

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.05.037

超声辅助制备葡萄柚精油纳米微胶囊及其表征

Ultrasound-assisted preparation and characterization of grapefruit essential oil nanocapsules

彭莹芸¹ 付复华^{1,2,3} 朱平平¹ 胡筱¹ 单杨^{1,2,3}PENG Ying-yun¹ FU fu-hua^{1,2,3} ZHU Ping-ping¹ HU Xiao¹ SHAN Yang^{1,2,3}

(1. 湖南大学研究生院隆平分院, 湖南长沙 410125; 2. 湖南省农业科学院, 湖南长沙 410125;

3. 湖南省农产品加工研究所, 湖南长沙 410125)

(1. Longping Branch, Graduate School of Hunan University, Changsha, Hunan 410125, China;

2. Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China;

3. Hunan Agricultural Product Processing Institute, Changsha, Hunan 410125, China)

摘要:采用复凝聚法结合正交试验设计,优化葡萄柚精油纳米微胶囊制备工艺。以 A 型明胶、海藻酸钠为壁材,葡萄柚精油为芯材, CaCl₂ 溶液为固化剂,在超声辅助的情况下,考察芯壁比、超声时间、超声振幅、固化剂添加量 4 个因素对微胶囊粒径大小的影响。通过激光粒度仪、傅里叶红外光谱仪及热重分析仪分别对葡萄柚精油纳米微胶囊的粒径分布、单体反应情况和热稳定性进行分析表征。结果表明:制备的最佳工艺为芯壁比 1:2 (g/g),超声时间 10 min,超声振幅 10%,固化剂与壁材质量比 1:3,此条件下制备出的微胶囊平均粒径为 (210.08 ± 10.12) nm,包埋率为 (65.02 ± 1.18)%; PDI 为 0.295,体系分散性较好; Zeta 电位值为 -18.4 mV,微胶囊带负电荷,体系较稳定;傅里叶红外光谱显示微胶囊含有葡萄柚精油的特征峰;热重分析试验结果显示包埋后的葡萄柚精油纳米微胶囊具有很好的热缓释。

关键词:葡萄柚精油;纳米微胶囊;复凝聚法

Abstract: The preparation technology of grapefruit essential oil nanocapsules was optimized by complex coacervation and orthogonal design. Nano-sized microcapsule were prepared with gelatin A and sodium alginate as wall materials, grapefruit essential oil as core material and CaCl₂ solution as curing agent. The effects were investigated, including core-wall ratio, ultrasonic time, ultrasonic amplitude and the amount of curing agent on the particle size of microcapsules. The particle size distribution, monomer re-

action and thermal stability of grapefruit essential oil nanocapsules were characterized by laser particle size analyzer, Fourier transform infrared spectrometer and thermogravimetric analyzer. The results showed that the optimum preparation process was as follows: core-wall ratio was 1:2, ultrasonic time was 10 min, ultrasonic amplitude was 10%, and the ratio of curing agent to wall material was 1:3. Under these conditions, the average particle size of microcapsules was (210.08 ± 10.12) nm, the encapsulation rate was (65.02 ± 1.18)%; PDI was 0.295, the dispersion of the system was good; Zeta potential was -18.4 mV, the microcapsules had negative charge, and the system was stable. Fourier transform infrared spectroscopy showed that the microcapsules contained characteristic peaks of grapefruit essential oil. Thermogravimetric analysis showed that the nano-microcapsules had good thermal sustained release.

