

体外模拟消化维生素 C 和钙软糖的动力学研究

徐晓飞¹, 钟浩权², 刘玮², 夏晚霞^{2,3}, 杨继国^{2,3}

(1. 维乐维营养与健康研究中心, 广东广州 510623) (2. 华南协同创新研究院, 广东东莞 523808)

(3. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 采用体外模拟消化法对钙软糖和维生素 C 软糖功效成分的释放动力学进行研究, 对软糖的微观结构进行表征, 并考察膳食成分对软糖功效成分在模拟胃液中释放的影响。结果显示, 维生素 C 软糖和钙软糖的崩解时限分别为 155 min 和 22 min; 维生素 C 软糖功效成分, 在 2 h 内逐步释放, 2 h 其功效成分释放 93.6%, 钙软糖功效成分 30 min 内释放率接近 100%。微观结构显示, 两种软糖胶体都呈现基本的胶体网状结构, 但网络结构的形态并不相同。维生素 C 软糖的释放动力以 Higuchi 的拟合效果最好, 符合骨架缓释剂释放规律, 而钙软糖则以一级动力拟合最佳。此外, 胃液含 5% 淀粉会减缓维生素 C 软糖中功效成分的释放, 而其它膳食成分对其释放无显著影响, 钙软糖在模拟胃液中的消化释放特性不受膳食成分的影响。结果表明: 与片剂和硬胶囊剂相比, 软糖的崩解时间和消化释放速度均较缓慢, 具有一定的缓释作用。

关键词: 功能食品; 体外模拟; 消化; 崩解; 微观结构

文章编号: 1673-9078(2018)11-83-88

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.014

A Kinetic Study on the *In Vitro* Simulated Digestion of Gummy Vitamin C and Calcium Candies

XU Xiao-fei¹, ZHONG Hao-quan², LIU-Wei², XIA Wan-xia^{2,3}, YANG Ji-guo^{2,3}

(1. Wewow Nutrition and Health Research Center, Guangzhou 510623, China)

(2. South China Institute of Collaborative Innovation, Dongguan 523808, China)

(3. College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: An *in vitro* simulated digestion model was used to study the release kinetics of the functional components, calcium and vitamin C, from their gummy candy vehicles. The microstructure of gummy candies was characterized, and the effect of dietary components on the release of functional components of the gummy candy in a simulated gastric juice was investigated. The results showed that the disintegration time of the gummy calcium and vitamin C candy was 155 min and 22 min, respectively. The functional component, Vitamin C, was released gradually and reached up to 93.6% in 2 h, and the calcium component was released almost 100% within 30 min. Both gummy candies exhibited a basic colloidal network structure, but differed in the morphology of network structure. The release kinetics of vitamin C was best matched by Higuchi's fitting effect, which was consistent with the release law of sustained-release preparation, whilst the gummy calcium candy was best fitted with the first-order kinetics. In addition, it was found that the gastric juice containing 5% starch slowed down the release of the functional component, Vitamin C, from the gummy candy, but other dietary ingredients had no significant effect on its release. The digestion and release characteristics of the gummy calcium candy in simulated gastric juice were not affected by the dietary ingredients. Results of this study indicate that compared with tablets and hard capsules, the disintegration time and release rate upon digestion of the gummy candies were slower and exhibited a somewhat sustained-release effect.

Key words: functional food; *in vitro* simulation; digestion; disintegration; microstructure

随着人们对健康、营养的需求增加, 功能性保健

收稿日期: 2018-06-21

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1601000); 中国博士后科学基金(2016T90787)

作者简介: 徐晓飞(1979-), 男, 博士, 研究方向: 功能性多糖保健品

通讯作者: 杨继国(1977-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品生物化学

食品的生产 and 消费逐年增长。传统的保健食品剂型多为片剂和胶囊等药物剂型, 片剂辅料较多, 硬胶囊的“毒胶囊”事件带来了不少负面影响^[1]。此外, 片剂、囊等药物剂型在使用时给消费者带来一定的心理负担, 不利于建立长期的消费习惯。而食品形态的保健食品, 如软糖、饮料、粉剂, 能给消费者带来功效利益的同时, 也可以满足口味上的需求。因此, 近年来

