

羊栖菜水提物-鱼明胶复凝聚反应表征及其应用

谭棋^{1,2}, 张名位², 马永轩², 郝娟², 张瑞芬², 池建伟², 黄菲², 贾栩超², 董丽红², 马勤², 邓梅², 赵东^{2*}
(1. 福建农林大学食品科学学院, 福建福州 350002) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

摘要: 羊栖菜水提物 (*Sargassum fusiforme* Aqueous Extract, SFE) 富含多糖和多酚等多种生物活性物质, 可作为食品配料在健康食品中应用。除营养健康功能外, SFE 能否作为不稳定营养素的包埋材料, 保障食品功效和安全。基于此, 该研究为评价 SFE 的封装特性, 探究 SFE 和鱼明胶蛋白 (Fish Gelatin, FG) 二者在室温下的复合凝聚反应规律。在不同质量比和 pH 条件下, 通过追踪体系 Zeta 电位、粒径、浊度的变化规律, 并对比分析其产物的红外特征图谱, 明确 SFE 和 FG 复合凝聚反应的合适条件。研究结果表明, SFE 表面带有大量的负电荷, 且随着 pH 的降低而增多; SFE 可与带正电的 FG 发生复合凝聚反应, 并确定了复合凝聚反应最佳条件为 SFE:FG (1:3, *m/m*)、pH 值 4.2, 此时 SFE-FG 复聚物产率高达 83.73%; 在此条件下, 进一步发现壁材总质量分数为 1%、芯壁比为 2:8 时, 具有较好的花色苷包埋率, 高达 91.84%。说明 SFE-FG 复聚物作为包埋材料, 具有良好的包埋作用, 可作为微胶囊壁材的天然材料。

关键词: 羊栖菜水提物; 复凝聚反应; 微胶囊; 花色苷

文章编号: 1673-9078(2023)11-168-176

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.11.1595

Characterization and Application of the Complex Coacervation Reaction of *Sargassum fusiforme* Aqueous Extract-fish Gelatin

TAN Qi^{1,2}, ZHANG Mingwei², MA Yongxuan², HAO Juan², ZHANG Ruifen², CHI Jianwei², HUANG Fei², JIA Xuchao², DONG Lihong², MA Qin², DENG Mei², ZHAO Dong^{2*}

(1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

(2. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: *Sargassum fusiforme* aqueous extract (SFE) is rich in polysaccharides, polyphenols, and other bioactive substances, which can be used as functional health food ingredients. It remains unclear whether SFE can also be used as an encapsulating material for unstable nutrients to preserve health food efficacy and safety. We investigated the encapsulation characteristics of SFE and explored the complex coacervation reaction of SFE and fish gelatin (FG) at room temperature. Under conditions combining different pH's and mass ratios, changes in zeta potential, particle size, and turbidity of the system were assessed, and the infrared spectra of the complex coacervation products were compared and analyzed to determine conditions that best facilitate the complex coacervation reaction of SFE and FG. Our results indicate that the surface of SFE has abundant negative charges, which increase with decreasing pH. SFE formed complex coacervates with positively charged FG. The optimal condition for the complex coacervation of SFE and FG was obtained at SFE:FG (1:3, *m/m*) and pH 4.2, yielding a maximum coacervate of 83.73%. Under these conditions, the anthocyanin encapsulation efficiency was 91.84% when the wall material concentration was 1% and the core/wall ratio was 2:8. These results suggest that SFE offers great encapsulation efficiency and can be used as a natural material for microcapsule walls.

引文格式:

谭棋, 张名位, 马永轩, 等. 羊栖菜水提物-鱼明胶复凝聚反应表征及其应用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(11): 168-176

TAN Qi, ZHANG Mingwei, MA Yongxuan, et al. Characterization and application of the complex coacervation reaction of *Sargassum fusiforme* aqueous extract-fish gelatin [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(11): 168-176

收稿日期: 2022-12-19

基金项目: 广州市科技计划项目 (201907010035); 广东省重点领域研发计划项目 (2020B1111030004)

作者简介: 谭棋 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品, E-mail: 2857726732@qq.com

通讯作者: 赵东 (1983-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 功能食品, E-mail: dzhao@gdaas.cn

Key words: *Sargassum fusiforme* aqueous extract; complex coacervation reaction; microcapsules; anthocyanins

羊栖菜 (*Sargassum fusiforme*) 是马尾藻科、马尾藻属的一种海藻植物^[1], 广泛分布于我国沿海, 北起辽东半岛南至雷州半岛, 其中浙江沿海养殖规模最大^[2]。羊栖菜富含蛋白质、多糖、多酚等营养物质^[3], 根据《神农本草经》和《本草纲目》记载, 其具有“癭瘤结气、水气浮肿、宿食不消”等功效, 并且现代药理学研究也证实羊栖菜具有降血脂、抗血栓、缓解疲劳、增强免疫力等药理作用, 是一种很好的药食两用植物^[4]。它作为我国重要经济藻类, 国人食用较少, 主要出口到日本, 深受消费者欢迎, 被誉为“长寿菜”。目前, 由于羊栖菜的加工方式较为简单, 食用和入药方式主要是凉拌、高温煮熟等方式食用, 因此研发新的羊栖菜加工和利用方法是非常必要的。

近年来, 羊栖菜的活性物质受到了广泛研究, 并证实其水提物中的多糖是其生物活性的主要成分, 含量丰富, 占总提取物的 70%以上^[5]。羊栖菜多糖具有调节免疫^[6]、抗氧化^[7]、降血脂^[8]等生物活性, 是一种很好的天然功能活性物质。同时, 羊栖菜多糖作为天然生物大分子, 其分子中含有大量的羧酸根、硫酸根和醇羟基, 表面带有大量的负电荷^[9], 可与携带相反电荷的大分子相互交联形成复聚物微胶囊壳, 能够有效提升不稳定营养素的稳定性和生物利用率, 例如花色苷, 其化学性质不稳定, 容易受温度、pH 值、金属离子等因素影响, 导致结构改变而失活^[10]。

