



赵慧芳,吴文龙,李维林,等.蓝莓多酚微胶囊的制备及体外消化特性研究[J].江西农业大学学报,2024,46(4):1001-1011.
ZHAO H F,WU W L,LI W L,et al.Preparation and *in vitro* digestibility of blueberry polyphenols microcapsules[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2024,46(4):1001-1011.

蓝莓多酚微胶囊的制备及体外消化特性研究

赵慧芳¹,吴文龙^{1*},李维林^{2*},俞小花³,刘洪霞¹

(1.江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)江苏省植物资源研究与利用重点实验室,江苏 南京 210014;2.南京林业大学 林学院/南方现代林业协同创新中心,江苏 南京 210037;3.江苏中植生态植物科学研究院有限公司,江苏 南京 211225)

摘要:【目的】旨在研究蓝莓多酚的提取纯化及微胶囊制备工艺,为研发具有缓释功能的蓝莓多酚微胶囊提供科学依据。【方法】以酶解渣汁分离后的蓝莓皮渣为试验材料,通过比较不同提取方法和不同大孔树脂在蓝莓多酚纯化上的作用,确定蓝莓多酚的提取纯化工艺,在此基础上通过均质和冷冻干燥的方法制备蓝莓多酚微胶囊,以包埋效率为主要指标,结合颜色和结构表征明确蓝莓多酚微胶囊的最佳制备工艺,并进一步分析微胶囊的体外胃肠消化特性。【结果】(1)分别比较园蓝、巴尔德温和寨选4号3个品种蓝莓果渣和果汁提取物,发现果渣提取物的总多酚含量均高于果汁提取物,寨选4号最高达2倍以上;(2)通过比较10种大孔树脂对蓝莓多酚吸附和解吸附的性能,优选出HPD-300、HPD-100B和HPD-100 3种树脂,并比较不同乙醇体积分数对蓝莓多酚的解吸附效率,确定选用80%的乙醇溶液对蓝莓多酚进行解吸附;(3)选择HPD-100B大孔树脂进行提取和纯化的扩大试验,获得纯度达71.4%的蓝莓多酚提取物;(4)在此基础上比较麦芽糊精、大豆蛋白和乳清蛋白3种壁材对蓝莓多酚的包埋率,发现大豆蛋白的包埋率最高,并且复配阿拉伯胶能够进一步提高多酚的包埋率;(5)通过色差的比较发现,相比多酚提取物,微胶囊产品的 L^* 降低, a^* 、 b^* 升高,即微胶囊的明度降低,红色增强,蓝色减弱;(6)扫描电镜结果显示与片层结构的多酚提取物相比,微胶囊呈现交联状的圆球形;(7)体外消化试验发现,多酚提取物在胃液和肠液中的释放率均达到99.8%,而多酚微胶囊在胃液和肠液中的释放率分别为65.77%和74.31%。【结论】蓝莓多酚的最优制备工艺为蓝莓皮渣粗提物水液上样HPD-100B、HPD-300或HPD-100大孔树脂,5倍柱体积的水冲洗,80%的乙醇收集蓝莓多酚,且经减压浓缩和冷冻干燥制备得到蓝莓多酚提取物,纯度达71.4%。蓝莓多酚微胶囊的最优制备工艺为阿拉伯胶与大豆蛋白比例为3:7,壁材溶液质量分数10%,芯壁比1:5,芯壁混合液pH 2.0,4 000 r/min均质10 min,冷冻干燥。所制备的蓝莓多酚大豆蛋白+阿拉伯胶微胶囊的包埋率97.6%,颜色为带有红、蓝色调的低明度粉末,结构为交联状的圆球形,具有一定的缓释特性。

关键词:蓝莓;多酚;大孔树脂;微胶囊;扫描电镜;体外消化

中图分类号:TS255.4 文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:1000-2286(2024)04-1001-11



Preparation and *in vitro* digestibility of blueberry polyphenols microcapsules

ZHAO Huifang¹, WU Wenlong^{1*}, LI Weilin^{2*}, YU Xiaohua³, LIU Hongxia¹

收稿日期:2024-01-22 修回日期:2024-04-16

基金项目:江苏省重点研发计划项目(BE2020344)和江苏现代农业产业技术体系建设项目(JATS2023466)

Project supported by the Jiangsu Provincial Science and Technology Plan Modern Agriculture Key Project (BE2020344) and Jiangsu Agricultural Industry Technology System (JATS2023466)

作者简介:赵慧芳,助理研究员,硕士,orcid.org/0009-0004-3182-718X,nuzhenzi_1984@163.com;*通信作者:吴文龙,研究员,主要从事黑莓及蓝莓的引种、育种、栽培、推广与加工利用研究,orcid.org/0000-0002-7630-6255,1964wwl@163.com;李维林,教授,博士生导师,主要从事经济林果育种栽培等研究,orcid.org/0000-0002-7216-2776,wlli@njfu.edu.cn.

©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取CC BY-NC-ND协议

(1.Jiangsu Provincial Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Jiangsu Provincial Key Laboratory for Research and Utilization of Plant Resources, Nanjing 210014, China; 2.College of Forestry, Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 3.Jiangsu Zhongzhi Institute of Ecological Plant Science Co., Ltd.Nanjing 211225, China)

Abstract: [Objective] This study aims to study the extraction and purification of blueberry polyphenols and the preparation process of microcapsules, so as to provide scientific basis for the development of blueberry polyphenol microcapsules with sustained release function. [Method] The blueberry pomace separated from enzymolysis residue juice was used as the experimental material. The extraction and purification process of blueberry polyphenols was determined by comparing the effects of different extraction methods and different macroporous resins on the purification of blueberry polyphenols. On this basis, the blueberry polyphenols microcapsules were prepared by homogenization and freeze-drying. The embedding efficiency was taken as the main index, and the optimal preparation process of blueberry polyphenols microcapsules was determined by combining color and structure characterization, the *in vitro* gastrointestinal digestion characteristics of microcapsules were further analyzed. [Result] (1) By comparing the fruit pomace and juice extracts of three blueberry cultivars, Gardenblue, Baldwin and Zhaixuan 4, the results showed that the total polyphenol contents of the fruit pomace extracts were higher than that of the juice extracts, with the highest being more than twice (Zhai Xuan 4). (2) The three macroporous resins HPD-300, HPD-100B and HPD-100 were selected by comparing adsorption and desorption capacities of 10 macroporous resins. (3) HPD-100B macroporous resin was selected to enlarge the extraction and purification experiment, and the blueberry polyphenol extract with purity of 71.4% was obtained. (4) On this basis, the embedment rate of blueberry polyphenols in the three wall materials of maltodextrin, soy protein and whey protein was investigated. It was found that the embedment rate of polyphenols in the soybean protein was the highest, and the compound of arabic gum could further improve the embedment rate of polyphenols. (5) Through the comparison of color differences, it was found that compared with the polyphenol extracts, the L^* of microcapsule products decreased, while a^* and b^* increased, indicating a decrease in the brightness and blue color of microcapsules, and an increase in red color. (6) The results of scanning electron microscopy showed that compared with the polyphenol extract with lamellar structure, the microcapsules presented cross-linked spherical shape. *In vitro* digestion experiments showed that the release rate of polyphenol extract in gastric fluid and intestinal fluid was as high as 99.8%, while the release rate of polyphenol microcapsules in gastric fluid and intestinal fluid were 65.77% and 74.31% respectively. [Conclusion] The optimal preparation process of blueberry polyphenols is HPD-100B, HPD-300 or HPD-100 macroporous resin loaded with aqueous solution of the crude extract of blueberry residue, washed with 5 times bed volume of water to remove impurities such as sugars and acids, and then collected with 80% ethanol and concentrated under reduced pressure and freeze-drying to obtain blueberry polyphenols extract with the purity of 71.4%. The optimal preparation process of blueberry polyphenol microcapsules was using soybean protein and arabic gum as the optimal wall material whose solution concentration was 10%, and the soybean protein and arabic gum ratio was 3:7. The core-wall ratio was 1:5 and the pH of the core-wall mixture was 2.0. After homogenizing at 4 000 r/min for 10min and freeze-drying, the embedding rate of the prepared microcapsule attained 97.6%. The color of the microcapsule was low brightness with red and blue tones, the structure is crosslinked spherical, and the microcapsule has certain slow-release characteristic.

