

锐孔法制备黄酮类化合物微胶囊及其释放性的研究

杨芙莲, 刘文彦

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西西安 710021)

摘要:以海藻酸钠为壁材,采用锐孔法制备黄酮类化合物微胶囊。通过单因素和正交试验确定影响黄酮类化合物微胶囊制备的主要因素,优化工艺条件。实验确定最佳优化工艺条件为:海藻酸钠浓度为 1.4%,芯壁比为 3:2, CaCl₂ 浓度为 1.4%,单甘酯/芯材为 0.2g/g,在此条件下,产品的平均包埋率可达 92.59%,且微胶囊产品结构坚硬、圆整,无拖尾现象。

关键词:锐孔法;黄酮类化合物;微胶囊

文章篇号: 1673-9078(2013)2-297-300

Microencapsulation of Flavonoids Compounds by Piercing

Method and their Release *in vitro*

YANG Fu-lian, LIU Wen-yan

(College of Life Science and Engineering, Shanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: Microcapsules containing flavonoids compounds were prepared by piercing method with sodium alginate as shell material. Through the single factor and orthogonal test to determine flavonoids microcapsule preparation influence of the main factors. The best technological conditions were sodium alginate concentration of 1.4%, core/wall material ratio of 1:1, CaCl₂ concentration of 1.4%, and monoglyceride/core ratio of 0.2 g/g. Under these conditions, encapsulation efficiency reached 92.59%. Microcapsule products structure was hard and round with no trailing phenomenon.

Keyword: piercing; flavonoids; microcapsule

荞麦又名三角麦、乌麦,栽种品种主要有苦荞和甜荞两种,陕西北部盛产甜荞。荞麦含有丰富的黄酮类化合物、维生素、微量元素、蛋白质、膳食纤维等;研究表明,荞麦中的黄酮(又名芦丁或维生素 P)具有降血糖、调血脂、抗菌、消炎、抗过敏等药用功效^[1-2]。微胶囊是指一种具有聚合物壁壳的微型容器或包装物。微胶囊造粒技术就是将固体、液体或气体物质包埋、封存在一种微型胶囊内成为一种固体微粒产品的技术。这样能最大限度地保持物料原有的色香味、性能和生物活性,防止营养物质的破坏与损失^[3]。本研究根据锐孔法制备微胶囊的原理,以海藻酸钠为壁材,研究黄酮类化合物微胶囊的制备工艺,为黄酮类化合物的应用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

收稿日期: 2012-10-08

基金项目: 陕西省科学技术研究发展计划 (2012K02-14); 榆林市 2011 年产学研合作项目

作者简介: 杨芙莲 (1965-), 女, 教授, 主要从事食品加工与食品机械的科研与教学工作

黄酮类化合物: 本实验室从荞麦皮粉中提取、纯化制得; 芦丁标准品: 生化试剂, 国药集团化学试剂有限公司; 海藻酸钠: 天津市科密欧化学试剂开发中心; 无水 CaCl₂, 柠檬酸: 天津市天力化学试剂有限公司; 磷酸氢二钠, 单甘酯: 天津市东丽区天大化学试剂厂; 胰蛋白酶: 1:250; 胃蛋白酶: 1:10000; 盐酸, 无水乙醇, 甲醇: 天津市天力化学试剂有限公司。

1.2 实验仪器

UV-2600 紫外可见分光光度计: 上海尤尼柯; JJ-1 精密增力电动搅拌器: 常州国华电器有限公司; PB-10 酸度计: 赛多利斯仪器有限公司; SZ6000 平行光体式显微镜: 南京江南永新光学有限公司; DZF 型真空干燥箱: 北京科伟永兴仪器有限公司; 注射器: 山东威高集团医用高分子制品股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 荞麦皮粉中黄酮类化合物的提取工艺

