

# 三种不同EPA/DHA组成鱼油乳液的体外消化特性比较

郑佳楠<sup>1,2</sup>, 刘琳<sup>2</sup>, 张友胜<sup>2</sup>, 张业辉<sup>2</sup>, 赵甜甜<sup>2</sup>, 苏健裕<sup>1\*</sup>, 焦文娟<sup>2\*</sup>, 黄文<sup>3</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室, 广东广州 510640) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610) (3. 广东省农业科学院动物科学研究所, 广东广州 510645)

**摘要:** 探究不同二十碳五烯酸 (Eicosapentaenoic Acid, EPA) 和二十二碳六烯酸 (Docosahexaenoic Acid, DHA) 组成比例鱼油乳液的体外消化特性。制备不同 EPA/DHA (5.13、2.45、1.34) 比例的 O/W 鱼油乳液, 对消化过程中粒径、 $\zeta$  电位、微观结构及小肠阶段脂肪酸的释放行为进行研究。结果表明, 不同 EPA/DHA 比例鱼油乳液在消化过程中的变化趋势相似, 同时各乳液消化特性有所区别。具体而言, 三种初始乳液均具有较高的稳定性, 电荷性介于 -40.02 mV 和 -43.77 mV, 粒径主要分布于 0.1~1.0  $\mu\text{m}$  之间。经口腔与胃阶段消化后, 各体系电荷绝对值显著降低 ( $P<0.05$ ), 乳滴中心脂质暴露, 粒径呈多峰分布且主要集中于 10~100  $\mu\text{m}$  区间。小肠阶段各组乳液粒径显著降低至 8~13  $\mu\text{m}$  ( $P<0.05$ ), 游离脂肪酸 (Free Fatty Acids, FFA) 相对释放结果表明, EPA/DHA=5.13 组乳液 (103.21%)>EPA/DHA=2.45 组乳液 (73.54%)>EPA/DHA=1.34 组乳液 (62.51%), EPA 与 DHA 相对水平是影响三种鱼油乳液消化的重要因素。该研究可为富含 EPA 与 DHA 的海洋脂类膳食摄入及鱼油递送系统的开发设计提供一定参考。

**关键词:** EPA/DHA; O/W 鱼油乳液; 体外消化

文章编号: 1673-9078(2024)07-118-127

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.7.0895

## Comparison of *in Vitro* Digestibility of Fish Oil Emulsions with Different EPA/DHA Compositions

ZHENG Jianan<sup>1,2</sup>, LIU Lin<sup>2</sup>, ZHANG Yousheng<sup>2</sup>, ZHANG Yehui<sup>2</sup>, ZHAO Tiantian<sup>2</sup>, SU Jianyu<sup>1</sup>,  
JIAO Wenjuan<sup>2</sup>, HUANG Wen<sup>3</sup>

(1. School of Food Science and Engineering, Guangdong Province Key Laboratory for Green Processing of Natural Products and Product Safety, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)  
(2. Sericultural & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of

引文格式:

郑佳楠, 刘琳, 张友胜, 等. 三种不同EPA/DHA组成鱼油乳液的体外消化特性比较[J]. 现代食品科技, 2024, 40(7): 118-127.

ZHENG Jianan, LIU Lin, ZHANG Yousheng, et al. Comparison of *in Vitro* digestibility of fish oil emulsions with different EPA/DHA compositions [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(7): 118-127.

收稿日期: 2023-07-24

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2020A1515110263); 国家自然科学基金青年项目 (32101958); 广东省农业科学院科技人才引进专项资金项目 (R2021YJ-YB3005); 广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室项目 (202211); 广东省重点研发计划项目 (2021B0202060001); 广东省农业科学院协同创新中心 (XT202303); 梅州市科技计划项目 (2021A0107003); 2020 年青年导师制项目 (R2020QD-041)

作者简介: 郑佳楠 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 油脂化学与营养, E-mail: 2434364244@qq.com

通讯作者: 苏健裕 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物制备与生物利用, E-mail: jysu@scut.edu.cn; 共同通讯作者: 焦文娟

(1988-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 油脂营养与化学, E-mail: jiaowenjuan@gdaas.cn

Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou, 510610, China) (3. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510645, China)

**Abstract:** To investigate the *in vitro* digestive properties of fish oil with different proportions of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), based on an *in vitro* gastrointestinal digestion model (GIT), O/W fish oil emulsions with different ratios of EPA/DHA (5.13, 2.45, and 1.34) were prepared. The changes in the particle size,  $\zeta$ -potential, and microstructure during digestion, as well as the release behavior of fatty acids during digestion in the small intestine, were investigated. The results showed similar variation trends for fish oil emulsions with different EPA/DHA ratios. Despite this, each emulsion exhibited unique digestive characteristics. Specifically, all three initial emulsions showed higher stability, with strong negative charges, ranging from  $-40.02$  to  $-43.77$  mV, as well as relatively uniform particle size distributions ( $0.1$ - $1.0$   $\mu\text{m}$ ). After oral and gastric digestion, the absolute value of charge of each system decreased significantly ( $P < 0.05$ ), exposing the inner lipid phase. In addition, particle size was found to follow a multi-peak distribution and was mainly concentrated in the range of  $10$ - $100$   $\mu\text{m}$ . During small intestine digestion, the particle size of each system decreased significantly to  $8$ - $13$   $\mu\text{m}$  ( $P < 0.05$ ). The release of the free fatty acids (FFA) was  $103.21\%$  (EPA/DHA ratio of  $5.13$ ),  $73.54\%$  (EPA/DHA ratio of  $2.45$ ), and  $62.51\%$  (EPA/DHA ratio of  $1.34$ ). These results suggest that the relative proportion of EPA and DHA is an important factor influencing fish oil emulsion digestion. This study provides a basis for the determination of the recommended daily EPA and DHA-rich marine lipid intake and the design of fish oil delivery systems.

**Key words:** EPA/DHA; O/W fish oil emulsions; *in vitro* digestion

鱼油富含  $\omega$ -3 系列长链多不饱和脂肪酸 (Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids, LC PUFA), 包括二十碳五烯酸 (Eicosapentaenoic Acid, EPA) 与二十二碳六烯酸 (Docosahexaenoic Acid, DHA), 不仅能为机体提供所需的营养物质与能量, 还具有预防和控制心血管疾病<sup>[1]</sup>、改善大脑记忆功能<sup>[2]</sup>、抗炎<sup>[3]</sup>等多种生理活性。人体无法自行合成 EPA 与 DHA, 只能膳食摄入。作为天然的 EPA 和 DHA 膳食补充剂, 鱼油在特殊膳食食品、保健品、药品等行业受到越来越多的关注, 市场需求量不断上升。

目前, 推荐健康人群  $\omega$ -3 PUFA 的适宜摄入量 (Adequate Intake, AI) 为  $0.60\%E$ , 宏量营养素可接受范围 (Acceptable Macronutrient Distribution Range, AMDR) 为  $(0.5\% \sim 2.0\%) E$ <sup>[4]</sup>, 尚未对饮食中 EPA 和 DHA 的推荐比例达成一致。先前的研究表明, 提高海洋脂类补充剂中 DHA 的比例会显著降低相关的健康益处, 增加毒性反应与结直肠癌发生的风险<sup>[5]</sup>。适当比例的 EPA/DHA 摄入利于鱼油对 *Wistar* 大鼠机体抗炎和抗氧化作用的发挥, 当 EPA/DHA=1:1 和 2:1 时, 通过降低氧化环境水平等产生更为积极的健康效应<sup>[6]</sup>, 而 1:2 的摄入比则引起高水平的脂肪酸氧化 (模拟胃阶段)、低生物可及性及 *Caco-2* 细胞同化效率 (模拟小肠阶段)<sup>[7]</sup>。消化是人体摄入营养元素的重要阶段, 因此, 有必要对

