

叶黄素 - DHA 复合微胶囊制备工艺的优化 及其储存稳定性和释放性能的研究

顾庆琪, 吴宇芳, 陈天阳, 王梦晶, 王 巍, 李书红

(天津科技大学 食品科学与工程学院, 天津 300457)

摘要:为提高叶黄素和 DHA 在人体中的生物利用率, 以叶黄素与 DHA 藻油为芯材, 壳聚糖与羧甲基纤维素为壁材, 采用复凝聚法制备叶黄素 - DHA 复合微胶囊, 采用单因素实验与正交实验对叶黄素 - DHA 复合微胶囊制备工艺进行优化, 并考察其储存稳定性和体外释放性能。结果表明: 叶黄素 - DHA 复合微胶囊最佳制备工艺为 pH 3.8、壁材质量浓度 1.0 g/100 mL (壳聚糖与羧甲基纤维素质量比 1:1)、单双甘油酯用量 0.7% (以 DHA 藻油质量计)、芯壁比 1:2, 在此条件下 DHA 包埋率为 84.83%, 叶黄素包埋率为 82.71%, 微胶囊产率为 87.26%; 与游离叶黄素相比, 叶黄素 - DHA 复合微胶囊展现出高的热稳定性和低的光解速率; 在体外模拟释放实验中, 叶黄素 - DHA 复合微胶囊在模拟胃液中经 2 h 消化后, 叶黄素的相对累计释放率为 23.70%, DHA 的相对累计释放率为 20.45%, 而在模拟肠液中经 4 h 消化后, 叶黄素的相对累计释放率为 77.78%, DHA 的相对累计释放率为 84.09%。综上, 叶黄素 - DHA 复合微胶囊可提高叶黄素和 DHA 的储存稳定性和缓释性能。

关键词:微胶囊; 叶黄素; DHA; 复凝聚法

中图分类号: TS225.6; TS218

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2025)06-0115-09

Optimization of preparation process of lutein - DHA composite microcapsules and their storage stability and release properties

GU Qingqi, WU Yufang, CHEN Tianyang, WANG Mengjing,
WANG Wei, LI Shuhong

(College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In order to improve the bioavailability of lutein and DHA in human body, lutein - DHA composite microcapsules were prepared by complex coacervation method with lutein and DHA as the core material, and chitosan and carboxymethylcellulose as the wall material, and the process of lutein - DHA composite microcapsules was optimized by single factor and orthogonal experiments and the storage stability and *in vitro* release properties were investigated. The results showed that the optimal preparation process for lutein - DHA composite microcapsules was pH 3.8, wall material mass concentration 1.0 g/100 mL (mass ratio of chitosan to carboxymethylcellulose 1:1), mono - diglycerides dosage 0.7% (according to mass of DHA algal oil), and core - to - wall ratio 1:2. Under these conditions, the embedding rate of DHA was 84.83%, the embedding rate of lutein was 82.71%, and the microcapsule yield was 87.26%. Lutein - DHA composite microcapsules exhibited high thermal stability and low photolysis rates compared to free lutein. In the *in vitro* simulated release experiments, the relative cumulative release rate

of lutein - DHA composite microcapsules was 23.70% for lutein and 20.45% for DHA after 2 h of digestion in simulated gastric fluid, whereas the relative cumulative release rate of lutein was 77.78% for lutein and 84.09% for DHA after 4 h of digestion in simulated intestinal

收稿日期: 2024-10-09; 修回日期: 2025-02-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32272325); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202310057200)

作者简介: 顾庆琪 (2001), 女, 在读本科, 食品科学与工程专业 (E-mail) G@163.com。

通信作者: 李书红, 副教授, 博士 (E-mail) lsh@tust.edu.cn。

fluid. In conclusion, lutein – DHA composite microcapsules can improve the storage stability and slow release properties of lutein and DHA.

Key words: microcapsules; lutein; DHA; complex coacervation

叶黄素是人体视网膜黄斑区域的重要组分,在过滤蓝光、维持眼部健康等方面发挥着重要作用^[1]。人体不能合成叶黄素,因此叶黄素主要通过饮食摄入。由于叶黄素是脂溶性化合物,在水中溶解度低,且在光照、高温等条件下易分解,致使叶黄素的生物利用率低^[2]。Shu 等^[3]将叶黄素与油相混合,经乳化后形成稳定均匀的乳液,降低了液面的表面张力和黏度,提高了叶黄素的溶解度。Zhao 等^[4]利用乳清蛋白和柠檬酸酯化马铃薯淀粉制备叶黄素微胶囊,不仅提高了叶黄素的溶解度,还提升了其储存稳定性。

二十二碳六烯酸(DHA)在促进人体健康方面展现出多元化的积极效应,成年人每天DHA摄入量应在200~300 mg,孕妇和哺乳期妇女DHA摄入量应在300~500 mg,但是作为DHA主要来源的鱼类和海鲜的消费量不足以达到其推荐摄入量^[5]。且DHA容易被活性氧自由基攻击,导致DHA在人体内生物利用率低。Weigel 等^[6]研究发现,叶黄素对油脂有抗氧化的作用,能中和自由基,保护DHA不被氧化,而且DHA和叶黄素结合可展现出显著的协同作用,增强了各自的生物活性,为开发功能性食品、膳食补充剂和药物提供了科学依据。Xiao 等^[7]研究表明,将DHA和叶黄素制成复合微胶囊,可以更好地保持二者的稳定性并实现靶向释放,从而最大化其健康效益。但目前关于叶黄素–DHA复合微胶囊的报道较少。

