

响应面试验优化猕猴桃提取物微胶囊制备工艺

付伟阳 杨仕其 李春华 李玉锋*

西华大学 食品与生物工程学院, 四川成都, 611730;

摘要: 本文以猕猴桃提取物为芯材, 采用明胶与羧甲基纤维素钠 (CMC) 作为壁材, 通过冷冻干燥法制备猕猴桃提取物微胶囊。通过单因素试验和响应面优化试验, 结论为猕猴桃提取物微胶囊包埋系数影响大小依次为 A (芯材质量分数) > B (壁材比例) > C (芯材/壁材比例), 其中芯材质量分数和壁材比例对猕猴桃提取物微胶囊包埋系数影响为极显著 ($P < 0.01$), 并确定了最佳制备工艺参数: 芯材质量分数为 2.805%, 壁材比例为 0.539, 芯材/壁材比例为 0.489。在此条件下, 微胶囊的平均包埋率为 61.47%。

关键词: 猕猴桃提取物; 微胶囊; 响应面试验; 包埋率

DOI:10.69979/3041-0673.25.05.025

猕猴桃提取物中化合物的很多生物活性受多种环境因素的影响, 为了保护芯材免受不利环境条件的影响使其作用功效受到限制, 采用微胶囊化将猕猴桃提取物进行包埋, 使其能保持原有的生物活性, 延长产品的保质期, 降低从核心到外部的转移速率并控制释放⁽¹⁾。本试验以猕猴桃提取物为芯材, 采用明胶与羧甲基纤维素钠作为壁材, 经冷冻干燥法制备猕猴桃提取物微胶囊, 以芯材质量分数、壁材和芯材的比例、壁材比例 3 个影响因素进行优化, 以猕猴桃提取物中维生素 C 的含量作为评价指标检测其包埋率。通过微胶囊化改善提取物中活性物质的稳定性, 为提升猕猴桃在食品工业中的应用价值提供基础数据和理论参考⁽²⁾。

1 材料与仪器设备

1.1 材料与试剂

猕猴桃提取物, 实验室自制; 羧甲基纤维素钠 (CMC), 山东潍坊力特复合材料有限公司; 明胶, 上海达技实业有限公司; 无水乙醇, 山东卓轩新材料有限公司。

1.2 设备与仪器

电热恒温干燥箱, 成都瑞派斯科技有限公司; 电子分析天平; 上海舜宇恒平科学仪器有限公司, 冷冻干燥机; 郑州科旺达生物仪器有限公司, 紫外可见分光光度计, 上海奥析科学仪器有限公司; 台式扫描电子显微镜, ZEISS 蔡司。

2 试验方法

2.1 猕猴桃提取物微胶囊的制备工艺

壁材溶液 + 芯材溶液 → 混合 → 冷冻干燥 → 冷却收集 → 微胶囊

2.2 猕猴桃提取物微胶囊的制备步骤

配制芯材溶液: 取自制的猕猴桃提取物于试剂瓶中, 在 30℃ 的水浴锅中不断搅拌均匀。

配制壁材溶液: 称取一定量的 CMC 于试剂瓶中, 加入蒸馏水, 在 80℃ 水浴锅中不断搅拌, 直至彻底溶解为糊状液体。另取一定量明胶于试剂瓶中, 加入蒸馏水在 50℃ 水浴锅中不断搅拌, 直至彻底溶解为糊状液体。

微胶囊制备: 按照一定的芯材比和壁材比、壁材的质量百分浓度, 将壁材溶液与芯材溶液混合, 并用磁力搅拌器搅拌, 使其充分混匀, 冷冻干燥后得到猕猴桃提取物微胶囊。

2.3 猕猴桃提取物微胶囊制备工艺单因素试验

包埋效率是微胶囊化颗粒的重要指标, 是指壁材料将芯材料包埋或保持在微胶囊内的潜力⁽³⁾。为了更好地提高猕猴桃提取物微胶囊包埋率, 本试验对芯材质量分数、壁材和芯材的比例、壁材比例 3 个影响因素进行探究。芯材质量分数: 按照壁材和芯材比例为 1: 1, 壁材比例为 1: 1 的条件下, 分别测定芯材质量分数在 (1%、2%、3%、4%、5%) 时猕猴桃提取物微胶囊包埋率。通过对 5 种壁材质量分数对包埋率比较选出最佳芯材浓度。壁材比例: 在芯材质量分数为 3%, 壁材和芯材比例为 1: 1 的条件下, 分别测定壁材比例 (明胶和 CMC) 的比例 (1: 1、2: 1、3: 1、1: 3、1: 2) 时猕猴桃提取物微胶囊包埋率。通过对 7 种壁材比例对包埋率比较选出最佳壁材比例。芯材和壁材的比例: 在芯材质量分数为 3%, 壁材的比例