以咀嚼形态出现的保健食品新剂型陆续在市场上出现,其中具有代表性的是营养软糖。营养软糖是一种含糖的凝胶体^[2],含有维生素或功能因子,能够促进人体健康,具有某种调节人体特定生理功能,对人体不会产生不良反应的软糖,既能满足人们对口味、口感的外在需求,又能满足人们对营养与保健的需求,因此功能性营养保健软糖的开发与研究成为科研工作者和生产企业研发人员的研究热点^[3],如橙皮保健软糖^[4],甘草保健软糖^[5],火龙果保健软糖^[6]和青梅营养保健软糖^[7]等。随着年轻一代逐渐成为营养保健食品的主流消费人群,他们厌倦了传统药片形态的产品,希望在获得健康好处的同时,也能享受到营养保健食品的美味。营养软糖恰恰具有这种特性,是日常保健、甚至疾病治疗的一个非常好的选择,也是一种新趋势。

目前,研究人员对功能软糖的研究主要关注在各种新型功能的软糖及生产工艺^[8,9],而对于软糖的消化特性和其中的功效成分在消化过程中的释放情况却鲜有报道。本实验利用智能崩解仪分别对市售钙软糖和维生素C软糖在体外模拟胃液的消化及功效成分的溶出特性进行研究,并以相同功效成分的片剂和硬胶囊作为参照。此外,考虑到消化过程中往往伴随含膳食成分,因此初步探究膳食成分如淀粉、蛋白质和油脂对软糖中功效成分释放的影响,为保健软糖的消化吸收特点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

胃蛋白酶(1:1000)和胰酶(1:4000),合肥博美生物有限公司;甲醇(色谱纯),天津科密欧化学试剂有限公司;维生素C软糖(维乐维健康产业有限公司市售产品)、钙软糖(维乐维健康产业有限公司市售产品)及含钙、维生素C的胶囊和片剂(实验室自制)。软糖及其参照样品的功效成分如表1(功效成分含量依据国家标准方法进行检测,分别独立检测3次)。

实验中所用到的其他普通试剂,如盐酸,磷酸二氢钾,氢氧化钠,氧化镧,硝酸等均为分析纯,水为超纯水。

表1 软糖及其对照品的功效成分含量

Table 1 Content of active ingredients in gummy and its control products

功效成分	软糖	片剂	胶囊
维生素C/(mg/粒)	26.4±0.05	25.1±0.06	25.5±0.06
钙/(mg/粒)	180±0.2	177±0.1	65±0.3

1.2 仪器与设备

LB-2D 智能崩解时限测试仪,上海黄海药检仪器有限公司;高效液相色谱仪 Waters Alliance e2695、附紫外检测器,美国 Waters 科技有限公司; AA700 型原子吸收分光光度计,日本岛津公司; Star 精密型台式 pH 测量仪,美国赛默飞科技有限公司;高效冷冻离心机 3K15,德国 Sigma 公司; EVO 18 扫描电子显微镜,德国 Bruker 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 软糖、片剂和胶囊崩解时限测定

人工胃液按照《中国药典》2015年版的描述方法配制。按照《中国药典》2015年版第四部崩解时限检查法测定软糖、片剂和胶囊的崩解时限。

1.3.2 软糖、片剂和胶囊在模拟胃液中的消化特性

体外模拟消化方法参考文献^[10,11]报道,具体实验步骤如下:将软糖剪碎成大小约 5 mm×5 mm×5 mm 的小块放入 50 mL 离心管中,片剂和胶囊直接放入 50 mL 离心管中;离心管中加入 10 mL 人工胃液,在 37 °C、150 r/min 摇床中避光消化 2 h;分别在消化 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 min 时取样 20 μL,然后补充相同体积相同温度的胃液;取出的消化样品立刻加入 0.1 mL 0.2 mol/L 的 Na₂CO₃ 溶液以终止消化,并置于沸水浴中煮沸 10 min 以灭酶活,4000 r/min 离心 10 min,上清液稀释,后过 0.45 μm 滤膜,滤液供后续测试。空白对照组为人工胃液。实验平行进行 3 次。软糖在胃液中功效成分的累计释放率通过(1)式计算:

$$\text{累计释放率(\%)} = \frac{C_n V_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_s}{m} \times 100\%$$

