

不同壁材对绿咖啡油微胶囊微观结构及其热稳定性的影响

慕静怡^{1,2}, 胡发广³, 张珍珍^{1*}, 董文江^{2,4*}, 李亚男³, 毕晓菲³, 胡荣锁^{2,4}, 陈小爱^{2,4}

1. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830053; 2. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南万宁 571533; 3. 云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所, 云南保山 678000; 4. 海南省特色热带作物适宜性加工与品质控制重点实验室, 海南万宁 571533

摘要: 分别以阿拉伯胶 (gum arabic, GA) 与大豆分离蛋白 (soybean protein isolate, SPI)、乳清分离蛋白 (whey protein isolate, WPI) 和酪蛋白酸钠 (sodium caseinate, SC) 作为壁材, 通过复合凝聚法制备 3 种绿咖啡油 (green coffee oil, GCO) 微胶囊。结合不同表征技术手段, 对壁材的浊度、红外光谱特征、表观形貌以及荧光共定位进行分析; 比较 3 种绿咖啡油微胶囊的封装效率、形貌、粒径、结构表征及热稳定性。结果表明, 阿拉伯胶与不同蛋白之间通过静电相互作用形成复聚物, 可作为包埋绿咖啡油的新型壁材; 红外光谱分析表明, 3 种壁材均能较好地包埋绿咖啡油, 包埋率从大到小依次为 SPIGA-GCO (69.26%) > SCGA-GCO (58.69%) > WPIGA-GCO (52.57%); 绿咖啡油微胶囊的微观结构表面平坦, 无明显裂纹, 其中 SPIGA-GCO 中油滴分布较为均匀; 差示扫描热量法分析表明, 微胶囊热变性温度较高 (103.93~108.33 °C), 具有良好的热稳定性。研究结果表明, SPIGA-GCO 微胶囊性能明显优于其他 2 种壁材制备的微胶囊产品。本研究为开发稳定有效的绿咖啡油微胶囊产品提供技术支持, 也为绿咖啡油的高值化利用提供理论依据。

关键词: 绿咖啡油; 微胶囊; 复合凝聚法; 结构表征; 热稳定性

中图分类号: S571.2 文献标识码: A

Effects of Different Wall Materials on the Microstructure and Thermal Stability of Green Coffee Oil Microcapsules

MU Jingyi^{1,2}, HU Faguang³, ZHANG Zhenzhen^{1*}, DONG Wenjiang^{2,4*}, LI Ya'nan³, BI Xiaofei³, HU Rongsuo^{2,4}, CHEN Xiao'ai^{2,4}

1. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830053, China; 2. Spice and Beverage Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wanning, Hainan 571533, China; 3. Institute of Tropical and Subtropical Economic Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Baoshan, Yunnan 678000, China; 4. Key Laboratory of Processing Suitability and Quality Control of the Special Tropical Crops of Hainan Province, Wanning, Hainan 571533, China

Abstract: In this paper, three types of green coffee oil microcapsules were prepared by complex coacervation using the combination of gum arabic (GA) with soybean isolate protein (SPI), whey isolate protein (WPI) and sodium caseinate (SC) as wall materials, respectively. The turbidity, infrared spectral characteristics, apparent morphology and fluorescence co-localization of the wall materials were analyzed by combining different characterization techniques; the encapsulation efficiency, morphology, particle size, structural characterization and thermal stability of the three green coffee oil microcapsules were compared. Gum arabic and different proteins formed complexes through electrostatic interactions, which can be used as a new wall material for encapsulating green coffee oil. Infrared spectral analysis showed that the three wall materials could encapsulate green coffee oil better. The encapsulation rate in a descending

收稿日期 2022-07-05; 修回日期 2022-08-31

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2021XDNY147); 云南省重大科技专项计划项目 (No. 202202AE090002); 中央级公益性科研院所基本业务费专项 (No. 1630142022010)。

作者简介 慕静怡 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与安全。*通信作者 (Corresponding author): 张珍珍 (ZHANG Zhenzhen), E-mail: zhangzz2012@vip.sina.com; 董文江 (DONG Wenjiang), E-mail: dongwenjiang.123@163.com。

order was SPIGA-GCO (69.26%), SCGA-GCO (58.69%), WPIGA-GCO (52.57%). The microstructure of green coffee oil microcapsules had a flat surface without obvious cracks, among which the oil droplets were more uniformly distributed in SPIGA-GCO. DSC analysis showed that the thermal denaturation temperature of microcapsules was higher (103.93–108.33 °C), with good thermal stability. The results showed that the performance of SPIGA-GCO microcapsules was significantly better than the microcapsule products prepared from the other two wall materials. This study would provide technical support for the development of stable and effective green coffee oil microencapsulated products, and also provide a theoretical basis for the high value utilization of green coffee oil.

Keywords: green coffee oil; microcapsules; complex coacervation; structural characterization; thermal stability

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.03.022

咖啡是我国重要的热带经济作物, 具有极高的经济价值。我国咖啡种植主要分布在云南、海南、四川、台湾等地^[1]。据统计, 2021 年我国咖啡种植面积已达 9.39 万 hm^2 , 总产量达 10.91 万 t ^[2]。云南省咖啡面积和产量分别占全国的 98.84% 和 99.61%。中国的咖啡消费正在以每年超过 15% 的速度增长, 2021 年中国咖啡市场规模突破 1700 亿元, 居全球第 8 位。与咖啡的食用价值相比, 作为咖啡衍生产品之一的绿咖啡油 (green coffee oil, GCO) 利用率很低, 常用于化妆品行业^[3]。绿咖啡油富含生育酚和不饱和脂肪酸, 如油酸和亚油酸等, 可用于生产营养制品^[4]。然而其中多不饱和脂肪酸极不稳定且易氧化, 导致绿咖啡油保质期缩短及感官、营养品质下降, 极大限制了其生物活性的发挥。因此, 如何保证绿咖啡油的稳定性, 对绿咖啡油的应用具有极其重要的价值。

微胶囊化能使液态的油脂转变为具有亲水性的固体粉末, 保护油脂免受外界因素的影响, 不仅保持了油脂原有的营养价值, 还使其具有稳定的性质和优良的加工特性^[5]。微胶囊制备的常用方法包括复合凝聚法、喷雾干燥法和分子包埋法等。韩婕好等^[6]用喷雾干燥法成功制备奇亚籽油微胶囊, 有效延缓奇亚籽油的氧化, 提高了奇亚籽油的贮藏稳定性。张维等^[7]用超声波辅助分子包埋法制备榛子油微胶囊, 减缓榛子油氧化速度的同时延长了其货架期。COMUNIAN 等^[8]通过喷雾干燥法制备绿咖啡油微胶囊, 所制备的微胶囊具有良好的稳定性, 具有开发营养食品或化妆品配方的潜力。DE OLIVEIRA 等^[9]用复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊并应用到果汁中, 绿咖啡油微胶囊可以有效改善果汁流变性, 提高感官质量。利用复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊具有操作简单、重现性好、无需复杂设备且制备的产品热稳定性好等优点^[9], 目前国内外利用复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊的报道较少。

目前复合凝聚技术最常用的壁材是明胶和阿拉伯胶 (gum arabic, GA)^[10], 但牛肉明胶因朊病毒病及其食品安全问题而使其应用范围下降。在食品领域, 多种动、植物源蛋白已被开发为明胶的替代品, 并与碳水化合物结合后作为复合凝聚微胶囊技术中的壁材^[11]。在前期基础中, 谭睿等^[12]初步评价了不同多糖与明胶组合复合凝聚法包埋绿咖啡油的微胶囊性能, 而对动、植物源蛋白与阿拉伯胶为壁材复合凝聚制备绿咖啡油微胶囊还有待研究。

本研究以 3 种疏水性蛋白和阿拉伯胶为壁材, 采用复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊, 考察不同壁材对绿咖啡油微胶囊包埋效果、表观形貌、结构组成的影响; 探究壁材及其微胶囊内部的相互作用力及热稳定性。该研究为制备绿咖啡油微胶囊提供新的思路和途径, 也为绿咖啡油稳定性提升和高值化利用提供理论依据和技术支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 材料与试剂 绿咖啡油 (C16:0, 5%~20%; C18:0, <7.0%; C18:1, 20%~35%; C18:2, 50%~70%) 由雅克耶提芳香医药 (青岛) 有限公司提供; 阿拉伯胶、大豆分离蛋白 (soybean protein isolate, SPI)、尼罗红 (用于荧光分析, $\geq 95.0\%$)、戊二醛为上海阿拉丁生化科技股份有限公司产品; HilmarTM 9410 乳清分离蛋白 (whey protein isolate, WPI; 89%) 为美国 Hilmar 公司产品; 酪蛋白酸钠 (sodium caseinate, SC; >90%)、异硫氰酸荧光素 (偶联级, 90% 标记率)、异硫氰酸玫瑰红 B (偶联级, 70% 标记率) 为上海源叶生物科技有限公司产品; 其他试剂均为国产分析纯。

1.1.2 仪器与设备 Seven Compact S220 pH 计 [Mettler Toledo 仪器 (上海) 有限公司], FJ200-SH 型数显高速分散均质机 (上海标本模型厂), 数

显悬臂式恒速强力电动搅拌机(江阴市保利科研器械有限公司), DF-101 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司), SynergyH1 全波长扫描式多功能读数仪(美国 BioTek 有限公司), Mastersizer 3000 激光粒度仪(英国马尔文仪器有限公司), Phenom Prox 台式显微能谱一体机(荷兰复纳科学仪器有限公司), Nicolet 6700 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Fisher 公司), FV10i 激光共聚焦显微镜(日本奥林巴斯有限公司), Ultima IV X 射线衍射仪(日本理学株式会社), DSC25 差示扫描量热仪(美国 TA 公司)。

