021 年版)》规定保健食品中吐温-80 的使用剂量不得超过 10 g/kg。在单因素实验中吐温-80 为 1 g 是最佳值也是最大使用剂量,选择吐温-80 用量为 0.2、0.6、1.0 g 分别为响应面优化-1,0,+1 水平。



注:(a) 中链脂肪酸;(b) 大豆磷脂;(c) 吐温-80。

图1 单因素实验结果

Fig. 1 The result of single factor experiment

2.1.2 响应面优化试验结果。在单因素的试验结果的基础上,使用 Box-Behnken 响应面法对制备工艺进行优化。均质时间为 14 min,均质压力为 90 MPa,以 MCT 添加量(A)、大豆磷脂添加量(B)、吐温-80 添加量(C)为自变量,平均粒径为响应值,进行三因素三水平响应面试验分析,得到回归方程模型。

$$R_{\text{粒径}} = 91.39 + 9.15A + 1.21B - 6.47C + 0.2275AB + 0.3650AC - 2.89BC + 1.81A^2 + 2.72B^2 + 3.71C^2.$$

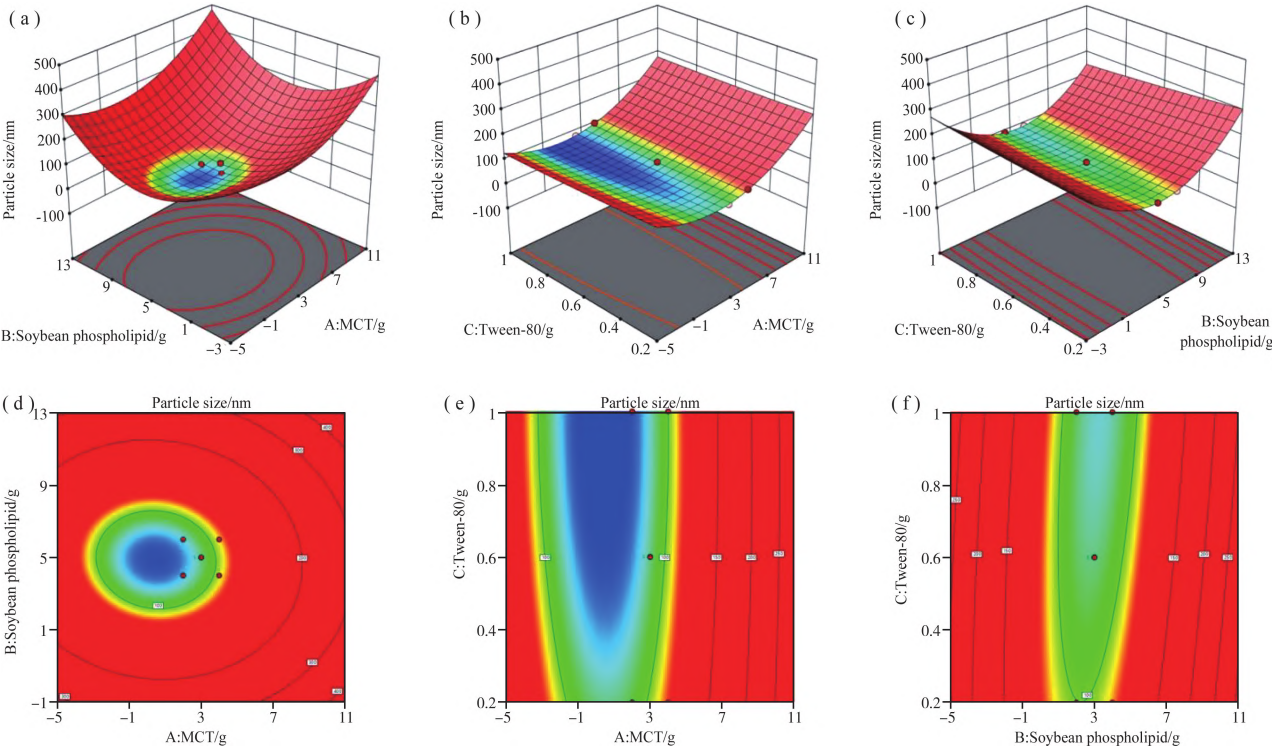
对方程进行方差分析,其结果见表 2,由表 2 可以看出,模型 $p=0.0005 (P<0.01)$,说明响应面试验所选用的模型极显著。失拟项 $p=0.5617 > 0.05$,说明该模型拟合程度较好,实验误差小。根据 F 值可以判断辅酶 Q10 纳米乳制备的工艺参数对乳剂粒径影响的大小顺序为: MCT 添加量 > 吐温-80 添加量 > 大豆磷脂添加量。方差分析的结果显示,二次项中吐温-80 的平方(C^2)对纳米乳平均粒径的影响极显著($p < 0.05$),一次项中中链脂肪酸(A)和吐温-80(C)对纳米乳平均粒径的影响显著($p < 0.01$)。该模型的 R^2 为 0.9586 (大于 0.9),正 R^2 为 0.9053,预测 R^2 为 0.7136,预测 R^2 与校准 R^2 之间差距小于 0.2。变异系数

