

响应面法优化微胶囊补铁剂的制备工艺参数

于长青, 王长瑞, 姚美娜

(黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: 利用响应面分析法对微胶囊补铁剂的影响因素, 微胶囊的壁材质量与芯材体积之比、预冻时间和壁材质量浓度 3 个因素进行优化。结果表明, 壁材质量与芯材体积之比为 19.5:1(g/mL)、壁材质量浓度为 9.8g/100mL 和预冻时间 13.0h, 血红素微胶囊的包埋率为 92.2%。

关键词: 血红素; 微胶囊; 优化; 响应面法

Use of Response Surface Methodology to Optimize Hemoglobin Microencapsulation

YU Chang-qing, WANG Chang-rui, YAO Mei-na

(College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: Central composite design followed by multiple regression analysis and response surface analysis was employed to optimize hemoglobin microencapsulation. The results showed that the optimum conditions for hemoglobin microencapsulation were as follows: wall material-to-core material ratio 19.5:1 (g/mL), wall material concentration 9.8 g/100 mL and length of prefreezing time 13.0 h. Under such conditions, the embedding ratio of hemoglobin was 92.2%.

Key words: hemoglobin; microcapsule; optimization; response surface analysis

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)12-0058-04

缺铁性贫血仍是影响我国儿童和育龄妇女的主要营养缺乏病, 我国患有不同程度贫血症状人群高达 3800 万, 而在食物中的铁有两种存在形式: 一种是离子铁, 即非血红素铁, 非血红素铁在食物中尽管含量较高, 但人体难以吸收; 另一种是血红素铁, 它是高等动物的血液、肌肉中的红色素, 由卟啉和亚铁离子构成^[1-2]。血红素对光敏感, 易受过氧化物氧化破坏, 在正常情况下, 极不稳定^[3]。因此引入微胶囊技术, 以血红素为芯材, 制备新型的微胶囊补铁剂。微胶囊技术是指利用天然的或者合成的高分子包囊材料, 将固体、液体或气体物质包埋在微小、半透性或密封的胶囊内, 使内容物在特定条件下才可以有控制性的速率进行释放的技术^[4]。通过微胶囊技术可以达到隔离活性成分、保护芯材免受环境影响、掩盖不良味道或气味、控制释放等目的^[5]。微胶囊的制备方法有许多种, 常用的有锐孔法^[6]、分子包埋法^[7]、喷雾干燥法^[8]、喷雾冷却法^[9]、相分离法^[10]等。微胶囊技术已广泛地应用在食品、医药、化工、农业等许多领域。目前, 已有关于胡萝卜素^[11]、番茄红素^[12]、姜辣素^[13]、丁香油^[14]等很多食用香料、风味剂防腐剂和酶制剂微胶囊化工艺的报道,

关于营养强化剂补铁制剂血红素微胶囊化报道则很少。本实验将制得的血红素进行微胶囊包裹, 将其制成新型的微胶囊补铁制剂, 并采用响应面法对其微胶囊补铁制剂的工艺参数进行优化, 得出最佳的微胶囊补铁制剂的工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

血红素铁 实验室自制; 黄原胶、明胶、阿拉伯胶、卡拉胶、邻菲罗啉、盐酸羟胺、乙酸钠、碳酸钠、乙醇所用试剂均为分析纯; 水为去离子水。

FA1104 型电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; LGJ-10 型冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂; EF-C3 型高压均质机 上海光健技术有限公司; FS-2 型高速分散器 金坛市城西春兰实验仪器厂; GCF 系列磁力搅拌器 上海志威电器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 检测方法

1.2.1.1 微胶囊包埋率测定

收稿日期: 2009-03-09

基金项目: 黑龙江省“十一五”科技攻关项目(GB06B403-1-2); 黑龙江省科技厅攻关计划项目(GB04B404-04)

作者简介: 于长青(1969—), 男, 教授, 博士, 主要从事畜产品加工和功能性食品研究。E-mail: wcr5210@163.com

$$\text{微胶囊包埋率} / \% = (1 - \frac{\text{微胶囊表面血红素含量}}{\text{产品中血红素含量}}) \times 100$$

