

双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊 制备与性能评价

张家乐¹, 刘小如¹, 王锦红², 邓泽元¹, 王远义³, 钟瑞敏^{1,2*}

(1. 南昌大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 江西南昌 330001) (2. 韶关学院广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室, 广东韶关 512005) (3. 邦世迪(广东)医用食品股份有限公司, 广东韶关 512048)

摘要: 精氨酸是医药、特医食品和饲料行业广泛应用的组成成分或营养添加剂。该文采用二次剪切复乳化形成精氨酸微胶囊乳液, 通过喷雾干燥制备固体微胶囊。通过光学显微镜、电镜、质谱成像、电子鼻、电子舌、热重分析、体外模拟消化等系列表征和检测方法, 系统分析了精氨酸微胶囊的形态、性状和消化特性, 并通过稳定性试验测试了其贮藏稳定性。研究结果表明双剪切复乳化可形成稳定的 W/O/W 型精氨酸微胶囊乳液, 喷雾干燥制备的微胶囊为圆球形, 平均粒径 41.36 μm , 精氨酸负载量 12.16 wt.%, 主要分布于胶囊内部, 包埋率为 95.51%; 外层水溶性壁材对精氨酸的氨味和苦涩味具有良好的掩味效果, 且在模拟胃液 30 min 消化中较易崩解, 使精氨酸缓释率达到 93.14%; 精氨酸微胶囊具有良好的稳定性, 在室温条件下贮藏 90 d 精氨酸保留率达到 93.82%。该研究可为精氨酸微胶囊在实际的商业应用提供理论依据。

关键词: 精氨酸; 复乳化微胶囊; 掩味效果; 缓释; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2024)08-89-97

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.0164

Property Evaluation of Arginine Microcapsules Prepared by Double Shearing, Double Emulsification, and Spray Drying

ZHANG Jiale¹, LIU Xiaoru¹, WANG Jinhong², DENG Zeyuan¹, WANG Yuanyi³, ZHONG Ruimin^{1,2*}

(1. National Key Laboratory of Food Science and Resource Exploration, Nanchang University, Nanchang 330001, China) (2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Region, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China) (3. BOSSD (Guangdong) Medical Food Co. Ltd., Shaoguan 512048, China)

Abstract: Arginine is widely utilized as a component or nutritional additive in the pharmaceutical, medical food, and feed industries. In this paper, a microcapsule arginine emulsion was prepared by double shearing and double emulsification, whereas solid microcapsules were prepared by spray drying. The morphology, physicochemical properties, and digestion characteristics of the arginine microcapsules were systematically analyzed through a series of characterization and detection methods such as optical microscopy, electron microscopy, mass spectrometry imaging, electronic nose, electronic tongue,

引文格式:

张家乐, 刘小如, 王锦红, 等. 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊制备与性能评价[J]. 现代食品科技, 2024, 40(8): 89-97.

ZHANG Jiale, LIU Xiaoru, WANG Jinhong, et al. Property evaluation of arginine microcapsules prepared by double shearing, double emulsification, and spray drying [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 89-97.

收稿日期: 2024-02-03

基金项目: 韶关学院新兴产业研究院校企合作项目 (2021-ZD0003)

作者简介: 张家乐 (1998-), 男, 在读研究生, 研究方向: 营养保健与功能食品, E-mail: 1425786710@qq.com

通讯作者: 钟瑞敏 (1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 健康食品开发与加工技术, E-mail: 2557563933@qq.com

thermogravimetric analysis, and *in vitro* simulated digestion. The storage stability was investigated through a series of stability tests. The results showed that the double shearing emulsification can form a stable W/O/W microcapsule arginine emulsion. The microcapsule prepared by spray drying was round and spherical, with an average particle size of 41.36 μm , and the loading amount of arginine was 12.16 wt.%. The content was mainly distributed inside the capsule, and the encapsulation rate was 95.51%. The outer water-soluble wall material exhibited good taste masking effects on the ammoniacal odor and bitterness of arginine. Additionally, a higher propensity for disintegration was observed during 30-minute simulated gastric digestion. A sustained release rate of 93.14% for arginine was observed. Moreover, arginine microcapsules had good stability, with an arginine retention rate of 93.82% after 90 days of storage at room temperature. This study may provide a theoretical basis for the commercial application of arginine microcapsules in practice.

Key words: arginine; double emulsified microcapsules; taste masking; sustained release; stability

精氨酸作为天然细胞成分, 通常可在人类和啮齿动物的体内合成, 参与结构蛋白生物合成代谢^[1], 维持机体氮平衡^[2], 并拥有抗氧化、免疫调节、抗炎以及调节脂质代谢等生理功能^[3-6]。然而, 在严重创伤、术后创口愈合、烧伤、感染、不育或剧烈运动等应激状态下, 精氨酸则属于条件必需氨基酸, 需要进行外源性补充^[7,8], 为此, 精氨酸在临床上常用作静脉注射、口服或靶点缓释医用材料给药成分和特医食品营养支持组件, 在动物饲料中则用作特定营养添加剂^[9]。精氨酸拥有胍基, 是典型的碱性氨基酸, 溶于水后滋味苦涩。此外, 由于目前国内生产技术问题, 纯度达到 99% 的市售精氨酸产品仍有明显氨味, 因此, 口服精氨酸或添加到特医食品中存在风味品质差、接受度低等问题; 此外, 直接添加到特医食品或动物饲料中精氨酸, 在贮藏过程易与还原糖发生羰氨反应^[10], 不仅导致精氨酸有效含量显著降低, 还会造成产品感官风味品质的劣化。

喷雾干燥微胶囊制备技术在成分保护、风味掩盖、药物释控等领域具有广泛应用^[11,12]。传统的喷雾干燥微胶囊主要为水包油型 (Oil in Water, O/W), 即芯材为脂溶性成分、壁材为水溶性成分, 水溶性壁材在干燥腔热空气中易于闪蒸脱水固化成型, 且不粘壁, 较易实现喷雾干燥连续化生产。为了解决水溶性芯材微胶囊化包埋制备问题, 国内外也开展了许多研究。如采用谷氨酰胺转氨酶复聚反应形成蛋白质水溶性外壁包埋水溶性芯材如赖氨酸^[13]、蛋氨酸^[14]形成微胶囊, 采用海藻酸钙复聚反应包埋水溶性丁酸钠^[15]等形成胶囊, 然而这些方法存在一定缺陷, 谷氨酰胺转氨酶法酶活稳定性低, 制备过程复杂, 而海藻酸钙复聚胶囊颗粒粗大, 不易崩解, 缓释效果差。近些年来国内外许多研究人员采用两步复乳化微胶囊结合喷雾干燥法, 成功制备了水溶

