DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260410001
引用格式: 刘洪霞, 赵俸艺, 赵慧芳, 等. 蓝莓花青素微胶囊制备工艺优化及其对癌细胞的抑制活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(17): 188–195.
Liu Hongxia, Zhao Fengyi, Zhao Huifang, et al. Process optimization of *Vaccinium* spp. anthocyanins microcapsules preparation and study on their inhibitory activity against cancer cells [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(17): 188–195. (in Chinese with English abstract).

蓝莓花青素微胶囊制备工艺优化及其对癌细胞的抑制活性研究

刘洪霞[1], 赵俸艺[1], 赵慧芳[1], 田金树[2], 李维林[3], 吴文龙[1], 吴雅琼[1*]

[1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏省植物分类与资源保护利用重点实验室, 南京 210014; 2. 南京田果农业科技有限公司, 南京 211225; 3. 南京林业大学林草学院, 林木遗传育种全国重点实验室, 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 南京 210037]

摘 要: 目的 以阿拉伯胶和麦芽糊精为复合壁材制备蓝莓花青素微胶囊, 优化其包埋工艺, 并评价花青素粗提物及微胶囊化产物对癌细胞的抑制活性。**方法** 以包埋率为评价指标, 采用单因素实验结合 Box-Benhnken 响应面法优化工艺。通过四甲基偶氮唑盐法[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]法测定半抑制浓度(half-maximal inhibitory concentration, IC_{50})评价花青素粗提物及微胶囊对 4 种癌细胞的抑制效果。**结果** 最优工艺为: 麦芽糊精占比 52%、芯壁比 1:7.6、壁材质量分数 13%, 所得微胶囊的包埋率达 97.31%。体外活性实验显示, 花青素粗提物对人肝癌细胞(human hepatocellular carcinoma cells, HepG2)和人宫颈癌细胞(human cervical cancer cells, HeLa)的 IC_{50} 分别为 11.0 μg/mL 和 34.4 μg/mL, 抑制作用显著且对正常细胞毒性较低。在相同花青素含量下, 微胶囊对 HeLa 和人乳腺癌细胞(human breast cancer cells, MCF-7)的抑制活性(IC_{50} 分别为 9.7 μg/mL 和 10.5 μg/mL)显著(P<0.05)优于粗提物(IC_{50} 分别为 15.5 μg/mL 和 35.3 μg/mL), 微胶囊化后总产物毒性降低。**结论** 该优化工艺可保护花青素, 微胶囊对 HeLa 和 MCF-7 细胞抑制效果优于粗提物, 为提升花青素稳定性及靶向递送应用提供了新策略。但本研究未开展体内实验, 其实际应用效果仍需进一步验证。

关键词: 花青素; 麦芽糊精; 阿拉伯胶; 微胶囊; 包埋率; 肿瘤细胞; 生物活性
中图分类号: TS201.2 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)17–0188–08

Process optimization of *Vaccinium* spp. anthocyanins microcapsules preparation and study on their inhibitory activity against cancer cells

LIU Hong-Xia[1], ZHAO Feng-Yi[1], ZHAO Hui-Fang[1], TIAN Jin-Shu[2], LI Wei-Lin[3], WU Wen-Long[1], WU Ya-Qiong[1*]

收稿日期: 2026-04-10
基金项目: 2024 年度中央引导地方科技发展资金项目(BE2024010)
第一作者: 刘洪霞(1987—), 女, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为果品贮藏与加工。E-mail: njliuhx@163.com
***通信作者:** 吴雅琼(1992—), 女, 博士, 副研究员, 主要研究方向为果实采后生物学。E-mail: ya_qiong@126.com

[1. *Institute of Botany*, *Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences* (*Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen*), *Jiangsu Key Laboratory for Plant Taxonomy*, *Resource Conservation and Utilization*, *Nanjing* 210014, *China*; 2. *Nanjing Tianguo Agricultural Technology Co*., *Ltd.*, *Nanjing* 211225, *China*, 3. *College of Forestry and Grassland*, *Nanjing Forestry University*, *State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding*, *Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China*, *Nanjing* 210037, *China*]

ABSTRACT: Objective　To prepare *Vaccinium* spp. anthocyanin microcapsules using gum arabic and maltodextrin as composite wall materials, optimize the encapsulation process, and evaluate the inhibitory activity of crude anthocyanin extract and the microencapsulated product against cancer cells. **Methods**　Using encapsulation efficiency as the evaluation index, single-factor experiments combined with Box-Behnken response surface methodology were employed to optimize the microencapsulation process. The half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) determined by the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay was used to assess the anti-proliferative effects of the crude anthocyanin extract and the microcapsules on 4 kinds of cancer cell lines. **Results**　The optimal process parameters were: maltodextrin proportion 52%, core-wall ratio was 1:7.6 and wall material concentration 13%, yielding an encapsulation efficiency of 97.31%. *In vitro* activity assays showed that the crude anthocyanin extract significantly inhibited human hepatocellular carcinoma cells (HepG2) and human cervical cancer cells (HeLa) with IC_{50} of 11.0 μg/mL and 34.4 μg/mL, respectively, exhibiting potent inhibitory effects while showing low toxicity to normal cells. Under the same anthocyanin content, the inhibitory activity of the microcapsules against HeLa and human breast cancer cells (MCF-7) (IC_{50}=9.7 μg/mL and 10.5 μg/mL, respectively) was significantly (P<0.05) better than that of the crude extract (IC_{50}=15.5 μg/mL and 35.1 μg/mL, respectively), and the total product after microencapsulation showed reduced overall toxicity. **Conclusion**　The optimized microencapsulation process effectively protects anthocyanins, and the microcapsules exhibit superior inhibitory effects on HeLa and MCF-7 cells compared with the crude extract, providing a new strategy for improving anthocyanin stability and targeted delivery. However, no *in vivo* experiments are conducted in this study, and further validation is required for its practical application.

