

核桃油微胶囊制备及其生理功能评价

戚登斐¹, 张润光¹, 潘建龙², 杨涛¹, 张有林¹

(1. 陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 西安 710119; 2. 陕西省安康市瀛天生态农林开发有限公司, 陕西 安康 725000)

摘要:以大豆分离蛋白、麦芽糊精、阿拉伯胶为壁材,利用喷雾干燥法和冷冻干燥法制备核桃油微胶囊。在62℃下将核桃油微胶囊加速氧化14 d,测定过氧化值、茴香胺值及总氧化值。制备模拟肠液和胃液,测定核桃油微胶囊体外模拟消化油脂释放率及游离脂肪酸释放量。选取6~8周龄昆明小鼠,适应性喂养后随机分为8组,分别为空白对照组、高脂模型组、核桃油微胶囊及核桃油低、中、高剂量组,连续灌胃4周,测定其体重、肝脏指数、血液指标、肝脏细胞指标,并对肝脏及腹部脂肪细胞染色观察其损害情况。结果表明:喷雾干燥制备核桃油微胶囊包埋率为81.91%,水分含量为2.40%,流动性高,溶解性较好。62℃加速氧化14 d,微胶囊化可有效缓解核桃油氧化变质,喷雾干燥制备的核桃油微胶囊油脂氧化程度低于冷冻干燥的,且过氧化值、茴香胺值及总氧化值更低。喷雾干燥制备的微胶囊经模拟胃液及肠液消化,油脂释放率高达91.13%,高于冷冻干燥的,游离脂肪酸释放量也更高。喷雾干燥核桃油微胶囊能有效缓解高脂模型小鼠体重及肝脏指数升高,降低血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量,降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平、提高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平,提高小鼠肝脏谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)水平、超氧化物歧化酶(T-SOD)水平,降低肝脏丙二醛(MDA)水平,从而有效地抑制高脂模型小鼠肝脏脂肪变性和氧化损伤。

关键词:核桃油;微胶囊;抗氧化性;体外模拟试验;降血脂;护肝功能

中图分类号:TS225.6;TS227 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)01-0024-09

Preparation and physiological function evaluation of walnut oil microcapsules

QI Dengfei¹, ZHANG Runguang¹, PAN Jianlong², YANG Tao¹, ZHANG Youlin¹

(1. College of Food Engineering and Nutrition Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China;

2. Shaanxi Ankang Yingtian Ecological Agriculture and Forestry Development Co., Ltd.,

Ankang 725000, Shaanxi, China)

Abstract: Using soybean protein isolate, maltodextrin and arabia gum as wall materials, walnut oil microcapsules was separately prepared by spray drying and vacuum freeze-drying. The walnut oil microcapsules was accelerately oxidized at 62℃ for 14 d. The peroxide value, anisidine value and total oxidation value were determined. The simulated intestinal juice and gastric juice were prepared, and the release rates of oil and free fatty acid of walnut oil microcapsules in vitro were determined. Kunming mice aged 6-8 weeks were selected and randomly divided into eight groups after adaptive feeding: blank

收稿日期:2020-04-16;修回日期:2020-08-30

基金项目:中央高校基本科研业务费资助项目(GK201806002);陕西省农业科技创新驱动项目(NYKJ-2018-XA-06);陕西省特色产业创新链-农业领域项目(2018TSCXL-NY-06-02)

作者简介:戚登斐(1995),男,硕士研究生,研究方向为食品科学(E-mail)2247217@qq.com。

通信作者:张有林,教授,博士生导师(E-mail)youlinzh@snnu.edu.cn。

control group, high-fat model group, walnut oil microcapsules and walnut oil low, medium and high-dose groups. They were administrated continuously for four weeks. Their body weight, liver index, blood index and liver cell index were measured, and the damages of liver and fat cells were observed by staining. The results showed that the encapsulation rate of the walnut oil microcapsules prepared by spray drying was

81.91% , the moisture content was 2.40% , the fluidity was high and the solubility was good. Through 62 °C accelerated oxidation test for 14 d , microencapsulation could effectively alleviate the oxidative deterioration of walnut oil , and the oxidation degree of walnut oil microcapsule prepared by spray drying was lower than that by freeze - drying , and the peroxide value , anisamine value and total oxidation value were lower. The walnut oil microcapsules prepared by spray drying were digested by simulated gastric juice and intestinal juice , and the release rate of oil was up to 91.13% , higher than that by freeze - drying , and the releasing of free fatty acids was also higher. Walnut oil microcapsule prepared by spray drying could effectively alleviate the increase of body weight and liver index , decrease the contents of serum total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) , reduce the levels of low density lipoprotein cholesterol (LDL - C) , increase the level of high - density lipoprotein cholesterol (HDL - C) , increase the level of glutathione peroxidase (GSH - PX) and superoxide dismutase (T - SOD) in liver of mice , and reduce the level of malondialdehyde (MDA) in liver , which could effectively inhibit fatty degeneration and oxidative damage of liver in high - fat mice.

Key words: walnut oil; microcapsule; antioxidation; in vitro simulation test; blood lipid lowering; liver protection

核桃油富含不饱和脂肪酸,主要为亚油酸、亚麻酸和油酸,总含量高达90%以上,具有较高的食用及药用价值^[1]。核桃油中不饱和脂肪酸在氧气、水分、光照、微生物等因素作用下易酸败变质,严重影响核桃油品质及营养价值。将核桃油制备成微胶囊,使其与外界环境隔离可避免氧化酸败,同时保持丰富的营养成分,易于人体吸收。微胶囊化是一种将小颗粒或液滴芯材包围或者嵌入壁材中,从而形成粉末或微小颗粒的技术。喷雾干燥法由于操作方法灵活且成本较低,是目前使用广泛的一种制备微胶囊的方法。Zhou等^[2]以大豆分离蛋白与麦芽糊精作壁材,利用喷雾干燥法制备核桃油微胶囊,包埋率达到72.2%,显著提高了核桃油的氧化稳定性。王文琼^[3]使用具有较高抗氧化性的木糖-乳清分离蛋白糖基化产物为壁材,转谷氨酰胺酶为固化材料,冷冻干燥法制备山核桃油微胶囊,也有效提高了山核桃油的氧化稳定性。Calvo等^[4]以蛋白质作为壁材制备的核桃油微胶囊在体内消化率高达90%。将核桃油制备成粉末油脂后,其保质期得到了有效的延长。Calvo等^[5]以麦芽糊精、羧甲基纤维素和卵磷脂为壁材,利用冷冻干燥法制备核桃油粉末油脂,使得核桃油在不添加抗氧化剂的情况下储藏期延长。