因此, 本文为了探究羊栖菜水提物 (SFE) 的封装特性, 利用常温超高压法制备的 SFE, 并选用应用广泛且具有生物兼容性的鱼明胶 (FG) 与之相互作用, 通过探究浊度、Zeta 电位和粒径等变化规律, 明确 pH 值和壁材比对 SFE 与 FG 复合凝聚反应的影响因素, 并验证二者复合凝聚制备花色苷微胶囊的应用潜力。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

羊栖菜购于浙江洞头岛, 经-20℃冷链运输, 储存于-18℃冷库; 鱼明胶购于 Sigma 公司; 大豆油购于阿拉丁试剂有限公司; 赤峰粳稻黑米购于山东鹤来香食品有限公司; 聚甘油蓖麻醇酸酯 (Polyglycerol Polyricinoleate, PGPR) 购于源叶生物科技有限公司; HCl 购于广州化学试剂厂; NaOH 购于大茂化学试剂厂; 水为去离子水。

1.2 仪器与设备

TU-1900 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司; Ultrasonic Cleaner SB25-12 超声清洗机, 宁波新芝生物科技有限公司; Ultra Turrax T-25Basic 高速剪切机, 德国 IKA 仪器有限公司; FGN5 酶标仪, 美国 BioTek 公司; Zetasizer Nano 电位仪, 英国 Malvern 公司; FDU-2110 真空冷冻干燥机, 东京理化器械株式会社; VERTEX 70 傅里叶变换红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; 恒温磁力搅拌器, 上海湃澜仪器设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 花色苷的制备

根据 Zhang 等^[11]的方法并稍作修改, 具体步骤为: 将黑米皮浸入酸化甲醇 (甲醇:1 mol/L HCl=85:15, V/V) 按料液比 1:30 (m/V), 10 000 r/min 冰浴均质 5 min, 5 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 重复提取 2 次。合并 3 次离心上清, 在 45℃真空条件下旋蒸浓缩, 再加水复溶, 经-80℃预冻后, 经真空冻干制成花色苷粉末, 储存于-20℃冰箱备用。

1.3.2 羊栖菜水提物 (SFE) 的制备

羊栖菜浸泡于水中脱盐 3 h、洗净除杂备用。将 500 g 羊栖菜 (1:8.6, m/V) 加去离子水, 置于匀浆机中匀浆 5 min, 匀浆结束后分装于铝箔袋中密封, 选择保压压力 400 MPa 和保压时间 15 min 的条件对羊栖菜浆液进行超高压处理, 再将其 4 000 r/min 离心 20 min 收集上清液, 冻干后得到 SFE。

1.3.3 羊栖菜水提物-明胶 (SFE-FG) 复聚物的制备

根据 Fataneh 等^[12]的方法并稍作修改, 准确称取一定质量的 SFE、FG 样品溶于去离子水中, 在室温条件下 300 r/min 磁力搅拌 2 h 后放置 4℃冰箱水合过夜, 得到 1% (m/V) SFE 母液、2% (m/V) FG 母液。将上述母液以 SFE 与 FG 质量比分别为 1:3、1:2、1:1、2:1 和 3:1 且复聚物总质量分数为 0.1% (m/V) 混合。室温下, SFE-FG 混合液在 300 r/min 磁力搅拌 6 h, 以确保 SFE 和 FG 分子之间充分的静电相互作用。

1.3.4 SFE-FG 复聚物的表征

1.3.4.1 Zeta 电位测定

参考 Maria 等^[13]的方法并稍作修改, 分别将 500 mL

的 0.1% (m/V) SFE 溶液、0.1% (m/V) FG 溶液、0.1% (m/V) 不同质量比的 SFE-FG 混合液置于 300 r/min 磁力搅拌器中, 分别用 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 调节溶液 pH 值 2 至 pH 值 10, 在 25 °C 恒温条件下, 用 Malvern Nano ZS 电位仪测定体系的 Zeta 电位变化情况。

1.3.4.2 浊度测定

参考 Lin 等^[14]方法并稍作修改, 分别将 500 mL 的 0.1% (m/V) 不同质量比的 SFE-FG 混合溶液置于 300 r/min 磁力搅拌器中, 分别用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调节溶液 pH 值 (1.0~7.0), 采用酶标仪测定在 600 nm 下溶液的吸光度, 绘制各溶液的浊度随 pH 变化的浊度曲线。用下式计算浊度:

$$T = -\ln \left(\frac{I_t}{I_0} \right) \quad (1)$$

式中:

T ——浊度, cm^{-1} ;

I_t ——透射光强度;

I_0 ——入射光强度。

1.3.4.3 粒径测定

参考 Zhang 等^[15]的方法并稍作改进, 将 500 mL 0.1% (m/V) SFE-FG 混合溶液 (SFE 与 FG 质量比为 1:3) 置于 300 r/min 磁力搅拌器中, 分别用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调节溶液 pH 值 (1~7), 以蒸馏水 (折射系数为 1.33) 为稀释溶剂, 数据采集时间设定为 180 s, 动态采集时间为 10 s, 温度维持在 25 °C, 用 Malvern Nano ZS 仪测定复聚物的粒径分布和多分散性指数 (PDI)。

1.3.4.4 产率测定

参考 Silva 等^[16]的方法并稍作修改, 取 50 mL 0.1% (m/V) 不同质量比的 SFE-FG 混合溶液置于 100 mL 离心管中, 在 100 r/min 磁力搅拌器条件下, 分别用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调节 pH 至最大浊度, 并于 5 000 r/min 离心 15 min, 收集沉淀于 50 °C 烘干至恒重。通过下式计算复聚物产率:

$$F = \frac{m}{m_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

F ——复聚物产率, %;

m ——干燥后复聚物质量, g;

m_0 ——初始加入材料总质量, g。

1.3.4.5 微观结构分析

分别将 50 mL 0.1% (m/V) 不同质量比的 SFE-FG 混合溶液置于 100 mL 离心管中, 在 100 r/min 磁力搅拌器条件下, 分别用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调节 pH 值至各比例的最大浊度对应的 pH 值 (SFE 与