(CV)为 2.82%(小于 10 %),这表明预测值与实验值之间存在很好的相关性,模型具有很高的可信度和精密度。综上分析,该模型的可信度和准确性较好,可用其预测辅酶 Q10 纳米乳的粒径。

表 2 响应面二次模型方差分析结果

Tab. 2 Results of Variance Analysis of Response Surface Quadratic Model

来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
Model	1 164. 71	9	129. 41	17. 99	0. 000 5	* * *
A-MCT	669. 96	1	669. 96	93. 13	< 0. 000 1	* * *
B-大豆磷脂	11. 81	1	11. 81	1. 64	0. 240 9	
C-吐温-80	334. 76	1	334. 76	46. 53	0. 000 2	* * *
AB	0. 207	1	0. 207	0. 028 8	0. 870 1	
AC	0. 532 9	1	0. 532 9	0. 074 1	0. 793 3	
BC	33. 47	1	33. 47	4. 65	0. 067 9	
A ²	13. 86	1	13. 86	1. 93	0. 207 8	
B ²	31. 19	1	31. 19	4. 33	0. 075 9	
C ²	58. 08	1	58. 08	8. 07	0. 025	*
残差	50. 36	7	7. 19			
失拟项	18. 65	3	6. 22	0. 784 4	0. 561 7	
纯误差	31. 71	4	7. 93			



注:(a) MCT 和大豆磷脂含量的响应面图;(b) MCT 和吐温-80 含量的响应面图;(c) 大豆磷脂和吐温-80 含量的响应面图;(d) MCT 和大豆磷脂含量的等高线图;(e) MCT 和吐温-80 含量的等高线图;(f) 大豆磷脂和吐温-80 含量的等高线图。

图 2 响应面优化的响应面图和等高线图

Fig. 2 Response surface and contour maps of response surface optimization

使用 Design-Expert 13.0 软件绘制二维等高线图及三维响应面图在其中 1 个因素不变的条件下,分析另外 2 个因素之间的交互作用对辅酶 Q10 纳米乳粒径的影响,以确定辅酶 Q10 纳米乳的最佳制备工艺,结果见图 2。曲面和等高线的形状不同,交互作用的强弱也不同,交互作用的等高线越接近于椭圆,曲面越陡峭,表明交互作用越强^[26]。由图 2 可知,在曲面图 A、B、C 中 C 图更为陡峭,说明在大豆磷脂和吐温-80 的

交互作用最强;在等高线图 D、E、F 中,F 图的等高线较 D、E 来说更扁,也说明大豆磷脂和吐温-80 的交互作用最强。但由表 3 可知,MCT 添加量、大豆磷脂添加量、吐温-80 添加量三个因素两两交互作用对纳米乳的平均粒径均没有显著的影响($p>0.05$)。综上可知,虽然从响应面图和等高线图可以看出大豆磷脂和吐温-80 的交互作用最强,但显著性分析结果显示大豆磷脂和吐温-80 的交互作用没有显著性差异。

2.2 包封率测定

根据 1.4.1 中的方法,以辅酶 Q10 标准品质量浓度为横坐标,以不同浓度标准品的吸光度测量值为纵坐标建立标准曲线,结果见图 3。

根据图 3 可知,线性回归方程为: $y = 0.0185x - 0.0032$, $R^2 = 0.9964$ 。说明辅酶 Q10 标准品溶液在 $(1.0 \sim 25.0) \mu\text{g/mL}$ 范围内,呈现良好的线性关系。纳米乳液包封率高低与活性物质的物理化学性质、制备方法等因素有关。用经响应面优化后的最佳处方制备辅酶 Q10 纳米乳,测得包封率为 $(97.60 \pm 0.49)\%$,表明大部分的辅酶 Q10 被成功的包裹在纳米乳的油相中。