1.2.1.2 血红素标准曲线的绘制

准确吸取 $10 \mu\text{g/mL}$ 铁的标准溶液 0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL，分别置于 50mL 容量瓶中，分别加入质量分数 10% 的盐酸羟胺 1mL，1mol/L 的乙酸钠溶液 0.5mL、0.3g/100mL 的邻菲罗啉 1mL，最后加水定容至刻度，摇匀。以不加铁的试剂空白溶液作参比，在 510nm 波长处测其吸光度，然后以吸光度(A)为纵坐标，以铁的质量浓度(C, g/mL)为横坐标绘制标准曲线，得回归方程 $A = 0.1477C$, $R=0.9988$ 。

1.2.1.3 微胶囊产品中血红素铁含量测定

准确称取 0.5g 样品，烘干、碳化，在 $550 \sim 600^\circ\text{C}$ 条件下碳化 4h，冷却至室温，在坩埚中加入 5mL 3mol/L 的盐酸，在电炉上加热沸腾 5min，冷却至室温过滤去杂质，收集滤液于 50mL 容量瓶中，定容至刻度，测定血红素铁含量。

1.2.1.4 微胶囊表面血红素含量测定

准确称取 0.5g 样品，加体积分数 50% 的乙醇溶液 10mL 充分搅拌，4000r/min 离心 25min，收集上清液于 50mL 容量瓶中，定容至刻度，测定血红素铁含量。

1.2.2 微胶囊的提取工艺

将芯材血红素铁溶于一定量的 0.25g/100mL 的碳酸钠溶液中，制成芯材溶液；再将壁材溶于一定量的水中，使其溶胀、分散均匀，制成壁材溶液。将芯材溶液分散在壁材溶液中，充分搅拌，直至混合均匀，将半固态或液态制品涂抹或倾斜在大玻璃平皿上，于 -18°C 预冻 12h 后，进行冷冻干燥，干燥后的制品粉碎过 100 目筛，即得微胶囊补铁剂成品。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 壁材的确定

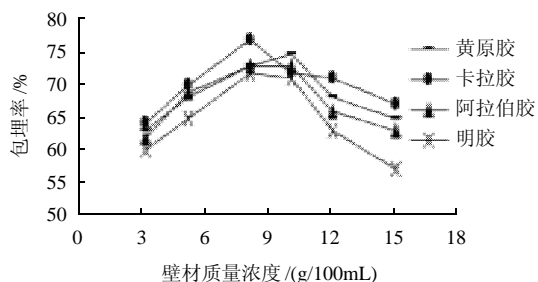


图1 壁材选择

Fig.1 Effect of wall material type on the embedding ratio of hemoglobin

将壁材质量与芯材体积之比固定为 15:1(g/mL)，分别选择黄原胶、卡拉胶、阿拉伯胶、明胶为壁材，分别采用壁材质量浓度为 3、5、8、10、12、15g/100mL 的条件下制备血红素微胶囊，结果见图 1。

由图 1 可知，4 种壁材的包埋率均是先增高后降低，降低是因为壁材的质量浓度太大，使芯材很难完全溶解在壁材溶液中，但从芯材壁材溶液的溶解程度及经济角度考虑，卡拉胶是较为理想的壁材，且血红素的包埋率在卡拉胶质量浓度为 8g/100mL 时达到最高 77%，因此选取卡拉胶为血红素微胶囊的最佳壁材。

2.1.2 壁材质量与芯材体积之比的确定

确定壁材质量浓度为 5g/100mL，预冻时间 12h 的条件下，分别测定壁材质量与芯材体积之比为 30:1、25:1、20:1、15:1、10:1、5:1(g/mL)对血红素微胶囊的影响见图 2。

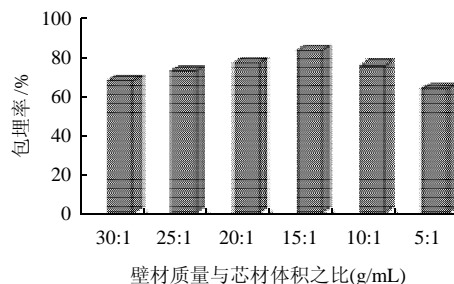


图2 壁材质量与芯材体积之比对包埋率的影响

Fig.2 Effect of wall material-to-core material ratio on the embedding ratio of hemoglobin