1.2 方法

1.2.1 浊度的测定 采用大豆分离蛋白(SPI)、乳清分离蛋白(WPI)和酪蛋白酸钠(SC)与阿拉伯胶(GA)分别配制总浓度为 0.1% (W/V) 的溶液(表 1), 将溶液置于 45 °C 的恒温水浴环境下, 逐滴缓慢滴加盐酸(0.1、1.0、10.0 mol/L), 调节混合体系的 pH, 以 0.1 梯度调节 pH 至 2.0 左右, 分别测定 pH 和波长为 600 nm 处吸光度。

表 1 3 种复合壁材浊度测定的配方
Tab. 1 Formulation of three composite wall materials for turbidity determination

样品 Sample	壁材质量比 Wall material quality ratio		
	1	2	3
大豆分离蛋白:阿拉伯胶	1:2	1:1	2:1
乳清分离蛋白:阿拉伯胶	1:2	1:1	2:1
酪蛋白酸钠:阿拉伯胶	1:2	1:1	2:1

1.2.2 复聚物的制备工艺 根据表 2 混合均匀制备总生物聚合物浓度为 1% 的溶液, 将混合溶液转移至三口烧瓶, 保持体系温度 50 °C, 置于恒温加热磁力搅拌器中, 搅拌备用。以搅拌速率

400 r/min, 在 30 min 内缓慢滴加 1% 或 10% 盐酸调节乳液的 pH 至前述浊度的最优 pH。关闭加热源, 2 h 内自然冷却至室温后, 用冰水浴降温至 4 °C, 继续反应 1 h。然后将反应体系置于冰水浴中使溶液降温至 15 °C 以下保持 30 min, 以结束复合凝聚反应。用 1% NaOH 溶液调节体系 pH 至 6.0, 然后加入 5 mL 戊二醛(1%) 进行固化, 反应时间为 3 h。固化后即为绿咖啡油微胶囊悬浮液, 静置分层、离心分离上清液后在温度为 -80 °C 的超低温冰箱预冻 24 h, 在 -50 °C 和 20 kbar 下真空冷冻干燥 48 h。所得样品盛放于高密度聚乙烯袋中, 并保存于棕色干燥器中备用。

表 2 复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊配方
Tab. 2 Formulation of green coffee oil microcapsules prepared by complex coacervation

样品 Sample	壁材质量比 Wall material quality ratio	pH
大豆分离蛋白:阿拉伯胶	1:1	3.5
乳清分离蛋白:阿拉伯胶	2:1	3.7
酪蛋白酸钠:阿拉伯胶	2:1	3.8

1.2.3 微胶囊的制备工艺 采用复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊(图 1)。按表 2 分别配置壁材储备液, 以芯壁比 1:1 添加绿咖啡油, 10 000 r/min 均质 5 min, 得到 O/W 乳液; 再缓慢加入 GA 储备液, 10 000 r/min 二次均质 5 min, 得到生物聚合物浓度为 1% 的乳液, 室温下以 500 r/min 速度搅拌, 并用 1.0 mol/L HCl 缓慢滴加调节 pH 至固定值后, 凝聚 30 min。后续制备过程同 1.2.2。

1.2.4 粒度分布 参照 YANG 等^[13]的方法, 采用 Mastersizer 3000 激光粒度仪测定绿咖啡油微胶囊的尺寸分布。每个样品重复测定 3 次。

1.2.5 微胶囊产率、包埋率的测定 根据以下公

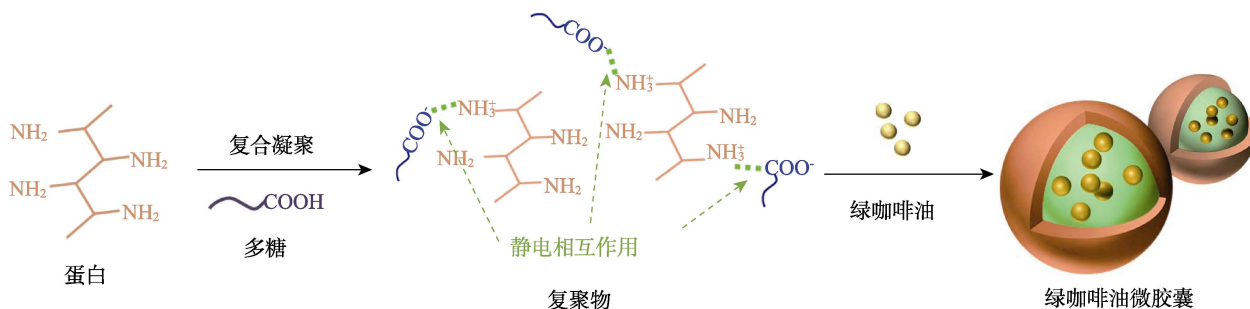


图 1 以 3 种蛋白质与阿拉伯胶为壁材的复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of green coffee oil microcapsules prepared by composite coalescence method with three proteins and gum arabic as wall materials

式计算微胶囊产率 (YE):

$$\text{产率} = \frac{\text{冷冻干燥后微胶囊的质量(g)}}{\text{初始加入样品的质量(g)}} \times 100\% \quad (1)$$

根据以下公式计算微胶囊包埋率 (EE):

$$\text{包埋率} = \frac{\text{样品总含油量(g)} - \text{表面含油量(g)}}{\text{样品总含油量(g)}} \times 100\% \quad (2)$$

微胶囊表面含油量 (SO) 测定: 称取 m_0 微胶囊粉末, 分次加入 30 mL 石油醚快速洗涤, 然后过滤至恒重圆底烧瓶 m_1 , 在 45 °C 和 100 Mpa 压力下进行溶剂回收, 收集完毕于恒温干燥箱中干燥 1.5 h, 冷却称重, 重复操作直至恒重 m_2 。根据以下公式计算表面含油量:

$$\text{表面含油量(g/100 g)} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100 \quad (3)$$

微胶囊总含油量 (TO) 测定: 称取 1.0 g 微胶囊粉末, 用 10 mL 蒸馏水 (45~50 °C) 分次溶解, 加入 1.25 mL 浓氨水混匀, 置于 60 °C 水浴加热 5 min, 冷却加入 10 mL 无水乙醇充分摇匀, 再加入 25 mL 无水乙醚轻轻振荡 1 min 排气, 加入 25 mL 石油醚剧烈振荡 30 s 后静置 30 min 分层, 待上层澄清时读取上层清液总体积 (V_0), 吸取一定体积的上清液 (V_1) 于已恒重的圆底烧瓶 (m_1) 中。在 45 °C 和 100 Mpa 压力下进行溶剂回收, 收集完毕于恒温干燥箱中干燥 1.5 h, 冷却称重, 重复操作直至恒重 m_2 。根据以下公式计算总含油量:

$$\text{总含油量(g/100 g)} = \frac{m_2 - m_1}{m_2 \times (V_1 / V_0)} \times 100 \quad (4)$$

1.2.6 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 分析 参照周麟依等^[14]的方法, 利用 OMNIC 32 软件对光谱进行平滑和基线校正处理, 光谱数据输出格式为透光率, 重复测定 3 次。

1.2.7 扫描电镜 (SEM) 分析 参照 LAN 等^[15]的方法, 用扫描电镜观察绿咖啡油微胶囊及复聚物的微观形貌。

1.2.8 激光共聚焦扫描显微镜 (CLSM) 分析 通过激光共聚焦显微镜在双波长下观察复聚物和微胶囊的样品形态。复聚物和微胶囊油滴观察分别采用 DUHORANIMANA 等^[16]和 BAKRY 等^[17]的方法。

1.2.9 X 射线衍射分析 (XRD) 参照 ALI 等^[18]的方法, 使用 Jade 软件下对样品的结晶度进行计算, 相对结晶度 (relative crystallinity) 为衍射峰

面积与总衍射峰面积之比。

1.2.10 差示扫描热量法 (DSC) 参照 SHI 等^[19]方法并稍作修改, 采用差示扫描量热仪分别对绿咖啡油微胶囊和空囊样品进行扫描, 并作差示扫描分析曲线, 测定玻璃态转变温度。

1.3 数据处理

采用 Origin 96 (Northampton, MA, USA) 软件绘图, 利用 SPSS 26.0 软件 (IBM Corporation, New York, NY) 进行样品间的显著性分析 ($P < 0.05$)。每个样品重复测定 3 次, 结果以平均值 \pm 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 pH 及壁材混合比例对不同蛋白质与阿拉伯胶体系浊度的影响

由图 2 可知, 浊度曲线的起始阶段为体系初始 pH (pH 为 7.0) 下的状态, 3 种蛋白质与阿拉伯胶体系浊度均随 pH 的减小呈先上升后下降的趋势。当 pH 下降至 3.0~4.0 时, 浊度急速上升至峰值 1.20~1.60, 溶液呈现清晰的乳白色, 并逐渐转向非透明状。浊度跨越峰值后迅速进入下降阶段, 与浊度上升过程相比, 下降阶段趋势相对平缓且出现拐点, 随后进入一个更为迟缓的下降过程。

此外, 随着不同蛋白质与阿拉伯胶二者间混合比例的不同, 其浊度曲线也存在较大差异。SPI : GA、WPI : GA 和 SC : GA 的壁材质量比分别设定为 1 : 1、2 : 1 和 2 : 1 用于后续微胶囊制备的最优条件, 其浊度最高点所对应的 pH 3.5、3.7 和 3.8 分别为相应微胶囊形态的最佳理论值。

2.2 复聚物的结构表征

2.2.1 傅里叶变换红外光谱分析 由图 3 可知, 1610.27 cm^{-1} 和 1018.23 cm^{-1} 是属于阿拉伯胶的峰值, 前者在 3 种复聚物的光谱上左移, 后者消失。此外, SPI 在 3293.82 cm^{-1} 处的吸收带于 SPIGA 复聚物中移至 3208.96 cm^{-1} 处, WPI 位于 3299.60 cm^{-1} 处的吸收带在 WPIGA 复聚物中移至 3276.40 cm^{-1} , SC 位于 3208.96 cm^{-1} 处的吸收带在 SCGA 复聚物中移至 3203.18 cm^{-1} 处。在 SPI 光谱中, 1671.98、1535.05、1247.71 cm^{-1} 处的峰对应酰胺 I、酰胺 II 和酰胺 III 吸收带, 分别转移到 SPIGA 光谱中 1643.05、1536.98、1245.79 cm^{-1} 处; 在 WPI 光谱中, 1641.12、1544.70、1249.64 cm^{-1} 处的峰对应酰胺 I、酰胺 II 和酰胺 III, 分别转移