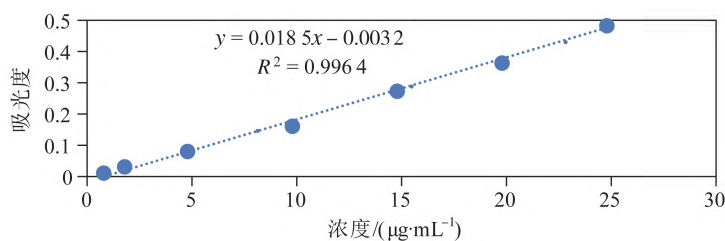


图3 辅酶 Q10 紫外标准曲线图

Fig. 3 UV standard curve of coenzyme Q10

2.3 辅酶 Q10 纳米乳的理化表征

2.3.1 辅酶 Q10 纳米乳的傅里叶红外光谱结果。采用傅立叶变换红外光谱探讨辅酶 Q10 纳米乳液中分子间相互作用的形式。图 4 为辅酶 Q10 原料药、辅酶 Q10 纳米乳、空白纳米乳的红外光谱图谱。其中辅酶 Q10 原料的特征峰有 2964 cm^{-1} 是烷基的反对称伸缩振动峰, 1648 cm^{-1} 是酮基伸缩振动峰, 1264 cm^{-1} 是醚基的伸缩振动峰。辅酶 Q10 纳米乳中并没有出现和辅酶 Q10 在同样波段之间的特征峰,且与空白纳米乳的红外谱图基本一致,这说明辅酶 Q10 被完好负载在纳米乳液体系当中。本研究红外光谱结果与文献[15]中的结果相似。

2.3.2 透射电镜观察。图 5 是 100 nm 和 200 nm 尺寸下透射电镜观察辅酶 Q10 纳米乳的微观形貌,磷钨酸不与辅酶 Q10 纳米乳滴发生反应,它只是沉积在辅酶 Q10 纳米乳滴旁形成背景,磷钨酸的重原子相对于辅酶 Q10 纳米乳中的碳氢氧氮等轻原子更能阻挡散射电子,因此有磷钨酸沉积的地方会在透射电镜图片中更黑而辅酶 Q10 纳米乳滴在透射电镜下会显得更亮。从图中可知制备的辅酶 Q10 纳米乳的乳滴呈现较好的球形,分散均匀,不粘连。本文的辅酶 Q10 纳米乳的透射电镜图片与周奔等[13]研究的纳米乳滴的透射电镜图片相似。

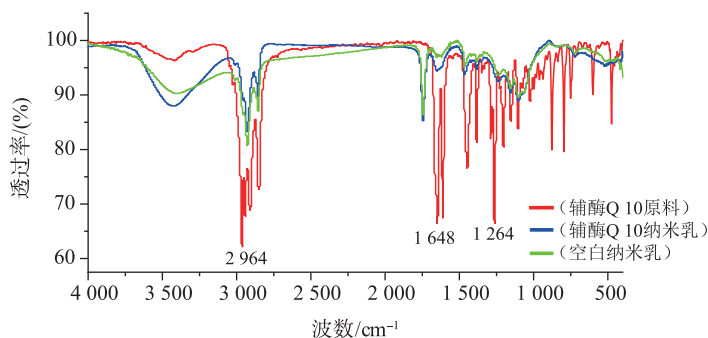


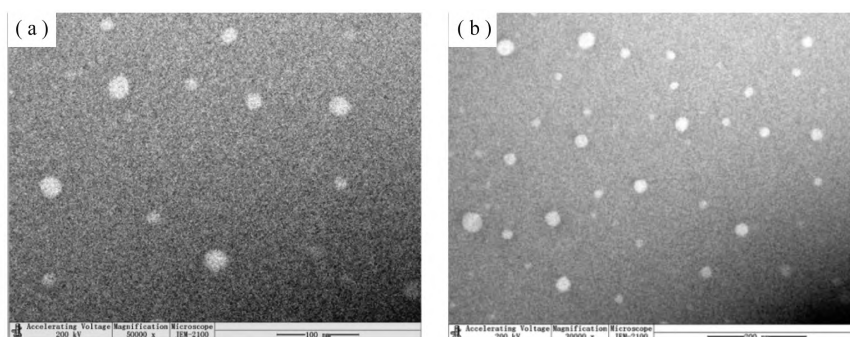
图4 辅酶 Q10 原料、辅酶 Q10 纳米乳、空白纳米乳红外光谱图

Fig. 4 Infrared spectra of coenzyme Q10 raw material, coenzyme Q10 nanoemulsion, and blank nanoemulsion