性内芯材维生素 B₁^[16]、抗坏血酸^[17]、槲皮素^[18]、松针醇素成分^[19]、大豆低聚糖^[20]以及苦味肽^[21]等水包油包水 (Water in Oil in Water, W/O/W) 复乳化微胶囊类制品, 显示出高效制备水溶性芯材微胶囊制品的良好前景。

精氨酸拥有的胍基在水溶液中会发生水解, 使精氨酸分子周围有较高浓度的氢离子, 易于与蛋白质络合吸附^[22]。笔者前期利用精氨酸与蛋白质之间相互作用的性质, 研究发现 8.0 wt.% 乳清蛋白水溶胶可吸附 20.0 wt.% 的精氨酸, 吸附率超过 95%, 而且吸附胶体较易被油相包埋形成稳定的油包水型 (Water in Oil, W/O) 微囊初乳, 然后再通过麦芽糊精、辛烯基琥珀酸淀粉酯、阿拉伯胶等复合水溶性外壁材进一步形成 W/O/W 型微囊复乳液, 最后可采用喷雾干燥顺利制备微胶囊粉末。本文通过双剪切复乳化喷雾干燥法制备出了一种精氨酸微胶囊, 采用了一系列表征等试验手段, 系统地分析了精氨酸微胶囊的形态、性状、消化率和稳定性等物化特性, 力求揭示 W/O/W 型双剪切复乳化喷雾干燥法制备水溶性芯材精氨酸微胶囊的过程原理和工艺可行性, 为精氨酸在医药、特医食品等行业的精深利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

L-精氨酸 (纯度 99%), 由邦世迪公司提供; 乳清蛋白, 杭州科田生物技术有限公司; 麦芽糊精, 陕西源优生物科技有限公司; 阿拉伯胶, 山东萍聚生物科技有限公司; 辛烯基琥珀酸淀粉酯, 湖北世能化工科技有限公司; 椰子油, 合肥禾乐商贸有限公司; 蔗糖酯, 郑州百思特食品添加剂有限公

司；甲醇、乙腈（色谱级），天津市科密欧化学试剂有限公司；磷酸二氢钾（分析纯），天津市百世化工有限公司；胃蛋白酶（10 000 NFU/mg）和胰蛋白酶（10 000 NFU/mg），生工生物工程（上海）股份有限公司。

1.2 仪器与设备

BT457 电子天平，上海奕宇电子科技有限公司；C25 实验室高速乳化仪，上海恒川机械设备有限公司；QZR-5 移动式喷雾干燥机，无锡尚德干燥设备有限公司；电动雾化器，靖江星辉电机制造有限公司；YZ15 恒流泵，上海嘉鹏科技有限公司；LGJ-25C 冷冻干燥机，四环福瑞科仪科技发展（北京）有限公司；SPD-16 高效液相色谱仪，日本岛津公司；TM3030 电子扫描成像仪，日立高新技术公司；XEVO TQ-XS DESI 质谱成像系统，美国沃特世公司；LS-POP（9）激光粒度分析仪，珠海欧美克仪器有限公司；PEN3 电子鼻系统，德国 AIRSENSE 公司；Smartongue 电子舌，上海瑞玢国际贸易有限公司；SDT Q600 同步热重分析仪，美国 TA 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊的制备

(1) 双剪切复乳化精氨酸微胶囊乳液的制备。采用两步剪切乳化法制备：在纯净水中加入 8.0 wt.% 乳清蛋白粉，充分搅拌溶解，然后加入 20.0 wt.% 精氨酸搅拌溶解，静置 30 min 后备用；按胶体液与椰子油比例为 1:1.2 称取椰子油，在椰子油中加入 1.8 wt.% 丙二醇单硬脂酸酯，加热至 40 °C 搅拌溶解，在 12 000 r/min 高速剪切状态下加入前面制备的精氨酸蛋白胶体溶液形成 W/O 型初乳液。在纯净水中加入 9.8 wt.% 辛烯基琥珀酸淀粉酯、2.4 wt.% 麦芽糊精、0.3 wt.% 阿拉伯胶和 0.6 wt.% 蔗糖酸酯搅拌溶解，搅拌形成透明的外壁材溶液，缓慢加入前述 W/O 型乳化液混合，在 10 000 r/min 高速剪切 2 min，形成 W/O/W 型复乳液。

(2) 喷雾干燥微胶囊粉末的制备。在进料速度 14~20 mL/min、电动离心雾化转速 10 000~12 000 r/min、进风温度 180~200 °C、出风温度 90~120 °C 的条件下进行喷雾干燥，收集微胶囊粉末，用防潮塑料袋密封，置于玻璃干燥器中贮藏。

1.3.2 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊粉末包埋率测定

(1) 标准曲线制作：用高效液相色谱法测定制

作：用超纯水配制质量浓度为 400、800、1 200、1 600、2 000 μg/mL 的精氨酸标准溶液。以 50 mmol/L 的磷酸二氢钾：乙腈（95:5）作为流动相，样品的测定时间为 8 min，检测波长为 206 nm。以峰面积与精氨酸质量浓度制作标准曲线，由图 1 可得回归方程 $Y=7\ 339.5X+900\ 668$ ， $R^2=0.995$ 。

