

3D打印加工荷载绿原酸水凝胶体系的 适印性和适用性

南希骏, 周泉城, 李娅婕, 倪乙丹, 郭婷婷, 厉佳怡, 王红磊, 韩钦硕, 白海媚, 盛桂华*
(山东理工大学农业工程与食品科学学院, 山东 淄博 255049)

摘要: 3D食品打印(3-dimensional food printing, 3DFP)是一种符合未来生活方式的高效食品加工方式。水凝胶作为递送体系因具有能够定向递送等特点而成为研究的热点。本研究对荷载绿原酸(chlorogenic acid, CA)水凝胶体系进行3DFP, 测定其质构特性、流变特性、微观结构、包埋率及消化特性, 探究3DFP加工对荷载CA甲基纤维素/透明质酸水凝胶体系结构性、物化性质、功能性质的影响, 揭示水凝胶在3DFP加工适印性和适用性规律。结果表明, 满足3DFP加工的最佳荷载CA水凝胶体系为甲基纤维素-透明质酸-CA质量比8:0.5:0.5。与其他配比及3DFP加工前样品相比, 该体系经3DFP加工后的3D打印物宽度偏差最小, 为13.40%, 硬度最高, 弹性最大, 且黏附性最小; 此外, 该体系3D打印物结构紧密、孔隙均匀、不易塌陷、支撑性好, 打印成型性最好。3DFP加工对水凝胶物理结构有良好的优化效果, 而且不会改变水凝胶的化学性质; CA包埋率比3D打印前提高了22.09个百分点; 在胃肠消化模拟中, 3DFP加工后样品CA释放率高于3DFP加工前样品CA释放率, 具有良好缓释作用, 其体外释放情况符合Ritger-Peppas方程模型。综上, 该水凝胶体系具有良好的适印性和适用性, 3DFP加工对荷载CA水凝胶及其功能因子CA靶向释放有显著改善效果。

关键词: 3D食品打印; 水凝胶; 绿原酸; 适印性; 适用性; 递送体系

Printability and Applicability of 3D Printing System Loaded with Chlorogenic Acid Hydrogel

NAN Xijun, ZHOU Quancheng, LI Yajie, NI Yidan, GUO Tingting, LI Jiayi, WANG Honglei, HAN Qinshuo, BAI Haimei, SHENG Guihua*
(School of Agricultural Engineering and Food Science, Shandong University of Technology, Zibo 255049, China)

Abstract: Three-dimensional food printing (3DFP) is an efficient way of food processing in line with the future lifestyle. As a delivery system, hydrogel has become a research hotspot because of its remarkable characteristics such as directed delivery. The purpose of this study was to explore the effects of 3DFP on the structure, physical properties and functions of hydrogels containing methylcellulose (MC), chlorogenic acid (CA) and hyaluronic acid (HA) for the purpose of revealing the printability and applicability of hydrogels in 3DFP processing. Texture properties, rheological properties, microstructure, embedding rate and digestive properties of the 3D printed products were measured. The results showed that the best CA-loaded hydrogel system for 3DFP processing consisted of MC, HA and CA at a mass ratio of 8:0.5:0.5. Its printed product showed the smallest width deviation (13.40%), the highest hardness, the maximum elasticity, and the minimum adhesiveness, had compact structure and uniform porosity, was not easy to collapse, and had good supportability and the best printing moldability. 3DFP well optimized the physical structure of hydrogel without changing its chemical properties. The embedding rate of CA was 22.09 percentage points higher than that before 3D printing. In simulated gastrointestinal digestion test, the release rate of CA from the printed product was significantly higher than that of the unprinted samples, showing a good sustained release effect, and the *in vitro* release of CA was fitted to the Ritger-Peppas model. These results

收稿日期: 2022-07-18

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2019GNC106084);

山东理工大学招远工业技术研究院创新研究基金项目(9101-2212401; 9101-220193);

2022年山东省专业学位研究生教学案例库(SDYAL21130)

第一作者简介: 南希骏(1998—)(ORCID: 0000-0003-4305-954X), 男, 硕士研究生, 研究方向为功能性食品。

E-mail: a985354232@163.com

*通信作者简介: 盛桂华(1976—)(ORCID: 0000-0003-3933-7930), 女, 高级实验师, 博士, 研究方向为功能性食品。

E-mail: sgh76@126.com

showed that the hydrogel system had good printability and applicability, and 3DFP could significantly improve the targeted release of CA loaded in hydrogel.

Keywords: 3D food printing; hydrogel; chlorogenic acid; printability; applicability; delivery system

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220718-199

中图分类号: TS201.7

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)15-0095-08

引文格式:

南希骏, 周泉城, 李娅婕, 等. 3D打印加工荷载绿原酸水凝胶体系的适印性和适用性[J]. 食品科学, 2023, 44(15): 95-102.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220718-199. <http://www.spkx.net.cn>

NAN Xijun, ZHOU Quancheng, LI Yajie, et al. Printability and applicability of 3D printing system loaded with chlorogenic acid hydrogel[J]. Food Science, 2023, 44(15): 95-102. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220718-199. <http://www.spkx.net.cn>

3D食品打印(3-dimensional food printing, 3DFP)又被称为食品增材制造,是最精确的食品制造加工技术之一,也是实现定制食品、精准营养的一种加工方式^[1]。3DFP加工研究探究的内容包括3D打印材料的适印性(理化特性、流变特性等)和3D打印物的适用性(机械性能、结构性能和包埋率等)^[2]。

水凝胶是通过物理或化学交联形成的一种具有三维网络结构的聚合物体系^[3],材质接近生物体组织,具备定向递送的生理条件,与细胞有良好的相溶性,可防止营养成分物质在有机溶剂中的转性和溶解,利于亲水性物质的荷载。但其硬度、胶着性偏高,在未来食品价值链中应用还需进一步的研究^[4]。此外,由于化学凝胶的低安全性和物理凝胶的不稳定性^[5],近年来,稳定的物理共价键水凝胶成为了研究的热点。

