DOI:10.12441/spyswjs.20241029001 [文章编号] 1673-1689(2025)02-0143-11

杜仲黄酮酵母微胶囊工艺优化及其缓释特性

陈书明[1] 韩四海[2] 刘欢龙[3]

(1. 三门峡市生物技术重点实验室,河南 三门峡 472511; 2. 河南科技大学食品与生物工程学院,河南 洛阳 471023; 3. 河南科技大学应用工程学院,河南 三门峡 472100)

摘要:【目的】提高杜仲(*Eucommia ulmoides*)黄酮的稳定性和利用率。**【方法】**以酵母细胞为壁材对杜仲黄酮进行包封,通过单因素结合响应面试验优化微胶囊的制备工艺,研究高温、紫外光照射和长期贮存对微胶囊稳定性的影响,并探究微胶囊在模拟体外消化和食品模拟物体系中杜仲黄酮的释放行为。**【结果】**最佳制备工艺为芯壁质量比1∶3、包埋时间5.9 h、包埋温度45 ℃,此时包埋率为(78.6±0.8)%。微胶囊经高温、紫外光照射和长期贮存后仍具有较高的保留率,在模拟肠液中的释放率显著高于模拟胃液,在体积分数95%乙醇中的释放量显著高于体积分数10%乙醇。在食品模拟物体系中的释放行为均符合Zero-Order和Hixson-Crowell模型(R^2>0.90),且Ritger and Peppas模型的K值<0.45,表明扩散方式为菲克扩散。微观形貌结果表明,微胶囊呈椭圆形,表面光滑无裂痕,但经乙醇处理后微胶囊出现明显凹陷和裂痕。**【结论】**酵母细胞包埋杜仲黄酮可显著提高其稳定性和缓释特性。

关键词:杜仲黄酮;酵母细胞;微胶囊;工艺优化;缓释特性

Process Optimization and Sustained Release Characterization of Microcapsules of *Eucommia ulmoides* Flavonoids Encapsulated in Yeast Cells

CHEN Shuming[1] *HAN Sihai*[2] *LIU Huanlong*[3]

(1. Sanmenxia Key Laboratory of Biotechnology, Sanmenxia 472511, China; 2. School of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China; 3. School of Applied Engineering, Henan University of Science and Technology, Sanmenxia 472100, China)

Abstract: [**Objective**] The aim of the study is to improve the stability and utilization of *Eucommia ulmoides* flavonoids. [**Method**] *Eucommia ulmoides* flavonoids were encapsulated with yeast cells as the wall material. The preparation process of microcapsules was optimized by single factor experiments combined with response surface methodology. The effects of high temperature treatment, ultraviolet irradiation, and long-term storage on the stability of microcapsules were studied. Furthermore, the release behaviors of microcapsules in the simulated gastrointestinal tract and food simulants were investigated. [**Result**] The optimal preparation process for microcapsules was core-wall mass ratio of 1∶3, encapsulation time of 5.9 h, and encapsulation temperature of 45 ℃, under which the microcapsule encapsulation rate was (78.6±0.8)%. The microcapsules showed a high retention rate after high temperature treatment, ultraviolet irradiation, and long-term storage. The release rate of microcapsules in the simulated intestinal fluid was significantly higher than that in the simulated gastric fluid. Furthermore, the release in 95% ethanol by volume fraction was significantly higher than that in 10% ethanol by volume fraction. The release behaviors in the two food simulants were consistent with Zero-Order and Hixson-Crowell models (R^2>0.90), and the K-value of the Ritger and Peppas model was less than 0.45, indicating

基金项目:河南省科技攻关项目(242102110097);三门峡市科技攻关项目(2023L02010)。

通信作者:陈书明(1980—),女,硕士,副教授,主要从事食品生物技术研究。E-mail:csm1232024@163.com

收稿日期:2024-10-29 **修回日期:**2025-02-10

Fickian diffusion. The microcapsules were ellipsoidal and had smooth surfaces without cracks, while significant dents and cracks appeared after treatment with ethanol. [**Conclusion**] The stability and sustained release characteristics of *Eucommia ulmoides* flavonoids can be significantly improved by encapsulation in yeast cells.
Keywords: *Eucommia ulmoides* flavonoids; yeast cell; microcapsule; process optimization; sustained release characteristic

杜仲是由药用植物杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)干燥后的叶片制成的药材[1]。据2020版《中国药典》记载,杜仲叶具有补肝肾、强筋骨和提高机体免疫力等功效。2023年,国家卫生健康委员会发布公告,将其正式纳入《按照传统既是食品又是中药材的物质目录》[2]。杜仲含有以槲皮素和山柰酚为主要苷元类型的黄酮类化合物,具有抗氧化、抑菌等生物活性[3-4]。然而,杜仲中的黄酮类物质有强烈的苦涩味,溶解性较差,且在光照、高温和氧气等外界因素影响下易发生氧化降解,导致其在加工和储运过程中功效降低、生物利用度下降[5-6]。将黄酮类物质包裹在惰性外壳中进行微胶囊化可长期保持生物活性物质稳定,同时改善其生物利用度和缓释特性[7]。因此,将杜仲黄酮微胶囊化是提高其生物利用度和稳定性的有效策略。

目前,黄酮微胶囊化的壁材主要是多糖和蛋白质等天然生物大分子。马嘉怡等[8]使用明胶和羧甲基纤维素钠为壁材对枸杞叶黄酮进行包封;李杰等[9]以β-环糊精为壁材对山茱萸黄酮进行包封。尽管这些天然大分子为黄酮提供的屏障实现了可控释放,但仍存在负载率低、活性物质易浸出、聚合物难以降解等问题[10]。除生物大分子外,酵母菌也可作为微胶囊壁材的原料,通过酸化和酶解处理清除酵母细胞内容物形成空腔后,活性成分可通过与空腔的持续接触实现包埋。马冉冉等[11]采用库德毕赤酵母包埋茶多酚,其微胶囊包埋率及模拟胃肠液中的释放率分别达68.12%和78.12%。刘鑫等[12]利用生香酿酒活性干酵母包埋花椒精油,包埋率达68.71%。Semouma等[13]发现质壁分离处理的酵母细胞对桃金娘提取物的包埋效率显著高于未处理组,且具有较强的稳定性。Dadkhodazade等[14]使用酿酒酵母细胞作为维生素D_3包封的新型载体,包埋率达(76.10±6.92)%。此外,张瀛丹等[15]报道,酵母细胞可用于封装疏水性化合物,因此可作为黄酮类物质的载体。然而,目前研究主要针对酵母微胶囊的工艺优化和稳定性,关于活性成分在不同体系中的释放行为和酵母细胞包埋杜仲黄酮的相关研究鲜有报道。

