

## 枇杷花多酚微胶囊的制备工艺及特性研究

刘芬芬<sup>1</sup>, 蒲首丞<sup>1</sup>, 赵雯靓<sup>1</sup>, 徐丽珊<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>浙江师范大学生命科学学院 浙江金华 321004

<sup>2</sup>浙江省特色经济植物生物技术研究重点实验室 浙江金华 321004

**摘要** 为提高枇杷花多酚的利用率及稳定性,采用果胶、海藻酸钠及壳聚糖为复合壁材,制备枇杷花多酚微胶囊。选取微胶囊包埋率及载药量为优化指标,通过单因素实验和响应面分析优化枇杷花多酚微胶囊的制备工艺,并对微胶囊的表观特性、体外缓释效果及稳定性进行评价。结果表明,大孔树脂富集后的枇杷花多酚具有较高的多酚含量及生物活性,可作为本试验芯材。果胶辅助包埋制备微胶囊的最佳制备工艺为:果胶与芯材质量比 1:2,海藻酸钠质量分数 2.0%,壳聚糖质量分数 0.19%,氯化钙质量分数 1.5%,pH 5.9。此条件下制备的微胶囊包埋率为(86.98±0.25)%,载药量为(38.24±0.49)%,平均粒径为(4.92±0.74) μm,形态近似球状。模拟胃液消化 6 h 后,微胶囊在胃、肠液中累计释放率分别为 19.59%和 82.53%。此外,枇杷花多酚经微胶囊化处理,温度稳定性和光稳定性均有所提高,说明该工艺制备的微胶囊可以提高枇杷花多酚的缓释作用及稳定性,从而提高枇杷花多酚的利用率。

**关键词** 枇杷花多酚;微胶囊;响应面法;缓释;稳定性

**文章编号** 1009-7848(2025)01-0208-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2025.01.020

枇杷(*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl)为蔷薇科枇杷属植物,原产地中国,现今 30 多个国家都有商业种植<sup>[1]</sup>。枇杷的花期长,花量多,而仅有 5%的花形成产量,大部分作为废弃物丢弃,枇杷花资源利用率低<sup>[2]</sup>。有研究证明,相较于枇杷果、叶,枇杷花中多酚含量最高,具有较高的抑制 α-葡萄糖苷酶、抑制胰脂肪酶及抗氧化活性<sup>[3]</sup>。目前对于枇杷花多酚的研究大多局限于分离、鉴定及生物活性方面。闫永芳等<sup>[4]</sup>运用 HPLC-PAD-MS 技术对枇杷花多酚进行定性及定量分析,鉴定出槲皮苷、异槲皮苷、绿原酸、槲皮素 4 种主要酚类化合物。Huang 等<sup>[5]</sup>在证明枇杷花多酚在 ABTS、DPPH 和 FRAP 试验中均显示较强的抗氧化活性。植物多酚易受光照、温度和湿度等环境因素的影响,在应用过程中存在稳定性较差,生物利用度低,可被快速分解代谢等缺点,导致其开发利用受到极大的限制<sup>[6]</sup>。如何改善以上问题成为枇杷花多酚研发的重点。

微胶囊技术在保护天然活性成分稳定性和活性方面发挥着重要作用。此技术可将多酚类化合物包埋入保护性囊膜(壁材)中,稳定其生物活性,

并在一定条件下将多酚释放,发挥营养作用<sup>[7]</sup>。植物多酚的微胶囊化研究较多,常见的制备方法包括相分离法、喷雾干燥法及锐孔法等。Zheng 等<sup>[8]</sup>以乙基纤维素为包被材料,采用相分离法对杨梅多酚提取物进行微胶囊化处理,有效保护了杨梅多酚的抗氧化活性。Aliakbarian 等<sup>[9]</sup>确定了橄榄渣多酚喷雾干燥微胶囊化的最佳工艺条件,提高其酚类化合物的贮存稳定性。苹果多酚<sup>[10]</sup>、玫瑰茄<sup>[11]</sup>、荔枝多酚<sup>[12]</sup>等均以海藻酸钠、壳聚糖为壁材,采用锐孔法进行包埋,所制备的微胶囊均提高了多酚的稳定性,且具有肠靶向释放性的特点。综合考虑,相分离法采用大量有机试剂,易残留;喷雾干燥法制备的微胶囊易出现裂痕,成本高。相比之下,锐孔法操作简便,其微囊化条件温和,更适用于多酚物质的包埋。锐孔法制备微胶囊常用壁材为海藻酸钠和壳聚糖,然而两者结合包埋制备的微胶囊存在载药量低、表面凹陷且空洞较多的问题。果胶作为天然高分子壁材,具有优异的成膜性及抗氧化性,常与其它壁材进行复配共同包埋,例如与海藻酸钠复配可弥补微胶囊存在的孔隙<sup>[13]</sup>,与壳聚糖复配可提高芯材的缓释性能<sup>[14]</sup>。目前对于果胶、海藻酸钠及壳聚糖 3 种壁材复配的研究鲜有报道。

本试验以大孔树脂富集后的枇杷花多酚为芯

收稿日期: 2024-01-29

第一作者: 刘芬芬,女,硕士

通信作者: 徐丽珊 E-mail: xls@zjnu.edu.cn

材,选取果胶、海藻酸钠及壳聚糖作为复合壁材,通过锐孔法制备枇杷花多酚微胶囊。以微胶囊包埋率及载药量为优化指标,通过单因素实验和响应面分析优化枇杷花多酚微胶囊的制备工艺,并对微胶囊的表观特性、体外缓释效果及稳定性进行评价,以期枇杷花多酚的开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

‘早钟六号’枇杷花产于中国福建漳州;AB-8 大孔树脂,东鸿化工有限公司;没食子酸、福林酚,美国 Sigma 公司;无水乙醇、磷酸二氢钾、盐酸、氢氧化钠、碳酸钠,国药集团;果胶、海藻酸钠、壳聚糖、氯化钙,生工生物工程有限公司。

### 1.2 仪器与设备

摇床,上海恒科学仪器有限公司;Rotavapor R-300 旋转蒸发仪,瑞士 Buchi 公司;BPG-9070A 电热鼓风干燥箱、磁力搅拌器,上海恒科学仪器有限公司;BT224S 电子分析天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司;5427R 高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;UV-2450 紫外分光光度计,日本岛津公司;Gemini SEM 300 系列场发射 SEM,德国 Carl Zeiss 公司。

### 1.3 方法

1.3.1 枇杷花多酚的制备及活性测定 将‘早钟六号’枇杷花烘干粉碎,得到粉末,加入 70%乙醇,热水浴浸提,抽滤,滤液浓缩、干燥,得到枇杷花多酚粗提物;将其复溶后经 AB-8 大孔树脂吸附,60%乙醇解吸,解吸滤液浓缩,干燥得到枇杷花多酚(LFP)。参考文献[15]的方法,采用 Folin-Ciocalteu 法测定多酚含量;采用 Xu 等<sup>[16]</sup>方法测定  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性和 DPPH·清除活性。