为 1:1 的条件下,分别测定壁材和芯材的比例在 (1:1、2:1、3:1、1:3、1:2) 时猕猴桃提取物微胶囊包埋率。通过 7 种芯材和壁材的比例对包埋率比较选出最佳芯壁比。

2.4 响应面试验优化猕猴桃提取物微胶囊的制备工艺

由单因素试验结果为依据,对芯材质量分数、壁材比例 (明胶和 CMC)、芯材/壁材比例三个因素设计响应面优化试验,对实验结果进行回归拟合分析,得到最佳工艺。

表 3.1 响应面试验因素与水平

水平	芯材质量分数	壁材比例	芯材/壁材比例
-1	2	3:1	1:1
0	3	1:3	2:1
1	4	1:2	3:1

2.5 微胶囊包埋率检测

微胶囊总维生素 C 含量测定:称取微胶囊 200mg,加入 15ml 无水乙醇,使微胶囊粉末均匀分散在无水乙醇中,充分振荡,使用超声破碎 30min,来提取微胶囊中维 C 含量。然后在 10000r/min,4℃ 条件下离心 10min,收集上层清液。微胶囊中表面维 C 含量测定:在避光条件下,准确称取微胶囊 200mg,加入 15ml 无水乙醇,搅拌均匀,在 10000r/min,4℃ 条件下离心 10min,收集上层清液。两种溶液均通过 0.22 μm 有机滤膜,并使用高效液相色谱法分别测定总维生素 C 含量和表面维生素 C 含量。微胶囊计算公式如下:

包埋率 (%) = (1 - 微胶囊表面维生素 C 含量 / 微胶囊总维生素 C 含量) × 100%

3 结果与分析

3.1 单因素试验结果分析

明胶和羧甲基纤维素钠 (CMC) 是两种天然生物聚合物,广泛应用于食品和制药行业广泛用于食品、制药工业中作为稳定剂并改善弹性和稠度⁽⁴⁾。CMC 是一种多糖,通常在食品工业中用作增稠剂和粘合剂。壁材良好的乳化性能是制备纳米胶囊的关键⁽⁵⁾。对于壁材和芯材比例为 1:1,壁材比例为 1:1 条件下的样品,芯材质量浓度的增加导致包埋率初始的增加,然后下降,在芯材质量分数为 3% 左右时,微胶囊的包埋率较好。因明胶多肽链存在活跃的团体,如氨基、羟基、巯基基团,可与醛基、羧基等发生反应,形成稳定的化学键,通过

化学或物理交联形成稳定的囊壁,CMC 通过其高分子链的缠结和交联作用,进一步增强囊壁的机械强度和耐久性⁽⁶⁾。因此明胶与 CMC 复合使用有助于微胶囊的形成。在壁材和芯材比例为 1:1 的条件下,随着复配比例的降低,微胶囊包埋率呈现先上升后下降的趋势。当壁材比例在 1:3 左右时包埋率最高,包埋率的增加的结果可能归因于增加的壁材料的大内腔覆盖了大部分猕猴桃提取物。高浓度的明胶导致样品粘度增加,甚至絮凝,从而干扰微胶囊的形成⁽¹⁾。当明胶和 CMC 比例同时降低时,溶液的粘度降低,会导致成膜性变差,降低芯材的稳定性。当芯壁比为 2:1 时,猕猴桃提取物微胶囊的包埋率高于芯壁比为 1:3 和 3:2 的样品。壁材料的质量浓度的增加并不总是足以保证芯材料的适当包封。样品的包埋率较低,这可能归因于壁材的内部空腔较大。随着壁材质量浓度的降低,包封率开始显著增加,但随着其质量浓度的进一步增加,包封率降低。