因此,作者以酵母细胞作为杜仲黄酮的微胶囊壁材,通过单因素结合响应面试验对酵母微胶囊的制备工艺进行优化,评估微胶囊在高温、紫外光照射和长期贮存条件下的稳定性,并结合动力学模型研究其在模拟胃肠液及食品模拟物体系中的释放行为,旨在提高杜仲黄酮的生物利用率和稳定性,为其在功能食品中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

杜仲黄酮:陕西宝鸡六盘韵生物科技有限公司;高活性酵母:湖北安琪酵母股份有限公司;芦丁标准品(纯度>95%):上海阿拉丁生化科技股份有限公司;亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、无水乙醇、氯化钠:中国医药集团上海化学试剂公司;胰蛋白酶、胃蛋白酶:上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计:UV-1200型,上海美谱达仪器有限公司;电热恒温水浴锅:HH-6型,上海捷呈实验仪器有限公司;真空冷冻干燥机:FD-10-50C型,湖南粉体装备研究院有限公司;恒温振荡器:CHA-SA型,金坛市荣华仪器制造有限公司;高速离心机:H2050R型,湖南湘仪离心机仪器有限公司;pH计:PHS-3C型,上海雷磁仪器厂;-80 ℃超低温冰箱:DW-86L500型,澳柯玛股份有限公司;扫描电子显微镜:JSMIT-800型,日本电子株式会社。

1.3 方法

1.3.1 酵母壁材制备

将适量安琪酵母在75 ℃烘箱中干燥1 h,将干燥后的酵母按料液比1 g∶20 mL与质量分数5%的NaCl混合,于150 r/min、50 ℃下恒温包埋6 h,随后将混合溶液于4 200 r/min离心10 min,分离下层酵母细胞,使用蒸馏水洗涤3次,冷冻干燥24 h,备用。

1.3.2 杜仲黄酮酵母微胶囊制备

将杜仲黄酮与1.3.1中冷冻干燥后的酵母细胞混合，并以料液比1 g∶10 mL加入蒸馏水，恒温包埋后离心，分离下层残留酵母细胞，用蒸馏水洗涤3次，冷冻干燥24 h后得到杜仲黄酮酵母微胶囊。

1.3.3 杜仲黄酮酵母微胶囊制备工艺优化

单因素试验设计：以酵母微胶囊对杜仲黄酮的包埋率为评价指标，探究芯壁质量比、包埋时间和包埋温度对包埋率的影响。

1）包埋温度优化：固定芯壁质量比1∶1、料液比1 g∶10 mL、包埋时间7 h，设置包埋温度分别为30、35、40、45、50 ℃，研究包埋温度对包埋率的影响。

2）芯壁质量比优化：固定料液比1 g∶10 mL、包埋温度40 ℃、包埋时间7 h，设置芯壁质量比分别为1∶1、1∶2、1∶3、1∶4、1∶5，研究芯壁质量比对包埋率的影响。

3）包埋时间优化：固定芯壁质量比1∶1、料液比1 g∶10 mL、包埋温度40 ℃，设置包埋时间分别为3、5、7、9、11 h，研究包埋时间对包埋率的影响。

响应面试验设计：根据单因素试验的结果，使用Design-Expert 13.0进行Box-Behnken响应面试验设计，以包埋率为响应值，得到回归模型，确定微胶囊的最佳制备工艺参数。另外，结合酵母微胶囊制备的实际操作条件进行验证。

1.3.4 杜仲黄酮包埋率的测定

将适量微胶囊以1 g∶30 mL的料液比加入无水乙醇或体积分数70%的乙醇，混匀后于5 000 r/min离心15 min，收集上清液得到含游离黄酮的溶液。将微胶囊和体积分数70%的乙醇混合溶液于600 W超声10 min，充分破碎微胶囊并释放杜仲黄酮，将超声后的溶液在5 000 r/min离心15 min，收集上清液得到含总黄酮的溶液。分别取1 mL游离黄酮和总黄酮上清液，加入9 mL体积分数75%的乙醇得到测定储备液。根据式（1）计算杜仲黄酮包埋率。

$$E=\frac{c_2-c_1}{c_2}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

E——杜仲黄酮包埋率，%；

c_1——游离黄酮质量浓度，mg/mL；

c_2——总黄酮质量浓度，mg/mL。

1.3.5 微胶囊稳定性的测定

参考刘丹[16]的方法分别测定微胶囊的高温、紫外光照射和长期贮存稳定性。称取相同质量的微胶囊和杜仲黄酮，于110 ℃干燥4 h，每隔1 h取样测定；将微胶囊和杜仲黄酮在紫外光下照射8 h，每隔2 h取样测定；将微胶囊和杜仲黄酮置于常温下贮存28 d，每隔7 d取样测定。通过计算黄酮保留率来评价杜仲黄酮微胶囊的稳定性。黄酮保留率根据式（2）计算。

$$R=\frac{c_3}{c_4}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

R——黄酮保留率，%；

c_3——包埋后黄酮质量浓度，mg/mL；

c_4——包埋前黄酮质量浓度，mg/mL。

1.3.6 体外模拟胃肠消化黄酮释放率的测定

将0.5 g微胶囊加入20 mL模拟胃液中，置于37 ℃振摇2.5 h以模拟微胶囊在胃中的消化过程。离心取上清液，倒入20 mL模拟肠液中消化2.5 h。消化过程中每隔30 min测定消化液中的黄酮质量浓度。杜仲黄酮释放率根据式（3）计算。

$$S=\frac{c_5}{c_6}\times 100\% \quad (3)$$

式中：

S——黄酮释放率，%；

c_5——模拟消化液中的黄酮质量浓度，mg/mL；

c_6——微胶囊中的总黄酮质量浓度，mg/mL。

1.3.7 体外释放及动力学研究

将50 mg微胶囊分别置于100 mL体积分数10%乙醇和体积分数95%乙醇的食品模拟物体系中反应36 h，通过测定模拟物溶液中的杜仲黄酮质量浓度确定其在不同体系中的释放曲线。0~12 h时每隔2 h收集样品，12~36 h时每隔4 h收集样品。为探究杜仲黄酮微胶囊在不同食品模拟物体系中的释放机理和动力学，分别采用Ritger and Peppas、Zero-Order、First-Order、Higuchi和Hixson-Crowell模型来拟合释放数据，见式（4）~（8）。