KEY WORDS: anthocyanins; maltodextrin; gum arabic; microcapsules; encapsulation efficiency; tumor cells; biological activity

0　引　言

植物源酚类物质是医药与保健领域的优质天然原料, 花青素作为其中的重要代表, 是植物次生代谢产物, 基本骨架为C6-C3-C6结构, 常与糖类结合形成花色苷, 还可进一步酯化形成酰基化花青素。在植物体内, 花青素苷元很少以游离形式存在, 大多会与多种单糖相连形成稳定的花色苷类化合物, 还可与芳香酸或脂肪酸发生酰基化修饰, 从而生成结构更复杂的酰基化花青素[1]。这种结构修饰的多样性, 使得迄今已发现的天然花青素类化合物超过 250 种。然而花青素的呈色效果并非仅由结构(甲基化程度、糖基化数目及羟基数量等)决定, 还受到多重因素, 包括自身浓度、辅色效应以及液泡 pH 等的共同调控[2]。除了颜色特性, 花青素更引人注目的是其突出的抗氧化活性。大量研究证实, 花青素已被多项研究证实是目前已知抗氧化能力最为突出的天然抗氧化剂之一[3], 其功效显著优于维生素 C 和 E。

蓝莓花青素不仅活性强、安全性高, 而且作为优质天然色素资源, 市场价格昂贵, 尤其高纯度产品。正是凭借这些突出优势, 该成分目前展现出极高的经济价值和广阔的开发潜力。药理研究发现, 蓝莓花青素具有改善视力[4]和微循环等多种生理活性[3], 对关节炎[5]、帕金森病和阿耳茨海默早老性痴呆症[6]等均存在一定的改善潜力, 对延缓神经衰老, 增强心脏功能和抗癌有独特功效[7]。尤为特别的是, 它能够穿透血脑屏障, 直接对大脑与神经系统起到保护作用[8]。因此, 花青素在食品、保健品和化妆品等领域展现出广阔的应用前景。

微胶囊是一种颗粒微小的微粒载体, 具有良好分散性和靶向缓释特性[9]。花青素稳定性较差, 在食品加工及贮藏中易受温度、光照、氧气等因素影响而降解[10]。微胶囊技术可将其包埋于壁材内, 显著提升其稳定性及提高生物利用度, 是实现功能因子高效递送的有效手段, 充分发挥其生理活性[11–12]。微胶囊技术对推动功能食品产业的创新发展具有重要意义。已有研究表明, 利用微胶囊技术可实现对活性物质的有效包裹与递送, 例如, 以焦亚硫酸钠为芯材、乙基纤维素为壁材制备的微胶囊, 在葡萄保鲜领域已展现出良好应用前景[13]; 以 β-环糊精和阿拉伯胶、海藻酸钠等为壁材的微胶囊技术, 在紫甘薯花青素的包埋与稳定性提升方面亦有研究报道[14–15]。此外, 针对蓝莓花青素的微胶囊化研究也有所开展。目前市售蓝莓花青素产品(如冻干粉、浓缩汁)在加工过程中降解率高达 40%~60%(对光照和温度敏感)[16], 而微胶囊化可提升其稳定性[17], 但相关产业化案例仍极为有限。

尽管微胶囊技术已应用于多种活性物质, 但其对蓝莓花青素的适配性研究尚不充分, 缺乏针对其高氧化敏感性的壁材筛选标准与工艺参数优化体系, 且微胶囊化后花青素的抗肿瘤活性及其对正常细胞的毒性影响尚未被系统阐明。因此, 本研究拟解决通过复合壁材配比与工艺参数优化, 实现蓝莓花青素的高效包埋; 明确花青素微胶囊化对癌细胞抑制活性的提升作用及其毒性降低效果等问题。鉴于此, 本研究以蓝莓花青素提取物为芯材, 旨在筛选适宜的复合壁材体系, 并采用单因素实验结合 Box-Benhnken 响应面分析的方法, 系统优化蓝莓花青素微胶囊的制备工艺参数, 从而有效提高花青素的包埋率与稳定性, 同时研究其对癌细胞的抑制活性。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蓝莓花青素提取物(纯度≥45%, 实验室制备); 氯化钾, 盐酸(国药集团化学试剂有限公司); 麦芽糊精、阿拉伯胶(纯度≥99%)、葡聚糖(纯度≥98%)、矢车菊-3-O-葡萄糖苷标准品、低聚果糖(纯度≥95%)、壳聚糖(脱乙酰度 90%, 黏度≤500 cps)(上海源叶生物科技有限公司); β-环糊精(纯度≥98%)、果胶(纯度≥68.5%)(北京索莱宝科技有限公司); 乳清分离蛋白(纯度≥80%)、大豆分分离蛋白(纯度≥85%)(上海麦克林生物科技有限公司); 抗性糊精(纯度≥96%, 应杰堂旗舰店)。