2.4 辅酶 Q10 纳米乳稳定性的评估

离心稳定常数(K_c)是衡量乳剂稳定性的一个重要指标, K_c 的数值越小说明乳剂受离心力的影响越小,乳剂的体系越稳定[16]。将制备的辅酶 Q10 纳米乳分别在 2 000、4 000、6 000、8 000、10 000 r/min 条件下离心 15 min 后未发生聚集、凝结、相分离和破乳现象。由图 6(a)可知,测得纳米乳的离心稳定常数在 2 000、4 000 r/min 转速时无显著性($p>0.05$),在 6 000、8 000、10 000 r/min 转速时离心稳定常数均表现出显著性差异($p>0.05$),表明纳米乳液辅酶 Q10 纳米乳在低转速时受离心力的影响较小。

钠离子是常见的食品添加剂并且存在于人的肠胃中,其可能影响纳米乳摄入到人体后的状态。本实验研究了不同浓度的 Na^+ ($0 \sim 0.5 \text{ mol/L}$)对乳液性能的影响。如图 6(b)所示,添加不同浓度的 NaCl 并没有引起辅酶 Q10 纳米乳粒径和 PDI 的明显变化,但其表面电位的绝对值逐渐减小,这可能是由于 Na^+ 对于纳米乳具有静电屏蔽作用, Na^+ 浓度越高,对于乳滴表面电势屏蔽作用越强,导致乳滴表面 Zeta 电位越低[17]。



注:(a) 100 nm;(b) 200 nm。

图5 透射电镜观察辅酶 Q10 纳米乳结果

Fig. 5 The observation of coenzyme Q10 nanoemulsion by transmission electron microscopy

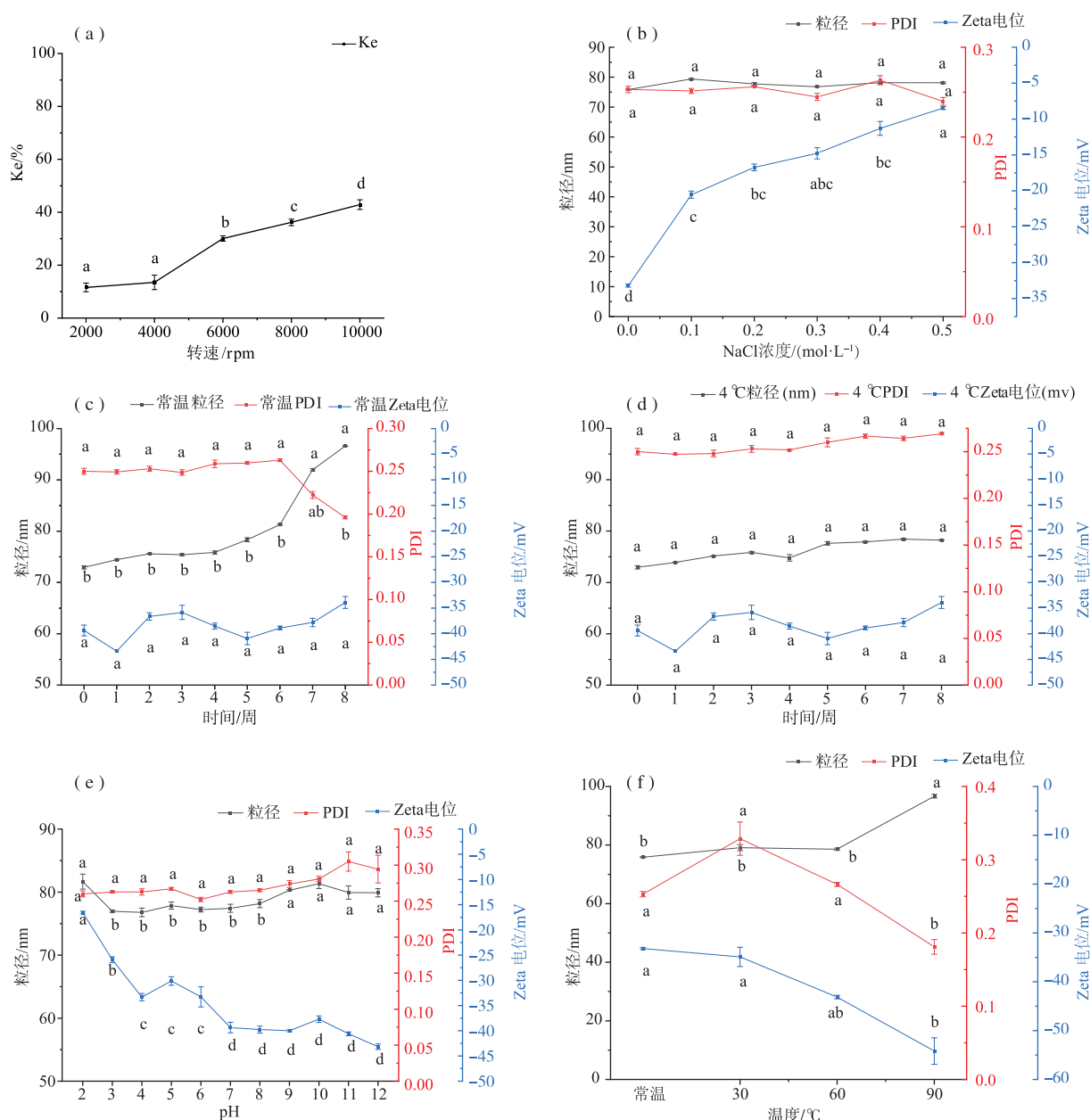
如图 6(c)所示,在常温下贮藏 8 周,辅酶 Q10 纳米乳的粒径随着储存时间的增加而逐渐增大,由 72.3 nm 增加到 96.6 nm ($p < 0.05$),PDI 由 0.250 降低到 0.196 ($p > 0.05$),但均小于 0.3。如图 6D 所示,相较于常温贮藏,4 °C 贮藏下辅酶 Q10 纳米乳的粒径和 PDI 均逐渐增加但差异不显著 ($p > 0.05$)。此外,在常温与 4 °C 贮藏下辅酶 Q10 纳米乳的 Zeta 电位变化不大 ($p > 0.05$),且其绝对值都大于 30 mV。该实验结果说明辅酶 Q10 纳米乳 4 °C 条件下稳定性良好,更宜在 4 °C 下储存,原因可能是常温条件下纳米乳的分子运动速率相较于 4 °C 条件下更快,增大了粒子间相互碰撞的几率,从而增加了粒子融合变大的概率。