$$\frac{M_t}{M_\infty}=Kt^n \quad (4)$$

式中：

M_t——t时刻的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

M_∞——释放达到平衡时的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

t——释放时间；

K——速率常数；

n——释放指数。

$$\frac{M_t}{M_\infty}=Kt \tag{5}$$

式中：

M_t——t时刻的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

M_∞——释放达到平衡时的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

t——释放时间；

K——速率常数。

$$1-\frac{M_t}{M_\infty}=e^{-Kt} \tag{6}$$

式中：

M_t——t时刻的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

M_∞——释放达到平衡时的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

t——释放时间；

K——速率常数；

e——自然常数，约为2.718 287 7。

$$\frac{M_t}{M_\infty}=Kt^{\frac{1}{2}} \tag{7}$$

式中：

M_t——t时刻的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

M_∞——释放达到平衡时的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

t——释放时间；

K——速率常数。

$$(1-\frac{M_t}{M_\infty})^{\frac{1}{3}}=-Kt \tag{8}$$

式中：

M_t——t时刻的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

M_∞——释放达到平衡时的杜仲黄酮质量浓度，mg/mL；

t——释放时间；

K——速率常数。

1.3.8 微观形貌观察

分别取1.3.2中制备好的微胶囊10 mg、1.3.7中在体积分数10%的乙醇和体积分数95%的乙醇中处理2 h和36 h的微胶囊，将其分别粘在导电胶后喷金，使用扫描电子显微镜对微胶囊的微观形貌进行观察。加速电压为15 kV，放大倍数为10 000倍。

1.3.9 数据处理与分析

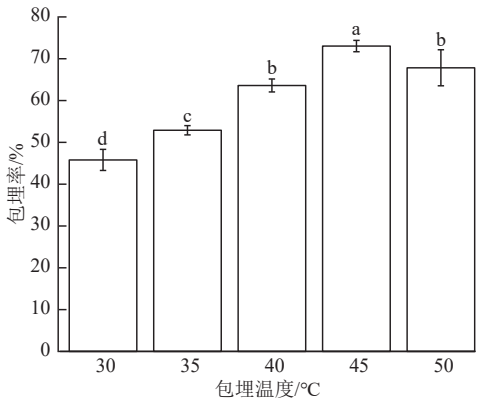
所有试验均重复3次，结果以平均值±标准偏差表示。使用IBM SPSS 23.0对试验数据进行处理与分析，采用单因素方差分析（ANOVA）和多重比较分析确定其差异显著性，P<0.05表示差异显著。响应面试验设计与分析采用Design-Expert 13.0软件。采用Origin 2021软件绘图。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

2.1.1 包埋温度对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响

包埋温度对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响如图1所示。随着包埋温度的上升，包埋率呈现先升高后降低的趋势。包埋温度为30~45 ℃时，包埋率显著增大（P<0.05），并在45 ℃时达到最大值，为（73.0±1.4）%。这可能是由于随着温度的升高，黄酮分子在包埋体系中的运动速率增大，促进了其与酵母细胞壁-细胞膜的双层囊腔结合[14]，从而提高了其包埋率。然而，当温度升至50 ℃时，包埋率显著下降（P<0.05），为（67.8±4.3）%，较45 ℃时的包埋率降低5.2%。这是由于温度较高时，热敏性的杜仲黄酮分子的结构被破坏；另外，高温可能会造成与酵母细胞结合的黄酮分子发生解离，破坏酵母细胞壁和细胞膜结构。翟兆峰等[17]采用羟丙基-β-环糊精为壁材时发现，包埋温度过高会导致西番莲果皮黄酮微胶囊包埋率显著降低。因此，选择包埋温度为45 ℃进行后续响应面试验。



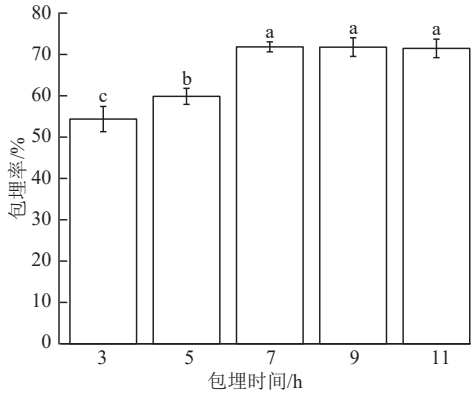
不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

图1 包埋温度对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响

Fig. 1 Effect of encapsulation temperature on the encapsulation rate of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids

2.1.2　包埋时间对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响

包埋时间对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响如图2所示。随着包埋时间的延长，微胶囊的包埋率先上升后趋于稳定。当包埋时间从3 h延长至7 h时，包埋率显著上升（P<0.05），并在7 h达到最大值，为（71.8±1.2）%。包埋时间过短时，杜仲黄酮可能未被酵母细胞完全包埋，导致包埋率偏低。当包埋时间为7 h时，杜仲黄酮分子与酵母细胞膜和细胞壁上的蛋白质、多糖等大分子结合更为紧密。当包埋时间延长至9 h和11 h时，包埋率与7 h相比无显著差异（P>0.05），表明此时酵母细胞上的结合位点已被杜仲黄酮分子占据，系统达到平衡状态。此外，包埋时间过长可能导致杜仲黄酮与酵母细胞发生过度交联，进而加剧其在细胞内的扩散速率[18]。因此，选择包埋时间为7 h进行后续响应面试验。



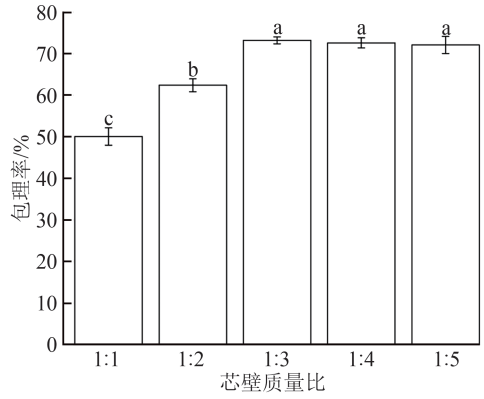
不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

图2　包埋时间对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响

Fig. 2　Effect of encapsulation time on the encapsulation rate of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids

2.1.3　芯壁质量比对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响

芯壁质量比对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响见图3。与包埋时间对微胶囊包埋率的影响类似，随着芯壁质量比的降低，微胶囊的包埋率呈现先上升后趋于稳定的趋势。当芯壁质量比从1∶1减小至1∶3时，包埋率显著上升（P<0.05），并在1∶3时达到最大值（73.2±0.8）%。当芯壁质量比为1∶1时，酵母细胞的结合位点有限；但当芯壁质量比为1∶3时，适量的酵母细胞可为杜仲黄酮提供充足的结合位点。当芯壁质量比为1∶4和1∶5时，包埋率与芯壁质量比为1∶3时无显著差异（P>0.05）。这是由于芯壁质量比过小时，包埋体系中的杜仲黄酮质量浓度较低，多余的酵母细胞无法与杜仲黄酮结合。因此，选择芯壁质量比为1∶3进行后续响应面试验。



不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

图3　芯壁质量比对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的影响

Fig. 3　Effect of core-wall mass ratio on the encapsulation rate of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids

2.2　响应面优化试验结果

响应面试验设计见表1，微胶囊工艺优化的响应面设计和结果见表2。通过多元回归拟合试验数据得到包埋率（y）与包埋时间（A）、包埋温度（B）和芯壁质量比（C）的二次回归方程：y=78.26+0.775A+3.487 5B+0.062 5C−1.475AB−2.675AC+1.75BC−7.005A^2−3.98B^2−8.03C^2。

表1　响应面试验设计表

Table 1　Response surface design

水平	芯壁质量比	包埋时间/h	包埋温度/℃
−1	1∶2	5	40
0	1∶3	7	45
1	1∶4	9	50

回归模型的方差分析见表3，回归模型的P值<0.000 1，表明方程极其显著；失拟项P值为0.229 4>0.05，决定系数R^2=0.979 9，校正决定系数R_{adj}^2=0.954 1，预测决定系数R_1^2=0.788 0，且校正决定系数与预测决定系数差值<0.2，证明模型拟合良好。B、AB与BC的P值均<0.01，表明三者对包埋率影响极显著。通过对比A、B、C的F值可知，对包埋率的影响排序为：B>A>C。另外，AB和BC的交互作用响应面陡峭程度较高，见图4，进一步表明两者对酵母微胶囊包埋率的影响显著，这与表3方差分析中AB（P=0.008 7<0.01）和BC（P<0.000 1）的P值结果一致。

表 2 响应面法优化杜仲黄酮酵母微胶囊的工艺设计与结果

Table 2 Response surface design and results for optimization of preparation process of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids

序号	芯壁质量比	包埋时间/h	包埋温度/℃	包埋率/%
1	1∶3	7	45	78.9
2	1∶3	7	45	78.4
3	1∶3	5	40	63.2
4	1∶3	9	40	68.7
5	1∶3	7	45	76.3
6	1∶4	5	45	67.4
7	1∶3	5	50	60.3
8	1∶2	9	45	70.1
9	1∶2	7	40	60.3
10	1∶4	9	45	69.4
11	1∶3	9	50	72.8
12	1∶4	7	50	60.8
13	1∶3	7	45	79.5
14	1∶2	5	45	62.2
15	1∶2	7	50	65.3
16	1∶4	7	40	66.5
17	1∶3	7	45	78.2

基于 Design-Expert 13.0 软件优化模型，确定微胶囊的理论最佳工艺为：芯壁质量比 1∶2.99，包埋时间 5.9 h，包埋温度 44.92 ℃，预测包埋率 79.1%。结合实际生产需求，调整工艺为：芯壁质量比 1∶3，包埋时间 5.9 h，包埋温度 45 ℃。3 次重复验证的平均包埋率为（78.6±0.8）%，实际值与预测值的相对误差仅为 0.5%，表明该模型具备较高的预测精度。

2.3 杜仲黄酮酵母微胶囊的高温、紫外光照射和长期贮存稳定性

2.3.1 高温对杜仲黄酮酵母微胶囊稳定性的影响

杜仲黄酮酵母微胶囊在 110 ℃孵育不同时间的杜仲黄酮保留率如图 5 所示。随着孵育时间的延长，微胶囊组和黄酮组的杜仲黄酮保留率均明显下降。孵育 1 h 时，微胶囊组杜仲黄酮保留率为（97.3±1.1）%，较黄酮组高 3.8%；孵育 4 h 时，微胶囊组杜仲黄酮保留率降至（72.6±1.9）%，而黄酮组仅为（67.6±2.0）%。微胶囊组的杜仲黄酮保留率在整个孵育过程中始终高于黄酮组，表明微胶囊处理可有效提高杜仲黄酮的温度稳定性。这可能是由于酵母细胞包埋杜仲黄酮后将黄酮与高温环境隔离，降低了黄酮在高温下的分解速率。刘丹[16]使用酵母细胞包埋甘草总黄酮，发现 110 ℃处理 4 h 后微胶囊组的黄酮保留率为（90.89±0.55）%，显著高于未包埋组的（81.42±1.41）%。Souza 等[19]利用酵母细胞与黄原胶的复合凝聚对维生素 C 进行包埋，发现 100 ℃处理后微胶囊组的 DPPH 自由基清除能力显著高于游离维生素 C 组。

2.3.2 紫外光照射对杜仲黄酮酵母微胶囊稳定性的影响

杜仲黄酮酵母微胶囊在紫外光照射下的黄酮保留率如图 6 所示。随着紫外光照射时间的延长，微胶囊组和黄酮组的杜仲黄酮保留率均呈下降趋势，

表 3 响应面试验回归方程模型方差分析

Table 3 Analysis of variance of the regression equation model of response surface experiments

方差来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值	显著性
模型	754.35	9	83.82	37.99	<0.000 1	**
A	4.81	1	4.81	2.18	0.183 5	—
B	97.30	1	97.30	44.10	0.000 3	**
C	0.03	1	0.03	0.01	0.908 6	—
AB	8.70	1	8.70	3.94	0.008 7	**
AC	28.62	1	28.62	12.97	0.050 6	—
BC	12.25	1	12.25	5.55	<0.000 1	**
A^2	206.61	1	206.61	93.64	0.000 9	**
B^2	66.70	1	66.70	30.23	<0.000 1	**
C^2	271.50	1	271.50	123.05		
残差	15.44	7	2.21			
失拟项	9.63	3	3.21	2.21	0.229 4	—
误差项	5.81	4	1.45			
总离差	769.80	16				