膳食中不同 EPA 与 DHA 比例鱼油消化行为进行探究, 这将为后续的油脂营养摄入提供基础理论指导。

作为鱼油的主要组成, 长链甘油三酯 (Long Chain Triacylglycerol, LC TAG) 需呈乳化状态才能在胃肠道消化系统中被水解, 从而促进  $\omega$ -3、 $\omega$ -6 系列人体必需脂肪酸的吸收与转运, 继而发挥其生理功效。相应的乳液递送系统已被证实有效解决鱼油本身的异味、较差的水溶性、较低的氧化稳定性等应用缺陷<sup>[8]</sup>, 进一步提高类胡萝卜素等脂溶性营养物质的生物可及性与生物利用度。已知甘油三酯组成、脂肪酸链长与饱和度、乳化剂种类、乳滴油-水界面性质、消化液特性等<sup>[9]</sup>是影响各类消化酶竞争性吸附于乳滴界面、继而影响鱼油等膳食油脂消化和吸收速率及程度的重要因素, 后者将对油脂营养与健康评价产生重要影响。

本研究以酪蛋白酸钠为乳化剂, 制备不同 EPA/DHA 组成比例鱼油乳液并对其消化行为进行探究。基于 INFOGEST (2019) 构建静态口腔、胃、小肠体外消化模型, 通过对不同消化阶段的乳液粒径、 $\zeta$ -电位、微观观察及小肠消化阶段的脂肪酸释放情况进行探究, 阐明不同 EPA 和 DHA 组成比例鱼油乳液的体外消化特性, 以期富含 EPA 与 DHA 的海洋脂类膳食摄入及鱼油递送系统的开发设计提供一定参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

鱼油, 陕西冠晨生物科技有限公司; 酪蛋白酸钠 (Sodium Caseinate, SC)、粘蛋白、胃蛋白酶、胰液素、脂肪酶、胆盐, Sigma-Aldrich (上海) 公司; 甲醇、正己烷 (色谱纯), 国药集团化学试剂有限公司。实验采用的其他化学试剂均为分析纯; 实验用水为 Million-Q 超纯水。

### 1.2 仪器与设备

电子分析天平, 上海梅特勒-托利多公司; 7890A-5975C 气相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪, 美国 Agilent 公司; SCI340-Pro 加热磁力搅拌器, SCILOGEX (上海) 公司; T25 digital ULTRA TURRAX 高速剪切机, 德国 IKA 公司; VCX800 超声细胞破碎仪, 美国 SONICS 公司; SHA-B 水浴振荡器, 上海力辰仪器科技有限公司; Mastersizer 3000 激光粒度仪、Nano-ZS 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪, 英国 Malvern 公司; LSM710 激光共聚焦显微镜, 德国 ZEISS 公司; 902 自动电位滴定仪, 美国 Metrohm 公司; UPLC/LC-30A 超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱联用仪, 日本 Shimadzu 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 鱼油理化性质测定

参考 GB 5009.229-2016<sup>[10]</sup>、GB 5009.227-2016<sup>[11]</sup>与 GB/T 5532-2008<sup>[12]</sup>, 分别对试验用三种鱼油的酸价、过氧化值与碘值进行测定。

#### 1.3.2 脂肪酸组成测定

采用气相色谱-质谱联用技术 (GC-MS) 对试验用三种鱼油的脂肪酸组成进行测定, 样品前处理方法如下<sup>[13]</sup>: 于 0.1 g 油样中加入 3 mL 正己烷充分震荡混匀, 采用甲酯化衍生手段, 加入 3 mL 0.4 mol/L KOH-CH<sub>3</sub>OH 溶液并在 55 °C 下震荡 20 min。静置分层后, 上层有机相经脱水及超滤膜处理后 (0.22 μm 有机滤膜), 转移至 2 mL GC 小瓶中待用。采用面积归一化法对各脂肪酸定量。

色谱条件: HP-INNOWax 毛细管柱 (30 m×250 μm, 0.25 μm); 以氦气为载气, 加热器温度 250 °C, 分流比 100:1; 柱温采用程序升温法, 130 °C 保留 1 min 后, 以 5 °C/min 的速率升至 250 °C, 保持 10 min; 进样

体积 0.1 μL。

质谱条件: EI 正离子源, 离子源温度 230 °C, 扫描范围 *m/z* 33~400; 扫描时间 300 ms。

#### 1.3.3 鱼油甘油三酯组成测定

采用 UPLC-Q-TOF-ESI/MS/MS 分离鉴定试验用三种鱼油的甘油三酯组成, 样品前处理方法如下: 于 20 mg 油样中加入 1 mL 甲醇-三氯甲烷 (1:1) 溶解, 涡旋混匀后, 取上述溶液 20 μL 至 900 mL 甲醇-三氯甲烷中, 加入 80 μL 全脂质内标 (equiSPLASH\_330731\_1EA\_REV, 10 μg/mL), 充分混匀后, 过 0.22 μm 有机滤膜, 上机。

色谱系统: Shimadzu UPLC/LC-30A; 色谱柱: Phenomenex Kinetex C18 column (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 进样量: 3 μL; 流量: 0.4 mL/min; 柱温: 60 °C; 样品室温度: 4 °C。A 相: 水: 甲醇: 乙腈 (1:1:1, 含 5 mmol/L NH<sub>4</sub>Ac); B 相: 异丙醇: 乙腈 (5:1, 含 5 mmol/L NH<sub>4</sub>Ac)。采用梯度洗脱程序: 0.5 min, 20% B; 1.5 min, 40% B; 3 min, 60% B; 13 min, 95% B, 保持 4 min; 20 min, 20% B, 保持 5 min。

质谱系统: AB Sciex TripleTOF® 6600, ESI 正离子源, 扫描范围 *m/z* 100~1 200; 气帘气 35 psi, 喷雾气 50 psi, 辅助加热气 50 psi; 离子化电压 5 500 V; 温度 600 °C。

#### 1.3.4 鱼油乳液制备

以不同 EPA/DHA 含量的鱼油为油相, 避光密封冷藏。将适量酪蛋白酸钠分散于纯水中, 60 °C 恒温磁力搅拌至少 2 h, 后置于 4 °C 水化过夜, 最终得到乳化剂浓度为 0.75 wt.% 的水相。乳液油水比为 1:9, 用高速剪切乳化机套装以 8 400 r/min 均质 3 min, 后以超声细胞破碎仪处理 40 s (工作 3 s 间隔 3 s, 功率比 30%), 全程冰浴。直接进入消化阶段, 用于各项消化性能分析。