目前,3DFP水凝胶备受科研人员青睐。相比传统模具造型,3DFP剪切作用导致水凝胶硬度、胶着性得到改善,对人体机械刺激更小,生物吸收性更好,还可以改善水凝胶其他机械性、可降解性、生物相容性、成型性和使用方便性等^[6-7]。然而,3DFP加工过程中水凝胶涉及的反应类型、机理规律、组分相互作用等却尚不清楚,而这些问题是制约3DFP行业发展的瓶颈。3DFP加工条件、功能因子相互作用机制直接决定了3D打印体系运输和控释效果,是本领域亟需解决的关键性科学问题。

绿原酸(chlorogenic acid, CA)是一种多酚类物质,具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、降血压等作用^[8],但对于CA的体内递送鲜有报道。甲基纤维素(methylcellulose, MC)具有良好的生物相容性、成胶特性、水溶性、成膜性以及反向温敏特性,可用作可食用膜以及水凝胶制备材料^[9-10]。林莹等^[9]利用MC的反向温敏特性和成胶特性成功制备了可以包埋药物的水凝胶。但目前MC在3DFP领域研究较少。透明质酸(hyaluronic acid, HA)具有润化、抗氧化性、延缓衰老、抗炎等生理作用^[11]。但目前其在3DFP领域中的研究应用也较少。

综上所述,MC/HA水凝胶体系在3DFP方面的研究与应用较少。故本研究旨在探究3DFP加工荷载CA的MC/HA水凝胶递送体系的适印性和适用性,揭示3DFP加工对水凝胶运输体系结构、物理特性、包埋率以及CA控释等影响规律,从而为3DFP加工技术和功能因子递送体系方面提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

HA(333 kDa) 华熙生物科技股份有限公司;
MC(4 000 MPa·s)、CA(纯度≥98%)、 α -淀粉酶(4 000 U/g)、猪胃蛋白酶(3 000 U/mg)、猪胆粉、胰酶(1:4 000)、福林-酚等 上海爱纯生物有限公司。

1.2 仪器与设备

FOODBOT-S食品3D打印机 杭州时印科技有限公司;
FD-1A-50冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司;
恒温振荡箱 常州市万丰仪器制造有限公司;
UV759CRT紫外-可见分光光度计 青岛聚创环保集团有限公司;
HH-2数显恒温水浴锅 常州丹瑞实验仪器设备有限公司;
SL-1D4精密分析天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 水溶胶的制备

取不同添加量(6%、7%、8%、9%,以体系质量计,下同)MC于蒸馏水中,90℃下加热搅拌至MC颗粒完全润湿、分散均匀,随后4℃保存过夜。第2天取出MC凝胶体系,加入不同添加量(0.02%、0.05%、0.10%)CA(或/和HA),搅拌10 min至完全溶解,得到MC-CA、MC-HA、MC-CA-HA均匀透明溶液,4℃贮存备用。

1.3.2 3D打印

将所制的水凝胶使用螺杆挤出式3D打印机进行样品制样。3D打印机实验模型是长×宽×高为

3.7 cm × 0.50 cm × 0.50 cm的长方体, 设置相关打印参数如下: 喷嘴高度4 mm、喷嘴移动速率30 mm/s、喷嘴内径尺寸0.84 mm、打印层高0.80 mm, 每种材料打印5个样品。打印后样品烧杯罩上, 防止水分蒸发, 1 h内完成指标测定。

1.3.3 3D打印材料成型性测定

视觉直观观察分析3D打印物成型性, 即3D打印物打印形状、成型效果等评价指标。

1.3.4 3D打印样品打印精度测定

游标卡尺测量3D打印物的宽度。打印的偏差量按式(1)计算。

$$\text{偏差量}/\% = \frac{\text{样品宽度测量值}/\text{mm} - \text{模型宽度设计值}/\text{mm}}{\text{模型宽度设计值}/\text{mm}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.5 质构特性测定

用TPA模式测定打印前后样品的硬度、弹性、咀嚼度、黏附性等^[12]。质构仪参数设定: 测前速率5 mm/s、测试速率1 mm/s、测后速率2 mm/s、压缩率70%、起点感应力2.50 g、两次压缩时间间隔7.50 s。

1.3.6 动态剪切流变性能测定

将打印前后样品置于室温中稳定30 min后测定动态剪切流变性能。设定温度25 °C、平板直径40 mm、间隙1 mm、应变设置0.20% (线性黏弹区内)、扫描频率0.10~10.00 Hz, 测定动态流变曲线^[13]。

1.3.7 扫描电子显微镜观察

将冻干打印样品固定在样品座上, 喷金, 以放大倍数500倍的扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察样品的横断面和纵切面的微观结构^[14]。

1.3.8 傅里叶变换红外光谱测定

打印前后冻干样品粉末与KBr粉末以1:100的质量比球磨研磨均匀, 抽空下压成透明薄片, 4 000~600 cm⁻¹范围内进行傅里叶变换红外光谱扫描, 以KBr空白压片作对照^[15]。

1.3.9 X射线衍射测定

将打印前后冻干样品粉末置于带孔铝片 (15 mm × 20 mm × 1.5 mm) 中, 随后压紧, 进行X射线衍射测试。测试条件: 扫描范围3°~50°; 测角精度2θ ≤ ± 0.01°; 角分辨率半峰全宽 ≤ ± 0.1°; 角度重现性 ± 0.000 1°^[16]。

1.3.10 CA包埋率的测定

1.3.10.1 CA标准曲线的绘制

采用0.2 mol/L盐酸-甲醇溶液定容CA标准品, 在329.9 nm波长处测定不同CA质量浓度标准品的吸光度, 以CA质量浓度/(μg/mL)为横坐标, 吸光度为纵坐标, 绘制标准曲线。得到线性回归方程: $y = 0.008x + 0.0025$, $R^2 = 0.9954$ 。