注：“**”表示差异极显著（$P<0.01$）；“—”表示无显著差异（$P>0.05$）。

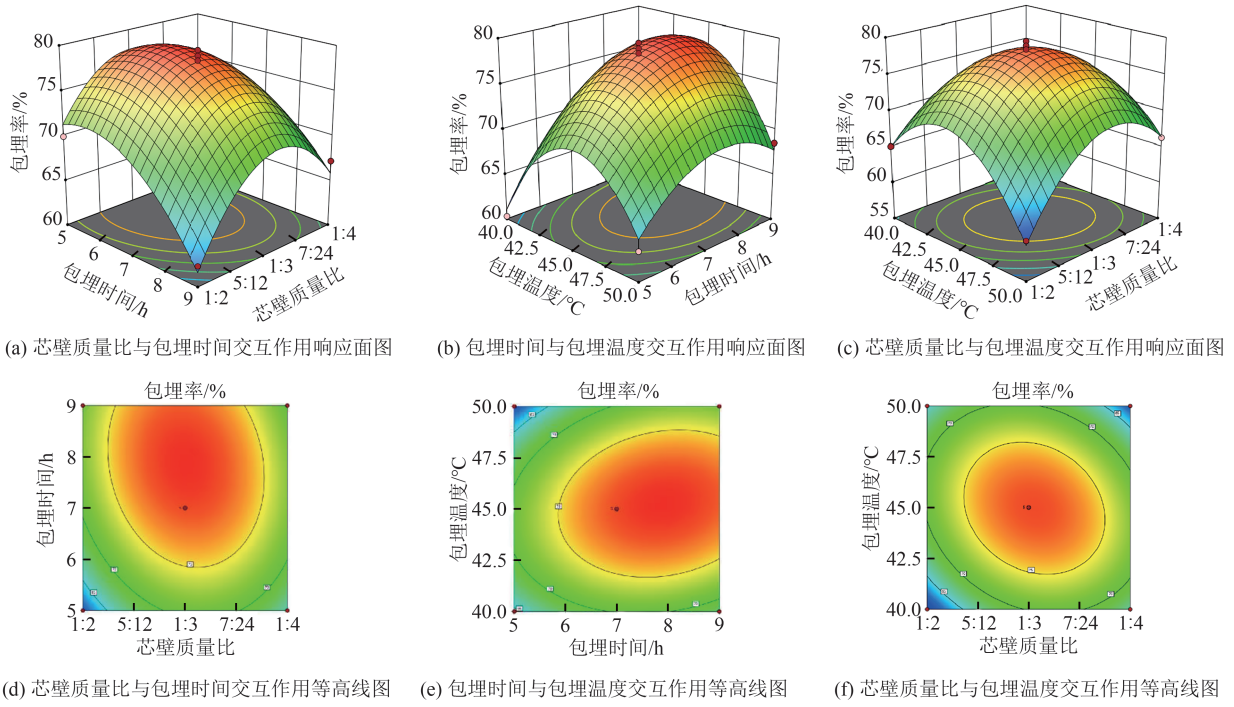
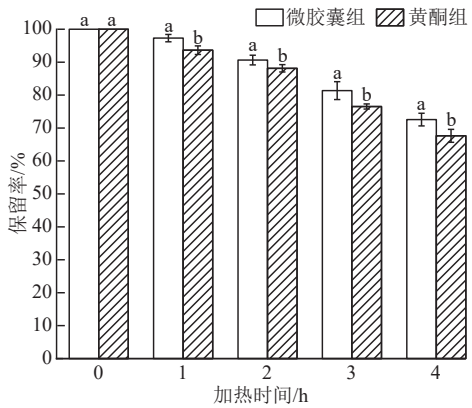


图 4　各因素交互作用对杜仲黄酮酵母微胶囊包埋率的响应面图和等高线图

Fig. 4　Response surface and contour plots of effects of interactions between factors on the encapsulation rate of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids



不同小写字母表示相同加热时间不同组间差异显著（P<0.05）。

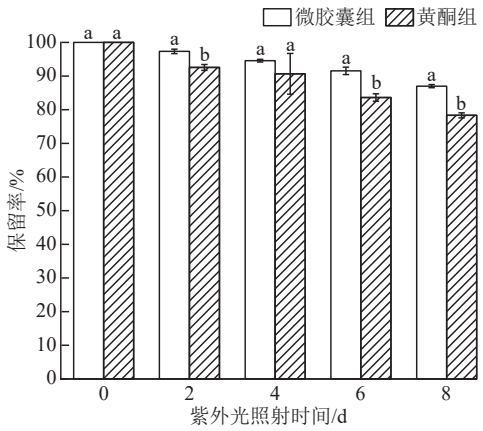
图 5　杜仲黄酮酵母微胶囊的高温稳定性

Fig. 5　Stability of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids under high temperature treatment

这是由于紫外光诱导杜仲黄酮类物质发生了氧化降解。当紫外光照射 2 h时，微胶囊组的杜仲黄酮保留率为（97.3±0.7）%，比黄酮组高 4.8%；当紫外光照射 8 h时，微胶囊组的杜仲黄酮保留率为（87.0±0.5）%，而黄酮组仅为（78.3±0.8）%。除 0 h和 4 h时 2 组杜仲黄酮的保留率无显著差异外，其他时间点微胶囊组的保留率均显著高于黄酮组（P<0.05），表明酵母微胶囊具有良好的紫外光稳定性。这可能是由于酵母细胞中甘露糖蛋白和β-1,3-葡聚糖组成的网络及双层膜结构抑制了光对黄酮类物质的降解作用。马冉冉等[11]用库德毕赤酵母细胞包埋茶多酚，发现微胶囊组的茶多酚保留率为 90.15%，而多酚组仅为 79.3%。Shi 等[20]将白藜芦醇封装至酵母细胞中显著提升了其在荧光灯照射下的保留率。有研究者[21]通过渗透法将姜黄素包埋在酵母细胞中发现，经人工光照处理 50 d后仍保留了 70% 的抗氧化活性。