由图 2 可知，血红素的包埋率随着芯材比例的升高而先升高后下降，这是因为起初过低的芯材比例要求壁材的质量浓度也很低，制备微胶囊时就需要除去大量的水分，这将影响血红素的包埋率，因此随着芯材比例的增加，芯材血红素的包埋率也随之增加；而当微胶囊芯材比例不断上升时，芯材就很难完全溶解到壁材中，导致芯材的包埋率下降。因此，当壁材质量与芯材体积之比为 15:1(g/mL)时，达到血红素微胶囊包埋率的最大值 83%。

2.1.3 预冻时间的确定

在确定壁材质量与芯材体积之比为 15:1(g/mL)，壁材质量浓度为 5g/100mL 的条件下，分别测定 8、10、12、14、16、18h 的预冻时间对血红素微胶囊的影响见图 3。

由图 3 可知，血红素的包埋率随着预冻时间的增加而先增加后减少，这是因为预冻时间过长直接影响冷冻干燥后的血红素微胶囊的结构，使其在研磨筛分过程中，成型效果不好而使微胶囊包埋率下降，此外考虑实验周期的长短，选择 12h 为最佳预冻时间。

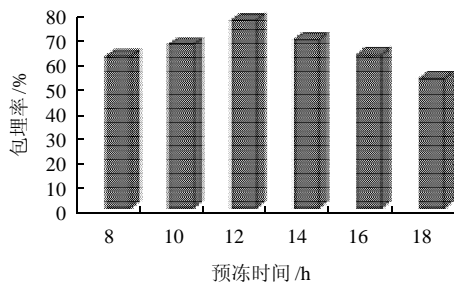


图3 预冻时间对包埋率的影响

Fig.3 Effect of length of prefreezing time on the embedding ratio of hemoglobin

2.1.4 壁材质量浓度的确定

在确定壁材质量与芯材体积之比 15:1(g/mL), 预冻时间 12h 的条件下, 壁材质量浓度为 3、5、8、10、12、15g/100mL 对血红素微胶囊的影响见图 4。

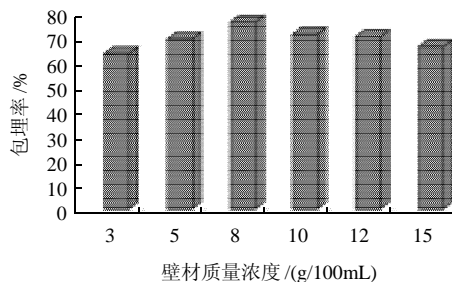


图4 壁材质量浓度对包埋率的影响

Fig.4 Effect of wall material concentration on the embedding ratio of hemoglobin

由图 4 可知, 随着卡拉胶质量浓度的增加, 血红素的包埋率呈现增加的趋势。其原因在于, 在稀溶液中高分子以线团的形式分散, 分子之间分离的很远; 随着壁材质量浓度的增加, 高分子之间逐渐靠近; 质量浓度继续增加时, 高分子线团之间可相互作用、缠结, 使壁材结构更加稳定, 芯材很难完全进入, 从而使血红素的包埋率降低。卡拉胶质量浓度在 8g/100mL 时, 微胶囊中芯材的包埋率达到最大。

2.2 响应面法试验设计及模型建立

表1 试验因素水平编码及水平设置

Table 1 Factors and levels in the central composite design

编码值	X ₁ 壁材质量与 芯材体积之比(g/mL)	X ₂ 预冻时间/h	X ₃ 壁材质量浓 度/(g/100mL)
1.682	25:1	15	12
1	21:1	13.8	10.4
0	15:1	12	8
-1	9:1	10.2	5.6
-1.682	5:1	9	4

在上述单因素试验的基础上, 进行响应面曲面设计, 以壁材质量与芯材体积之比、预冻时间及壁材质

量浓度对工艺参数进行优化。试验因素水平编码见表 1, 试验设计方案及结果见表 2。

表2 响应曲面分析试验点安排及试验结果

Table 2 Central composite design matrix and experimental results

试验号	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	Y 包埋率/%
1	1	1	1	1	91
2	1	1	1	-1	81
3	1	1	-1	1	86
4	1	1	-1	-1	78
5	1	-1	1	1	75
6	1	-1	1	-1	73
7	1	-1	-1	1	87
8	1	-1	-1	-1	77
9	1	-1.682	0	0	83
10	1	1.682	0	0	74
11	1	0	-1.682	0	84
12	1	0	1.682	0	80
13	1	0	0	-1.682	90
14	1	0	0	1.682	74
15	1	0	0	0	84
16	1	0	0	0	85
17	1	0	0	0	83
18	1	0	0	0	84
19	1	0	0	0	85
20	1	0	0	0	84
21	1	0	0	0	86
22	1	0	0	0	84
23	1	0	0	0	83