目前对于核桃油采用多种壁材复配以提高其包埋率及保持营养特性的微胶囊研究较少,同时缺少对于核桃油微胶囊生理功能的评价。本试验利用大豆分离蛋白、麦芽糊精及阿拉伯胶3种类型的壁材进行组合复配,对喷雾干燥、冷冻干燥制备的微胶囊

理化指标进行比较,筛选出较好的干燥方法。通过体外模拟消化试验研究核桃油微胶囊在体内的释放情况,并以此为基础设计动物试验,深入评价核桃油及其微胶囊对小鼠血清及肝脏组织的影响,以期核桃油深加工提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

核桃,购于西安市朱雀市场;SPF级昆明小鼠,购于西安市第四军医大学试验动物中心,雄性,体重20~25g。大豆分离蛋白、麦芽糊精、阿拉伯胶、蔗糖甘油酯、单硬脂酸甘油酯,均为食品级。石油醚(沸点30~60℃)、异辛烷(分析纯)、冰醋酸(分析纯)、碘化钾、硫代硫酸钠、对甲氧基苯胺、胰酶粉、猪胆盐,均购于西安晶博生物科技有限公司;胃蛋白酶(10000U/g),Sigma公司;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(T-SOD)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)试剂盒,均购于南京建成生物工程研究所。

Panda Plus型高压均质机,意大利帕尔玛公司;B-290型喷雾干燥机,瑞士BUCHI公司;LGJ-18C型真空冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂;JM-50型胶体磨,温州永泰公司;CX31型数码显微镜,奥林巴斯公司。

1.2 试验方法

1.2.1 核桃油微胶囊的制备

将占核桃油质量0.6%的单硬脂酸甘油酯在80℃下溶解于核桃油中制成油相,将质量比7:9:4

的大豆分离蛋白、麦芽糊精和阿拉伯胶与占固形物含量 0.8% 的蔗糖甘油酯溶于水形成水相。在 75 °C 下将水相与油相按体积比 3:2 混合,采用恒温磁力搅拌器搅拌 1.5 h,过胶体磨形成混合乳液,均质机均质,分别置于喷雾干燥机、真空冷冻干燥机中干燥,制成核桃油微胶囊成品。

1.2.2 核桃油微胶囊的物理性质测定

1.2.2.1 总油质量的测定

准确称取 2 g 核桃油微胶囊于试管中,置于索氏提取系统中,利用石油醚提取 8 h。提取完成后将粉末干燥至恒重。核桃油微胶囊的总油质量为微胶囊粉末提取前后的质量差(m)。

1.2.2.2 表面油质量的测定

将 2 g 核桃油微胶囊加入 30 mL 石油醚中,充分摇晃下浸提 2 min,过滤,将滤液置于烧瓶中利用旋转蒸发器将石油醚蒸出,计算烧瓶前后质量差(m'),即为表面油质量。按下式计算包埋率(X_1)和载油量(X_2)。

$$X_1 = \frac{m - m'}{m} \times 100\% \quad (1)$$

$$X_2 = \frac{m}{2} \times 100\% \quad (2)$$

式中: m 为总油质量,g; m' 为表面油质量,g;2 为称取核桃油微胶囊的质量,g。

1.2.2.3 水分含量测定

按照 GB 5009.3—2016 方法测定核桃油微胶囊水分含量。

1.2.2.4 流动性测定

将 20 g 核桃油微胶囊粉末沿漏斗下落至水平放置的直径为 4 cm 的圆纸上,待核桃油微胶囊下落完全,测定堆积高度,按下式计算休止角。

$$\tan\alpha = \frac{H}{\gamma} \quad (3)$$

式中: α 为休止角,(°); H 为核桃油微胶囊粉堆积高度,cm; γ 为圆纸半径,cm。

1.2.2.5 溶解度测定

称取 5 g 核桃油微胶囊溶于 100 mL 蒸馏水中,恒温搅拌 5 min,5 000 r/min 离心 5 min,取上清液于 90 °C 烘干,按下式计算溶解度(Y)。

$$Y = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (4)$$

式中: m_1 为上清液干物质质量,g; m_2 为核桃油微胶囊样品质量,g。

1.2.3 氧化稳定性试验

采用烘箱加速氧化法。将 70 g 核桃油微胶囊和 20 mL 核桃油分别置于 62 °C 烘箱中,连续放置 14

d,每天固定时间取出部分样品测其过氧化值和茴香胺值。核桃油样直接分析,微胶囊样品经处理提取核桃油后分析。

5 g 核桃油微胶囊样品,置于 30 mL 三氯甲烷中超声 30 min 后,抽滤溶剂,将滤液旋转蒸发得到核桃油^[6]。过氧化值按照 GB/T 5538—2005 方法测定,茴香胺值按照 GB/T 24304—2009 方法测定,总氧化值(Totox value)为 2 倍的过氧化值与茴香胺值的和。

1.2.4 核桃油微胶囊体外模拟消化试验

参考文献[7-8]的方法制备模拟胃液与肠液各 1 000 mL。

参考文献[9]的方法有所改进进行核桃油微胶囊体外消化试验。将 2 g 核桃油微胶囊置于 20 mL 模拟胃液中,在 37 °C、100 r/min 的摇床中反应 2 h。胃消化结束后将混合液调节 pH 至 6.8 使胃蛋白酶灭活,加入 20 mL 模拟肠液,在 37 °C、100 r/min 的摇床中反应 2 h,测定油脂释放率和游离脂肪酸释放量。