Keywords: grapefruit essential oil; nano-microcapsules; particle size; complex coacervation

葡萄柚,别称西柚,是一种芸香科柑橘属植物,世界四大柑橘类群之一。葡萄柚精油是从葡萄柚的果皮中提取出来的芳香型挥发油,经科学鉴定其具有较强的抑菌活性,主要含有柠檬烯,月桂烯等成分^[1]。葡萄柚精油安全性高,内含抗癌性成分橙油素,具有抗氧化性。在食品工业中,葡萄柚精油尚有很大的开发前景,可用于食物赋香剂,天然保鲜剂等。但在工业应用中,葡萄柚精油易挥发,不利于贮存。

微胶囊技术是指利用天然的或合成的高分子材料包覆分散的固体、液体物质,甚至是气体,形成一种具有半透性或密封囊膜的微粒技术^[2]。微胶囊化所用的壁材可以降低外界环境对芯材物质的氧化等破坏,控制芯材物

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(编号:201303076);

湖南省科技创新平台与人才计划(编号:2018TP1030)

作者简介:彭莹芸,女,湖南大学在读硕士研究生。

通信作者:单杨(1963—),男,湖南省农业科学院研究员,博士。

E-mail: sy6302@sohu.com

收稿日期:2019-03-01

质的释放,广泛用于食品、纺织等领域^[3]。复凝聚法是制备微胶囊常用的方法,其原理为两种带有相反电荷的高分子电解质在水溶液中发生相互作用形成可将芯材包裹的复合凝聚物。采用复凝聚法制备的微胶囊,其操作相对简单,反应条件温和,对芯材更具有保护作用^[4]。纳米微胶囊是一类粒径尺寸在纳米级别的微胶囊,具有颗粒尺寸小、比表面积大,易于形成均一稳定的胶体溶液等优良特性,是近年来微胶囊领域备受重视的研究方向^[5]。石春韬等^[6]采用超声波法制备肉桂油-β-环糊精纳米微胶囊,包埋率可达38.17%,平均粒径为456.7 nm,可使肉桂油的热稳定性提高。Arunkumar等^[7]利用水溶性低的高分子量壳聚糖与叶黄素制备纳米微胶囊,包埋粒径在80~600 nm,壳聚糖与叶黄素通过¹H和¹³C之间的相互作用连接,每7个壳聚糖链之间存在1个叶黄素分子,形成具有可逆弱键力的纳米粒子。

本试验拟以A型明胶和海藻酸钠为壁材,CaCl₂为固化剂,采用超声辅助制备葡萄柚精油纳米级粒径微胶囊。通过正交试验优化筛选出葡萄柚精油纳米微胶囊化的最佳工艺参数。对葡萄柚精油纳米微胶囊产品化学结构和热稳定性分析,为葡萄柚精油纳米微胶囊在食品工业中进一步开发利用提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

1.1.1 材料与amp;试剂

葡萄柚精油:源叶生物有限公司;

海藻酸钠:食品级,青岛明月海藻有限公司;

A型明胶:分析纯,美国Sigma公司;

CaCl₂、冰醋酸、氢氧化钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

1.1.2 仪器与amp;设备

高速分散机:XHF-D型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

控温磁力搅拌器:78HW-1型,金坛市医疗仪器厂;

雷磁pH复合电极:E-201-C型,上海仪电科学仪器股份有限公司;

超声波细胞破碎仪:JY96-IIN型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

冷冻干燥机:AVANTI J-26XP型,美国Beckman公司;

粒径电位仪:Malvern Zetasizer Nano zs90型,马尔文仪器(中国)有限公司;

傅里叶红外光谱分析仪:NEXUS 670型,美国Nicolet公司;

热重分析仪:TGA4000型,美国PerkinElmer公司;

1.2 方法

1.2.1 葡萄柚精油纳米微胶囊的制备 参考Devi等^[8]

的方法,并优化。取一定体积浓度的海藻酸钠溶液于烧杯中,加入适量的葡萄柚精油和乳化剂,搅拌均匀后进行超声处理得乳液。在10 000 r/min高速分散条件下,向乳液中加入适量明胶溶液(明胶与海藻酸钠体积比值为3.5:1.0)。40℃进行磁力搅拌,并加入1%浓度的醋酸调节溶液pH值至3.8,待反应完全后降温至5~10℃。向烧杯中缓慢加入CaCl₂溶液使壁材进一步交联,得湿态微胶囊,整个过程持续搅拌。固化后,10 000 r/min离心15 min,取沉淀进行冷冻干燥得微胶囊。