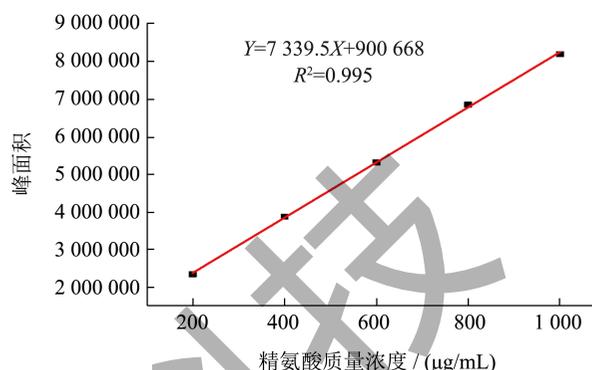


图 1 精氨酸溶液标准曲线

Fig.1 Standard curve of arginine solution

(2) 包埋率测定：称取 1 g 精氨酸微胶囊粉末置于滤纸漏斗上，用 60 mL 超纯水分 2 次淋洗粉末，洗脱溶下微胶囊表面精氨酸，定容 100 mL。将滤纸上的微胶囊用 0.1 wt.% 的盐酸水溶液 60 mL 洗脱至烧杯，搅拌并静置 30 min 崩解，然后用适量超纯水洗至 100 mL 容量瓶定容。分别取其中 2 mL 进行 0.45 μm 微滤，按前述条件用高效液相色谱测定，以峰面积换算出微胶囊表面洗脱液和崩解液中精氨酸含量，按公式（1）计算包埋率。

$$B = \frac{M_{崩}}{M_{崩} + M_{表}} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

B ——微胶囊的精氨酸包埋率（EE），%；

$M_{崩}$ ——微胶囊崩解液精氨酸总量，g；

$M_{表}$ ——微胶囊表面精氨酸总量，g。

1.3.3 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊粉末粒度分布分析

以无水乙醇为分散剂，控制遮光比在 10 到 20 之间测定微胶囊粉末的粒度分布情况。

1.3.4 表征与性能测定

1.3.4.1 双剪切复乳化精氨酸微胶囊乳液的光学显微镜观察

取前述初乳液 10 μL 置于载玻片上，复乳化乳液则需 1:1 加水后置于载玻片上，盖上盖玻片平衡 5 min，在油镜下分别观察相应微胶囊乳液的微观形态。

1.3.4.2 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊及模拟消化崩解后扫描电镜观察

电子扫描成像仪设置 15 kV 电子束, 分别对精氨酸微胶囊和模拟消化残渣冻干样进行扫描成像, 放大合适倍数观察其形态。

1.3.4.3 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊中精氨酸分布特性表征

采用质谱成像分析。将精氨酸微胶囊粉末分散在融化的石蜡液中, 凝固后冷冻切片, 对切片表面进行分析。离子化模式: DESI+, Q1:175.1195 (精氨酸 M+H 精确分子量), 锥孔电压 40 V。在 DESI+ 下采集精氨酸离子 MS/MS 数据, 源温 120 °C、喷雾电压 0.7 kV, 增强灵敏度时采用 Tof-MRM 质谱采集模式, 二级特征质谱成像扫描的空间分辨率为 10×10 μm。

1.3.4.4 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊掩味效果分析

(1) 感官品尝试验。参考国标的相关规定进行测试, 气味比较: 将精氨酸粉末 10 g 和精氨酸微胶囊 90 g (实际含约 10 g 精氨酸) 分别密封于塑料自封袋过夜, 然后请 30 位品尝人员分别打开用鼻子闻嗅袋口, 对比是否有异味及强弱。滋味比较: 分别配制 1.0 wt.% 的精氨酸水溶液和 9.0 wt.% 的精氨酸微胶囊水溶液 (精氨酸含量约 1.0 wt.%) 然后请多位品尝人员品尝其滋味。

(2) 电子鼻测定。将进样针头插入含精氨酸粉末和精氨酸微胶囊粉末样品 (3 个平行) 的顶空瓶中, 电子鼻进行测定。测定条件: 采样时间为 1 s/组; 传感器自清洗时间为 80 s; 传感器归零时间为 5 s; 样品准备时间为 5 s; 进样流量为 400 mL/min; 分析采样时间为 80 s。

(3) 电子舌测定。分别称取约 1 g 精氨酸和 5 g 精氨酸微胶囊粉末, 加入 100 mL 纯水, 充分搅拌得到样品液, 每组样品测 3 次, 采用偏最小二乘分析法 (Partial Least Squares Analysis, PLS) 对精氨酸和精氨酸微胶囊涩味进行测定。涩味参比物质为单宁酸, 精密称取单宁酸适量, 用纯水配制成 5、10、50、100、500 mg/L 的涩味参比溶液制作标准曲线。

1.3.4.5 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊体外模拟消化试验

配制模拟胃液 (Simulated Gastric Fluid, SGF): 量取 400 mL 蒸馏水, 用 0.1 mol/L HCl 调节 pH 值至 1.2, 加入 5 g 胃蛋白酶溶解后定容 500 mL。

体外模拟消化: 称取 1 g 微胶囊样品分别加入

100 mL 模拟胃液中, 于 37 °C 水浴振荡, 每隔 0、5、10、20、30 min 测定精氨酸含量。模拟消化释放的精氨酸量与微胶囊中精氨酸含量比较计算消化率。

1.3.4.6 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊稳定性试验

(1) 热重分析。参考胡深^[23]的实验条件, 采用热重分析仪对比分析精氨酸粉和精氨酸微胶囊的热稳定性。样品量为 2 mg, 普通坩埚, 温度范围: 30~550 °C, 升温速度 10 °C/min, 气氛为氮气。

(2) 贮藏稳定性试验: 采用透明聚酯真空袋和复合铝箔袋将精氨酸微胶囊密封包装, 用液相色谱法测定精氨酸微胶囊样品贮藏前的精氨酸含量。分别设置冷藏 4 °C、室温 25 °C 以及 40 °C (参考中国药典加速试验温度) 恒温贮藏 90 d, 每隔 10 d 取样感官观察, 并测定样品中精氨酸含量, 按照公式 (2) 测定精氨酸保留率。

$$W = \frac{M_{\text{贮藏后}}}{M_{\text{贮藏前}}} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

W ——精氨酸保留率, %;

$M_{\text{贮藏后}}$ ——微胶囊样品贮藏后精氨酸含量, g;

