# 不同蛋白来源全营养特医食品乳剂的制备 及其体外胃肠消化特性比较

郑键欣<sup>1</sup>,杨韵仪<sup>1</sup>,陈文荣<sup>2</sup>,万芝力<sup>1\*</sup>,方素琼<sup>2\*</sup>,杨晓泉<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院,食物蛋白与胶体研究中心,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. 仙乐健康科技股份有限公司,广东汕头 515041)

摘要:为了扩展不同类型蛋白质配料在液态全营养特医食品乳剂中的应用,探究动植物蛋白在特医乳液制备及消化 特性方面的差异,该研究分别选取了酪蛋白(CS)、乳清蛋白(WPI)、大豆蛋白(SPI)、豌豆蛋白(PPI)和绿豆蛋白(MPI) 作为界面稳定剂制备乳液,系统探究灭菌工艺和营养成分添加对乳液性质的影响,并筛选其中热稳定的模板乳液(未添加 维生素和矿物质)和特医乳液(添加维生素和矿物质)进行体外胃肠消化特性研究。CS、WPI、SPI和PPI制备的特医乳 液状态良好,MPI特医乳液出现部分絮凝。灭菌后,WPI、MPI特医乳液分别发生凝胶和絮凝现象;CS、SPI和PPI特医 乳液外观均匀,且制备的乳液具有较良好的稳定性,能在30d内保持粒径和电位稳定,进一步选取CS、SPI和PPI制备 的模板乳液和特医乳液进行体外消化性质分析,消化产物测试显示CS与SPI、PPI特医乳液的胃肠消化情况无明显差异, SPI和PPI的游离氨基释放量分别为21.095 mmol/L和19.524 mmol/L。该研究有助于理解不同类型蛋白配料在液态全营养特 医乳剂中的应用表现,为液态高蛋白特医食品开发提供一定的技术支持。

关键词: 植物蛋白; 豆球蛋白; 特医食品; 全营养乳液; 胃肠消化性 文章编号: 1673-9078(2024)08-1-13 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.8.0201

## Preparation of Total Nutrient Emulsion Food for Special Medical Use: Protein Source Comparison and *in Vitro* Gastrointestinal Digestion

#### ZHENG Jianxin<sup>1</sup>, YANG Yunyi<sup>1</sup>, CHEN Wenrong<sup>2</sup>, WAN Zhili<sup>1\*</sup>, FANG Suqiong<sup>2\*</sup>, YANG Xiaoquan<sup>1</sup>

(1.School of Food Science and Engineering, Research Center of Food Proteins and Colloids, Guangdong Key Laboratory for Green Processing of Natural Products and Products Safety, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China) (2.Sirio Pharma Co. Ltd., Shantou 515041, China)

**Abstract:** Casein (CS), whey protein isolate (WPI), soybean protein isolate (SPI), pea protein isolate (PPI) and mung bean protein isolate (MPI) were used to prepare liquid total nutrient emulsion foods for special medical purpose (FSMP), and

引文格式:

郑键欣,杨韵仪,陈文荣,等.不同蛋白来源全营养特医食品乳剂的制备及其体外胃肠消化特性比较[J].现代食品科技,2024,40(8):1-13.

ZHENG Jianxin, YANG Yunyi, CHEN Wenrong, et al. Preparation of total nutrient emulsion food for special medical use: Protein source comparison and *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(8): 1-13.

#### 收稿日期: 2024-02-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32172347);汕头市精细化工企业引进科技领军人才团队及进口替代技术攻关专项资金项目(STKJ202211008)

作者简介:郑键欣(1999-),女,硕士研究生,研究方向:蛋白质化学与营养,E-mail: 953680950@qq.com

通讯作者:万芝力(1987-),男,博士,研究员,研究方向:植物蛋白加工与营养品应用、食品胶体与界面化学,E-mail:zhiliwan@scut.edu.cn; 共同通讯作者:方素琼(1973-),女,高级工程师,研究方向:功能性食品,E-mail:ivy.fang@siriopharma.com their preparation, digestion characteristics, influences of the sterilization process, and added nutrients were systematically explored. Furthermore, the *in vitro* gastrointestinal digestion characteristics of the thermally stable model emulsion (without vitamins and minerals) and FSMP emulsion (with the addition of vitamins and minerals) were evaluated. The main results are as follows: The total nutrient FSMP emulsions prepared by CS, WPI, SPI and PPI remained stable, while the MPI emulsion exhibited slight flocculation. Following sterilization, gelation and flocculation occurred in the WPI and MPI FSMP emulsions, respectively. In contrast, CS, SPI and PPI FSMP emulsions maintained a uniform appearance and exhibited good stability, with unchanged particle sizes and zeta potentials after 30 days of storage. Further, the model and FSMP emulsions prepared with CS, SPI and PPI were selected for *in vitro* gastrointestinal digestion. The analysis of the digestive products of the emulsions exhibited no significant differences in gastrointestinal digestion behaviors, and the released free amino groups of SPI- and PPI-based FSMP emulsions were 21.095 and 19.524 mmol/L, respectively. This study helps to elucidate the performance of different types of protein formulas in liquid total nutrient emulsions, and provides technical support for the development of liquid high-protein FSMPs.