Keywords: blueberry, polyphenol, macroporous resin, microcapsule, SEM, *in vitro* simulated digestion

【研究意义】植物多酚作为一类重要的植物功能成分,具有广泛的生理活性,如抗氧化、抗菌消炎、抗肿瘤、抗脂质过氧化,改善肠道菌群等^[1-4]。多酚类成分从植物生长的早期阶段开始形成^[5],而且存在于植物的根、茎、叶、果实等多个部位,参与植物生长发育的多种生理活动^[6]。研究植物多酚对植物资源的利

用和人类的健康具有重要意义。【前人研究进展】来源于植物不同部位的多酚成分中,植物果实多酚是最容易被人体利用的一类成分。研究^[7-12]采用10~20倍60%~70%(m/V)的乙醇溶液对多种植物果实多酚进行提取、并通过AB-8大孔树脂纯化及鉴定,发现葡萄多酚可以调节小鼠脂质代谢紊乱和增加肠道菌群丰度^[12],蓝靛果多酚^[13]具有较强的保肝、保肾作用。蓝莓(*Vaccinium* spp.)是一种富含多酚类成分的果实,它色彩艳丽、风味独特,享有“浆果之王”的美誉,深受消费者的喜爱。多酚是蓝莓中生理活性最强的一类成分^[14],其作用包括保护视力、降血糖及调节肠道菌群活性等^[15]。因此无论是在蓝莓鲜果还是果汁、果酒等蓝莓加工产品中,多酚都是研究者们关注的焦点^[16-18]。但是由于多酚容易受光、热、氧化等因素影响,稳定性不高,研究者还将微胶囊包埋技术应用到蓝莓多酚产品的制备中,采用喷雾干燥的方法制备麦芽糊精、环糊精包埋的蓝莓多酚微胶囊^[19]。目前,将植物果实多酚通过提取纯化和微胶囊包埋的技术制备出多酚微胶囊产品,是一种非常严谨的植物多酚研究应用的路线,但推广到生产中时,会出现用果实做原料成本较高,乙醇溶剂的用量带来的溶剂成本和回收溶剂的高能耗,加工过程中多酚成分的稳定性欠佳,微胶囊产品种类偏少无法满足市场需求等种种问题。

【本研究切入点】本团队前期通过对蓝莓果实和果皮多酚含量的比较发现,多酚类成分主要存在于蓝莓的果皮中;进一步研究发现在蓝莓果汁和果酒的加工过程中产生的废弃皮渣,其中含有与果实含量相当的多酚类成分,这种皮渣具有成本低廉、含水量低、糖酸含量低等优点,是一种优质的提取蓝莓多酚的理想原料。微胶囊制备中喷雾干燥技术是最为成熟的一种技术^[19],但是喷雾干燥过程中的高温环境会对蓝莓多酚产生负面影响。冷冻干燥技术是一种能够最大程度保留色泽、生物活性成分以及营养健康功效的干燥技术^[20]。此外,多酚类成分除了稳定性不高的特点之外,在人体内的生物利用度也较低,而蛋白与多酚复合物是一种非常有潜力的食品形式^[21-22],与蛋白的结合能够提高多酚的稳定性和生物利用度^[23],而在蓝莓多酚微胶囊的制备中利用蛋白进行包埋较为鲜见。目前,以大豆蛋白为包埋壁材,利用冷冻干燥技术制备的蓝莓多酚微胶囊,亟需研究探明大豆蛋白对蓝莓多酚的包埋率的高低以及微胶囊产品的结构特征及消化特性。【拟解决的关键问题】研究在比较园蓝、巴尔德温和寨选4号蓝莓果汁提取物和皮渣提取物多酚含量的基础上,以蓝莓皮渣为原料提取纯化得到蓝莓多酚。并且选用对多酚影响最小的冷冻干燥技术,制备了一种用大豆蛋白包埋的蓝莓多酚微胶囊,并对其体外消化特性进行考察,为蓝莓多酚产品的开发及微胶囊的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蓝莓单粒速冻果品种为园蓝、巴尔德温和寨选4号,供试蓝莓品种均种植于江苏省中国科学院植物研究所蓝莓资源圃(31°36'N, 119°11'E),2023年6—8月果实成熟期采收成熟度较好的果实,速冻后于-18℃保存。

1.2 试验方法

1.2.1 蓝莓多酚的提取

取3个品种蓝莓单粒速冻果各2 kg,将果实自然解冻后用料理机(HR2166,飞利浦中国投资有限公司)破碎,采用酶解渣汁的方法分离3个蓝莓品种果实的果汁和皮渣,将果汁吸附在HPD-100B大孔树脂上,用5倍柱体积的水冲洗去杂,然后用适量80%的乙醇解吸附后在旋转蒸发仪(N-1200,日本东京理化器械公司)上45℃减压浓缩,预冻12 h后在温度-40℃,压力15~20 Pa条件下冻干5 h得到果汁提取物;将皮渣用5倍水(m/v)提取2次,提取温度40℃,提取时间40 min,超声功率180 W,5 000 r/min离心5 min收集上清液;水提后再用80%的乙醇超声提取3次,首次料液比1:3,第2、3次料液比1:2,条件同上。提取液在45℃条件下减压浓缩除去乙醇,与水提液合并用HPD-100B大孔树脂纯化,冷冻干燥得到蓝莓皮渣提取物。

