

不同明胶对金枪鱼油 O/W 乳液及其复合凝聚微胶囊理化特性的影响

毛晴雅¹, 禩俊勇¹, 黄俏茵¹, 张 杨¹, 刘思怡¹, 夏秋瑜^{1,2,3}, 刘书成^{1,2,3}

(1. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东省海洋食品工程技术研发中心, 广东省海洋生物制品工程重点实验室, 水产品深加工广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524088;

2. 大连工业大学 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034;

3. 南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江), 广东 湛江 524025)

摘要:旨在为不同明胶在 ω -3 油脂稳定递送及其相关产品研发和应用提供参考, 以金枪鱼油为油相, 分别采用猪皮明胶 (PSG)、鱼皮明胶 (CFG) 和酶法水解猪皮明胶 (BTG) 制备金枪鱼油水包油 (O/W) 乳液, 然后通过复合凝聚技术制备微胶囊, 在分析 3 种明胶理化性质的基础上, 考察不同明胶对金枪鱼油 O/W 乳液及其复合凝聚微胶囊理化特性的影响。结果表明: 3 种明胶中 PSG 的疏水性氨基酸含量以及表面疏水性更高, 凝胶强度更大; 3 种 O/W 乳液中 PSG 乳液的圆二色谱正、负向吸收峰比值的绝对值和粒径更小、分布更均匀, 乳化性质最优, 更稳定, 具有较高的表观黏度和黏弹性, CFG 乳液和 BTG 乳液在表观黏度、乳化性质、表面疏水性上无显著差异; CFG 乳液由于更低的凝胶强度, 在复合凝聚时液滴聚集较为分散; 3 种明胶复合凝聚金枪鱼油微胶囊形状均近似椭圆形, 均具有较好的分散程度, 较高的有效载荷、包埋率, 较低的表面油含量及较好的氧化稳定性, 其中以 PSG 为原料制备的微胶囊最优; 相比 BTG, 以 PSG 和 CFG 为原料制备的微胶囊具有更好的热稳定性。综上, 3 种明胶都可作为脂质稳定递送壁材, 在实际应用中可根据微胶囊的不同要求和用途选择相应的明胶。

关键词:明胶; 复合凝聚技术; O/W 乳液; 微胶囊; 稳定性

中图分类号: TS225.2; TQ936.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2025)03-0131-09

Effects of different gelatins on the physiochemical properties of tuna oil O/W emulsion and subsequent microcapsule via complex coacervation technique

MAO Qingya¹, XUAN Junyong¹, HUANG Qiaoyin¹, ZHANG Yang¹,
LIU Siyi¹, XIA Qiuyu^{1,2,3}, LIU Shucheng^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Product of Guangdong Higher Education Institution, Guangdong Province Engineering Laboratory for Marine Biological Products, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Seafood, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China; 2. Collaborative Innovation Center for Key Technologies of Marine Food Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China;

3. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhanjiang), Zhanjiang 524025, Guangdong, China)

收稿日期: 2023-10-23; 修回日期: 2024-10-29

基金项目: 国家自然科学基金(32172252); 广东海洋大学大学生创新创业训练计划项目(CXXL2024024); 广东省普通高校重点领域专项(2022ZDZX2028)

作者简介: 毛晴雅(1998), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全(E-mail)mqy1243989965@163.com。

通信作者: 夏秋瑜, 副研究员, 博士(E-mail)qiuyuxia@163.com。

Abstract: Aiming to provide reference for different gelatins in the stable delivery of ω -3 oils and their related product development and application, tuna oil was used as the oil phase,

and pig skin gelatin (PSG), fish skin gelatin (CFG) and enzymatically hydrolyzed pig skin gelatin (BTG) were used to prepare tuna oil O/W emulsions, respectively, and then the microcapsules were prepared by the complex coacervation technique. Based on the analysis of physicochemical properties of the three kinds of gelatin, the effects of different gelatins on the physicochemical properties of tuna oil O/W emulsions and their complex coacervation microcapsules were investigated. The results showed that among the three gelatins, PSG had higher hydrophobic amino acid content and surface hydrophobicity, and higher gel strength. Among the three O/W emulsions, the absolute value of the ratio of positive and negative absorption peaks of the circular dichroism spectrum and the particle size of the PSG emulsion were smaller and more uniformly distributed, and the PSG emulsion had optimal emulsification property, higher apparent viscosity and viscoelasticity, and was more stable. There was no significant difference between the CFG and BTG emulsions in terms of apparent viscosity, emulsification property, and surface hydrophobicity. The CFG emulsion had a more dispersed droplet aggregation during complex coacervation due to lower gel strength. The three gelatin complex coalesced tuna oil microcapsules were all approximately elliptical in shape, and all of them had a better degree of dispersion, higher payload, higher embedding rate, lower surface oil content, and better oxidative stability, among which, the microcapsule prepared from PSG was optimal. Compared to BTG, microcapsules prepared from PSG and CFG had better thermal stability. In conclusion, all three gelatins can be candidates for lipid-stabilized delivery walls, and the corresponding gelatins can be selected according to the different requirements and uses of microcapsules in practical applications.

