

响应面分析法优化葫芦素 B 脂质纳米粒高压均质生产工艺

刘钰莹^{1,2} 赵春燕² 马越¹ 赵晓燕¹ 张超^{1,*}

(1.北京市农林科学院蔬菜研究中心 果蔬农产品保鲜与加工北京市重点实验室 农业部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室 农业部都市农业(北方)重点实验室 北京 100097;
2.沈阳农业大学食品学院 辽宁沈阳 110866)

摘要:以葫芦素 B、脂质(单硬脂酸甘油酯)和乳化剂(泊洛沙姆 188 和大豆卵磷脂等比例混合物)为原料,采用高压均质法制备葫芦素 B 脂质纳米粒。以单因素实验考察均质压力、脂质含量、乳化剂含量对葫芦素 B 脂质纳米粒包封率的影响,并采用响应面实验优化葫芦素 B 脂质纳米粒生产工艺。结果表明:均质压力对葫芦素 B 脂质纳米粒包封率的影响最大,其次为脂质和乳化剂含量。当压力为 74.8 MPa,乳化剂、脂质及葫芦素 B 三者含量比为 12.6:10.3:1 时,葫芦素 B 脂质纳米粒包封率达到最高值,为 92.4%,与理论值仅差 1.62%。模型真实可靠。

关键词:葫芦素 B 脂质纳米粒 响应面法 包封率

Optimization of solid lipid nanoparticle of cucurbitacin B by response surface methodology

LIU Yu-ying^{1,2} ZHAO Chun-yan² MA Yue¹ ZHAO Xiao-yan¹ ZHANG Chao^{1,*}

(1.Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing Key Laboratory of Fruits and Vegetable Storage and Processing, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops(North China), Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Urban Agriculture(North), Ministry of Agriculture, Beijing 100097, China;
2.College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: The solid lipid nanoparticle of cucurbitacin B was prepared by high pressure homogenization with the lipid of monoglyceride, the emulsifier of mixture of the soybean lecithin and poloxamer 188 (1:1). The parameters of the high pressure homogenization were optimized by response surface methodology with the homogenization pressure, lipid content and emulsifier content as the main factors, and the encapsulation efficiency as the response. The homogenization pressure was the key factor affecting the encapsulation efficiency of cucurbitacin B, followed by the lipid content and emulsifier content. When the homogenization pressure was 74.8 MPa, and the ratio of the lipid - emulsifier - cucurbitacin B was 12.6 : 10.3 : 1, the encapsulation efficiency of cucurbitacin B reached the maximum of 92.4%. The validation experiment showed that the relative deviation between real and theoretical value was only 1.62%. The regression model was reliable.

Key words: cucurbitacin B; solid lipid nanoparticles; response surface methodology; encapsulation efficiency

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2017)12-0254-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2017.12.046

葫芦素 B 属于四环三萜类化合物,是葫芦素家族中含量最丰富的一种^[1-2],具有消炎、解毒、抗肿瘤、保肝、提高机体免疫力等功能^[3-5]。葫芦素 B 疏水性强,难溶于水或甲醇,目前有片剂和滴丸两种剂型,但这两种剂型会出现胃肠道不良反应,生物利用度低等问题^[6-9]。脂质纳米粒是指以固态的天然或

合成的类脂为骨架材料,将药物包裹于类脂中,制成粒径为 100~1000 nm 的固体胶粒给药系统,具有生物利用度高和毒性低的特点^[10-13],因此可将葫芦素 B 包裹于脂质纳米粒中,提高其生物利用度。

高压均质法是制备脂质纳米粒的经典方法,生产出的脂质纳米粒具有粒径小、粒度分布均匀和稳

收稿日期:2016-11-04

作者简介:刘钰莹(1992-),女,硕士研究生,研究方向:农产品深加工, E-mail: 18515344964@163.com。

* 通讯作者:张超(1978-),男,博士,副研究员,研究方向:果蔬深加工, E-mail: zhangchao@nercv.org。

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-26);北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJXC20170205);果蔬农产品保鲜与加工北京市重点实验室专项(Z141105004414037)。

