

不同线性糊精基 DHA 微胶囊结构和性质的比较

赵培静¹, 蒋丽婷¹, 李小凤¹, 王春艳^{2*}, 温晓梅², 刘宏生³

(1. 广东省华微检测股份有限公司, 广东广州 510663) (2. 广州辐锐高能技术有限公司, 广东省工业钴-60 伽玛射线应用工程技术研究中心, 广东广州 511458) (3. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 该研究采用高直链玉米淀粉为原料, 经盐酸和普鲁兰酶改性后制备得到具有不同链长分布的线性糊精聚集物, 并构建二十二碳六烯酸 (Docosahexaenoic Acid, DHA) 微胶囊, 系统研究了链长分布对微胶囊有序结构、包埋效率、氧化稳定性及抗消化性的影响。研究表明, 酸解 0~96 h 后, 线性糊精聚集物中中链线性糊精 (聚合度大于 100) 的比例从 95.22% 减少到 65.76%, 而短链线性糊精 (聚合度 10~100) 比例由 4.62% 提高到 33.73%。微胶囊的短程有序结构含量随着短链线性糊精占比的增加而提高, 说明降低链长有利于线性糊精-DHA 络合物与双螺旋结构的形成。随着短链线性糊精含量的增加, 微胶囊中 V 型结晶结构含量从 1.18% 逐渐增加到 8.44%, 而 B 型结晶结构含量则从 7.84% 降低为 2.57%。线性糊精聚集物含有 22.17% 的短链线性糊精和 77.46% 的长链线性糊精时, 微胶囊表现出最佳的包埋效率、氧化稳定性和抗消化性。结果表明, 可通过缩短线性糊精分子链长来促进双螺旋结构和线性糊精-DHA 络合物的形成, 进而改善 DHA 微胶囊的性能。

关键词: 链长分布; 线性糊精聚集物; DHA; 微胶囊

文章编号: 1673-9078(2023)04-172-179

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.0675

Comparison of Structure and Properties of Different Linear Dextrin-based DHA Microcapsules

ZHAO Peijing¹, JIANG Liting¹, LI Xiaofeng¹, WANG Chunyan^{2*}, WEN Xiaomei², LIU Hongsheng³

(1. Guangdong Huawei Testing Co. Ltd., Guangzhou 510663, China) (2. Guangzhou Furui High Energy Technology Co. Ltd., Guangdong Industrial ⁶⁰Co Gamma Ray Application Engineering Technology Research Center, Guangzhou 511458, China) (3. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Linear dextrin aggregates comprising different chain length distributions were prepared from high-amylose corn starch modified using hydrochloric acid and pullulanase. Docosahexaenoic acid (DHA) microcapsules were prepared, and the effects of chain length distribution on the ordered structure, encapsulation efficiency, oxidation stability and digestion resistance of the microcapsules were systematically studied. The results showed that the proportion of long-chain linear dextrin (degree of polymerization > 100) in the linear dextrin aggregates decreased from 95.22% to 65.76%, whereas the proportion of short-chain linear dextrin (degree of polymerization: 10~100) increased from 4.62% to 33.73% after 0~96 h of acid hydrolysis. The content of short-range ordered structures in the microcapsules increased with the proportion of short-chain linear dextrin, indicating that reducing the chain length is beneficial to the formation of the linear dextrin-DHA complex and double helix structures. The content of V-type crystal structure in microcapsules gradually increased from 1.18% to 8.44% with the increase in short-chain linear dextrin content, whereas the content of B-type crystal structure decreased from 7.84% to 2.57%. Linear dextrin aggregates that contained 22.17% short-chain linear dextrin and 77.46% long-chain linear dextrin produced microcapsules with the best encapsulation efficiency, oxidation stability, and digestion resistance. The results showed that the formation of the double helix structure and the linear dextrin-DHA

引文格式:

赵培静, 蒋丽婷, 李小凤, 等. 不同线性糊精基 DHA 微胶囊结构和性质的比较[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 172-179.

ZHAO Peijing, JIANG Liting, LI Xiaofeng, et al. Comparison of structure and properties of different linear dextrin-based DHA microcapsules [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(4): 172-179.

收稿日期: 2022-05-27

基金项目: 国家自然科学基金项目 (22178124); 111 项目 (B17018); 广州市科技计划项目 (202102080150)

作者简介: 赵培静 (1980-), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 食品微生物研究与应用, E-mail: Zhaopeijing@gdhvt.com

通讯作者: 王春艳 (1992-), 女, 硕士, 研究方向: 食品科学技术, E-mail: chunyan_king33@126.com

complex can be promoted by shortening the molecular chain length of linear dextrin, thereby improving the performance of DHA microcapsules.