复凝聚法是一种常用的微胶囊制备技术,其基于两种或多种带相反电荷的高分子物质在特定条件下(如pH、温度、离子强度)发生静电相互作用,形成凝聚相,从而将芯材(如DHA、叶黄素等活性物质)包裹在微胶囊中^[8]。壳聚糖(CS)作为天然生物聚合物,其主要获取途径为甲壳素的脱乙酰化处理,展现出无毒特性与良好的生物相容性,在医药及食品中得到了普遍应用^[9]。活性金属离子容易引起DHA氧化,而壳聚糖可以通过静电排斥活性金属离子,起到保护DHA的作用。然而,仅以壳聚糖作为壁材制备的微胶囊稳定性较差。羧甲基纤维素作为天然的纤维素醚,有增稠、乳化、保水、成膜等多种性质,且本身无毒,有良好的热稳定性^[10]。壳聚糖中的氨基官能团,在酸性环境中能有效结合质子,转变

为带正电的聚电解质,这一特性促进了它与羧甲基纤维素之间的静电相互作用^[11]。因此,可结合壳聚糖和羧甲基纤维素的优点,采用复合壁材制备叶黄素–DHA复合微胶囊,提高叶黄素和DHA的稳定性。本研究采用复凝聚法制备叶黄素–DHA复合微胶囊,通过单因素实验和正交实验优化其制备条件,并研究其储存稳定性和在胃肠中的缓释性能,以为叶黄素和DHA的共递送提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

壳聚糖(50 000 Da)、羧甲基纤维素,上海麦克林有限公司;叶黄素标准品,福乐康有限公司;DHA藻油(DHA含量40%),河南恒康生物科技有限公司;戊二醛固定液,析标生物科技有限公司;冰乙酸、单双甘油酯,浙江一诺有限公司。

1.1.2 仪器与设备

HWSY21–K4型电恒温水浴锅,金坛市金城国胜实验仪器厂;T25型高速剪切机,德国IKA(中国)公司;MMS4Pro型磁力搅拌器,群安科学仪器(浙江)有限公司;XSP–2CA型三目生物光学显微镜,上海光学仪器六厂;SU1510型扫描电子显微镜,日本日立株式会社;N4S型紫外可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;TDL–5–A型离心机,上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 叶黄素–DHA复合微胶囊的制备

分别称取相同质量的壳聚糖和羧甲基纤维素,用质量分数1%的乙酸溶液溶解,充分搅拌后,于50℃水浴加热溶解,得到一定质量浓度的壳聚糖、羧甲基纤维素溶液,作为壁材溶液备用。称取0.03 g叶黄素和0.47 g DHA藻油,加入10 mL 50℃蒸馏水并充分混合,再加入一定比例的单双甘油酯(以DHA藻油质量计),用高速剪切机在10 000 r/min下剪切2 min。再加入一定量羧甲基纤维素溶液,剪切至乳液为均匀的乳白色状态并无肉眼可见的油滴时结束。磁力搅拌10 min后缓慢加入与羧甲基纤维素溶液等量的壳聚糖溶液,再用高速剪切机在10 000 r/min下剪切2 min,调节pH,磁力搅拌20 min进行复凝聚反应。反应结束后向体系中加入

10 mL 蒸馏水,并利用 10% 的 NaOH 溶液调节 pH 至 6.0。随后,在 50℃ 水浴环境中,加入 3 mL 质量分数为 2% 的戊二醛溶液固化 40 min,离心后弃掉上清液,沉淀经冷冻干燥后即得到叶黄素 - DHA 复合微胶囊。

1.2.2 叶黄素 - DHA 复合微胶囊的形态观察

采用扫描电子显微镜 (SEM) 对微胶囊样品进行表征。将样品均匀地分散在样品盘上的导电胶表面,放入离子溅射仪中对样品进行喷金处理,然后将样品盘放入样品室抽真空后上机扫描拍照。SEM 参数设置为加速电压 10 kV、距离 6.0 ~ 8.0 mm、放大倍数 1 000 倍。

1.2.3 叶黄素 - DHA 复合微胶囊粒径的测定

使用玻璃棒粘取少量的微胶囊样品于载玻片上,并在中央滴加 1 滴蒸馏水,盖上盖玻片,置于光学显微镜下,随机选取显微镜图像中的 60 个样本,逐一测量其粒径,并计算平均粒径。

1.2.4 叶黄素 - DHA 复合微胶囊产率的计算

按公式(1)计算微胶囊产率(Y)。

$$Y = m_1/m_2 \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为微胶囊样品总质量,g; m_2 为制备微胶囊所需原料总质量,g。

1.2.5 叶黄素 - DHA 复合微胶囊包埋率的测定

1.2.5.1 叶黄素包埋率

称取适量叶黄素 - DHA 复合微胶囊,加入乙醇,充分搅拌后于 3 500 r/min 下离心,弃上清液以除去未包埋的叶黄素,重复此步骤,直至上清液无色。将沉淀置于蒸馏水中,超声 15 min 使被包埋的叶黄素释放在水中,然后用乙醇溶解蒸馏水中的叶黄素,离心除去杂质,采用紫外分光光度计于 445 nm 波长下测定吸光度,利用叶黄素标准曲线计算被包埋的叶黄素含量,按公式(2)计算叶黄素的包埋率(E_1)。

$$E_1 = w_1/w_2 \times 100\% \quad (2)$$

式中: w_1 为被包埋的叶黄素含量,mg/g; w_2 为总的叶黄素含量(以加入的叶黄素量计算),mg/g。

1.2.5.2 DHA 包埋率

表面油含量的测定:准确称取叶黄素 - DHA 复合微胶囊样品于漏斗中,加入石油醚,经多次洗涤过滤后,将滤液移至已知质量的圆底烧瓶中,旋转蒸发去除石油醚,继续烘干至质量恒定,称其质量。总油含量的测定:准确称取叶黄素 - DHA 复合微胶囊样品于锥形瓶中,加入石油醚,彻底搅拌以确保充分混合,超声 2 min 后进行抽滤,并使用石油醚对滤渣进行多次洗涤,重复过滤操作,将滤液转移至已知质量的圆底烧瓶中,旋转蒸发去除石油醚,继续烘干至质