式中: C_n 为第 n 次取样时释放体系中的成分浓度, μg/mL; V 为释放体系的总体积, mL; C_i 为第 i 次取样时体系中的成分浓度, μg/mL; V_s 为每次取样的体积, mL; m 为样品中的成分总含量。

1.3.3 功效成分测定方法

1.3.3.1 维生素C的测定

参照 GB 5009.86-2016 食品中抗坏血酸的测定。流动相: A: 6.8 g 磷酸二氢钾和 0.91 g 十六烷基三甲基溴化铵,用水溶解并定容至 1 L (用磷酸调 pH 至 2.5~2.8); B: 100% 甲醇。按 A:B=98:2 混合,过 0.45 μm 滤膜,超声脱气。色谱条件: 流动相流速: 0.7 mL/min; 色谱柱温度: 25 °C; 检测波长: 265 nm; 进样体积: 20 μL。标准曲线: y=0.00002x+0.2832;

$R^2=0.9997$ 。

1.3.3.2 钙的测定

参照 GB 5009.92 食品中钙的测定。采用 AA700 型原子吸收分光光度计钙的含量。仪器条件：波长：422.7 nm；狭缝：1.3 nm；灯电流：5~15 mA；空气流量：9 L/min；乙炔流量：2 L/min。标准曲线： $y=23.002x-1.4353$ ； $R^2=0.9989$ 。

1.3.4 软糖扫描电镜观察

将维生素 C 和钙软糖在胃液中消化 15 min 后，切 1 mm 薄片，置于冷冻干燥机内冻干 48 h 备用。制备是将样品固定在样品台上，采用离子溅射方法镀金（15 kV、15 mA、1.5 min）。测试时将样品置于扫描电镜中，加速电压 20 kV，然后观察并拍摄样貌。

1.3.5 膳食成分对软糖在模拟胃液中消化特性的影响

软糖剪碎成 5 mm×5 mm×5 mm 的小块，将小块软糖和对照品放入 50 mL 离心管中，加入 10 mL 人工胃液，分别加入 5% (W/W) 淀粉、5% 大豆蛋白、5% 大豆油，消化 2 h 后测定功效成分的释放率。

1.3.6 数据统计分析

数据结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示，使用 origin 8.0 统计软件。

2 结果与讨论

2.1 软糖及其对照品在胃液中的消化

崩解时限是片剂、胶囊和滴丸制剂的重要控制指标，反映了制剂在模拟胃液中样品完整性破坏所需要的时间^[12]。崩解实验结果显示，片剂和胶囊的崩解时限均在 10 min 以内，软糖的崩解时限比片剂和胶囊长 ($p<0.001$)。不同结构组成的软糖崩解时限差别较大，维生素 C 软糖的崩解时限较长，为 155 min，钙软糖则在 22 min 已崩解完全。

崩解时限代表在模拟胃液中样品完整性破坏所需要的时间。软糖在崩解的过程中，其包裹的功效成分逐步释放。本研究采用体外模拟消化法分别对钙软糖和维生素 C 软糖功效成分的释放特性进行研究，并与的片剂和胶囊剂进行对比。考虑到胃排空时间为 2 h，因此考察功效成分 2 h 内在模拟胃液中的释放特性。

图 2，3 分别为维生素 C 软糖和钙软糖及其对照品在模拟胃液中的消化浓度和释放率，结果显示，片剂在 10 min 内功效成分释放完全，结合崩解实验结果，表明片剂在 10 min 结构完全崩解，功效成分完全释出。而胶囊在前 5 min 胶壳尚未崩解，不释放成分，在 5~10 min 内胶壳崩解，其内功效成分快速溶出至释放完全。