1.2 仪器与设备

FA1004 天平(精度 0.0001, 舜宇恒平仪器有限公司); KQ300DE 数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); LGJ-15F 冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂); CLM-170B-8-CN 二氧化碳培养箱(太仓艺斯高医医疗器械科技有限公司); NIB610 倒置显微镜(南京江南永新光学有限公司); 1530 酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司)。

1.3 方 法

1.3.1 花青素微胶囊的制备

将壁材于 60 ℃蒸馏水中充分溶解, 搅拌条件下缓慢加入花青素粉末, 继续搅拌并超声(功率 180 W, 频率 40 kHz)处理 5~10 min, 调节体系 pH 至 2.0。将液体置于烧杯中, 厚度约 0.5~2.0 cm(太厚可能会增加冻干时间), 经冷冻干燥(温度: –65 ℃, 真空度 1, 时间 24 h)后研磨, 过 60 目筛, 冷藏或冷冻密封保存用于后续实验。

1.3.2 花青素微胶囊包埋率的测定

采用标准曲线法进行测定, 以矢车菊-3-O-葡萄糖苷为标准物, 建立标准曲线方程。矢车菊-3-O-葡萄糖苷标准储备液(1 mg/mL): 称取 0.005 g±0.001 g 矢车菊-3-O-葡萄糖苷标准品, 用少量甲醇溶解后(500 μg/mL), 转移至 10 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 摇匀, 配制成 500 μg/mL 的矢车菊-3-O-葡萄糖苷标准溶液。再分别稀释成质量浓度为 50、75、100、125、150 μg/mL。取 300 μL 分别置于 10 mL 离心管中, 加入 pH 1.0 的缓冲液 2.7 mL, 摇匀, 室温下避光静置 20 min, 以缓冲液做空白对照, 反应完全后采用 1 cm 比色皿, 在 510 nm 处测吸光值 A, 平行测定 3 次, 绘制标准曲线。得到矢车菊-3-O-葡萄糖苷质量浓度与吸光度 A 之间的线性回归方程为 Y=0.0455X–0.0881, 相关系数 r=0.9996, 说明矢车菊-3-O-葡萄糖苷质量浓度与吸光度之间有较好的线性关系。

样品测定方法如下: 取 2 个 20 mL 试管各加入 1 mL 花色苷溶液, 分别加入 19 mL pH 1.0(准确称取 3 g 氯化钾用蒸馏水定容至 200 mL, 与 0.2 mol/L 盐酸溶液按照体积比 1:3 混合)缓冲液避光静置 60 min, 分别检测 510 nm 处吸光度值 A, 平行测定 3 次。代入标曲算得花色苷含量。

利用包埋产物不溶于无水乙醇、表面游离花青素可被洗脱的特性测定包埋率, 称取 0.2 g 微胶囊, 45 mL 无水乙醇洗涤定容至 50 mL, 测定表面花青素含量; 另取 0.2 g 样品用 50%乙醇提取, 测定总花青素含量, 计算见公式(1)。

包埋率/%=(总花青素含量−表面花青素含量)/总花青素含量×100% (1)

1.3.3 单因素实验

以包埋率为评价指标, 分别考察麦芽糊精比例、芯壁比、壁材质量分数对包埋效果的影响。

考察麦芽糊精比例时, 固定芯壁比 1:7 (m:m, 下同)、壁材质量分数 10%, 将麦芽糊精占壁材总质量的比例设为 0%, 10%、30%、40%、50%、60%、70%、90%、100%; 考察芯壁比时, 固定麦芽糊精占比 50%、壁材质量分数 10%, 将芯壁比设为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:7、1:8、1:9; 考察壁材质量分数时, 固定麦芽糊精占比 50%、芯壁比 1:7, 将壁材质量分数设为 1%、3%、5%、7%、10%、20%、30%、40%、50%。每组实验独立重复 3 次, 包埋率按 1.3.2 方法测定。根据各因素水平下的包埋率均值, 选取峰值附近的水平作为 Box-Behnken 响应面实验的-1、0、+1 水平。

1.3.4 响应面实验设计

单因素实验基础上, 选取麦芽糊精占壁材比例(X_1)、芯壁比(X_2)和壁材质量分数(X_3)为考察因素, 包埋率(Y)为响应值, 采用 Box-Benhnken 中心组合设计进行 3 因素 3 水平实验(17 组, 含 5 组零点实验), 因素水平见表 1。

1.3.5 微胶囊对体外抑制癌细胞增殖活性测定

按照 Zhao 等[18]的方法, 参照四甲基偶氮唑盐法[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]法, 测定花青素粗提物及微胶囊产品对 HepG2、HeLa、A549、MCF-7 肿瘤细胞及人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)正常细胞的增殖抑制效果, 计算半抑制浓度(half-maximal inhibitory

concentration, IC_{50})值。

表 1　响应面分析法的因素及水平表
Table 1　Factors and levels table for response surface methodology

水平	因素		
	X_1: 麦芽糊精/%	X_2: 芯壁比(*m*:*m*)	X_3: 壁材质量分数/%
–1	40	1:5	5
0	50	1:7	10
1	60	1:9	15