定性高等特点,该工艺已经制备平均粒径分别为400 nm的克霉唑脂质纳米粒^[14]、125 nm的白藜芦醇固体脂质纳米粒^[15]和149 nm的水飞蓟宾脂质纳米粒^[16],其纳米粒包封率高、稳定性好。

本研究首先考察高压均质压力、脂质含量和乳化剂含量对葫芦素B脂质纳米粒包封率的影响,确定最佳范围,然后采用响应面分析方法优化高压均质法制备葫芦素B脂质纳米粒的最佳工艺参数,以期葫芦素B脂质纳米粒的生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

葫芦素B标准品 四川省维克奇生物科技有限公司;无水乙醇 色谱纯,国药集团化学试剂有限公司;单硬脂酸甘油酯、泊洛沙姆188、大豆卵磷脂 天津市光复精细化工研究所。

Agilent 1260 高效液相色谱仪,配有四元泵及自动进样器、DAD 检测器 Agilent 公司;电热恒温水浴锅 北京市永光明医疗仪器厂;KQ-500DE 数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;MS7-H550-Pro 磁力搅拌器 SCILOGEX 公司;NS1001L2K 高压均质机 意大利 Niro Soavi 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 葫芦素B脂质纳米粒制备 脂质纳米粒制备参考前人的方法^[17-18],并进行改进。选取单硬脂酸甘油酯为脂质,泊洛沙姆188与磷脂等比例混合物为乳化剂。称取10 mg葫芦素B与200 mg脂质混合,水浴加热至80℃作为油相;称取100 mg混合乳化剂溶解于水中加热至80℃作为水相,在磁力搅拌(1000 r/min)下,将热的水相滴加入油相中,继续搅拌30 min,采用高压均质机进行均质,均质压力85 MPa,冰水浴中冷却,即得纳米粒分散液,4℃冷藏备用。

1.2.2 葫芦素B脂质纳米粒包封率的测定

1.2.2.1 葫芦素B标准曲线绘制 称取葫芦素B标准品0.207 g,溶于色谱级乙醇中,配制成质量浓度为2 mg/mL标准储备液。分别稀释至质量浓度分别为0.01、0.02、0.05、0.1和0.15 mg/mL的标准溶液,使用HPLC测定峰面积。色谱柱条件:XBridge-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);柱温25℃;流动相:A相:纯水,B相:乙腈;梯度洗脱:0~30 min,50% B;30~45 min,50%~100% B;45~60 min,100%~50% B;流速1 mL/min;检测波长228 nm^[19]。以葫芦素B的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.2.2 包封率的测定 准确量取葫芦素B脂质纳米粒溶液1 mL,在10000 r/min、4℃条件下离心30 min,收集上清液。同时,准确量取葫芦素B脂质纳米粒溶液1 mL于25 mL容量瓶中,加入20 mL乙醇,超声波处理30 min,再使用乙醇定容至25 mL。采用HPLC测定上清液及固体脂质纳米粒中葫芦素B浓度。色谱条件同标准曲线的方法。根据式(1)

计算葫芦素B包封率^[20]。

$$EE(\%) = \frac{M_{总} - M_{游}}{M_{总}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: $M_{总}$ 为葫芦素B在脂质纳米粒溶液中的总质量; $M_{游}$ 为游离葫芦素B的质量。

1.2.3 单因素实验 固定脂质含量为200 mg,乳化剂含量为100 mg,考察均质压力(40、60、80、100、120 MPa)对包封率的影响;固定脂质含量200 mg,均质压力为80 MPa,考察乳化剂含量(50、100、200、400、800 mg)对包封率的影响;固定均质压力为80 MPa,乳化剂含量为100 mg,考察脂质含量(50、100、200、400、600 mg)对包封率的影响。

1.2.4 响应面优化实验 在单因素实验的基础上,采用响应面分析法优化制备工艺,选择3个因素,即均质压力、乳化剂含量及脂质含量为考察对象,以包封率为响应值,进行三因素三水平的响应面分析实验,优化葫芦素B脂质纳米粒制备工艺,其因素水平编码值见表1。