Key words: gelatin; complex coacervation technique; O/W emulsion; microcapsule; stability

鱼油因富含 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸 ($\omega-3$ PUFA) 而具有广泛的健康功效和药用价值^[1]。然而,由于不饱和碳碳双键的存在,鱼油极易氧化,且难溶于水,在食品工业中的应用受限^[2]。微胶囊化是一种商业化的食品功能成分包埋技术,可将液态鱼油转化为稳定的固体粉末^[3],是提高其稳定性和生物利用度的有效途径。

明胶因具有营养丰富、高生物安全性、良好的凝胶特性等优势在食品加工业中应用广泛^[4-5]。明胶有不同的来源(猪、鱼、牛等)和制备方式(酸法、碱法、酶法等)^[6]。明胶是制备鱼油微胶囊的常用壁材,具有包埋效率高、稳定性强、口感好等特点^[7]。

明胶复合凝聚技术是一种利用明胶与其他物质(如聚合物、纳米颗粒、脂质体等)结合形成复合凝聚体的方法,已被成功用于鱼油微胶囊的制备。Wang 等^[8]采用明胶复合凝聚技术制备脂质营养强化金枪鱼油微胶囊,包埋率可达 99.84%; Xia 等^[9-10]采用明胶复合凝聚技术制备鳕鱼油微胶囊,包埋率可达 95% 以上;汤夕瑶等^[11]以明胶与六偏磷酸钠为壁材,通过复合凝聚法制备金枪鱼油微胶囊,所制备的金枪鱼油微胶囊呈现较好的感官特性、包埋特性和粉体性质,氧化稳定性显著提高。

乳液是常见的活性物质传递体系之一,作为复合凝聚微胶囊形成的前期阶段,乳液的部分理化特性会影响微胶囊的封装效率与稳定性^[12]。目前有关不同壁材对复合凝聚微胶囊理化性质影响的研究较多,但围绕明胶复合凝聚微胶囊包埋鱼油工艺,从水包油(O/W)明胶乳液制备、复合凝聚发生到微胶囊形成和表征,研究不同明胶对 O/W 乳液特性及其对复合凝聚微胶囊包埋特性的分析研究较少。本文分析了 3 种不同来源明胶[猪皮明胶(PSG)、鱼皮明胶(CFG)和酶法水解猪皮明胶(BTG)]的理化性质,然后以金枪鱼油为油相,以明胶与六偏磷酸钠复合凝聚层为壁材制备成 O/W 乳液和微胶囊,比较了不同明胶对 O/W 乳液和微胶囊特性的影响,期为明胶在脂质活性物质的高效稳定递送及其产品研发等方面提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

金枪鱼油,由澳大利亚 Nu-Mega 有限公司赠送;猪皮明胶(PSG)(type A, ~300 g bloom),德国 Sigma-Aldrich 有限公司;鱼皮明胶(CFG),美国 Merck 公司;酶法水解猪皮明胶(99% 生物技术级, BTG)(~200 g bloom),上海麦克林生化科技股份有

限公司;维生素 E, 中国麦克林生化科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

TMS-Pro 型质谱仪, 美国 FTC 公司; STA449F3 Jupiter 型热重分析仪、Agilent1100 液相色谱仪, 美国安捷伦公司; RF-5301pc 荧光光谱仪, 德国 Bruker 光谱仪器公司; MS-40 型数字顶置式搅拌器, 上海科兴仪器有限公司; WIGGENS D-5000 型高速均质机, 北京维根技术有限公司; UV-2550 型紫外分光光度计, 上海岛津企业管理有限公司; Chirascan V10 型圆二色光谱仪, 英国应用光物理公司; HAAKE MARS III 型流变仪, 上海赛默飞世尔科技有限公司; Olympus CX43 型光学显微镜, 德国卡尔蔡司光学有限公司; JSM-7610F 型扫描电子显微镜, 日本捷欧路有限公司; Zetasizer Nano Zse 型马尔文纳米粒度电位仪、Master Sizer 2000 激光粒度分析仪, 英国马尔文仪器有限公司; Metrohm 743 型油脂氧化稳定性测试仪, 瑞士埃里森公司。

1.2 试验方法

1.2.1 明胶理化性质测定

1.2.1.1 凝胶强度

采用 Muyonga 等^[13]的方法并稍作修改。将明胶配制成质量浓度为 66.7 g/L 水溶液, 然后于 10℃ 放置 16 h 胶凝后, 用质构仪测定凝胶强度。测定条件: 直径 12.7 mm 的平头圆柱探头, 探头下降速度 0.5 mm/s, 最大压力 5 kN, 压入深度 4 mm。

1.2.1.2 氨基酸含量

样品前处理: 称取 0.50 g 样品于 10 mL 离心管中, 加入 5 mL 0.01 mol/L 盐酸, 涡旋混匀, 沸水浴 15 min, 超声 10 min, 4 000 r/min 离心 5 min, 取上清液于 10 mL 离心管中。向沉淀物中加入 4 mL 0.01 mol/L 盐酸, 涡旋混匀, 超声 10 min, 4 000 r/min 离心 5 min。合并上清液, 用超纯水定容至 10 mL, 混匀, 经 0.22 μm 水系滤膜针头过滤器过滤于进样小瓶中, 待液相色谱检测。

液相色谱检测条件: 采用安捷伦公司自动在线衍生化方法, 一级氨基酸与邻苯二甲醛(OPA)、二级氨基酸与茚甲氧羰酰氯(FMOC)衍生后过柱检测; ZORBAX Eclipse AAA 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 3.5 μm); 可变波长检测器(VWD), 检测波长为 338 nm (0~19 min)、266 nm (19.01~25 min); 流动相 A 为 40 mmol/L 磷酸二氢钠(pH 7.8), 流动相 B 为乙腈-甲醇-水(体积比 45:45:10), 流速 1 mL/min; 柱温 45℃。流动相洗脱梯度如表 1 所示。

表 1 流动相洗脱梯度

Table 1 Gradient of mobile phase elution

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	100	0
1	100	0
23	43	57
27	0	100
34	0	100
40	100	0
41	100	0