FG 质量比分别为 1:3、1:2、1:1、2:1 和 3:1 时对应的 pH 值为 4.2、3.4、2.6、1.6 和 1.2), 取 10 μL SFE-FG 复聚物溶液于载玻片上, 用倒置显微镜以 400 倍放大倍数观察。

1.3.4.6 傅里叶红外光谱分析

参考 Anvari 等^[17]的方法稍作修改, 分别称取 1 mg SFE、FG 和 SFE-FG 冻干粉末样品, 加入 100 mg 的 KBr 进行研磨, 再经压片机压制成片, 选用纯 KBr 片作为空白对照。置于红外光谱仪上, 设定在 400~4 000 cm^{-1} 范围内进行扫描, 扫描次数为 32 次, 分辨率为 4 cm^{-1} 。

1.3.5 SFE-FG 复合凝聚反应制备黑米皮花色苷微胶囊

参考 Frank 等^[18]和 Shaddel 等^[19]的方法并稍作修改, 制备花色苷微胶囊。在室温下, 将 10% (m/V) 花色苷溶液逐滴加入到含有 3% (V/V) PGPR 的大豆油预混合, 用 Ultra-Turrax T25 高速分散器以 12 500 r/min 均质 5 min, 制备油包水 (W_1/O) 初级乳液 (芯材)。再将初级乳液加入不同浓度的 FG 溶液, 10 000 r/min 均质机中均质 4 min, 制备 $W_1/O/W_2$ 双重乳液。向双重乳液中加入相应浓度的 SFE 溶液于 100 r/min 磁力搅拌器中搅拌 6 h, 用 1 mol/L HCl 调溶液 pH 值至 4.2, 再经真空冻干, 即制得微胶囊。

1.3.6 黑米皮花色苷微胶囊包埋率的测定

1.3.6.1 花色苷含量的测定

采用 pH 示差法测定总花色苷含量, 参考 Wolfe 等^[20]的方法并稍作修改。分别取 1 mL 花色苷提取液于 2 个离心管中, 分别加入 1 mL KCl 缓冲液 (0.025 mol/L, pH 值 1.0) 和 CH_3COONa 缓冲液 (0.4 mol/L, pH 值 4.5) 到 2 个离心管中, 混匀后避光、静置反应 15 min, 用紫外分光光度计分别在 520 nm 和 700 nm 波长测定样品的吸光度值, 根据公式算出总花色苷含量:

$$C = \frac{A}{eL} \times M \times D \times \frac{V}{W} \times 100 \quad (3)$$

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \quad (4)$$

式中:

C ——总花色苷含量, $\text{mg}/100 \text{ g}$;

A ——测定的吸光度值;

e ——矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔吸光系数,

26 900 $\text{L}/(\text{cm} \cdot \text{mol})$;

L ——光径, 1 cm;

M ——矢车菊素-3-葡萄糖苷的分子量, 449.2 g/mol;

D ——稀释倍数;

V ——最终体积, mL;

W——样品质量, g。

1.3.6.2 包埋率测定

参考 Shaddel 等^[21]和 Ji^[22]的方法并稍做修改, 测定花色苷包埋率。总花色苷含量: 取 100 mg 微胶囊加入 2 mL 超纯水, 研磨破坏微胶囊膜, 再加入 6 mL 乙醇, 于超声破碎, 4 000 r/min 离心 5 min, 测定上清液花色苷含量。表面花色苷含量: 取 100 mg 微胶囊加入 2 mL 超纯水和 6 mL 乙醇, 100 r/min 磁力搅拌 5 min, 3 000 r/min 离心 4 min, 测定上清液花色苷含量, 通过下式计算包埋率:

$$Q = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

Q——黑米花色苷包埋率, %;

M_1 ——黑米花色苷总质量, mg;

M_2 ——微胶囊外部的黑米花色苷质量, mg。

1.3.7 统计分析

除红外光谱实验以外, 所有实验均重复 3 次, 结果以平均值±标准差表示。数据处理及分析用 SPSS 22 软件, 显著性分析采用方差分析 (ANOVA) 中的 Duncan's 分析, 显著性水平为 0.05, 用不同的字母表示; 绘图用 Origin 2017 软件。

2 结果与讨论

2.1 SFE-FG 复聚物的 Zeta 电位

生物大分子复合凝聚反应的主要驱动力源自其表面分布的不同电荷相互吸引, 且其表面带电量与溶液 pH 值密切相关^[23,24]。从图 1 可知, SFE 的 Zeta 电位随 pH 值的升高而降低, 且保持其 Zeta 电位为负值, 最大为 -58.86 mV。FG 的 Zeta 电位也随着 pH 值的升高从 16.65 mV 下降到 -5.41 mV, 其等电点约为 pH 值 8.5。在分散体系中, 溶液的 Zeta 电位的绝对值越大, 表明粒子之间的静电斥力作用越强, 越不易出现凝聚现象^[25]。因此, 初步判定: pH 值在 2.0~8.5 范围内, SFE 与 FG 具有相反电荷, 两种分子之间具有形成复聚物的潜力。

本实验明确了 SFE 和 FG 两种大分子的 Zeta 电位与 pH 值之间的关系, 并进一步探究了 SFE 和 FG 不同质量比混合溶液电位与 pH 的关系, 进而明确了 SFE-FG 复聚物形成最佳比例及合适反应的 pH 值。由图 1 可知, pH 值变化范围为 2.0~10.0 时, SFE-FG 复聚物质量比为 1:1、2:1 和 3:1 的复合溶液的 Zeta 电位值均保持负值, 且随 pH 值的升高, Zeta 电位的绝对值变大, 这是由于体系带负电荷的 SFE 主导了溶液的

Zeta 电位值, 表明溶液中负电荷的过剩未能完全反应^[26]。然而 SFE-FG 复聚物质量比为 1:2、1:3, pH 值在 3 和 3.5 附近时, 体系中 Zeta 电位为 0 mV, 此时 SFE 分子所携带的负电恰好与 FG 分子所携带的正电完全中和。