Key words: legumin; food for special medical purpose (FSMP); total nutrient emulsion; gastrointestinal digestibility

特医食品全称特殊医学用途配方食品(Food for Special Medical Purposes, FSMP),是专门为满足 进食受限、消化吸收障碍、代谢紊乱或者特定疾病 状态人群对营养素或者膳食的特殊需要,专门加工 配制而成的配方食品<sup>[1]</sup>,需在临床医生和营养师的 指导下合理使用<sup>[2,3]</sup>。特医食品具有提高患者生活质 量、缩短住院时间、降低医疗成本等作用<sup>[4]</sup>。目前, 随着国内老龄化人群和慢性病患者人数的增多,中 国市场对特医产品的需求正逐步增长<sup>[5]</sup>。

作为特医食品的一大类别<sup>60</sup>,全营养配方食品 可作为单一营养来源满足具有进食和消化障碍患者 的营养需求<sup>[4]</sup>,正逐渐成为我国特医食品的主流开发 方向。乳剂型特医食品是由水与宏量、微量营养素通 过混合、均质和灭菌等工艺制备的水包油(O/W)型 乳化体系<sup>[7]</sup>,具有无需冲调、既能直接食用也能管 饲使用的优势<sup>[8]</sup>,但其稳定性易受原料配方、加 工条件和环境因素等影响<sup>[9,10]</sup>。特别是灭菌工艺 的高温和矿物质加入导致的高离子强度极易影响 乳液中起界面稳定作用的蛋白质,导致出现絮凝、 乳析、聚结等失稳现象<sup>[8,11]</sup>。目前市场上全营养 特医乳剂的蛋白来源多为酪蛋白及其盐(Casein, CS) 或以酪蛋白为主要成分的牛奶蛋白, 这主要 源于其特殊的胶束结构<sup>[12]</sup>,其中的磷酸化基团簇 与钙、钠等离子结合形成的纳米闭簇可进一步稳 定蛋白结构<sup>[13]</sup>。

有研究发现酪蛋白及其衍生物可能与胃肠功能 障碍、炎症等疾病有关,它们在动物模型中表现出 降低肠道收缩的频率和幅度、抑制淋巴细胞增殖等 不良影响<sup>[14]</sup>。且由于摄入后消化吸收动力学较慢、 血浆氨基酸利用率较低<sup>[15]</sup>,酪蛋白属于"慢消化 蛋白",与之相对的"快消化蛋白"乳清蛋白和大 豆蛋白则可以更快地提高氨基酸水平、增加肌肉含 量<sup>[16]</sup>,更有益于改善患者的蛋白质营养不良<sup>[17]</sup>。以 大豆蛋白为代表的植物蛋白来源广泛、营养丰富且 环境友好,具有作为特医食品原料的巨大潜力:大 豆、豌豆、绿豆蛋白体外消化率<sup>[18,19]</sup>和可消化必需 氨基酸评分(DIAAS)<sup>[20]</sup>较高,它们还具有降血脂、 调节肠道微生物等功效<sup>[21,22]</sup>。但目前仍少见植物蛋 白为主要蛋白来源的全营养特医食品乳剂,也缺乏 对不同植物蛋白在特医乳剂中的应用表现及其与动 物蛋白之间差异的研究。

因此,本研究选取 5 种常见的动植物蛋白为原 料制备全营养特医乳剂,包括以 CS 和乳清分离蛋 白(Whey Protein Isolate, WPI)为代表的动物蛋白, 及以大豆分离蛋白(Soy Protein Isolate, SPI)、豌豆 分离蛋白(Pea Protein Isolate, PPI)、绿豆分离蛋白 (Mung Protein Isolate, MPI)为代表的植物蛋白,探 究灭菌热处理工艺以及维生素、矿物质等营养素的 添加对乳液的影响,并选用灭菌稳定的特医乳液, 采用 INFOGEST 体外消化模型研究其消化行为,以 探究不同蛋白配料对全营养特医乳液理化性质和消 化特性的影响。

#### 1 材料与方法

## 1.1 材料与试剂

酪蛋白酸钠购于 Sigma 公司; 乳清蛋白购于 Fonterra 公司; 大豆蛋白由山东御馨生物公司提供; 豌豆蛋白和绿豆蛋白由烟台鼎丰生物公司提供。菜 籽油购于山东鲁花公司; 葵花籽油购于益海嘉里金

#### 现代食品科技

龙鱼公司。胃蛋白酶、唾液淀粉酶以及胰液素购于 Sigma 公司;胆盐购于 Macklin 公司。Folin-酚试剂 盒购于北京鼎国昌盛公司。游离脂肪酸(FFA)含 量检测试剂盒购于 Solarbio 公司。其他试剂均为分 析纯,所有实验用水均为去离子水。

1.2 仪器与设备

T10 BS25 高速剪切机,德国 IKA 公司;M-110-EH-30 高压微射流纳米均质机,美国 Microfluidics 公司;DF-101S 集热式恒温加热磁动搅拌器,巩义 予华有限公司;LDZX-50KBS 立式高压蒸汽灭菌 锅,上海申安医疗器械厂;Mastersize 3000 微米粒 度仪,英国 Malvern 公司;Nano-ZS Zeta 电位分 析仪,英国 Malvern 公司;MARS 60 流变仪,德 国 HAAKE 公司;LUMiSizer 稳定性分析仪,德 国 LUM 公司;UV2300 紫外可见分光光度计,上 海天美科学仪器有限公司;TANKPE060 纯水机, 法国 Millipore 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 全营养特医乳剂的制备

根据 GB 29922-2013《食品安全国家标准特殊 医学用途配方食品通则》中的营养素含量要求<sup>(1)</sup>, 制备以 CS、WPI、SPI、PPI、MPI 为蛋白原料的全 营养特医食品乳剂。

特医乳液(FSMP Emulsion, FE)的制备:称量蛋白 4%(m/m)(以蛋白含量计)、麦芽糊精 10%(m/m)、 宏量矿物质 1%(m/m)、微量矿物质 0.1%(m/m)、 维生素 0.1%(m/m)溶于蒸馏水中,搅拌 2 h 后调 节 pH 值至 7.0。将 5%(m/m)菜籽油和葵花籽油 1:1(m/m)加入蛋白溶液,并在 5 000 r/min 下均质 2 min,再经 100 MPa 微射流下处理 3 次得到乳液。 模板乳液(Model Emulsion, ME)的制备以等质量 蒸馏水替代维生素和矿物质。未灭菌组(R)乳液添 加 0.04 wt% 叠氮钠,在室温下贮藏,灭菌组(S)添