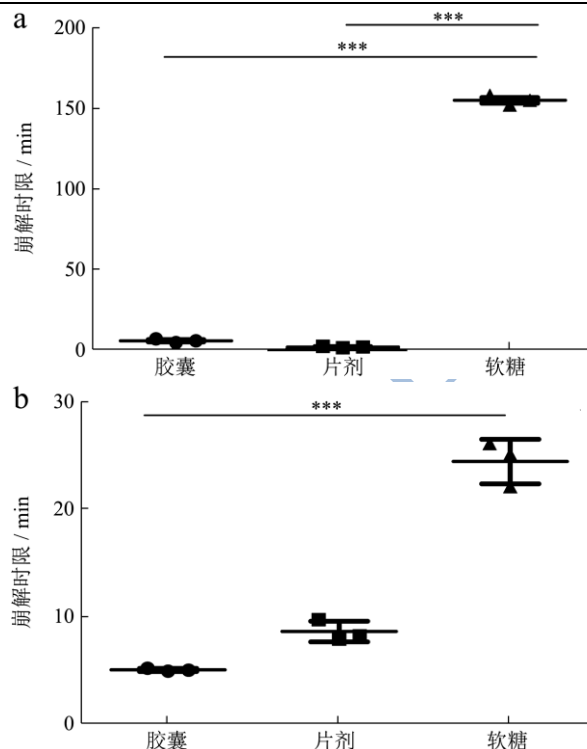


图1 维生素 C 软糖 (a) 和钙软糖 (b) 及其对照品的崩解时限
Fig.1 Release time of calcium gummy (a), vitamin C gummy (b) and control products

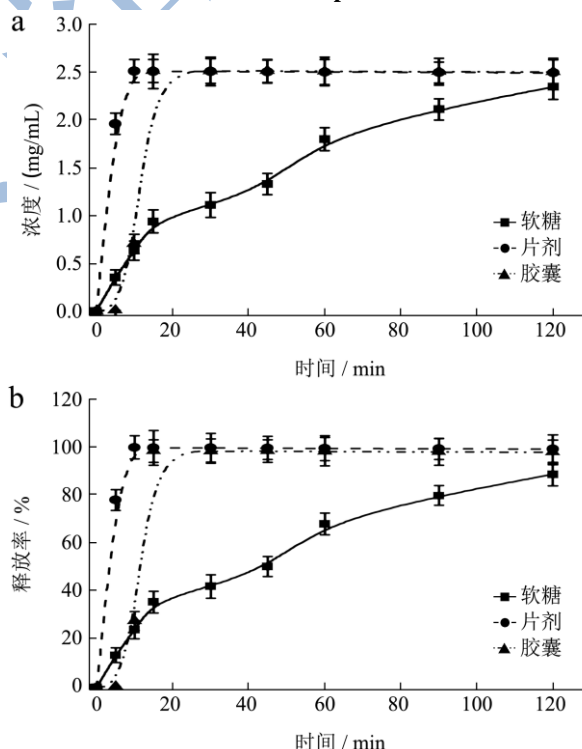


图2 维生素 C 软糖及其对照品在胃液中的消化浓度 (a) 和累积释放率 (b)

Fig.2 Digestive concentration (a) and cumulative release rate (b) of vitamin C gummy and its control in gastric juice

软糖体外模拟消化实验结果显示，维生素 C 软糖功效成分在 2 h 内逐步释放，2 h 内维生素 C 的释放率

为 93.6%。钙软糖功效成分释放相对较快, 在 30 min 释放率达 100%。可见, 钙软糖的释放速度比维生素 C 软糖快。研究表明, 软糖的释放比片剂和胶囊缓慢, 并且软糖结构不同, 释放速度差别较大。维生素 C 软糖的崩解时限和在模拟胃液中的完全释放时间超过了 2 h, 表明其在模拟胃液中具有一定的缓释特性。