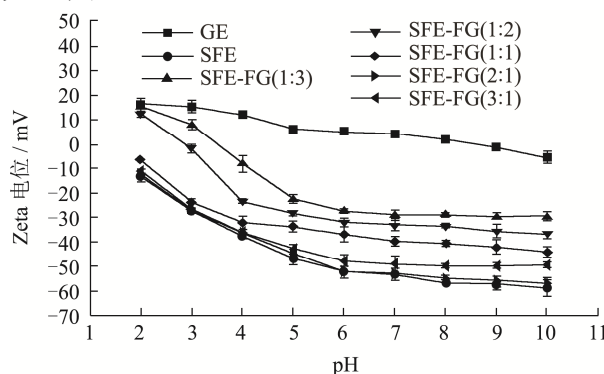


图 1 SFE、FG 溶液和 SFE-FG 复聚物 (总质量分数为 0.1%, m/V) 的 Zeta 电位变化

Fig.1 The change of zeta potential in SFE, FG and SFE-FG coacervate solutions (total mass concentration 0.1%, m/V)

2.2 SFE-FG 复聚物的浊度曲线

通常蛋白质-多糖复聚物的复合凝聚反应过程可用浊度滴定法进行追踪^[27], 通过调整反应过程中的 pH 值可辨析反应进度。图 2 表示不同质量比的 SFE-FG 复聚物在不同 pH 值诱导下形成的浊度曲线。通过 pH 值可将浊度曲线分为共溶区、可溶性复聚物区、不可溶性复聚物区和共溶区四部分^[28]。由图 2 中 SFE-FG (1:3) 可知, 在这四个区域的分界处存在四个临界 pH 值 (pH_c 值 5.6、pH_{q1} 值 5.2、pH_{opt} 值 4.2、pH_{q2} 值 1.8)。当 pH 7 ≥ pH ≥ pH_c 时, 为 SFE 与 FG 的共溶区, 此时浊度曲线趋平。当 pH_c > pH ≥ pH_{q1} 时, 为可溶性复聚物区, 此时溶液浊度值随 pH 值降低而缓慢上升。当 pH_{q1} > pH ≥ pH_{q2} 时, 为不可溶性复聚物区, 此时溶液逐渐出现不溶性复聚物, 浊度值随 pH 值降低出现迅速上升后下降现象, 其中 pH = pH_{opt} 时, 浊度出现最大值, 表明此时生成了最大的不溶性复聚物。当 pH < pH_{q2} 时, 为共溶区, 此时不溶性复聚物解离完全, 浊度曲线趋平。Aryee 和 Nickerson^[29]研究了扁豆蛋白分离物-阿拉伯树胶多糖复聚物的形成, 并报道了相似的浊度曲线。因此, 从浊度曲线中的临界 pH 点可以初步确定 SFE 和 FG 之间的复合凝聚反应的过程^[24]。

由图 2 可知, 当 SFE-FG 复聚物质量比由 1:1 向 1:2、1:3 变化时, 浊度曲线向右移动 (向高 pH 方向), pH_{opt} 从 2.6 到 4.2, 且浊度值从 0.74 到 0.95, 这是因为 FG 的增加将导致 SFE 能结合的氨基数量增加, 有利于形成不可溶性复聚物^[30]。当 SFE-FG 复聚物质量

比由 1:1 向 2:1、3:1 变化时, 浊度曲线向左移动(向低 pH 方向), 浊度值从 0.74 到 0.34。乳清分离蛋白-木瓜种子黏液^[31]、田间豌豆分离蛋白-壳聚糖^[32]等体系也表现出相似的浊度曲线。此外, SFE-FG 复聚物的浊度规律与前文 Zeta 电位所得结果一致。因此, 在 pH 值 1.0~7.0 范围内, SFE-FG 复聚物最佳比例为 1:3, 当 pH 值为 4.2 时, 最大浊度值为 0.95, 表明最大的 SFE-FG 不溶性复聚物生成。

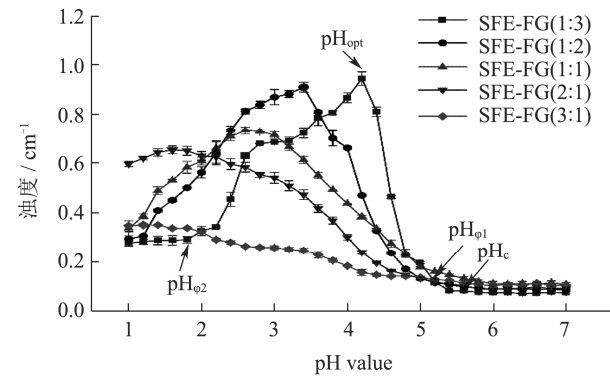


图2 不同质量比 SFE-FG 复聚物(总质量分数为 0.1%, m/V) 的浊度曲线

Fig.2 Turbidity of SFE-FG coacervate (total mass concentration 0.1%, m/V) prepared at different mass ratio

2.3 SFE-FG 复聚物的粒径分布

表 1 SFE-FG(1:3) 复聚物的平均粒径

Table 1 Average particle size of SFE-FG coacervate (1:3)

pH 值	平均粒径/nm	PDI
7	2 057.09±41.33 ^e	0.59±0.10 ^a
6	3 359.44±190.32 ^c	0.60±0.06 ^a
5	4 124.21±134.73 ^b	0.56±0.10 ^a
4	5 080.67±173.82 ^a	0.59±0.12 ^a
3	2 525.33±398.51 ^d	0.55±0.11 ^a
2	1 997.37±73.26 ^e	0.57±0.09 ^a
1	858.32±26.81 ^f	0.52±0.10 ^a

注: 不带相同字母表示差异显著 ($P<0.05$), SFE-FG 复聚物总质量分数为 0.1% (m/V)。

反应体系中复聚物的粒径变化也是多糖与蛋白质静电相互作用的重要指标之一^[33]。如表 1 所示, SFE 和 FG 的平均粒径分别为 6 037.22 nm 和 607.10 nm。在 pH 值 1.0~7.0 范围内, SFE-FG 复聚物的平均粒径出现先升高后降低的趋势。当 pH 在 pH_{opt} 附近 (pH 值 4) 时, SFE-FG 复聚物的平均粒径最大, 为 5 080.67 nm。这是因为在不同 pH 值条件下多糖与蛋白质逐渐聚合形成大小不一的复聚物。随着 pH 值进一步降低 (pH 值 <4), SFE-FG 复聚物粒径逐渐变小, 可能是不可溶性复聚物发生解离所引起的^[34]。霍云峰^[35]