量恒定,称其质量。按公式(3)计算叶黄素 - DHA 复合微胶囊表面油含量和总油含量。

$$\omega = (m_2 - m_1)/m \times 100\% \quad (3)$$

式中: ω 为表面油/总油含量; m_1 为圆底烧瓶质量,g; m_2 为圆底烧瓶和油脂质量,g; m 为样品质量,g。

按公式(4)计算 DHA 包埋率(E_2)。

$$E_2 = (\omega_2 - \omega_1)/\omega_2 \times 100\% \quad (4)$$

式中: ω_1 为表面油含量; ω_2 为总油含量。

1.2.6 叶黄素 - DHA 复合微胶囊储存稳定性的评价

1.2.6.1 温度对稳定性的影响

取一定量叶黄素 - DHA 复合微胶囊样品,分别在室温、50℃ 恒温条件下避光储存 12 d,每隔 3 d 取样并按 1.2.5.1 方法测定被包埋的叶黄素含量。以叶黄素保留率(X)为评价指标,按公式(5)进行计算。

$$X = C_1/C_0 \times 100\% \quad (5)$$

式中: C_1 为储存一定时间后被包埋的叶黄素含量,mg/g; C_0 为初始被包埋的叶黄素含量,mg/g。

1.2.6.2 光照对稳定性的影响

取一定量叶黄素 - DHA 复合微胶囊样品,分别在常温光照、避光条件下储存 12 d,每隔 3 d 取样并按 1.2.5.1 方法测定被包埋的叶黄素含量。按公式(5)计算叶黄素保留率。

1.2.7 叶黄素 - DHA 复合微胶囊体外释放特性研究

1.2.7.1 叶黄素的体外释放

(1)体外模拟胃消化实验:准确称取 0.1 g 叶黄素 - DHA 复合微胶囊,将其溶解于 25 mL 模拟胃液中,然后在 37℃、100 r/min 下恒温振荡 2 h,每隔 0.5 h 取 1 mL 样品,加入 2 mL 乙醇以溶解释放出的叶黄素,4 000 r/min 离心 3 min 后取上清液,用紫外分光光度计测定其吸光度,并按 1.2.5.1 计算其叶黄素含量。

(2)体外模拟肠消化实验:取上述胃消化完成后的样品,调节 pH 至 7.0,随后加入 4 mL 模拟肠液,在 37℃、100 r/min 下恒温振荡 4 h,每隔 0.5 h 取 1 mL 样品,加入 2 mL 乙醇,4 000 r/min 离心 4 min 后,取上清液,并按 1.2.5.1 测定其叶黄素含量。

1.2.7.2 DHA 的体外释放

(1)体外模拟胃消化实验:准确称取 0.1 g 叶黄素 - DHA 复合微胶囊,将其溶解于 25 mL 模拟胃液中,然后在 37℃、100 r/min 下恒温振荡 2 h,每隔 0.5 h 取 5 mL 样品,加入 10 mL 石油醚,充分搅拌,抽滤后将滤液转移至已知质量的圆底烧瓶(M_1)中,旋

转蒸发除去石油醚,干燥至质量恒定,称其质量(M_2),按公式(6)计算微胶囊在胃液中释放出的油脂质量(M)。

$$M = M_2 - M_1 \quad (6)$$

(2)体外模拟肠消化实验:取上述胃消化完成后的样品,调节 pH 至 7.0,随后加入 8 mL 模拟肠液,在 37℃、100 r/min 下恒温振荡 4 h,每隔 0.5 h 取 5 mL 样品,分别加入 10 mL 石油醚,按上述操作步骤,测定微胶囊在肠液中释放出的油脂质量。

1.2.7.3 相对累计释放率的计算

叶黄素和 DHA 在模拟胃液和模拟肠液环境中

的相对累计释放率(R)计算如式(7)所示。

$$R = m_1/m_0 \times 100\% \quad (7)$$

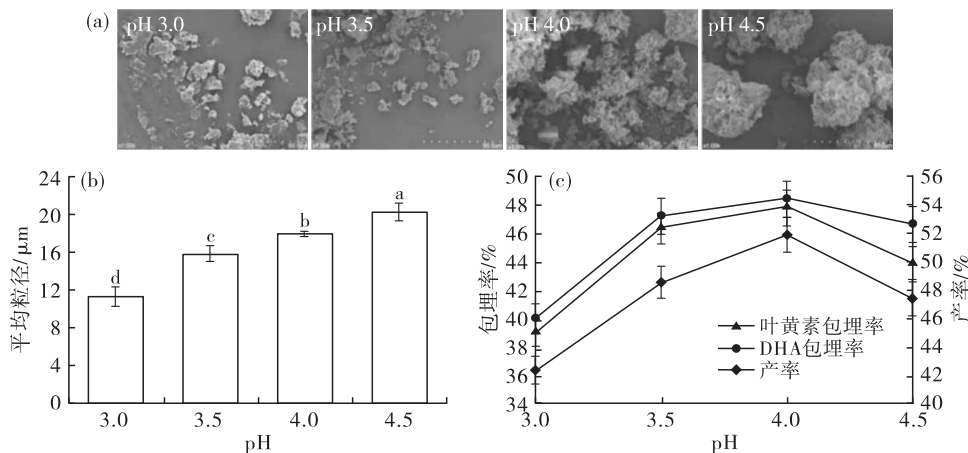
式中: m_1 为释放的叶黄素/油脂质量,g; m_0 为微胶囊中叶黄素/油脂总质量,g。