利用 SAS 8.2 统计分析软件, 通过表 2 的试验数据进行多元回归拟合, 获得微胶囊补铁剂的包埋率 Y 与 X₁、X₂、X₃ 的二次多项回归方程:

$$Y = -276.508717 + 7.928800X_1 + 30.483040X_2 + 19.161545X_3 - 0.195054X_1^2 + 0.034722X_1X_2 - 1.167264X_2^2 - 0.078125X_1X_3 - 0.086806X_2X_3 - 0.844084X_3^2$$

表3 参数估计

Table 3 Significance test for each term of the fitted regression model

项	系数	t 值	P 值
常量	-276.508717	-6.78	< 0.0001
X ₁	7.928800	6.20	< 0.0001
X ₂	30.483040	5.66	< 0.0001
X ₃	19.161545	5.78	< 0.0001
X ₁ ²	-0.195054	-10.56	< 0.0001
X ₁ X ₂	0.034722	0.41	0.6914
X ₂ ²	-1.167264	-5.69	< 0.0001
X ₁ X ₃	-0.078125	-1.22	0.2449
X ₂ X ₃	-0.086806	-0.41	0.6914
X ₃ ²	-0.844084	-7.31	< 0.0001

从该模型的参数估计(表 3)可见, 二次多项模型具有高度的显著性(P_{模型} < 0.0001), 失拟项的 F 值大于 0.05 水平的 F 值, 说明该模型拟合良好。一次项、二次项和交互项的 F 值均大于 0.01 水平上的 F 值, 说明各因素对血红素的制备具有极其显著的影响, 各因素影响程度

从大到小的依次顺序为壁材质量与芯材体积之比>壁材质量浓度>预冻时间。

2.3 响应面以及等高线分析结果

为了观察某两个因素同时对包埋率的影响,采用降维的分析方法,即观察在其他因素条件固定不变的情况下,某两个因素对包埋率的影响。而令其他因素水平值为零,就得到某两个因素对包埋率影响的二元二次方程。

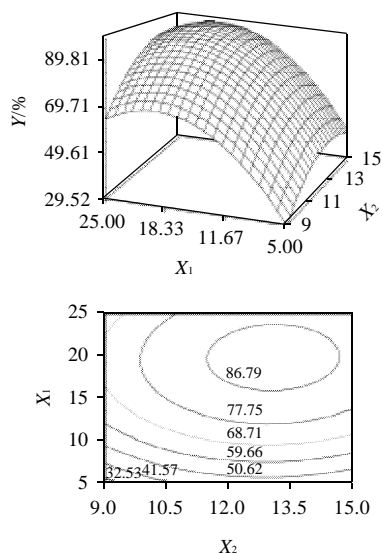


图5 X_1 与 X_2 交互关系图

Fig.5 Response surface plot and contour plots showing the interactive effects of wall material-to-core material ratio and length of prefreezing time on the embedding ratio of hemoglobin

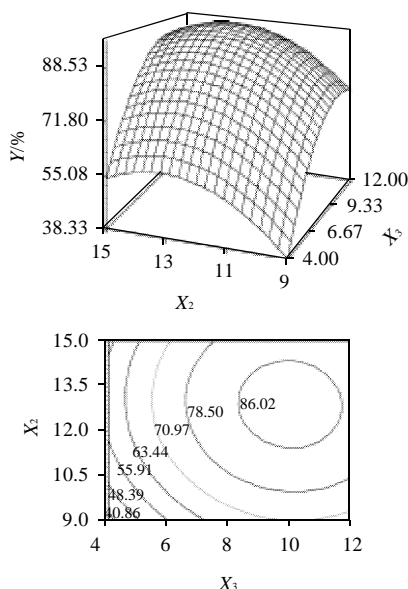


图6 X_2 与 X_3 交互关系图

Fig.6 Response surface plot and contour showing the interactive effects of length of prefreezing time and wall material concentration on the embedding ratio of hemoglobin