#### 1.3.2 乳液的粒径和电位

采用 Malvern Mastersize 3000 微米粒度仪测定 乳液的液滴尺寸,采用体积平均直径  $d_{4,3}$  计算粒 径大小。将制备好的乳液稀释至 0.1% (m/m),采 用 Zetasizer NanoZS 粒度  $\zeta$ -电位仪测定稀释乳液的 Zeta 电位值。分散颗粒折射率设定为 1.473,分散 介质为超纯水,折射率 1.330。 1.3.3 乳液的流变性质

#### 1.3.3.1 粘度测试

使用 HAAKE MARS 60 流变仪测定乳液样品的 表观粘度。选用 60 mm 不锈钢平板探头,调整间隙 为 0.5 mm,剪切速率范围 0.1~1 000 s<sup>-1</sup>,测试温度 25 ℃,平衡时间 60 s。上样量 1.2 mL。

1.3.3.2 摩擦学性能

利用 HAAKE MARS 60 流变仪与球三板摩擦 附件(T-PTD 200)测定乳液样品的摩擦力学特性。 设置应力值1N,夹带速率范围0.1~100 mm/s,温 度37℃,上样量400 µL,样品滴入三板球载具中 开始测试。

#### 1.3.4 乳液的稳定性分析

1.3.4.1 贮藏稳定性

在乳液制备完成的第1、7、14、21 和 30 天, 从室温下密封保存的已灭菌乳液瓶中取样,按照 1.3.2 和 1.3.3 的方法测试样品的粒度分布以及 Zeta 电位变化,并拍照记录乳液第1 天和第30 天的外观。 1.3.4.2 长期分散稳定性

利用 LUMiSizer 稳定性分析仪评估乳液的长期 分散稳定性。用针筒取 2 mL 样品,使针头紧贴侧 墬将样品加入样品管,避免样品挂壁及晃动。使用 时,仪器的参数设置为转速 4 000 r/min、实验时间 200 min、温度 25 ℃、扫描间隔时间 40 s。

1.3.5 INFOGEST体外模拟静态消化模型

表 1 模拟消化液SSF、SGF、SIF成分(mmol/L) Table 1 Compositions of simulated digestive fluids SSF、

	SGF, SI	F'	
	SSF	SGF	SIF
NaCl	_	47.2	38.4
KCl	15.1	6.9	6.8
$KH_2PO_4$	3.7	0.9	0.8
NaHCO <sub>3</sub>	13.6	25	85
MgCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>	0.15	0.1	0.33
$(NH_4)_2CO_3$	0.06	0.5	—
$CaCl_2^{\pm}$	1.5	0.15	0.6
pH 值	7.0	3.0	7.0

注:为防止发生聚沉,CaCl2在体外模拟消化时加入。

采用 INFOGEST 体外静态消化模型<sup>[23,24]</sup>测定乳 液的胃肠消化情况并略作修改。消化前制备模拟唾 液 (SSF)、模拟胃液 (SGF) 和模拟肠液 (SIF),

3

#### 现代食品科技

配置成分如表1所示,并于37℃保温。胃蛋白酶、 胰蛋白酶及胆盐现配现用并于冰中保温。取5mL 乳液在37℃下保温后与SSF混合。随后加入SGF, 调节pH值至3.0后加入胃蛋白酶,进行胃消化0、1、 5、10、30、60、90和120min,胃蛋白酶在体系中 酶活为2000U/mL。胃消化结束后,调节pH值至 7.0终止反应。

将胃消化混合物与 SIF 混合,加入 10 mmol/L 牛胆盐、100 U/mL(以胰蛋白酶计)胰液素,于 37 ℃ 水浴搅拌进行肠消化 0、1、5、10、30、60、90 和 120 min。消化结束后,将离心管置于 100 ℃沸水浴 2 min 终止消化。每个时间点在同类型 50 mL 离心 管中进行单独消化。等质量的去离子水代替乳液样 品作为空白对照。

1.3.6 消化产物的游离氨基含量

采用 OPA (O-phthaldialdehyde, 邻苯二甲醛) 法<sup>[25]</sup>测定消化乳液样品中的游离氨基含量。将2g SDS、0.16g OPA 和 0.176g DTT、100 mL 3.81% (*m/m*) Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 溶液、100 mL 蒸馏水于棕色瓶中搅拌溶解 得 OPA 溶液。取 200 μL 适当稀释的消化乳液与 1.5 mL OPA 溶液充分混合后避光反应 3 min, 在紫外分光 光度计 340 nm 下测定吸光值。以 L- 丝氨酸为标准 物绘制标准曲线。

#### 1.3.7 消化产物的可溶性蛋白质含量

采用 TCA 法<sup>[26]</sup>检测可溶性蛋白的含量以表征 乳液中蛋白质的消化率。取1 mL 乳液样品与1 mL 20% TCA 混合后离心(10 000 r/min, 10 min),取 其上清液并稀释。采用 Lowry 法检测样品的蛋白 含量,使用紫外分光光度计在 500 nm 处测吸光度。 以牛血清蛋白作为标准物稀释成不同浓度用以绘制 标准曲线。

## 1.3.8 消化产物的游离脂肪酸分析

采用 Solarbio BC0590 FFA 含量检测试剂盒测 定消化乳液样品中 FFA 含量。将消化产物与适量正 庚烷混合,充分振荡后离心(8000 r/min,10 min), 取正庚烷相稀释 20 倍在紫外分光光度计 550 nm 处 测试。以氯仿为标准品绘制标准曲线。根据最终消 化产物游离脂肪酸的摩尔相对于初始脂肪酸的总摩 尔计算 FFA 释放率。

#### 1.3.9 数据分析

使用 SPSS 27.0.1 软件对数据进行统计分析。采

用方差分析(ANOVA)比较所有组之间的显著性 差异,数据以均值 ± 标准差表示, P<0.05 时表示 差异显著。利用 Origin 2022 软件进行数据作图。