1.2.1.3 表面疏水性

将明胶溶液分别梯度稀释至质量浓度为 0.16、0.08、0.04、0.02、0.01 mg/mL, 用 pH 7.0 的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)配制浓度为 8 mmol/L 的 1-苯胺基-8-萘磺酸(ANS)溶液, 取 20 μL ANS 溶液加入到 4 mL 稀释的明胶溶液中并充分混合, 将混合物在室温下避光放置 25 min。采用荧光光谱仪在激发波长 390 nm、发射波长 470 nm 处测定荧光强度。按公式(1)计算各相对荧光强度(I_{RF})。以相对荧光强度为纵坐标, 明胶质量浓度为横坐标绘制曲线, 以该曲线的初始斜率表示明胶表面疏水性。

$$I_{RF} = \frac{F_s - F_0}{F_0} \quad (1)$$

式中: F_s 和 F_0 分别为明胶-ANS 结合物的荧光强度和单独 ANS 溶液的荧光强度。

1.2.2 O/W 乳液的制备

将 16 g 金枪鱼油(含鱼油质量 0.04% 的维生素 E)分别与 120 g 质量分数为 8% 的 PSG、CFG 和 BTG 溶液混合, 使用数字顶置式搅拌器于 1 200 r/min 下预乳化 5 min, 再使用高速均质机于 20 000 r/min 下均质 15 min, 制得 3 种金枪鱼油 O/W 乳液, 分别记为 PSG 乳液、CFG 乳液和 BTG 乳液。

1.2.3 明胶复合凝聚微胶囊的制备

将新鲜制备的明胶乳液与等量质量分数为 0.53% 六偏磷酸钠溶液混合, 以 800 r/min 的速度于 50℃ 下搅拌, 并逐滴加入 1% 磷酸溶液调节混合液 pH, 使用配有摄像头的光学显微镜监测复合凝聚过程, 当观察到复合凝聚物聚集状态达到最佳时, 停止调节 pH。待复合凝聚稳定后, 以 12℃/h 的速度将样品冷却至 5℃, 并于 5℃ 下保持 30 min, 再加入 50 mL 质量分数为 6% 的转谷氨酰胺酶溶液, 以 5℃/h 的速度将温度升高至 25℃ 后并保持 5 h 以完成交联, 真空冷冻干燥 36 h 后得到微胶囊。PSG、BTG 和 CFG 制备的微胶囊分别记为 Mic-PSG、

Mic - BTG 和 Mic - CFG。

1.2.4 O/W 乳液特性分析

1.2.4.1 乳化活性(EAI)和乳化稳定性(ESI)

参考 Diao 等^[14]的方法并稍作修改。取 0.5 mL O/W 乳液,用 0.1% 十二烷基硫酸钠(SDS)溶液将其稀释 100 倍。使用紫外分光光度计,以 SDS 溶液为空白液测定其吸光度(波长 500 nm),稀释后的混合液室温下静置 12 h 后再次测定吸光度。分别按式(2)和式(3)计算乳液的乳化活性(EAI)和乳化稳定性(ESI)。

$$I_{EA} = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times D}{C \times (1 - \varphi) \times 10\,000} \quad (2)$$

$$I_{ES} = A_{12}/A_0 \times 100\% \quad (3)$$

式中: I_{EA} 、 I_{ES} 分别为 EAI 和 ESI 值; A_0 为 0 h 时的吸光度; A_{12} 为 12 h 时的吸光度; D 为稀释倍数; C 为乳液的质量浓度,g/mL; φ 为油相体积分数。

1.2.4.2 平均粒径和 Zeta 电位

用超纯水将乳液稀释 400 倍后,使用马尔文纳米粒度电位仪测定乳液的平均粒径、多分散系数(PDI)和 Zeta 电位。

1.2.4.3 表面疏水性

将乳液梯度稀释 60、120、240、480、960 倍,用 ANS 作为疏水探针测定液滴表面疏水性。方法同 1.2.1.3。

1.2.4.4 蛋白质构象

用内源荧光光谱和圆二色(CD)光谱表征乳液中蛋白质结构,采用 Zhang 等^[15]的方法并稍作修改。

用超纯水将乳液稀释到 1 000 倍,采用荧光光谱仪测定内源荧光光谱。参数设置:激发波长 280 nm,发射波长 300 ~ 400 nm,发射狭缝宽度 5 nm,增量 10 nm。

用超纯水将乳液稀释 100 倍,在光程长度为 5 mm 的石英吸收池中加入 200 μ L 样品,采用圆二色光谱仪记录圆二色(CD)光谱。测定条件:扫描波长范围 180 ~ 260 nm,扫描速度 100 nm/min。

1.2.4.5 流变学特性

使用流变仪测定乳液表观黏度。参数设置:P60 探头,平板间隙 0.3 mm,测试温度 25 $^{\circ}$ C,平衡时间 3 min,剪切速率 0 ~ 100 s^{-1} 。

使用流变仪在角频率 10 rad/s 的条件下进行 0.01% ~ 100% 的动态应变扫描先确定样品的线性黏弹性区域(LVR),然后在 1% 的应变(在 LVR 区)、P60 探头、测试温度 25 $^{\circ}$ C、平衡时间 1 min、测

量间隙 0.3 mm、振荡频率 0.1 ~ 50 Hz 下,测定乳液的储能模量(G')和损耗模量(G'')。

1.2.5 微胶囊理化特性分析

1.2.5.1 微观形态

使用扫描电子显微镜对微胶囊的形态进行观察。使用双面碳胶带将微胶囊直接安装在圆形铝短柱上镀金 60 s,在环境温度下,使用 5 kV 的加速电压进行扫描。

1.2.5.2 粒径分布

使用激光粒度分析仪测定微胶囊粉末的粒径分布,分别按公式(4)、(5)、(6)计算体积表面平均直径[$d(3,2)$]、体积加权平均直径[$d(4,3)$]和分散指数(S)。

$$d(3,2) = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (4)$$

$$d(4,3) = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (5)$$

$$S = \frac{d(0.9) - d(0.1)}{d(0.5)} \quad (6)$$

式中: n_i 为第 i 个尺寸范围内的颗粒数量; d_i 为第 i 个尺寸范围内颗粒的平均直径; $d(0.1)$ 、 $d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 分别为对应于 10%、50% 和 90% 累积分布液滴的平均直径。