$M_{\text{贮藏前}}$ ——微胶囊样品贮藏前精氨酸含量, g。

1.3.5 数据分析

所有试验平行 3 次, 使用 IBM SPSS statistics、Origin 2019b 软件对所有数据进行分析 and 绘制。

2 结果与讨论

2.1 双剪切复乳化精氨酸微胶囊乳液的微观形态

在喷雾干燥前, 首先将双剪切乳化形成的 W/O 型微胶囊初乳液和双剪切复乳化微胶囊乳液在显微镜下观察形态。W/O 型初乳液如图 2a 所示, 形成了明显的球形油滴微囊, 微囊大小总体比较均匀, 囊粒边界清晰。这说明精氨酸吸附蛋白胶体被有效封装在椰子油滴微囊内部, 双剪切复乳化微胶囊乳液如图 2b 所示, W/O 型油滴初乳微胶囊基本上进一步被辛烯基琥珀酸淀粉酯、麦芽糊精、阿拉伯胶和蔗糖酸酯所组成的复合水溶胶所包裹, 形成类似 W/O/W 型微囊复乳液。能观察到复乳微囊粒内部含有更小尺寸、数量不等的囊粒, 具有明显的多重组装包封特性。双剪切复乳化精氨酸微胶囊乳液在室温条件下具有较好稳定性和流动性, 可顺利进行喷雾干燥。

表 1 复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊理化特性指标

Table 1 Physical and chemical characteristics of arginine microcapsules by double emulsification and spray drying

水分含量/%	精氨酸载量/%	包埋率/%	粒径分布范围/ μm	平均粒径/ μm
2.41 \pm 0.63	12.16 \pm 0.12	95.51 \pm 0.08	10.00~150.00	41.36 \pm 0.16

精氨酸微胶囊乳液的多重组装结构和稳定性与其他相关研究制备的 W/O/W 复乳液微胶囊具有相似性, 曾兰兰等^[24]采用石蜡作为 W/O 油相, 再采用亲水胶体为外壁材二次乳化包埋维生素 C 溶液形成的 W/O/W 型微胶囊乳液也有多重组装性。

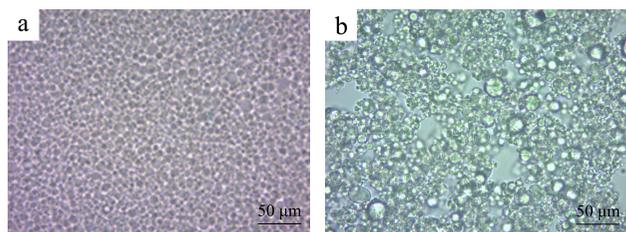


图 2 精氨酸 W/O 型初乳和双剪切复乳化微胶囊乳液显微形态

Fig.2 Microscopic morphology of arginine W/O colostrum and double shear re-emulsified microencapsulated emulsions

注: (a) W/O 型乳液; (b) W/O/W 型乳液。

2.2 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊微形态及内部精氨酸分布表征

进行喷雾干燥时要同时控制合适进料速度和电动离心雾化喷头转速, 双剪切复乳化精氨酸微胶囊乳液可顺利雾化, 在干燥腔内形成乳白色固体粉末, 如图 3 所示, 在电镜下复乳化包埋喷雾干燥精氨酸粉末呈典型的球形微胶囊特征, 其中部分微胶囊颗粒表面带有不规则的褶皱, 这与干燥后微胶囊脱水收缩有关。如表 1 所示, 精氨酸微胶囊中精氨酸载量为 12.16 wt.%, 包埋率达到 95.51%, 按照特医食品肠道营养组件每人补充精氨酸 3~5 g/d^[25] 和畜禽饲料中精氨酸添加 0.1~1 wt.%^[26] 的推荐添加量, 这种精氨酸微胶囊作为纯精氨酸替代配料时, 可满足添加量的生产要求。精氨酸微胶囊含水量 2.41%, 粒径分布如图 4 所示, 平均粒径为 41.36 μm , 具有一定流动性, 在实际应用中易于与别的原料混合均匀。

质谱成像可使组织甚至单个细胞中大量分子的位置可视化, 并不使用任何荧光探针或抗体的情况下表征其化学成分分布^[27]。为了进一步测试精氨酸成分在微胶囊内的分布情况, 采用质谱成像系统对石蜡固定的精氨酸微胶囊切片表面进行分析。石蜡切片表面被切开的部分胶囊可检测出 70.06、116.07 和 130.10 m/z 三个精氨酸特征离子信号, 响

应值 70.06 > 116.07 > 130.10 m/z 。

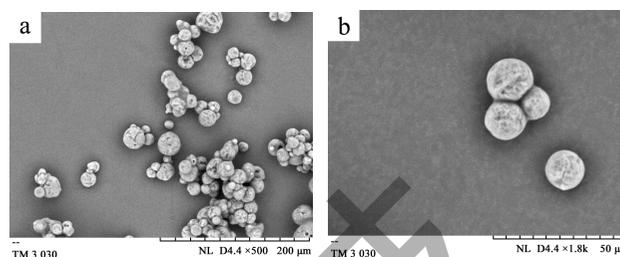


图 3 复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊扫描电镜图

Fig.3 Scanning electron microscope of arginine microcapsules by double emulsification and spray drying

注: (a) 500 倍下的扫描电镜图; (b) 1 800 倍下的扫描电镜图。

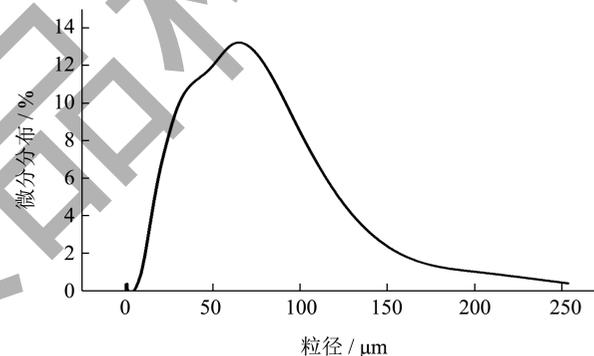


图 4 精氨酸微胶囊粒径分布图

Fig.4 Particle size distribution of arginine microcapsules

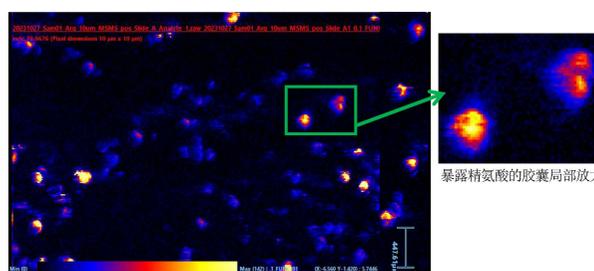


图 5 石蜡切片上精氨酸微胶囊质谱成像图

Fig.5 Mass spectrometry imaging of arginine microcapsules on paraffin section

提取石蜡切片表面胶囊切面检测到的精氨酸三个特征离子信号对通道显示形成图像, 如图 5 所示, 在放大图像中切面良好的胶囊的热图因信号强弱呈不同颜色, 中心黄色代表精氨酸含量最高, 外圈红色次之, 边缘蓝色含量很低, 说明精氨酸主要分布于胶囊内部中心, 这也说明包埋效果良好。图 5 中