#### 2 结果与分析

- 2.1 乳液的理化性质
- 2.1.1 乳液外观



图 1 CS、WPI、SPI、PPI、MPI 在不同灭菌热处理条件下 的模板乳液和特医乳液的外观

Fig.1 Photographs of CS, WPI, SPI, PPI, MPI model emulsions and FSMP emulsions under different conditions of sterilization

注:ME-R、ME-S、FE-R、FE-S分别表示未灭菌模板乳液、 灭菌模板乳液、未灭菌特医乳液、灭菌特医乳液,下同。

制备了 CS、WPI、SPI、PPI、MPI 的模板乳液 (ME)和特医乳液(FE),并分为未灭菌组(R) 与灭菌组(S),新制备的乳液外观如图1所示。 ME-R呈乳白色,灭菌后 ME-S 颜色加深呈浅棕色, 这主要是蛋白质和麦芽糊精在高温下的美拉德反应 所致。经过灭菌热处理后,5种 ME-S 乳液仍能保 持良好性状,FE-S 组中 CS、SPI、PPI 制备的乳液 也无明显乳析、结块或絮凝现象。

WPI-FE-S 呈现凝胶状,倒立不流动。这是由 于 WPI 极易在热处理下发生聚集反应<sup>[27]</sup>,其中主要 成分 β-乳球蛋白在离子浓度较低时由于较强的静电 斥力保持稳定,但在多价离子的存在下离子与蛋白 的吸附作用会导致表面电荷密度降低而增强絮凝作 用<sup>[28]</sup>,使液体 WPI 乳液变为凝胶。

灭菌前 MPI-FE 即出现明显粗糙颗粒,热处理加强了絮凝作用,可以看到 MPI-FE-S 中产生了大量粘附于瓶壁上的絮凝块。MPI-FE-S 与 SPI-FE-S、

PPI-FE-S 的乳液性状差异可能源于 MPI 的球蛋白组成为较单一的 8S 蛋白(约占储藏蛋白的 90%),而 SPI 和 PPI 主要球蛋白均为 7S 和 11S 两种。8S 与 7S 具有较高的序列同源性和结构相似性<sup>[19]</sup>,它们不 含二硫键,仅通过非共价作用形成聚集体,变性温

度低于 11S 蛋白<sup>[29]</sup>。SPI 和 PPI 中 7S 和 11S 形成的 7S-11S 复合物有效控制了蛋白的聚集行为<sup>[29]</sup>,而 MPI 中单一的 8S 蛋白组分可能由于灭菌热处理步 骤进而暴露了更多疏水结构<sup>[30]</sup>,在高浓度矿物质离 子的环境中更易发生絮凝。





图 2 CS、WPI、SPI、PPI、MPI 在不同灭菌热处理条件下的模板乳液和特医乳液的粒径(a)、粘度(b)、摩擦(c) Fig.2 Particle size (a), viscosity (b) and friction (c) of CS, WPI, SPI, PPI, MPI model emulsions and FSMP emulsions under different conditions of sterilization

#### 2.1.2 乳液粒径

除 WPI-FE-S 凝胶外,各蛋白 ME-R、ME-S、 FE-R、FE-S 乳液的粒径分布中心均集中于 0.1 μm (图 2a)。在各 ME 乳液中,CS-ME、WPI-ME、 PPI-ME、SPI-ME 在热加工后粒径没有发生变化 (*P*>0.5)。MPI-ME-R 存在两种尺寸分布差异较明 显的乳滴,较大尺寸乳滴的形成可能是由于 MPI 较 SPI 表面疏水性低、乳化功能差而导致的<sup>[30,31]</sup>;乳 液在热加工后曲线右移 (MPI-ME-S),这是因为在高 盐离子浓度下加热时乳滴之间更易发生结合导致体系 尺寸增大<sup>[28]</sup>。

加入维生素、矿物质后,各乳液体系液滴粒径 均有不同程度的增大。CS-FE-R 粒径从 0.137 µm 增 至 0.147 μm (P<0.5), 但仍保持单峰, 这可能是 由于酪蛋白胶束上的磷酸残基与金属离子的结合和 稳定<sup>[13]</sup>降低了矿物质离子对乳液的影响。WPI-FE-R与WPI-ME-R的粒径差异较小,矿物质离子的添 加没有直接导致 WPI 乳液发生聚集。维矿的加入较 显著地影响了植物蛋白乳液的粒径分布, 通过电荷 和疏水相互作用促进了豆球蛋白之间的分子缔合[32], 导致乳液中出现大液滴及少量絮凝。SPI-FE-R 粒径 分布曲线在粒径分级为5 µm 左右处出现拖尾峰, 主 峰发生轻微右移; PPI-FE-R 出现的大尺寸液滴、团块 颗粒相较 SPI 更多, PPI-FE-S 在 7 µm 出现多峰分布。 矿物质添加后,热处理产生的强絮凝作用更加促进 了 WPI-FE-S 体系凝胶化<sup>[28]</sup>。MPI-ME-R 的粒径分布 显示出现了大颗粒絮凝,这与外观结果相符合。此外, 灭菌热加工对除 WPI 外的特医乳液整体影响较小。

## 2.1.3 乳液的粘度

由图 2b 可知, 19 种乳液的表观粘度均随剪切 速率的增大而减小,呈现剪切变稀特征,为假塑 性流体。在模板乳液中,PPI-ME-R 粘度高于 CS、 WPI、SPI 同等条件处理的乳液,这是因为豌豆蛋 白易形成高黏性乳液<sup>[33]</sup>;在剪切速率达到 20 s<sup>-1</sup>时, MPI-ME-R 粘度更高,约为 0.11 Pa·s,这与 MPI 体 系发生絮凝有关<sup>[9]</sup>。灭菌后,在同样的剪切速率下 (20 s<sup>-1</sup>),CS、WPI、SPI、PPI 的模板乳液剪切粘度 约为 0.005 Pa·s。加入维生素和矿物质后,CS-FE-R 的 粘度几乎不发生变化,而 SPI-FE-R、PPI-FE-R 在 20 s<sup>-1</sup> 剪切速率下的粘度上升至约 0.11 Pa·s, MPI-FE-R 上升 至 0.12 Pa·s。在灭菌热处理后,CS、SPI、PPI 的特医 乳液粘度均有不同程度的升高。MPI-FE-S 粘度的下降 可能是由于大量絮凝析出影响了测试结果。