Key words: chain length distribution; linear dextrin aggregate; DHA; microcapsule

二十二碳六烯酸 (Docosahexaenoic Acid, DHA) 主要来源于海洋微藻类及深海鱼油, 被认为是最重要的 ω -3 多不饱和脂肪酸^[1]。由 DHA 制备得到的膳食补充剂具有健脑、护肾和预防心血管疾病等诸多健康功效^[2], 相关产品主要包括可以掩盖腥味的软胶囊以及提供咀嚼感的片剂, 此类产品经口腔和胃酸的作用会导致 DHA 提前释放, 并使其在抵达靶器官 (小肠) 前失去部分生物活性。此外, 作为一种多不饱和脂肪酸, DHA 极易在加工贮藏过程中受光照、氧气和高温等影响氧化生成醛酮类物质, 从而导致一系列潜在的食品质量和安全问题, 这很大程度上阻碍了其加工应用。

微胶囊化是一种以性能稳定的高分子材料作为壁材, 将具有生物活性功能的芯材 (固体颗粒、液滴或气体) 包封, 进而形成呈半透性或密封性微型胶囊的封装技术^[3], 其具备高商业价值并已广泛应用于食品、医药和日化等行业^[4]。微胶囊化技术可为 DHA 构建稳定的物理屏障^[5], 是解决其易氧化酸败等应用难题的有效手段。

淀粉作为来源丰富的天然聚合物材料, 价格低廉且具有独特的直链淀粉分子结构, 可有效络合 DHA 从而提供特殊的益生功能。由直链淀粉组分脱分枝制备得到的线性聚合物, 即线性糊精分子, 具有更小的空间位阻及显著提升的分子络合能力, 常被用作营养物或药物补充剂的载体, 并实现生物小分子的活性保护、缓慢释放及靶向递送。基于线性糊精分子与 DHA 发生络合作用的机制开发微胶囊, 可提高 DHA 贮藏稳定性, 并实现其在小肠的靶向释放^[6]。研究发现, 线性糊精分子的链长对其络合能力有很大影响。Luo 等^[7]报道, 短链线性糊精的分子量分布越广泛, 越倾向于形成线性糊精-软脂酸络合物。此外, Gelders 等^[8]研究表明, 随着链长的增加, 线性糊精-脂肪酸络合物的相对结晶度呈现先升高后降低的趋势。由不同链长分布的线性糊精制备得到的微胶囊在性能上可能存在显著差异, 然而现有研究工作主要聚焦在微胶囊宏观性能的表现, 目前尚不清楚线性糊精分子链长如何影响 DHA 微胶囊的性能。

本文将通过酸和酶对线性糊精聚集体 (Linear Dextrin Aggregates, LDAs) 的链长分布进行精准调控, 构建具有高包埋效率、氧化稳定性及抗消化性的淀粉基 DHA 微胶囊, 并探究链长分布对 LDAs 中线性糊精分子的有序聚集行为的影响, 研究结果将为新型淀

粉基 DHA 微胶囊的开发提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

高直链淀粉玉米淀粉 (High Amylose Corn Starch, HACS) (85% 直链淀粉) 由澳大利亚 Penford 公司提供, DHA、普鲁兰酶 (1 000 U/g)、胃蛋白酶 (3 000 U/mg) 和胰酶 (130 U/mg) 均购自 Sigma 公司, 其它化学品均为分析纯。

1.2 仪器与设备

FE20 数显 pH 计, 上海 Mettler Toledo 有限公司; FJ300-SH 高速分散均质机, 上海沪析实业有限公司; ZLGJ-18 冷冻干燥机, 上海利亚蒙制冷科技有限公司; Waters SEC-DRI 尺寸排阻色谱仪, Tensor 37 傅里叶变换红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; D8A A25 X-射线衍射仪, 德国 Bruker 公司。

1.3 方法

1.3.1 不同链长分布 LDAs 的制备

不同链长分布 LDAs 的制备参考并修改了 Yan 等^[9]方法, 具体步骤和参数设置如下。首先, 将 HACS 与 2 mol/L 的盐酸按 1:5 的质量-体积比例进行混合, 分别反应 0、24、48、72 和 96 h。将过滤得到的沉淀物与蒸馏水混合后, 利用高速离心机在 7 500 r/min 转速条件下离心 6 min, 随即分离得到的上清液和沉淀物。重复上述离心过程直至上清液的 pH 值为 7.0, 通过冷冻干燥初步得到非线性糊精。

对糊精进行充分糊化, 参考并改进了 Chang 等^[10]的方法。本实验将糊精与磷酸盐缓冲剂 (pH 值 4.5) 混合配制成浓度为 1% (m/V) 的乳液, 并在 98 °C 条件下持续搅拌 2 h。再转移到 121 °C 的高压灭菌锅中处理 1 h, 待自然冷却至 60 °C 后, 加入普鲁兰酶 (10 U/g 非线性糊精), 并在 800 r/min 转速下搅拌 4 h。为了使糊精完全脱支, 本实验的酶解时间相比于 Wu 等^[11]延长了 1 h。随后, 将酶解液在 95 °C 下持续搅拌至少 20 min 使酶失活, 并将底部变性沉淀的酶去除。