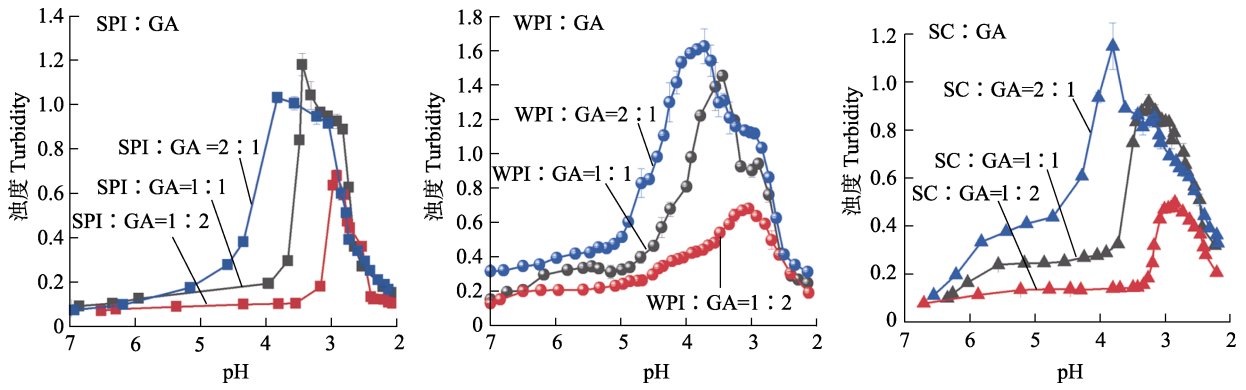
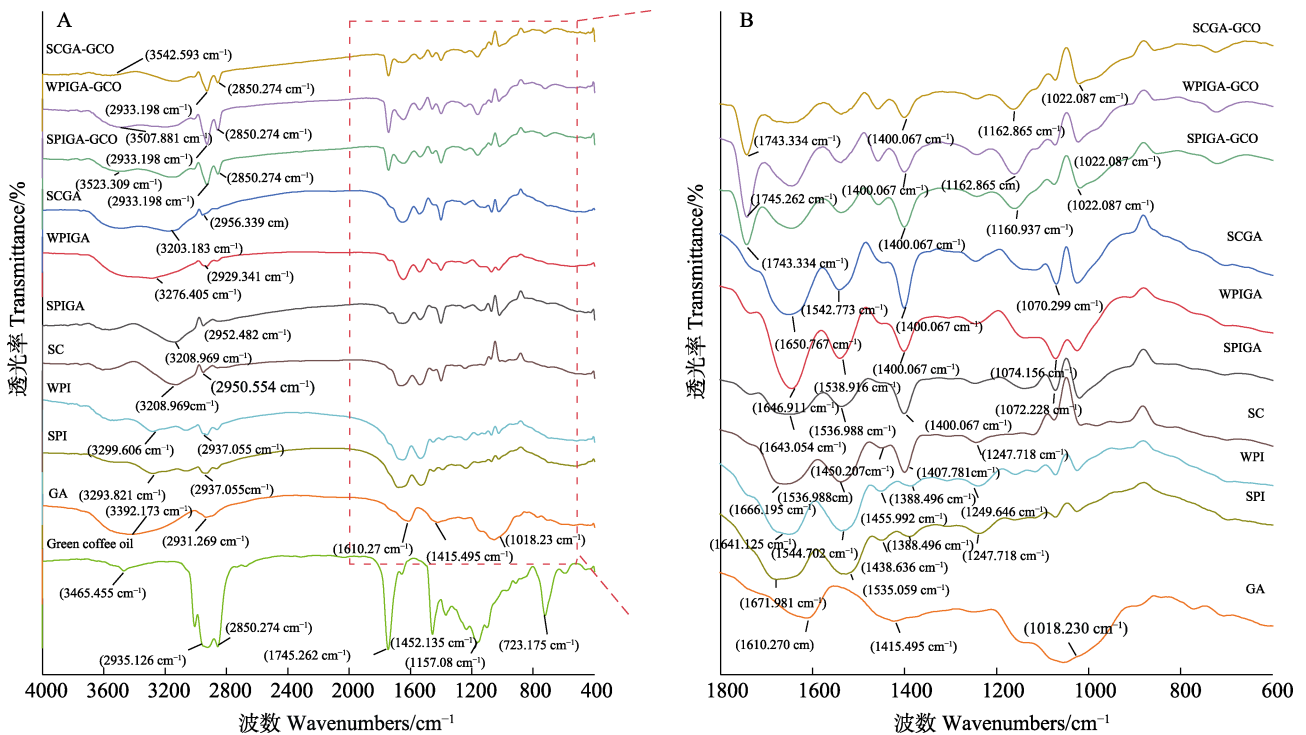


图 2 pH 及壁材混合比例对 3 种蛋白质与阿拉伯胶体系浊度的影响
Fig. 2 Effect of pH and mixing ratio on turbidity of three proteins and acerbic gum system



A: 400-4000 cm^{-1} ; B: 600-1800 cm^{-1} .
图 3 3 种复合壁材制备的绿咖啡油微胶囊、复聚物、芯材及单一组分壁材的红外光谱图

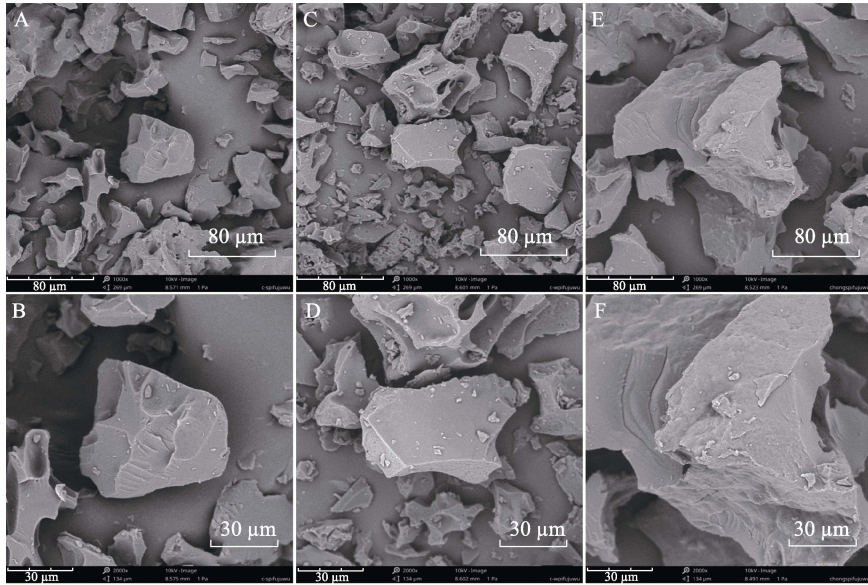
Fig. 3 Fourier infrared spectra of green coffee oil microcapsules, coacervates, core material and single-component wall materials prepared from three composite wall materials

到 WPIGA 光谱中的 1646.91、1538.91、1243.86 cm^{-1} 处。

2.2.2 扫描电镜分析 采用扫描电镜对未加入绿咖啡油的干燥凝聚物形态结构进行评价 (图 4), 所有样品图像均显示粉末尺寸较大, 形状不规则, 呈团聚状存在, 也有类似碎玻璃或片状结构。微粒表面较为完整, 无明显的裂缝。

2.2.3 激光共聚焦扫描显微镜 (CLSM) 分析 采用 CLSM 观察蛋白质和多糖在复聚物中的分布, 蛋白质 (SPI/WPI/SC) 和阿拉伯胶分别用荧光标

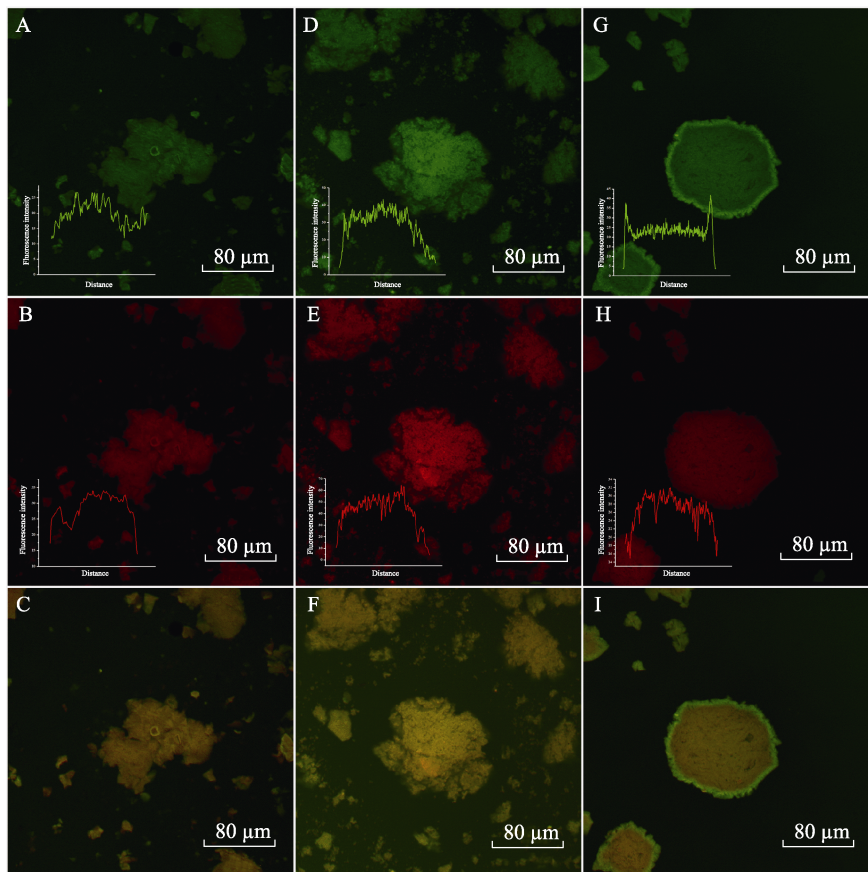
记物 (FITC 和 RBITC) 染色。如图 5 所示, 3 种复聚物大小不规则, 凹陷较少且荧光分布均匀。图 5A、图 5D 和图 5G 标记蛋白质显示绿色结构, 图 5B、图 5E 和图 5H 标记阿拉伯胶为红色通道, 均获得类似的显微图像, 表明 SPI/WPI/SC 和阿拉伯胶同时存在于凝聚的复聚物中; 图 5C、图 5F 和图 5I 可以清楚地看到复合凝聚体 (黄色) 的形成, 说明阿拉伯胶与蛋白质紧密结合, 其中 SCGA 颗粒外围有明显的绿色荧光, 可能是由于酪蛋白酸钠分子比阿拉伯胶分子密度大造成的。