2.3.3　长期贮存对杜仲黄酮酵母微胶囊稳定性的影响

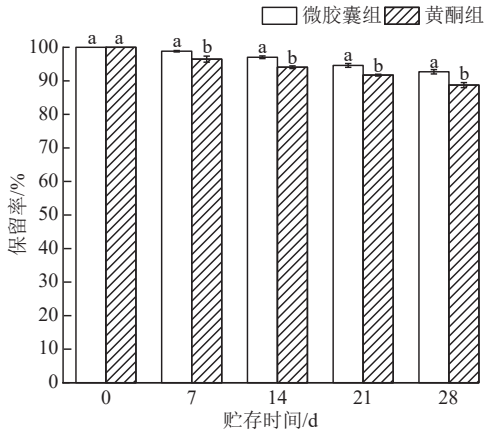
杜仲黄酮酵母微胶囊长期贮存条件下的黄酮保留率如图 7 所示。随着贮存时间的延长，微胶囊组和黄酮组的杜仲黄酮保留率均呈下降趋势，这是由于杜仲黄酮在长期贮存过程中容易氧化和水解。贮存 7 d后，微胶囊组杜仲黄酮保留率均显著高于黄酮组（P<0.05）。贮存 28 d时，微胶囊组的杜仲黄酮保留率为（92.7±0.7）%，较黄酮组高 4.3%。微胶囊组在长期贮存过程中的杜仲黄酮保留率始终高于黄酮组，表明微胶囊处理能显著提高杜仲黄酮的贮存稳定性，这可能是由于酵母细胞壁和细胞膜形成双重屏障，通过阻隔氧气渗透等途径抑制黄酮的氧化降解。



不同小写字母表示相同紫外光照射时间不同组间差异显著（P<0.05）。

图 6　杜仲黄酮酵母微胶囊的紫外光照射稳定性

Fig. 6　Stability of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids under ultraviolet irradiation



不同小写字母表示相同贮存时间不同组间差异显著（P<0.05）。

图 7　杜仲黄酮酵母微胶囊的长期贮存稳定性

Fig. 7　Stability of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids during long-term storage

2.4　杜仲黄酮酵母微胶囊的体外模拟胃肠道消化释放结果

杜仲黄酮酵母微胶囊的体外模拟胃肠道消化释放行为如图 8 所示。在体外的胃消化阶段（0~150 min），黄酮组和微胶囊组的释放率均随消化时间的延长明显升高，且黄酮组的释放率明显高于微胶囊组；胃消化 150 min 时，黄酮组和微胶囊组的释放率分别为（69.8±1.6）%和（21.2±2.4）%。这可能是由于酵母细胞壁材对杜仲黄酮具有保护作用，避免了其与胃酸直接接触，从而延缓释放速率[22]。进入肠消化阶段（150~300 min）后，微胶囊组的释放率明显升高，而黄酮组的释放率趋于平缓。这是由于胰蛋白酶对酵母细胞表面蛋白质的进一步消化水解，削弱了微胶囊结构的致密性，促使杜仲黄酮加速溶出。孙小晶等[23]采用壳聚糖和三聚磷酸钠包埋山楂黄酮，发现纳米微胶囊在胃消化阶段释放率仅为 14.38%，但在肠消化阶段释放率急剧增大，最高达 84.83%，与本研究的结果类似。

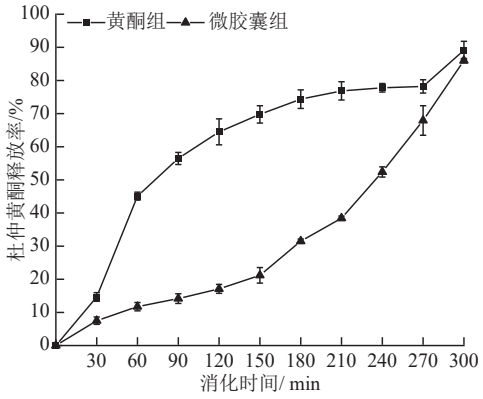


图 8　杜仲黄酮酵母微胶囊在胃肠道的释放率

Fig. 8　Gastrointestinal release rate of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids

2.5　杜仲黄酮酵母微胶囊在不同食品模拟物体系中的释放及动力学研究

杜仲黄酮酵母微胶囊在不同食品模拟物体系中的释放对其应用至关重要。作者用体积分数 10% 的乙醇模拟高水分和低脂食物，体积分数 95% 的乙醇模拟油脂类食物。杜仲黄酮酵母微胶囊在 2 种食品模拟物体系中的释放曲线如图 9 所示。当乙醇体积分数为 10% 时，微胶囊在 0~10 h 时缓慢释放，10~20 h 时释放速率加快，最后在 20 h 时达到平衡；当乙醇体积分数为 95% 时，微胶囊在 0~12 h 时快速释放，

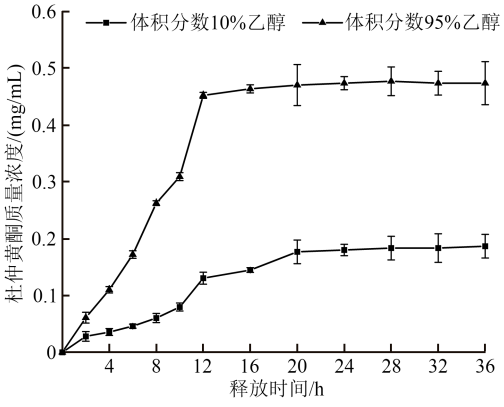


图 9　杜仲黄酮酵母微胶囊在体积分数 10% 和 95% 乙醇中的释放曲线

Fig. 9　Release curves of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids in 10% and 95% ethanol by volume fraction

12~16 h缓慢释放，最后在16 h时达到平衡。此外，微胶囊在体积分数95%乙醇中的杜仲黄酮释放量始终高于体积分数10%的乙醇体系，这是由于杜仲黄酮在体积分数95%乙醇中的溶解度较高，导致其释放量较高。为进一步解析微胶囊中的杜仲黄酮在不同食品模拟物体系中的释放机理，采用5种动力学模型对释放数据进行拟合，见表4。当乙醇体积分数为10%时，Zero-Order、Higuchi和Hixson-Crowell模型的R^2>0.90，表明这3种模型均可较好地表征该体系的释放动力学；当乙醇体积分数为90%时，仅Zero-order和Hixson-Crowell模型的R^2>0.90，表明这2种模型与杜仲黄酮在体积分数95%乙醇中的释放数据拟合度较好。此外，Ritger and Peppas模型在2种食品模拟物体系中的K值分别为0.304 50和0.406 78，均小于0.45，表明微胶囊在2种食品模拟物体系中的释放方式均为菲克扩散。因此，杜仲黄酮从微胶囊扩散到食品模拟物中时，其扩散通量与微胶囊中杜仲黄酮的质量浓度呈正比，且扩散方式主要以乙醇溶液向微胶囊网络中的扩散为主[24]。