2 结果与分析

2.1 叶黄素-DHA 复合微胶囊制备的单因素实验

2.1.1 pH 的影响

在壁材质量浓度 1.0 g/100 mL、单双甘油酯用量 0.3%、芯壁比(质量比)1:4 的条件下,考察 pH 对叶黄素-DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响,结果如图 1 所示。



注:不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

图1 pH 对叶黄素-DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响

Fig.1 Effect of pH on the morphology, particle size, encapsulation efficiency, and yield of lutein-DHA composite microcapsules

在酸性条件下,壳聚糖可以与羧甲基纤维素发生静电吸引,以双电层形式包覆在叶黄素和 DHA 表面^[12]。由图 1a 可知:pH 为 3.0 和 3.5 时,叶黄素-DHA 复合微胶囊呈不规则块状,分布较为分散;当 pH 增至 4.0 时,微胶囊为规则球状,呈现交织的不定型状态,表面疏松多孔;pH 为 4.5 时,出现多个小微胶囊包裹在一起的高黏度复凝聚物,大量微胶囊呈团聚状态。由图 1b 可知,随着 pH 的增加,叶黄素-DHA 复合微胶囊平均粒径逐渐增大,在 pH 为 4.5 时达到最大。这可能是因为 pH 对壳聚糖的溶解性有显著影响,在 pH 较低时由于带正电荷的氨基相互排斥使得壳聚糖相互分散,形成的微胶囊粒径较小^[13],当 pH 增加至 4.5 时,壳聚糖中的氨基开始去质子化并失去正电荷,导致形成的单核微胶囊相互碰撞,形成粒径很大的球状多核微胶囊。由图 1c 可知,随着 pH 的增加,微胶囊产率与叶黄素/DHA 包埋率均呈现先增大后减小的趋势,在 pH 为 4.0 时,微胶囊产率、叶黄素包埋率和 DHA 包埋率均达到最大,

分别为 51.65%、47.88% 和 48.49%。综合考虑,叶黄素-DHA 复合微胶囊制备的最佳 pH 为 4.0。

2.1.2 壁材质量浓度的影响

在 pH 4.0、单双甘油酯用量 0.3%、芯壁比 1:4 的条件下,考察壁材质量浓度对叶黄素-DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,壁材质量浓度为 1.0 g/100 mL 时,叶黄素-DHA 复合微胶囊平均粒径最小,而产率和叶黄素/DHA 包埋率达到最大值,在扫描电子显微镜下呈现交织的不定型状态,且微胶囊颗粒分散均匀,粘连程度低。与壁材质量浓度为 1.0 g/100 mL 时相比,壁材质量浓度为 2.0 g/100 mL 时,叶黄素-DHA 复合微胶囊平均粒径增大,而叶黄素/DHA 包埋率和产率均有所下降,且微胶囊颗粒堆积在一起产生粘连。这是由于壁材浓度升高,溶液黏度增加,导致壳聚糖和羧甲基纤维素的迁移率降低,干扰了微胶囊的形成^[14]。因此,选用壁材质量浓度 1.0 g/100 mL 制备叶黄素-DHA 复合微胶囊。

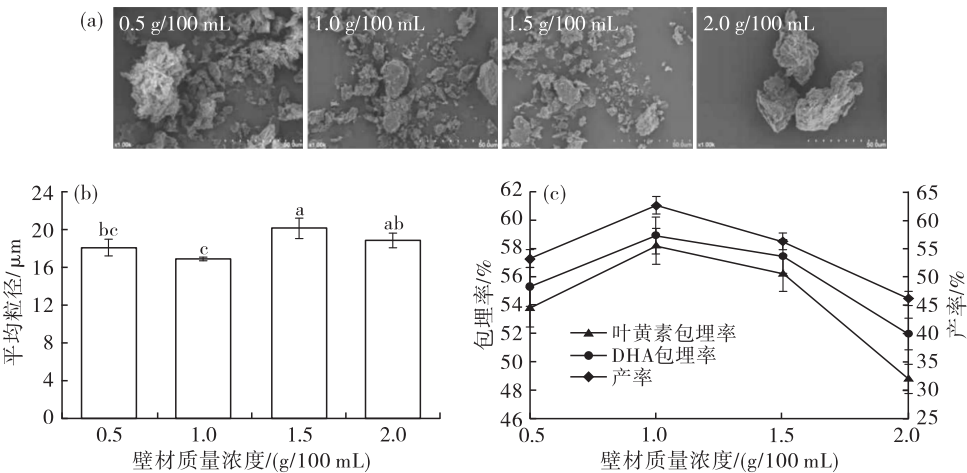


图 2 壁材质量浓度对叶黄素 - DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响

Fig. 2 Effect of wall material mass concentration on the morphology, particle size, encapsulation efficiency, and yield of lutein - DHA composite microcapsules

2.1.3 乳化剂用量的影响

乳化剂作为表面活性物质,可调控相界面间的张力,提高叶黄素 - DHA 复合微胶囊乳液的稳定性^[15]。在 pH 4.0、壁材质量浓度 1.0 g/100 mL、芯

壁比 1:4 的条件下,考察乳化剂单双甘油酯用量对叶黄素 - DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响,结果如图 3 所示。