A: SPIGA ($\times 1000$); B: SPIGA ($\times 2000$); C: WPIGA ($\times 1000$); D: WPIGA ($\times 2000$); E: SCGA ($\times 1000$); F: SCGA ($\times 2000$).

图 4 3 种蛋白质与阿拉伯胶制备的复聚物扫描电镜图

Fig. 4 Scanning electron microscopy of coacervates prepared with three proteins and gum arabic



分别对不同蛋白质与 GA 双重标记。A: SPIGA 复聚物-FITC (绿色); B: SPIGA 复聚物-RBITC (红色); C: A 绿色和 B 红色通道的叠加 (淡黄色); D: WPIGA 复聚物-FITC (绿色); E: WPIGA 复聚物-RBITC (红色); F: D 绿色和 E 红色通道的叠加 (淡黄色); G: SCGA 复聚物-FITC (绿色); H: SCGA 复聚物-RBITC (红色); I: G 绿色和 H 红色通道的叠加 (淡黄色)。

Double labeling of different proteins with GA, respectively. A: SPIGA-FITC (green); B: SPIGA-RBITC (red); C: Superposition of A green and B red channels (yellowish); D: WPIGA-FITC (green); E: WPIGA-RBITC (red); F: Superposition of D green and E red channels (yellowish); G: SCGA-FITC (green); H: SCGA-RBITC (red); I: Superposition of G green and H red channels (yellowish).

图 5 3 种蛋白质与 GA 制备的复聚物激光扫描共聚焦显微镜图

Fig. 5 Confocal laser scanning micrographs of coacervates prepared with three proteins and GA

图片共定位分析常用方法有散点图（图 6）、共定位相关系数分析（表 3），均可直观说明分子间的相互作用、相对位置关系和空间距离^[20]。如图 6 所示，WPIGA 的散点图分布呈一条直线，说明 2 个荧光通道在成像时强度相当，相关性最强

且 $r=0.945$ ，越趋近于 1，共定位程度最高；SPIGA 共定位程度次之（ $r=0.930$ ），而 SCGA 的散点图分布偏移对角线，相关性较低（ $r=0.902$ ），共定位程度最低。共定位分析显示 3 种蛋白质与阿拉伯胶分布相似，重合率 >90%。

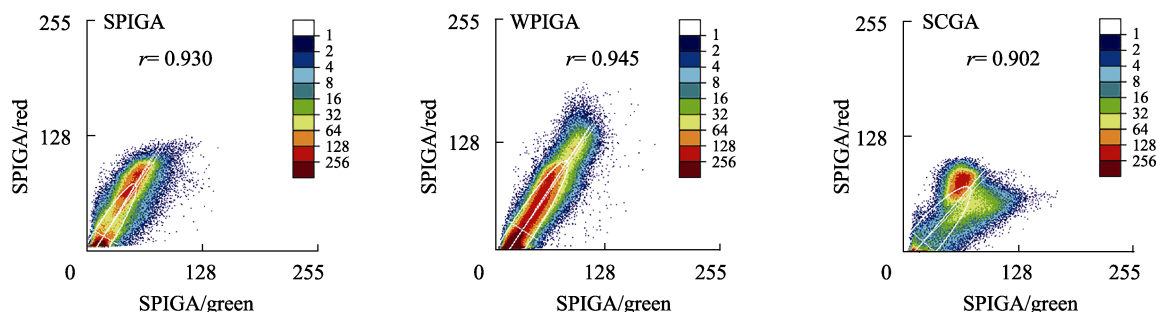


图 6 3 种蛋白质与 GA 制备的复聚物共定位散点图

Fig. 6 Scatter plot of co-localization of coacervates prepared by three proteins and GA

表 3 3 种蛋白质与 GA 制备的复聚物荧光共定位参数
Tab. 3 Fluorescence co-localization parameters of three proteins with GA-prepared coacervates

复聚物 Co-localization	r	R	m_1	m_2	K_1	K_2
SPIGA	0.930	0.918	0.905	0.931	0.368	0.999
WPIGA	0.945	0.943	0.850	1.050	0.624	1.000
SCGA	0.902	0.937	0.858	1.020	0.433	0.978

注： r 为皮尔逊相关系数（Pearson's）； R 为曼德斯重叠系数（Mander's）； K_1 为信号一重叠系数； K_2 为信号二重叠系数； m_1 为信号一共同定位系数； m_2 为信号二共同定位系数。

Note: r is Pearson's correlation coefficient; R is Mander's overlap coefficient; K_1 is signal one overlap coefficient; K_2 is signal two overlap coefficient; m_1 is signal co-localization coefficient; m_2 is signal two co-localization coefficient.

2.3 微胶囊的理化性质

2.3.1 微胶囊的产率及包埋率 由表 4 可知，SPIGA-GCO 微胶囊产率最高，平均为 86.40%，WPIGA-GCO 的产率最低，SPIGA-GCO、SCGA-GCO 微胶囊产率与 WPIGA-GCO 差异显著（ $P<0.05$ ）。不同壁材的微胶囊之间包埋率存在显著差异（ $P<0.05$ ），SPIGA-GCO 的包埋率最高，平均为 69.26%，较 SCGA-GCO 与 WPIGA-GCO 具有相对较好的包埋效果。以 WPIGA-GCO 的表面含油量最高（15.96%），对应包埋率最低。SCGA-GCO 的 TO 含量为三者最高，但包埋率较低。

2.3.2 微胶囊的粒径分析 3 种蛋白质与阿拉伯胶为壁材制备的绿咖啡油微胶囊粒径分布均匀，总体上呈正态分布，呈明显的单峰分布（图 7）。3 种微胶囊的径距随壁材种类的不同而无明显差异（ $P\geq 0.05$ ），范围为 0.72~1.87（表 5）。壁材种

表 4 3 种复合壁材制备的绿咖啡油微胶囊总油、表面油、包埋率和产率

Tab. 4 Total oil, surface oil, encapsulation rate, and yield of green coffee oil microcapsules prepared by three composite wall materials

微胶囊 Microcapsule	SO/ [g·(100 g) ⁻¹]	TO/ [g·(100 g) ⁻¹]	EE/%	YE/%
SPIGA-GCO	7.67±0.45 ^b	24.98±0.37 ^c	69.26±2.23 ^a	86.40±0.38 ^a
WPIGA-GCO	15.96±1.16 ^a	33.64±0.70 ^b	52.57±2.88 ^c	52.10±0.07 ^b
SCGA-GCO	15.72±0.72 ^a	38.15±1.99 ^a	58.69±3.39 ^b	78.40±0.35 ^a

注：SO 为表面含油量，TO 为总含有油，EE 为微胶囊包埋率，YE 为微胶囊产率；同列不同小写字母表示不同样品间差异显著（ $P<0.05$ ）。

Note: SO is surface oil; TO is total oil; EE is microcapsule encapsulation rate; YE is microcapsule yield; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between samples ($P<0.05$).

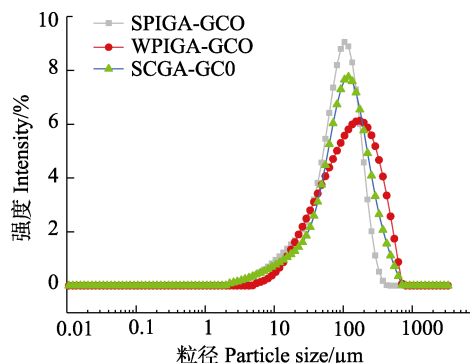


图 7 3 种复合壁材制备的绿咖啡油微胶囊粒径分布图

Fig. 7 Particle size distribution of green coffee oil microcapsules prepared by three composite wall materials

类对绿咖啡油微胶囊平均粒径有显著影响（ $P<0.05$ ），平均粒径范围 97.60~162.00 μm，其中 WPIGA-GCO 的粒径最大（162.00 μm）。

表 5 3 种复合壁材制备的绿咖啡油微胶囊粒径和平均粒径

Tab. 5 Diameter and average particle size of green coffee oil microcapsules prepared by three composite wall materials

微胶囊 Microcapsule	径距 Span	粒径 Particle size/ μm
SPIGA-GCO	1.87 \pm 0.03 ^a	97.60 \pm 0.95 ^c
WPIGA-GCO	1.49 \pm 1.06 ^a	162.00 \pm 1.00 ^a
SCGA-GCO	0.72 \pm 0.01 ^a	131.00 \pm 1.00 ^b

注：同列不同小写字母表示不同样品间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between samples ($P < 0.05$).