#### 2.1.4 乳液的摩擦性质

在口腔加工过程中,摩擦学特性在人的感官知 觉中发挥着主导作用<sup>[34]</sup>,根据呈现摩擦系数和摩擦 速率关系的 Stribeck 曲线,存在边界层区、混合层 区和水动力层区三个摩擦层区。乳液在口腔中停留 时间很短,摩擦性质主要体现在边界层区和混合层 区(图2c)<sup>[35]</sup>。对于各乳液体系,随着摩擦速率的 增大,摩擦系数均降低,从边界层区的滑动面接触 向接触面开始被润滑剂分开的混合层区转移。CS 乳液状态稳定,灭菌前后 ME 和 FE 的摩擦性质相 似,受灭菌高温和维矿影响较小,这与粘度数据相 符合。对于另外4种蛋白乳液, 灭菌热处理工艺使 乳液摩擦系数上升,维矿等营养素的添加也使摩擦 系数上升,乳液顺滑程度下降。这与乳液粒径变大 有关,大颗粒使乳液与摩擦板的实际接触面积减少。 SPI-ME-R和 SPI-ME-S 在边界层区呈现先增加的趋 势,而 SPI-FE-R 和 SPI-FE-S 有所差异,摩擦速 率 0.1 mm/s 时摩擦系数即大于 0.5, 随后系数基本不变。 2.1.5 乳液电位

Zeta 电位是理解和分析胶体体系稳定性的重要 参数,表2展示了19种乳液的Zeta电位值。5种 蛋白的 ME-R 和 ME-S 电位绝对值均大于 30 mV, 表明体系静电稳定性良好。CS-ME 和 WPI-ME 在灭 菌前后乳液电位没有显著差异。SPI-ME、PPI-ME、 MPI-ME 在灭菌前后乳液电位存在显著差异但电位 绝对值减小范围在5mV内。矿物质的加入显著影 响了各乳液的 Zeta 电位值,特医乳液较模板乳液的 静电斥力明显减小,乳液稳定性降低。CS-FE-R电 位绝对值较 CS-ME-R 下降了 12.95 mV, SPI-FE-R、 PPI-FE-R 较 SPI-ME-R、PPI-ME-R 电位绝对值分别 下降了 8.28、7.2 mV, WPI-FE-R 和 MPI-FE-R 降幅 更大(14.4 和 9.7 mV),这是由于矿物质引起的电 荷屏蔽效应<sup>[32]</sup>。灭菌热处理基本不影响特医乳液的 表面电势,4种FE-R乳液与FE-S电位不存在显著 性差异。

表	2 CS、WPI、	SPI、PPI、MPI在	E不同火菌热处埋条件	- 卜的模极乳液和特	医乳液的Zeta电位	( mV )
Table 2 Zeta-po	otential of CS,	WPI, SPI, PPI, MP	I model emulsions and	d FSMP emulsions	under different con	ditions of terilization

		,			
乳液	CS	WPI	SPI	PPI	MPI
ME-R	$-47.80 \pm 0.72^{Ab}$	$-55.05 \pm 0.41^{\text{Aa}}$	$-33.80 \pm 0.46^{\rm Bc}$	$-31.92 \pm 0.69^{\text{Bd}}$	$-32.50 \pm 1.19^{\text{Bcd}}$
ME-S	$-47.22 \pm 1.53^{\text{Ab}}$	$-55.40 \pm 0.48^{\rm Aa}$	$-36.02\pm0.79^{\text{Acd}}$	$-34.42 \pm 0.93^{\rm Ad}$	$-37.27 \pm 2.13^{Ac}$
FE-R	$-34.85 \pm 1.33^{\text{Bb}}$	$-40.65 \pm 1.67^{\rm Ba}$	$-25.52 \pm 0.66^{Cc}$	$-24.72 \pm 0.71^{Cc}$	$-22.80 \pm 0.70^{\text{Cd}}$
FE-S	$-34.25 \pm 0.92^{\rm Ba}$	—	$-25.22 \pm 0.77^{\text{Cb}}$	$-24.77\pm0.48^{\text{Cbc}}$	$-23.97 \pm 0.53^{Cc}$

注:A~C表示同一蛋白不同加工方式的显著差异(P<0.05),a~c表示同一加工方式不同蛋白的显著差异(P<0.05)。 WPI-FE-S在灭菌热处理后呈凝胶态,不进行电位检测。



8



PPI 模板乳液和特医乳液的长期分散稳定性分析(d)

Fig.3 Photographs (a), zeta-potential (b) and particle size (c) after 30 days storage of sterilized CS, SPI and PPI model emulsions and FSMP emulsions; Long-term dispersion stability (d) of sterilized CS, SPI and PPI model emulsions and FSMP emulsions

#### 2.1.6 乳液的贮藏稳定性

根据上述实验结果可知, WPI 和 MPI 分别在灭 菌热加工和维矿添加后发生了凝胶和絮凝现象,且 由于未灭菌乳液不适宜考察常温状态下的乳液储藏 稳定性,我们选取了 CS、SPI、PPI 的灭菌模板乳 液(ME-S)和灭菌特医乳液(FE-S)进行 30 d 贮 藏稳定性研究。放置 30 d 后, 各乳液外观颜色、状 态未发生明显变化 (图 3a), 电位也基本保持稳 定(图 3b)。如图 3c 所示, CS-ME-S、SPI-ME-S、 PPI-ME-S 粒径在一个月内未发生变化,展示出了良 好的稳定性。在特医乳液中, CS-FE-S 和 SPI-FE-S 乳液液滴也未发生明显变化,说明乳液体系均一旦 稳定。而 PPI-FE-S 在 30 d 后分布于 1~10 µm 的乳 滴数量出现小幅增加,但可能由于乳液的较高粘度 限制了其中颗粒的聚结, PPI-FE-S 未发生聚沉且静 电斥力略有增高。综合来看,各乳液在 30 d 内电 位、粒径未发生明显改变,乳液状态稳定。