由图 6(e)可知,随着 pH 的增加,辅酶 Q10 纳米乳的粒径呈先减小后增加趋势,在 pH 为 3~8 时纳米乳的粒径较小,PDI 没有显著性变化。与中性环境相比,经过 pH 2.0 处理后辅酶 Q10 纳米乳的平均粒径增加了 5.47 % ($p < 0.05$),经过极端碱性 pH 10.0 处理后,辅酶 Q10 纳米乳的平均粒径增加了 5.06 % ($p < 0.05$)。此外,在 pH 为 2~12 的范围内,随着 pH 降低,样品的 Zeta 电位总体变化趋势为从较高的负值向 0 趋近。上述结果可能是由于低 pH 条件下纳米乳中的 H^+ 浓度增高会中和纳米乳中油滴表面的负电荷,降低乳滴之间的静电斥力,引起油滴的聚集,导致在极端酸性条件下粒径增加。而在极端碱性环境中,乳化剂易水解失效,可能会使油滴间斥力减小而碰撞聚集,引起粒径增大^[27]。

由图 6(f)可知,在 30 °C 和 60 °C 的条件下辅酶 Q10 纳米乳的粒径变化不明显 ($p > 0.05$),而在 90 °C 加热后辅酶 Q10 纳米乳的粒径相较于常温下增加了 27.5 % ($p < 0.05$),说明辅酶 Q10 纳米乳具有一定的温度稳定性,在 60 °C 条件下表现良好的稳定性,但在 90 °C 高温环境下稳定性不好。此外,PDI 结果在高温条件下相较于常温变小 ($p < 0.05$)。该结果可能是由于高温导致乳液内部的分子运动速率加剧,增大了粒子间相互碰撞的几率,从而使粒径加大^[27];还有可能是由于 90 °C 高温条件下破坏了大豆卵磷脂的结构^[28],进而影响其乳化功能,使乳剂易聚集,进而使辅酶 Q10 纳米乳的粒径增大。图 6(f)还反映了不同温度下辅酶 Q10 纳米乳 Zeta 电位的变化情况。可知随着温度升高,辅酶 Q10 纳米乳的 Zeta 电位绝对值增加,原因可能是高温下分子热运动加剧,使电荷排列更有序且减少反离子吸附,增加有效电荷,使 Zeta 电位绝对值升高^[29]。