1.3.10.2 CA含量及包埋率测定

将刚打印前后的样品分别进行称质量, 记录各组

质量。将打印后的样品放入离心管中, 向离心管中加入适量的体积分数70%乙醇溶液, 在40 °C恒温振荡器中溶解30 min, 分别取1 mL待测溶液于试管中, 以1 mL的体积分数70%乙醇溶液作空白对照。使用紫外分光光度计在329.9 nm波长处测定各试管中溶液的吸光度^[17]。根据回归方程计算提取液中的CA质量浓度/(μg/mL), 并按式(2)计算CA包埋率。

$$\text{包埋率}/\% = \frac{\text{产物中释放出的CA质量浓度}}{\text{初始加入的CA质量浓度}} \times 100 \quad (2)$$

1.3.11 体外模拟消化

体外模拟消化参考饶雪甜等^[18]的方法进行。

1.3.11.1 模拟消化液的制备

参照Minekus等^[19]的方法制备模拟唾液、模拟胃液和模拟肠液。

1.3.11.2 体外模拟口腔消化

0.50 g样品与3.50 mL模拟唾液、0.50 mL淀粉酶 (酶活力为1 500 U/mL)、25 μL 0.30 mol/L CaCl₂和975 μL蒸馏水混匀, 37 °C恒温振荡器中消化2 min后迅速放入液氮终止反应, 备用。

1.3.11.3 体外模拟胃消化

将通过模拟口腔消化后残留的3DFP样品加入到胃消化组的50 mL离心管中。胃消化组离心管中分别添加7.50 mL的模拟胃液、1.60 mL 25 000 U/mL的猪胃蛋白酶、5 μL 0.30 mol/L CaCl₂、702 μL 5 mol/L HCl和193 μL蒸馏水。以模拟胃液作为空白对照。37 °C恒温振荡消化2 h, 在0、24、48、72、96、120 min时取样。

1.3.11.4 体外模拟肠消化

将模拟胃消化后残留的3DFP样品加入到肠消化组的50 mL离心管中。肠消化组离心管中分别添加711 mL的模拟肠液、5 mL 800 U/mL的胰酶、2.50 mL 4%的猪胆汁、40 μL 0.3 mol/L的CaCl₂、460 μL 5 mol/L的NaOH和1 mL蒸馏水。以模拟肠液作为空白对照。37 °C恒温振荡器消化2 h, 0、24、48、72、96、120 min时取样。

将释放液在3 000 r/min下离心10 min, 取上层清液, 测定释放液在329.90 nm波长处的吸光度^[17], 按式(3)计算不同时间 (t/min) CA从3D打印样品中的累计释放率 ($Q/\%$)^[20]。

$$Q/\% = \frac{m_t}{m} \times 100 \quad (3)$$

式中: m_t 是 t 时刻累计释放的总CA质量/mg; m 是初始包埋在水凝胶中的总CA质量/mg。

1.4 数据统计与分析

实验结果分析采用SPSS 17.0软件中单因素方差分析法进行显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异显著; 采用Origin 2018软件作图。

2 结果与分析

2.1 MC添加量对3D打印样品的可打印性的影响

探究水中MC添加量对打印体系可打印性的影响,结果如表1所示,6%和7%添加量的MC水凝胶可以打印成型,而当MC添加量超过7%时,体系因为流动性差等而无法打印。

表1 不同添加量的MC水凝胶的3D可打印性

MC添加量/%	6	7	8	9
可打印性	可打印成型	可打印成型	偏稠,无法打印	偏稠,无法打印

2.2 MC、HA和CA添加量对3D打印样品的精度和成型性的影响

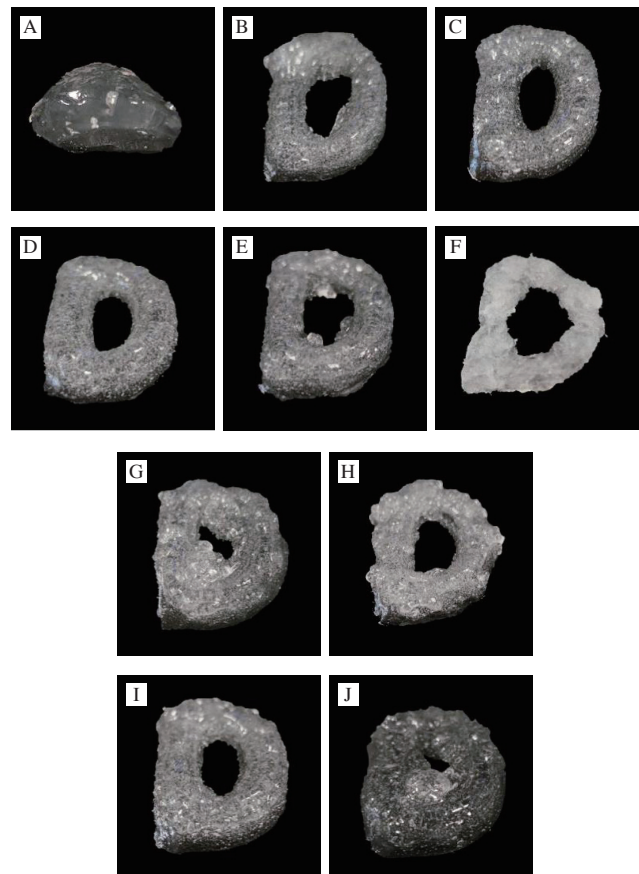
如表2、图1所示,在只添加8%的MC时,体系因为太稠无法打印。而在8% MC水凝胶中加入0.05% CA/HA或CA和HA同时加入时,均可打印成型。相较于其他配比的MC水凝胶,在添加8% MC、0.05% HA、0.05% CA(图1D)时打印效果最好,无断料、出料过多的现象,成型后模型与设计模型最接近,宽度偏差最小,为13.40%。这说明MC、CA、HA在3DFP中相互作用达到了最佳的效果,实现了理想的适印性和适用性。其中MC对打印的适印性起主要作用,而HA的润湿作用以及CA和HA协同互作可以改善同添加量MC无法进行3DFP的问题,而且提高了打印精度。而在8% MC、0.05% HA、0.05% CA基础上增加MC的添加量会导致样品太稠而断料,成型效果很差(图1F)。在8% MC、0.05% HA、0.05% CA基础上提升HA的添加量会增加水凝胶的黏弹性^[21]而导致黏度过高,无法打印出目标模型(图1J)。如图1H所示,样品打印成球且出料过多,成型性较差,打印精度较低,可能是因为HA比例较高导致水凝胶黏度较高^[21-22],从而破坏了CA和HA的协同互作。综上所述,添加8% MC、0.05% HA、0.05% CA的水凝胶体系打印效果最好。