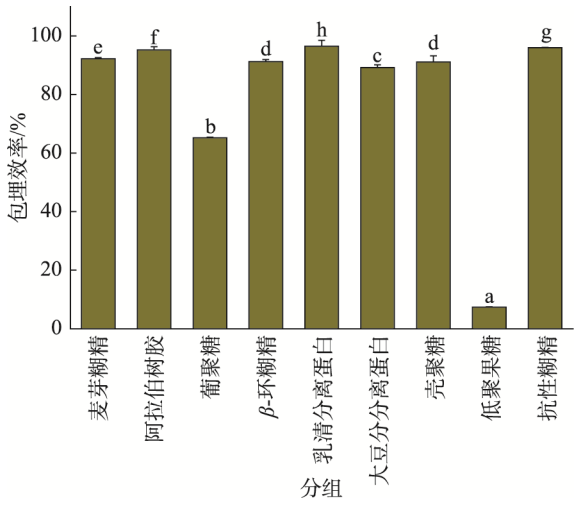
1.4　数据处理

所有实验均设 3 次独立重复, 每次重复取 3 个平行测定值, 结果以平均值±标准偏差表示。采用 SPSS 16.0 进行正态性检验与单因素方差分析, 组间多重比较采用最小显著差异与 Duncan 法相结合, 以 $P<0.05$ 为差异显著、$P<0.01$ 为差异极显著。微胶囊制备工艺的响应面优化(Box-Behnken 设计)使用 Design-Expert 8.0.6 进行实验设计、二次回归拟合及方差分析; 图表由 Origin 2022 绘制。

2　结果与分析

2.1　不同包埋材料对蓝莓花青素包埋率的测定

如图 1 所示, 在芯壁比 1:7 (*m*:*m*, 下同), 溶液质量分数 20%的条件下, 各个包埋壁材对蓝莓花青素提取物的包埋如图 1 所示, 乳清分离蛋白对蓝莓花青素的包埋率最高, 达 96.5%, 麦芽糊精和阿拉伯树胶的包埋率分别为 92%和 95%, 低聚果糖最低, 几乎无包埋能力。虽然抗性糊精单一壁材表现出较高的包埋率, 但是抗性糊精溶液的冻干饼状结构较为致密, 复溶后芯材易发生突释, 不利于花青素的缓释保护, 最终选用阿拉伯胶与麦芽糊精复合体系作为后续优化的壁材方案。



注: 不同小写字母表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
图 1　不同包埋材料对蓝莓花青素包埋率的影响
Fig.1　Effects of different encapsulation materials on the encapsulation efficiency of *Vaccinium* spp. anthocyanins

2.2　单因素实验结果分析

2.2.1　壁材组成对蓝莓花青素微胶囊包埋率的影响

包埋率体现壁材对芯材的包裹保护效果, 高效包埋能保留更多有效成分, 提高稳定性; 而包埋率较低时, 不仅降低了工艺的实际价值, 也会因芯材缺乏壁材的保护而导致稳定性下降。麦芽糊精是一种由植物淀粉经部分水解工艺制备而成的多糖类物质, 具有易于被人体消化的特点, 其吸收速率与葡萄糖相当[19]。其甜度随聚合度变化而呈现差异, 可表现为适度甜味或接近无味[20]。阿拉伯胶是由糖蛋白与多糖组成的复合物, 其分子结构通过糖类与钾、镁、钙等矿物质以分支形式连接, 这种高度分支的分子结构使其流体力学体积更小, 减弱了分子间相互作用, 从而增强对包埋颗粒的捕获与保护效果, 尤其能够有效保护花青素阳离子免受水分子攻击, 防止其发生降解[21]。固定芯壁比 1:7, 壁材质量分数 20%, 评价麦芽糊精含量对包埋率的影响。如图 2A 所示, 随着麦芽糊精含量的升高, 壁材对蓝莓花青素包埋率呈先增大后减小的趋势, 当麦芽糊精含量达 50%时, 包埋率最高, 为 97.40%±0.33%。当以全阿拉伯胶或麦芽糊精作为壁材包埋花青素时, 包埋率分别为 95.2%和 92.2%, 相对复合壁材较低。因此, 本研究选取麦芽糊精添加量为 40%、50%和 60% 3 个水平进行响应面实验。

2.2.2　芯壁比对蓝莓花青素微胶囊化效果的影响

以麦芽糊精与阿拉伯胶各占 50%为复合壁材, 在壁材总质量分数 20%的条件下, 探究芯壁比对微胶囊化效果的影响(图 2B)。随着芯壁比的升高, 麦芽糊精和阿拉伯胶对蓝莓花青素包埋率呈逐渐升高的趋势, 当达到 1: 7 时, 包埋率最高, 达 99.08%±0.78%。这说明壁材用量提高时, 壁材与芯材可充分接触, 使包埋率上升; 但壁材过量会降低芯材占比, 进而影响其功能发挥[22]。因此, 芯壁比为 1:7 的包埋率最高。选择芯壁比为 1:5、1:7 和 1:9 3 个水平应用于响应面实验中。