1.2.2 葡萄柚精油纳米微胶囊单因素试验

(1) 芯壁比对微胶囊粒径的影响:固定超声时间15 min,超声振幅10%,固化剂与壁材质量比1:1,考察芯材与壁材的质量比为1:3,1:2,1:1,2:1,3:1条件下微胶囊乳液的平均粒径,选出最佳比例。

(2) 超声时间对微胶囊粒径的影响:固定芯壁比1:2,超声振幅10%,固化剂与壁材质量比1:1,考察超声时间为0(超声振幅为0%),5,10,15,20 min条件下微胶囊乳液的平均粒径,选出最佳比例。

(3) 超声振幅对微胶囊粒径的影响:固定芯壁比1:2,超声时间15 min,固化剂与壁材质量比1:1,考察超声振幅为5%,10%,15%,20%,25%条件下微胶囊乳液的平均粒径,选出最佳比例。

(4) 固化剂与壁材质量比对微胶囊粒径的影响:固定芯壁比1:2,超声时间15 min,超声振幅10%,考察固化剂与壁材质量比为1:4,1:3,1:2,1:1,2:1条件下微胶囊乳液的平均粒径,选出最佳比例。

1.2.3 葡萄柚精油纳米微胶囊最佳制备工艺的确定 为优化出最佳制备工艺条件,在单因素试验基础上,以平均粒径为考察指标,设计四因素三水平的正交试验,每组试验重复3次。

1.2.4 纳米微胶囊表面油、总油含量的测定及包埋率的计算

(1) 微胶囊表面油含量的测定:准确称取1.000 g微胶囊粉末用20 mL石油醚洗涤两次。将洗涤液转移到预先恒重的空烧瓶中。待石油醚完全蒸发后,将烧瓶于45℃烘箱中干燥1 h,每隔0.5 h称量1次,至称量前后干燥烧瓶的质量不超过0.1 mg。表面油含量为干燥后烧瓶的重量与空烧瓶的重量之差^[9]。

(2) 微胶囊总油含量的测定:准确称取1.000 g微胶囊粉末,用石油醚为抽提液,60℃条件下抽提10 h,然后在80℃条件下干燥至恒重,计算质量差值^[10]。

(3) 包埋率的计算:按式(1)计算。

$$R = \left(1 - \frac{m_1}{m_2}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中:

R——微胶囊包埋率,%;

m_1 ——表面油含量, g;

m_2 ——总油含量, g。

1.2.5 微胶囊粒径和 Zeta 电位测定 将制备好的葡萄柚精油纳米微胶囊溶液按一定比例稀释,用马尔文纳米激光粒度仪进行粒径和 Zeta 电位检测,检测温度 25 °C^[11]。

1.2.6 复凝聚产物的红外光谱分析 将明胶、海藻酸钠和微胶囊复凝聚产物进行红外光谱测定。采用压片法,将样品与 KBr 充分研磨混匀进行压片处理,于 4 000~400 cm^{-1} 内进行红外光谱扫描^[12]。

1.2.7 热重分析 参考文献[13],略有改动。取一定量的微胶囊粉末,利用热重分析仪测量热释放曲线。对微胶囊和葡萄柚精油进行测量,以 20 °C/min 速率从 20 °C 升至 200 °C。

1.3 数据处理

试验数据为 3 次平行试验的平均值,采用 Excel 软件进行数据统计,采用 Origin 8.1 软件作图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验及正交试验结果分析

2.1.1 芯壁比对微胶囊粒径大小的影响 由图 1 可知,当芯壁比为 1:2 (g/g) 时,微胶囊的平均粒径最小。芯壁比由 1:3 (g/g) 增至 1:2 (g/g) 时,平均粒径有所减小,可能是芯材与壁材达到一定比例时,在疏水作用驱使下发生了一定程度的调整,微胶囊结构变得紧凑,粒径变小并出现最小值。后随着芯壁比增大,芯材添加量变大,粒径逐渐增大。可能是精油用量过多,导致乳化不完全,粒径变大,部分精油未被包埋,最终导致微胶囊壁较薄,释放出精油。综合考虑,选择芯壁比 1:3,1:2,1:1 (g/g) 进行后续试验。