1.3.2 枇杷花多酚微胶囊的制备及包埋率、载药量的测定 LFP 溶于去离子水,配制 10 mg/mL 的芯材溶液;取一定量的果胶溶于芯材溶液中,在室温下搅拌使其充分溶解;再加入一定质量分数的海藻酸钠溶液,以 500 r/min 的速度磁力搅拌 30 min;分别取一定质量分数的壳聚糖与氯化钙溶液充分混合并调节其 pH 值,将其作为固化液;然后将芯壁材混合液匀速滴入固化液中,静置 30

min;水洗 2 次后,过滤、干燥得到枇杷花多酚微胶囊(LFPM)。按照以下公式计算包埋率及载药量。

$$\text{包埋率}(\%) = \frac{C_1 \times V_1 - C_2 \times V_2}{C_1 \times V_1} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{载药量}(\%) = \frac{C_1 \times V_1 - C_2 \times V_2}{m} \times 100 \quad (2)$$

式中: $C_1$ 为芯材多酚溶液质量浓度,mg/mL; $V_1$ 为芯材溶液体积,mL; $C_2$ 为水洗液中多酚质量浓度,mg/mL; $V_2$ 为水洗液体积,mL; $m$ 为干燥后微胶囊质量,mg。

1.3.3 单因素实验设计 LFPM 制备的基本工艺参数:0.2 g 果胶,10 mg/mL 的芯材溶液 20 mL,1.5%的海藻酸钠 10 mL,0.1%的壳聚糖 30 mL,1.0%的氯化钙 30 mL,用  $\text{NaHCO}_3$  调节 pH 值为 5。保持其它因素不变,选择果胶与芯材质量比(1:4,1:2,1:1,2:1,4:1)、海藻酸钠质量分数(1.0%,1.5%,2.0%,2.5%,3.0%)、壳聚糖质量分数(0.05%,0.10%,0.15%,0.20%,0.25%)、氯化钙质量分数(0.1%,0.5%,1.0%,1.5%,2.0%)、pH 值(5,5.5,6,6.5,7)分别进行单因素实验,考察各因素对 LFPM 包埋率、载药量的影响。

1.3.4 响应面试验设计 在单因素实验的基础上,选择果胶与芯材质量比(A)、壳聚糖质量分数(B)、pH 值(C)为考察因素,以包埋率和载药量为响应值确定最佳 LFPM 制备工艺。BBD 响应面试验因素水平见表 1。

表 1 响应面试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiment

因素	水平		
	-1	0	1
A(果胶与芯材质量比)	1:4	1:2	2:1
B(壳聚糖质量分数)/%	0.15	0.2	0.25
C(pH 值)	5.5	6	6.5

1.3.5 形貌及粒径观测 通过扫描电镜 SEM 观察 LFPM 的表面结构,用棉签粘取样品,将其转移至粘有导电胶的样品台上,洗耳球吹去多余样品,喷金处理后,在 5 kV 的加速电压下观察并采集图像。采用 Nano Measure 1.2 软件,对采集的图像做粒径分布计算,使用 Origin 2021 软件绘图。

1.3.6 体外释放研究 参考 Yang 等<sup>[17]</sup>的方法稍

作修改,具体方法如下。取 0.1 g 的 LFPM 于离心管中,分别加入 10 mL 模拟胃液(0.09 mol/L 氯化钠溶液,用盐酸调节 pH 值至 2.0)、10 mL 模拟肠液(76.5 mmol/L 氯化钠的 29 mmol/L 磷酸缓冲液,调节 pH 值至 7.4),置于 37 °C,60 r/min 的摇床中释放 6 h,期间每隔 1 h 收集缓释液测定多酚含量,每次取后补充等体积胃/肠液。释放率计算公式如下:

$$\text{释放率}(\%) = \frac{\text{释放的多酚含量}(\text{mg})}{\text{初始多酚含量}(\text{mg})} \times 100 \quad (3)$$

1.3.7 稳定性试验 本试验微胶囊为水溶性,取 LFPM 加入少量水于研钵中充分研磨,定容后超声提取,计算多酚保留率,以等浓度的 LFP 溶液作为对照。

1) 光稳定性 取一定量 LFPM 与 LFP,分别置于自然光下和完全避光的环境中(用锡纸包裹)静置 7 d,每隔 1 d 取少量,测定多酚保留率。

2) 热稳定性 取一定量的 LFPM 与 LFP,分别置于烘箱(80 °C)、常温室(25 °C)与冰箱(4

°C)下 7 h,每隔 1 h 取少量,测定多酚保留率。保留率计算公式如下:

$$\text{保留率}(\%) = \frac{\text{保存期间多酚浓度}}{\text{多酚初始浓度}} \times 100 \quad (4)$$

## 1.4 数据处理

运用 SPSS 22.0 软件分析,数据均用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,用 LSD 法进行组间比较。检验显著性水平  $\alpha=0.05$ 。Origin 软件绘制相关图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 LFP 的含量及生物活性

枇杷花粉经醇提后,通过 AB-8 大孔树脂富集,枇杷花多酚的含量由(12.57±0.97)%提升至(70.48±1.45)%,提高 5 倍以上,即得 LFP。图 1、2 结果表明,LFP 抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和清除 DPPH·的 IC<sub>50</sub> 分别为(7.50±0.65),(35.48±0.45)μg/mL。此结果表明,LFP 多酚含量较高,具有抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶、清除 DPPH·能力。故选择 LFP 作为微胶囊的芯材。