#### 2.1.7 乳液的长期分散稳定性

LUMiSizer 是利用瞬时测量光穿过整个样品后 得到消光图谱的稳定性分析仪,基于离心力诱导相 分离可以直接且有效评价乳液长期稳定性<sup>19</sup>。利用该 仪器模拟乳液9个月乳析情况,得到乳液的投射剖面 图和不稳定性系数(图3d),不稳定系数越小则乳液 稳定性越高。实验中,样品管水平放置,即剖面图左 侧为样品上部、右侧为样品底部,随着离心时间的延 长,透射曲线从底部(右侧)开始逐渐增大,表明乳 液开始从底部向上产生不同程度的乳析。模板乳液中, PPI 具有最高的稳定性,不稳定系数为0.398,CS的 稳定性略优于 SPI;而加入维矿后的特医乳液中,SPI 和 PPI 的乳析较少,不稳定系数分别为0.343 和 0.024, CS-FE-S 和 CS-ME-S 乳液则出现类似的乳析现象。这 说明 SPI-FE-S 和 PPI-FE-S 在高速离心下乳析较慢,具 有更好的长期分散稳定性。这可能是由于较高的乳液 粘度会使颗粒在连续相中运动速度下降,其中不溶性 大颗粒物质的重力沉降减少,使乳液相对稳定<sup>[36]</sup>。

#### 2.2 乳液的胃肠消化特性

由上述分析可知, CS、SPI、PPI 能够成功制备 出具有良好热加工性和稳定性的特医乳液。选取这 3 种蛋白的灭菌模板乳液和特医乳液进行体外胃肠 消化性质探究。



放和最终产物的脂肪酸释放率(c)

Fig.4 Soluble protein content (a), free amino content (b), FFA released and its final release rate (c) of sterilized CS, SPI, and PPI model emulsions and FSMP emulsions at different digestion times

体外模拟消化模型是一种模拟人类胃肠道消 化过程的实验方法,通过模拟人体消化液的化学 成分和生理特征,对食品的消化、吸收和代谢进 行模拟分析。体外消化的静态模型由 COSTAction INFOGEST 于 2019 年发布了 2.0 版本<sup>[23]</sup>,完善了静 态体外消化模型的口、胃、肠消化液参数以及确切 的组分混合配比和添加流程<sup>[37]</sup>,这套模型不涉及伦 理问题,操作简单、相对标准化,适用于各种研究 目的<sup>[38]</sup>。

2.2.1 乳液消化产物可溶性蛋白含量

对消化产物进行可溶性蛋白含量分析,如图 4a 所示,6种乳液中的蛋白大分子随着胃消化的进行 逐步降解。从可溶性蛋白含量来看,特医乳液消化 速率略高于模板乳液。CS 乳液蛋白在胃消化初期的 消化速率比 SPI、PPI 乳液更高,这可能是由于 SPI 和 PPI 的多聚体结构和乳液中少量的絮凝使初始消 化速率较低。胃消化结束后,CS、SPI、PPI 特医乳 液的可溶蛋白含量分别为 12.11、11.53、10.72 mg/mL。 Marta 等<sup>[39]</sup>使用总氨基酸分析了 CS、SPI、PPI 及 其它蛋白的胃蛋白消化产物,研究结果显示 CS 消 化产物的可溶性组分中氮含量为 95.3%,高于 SPI、 PPI 的 74.9%、91.8%。

在胰液素加入后,SPI-FE-S和PPI-FE-S的可溶 性蛋白含量分别增加 4.38 和 2.86 mg/mL,部分在胃 消化阶段未能消化的聚集体在胰蛋白酶和胆盐的作 用下断裂分解成短肽。从肠消化最终产物(240 min 消化)的可溶性蛋白含量来看,各蛋白模板乳液和 特医乳液差异不显著(P>0.05),维生素和矿物质 的添加没有影响乳液的胃肠消化特性。PPI-FE-S最 终产物的可溶性蛋白含量比 SPI-FE-S少 1.69 mg/mL, 在消化体系中保留更多的不溶性部分,这可能是由 于 PPI 乳液粒度较大、静电稳定性较低,在胃肠消 化中乳液产生的聚结可能会减缓消化<sup>[40]</sup>。

## 2.2.2 乳液消化产物的游离氨基含量

乳液中蛋白的肽键在消化蛋白酶的作用下水解 释放游离氨基(-NH2),因此通过测量消化产物的 游离氨基含量可以了解蛋白质的水解程度。如图4b 所示,所有样品模板乳液和特医乳液在游离氨基的 释放上没有明显差异。在胃消化的初始阶段,胃蛋 白酶使部分蛋白水解释放出部分游离氨基,但随着 胃消化的进行,氨基释放速率放缓,基本趋于最大 值。胃消化阶段主要是不溶性部分转化成为可溶性 部分的阶段,蛋白内部的氨基基团暴露较少。由 于豆类蛋白结构交缠更紧密、乳液中聚结更多, SPI-FE-S、PPI-FE-S在消化30min时游离氨基浓 度达到4.23、3.47mmol/L,随后基本保持不变,而 CS-FE-S则在60min时还有少量游离氨基释放,在 90min时达到6.00mmol/L,这与可溶性蛋白的释放 速率趋势相似。