称取冻干后的汁提物和渣提物样品各20~30 mg,加入1 mL DMSO完全溶解,样品当天配置以防止降解。采用Folin-Ciocalteu法测定样品总多酚含量(mg/g)^[24]。

1.2.2 蓝莓多酚纯化工艺的优化

树脂的预处理。将LS-305、LS-305A和LS-308(西安蓝深特种树脂有限公司),HPD-100B(沧州宝

恩吸附树脂公司),HPD-300、HPD-400、HPD-600、HPD-750、HPD-100、AB-8(索莱宝生物科技有限公司)共10种大孔树脂分别置于95%乙醇中溶液浸泡24 h,除去杂质。再用蒸馏水冲洗至无乙醇残留,并滤除多余水分。

树脂的筛选。分别称取处理后的树脂2.5 g于锥形瓶中,加入粗提液40 mL,25℃、150 r/min振荡5 h,充分吸附后过滤,测定提取液的总多酚含量。根据原液的多酚含量和吸附饱和后溶液的多酚含量计算10种树脂对蓝莓多酚的吸附量和吸附率。

将吸附饱和后的树脂过滤,分3次用100 mL蒸馏水洗净,加入40 mL 80%乙醇溶液,置振荡器上于25℃、150 r/min振荡3 h,充分解吸附后过滤,测定溶液总多酚含量。计算10种树脂上蓝莓多酚的解吸附量和解吸附率。

$$\text{吸附率}=(C_1-C_2)/C_1\times 100\% \quad (1)$$

$$\text{解吸附率}=C_3/(C_1-C_2)\times 100\% \quad (2)$$

$$\text{吸附量}(\text{mg/g})=(C_1\times V_1-C_2\times V_2)/M_0 \quad (3)$$

$$\text{解吸附量}(\text{mg/g})=(C_3\times V_3)/M_0 \quad (4)$$

式中: C_1 -吸附前液体总多酚含量,mg/mL; V_1 -吸附前液体体积,mL; C_2 -吸附后液体总多酚含量,mg/mL; V_2 -吸附后液体体积,mL; C_3 -解吸附后液体总多酚含量,mg/mL; V_3 -解吸附后液体体积,mL; M_0 -树脂的质量,g。

不同体积分数乙醇溶液对解吸附效果的影响。称取筛选出的最优树脂15 g,加入200 mL粗提液,吸附饱和后,用5倍体积水冲洗,再次滤除水分后,称取树脂各2.5 g,分别加入40 mL不同体积分数的乙醇溶液,解吸附后测定总多酚的含量,计算不同体积分数乙醇溶液对大孔树脂上蓝莓多酚解吸附率的影响。

扩大试验及多酚纯度的测定。取园蓝冻果3 kg,先用果胶酶酶解离心的方法榨取蓝莓原汁得到新鲜皮渣,然后按照1.2.1的方法得到多酚粗提物,再用优化的大孔树脂纯化方案纯化蓝莓多酚,最后经冷冻干燥机(FD-1B-50,北京博医康试验仪器有限公司)干燥后研磨过60目筛得到蓝莓多酚提取物,并对提取物多酚纯度进行测定,验证纯化工艺的可行性。

1.2.3 微胶囊制备工艺的优化

不同壁材的选择。选择麦芽糊精、乳清蛋白和大豆分离蛋白(上海麦克林生化科技有限公司)作为蓝莓多酚微胶囊的壁材。将3种壁材各取5 g,分别用50 mL蒸馏水溶解,溶液质量分数10%,将壁材溶液在4℃条件下水合24 h,然后将1 g多酚提取物加入到溶液中, $m(\text{提取物}):m(\text{壁材})=1:5$ 。用盐酸将溶液的pH调整到2.0,持续搅拌直至提取物溶解。将溶解后的样品用数显高速分散均质机(FJ300-SH,上海标本模型厂)在4 000 r/min条件下均质10 min,然后速冻,最后冷冻干燥后研磨过60目筛得到多酚微胶囊。考察不同壁材对蓝莓多酚包埋效率的影响。

多酚微胶囊包埋率的测定。表面多酚含量:取0.05 g微胶囊样品,加入5 mL无水乙醇摇匀后3 000 r/min离心3 min取上清液,Folin-Ciocalteu法测定表面多酚含量;总多酚含量:取0.05 g微胶囊样品,加入5 mL 50%乙醇溶液溶解,Folin-Ciocalteu法测定总多酚含量。

$$\text{包埋率}=(\text{总多酚含量}-\text{表面多酚含量})/\text{总多酚含量}\times 100\% \quad (5)$$

阿拉伯胶对包埋效果的影响。在壁材选择试验的基础上,选择两种壁材与阿拉伯胶(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)进行复配,阿拉伯胶占壁材的百分比为30%,其余方法同上,制备多酚微胶囊,考察阿拉伯胶复配对包埋效率的影响。

多酚提取物和微胶囊的颜色和结构表征。使用便携式色度计测量蓝莓多酚提取物和微胶囊的颜色,并用 L^* 、 a^* 、 b^* 进行颜色表征^[25]。采用扫描电镜对多酚提取物和微胶囊的结构进行观测,用镊子将微量蓝莓多酚微胶囊撒于贴有双面胶的样品台,吹去未粘住的粉末,并进行喷金处理。扫描电压为15 kV。

多酚微胶囊释放率的测定。取100 mg多酚微胶囊产品,用5 mL无水乙醇冲洗出去表面的多酚,3 000 r/min离心3 min弃去上清液。沉淀中加入15 mL模拟胃液(pH 2.0的HCl溶液,胃蛋白酶浓度3.2 mg/mL)或模拟肠液(0.1 mol/L NaHCO₃溶液,含4.22 mg/mL猪胆盐和0.667 mg/mL胰蛋白酶),置于锥形瓶中,以多酚提取物为对照,在恒温培养摇床(THZ-300C,上海一恒科学仪器有限公司)上37℃、100 r/min振荡2 h,3 000 r/min离心3 min取上清,测定释放于胃液或肠液中多酚的含量,计算多酚微胶囊和多酚提取物在模拟胃液和模拟肠液中的释放率。

$$\text{释放率}=\text{释放于液体中的多酚含量}/\text{总多酚含量}\times 100\% \quad (6)$$

1.2.4 多酚微胶囊的体外消化试验

体外模拟胃消化试验^[26]。取 200 mg 多酚微胶囊样品,加入 25 mL 37 ℃胃液,以同等条件下加入 25 mL 37 ℃胃酸(pH 2.0 HCl 溶液)的样品为空白,在水浴摇床上 37 ℃、100 r/min 震荡 2 h,分别在 0、0.5、1.0、1.5、2.0 h 取样 0.5 mL,3 000 r/min 离心 3 min 取上清液测定总多酚含量,计算微胶囊产品在胃液中多酚释放率的变化。