其它只出现小红点或无红点的蓝色影像是切片深度较浅的胶囊或未切到的胶囊。Wang 等^[28]采用电喷雾电离质谱成像技术对马兜铃酸 I 给药小鼠肾脏组织切片中精氨酸、赖氨酸等 38 种代谢产物的成像分布, 直观表征了其代谢谱的变化。

2.3 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊掩味效果

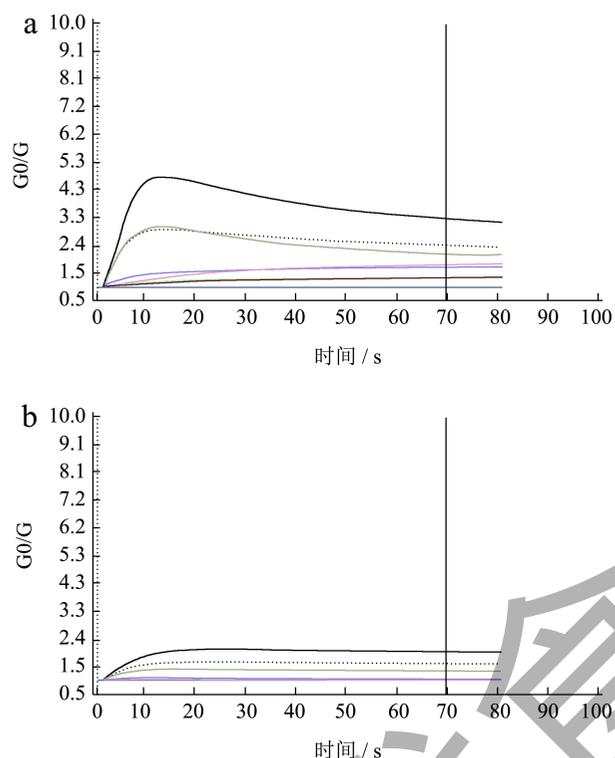


图 6 电子鼻对样品的 G/G0 信号响应值曲线

Fig.6 G/G0 signal response curve of the electronic nose to the samples

采用电子鼻和电子舌可对掩味特性的微胶囊的掩味效果进行有效测试^[20,21]。如图 6 所示, 在对精氨酸微胶囊电子鼻的测试过程中, 10 个传感器对精氨酸粉末气味均有 G/G0 信号响应, 其中 R7 传感器响应最强, 其次是 R9 和 R2 传感器, 但对精氨酸微胶囊粉末的相应信号响应明显弱得多, 即精氨酸粉末气味大, 而精氨酸微胶囊粉末气味小。如图 7 所示, 主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 表明第一和第二主成份贡献率之和达到 99% 以上, 其中第一和第二主成分的贡献率分别为 94.87% 和 4.69%, 可见两个样品之间气味的差异较大。在线性判别分析 (Linear Discriminant Analysis, LDA) 中, 第一和第二主成分的贡献率之和在 95% 以上, 第一和第二主成分贡献率分别为 78.78% 和 19.13%,

两种样品气味可被明确的区分开来。从实际的感官评价结果来看, 精氨酸粉末能闻到氨味, 而精氨酸微胶囊粉无氨味, 但能闻到淡淡的乳清粉香味。所以电子鼻的测试结果与感官评价结果是一致的, 说明精氨酸微胶囊对精氨酸氨味具有良好的掩蔽效果。

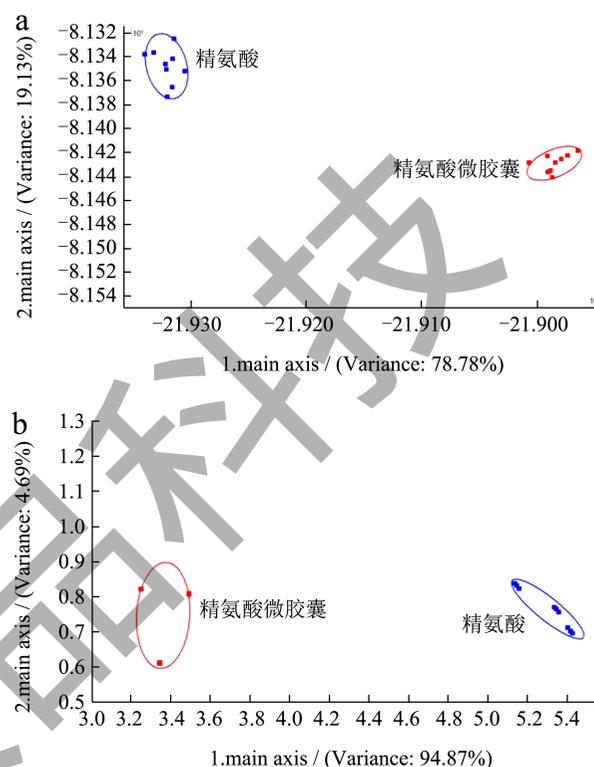


图 7 精氨酸和精氨酸微胶囊主成分 PCA 区分和 LDA 线性判别分析图

Fig.7 PCA differentiation and LDA linear discriminant analysis of the main components in arginine and arginine microcapsules