#### 1.3.5 体外模拟消化

参考 INFOGEST (2019)<sup>[14]</sup> 构建胃肠道体外消化模型 (GIT), 消化前所有酶的活性和胆盐浓度均被有效测定。模拟口腔液 (Simulated Salivary Fluid, SSF)、模拟胃液 (Simulated Gastric Fluid, SGF)、模拟小肠液 (Simulated Intestinal Fluid, SIF) 在使用前均经过预处理。以稀释后的乳液作为初始反应物, 此时含油量为 5 wt.%<sup>[15]</sup>。

口腔: 取 5 mL 稀释后的乳液与 5 mL 模拟口腔消化液 (含有 0.003 75 g/mL 粘蛋白与 1.5 mmol/L



CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) 混合, 调整体系 pH 值至 7.0 后, 于 37 °C 恒温振荡摇床中反应 2 min (100 r/min)。

胃: 将上述口腔消化物与含有胃蛋白酶的模拟胃液等体积比混合, 用 6 mol/L HCl 调整体系 pH 值至 3.0 后, 于 37 °C 下消化 2 h (100 r/min)。此时体系中胃蛋白酶活为 2 000 U/mL。

小肠: 以 5 mol/L NaOH 调整上述胃后反应物至 pH 值至 7.0 后, 与模拟小肠液 (含有胰液素、脂肪酶、10 mmol/L 胆汁酸和 0.6 mmol/L CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) 等体积比混匀, 37 °C 下以 100 r/min 震荡反应 2 h。此时终体系中的胰蛋白酶活达 100 U/mL, 脂肪酶活达 2 000 U/mL。

### 1.3.6 乳液ζ-电位测定

采用 Nano-ZS 型激光散射仪对消化前后三种乳液 ζ-电位进行测定, 参数如下: 吸取适量稀释后样品于 DTS1070 样品池中, 测量温度 25 °C, 平衡时间 120 s。颗粒折射率取 1.481; 以水为分散剂, 折射率取 1.330。每个样品测量 3 次, 组内平行 3 次, 取平均值。

### 1.3.7 乳液粒径和分布测定

使用 Mastersizer 3000 激光粒度仪对原始及消化过程中的乳液脂滴粒径和分布进行测定, 以考察其在体外模拟消化各阶段的变化。参数设置如下: 颗粒折射率取 1.481, 水为分散剂, 吸收系数取 0.001, 每次测定进行五次重复。选取乳液的体积加权平均粒径 (Volume-weighted Diameter,  $d_{4,3}$ ) 来表示乳液脂滴的大小,  $d_{4,3}$  可由以下公式得到:

$$d_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (1)$$

式中:

$n_i$ —表示脂肪球的数量;

$d_i$ —代表脂肪球的直径。

### 1.3.8 乳液微观结构观察

选用激光共聚焦显微镜对乳液在整个消化过程中的变化进行观察。以尼罗红为油相荧光染料 (0.01 g/mL 乙醇), 避光保存。测定时, 取 20 μL 染液加入到 1 mL 样品中, 涡旋充分混匀后将适量染色乳液置于载玻片上, 用镊子将盖玻片盖在样品上并避免气泡的产生。激发波长为 488 nm (Ar 离子激光), 吸收波段为 493~598 nm, 观察油滴 (红色) 的微观结构变化与分布情况 (放大倍数 200 倍)。

### 1.3.9 游离脂肪酸 (Free Fatty Acids, FFA) 相对释放量测定

采用全自动电位滴定仪记录氢氧化钠 (NaOH,

0.1 mol/L) 的体积消耗量, 探究小肠消化阶段 FFA 相对释放结果。整个体系先在 pH 值为 7.0 的环境下反应 2 h, 随后返滴定至 pH 值 9.0 以中和长链未电离脂肪酸<sup>[16]</sup>。以纯水代替试验用三种鱼油进行空白测试, 保持其他测试条件不变, 记录 NaOH 的体积消耗量。FFA 相对释放量可由以下公式得到:

$$S = \frac{V_{\text{NaOH}} \times m_{\text{NaOH}} \times M_{\text{Lipid}}}{W_{\text{Lipid}} \times 2} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

$S$ —游离脂肪酸相对释放量, %;

$V_{\text{NaOH}}$ —校正后的 NaOH 体积消耗量, L;

$m_{\text{NaOH}}$ —氢氧化钠的摩尔浓度, mol/L;

$W_{\text{Lipid}}$ —参与消化反应的鱼油质量, g;

$M_{\text{Lipid}}$ —鱼油的分子重量 (基于平均脂肪酸组成, ~828 g/mol)。

### 1.3.10 数据处理与分析

样品制备及相关试验至少独立进行 3 次, 结果表示为“平均值 ± 标准差”。采用单因素方差分析法 (Duncan's Test), 使用 SPSS Statistics 24 软件对相关数据进行显著性差异分析,  $P < 0.05$  时表明结果间差异显著。利用 Origin 2018 软件, 绘制相关图。

## 2 结果与分析

### 2.1 鱼油理化性质

表 1 3种鱼油理化指标

Table 1 Physicochemical indexes of three types of fish oil

组别	酸价/(mg/g)	过氧化值/(g/100 g)	碘值/(g/100 g)
鱼油 A	0.08 ± 0.004 <sup>c</sup>	0.086 ± 0.040 <sup>a</sup>	318 ± 13.7 <sup>a</sup>
鱼油 B	0.10 ± 0.003 <sup>b</sup>	0.041 ± 0.016 <sup>b</sup>	316 ± 15.0 <sup>a</sup>
鱼油 C	0.19 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.081 ± 0.025 <sup>a</sup>	286 ± 15.3 <sup>a</sup>

注: 同一列不同字母表示具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

酸价可用于判断鱼油中的游离脂肪酸含量, 是反映油脂酸败变质及程度的基本指标之一<sup>[17]</sup>。由表 1 可知, 试验用三种鱼油的酸价测定结果呈显著差异 ( $P < 0.05$ ), 其中 C 组酸价最高 (0.19 mg/g), B 组酸价次之 (0.10 mg/g), A 组酸价最低 (0.08 mg/g), 猜测可能与羧基类酸性物质总水平有关。过氧化值常用于判断鱼油氧化变质及程度, 以氢过氧化物含量检测为主, 后者不稳定可进一步分解产生醛、酮、炔类等次级氧化物<sup>[18]</sup>。由表 1 可知, 鱼油 A 与 C 过氧化值无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 而均显著高于鱼油 B 过氧化值 (0.041 g/100 g 油脂,  $P < 0.05$ ), 表

明鱼油间一定程度的品质差异。作为评价食用油脂不饱和程度的重要指标<sup>[19]</sup>, 试验用三种鱼油碘值均呈较高水平(含量介于 286 g/100 g 油脂与 318 g/100 g 油脂之间), SPSS 结果表明无显著差异 ( $P>0.05$ )。综合分析, 三种鱼油的酸价和过氧化值均较低, 呈现出较高的鱼油品质。