体外模拟肠消化试验^[26]。胃消化结束后,用 1 mol/L 的 NaHCO₃ 溶液调 pH 至 7.0,处理组加入 4 mL 的模拟肠储备液(0.1 mol/L NaHCO₃ 溶液,含 31.67 mg/mL 猪胆盐和 5 mg/mL 胰蛋白酶),空白组加入 4 mL 0.1 mol/L NaHCO₃ 溶液。所有溶液加入前均提前于 37℃恒温,样品配置好后分别在水浴摇床上 37 ℃、100 r/min 震荡 2 h,并分别在 0.5、1.0、1.5、2.0 h 取样 0.5 mL,3 000 r/min 离心 3 min 取上清液测定总多酚含量,计算微胶囊产品在肠液中多酚释放率的变化。

1.3 数据处理

采用 SPSS 27 软件的 one-way NOVA 法进行数据的显著性差异分析,显著水平为 0.05,试验重复 3 次,采用 EXCEL 2019 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 提取方法对蓝莓多酚含量的影响

通过对 3 个品种蓝莓果实汁提物和渣提物总多酚含量的比较发现,3 个品种渣提物的总多酚含量均高于汁提物,两者差异最高的为寨选 4 号品种,达 101.7%,差异最小的为巴尔德温品种(0.2%)。整体来看,渣提物总多酚含量在品种间存在一定差异,园蓝最高达 450.0 mg/g,寨选 4 号略低于园蓝为 434.5 mg/g,巴尔德温较低仅为 387.1 mg/g。因此,选择园蓝渣提物进行后续试验。

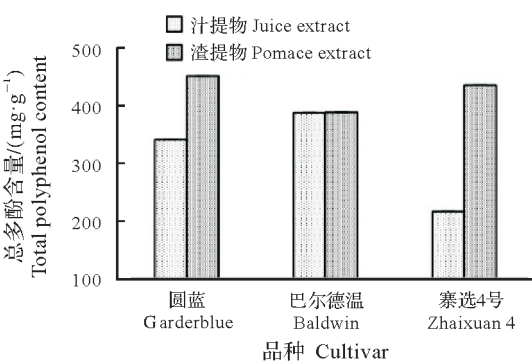


图 1 提取方法对多酚含量的影响
Fig.1 Effect of extraction methods on total polyphenol content of blueberry polyphenols

2.2 多酚纯化工艺的优化

2.2.1 不同树脂对蓝莓多酚的吸附和解吸附效果

5 种树脂对蓝莓多酚的吸附率和吸附量由高到低分别为 HPD-300、HPD-100、HPD-100B、LS-305、AB-8,吸附率均超过 63.1%,吸附量均大于 19 mg/g;5 种树脂对蓝莓多酚的解吸附率 5 种树脂为 HPD-300、HPD-100、HPD-100B、HPD-400、AB-8,解吸附率均达到 63.7% 以上(表 1)。综合比较 10 种树脂对蓝莓多酚的吸附率和解吸附率,选择 HPD-300、HPD-100 和 HPD-100B 作为蓝莓多酚纯化的最优树脂。

表 1 不同树脂对蓝莓多酚的吸附和解吸附效果比较

Tab.1 Comparison of adsorption and desorption effects of different resins on blueberry polyphenols				
树脂型号 Resin type	吸附量/(mg·g ⁻¹) Adsorption capacity	吸附率/% Adsorption rate	解吸附量/(mg·g ⁻¹) Desorption capacity	解吸附率/% Desorption rate
LS-305	19.7±1.19	65.6±3.94	12.9±0.63	63.5±3.18
LS-305A	16.4±1.74	54.4±5.78	10.7±1.07	63.4±6.53
LS-308	17.9±0.99	59.6±3.29	11.9±0.36	64.0±2.01
HPD-100B	20.9±0.69	69.5±2.28	13.5±0.25	61.7±1.22
HPD-300	22.2±1.03	73.7±3.44	14.6±0.47	63.7±2.14
HPD-400	18.7±0.19	62.0±0.62	13.6±0.05	71.2±0.26
HPD-600	17.8±0.39	59.2±1.30	13.2±0.11	71.6±0.59
HPD-750	17.3±0.02	57.5±0.06	12.9±0.15	72.5±0.87
HPD-100	21.3±1.14	70.7±3.79	14.4±0.33	65.6±1.56
AB-8	19.0±0.89	63.1±2.96	13.6±0.20	68.8±1.04

2.2.2 不同乙醇体积分数对蓝莓多酚解吸附效果的影响

选择HPD-300和HPD-100B两种树脂,以蓝莓多酚的解吸附率为指标,进行解吸附乙醇体积分数的考察。结果(图2)发现,随着乙醇体积分数的上升,两种树脂的多酚解吸附率也逐渐上升,当乙醇体积分数达80%时,HPD-300树脂上蓝莓多酚的解吸附率最高达67.0%,HPD-100B树脂上蓝莓多酚的解吸附率最高达64.9%。因此在用大孔树脂纯化蓝莓多酚时,可以选择80%的乙醇溶液作为解吸附剂。

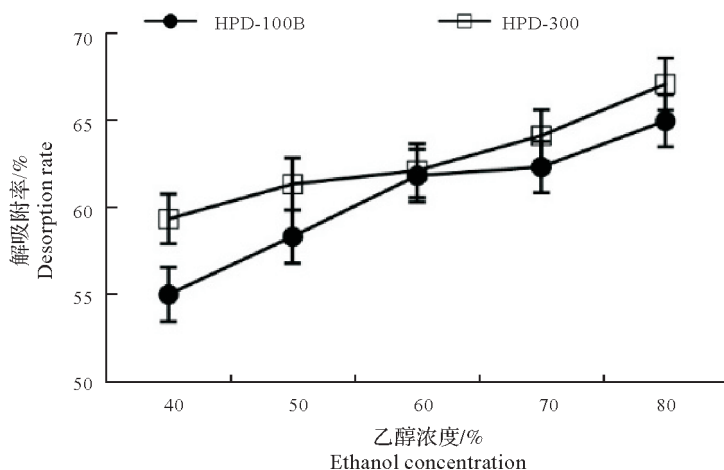


图2 不同乙醇体积分数对蓝莓多酚解吸附率的影响

Fig.2 Effects of different ethanol concentration on desorption rate of blueberry polyphenols

2.2.3 扩大试验和多酚纯度的考察

扩大试验选择HPD-100B树脂对园蓝多酚皮渣提取物进行纯化,考察所得蓝莓多酚提取物的纯度,结果发现,蓝莓多酚提取物的纯度达71.4%。

2.3 微胶囊制备工艺的优化

壁材的选择。选择了麦芽糊精、大豆蛋白、乳清蛋白3种壁材制备蓝莓多酚微胶囊,芯壁比1:5。考察不同壁材对蓝莓多酚的包埋率的影响,结果见图3。3种壁材中大豆蛋白对蓝莓多酚的包埋率最高,达95.4%,麦芽糊精和乳清蛋白对蓝莓多酚的包埋率略低,分别为94.3%和93.2%。因此选择大豆蛋白和麦芽糊精两种壁材进行进一步的试验。