1.2.5.3 包埋特性

表面油含量测定:将 3 g 微胶囊粉末分散在 30 mL 正己烷中,涡旋 60 s 后离心(4 $^{\circ}$ C, 10 000 r/min, 20 min),回收正己烷部分,在 50 $^{\circ}$ C 下旋转蒸发去除正己烷后置于 80 $^{\circ}$ C 干燥至恒重。冷却至室温后,通过重量法测定微胶囊表面油的质量,以表面油质量与微胶囊质量比值计算表面油含量。

总油质量测定:根据 Wang 等^[8]的方法并部分修改。取 2 g 微胶囊溶于 20 mL 4 mol/L 盐酸和 20 mL 正己烷中,涡旋 60 s,再于混匀仪中旋转 12 h 后离心(20 $^{\circ}$ C, 10 000 r/min, 30 min),回收正己烷部分,在 50 $^{\circ}$ C 下旋转蒸发去除正己烷后置于 80 $^{\circ}$ C 干燥至恒重。冷却至室温后,通过重量法测定微胶囊的总油质量。

分别按公式(7)、(8)、(9)计算包埋率(E)、有效载荷(P)、封装效率(Y)。

$$E = (m_1 - m_s)/m_1 \times 100\% \quad (7)$$

$$P = m_1/m_m \times 100\% \quad (8)$$

$$Y = m_1/m_i \times 100\% \quad (9)$$

式中: m_s 和 m_1 分别是微胶囊的表面油质量和总

油质量, g ; m_i 和 m_m 分别是微胶囊化过程中添加的油质量和微胶囊样品质量, g 。

1.2.5.4 稳定性

氧化稳定性: 将 4 g 鱼油(含鱼油质量 0.04% 的维生素 E) 或 2 g 微胶囊分别放入油脂氧化稳定性测试仪中, 在加热温度 90 °C、气流速率 20 L/h 下测定其电导率, 样品中电导率开始急剧上升时对应的时间为氧化稳定性指数(OSI)。

热稳定性: 使用热重分析仪分析 3 种微胶囊的热性能。试验前, 将微胶囊样品冷冻干燥 72 h 以确保含水量相似。测试条件为氮气温度 25 ~ 600 °C、加热速率 5 °C/min。

1.2.6 数据处理

每组实验设定 3 个平行样本, 数据以“平均值 ± 标准差”表示。数据采用 IBM SPSS Statistics 20 软件进行单因素方差分析(ANOVA)法和邓肯法(Duncan's)统计学比较。 $p < 0.05$, 认为有显著性差异; 采用 Origin Pro 2023 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 3 种明胶的理化性质

经测定, PSG、BTG、CFG 的凝胶强度分别为 518.45、507.78、220.78 g。其中 PSG 的凝胶强度最高, 而 CFG 的凝胶强度最低。明胶的凝胶强度与其分子质量和氨基酸组成有关, 受处理方式的影响^[16], 其体现的是明胶形成交联网络结构后的抗逆能力, 凝胶强度越高, 赋予乳液的机械强度越大。

表 2 为 3 种明胶的氨基酸含量。

表 2 3 种明胶的氨基酸含量

Table 2 Amino acid contents of three types of gelatin

氨基酸	PSG	BTG	CFG
天冬氨酸	1.81	3.11	3.65
谷氨酸	4.38	4.19	5.69
天冬酰胺	0.35	0.00	0.30
丝氨酸	1.32	0.69	0.70
甘氨酸	4.67	2.85	2.38
苏氨酸	0.75	0.46	0.44
瓜氨酸	0.64	0.58	0.86
精氨酸	0.39	0.44	0.32
丙氨酸*	5.23	2.79	2.77
酪氨酸	0.30	0.72	0.67
半胱氨酸	0.87	0.00	0.00
缬氨酸*	1.25	0.65	0.50
甲硫氨酸*	0.55	0.49	0.60
正缬氨酸	1.44	1.47	1.10
色氨酸*	2.29	2.28	1.64

续表 2

	PSG	BTG	CFG
苯丙氨酸*	1.89	0.65	0.55
异亮氨酸*	1.54	1.22	1.73
亮氨酸*	2.81	0.54	0.69
赖氨酸	1.17	0.00	0.00
羟脯氨酸	53.14	65.37	60.38
肌氨酸	10.60	8.98	13.82
脯氨酸*	2.60	2.51	1.20
疏水性氨基酸	18.17	11.13	9.68

注: * 为疏水性氨基酸

Note: *. Hydrophobic amino acids

由表 2 可知, PSG、BTG、CFG 中色氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、脯氨酸和甲硫氨酸 8 种疏水性氨基酸总含量分别为 18.17%、11.13%、9.68%。肖瑞祺^[17]研究发现, 明胶的凝胶强度和热稳定性等受明胶的亚氨基酸及疏水性氨基酸含量的影响。