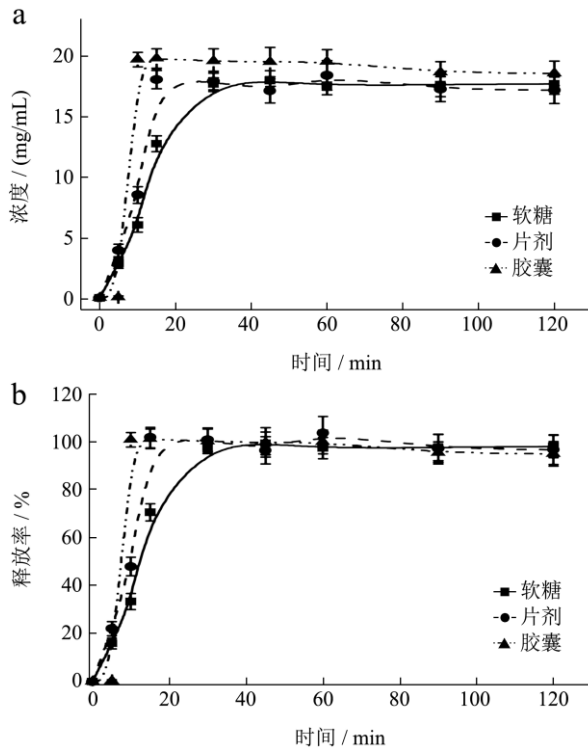


图3 钙软糖及其对照品在胃液中的消化浓度 (a) 和释放率 (b)

Fig.3 Digestive concentration (a) and cumulative release rate (b) of calcium gummy and its control in gastric juice

2.2 软糖微观结构表征和功效成分的释放动力学拟合方程

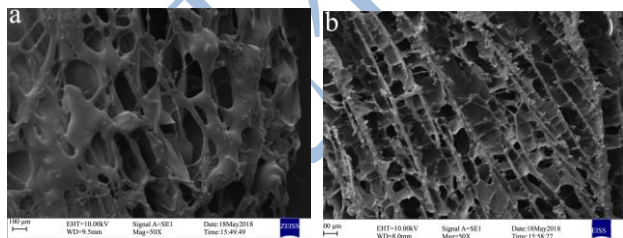


图4 维生素 C (a) 软糖和钙软糖 (b) 的扫描电镜图

Fig.4 SEM image of vitamin C gummy (a) and calcium gummy (b)

为了更深入研究软糖在胃液中的释放原理, 本研究对软糖在消化中的微观结构进行表征, 结果如图 4 所示, 两种软糖胶体都呈现基本的胶体网状结构, 但网络结构的形态并不相同, 维生素 C 软糖胶体的网络结构比较致密、网架粗、交联点多, 而钙软糖胶体的

网络结构比较疏松、网架细、交联点少。在消化过程中, 功效成分从胶体网络骨架中释出。两种软糖的骨架材料不同, 其中维生素 C 软糖为明胶和琼脂交联而成, 而钙软糖由纯明胶制成, 由此形成了不同的胶体网络结构, 因此认为两种软糖骨架结构上的不同影响了功效成分的消化释放速度。软糖胶体的网状结构可以包裹活性成分, 保持功效成分的稳定性, 通过胶基的恰当选择, 可以减缓溶出速度, 达到缓释的目的。缓释剂克服了片剂和胶囊剂功效成分进入体内后浓度波动较大, 出现“峰谷”现象的缺点, 能够维持功效成分平缓的吸收, 避免浓度波动较大而带来的不良反应^[13,14]。理想的控释剂体外释放速率应符合零级动力学过程, 即恒速释放, 但在实际控释制剂的研制中, 由于制剂的缓释性能受多种因素的影响, 能够达到零级释放的却很少见。

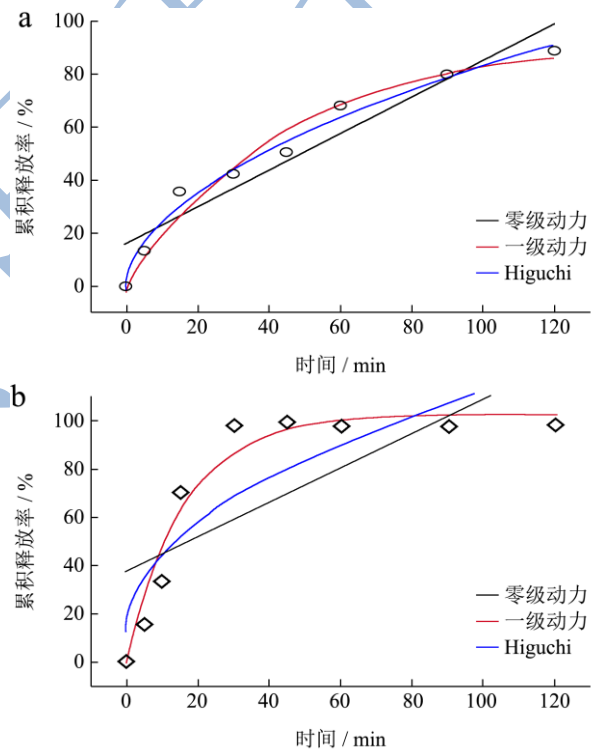


图5 维生素 C 软糖 (a) 和钙软糖 (b) 在模拟胃液中的释放动力学模型拟合

Fig.5 Release dynamics model fitting of vitamin C gummy (a) and calcium gummy (b) in gastric juice