2.2.3　壁材质量分数对蓝莓花青素微胶囊化效果的影响

在固定麦芽糊精比例为 50%、芯壁比 1:7 的条件下, 研究了壁材质量分数对紫苏花青素微胶囊化的影响(图 2C)。随壁材质量分数升高, 包埋率先升后降, 在 10% 时达到最大值 98.54%±0.40%。其原因可能为: 适宜浓度的壁材可充分包裹芯材, 实现高效包埋; 但壁材含量过高会使溶液黏度上升, 易出现微胶囊黏连、结构不稳定等问题。若继续增加壁材用量, 麦芽糊精与阿拉伯胶易在溶液中聚集结块, 丧失包埋作用, 最终造成包埋率下降[23]。因此, 选择 5%、10%和 15% 3 个水平的壁材质量分数应用于在响应面实验中。

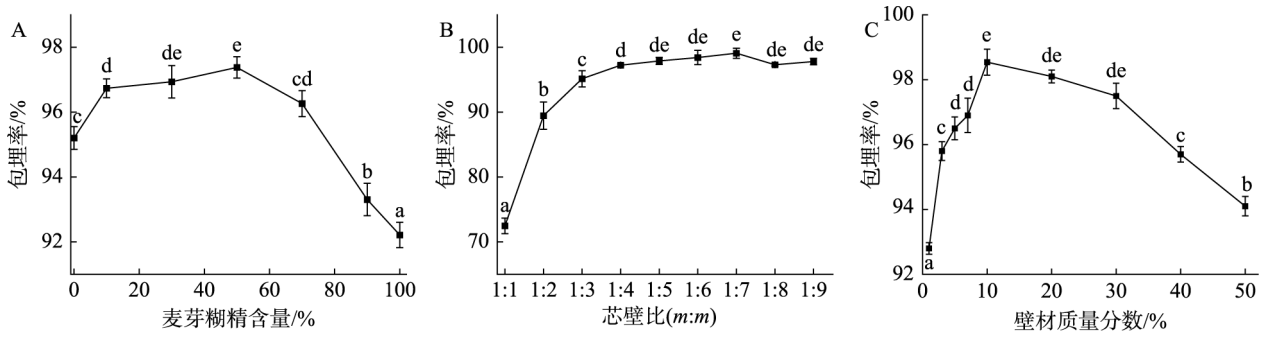


图 2 麦芽糊精含量(A)、芯壁比(B)和壁材质量分数(C)对蓝莓花青素包埋率的影响

Fig.2 Effects of maltodextrin content (A), core-wall ratio (B) and wall material mass fraction (C) on the encapsulation efficiency of *Vaccinium* spp. anthocyanins

2.3 蓝莓花青素微胶囊化效果的优化研究

2.3.1 响应面模型及显著性检验应用

以 Box-Benhnken 实验设计原理, 以包埋率为响应值(表 2)。实验发现, 实验 15 号的包埋率 93.94%±1.39%最低, 而 6 号的包埋率 98.11%±1.44%最高。

表 2 响应面实验设计及响应值结果

Table 2 Experimental design and response value results of response surface

实验号	X_1: 麦芽糊精/%	X_2: 芯壁比(*m*:*m*)	X_3: 壁材质量分数/%	包埋率/%
1	40	1:7	15	97.67±1.12
2	50	1:5	15	97.42±1.67
3	60	1:7	5	94.97±2.01
4	50	1:7	10	97.57±1.10
5	50	1:9	15	95.47±1.72
6	50	1:7	10	98.11±1.44
7	40	1:5	10	97.65±1.56
8	50	1:5	5	93.94±1.39
9	40	1:9	10	96.38±1.12
10	50	1:9	5	96.85±1.22
11	50	1:7	10	97.72±1.24
12	60	1:9	10	96.85±1.91
13	50	1:7	10	97.68±2.44
14	40	1:7	5	95.75±2.14
15	60	1:5	10	94.03±1.66
16	60	1:7	15	95.26±1.04
17	50	1:7	10	97.84±1.86

对表 2 中实验设计及响应值结果进行多元回归拟合, 得到包埋率和独立变量的二次多项式回归模型, 回归方程如下: Y=97.78–0.79X_1+0.31X_2+0.54X_3+1.02X_1X_2–0.41X_1X_3–1.21X_2X_3–0.78X_1^2–0.78X_2^2–1.09X_3^2, 各因素的方差分析结果如表 3 所示。

表 3 二次多项式模型的方差分析

Table 3 Analysis of variance for the quadratic polynomial model

变异来源	均方和	自由度	均方	F	P
模型	30.11	9	3.35	109.46	<0.0001
X_1	5.03	1	5.03	164.46	<0.0001
X_2	0.79	1	0.79	25.96	0.0014
X_3	2.32	1	2.32	75.81	<0.0001
X_1X_2	4.20	1	4.20	137.27	<0.0001
X_1X_3	0.66	1	0.66	21.68	0.0023
X_2X_3	5.89	1	5.89	192.82	<0.0001
X_1^2	2.56	1	2.56	83.75	<0.0001
X_2^2	2.53	1	2.53	82.82	<0.0001
X_3^2	4.99	1	4.99	163.23	<0.0001
残差	0.21	7	0.031		
失拟差	0.044	3	0.015	0.35	0.7944
误差	0.17	4	0.042		
总和	30.32	16			
R^2	0.9929				
R_{Adj}^2	0.9839				