表2 不同质量比的3D打印材料的打印精度

Table 2 Printing accuracy of 3D printing materials with different mass ratios

编号	MC/HA/AC添加量	打印宽度 平均值/mm	模型宽度 设计值/mm	偏差量/%
1	8% MC	/	/	/
2	8% MC/0.05% HA	6.99±0.09 ^d	5	39.80±1.80
3	8% MC/0.05% CA	7.22±0.22 ^d	5	44.40±4.40
4	8% MC/0.05% HA/0.05% CA	5.67±0.16 ^d	5	13.40±3.20
5	7% MC/0.05% HA/0.05% CA	7.42±0.23 ^{bc}	5	48.40±4.60
6	9% MC/0.05% HA/0.05% CA	7.16±0.09 ^d	5	43.20±1.80
7	8% MC/0.02% HA/0.05% CA	8.12±0.22 ^a	5	62.40±4.40
8	8% MC/0.05% HA/0.02% CA	7.62±0.04 ^b	5	52.40±0.80
9	8% MC/0.05% HA/0.10% CA	6.23±0.06 ^c	5	24.60±1.20
10	8% MC/0.10% HA/0.05% CA	/	/	/

注: /因无法打印而没有相应数据。



A.打印前样品; B~J.打印后样品,依次对应表2中编号1~10。

图1 不同质量比的3D打印物图

Fig. 1 Pictures of 3D printed products with different mass ratios

2.3 MC、HA和CA添加量对3D打印材料和3D打印物质构特性的影响

在质构分析中,硬度是指样品形状发生一定改变所需的力;弹性指样品在第一次压缩变形量和第二次压缩之间能恢复的高度的比值;黏附性表示样品表面附着于其他物体(舌、牙、口腔等)时,剥落其所需要的力;咀嚼度表示将固体样品咀嚼成可以够吞咽状态所需的能量^[23]。如表3所示,CA和HA的分别加入使打印材料的硬度、弹性和咀嚼性总体降低,但提升了黏附性,这是由于HA原液有润滑保湿补水的功效^[21],推测CA可能也具有一定的润滑保湿功效。然而,CA和HA同时加入后打印材料的硬度、弹性、咀嚼度和黏附性显著升高,可能是因为CA与HA之间的相互作用使打印材料结构更紧密,并且两者的加入提高了打印材料的营养价值。如表4所示,在同时添加CA和HA时,随着MC添加量的增加,打印样品的硬度、弹性、咀嚼性总体提升,但黏附性先升高后降低。这说明样品的成型性得到改善,而且具备较好的弹性。对比表3、4可知,打印后样品相比与打印前样品具有更高的硬度、弹性以及咀嚼度,而黏附性降低,表明打印后样品结构更加紧密。综上所述,

当样品MC、HA、CA质量比为8:0.05:0.05时，硬度、弹性最高，黏附性最低，打印效果最好。

表3 不同质量比的3D打印材料的质构特性
Table 3 Texture characteristics of raw materials for 3D printing with different mass ratios

编号	硬度/g	弹性	咀嚼度/(g·mm)	黏附性/(g·s)
1前	909.67±32.11 ^a	0.90±0.01 ^a	787.77±20.13 ^a	-0.098±0.006 ^a
2前	1 235.23±62.44 ^a	0.89±0.04 ^b	624.87±19.63 ^b	-0.096±0.006 ^a
3前	615.77±42.12 ^b	0.89±0.03 ^b	511.84±18.14 ^b	-0.093±0.002 ^a
4前	1 037.23±36.21 ^a	0.96±0.04 ^a	907.16±20.12 ^a	-0.089±0.001 ^b
5前	705.18±41.21 ^b	0.90±0.02 ^a	635.02±44.12 ^b	-0.108±0.004 ^a
6前	286.88±45.23 ^c	0.87±0.04 ^b	263.72±31.45 ^c	-0.087±0.004 ^b
7前	292.66±45.60 ^c	0.87±0.04 ^b	267.19±45.23 ^c	-0.108±0.008 ^a
8前	415.37±65.20 ^c	0.94±0.02 ^a	409.04±32.45 ^c	-0.065±0.008 ^c
9前	712.66±75.20 ^b	0.91±0.02 ^a	675.78±36.21 ^b	-0.086±0.003 ^b
10前	681.98±43.10 ^b	0.88±0.04 ^b	526.77±25.45 ^b	-0.106±0.007 ^a

注：编号1~10.与表2编号相同样品。前. 3D打印前。同列肩标小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。

表4 不同质量比的3D打印物的质构特性
Table 4 Texture characteristics of 3D printed products with different mass ratios

编号	硬度/g	弹性	咀嚼度/(g·mm)	黏附性/(g·s)
2后	2 168.03±12.11 ^a	0.89±0.01 ^b	1 428.08±17.23 ^a	-0.123±0.003 ^a
3后	1 728.68±45.23 ^b	0.88±0.04 ^b	1 099.46±23.45 ^b	-0.111±0.008 ^a
4后	2 800.24±43.17 ^a	0.92±0.02 ^a	1 770.63±45.78 ^a	-0.092±0.007 ^b
5后	889.78±56.23 ^c	0.88±0.05 ^b	744.18±56.12 ^b	-0.115±0.004 ^a
6后	2 570.60±46.32 ^a	0.94±0.02 ^a	1 819.72±32.12 ^a	-0.127±0.004 ^a
8后	1 326.73±45.13 ^b	0.96±0.08 ^a	787.77±47.12 ^b	-0.098±0.006 ^b
9后	2 212.81±65.70 ^a	0.91±0.05 ^a	1 668.38±32.14 ^a	-0.108±0.040 ^a