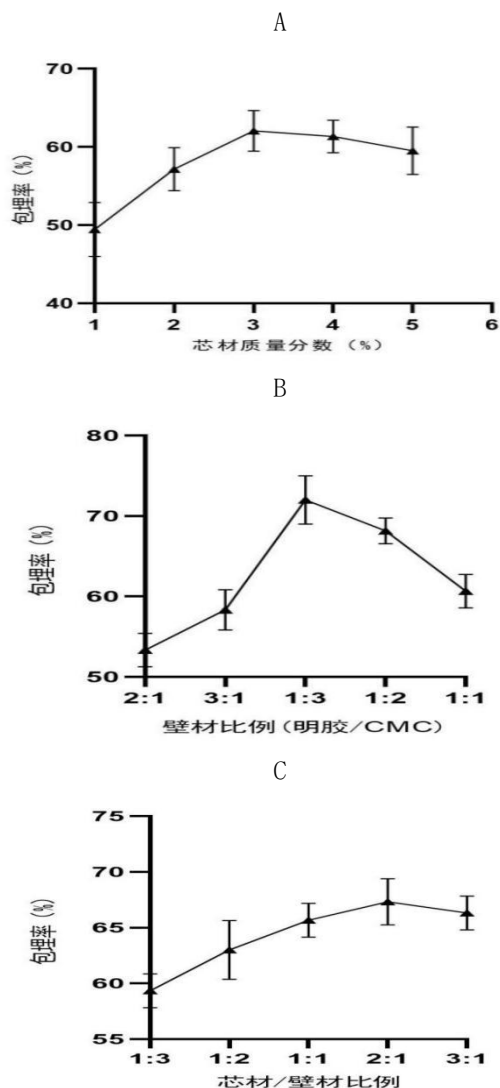


图 3.1 芯材质量分数 (A)、壁材比例 (明胶/CMC) (B)、
芯材/壁材比例 (C) 对猕猴桃提取物包埋率的影响

3.2 响应面试验结果分析

根据单因素试验结果,确实了猕猴桃提取物微胶囊的制备工艺,其芯材质量分数为 3%,壁材比例 (明胶/CMC) 为 1:3,芯材/壁材比例为 2:1。设计响应面试验进一步优化分析,考察芯材质量分数、壁材比例、芯材/壁材比例对猕猴桃提取物微胶囊包埋率的影响,结果及分析如下。

表 3.2 响应面优化实验因素与水平表

水平	芯材质量分数	壁材比例	芯材/壁材比例
-1	2	3:1	1:1
0	3	1:3	2:1
1	4	1:2	3:1

表 3.3 响应面试验方案及结果

试验号	A 芯材质量分数 (%)	B 壁材比例	C 芯材/壁材比例	包埋率
1	0 (3)	0 (1: 3)	0 (1: 1)	64.15
2	-1 (2)	-1 (3: 1)	0	45.19
3	0	-1	-1 (3: 1)	56.66
4	1 (4)	0	1 (2: 1)	60.36
5	1	1 (1: 2)	0	59.88
6	1	0	-1	58.59
7	-1	0	-1	47.51
8	-1	0	1	50.12
9	1	-1	0	57.91
10	0	1	-1	56.22
11	0	0	0	63.96
12	0	1	1	61.22
13	0	0	0	63.51
14	-1	1	0	49.64
15	0	-1	1	52.53
16	0	0	0	63.66
17	0	0	0	64.58

3.2.1 模型建立及方差分析

研究结果拟合得到模型的确定系数 R² 与校正决定系数均接近于 1,且相差小于 0.2,实测值与预测值具有良好的相关性,说明拟合回归模型拟合度高。从方差分析表中可知,猕猴桃提取物包埋率的模型的 P 值小于 0.01,表明模型差异极显著。通过 F 值可知,各因素对猕猴桃提取物微胶囊包埋系数影响大小依次为 A (芯材质量分数) > B (壁材比例) > C (芯材/壁材比例),其中芯材质量分数和壁材比例对猕猴桃提取物微胶囊包埋系数影响为极显著 (P < 0.01),但芯材/壁材比例

对包埋率不显著 (P > 0.05)。

表 3.4 试验结果及方差分析

方差来源	均方	自由度	平方和	F 值	P 值
模型	630.61	9	70.07	163.11	< 0.0001**
A	245.09	1	245.09	570.53	< 0.0001**
B	26.9	1	26.9	62.62	< 0.0001**
C	3.45	1	3.45	8.02	0.0253
AB	1.54	1	1.54	3.58	0.1004
AC	0.1764	1	0.1764	0.4106	0.5421
BC	20.84	1	20.84	48.51	0.0002**
A2	187.03	1	187.03	435.37	< 0.0001**
B2	72.59	1	72.59	168.99	< 0.0001**
C2	42.10	1	42.10	98.01	< 0.0001**
残差	3.01	7	0.4296		
失拟项	2.29	3	0.7649	4.30	0.0965
纯误差	0.7123	4	0.1781		
总和	633.62	16			
R ²	0.9953				
R ² Adj	0.9892				

注: **表示方差分析结果具有差异极显著 (P < 0.01)