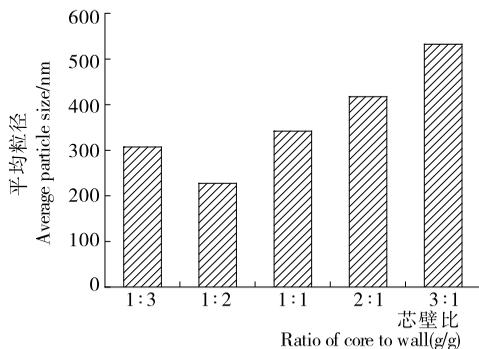


图 1 芯壁比对微胶囊粒径大小的影响

Figure 1 Effect of core-wall ratio on particle size

2.1.2 超声时间对微胶囊粒径大小的影响 由图 2 可知,随着超声时间的增加,纳米微胶囊的平均粒径先减小后增大。超声处理 15 min 时,微胶囊的平均粒径最小。随着芯材与壁材接触时间的延长,在超声作用下,芯材进入壁材形成空腔,芯材被包埋。由于包埋反应为放热反应,随着超声处理时间的增加,超声波的热效应引起溶液

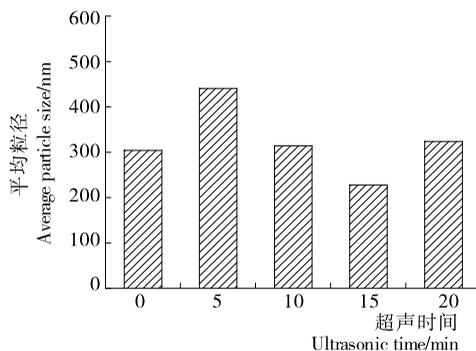


图 2 超声时间对微胶囊粒径大小的影响

Figure 2 Effect of ultrasonic time on particle size

温度的升高,一定程度上促使包埋反应向反方向进行^[13],进而影响微胶囊粒径的大小。综合考虑,选择超声时间 10,15,20 min 进行后续试验。

2.1.3 超声振幅对微胶囊粒径大小的影响 由图 3 可知,随着超声振幅的增加,微胶囊的平均粒径先减小后增大。当超声振幅为 10% 时,微胶囊的平均粒径最小。随着超声振幅的增大,乳化作用加剧、纳米微胶囊的粒径变小。当超声振幅超过 15%,微胶囊的粒径开始变大,可能是超声振幅较高,机械振动太强破坏了精油微乳体系的形成。综合考虑,选择超声振幅 5%,10%,15% 进行后续试验。

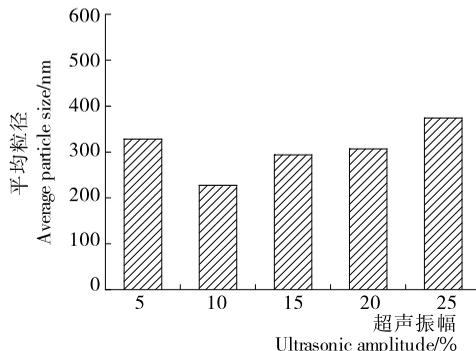


图 3 超声振幅对微胶囊粒径大小的影响

Figure 3 Effect of ultrasonic amplitude on on particle size

2.1.4 固化剂与壁材质量比对微胶囊粒径大小的影响

由图 4 可知,当固化剂与壁材质量比为 1:1 时,微胶囊的粒径最小。随着固化剂添加量的增多,微胶囊的平均粒径先减小后增大,可能是氯化钙与海藻酸钠的质量比不断增大,两者之间的离子交联作用不断增强,微胶囊结构变得紧凑,1:1 时 Ca^{2+} 与 SA 聚合较好。继续增大固化剂添加量会导致体系变得不稳定,阳离子浓度增大,颗粒容易聚集,粒径增大。综合考虑,选择固化剂与壁材质量比 1:3,1:2,1:1 进行后续试验。