2.5 辅酶 Q10 纳米乳体外抗氧化性的评估

2.5.1 DPPH 自由基清除能力。溶液中存在的自由基清除剂可捕获 DPPH 自由基的单电子,使溶液在 517 nm 处吸光度减弱,且减弱程度与自由基清除剂的浓度有关,因此可用于评价物质对 DPPH 清除能力的大小^[30]。由图 7 可知,在实验条件下辅酶 Q10 纳米乳的 DPPH 自由基清除率为 $(84.0 \pm 5.30)\%$,显著高于辅酶 Q10 悬浮液的 DPPH 自由基清除率 $(4.93 \pm 0.51)\%$ ($p < 0.05$),上述结果说明辅酶 Q10 纳米乳能够更有效的清除 DPPH 自由基,具有更好的抗氧化性能。这可能是由于辅酶 Q10 纳米乳粒径小,比表面积大,相同质量下颗粒数更多,而辅酶 Q10 悬浮液易沉淀团聚,致使辅酶 Q10 纳米乳能提供更多活性位点与自由基接触,增加自由基清除能力。



注:(a) 不同转速离心对辅酶 Q10 纳米乳的影响;(b) 不同 Na^+ 浓度对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响;(c) 4 °C 储存对对辅酶 Q10 纳米乳的影响;(d) 常温储存对辅酶 Q10 纳米乳的影响;(e) 不同 pH 对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响;(f) 不同温度对辅酶 Q10 纳米乳稳定性的影响。

图 6 稳定性评估结果

Fig. 6 Stability evaluation results

2.5.2 ABTS 自由基清除能力。ABTS 与过二硫酸钾反应生成的 ABTS 自由基,该自由基在 734 nm 波长下具有最大吸收峰。当向 ABTS 自由基溶液中加入某种物质时,若该物质能够清除自由基,会导致在 734 nm 下的吸光度降低,说明被测物具有抗氧化活性^[31]。由图 7 可知,辅酶 Q10 纳米乳的 ABTS 自由基清除率为 $(99.93 \pm 6.01)\%$ 显著高于辅酶 Q10 悬浮液的 ABTS 自由基清除率 $(6.84 \pm 0.59)\%$ ($p < 0.05$),这可能是由于纳米乳良好的稳定性和分散性使得更均匀分散,以便更有效地在体系中与自由基发生反应,增加自由基的清除率。

2.5.3 羟自由基清除能力。羟自由基氧化水杨酸得到 2,3-二羟基苯甲酸,用其在 510 nm 处的吸光值表示羟自由基的含量。反应体系中加入具有清除羟自由基作用的物质即可降低该吸光值。因此,可通过测定 510 nm 处吸光度的变化来计算待测物质羟自由基含量的变化^[30]。由图 7 可知,辅酶 Q10 纳米乳的羟自由基清除率为 $(89.70 \pm 4.20)\%$ 显著高于辅酶 Q10 悬浮液的羟自由基清除率 $(17.53 \pm 1.64)\%$ ($p < 0.05$)。

实验结果说明辅酶 Q10 纳米乳的羟自由基清除能力强于辅酶 Q10 悬浮液。

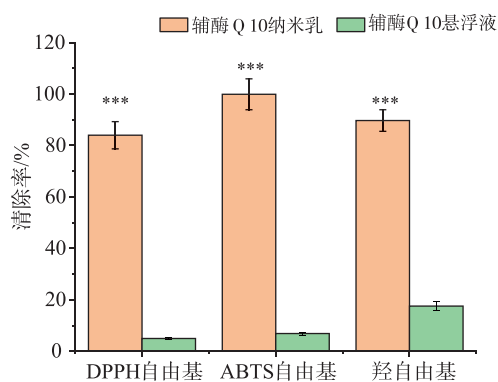


图 7 DPPH 自由基、ABTS 自由基、羟自由基清除能力结果

Fig. 7 Results of DPPH radical, ABTS radical, and hydroxyl radical scavenging ability of coenzyme Q10 nanoemulsion