2.4 微胶囊的微观结构分析

2.4.1 FT-IR 分析 绿咖啡油微胶囊的红外光谱如图 3 所示。绿咖啡油 3464.45 cm^{-1} (O-H 拉伸) 和 2935.13、2850.27、1745.26 cm^{-1} (C=C 伸缩) 呈强振动模式, 其中 1157.08 cm^{-1} 对应 C-O-C 伸缩。3 种绿咖啡油微胶囊红外光谱峰位于 3542.00~3507.00 cm^{-1} 区域内, 3 种蛋白质在这个区域也存在类似的峰值范围 (3299.00~3208.00 cm^{-1}),

是由于 O-H 键的伸缩振动, 且在 GA 粉末中 3392.17 cm^{-1} 处发现相同峰, 为多糖中 O-H 相关的典型吸收带伸缩 (3550.00~3200.00 cm^{-1})、脂肪族伯胺 (N-H) 伸缩 (3400.00~3300.00 cm^{-1}) 和仲胺 (N-H) 伸缩 (3350.00~3310.00 cm^{-1})。在游离绿咖啡油的光谱中出现吸收带 3465.45 cm^{-1} 分别转移到 3 种绿咖啡油微胶囊光谱中 3131.83、3139.54、3145.32 cm^{-1} 处。比较绿咖啡油、3 种复聚物和绿咖啡油微胶囊的光谱, 在 2933.00~2850.00 cm^{-1} 处出现特征吸收带, 证明存在类黄酮的伸缩振动 (2920.00~2970.00 cm^{-1}) 和亚甲基的不对称振动 (2925.00~2853.00 cm^{-1}), 表示绿咖啡油已成功封装到 3 种不同复聚物中。绿咖啡油光谱中出现 1745.26 cm^{-1} 吸收峰为甘油三酯羰基官能团强烈特征吸收带, 且在 3 种微胶囊 FT-IR 图中 1745.00~1743.00 cm^{-1} 处也出现其峰值。

2.4.2 SEM 分析 3 种微胶囊粉末微观结构如图 8 所示。所有样品粉末都具有碎玻璃结构和萎缩的纹理, 且颗粒形状和大小不同, 呈不规则片状

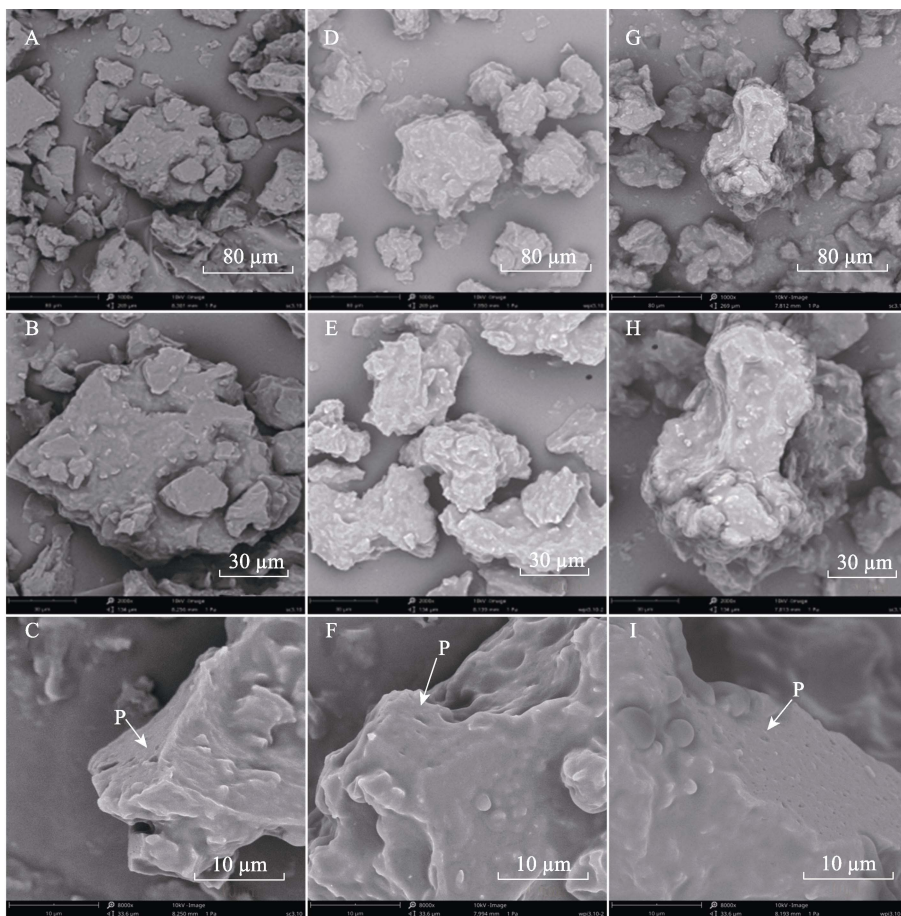
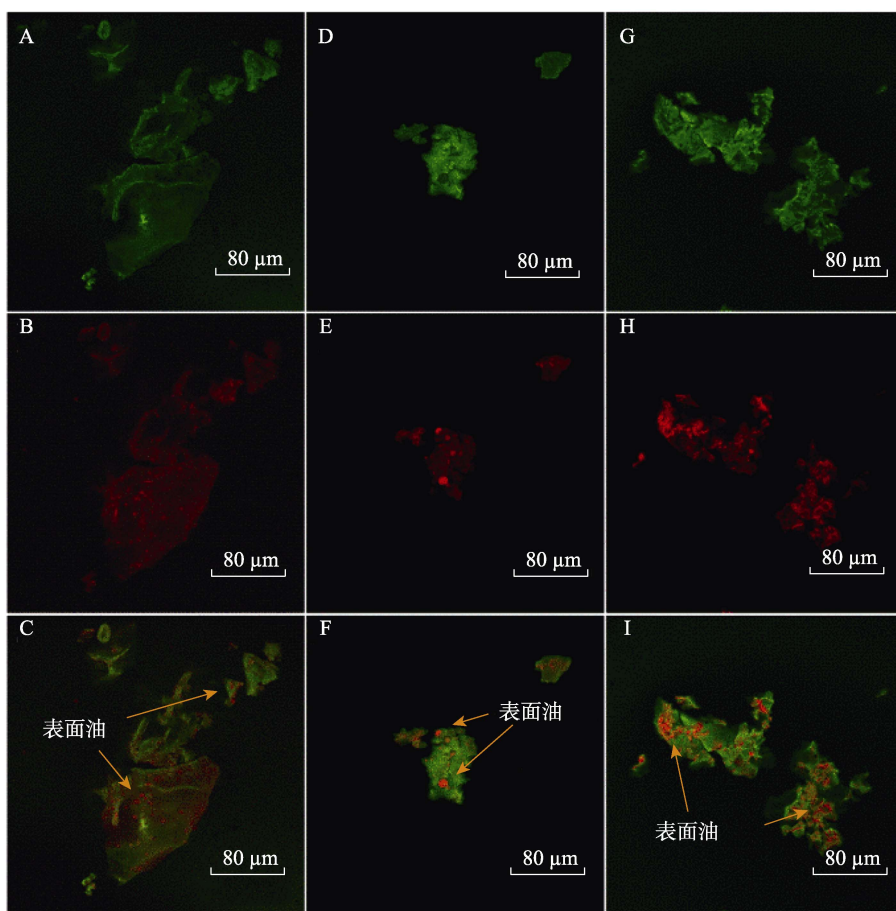


Fig. 8 Scanning electron microscopy of green coffee oil microcapsules prepared by three composite wall materials

结构。SPIGA-GCO、WPIGA-GCO 和 SCGA-GCO 微胶囊由于蛋白质的乳化特性, 油滴在光滑无孔的表面形态下分散, 图像显示微粒表面没有裂纹或裂缝的迹象。

2.4.3 CLSM 分析 由图 9 可以发现, 绿咖啡油微胶囊是不规则粒子, 由于 CLSM 的景深有限, 凹陷表面的扫描盲区显示为黑色。绿色图层(图 9A、图 9D、图 9G)为 FITC 所染不同的蛋白质, 红色图层(图 9B、图 9E、图 9H)为尼罗红所染的绿咖啡油, 后者的荧光强度反映油量。在 WPIGA-GCO 和 SCGA-GCO 颗粒表面有部分强烈

的红色荧光, 说明表面油量较多且相对包埋率低(图 9E、图 9H)。SPIGA-GCO 图像显示的荧光强度较低且均匀, 表明绿咖啡油被较好地包埋在颗粒内部(图 9B)。此外, 从图 9C、图 9F、图 9I 中观察到油滴(红色部分)被均匀地嵌入在蛋白质基质(绿色部分)中, 无论是外层还是内层, 表明绿咖啡油被 SPIGA、WPIGA 或 SCGA 成功封装。其中 SPIGA-GCO 中红色荧光分布更为均匀, 说明绿咖啡油被有效包埋在 SPIGA 中; 而 WPIGA-GCO 中部分油滴被组织成小液滴外露在壁材表面(箭头所示)。



A: SPIGA-GCO 微胶囊中的 SPI (绿色); B: SPIGA-GCO 微胶囊中的油滴 (红色); C: A 和 B 的叠加层; D: WPIGA-GCO 微胶囊中的 WPI (绿色); E: WPIGA-GCO 微胶囊中的油滴 (红色); F: D 和 E 的叠加层; G: SCGA-GCO 微胶囊中的 SC (绿色); H: SCGA-GCO 微胶囊中的油滴 (红色); I: G 和 H 的叠加层。

A: SPI in SPIGA-GCO microcapsules (green); B: Oil droplets in SPIGA-GCO microcapsules (red); C: Superimposed layer of A and B; D: WPI in WPIGA-GCO microcapsules (green); E: Oil droplets in WPIGA-GCO microcapsules (red); F: Superimposed layer of D and E; G: SC in SCGA-GCO microcapsules (green); H: Oil droplets in SCGA-GCO microcapsules (red); I: Superimposed layer of G and H.