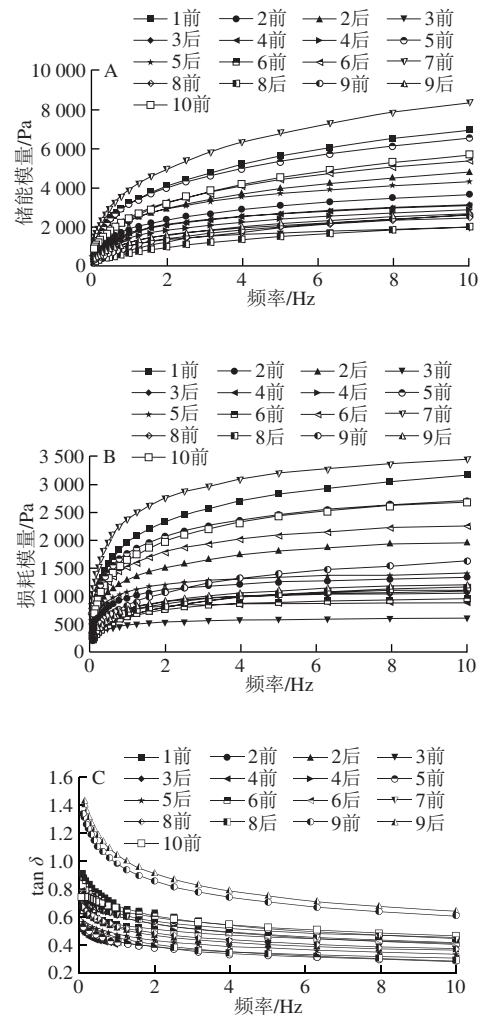
注：后. 3D打印后。样品7因打印偏差量过大故未进行质构特性分析。

2.4 MC、HA和CA添加量对3D打印材料和3D打印物的流变特性的影响

3D打印品的动态黏弹性与其实际应用性能直接相关。储能模量 G' 能反映打印物的弹性和刚性，储能模量越高样品支撑性越好，不易塌陷^[24]；而损耗模量 G'' 能反映打印物的黏性^[14]； $\tan \delta$ 反映打印物的流动性，通过 $\tan \delta$ 可以区分材料主要表现为弹性行为还是黏性行为。储能模量 G' 和损耗模量 G'' 均对频率呈一定的依赖性，说明频率与水凝胶体系黏弹性有关系^[24]。如图2所示，随着频率增大，CA水凝胶体系的 G' 和 G'' 都呈现出不同程度的上升趋势。所有3D打印品的 G' 均高于 G'' ，表明打印物在该频率扫描区域内以弹性为主导，是具备一定硬度的网状凝胶。

如图2所示，所有同一体系下3D打印样品打印后 G' 均比打印前高， G'' 均比打印前低，这是因为经过3D打印后，凝胶体系硬度、弹性均升高，而黏附性降低。添加HA或CA后，体系的 G' 降低，即体系弹性降低， G'' 升高，即黏附性升高，这是因为HA具有润滑和增大黏附性的作用^[21]。而在同时添加CA和HA且样品MC、HA、CA配比为8:0.05:0.05时，CA水凝胶体系的 G' 较高，

并且该体系下 G' 与 G'' 差值较大，说明打印的样品形成了稳定的凝胶结构，成型性较好，此时的凝胶材料更适合打印。 $\tan \delta < 1$ 说明材料主要表现弹性行为，意味着材料更类似于固体，流动性较差。随频率增加，各样品 $\tan \delta$ 整体呈下降趋势，表明3D材料和打印物流动性较差，黏弹性较低，类固性较高。综上所述，3D打印后的样品具有更好的支撑性。若要满足后续加工要求及产品特性，可以选择不同组成配比，以保证产品固液状态，达到目标的产品型态。



A. 储能模量; B. 损耗模量; C. $\tan \delta$ 。

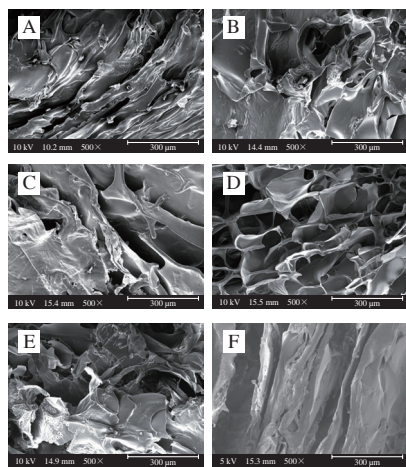
图2 3D打印材料和3D打印物的流变性能

Fig. 2 Rheological properties of raw materials for 3D printing and 3D printed products

综上，MC、HA、CA配比为8:0.05:0.05时体系的机械性能、流变性能最好，通过MC、CA、HA在3DFP中相互作用实现了理想的适印性。后续检测打印精度较高和添加不同成分6组水凝胶体系（即表2中编号1、2、3、4、5、9）的微观结构性能，通过比较选择最佳打印体系。

2.5 不同MC、HA和CA添加量的3D打印材料和3D打印物的SEM分析

水凝胶体系微观结构结果如图3所示。体系添加HA后(图3B),与原先的水-MC凝胶体系(图3A)对比,样品结构更为松散,叠加层数更为显著,可能是因为HA的润湿性造成的。从图3C可以看出,MC中添加CA后打印的样品具备大小不一的孔隙结构,且结构较为疏松,样品打印出后极易坍塌,因此打印精密度低。如图3E所示,随着HA和CA的添加,打印样品的孔隙结构逐渐均匀,截面更为光洁。由图3D可知,当CA与HA的质量比为1:1时,打印后的样品展现出更为匀称的孔隙结构,可以维持样品长时间不产生塌陷形变,可能是因为HA和CA形成了共价键。而当HA与CA的质量比为其他配比时,打印样品的外表粗糙度提升(图3F),可能是打印过程中出料不均匀,出现断料的情况,样品变形严重,表面有裂纹造成。



A. 对应表2中编号1的打印材料; B~F. 分别对应表2中编号2、3、4、5、9的样品。下同。

图3 3D打印材料和3D打印物的SEM图

Fig. 3 Scanning electron micrographs of raw materials for 3D printing and 3D printed products