在研究卵清蛋白与坛紫菜多糖在不同 pH 值下的粒径分布时, 发现平均粒径随 pH 值降低出现先升高后降低, 最大平均粒径也在 pH_{opt} 附近, 这与本文 SFE-FG 复聚物的粒径分布结论类似。

2.4 SFE-FG 复聚物的产率

复聚物产率反映了复合凝聚过程中微胶囊壁材的利用率^[36]。不同质量比的 SFE-FG 复聚物会影响两种物质在溶液中的相对电荷密度, 从而影响两种物质的静电相互作用, 复聚物产率也会受到相应影响。从图 3 中可知, SFE-FG 复聚物质量比例由 1:1 到 1:3 时, 复聚物产率提高, 这与 Ardestani 等^[37]研究酪蛋白酸钠-果胶复聚物产率的结果类似, 推测可能是由于静电相互作用的加强, 导致可溶性复聚物减少, 不溶性复聚物增多。当 SFE-FG 复聚物质量比为 1:3 时, 复聚物产率最高达 83.73%。可能是 FG 携带的正电荷氨基基团与 SFE 携带的负电荷硫酸根、羧基基团充分结合, 中和体系中的电荷, 发生最大的静电相互作用^[26]。当 SFE-FG 复聚物质量比由 1:1 到 3:1 时, 复聚物产率逐渐降低。可能是体系中 SFE 携带的负电荷远多于带 FG 携带的正电荷, 产生更多的静电斥力, 使得复聚物解离为水溶性而无法析出^[38]。因此, 选择 SFE-FG 复聚物质量比为 1:3, pH 值 4.2 为最佳的复合凝聚微胶囊壁材制备条件进行下一步研究。

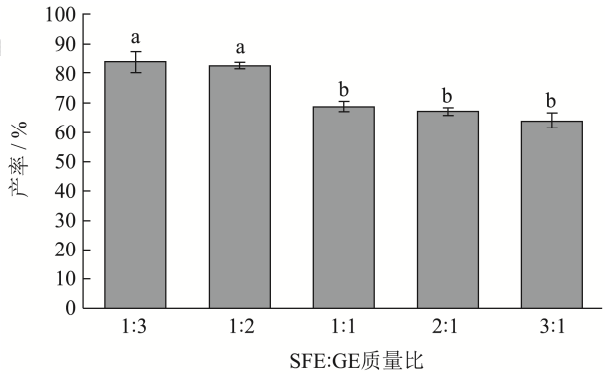


图3 不同质量比 SFE-FG 复聚物(总质量分数 0.1%, m/V) 的产率

Fig.3 Productivity of SFE-FG coacervate (total concentration 0.1%, m/V) prepared at different mass ratio

2.5 SFE-FG 复聚物的显微结构

通过光学显微镜观察到 SFE-FG 复聚物质量比分别为 1:3、1:2、1:1、2:1 和 3:1 时对应的 pH 值为 4.2、3.4、2.6、1.6 和 1.2 (总质量分数为 0.1%, m/V) 所形成的复聚物的结构。由图 4 可知, SFE-FG 复聚物质量比为 2:1、3:1 时, 复聚物结构疏松且颗粒较小, 该结果与前文浊度变化一致, 此时溶液浊度较低。当

SFE-FG 复聚物质量比由 1:1 向 1:2、1:3 变化时,复聚物结构更为紧密,聚合成团现象明显,呈块状复聚物^[34]。

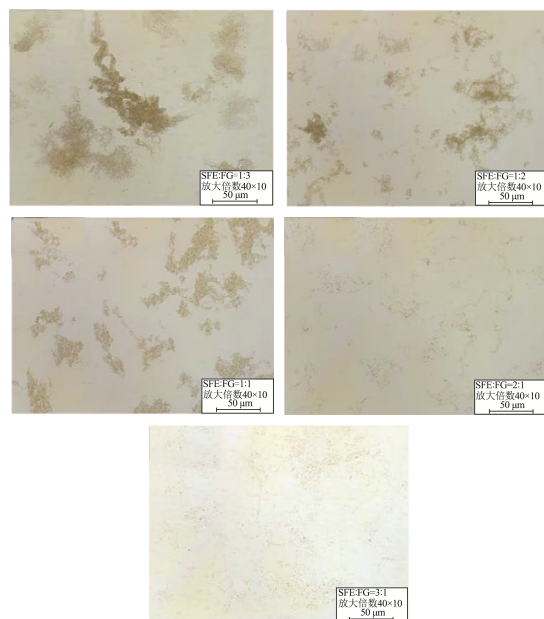


图4 不同质量比 SFE-FG (总质量分数 0.1%, m/V) 复聚物的形态
Fig.4 Morphology of SFE-FG coacervate (total concentration 0.1%, m/V) prepared at different mass ratio

2.6 SFE-FG 复聚物的红外光谱分析

图 5 中为 FG (曲线 a)、SFE (曲线 b) 和不同比例 SFE-FG 复聚物 (曲线 c~g) 的红外光谱分析图。FG 在 3446 cm^{-1} 呈现较宽的峰形,主要是由于分子内 NH 和 OH 的伸缩振动引起;在 1646 cm^{-1} 、 1556 cm^{-1} 和 1235 cm^{-1} 存在振动吸收峰,这分别由明胶中的 C=O (酰胺 I 带) 伸缩振动、N-H (酰胺 II 带) 变角振动、C-N (酰胺 III 带) 伸缩振动所引起^[39]。而 SFE 同样在 3450 cm^{-1} 存在较宽的吸收峰,是由于其多糖中的 O-H 分子内伸缩振动引起;在 2937 cm^{-1} 和 1422 cm^{-1} 为水提取物中 C-H 伸缩振动和变角振动引起的吸收峰;在 1619 cm^{-1} 和 1422 cm^{-1} 由羰基 C=O 和 COO-伸缩振动引起的吸收峰;在 1257 cm^{-1} 和 815 cm^{-1} 存在由硫酸基 S=O 伸缩振动和 C-O-S 的不对称伸缩振动引起的吸收峰^[40]。