阿拉伯胶对包埋效果的影响。选择麦芽糊精和大豆蛋白作为主壁材,在不改变芯壁比的条件下分别用30%的阿拉伯胶替代主壁材,考察复配阿拉伯胶对蓝莓多酚微胶囊包埋率的影响,结果见图4。由图4可知,复配阿拉伯胶后提高了蓝莓多酚的包埋率,但均无显著差异。因此蓝莓多酚微胶囊可以用麦芽糊精或大豆蛋白作为壁材,芯壁比1:5,可以选择复配30%的阿拉伯胶,以达到更好的包埋效果。

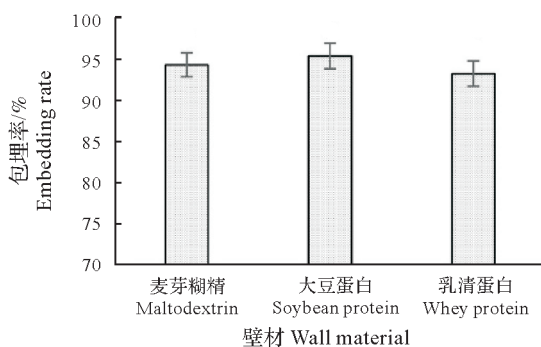


图3 不同壁材对蓝莓多酚微胶囊的包埋率的影响

Fig.3 Effects of different wall materials on the embedding rate of blueberry polyphenol microcapsules

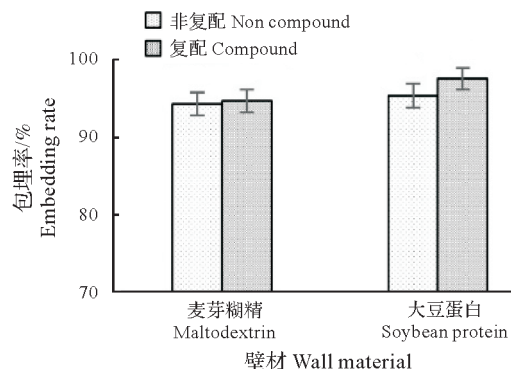


图4 阿拉伯胶复配对蓝莓多酚包埋率的影响

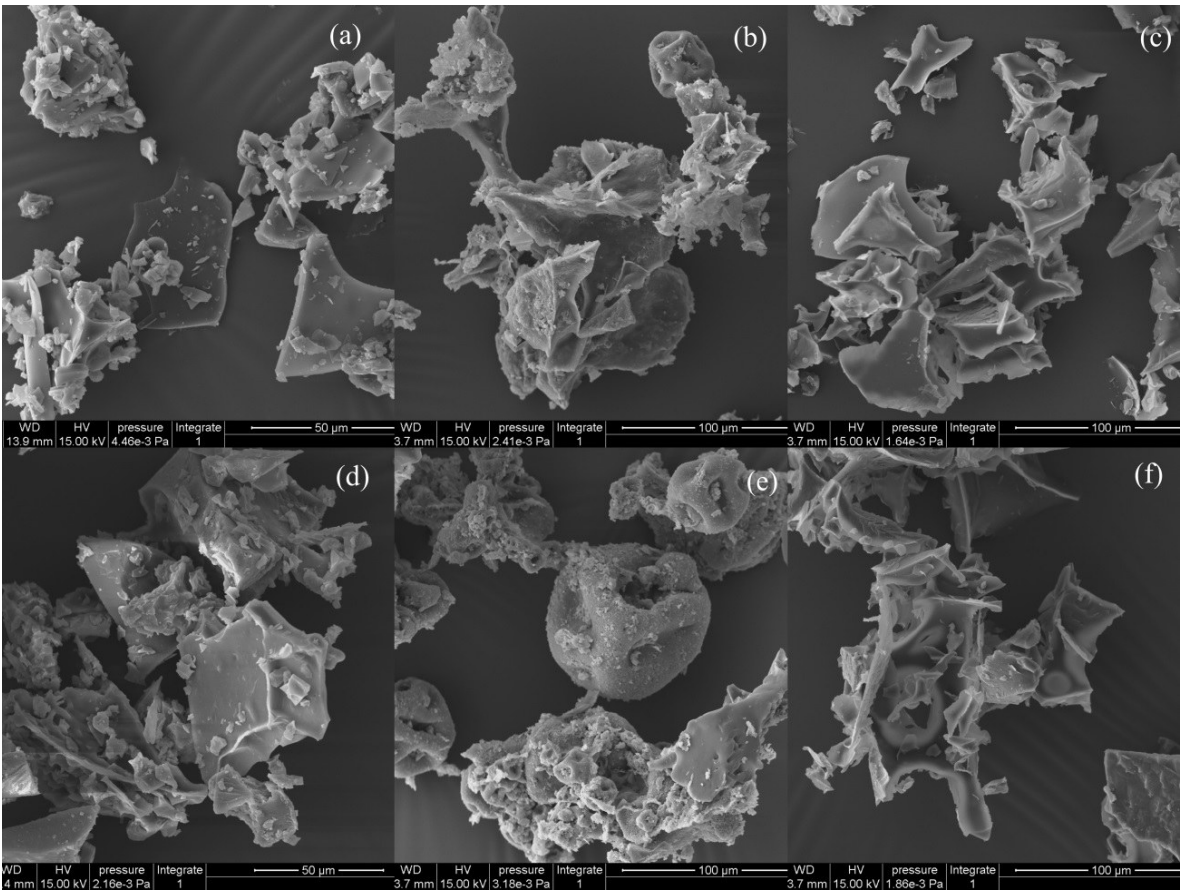
Fig.4 Effect of acacia compound on embedding effect of blueberry polyphenols

多酚提取物和微胶囊产品的表征。通过对蓝莓多酚提取物和微胶囊色差的比较发现(表 2),蓝莓多酚提取物的 L^* 、 a^* 、 b^* 值分别为 16.10、5.68 和 -4.61,颜色属于低明度、略红、偏蓝。当制备成微胶囊之后, L^* 明度降低, a^* 、 b^* 均升高,颜色偏红,蓝色降低,其中麦芽糊精微胶囊的 a^* 和 b^* 最高,大豆蛋白微胶囊的 L^* 最低。复配阿拉伯胶之后,两种微胶囊的 a^* 和 b^* 值均有所下降,这可能与壁材本身的色泽以及微胶囊结构的变化有一定关系。

表 2 不同蓝莓多酚微胶囊色差的区别
Tab.2 Differences in color differences of different blueberry polyphenol microcapsules