最后, 将酶解产物加入 10 倍体积的乙醇中, 然后在 9 000 r/min 转速下将混合物离心 15 min, 冷冻干燥得到 LDAs。在本研究中, LDA0、LDA24、LDA48、LDA72 和 LDA96 分别由 HACS 经盐酸水解 0、24、

48、72 和 96 h 制备得到。

1.3.2 线性糊精聚集物的链长分布测定

利用尺寸排阻色谱对 LDAs 的链长分布进行表征前, 采用普鲁兰酶对样品进行脱分枝(同 1.3.1)。首先将 LDAs 溶解在 0.5% (m/V) 的 DMSO/LiBr 溶液中, 浓度为 4 mg/mL。选用三种色谱柱(分别为 GRAM pre-column、GRAM 100 和 GRAM 3000 柱)进行测定, 设定运行温度为 80 °C, 流速为 0.3 mL/min。采用已知平均分子量(180~1 220 000 u)的线性普鲁兰标准品, 结合聚合物的 Mark-Houwink 方程进行校准。

$$V_h = \frac{2}{5} \times \frac{k}{N_A} \times M^{(1+\alpha)} \quad (1)$$

式中:

V_h ——水动力学体积, dL;

N_A ——阿伏伽德罗常数;

k 和 α ——马克-霍温克参数(仅与聚合物种类、溶剂种类和温度有关), 当普鲁兰标准品溶解在 80 °C 的 DMSO/LiBr 中时, 二者分别为 2.424×10^{-4} dL/g 和 0.6^[12,13];

M ——相对分子质量 g/mol。

通过尺寸排阻色谱检测给出了聚合物的重量分布作为分子大小(由水动力学半径 R_h 表示)的函数, 记为 $w(\log R_h)$ 。对于线性聚合物, 如线性糊精的 R_h 和 M_w 之间有独特的关系, 因此重量分布可以作为 DP(记为 X) 的函数。对线性糊精来说, $N_{dc}(X)$ (给定 X 的线性糊精的数量分布) 和重量分布之间存在这这的关系: $w(\log X) = X^2 \times N_{dc}(X)$ 。用已知标准品和 Mark-Houwink 方程进行校正, 得到了 LDAs 洗脱时间与分离参数(R_h 和 X) 之间的关系^[14]。

1.3.3 DHA 微胶囊的制备

微胶囊的制备引用并修改了 Park 等^[15]方法, 具体步骤如下。

精确称取 1.000 g 冷冻干燥的 LDAs 粉末, 加入到 100 mL 蒸馏水中配成 1% (m/V) 的乳液。经超声波辅助加热(60 °C) 10 min 以初步破碎团聚的小颗粒, 再将 LDAs 于高温高压(121 °C, 0.15 MPa) 条件下糊化 1 h 使分子链充分展开, 随后将乳液快速冷却到 60 °C。最后在 10 000 r/min 的剪切环境下, 用恒流泵控制 DHA (50 mg) 以 2.5 mg/min 的流速缓慢加入乳液中, 最后在 7 500 r/min 转速下离心 10 min 得到沉淀物, 将其冻干后得到 DHA/LDA 微胶囊, 分别记为 DHA/LDA0、DHA/LDA24、DHA/LDA48、DHA/LDA72 和 DHA/LDA96。

1.3.4 傅里叶红外光谱分析

设定扫描范围为 4 000~650 cm^{-1} , 分辨率为 8 cm^{-1} 并记录样品的透射率, 扫描次数为 32 次, 扫描间隔为

2 cm^{-1} 。采用 Omnic 8.2 软件, 基于洛伦兹函数对特定波数范围(1 075~950 cm^{-1}) 光谱的吸光值进行去卷积化处理, 定性分析其短程有序性。设定参数半宽峰为 25 cm^{-1} , 增强因子为 2.0, 计算 1 047 cm^{-1} /1 022 cm^{-1} 和 1 022 cm^{-1} /995 cm^{-1} 吸光值强度的比值。

1.3.5 X 射线衍射谱图分析

检测射线源为铜靶 Cu-K α (波长 0.154 nm), 设定扫描范围、扫描速率分别为 5~30° (2 θ)、1.5 °/min, 在 40 kV 电压和 40 mA 电流的工作条件下获得样品的衍射谱图^[16]。