## 2.2 鱼油脂肪酸组成

表 2 3种鱼油主要脂肪酸组成

Table 2 The main fatty acid composition of three types of fish oil

脂肪酸组成/%	鱼油 A	鱼油 B	鱼油 C
C16:0	1.35 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.25 ± 0.07 <sup>ab</sup>	1.14 ± 0.06 <sup>b</sup>
C18:0	2.84 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.81 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.49 ± 0.08 <sup>b</sup>
C18:1	6.44 ± 0.03 <sup>a</sup>	6.46 ± 0.23 <sup>a</sup>	5.69 ± 0.10 <sup>b</sup>
C18:2	—	—	0.45 ± 0.01
C18:4	1.86 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.05 <sup>b</sup>	1.81 ± 0.02 <sup>a</sup>
C20:1	1.50 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.65 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.45 ± 0.04 <sup>a</sup>
C20:4	3.17 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.76 ± 0.03 <sup>b</sup>	2.02 ± 0.04 <sup>c</sup>
C20:5(EPA)	63.70 ± 0.29 <sup>a</sup>	54.18 ± 0.45 <sup>b</sup>	42.85 ± 0.19 <sup>c</sup>
C22:5(DPA)	2.15 ± 0.09 <sup>c</sup>	2.72 ± 0.05 <sup>b</sup>	3.45 ± 0.06 <sup>a</sup>
C22:6(DHA)	12.42 ± 0.27 <sup>c</sup>	22.08 ± 0.75 <sup>b</sup>	31.88 ± 0.77 <sup>a</sup>
ΣSFA	4.19 ± 0.05 <sup>a</sup>	4.07 ± 0.18 <sup>a</sup>	3.63 ± 0.14 <sup>b</sup>
ΣUFA	91.25 ± 0.56 <sup>ab</sup>	91.55 ± 0.65 <sup>a</sup>	89.60 ± 0.85 <sup>b</sup>
ΣPUFA	83.31 ± 0.40 <sup>a</sup>	83.44 ± 0.82 <sup>a</sup>	82.46 ± 0.99 <sup>b</sup>
n-6/n-3	0.040	0.034	0.031
EPA/DHA	5.13	2.45	1.34

注: —表示该物质未检出; 同一行不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

由表 2 可知, 实验用三种鱼油的脂肪酸组成较为丰富。与饱和脂肪酸 (Saturated Fatty Acids, SFA) 含量相比, 不饱和脂肪酸 (Unsaturated Fatty Acids, UFA) 尤其是多不饱和脂肪酸 (Polyunsaturated Fatty Acids, PUFA) 含量较高, 分别为 83.31% (A)、83.44% (B) 和 82.46% (C), 总体差异不大 ( $P>0.05$ )。n-6/n-3 PUFA 摄入比例已证实与孕早中期妊娠期糖尿病 (Gestational Diabetes Mellitus, GDM)<sup>[20]</sup>、乳腺癌<sup>[21]</sup>、心血管疾病<sup>[22]</sup>等的发生有一定关联。有研究表明, 当该比值低于 4:1 时可以降低心血管疾病的死亡率<sup>[23]</sup>。实验用三种鱼油 n-6/n-3 比值均远低于 4:1, 表明各自较高的营养价值。各鱼油较高的 UFA 含量与其较高的碘值吻合, 其中 EPA 和 DHA 是实验用鱼油主要的 PUFA 组成, 二者总含量约占总脂肪酸组成的 70%。三组鱼油中 EPA 和 DHA 含量差异显著 ( $P<0.05$ ), EPA/DHA 分别为 5.13 (A)、2.45

(B)、1.34 (C), 比值差异较大, 符合本实验设计所需的鱼油要求。

## 2.3 鱼油甘油三酯组成测定

作为膳食油脂的主要组成, TAG 在 C18 色谱柱上基本按 ECN 的大小顺序被梯度洗脱, 且集中在 6~12 min 内出峰, 准分子离子  $[M+NH_4]^+$  被选为 MS/MS 的母离子。由表 3 可知, 鱼油 A 和 B 的 TAG 分子集中表现为 AA-EPA-EPA, 分别为 149.32 mg/g 和 100.16 mg/g, 其次为 AA-EPA-DHA, 分别为 33.03 mg/g 和 26.76 mg/g。鱼油 C 中 AA-EPA-DHA 和 AA-EPA-EPA 为 TAG 的主要构型, 含量分别为 66.04 mg/g 和 50.25 mg/g。另外, 对鱼油 A 而言, 除 DPA-DHA-DHA 的 TAG 含量 (1.36 mg/g) 显著低于另外两组鱼油外 ( $P<0.05$ ), AA-EPA-EPA、AA-EPA-HPA、S-S-E 和 S-S-Ne 含量均显著高于鱼油 B 和 C ( $P<0.05$ ), 表明样品间存在 TAG 特征差异性。

综合来看, UPLC-Q-TOF-ESI/MS/MS 技术能很好地从实验用三种鱼油中分离并鉴定出 120 种甘油三酯分子 (数据只显示含量超过 1 mg/g 的 TAG 组成), TAG 组成较为丰富。脂肪酸的饱和程度与链长差异, 加上其通过酯键与甘油分子 Sn-1/2/3 位的随机结合方式, 直接影响形成的 TAG 类型, 后者将持续影响胃肠消化阶段脂肪酶对甘油三酯分子的特异性水解作用, 引起鱼油样品间的体外消化行为差异。及此, 有必要进一步探讨不同脂肪酸和甘油三酯组成与鱼油体外消化特性的关联性。

## 2.4 消化过程中不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液 $\zeta$ -电位变化研究

$\zeta$ -电位的变化表明乳液界面性质的变化, 是影响 TAG 水解的重要因素之一<sup>[24]</sup>。由图 1 可知, 三种乳液  $\zeta$ -电位经 GIT 消化后的变化趋势是类似的。三种原始乳液  $\zeta$ -电位均呈较强的电负性 (A: -40.02 mV, B: -41.63 mV, C: -43.77 mV), 归因于吸附在界面上的酪蛋白酸钠 (pI~5) 使表面带负电<sup>[25]</sup>, 表明三种鱼油乳液均具有较高的稳定性<sup>[26]</sup>; 而乳液间  $\zeta$ -电位具有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 可能是 SC 在界面分布不同所致。经口腔与胃消化后, 三种乳液的  $\zeta$ -电位绝对值显著降低 ( $P<0.05$ ), 归因于 SGF 强酸性与高离子强度的作用<sup>[27]</sup>及脂滴界面 SC 被胃蛋白酶水解<sup>[25]</sup>。经胃消化后,  $\zeta$ -电势仍呈弱负电位, 表明胃阶段界面组成进一步发生明显改变, 同时不排除界面 SC 被粘蛋白置换的可能<sup>[28]</sup>。