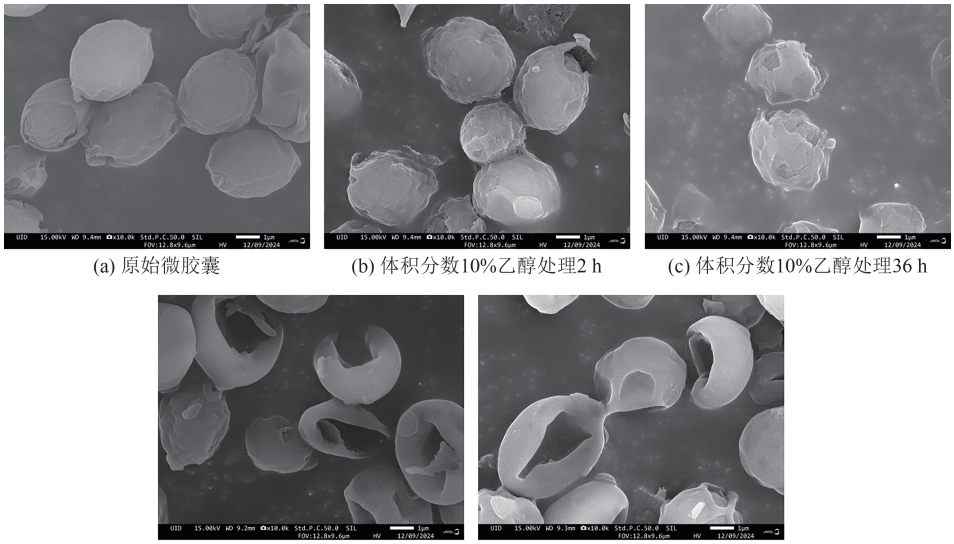
2.6　微胶囊形貌分析

微胶囊的微观形貌见图10，原始微胶囊的表观形态为不规则的椭圆形，且微胶囊的表面完整光滑，无明显裂痕，分散性较好，没有出现明显的聚集。经体积分数10%乙醇的食品模拟物体系处理2 h后，微胶囊表面轻微凹陷，且酵母细胞壁有轻微的破损现象，但完整度较好。经体积分数10%乙醇处理36 h后，微胶囊表面出现明显裂痕和凹陷，酵母细胞壁进一步被破坏，完整度显著降低。经体积分数95%乙醇分别处理2 h和16 h后，微胶囊出现明显的塌陷，这是由于体积分数95%的乙醇使酵母细胞脱水，酵母细胞受到不可逆破坏，导致杜仲黄酮大量释放。

表4　杜仲黄酮酵母微胶囊在体积分数10%和95%乙醇中释放的动力学参数

Table 4　Kinetic parameters of microcapsule of *Eucommia ulmoides* release in 10% and 95% ethanol by volume fraction

食品模拟物体系	模型	拟合曲线方程	R^2	K值	n值	扩散方式
体积分数10%乙醇	Ritger and Peppas	y=0.304 5e$^{0.038\ 53x}$	0.735 5	0.304 50	0.038 53	菲克扩散
	Zero-Order	y=0.003 4x+0.064 66	0.953 7	0.003 40		
	First-Order	y=−0.146 8x+0.431 8	0.874 4	0.146 80		
	Higuchi	y=0.204x−0.125	0.922 1	0.204 00		
	Hixson-Crowell	y=−0.027 68x+1.037	0.969 0	0.027 68		
体积分数95%乙醇	Ritger and Peppas	y=0.406 8e$^{0.030\ 78x}$	0.595 4	0.406 78	0.030 78	菲克扩散
	Zero-Order	y=0.005 1x+0.096 55	0.906 4	0.005 08		
	First-Order	y=−0.268 3x+0.699 5	0.728 6	0.268 30		
	Higuchi	y=0.201x−0.024	0.867 2	0.201 00		
	Hixson-Crowell	y=−0.045 89x+1.067	0.969 0	0.045 89		



(a) 原始微胶囊　(b) 体积分数10%乙醇处理2 h　(c) 体积分数10%乙醇处理36 h

(d) 体积分数95%乙醇处理2 h　(e) 体积分数95%乙醇处理36 h

图10　杜仲黄酮酵母微胶囊在不同食品模拟物体系中的形貌

Fig. 10　Morphology of microcapsules of *Eucommia ulmoides* flavonoids in different food simulants

3 结论

作者以杜仲黄酮为芯材、酵母细胞为壁材，制备了杜仲黄酮酵母微胶囊。通过单因素试验探究包埋时间、包埋温度和芯壁质量比对包埋率的影响，并基于响应面法优化微胶囊的制备工艺，确定最优制备工艺为：芯壁质量比1∶3，包埋时间5.9 h，包埋温度45 ℃，此时包埋率达（78.6±0.8）%。稳定性试验表明，微胶囊在高温、紫外光照射和长时间贮存下均具有良好的稳定性。微胶囊在模拟胃消化阶段缓慢释放，并在模拟肠消化阶段长效持续释放，有利于杜仲黄酮的吸收利用。杜仲黄酮酵母微胶囊在体积分数95%乙醇中的释放量高于体积分数10%乙醇，且主要扩散方式为菲克扩散。另外，原始微胶囊呈椭圆形，但经乙醇处理后微胶囊出现裂痕和凹陷。作者优化了杜仲黄酮酵母微胶囊制备工艺并探究其缓释特性，但其在胃肠道消化阶段的抗氧化作用以及微胶囊的系统化表征有待进一步研究。

参考文献

[1] 李婉玉，张家旭，谢兴文，等. 杜仲叶化学成分、药理活性及现代应用研究进展[J]. 天然产物研究与开发，2024，36(5)：900-917.
LI W Y，ZHANG J X，XIE X W，et al. Research progress on chemical components，pharmacological activities，and modern applications of *Eucommiae folium*[J]. Natural Product Research and Development，2024，36(5)：900-917.(in Chinese)

[2] YU P L，WANG J，LIU J，et al. Preparation techniques，structural features，and bioactivities of *Eucommia ulmoides* polysaccharides：a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2024，275：133686.

[3] ZHU M Q，SUN R C. *Eucommia ulmoides* oliver：a potential feedstock for bioactive products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2018，66(22)：5433-5438.

[4] 李倩，张悦瑶，杨子怡，等. HPLC同时检测发芽黑小麦中10种黄酮类化合物方法的建立[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(10)：109-119.
LI Q，ZHANG Y Y，YANG Z Y，et al. Establishment of an HPLC method for simultaneous determination of ten flavonoids in germinated black wheat[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(10)：109-119.(in Chinese)

[5] ZHANG R Y，BELWAL T，LI L，et al. Recent advances in polysaccharides stabilized emulsions for encapsulation and delivery of bioactive food ingredients：a review[J]. Carbohydrate Polymers，2020，242：116388.