注: P<0.01 表示差异极显著; P<0.05 表示差异显著; P>0.05 表示差异不显著。

表 3 数据发现, 麦芽糊精含量、壁材质量分数以及麦芽糊精含量、壁材质量分数和芯壁比的二次项差异极显著(P<0.01), 麦芽糊精(X_1)对包埋率的影响程度, 会随芯壁比(X_2)的改变而发生变化。其中芯壁比与壁材质量分数的交互作用项(X_2X_3)对应的 F 最大, 为 192.82。表明这两者之间的交互作用对包埋率的影响最为强烈。该方差分析表全面证实了所建立的蓝莓花青素微胶囊包埋工艺模型的高度有效性和可靠性。模型不仅整体显著, 而且精准地捕捉到了各因素的主效应、交互效应和二次效应。因此, 利用该模型经响应面优化所得的最优工艺参数为麦芽糊精 51.9%、芯壁比 1:7.6、壁材质量分数 12.6%, 此数据是科学且可靠的, 这为实验的成功提供了坚实的统计学基础。

2.3.2　参数优化与验证

各单因素均对包埋率存在一定影响, 为实现包埋率最大化, 需综合考量各单因素的作用效应。基于二次回归模型分析结果, 在蓝莓花青素微胶囊的最优工艺的条件下, 蓝莓花青素的理论包埋率为 97.26%。

为验证该模型的可靠性, 在上述最优工艺条件下进行 3 次重复验证实验。考虑到实际实验操作的可行性, 将最优工艺参数微调为: 麦芽糊精 52%、芯壁比 1:7.6、壁材质量分数 13%。3 次重复实验的包埋率分别为 97.42%、97.35%和 97.16%, 平均包埋率为 97.31%, 实验值与理论值基本吻合。实验值与理论值无显著差异(P>0.05) (t 检验), 表明该模型的优化结果可靠, 可应用于蓝莓花青素微胶囊化的制备实验。

2.4　微胶囊对体外抑制癌细胞增殖活性测定

对比蓝莓花青素提取物与微胶囊分别对 HeLa 细胞、HepG2 细胞、A549 细胞及 MCF-7 细胞的增殖抑制作用(表 4), 结果显示, 蓝莓花青素提取物对上述 4 种癌细胞均表现出明显的抑制活性。蓝莓花青素提取物对癌细胞, 尤其是 HepG2 和 HeLa 抑制作用尤为突出, IC_{50} 分别为 11.0 μg/mL 和 34.4 μg/mL, 水平较低。花青素提取物对 HUVEC 的毒性远低于对癌细胞的毒性(IC_{50} 为 209.0 μg/mL), 显示出良好的选择性指数, 这表明其可能具有较低的副作用潜力。将花青素制成微胶囊后, 其直接细胞毒性显著降低(所有 IC_{50} 变大), 但对正常细胞的保护作用更为明显。微胶囊化可能改变了花青素的释放方式和生物利用度。当统一按“花青素含量当量”比较时, 微胶囊化花青素的效力对 HepG2 活性有所下降, 但对 HeLa 和 MCF-7 活性(IC_{50} 分别为 9.7 μg/mL 和 10.5 μg/mL)显著(P<0.05)优于粗提物(IC_{50} 分别为 15.5 μg/mL 和 35.3 μg/mL), 微胶囊化后总产物毒性降低, 这表明微胶囊化可能是一种有效的递送系统, 能提高活性成分的效率。

表 4　蓝莓提取物及微胶囊对无菌性癌细胞和正常细胞的细胞毒活性

Table 4　Cytotoxic activity of *Vaccinium* spp. extract and microcapsules on aseptic cancer cells and normal cells

样品	IC_{50}/(μg/mL)				
	HeLa	HepG2	A549	MCF-7	HUVEC
花青素提取物	34.4±0.5^{b}	11.0±0.2^{a}	59.5±0.3^{c}	78.48±0.3^{d}	209.0±8.4^{e}
花青素提取物的花青素含量当量	15.5±0.1^{b}	5.0±0.0^{a}	26.8±0.1^{c}	35.3±0.1^{d}	94.1±0.1^{e}
花青素微胶囊	193.4±4.6^{b}	171.9±3.5^{a}	463.9±4.6^{e}	210.9±5.1^{c}	385.3±10.1^{d}
花青素微胶囊的花青素含量当量	9.7±0.0^{b}	8.6±0.1^{a}	23.2±0.3^{e}	10.5±0.1^{c}	19.3±0.2^{d}

注: 不同小写字母表示同行组间存在显著差异(P<0.05)。

3　讨论与结论

本研究成功优化了蓝莓花青素微胶囊的制备工艺, 并评价了其体外抗肿瘤活性。在壁材筛选中, 抗性糊精单一壁材表现出较高的包埋率, 但抗性糊精未经疏水化改性, 乳化能力有限, 难以稳定包埋含疏水成分的复杂芯材体系[24–25]; 其次, 抗性糊精溶液的冻干饼状结构较为致密, 复溶后芯材易发生突释, 不利于花青素的缓释保护[26]; 此外, 抗性糊精的成本相对较高。因此, 本研究采用阿拉伯胶与麦芽糊精复合体系作为后续优化的壁材方案。通过单因素和响应面法确定的最佳复合壁材(阿拉伯胶与麦芽糊精)工艺, 单因素实验结果表明, 复合壁材的效果优于单一壁材, 这可能是由于阿拉伯胶的高度分支结构有利于捕获芯材分子, 而麦芽糊精则提供了良好的成膜性和填充性, 二者协同作用形成了更为致密的包埋网络[21]。实现了高达 97.31%的包埋率, 极高的包埋率意味着绝大部分花青素被成功包埋于微胶囊内部, 这将极大地提高花青素对环境因素(如光、热、氧)的稳定性, 为其在食品和药品领域的储存与应用奠定了坚实基础[22,27]。