表 3 3种鱼油主要甘油三酯组成

Table 3 The main triacylglycerol composition of three types of fish oil

甘油三酯组成	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> (m/z)	ECN	绝对含量/(mg/g)		
			鱼油 A	鱼油 B	鱼油 C
AA-EPA-EPA	964.739 4	32	149.32 ± 3.18 <sup>a</sup>	100.16 ± 4.43 <sup>b</sup>	50.25 ± 2.16 <sup>c</sup>
EPA-HPA-DHA	1 002.754 5	31	9.60 ± 0.28 <sup>b</sup>	9.90 ± 0.32 <sup>b</sup>	36.75 ± 3.18 <sup>a</sup>
AA-EPA-HPA	978.753 5	33	7.16 ± 0.98 <sup>a</sup>	4.90 ± 0.22 <sup>b</sup>	3.99 ± 0.13 <sup>c</sup>
AA-EPA-DHA	990.756 5	32	33.03 ± 3.16 <sup>b</sup>	26.76 ± 2.34 <sup>c</sup>	66.04 ± 4.29 <sup>a</sup>
O-Pn-EPA	916.738 7	36	1.63 ± 0.31 <sup>a</sup>	1.17 ± 0.32 <sup>a</sup>	1.24 ± 0.23 <sup>a</sup>
DPA-DHA-DHA	1 042.787 8	32	1.36 ± 0.18 <sup>b</sup>	18.71 ± 1.18 <sup>a</sup>	16.75 ± 2.18 <sup>a</sup>
P-EPA-EPA	916.741 3	36	1.88 ± 0.28 <sup>a</sup>	1.43 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.53 ± 0.25 <sup>a</sup>
O-O-EPA	922.786 7	42	1.96 ± 0.32 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.29 <sup>a</sup>
O-O-DHA	948.799 6	42	1.62 ± 0.25 <sup>a</sup>	1.32 ± 0.28 <sup>a</sup>	1.43 ± 0.17 <sup>a</sup>
P-S-EPA	898.784 2	44	1.87 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.25 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.38 <sup>a</sup>
S-O-EPA	924.800 8	44	4.83 ± 0.33 <sup>a</sup>	4.37 ± 0.27 <sup>a</sup>	4.25 ± 0.27 <sup>a</sup>
O-Eo-EPA	950.815 7	44	3.32 ± 0.39 <sup>a</sup>	2.90 ± 0.37 <sup>a</sup>	2.95 ± 0.33 <sup>a</sup>
S-O-DHA	950.816 3	44	2.68 ± 0.41 <sup>a</sup>	2.34 ± 0.22 <sup>a</sup>	2.34 ± 0.31 <sup>a</sup>
O-E-DHA	1 004.862 7	46	1.67 ± 0.40 <sup>b</sup>	1.41 ± 0.27 <sup>b</sup>	4.23 ± 0.37 <sup>a</sup>
O-Eo-Ed	956.856 9	50	1.91 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.72 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.75 ± 0.25 <sup>a</sup>
P-B-O/S-Ar-O	934.874 6	54	2.60 ± 0.30 <sup>a</sup>	2.30 ± 0.37 <sup>a</sup>	1.92 ± 0.48 <sup>a</sup>
O-Eo-Tr	1 000.919 0	55	4.35 ± 0.39 <sup>a</sup>	2.81 ± 0.37 <sup>a</sup>	8.20 ± 1.78 <sup>a</sup>
S-S-E	962.908 8	56	18.46 ± 2.21 <sup>a</sup>	12.08 ± 2.08 <sup>b</sup>	7.68 ± 0.22 <sup>c</sup>
S-S-Ne	990.946 2	58	32.70 ± 3.22 <sup>a</sup>	21.01 ± 2.18 <sup>b</sup>	9.38 ± 1.09 <sup>c</sup>

注：同一行不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )；P 棕榈酸；Po 棕榈油酸；S 硬脂酸；O 油酸；L 亚油酸；Ln 亚麻酸；Pn 十八碳四烯酸；Ar 花生酸；Eo 二十碳一烯酸；Ed 二十碳二烯酸；Et 二十碳三烯酸；AA 花生四烯酸；EPA 二十碳五烯酸；HPA 二十一碳五烯酸；B 山萘酸；E 芥酸；DPA 二十二碳五烯酸；DHA 二十二碳六烯酸；Tr 二十三碳一烯酸；Ne 神经酸。

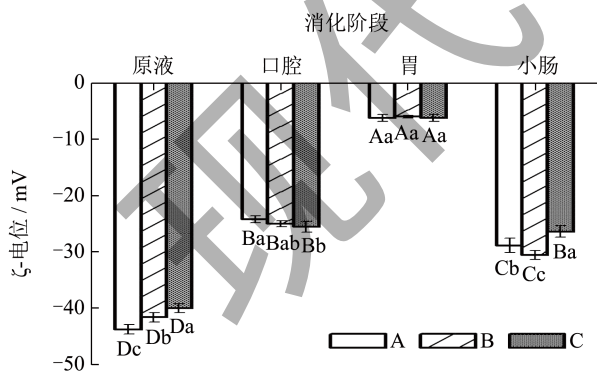


图 1 消化过程中不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液 ζ- 电位变化情况

Fig.1 ζ-potential of fish oil emulsions with different ratio of EPA/DHA during GIT digestions

注：不同大写字母表示同一乳液不同消化阶段 ζ- 电位之间具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )；不同小写字母表示同一消化阶段不同乳液 ζ- 电位之间具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。(A：EPA/DHA=5.13，B：EPA/DHA=2.45，C：EPA/DHA=1.34)。

与胃阶段相比，经小肠消化后的三种乳液 ζ- 电位均显著降低 ( $P < 0.05$ )，呈现出仅次于初始阶段的较强电负性 (A：-28.87 mV，B：-30.57 mV，C：-26.42 mV)，归因于 SIF 的加入引起体系 pH 的改变 (从 3 到 7) 和 SIF 中不同种类的活性阴离子物质 (例如，磷脂和胆盐) 的作用<sup>[9]</sup>。胆盐会将界面 SC 置换与 (或) 发生竞争性界面吸附，即“造山位移”作用 (Orogenic Displacement)，其浓度会对胰脂酶活性发挥及后续油脂消化产生重要影响<sup>[24,29,30]</sup>。此外，基于静态体外模拟消化模型，呈电负性的脂质水解产物如 FFA、MAG 等更易积累于乳滴界面，从而改变其界面组成<sup>[15]</sup>。这一趋势与以乳清蛋白分离物作为乳化剂的研究结果类似<sup>[26]</sup>。经小肠消化后，不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液 ζ- 电位呈显著性差异 ( $P < 0.05$ )，这可能是由于 EPA/DHA 组成差异影响了鱼油乳液的水解效果。