经测定, PSG、BTG、CFG 的表面疏水性分别为 21.44、7.28、3.98。表面疏水性与蛋白链中疏水性氨基酸的暴露程度有关。

2.2 3 种 O/W 乳液的理化特性

2.2.1 基本理化性质

表 3 为 3 种 O/W 乳液基本理化性质。

表 3 3 种 O/W 乳液基本理化性质

Table 3 Basic physicochemical properties of three O/W emulsions

指标	PSG 乳液	BTG 乳液	CFG 乳液
EAI/(m ² /g)	4.52 ± 0.04 ^a	4.34 ± 0.11 ^b	4.34 ± 0.03 ^b
ESI/%	95.48 ± 1.71 ^a	92.22 ± 1.11 ^b	91.83 ± 0.64 ^b
平均粒径/nm	727.37 ± 19.54 ^c	1 410.33 ± 108.74 ^a	958.50 ± 155.85 ^b
PDI	0.58 ± 0.03 ^b	0.78 ± 0.02 ^a	0.82 ± 0.01 ^a
Zeta 电位/mV	16.33 ± 0.38 ^a	-4.89 ± 0.23 ^b	16.40 ± 0.72 ^a
表面疏水性	9.48 ± 0.12 ^a	7.66 ± 0.41 ^b	7.28 ± 0.68 ^b

注: 同行不同字母代表有显著差异($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters in the same row represent significant differences($p < 0.05$). The same below

EAI 可表示蛋白质在水油界面的吸附情况和乳液乳化效果, 而 ESI 可直接反映乳液保持稳定并不出现凝絮、破乳或者分层等现象的能力^[18]。由表 3 可知, 3 种 O/W 乳液中, PSG 乳液的 EAI 和 ESI 均最高, CFG 乳液和 BTG 乳液的 EAI 和 ESI 无显著差异($p > 0.05$)。这可能与明胶的疏水性有关, 蛋白质的表面疏水性越大, 在水油界面吸附的蛋白质越多, 从而导致乳液 EAI 增大^[19]。

PDI 可反映乳液中油滴的分布均匀程度, PDI

越小,乳液中的油滴粒径分布越均匀。较小的液滴粒径和均匀的液滴分布可使乳液有效延缓布朗运动和重力场运动^[20]。由表3可知,PSG乳液的平均粒径和PDI均最小,分别为727.37 nm和0.58,BTG乳液的平均粒径最大,为1410.33 nm,而BTG乳液和CFG乳液的PDI均显著大于PSG乳液的($p < 0.05$),且二者之间无显著差异($p > 0.05$)。

Zeta电位用于表征胶体颗粒上的净表面电荷,可以反映胶体颗粒之间的排斥相互作用大小,Zeta电位绝对值越大,越有利于乳液体系的稳定递送,抵抗液滴聚集能力越强^[21]。由表3可知,CFG乳液和PSG乳液的Zeta电位绝对值均显著高于BTG乳液的($p < 0.05$),且二者无显著差异($p > 0.05$)。

由表3可知,PSG乳液的表面疏水性显著高于BTG乳液和CFG乳液的($p < 0.05$)。较高的表面疏水性使PSG乳液中油滴不易聚集、分布更均匀。

2.2.2 蛋白质构象

图1为3种O/W乳液的荧光光谱图。

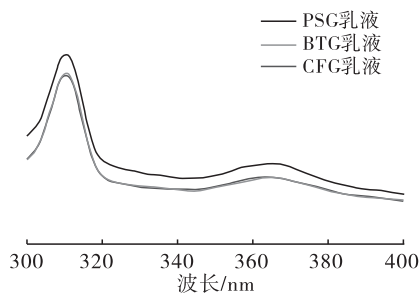


图1 3种O/W乳液的荧光光谱图

Fig. 1 Fluorescence spectra of three O/W emulsions

由图1可看出,所有样品的最大吸收峰均出现在310 nm附近,且PSG乳液的最大吸收峰峰值强度比BTG乳液和CFG乳液的大。内源荧光强弱与蛋白质分子表面疏水基团有关^[22],这与疏水性氨基酸分析的结果(表2)一致。