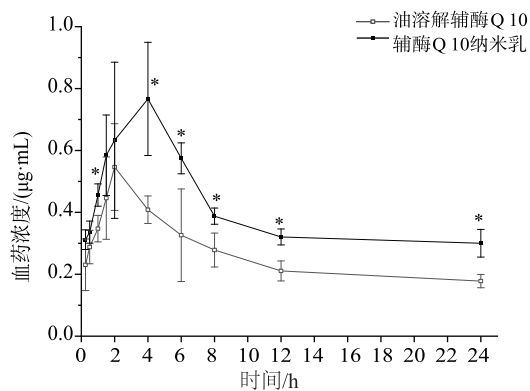


图 8 辅酶 Q10 血药浓度随时间的变化

Fig. 8 The change in blood concentration of coenzyme Q10 over time

2.6 体内生物利用率研究

如图 8 所示,在每个取血时间点,辅酶 Q10 纳米乳组的辅酶 Q10 血药浓度均高于油溶解辅酶 Q10 组的辅酶 Q10 血药浓度($p < 0.05$)。0~4 h 与 0~2 h 分别是辅酶 Q10 纳米乳组与辅酶 Q10 油溶液组的血药浓度增加时间段,属于吸收分布过程。辅酶 Q10 纳米乳组在 4 h 时血药浓度达到最大为 0.767 μg/mL,油溶解辅酶 Q10 纳米乳组在 2 h 时血药浓度达到最大为 0.546 μg/mL。辅酶 Q10 纳米乳组的最大血药浓度是油溶解辅酶 Q10 血药浓度的 1.405 倍,辅酶 Q10 纳米乳的曲线下面积(0~24 h)是辅酶 Q10 油溶液的 1.543 倍。该实验结果可能是由于高压均质制备的辅酶 Q10 纳米乳的粒径小、比表面积大,能增加其与胃肠壁的接触面积,更易穿透胃肠道黏液层和接近肠上皮细胞,能有效提高辅酶 Q10 的生物利用率^[22]。

3 结论

本实验以中链脂肪酸甘油三酯为油相,将大豆磷脂作为乳化剂,吐温-80 作为助乳化剂,采用高压均质法制备辅酶 Q10 纳米乳液,通过响应面优化,获得辅酶 Q10 纳米乳的最佳制备工艺为:中链脂肪酸甘油三酯质量为 2 g、大豆磷脂的质量为 5.35 g、吐温-80 质量为 1 g、均质压力为 90 MPa 和均质时间为 14 min。在此条件下,辅酶 Q10 纳米乳液的平均粒径为(72.9±0.32) nm, PDI 为 0.25±0.003 4, Zeta 电位为(-34.9±1.97)mV。经过对优化后的辅酶 Q10 纳米乳进行表征,发现在此条件辅酶 Q10 包封率及其乳液稳定性较好,其纳米乳抗氧化性能显著高于辅酶 Q10 悬浮液。此外,辅酶 Q10 纳米乳的体内生物利用率高于油溶解的辅酶 Q10。本研究后续将通过动物实验来验证辅酶 Q10 纳米乳的体内抗氧化功能和抗疲劳功效,以期扩宽辅酶 Q10 纳米乳在食品和医药等领域中的应用。

参 考 文 献

- [1] 彭亮,赵鹏,李彬,等. 辅酶 Q10 的人体抗氧化作用研究[J]. 实用预防医学,2011,18(8):1546-1548.
- [2] NYARIKI J N, KIMANI N M, KIBET P S, et al. Coenzyme Q10 exhibits anti-inflammatory and immune-modulatory thereby decelerating the occurrence of experimental cerebral malaria[J]. Molecular and Biochemical Parasitology, 2023, 255: 111579.
- [3] YANG Y K, WANG L P, CHEN L, et al. Coenzyme Q10 treatment of cardiovascular disorders of ageing including heart failure, hypertension and endothelial dysfunction[J]. Clinica Chimica Acta, 2015, 450: 83-89.
- [4] JIA L, ZHOU Y, ZHANG G, et al. Nanoemulsion delivery strategy improves kellerin solubility, stability, and therapeutic efficacy in ischemic stroke[J]. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2024, 100: 106116.
- [5] JIA M, BAI W, DENG J, et al. Enhancing solubility and bioavailability of octacosanol: development of a green O/W nanoemulsion synthesis process[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2024, 651: 123726.
- [6] IQBAL R, MEHMOOD Z, BAIG A, et al. Formulation and characterization of food grade O/W nanoemulsions encapsulating quercetin and curcumin: insights on enhancing solubility characteristics[J]. Food and Bioproducts Processing, 2020, 123: 304-311.
- [7] AHMED K, LI Y, MCCLEMENTS D J, et al. Nanoemulsion-and emulsion-based delivery systems for curcumin: encapsulation and release