壁材 Wall material	未包埋提取物 Unembedded extract	微胶囊 Microcapsules				
		大豆蛋白 Soybean protein	麦芽糊精 Maltodextrin	乳清蛋白 Whey protein	大豆蛋白+阿拉伯胶 Soy protein and arabic gum	麦芽糊精+阿拉伯胶 Maltodextrin and Arabic gum
L^*	16.10±1.71 ^a	7.51±0.34 ^c	9.93±0.69 ^b	9.84±0.18 ^b	6.91±0.01 ^d	9.88±0.43 ^b
a^*	5.68±0.71 ^f	11.66±0.39 ^d	15.01±0.81 ^a	13.02±0.15 ^c	9.50±0.09 ^e	14.06±0.08 ^b
b^*	-4.61±0.31 ^e	-2.11±0.01 ^d	0.11±0.17 ^a	-0.48±0.00 ^b	-4.84±0.17 ^e	-0.56±0.02 ^c

同行中不同小写字母表示同一指标在不同样品间差异显著性 ($P<0.05$)。
Different lowercases in the same row indicate the significant ($P<0.05$) differences between different sample of the same index.



(a)多酚提取物;(b)蓝莓多酚大豆蛋白微胶囊;(c)蓝莓多酚麦芽糊精微胶囊;(d)蓝莓多酚乳清蛋白微胶囊;(e)蓝莓多酚大豆蛋白+阿拉伯胶微胶囊;(f)蓝莓多酚麦芽糊精+阿拉伯胶微胶囊。
(a)Polyphenol extract;(b)Blueberry polyphenol soy protein microcapsules;(c)Blueberry polyphenol maltodextrin microcapsules;(d)Blueberry polyphenol whey protein microcapsules;(e)Blueberry polyphenol soy protein + gum Arabic microcapsules;(f)Blueberry polyphenol maltodextrin + gum Arabic microcapsule.

图 5 蓝莓提取物及多酚微胶囊的 SEM 形态
Fig.5 SEM images of blueberry extract and polyphenol microcapsules

从图 5 提取物和微胶囊的扫描电镜(SEM)图像(a)、(b)、(c)、(d)上也可以看出,蓝莓多酚提取物(a)为较明显的片层结构;大豆蛋白微胶囊(b)为具有大豆蛋白的球形结构,较为疏松;麦芽糊精微胶囊(c)为疏松的多维立体结构;乳清蛋白微胶囊(d)为疏松的片状结构。提取物和多酚微胶囊的结构都与最后的干燥和研磨方式有关。本研究采用的是冷冻干燥、研钵研磨过 60 目筛的方式。在冻干的过程中,如果样品前期预冻不充分,会导致在真空度下降时体积膨大,也会形成样品的疏松结构。

图 5 复配阿拉伯胶的两个微胶囊样品(e)、(f)与复配前的(b)、(c)的对比发现,阿拉伯胶会增加样品的交联性,使样品的结构更加紧密。因此选择麦芽糊精+阿拉伯胶微胶囊和大豆蛋白+阿拉伯胶微胶囊两个样品进行进一步试验。

多酚微胶囊释放率的考察。以未包埋的多酚提取物为对照,对制备得到的产品在模拟胃液和肠液中的释放率进行比较,结果见表 3。蓝莓多酚提取物的在胃液和肠液中的释放率均接近 100%,以麦芽糊精和阿拉伯胶为壁材的多酚微胶囊在胃液和肠液中的释放率也均达到 99.5% 以上。而以大豆蛋白和阿拉伯胶为壁材的多酚微胶囊在胃液中的释放率在 70.4%,在肠液中的释放率为 67.4%。因此,蓝莓多酚大豆蛋白阿拉伯胶微胶囊在胃液和肠液中均有一定的缓释特性。

表 3 蓝莓多酚微胶囊在模拟胃液和肠液中释放率的差异

Tab.3 The release rates of blueberry polyphenol microcapsules in simulated gastric and intestinal fluids

种类 Type	多酚释放率/% Polyphenol release rate	
	胃液 Gastric fluid	肠液 Intestinal fluid
蓝莓多酚提取物 Blueberry polyphenol extract	99.8±1.35 ^a	99.8±1.38 ^a
蓝莓多酚麦芽糊精+阿拉伯胶微胶囊 Blueberry polyphenol maltodextrin + gum Arabic microcapsule	99.6±1.45 ^a	99.6±1.52 ^a
蓝莓多酚大豆蛋白+阿拉伯胶微胶囊 Blueberry polyphenol soy protein + gum Arabic microcapsules	70.4±1.55 ^b	67.4±1.43 ^b

同列中不同小写字母表示同一指标在不同样品间差异显著性($P<0.05$)。
Different lowercases in the same column indicate the significant($P<0.05$)differences between different sample of the same index.

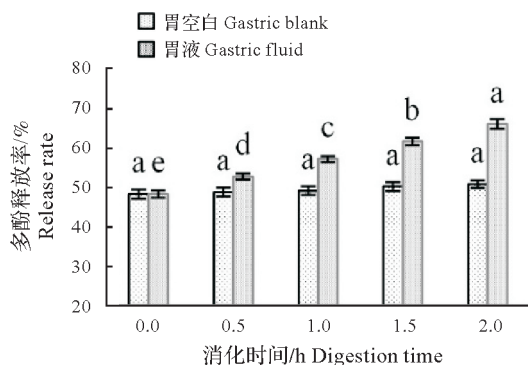
2.4 蓝莓多酚微胶囊的体外消化试验

2.4.1 多酚微胶囊的体外模拟胃消化试验

进一步以胃酸溶液为空白,测定蓝莓多酚大豆蛋白微胶囊在体外模拟胃消化阶段多酚释放率的变化,结果见图 6。结果表明,在 200 mg 微胶囊样品中加入 25 mL 胃酸或者胃液后,立即取样,在酸性条件的作用下,蓝莓多酚的释放率为 48.1%,胃空白对照组在 0~2 h 均无显著性变化,说明酸性环境只在最初促进了多酚的释放。模拟胃消化组中蓝莓多酚的释放率在 0~2 h 内持续升高,且释放率升高的速率在 2 h 内较为恒定,说明胃蛋白酶的加入对多酚的释放起到持续稳定的促进作用。2 h 之后,胃空白组蓝莓多酚的释放率为 50.5%,模拟胃消化组蓝莓多酚的释放率达到 65.8%,显著高于胃空白组,推测可能是由于胃蛋白酶能够分解大分子蛋白,从而使微胶囊中被大豆蛋白包围的蓝莓多酚逐渐被释放出来。