注: (a) 主成分 PCA 区分; (b) LDA 线性判别分析。

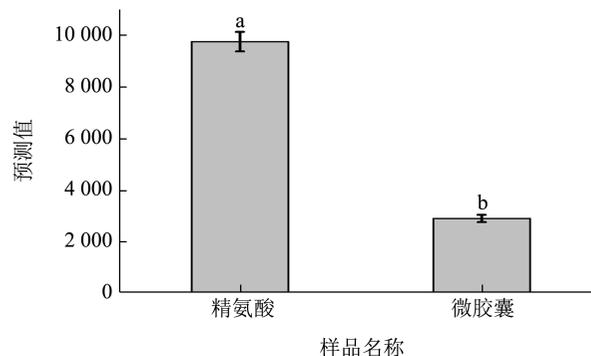


图 8 精氨酸和微胶囊的电子舌涩味预测值

Fig.8 Predictions of electronic tongue astringency for arginine and microcapsules

注: 不同小写字母代表差异显著, $P < 0.05$ 。

此外,在进行感官品尝时,1 wt.%的精氨酸水溶液就有明显苦涩味,而9 wt.%的精氨酸微胶囊水溶液(精氨酸含量约1 wt.%)无苦涩味。图8为电子舌的测试结果,精氨酸水溶液的预测值明显大于微胶囊的预测值,说明通过微胶囊包埋精氨酸可有效掩蔽精氨酸的苦涩味。

2.4 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊模拟消化的精氨酸释放效果

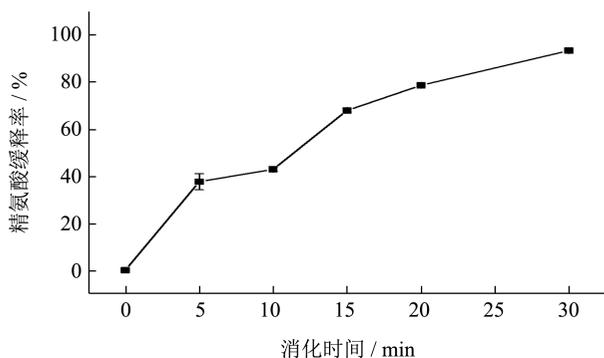


图9 精氨酸微胶囊在SGF的游离精氨酸缓释效果

Fig.9 The sustained release effects of arginine microcapsules on free arginine in SGF

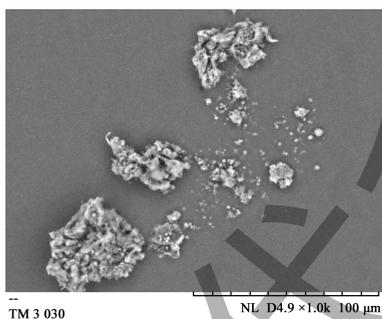


图10 精氨酸微胶囊模拟SGF消化后崩解残渣电镜图

Fig.10 Electron microscopy image of arginine microcapsules simulating the disintegration residue after SGF digestion

芯材主成分能否有效缓释是评价微胶囊品质的重要指标,可通过模拟胃液或模拟胃液和肠液相结合的体外消化试验进行有效测试^[29,30]。通过模拟胃液测试精氨酸微胶囊的体外消化效果进行初步试验如图9所示,微胶囊中的精氨酸在消化液中的缓释率随着消化时间延长逐渐提高,在SGF中消化30 min后精氨酸释放率为93.14%,释放效果良好,可能与模拟胃液的高酸度有关^[31]。将消化液残渣收集冷冻干燥,用电镜观察,如图10所示,消化残渣均已失去微胶囊的基本特征,说明精氨酸微胶囊可在食物的常规消化时间内有效崩解。实验结果可基本预示精氨酸微胶囊在食用后可以在胃部消

化时正常崩解消化,而且精氨酸能够有效地释放出来,可为机体提供营养支持。

2.5 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊热稳定性

精氨酸胶囊粉末耐热性分析如图11所示。从测定的热重曲线(Thermogravimetric Analysis, TG)来看,精氨酸粉末和精氨酸微胶囊失重情况总体分为二个阶段。精氨酸粉末第一阶段加热至100℃失重约12.86%,主要失重成分可能是水分;第二阶段从250℃至400℃失重累计超过55.73%,可能是精氨酸出现气化和热解,结合相应的导数热重曲线(Derivative Thermogravimetry, DTG),其失重峰值出现在230~270℃之间,与Martin等^[32]所测定的结果基本一致。而精氨酸微胶囊第一阶段加热至250℃失重仅约12.06%,主要失重的可能是水和油脂等成分;第二阶段从250℃至400℃失重累计约70.50%,可能是胶囊中的精氨酸、油脂及其它壁材成分也出现气化和热解。试验结果表明,精氨酸微胶囊的热解温度要求更高,其热稳定性比单纯的精氨酸粉末更好。