微胶囊化技术对蓝莓花青素抗肿瘤活性的显著调控作用。MTT 法细胞毒性实验结果呈现出看似矛盾却具有重要研究价值的现象: 一方面, 以微胶囊产品总质量为基准计算 IC_{50} 时, 微胶囊的直接细胞毒性显著低于花青素粗提物。该结果与常规认知一致, 其原因在于微胶囊壁材可形成物理屏障, 延缓花青素的释放过程, 降低其与细胞的即时、充分作用效率。然而, 当统一按花青素当量比较时, 特别是对于 HeLa 和 MCF-7 细胞, 微胶囊化花青素的活性显著优于粗提物。这表明微胶囊化可能是一种有效的递送系统, 能提高活性成分的效率。推测其原因可能有以下几点: (1)缓释与保护效应。微胶囊可能使花青素在细胞培养环境中避免快速降解, 并通过并通过缓释作用维持较长时间的有效药物浓度[28–29]; (2)提高细胞摄取效率。特定的壁材组合可能改变了微胶囊颗粒的表面理化性质, 进而影响细胞对其的摄取效率, 提高了花青素在细胞内的生物利用度[30]; (3)改变作用途径。微胶囊化后花青素的胞内代谢途径和作用靶点也可能发生改变[31]。上述推测仍需通过后续实验(如细胞摄取动力学分析、胞内定位示踪及信号通路检测等)加以验证。这种对 HeLa 和 MCF-7 细胞的特异性增效作用,

为开发靶向宫颈癌和乳腺癌的功能性食品或药物辅剂提供了新的思路。此外，无论是提取物还是微胶囊，均显示出对癌细胞的选择性毒性，对正常细胞影响较小，预示了其应用的安全性。

综上，本研究不仅建立了高效包埋工艺，还揭示了微胶囊在增强活性成分靶向功效方面的潜力。本研究成功制备了高包埋率的蓝莓花青素微胶囊，并发现其在标准化含量下对 HeLa 和 MCF-7 细胞具有比粗提物更优的抑制效果。这证明了微胶囊化在增强活性成分靶向功效方面的应用价值。然而，微胶囊化对花青素活性增强的具体分子机制，例如其细胞内释放动力学、对凋亡通路的影响等，仍有待进一步的深入研究。后续工作应在细胞层面阐明其分子作用机制。同时，构建动物模型开展体内药效学验证，全面评估其作为抗癌功能性成分或辅助制剂的应用前景，为其营养保健功能的深度开发提供科学依据。

参考文献

[1] Hornedo-Ortega R, Álvarez-Fernández M A, Cerezo A B, et al. Influence of storage conditions on the anthocyanin profile and colour of an innovative beverage elaborated by gluconic fermentation of strawberry [J]. Journal of Functional Foods, 2016, 23: 198–209.

[2] Pervaiz T, Jiu Songtao, Faghihi F, et al. Naturally occurring anthocyanin, structure, functions and biosynthetic pathway in fruit plants [J]. Journal of Plant Biochemistry & Physiology, 2017, 5(2): 1000187.

[3] Pantelidis G E, Vasilakakis M, Manganaris G A, et al. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries [J]. Food Chemistry, 2007, 102(3): 777–783.

[4] McGhie T K, Hall H K, Ainge G D, et al. Breeding *Rubus* cultivars for high anthocyanin content and high antioxidant capacity [J]. Acta Horticulturae, 2002(585): 495–500.

[5] Decendit A, Mamani-Matsuda M, Aumont V, et al. Malvidin-3-O-*β* glucoside, major grape anthocyanin, inhibits human macrophage-derived inflammatory mediators and decreases clinical scores in arthritic rats [J]. Biochemical Pharmacology, 2013, 86(10): 1461–1467.

[6] Suresh S, Begum R F, Singh S A, et al. Anthocyanin as a therapeutic in Alzheimer's disease: a systematic review of preclinical evidences [J]. Ageing Research Reviews, 2022, 76: 101595.

[7] Korcak R F. Nutrition of blueberry and other calcifuges [M]. Horticultural Reviews, Volume 10. New York, USA: John Wiley & Sons, Inc. , 1988: 183–227.

[8] Shimazu R, Anada M, Miyaguchi A, et al. Evaluation of blood-brain barrier permeability of polyphenols, anthocyanins, and their metabolites [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(39): 11676–11686.

[9] 田云, 卢向阳, 何小解, 等. 微胶囊制备技术及其应用研究[J]. 科学技术与工程, 2005, 5(1): 44–47.
Tian Yun, Lu Xiangyang, He Xiaojie, et al. The production and applications of microcapsule [J]. Science Technology and Engineer, 2005, 5(1): 44–47.

[10] 刘佳森, 董贺楠, 孙旭飞. 微胶囊技术在功能食品中的应用研究进展[J]. 山西农经, 2018(7): 63.
Liu Jiasen, Dong Henan, Sun Xufei. Research progress on application of microcapsule technology in functional food [J]. Shanxi Agricultural Economy, 2018(7): 63.

[11] 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.