2.4.2 多酚微胶囊的体外模拟肠消化试验

以胃消化 2 h 的样品作为肠消化的起点。肠空白组在 0.5 h 内多酚的释放率有显著升高,而 0.5~2 h 无显著差异(图 7);模拟肠消化组的多酚释放率在 0.5 h 内显著升高,从 0 h 的 65.8% 升高至 0.5 h 的 67.7%,0.5~1.5 h 升高的速率变缓,在 1.5~2 h 又呈现显著升高。整个消化过程中,模拟肠消化组的多酚释放率均高于肠空白组。消化结束后,肠空白组蓝莓多酚的释放率为 52.3%,肠消化组蓝莓多酚的释放率为 74.3%。可见肠液中的胰蛋白酶和胆汁对多酚的释放起到了较强的促进作用。

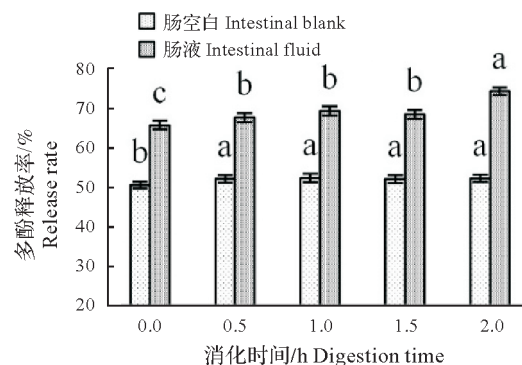


数据柱形标注不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

Value columns with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), while with the same small letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$).

图6 体外模拟胃消化对多酚大豆蛋白微胶囊多酚释放率的影响

Fig.6 Effect of simulated gastric digestion *in vitro* on the release rates of polyphenol soy protein microcapsules



数据柱形标注不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 相同小写字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

Value columns with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), while with the same small letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$).

图7 体外模拟肠消化对多酚大豆蛋白微胶囊总酚含量的影响

Fig.7 Effect of simulated intestinal digestion *in vitro* on the release rates of polyphenol soy protein microcapsules

3 讨论与结论

目前鲜果市场是我国蓝莓最主要的消费市场^[27],而多酚主要存在蓝莓果皮的部位,鲜食过程中由于人咀嚼能力的限制导致蓝莓果皮的多酚不能被人体很好地吸收。此外,在蓝莓常规产品加工过程中多酚类成分也容易随皮渣被弃去,导致资源的浪费。因此将蓝莓多酚提取出来并制备成微胶囊为人体所利用,具有重要的意义。多酚提取物纯度的高低受多种因素的影响,包括所用蓝莓品种、部位(果实或皮渣)、大孔树脂种类以及具体的提取纯化工艺参数等。安晓婷等^[28]以灿烂果渣为原料,选用AB-8树脂纯化得到蓝莓多酚的纯度为59.3%。本研究以多酚含量较高的品种园蓝^[29]的皮渣为原料,选用HPD-100B大孔树脂,得到的蓝莓多酚纯度高于前者达71.4%。

本研究以大豆蛋白和阿拉伯胶为壁材制备了一种蓝莓多酚大豆蛋白微胶囊产品,研究表明大豆蛋白能够起到保护蓝莓多酚的作用^[30-31],但是关于蓝莓多酚和大豆分离蛋白的相互作用,以及复合物的生理活性需要更深入的研究。本研究优化了蓝莓多酚提取纯化工艺,以蓝莓皮渣为原料,采用水和乙醇阶段提取的方法获得蓝莓多酚粗体液,优选出3种大孔树脂HPD-100B、HPD-300或HPD-100纯化蓝莓多酚,并通过扩大实验获得纯度为71.4%的蓝莓多酚提取物,在此基础上制备了一种蓝莓多酚大豆蛋白微胶囊,体外消化特性考察发现,其在胃液和肠液中的释放率分别达到65.8%及74.3%,远低于多酚提取物(99.8%),具有较好的缓释作用。

参考文献 References:

- [1] WEN C T, SONG D D, ZHUANG L W, et al. Isolation and identification of polyphenol monomers from celery leaves and their structure-antioxidant activity relationship[J]. Process biochemistry, 2022, (121): 69-77.
- [2] CHAN Y T, HUANG J T, WONG H C, et al. Metabolic fate of black raspberry polyphenols in association with gut microbiota of different origins *in vitro* [J]. Food chemistry, 2022, 10(18): 134644.
- [3] STEFANIA C, STEFANIA F. Novel perspectives for neurodegeneration prevention: effects of bioactive polyphenols[J]. Neural regeneration research, 2021, 16(7): 1411-1412.
- [4] TANG Z Z, WENJIELIN W J, YANG J, et al. Ultrasound-assisted extraction of cordyceps cicadae polyphenols: optimization, LC-MS characterization, antioxidant and DNA damage protection activity evaluation[J]. Arabian journal of chemistry, 2022, 15(8): 103953.
- [5] GUEVARA-TERÁN M, PADILLA-ARIAS K, BELTRÁN-NOVOA A, et al. Influence of altitudes and development stages on