[6] 徐虹，王琮琮，龚凌霄. 莲子红衣黄酮对馒头品质和消化特性的影响[J]. 食品与生物技术学报，2024，43(10)：120-129.
XU H，WANG C C，GONG L X. Effect of lotus seed red-skin flavonoids on quality and digestibility of steamed buns[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2024，43(10)：120-129.(in Chinese)

[7] HOYOS-LEYVA J D，BELLO-PÉREZ L A，ALVAREZ-RAMIREZ J，et al. Microencapsulation using starch as wall material：a review[J]. Food Reviews International，2018，34(2)：148-161.

[8] 马嘉怡，裴宇芳，杨超，等. 枸杞叶黄酮微胶囊的制备及消化稳定性与生物活性评价[J]. 食品工业科技，2024，45(18)：49-62.
MA J Y，PEI Y F，YANG C，et al. Preparation，digestive stability and biological activity evaluation of goji(*Lycium barbarum* L.) leaves flavonoids microcapsules[J]. Science and Technology of Food Industry，2024，45(18)：49-62.(in Chinese)

[9] 李杰，马艳莉，课净璇，等. 山茱萸黄酮微胶囊制备及贮存稳定性研究[J]. 中国食品添加剂，2023，34(6)：212-219.
LI J，MA Y L，KE J X，et al. Study of preparation and storage stability of *Cornus officinalis* flavonoids microcapsules[J]. China Food Additives，2023，34(6)：212-219.(in Chinese)

[10] LI M J，GUO Q Y，LIN Y C，et al. Recent progress in microencapsulation of active peptides：wall material，preparation，and application：a review[J]. Foods，2023，12(4)：896.

[11] 马冉冉，张丹丹，徐莹，等. 库德毕赤酵母包埋茶多酚工艺及稳定性研究[J]. 食品与发酵工业，2019，45(16)：63-69.
MA R R，ZHANG D D，XU Y，et al. Tea-polyphenols embedded by *Pichia kudriavzevii* A16 ghost and its stability[J]. Food and Fermentation Industries，2019，45(16)：63-69.(in Chinese)

[12] 刘鑫，陈虹宇，李增威，等. 响应面法优化花椒精油酵母微胶囊制备工艺[J]. 中国调味品，2017，42(6)：61-66，76.
LIU X，CHEN H Y，LI Z W，et al. Optimization of the preparation technology for microencapsule of *Zanthoxylum bungeanum* oil embedded with yeast by response surface methodology[J]. China Condiment，2017，42(6)：61-66，76.(in Chinese)

[13] SEMOUMA D，LAIB I，LAIB D E，et al. Microencapsulation of *Myrtus communis* extracts in *Saccharomyces cerevisiae* cells：effects on phenolic content and antioxidant capacity，physical characterization and molecular docking analysis[J]. Food and Bioprocess Technology，2024，17(10)：3281-3304.

[14] DADKHODAZADE E，MOHAMMADI A，SHOJAEE-ALIABADI S，et al. Yeast cell microcapsules as a novel carrier for cholecalciferol encapsulation：development，characterization and release properties [J]. Food Biophysics，2018，13(4)：404-411.

[15] 张瀛丹，盛良杰，吴澎. 微胶囊技术在食品中的应用研究[J]. 饮料工业，2024，27(02)：268-275.
ZHANG Y D，SHENG L J，WU P. Research on the application of microcapsule technology in Food [J]. The Beverage Industry，2024，27(02)：268-275.(in Chinese)

[16] 刘丹. 甘草总黄酮微胶囊的制备及其在冷鲜牛肉保鲜中的应用[D]. 哈尔滨：黑龙江东方学院，2022.

[17] 翟兆峰，王延宝. 西番莲果皮黄酮微胶囊的制备及其对运动耐力的影响[J]. 保鲜与加工，2024，24(8)：74-82.
ZHAI Z F，WANG Y B. Preparation of microcapsules of flavonoids from passion fruit peel and its effect on exercise endurance [J]. Storage and Process，2024，24(8)：74-82.(in Chinese)

[18] 张欢，赵妍. 原花青素微胶囊制备工艺优化及性质分析[J]. 食品科技，2022，47(11)：220-227.
ZHANG H，ZHAO Y. Preparation process optimization and property analysis of proanthocyanidin microcapsules [J]. Food Science and Technology，2022，47(11)：220-227.(in Chinese)

[19] SOUZA C J F，SANTOS DA SILVA C，RAMOS A V，et al. Yeast cells-xanthan gum coacervation for hydrosoluble bioactive encapsulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2023，253：127148.

[20] SHI G R，RAO L Q，YU H Z，et al. Stabilization and encapsulation of photosensitive resveratrol within yeast cell [J]. International Journal of Pharmaceutics，2008，349(1/2)：83-93.

[21] MEDEIROS F G M，DUPONT S，BENEY L，et al. Efficient stabilisation of curcumin microencapsulated into yeast cells *via* osmoporation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2019，103(23/24)：9659-9672.

[22] 纪秀凤，吕长鑫，芦宇，等. 红树莓籽黄酮微胶囊工艺优化及其体外模拟胃肠消化[J]. 食品工业科技，2019，40(5)：182-187.
JI X F，LYU C X，LU Y，et al. Optimization of microencapsulation of flavonoids from red raspberry seeds and its simulated gastrointestinal digestion *in vitro* [J]. Science and Technology of Food Industry，2019，40(5)：182-187.(in Chinese)

[23] 孙小晶，李丹丹，李莹，等. 山楂黄酮纳米微胶囊的制备及特性[J]. 食品研究与开发，2023，44(10)：170-176.
SUN X J，LI D D，LI Y，et al. Preparation and properties of hawthorn flavonoid nano microcapsules [J]. Food Research and Development，2023，44(10)：170-176.(in Chinese)

[24] 刘梦竹，相昌荣，王鑫，等. 聚丙烯酸超吸水凝胶的制备及其吸水性与耐盐性研究[J]. 吉林化工学院学报，2019，36(5)：64-69.
LIU M Z，XIANG C R，WANG X，et al. Preparation of polyacrylic acid hydragel and research of its water absorbency & salt-tolerance [J]. Journal of Jilin Institute of Chemical Technology，2019，36(5)：64-69.(in Chinese)

（责任编辑：刘冬梅）