荞麦皮粉→过筛→乙醇超声浸提→抽滤→旋转蒸发浓缩→大孔树脂吸附纯化→浓缩→真空干燥→黄酮类化合物

1.3.2 黄酮类化合物微胶囊制备方法

(1) 将一定量的海藻酸钠用 pH 值为 3 的柠檬酸

-磷酸氢二钠缓冲液搅拌溶解,称取适量黄酮类化合物与乳化剂混合均匀,加入乙醇溶解后缓慢倒入海藻酸钠溶液,混合搅拌均匀;

(2) 取一定量无水 CaCl_2 用 pH 值为 3 的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液溶解,置于 4°C 下冷藏;

(3) 用 0.6 mm 注射器吸取海藻酸钠与黄酮类化合物的混合溶液,以一定速度注射入冷却后的 CaCl_2 溶液中制珠成型,置于 4°C 下固定;

(4) 将制备好的黄酮类化合物微胶囊过滤、洗涤后,置于真空干燥箱中干燥,即得产品。

1.3.3 标准曲线的制备方法^[4-5]

准确称取于 120°C 干燥恒重的芦丁标准品 50 mg,置于 100 mL 容量瓶中,加甲醇适量,置于水浴上微热使溶解,冷却至室温,加甲醇至刻度,摇匀,即得 0.5 mg/mL 的对照品溶液。

精密量取对照品 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置于 25 mL 容量瓶中,各加 60% 乙醇至 6.0 mL,加 5% NaNO_2 溶液 1 mL,摇匀放置 6 min,加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1 mL,摇匀放置 6 min,加 1.0 mol/L NaOH 溶液 10 mL,加 60% 乙醇至刻度,摇匀放置 15 min,用紫外分光光度计在 510 nm 处测其吸光度。以浓度 C 与吸光度 A 作回归方程为 $A=11.173 C+0.0045$, $R^2=0.9991$ 。

1.3.4 黄酮类化合物微胶囊化包埋率的测定^[6]

表面黄酮类化合物含量的测定:精密称取已干燥好的黄酮类化合物微胶囊 0.3 g 置于烧杯,滴加 5 mL 无水乙醇振荡、洗涤,取上清液 1 mL 置于 25 mL 容量瓶中,采用 1.3.3 方法测定其吸光度。

黄酮类微胶囊中总黄酮类化合物含量的测定:精密称取已干燥好的黄酮类化合物微胶囊 0.3 g 置于 25 mL 容量瓶中,加 60% 乙醇溶解至刻度,超声静置,取上清液 1.0 mL 置于 25 mL 容量瓶中,采用 1.3.3 方法测定其吸光度。计算微胶囊的包埋率。

包埋率($\%$)=(微胶囊总黄酮含量-微胶囊表面黄酮含量)/微胶囊总黄酮含量

1.3.5 黄酮类化合物微胶囊在体外累计释放率的测定

微胶囊体外释放度的测试方法采用的是中国药典 2010 版二部附录溶出度的测定方法,用紫外分光光度计法在 510 nm 处测定吸光度 A,代入回归方程得到药物质量浓度 C,计算出累计释放百分率,绘制释放曲线。其中,人工胃液、人工肠液的制备方法参照谢岩黎^[7]等配置方法。

2 结果与讨论

2.1 黄酮类化合物微胶囊的制备单因素试验

2.1.1 海藻酸钠浓度对微胶囊化的影响

制备 30 mL 浓度分别为 1.2%、1.4%、1.6%、1.8%、2.0% 海藻酸钠溶液, 40°C 水浴搅拌,选取芯壁比为 1:1,将芯材与单甘酯混合均匀,乙醇溶解后加入壁材溶液,搅拌混合均匀,采用 CaCl_2 浓度:海藻酸钠浓度为 1:1 的 CaCl_2 固定液进行造粒,固化后得黄酮类化合物微胶囊,观察产品形态并计算包埋率,结果见表 1。