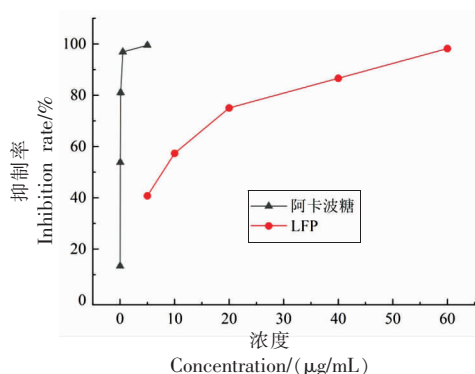


图 1 LFP 的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性

Fig.1  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity of LFP

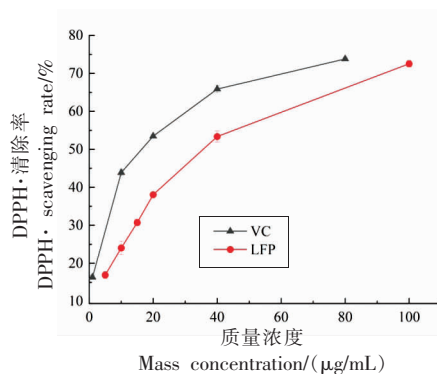


图 2 LFP 的 DPPH·清除活性

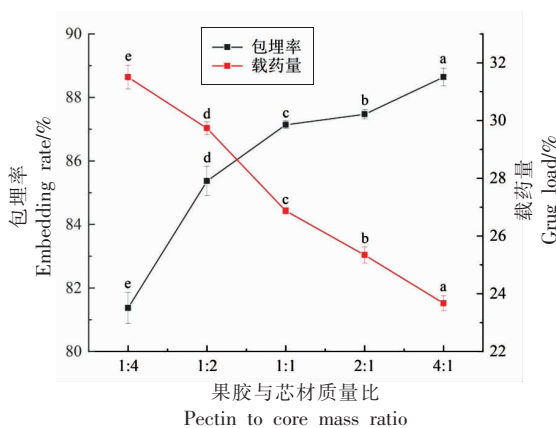
Fig.2 DPPH· scavenging activity of LFP

### 2.2 LFPM 制备的单因素实验

2.2.1 果胶与芯材质量比对 LFPM 包埋效果的影响 本试验评估果胶与芯材质量比对 LFPM 包埋率和载药量的影响,结果见图 3。随着果胶与芯材质量比的增加,包埋率随之增大,载药量呈下降趋势。这是因为当果胶与芯材比越大时,芯材相对含量少,因此可以较好地包埋,包埋率随之增大,而随之出现未包裹芯材的果胶溶液,造成样品烘干后微胶囊质量增大,多酚含量减少,载药量也随之减少。综上,选择 1:2 作为果胶与芯材质量比的

基准水平。

2.2.2 海藻酸钠质量分数对 LFPM 包埋效果的影响 不同质量分数的海藻酸钠对 LFPM 包埋率和载药量的影响,如图 4 所示。随着海藻酸钠质量分数的增加,包埋率与载药量呈先增加后下降的趋势,这是由于海藻酸钠分子可与果胶或  $\text{Ca}^{2+}$  发生凝胶化,因此当其质量分数过低时,无法形成稳定的三维网状凝胶结构,不能有效对芯材进行包埋;随着海藻酸钠质量分数提高,产生更多的螯合作用,从而形成稳定的微胶囊提高其包埋率与载药



注:不同小写字母表示组间差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

图 3 果胶与芯材质量比对 LFPM 的影响

Fig.3 Effect of pectin to core mass ratio on LFPM

量;而继续增加,溶液的黏度也随之增加,同时整合反应饱和且出现过剩现象,造成微胶囊包埋率与载药量的下降<sup>[18-19]</sup>。综上,海藻酸钠质量分数为 2.0%时,包埋率和载药量达到最大值,且当海藻酸钠质量分数高于 2.0%后,包埋率变化不显著,因此选择 2.0%海藻酸钠作为后续试验的固定条件。

### 2.2.3 壳聚糖质量分数对 LFPM 包埋效果的影响

在 0.05%~0.25%范围内,评估壳聚糖对枇杷花多酚微胶囊包埋率和载药量的影响(见图 5),包埋率与载药量随着壳聚糖质量分数的增加呈先升高后降低的趋势,当壳聚糖质量分数为 0.2%,包埋率和载药量分别为 84.7%和 31.29%,并与 0.15%和 0.25%相比存在显著性差异。这是由于壳聚糖质量分数过低时,壳聚糖与海藻酸钠发生静电反应的机会降低<sup>[20-21]</sup>,制备的微胶囊膜强度较低,且

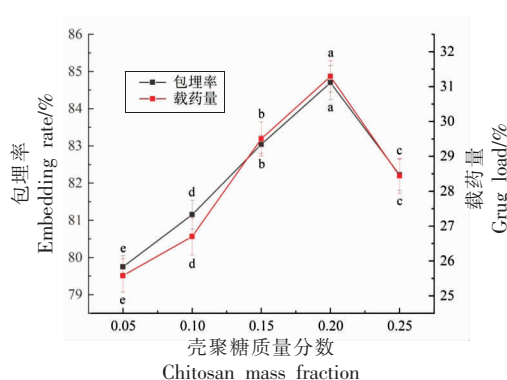


图 5 壳聚糖质量分数对 LFPM 的影响

Fig.5 Effect of chitosan mass fraction on LFPM

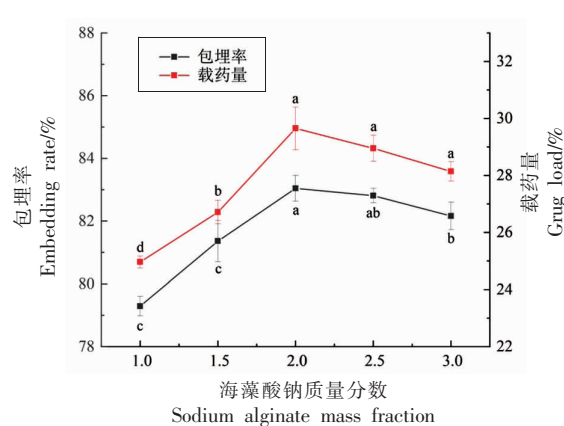


图 4 海藻酸钠质量分数对 LFPM 的影响

Fig.4 Effect of sodium alginate mass fraction on LFPM

易粘连,因此包埋效果不佳;随着壳聚糖质量分数增加,微胶囊的囊膜强度也随之增高,防止多酚的损失,从而提高包埋率与载药量;而当壳聚糖质量分数过高时,形成的囊壁过厚,出现一定凹陷,导致芯材遗失,降低包埋效果。综上,选择 0.2%为壳聚糖质量分数基准水平。

### 2.2.4 氯化钙质量分数对 LFPM 包埋效果的影响

图 6 为不同质量分数的氯化钙对 LFPM 包埋效果的影响。当氯化钙质量分数为 0.1%~1.5%时,包埋率及载药量随质量分数升高而增大,大于 1.5%时,反之减小,且变化不显著。这是因为在微胶囊制备过程中,氯化钙质量分数升高,其  $Ca^{2+}$  与海藻酸钠 G 分子链结合作用随之增强,故形成的三维网状凝胶结构就越稳定,因此提高了微胶囊的包埋率及载药量。然而当氯化钙质量分数过高时,出