1.2.4.1 油脂释放率的测定

向完成消化的混合液中加入 30 mL 石油醚,摇晃 10 min 使其充分混合,以 8 000 r/min 转速离心 10 min,取上清液用旋转蒸发器减压蒸馏,收集核桃油。油脂释放率(R)按下式计算。

$$R = \frac{m}{m_0} \times 100\% \quad (5)$$

式中: m 为体外消化释放的油质量,g; m_0 为核桃油微胶囊的总油质量,g。

1.2.4.2 游离脂肪酸(FFA)释放量的测定

参考文献[8,10]的方法,经模拟胃液消化后,在模拟肠液消化 30、60、90、120 min 时取样,以酚酞为指示剂,利用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定混合消化液,记录所用体积,计算 FFA 释放量。

1.2.5 生理功能评价

1.2.5.1 动物试验

选取 6~8 周龄 SPF 级雄性昆明小鼠 72 只,体重 20~25 g,以基础饲料适应性喂养 7 d 后将其随机分为 8 组(见表 1)。8 组小鼠饲养条件相同,各组均自由饮水,摄食,饲养温度为 20~25 °C,湿度为 60%~62%,自然光照。各组中除空白对照组饲喂基础饲料外,其他各组均饲喂高脂饲料以诱导高脂模型。模型建立后,每天上午 9 点各组按 0.1 mL/10 g 灌胃试验样品,其中空白对照组与高脂模型组按 0.1 mL/10 g 灌胃生理盐水。连续灌胃 28 d,每隔 7 d 称量体重。

表1 小鼠分组设计

组别	数量(只)	体重/g	样品质量浓度/(mg/mL)
空白对照组(BC)	9	29.31 ± 1.80	-
高脂模型组(HM)	9	30.06 ± 1.42	-
微胶囊低剂量组(ML)	9	29.86 ± 1.19	25
微胶囊中剂量组(MM)	9	29.77 ± 1.38	50
微胶囊高剂量组(MH)	9	30.03 ± 1.65	100
核桃油低剂量组(WL)	9	29.34 ± 1.31	8
核桃油中剂量组(WM)	9	29.32 ± 1.80	16
核桃油高剂量组(WH)	9	30.54 ± 0.92	32

注:核桃油微胶囊均用喷雾干燥法制备。

1.2.5.2 小鼠血清脂质水平测定

小鼠禁食 12 h 后取血,血样在室温下静置 30 min 后,以 3 000 r/min 转速离心 15 min,取上清液分装,保存于 -80℃ 冰箱,按照试剂盒方法测定 LDL-C、HDL-C、TG、TC 水平。

1.2.5.3 小鼠肝脏生化指标测定

取出小鼠肝脏,生理盐水清洗干净,滤纸拭干、称重,并计算肝脏指数。取 0.5 g 肝脏组织加 9 倍生理盐水匀浆,以 1 500 r/min 转速离心 15 min,取上清液按照试剂盒方法测定 GSH-PX、MDA、T-SOD。

1.2.5.4 病理学切片制作

取小鼠部分肝脏及脂肪组织固定于 4% 多聚甲醛固定液中,肝脏组织用 HE 染色和油红 O 染色,脂肪组织用 HE 染色,利用光学显微镜观察切片、拍照。

1.2.6 数据处理

用 DPS7.5 软件进行分析,Excel 2010 处理数据,测定指标均重复 3 次,数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,显著水平 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 两种干燥方式对核桃油微胶囊理化指标的影响(见表 2)

表2 两种干燥方式制备的核桃油微胶囊的理化指标

干燥方式	包埋率/%	载油量/%	水分含量/%	溶解度/%	休止角/(°)
喷雾干燥	81.91 ± 2.75 ^a	34.9 ± 1.43 ^a	2.40 ± 0.21 ^b	87.79 ± 1.38 ^b	37.22 ± 0.47 ^a
冷冻干燥	77.48 ± 1.67 ^b	32.8 ± 0.91 ^b	3.88 ± 0.26 ^a	90.66 ± 1.70 ^a	34.83 ± 0.29 ^b

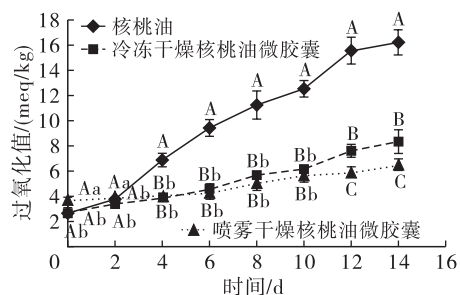
注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

水分含量低可有效抑制微生物生长及粉末结块^[11],通常功能性食品水分含量低于 4% 为宜。由表 2 可以看出,两种干燥方式制备的核桃油微胶囊水分含量分别为 2.40%、3.88%,均低于 4%,以喷雾干燥水分含量更低,二者差异显著($P < 0.05$)。两种干燥方式制备的核桃油微胶囊溶解度分别为 87.79%、90.66%,均较高,其原因是壁材中含有亲水性羟基阿拉伯胶,从而增大了微胶囊与水的相互作用力,增强了溶解度^[12]。两种干燥方式制备的核桃油微胶囊休止角分别为 37.22°、34.83°,喷雾干燥核桃油微胶囊的休止角高于冷冻干燥的,说明冷冻干燥核桃油微胶囊黏度较低,流动性更强。

2.2 两种干燥方式对核桃油微胶囊氧化稳定性的影响(见图 1~图 3)

由图 1 可以看出,加速氧化初始,喷雾干燥制备的核桃油微胶囊过氧化值为 3.25 meq/kg,比其他两组高且差异显著($P < 0.05$),其原因可能是制备过程中,核桃油微胶囊形成于温度较高的喷雾干燥器内从而造成部分氧化。加速氧化 4 d 时,核桃油过氧化值为 6.11 meq/kg,高于其他两组,且差异极显著($P < 0.01$),表明包埋能有效缓解核桃油氧化。