- properties[J]. Food Chemistry, 2012, 132(2): 799-807.
- [8] 孙琪. 中碳链甘油三酯对非酒精性脂肪肝小鼠的影响及其纳米乳液的制备研究[D]. 烟台:烟台大学, 2021.
- [9] OZTURK Z A, KADAYIFCI A. Insulin sensitizers for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease[J]. World Journal of Hepatology, 2014, 6(4): 199-206.
- [10] CHO H T, SALVIA-TRUJILLO L, KIM J, et al. Droplet size and composition of nutraceutical nanoemulsions influences bioavailability of long chain fatty acids and Coenzyme Q10[J]. Food Chemistry, 2014, 156: 117-122.
- [11] 王文苹, 李治芳, 徐晖, 等. 响应面法优化超声制备葵花籽油纳米乳的工艺研究[J]. 食品科技, 2010, 35(11): 186-189.
- [12] 邓乾华, 杨善彬, 李想, 等. UV 法快速检测辅酶 Q10 软胶囊的含量[J]. 广东化工, 2021, 48(5): 173-174.
- [13] 周奔, 樊燕蓉. 辅酶 Q10 纳米乳液的制备以及性能研究[J]. 药物生物技术, 2021, 28(6): 561-568.
- [14] 农家慧, 蒋倩, 孔令艳, 等. 基于凹凸棒稳定的姜精油纳米乳的性质表征和结肠靶向研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(11): 13-19.
- [15] 王忠娟, 李紫菡, 张秀娟, 等. 基于红松籽油辅酶 Q10 纳米乳的制备、表征和药代动力学研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(21): 225-234.
- [16] 刘秉宜. 磷脂酰丝氨酸乳剂改善脑认知功能的机制研究及工艺参数初探[D]. 聊城:聊城大学, 2023.
- [17] 黄娟, 王云娟, 白华, 等. 复配亚麻籽油和辅酶 Q10 乳液的制备及表征[J]. 农业工程学报, 2020, 36(6): 292-299.
- [18] 袁楚珊, 程小梅, 孙畅, 等. 添加柑橘果胶和吐温-80 的芥末精油纳米乳液稳定性、抑菌活性及其在砂糖橘保鲜中的应用[J]. 食品科学, 2024, 45(16): 213-222.
- [19] XIE W, GUO S, QIN J, et al. Preparation, characterization, and digestibility of a Yakuchinone B-loaded nanoemulsion system stabilized by soybean lecithin[J]. LWT, 2024: 116735.
- [20] 羌宇, 张耀宗, 余勃, 等. ABTS 法和 DPPH 法测定类胡萝卜素清除自由基能力的适用性[J]. 南昌大学学报(理科版), 2019, 43(6): 543-549.
- [21] 张丽媛, 陈如, 田昊, 等. 超微粉碎对苹果膳食纤维理化性质及羟自由基清除能力的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(15): 139-144.
- [22] 张晓雪, 赵修华, 刘艳杰, 等. 辅酶 Q10/两亲性木聚糖纳米悬浮剂的制备以及生物利用度[J]. 植物研究, 2020, 40(6): 943-950.
- [23] 杨璇. 辅酶 Q10 纳米制剂制备、表征及其生物效应研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2018.
- [24] KOMMURU T R, GURLEY B, KHAN M A, et al. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) of coenzyme Q10: formulation development and bioavailability assessment[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2001, 212(2): 233-246.
- [25] KHATTAB A, HASSANIN L, ZAKI N. Self-nanoemulsifying drug delivery system of coenzyme (Q10) with improved dissolution, bioavailability, and protective efficiency on liver fibrosis[J]. An Official Journal of the American Association of pharmaceutical Scientists, 2017, 18(5): 1657-1672.
- [26] 王玥, 陈洪国, 史玉敏, 等. 响应面法优化桂花发酵液及其抗氧化能力测定[J]. 中南农业科技, 2023, 44(9): 51-55.
- [27] 王竹青, 葛圣松, 邵谦. 乳液聚合中乳胶粒粒径大小及分布的影响因素[J]. 胶体与聚合物, 2008, 26(4): 28-31.
- [28] 许海丹, 吕秀阳, 李英华. 卵磷脂稳定性的研究进展[J]. 科技通报, 2006(2): 267-270.
- [29] WU G, WANG C, TAN Z, et al. Effect of temperature on emulsion polymerization of n-butyl acrylate[J]. Procedia Engineering, 2011, 18: 353-357.
- [30] 文镜, 贺素华, 杨育颖, 等. 保健食品清除自由基作用的体外测定方法和原理[J]. 食品科学, 2004(1): 190-195.
- [31] 王秀芹, 林彤, 毕福钧, 等. 生脉胶囊清除 ABTS 自由基能力研究[J]. 今日药学, 2024, 34(5): 331-335.

(责任编辑:刘庆松)