天然胶原蛋白是一种具有光学活性的蛋白质,这种特殊结构的CD光谱会在220 nm处呈现出正

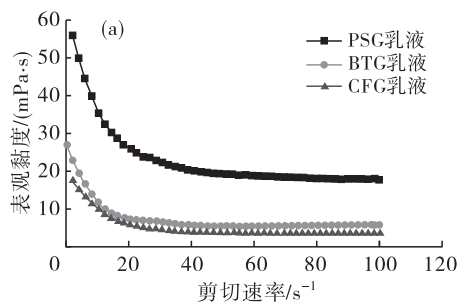


图3 3种O/W乳液的流变学特性

Fig. 3 Rheological properties of three O/W emulsions

由图3a可看出,在0~100 s⁻¹剪切速率范围

向吸收峰(三螺旋结构的特征吸收),在198 nm处呈现出负向吸收峰的特征曲线^[23]。图2为3种明胶溶液及其乳液的CD光谱图。

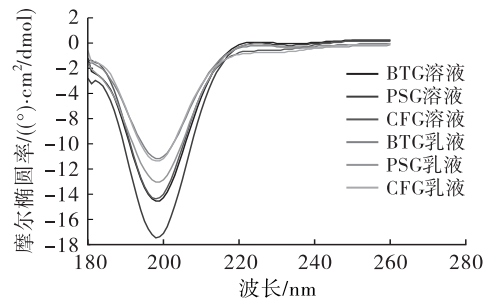


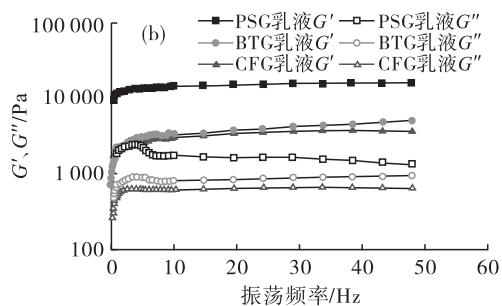
图2 3种明胶溶液及其乳液的CD光谱图

Fig. 2 Circular dichroism spectra of three gelatin solutions and their emulsions

从图2可以看出,所有样品的特征光谱在198 nm左右处有一个负吸收峰,在220 nm有一个正向吸收峰。正、负向吸收峰比值的绝对值(Rpn值)是衡量蛋白质中三螺旋结构含量的一个指标,CFG溶液、PSG溶液、BTG溶液的Rpn值分别为0.078 1、0.036 1、0.031 0,均小于天然胶原的Rpn值范围(0.12~0.15)^[24],说明这3种明胶虽然是由天然胶原部分水解而成,但不再保持天然胶原的空间结构,没有表现出明显的三螺旋结构,均已变成无规卷曲的空间状态^[25]。Rpn值也可以用来反映不同蛋白质溶液中聚集体的构象,Rpn值越大,溶液中大分子聚集团越多,分布越混乱。CFG乳液、PSG乳液、BTG乳液的Rpn值分别为0.117 9、0.048 0、0.068 0,其中PSG乳液的Rpn值最小,说明PSG乳液粒径更小且分布更为均匀。不同明胶O/W乳液的Rpn值均大于其相应的明胶溶液的Rpn值,这可能是因为O/W乳液体系中的分散相为众多的油滴小分子,相对于明胶溶液分布更混乱。

2.2.3 流变学特性

图3为3种O/W乳液的流变学特性。



内,3种乳液都表现出了剪切稀化行为,均呈现出假

塑性非牛顿流体特性。PSG乳液的表观黏度最大,这可能与PSG乳液更小的粒径有关。乳液液滴越小,液滴间分布更密集而使其更具黏性和抗外力变形能力^[26]。

由图3b可看出,随着振荡频率的增大,乳液的 G' 逐渐增大并趋于平缓,且 G' 始终大于 G'' ,表明所有样品是以弹性为主导的弱凝胶状态^[27]。其中PSG乳液的黏弹性较高,这可能与PSG乳液更小的液滴粒径、更均匀的粒径分布(见表3)有关。更高

的黏弹性能更好地抑制液滴的运动,提高乳液的稳定性^[28]。而CFG乳液和BTG乳液较大的液滴粒径导致其凝胶网络结构疏松,整体结构强度较弱,流动性较强。

2.3 3种微胶囊理化特性

2.3.1 微观形态

3种明胶制备的乳液及其复合凝聚过程的光学显微图像和3种微胶囊的扫描电镜图像如图4所示。

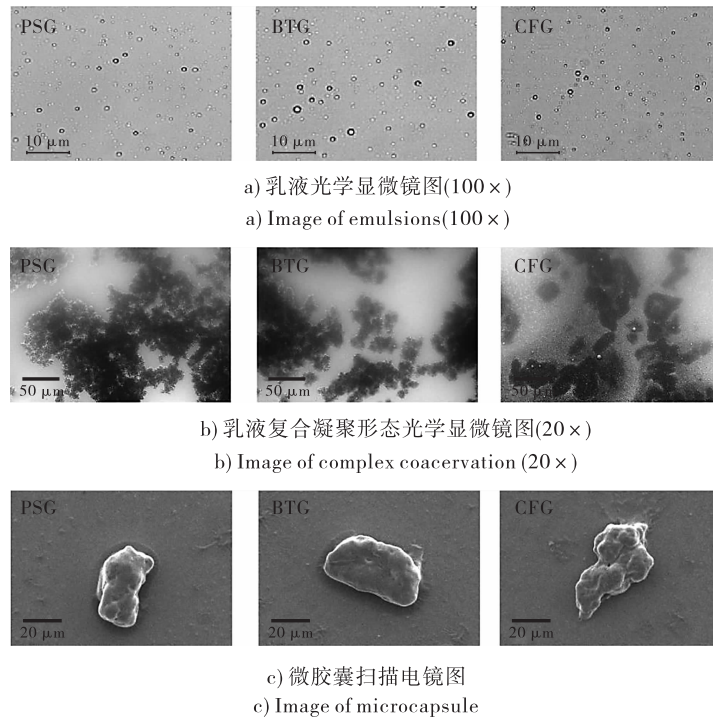


图4 3种明胶制备的乳液、复合凝聚物和微胶囊图像

Fig. 4 Images of emulsion, complex coacervation and microcapsule prepared by three types of gelatin

从图4a和图4b可以看出,PSG乳液的液滴较小且分布更均匀,在最佳pH下,PSG乳液和BTG乳液的复合凝聚形态比CFG乳液更紧密,CFG乳液在复合凝聚时液滴聚集较为分散,这可能与CFG更低的凝胶强度有关。杨孟杨^[29]研究发现,在复合凝聚过程中,冷水鱼皮明胶制备的乳液所形成的聚集体不稳定,形态易发生变化,与本文研究结果相似。由图4c可以看出,3种微胶囊形状近似椭圆形,表面结构完整,未发现裂纹或损坏,油滴被完整包裹。微胶囊表面出现部分褶皱,这可能是真空冷冻干燥过程引起的。

2.3.2 粒径分布及包埋特性

表4为3种微胶囊的粒径分布及包埋特性。

由表4可看出,3种微胶囊的 $d(4,3)$ 均在40~60 μm 之间,分散程度较大。3种微胶囊均具有高有效载荷(>49%)、高包埋率(>90%)、低表面油

含量(<5%)的特点,这对于鱼油的稳定和长期保存具有重要作用^[9,11]。Mic-PSG的表面油含量最低,Mic-CFG的表面油含量最高,这可能是CFG凝胶强度较低导致的。

表4 3种微胶囊的粒径分布及包埋特性

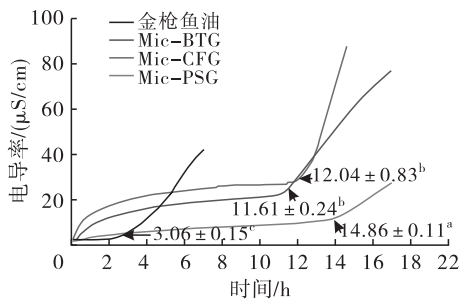
Table 4 Particle size distribution and embedding characteristics of three types of microcapsules