加速氧化 12 d 时,冷冻干燥样品过氧化值为 6.76 meq/kg,喷雾干燥的为 5.20 meq/kg,二者差异极显著($P < 0.01$),表明喷雾干燥法制备核桃油微胶囊更有利于缓解核桃油氧化,而冷冻干燥核桃油微胶囊包埋率较低(见表 2),表面油含量较高,导致其更易氧化。



注:同一条件下不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。下同。

图1 干燥方式对核桃油微胶囊过氧化值的影响

茴香胺值是反映油脂二次氧化产物的指标。由图 2 可以看出,加速氧化初始,喷雾干燥核桃油微胶囊茴香胺值为 3.88,与其他两组相比差异显著($P < 0.05$),说明喷雾干燥核桃油微胶囊制备过程会使部分油脂二次氧化。加速氧化 2 d 时,核桃油茴香胺值高于其他两组,差异极显著($P < 0.01$),说明微

胶囊化能有效防止核桃油二次氧化。加速氧化 14 d 时,冷冻干燥核桃油微胶囊茴香胺值为 7.27,高于喷雾干燥核桃油微胶囊的 6.44,且差异显著($P < 0.05$),表明喷雾干燥法制备的核桃油微胶囊防止核桃油二次氧化作用更好。

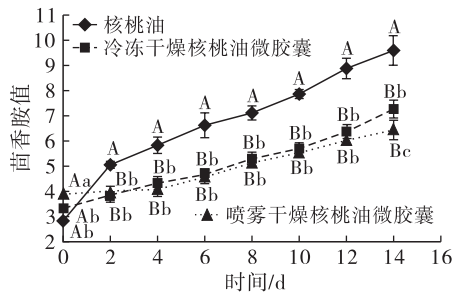


图2 干燥方式对核桃油微胶囊茴香胺值的影响

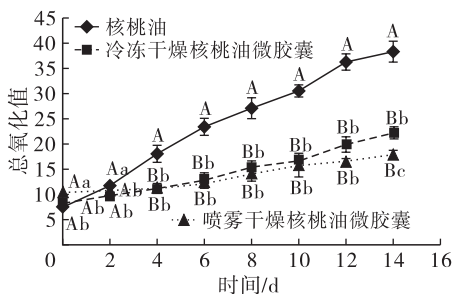


图3 干燥方式对核桃油微胶囊总氧化值的影响

油脂的总氧化值反映油脂总体氧化状态,总氧化值大于 30 表示油脂氧化严重。由图 3 可以看出,加速氧化初始喷雾干燥核桃油微胶囊的总氧化值高于其他两组,且差异显著($P < 0.05$),加速氧化 4 d 时核桃油总氧化值明显高于其他两组,且差异极显著($P < 0.01$),14 d 时冷冻干燥核桃油微胶囊总氧化值高于喷雾干燥的,且差异显著($P < 0.05$),说明核桃油微胶囊化能有效降低油脂氧化程度,且喷雾干燥制备的核桃油微胶囊抗氧化效果更好。

2.3 两种干燥方式对核桃油微胶囊体外模拟消化作用的影响(见表 3)

表 3 核桃油微胶囊在模拟胃液和肠液中的油脂释放率 %

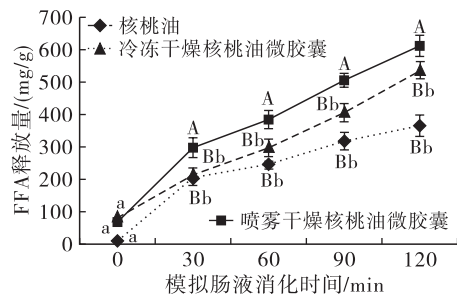
干燥方式	模拟胃液	模拟肠液
喷雾干燥	11.28 ± 1.19 ^b	91.13 ± 1.24 ^a
冷冻干燥	14.40 ± 0.82 ^a	86.60 ± 1.40 ^b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

从表 3 可以看出,核桃油微胶囊在模拟胃液中油脂释放率在 10% ~ 15% 之间,这可能是因为在模拟胃液中核桃油微胶囊处于低 pH 环境,壁材中的蛋白质相互发生了聚集,从而延缓了胃液中的蛋白酶对蛋白壁材的水解^[13-14]。冷冻干燥核桃油微胶囊油脂释放率为 14.40%,高于喷雾干燥的,二者差异显著($P < 0.05$),其原因可能是冷冻干燥制备的

核桃油微胶囊表面油含量较多所致。在模拟肠消化过程中,由于胰液中含有淀粉酶、胰蛋白酶和脂肪酶,而核桃油微胶囊壁材以多糖和蛋白质为主,从而使两组核桃油微胶囊油脂都得到了大量释放,喷雾干燥组油脂释放率为 91.13%,高于冷冻干燥的,且差异显著($P < 0.05$),说明采用喷雾干燥法制备的核桃油微胶囊油脂释放效果更优。

经模拟胃液消化后,每隔 30 min 测定模拟肠液消化过程中游离脂肪酸释放量,以表示核桃油微胶囊在体内的分解程度,结果见图 4。



注:相同条件下不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图4 核桃油微胶囊和核桃油在模拟肠液中 FFA 的释放量

由图 4 可以看出,核桃油微胶囊和核桃油进入模拟肠液消化,游离脂肪酸释放量均随消化时间延长而增加,在模拟肠液中消化 30 min,喷雾干燥组释放量高于其他两组,差异极显著($P < 0.01$),说明喷雾干燥制备的核桃油微胶囊有利于核桃油在体内消化分解。消化 60 min,两种核桃油微胶囊游离脂肪酸释放量均大于核桃油的,说明核桃油微胶囊有利于在体内消化分解,其原因是核桃油直接进入体内时,油滴直径大,而制成核桃油微胶囊可使油滴以较小尺寸接触脂肪酶,致使分解效率提高^[15]。

2.4 喷雾干燥制备的核桃油微胶囊生理功能

2.4.1 核桃油微胶囊对高脂小鼠体重及肝脏指数的影响(见表 4)