- the chemical composition, antioxidant, and antimicrobial capacity of the wild Andean blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth)[J]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7525.
- [6] 宋立江, 狄莹, 石碧. 植物多酚研究与利用的意义及发展趋势[J]. *化学进展*, 2000(2): 161-170.
- SONG L J, DI Y, SHI B. The significance and development trend in research of plant polyphenols[J]. *Progress in chemistry*, 2000(2): 161-170.
- [7] 王薇, 曹雯. 沙棘果渣多酚、多糖及黄酮抑菌性及对葡萄保鲜研究[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(11): 12-18.
- WANG W, CAO W. Study on bacteriostasis of polyphenols, polysaccharides and flavonoids from sea buckthorn pomace and their preservative effects on grapes[J]. *China food additive*, 2023, 34(11): 12-18.
- [8] 葛亮, 李琦, 李森, 等. 沙棘果总多酚提取工艺的优化及其稳定性研究[J]. *化学与生物工程*, 2023, 40(3): 30-35.
- GE L, LI Q, LI S, et al. Optimization in extraction process of total polyphenols from *Hippophae rhamnoides* L. fruits and its stability[J]. *Chemistry & bioengineering*, 2023, 40(3): 30-35.
- [9] 尹艳艳, 张健, 陆伦维, 等. 刺梨多酚类物质研究进展[J]. *食品与机械*, 2024, 40(1): 234-240.
- YIN Y Y, ZHANG J, LU L W, et al. Research progress on polyphenols in chestnut rose fruit[J]. *Food and machinery*, 2024, 40(1): 234-240.
- [10] 罗婧文, 张欣, 王辉, 等. 刺梨多酚提取物对高脂饮食诱导的肥胖小鼠的改善作用[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(14): 352-360.
- LUO J W, ZHANG X, WANG H, et al. Ameliorating effect of polyphenol extract of *Rosa roxburghii* on obese mice induced by high fat diet[J]. *Science and technology of food industry*, 2024, 45(14): 352-360.
- [11] 武芸, 程振玉, 王丽朋, 等. 黑果枸杞香气成分和多酚类物质的组成研究[J/OL]. *食品与发酵工业*: 1-10[2024-05-07]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.038952>.
- WU Y, CHENG Z Y, WANG L P, et al. Study on composition of aroma components and polyphenols in *Lycium ruthenicum* Murr.[J/OL]. *Food and fermentation industry*: 1-10[2024-05-07]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.038952>.
- [12] 卢烽, 刘凤娇, 胡小松, 等. 葡萄多酚改善高脂饮食诱导的小鼠高血脂及对肠道菌群的调节作用[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(7): 97-106.
- LU F, LIU F J, HU X S, et al. Grape polyphenol attenuated hyperlipidemia and modulated gut microbiota in high-fat diet-fed mice[J]. *Journal of Chinese institute of food science and technology*, 2021, 21(7): 97-106.
- [13] 杨智惠, 李嘉欣, 王金宏, 等. 蓝靛果多酚提取物保肝、保肾的药效研究[J]. *哈尔滨商业大学学报(自然科学版)*, 2024, 40(1): 9-18.
- YANG Z H, LI J X, WANG J H, et al. Pharmacological study of *Lonicera caerulea* L. polyphenols in protecting function of liver and kidney[J]. *Journal of Harbin university of commerce(natural sciences edition)*, 2024, 40(1): 9-18.
- [14] 卢薇, 邵昕, 鲁江. 高压灭菌工艺对蓝莓汁品质的影响[J]. *饮料工业*, 2023, 26(4): 12-17.
- LU W, SHAO X, LU J. Effects of high pressure sterilization on the quality of blueberry juice[J]. *Beverage industry*, 2023, 26(4): 12-17.
- [15] 周勤文, 孙力军, 卢蓓蓓, 等. 小浆果多酚生物活性功效研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 2023, 42(2): 94-97.
- ZHOU Q W, SUN L J, LU B B, et al. Research progress on bioactivity of polyphenols of small berries[J]. *Chinese wild plant resources*, 2023, 42(2): 94-97.
- [16] 卢薇. 榨汁工艺对蓝莓汁理化性质和抗氧化性的影响[J]. *饮料工业*, 2022, 25(6): 33-37.
- LU W. Effects of juicing process on the physicochemical properties and antioxidant activity of blueberry juice[J]. *Beverage industry*, 2022, 25(6): 33-37.
- [17] 张素敏, 杨巍, 魏鑫, 等. 蓝莓果实外观与糖、酸、酚组成特征[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(10): 53-61.
- ZHANG S M, YANG W, WEI X, et al. Appearance and sugar acid and phenol composition of blueberry fruit[J]. *Food research and development*, 2023, 44(10): 53-61.
- [18] 熊颖, 禹霖, 柏文富, 等. 不同品种蓝莓果实品质特征和抗氧化能力及多酚组成的比较[J]. *中南林业科技大学学报*, 2022, 42(2): 119-128.
- XIONG Y, YU L, BAI W F, et al. Evaluation of quality characteristics, antioxidant ability and polyphenol composition of different blueberry cultivars[J]. *Journal of central south university of forestry & technology*, 2022, 42(2): 119-128.

- [19] 王影. 蓝莓中多酚和花色苷的提取及微胶囊化研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.
WANG Y. The Extraction of polyphenols and anthocyanins from blueberry and study of microencapsulation[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2022.
- [20] 毕金峰, 冯舒涵, 金鑫, 等. 真空冷冻干燥技术与产业的发展及趋势[J]. 核农学报, 2022, 36(2): 414-421.
BI J F, FENG S H, JIN X, et al. Current status and development trend of freeze drying technology and industry[J]. Journal of nuclear agriculture, 2022, 36(2): 414-421.
- [21] 王远利, 康心蕊, 陶亮, 等. 蛋白质与多酚的互作机制及其应用[J]. 中国食品学报, 2024, 24(2): 357-372.
WANG Y L, KANG X R, TAO L, et al. The interaction mechanism between protein and polyphenol and its application[J]. Chinese journal of food science, 2024, 24(2): 357-372.
- [22] WU H Z, OLIVEIRA G, LILA M A. Protein-binding approaches for improving bioaccessibility and bioavailability of anthocyanins[J]. Comprehensive reviews in food science and food safety, 2023, 18(22): 333-354.
- [23] CHIMA B, MATHEWS P, MORGAN S, et al. Physicochemical characterization of interactions between blueberry polyphenols and food proteins from dairy and plant sources[J]. Foods, 2022, 11(18): 2846.
- [24] AINSWORTH E, GILLESPIE K. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin - Ciocalteu reagent[J]. Nature protocols, 2007(2): 875-877.
- [25] 师萱, 陈娅, 符宜谊, 等. 色差计在食品品质检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2009, 30(5): 373-375.
SHI X, CHEN Y, FU Y Y, et al. Application of color difference meter in the quality inspection of food[J]. Science and technology of food industry, 2009, 30(5): 373-375.
- [26] 闵芳芳, 聂少平, 万宇俊, 等. 青钱柳多糖在体外消化模型中的消化与吸收[J]. 食品科学, 2013, 34(21): 24-29.
MIN F F, NIE S P, WAN Y J, et al. *In vitro* digestion and absorption of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* leaves[J]. Food science, 2013, 34(21): 24-29.
- [27] 李亚东, 盖禹含, 王芳, 等. 2021年全球蓝莓产业数据报告[J]. 吉林农业大学学报, 2022, 44(1): 1-12.
LI Y D, GAI Y H, WANG F, et al. Global blueberry industry report 2021[J]. Journal of Jilin agricultural university, 2022, 44(1): 1-12.
- [28] 安晓婷, 周涛, 李春阳, 等. 大孔树脂纯化蓝莓果渣多酚及其组成分析[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 1-6.
AN X T, ZHOU T, LI C Y, et al. Macroporous resin purification of polyphenols from blueberry pomace and its composition analysis[J]. Food science, 2013, 34(20): 1-6.
- [29] 赵慧芳, 吴文龙, 黄正金, 等. 34个蓝莓品种果实品质评价[J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(4): 44-53.
ZHAO H F, WU W L, HUANG Z J, et al. Evaluation on fruit quality of 34 *Vaccinium* spp. cultivars[J]. Journal of plant resources and environment, 2023, 32(4): 44-53.
- [30] ROOPCHAND D E, KUHN P, ROJO L E, et al. Blueberry polyphenol-enriched soybean flour reduces hyperglycemia, body weight gain and serum cholesterol in mice[J]. Pharmacological research, 2013, 68(1): 59-67.
- [31] ROOPCHAND D E, GRACE M, KUHN P, et al. Efficient sorption of polyphenols to soybean flour enables natural fortification of foods[J]. Food chemistry, 2012, 131(4): 1193-1200.