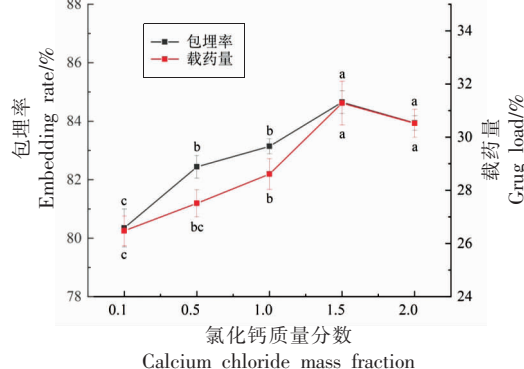


图 6 氯化钙质量分数对 LFPM 的影响

Fig.6 Effect of calcium chloride mass fraction on LFPM

现过饱和现象,且形成的三维网状凝胶结构过于紧密,从而不利于多酚的包埋,造成微胶囊包埋率及载药量的下降。因此,选择1.5%氯化钙质量分数用于后续试验。

**2.2.5 pH值对LFPM包埋效果的影响** 本试验探究pH值对LFPM包埋率和载药量的影响(见图7)。随着pH值的增大,包埋率和载药量均呈现先升高后下降的趋势,当pH值为6.0时,二者均达最大值,分别为85.62%和31.39%,并且与pH值为5.5和6.5的结果相比存在显著性差异。推测这可能是由于pH值对海藻酸钠、壳聚糖以及所包埋物质的空间构象、所带电荷有一定的影响<sup>[2]</sup>,当溶液pH值较小时,随着pH值的升高,海藻酸钠电离出的-COO<sup>-</sup>随之增多,此时海藻酸钠与壳聚糖的络合作用不断加强,形成的微胶囊膜强度随之增强;当溶液pH值较高时,壳聚糖电荷密度降低,海藻酸钠与壳聚糖静电作用减弱,形成的微胶囊膜变薄,易造成芯材遗漏,从而包埋效果降低。综上,选择pH值为6作为后续试验的基准水平。

### 2.3 LFPM制备的BBD响应面试验

**2.3.1 响应面试验优化** 根据BBD响应面试验设计法,以包埋率、载药量为响应值,依据上述单因素实验结果,选择果胶与芯材质量比(A)、壳聚糖质量分数(B)、pH值(C)3个因素3个水平,进行17组试验,响应面试验设计方案及结果见表2。

**2.3.2 回归模型的建立及交互作用** 采用Design Expert 8.0.6软件,对表2中的数据进行多元回归拟合,可得出包埋率 $Y_1$ 、载药量 $Y_2$ 与各因素各编码值(-1,0,1)之间的二次回归方程,即得回归模型:

$$Y_1 = 87.54 + 1.13A - 0.80B - 1.04C - 0.13AB + 0.23AC - 1.49BC - 1.62A^2 - 2.80B^2 - 2.51C^2$$

$$Y_2 = 38.20 - 1.42A - 0.68B - 1.16C + 0.28AB - 0.94AC - 0.33BC - 4.29A^2 - 3.46B^2 - 4.92C^2$$

回归方程的显著性检验及方差分析见表3。试验模型 $P$ 值为0.0008即 $<0.0001$ ,说明模型极显著。模型包埋率的确定系数 $R^2=0.9511$ , $R^2_{Adj}=0.8883$ ;载药量确定系数 $R^2=0.9937$ , $R^2_{Adj}=0.9857$ ,说明该模型能解释95.00%以上响应值的变化。该

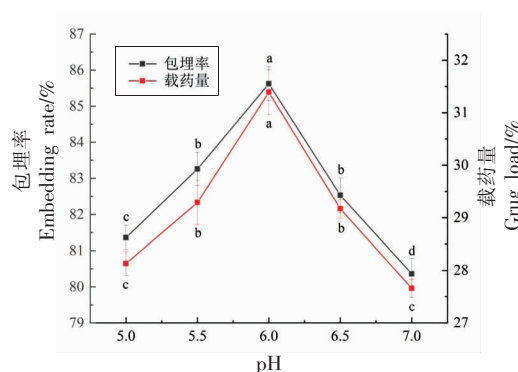


图7 pH值对LFPM的影响

Fig.7 Effect of pH value on LFPM

表2 响应面实验设计方案及结果

Table 2 Experimental scheme and results of response surface method

运行顺序	因素A	因素B	因素C	$Y_1$ 包埋率/%	$Y_2$ 载药量/%
1	-1	-1	0	82.135	32.688
2	1	-1	0	84.256	29.107
3	-1	1	0	82.241	31.238
4	1	1	0	83.834	28.774
5	-1	0	-1	83.467	30.810
6	1	0	-1	85.675	30.041
7	-1	0	1	80.677	29.820
8	1	0	1	83.812	25.304
9	0	-1	-1	83.167	31.312
10	0	1	-1	83.127	30.125
11	0	-1	1	84.316	30.170
12	0	1	1	78.309	27.677
13	0	0	0	86.818	38.300
14	0	0	0	88.181	37.635
15	0	0	0	87.656	38.706
16	0	0	0	87.866	38.453
17	0	0	0	87.185	37.898

模型失拟项 $P>0.05$ ,没有达到显著水平,说明模型可以用来分析枇杷花多酚微胶囊的包埋率和载药量。

由表3可知变量A、 $A^2$ 、 $B^2$ 和 $C^2$ 极显著影响包埋率;变量B、C和BC显著影响包埋率;变量A、B、C、AC、 $A^2$ 、 $B^2$ 和 $C^2$ 极显著影响载药量,表明各因素对包埋率及载药量的影响具有交互作用,并非单纯线性关系。由一次项回归系数 $P$ 可知,各

表 3 回归方程的显著性检验及方差分析

Table 3 Significance test and variance analysis of regression equation

方差来源	包埋率/载药量	平方和 SS	自由度 df	均方差 MS	F 值	P 值	显著性
模型	包埋率	111.61	9	12.40	15.13	0.0008	**
	载药量	290.74	9	32.30	123.34	<0.0001	**
A	包埋率	10.25	1	10.25	12.51	0.0095	**
	载药量	16.05	1	16.05	61.27	0.0001	**
B	包埋率	5.06	1	5.06	6.18	0.0419	*
	载药量	3.73	1	3.73	14.24	0.0069	**
C	包埋率	8.66	1	8.66	10.56	0.0141	*
	载药量	10.85	1	10.85	41.43	0.0004	**
AB	包埋率	0.070	1	0.070	0.085	0.7790	
	载药量	0.31	1	0.31	1.19	0.3113	
AC	包埋率	0.21	1	0.21	0.26	0.6244	
	载药量	3.51	1	3.51	13.40	0.0081	**
BC	包埋率	8.90	1	8.90	10.86	0.0132	*
	载药量	0.43	1	0.43	1.63	0.2427	
A <sup>2</sup>	包埋率	11.10	1	11.10	13.54	0.0079	**
	载药量	77.38	1	77.38	295.45	<0.0001	**
B <sup>2</sup>	包埋率	33.04	1	33.04	40.32	0.0004	**
	载药量	50.40	1	50.40	192.43	<0.0001	**
C <sup>2</sup>	包埋率	26.53	1	26.53	32.37	0.0007	**
	载药量	101.83	1	101.83	388.79	<0.0001	**
残差	包埋率	5.74	7	0.82			
	载药量	1.83	7	0.26			
失拟项	包埋率	4.56	3	1.52	5.16	0.0734	
	载药量	1.09	3	0.36	1.97	0.2609	
纯误差	包埋率	1.18	4	0.29			
	载药量	0.74	4	0.19			
总变异	包埋率	117.34	16				
	载药量	292.57	16				
包埋率	R <sup>2</sup> =0.9511	R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0.8883					
载药量	R <sup>2</sup> =0.9937	R <sup>2</sup> <sub>Adj</sub> =0.9857					