图 9 3 种复合壁材制备的绿咖啡油微胶囊激光共聚焦扫描显微图

Fig. 9 Confocal laser scanning microcapsules of green coffee oil prepared by three composite wall materials

2.4.4 XRD 分析 图 10 所示, 3 种壁材(SPIGA、WPIGA、SCGA)与其绿咖啡油微胶囊的衍射图形大致相似, 为一个较宽的漫反射峰, 表明绿咖啡油微胶囊具有无定形结构的特征; 3 种绿咖啡

油微胶囊衍射角(2θ)范围为 $19.38\sim 20.92^\circ$ 与壁材相比 ($19.18\sim 19.58^\circ$), 微胶囊的特征峰都发生了偏移。表明 SPIGA-GCO、WPIGA-GCO 和 SCGA-GCO 的络合是成功的。此外, 3 种壁材与

绿咖啡油微胶囊的 2θ 附近其峰值锐度和强度存在差距, 绿咖啡油微胶囊峰值较窄且强度增加, 表明添加绿咖啡油不会显著改变主衍射峰的位置, 但会使衍射峰变窄且强度增加。本研究中 SPIGA-GCO、WPIGA-GCO 和 SCGA-GCO 3 种微胶囊的相对结晶度分别为 45.99%、46.37% 和 42.23%, 其中 WPIGA-GCO 显示出很小的结晶倾向, 与其他壁材相比具有较高的相对结晶度。

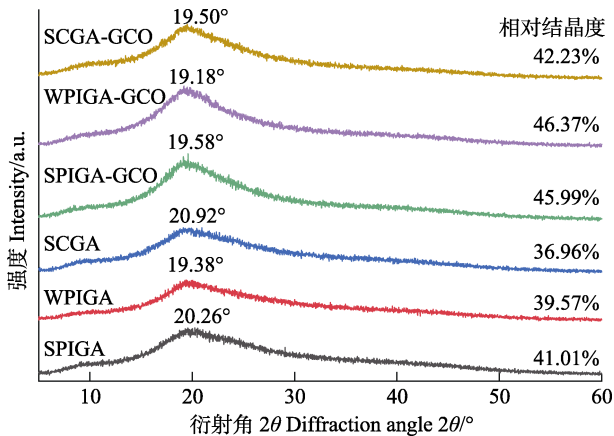


图 10 3 种复合壁材及其制备的绿咖啡油微胶囊 X 射线衍射图

Fig. 10 X-ray diffraction pattern of three composite wall materials and prepared green coffee oil microcapsules

2.5 微胶囊的热性能分析

由图 11 可知, 3 种绿咖啡油微胶囊的玻璃化转变温度均在 100 °C 以上, SPIGA-GCO、WPIGA-GCOH 和 SCGA-GCO 分别在 107.60、108.33、103.93 °C 有明显的吸热峰, 而 3 种壁材分别在 112.12、110.21、109.46 °C 达到热变性温度, 三者变化趋势相似, 峰位略有移动。

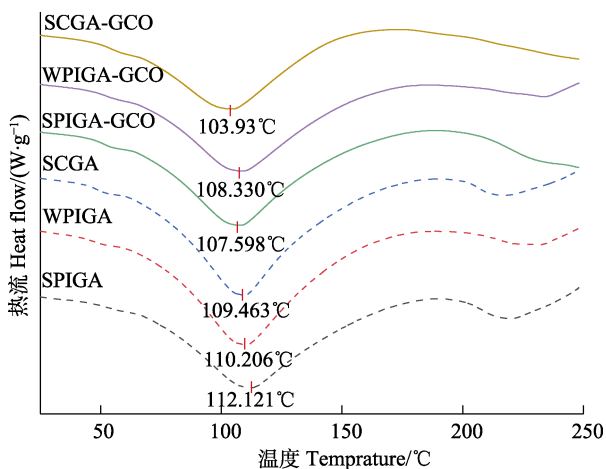


图 11 3 种复合壁材及其制备的绿咖啡油微胶囊的热行为
Fig. 11 Thermal behavior of three composite wall materials and corresponding green coffee oil microcapsules

3 讨论

本研究提出了绿咖啡油与 3 种蛋白质和阿拉伯胶复聚物作为微胶囊载体的结合条件。

3.1 复聚物最佳 pH 和壁材比研究

3 种蛋白质与阿拉伯胶体系浊度均随 pH 的减小呈先上升后下降的趋势, 当 pH 下降至 3.0~4.0 时, 浊度急速上升至峰值, 浊度跨越峰值后迅速进入较为迟缓的下降阶段。主要是由于随着静电相互作用的增强, 先前形成的可溶性复合物发生了结构间的重排, 从而形成某种相对紧密的结构。复聚物浊度的峰值还意味着不同蛋白质与阿拉伯胶间的静电相互作用达到了最大值, 此刻发生相分离, 具备了形成微胶囊的可能性^[21]。浊度跨越峰值后迅速进入下降阶段, 这可能是由于不可溶性复合物基本消失, 体系过渡到可溶性复合物的解体过程中, 发生“破乳”现象。不同蛋白质与阿拉伯胶混合比例的不同, 其浊度曲线也存在较大差异, 说明 pH 和壁材质量比都极大地影响了蛋白质和多糖的相互作用以及微胶囊的形成。基于静电相互作用最大即等同于浊度最大的原理, 各曲线浊度最大点均为各比例下的静电中和点^[22], 达到该点可使壁材最大程度被利用。本研究结果与贾聪等^[23]和夏慧亭等^[24]的报道一致, 酪蛋白酸钠和阿拉伯胶的最适 pH 与刘春花等^[25]的研究结果略有不同, 可能是由于在制备蛋白储备液时, 盐离子使得后续复合物体系发生改变, 最佳条件也会发生细微影响。

3.2 蛋白质与阿拉伯胶制备复聚物的结构表征

3.2.1 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 分析 红外光谱是生物聚合物结构分析的有力工具, 可提供蛋白质和阿拉伯胶复杂凝聚过程中相互作用的信息^[26]。本研究通过 FT-IR 扫描图谱和荧光共定位分析证实了蛋白质与阿拉伯胶之间存在静电相互作用, 获得了稳定、表观完整的复聚物, 为后续的绿咖啡油包埋工作奠定了基础。SPI、WPI 和 SC 吸收带在复聚物中发生偏移, 表明 SPI、WPI 和 SC 中的 O-H 基团与阿拉伯胶中的 C=O 基团之间形成了氢键^[27]。3 种蛋白质与阿拉伯胶形成复聚物, 单一组分的壁材在形成复聚物后在酰胺 I、II 和 III 的吸收峰分别有偏移, 说明蛋白质的氨基与阿拉伯胶的羧基确实发生静电相互作用。QIU 等^[28]通过红外光谱发现绿豆蛋白吸收峰从 3294.01 cm^{-1} 移动到绿豆蛋白和杏皮果胶复聚物

中的 3293.46 cm^{-1} 处,表明绿豆蛋白与杏皮果胶之间发生静电相互作用,与本研究结论一致。

3.2.2 扫描电镜 (SEM) 分析 SEM 下未加入绿咖啡油的干燥凝聚物微粒表面较为完整,无明显裂缝。说明 SPI、WPI、SC 与阿拉伯胶相互作用,构建了致密性良好的壁材体系,促进微胶囊的形成^[17]。碳水化合物的添加使得壁材体系在结构形态上更加稳定,对于芯材的保护和避免氧化,提高微胶囊稳定性至关重要。本研究复聚物形态结果与 CHARLES 等^[29]的研究结果一致,后者发现以麦芽糊精和乳清分离蛋白制备的复聚物其结构不规则,缺乏正常的球形,呈现高度多孔。

3.2.3 激光共聚焦扫描显微镜 (CLSM) 分析 CLSM 下 3 种复聚物大小不规则,凹陷较少且荧光分布均匀,这可能是因为碳水化合物组成的壁材体系具有更高的分子柔性,表现出更多的分子构型,导致成膜均匀^[18],提高微胶囊稳定性。DUHORANIMANA 等^[16]研究表明,蛋白多糖复合凝聚的胶囊壁外部界面上高密度的明胶分子有利于保护芯材。CLSM 分析发现,3 种蛋白质和阿拉伯胶在复聚物内均匀分布,构成稳定的骨架,可赋予微胶囊壁一定的机械强度和致密性,对提高微胶囊的氧化稳定性有重要作用。

3.2.4 共定位分析 不同蛋白和阿拉伯胶复合凝聚后具有良好的相关性,其中 WPIGA 相关性最强,说明乳清分离蛋白与阿拉伯胶之间有较强的静电相互作用。本研究发现蛋白质和多糖在颗粒内部均匀分布,构成高稳定性的骨架,共定位分析也显示蛋白与多糖分布相似,重合率达到 70% 以上,与 ZHANG 等^[30]的研究结果类似。

3.3 蛋白质与阿拉伯胶制备微胶囊的理化性质、结构及性能特点

3.3.1 理化性质 不同壁材对微胶囊的产率有显著影响,本研究结果与肖军霞等^[31]以大豆分离蛋白阿拉伯胶为壁材包埋甜橙油的结果一致。包埋率用来评价粉末状微胶囊内油脂的保护程度,是微胶囊粉末的重要特征。ILYASOGLU 等^[32]通过冷冻干燥获得的鱼油微胶囊包埋率为 29.40%~81.60%。与本研究所得包埋率相似,说明 3 种壁材均有效包埋绿咖啡油。SHAO 等^[26]以麦芽糖糊精-蛋白为壁材制备灵芝多糖微胶囊,与大豆分离蛋白和酪蛋白酸钠相比,乳清蛋白和麦芽糖糊精络合制备的微胶囊包埋率达到 89.80%,说明适当添加蛋白可改善麦芽糊精的性能,提高包封效率。