3.2.2 响应面分析优化与验证

结果如下:如图 a 可知壁材比例和芯材质量分数的制备参数与包埋率的关系。随着芯材质量分数和壁材比例的增加,包埋率呈现先增加后减少的趋势,在响应面图中心位置有最大值。3D 图曲面陡峭,说明包埋率受 A B 两因素的影响较大,差异及显著 (P < 0.01)。因随着芯材质量分数逐渐增大,猕猴桃提取物被完全包裹的机会减少。从图 b 可知芯材/壁材比例和芯材质量分数之间的交互作用。随着芯材/壁材比例和芯材质量分数的增加,包埋率呈先增后降的趋势,在响应面图中心位置有最大值。因芯材材料易受外部条件的影响,随着浓度的增加,包埋率逐渐降低。图 c 描述了猕猴桃提取物微胶囊 BC 参数的变化对包埋率的影响。随着芯材/壁材比例和壁材比例的增加,包埋率逐渐增加在响应面图中心位置具有最大值后逐渐降低,且响应面图变化平缓,即两因素作用对包埋率影响不显著。因壁材比例的增加,壁材浓度增大,芯材材料不易被包裹在核心位置,受外部条件影响后容易发生氧化降解。

得到最佳包埋参数:芯材质量分数 2.805%,壁材比例为 0.539,芯材/壁材比例为 0.489,优化预测值包埋

率为 62.676%。在最佳制备工艺参数下进行三次验证试验，得到猕猴桃提取物微胶囊的平均包埋率为 $61.47\% \pm 2.07$ 。

采用通过单因素试验筛选出对猕猴桃提取物微胶囊包埋率的重要影响因素，在此结果上设计响应面试验优化了猕猴桃提取物微胶囊的制备参数。优化后的最佳配方为芯材质量分数 2.805%，壁材比例为 0.539，芯材/壁材比例为 0.489。此时得到的平均包埋率为 $61.47\% \pm 2.07$ 。

参考文献

- [1]黄,周,花青素的两步乳化微胶囊化及体外消化过程中的释放特性。食品化学,2019,278:357~363
- [2]陈程莉.黑枸杞花青素提取及微胶囊制备研究[D].西南大学,2020.
- [3]朱军,等,D.直链淀粉含量不同的水稻粉和淀粉的消化率和理化性质。碳水化合物聚合物,2011:1751-1759
- [4]Borges O,Borchard G,Verhoef J C,et al.Preparation of coated nanoparticles for a new mucosal vaccine delivery system.International Journal of Pharmaceutics,2005,299(1~2):155~166
- [5]Sarmiento B,Ferreira D,Veiga F,et al.Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies.Carbohydrate Polymers,2006,66(1):1~7
- [6]李勇,吴川,吴涛,等.不同乳化剂负载壳聚糖微胶囊柑橘精油的制备及表征。食品工程杂志,2018,217:108~114

作者简介：付伟阳（1998-），男，硕士研究生，研究方向：食品加工与安全，

*通讯作者：李玉锋（1967-），男，博士，教授，研究方向：现主要从事食品生物技术等研究工作

基金项目：地厅级项目-猕猴桃低效园土壤生物修复及泡腾片精深加工研发与示范（23ZDYF0007）

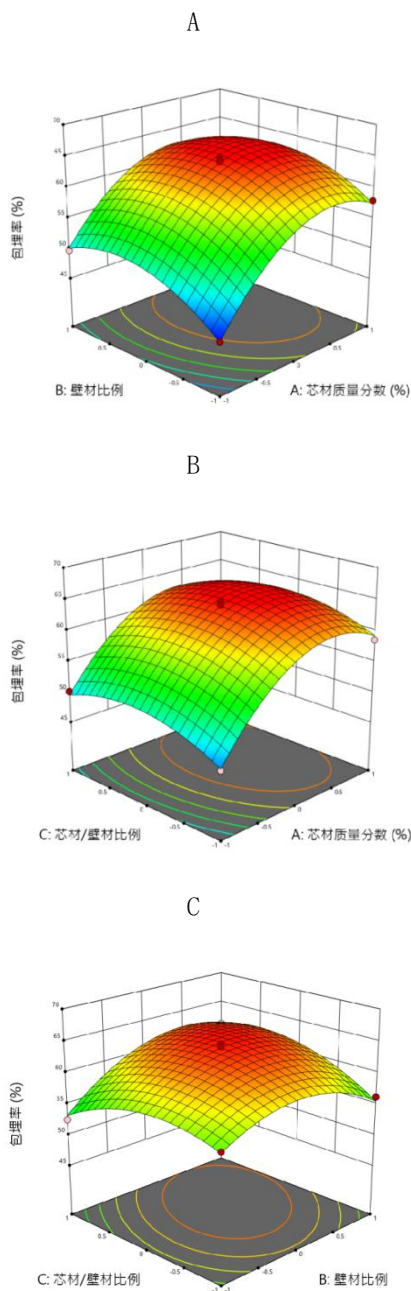


图 3.2 响应面 3D 图

4 结论