2.1.5 正交试验结果与分析 在单因素试验基础上,选

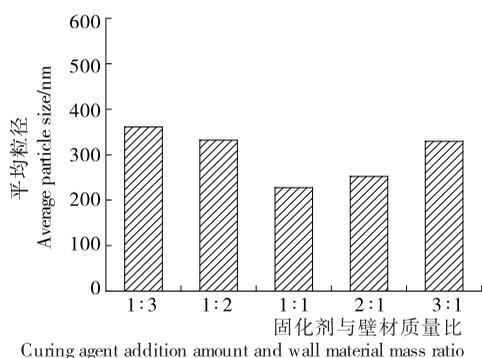


图4 固化剂与壁材质量比对微胶囊粒径大小的影响

Figure 4 Effect of the ratio of curing agent to wall material on the particle size of microcapsule

取芯壁比、超声时间、超声振幅、固化剂与壁材质量比4个因素,设计四因素三水平的正交试验,见表1。以微胶囊的平均粒径为评价指标,优化葡萄柚精油纳米微胶囊制备工艺参数,试验结果见表2。由正交试验结果可知,最佳制备葡萄柚精油纳米微胶囊的工艺为A₂B₁C₂D₁,即芯壁比1:2(g/g),超声时间10min,超声振幅10%,固化剂与壁材质量比1:3。根据极差值分析可知,各因素对葡萄柚精油纳米微胶囊平均粒径影响的大小依

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal tests factor level table

| 水平 | A 芯壁比 (g/g) | B 超声时间/min | C 超声振幅/% | D 固化剂与壁材质量比 |
|----|-------------|------------|----------|-------------|
| 1 | 1:3 | 10 | 5 | 1:3 |
| 2 | 1:2 | 15 | 10 | 1:2 |
| 3 | 1:1 | 20 | 15 | 1:1 |

表2 正交试验结果

Table 2 The results of Orthogonal tests

| 试验号 | A | B | C | D | 平均粒径/nm |
|----------------|--------|--------|--------|--------|---------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 281.7 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 271.3 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 342.6 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 215.5 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 315.7 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 257.9 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 342.9 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 398.2 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 286.2 |
| <hr/> | | | | | |
| K ₁ | 298.53 | 280.03 | 312.60 | 294.53 | |
| K ₂ | 263.03 | 328.40 | 257.67 | 290.70 | |
| K ₃ | 342.43 | 295.57 | 333.73 | 318.77 | |
| R | 79.40 | 48.37 | 76.07 | 28.07 | |

次为芯壁比>超声振幅>超声时间>固化剂与壁材质量比。在最佳的制备工艺参数下进行验证实验,3次平行试验得葡萄柚精油纳米微胶囊的平均粒径为(210.08±10.12)nm,说明正交试验对工艺参数起到了优化作用。最佳制备工艺条件下的葡萄柚精油纳米微胶囊包埋率为(65.02±1.18)%。

采用SPSS 17.0对正交试验结果进行方差分析,结果见表3。由表3可知,对葡萄柚精油纳米微胶囊平均粒径影响大小的因素为A>C>B>D,与极差分析结果一致,4种因素对葡萄柚精油纳米微胶囊平均粒径影响均显著。

表3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

| 来源 | 平方和 | 自由度 | 均方 | F值 | 显著性(P) |
|----|------------|-----|-----------|-------|--------|
| A | 9 491.820 | 2 | 4 745.910 | 1.596 | <0.05 |
| B | 3 658.647 | 2 | 1 829.323 | 0.615 | <0.05 |
| C | 9 250.427 | 2 | 4 625.213 | 1.555 | <0.05 |
| D | 1 389.687 | 2 | 694.843 | 0.234 | <0.05 |
| 误差 | 23 790.580 | 8 | | | |