[12] 张岩, 王春玉, 姜文利, 等. 微胶囊型保鲜剂制备及葡萄保鲜的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(11): 288–292.
Zhang Yan, Wang Chunyu, Jiang Wenli, et al. Preparation technique on microencapsulation antistaling agent and preservation of grape [J]. Food Science and Technology, 2014, 39(11): 288–292.

[13] 李飞, 蔡沙, 施建斌, 等. 紫薯花青素微胶囊工艺的研究[J]. 食品工业, 2017, 38(7): 167–171.
Li Fei, Cai Sha, Shi Jianbin, et al. Research on the microcapsule technology of anthocyanins from purple potato [J]. The Food Industry, 2017, 38(7): 167–171.

[14] 王余梦, 陈伟, 蔡子维, 等. 紫薯中花青素微胶囊的制备[J]. 现代盐化工, 2019, 46(2): 21–24.
Wang Yumeng, Chen Wei, Cai Ziwei, et al. Preparation of anthocyanin microcapsules from purple potato [J]. Modern Salt and Chemical Industry, 2019, 46(2): 21–24.

[15] Righi da Rosa J, Nunes G L, Motta M H, et al. Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 742–748.

[16] 郭娜, 朱桂兰, 刘兴运, 等. 蓝莓花青素微胶囊制备及其性质分析[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(23): 109–114.
Guo Na, Zhu Guilan, Liu Xingyun, et al. Preparation and characterization of blueberry anthocyanin microcapsules [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(23): 109–114.

[17] Chen Qing, Yu Haowei, Tang Haoru, et al. Identification and expression analysis of genes involved in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in the fruit of blackberry [J]. Scientia Horticulturae, 2012, 141: 61–68.

[18] Zhao Fengyi, Zhao H F, Wu W W, Wang W F, Li W L. Research on anthocyanins from Rubus "Shuofeng" as potential antiproliferative and apoptosis-inducing agents [J]. Foods, 2023, 12(6): 1216.

[19] Wang Y J, Linfeng W. Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato, and rice starches [J]. Starch-Stärke, 2000, 52(8–9): 296–304.

[20] Krishnan S, Bhosale R, Singhal R S. Microencapsulation of cardamom oleoresin: evaluation of blends of gum Arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials [J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 61(1): 95–102.

[21] 徐晶, 刘欢, 夏光辉, 等. *β*-环糊精包埋柠檬醛微胶囊工艺优化及其缓释性能[J]. 食品科学, 2014, 35(14): 82–86.
Xu Jing, Liu Huan, Xia Guanghui, et al. Optimized microencapsulation in *β*-cyclodextrin and sustained-release properties of citral [J]. Food Science, 2014, 35(14): 82–86.

[22] Han A Z, Jiang H, Jia Q H, et al. Preparation and stability of anthocyanins microencapsulation from wild *Lycium ruthenicum* Murr [J]. Food Science and Technology, 2016, 41(5): 234–239.

[23] Wang Yu, Huang Zhaohua, Liu Zijun, et al. Preparation and characterization of octenyl succinate *β*-limit dextrin [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 229: 115527.

[24] Pan Yi, Wu Zhengzong, Zhang Bao, et al. Preparation and characterization of emulsion stabilized by octenyl succinic anhydride-modified dextrin for improving storage stability and curcumin encapsulation [J]. Food Chemistry, 2019, 294: 326–332.

[25] Kim T H, Park T G. Critical effect of freezing/freeze-drying on sustained release of FITC-dextran encapsulated within PLGA microspheres [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2004, 271(1–2): 207–214.

[26] 王倩, 赵彦巧, 张文雅, 等. 微胶囊化花色苷及其生物可及性与生物利用度研究进展[J]. 食品工业科技, 2025, 46(23): 448–457.
Wang Qian, Zhao Yanqiao, Zhang Wenya, et al. Research progress in microencapsulated anthocyanins and its bioaccessibility and bioavailability [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(23): 448–457.

[27] Shen Yixiao, Zhang Ning, Tian Jinlong, et al. Advanced approaches for improving bioavailability and controlled release of anthocyanins [J]. Journal of Controlled Release, 2022, 341: 285–299.

[28] Rashwan A K, Karim N, Xu Yang, et al. Potential micro-/nano-encapsulation systems for improving stability and bioavailability of anthocyanins: an updated review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023, 63(19): 3362–3385.

[29] Paramanantham A, Kim M J, Jung E J, et al. Anthocyanins isolated from *Vitis coignetiae* pulliat enhances cisplatin sensitivity in MCF-7 human breast cancer cells through inhibition of Akt and NF-*κ*B activation [J]. Molecules, 2020, 25(16): 3623.

[30] Bruno S N F, Vaitsman D S, Kunigami C N, et al. Influence of the distillation processes from Rio de Janeiro in the ethyl carbamate formation in Brazilian sugar cane spirits [J]. Food Chemistry, 2007, 104(4): 1345–1352.

[31] 陆洋, 杨波涛, 陈凤香. 复配天然抗氧化剂对食用油脂抗氧化效果研究[J]. 食品科学, 2009, 30(11): 55–57.
Lu Yang, Yang Botao, Chen Fengxiang. Study on antioxidation of natural antioxidant compound on edible oil [J]. Food Science, 2009, 30(11): 55–57.

(责任编辑: 蔡世佳　韩晓红)