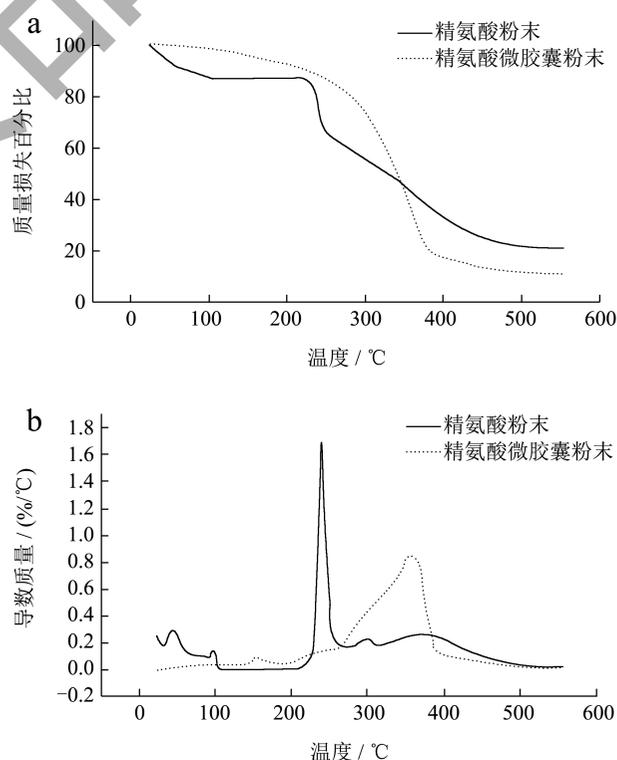


图11 精氨酸微胶囊与精氨酸的TG和DTG分析

Fig.11 TG and DTG analysis of arginine microcapsules and arginine

注:(a)热重曲线(TG);(b)导数热重曲线(DTG)。

2.6 双剪切复乳化喷雾干燥精氨酸微胶囊的贮藏稳定性

为进一步考察精氨酸微胶囊的贮藏稳定性,采用不同贮藏条件试验对其进行测试。通常情况下精氨酸如果长期处于湿热环境,或与含有还原糖和酚类等成分的配料混合,或受到光照,会相应发生羰氨反应或分解反应而受到损失^[10,33]。为了进一步验证精氨酸微胶囊中壁材组分和贮藏条件是否对包埋的精氨酸有效保存性能产生影响,采用透明包装和不见光的复合铝箔包装,分别在冷藏4℃、室温25℃和中国药典加速试验推荐温度40℃三个恒定温度下进行了为期90d的贮藏稳定性比较试验,结果如图12所示。透明真空包装在4、25和40℃下90d后胶囊粉末的精氨酸保留率分别为93.01%、91.78%和83.10%,而复合铝箔真空包装在4、25和40℃下90d后精氨酸保留率分别为95.01%、93.82%和85.19%。张梅等^[34]对天然花色苷微胶囊的贮藏稳定性研究也表明光照和储存温度对微胶囊的储存有着较大的影响,但从本实验可以看出贮藏温度是影响微胶囊粉末中精氨酸保留率的最大因素,包装材料是否阻光影响相对较小。

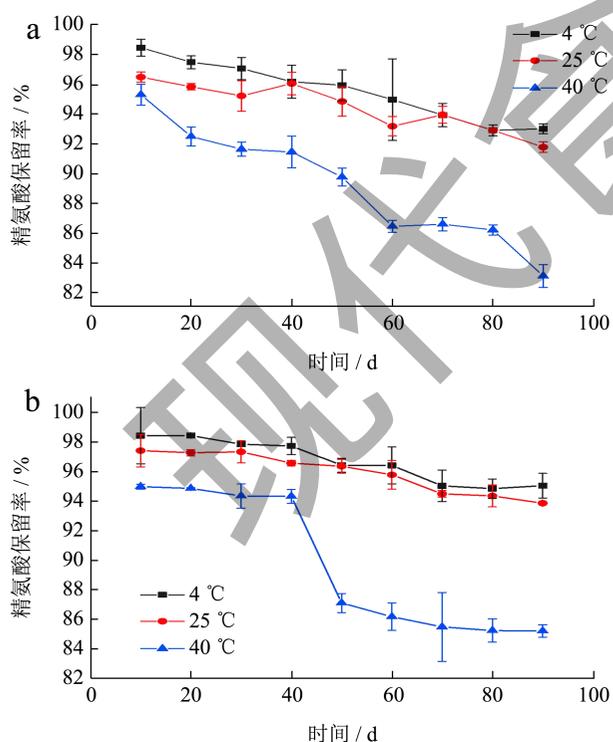


图12 不同包装材料和温度对精氨酸微胶囊贮藏稳定性的影响

Fig.12 The effects of different packaging materials and temperatures on the storage stability of arginine microcapsule powder

注: (a) 透明塑料包装; (b) 铝箔包装。

总体来看,采用复合铝箔真空包装在室温条件下即可获得良好的贮藏效果,可以满足产品的正常保质要求。本研究制备的精氨酸微胶囊具有良好的贮藏稳定性,可能与初次剪切乳化前已被乳清蛋白较好吸附、初次乳化W/O油相使用了稳定性高的椰子油以及喷雾干燥后微胶囊优良的包埋率等因素有关。

3 结论

本研究用1.2倍体积的椰子油、丙二醇单硬脂酸酯油相,与8.0 wt.%乳清蛋白吸附的20.0 wt.%精氨酸胶体溶液剪切乳化制备W/O型初乳液,然后用9.8 wt.%辛烯基琥珀酸淀粉酯、2.4 wt.%麦芽糊精、0.3 wt.%阿拉伯胶和0.6 wt.%蔗糖酸酯组成的亲水性外壁材二次剪切乳化形成W/O/W型复乳液,能观察到复乳微囊粒内部含有更小尺寸、数量不等的囊粒,具有明显的多重组装包封特性,而且具有较好稳定性;W/O/W型复乳液可利用喷雾干燥工艺制备具有典型圆球形特征、精氨酸含量达到12.16 wt.%且包埋率达到95.51%的微胶囊粉末,微胶囊粒径范围介于10.00~150.00 μm,具有一定流动性。将精氨酸微胶囊分散到石蜡中,对石蜡切片中暴露出内部的微胶囊进行电喷雾,收集精氨酸特征离子进行质谱成像,结果表明精氨酸主要分布在微胶囊内部。运用电子鼻、电子舌分别对精氨酸微胶囊和精氨酸粉末进行比较测定,表明精氨酸微胶囊气味信号强度和苦味预测值均显著低于精氨酸粉末,说明精氨酸微胶囊具有良好的掩味效果,与感官品尝结果相符。模拟胃液体外消化结果也表明精氨酸微胶囊可在30 min内崩解,精氨酸缓释率为93.14%,缓释效果良好。进一步采用热重分析和不同贮藏条件对精氨酸微胶囊稳定性进行检测,结果表明精氨酸微胶囊在250℃至400℃失重累计超过55.73%,可表明精氨酸微胶囊在极端高温条件下才会出现气化和热解,此外,复合铝箔袋真空包装的精氨酸微胶囊在室温条件90d贮藏后,其精氨酸保留率达到93.82%,具有良好的贮藏稳定性。

作为组成成分或营养添加剂,精氨酸在医药、特医食品和饲料行业具有广泛应用。综合本研究的结果,初步揭示了W/O/W型双剪切复乳化喷雾干燥途径制备精氨酸微胶囊的过程原理,验证了制备工艺可行性、消化缓释效果和贮藏稳定性,对拓展精氨酸在相关行业的更好应用提供了一定科学依据。