对溶出扩散或骨架扩散体外释放通常用零级动力学模型($Q=a+bx$), 一级动力学模($\ln(1-Q)=a+bx$), Higuchi 模型($Q=a+bx^{1/2}$)拟合^[15,16], 本研究中利用 origin 对软糖的功效成分释放进行零级动力学、一级动力学和 Higuchi 三种模型拟合, 来建立软糖中有效成分在模拟胃液中释放动力学方程, 结果如图 5 及表 2 所示。相关系数 R^2 数值显示 (表 2), 维生素 C 软

糖的模拟释放动力以 Higuchi 的拟合效果最好，符合骨架型缓释制剂规律，而钙软糖的释放动力则以一级动力拟合最佳，这可能是因为钙软糖的胶体为明胶及其用量所决定。由此推测软糖在模拟胃液中有有效成分的释放过程中，即软糖消化时，首先在固液界面之间形成一功效成分饱和层，扩散层的物质因浓度差扩散进入溶媒，形成溶液，消化过程表现在固液界面进行溶解作用和随后功效成分的扩散，模拟胃液的释放过程如图 6 所示。

表 2 软糖功效成分释放动力学模型拟合

Table 2 The kinetic model fitting of the release active components of gummy

components of gummy			
样品	模型	拟合方程	R ²
维生素 C 软糖	零级动力	$y=0.6932x+15.696$	0.9001
	一级动力	$\ln(100-y)=$	0.9751
		$-0.0172x+4.5465$	
Higuchi	$y=8.406x^{1/2}-1.7882$	0.9855	
钙软糖	零级动力	$y=0.7165x+37.93$	0.5400
	一级动力	$\ln(100-y)=$	0.9546
		$-0.0696x+4.6792$	
Higuchi	$y=9.9462x^{1/2}+12.9269$	0.7319	

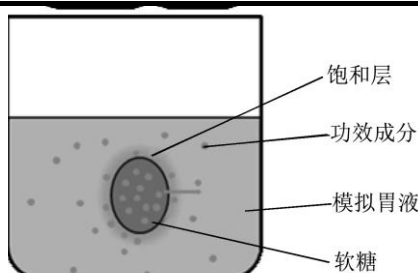


图 6 软糖功效成分模拟胃液释放模拟图

Fig.6 Simulated gastric juice release of active ingredients of gummy

2.4 膳食成分对软糖消化特性的影响

软糖在食用消化过程中，往往会与其他膳食成分一起被消化，因此考察了膳食成分淀粉、蛋白质、油脂在消化过程中对软糖中功效成分释放的影响。图 7a, c 显示，当模拟胃液中含有 5% 淀粉时，维生素 C 软糖的崩解时限增加 ($p<0.01$)，模拟胃液中含有 5% 蛋白质、5% 油脂时，维生素 C 软糖的崩解时限与纯胃液相比没有显著性差异。

此外，消化 2 h 后，维生素 C 软糖在含 5% 淀粉的胃液中维生素 C 的释放率比纯胃液中明显降低 ($p<0.001$)。这可能是因为淀粉在模拟胃液中可形成分子内或分子间交联结构，从而减缓了软糖的消化速度。从图 7b, d 中可以看出，含 5% 淀粉、5% 蛋白质