表1 响应面实验因素水平表
Table 1 Factors and levels table of response surface experiment

水平	因素		
	A 均质压力 (MPa)	B 乳化剂含量 (mg)	C 脂质含量 (mg)
+1	120	200	200
0	85	100	100
-1	50	50	50

1.3 数据处理与统计

实验所有数据均有三次重复,计算平均值和标准偏差。使用统计分析软件DPS v7.05进行处理,Duncan's 新复极差法进行显著性分析($p \leq 0.05$)。采用Design-Expert 软件对所得数据进行回归分析,图像绘制采用Origin 8.0 软件(美国Origin Lab Corporation 公司)。

2 结果与分析

2.1 葫芦素B标准曲线绘制

图1显示葫芦素B含量与峰面积呈线性关系,其回归方程为 $Y = 16347 X - 21.8$,相关性系数 $R^2 = 0.9997$,葫芦素含量在0~0.20 mg/mL范围内线性关系良好。

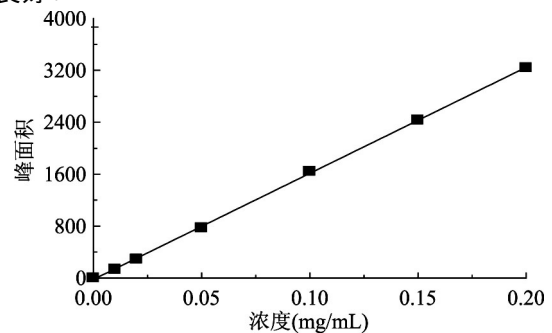


图1 葫芦素B标准曲线

Fig.1 Standard curve of cucurbitacin B

2.2 单因素对脂质纳米粒包封率的影响

2.2.1 均质压力对葫芦素 B 包封率的影响 图 2 为高压均质压力对葫芦素 B 包封率的影响。当均质压力小于 80 MPa 时,随着压力的增加,包封率增大;超过 80 MPa 时,包封率随压力的增加而下降,原因在于当压力过大时,产生的剪切力和空穴效应,导致了葫芦素 B 纳米粒破碎^[21],因此,均质压力中心值选在 80 MPa 附近。

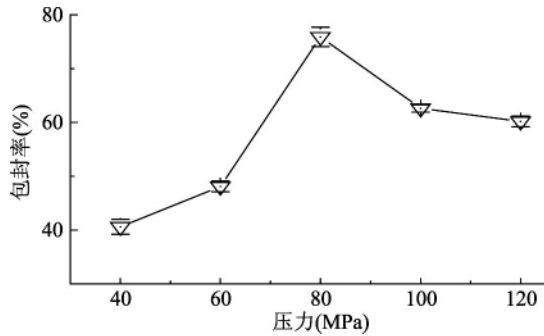


图 2 均质压力对葫芦素 B 包封率的影响

Fig.2 Effect of homogenization pressure on the encapsulation efficiency of cucurbitacin B

2.2.2 乳化剂含量对葫芦素 B 包封率的影响 图 3 为乳化剂用量对葫芦素 B 纳米脂质载体的包封率的影响。随着乳化剂含量增加,乳化作用显著提高葫芦素 B 的溶解效果,葫芦素 B 包封率增大;当乳化剂比例过大,会导致药物析出,降低包封程度,因此乳化剂含量中心值选在 100 mg 附近,这与 Kovacevic 等人的研究趋势一致^[22]。

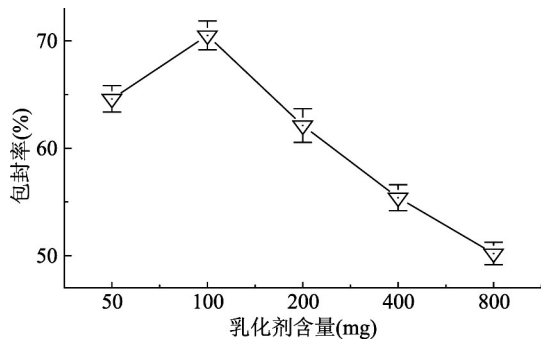


图 3 乳化剂含量对葫芦素 B 包封率的影响

Fig.3 Effect of the emulsifier to cucurbitacin B ratio on the encapsulation efficiency of cucurbitacin B