参考文献

- [1] SEIFTER E, RETTURA G, BARBUL A, et al. Arginine: an essential amino acid for injured rats [J]. *Surgery*, 1978, 84(2): 224-230.
- [2] AMIT S, MAGDALENA D, TADEUSZ M. Role of nitric oxide, nitroxidative and oxidative stress in wound healing [J]. *Pharmacological Reports: PR*, 2005, 57: 108-119.
- [3] K H, T L, M T. Novel metabolic roles of l-arginine in body energy metabolism and possible clinical applications [J]. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 2014, 18 (2): 213-218.
- [4] GOKSU B B, GURKAN B, CUNEYT A, et al. Antioxidant and neuroprotective effects of l-arginine administration after traumatic brain injury and hemorrhagic shock in rats [J]. *Turkish Neurosurgery*, 2023, 33 (3): 379-385.
- [5] GEIGER R, RIECKMANN C J, WOLF T, et al. L-arginine modulates t cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity [J]. *Cell*, 2016, 167 (3): 829-842.
- [6] 吕佳琪,吴秋珏,寇涛,等.动物脂肪沉积程序化及精氨酸的调控作用[J].*动物医学进展*,2016,37(9):112-118.
- [7] SHIKIDA R N D, DALMOLIN F L, FUMAGALLI F, et al. Arginine-conjugated chitosan nanoparticles for topical arginine release in wounds [J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2021, 61: 102115.
- [8] ALBINA J E, MILLS C D, BARBUL A, et al. Arginine metabolism in wounds [J]. *Am J Physiol*, 1988, 254(4 Pt 1): E459.
- [9] VIDAL-CASARIEGO A, CALLEJA-FERNÁNDEZ A, VILLAR-TAIBO R, et al. Efficacy of arginine-enriched enteral formulas in the reduction of surgical complications in head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *Clinical Nutrition*, 2014, 33 (6): 951-957.
- [10] SOGUT E, FILIZ E B, SEYDIM C A. A model system based on glucose-arginine to monitor the properties of Maillard reaction products [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 58: 1-9.
- [11] 马思远,温志刚,张远聪,等.食源性活性肽及其微囊化技术与应用的研究进展[J].*食品科技*,2023,48(11):216-223.
- [12] 孙情情,谭文,魏长庆,等.功能性植物油脂微胶囊制备及其在食品工业中的应用研究进展[J].*食品安全质量检测学报*,2023,14(24): 221-229.
- [13] YUJIE S, YUJIA S, JULIAN D M, et al. Encapsulation of amino acids in water-in-oil-in-water emulsions stabilized by gum Arabic and xanthan gum [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 220: 1493-1500.
- [14] 牛化欣.微胶囊氨基酸制备及其在饲料加工和虾养殖中的效果研究[D].无锡:江南大学,2011.
- [15] 孙辉,范俐,杜仲达,等.丁酸钠微胶囊的制备工艺优化、表征及抑菌特性分析[J].*现代食品科技*,2023,39(6):154-161.
- [16] 赵阳,谢岩黎.复乳化(W/O/W)-复凝聚-喷雾干燥法制备维生素B₁₂微胶囊的研究[J].*河南工业大学学报(自然科学版)*,2017,38(2):40-43,56.
- [17] HU S H, DING Z, ZHANG G. Fabrication and spray-drying microencapsulation of vitamin C-loaded W1/O/W2 emulsions: Influence of gel polymers in the internal water phase on encapsulation efficiency, reconstituted stability, and controlled release properties [J]. *LWT*, 2022, 170: 114113.
- [18] 纪冉.L-抗坏血酸/槲皮素复合凝聚双包埋微胶囊化研究[D].无锡:江南大学,2021.
- [19] 罗鼻劫.微胶囊化松针酵素粉加工关键技术研究[D].长沙:中南林业科技大学,2021.
- [20] 应欣.大豆低聚肽降压功能、结构解析及其双重乳液苦味掩蔽技术研究[D].北京:中国农业科学院,2020.
- [21] 高艺.苦味肽苦味掩蔽型乳液体系构建及微胶囊产品开发[D].南昌:南昌大学,2022.
- [22] TSUTOMU A, DAISUKE E, KOUHEI T, et al. Suppression of protein interactions by arginine: a proposed mechanism of the arginine effects [J]. *Biophysical Chemistry*, 2007, 127 (1-2): 1-8.
- [23] 胡深.L-精氨酸及其衍生物的溶解行为与溶剂化效应分析预测研究[D].长春:长春工业大学,2023.
- [24] 曾兰兰,杨成.石蜡油W/O/W型多重乳液的制备及其对维生素C的包裹[J].*香料香精化妆品*,2009,5:23-25,16.
- [25] 鞠超凡,何朝勇.L-精氨酸补充疗法在部分疾病治疗中的研究进展[J].*药学研究*,2023,42(12):1005-1009.
- [26] 李帅,王丽,梁兴伟,等.精氨酸代谢途径及其在畜牧生产中的应用研究[J].*动物营养学报*,2022,34(4):2156-2166.
- [27] BANERJEE S. Ambient ionization mass spectrometry imaging for disease diagnosis: Excitements and challenges [J]. *Journal of Biosciences*, 2018, 43 (4): 731-738.
- [28] ZHONGHUA W, BINGSHU H, YAQI L, et al. In situ metabolomics in nephrotoxicity of aristolochic acids based on air flow-assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, 10 (6): 1083-1093.
- [29] 孙永,倪兴刚,邓泽元,等.两种不同壁材结构脂微胶囊的氧化稳定性与体外消化特性比较[J].*现代食品科技*, 2023,39(4):206-213.
- [30] 郭洪辉,谢全灵,洪专,等.双氯芬酸钠微胶囊的制备及体外释药性能研究[J].*中国药学杂志*,2023,58(19):1752-1758.
- [31] 常馨月,罗惟,陈程莉,等.奇亚籽油微胶囊贮藏稳定性及缓释动力学[J].*食品与发酵工业*,2020,46(9):108-114.
- [32] ANITHA M, RAVINDRAN B, VIJAYALAKSHMI M. Influence of succinic acid on the growth of L-Arginine single crystal (SALA) [J]. *Materials Today: Proceedings*, 2023, 80(P3): 3585-3588.
- [33] CHYTIL M, TROJANA M, KOVALENKO A. Study on mutual interactions and electronic structures of hyaluronan with Lysine, 6-Aminocaproic acid and Arginine [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 142: 8-15.
- [34] 张梅,张燕杰,陈为健,等.锦绣杜鹃花色苷微胶囊的制备及其稳定性研究[J].*林产化学与工业*,2023,43(2):19-26.