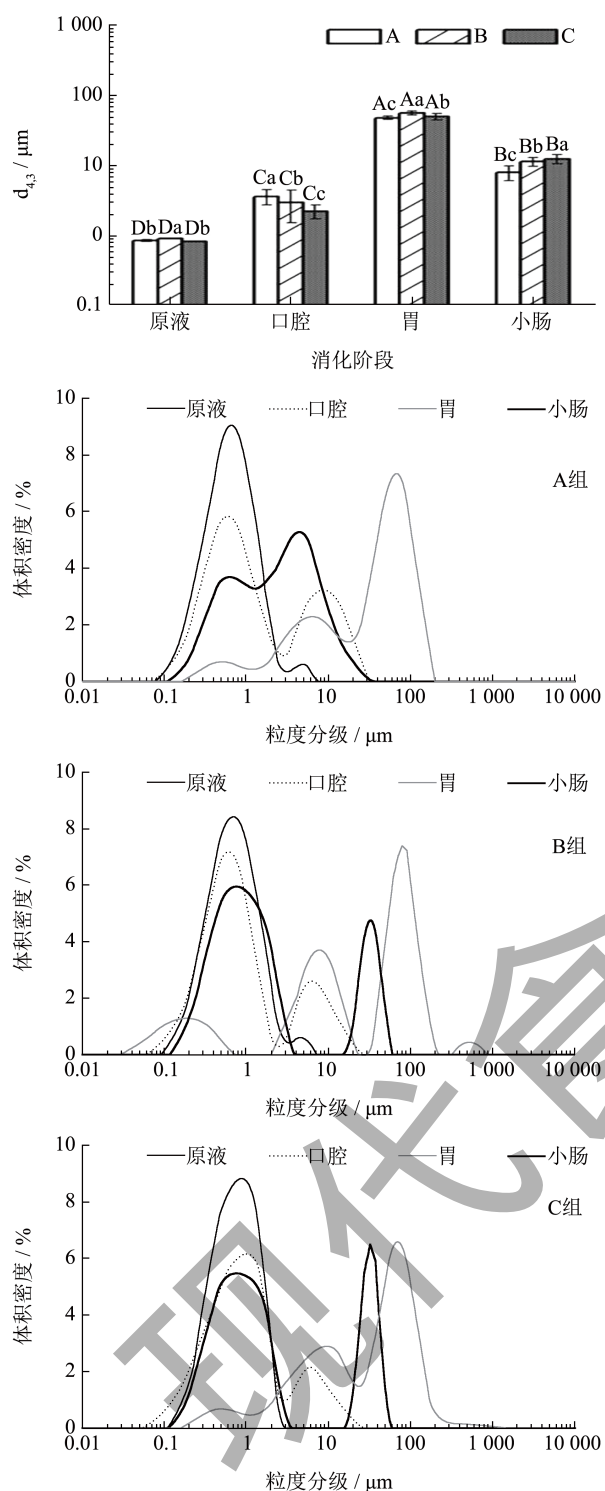


图2 消化过程中不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液粒径及体积分布变化

Fig.2 Particle size ( $d_{4,3}$ ) and particle size distribution of fish oil emulsion droplets with different EPA/DHA ratios during digestion

注: 不同大写字母表示同一体系不同消化阶段具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 不同小写字母表示同一消化阶段不同体系具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。 (A: EPA/DHA = 5.13, B: EPA/DHA = 2.45, C: EPA/DHA = 1.34)。

## 2.5 消化过程中不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液粒径及体积分布变化

图2表明经 GIT 消化后不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液脂滴  $d_{4,3}$  值的变化情况, 三种鱼油乳液粒径变化趋势是类似的。三种鱼油乳液初始平均粒径介于  $0.84 \mu\text{m}$  至  $0.92 \mu\text{m}$ , 粒径峰中心位于  $1 \mu\text{m}$  左右, 粒径分布比较均一, 表明 SC 介导的乳液稳定性良好<sup>[31]</sup>, 这与乳液间初始  $\zeta$ - 电位测定结果一致。口腔消化结束后, 所有乳液  $d_{4,3}$  值较初始粒径均显著增加 ( $P < 0.05$ ),  $1 \sim 10 \mu\text{m}$  区间粒径分布增大, 归因于 SSF 中存在的多种矿物离子与粘蛋白的综合作用, 引起乳滴间发生桥连絮凝和损耗絮凝<sup>[32]</sup>。

经胃消化后三组鱼油乳液粒径显著增大 ( $P < 0.05$ ), 且三组鱼油乳液间的粒径具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 可能是 EPA/DHA 组成与 TAG 构型不同所致。具体而言, A 组  $48.50 \mu\text{m}$ , B 组  $56.73 \mu\text{m}$ , C 组  $50.41 \mu\text{m}$ , 粒径分布呈多峰状态, 且主要集中于  $10 \sim 100 \mu\text{m}$  区间。此时 SGF 较低的 pH 环境、SC 物理稳定性降低<sup>[33]</sup>、高离子强度与胃蛋白酶的水解作用都是促进脂滴暴露进一步导致乳液失稳、粒径增大的重要因素<sup>[34]</sup>。

类似地<sup>[9,26,28]</sup>, 小肠消化结束后, 三种鱼油乳液  $d_{4,3}$  值均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且乳液间  $d_{4,3}$  值具有显著差异 ( $P < 0.05$ )。A 组平均粒径最小 ( $8.08 \mu\text{m}$ ), C 组平均粒径最大 ( $12.52 \mu\text{m}$ ); 三种乳液粒径大致呈双峰分布, A 组集中在  $0.01 \sim 10 \mu\text{m}$  区间, B 与 C 组集中在  $0.01 \sim 1 \mu\text{m}$  和  $10 \sim 100 \mu\text{m}$  区间, 这表明胆盐协同下胰液素与脂肪酶可高效水解 TAG, 但水解作用可能因胆盐对不同 TAG 分子的亲和力而异<sup>[35]</sup>。

## 2.6 消化过程中不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液的微观观察

消化过程中不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液的微观结构变化如图3, CLSM 结果显示乳液间相似的变化趋势, 各阶段消化特征明显, 初始乳滴均呈小颗粒均匀分布于观察视野中。口腔消化后, 所有乳液均出现部分不规则聚集体, 粒径显著增大 ( $P < 0.05$ ), 与上述平均粒径和粒径分布测定结果一致。胃消化约 30 min 后, 三种乳液高度絮凝, 呈现出以蛋白质为乳化剂稳定的乳液典型的胃后消化特征<sup>[28,36]</sup>(CLSM 相关结果未展示); 胃阶段由于胃蛋白酶对界面 SC 的水解作用, 经过 2 h 消化后,

体系破乳，高度失稳，此时乳滴中心的中性脂质暴露，视野中颗粒尺寸进一步显著增大 ( $P < 0.05$ )。脂滴界面性质随着胃消化过程的进行而发生显著变化，胃中后期可能将存在于脂滴界面的蛋白膜完全水解<sup>[26]</sup>。小肠阶段结束后，视野中大颗粒脂滴基本消失，表明胆盐协同下胰液素与脂肪酶对上述三种鱼油乳液的高效水解能力，同时不排除吸附在脂滴界面的带负电的胆盐的静电排斥作用的影响<sup>[37]</sup>。

## 2.7 小肠阶段FFA的释放研究

经小肠消化后不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液 FFA 释放结果如图 4 所示。三种乳液在小肠阶段前 10 min 已表现出较高的 FFA 释放速率，表明胰液素与脂肪酶可以快速吸附到油水界面，在胆盐协同下高效发挥 TAG 水解作用<sup>[38]</sup>。随后的消化过程中各组 FFA 释放量进一步增加，但增速放缓。区别于

动态体外消化模型 (TNO Dynamic Gastrointestinal Tract Model, TIM System)，INFOGEST 无法实现对与胶束结合的脂亲性水解产物的分离与转移<sup>[39]</sup>，诸如 LC PUFA 等消化产物会逐渐在乳滴界面累积，继而限制胰液素与胰脂肪酶对 TAG 的持续水解<sup>[40]</sup>，导致水解速率降低。已知 LC PUFA 在中性条件下电离程度较低，返滴定至 pH 值为 9.0 可确保释放的 LC PUFA 完全电离，从而提高小肠阶段 FFA 测定结果的准确性<sup>[41]</sup>。具体而言，FFA 相对释放量方面，A 组鱼油乳液 (103.21%) > B 组鱼油乳液 (73.54%) > C 组鱼油乳液 (62.51%)，A 组消化较为完全；消化速率方面，B 组与 C 组鱼油乳液消化较快，进行约 60 min 后二者 FFA 释放趋于稳定。综合来看，鱼油乳液消化程度随 EPA/DHA 比值减小而降低，推测鱼油脂肪酸与甘油三酯组成差异是影响胆盐、胰液素与胰脂肪酶持续发挥水解作用的重要因素。同时，不排除部分 MAG 在长时间反应中进一步水解为甘油分子和一分子脂肪酸，从而引起 NaOH 持续释放的可能<sup>[42]</sup>。