小肠中的内肽酶(胰蛋白酶)可以沿底物的一级结构在氨基酸链的中间切割肽键,因此肠消化是蛋白的主要消化阶段,乳液中的游离氨基大量释放。 SPI-FE-S(21.095 mmol/L)最终产物游离氨基浓度与CS-FE-S(21.098 mmol/L)具有相当水平,且速率没有明显差异,PPI-FE-S则较 SPI-FE-S低1.571 mmol/L。 有研究发现,在肠消化阶段,SPI蛋白粉的水解速率高于 PPI蛋白粉,SPI乳液和 PPI乳液的水解过程相似<sup>[41]</sup>。这表明蛋白粉和其制备成的乳液在消化水解水平上存在差异,这可能是由于与未加工的分离蛋白相比,乳液制备涉及到的高压均质过程可能使蛋白结构展开而对消化酶更加敏感,且蛋白乳液 比蛋白粉更利于消化水解<sup>[41]</sup>。

## 2.2.3 乳液消化产物的游离脂肪酸含量

脂类的消化阶段包括乳化、水解和吸收,乳液 中的脂类在胃消化阶段发生部分乳化,在肠消化阶 段时在胰脂肪酶和胆盐的作用下被水解为 FFA<sup>[37]</sup>, 图 4c 是各乳液的消化产物在静态模拟消化过程中 FFA 释放曲线和最终产物的 FFA 消解率。由于脂肪 酶主要存在于肠道中,且在酸性的胃消化环节,酪 蛋白和豆类蛋白聚集导致油滴易被困在蛋白质聚集 网络中,因此脂肪的消化吸收主要在肠道进行<sup>[20,42]</sup>。 各乳液消化产物中游离脂肪酸在胃消化阶段时释放 很少;而在进入肠消化阶段后,消化产物中的游离 脂肪酸含量急剧增加,在随后消化过程缓慢增加直 至消化结束。这可能是因为脂肪消化酶在胆盐协同 下可以快速吸附并进行水解,使 FFA 释放量快速升 高,但由于 INFOGEST 消化体系的限制,在乳滴表 面持续累积的消化产物可能限制了后续的水解<sup>[43]</sup>。 CS-ME-S 中的脂肪随着消化时间增加逐步释放,而 SPI-ME-S 中的游离脂肪含量在肠消化 10 min 即达 到峰值,最终FFA释放率高于CS-ME-S。Nguyen 等<sup>[42]</sup>研究了婴儿配方奶粉的肠消化阶段的总 FFA 释放量,其 SPI 稳定的婴儿配方奶粉乳剂的脂解率 高于乳蛋白(WPI:CS=1:1)稳定的乳剂。CS-ME-S、 SPI-ME-S、PPI-ME-S的消化最终产物FFA释放 率没有显著差异,同时由FFA 释放曲线对比可 知,3种模板乳液在消化过程中释放的游离脂肪酸 含量均比特医乳液高,CS-ME-S比CS-FE-S多释放 40.76 mmol/L,SPI与PPI该差值为31.90和19.26 mmol/L, 均存在显著差异。这可能是由于矿物质的添加使乳 液为高离子强度体系,导致豆球蛋白易发生不同程 度的聚集<sup>[28,32]</sup>,使脂肪更紧地被包裹和缠绕在蛋白 网络中。且高浓度盐可能通过调节蛋白的静电相互 作用使 FFA 释放降低<sup>[42]</sup>。此外,特医体系下,三种 蛋白的最终产物 FFA 释放率不存在显著差异。

#### 3 结论

为了探究不同类型蛋白配料对全营养特医乳 液理化性质和消化特性的影响,本文选取了 CS、 WPI、SPI、PPI、MPI 制备乳液,研究特医食品乳 剂制备工艺中灭菌热处理、维生素和矿物质的添加 对乳液特性和乳液稳定性影响。WPI由于矿物质加 剧的热反应生成凝胶, MPI 因较为简单的蛋白组分 受离子强度和热灭菌影响而产生絮凝,不能制备性 状良好的整蛋白特医乳剂。CS、SPI 和 PPI 特医乳 液具有较低的粘度和较好的口腔摩擦性质,乳液粒 径、电位可以在 30 d 内保持稳定, PPI-FE-S 因较 高的粘度具有更好的长期分散稳定性。筛选了基于 CS、SPI、PPI 的模板乳液和特医乳液进行体外胃 肠消化行为的探究。CS、SPI 和 PPI 特医乳液都展 现了良好蛋白消化性,其中 SPI 特医乳液蛋白消化 表现更优,可溶性蛋白含量和游离氨基释放含量最 高。本研究表明, SPI 和 PPI 也可制备出稳定性优 良、消化性良好的全营养特医乳液,可作为蛋白质 核心配料应用于新型植物基全营养特医乳剂产品的 开发。

参考文献

- [1] GB 29922-2013,特殊医学用途配方食品通则[S].
- [2] SCHUEREN D V D A M. Use and effects of oral nutritional supplements in patients with cancer [J]. Nutrition, 2019, 67-68: 110550.
- [3] WU L, ZHANG L, ZHANG Y. A review on rules for examination of licensing criteria for producing foods for special medical purpose in China [J]. Food Science and Human Wellness, 2019, 8(2): 106-114.
- [4] 张春红,黄建,李乘风,等.特殊医学用途配方食品现状及 前景展望[J].中国食品添加剂,2016,12:210-214.
- [5] 陈晗琪,刘敏,余贞,等.国内外特医食品注册管理制度比 对及建议[J].食品与机械,2023,39(11):1-6.
- [6] 朱海华,葛瑞宏,马银辉,等.基于棕榈仁油的特医脂肪乳

液制备及其对小鼠血脂的影响[J].粮油食品科技,2022, 30(2):85-94.