2.2 微胶囊粒径及电位分析

由图5可知,最佳制备工艺条件下制得微胶囊平均粒径为210.4nm,分布指数PDI为0.295。PDI越大,分子量分布越宽;PDI越小,分子量分布越均匀。说明制得的葡萄柚精油纳米微胶囊粒径大小在纳米范围内,体系内粒子分布相对均匀。Zeta电位值可表示微胶囊溶液体系的稳定性,其绝对值越高表示体系越稳定。测得葡萄柚精油纳米微胶囊溶液的Zeta电位值为-18.4mV,微胶囊带负电荷,体系较稳定。

2.3 微胶囊红外光谱分析

由图6可知,在氨基存在的情况下,A型明胶在酸性条件具有正电荷。A型明胶的红外光谱图显示,在3426cm⁻¹处出现N-H伸缩振动的红外吸收带,1635cm⁻¹为酰胺羰基伸缩振动峰,1542cm⁻¹为明胶

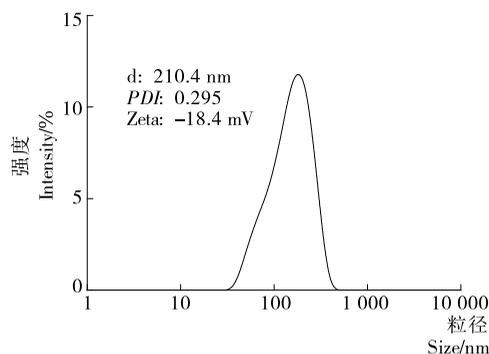
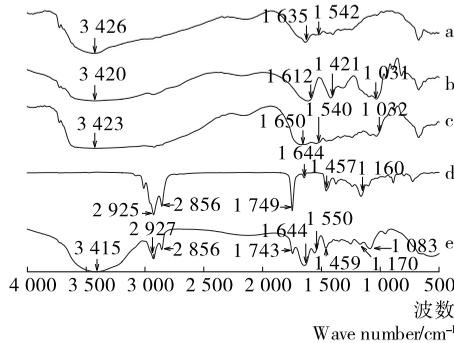


图5 葡萄柚精油纳米微胶囊粒径分布图

Figure 5 Particle size distribution of grapefruit essential oil nano-microcapsules

结构中酰胺二带 N—H 弯曲振动的吸收峰。海藻酸钠存在大量的羧基,在 3 423 cm⁻¹处出现 COO—H 伸缩振动峰;1 612 cm⁻¹处为海藻酸钠羰基的红外特征峰,1 423,1 031 cm⁻¹分别为对称伸缩峰和 C—H 内面弯曲振动。明胶—海藻酸钠复凝聚产物保留了明胶和海藻酸钠的特征吸收峰,载油微胶囊显示了精油的特征峰。同时海藻酸钠在 1 421 cm⁻¹处消失,说明明胶与海藻酸钠之间发生反应。



a. A 型明胶 b. 海藻酸钠 c. 复凝聚产物 d. 精油 e. 微胶囊
图 6 葡萄柚精油纳米微胶囊及其单体成分的红外光谱图

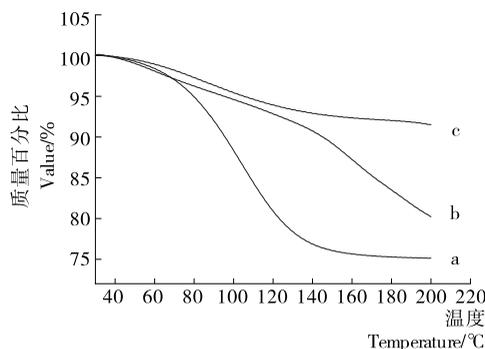
Figure 6 Infrared spectrum of grapefruit essential oil nano-microcapsules and their monomer components