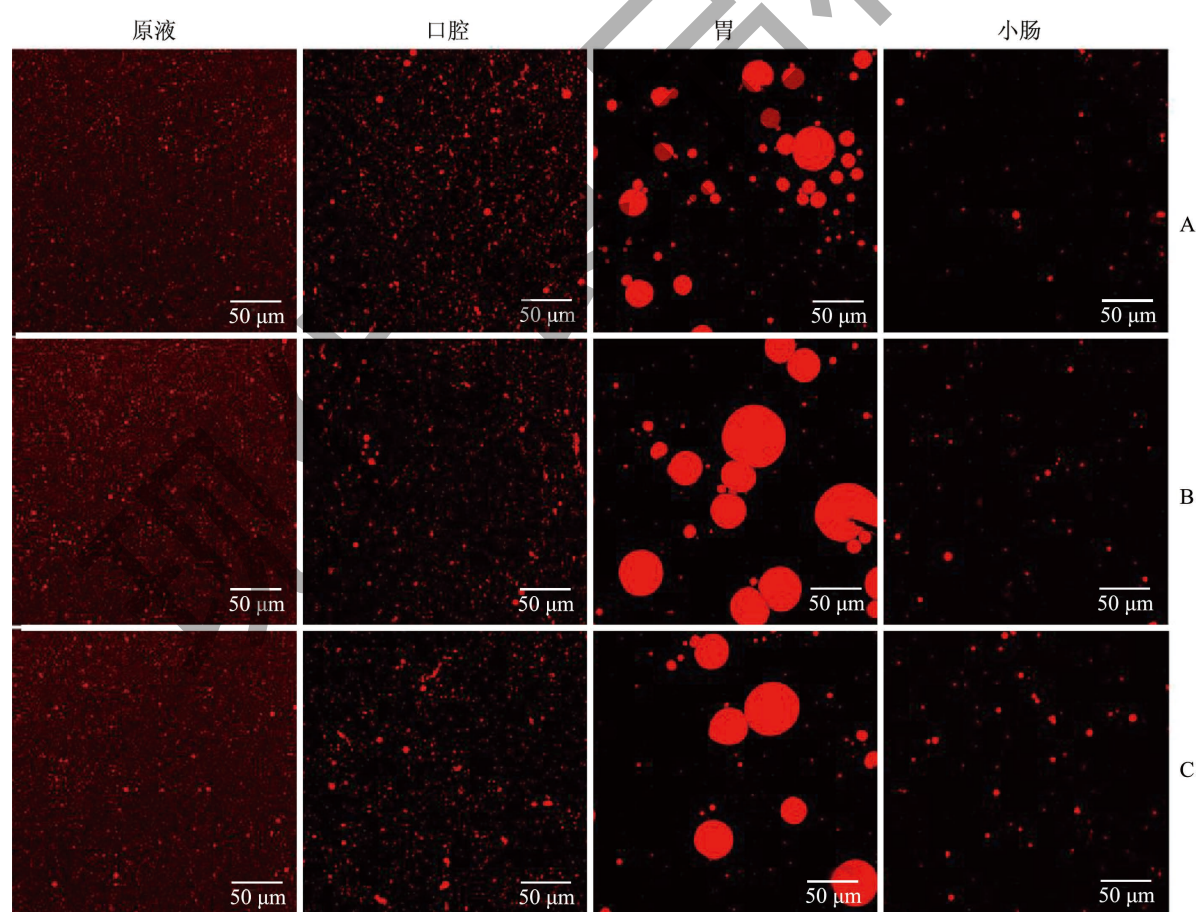


图 3 消化过程中不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液微观结构变化

Fig.3 The microstructure changes of different EPA/DHA concentrations during GIT

注：比例尺为 50  $\mu\text{m}$ 。A：EPA/DHA=5.13，B：EPA/DHA=2.45，C：EPA/DHA=1.34。



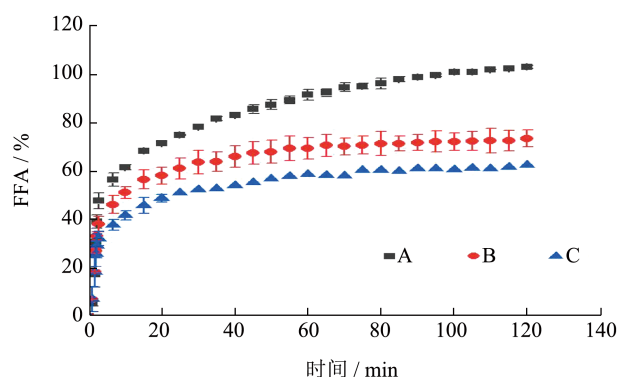


图4 小肠阶段不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液 FFA 释放量

Fig.4 Fatty acids release profiles of fish oil emulsions with different EPA/DHA contents during small intestinal digestion

注：A：EPA/DHA=5.13，B：EPA/DHA=2.45，C：EPA/DHA=1.34。

### 3 结论

本研究通过测定  $\zeta$ - 电位、粒径及分布、微观结构及脂肪酸的释放情况，探究不同 EPA/DHA 含量鱼油乳液的体外消化行为。三组鱼油乳液（EPA/DHA=5.13、2.45、1.34）整体 GIT 变化趋势类似，各乳液在不同消化阶段均表现出特征差异，同一消化阶段不同 EPA/DHA 鱼油乳液亦有所区别。三种原始乳液均具有较高的物理稳定性，口腔消化导致乳液发生部分絮凝，粒径增加，整体稳定性降低。胃消化阶段，胃液的强酸环境及胃蛋白酶的水解作用使三种乳液进一步失稳，粒径显著增大 ( $P < 0.05$ )。小肠消化过程中，在胆盐的协同下，胰液素与脂肪酶水解 TAG 逐渐释放 FFA，此时 EPA/DHA=5.13 组鱼油乳液 FFA 释放量最高 (103.21%)，EPA/DHA=1.34 组鱼油乳液最低 (62.51%)。不同 EPA/DHA 含量鱼油呈现不同的消化行为，推测 EPA 与 DHA 组成及其与不同脂肪酸分子的结合方式是影响鱼油乳液消化的重要原因。本研究可为具有不同消化特性的鱼油乳液递送系统的开发提供一定参考。

### 参考文献

[1] 柳和春.  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸对 2 型糖尿病人群和模型动物高密度脂蛋白亚组分和动脉粥样硬化影响及机制研究[D]. 南京: 东南大学, 2021.

[2] 付朝旭, 许妍姬. 鱼油联合锌硒对衰老模型小鼠学习记忆障碍及淀粉样前体蛋白酶解通路的保护作用[J]. 营养学报, 2020, 42(1): 56-60.

[3] GHORBANZADE T, JAFARI S M, AKHAVAN S, et al. Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt [J]. Food Chemistry,

2017, 216: 146-152.

[4] WS/T 578.1-2017, 中国居民膳食营养素参考摄入量第 1 部分: 宏量营养素[S].