注:\*.  $P < 0.05$ ; \*\*.  $P < 0.01$ 。

项单因素对包埋率和载药量的影响顺序均为:A>C>B(果胶与芯材质量比>pH值>壳聚糖质量分数)。

图 8 为固定其中 1 个因素为最优水平,进行降维分析,绘制 A、B、C 3 因素两两交互作用对 LFPM 包埋率影响的等高线图和响应面图。由图 8 可知,因素 B、C 的 3D 图较陡且其等高线图呈椭圆状,说明这 2 个因素交互作用较强,与表 3 结果相一致,且对 LFPM 包埋率有显著影响。

图 9 为固定其中 1 个因素为最优水平,绘制 A、B、C 3 因素两两交互作用对 LFPM 载药量影响

的等高线图和响应面图。由图 9 可知,因素 A、C 的 3D 图较陡且其等高线图呈椭圆状,说明这 2 个因素的交互作用较强,结合表 3 结果,即因素 A、C 对微胶囊载药量有极显著影响。

2.3.3 验证试验 采用 Design Expert 8.0.6 软件分析得出各因素最优水平:A:果胶与芯材质量比为 1.06:2,B:壳聚糖质量分数为 0.19%,C:pH 值为 5.93,此时 LFPM 的包埋率为 87.69%,载药量为 38.27%。为了实际操作的便捷,将最佳制备工艺参数调整为:果胶与芯材质量比为 1:2,壳聚糖质量分数为 0.19%,pH 值为 5.9。

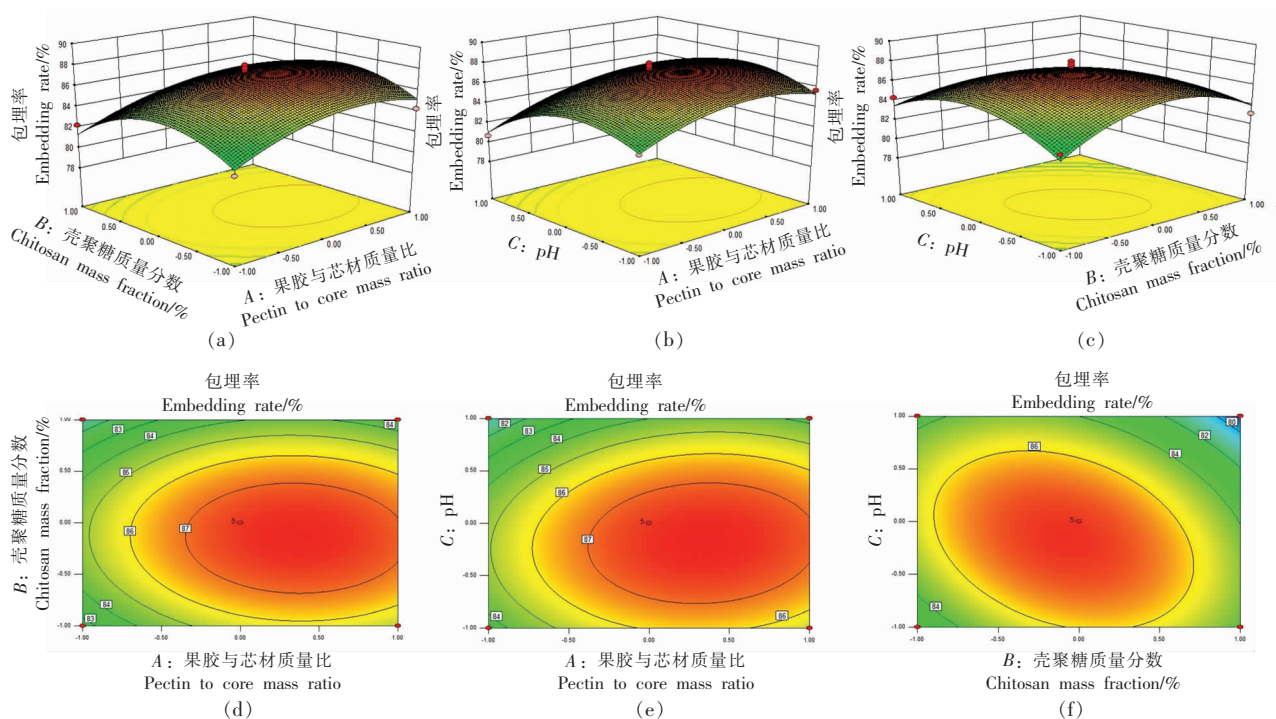


图 8 各因素交互作用对包埋率影响的响应面

Fig.8 Response surface of the impact of the interaction of various factors on the embedding rate