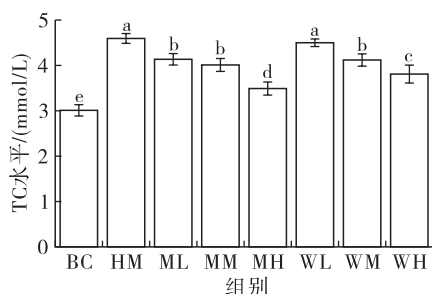
由表 4 可以看出,高脂饲料饲喂小鼠,其体重、肝质量及肝脏指数与空白组小鼠相比均显著提高($P < 0.05$),建模成功。用低、中、高剂量核桃油微胶囊灌胃高脂小鼠,其体重及肝质量均显著降低($P < 0.05$),高剂量组降低效果更佳,且中、高剂量组小鼠肝脏指数显著降低($P < 0.05$)。核桃油中、高剂量组小鼠体重、肝质量、肝脏指数均显著降低($P < 0.05$)。与核桃油组相比,核桃油微胶囊更有利于缓解高脂小鼠体重及肝质量的增加。

表4 核桃油及核桃油微胶囊对高脂小鼠体重、肝脏指数的影响

组别	初始体重/g	最终体重/g	肝质量/g	肝脏指数/%
空白对照组	29.31 ± 1.80	42.28 ± 3.25 ^e	2.36 ± 0.18 ^f	5.58 ± 0.22 ^d
高脂模型组	30.06 ± 1.42	48.13 ± 2.08 ^a	3.23 ± 0.18 ^a	6.71 ± 0.27 ^a
微胶囊低剂量	29.86 ± 1.19	45.29 ± 2.20 ^{bc}	2.99 ± 0.14 ^{bc}	6.60 ± 0.28 ^{ab}
微胶囊中剂量	29.77 ± 1.38	43.63 ± 1.59 ^{cd}	2.71 ± 0.22 ^d	6.21 ± 0.35 ^c
微胶囊高剂量	30.03 ± 1.65	42.90 ± 1.40 ^{de}	2.50 ± 0.08 ^e	5.83 ± 0.24 ^d
核桃油低剂量	29.34 ± 1.31	46.21 ± 1.83 ^b	3.05 ± 0.26 ^{ab}	6.60 ± 0.30 ^{ab}
核桃油中剂量	29.32 ± 1.80	44.12 ± 2.79 ^{cd}	2.79 ± 0.24 ^c	6.32 ± 2.18 ^{bc}
核桃油高剂量	30.54 ± 0.92	43.86 ± 1.40 ^{cd}	2.69 ± 0.23 ^d	6.13 ± 0.49 ^c

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.4.2 核桃油微胶囊对小鼠血清脂质的影响(见图5~图8)



注:图中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

图5 不同剂量核桃油、核桃油微胶囊对小鼠血清TC的影响

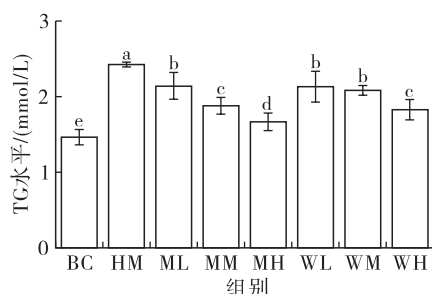


图6 不同剂量核桃油、核桃油微胶囊对小鼠血清TG的影响

由图5、图6可以看出,高脂模型组(HM)小鼠血清总胆固醇(TC)水平(4.59 mmol/L)、甘油三酯(TG)水平(2.42 mmol/L)均远高于空白对照组(BC)的(3.01、1.46 mmol/L),差异显著($P < 0.05$),建模成功。与高脂模型组相比,中、高剂量核桃油和低、中、高剂量核桃油微胶囊均可显著降低小鼠血液TC、TG水平($P < 0.05$),以高剂量核桃油微胶囊组TC、TG水平最低,且与其他5组均差异显著($P < 0.05$)。

由图7、图8可以看出,不同剂量的核桃油及核桃油微胶囊均能显著降低高脂小鼠血清LDL-C水平,升高HDL-C水平。中剂量核桃油微胶囊组

LDL-C水平最低,为1.12 mmol/L,高剂量核桃油微胶囊组HDL-C水平最高,为1.95 mmol/L,说明核桃油微胶囊能降低高脂小鼠LDL-C水平,提升HDL-C水平。其原因可能是核桃油微胶囊液滴直径较小,在小鼠体内分解为不饱和脂肪酸更完全,功能性更强。

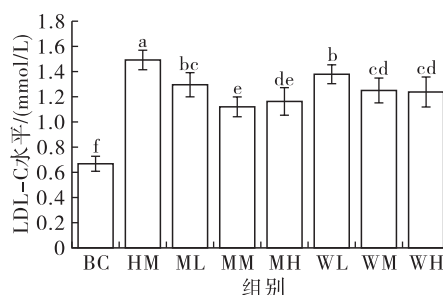


图7 不同剂量核桃油、核桃油微胶囊对小鼠血清LDL-C的影响

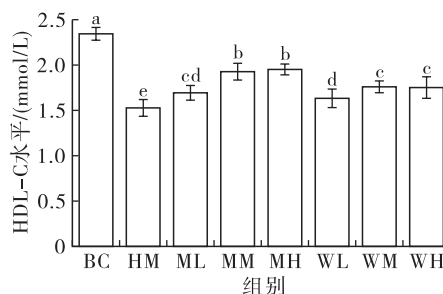


图8 不同剂量核桃油、核桃油微胶囊对小鼠血清HDL-C的影响

2.4.3 核桃油微胶囊对小鼠肝脏氧化应激拮抗作用的影响(见图9)

GSH-PX是体内抗氧化物质,能有效还原谷胱甘肽与活性氧反应,防止生物膜氧化^[16],有效清除自由基,保护肝细胞。由图9可以看出,高脂模型组小鼠肝细胞GSH-PX水平低于空白组近60%,核桃油及核桃油微胶囊灌胃后,各组小鼠肝细胞GSH-PX水平均显著提高($P < 0.05$),且以高剂量核桃油微胶囊组提升GSH-PX效果最优。