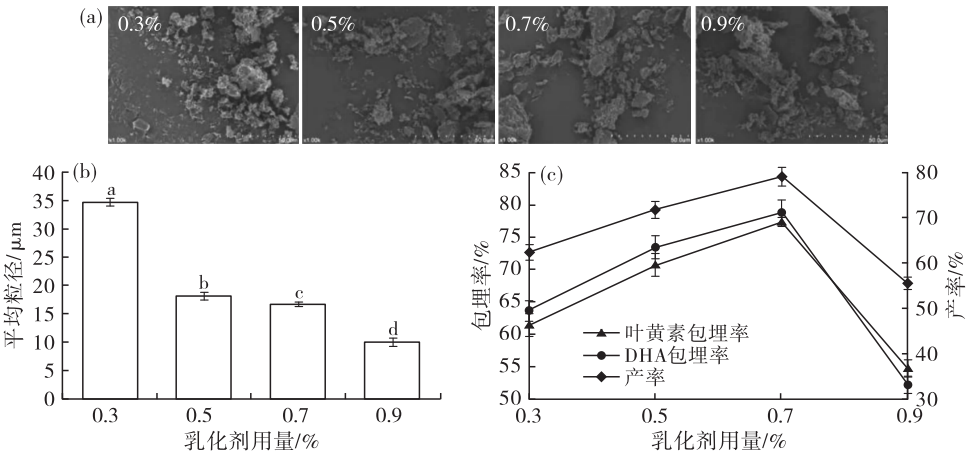


图 3 乳化剂用量对叶黄素 - DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响

Fig. 3 Effect of emulsifier dosage on the morphology, particle size, encapsulation efficiency, and yield of lutein - DHA composite microcapsules

由图 3a 可知,当乳化剂用量为 0.3% 时,叶黄素 - DHA 复合微胶囊呈现不规则的块状,表面粗糙、大小不均一,随着乳化剂用量的增加,微胶囊表面逐渐变得光滑,且大小均匀。这是因为乳化剂用量过低时,DHA 油滴和叶黄素在壁材溶液中分散不均匀,导致形成的微胶囊大小不均匀,增加乳化剂用量,乳化剂会更多覆盖在分散的 DHA 藻油上,减少了油相的聚集,促使油相分布均匀,因此微胶囊大小均一。由图 3b 可知,随着乳化剂用量的增加,叶黄素 - DHA 复合微胶囊平均粒径呈现下降趋势,可能是因为乳化剂的加入能够更好地分散和稳定颗粒,防止其聚集。由图 3c 可知,随着乳化剂用量的增

加,微胶囊的叶黄素/DHA 包埋率及产率逐渐增大,在乳化剂用量为 0.7% 时达到最大,这表明适当添加乳化剂用量可改善乳化效果,使得更多的叶黄素和 DHA 被有效包埋在微胶囊中。当乳化剂用量增加至 0.9% 时,叶黄素/DHA 包埋率及产率均降低,这是由于乳化剂用量超过一定范围时,壁材之间互相粘连^[16],乳液黏度增大,导致壳聚糖和羧甲基纤维素的迁移率降低,干扰了微胶囊的形成^[17]。因此,选择乳化剂用量为 0.7% 制备叶黄素 - DHA 复合微胶囊。

2.1.4 芯壁比的影响

恰当的芯壁比,可充分利用壁材包裹芯材,避免

壁材浪费或者芯材不能被最大程度包覆。在 pH 4.0、壁材质量浓度 1.0 g/100 mL、单双甘油酯用量 0.7% 的条件下,考察芯壁比对叶黄素 - DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响,结果如图 4 所示。

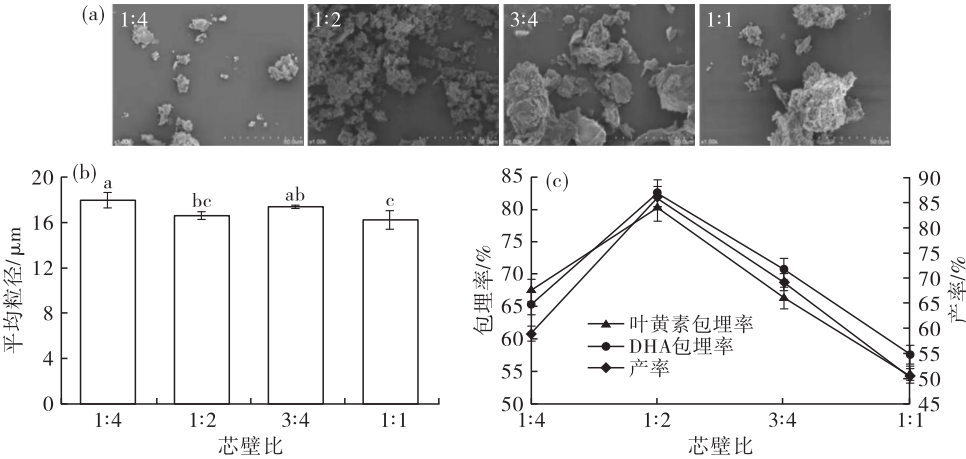


图 4 芯壁比对叶黄素 - DHA 复合微胶囊形态、粒径、包埋率、产率的影响

Fig.4 Effect of core - to - wall ratio on the morphology, particle size, encapsulation efficiency, and yield of lutein - DHA composite microcapsules

由图 4a 和图 4b 可知,随着叶黄素和 DHA 含量的增多,微胶囊形态发生变化,而平均粒径变化较小。当芯壁比为 1:2 时,叶黄素 - DHA 复合微胶囊表面疏松多孔,呈现交织的不定型状态,分布较为均匀,平均粒径为 16.60 μm。此后,随着芯材含量的持续增加,叶黄素 - DHA 复合微胶囊逐渐大量聚集且粘连成块状。芯壁比过大,可导致微胶囊囊壁变薄,造成微胶囊的稳定性下降,且过大的芯壁比会增大壁材间的交联概率,导致未包埋芯材的复合凝聚物的产生概率增大^[18]。由图 4c 可知,随着芯材含量的增多,微胶囊的产率和叶黄素/DHA 包埋率均呈先增大后减小的趋势。过高的芯材含量使得囊壁破裂,进而芯材流出,最终导致叶黄素 - DHA 复合微胶囊的叶黄素/DHA 包埋率和产率降低。同时,芯壁比的增大会导致未包埋的叶黄素和 DHA 含量增加^[19]。综合考虑,叶黄素 - DHA 复合微胶囊的最佳芯壁比为 1:2。