[5] GUÉRAUD F, TACHÉ S, STEGHENS J-P, et al. Dietary polyunsaturated fatty acids and he me iron induce oxidative stress biomarkers and a cancer promoting environment in the colon of rats [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2015, 83: 192-200.

[6] DASILVA G, PAZOS M, GARCÍA-EGIDO E, et al. Healthy effect of different proportions of marine  $\omega$ -3 PUFAs EPA and DHA supplementation in *Wistar* rats: Lipidomic biomarkers of oxidative stress and inflammation [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2015, 26(11): 1385-1392.

[7] DASILVA G, BOLLER M, MEDINA I, et al. Relative levels of dietary EPA and DHA impact gastric oxidation and essential fatty acid uptake [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2018, 55: 68-75.

[8] CHEN Y F, SUN Y, DING Y T, et al. Recent progress in fish oil-based emulsions by various food-grade stabilizers: Fabrication strategy, interfacial stability mechanism and potential application [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2024, 64(6): 1677-1700.

[9] 焦文娟. 脂肪晶体结构对脂肪结晶乳液消化性能的影响及机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.

[10] GB 5009.229-2016, 食品安全国家标准食品中酸价的测定[S].

[11] GB 5009.227-2016, 食品安全国家标准食品中过氧化值的测定[S].

[12] GB/T 5532-2008, 动植物油脂碘值的测定[S].

[13] 张霞. 贮藏过程中棕榈油基塑性脂肪结晶网络结构与宏观物理性能变化研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.

[14] BRODKORB A, EGGER L, ALMINGER M, et al. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion [J]. Nature Protocols, 2019, 14(4): 991-1014.

[15] TAN Y B, LI R Y, ZHOU H L, et al. Impact of calcium levels on lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility in nanoemulsion delivery systems studied using standardized INFOGEST digestion protocol [J]. Food and Function, 2020, 11(1): 174-186.

[16] CHATZIDAKI M D, MATEOS-DIAZ E, LEAL-CALDERON F, et al. Water-in-oil microemulsions versus emulsions as carriers of hydroxytyrosol: an *in vitro* gastrointestinal lipolysis study using the pH-stat technique [J]. Food and Function, 2016, 7(5): 2258-2269.

[17] 张权, 吴思纷, 宁舒娴, 等. 3 种淡水鱼内脏粗鱼油品质及挥发性风味成分分析比较[J]. 食品工业科技, 2023, 44(2): 342-351.

[18] IDOS I, SCHLVIS-SMIT R, VELDMAN M, et al.

- Chemical and sensory evaluation of crude oil extracted from herring byproducts from different processing operations [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(7): 1897-1903.
- [19] 潘丹杰,叶沁,杨志成,等.ATR-FTIR结合BiPLS分析食用油碘值的研究[J].*中国油脂*,2016,41(5):89-92.
- [20] 杨雅.孕妇膳食n-6/n-3多不饱和脂肪酸比例与妊娠期糖尿病的关联研究[D].合肥:安徽医科大学,2021.
- [21] MARIAMENATU A H, ABDU E M. Overconsumption of omega-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) versus deficiency of omega-3 PUFAs in modern-day diets: The disturbing factor for their “balanced antagonistic metabolic functions” in the human body [J]. *Journal of Lipids*, 2021, 2021: 1-15.
- [22] 段叶辉,李凤娜,李丽立,等.n-6/n-3多不饱和脂肪酸比例对机体生理功能的调节[J].*天然产物研究与开发*,2014, 26(4):626-631,479.
- [23] CALDER P C, ALBERS R, ANTOINE J M, et al. Inflammatory disease processes and interactions with nutrition [J]. *British Journal of Nutrition*, 2009, 101(S1): 1-45.
- [24] MICHALSKI M C, GENOT C, GAYET C, et al. Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism [J]. *Progress in Lipid Research*, 2013, 52(4): 354-373.
- [25] ZHANG R J, ZHANG Z P, ZHANG H, et al. Influence of emulsifier type on gastrointestinal fate of oil-in-water emulsions containing anionic dietary fiber (pectin) [J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 45: 175-185.
- [26] 叶展.典型膳食油脂胃肠道消化吸收特性及其对肠道健康的影响研究[D].无锡:江南大学,2020.
- [27] 刘润华,梁秀萍,闫晓佳,等.乳铁蛋白-EGCG共价复合物对鱼油乳液稳定性和消化特性的影响[J].*食品科学*, 2019,40(24):94-100.
- [28] SINGH H, SARKAR A. Behaviour of protein-stabilised emulsions under various physiological conditions [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2011, 165(1): 47-57.
- [29] 颜雨萌.胆盐理化性质及其对脂质消化的影响机制研究进展[J].*中国油脂*,2021,46(8):30-38.
- [30] YE Z, CAO C, LIU Y F, et al. Triglyceride structure modulates gastrointestinal digestion fates of lipids: a comparative study between typical edible oils and triglycerides using fully designed *in vitro* digestion model [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(24): 6227-6238.
- [31] 梁琪.酪蛋白酸钠功能性的研究[J].*食品科学*,2002, 23(3):30-33.
- [32] SARKAR A, YE A Q, SINGH H. Oral processing of emulsion systems from a colloidal perspective [J]. *Food and Function*, 2017, 8(2): 511-521.
- [33] 鲍莹,宋雨婷,刘清玲,等.蛋白质颗粒稳定的Pickering乳液及其在食品中的应用[J].*粮食与油脂*,2022,35(7): 5-9.
- [34] SARKAR A, GOH K K T, SINGH H. Colloidal stability and interactions of milk-protein-stabilized emulsions in an artificial saliva [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(5): 1270-1278.
- [35] MACIERZANKA A, TORCELLO-GOMEZ A, JUNGNICHEL C, et al. Bile salts in digestion and transport of lipids [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2019, 274: 1-17.
- [36] TAN Y B, ZHANG Z Y, MUNDO J M, et al. Factors impacting lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility assessed by standardized gastrointestinal model (INFOGEST): Emulsifier type [J]. *Food Research International*, 2020, 137: 1-10.
- [37] GALLIER S, SINGH H. Behavior of almond oil bodies during *in vitro* gastric and intestinal digestion [J]. *Food and Function*, 2012, 3(5): 547-555.
- [38] YAN L, MIN H, MCCLEMENTS D J. Factors affecting lipase digestibility of emulsified lipids using an *in vitro* digestion model: Proposal for a standardised pH-stat method [J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(2): 498-505.
- [39] LARSSON K. Oxidation of fish lipids during gastrointestinal *in vitro* digestion [D]. Gothenburg: Chalmers University of Technology, 2016.
- [40] ZHANG R J, ZHANG Z P, ZHANG H, et al. Influence of lipid type on gastrointestinal fate of oil-in-water emulsions: *In vitro* digestion study [J]. *Food Research International*, 2015, 75: 71-78.
- [41] TAN Y B, ZHANG Z Y, LIU J N, et al. Factors impacting lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility assessed by standardized gastrointestinal model (INFOGEST): oil [J]. *Food and Function*, 2020, 11(11): 9936-9946.
- [42] HEIDER M, HAUSE G, MADER K. Does the commonly used pH-stat method with back titration really quantify the enzymatic digestibility of lipid drug delivery systems? A case study on solid lipid nanoparticles (SLN) [J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2016, 109: 194-205.