2.2.3 脂质含量对葫芦素 B 包封率的影响 图 4 为脂质含量对葫芦素 B 包封率的影响。随着脂质含量增大,葫芦素 B 包封率也呈上升趋势,在脂质含量为 100 mg 时,包封率达到最大值。研究显示药物用量一定时,加入过多的脂质会导致晶体析出,不能得到包封率较高的纳米分散体系^[23],与本文结论一致。因此脂质含量选在 100 mg 附近。

2.3 响应面实验分析

2.3.1 回归模型的建立及方差分析 研究选取均质压力、乳化剂含量、脂质含量作为响应面实验因素,以葫芦素 B 脂质纳米粒包封率为响应值,运用 Design-Expert 软件设计响应面实验,设计方案及结

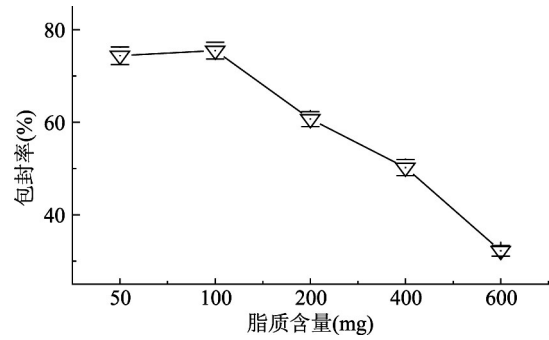


图 4 脂质含量对葫芦素 B 包封率的影响

Fig.4 Effect of lipid to cucurbitacin B ratio on the encapsulation efficiency of cucurbitacin B

果见表 2 所示。

表 2 响应面实验设计结果

Table 2 Experiment result of response surface methodology

实验号	A	B	C	Y: 葫芦素包封率 (%)
1	-1	-1	0	62.1
2	-1	0	1	40.6
3	-1	1	0	62.7
4	0	0	0	74.5
5	0	1	1	52.2
6	0	0	0	74.1
7	0	-1	-1	86.9
8	0	0	0	73.8
9	1	-1	0	48.2
10	0	-1	1	41.7
11	0	1	-1	85.8
12	1	0	1	26.1
13	1	1	0	32.2
14	0	0	0	72.9
15	-1	0	1	27.1
16	0	0	0	73.8
17	1	0	1	25.4

对表 2 实验数据进行多元回归分析,得到各因子对葫芦素 B 提取率影响的二次回归模型: $Y = 50.22 + 0.27A + 7.96B + 2.63C + 7.22AB + 0.28AC + 6.43BC - 9.83A^2 + 12.58B^2 + 3.36C^2$ 。

对响应面分析结果进行方差分析(表 3),模型的 $p = 0.0021 < 0.01$,该模型极显著,方差的失拟项不显著 $p = 0.1700 > 0.05$,说明表面模型回归拟合较好;决定系数 $R^2 = 0.9747$,说明葫芦素 B 包封率与模型回归值有较好的一致性^[24-27]。

各因素对葫芦素 B 包封率影响排序为:压力 > 脂质含量 > 乳化剂含量。A、AB、AC、A²、B² 对葫芦素 B 包封率有显著影响($p < 0.05$),其余因子均不显著;各因素对葫芦素 B 包封率的影响不是简单的线性关系。

2.3.2 各因素交互作用的影响 均质压力、乳化剂含量、脂质含量对包封率的交互影响见图 5。均质压

表3 拟合二次多项式模型的方差分析
Table 3 Variance analysis for the fitted quadratic polynomial model