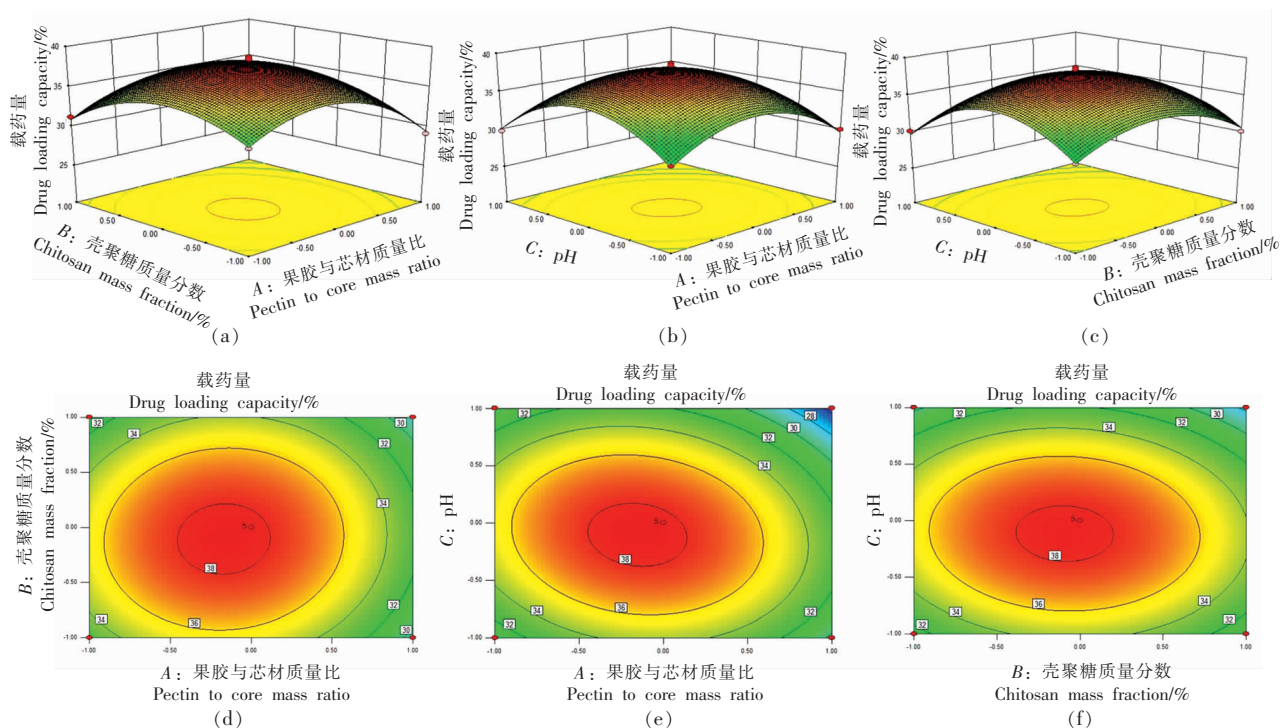


图 9 各因素交互作用对载药量影响的响应面

Fig.9 Response surface of the interaction of various factors on the influence of drug loading

采用此工艺参数进行 3 次平行试验，测得 LFPM 的包埋率为  $(86.98 \pm 0.25)\%$ ，与预测值相对误差仅为 0.71%，载药量为  $(38.24 \pm 0.49)\%$ ，与预

测值相对误差仅为 0.03%。因此，采用 BBD 响应面试验得到制备 LFPM 的最优工艺条件准确可靠，且结果重复性高，具有实际应用价值。

## 2.4 LFPM 的形貌及粒径分析

图 10 为 LFPM 的 SEM 电镜扫描图, LFPM 外观近似球状, 表面较为光滑, 无裂缝、空洞现象, 略存在一些褶皱, 推测可能是由于喷金处理加速微胶囊表面水分流失所导致。对其进行粒径统计, 绘制分布图(图 11)。LFPM 的粒径分布在 2.83~6.54  $\mu\text{m}$  之间, 平均粒径为 4.92  $\mu\text{m}$ , 由此可知, 在最优工艺下制备的 LFPM 的粒径分布均匀, 分散性好。

## 2.5 LFPM 的体外缓释效果评价

图 12 为体外模拟消化对 LFPM 释放率的影响。从图 12 可以看出, LFPM 在人工胃液中的释放较为缓慢, 经 6 h 胃液模拟消化后, LFPM 累计释放率达到 19.59%, 从折线图趋势可见, LFPM 在人工肠液比胃液中释放速率更快, 在经 1 h 肠液模拟消化后, LFPM 累计释放率已达到 69.65%, 而此时在胃液中释放率仅有 8.4%, 6 h 后, LFPM 累计释放率达到 82.53%, 由此可见, LFPM 在模拟肠液中释放迅速, 这可能是由于本试验中的壁材具有 pH 响应特性, 即海藻酸钠与壳聚糖的络合反应易受 pH 影响<sup>[23]</sup>。在 pH 2.0 的人工胃液中, 溶液中  $\text{H}^+$  浓度过高,  $\text{H}^+$  会与微胶囊外层的壳聚糖结合, 进而减弱微胶囊最外层的壳聚糖沉积层, 而海藻酸钠凝胶在酸性环境中结构稳定, 基本不发生溶胀, 从而仅有少部分外层的芯材被释放。在 pH 7.4 的模拟肠液中, 壳聚糖的氨基分子发生质子化, 与海藻酸钠的络合反应减弱, 使得微胶囊的交联密度大大降低, 导致微胶囊的囊壁变薄, 易发生溶胀, 且随着时间的延长, 芯材多酚被释放。

## 2.6 LFPM 的稳定性评价

植物多酚具有多种生物活性, 然而易受外界因素如光照、温度的影响, 稳定性较差, 极易被破坏。图 13 为 LFP、LFPM 在不同环境影响下的多酚保留率结果。由图 13a 可知, 随着时间延长, 在不同的光照条件下, LFP、LFPM 的多酚保留率均逐渐下降, 且在同一光照条件下, LFPM 多酚保留率均高于 LFP, 光照条件下储存至第 7 天, 枇杷花多酚的保留率为 71.75%, 枇杷花多酚微胶囊的保留率为 93.42%, 相较于光照环境, 避光条件下, 两者均有较高的保留率, 分别为 83.53% 和 95.39%。以上结果说明, 避光环境有利于多酚的储藏, 且多酚经过壁材包埋, 光稳定性大大提高, 枇杷花多酚微

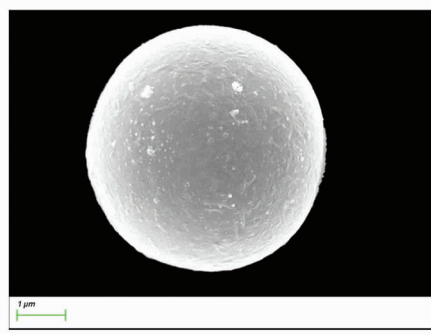


图 10 LFPM 扫描电镜图

Fig.10 Scanning electron microscopy of LFPM

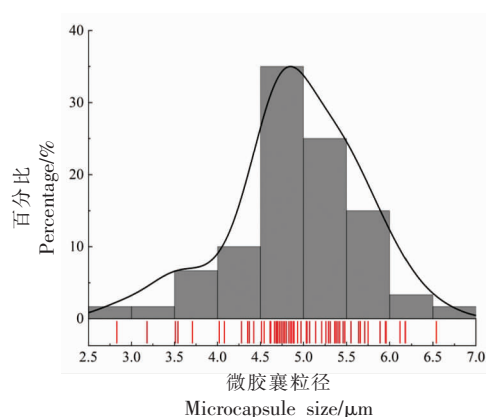


图 11 LFPM 粒径分布图

Fig.11 Particle size distribution of LFPM

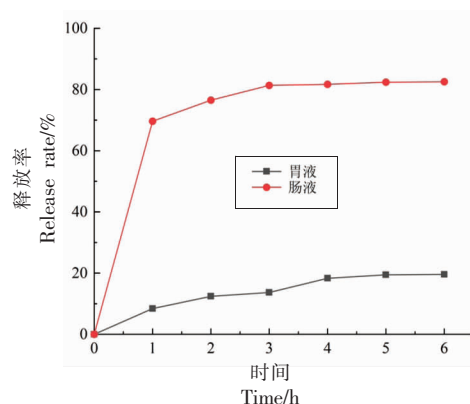


图 12 LFPM 体外模拟释放

Fig.12 Simulated release *in vitro* of LFPM

胶囊能够有效保护多酚活性成分。

图 13b 为 LFP 和 LFPM 在不同温度下多酚保留率的结果。随着温度和时间的延长, LFP、LFPM 的多酚保留率均逐渐下降, 且在同一温度条件下, LFPM 多酚保留率均高于 LFP。在 4  $^{\circ}\text{C}$  时, 7 h 后