2.2 叶黄素 - DHA 复合微胶囊制备的正交实验

基于单因素实验结果,固定芯壁比 1:2,以 pH (A)、壁材质量浓度(B)、乳化剂用量(C)为考察因素,DHA 包埋率(Y_1)和叶黄素包埋率(Y_2)为评估指标,进行三因素三水平正交实验。正交实验因素与水平见表 1,正交实验设计及结果见表 2。

表 1 正交实验因素与水平

Table 1 Orthogonal experiment factors and levels			
水平	A pH	B 壁材质量浓度/(g/100 mL)	C 乳化剂用量/%
1	3.8	0.7	0.6
2	4.0	1.0	0.7
3	4.2	1.3	0.8

表 2 正交实验设计及结果

Table 2 Orthogonal experimental design and results						
实验号	A	空列	B	C	Y_1 /%	Y_2 /%
1	1	1	1	1	73.24	72.21
2	1	2	2	2	84.31	82.19
3	1	3	3	3	74.13	73.19
4	2	1	2	3	80.37	79.56
5	2	2	3	1	66.61	69.75
6	2	3	1	2	77.56	75.97
7	3	1	3	2	75.58	73.32
8	3	2	1	3	78.48	73.87
9	3	3	2	1	79.54	76.96
Y_1						
k_1	77.23	76.40	76.43	73.13		
k_2	74.85	76.47	81.41	79.15		
k_3	77.87	77.08	72.11	77.66		
R	3.02	0.68	9.30	6.02		
Y_2						
k_1	75.86	75.03	74.02	72.97		
k_2	75.09	75.27	79.57	77.16		
k_3	74.72	75.37	72.09	75.54		
R	1.15	0.34	7.48	4.19		

由表 2 可知,各因素对叶黄素 - DHA 复合微胶囊中 DHA/叶黄素包埋率影响的强弱顺序均为 B > C > A,即壁材质量浓度对微胶囊中 DHA/叶黄素包埋率影响最大,乳化剂用量次之,pH 影响最小。综合考虑 DHA 包埋率和叶黄素包埋率,确定叶黄素 - DHA 复合微胶囊最佳制备工艺组合为 $A_1B_2C_2$,即 pH 3.8、壁材质量浓度 1.0 g/100 mL、单双甘油酯用量 0.7%。为验证最佳方案的准确性,在此条件下进行 3 次验证实验,DHA 包埋率为 84.83%,叶黄素包埋率为 82.71%,微胶囊产率为 87.26%。

2.3 叶黄素 - DHA 复合微胶囊的储存稳定性

2.3.1 温度的影响

以游离叶黄素为对照,考察温度对叶黄素 - DHA 复合微胶囊稳定性的影响,结果见图 5。

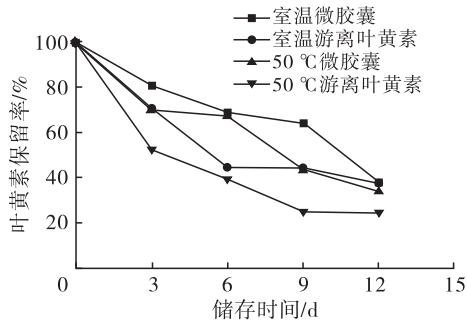


图 5 温度对叶黄素 - DHA 复合微胶囊稳定性的影响
Fig. 5 Effect of temperature on the stability of lutein - DHA composite microcapsules

由图 5 可知,随着储存时间的延长,叶黄素保留率均呈下降趋势。在室温下,微胶囊中叶黄素保留率高于游离叶黄素的,且在储存的前 9 d 下降速度较慢。在 50 °C 下储存 12 d 内,微胶囊中叶黄素保留率同样高于游离叶黄素的。与室温相比,在 50 °C 下储存时,游离叶黄素迅速降解,储存 12 d 时游离叶黄素保留率降至 24.58%,而经过微胶囊包埋处理的叶黄素保留率为 34.15%。无论在室温还是 50 °C 条件下,微胶囊中叶黄素保留率均显著高于游离叶黄素的,这表明微胶囊化能够有效保护叶黄素,提高其稳定性。

2.3.2 光照的影响

光诱导的叶黄素分子链氧化生成低分子质量产物,使叶黄素表现出显著的光敏分解特性^[20]。以游离叶黄素为对照,考察光照对叶黄素 - DHA 复合微胶囊稳定性的影响,结果见图 6。

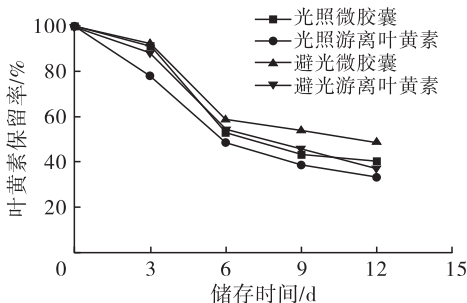


图 6 光照对叶黄素 - DHA 复合微胶囊稳定性的影响
Fig. 6 Effect of light exposure on the stability of lutein - DHA composite microcapsules

由图 6 可知,与光照条件相比,在避光环境中储存的游离叶黄素及叶黄素 - DHA 复合微胶囊稳定

性更高。在光照条件下储存 12 d 后,叶黄素 - DHA 复合微胶囊中叶黄素保留率为 40.20%,而游离叶黄素的为 33.30%。在避光条件下储存 12 d 后,叶黄素 - DHA 复合微胶囊中叶黄素保留率提高到 48.60%。上述结果表明,微胶囊包埋可对叶黄素起到光保护作用,减缓其见光分解的速率。