MDA 能有效反映体内细胞受自由基损害程度,体内自由基与肝细胞内蛋白质分子共价结合而破坏蛋白质合成,MDA 水平越低,肝细胞受损害程度越低^[17]。由图 9 可以看出,不同剂量核桃油灌胃均显著降低小鼠体内 MDA 水平($P < 0.05$),低、中剂量核桃油微胶囊灌胃后,小鼠体内 MDA 水平与高脂模型组相比无显著性差异,但高剂量核桃油微胶囊组 MDA 水平显著下降($P < 0.05$)。

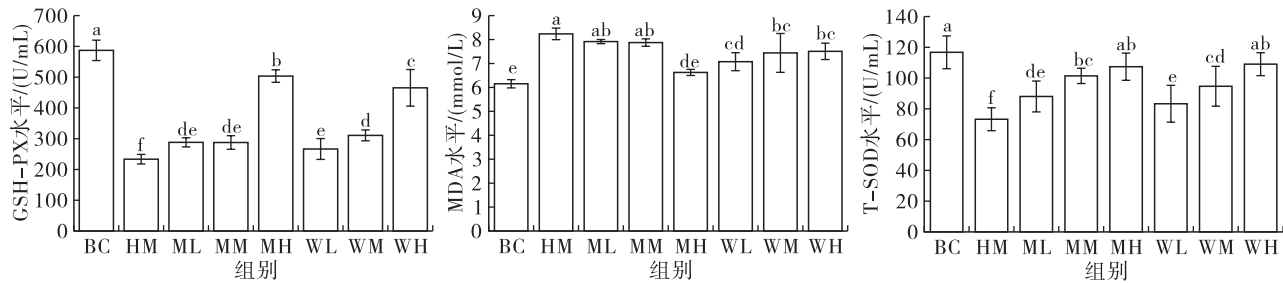


图 9 不同剂量核桃油、核桃油微胶囊对小鼠 GSH-PX、MDA 及 T-SOD 的影响

2.4.4 核桃油微胶囊对小鼠肝脏及腹部脂肪组织形态的影响

小鼠肝细胞 HE 染色图见图 10,油红 O 染色图见图 11。由图 10 可以看出,高脂模型组(HM)小鼠肝细胞比空白对照组(BC)受损严重,受损细胞表现为细胞边界消失,细胞内出现大量空泡,部分细胞核坏死等症状,致使小鼠肝细胞退化严重。核桃油及核桃油微胶囊灌胃后小鼠肝细胞受损程度明显降低,且随剂量的提升,受损肝细胞也明显减少。核桃油微胶囊有利于保护小鼠肝细胞,以高剂量组效果最佳。

由图 11 可以看出,高脂模型组小鼠肝细胞内脂肪堆积严重,空白对照组细胞内只有较少脂肪。经低、中、高剂量核桃油及核桃油微胶囊灌胃后,小鼠

T-SOD 是生物体内存在的一种主要抗氧化金属酶,在机体内通过催化超氧阴离子自由基歧化维护机体抗氧化平衡,防止肝细胞受损。由图 9 可以看出,高脂模型组小鼠体内 T-SOD 水平较空白组下降 37%,而不同剂量的核桃油及核桃油微胶囊灌胃均显著提升了高脂模型小鼠体内 T-SOD 水平($P < 0.05$),以高剂量核桃油及核桃油微胶囊组提升幅度最大。

肝细胞脂肪分散性增强,堆积显著减少。其中核桃油微胶囊高剂量组肝细胞脂肪堆积最少,效果较差的为低剂量核桃油组(WL),这进一步说明核桃油制成微胶囊后可显著缓解小鼠肝细胞内脂肪的堆积,防止肝细胞损伤。

小鼠腹部脂肪细胞 HE 染色图见图 12。由图 12 可以看出,空白对照组小鼠腹部脂肪细胞直径较小,用高脂饲料连续喂养 4 周后,腹部脂肪细胞直径明显增大。经不同剂量核桃油及核桃油微胶囊灌胃后,腹部脂肪细胞直径减小,以高剂量核桃油和核桃油微胶囊组效果最佳,这两组脂肪细胞直径接近空白对照组。