LFP 和 LFPM 的保留率分别为 97.44% 和 97.6%，说明枇杷花多酚及微胶囊在低温环境下稳定；在 25 °C 下，7 h 后 LFPM 的保留率较 LFP 提高了 2.48%，在 80 °C 时，LFP 多酚保留率仅为 55.51%，

而 LFPM 的保留率为 75.66%，提高了 20.15%。以上结果说明，低温环境有利于多酚的储藏，且多酚易在高温环境下降解，经微胶囊化处理后提高了枇杷花多酚的热稳定性。

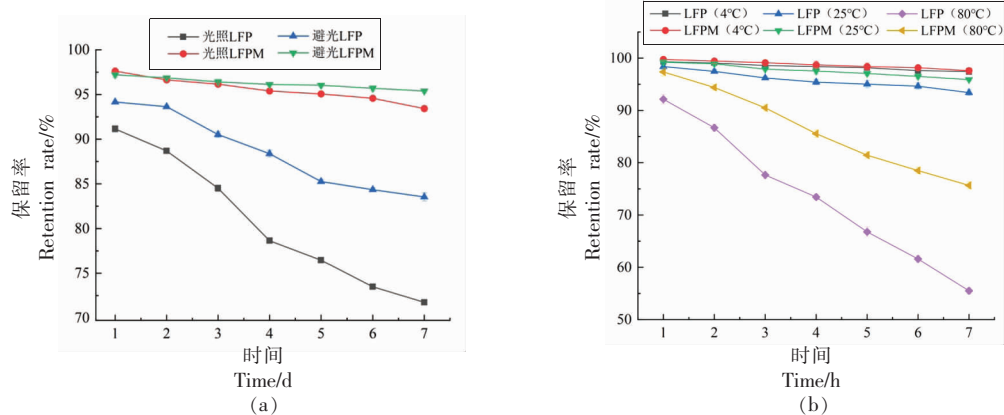


图 13 不同光照 (a)、温度 (b) 条件对 LFPM 稳定性的影响

Fig.13 Effects of different light (a) and temperature (b) conditions on the stability of LFPM

### 3 结论

本试验采用锐孔法，以果胶、海藻酸钠和壳聚糖作为复合壁材，结合单因素和响应面试验得到枇杷花多酚微胶囊最佳制备工艺：果胶与芯材质量比为 1:2，海藻酸钠质量分数为 2.0%，壳聚糖质量分数为 0.19%，氯化钙质量分数为 1.5%，pH 值为 5.9。此条件下制备的微胶囊包埋率为  $(86.98 \pm 0.25)\%$ ，载药量为  $(38.24 \pm 0.49)\%$ ，优于同制备方法、不同壁材复配的苹果多酚<sup>[10]</sup>、茶多酚<sup>[24]</sup>、葡萄多酚<sup>[25]</sup>微胶囊。通过扫描电镜和粒径分析，枇杷花多酚微胶囊近似球状，表面无裂缝、空洞现象，平均粒径为  $(4.92 \pm 0.74) \mu\text{m}$ 。分析微胶囊在模拟胃肠液中释放率的变化，模拟消化 6 h 后，在胃、肠液中累计释放率分别为 19.59% 和 82.53%，这与同制备方法下的蓝莓花青素<sup>[26]</sup>、香堇菜<sup>[27]</sup>、罗汉果<sup>[28]</sup>微胶囊的体外释放变化趋势相似，且 LFPM 具有优于以上微胶囊的控制释放效果，表明本试验制备的微胶囊可较好保护芯材多酚免受胃酸降解，具有肠靶向缓释的特点。此外，稳定性试验结果说明枇杷花多酚经过微胶囊化处理后，温度稳定性和光稳定性均有所提高。综上，本工艺制备的微胶囊提高了枇杷花多酚的缓释作用及稳定性，进而提高枇杷花多酚的利用率，为枇杷花及植物多酚相关产品的开发及应用提供了参考。

### 参 考 文 献

- [1] LIU Y L, ZHANG W N, XU C J, et al. Biological activities of extracts from loquat (*Eriobotrya japonica*): A review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(12): 1983–1998.
- [2] 王翰华, 阮洪生, 陈云. 枇杷花化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(12): 2977–2981.  
WANG H H, RUAN H S, CHEN Y. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Loquat flower[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2019, 41(12): 2977–2981.
- [3] 谢子玉, 薛琛, 文祖会, 等. 枇杷花多酚纳米颗粒的制备工艺及其特性研究[J]. 中国食品学报, 2022, 22(5): 211–218.  
XIE Z Y, XUE C, WEN Z H, et al. Study on the preparation process and characteristics of Loquat polyphenol nanoparticles[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(5): 211–218.
- [4] 闫永芳, 过尘杰, 孙钧, 等. 宁海白枇杷花中酚类物质鉴定及含量测定[J]. 中国食品学报, 2012, 12(4): 202–207.  
YAN Y F, GUO C J, SUN J, et al. Identification and content determination of phenols in Ninghai lo-