2.4 叶黄素 - DHA 复合微胶囊体外释放特性

叶黄素 - DHA 复合微胶囊在模拟胃液和模拟肠液中叶黄素及 DHA 的相对累计释放率如图 6 所示。

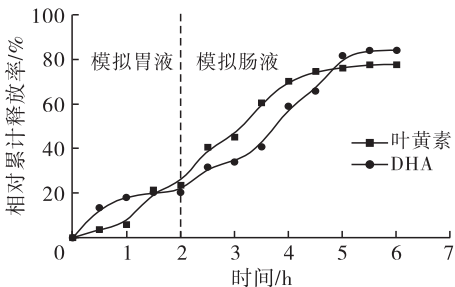


图 7 叶黄素 - DHA 复合微胶囊在模拟胃液和模拟肠液中叶黄素及 DHA 的相对累计释放率
Fig. 7 Relative cumulative release rate of lutein and DHA from lutein - DHA composite microcapsules in simulated gastric and simulated intestinal fluids

由图 7 可知,叶黄素 - DHA 复合微胶囊在模拟胃液消化过程中,叶黄素的相对累计释放率在 0 ~ 2 h 内缓慢升高,模拟胃液消化后,叶黄素的相对累计释放率达到 23.70%,说明胃液环境中叶黄素释放是持续、稳定、缓慢的。在模拟肠液消化过程中,叶黄素变为迅速释放,经 4 h 模拟肠液消化后,相对累计释放率达到了 77.78%,并趋于稳定。结果表明,叶黄素 - DHA 复合微胶囊在肠液环境中展现出了良好的持续且可控的释放性能。

由图 7 还可知,叶黄素 - DHA 复合微胶囊在模拟胃液消化过程中,DHA 缓慢释放,在 2 h 后其相对累计释放率达到 20.45%。壳聚糖与羧甲基纤维素之间具有强烈的静电相互吸引作用,使壁材具有较好的机械稳固性,这一特性使模拟胃液体外消化过程中,仅有少部分多糖成分被分解。在进入模拟肠液后,DHA 进一步释放,最终达到稳定状态,经 4 h 模拟肠液消化后,DHA 相对累计释放率达到 84.09%。这是因为碱性环境的改变和胰蛋白酶的分解作用同时破坏了多糖和羧甲基纤维素之间的相互交联,破坏了其中的共价键,微胶囊骨架结构的致密度降低,加快了 DHA 的释放^[21]。结果表明,叶黄素 - DHA 复合微胶囊具有一定的缓释效果,有利于 DHA 被人体吸收。

3 结 论

本研究以叶黄素和 DHA 为芯材,壳聚糖和羧甲基纤维素为壁材制备叶黄素 - DHA 复合微胶囊,采用单因素实验与正交实验对叶黄素 - DHA 复合微胶囊制备工艺进行优化,并考察其储存稳定性和体外释放性能。结果表明:叶黄素 - DHA 复合微胶囊最佳制备工艺为 pH 3.8、壁材质量浓度 1.0 g/100 mL (壳聚糖与羧甲基纤维素质量比 1:1)、单双甘油酯用量 0.7%、芯壁比 1:2,在此条件下 DHA 包埋率为 84.83%,叶黄素包埋率为 82.71%,微胶囊产率为 87.26%;叶黄素 - DHA 复合微胶囊在高温、光照条件下均具有较高的稳定性;经模拟胃液消化 2 h 和模拟肠液消化 4 h 后,叶黄素在模拟胃液和模拟肠液中的相对累计释放率分别达到 23.70% 及 77.78%,DHA 在模拟胃液和模拟肠液中的相对累计释放率分别达到 20.45% 及 84.09%。因此,该工艺可用于对叶黄素和 DHA 的同时微胶囊化包埋递送,所制备的叶黄素 - DHA 复合微胶囊为叶黄素和 DHA 的应用提供了新的可能性。

参考文献:

- [1] KUMAR KASHYAP P, SINGH S, KUMAR SINGH M, et al. An efficient process for the extraction of lutein and chemical characterization of other organic volatiles from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower[J/OL]. Food Chem, 2022, 396: 133647 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133647>.
- [2] SHI H, NOLAN J M, FLYNN R, et al. Beyond food colouring: Lutein - food fortification to enhance health[J/OL]. Food Biosci, 2024, 59: 104085 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104085>.
- [3] SHU X, ZHANG L, LIAO W, et al. Nanostructured lipid carriers (NLCs) stabilized by natural or synthetic emulsifiers for lutein delivery: Improved physicochemical stability, antioxidant activity, and bioaccessibility[J/OL]. Food Chem, 2023, 403: 134465 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134465>.
- [4] ZHAO W, ZHANG B, LIANG W, et al. Lutein encapsulated in whey protein and citric acid potato starch ester: Construction and characterization of microcapsules[J]. Int J Biol Macromol, 2022, 220: 1 - 12.
- [5] KRIS - ETHEERTON P M, GRIEGER J A, ETHEERTON T D. Dietary reference intakes for DHA and EPA[J]. Prostag Leukotr Ess, 2009, 81(2/3): 99 - 104.
- [6] WEIGEL F, WEISS J, DECKER E A, et al. Lutein - enriched emulsion - based delivery systems: Influence of emulsifiers and antioxidants on physical and chemical stability[J]. Food Chem, 2018, 242: 395 - 403.
- [7] XIAO S, AHN D U. Co - encapsulation of fish oil with essential oils and lutein/curcumin to increase the oxidative stability of fish oil powder[J/OL]. Food Chem, 2023, 410: 135465 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135465>.
- [8] TIMILSENA Y P, AKANBI T O, KHALID N, et al. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 121: 1276 - 1286.
- [9] SHETE A, CHAVAN A, POTEKAR P, et al. Modification of physicochemical properties of chitosan to improve its pharmaceutical and agrochemical potential applications[J/OL]. Int J Biol Macromol, 2024, 267: 131404 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131404>.
- [10] CUI C, LI D, WANG L J, et al. Curdlan/sodium carboxymethylcellulose composite adsorbents: A biodegradable solution for organic dye removal from water[J/OL]. Carbohydr Polym, 2024, 328: 121737 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121737>.
- [11] FERREIRA D C M, DOS SANTOS T C, DOS REIS COIMBRA J S, et al. Chitosan/carboxymethylcellulose polyelectrolyte complexes (PECs) are an effective material for dye and heavy metal adsorption from water[J/OL]. Carbohydr Polym, 2023, 315: 120977 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120977>.
- [12] HADI Z, NAVARCHIAN A H, RAFIENIA M. Synthesis of pH - responsive carboxymethyl chitosan for encapsulating tetracycline - HCl: Morphology, drug release behavior and antibacterial activity of microcapsules[J/OL]. J Drug Deliv Sci Technol, 2023, 84: 104462 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104462>.
- [13] KEDIA P, BADHE Y, GUPTA R, et al. Modeling the effect of pH on the permeability of dried chitosan film[J/OL]. J Food Eng, 2023, 358: 111682 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111682>.
- [14] 李思敏, 彭茜, 戴志远, 等. 冷冻干燥法制备壳聚糖微胶囊[J]. 渔业现代化, 2019, 46(5): 82 - 88.
- [15] RAHMANI - MANGLANO N E, TIRADO - DELGADO M, GARCÍA - MORENO P J, et al. Influence of emulsifier type and encapsulating agent on the *in vitro* digestion of fish oil - loaded microcapsules produced by spray - drying[J/OL]. Food Chem, 2022, 392: 133257 [2024 - 10 - 09]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133257>.