和 5% 油脂的胃液对钙软糖的消化特性均没有显著影响，这可能是钙软糖在模拟胃液中崩解速率比较快。

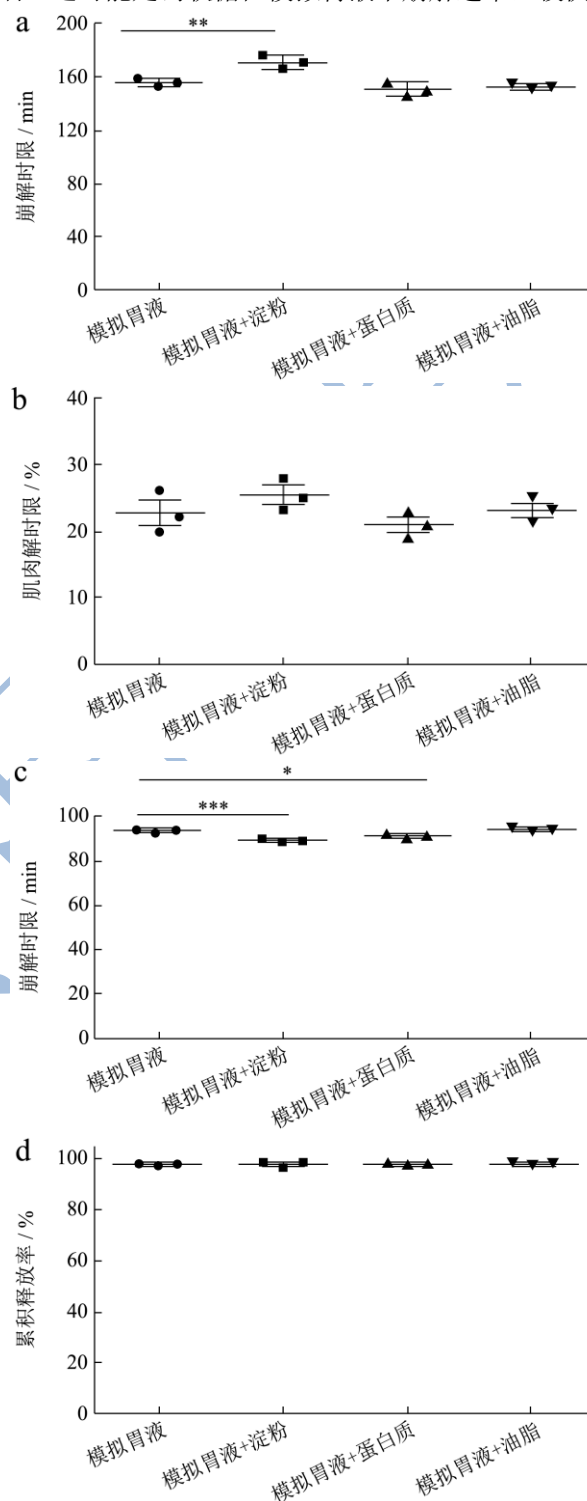


图 7 膳食成分对维生素 C 软糖 (a) 和钙软糖 (b) 崩解时限的影响；膳食成分对维生素 C 软糖 (c) 和钙软糖 (d) 释放度的影响

Fig.7 Effects of dietary components on release time of vitamin C gummy (a) and calcium gummy (b); effects of dietary components on release rate of vitamin C gummy (a) and calcium gummy (b)

3 结论

本实验采用体外模拟消化法分别对钙软糖和维生素 C 软糖、片剂和胶囊的消化释放特性进行研究。与片剂、胶囊相比 (10 min), 软糖崩解时限明显延长, 特别是维生素 C 软糖, 其崩解时限达到 155 min, 钙软糖的崩解时限为 22 min。软糖的功效成分在模拟胃液中释放特性也不同于传统的片剂与胶囊剂, 维生素 C 软糖功效成分在 2 h 内逐步释放, 2 h 内维生素 C 的释放率为 93.6%。钙软糖功效成分释放相对较快, 在 30 min 内完全释放。两种软糖的释放动力学模型拟合结果表明, 维生素 C 软糖的释放动力以 Higuchi 的拟合效果最好, 符合骨架缓释剂释放规律, 而钙软糖的释放动力则以一级动力拟合最佳。模拟胃液中含 5% 淀粉时会减缓维生素 C 软糖成分的释放, 其它膳食成分对其释放没有显著影响。钙软糖在模拟胃液中的消化释放特性不受膳食成分的影响。