当形成 SFE-FG 复聚物时, O-H 从 3450 cm^{-1} 往 3410 cm^{-1} 移动,发生往低波数方向移动现象。这与 Zheng 等^[41]在研究明胶与结冷胶相互作用形成共混胶结果一致,推测可能是由于 SFE 与 FG 之间相互作用,非共价键引起复聚物链脱水。此外,复聚物的形成也使得 FG 的酰胺 I 带由 1646 cm^{-1} 移动至 1660 cm^{-1} ,酰胺 II 带从 1556 cm^{-1} 移动至 1548 cm^{-1} 。这与 Bhowmik 等^[42]研究明胶与结晶纤维素互作的结果类似,推测可能是酯化作用引起键长变化而导致峰的移

动。Guo 等^[43]研究豌豆分离蛋白 (PPI) 与果胶结合的复聚物,表明除氢键外,疏水和静电相互作用也参与了 PPI-果胶复聚物的形成过程,而静电相互作用吸引力在形成 PPI-果胶复聚物中起到更重要作用。

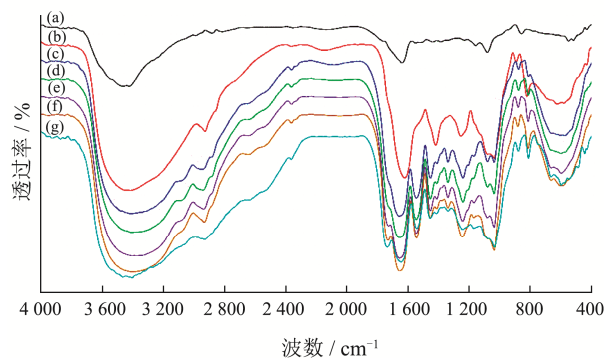


图5 FG、SFE 与不同比质量比的 SFE-FG 复聚物的红外光谱
Fig.5 FT-IR spectra of FG, SFE, and SFE-FG coacervate prepared at different mass ratio

注: (a)FG; (b)SFE; (c)SFE-FG=1:3; (d)SFE-FG=1:2; (e)SFE-FG=1:1; (f)SFE-FG=2:1; (g)SFE-FG=3:1。

2.7 芯壁比对花色苷微胶囊包埋率的影响

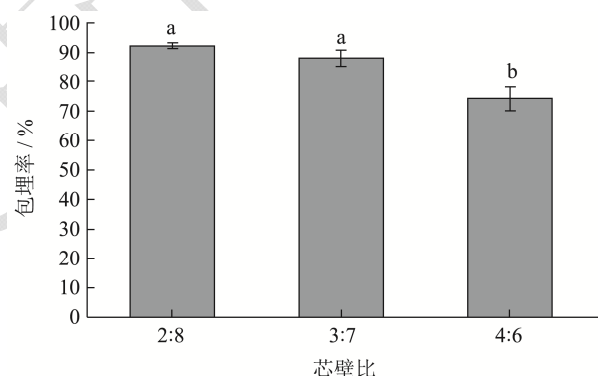


图6 芯壁体积比对花色苷微胶囊包埋率的影响

Fig.6 Effect of core/wall ratio (V/V) on the encapsulation efficiency anthocyanins microcapsules

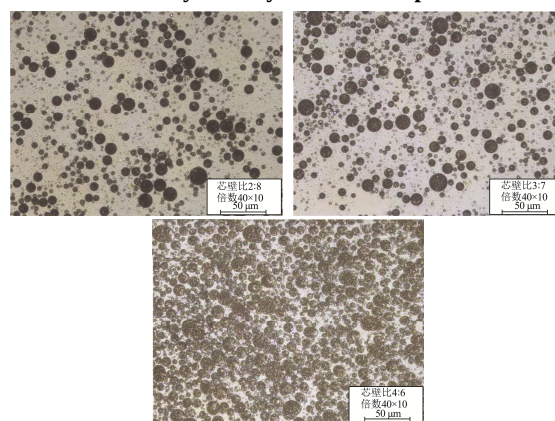


图7 芯壁体积比对花色苷微胶囊形态的影响

Fig.7 Effect of core/wall ratio (V/V) on the morphology of anthocyanins microcapsules

芯壁比是通过影响芯材与壁材之间的疏水作用改变蛋白质的界面行为,进而影响复合凝聚的理化性质^[22]。Ma 等^[44]发现适当的芯壁比有助于壁材高效率包埋,但是壁材比例过高会明显降低壁材的负载能力。因此,实验设置了不同的芯壁比,结果如图 6 可知,微胶囊的包埋率随着芯壁比的增加而变小,当芯壁比为 2:8 时,包埋率达到最大为 91.84%。这与夏慧亭等^[45]在包埋橄榄油的的结果类似,推测可能是芯材含量的增加使未被包埋的芯材附着在微胶囊的表面,导致微胶囊粘连,囊壁破损引起芯材流失。如图 7 所示,当芯壁比为 2:8、3:7 时制备的微胶囊分散均一;而芯壁比为 4:6 时,微胶囊发生交联,微胶囊大小和形状改变;这可能是芯壁比过高导致的包埋率下降的原因。

2.8 壁材质量分数对花色苷微胶囊包埋率的影响

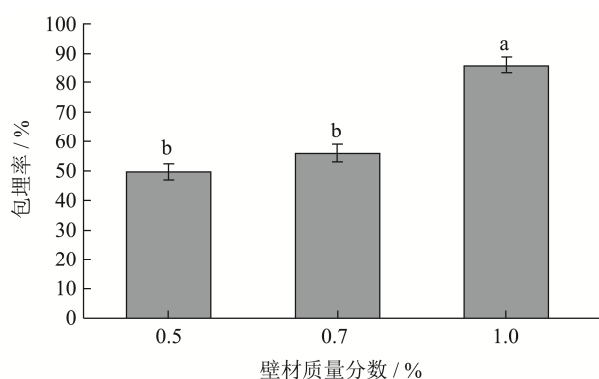


图 8 壁材质量分数对花色苷微胶囊包埋率的影响

Fig.8 Effect of wall material concentration on the encapsulation efficiency anthocyanins microcapsules