方差来源	平方和	df	均方	F 值	p 值	显著性
模型	7.1×10^3	9	7.9×10^2	38.6	0.0021	**
A	1.3×10^2	1	1.3×10^2	6.12	0.0013	**
B	5.8×10^1	1	2.4×10^0	0.12	0.0930	
C	2.4×10^0	1	5.8×10^{-2}	2.81	0.0710	
AB	6.8×10^1	1	6.8×10^1	3.32	0.0057	**
AC	1.3×10^2	1	1.3×10^2	6.54	0.0140	*
BC	5.8×10^1	1	5.8×10^1	2.84	0.0900	
A ²	1.4×10^3	1	1.4×10^3	27.9	0.0012	**
B ²	1.6×10^1	1	1.6×10^1	18.8	0.0034	**
C ²	3.8×10^0	1	3.8×10^0	0.96	0.3600	
残差	1.4×10^2	7	2.0×10^1			
失拟项	5.1×10^1	1	5.1×10^1	12.3	0.1700	
误差	9.2×10^1	6	1.5×10^1			
总离差	7.3×10^3	16	1			

注: * 影响显著 ($p < 0.05$), ** 影响极显著 ($p < 0.01$)。

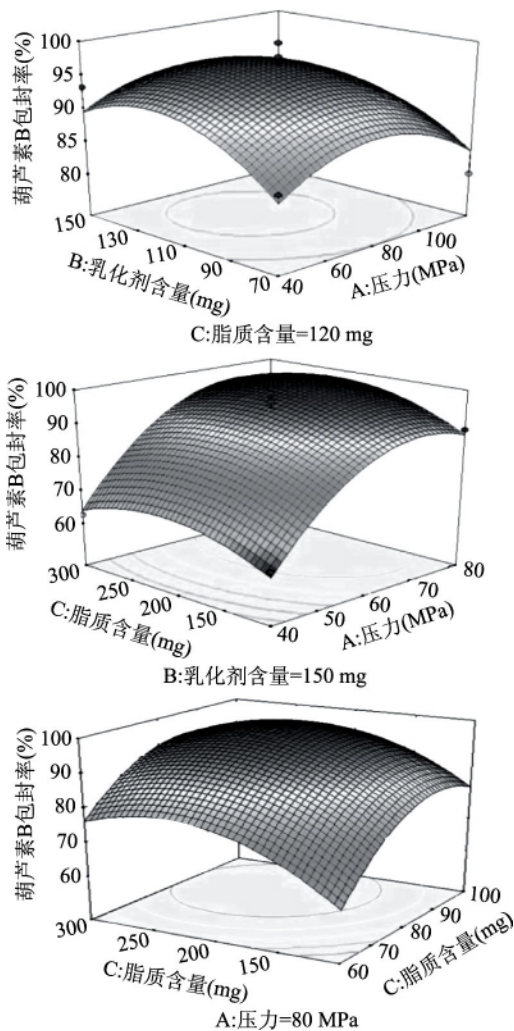


图5 条件参数交互作用对葫芦素 B 脂质纳米粒包封率的影响

Fig.5 Response surface plots for the interactive of 3 factors on the encapsulation efficiency cucurbitacin B

力对葫芦素 B 包封率影响最显著, 脂质含量次之, 乳

化剂含量影响最小。图 5 可知, 当脂质含量一定时, 在不同乳化剂含量条件下, 随着压力的增大, 包封率呈先急速上升而后下降的趋势; 当乳化剂含量一定时, 在不同脂质含量条件下随着压力的增大, 葫芦素 B 包封率呈上升趋势; 当压力一定时, 在不同乳化剂含量条件下, 脂质含量的变大会导致葫芦素 B 包封率的增加。

2.3.3 葫芦素 B 脂质纳米粒最优制备条件与验证
回归模型分析得出最佳生产工艺为: 当压力为 74.8 MPa; 乳化剂含量为 126 mg; 脂质含量 103 mg 时, 葫芦素 B 脂质纳米粒的包封率可达 92.4%。验证实验结果显示葫芦素 B 脂质纳米粒的包封率 90.9%, 实际值与理论值的相对偏差仅为 1.62% 模型真实可靠。