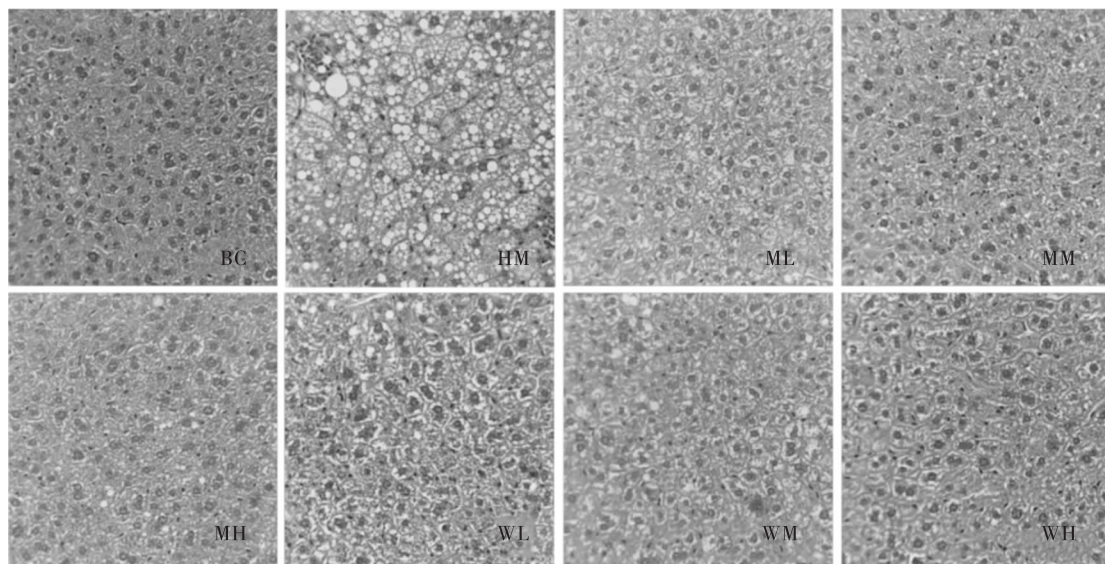


图 10 小鼠肝细胞 HE 染色图

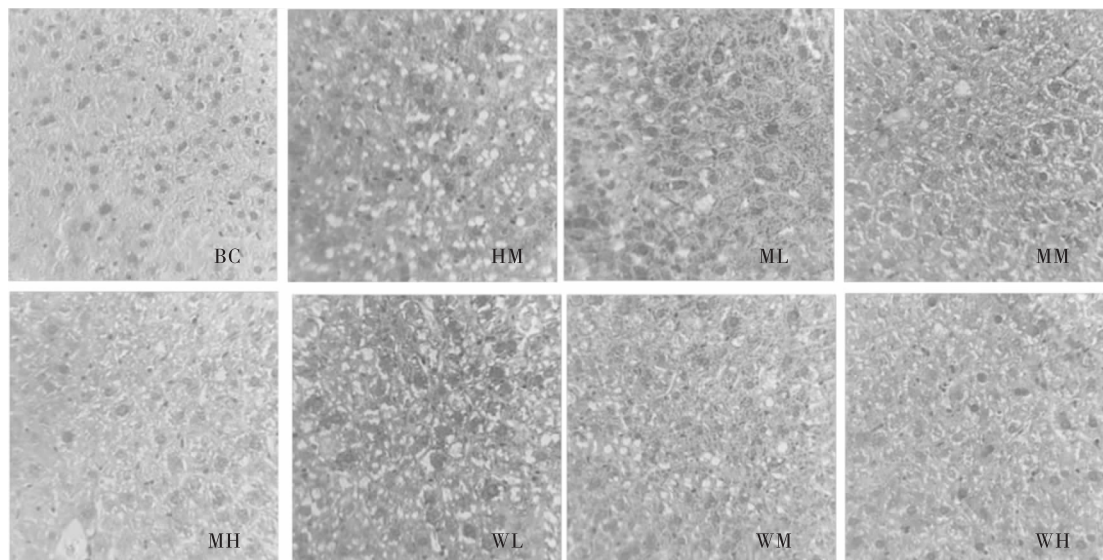


图 11 小鼠肝细胞油红 O 染色图

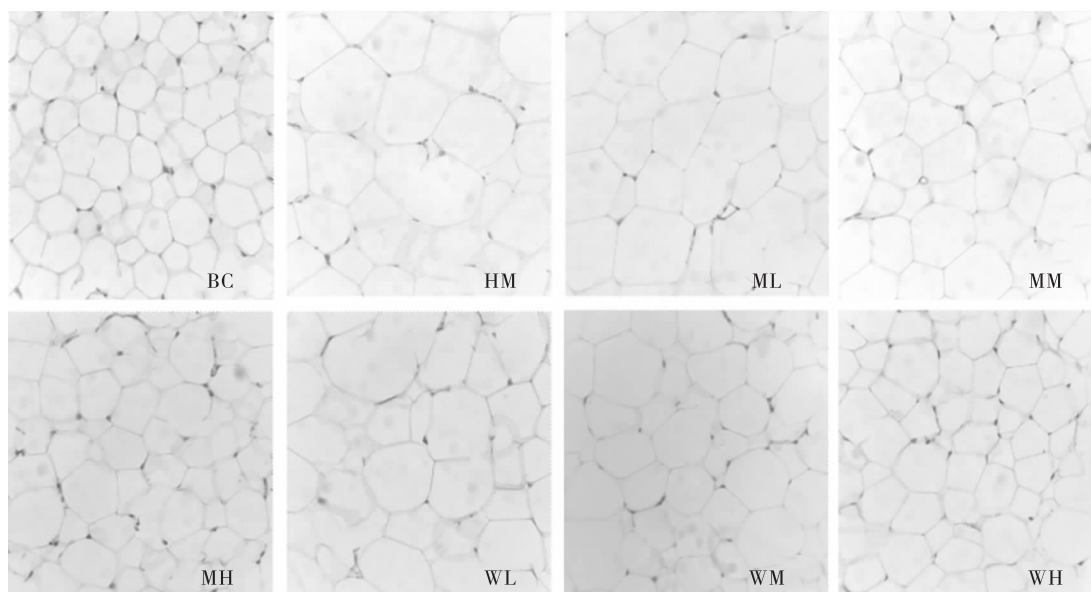


图 12 小鼠腹部脂肪细胞 HE 染色图

3 结论

喷雾干燥所制备的核桃油微胶囊包埋率高达 81.91%，水分含量 2.40%，溶解度 87.79%，休止角 37.22°，黏度、流动性适宜。喷雾干燥和冷冻干燥两种干燥方式制备的核桃油微胶囊均能有效缓解核桃油的氧化，其过氧化值、茴香胺值及总氧化值均低于核桃油。经体外模拟消化试验，喷雾干燥样品经模拟胃液及模拟肠液消化后，油脂释放率为 91.13%。生理功能评价结果表明，与核桃油相比，核桃油微胶囊更有利于缓解小鼠体重、肝质量、肝脏指数升高，降低血清 TC、TG、LDL-C 水平，提高 HDL-C 水平；降低肝脏 MDA 含量，提高肝脏 T-SOD 和 GSH-PX 活性，结合肝细胞染色图，核桃油微胶囊能有效缓解高脂模型小鼠的肝损伤。

参考文献：

- [1] MARCELA L M, DIANA O L, ALICIA L L, et al. Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products [J]. *J Sci Food Agric*, 2010, 90 (12): 1959-1967.
- [2] ZHOU D, PAN Y, YE J, et al. Preparation of walnut oil microcapsules employing soybean protein isolate and maltodextrin with enhanced oxidation stability of walnut oil [J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2017, 83: 292-297.
- [3] 王文琼. 改性乳清蛋白抗氧化性及山核桃油微胶囊制备[D]. 沈阳: 东北林业大学, 2013.
- [4] CALVO P, LOZANO M, ESPINOSA - MANSILLA A. In-vitro evaluation of the availability of ω -3 and ω -6 fatty acids and tocopherols from microencapsulated walnut oil [J]. *Food Res Int*, 2012, 48(1): 316-321.