由此可知,壁材的选择也可改变微胶囊包埋率,且与壁材的种类无线性关系。表面油 (SO) 表示存在于微胶囊表面未被包埋的绿咖啡油,易发生氧化变质,从而降低功能成分的保质期^[33],是导致包埋率较低的主要因素之一。因此应尽量减少脂质封装中的表面油量。WPIGA-GCO 的 SO 较高,对应包埋率较低。SCGA-GCO 的 SO 含量为最高,但包埋率较低,由此可知,尽管粉末中的高含油量是理想的,但相对较高的包埋率也可能导致芯材损失^[34],因此还需最大限度保护油的同时减少表面油含量。

3.3.2 粒径 粒径大小是微胶囊应用于食品基质的一个主要特征。壁材种类对绿咖啡油微胶囊平均粒径有显著影响,本研究表明 WPIGA-GCO 的粒径最大,可能是由于 WPI 的乳化和成膜能力在干燥过程中诱导微胶囊膨胀或膨化,通过增加封闭空气含量来增加粒径尺寸。这一结果与石泽栋等^[10]对牛至精油微胶囊化的结果相似,其微胶囊平均粒径为 $147.00\text{ }\mu\text{m}$ 。

3.3.3 FT-IR FT-IR 是生物大分子及其聚合物结构分析的有力工具,通过 FT-IR 扫描分析,可以显示各物质的分子结构和特征化学键^[35],可以证明微胶囊的形成以及物质之间是否存在相互作用。绿咖啡油微胶囊的红外光谱显示,绿咖啡油具有强烈的疏水性^[36],壁材和芯材之间发生氢键效应,对应酯的存在^[28],绿咖啡油成功包埋于 3 种复聚物中,且与壁材未发生化学反应。

3.3.4 微观结构 SEM 显示 3 种微胶囊粉末微观结构,显示微粒表面无裂纹或裂缝的迹象,但是不同微胶囊截面存在相似的微腔和孔隙,可能是由于乳状液在冷冻过程中形成较小的冰晶,且在冷冻干燥过程中升华,从而形成多孔结构。YANG 等^[37]研究解释了微胶囊表面光滑是因为蛋白质构象会随着蛋白质与不同材料的相互作用而改变,趋向于更有利的相互作用,如通过静电相互作用能够稳定复合物和降低系统的表面张力。本研究结果显示,3 种配方制备的绿咖啡油微胶囊壁结构相对完整,由此可推断微胶囊对芯材具有良好的保护作用。此外,实验结果与其表面油含量和包埋率的测定结果一致,以 SPI 和阿拉伯胶为壁材制备的绿咖啡油微胶囊表面最平整光滑,其表面油含量最低,包埋率最好。SEM 显示了绿咖啡油微胶囊的表观形态,但不能直观地观察到微胶囊的油滴分布,因此,使用多重标记的 CLSM

观察 3 种绿咖啡油微胶囊中油滴分布, CLSM 图像证实了绿咖啡油已成功包埋在 3 种复合壁材中, 且印证了 SEM 图像的观察结果。这一结果进一步说明 SPIGA、WPIGA 和 SCGA 可作为包埋绿咖啡油的微胶囊壁材。

3.3.5 XRD 为了研究复合壁材和绿咖啡油微胶囊的晶体结构及其结晶度进行了 XRD 测定。一般来说, 晶体材料的峰较尖, 而非晶材料的峰较宽。本研究显示, 芯材和壁材之间具有高度相容性, 且包埋后不会在很大程度上破坏壁材的无定形结构, 说明绿咖啡油微胶囊已经形成, 与曹俊英等^[38]的研究结果一致。一般来说, 无定形壁材比结晶壁材具有更强的吸湿性和水溶性, 因此在贮藏过程中会吸附更多的水, 并通过微观结构的破坏、营养物质的降解和微生物的不稳定性降低了微胶囊的贮藏稳定性。为了研究绿咖啡油微胶囊的稳定性, 计算了微胶囊的结晶度。本研究中 SPIGA-GCO、WPIGA-GCO 和 SCGA-GCO 3 种微胶囊的相对结晶度分别为 45.99%、46.37% 和 42.23%, 表明该晶体结构是理想的, 所得结果与 ALI 等^[18]报道苦参提取物微胶囊的相对结晶度 (34.03%~46.52%) 类似。其中 WPIGA-GCO 显示出很小的结晶倾向, 与其他壁材相比具有较高的相对结晶度, 可能是由于分子间相互作用, 结晶度和游离体积均会影响势垒的渗透率, 具有相对较好的贮藏稳定性。

3.3.6 热性能 采用 DSC 测定样品在控温过程中吸收或释放的热量, 以评价样品的热力学性质。在 DSC 测量中, 热分析谱上的吸热峰代表了试样的热变性温度区, 该峰值对应的温度即为热变性温度 (玻璃化转变温度), 样品的变性温度越高, 热稳定性越高^[39]。本研究中, 3 种绿咖啡油微胶囊的玻璃化转变温度均在 100 °C 以上, 说明微胶囊化对绿咖啡油具有良好的保护作用。SPIGA-GCO、WPIGA-GCOH 和 SCGA-GCO 出现明显的吸热峰与达到热变性温度时二者趋势相似, 峰位略有移动, 其原因可能是 2 种体系的孔隙率和微观结构的差异。BURHAN 等^[39]制备的肉桂精油纳米微胶囊具有较高的热稳定性, 发现高热稳定性与蛋白质和多糖分子间的相互作用有关, 与本研究结果相似。

综上, 微胶囊实验表明, 不同蛋白质与阿拉伯胶的组合对微胶囊的粒径和包埋率有显著影响; 通过傅里叶红外光谱发现壁材和芯材之间存

在较强的氢键效应; SEM 和 CLSM 表征结果证明绿咖啡油最终包埋在 3 种壁材中; XRD 图谱表明 3 种微胶囊具有无定形结构, 且绿咖啡油的嵌入对微胶囊的结晶状态无显著影响; 通过 DSC 对不同蛋白质与阿拉伯胶形成的复聚物热稳定性进行分析, 得出其微胶囊产品性质比较稳定, 整体结构完整, 表明 3 种复合壁材可对绿咖啡油有良好的保护作用。其中 SPIGA-GCO 的产率最高 (86.40%)、粒径最小 (97.60 μm)、包封率最大 (69.26%)、油滴能够均匀嵌入壁材并具有更好的热稳定性 (107.60 °C), 表明用大豆分离蛋白和阿拉伯胶对绿咖啡油包埋效果更优, 更有利于绿咖啡油的储存和使用。以 3 种疏水蛋白质与阿拉伯胶为壁材, 通过复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊具有可行性, 所制备的绿咖啡油微胶囊表现出优良的热稳定性, 为绿咖啡油在食品领域的深加工利用提供了理论依据和技术支撑。

参考文献

- [1] 胡荣锁, 况沁蕊, 王晓阳, SOLANO W, 龙宇宙, 陈治华, 李学俊, 蒋快乐, 董文江. 普洱产区咖啡干香感官特征解析及杯品质量分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(2): 535-545.
HU R S, KUANG Q R, WANG X Y, SOLANO W, LONG Y Z, CHEN Z H, LI X J, JIANG K L, DONG W J. Sensory characteristics of dry aroma and cupping quality of coffee from Pu'er producing area[J]. Journal of Tropical Crops, 2021, 42(2): 535-545. (in Chinese)
- [2] 付兴飞, 李贵平, 黄家雄, 程金焕, 吕玉兰, 李亚男, 武瑞瑞, 胡发广. 云南省 3 个咖啡产区小粒咖啡病虫害危害调查分析[J]. 热带农业科学, 2020, 40(3): 67-75.
FU X F, LI G P, HUANG J X, CHENG J H, LYU Y L, LI Y N, WU R R, HU F G. Investigation and analysis on the diseases and insect pest of *Coffea arabica* in three coffee producing areas of Yunnan province[J]. Chinese Journal of Tropical Agricultural, 2020, 40(3): 71-79. (in Chinese)
- [3] LOMBO V O, CRISTINA B S M, PAULA B A, FRANCESCHI A F, BRUNO B, JÉRÔME L, CRUZ F E M, NATHALIE G, PIERRE V, VALÉRIE G, MORAES R C, CLAIRE B L, SIMÕES L F M. Active packaging films containing antioxidant extracts from green coffee oil by-products to prevent lipid oxidation[J]. Journal of Food Engineering, 2022, 312: 110744.
- [4] LOMBO V O, TSUKUI A, GARRETT R, MIGUEZ R M H, PILER C C W, PEREIRA F S, MORAES R C, SIMÕES L F M. Production of bioactive films of carboxymethyl cellulose enriched with green coffee oil and its residues[J]. Interna-