表 1 海藻酸钠浓度对微胶囊化的影响

Table 1 Effect of sodium alginate concentration on microcapsule

海藻酸钠浓度/%	成型效果	包埋率/%
1.2	易成型,部分拖尾	76.61
1.4	易成型,无拖尾,颗粒较小,较均匀	87.15
1.6	需压力较大,无拖尾,颗粒较大,均匀	86.20
1.8	需压力大,无拖尾,颗粒大,均匀	83.04
2.0	太稠,较难通过针孔	-

由表 1 可以看出,随着海藻酸钠浓度的增高,成型效果逐渐变好,拖尾显现逐渐减弱,颗粒趋于均匀,但当浓度过大,芯壁混合液较为粘稠,不易通过针孔,造粒困难,包埋率先上升后下降;因此,综合可虑,选取海藻酸钠的浓度为 1.4%。

2.1.2 芯壁比对微胶囊化的影响

在海藻酸钠溶液的浓度为 1.4%,其他操作条件不变的情况下,分别选取芯壁比 2:1、3:2、1:1、2:3 进行黄酮类化合物微胶囊的制备,观察产品形态并计算包埋率,结果见表 2。

表 2 芯壁比对微胶囊化的影响

Table 1 Effect of the ratios of the core and wall on microcapsule

芯壁比	成型效果	包埋率/%
2:1	需压力较大,结构坚硬,无拖尾,颗粒大且较均匀	65.3
3:2	需压力,结构较坚硬,无拖尾,颗粒较大且均匀	70.0
1:1	需压力较小,结构较坚硬,无拖尾,颗粒较小且均匀	70.5
2:3	需压力小,结构不坚固,小部分拖尾,颗粒较小且均匀	64.1

由表 2 可以看出,随着芯壁比的降低,造粒所需压力逐渐降低,且成型的坚硬程度也逐渐减弱,出现拖尾现象,同时,芯壁比从 2:1 降低到 1:1 时,包埋率先上升后下降,因此,综合考虑,选取芯壁比为 1:1。

2.1.3 CaCl_2 浓度对微胶囊化的影响

在海藻酸钠溶液的浓度为 1.4%,芯壁比为 1:1 其

他操作条件不变的情况下, 分别配制浓度为 1.2%、1.4%、1.6% 和 1.8% 的 CaCl₂ 溶液进行黄酮类化合物微

胶囊的制备, 观察产品形态并计算包埋率, 结果见表 3。

表 3 CaCl₂浓度对微胶囊化的影响

Table 3 Effect of CaCl₂ concentration on microcapsule

CaCl ₂ 浓度/%	成型效果	包埋率/%
1.2	结构较松软, 部分拖尾, 颗粒较大且均匀	87.49
1.4	结构较坚硬, 无拖尾, 颗粒较小且均匀	91.74
1.6	结构较坚硬, 无拖尾, 颗粒较小且均匀	91.19
1.8	结构较坚硬, 无拖尾, 颗粒较小且均匀	88.88

由表 3 可以看出, CaCl₂ 浓度较低时, 海藻酸钠与 CaCl₂ 的结合不充分, 有拖尾现象, 且结构不够坚硬, 随着 CaCl₂ 浓度的升高, 成型效果逐渐增加, 微胶囊壁厚逐渐增加且颗粒增大, 包埋率先上升后有所下降, 因此, 综合考虑, 选取 CaCl₂ 浓度为 1.4%。

2.2 正交试验及结果

表 4 正交试验因素水平表

Table 4 Factors and levels of the orthogonal test

水平	因素			
	A(海藻酸钠浓度/%)	B(芯壁比)	C(CaCl ₂ 浓度/%)	D(单甘酯:芯材/(m/m))
1	1.2	3:2	1.0	0.2
2	1.4	1:1	1.4	0.3
3	1.6	2:3	1.8	0.4