- quat[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(4): 202–207.
- [5] HUANG G L, MA J J, SUI S Y, et al. Optimization of extraction of loquat flowers polyphenolics and its antioxidant and anti-polyphenol oxidase properties [J]. Bioengineered, 2020, 11(1): 281–290.
- [6] AHMADIAN Z, NIAZMAND R, POURFARZAD A. Microencapsulation of saffron petal phenolic extract: Their characterization, *in vitro* gastrointestinal digestion, and storage stability[J]. Journal of Food Science, 2019, 84(10): 2745–2757.
- [7] AGUIAR J, ESTEVINHO BN, SANTOS L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application the specific case of coffee antioxidants: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 58(1): 21–39.
- [8] ZHENG L X, DING Z C, ZHANG M L, et al. Microencapsulation of bayberry polyphenols by ethyl cellulose: Preparation and characterization[J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(1): 89–95.
- [9] ALIAKBARIAN B, SAMPAIO C F, FARIA D T J, et al. Optimization of spray drying microencapsulation of olive pomace polyphenols using response surface methodology and artificial neural network [J]. LWT, 2018, 93(8): 220–228.
- [10] 石静文, 马春丽, 梁佳祺, 等. 响应面法优化苹果多酚微胶囊工艺[J]. 食品工业科技, 2019, 40(15): 155–160, 291.
- SHI J W, MA C L, LIANG J Q, et al. Optimization of the processing technology of apple-polyphenol microcapsules by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(15): 155–160, 291.
- [11] 孟翔宇, 赵彦巧, 李钰琨, 等. 玫瑰茄花色苷微胶囊的制备及其稳定性与释放性的评价[J]. 食品工业科技, 2019, 40(14): 174–181.
- MENG X Y, ZHAO Y Q, LI Y K, et al. Preparation of anthocyanin from *Hibiscus sabdariffa* microcapsules and evaluation of stability and release[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(14): 174–181.
- [12] 张汉辉, 程杏安, 李俊杰, 等. 荔枝多酚微胶囊的制备工艺优化及其特性分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(23): 201–208.
- ZHANG H H, CHENG X A, LI J J, et al. Optimization of preparation process of lichi polyphenols microcapsules and its characteristic analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 201–208.
- [13] GONG C, LEE M C, GODEC M, et al. Ultrasonic encapsulation of cinnamon flavor to impart heat stability for baking applications[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 99(17): 105316–105323.
- [14] FAN C, GUO M L, LIANG Y F, et al. Pectin-conjugated silica microcapsules as dual-responsive carriers for increasing the stability and antimicrobial efficacy of kasugamycin[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 172(3): 322–331.
- [15] ZHANG Y L, YIN C P, KONG L C, et al. Extraction optimisation, purification and major antioxidant component of red pigments extracted from *Camellia japonica*[J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 660–664.
- [16] XU P B, WU J C, ZHANG Y, et al. Physicochemical characterization of puerh tea polysaccharides and their antioxidant and  $\alpha$ -glycosidase inhibition[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 6(2): 545–554.
- [17] YANG J, CHEN J Y, PAN D, et al. pH-sensitive interpenetrating network hydrogels based on chitosan derivatives and alginate for oral drug delivery [J]. Carbohydr Polym, 2013, 92(1): 719–725.
- [18] TANZINA H, CAROLE F, AVIK K, et al. Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 168(11): 61–69.
- [19] ZHANG R S, LEI L, SONG Q Q, et al. Calcium ion crosslinking alginate/dexamethasone sodium phosphate hybrid hydrogel for extended drug release[J]. Colloids Surf B Biointerface, 2019, 175(6): 569–575.
- [20] HILL M, TWIGG M, SHERIDAN E A, et al. Alginate/ Chitosan particle-based drug delivery systems for pulmonary applications[J]. Pharmaceutics, 2019, 11(8): 379–390.
- [21] ROMO I, ABUGOCH L, TAPIA C. Soluble complexes between chenopodins and alginate/chitosan: Intermolecular interactions and structural- physicochemical properties[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 227(10): 115334–115345.
- [22] 张亚杰, 徐金帅, 邹波, 等. 柚皮苷/柠檬苦素微胶

- 囊的制备、结构分析及特性研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(18): 209-217.
- ZHANG Y J, XU J S, ZOU B, et al. Preparation, structural analysis and properties of naringin/limonin microcapsules[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(18): 209-217.
- [23] 杨芙莲, 刘文彦. 锐孔法制备黄酮类化合物微胶囊及其释放性的研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(2): 297-300.
- YANG F L, LIU W Y. Microencapsulation of flavonoids compounds by piercing method and their release *in vitro*[J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(2): 297-300.
- [24] 刘天棋. 淀粉-茶多酚组合体的构建及其对餐后血糖反应的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- LIU T Q. Construction of starch-tea polyphenol complex and its effect on postprandial blood glucose response[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018.
- [25] 卢晓霆, 许中畅, 王田田, 等. 玉米多孔淀粉-海藻酸钠-壳聚糖-葡萄多酚缓释微胶囊的制备及表征[J]. 中草药, 2016, 47(13): 2252-2259.
- LIU X T, XU Z C, WANG T T, et al. Preparation and characterization of slow-release microcapsules containing porous corn starch, sodium alginate, chitosan and grape polyphenols[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(13): 2252-2259.
- [26] 郭娜, 朱桂兰, 刘兴运, 等. 蓝莓花青素微胶囊制备及其性质分析[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(23): 109-114.
- GUO N, ZHU G L, LIU X Y, et al. Preparation and characterization of blueberry anthocyanin microcapsules[J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(23): 109-114.
- [27] YOUSEFI M, KHANNIRI E, SHADNOUSH M, et al. Development, characterization and *in vitro* antioxidant activity of chitosan-coated alginate microcapsules entrapping *Viola odorata* Linn. extract[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 163(5): 44-54.
- [28] LIU L, WANG Y, XIE H, et al. Enhancing the antioxidant ability of *Momordica grosvenorii* saponin to resist gastrointestinal stresses via microcapsules of sodium alginate and chitosan and its application in beverage[J]. Beverages, 2022, 8(4): 70-79.

## Studies on the Preparation Process and Characteristics of Loquat Flower Polyphenol Microcapsules

LIU Fenfen<sup>1</sup>, PU Shoucheng<sup>1</sup>, ZHAO Wenliang<sup>1</sup>, XU Lishan<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang

<sup>2</sup>Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biotechnology on Specialty Economic Plants, Jinhua 321004, Zhejiang)

**Abstract** In order to improve the utilization and stability of loquat flower polyphenols, pectin, sodium alginate and chitosan were used as composite wall materials to prepare loquat flower polyphenols microcapsules. The preparation process of loquat polyphenol microcapsules was optimized by single-factor test and response surface analysis, and the apparent properties, *in vitro* slow release effect and stability of the microcapsules were evaluated. The results showed that the loquat polyphenol enriched by macroporous resin had higher polyphenol content and biological activity, and was used as the core material of this experiment. The best preparation process of pectin assisted embedding for microcapsules was as follows: pectin to core material mass ratio 1:2, sodium alginate mass fraction 2.0%, chitosan mass fraction 0.19%, calcium chloride mass fraction 1.5%, pH 5.9. Under these conditions, the embedding rate of microcapsules was (86.98±0.25)%, the drug loading was (38.24±0.49)%, the average particle size was (4.92±0.74) μm, and the shape was nearly spherical. After 6 h of simulated gastroenteric fluid digestion, the cumulative release rate of microcapsules in stomach and intestinal fluid was 19.59% and 82.53%, respectively. In addition, the temperature stability and light stability of loquat flower polyphenols were improved after microencapsulation. The microcapsules prepared by this process can improve the slow-release and stability of loquat flower polyphenols, and improve the utilization rate of loquat flower polyphenols.

**Keywords** loquat flower polyphenol; microcapsules; response surface methodology; slow release; stability