2.4 微胶囊热重分析

对最佳制备工艺条件下的微胶囊进行热重分析。由图 7 可知,当温度 ≥ 80 °C 时,葡萄柚精油的失重速率明显快于葡萄柚精油纳米微胶囊和空白胶囊。说明包埋后的葡萄柚精油纳米微胶囊具有很好的热缓释。

3 结论

本试验通过正交试验,以平均粒径为优化指标,得到葡萄柚纳米微胶囊最佳制备工艺为芯壁比 1 : 2 (g/g),超声时间 10 min,超声振幅 10%,固化剂与壁材质量比



a. 葡萄柚精油 b. 葡萄柚精油纳米微胶囊 c. 空白微胶囊
图 7 热重分析图

Figure 7 Thermogravimetric analysis

1 : 3,此条件下的微胶囊平均粒径为 (210.08 ± 10.12) nm,包埋率为 (65.02 ± 1.18)%;PDI 为 0.295,体系分散性较好;Zeta 电位值为 -18.4 mV,微胶囊带负电荷,体系较稳定;傅里叶红外光谱显示微胶囊含有葡萄柚精油的特征峰;热重分析试验结果显示包埋后的葡萄柚精油纳米微胶囊具有很好的热缓释。本研究制备的葡萄柚纳米微胶囊达到了纳米级别的要求,包埋效果优于文献[14]报道,且葡萄柚纳米微胶囊的体系稳定。

参考文献

[1] 施迎春. 提取方法对葡萄柚精油性质与组成的影响[J]. 浙江农业学报, 2012, 24(2): 305-309.
 [2] LV Yi, ZHANG Xiao-ming, Zhang Hai-yang, et al. The study of pH-dependent complexation between gelatin and gum arabic by morphology evolution and conformational transition[J]. Food Hydrocolloids, 2013, 30(1): 323-332.
 [3] CHAMPAGNE C P, FUSTIER P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2007, 18(2): 184-190.
 [4] 范方宇, 蒋生旺, 曹颖, 等. 复凝聚法制备茶油微胶囊[J]. 食品与机械, 2016, 32(7): 181-185.
 [5] 杨小兰, 袁娅, 谭玉荣, 等. 纳米微胶囊技术在功能食品中的应用研究[J]. 食品科学, 2013, 34(21): 359-368.
 [6] 石春韬, 李萍, 舒婷. 肉桂油-β-环糊精纳米微胶囊的超声波法制备与表征[J]. 食品工业科技, 2016, 37(18): 307-323.
 [7] ARUNKUMAR R, PRASHANTH K V H, BASKARAN V. Promising interaction between nanoencapsulated lutein with low molecular weight chitosan: Characterization and bioavailability of lutein in vitro and in vivo[J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 327-337.
 [8] DEVI N, HAZARIKA D, DEKA C, et al. Study of complex coacervation of gelatin and sodium alginate for microencapsulation of olive oil[J]. Journal of Macromolecular Science, Part A, 2012, 49(11): 936-945.
 [9] 岳淑丽, 任小玲, 向红, 等. 桉叶精油微胶囊包埋油含量测定方法的比较[J]. 包装工程, 2016, 卷? (15): 67-71.
 [10] 陈琳皓, 单杨, 李高阳. 复凝聚法制作甜橙香精微胶囊工艺研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(3): 198-202.
 [11] 董志俭, 夏书芹, 贾承胜, 等. pH 对复凝聚薄荷油微胶囊形态及复合凝聚物性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(6): 57-61.
 [12] 刘云, 张传杰, 赵瑾朝, 等. 明胶/海藻酸钠(京尼平交联)互穿网络膜的制备与性能[J]. 复合材料学报, 2015, 32(4): 997-1006.
 [13] 李超, 肖佰惠. 超声法制备苘麻籽油微胶囊的工艺优化[J]. 食品科学, 2011, 32(18): 39-43.
 [14] 马双双, 肖作兵, 胡静, 等. 纳米桂花香精胶囊的制备研究[J]. 食品工业, 2010(5): 37-40.