由图5、6中等高线以及响应面曲线的疏密程度可

知, X_1 在5:1~21:1(g/mL)、 X_2 在9~12h和 X_3 在4~10g/100mL范围内时两者存在着显著的增效作用,即 X_1 与 X_2 、 X_3 与 X_3 各个因素两两之间起到相互促进的作用,在壁材质量与芯材体积之比达到21:1(g/mL)、预冻时间达到12h,壁材质量浓度为10g/100mL时,协同作用达到最大,血红素微胶囊的包埋率最高;在超过该区域后又有明显的拮抗作用。在 $R^2 = 0.9794$,通过对回归方程求偏导,得出血红素制备的最佳条件:壁材质量与芯材体积之比为19.521857:1(g/mL)、壁材质量浓度为9.779391g/100mL和预冻时间为12.984194h,血红素微胶囊的包埋率为92.476709%。根据此条件进行验证实验,实验条件为壁材质量与芯材体积之比为19.5:1(g/mL)、壁材质量浓度9.8g/100mL和预冻时间13.0h,血红素微胶囊的包埋率为92.2%。与预测值相差2.7%,小于5%,说明拟合较好。

3 结论

采用冷冻干燥工艺,结合粉碎、筛分技术,制备微胶囊补铁剂——血红素微胶囊,从经济价格考虑,黄原胶、阿拉伯胶、卡拉胶是较为合适的壁材;综合考虑经济价值等原因,最终选择卡拉胶为血红素微胶囊的壁材。通过响应面法分析得到结果,壁材质量与芯材体积之比为19.5:1(g/mL)、壁材质量浓度为9.8g/100mL和预冻时间13.0h,血红素微胶囊的包埋率为92.2%。

本实验初步研究了微胶囊补铁剂的制备参数对成品铁-强营养剂的影响,可为铁-强营养剂提供一些技术参考。今后还将进行更深入的研究,进一步优化工艺参数,为工业化生产提供更多的数据。

参考文献:

- [1] 左利平. 铁与人体健康[J]. 大同医学专科学校学报, 2004, 24(2): 35-36.
- [2] 汪学荣, 王飞. 生物态补铁剂-血红素铁研究进展[J]. 粮食与油脂, 2007(4): 21-23.
- [3] 张纯丽. 酶解猪血血红蛋白制备小肽粉方法的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.
- [4] 吴克刚, 柴向华. 食品微胶囊技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006: 160-162.
- [5] VILSTRUP P. Microencapsulation of food ingredients[M]. 2nd ed. Surry: Leatberbead Publisburg, 2004: 1-68; 107-112; 128.
- [6] 吴彩娥, 许克勇, 李兀瑞, 等. 气流式锐孔法制作猕猴桃籽油微胶囊的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(3): 133-137.
- [7] 吴春, 陈林林, 李健. 菊丝子黄酮的微胶囊化及释放性能研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(9): 264-266.
- [8] DESAI K G, PARK H J. Effect of manufacturing parameters on the characteristics of vitamin C encapsulated tripolypbospbatecitosan microspheres prepared by spray-drying[J]. Journal of Microencapsulation, 2006, 23(1): 91-103.
- [9] LEE J B, ALM J, LEE J, et al. L-ascorbic acid microencapsulated with polyaclyglycerol monostearate for milk fortification[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2004, 68(3): 495-500.
- [10] UDDIN M S, ZHU H J, HAWLADER M N A. Microencapsulation of ascorbic acid: effect of process variables on product characteristics[J]. Journal of Microencapsulation, 2001, 18(2): 199-209.
- [11] 李军, 胡小松. 喷雾干燥工艺参数对 β -胡萝卜素微胶囊化的影响[J]. 中国食品添加剂, 2002(5): 31-35.
- [12] 李伟. 番茄红素的纯化、性质研究及微胶囊化[D]. 无锡: 江南大学, 2003.
- [13] 钟业俊, 叶云花, 刘成梅, 等. 姜辣素喷雾干燥微胶囊化研究[J]. 江西食品工业, 2006(1): 29-32.
- [14] 徐文秀, 吴彩娥, 李强, 等. 丁香油喷雾干燥微胶囊技术研究[J]. 食品科学, 2006, 27(1): 278-281.