表 5 正交试验结果分析

Table 5 The results of the orthogonal test analysis

试验号	因素				包埋率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	89.14
2	1	2	2	2	83.43
3	1	3	3	3	81.56
4	2	1	2	3	91.37
5	2	2	3	1	88.58
6	2	3	1	2	75.73
7	3	1	3	2	84.75
8	3	2	1	3	75.28
9	3	3	2	1	92.56
K ₁	84.710	88.420	80.050	90.093	
K ₂	85.227	82.430	89.120	81.303	
K ₃	84.197	83.283	84.963	82.737	
R	1.030	5.990	9.070	8.790	

以包埋率为指标, 对黄酮类化合物微胶囊化进行了 L₉(3⁴)正交试验, 进行工艺条件的优化。正交试验因素水平、试验结果分别见表 4、表 5。

由表 5 正交试验结果的直观分析可以得出, 主要影响黄酮类化合物微胶囊制备的因素为 CaCl₂ 浓度,

其次依次是乳化剂单甘酯的用量、芯壁比、海藻酸钠浓度。从表中得出制备黄酮类化合物最佳的工艺条件为 A₂B₁C₂D₁。

采用正交优化后所得的最优工艺条件, 即海藻酸钠浓度为 1.4%, 芯壁比为 3:2, CaCl₂ 浓度为 1.4%, 单甘酯/芯材为 0.2 g/g, 进行验证实验, 制备 3 批微胶囊, 测定包埋率依次为 91.89%、92.76% 和 93.12%, 平均包埋率为 92.59%, 且颗粒较坚硬、均匀, 无拖尾现象, 结果验证了该优化工艺的可行性。

2.3 黄酮类化合物微胶囊的检测

2.3.1 黄酮类化合物微胶囊的紫外光谱图

精密称取 25 mg 芦丁标准品于 25 mL 容量瓶, 甲醇定容; 另称取 0.23 g 微胶囊于 25 mL 容量瓶, 无水乙醇定容, 各取 1 mL 用 1.3.3 的方法在 250~400 nm 进行紫外扫描, 得紫外光谱图, 结果见图 1。

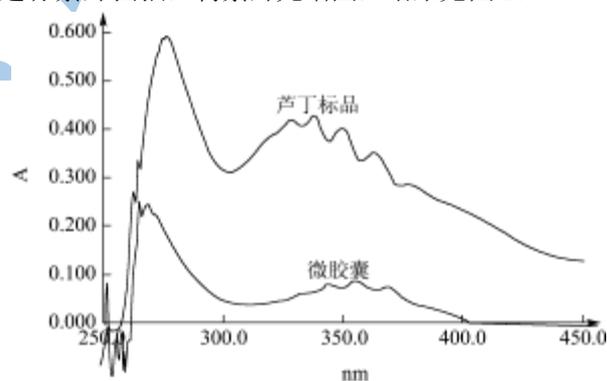


图 1 芦丁及黄酮类化合物微胶囊紫外光谱图

Fig.1 Microcapsule ultraviolet spectrum diagram of Rutin and Flavonoid compound

由图 1 可以看出, 由于微胶囊的表面有残留的黄酮类化合物, 因此微胶囊的紫外扫描光谱图中有明显的峰值, 同时, 微胶囊的峰值与芦丁标准品相比明显降低, 黄酮类化合物的含量明显减少, 且最大吸收峰发生了转移, 说明微胶囊包裹住大部分的黄酮类化合物。