(下转第 133 页)

- enzymatic hydrolysis and heat inactivation on the physicochemical properties of milk protein hydrolysates [J/OL]. Foods, 2022, 11(4): 516[2024-03-22]. <https://doi.org/10.3390/foods11040516>.
- [26] ESRA İ. Rheological behaviour of whey protein stabilized emulsions in the presence of gum arabic[J]. J Food Eng, 2002, 52(3): 273-277.
- [27] 陈冬, 张晓阳, 刘尧政, 等. 姜油纳米乳液超声波乳化制备工艺及其稳定性研究[J]. 农业机械学报, 2016, 47(6): 250-258.
- [28] AZARIKIA F, ABBASI S. Efficacy of whey protein-tragacanth on stabilization of oil-in-water emulsions: Comparison of mixed and layer by layer methods[J]. Food Hydrocolloid, 2016, 59: 26-34.
- [29] WU F, SHI X, ZOU H, et al. Effects of high-pressure homogenization on physicochemical, rheological and emulsifying properties of myofibrillar protein[J]. J Food Eng, 2019, 263: 272-279.
- [30] DOMÍNGUEZ R, PATEIRO M, MUNEKATA P E S, et al. Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review[J/OL]. Antioxidants (Basel), 2021, 11(1): 60[2024-03-22]. <https://doi.org/10.3390/antiox11010060>.
- [31] YANG J, XIONG Y L. Inhibition of lipid oxidation in oil-in-water emulsions by interface-adsorbed myofibrillar protein[J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(40): 8896-8904.
- [32] ASHAOLU T J. Antioxidative peptides derived from plants for human nutrition: Their production, mechanisms and applications[J]. Eur Food Res Technol, 2020, 246(5): 853-865.
- [33] GU S Q, WANG X C, TAO N P, et al. Characterization of volatile compounds in different edible parts of steamed Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Res Int, 2013, 54(1): 81-92.
- [34] ZHOU X, CHONG Y, DING Y, et al. Determination of the effects of different washing processes on aroma characteristics in silver carp mince by MMSE-GC-MS, e-nose and sensory evaluation[J]. Food Chem, 2016, 207: 205-213.
- [35] WANG L, YANG K, LIU L. Comparative flavor analysis of four kinds of sweet fermented grains by sensory analysis combined with GC-MS[J]. Int J Food Eng, 2022, 18(1): 75-85.
- [36] YU M, HE S, TANG M, et al. Antioxidant activity and sensory characteristics of Maillard reaction products derived from different peptide fractions of soybean meal hydrolysate[J]. Food Chem, 2018, 243: 249-257.
-
- (上接第 122 页)
- [16] 岳海鹏, 王卫飞, 杨博, 等. 亚麻籽二酯油乳液制备工艺优化及其微胶囊理化性质分析[J]. 中国油脂, 2023, 48(5): 62-68.
- [17] WANG K, WANG Y, XI X, et al. Preparation and characterization of oregano essential oil microcapsules by gelatin/polysaccharide composite coagulation method[J]. Food Bioprod Process, 2024, 147: 495-506.
- [18] 王洪玲, 刘长霞, 郭晶兰, 等. 单凝聚法制备壳聚糖硬脂酸钠为壁材的鱼油微胶囊[J]. 中国油脂, 2021, 46(11): 26-30.
- [19] 李荣丽, 吴喆超, 肖安红, 等. 青金桔籽油微胶囊的喷雾干燥技术制备工艺优化[J]. 中国油脂, 2023, 48(3): 84-89.
- [20] SYAMILA M, GEDI M A, BRIARS R, et al. Effect of temperature, oxygen and light on the degradation of β -carotene, lutein and α -tocopherol in spray-dried spinach juice powder during storage[J]. Food Chem, 2019, 284: 188-197.
- [21] BANNIKOVA A, EVTEEV A, PANKIN K, et al. Microencapsulation of fish oil with alginate: *in-vitro* evaluation and controlled release[J]. LWT - Food Sci Technol, 2018, 90: 310-315.