(下转第 47 页)

- 2011, 9(4): 301 – 306.
- [37] AN K, LIU Y, LIU H. Relationship between total polar components and polycyclic aromatic hydrocarbons in fried edible oil [J]. Food Addit Contam A, 2017, 34(9): 1596 – 1605.
- [38] ANJUMA F, ANWARA F, JAMILA A, et al. Microwave roasting effects on the physico – chemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil [J]. J Am Oil Chem Soc, 2006, 83(9): 777 – 783.
- [39] 李涛, 盛喜霞, 马鹏飞, 等. 葵花籽油加热过程中异丁烯醛含量变化趋势的分析 [J]. 食品科技, 2013, 38(6): 163 – 166.
- [40] SONMEZDAG A S, KESEN S, AMANPOUR A, et al. LC – DAD – ESI – MS/MS and GC – MS profiling of phenolic and aroma compounds of high oleic sunflower oil during deep – fat frying [J]. J Food Process Pres, 2019, 43(3): 1 – 9.
- [41] ZHANG Q, WAN C, WANG C Z, et al. Evaluation of the non – aldehyde volatile compounds formed during deep – fat frying process [J]. Food Chem, 2018, 243: 151 – 161.
- [42] ZHANG Q, SALEH A S, CHEN J, et al. Chemical alterations taken place during deep – fat frying based on certain reaction products: a review [J]. Chem Phys Lipids, 2012, 165(6): 662 – 681.
- [43] XIAO L, LI C, CHAI D, et al. Volatile compound profiling from soybean oil in the heating process [J]. Food Sci Nutr, 2020, 8(2): 1139 – 1149.
- [44] FULLANA A, CARBONELL – BARRACHINA A A, SIDHU S. Volatile aldehyde emissions from heated cooking oils [J]. J Sci Food Agr, 2004, 84(15): 2015 – 2021.
- [45] KATRAGADDA H R, FULLANA A, SIDHU S, et al. Emissions of volatile aldehydes from heated cooking oils [J]. Food Chem, 2010, 120(1): 59 – 65.
- [46] ONTANON I, CULLERE L, ZAPATA J, et al. Application of a new sampling device for determination of volatile compounds released during heating olive and sunflower oil: sensory evaluation of those identified compounds [J]. Eur Food Res Technol, 2013, 236(6): 1031 – 1040.
- [47] KARADEMIR Y, GÖKMEN V, ÖZTOP H M. Investigation of lipid – derived formation of decadien – 1 – amine, 2 – pentylpyridine, and acrylamide in potato chips fried in repeatedly used sunflower oil [J]. Food Res Int, 2019, 121(7): 919 – 925.
-
- (上接第31页)
- [5] CALVO P, ÁNGEL L C, MARÍA T H. Effects of microcapsule constitution on the quality of microencapsulated walnut oil [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2011, 113(10): 1273 – 1280.
- [6] 聂斌英. 沙棘油及其微胶囊制品过氧化值的测定与比较 [J]. 食品工业科技, 2010, 31(1): 144 – 146.
- [7] CHUNG C, SANGUANSRI L, AUGUSTIN M A. In vitro lipolysis of fish oil microcapsules containing protein and resistant starch [J]. Food Chem, 2011, 124: 1480 – 1489.
- [8] TIMILSENA Y P, ADHIKARI R, BARROW C J. Digestion behaviour of chia seed oil encapsulated in chia seed protein – gum complex coacervates [J]. Food Hydrocoll, 2017, 66 (Complete): 71 – 81.
- [9] CHEW S C, TAN C P, NYAM K L. In – vitro, digestion of refined kenaf seed oil microencapsulated in β – cyclodextrin/gum arabic/sodium caseinate by spray drying [J]. J Food Eng, 2018, 225: 34 – 41.
- [10] SARKAR A, HORNE D S, SINGH H. Pancreatin – induced coalescence of oil – in – water emulsions in an in vitro duodenal model [J]. Int Dairy J, 2010, 20(9): 589 – 597.
- [11] GOYAL A, SHARMA V, SIHAG M K. Development and physicochemical characterization of microencapsulated flaxseed oil powder: a functional ingredient for *omega* – 3 fortification [J]. Powder Technol, 2015, 286: 527 – 537.
- [12] EDRIS A E, KALEMBA D, ADAMIEC J. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications [J]. Food Chem, 2016, 204: 326 – 333.
- [13] HUR S J, LIM B O, DECKER E A. In vitro human digestion models for food applications [J]. Food Chem, 2011, 125(1): 1 – 12.
- [14] KOSARAJU S L, WEERAKKODY R, AUGUSTIN M A. In – vitro evaluation of hydrocolloid – based encapsulated fish oil [J]. Food Hydrocoll, 2009, 23(5): 1413 – 1419.
- [15] CHEONG A M, TAN C P, NYAM K L. In vitro evaluation of the structural and bioaccessibility of kenaf seed oil nanoemulsions stabilised by binary emulsifiers and β – cyclodextrin complexes [J]. J Food Eng, 2016, 189: 90 – 98.
- [16] 李钊垚, 蹇瑜璇, 窦纯. 红景天苷对呋喃所致小鼠肝损伤的保护作用研究 [J]. 农产品加工, 2019(15): 53 – 57, 60.
- [17] 于悦卿, 张明明, 赵培, 等. 山楂叶总黄酮对 *ApoE* 基因敲除小鼠血浆炎症、凋亡和应激相关蛋白的影响及意义 [J]. 河北医药, 2019, 41(18): 2762 – 2765.