2.3.2 黄酮类化合物微胶囊的显微镜结构

取一定量微胶囊平铺于载玻片上, 滴加乙醇盖上盖玻片, 显微镜观察其结构, 结果见图 2。由图 2 可以看出, 微胶囊呈圆形、椭圆形结构, 有凸起。

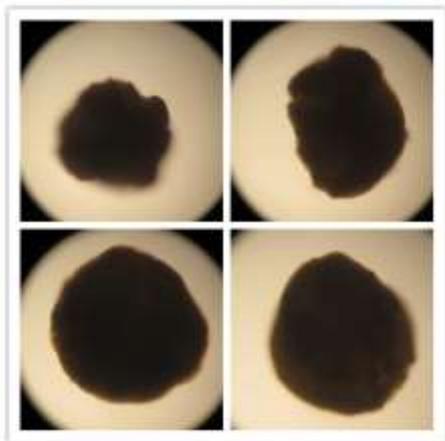


图2 微胶囊显微镜照片

Fig.2 Microscope image of microcapsules

2.3.3 黄酮类化合物微胶囊在模拟胃、肠液中的累计释放

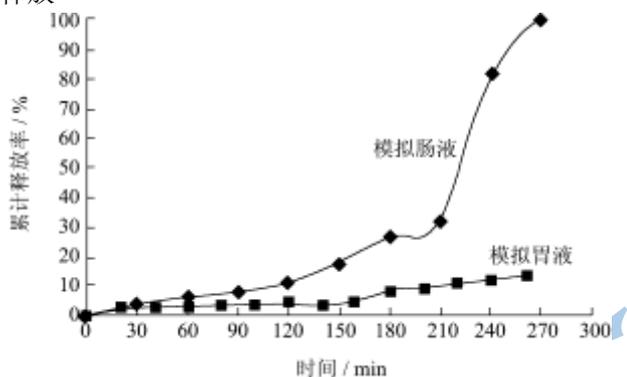


图3 微胶囊在模拟胃、肠液中的累计释放

Fig.3 The cumulative release of microcapsule in simulation of gastric juice and intestinal juice

称取一定量的微胶囊分别置于制备好的模拟胃液和模拟肠液中，水浴 37 °C 条件下，搅拌溶解，测定其累计释放率，结果见图 3

由图 3 可以看出，微胶囊在模拟胃液中累计释放 5 h 后，累计释放率小于 15%，而在模拟肠液中累计

释放 5 h 后释放完全。其原因在于，海藻酸凝胶微粒的溶胀具有 pH 敏感性，在模拟胃液中，pH 约为 1.2，海藻酸凝胶结构稳定，几乎不发生溶胀，阻止了芯材的释放；相反，在 pH 值较高、偏碱性的模拟肠液中，海藻酸凝胶发生溶胀，随着时间的延长，坚固的海藻酸钙溶胀破裂，释放出芯材。

3 结论

本实验采用锐孔法，以海藻酸钠为壁材，对黄酮类化合物微胶囊的制备进行了研究。最优的工艺条件为海藻酸钠浓度为 1.4%，芯壁比为 3:2，CaCl₂ 浓度为 1.4%，单甘酯/芯材为 0.2 g/g，在此条件下，产品的平均包埋率可达 92.59%。最优工艺条件下制得的微胶囊，质地较为坚硬，结构圆整，无拖尾，在模拟胃液中释放缓慢，而在模拟肠液中得以充分释放，有利于黄酮类化合物微胶囊在肠道中的释放、吸收。

参考文献

- [1] 尹礼国,钟耕,刘雄,等.荞麦营养特性、生理功能和药用价值研究进展[J].粮食与油脂,2002(5):32
- [2] 韩淑英,朱丽莎,刘淑梅,等.荞麦叶总黄酮调血脂及抗脂质过氧化作用[J].丰富中国煤炭医学杂志,2002,5(7):7-11
- [3] 微胶囊造粒技术[J].江西食品工业,2002,3:57
- [4] 高晗,孙俊良,等.山楂黄酮微胶囊化技术研究[J].食品科学,2009,30(16):86-88
- [5] 杨芙莲,夏银.荞麦类黄酮微胶囊化的研究[J].食品科技,2008,8:137-139
- [6] 潘明,王世宽.鼠曲草黄酮类物质微胶囊化研究[J].食品科学,2009,30(12):94-97
- [7] 谢岩黎,史秀丽.微胶囊化维生素 A 在模拟胃肠液中释放性能的研究[J].现代食品科技,2007,23(11):27-29