- [7] 刘媛,叶盛英,魏振承,等.宏量营养素和pH值对乳剂型特 医食品基质品质的影响[J].食品科学,2020,41(4):23-31.
- [8] EDMUNDO F L B, SAHYLIN M, GABRIEL A. Lipid emulsions in clinical nutrition: Enteral and parenteral nutrition [J]. Advances in Food and Nutrition Research, 2023, 105: 301-342.
- [9] NIU H, WANG W, DOU Z, et al. Multiscale combined techniques for evaluating emulsion stability: A critical review [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2023, 311: 102813.
- [10] 李子琰,刘媛,刘光,等.贮藏条件对全营养乳剂型特医食品品质特性和稳定性影响[J],食品安全质量检测学报, 2021,12(3):931-939.
- [11] 刘媛.乳剂型特殊医学用途配方食品的稳定性研究[D]. 广州:华南农业大学,2023.
- [12] 赵新琦,陈平华,米晓磊,等.不同加工处理方式对酪蛋白 胶束的影响研究进展[J].乳业科学与技术,2021,44(1): 51-56.
- [13] ANEMA S G. Heat-induced changes in caseins and casein micelles, including interactions with denatured whey proteins [J]. International Dairy Journal, 2021, 122: 105136.
- [14] SUN J Q, XU L M, XIA L, et al. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk [J]. Nutrition Journal, 2015, 15(1): 35.
- [15] PENNINGS B, BOIRIE Y, SENDEN J M, et al. Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2011, 93(5): 997-1005.
- [16] TANG J E, MOORE D R, KUJBIDA G W, et al. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men [J]. Journal of Applied Physiology, 2009, 107(3): 987-992.
- [17] BOIRIE Y, DANGIN M, GACHON P, et al. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1997, 94(26): 14930-14935.
- [18] NGUYEN T T P, BHANDARI B, CICHERO J, et al. Gastrointestinal digestion of dairy and soy proteins in infant formulas: An *in vitro* study [J]. Food Research International, 2015, 76: 348-358.
- [19] HOU D, FENG Q, NIU Z, et al. Promising mung bean proteins and peptides: A comprehensive review of preparation

12

technologies, biological activities, and their potential applications [J]. Food Bioscience, 2023, 55: 102972.

- [20] MATHAI J K, LIU Y, STEIN H H. Values for digestible indispensable amino acid scores (DIAAS) for some dairy and plant proteins may better describe protein quality than values calculated using the concept for protein digestibility-corrected amino acid scores (PDCAAS) [J]. British Journal of Nutrition, 2017, 117(4): 490-499.
- [21] HAN K, LUO D, ZOU Y, et al. Modulation of gut microbiota by soybean 7S globulin peptide that involved lipopolysaccharide-peptide interaction [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(8): 2201-2211.
- [22] BLANCO MEJIA S, MESSINA M, LI S S, et al. A metaanalysis of 46 studies identified by the FDA demonstrates that soy protein decreases circulating LDL and total cholesterol concentrations in adults [J]. The Journal of Nutrition, 2019, 149(6): 968-981.
- [23] 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.
- [24] LI C, YU W, WU P, et al. Current *in vitro* digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 96: 114-126.
- [25] NIELSEN P M, PETERSEN D, DAMBMANN C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis [J]. Journal of Food Science, 2001, 66(5): 642-646.
- [26] 孙雪梅,蒋将,刘元法.脱酚及pH偏移处理对菜籽蛋白体 外模拟消化的影响[J].食品工业科技,2019,40(16):278-284.
- [27] CHEN D, LI X, ZHAO X, et al. Comparative proteomics of goat milk during heated processing [J]. Food Chemistry, 2019, 275: 504-514.
- [28] DICKINSON E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions [J]. Colloids and Surfaces, B. Biointerfaces, 2010, 81(1): 130-140.
- [29] 郭健.大豆蛋白热聚集行为控制及其结构表征的研 究[D].广州:华南理工大学,2012.
- [30] 邓卓瑶,韩凯宁,杨晓泉.绿豆蛋白基乳液的稳定性及胃 肠消化行为[J].现代食品科技,2022,38(12):91-100.
- [31] 任思,刘丽娅,庞淑婕,等. 羧甲基纤维素钠对绿豆分离蛋

白乳液稳定性的影响[J].食品与发酵工业,2020,46(18): 41-46.

- [32] LI X, CHENG Y, YI C, et al. Effect of ionic strength on the heat-induced soy protein aggregation and the phase separation of soy protein aggregate/dextran mixtures [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 1015-1023.
- [33] LU Z X, HE J F, ZHANG Y C, et al. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(15): 2593-2605.
- [34] ZHENG Y, BASHANDEH K, SHAKIL A, et al. Review of dental tribology: Current status and challenges [J]. Tribology International, 2022, 166: 107354.
- [35] 叶芸彤,梅钰琪,杨韵仪,等.用小麦醇溶蛋白/阿拉伯胶复 合胶体颗粒制备植物基蛋黄酱及其性质分析[J].现代食 品科技,2022,38(12):59-66.
- [36] 黄晓玲,胡丹,邓颖诗,等.剪切工艺对特医食品全营养乳 液稳定性的影响[J].现代食品,2023,29(17):131-136.
- [37] 张铭凯,李晓雯,孟晨,等.脂质体外消化过程中氧化评价模型与检测方法研究进展[J].食品与生物技术学报, 2022,41(6):31-40.
- [38] SOUSA R, RECIO I, HEIMO D, et al. *In vitro* digestibility of dietary proteins and *in vitro* DIAAS analytical workflow based on the INFOGEST static protocol and its validation with *in vivo* data [J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134720.
- [39] SANTOS-HERNÁNDEZ M, ALFIERI F, GALLO V, et al. Compared digestibility of plant protein isolates by using the INFOGEST digestion protocol [J]. Food Research International, 2020, 137: 109708.
- [40] ZEEB B, WEISS J, MCCLEMENTS D J. Electrostatic modulation and enzymatic cross-linking of interfacial layers impacts gastrointestinal fate of multilayer emulsions [J]. Food Chemistry, 2015, 180: 257-264.
- [41] REYNAUD Y, LOPEZ M, RIAUBLANC A, et al. Hydrolysis of plant proteins at the molecular and supramolecular scales during *in vitro* digestion [J]. Food Research International, 2020, 134: 109204.
- [42] NGUYEN T T P, BHANDARI B, CICHERO J, et al. *In vitro* lipolysis of dairy and soy based infant formula [J]. Food Research International, 2018, 106: 696-705.
- [43] 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/OL].现代食品科技,1-11 [2024-05-24].