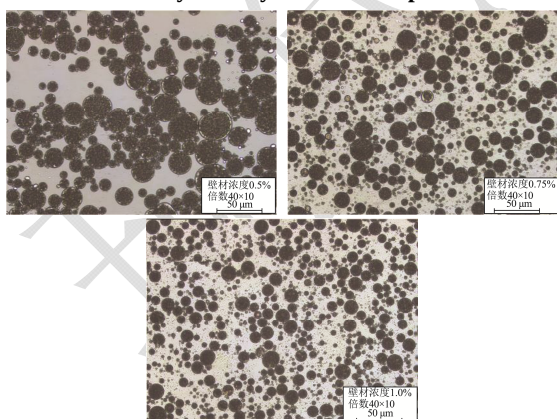


图 9 壁材质量分数对花色苷微胶囊形态的影响

Fig.9 Effect of wall material concentration on the morphology of anthocyanins microcapsules

壁材质量分数也是影响微胶囊包埋率的重要指标之一,因此,在芯壁比为 3:7,壁材 SFE-FG 复聚物比例为 1:3, pH 值 4.2 条件下,探究壁材质量分数对花

色苷包埋率的影响。结果如图 8 所示,当壁材质量分数为 0.5%和 0.75%时,包埋率均低于 60%。本结果与秦亚南等^[46]研究壁材质量分数对葡萄籽油微胶囊的发现一致,可能是归因于壁材质量分数过低,进而引起复聚物产量不足,导致形成微胶囊的囊壁较薄,包埋不完全^[47]。当壁材质量分数增加至 1%时,包埋率可达到 85%,值得注意的是这不仅归因于壁材质量分数的增加,而且可能与体系的粘度增加有关,据报道具有一定粘度的壁材溶液有利于微胶囊包埋^[48]。另外,由于壁材质量分数超过 1%时, SFE 溶解性较差,且粘度过大,所以本实验未探究更高的壁材质量分数。由图 9 可知,微胶囊呈规则的球状,表面比较光滑。1%浓度的壁材相较于 0.5%和 0.75%浓度的壁材形成微胶囊粒径更小,微胶囊数量更多,壁材分子的利用率更高,进而使得微胶囊包埋率更高^[49]。

3 结论

本研究表明 SFE 是一种带负电的材料,且电荷量随 pH 降低而增多,可作为复合凝聚的天然负电材料。系统分析了 SFE 与 FG 复合凝聚反应过程,并确定了复合凝聚反应的适宜条件为 SFE-FG 复聚物质量比为 1:3、pH 值为 4.2,此时 SFE-FG 复聚物产率为 83.73%;在此条件下壁材质量分数 1%、芯壁比为 2:8 时,具有较好的花色苷包埋率,高达 91.84%。本研究首次采用 SFE-FG 复聚物作为包埋材料,且对花色苷的包埋率达到较高水平,表明 SFE-FG 复聚物在微胶囊应用上具有可行性和有效性,为天然提取物在复合凝聚微胶囊包埋技术的应用提供了重要的理论依据。

参考文献

- [1] Hu P, Li Z, Chen M, et al. Structural elucidation and protective role of a polysaccharide from *Sargassum fusiforme* on ameliorating learning and memory deficiencies in mice [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 139: 150-158.
- [2] 陈柳君,宁亚静,康彩峰,等.羊栖菜多糖提取及免疫活性初步探究[J].中国海洋药物,2017,36(3):81-88.
- [3] 张晓梅,郭芮,苏红,等.羊栖菜营养成分分析与安全性评价[J].食品工业科技,2018,39(4):296-300,11.
- [4] Liu D, Chen F, Yu X, et al. Do different species of *Sargassum* in haizaoyuhu decoction cause different effects in a rat goiter model? [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019, 2019: 1-13.
- [5] 孔秋红,张瑞芬,曾新安,等.不同方法提取的羊栖菜多糖理化性质及益生活性[J].现代食品科技,2021,37(5):123-129.
- [6] Chen X, Nie W, Fan S, et al. A polysaccharide from