指标	Mic-PSG	Mic-BTG	Mic-CFG
$d(3,2)/\mu\text{m}$	21.94 ± 0.72 ^c	34.26 ± 0.84 ^b	43.67 ± 0.69 ^a
$d(4,3)/\mu\text{m}$	44.35 ± 1.01 ^c	49.34 ± 1.87 ^b	53.39 ± 3.68 ^a
分散指数	1.40 ± 0.02 ^a	1.32 ± 0.02 ^b	1.02 ± 0.01 ^c
表面油含量/%	1.52 ± 0.00 ^b	1.79 ± 0.00 ^b	3.51 ± 0.00 ^a
有效载荷/%	57.34 ± 0.03 ^a	50.69 ± 0.15 ^b	49.84 ± 0.02 ^c
包埋率/%	97.36 ± 0.22 ^a	96.46 ± 0.26 ^b	92.96 ± 0.22 ^c
封装效率/%	96.09 ± 0.05 ^a	91.00 ± 0.26 ^b	89.46 ± 0.03 ^c

2.3.3 稳定性

3种微胶囊的氧化稳定性如图5所示。

由图 5 可看出,微胶囊化后鱼油的 OSI 从 3.06 h 延长至 11 h 以上,这与明胶-六偏磷酸钠络合物能有效延缓油脂与氧气的接触有关。3 种微胶囊中 Mic-PSG 的氧化稳定性最高,OSI 为 14.86 h,这可能是由于 PSG 乳液的 EAI 和 ESI 均最高,增加了微胶囊壁材结构的完整性^[30]。此外,乳液更小的液滴粒径和更高的表面疏水性可能使得复合凝聚过程更加剧烈,推动了更致密结构微胶囊的形成^[31],减少了周围氧气和水分通过微胶囊壳的扩散,对鱼油具有更好的保护效果。



注:图中数字表示 OSI;不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$)

Note: The numbers in the figure represent OSI. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$)

图 5 金枪鱼油与 3 种微胶囊的氧化稳定性比较
Fig. 5 Comparison of oxidation stability of three types of microcapsules and tuna oil

热重分析法(TGA)可用于表征外壳材料之间的相互作用和保护芯材免受热降解的能力。3 种微胶囊的热重分析结果如图 6 所示。

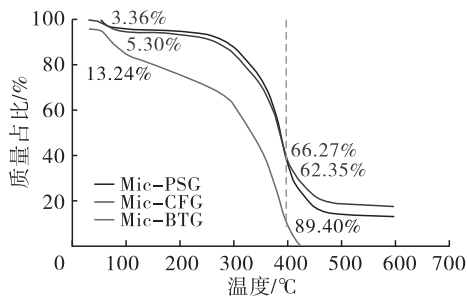


图 6 3 种微胶囊的热重分析
Fig. 6 Thermogravimetric analysis of three types of microcapsules

由图 6 可看出,在相对较低的温度范围($< 100^\circ\text{C}$)内,Mic-PSG 和 Mic-CFG 的质量出现小幅度下降,而在这一阶段,Mic-BTG 的质量损失较大,100 $^\circ\text{C}$ 时质量损失率达到 13.24%,说明 Mic-BTG 在这一阶段壁材已经开始热分解且随着温度的升高,微胶囊结构破裂使得芯材释放从而导致质量损失速率加快。温度上升到 400 $^\circ\text{C}$ 时,Mic-BTG 的质量损失率达到 89.40%,这表明 Mic-BTG 的抗

热性较差。Mic-PSG 和 Mic-CFG 在 400 $^\circ\text{C}$ 前的质量损失接近,400 $^\circ\text{C}$ 时质量损失率分别为 62.35% 和 66.27%,表明在这个温度范围内,Mic-PSG 和 Mic-CFG 的耐热性差异不大,在一般的食品加工条件中可以保持较好的热稳定性,延缓挥发性物质的释放。

3 结论

本文分析了不同明胶对金枪鱼油 O/W 乳液及其通过复合凝聚形成的微胶囊理化特性的影响。3 种明胶的理化性质存在显著差异,其中 PSG 的凝胶强度最高,并且含有更多的疏水性氨基酸,其表面疏水性也最大。采用 3 种明胶制备金枪鱼油 O/W 乳液,相比于 BTG 乳液和 CFG 乳液,PSG 乳液的乳化稳定性更好,Rpn 值、平均粒径和 PDI 较小,乳液中的油滴粒径分布更均匀;PSG 乳液的表观黏度和黏弹性均更大,能较好地稳定乳液。微观图像显示,3 种明胶乳液通过复合凝聚制备的微胶囊均近似椭圆形,但 CFG 溶液在复合凝聚过程中聚集体不稳定,形态易发生变化。3 种微胶囊中,Mic-PSG 的表面油含量最低,Mic-CFG 的表面油含量最高。3 种微胶囊均具有高有效载荷、高包埋率;3 种微胶囊的氧化稳定性差异显著,其中 Mic-PSG 的氧化稳定性和热稳定性总体最高。3 种明胶都可作为脂质稳定递送壁材,在实际应用中可根据微胶囊的不同要求和用途选择相应的明胶。

参考文献:

- [1] SHEN S, GONG C, JIN K, et al. Omega-3 fatty acid supplementation and coronary heart disease risks: A meta-analysis of randomized controlled clinical trials [J/OL]. Front Nutr, 2022, 9: 809311 [2023-10-23]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.809311>.
- [2] SHI J, WANG W, SANG G, et al. Short-term usage of omega-3 polyunsaturated fatty acids ameliorate lipopolysaccharide-induced inflammatory response and oxidative stress in the neonatal rat hippocampal tissue [J/OL]. Front Nutr, 2020, 7: 572363 [2023-10-23]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.572363>.
- [3] KRALOVEC J A, ZHANG S, ZHANG W, et al. A review of the progress in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources [J]. Food Chem, 2012, 131(2): 639-644.
- [4] ZHANG T, XU J, ZHANG Y, et al. Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification [J]. Trends Food Sci Technol, 2020, 106: 113-131.