- tional Journal of Biological Macromolecules, 2020, 146: 730-738.
- [5] MUHOZA B, XIA S Q, WANG X J, ZHANG X M, LI Y, ZHANG S. Microencapsulation of essential oils by complex coacervation method: preparation, thermal stability, release properties and applications[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(5): 1363-1382.
- [6] 韩婕妤, 罗文涛, 庞月红, 沈晓芳. 奇亚籽油微胶囊储藏稳定性及释放性质研究[J]. 中国油脂, 2022, 47(12): 97-101.
HAN J Y, LUO W T, PANG Y H, SHEN X F. Storage stability and release properties of chia seed oil microcapsules[J]. China Oils and Fats, 2022, 47(12): 97-101. (in Chinese)
- [7] 张维, 陈丽蕊, 时孟杰, 刘欢, 范丽颖. 榛子油微胶囊的制备及其稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 206-214.
ZHANG W, CHEN L R, SHI M J, LIU H, FAN L Y. Preparation and stability of hazelnut oil microcapsules[J]. Food Industry Science and Technology, 2022, 43(2): 206-214. (in Chinese)
- [8] COMUNIAN T A, DA SILVA ANTERO A G, BEZERRA E O, MORAES I C F, HUBINGER M D. Encapsulation of pomegranate seed oil by emulsification followed by spray drying: evaluation of different biopolymers and their effect on particle properties[J]. Food and Bioprocess Technology, 2020, 13(1): 53-66.
- [9] DE OLIVEIRA W Q, WURLITZER N J, DE OLIVEIRA ARAÚJO A W, COMUNIAN T A, BASTOS M D S R, OLIVEIRA A L D, MAGALHÃES H C R, RIBEIRO H L, FIGUEIREDO R W D, SOUSA P H M D. Complex coacervates of cashew gum and gelatin as carriers of green coffee oil: the effect of microcapsule application on the rheological and sensorial quality of a fruit juice[J]. Food Research International, 2020, 131: 109047.
- [10] 石泽栋, 蒋雅萍, 孙英杰, 李富军, 闵德栋, 张新华, 李晓安. 牛至精油微胶囊的制备、表征及在杏贮藏期的抑菌效果[J]. 食品科学, 2021, 42(11): 186-194.
SHI Z D, JIANG Y P, SUN Y J, LI F J, MIN D D, ZHANG X H, LI X A. Preparation and characterization of oregano essential oil microcapsules and its effect on quality preservation of apricot fruit during storage[J]. Food Science, 2021, 42(11): 186-194. (in Chinese)
- [11] CHOI Y R, CHANG Y H. Microencapsulation of gallic acid through the complex of whey protein concentrate-pectic polysaccharide extracted from *Ulmus davidiana*[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 85: 222-228.
- [12] 谭睿, 申瑾, 董文江, 章中, 龙宇宙, 胡荣锁, 陈治华, 蒋快乐. 复合凝聚法制备绿咖啡油微胶囊及其性能[J]. 食品科学, 2020, 41(23): 144-152.
TAN R, SHEN J, DONG W J, ZHANG Z, LONG Y Z, HU R S, CHEN Z H, JIANG K L. Preparation of green coffee oil microcapsules by complex coacervation method and its physicochemical properties [J]. Food Science, 2020, 41(23): 144-152. (in Chinese)
- [13] YANG L, LI F, CAO X Y, QIAO X, XUE C H, XU J. Stability and bioavailability of protein matrix-encapsulated astaxanthin ester microcapsules[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2021, 102(5): 2144-2152.
- [14] 周麟依, 任双鹤, 郭亚男, 樊乃境, 江连洲, 贾富国, 王中江, 刘军. 均质工艺对制备鱼油微胶囊结构和理化性质的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(5): 99-105.
ZHOU L Y, REN S H, GUO Y N, FAN N J, JIANG L Z, JIA F G, WANG Z J, LIU J. Effect of homogenization process on the structure and physicochemical properties of prepared fish oil microcapsules[J]. Food Science, 2021, 42(5): 99-105. (in Chinese)
- [15] LAN Y, OHM J B, CHEN B C, RAO J J. Microencapsulation of hemp seed oil by pea protein isolate-sugar beet pectin complex coacervation: influence of coacervation pH and wall/core ratio[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106423.
- [16] DUHORANIMANA E, YU J Y, MUKESHIMANA O, HABINSHUTI I, KARANGWA E, XU X, MUHOZA B, XIA S Q, ZHANG X M. Thermodynamic characterization of gelatin-sodium carboxymethyl cellulose complex coacervation encapsulating conjugated linoleic acid (CLA)[J]. Food Hydrocolloids, 2018, (80): 149-159.
- [17] BAKRY A M, HUANG J J, ZHAI Y Y, HUANG Q L. Myofibrillar protein with κ - or λ -carrageenans as novel shell materials for microencapsulation of tuna oil through complex coacervation[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 43-53.
- [18] ALI A Q, KHALEEL M J, ALI M A, WALEED A, ZHANG M, ABDULQADER A, WEI M P, MON P H, YAO W R. Physicochemical properties, microstructure, and storage stability of *Pulicaria jaubertii* extract microencapsulated with different protein biopolymers and gum Arabic as wall materials[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 187: 939-954.
- [19] SHI Z D, JIANG Y P, SUN Y J, MIN D D, LI F J, LI X A, ZHANG X H. Nanocapsules of oregano essential oil preparation and characterization and its fungistasis on apricot fruit during shelf life[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2021, 45(7): 15649.
- [20] HERCE H D, CASAS-DELUCCHI C S, CARDOSO M C. New image colocalization coefficient for fluorescence microscopy to quantify (bio-)molecular interactions[J]. Journal of Microscopy, 2013, 249(3): 184-194.
- [21] 王肖肖. 复合凝聚法制备柑橘精油微胶囊及其抑菌性能研究[D]. 上海: 上海应用技术大学, 2020.
WANG X X. Study on the preparation of citrus essential oil microcapsule and its bacteriostatic properties by compound

- condensation method[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Technology, 2020. (in Chinese)
- [22] 吕怡. 复合凝聚反应制备茉莉香精微/纳米胶囊及其机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
LYU Y. Preparation of jasmine essence micro/nano-capsule via complex coacervation and its mechanism research[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012. (in Chinese)
- [23] 贾聪, 华欲飞, 陈业明, 张彩猛, 孔祥珍. pH 和阿拉伯胶对大豆分离蛋白/大豆蛋白酶解产物乳化性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(5): 25-29.
JIA C, HUA Y F, CHEN Y M, ZHANG C M, KONG X Z. Effect of pH and Arabic gum on emulsifying properties of SPI/hydrolysates[J]. Food and Fermentation Industry, 2017, 43(5): 25-29. (in Chinese)
- [24] 夏慧亭. 复凝聚法制备橄榄油微胶囊及其性质研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
XIA H T. Preparation and characterization of olive oil microcapsule by complex coacervation[D]. Haerbin: Northeast Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [25] 刘春花, 周爱梅, 杨苒, 彭丹盈, 刘欣, 曹庸. 酪蛋白酸钠和阿拉伯胶相互作用的研究及纳米粒的制备[J]. 食品工业科技, 2017, 38(15): 68-77, 84.
LIU C H, ZHOU A M, YANG R, PENG D Y, LIU X, CAO Y. Studies on the interaction of sodium caseinate and gum Arabic and preparation of nanoparticles[J]. Food Industry Science and Technology, 2017, 38(15): 68-77, 84. (in Chinese)
- [26] SHAO P, XUAN S Q, WU W C, QU L. Encapsulation efficiency and controlled release of *Ganoderma lucidum* polysaccharide microcapsules by spray drying using different combinations of wall materials[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 125: 962-969.
- [27] 石燕. 微胶囊化西藏酥油的制备、微结构及其性质研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2008.
SHI Y. Studies on the preparation and microstructure as well as property of microencapsulated Xizang ghee[D]. Nanchang: Nanchang University, 2008. (in Chinese)
- [28] QIU L Q, ZHANG M, BENU A, CHANG L. Microencapsulation of rose essential oil in mung bean protein isolate-apricot peel pectin complex coacervates and characterization of microcapsules[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 124: 107366.
- [29] CHARLES A L, ABDILLAH A A, SARASWATI Y R, SRIDHAR K, BALDERAMOS C, MASITHAH E D, ALAMSJAH M A. Characterization of freeze-dried microencapsulation tuna fish oil with arrowroot starch and maltodextrin[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112: 106281.
- [30] ZHANG T, CAO J S, ZHU Q R, FU B M, YANG E, FANG F, FENG Q, LUO J Y. Revealing the characteristics and formation mechanisms of partial denitrification granular sludge for efficient nitrite accumulation driven by glycerol[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 428: 131195.
- [31] 肖军霞, 杨剑, 黄国清, 沈丽, 于海燕. SPI-GA 复凝聚法制备甜橙油微胶囊及表征[J]. 中国食品学报, 2012, 12(11): 64-68.
XIAO J X, YANG J, HUANG G Q, SHEN L, YU H Y. Preparation of sweet orange oil microcapsule by soybean protein isolate-gum Arabic complex coacervation and its characterization[J]. Chinese Journal of Food Science, 2012, 12(11): 64-68. (in Chinese)
- [32] ILYASOGLU H, EL S N. Nanoencapsulation of EPA/DHA with sodium caseinate-gum Arabic complex and its usage in the enrichment of fruit juice[J]. LWT Food Science and Technology, 2014, 56(2): 461-468.
- [33] FIORAMONTI S A, STEPANIC E M, TIBALDO A M, PAVÓN Y L, SANTIAGO L G. Spray dried flaxseed oil powdered microcapsules obtained using milk whey proteins-alginate double layer emulsions[J]. Food Research International, 2019, 119: 931-940.
- [34] KATARZYNA S, SAREH B, MANSOUREH G, HAMED H, CRISTIAN D, SARA K N, HADIS R, REZA F S, REZVAN S, SAFOURA A A, MAHDI J S. Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 108: 297-325.
- [35] COSTA A M M, MORETTI L K, SIMÕES G, SILVA K A, CALADO V, TONON R V, TORRES A G. Microencapsulation of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil by complex coacervation: development of a potential functional ingredient for food application[J]. LWT Food Science and Technology, 2020, 131: 109519.
- [36] CHEW S C, TAN C P, NYAM K L. Microencapsulation of refined kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil by spray drying using β -cyclodextrin/gum Arabic/sodium caseinate[J]. Journal of Food Engineering, 2018, 237: 78-85.
- [37] YANG K, LIU A P, HU A X, LI J X, ZEN Z, LIU Y T, TANG S Y, LI C. Preparation and characterization of cinnamon essential oil nanocapsules and comparison of volatile components and antibacterial ability of cinnamon essential oil before and after encapsulation[J]. Food Control, 2021, 123: 107783.
- [38] 曹俊英, 徐超, 章中. 改性多孔淀粉包埋肉桂精油和焦亚硫酸钠微胶囊的制备及性质研究[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(4): 74-83.
CAO J Y, XU C, ZHANG Z. Preparation and properties of modified porous starch embedded cinnamon essential oil and sodium metabisulfite microcapsules[J]. Journal of Food and Biotechnology, 2022, 41(4): 74-83. (in Chinese)
- [39] BURHAN A M, ABDEL-HAMID S M, SOLIMAN M E, SAMMOUR O A. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying[J]. Journal of Microencapsulation, 2019, 36(3): 250-266.