3 结论

响应面回归模型显示均质压力对葫芦素 B 脂质纳米粒包封率影响最大, 其次是脂质含量和乳化剂含量, 当均质压力为 74.8 MPa, 乳化剂、脂质及葫芦素 B 的比例为 12.6: 10.3: 1 时, 即泊洛沙姆 188 含量为 63 mg, 大豆卵磷脂含量 63 mg, 单硬脂酸甘油酯含量 103 mg, 葫芦素 B 10 mg, 葫芦素 B 脂质纳米粒包封率可达 92.4%, 与理论值仅差 1.62%, 模型真实可靠。

参考文献

[1] 王莉梅, 姚铭. 葫芦素类化合物含量测定方法的研究进展 [J]. 中国生化药物杂志 2015, 35(1): 185-188.
[2] 幺焕开, 刘鲁, 王菊, 等. 葫芦素的研究概况 [J]. 药学研究, 2005, 24(12): 737-739.
[3] Chen J C, Ming H C, Nie R L, et al. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides—structures and biological activities. [J]. Chem Inform 2005, 22(39): 386-399.
[4] 杨凯, 郑刚. 葫芦素 BE 的药理作用研究进展 [J]. 国际中医中药杂志 2006, 28(1): 27-29.

(下转第 263 页)

non-small cell lung cancer A549 cells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2013, 61 (21): 5103-5113.

[4] Lu X Y, Liu W, Wu J H, et al. A polysaccharide fraction of adlay seed (*Coix lachryma-jobi* L.) induces apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications 2013, 430(2): 846-851.

[5] 陶小军, 雷雪霏, 李云兴, 等. 薏苡仁油的镇痛止血作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 161-163.

[6] 李彦龙, 伍春, 廖志峰, 等. 薏苡仁水提液对溃疡性结肠炎大鼠血清 IL-6、IL-10 的影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(9): 42-45.

[7] Wang Q Y, Du Z Y, Zhang H. Modulation of gut microbiota by polyphenols from adlay (*Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf.) in rats fed a high-cholesterol diet [J]. International Journal of Food Sciences And Nutrition 2016, 66(7): 783-789.

[8] 李春艳. 浅论 β -环糊精在药物制剂中的应用 [J]. 中国医药指南, 2012, 10(9): 53-54.

[9] 万广闻, 谢辉, 毛春芹, 等. β -环糊精、羟丙基- β -环糊精对薄荷醇的包合行为差异性研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(18): 3336-3341.

[10] Kogawa A C, Nunes S H R, Mendonca J N, et al. Recent Advances in the Study of the Inclusion Complex Darunavir- β -Cyclodextrin by LC-MS [J]. Journal of Aoac International 2016,

99(3): 626-637.

[11] 李卫红, 王喜明, 赵红革. 薏苡仁油 β -环糊精包合工艺研究 [J]. 中国新药与临床药理, 2014, 25(5): 624-628.

[12] 王付田, 靳子明, 郭敏. 薏苡仁油-羟丙基- β -环糊精包合物制备工艺研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(10): 56-57.

[13] Qu D, He J J, Liu C Y, et al. Triterpene-loaded microemulsion using *Coix lacryma-jobi* seed extract as oil phase for enhanced antitumor efficacy-preparation and *in vivo* evaluation [J]. International Journal of Nanomedicine 2014(9): 109-119.

[14] 陶小军, 徐志立, 雷雪霏, 等. 薏苡仁油急性毒性和刺激性实验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(3): 39-40.

[15] 洪星, 徐剑, 郑小霞. 薏苡仁油提取方法研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(15): 68-70.

[16] 伍永富, 吴品江, 魏萍, 等. Box-Behnken 设计-效应面法优化木犀草素- β -环糊精包合物的制备工艺研究 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1094-1099.

[17] 郝吉福, 李菲, 王建筑, 等. 两种实验优化方法的比较研究: 在制备薄荷油- β -环糊精包合物过程中的应用 [J]. 中成药, 2011, 33(8): 1319-1323.