2.6 不同MC、HA和CA添加量的3D打印材料和3D打印物的傅里叶变换红外光谱分析

傅里叶变换红外光谱是一种研究共聚物结构的有效手段,可测定物质中的功能性基团和高极性键的振动,从而分析物质化学键的变化^[25]。因此,本实验选择具有代表性的4组样品(MC、HA、CA质量比分别为8:0:0、8:0.05:0、8:0:0.05、8:0.05:0.05)用傅里叶变换红外光谱考察3DFP加工对水凝胶体系组分的影响以及打印过程中组分间相互作用。如图4所示,与只添加MC的水凝胶相比,添加CA后的水凝胶在 $3\ 600\sim 3\ 400\text{ cm}^{-1}$ 处和 $2\ 960\sim 2\ 940\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰强度略有增加,可能是因为CA中甲基-OH分子缔合和甲基-CH₃伸缩振动引起的,但并没有新峰生成,表明CA与MC结合较差,没有形成新的共价键。HA和CA同时添加时,在 $1\ 400\sim 1\ 000\text{ cm}^{-1}$ 处

有很小的新峰生成,表明添加HA与CA形成了新的共价键。此外,与3D打印材料相比,打印后样品峰强度升高,没有新峰生成且没有影响吸收峰的位置,表明3D打印的挤压会使其结构更加紧密。

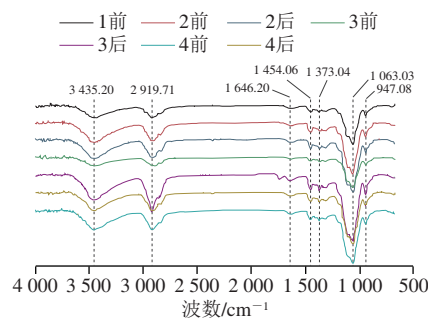


图4 3D打印材料和3D打印物的傅里叶变换红外光谱

Fig. 4 Fourier transform infrared spectra of raw materials for 3D printing and 3D printed products

2.7 不同MC、HA和CA添加量的3DFP材料和3D打印物的X射线衍射分析

物质组成元素、官能团或结构不同,其X射线衍射图谱的衍射峰数量、衍射角等也会不同^[16]。因此可通过衍射峰的位置确定样品微晶变化,进而确定3DFP对物质组分作用及组分间相互影响。本实验选择具有代表性的4组样品(MC、HA、CA质量比为8:0:0、8:0.05:0、8:0:0.05、8:0.05:0.05)进行X射线衍射分析,由图5可知,所有3D打印材料和3D打印物在 4.94° 处均有较强的特征衍射峰,可能是多酚的特征峰。同时,各组样品在 18.79° 处有特征峰,并且在HA和CA加入后,特征峰均明显增强,可能是因为添加HA与CA产生了新的共价键,因此物质结合更加紧密。此外,对比打印前与打印后样品所得的结果,打印后样品峰强度略有升高,但没有新峰生成且没有影响吸收峰的位置,表明3D打印的挤压会使其结构更加紧密,与前文研究结果相印证。

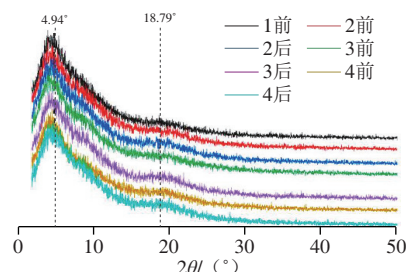


图5 3D打印材料和3D打印物的X射线衍射

Fig. 5 X-ray diffraction patterns of raw materials for 3D printing and 3D printed products

综上所述,本实验构建了荷载CA的水凝胶体系并进行了3D打印,当MC:HA:CA配比为8:0.05:0.05时结构性能最好,实现了良好的3D打印适用性,在此基础上测定该体系下打印前后样品的CA包埋率以及胃肠消化模拟。

2.8 最佳体系下3D打印材料和3D打印物的CA包埋率

对最佳配比的打印前和打印后样品进行CA包埋率测定, 如表5所示, 每个打印样品的CA平均添加量为0.011 6 mg。打印后样品的CA包埋率比打印前样品的CA包埋率提高了22.09个百分点, 3D打印处理后提高了荷载CA水凝胶3D打印体系的包埋率, 可能是因为MC具有良好的成膜性^[10], 3D打印的挤压剪切的作用力可能使样品表面形成了一层具有良好水溶性的MC薄膜^[10,26], 使打印后样品比打印前样品能更好地留住CA, 因此在利用溶解法测定包埋率时, 打印后样品包埋率大幅升高。但是具体组分间相互作用规律、机制等方面还需进一步研究。综上, 打印后MC-HA-CA体系的包埋效果良好, 包埋率大于70%, 满足了3D打印的适用性。

表5 最佳3D打印材料和3D打印物的CA包埋率
Table 5 Embedding rates of CA in the best raw material for 3D printing and 3D printed product

样品	CA含量/mg	包埋率/%
CA	0.011 6±0.000 3	
打印前样品	0.005 8±0.000 9	50.34±7.55
打印后样品	0.008 4±0.000 6	72.43±5.55

2.9 最佳体系的3D打印材料和3D打印物的体外胃肠消化模拟分析

如图6所示, 在120 min的胃消化和120 min的肠消化过程中, 打印前后样品的CA释放率随着时间延长均缓慢增加, 表明样品在模拟胃液和模拟肠液中均有一定的缓释特性, 这与林莹等^[9]的研究结果相似。打印前消化终点样品胃、肠CA累计释放率分别为8.82%、11.38%, 打印后消化终点样品胃、肠CA累计释放率分别为14.62%、20.01%, 表明样品在肠模拟液中CA释放特性更好, 原因可能是肠消化模拟液中的胰液和胆汁可以水解MC与CA产生反应的化学键, 且其中部分偏中性的CA在pH 7的肠模拟液中更加稳定, 因此CA可以更好释放并不易被分解, 从而被吸收, 这与饶雪甜^[18]、任静^[27]等的研究结果相似。同时, 红外光谱分析结果表明CA与MC结合较差, 利于CA的释放, 因而CA释放量较高, 肠和胃的消化吸收效果较好。