- [5] KARIM A A, BHAT R. Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins[J]. Food Hydrocolloid, 2009, 23(3): 563–576.
- [6] 张兵, 王毅虎, 王颖, 等. 酸法明胶、碱法明胶及酶法明胶的分子量分布分析[J]. 明胶科学与技术, 2012, 32(4): 180–189.
- [7] ERATTE D, DOWLING K, BARROW C J, et al. Recent advances in the microencapsulation of *omega*-3 oil and probiotic bacteria through complex coacervation: A review [J]. Trends Food Sci Technol, 2018, 71: 121–131.
- [8] WANG B, VONGSVIVUT J, ADHIKARI B, et al. Microencapsulation of tuna oil fortified with the multiple lipophilic ingredients vitamins A, D₃, E, K₂, curcumin and coenzyme Q₁₀[J]. J Funct Foods, 2015, 19: 893–901.
- [9] XIA Q Y, WANG B, AKANBI T O, et al. Microencapsulation of lipase produced *omega*-3 concentrates resulted in complex coacervates with unexpectedly high oxidative stability[J]. J Funct Foods, 2017, 35: 499–506.
- [10] XIA Q Y, AKANBI T O, WANG B, et al. Investigating the mechanism for the enhanced oxidation stability of microencapsulated *omega*-3 concentrates[J/OL]. Mar Drugs, 2019, 17(3): 143 [2023-10-23]. <https://doi.org/10.3390/md17030143>.
- [11] 汤夕瑶, 棚俊勇, 夏秋瑜, 等. 金枪鱼油微胶囊的复合凝聚法制备工艺及其理化性质[J]. 中国油脂, 2022, 47(11): 103–109.
- [12] WANG B, ADHIKARI B, BARROW C J. Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation[J]. Food Chem, 2014, 158: 358–365.
- [13] MUYONGA J H, COLE C G B, DUODU K G. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin [J]. Food Hydrocolloid, 2004, 18(4): 581–592.
- [14] DIAO X, GUAN H, ZHAO X, et al. Properties and oxidative stability of emulsions prepared with myofibrillar protein and lard diacylglycerols [J]. Meat Sci, 2016, 115: 16–23.
- [15] ZHANG Q, DONG H, GAO J, et al. Field pea protein isolate/chitosan complex coacervates: Formation and characterization[J/OL]. Carbohydr Polym, 2020, 250: 116925 [2023-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116925>.
- [16] PAL G K, NIDHEESH T, SURESH P V. Comparative study on characteristics and *in vitro* fibril formation ability of acid and pepsin soluble collagen from the skin of catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) [J]. Food Res Int, 2015, 76(Pt 3): 804–812.
- [17] 肖瑞祺. 不同物种皮肤来源的胶原蛋白和糖胺聚糖的结构与免疫活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2021.
- [18] LI D, ZHAO Y, WANG X, et al. Effects of (+)-catechin on a rice bran protein oil-in-water emulsion: Droplet size, Zeta-potential, emulsifying properties, and rheological behavior[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2020, 98: 105306 [2023-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105306>.
- [19] KATO A, NAKAI S. Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins[J]. Biochim Biophys Acta, 1980, 624(1): 13–20.
- [20] 王艳红, 田少君, 张争全, 等. 大豆分离蛋白-黄原胶-茶多酚复合物的制备及其乳液性质表征[J]. 中国油脂, 2021, 46(4): 38–42.
- [21] LI L, TIAN Y. Zeta potential. Encyclopedia of pharmaceutical technology [Z]. New York: Marcel Dekker, Inc, 2002.
- [22] AROGUNDADE L A, MU T H, AKINHANMI T F. Structural, physicochemical and interfacial stabilisation properties of ultrafiltered African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*) protein isolate compared with those of isoelectric protein isolate[J]. LWT – Food Sci Technol, 2016, 69: 400–408.
- [23] 李越. 鲑鱼皮明胶性质分析、改性及可食性明胶复合膜的制备[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [24] 李越, 刘志伟, 张国秀, 等. 鲑鱼皮、鱼鳞胶原的制备及理化特性的研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(3): 232–238.
- [25] TAN Y, CHANG S K C. Isolation and characterization of collagen extracted from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin[J]. Food Chem, 2018, 242: 147–155.
- [26] 杨婷. 苦荞蛋白-黄原胶复合物的构建及其在 Pickering 乳液中的应用研究[D]. 成都: 成都大学, 2023.
- [27] XUAN J, XIA Q, LI Y, et al. Enzymatically produced acylglycerol and glycerin monostearate additives improved the characteristics of gelatin-stabilized *omega*-3 emulsions and microcapsules[J/OL]. Food Chem, 2024, 448: 139135 [2023-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139135>.
- [28] 陈凤凤, 丁晶晶, 王秋博, 等. 南瓜籽分离蛋白颗粒稳定的高内相皮克林乳液的制备及应用研究[J]. 中国油脂, 2023, 48(11): 25–32.
- [29] 杨孟杨. 鲑鱼鱼鳍明胶与六偏磷酸钠复合凝聚制备鱼油微胶囊的影响研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
- [30] 何成艳. 基于卵磷脂与蛋白质为乳化剂的美藤果油微胶囊的制备及研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.
- [31] CHOUDHURY N, MEGHWAL M, DAS K. Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods [J]. Food Front, 2021, 2(4): 426–442.