[18] Gu L L, Zhao Y, Lu W G. Preparation, optimization, characterization and *in vivo* pharmacokinetic study of asiatic acid tromethamine salt-loaded solid lipid nanoparticles [J]. Drug Development and Industrial Pharmacy 2016, 42(8): 1325-1333.

(上接第 257 页)

[5] Alghasham A A. Cucurbitacins—a promising target for cancer therapy [J]. International Journal of Health Sciences 2013, 7(1): 77-89.

[6] 戚建平, 卢懿, 吴伟. 脂质纳米粒在口服给药系统中的应用 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2013(10): 1008-1013.

[7] 韩飞, 刘洪卓, 李三鸣. 固体脂质纳米粒和纳米结构脂质载体在经皮给药系统中的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(10): 839-844.

[8] Weiss J, Decker E A, McClements D J, et al. Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bioactive Food Components [J]. Food Biophysics 2008, 3(2): 146-154.

[9] Esposito E, Fantin M, Marti M, et al. Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bromocriptine [J]. Pharmaceutical Research 2008, 25(7): 1521-1530.

[10] 万露, 肖芝芝, 程玲, 等. 葫芦素 B 磷脂复合物制备、表征及体外抗肿瘤活性研究 [J]. 中草药, 2015, 46(1): 48-54.

[11] 吴丽娜, 梁蓉, 杨成, 等. 辅酶 Q10 纳米结构脂质载体的制备和表征 [J]. 精细化工, 2016, 33(1): 65-70.

[12] 冷福建. 利多卡因固体脂质纳米粒的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.

[13] 郭一沙. 辣椒碱纳米结构脂质载体的制备及其特性考察 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.

[14] 艾秀娟, 陈建海, 平渊, 等. 高压均质技术在纳米制剂制备中的应用 [J]. 医药导报, 2007, 26(9): 1055-1058.

[15] 梁健钦, 刘华钢. 白藜芦醇固体脂质纳米粒在小鼠体内的分布研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 183-185.

[16] 徐希明, 李强, 朱源, 等. 水飞蓟宾脂质纳米粒的制备与鼠

体内分布研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(24): 1912-1914.

[17] 朱可馨, 王志成, 王冰, 等. 白藜芦醇固体脂质纳米粒的处方和制备工艺优化 [J]. 中成药, 2015, 37(2): 409-413.

[18] 杜昌余. 纳米粒制备方法的筛选及工艺处方优化 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2013.

[19] 上官明珠. 纳米结构脂质载体促进水飞蓟素口服吸收的研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2014.

[20] 吴军侠, 赵红侠. 高效液相色谱法测定甜瓜蒂中葫芦素 B 含量 [J]. 化学与生物工程, 2010, 27(1): 92-94.

[21] 叶兆伟, 承伟. 脂质体包封率测定方法及影响因素 [J]. 中国生物制品学杂志, 2007, 20(10): 789-792.

[22] 胡本涛, 王玉堂, 张振, 等. 响应面法优化高压均质制备 DHA 固体脂质纳米粒 [J]. 中国油脂, 2013, 38(4): 43-47.

[23] Kovacevic A, Savic S, Vuleta G, et al. Polyhydroxy surfactants for the formulation of lipid nanoparticles (SLN and NLC): effects on size, physical stability and particle matrix structure. [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2011, 406(1-2): 163-172.

[24] 王文宇, 陈大为, 邓智先, 等. 注射用葫芦素 B 固体脂质纳米粒的制备 [J]. 沈阳药科大学学报, 2010(3): 180-184.

[25] 忻娜, fatemeh zabihi, 等. 响应面法优化超临界抗溶剂法制备姜黄素-PLGA 复合颗粒 [J]. 食品科学, 2014, 35(18): 1-5.

[26] 刘文妮, 沈科萍, 张忠, 等. 响应面法优化孜然精油微胶囊工艺 [J]. 食品科学, 2014, 35(18): 17-21.

[27] 刘步云, 王永丽, 于奇建, 等. 响应面法优化载儿茶素叶酸偶联壳聚糖纳米粒的制备工艺 [J]. 食品科学, 2014, 35(14): 46-52.