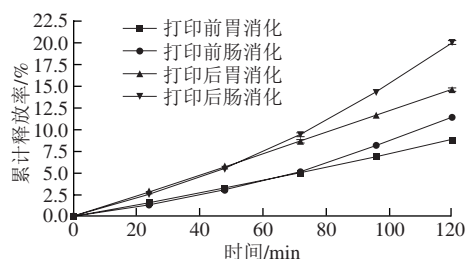


图6 最佳3D打印材料和3D打印物的CA释放率

Fig. 6 Release rates of CA from the best raw material for 3D printing and 3D printed product

对CA体外释放情况通常用零级动力学模型、一级动力学模型、Niebergull平方根方程模型、Weibull方程模型和Ritger-Peppas方程模型拟合^[20,28-29]。本研究中利用Origin软件对3D打印前后样品CA体外释放情况进行5种模型拟合, 建立打印前后样品CA含量在模拟胃液和模拟肠液中释放动力学方程, 结果如表6所示。根据决定系数 R^2 可知, 打印前后样品CA的体外释放情况利用Ritger-Peppas方程模型拟合效果最好, 其中 $\ln Q = n \ln t + k$ 中系数 n 均大于0.89, 释放机制主要为骨架溶蚀作用^[30]。

表6 CA的释放动力学模型拟合
Table 6 Kinetic model fitting of CA release

处理方式	消化方式	模型	拟合方程	R^2
打印前	胃消化	零级动力	$Q=0.073 3t-0.130 9$	0.998 5
		一级动力	$\ln(100-Q) = (-7.669 3 \times 10^{-4})t + 4.607 1$	0.997 1
		Niebergull平方根方程	$(100-Q)^{1/2} = -0.003 7t + 10.008 0$	0.997 8
		Weibull方程	$\ln[\ln[100/(100-Q)]] = 1.076 9 \ln t - 7.555 7$	0.999 5
		Ritger-Peppas方程	$\ln Q = 1.054 3 \ln t - 2.883 5$	0.999 7
	肠消化	零级动力	$Q=0.094 7t-0.844 6$	0.965 7
		一级动力	$\ln(100-Q) = -0.001t + 4.614 8$	0.958 6
		Niebergull平方根方程	$(100-Q)^{1/2} = -0.004 9t + 10.045 23$	0.962 2
		Weibull方程	$\ln[\ln[100/(100-Q)]] = 1.383 5 \ln t - 8.789 5$	0.995 8
		Ritger-Peppas方程	$\ln Q = 1.352 3 \ln t - 4.085 1$	0.996 9
打印后	胃消化	零级动力	$Q=-0.086 0t+0.121 9$	0.999 8
		一级动力	$\ln(100-Q) = -0.001 3t + 4.607 7$	0.998 4
		Niebergull平方根方程	$(100-Q)^{1/2} = -0.006 3t + 10.008 3$	0.999 2
		Weibull方程	$\ln[\ln[100/(100-Q)]] = 1.060 3 \ln t - 6.932 1$	0.999 7
		Ritger-Peppas方程	$\ln Q = 1.022 0 \ln t - 2.213 8$	0.999 9
	肠消化	零级动力	$Q=0.165 8t-1.320 9$	0.970 5
		一级动力	$\ln(100-Q) = -0.001 8t + 4.622 4$	0.957 6
		Niebergull平方根方程	$(100-Q)^{1/2} = -0.008 7t + 10.075 6$	0.964 3
		Weibull方程	$\ln[\ln[100/(100-Q)]] = 1.333 3 \ln t - 7.956 6$	0.990 4
		Ritger-Peppas方程	$\ln Q = 1.276 8 \ln t - 3.172 9$	0.993 1

此外, 胃肠消化模拟中打印后样品CA释放率均大于打印前CA释放率, 首先可能如前文所述, 打印后样品CA包埋率高于打印前样品的CA包埋率; 其次, 有研究表明高黏度MC凝胶的溶解度低于低黏度MC凝胶^[9], 质构特性和流变分析结果表明, 3DFP前样品黏度高于打印后样品黏度, 因此3DFP前样品溶解度高于打印后样品溶解度, 同时由表6可知, MC/HA水凝胶释放CA机制主要为骨架溶蚀作用, 因此相比于打印前材料, 打印后样品因为溶解度较高, 从而更容易溶蚀, 因而有利于CA的释放, 打印后样品释放率更高。

3 结论

本研究构建了一种可以荷载CA并且可以应用于3D打印的水凝胶体系, 确定最佳打印条件: MC、HA、CA配比为8:0.05:0.05。该体系相较于其他配比体系以及打印前样品, 打印精度较高, 物理性能、流变性能较好,

具有理想的3D打印适印性。该体系结构紧密且孔隙均匀、支撑性较好,具有良好的CA包埋率,实现了良好的3D打印适用性。同时该体系在胃肠消化模拟中具有良好的CA释放率以及良好的缓释作用,体外释放情况符合Ritger-Peppas方程模型。

MC作为形成水凝胶的增稠剂包埋其他功能性物质还有待后续深入研究。此外,MC还可以加入到果浆中,制备果浆凝胶,应用于3D打印等方面,其适印性和适用性在未来食品价值链应用中还需进一步的研究。

参考文献:

- [1] PIYUSH, KUMAR R, KUMAR R. 3D printing of food materials: a state of art review and future applications[J]. *Materials Today: Proceedings*, 2020, 33: 1463-1467. DOI:10.1016/j.matpr.2020.02.005.
- [2] LIU Z, ZHANG M, BHANDARI B R, et al. 3D printing: printing precision and application in food sector[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 69: 83-94. DOI:10.1016/j.tifs.2017.08.018.
- [3] ASY-SYIFA N, KUSJURIANSAH, WARESINDO W X, et al. The study of the swelling degree of the PVA hydrogel with varying concentrations of PVA[J]. *Journal of Physics*, 2022, 2243: 012053. DOI:10.1088/1742-6596/2243/1/012053.
- [4] LI H, TAN C, LIN L. Review of 3D printable hydrogels and constructs[J]. *Materials & Design*, 2018, 159(69): 83-94. DOI:10.1016/j.matdes.2018.08.023.
- [5] 逯浩月, 王旭, 郝京诚. 瞬态水凝胶的研究进展[J]. *科学通报*, 2021, 66(14): 1733-1745. DOI:10.1360/TB-2020-1418.
- [6] 苏丹, 宋子悦, 杨杨, 等. 大豆蛋白基水凝胶的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(3): 402-410. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2020120155.
- [7] 王浩, 谭畅, 陈静, 等. 魔芋胶对蓝莓凝胶体系3D打印特性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(23): 104-110. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190423-300.
- [8] JESÚS S, LUIS C Z, DANIEL J V. Chlorogenic acid: recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome[J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 358-358. DOI:10.3390/molecules22030358.
- [9] 林莹, 蒋国强, 咎佳, 等. 甲基纤维素温敏水凝胶的凝固及体外释药特性[J]. *清华大学学报(自然科学版)*, 2006, 46(6): 836-838. DOI:10.3321/j.issn:1000-0054.2006.06.022.
- [10] 岳晓华, 沈月新, 寿霞, 等. 壳聚糖-甲基纤维素复合膜的制作研究与性能测定[J]. *农产品加工*, 2005(3): 28-30; 34. DOI:10.3969/j.issn.1671-9646-B.2005.03.008.
- [11] ABEBE M W, KIM H. Methylcellulose/tannic acid complex particles coated on alginate hydrogel scaffold via Pickering for removal of methylene blue from aqueous and quinoline from non-aqueous media[J]. *Chemosphere*, 2022, 286: 131597. DOI:10.1016/j.chemosphere.2021.131597.
- [12] ZIEMICHÓD A, RÓYO R. Effect of the addition of goji berries on the physical properties of gluten-free bread[J]. *Acta Agrophysica*, 2018, 25(1): 117-127. DOI:10.31545/aagr0010.
- [13] PATEL G, MURAKONDA S, DWIVEDI M. Steady and dynamic shear rheology of Indian jujube (*Ziziphus mauritiana* Lam.) fruit pulp with physicochemical, textural and thermal properties of the fruit[J]. *Measurement: Food*, 2022, 5: 100023. DOI:10.1016/j.meaf.2022.100023.
- [14] ZHENBIN L, MIN Z, BHESH B. Effect of gums on the rheological, microstructural and extrusion printing characteristics of mashed potatoes[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 117: 1179-1187. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.06.048.
- [15] UBAID M, MURTAZA G. Fabrication and characterization of genipin cross-linked chitosan/gelatin hydrogel for pH-sensitive, oral delivery of metformin with an application of response surface methodology[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 114: 1174-1185. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.023.
- [16] 侯剑峰, 杨永强. XRD法分析含钾钙氟化盐的铝电解质体系分子比的改进[J]. *有色金属: 冶炼部分*, 2021(5): 41-44. DOI:10.3969/j.issn.1007-7545.2021.05.008.
- [17] 赖海涛, 陈满花. 分光光度法测定绿原酸含量[J]. *广东化工*, 2020, 47(24): 130; 135. DOI:10.3969/j.issn.1007-1865.2020.24.057.
- [18] 饶雪甜, 曾新安, 林松毅, 等. 黑果腺肋花楸在体外模拟消化过程中酚类物质及抗氧化性的变化规律[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(12): 77-83. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.12.0012.
- [19] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food: an international consensus[J]. *Food & Function*, 2014, 5: 1113-1124. DOI:10.1039/c3fo60702j.
- [20] 范一文, 鲁群, 李地才, 等. 茶多酚脂质体的制备和物化性质研究[J]. *现代食品科技*, 2011, 27(10): 1187-1191. DOI:10.3969/j.issn.1673-9078.2011.10.004.
- [21] DALLARI D, SABBIONI G, DEL PICCOLO N, et al. Efficacy of intra-articular polynucleotides associated with hyaluronic acid versus hyaluronic acid alone in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized, double-blind, controlled clinical trial[J]. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 2020, 30(1): 1-7. DOI:10.1097/JSM.0000000000000569.
- [22] 左小博, 杨秀芳, 孔俊豪, 等. 基于自组装法制备茶多酚-透明质酸钠米粒工艺研究[J]. *应用化工*, 2018, 47(11): 2346-2350; 2354.
- [23] LIU A, BAI Y, LI M, et al. Process optimization, quality research and product development of extrusion on barley powder[J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(15): 118-123. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2019.15.019.
- [24] 刘敏, 赵欣, 阚建全, 等. 黄原胶对莲藕淀粉糊化性质及流变与质构特性的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(6): 45-50. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201806008.
- [25] SADEGHTABAGHI Z, RABBANI A R, HEMMATI-SARAPARDEH A. Introducing a novel approach for oil-oil correlation based on asphaltene structure: X-ray diffraction[J]. *Acta Geologica Sinica*, 2021, 95(6): 2100-2119. DOI:10.1111/1755-6724.14709.
- [26] 段林娟, 陈春霞, 李静, 等. 膜液配比对甲基纤维素/小麦面筋蛋白可食性复合膜性能的影响[J]. *南方农机*, 2020, 51(18): 41-43. DOI:10.3969/j.issn.1672-3872.2020.18.023.
- [27] 任静, 邓盛齐, 陶静, 等. 绿原酸大鼠胃肠吸收动力学研究[J]. *中国药理学杂志*, 2013(15): 1299-1302. DOI:10.11669/cpj.2013.15.016.
- [28] 徐晓飞, 钟浩权, 刘玮, 等. 体外模拟消化维生素C和钙软糖的动力学研究[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(11): 83-88; 274. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.014.
- [29] 夏玫, 张亚兰, 高敬轩, 等. 绿原酸生物黏附微球的制备及其体外释放特性的研究[J]. *华西药理学杂志*, 2012, 27(2): 153-155.
- [30] 周佳敏, 胡游, 方朋超, 等. 戊己丸胃黏附片的制备及体外释放研究[J]. *实用药物与临床*, 2019, 22(11): 1182-1185. DOI:10.14053/j.cnki.ppcr.201911015.