- Sargassum fusiforme* protects against immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(2): 1114-1119.
- [7] Wang W, Lu J B, Wang C, et al. Effects of *Sargassum fusiforme* polysaccharides on antioxidant activities and intestinal functions in mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 58: 127-132.
- [8] 于竹芹, 帅莉, 李生尧, 等. 羊栖菜对高脂血症大鼠降血脂和抗氧化作用研究[J]. 医学研究杂志, 2011, 40(8): 43-46.
- [9] Zhang R, Zhang X, Tang Y, et al. Composition, isolation, purification and biological activities of *Sargassum fusiforme* polysaccharides: A review [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 228: 115381-115395.
- [10] Ge J, Yue P, Chi J, et al. Formation and stability of anthocyanins-loaded nanocomplexes prepared with chitosan hydrochloride and carboxymethyl chitosan [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 74: 23-31.
- [11] Zhang M W, Zhang R F, Zhang F X, et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 7580-7587.
- [12] Behrouzain F, Razavi S M A, Joyner H. Mechanisms of whey protein isolate interaction with basil seed gum: Influence of pH and protein-polysaccharide ratio [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 232: 115775-115787.
- [13] Porfiri M C, Wagner J R. Extraction and characterization of soy hull polysaccharide-protein fractions. Analysis of aggregation and surface rheology [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 79: 40-47.
- [14] Lin T, Dadmohammadi Y, Davachi S M, et al. Improvement of lactoferrin thermal stability by complex coacervation using soy soluble polysaccharides [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 131: 107736-107748.
- [15] Zhang J, Jia G, Wanbin Z, et al. Nanoencapsulation of zeaxanthin extracted from *Lycium barbarum* L. by complex coacervation with gelatin and CMC [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112: 106280-106289.
- [16] Carvalho Da Silva L, Alves Do Nascimento M, Guabiraba Mendes L, et al. Optimization of cashew gum and chitosan for microencapsulation of pequi oil by complex coacervation [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(3): 13538-13545.
- [17] Anvari M, Pan C H, Yoon W B, et al. Characterization of fish gelatin-gum Arabic complex coacervates as influenced by phase separation temperature [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79: 894-902.
- [18] Frank K, Walz E, Graf V, et al. Stability of anthocyanin-rich W/O/W-emulsions designed for intestinal release in gastrointestinal environment [J]. J Food Science, 2012, 77(12): 50-57.
- [19] Shaddel R, Hesari J, Azadmard-damirchi S, et al. Use of gelatin and gum arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107(Pt B): 1800-1810.
- [20] Wolfe K L, Liu R H. Apple peels as a value-added food ingredient [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(6): 1676-1683.
- [21] Shaddel R, Hesari J, Azadmard-damirchi S, et al. Double emulsion followed by complex coacervation as a promising method for protection of black raspberry anthocyanins [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 803-816.
- [22] Ji R, Cui H, Duhoranimana E, et al. Co-encapsulation of L-ascorbic acid and quercetin by gelatin/sodium carboxymethyl cellulose coacervates using different interlayer oils [J]. Food Research International, 2021, 145: 110411-110421.
- [23] Timilsena Y P, Akanbi T O, Khalid N, et al. Complex coacervation: principles, mechanisms and applications in microencapsulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 121: 1276-1286.
- [24] Xiong W, Li Y, Ren C, et al. Thermodynamic parameters of gelatin-pectin complex coacervation [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 120: 106958-106966.
- [25] Luo W, Huang H, Zhang Y, et al. Complex coacervation behavior and the mechanism between rice glutelin and gum arabic at pH 3.0 studied by turbidity, light scattering, fluorescence spectra and molecular docking [J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 150: 112084-112092.
- [26] Li G Y, Chen Q H, Su C R, et al. Soy protein-polysaccharide complex coacervate under physical treatment: Effects of pH, ionic strength and polysaccharide type [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 68: 102612-102629.
- [27] Lv Y, Yang F, Li X, et al. Formation of heat-resistant nanocapsules of jasmine essential oil via gelatin/gum Arabic based complex coacervation [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 35: 305-314.
- [28] Ach D, Briancon S, Dugas V, et al. Influence of main whey protein components on the mechanism of complex

- coacervation with Acacia gum [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2015, 481: 367-379.
- [29] Aryee F N A, Nickerson M T. Formation of electrostatic complexes involving mixtures of lentil protein isolates and gum Arabic polysaccharides [J]. Food Research International, 2012, 48(2): 520-527.
- [30] Liu S, Cao Y L, Ghosh S, et al. Intermolecular interactions during complex coacervation of pea protein isolate and gum arabic [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(1): 552-556.
- [31] Ghadermazi R, Khosrowshahi A S L A, Tamjidi F. Optimization of whey protein isolate-quince seed mucilage complex coacervation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 368-377.
- [32] Zhang Q, Dong H, Gao J, et al. Field pea protein isolate/chitosan complex coacervates: Formation and characterization [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 250: 116925-116937.
- [33] Gorji E G, Waheed A, Ludwig R, et al. Complex coacervation of milk proteins with sodium alginate [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(12): 3210-3220.
- [34] Liu B, Lai L, Muhoza B, et al. Complex coacervates based on gelatin and sodium carboxymethyl cellulose as carriers for cinnamaldehyde: Effect of gelatin Bloom values on coacervates formation and interfacial properties [J]. Food Bioscience, 2021, 44: 101403-101412.
- [35] 霍云峰. 坛紫菜多糖的抗氧化活性及其包埋白藜芦醇微胶囊的制备和特性研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020.
- [36] Carpentier J, Conforto E, Chaigneau C, et al. Complex coacervation of pea protein isolate and tragacanth gum: Comparative study with commercial polysaccharides [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 69: 102641.
- [37] Ardestani F, Haghighi A S L A, Rafe A. Phase separation and formation of sodium caseinate/pectin complex coacervates: effects of pH on the complexation [J]. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2022, 9(1): 83-97.
- [38] 徐子淇. 壳聚糖-阿拉伯胶复凝聚制备芳樟醇微胶囊的研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2018.
- [39] 刘郁琪, 覃小丽, 阚建全, 等. 酪蛋白与可溶性大豆多糖的酶促糖基化产物制备及其性能分析[J]. 食品科学, 2020, 41(19): 74-78.
- [40] Chen X, Zhang R, Li Y, et al. Degradation of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* using UV/H(2)O(2) and its effects on structural characteristics [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 230: 115647-115658.
- [41] Zheng Y, Liang Y, Zhang D, et al. Gelatin-based hydrogels blended with gellan as an injectable wound dressing [J]. ACS Omega, 2018, 3(5): 4766-4775.
- [42] Bhowmik S, Islam J M M, Debnath T, et al. Reinforcement of gelatin-based nanofilled polymer biocomposite by crystalline cellulose from cotton for advanced wound dressing applications [J]. Polymers (Basel), 2017, 9(6): 222-234.
- [43] Guo Q, Su J, Shu X, et al. Production and characterization of pea protein isolate-pectin complexes for delivery of curcumin: Effect of esterified degree of pectin [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105777-105825.
- [44] Ma T, Zhao H, Wang J, et al. Effect of processing conditions on the morphology and oxidative stability of lipid microcapsules during complex coacervation [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 637-643.
- [45] 夏慧亭, 于佳鑫, 田然, 等. 复凝聚法制备橄榄油微胶囊[J]. 中国食品学报, 2017, 17(5): 108-114.
- [46] 秦亚南, 杨华峰, 康健, 等. 复合凝聚法制备葡萄籽油微胶囊[J]. 食品科技, 2018, 43(6): 199-203.
- [47] Hernández-nava R, López-malo A, Palou E, et al. Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 109: 106077-106084.
- [48] 王东辉, 赵裕蓉. 微胶囊的应用及研究进展[J]. 化工新型材料, 1999, 27(7): 11-14.
- [49] 张嘉颖. 复合凝聚法制备枸杞玉米黄质纳米胶囊及其性质研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2020.