参考文献

- [1] 逢晓枫, 刘晓莉. “毒胶囊”事件关联行为之刑法定性研究[J]. 东北师大学报, 哲学社会科学版, 2014, 4: 79-84
PANG Xiao-feng, LIU Xiao-li. Study on the quality of criminal law of the “poison capsule” event correlation behavior [J]. Journal of Northeast Normal University (Philosophy and Social Sciences), 2014, 4: 79-84
- [2] 徐晓飞, 陈少洁, 刘玮, 等. 不同来源明胶软糖质构的研究[J]. 中国食品添加剂, 2017, 11: 107-112
XUE Xiao-fei, CHEN Shao-jie, LIU Wei, et al. Texture of gelatin gummy from different sources of gelatin [J]. China Food Additives, 2017, 11: 107-112
- [3] 刘谋泉, 孔美兰. 我国功能糖果研究现状及发展趋势[J]. 农产品加工 (上半月), 2015, 10: 47-50
LIU Mou-quan, KONG Mei-lan. The present situation and development trend on the functional confectionery [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2015, 10: 47-50
- [4] 赵梅, 张晶, 甄天元. 橙皮保健软糖的研制[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(11): 137-140
ZHAO Mei, ZHANG Jig, ZHEN Tian-yuan. Study on the processing technology of orange peel soft sweet [J]. Food Research and Development, 2012 33(11): 137-140
- [5] 段善海, 缪铭. 甘草保健软糖的研制[J]. 食品工业科技, 2004, 9: 111-113
DUAN Shan-hai, MIU Ming. Development of a *Glycyrrhiza* soft sweets with healthy functions [J]. Science and Technology of Food Industry, 2004, 9: 111-113
- [6] 黄小红, 邓开野. 火龙果保健软糖的研制工艺研究[J]. 广东农业科学, 2010, 37(7): 136-137
HUANG Xiao-hong, DENG Kai-ye. Study on technology of *Pitaya* soft sweets [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(7): 136-137
- [7] 张雁, 钟明, 张名位. 青梅营养保健软糖的研制[J]. 食品工业科技, 2002, 23(11): 96-97
ZHANG Yan, ZHONG Ming, ZHANG Ming-wei. Development of green plum soft sweets with nutritional and health function [J]. Science and Technology of Food Industry, 2002 23(11): 96-97
- [8] 陈宪仪. 创新功能型软糖的研制[J]. 食品科技, 2000, 4: 26-28
CHEN Xian-yi. Pyeparation of a new functional soft sweets [J]. Food Science and Technology, 2000, 4: 26-28
- [9] 陈吉江, 王立艳, 丁庆波, 等. 功能性无糖凝胶软糖的研制[J]. 食品研究与开发, 2016, 1: 68-71
CHEN Ji-jiang, WANG Li-yan, DING Qing-bo, et al. Study on functional sugar-free gelatinized confections [J]. 2016, 1: 68-71
- [10] Hur S J, Lim B O, Decker E A, et al. *In vitro* human digestion models for food applications [J]. Food Chemistry, 2011, 125(1): 1-12
- [11] Mc Clements David, JU lian, LI Yan. Review of *in vitro* digestion models for rapid screening of emulsion-based systems [J]. Food Funct, 2010, 1(1): 32-59
- [12] 李少霞, 李海, 连晓文. 片剂、胶囊型保健食品的崩解时限检测[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(3): 298-299
LI Shao-xia, LI Hai, LIAN Xiao-wen. Determination of time limit for disintegration of health foods of tablet or capsule [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2004 14(3): 298-299
- [13] Foox M, Zilberman M. Drug delivery from gelatin-based systems [J]. Expert Opinion on Drug Delivery, 2015, 12(9): 1547-1563
- [14] LIU Lin-shu, Fishman Marshall L, Kost Joseph, et al. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route [J]. Biomaterials, 2003, 24(19): 3333-3343
- [15] J B Schwartz, A P Simonelli A P, W I Higuchi. Drug release from wax matrices. I. Analysis of data with first-order kinetics and with the diffusion-controlled model [J]. Journal of pharmaceutical sciences, 1968, 57(2): 274-277
- [16] 程建明, 陈新民, 彭稳稳, 等. 丹黄凝胶体外释放和经皮渗透特性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18: 24-28
CHENG Jian-ming, CHEN Xin-min, PENG Wen-wen, et al.

Investigation of *in vitro* release and transdermal permeability characteristics of Danhuang gel [J]. Chinese Journal of

Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18: 24-26

现代食品科技