1.3.6 微胶囊包埋效率的测定

微胶囊包埋效率的表征参考了 Firtin 等^[17]方法。本实验采用了更低的料液比, 使有机试剂对表面 DHA 和总 DHA 的提取更充分, 具体步骤和条件参数如下。

精确称取 1.000 0 g 左右 (m_1) 的微胶囊样品, 转移至盛有 30 mL 正己烷的锥形瓶中, 轻轻摇晃 1 min 以提取微胶囊的表面 DHA。立即过滤并将洗脱后的微胶囊置于通风柜中, 在 70 °C 温度下油浴 30 min 以蒸发去除表面残留的正己烷, 最后称量微胶囊的质量为 m_2 , m_1 与 m_2 的差值即为表面油质量。将 m_1 微胶囊置于含有 200 mL 石油醚的索氏提取装置中并在 60 °C 下回流 2 h, 记录微胶囊的质量 m_3 , 而 $m_1 - m_3$ 即为总 DHA 质量。按下列公式对微胶囊的包埋率进行计算:

$$E = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

E ——包埋率, %;

M_1 ——微胶囊的总 DHA, mg;

M_2 ——微胶囊的表面 DHA, mg。

1.3.7 微胶囊的加速氧化实验

将微胶囊置于 45 °C 恒温恒湿箱中贮藏 7 d, 定期测定其过氧化值 (mEq/kg oil), 具体操作参考 Can 等^[18]的研究方法, 其中总 DHA 按照方法 1.3.6 进行提取。

1.3.8 微胶囊的抗消化性

微胶囊抗消化性的测量方法基于 Brodtkorb 等^[19]使用的 INFOGEST 模型, 其中模拟唾液、胃液和肠液等试剂的配制和具体操作详见引证文献。

精确称取 1.000 0 g 微胶囊样品, 经模拟唾液和胃液消化后加入到模拟肠液中。在 0、20、120 min 和过夜后, 分别取 200 μL 上清液与 800 μL 0.3 mol/L 碳酸钠溶液混合以停止酶解反应, 随即以 10 000 r/min 转速离心 10 min, 并取 100 μL 的上清液, 采用 PAHBAH 法测定还原糖含量^[20]。计算得到各取样点的还原糖释放量 M_0 、 M_{20} 、 M_{120} 和 M_{\max} , 并根据快消化淀粉 (Rapidly Digestible Starch, RDS)、慢消化淀粉 (Slowly Digestible

Starch, SDS) 和抗性淀粉 (Resistant Starch, RS) 的定义分别计算各含量, 公式如下所示。

$$RDS = \frac{M_{20} - M_0}{M_{\max}} \times 100\% \quad (3)$$

$$SDS = \frac{M_{120} - M_{20}}{M_{\max}} \times 100\% \quad (4)$$

$$RS = 1 - RDS - SDS \quad (5)$$

式中:

RDS——快消化淀粉含量, %;

SDS——慢消化淀粉含量, %;

RS——抗性淀粉含量, %;

M_0 、 M_{20} 、 M_{120} 和 M_{\max} ——分别为 0、20、120 min 和过夜后测定的还原糖质量浓度, mg/mL。

1.3.9 数据统计分析

所有测量均进行三次独立平行实验, 结果以平均值±标准差来表示。使用 SPSS Statistics 25.0 软件对实验数据进行统计学分析。在 5% 的显著性水平下, 采用 Duncan 多量程检验比较平均值, 当 $P < 0.05$ 表示结果的差异显著。

2 结果与分析

2.1 线性糊精聚集物的链长分布

图 1 给出不同线性糊精聚集物 (Linear Dextrin Aggregates, LDAs) 的最大聚合度 (Maximum Degree of Polymerization, DP_{\max}) 和平均聚合度 (Average Degree of Polymerization, DP_{avg})。结果表明, 仅脱分支处理的对照组 LDA0 的 DP_{\max} 为 20 000, 链长分布最宽, 这在之前的许多研究中均有报道^[21,22]。对于尺寸排阻色谱的检测结果而言, 一般认为 DP 在 100 以上的线性糊精分子来源于原淀粉的直链淀粉组分, 而 DP 小于 100 的线性糊精组分则是由支链淀粉侧链脱分支得到的^[23]。由图 1 可知, 随着水解时间的增加 DP_{\max} 逐渐变小, 从 LDA24 到 LDA96 依次为 6 000、2 000、1 500 和 1 000。此外, DP_{avg} 也逐渐降低, 依次为 814、486、290、206 和 139。这是由于酸性条件下长链线性糊精的 α -1,4 糖苷键断裂从而产生数量更多的短链线性糊精, 使得 LDAs 的分子链长向低 DP 集中。

为便于定量分析, 将 LDAs 的 DP 范围细分为三个 Fraction, 包括: Fraction I ($DP \geq 100$), Fraction II ($10 < DP < 100$) 以及 Fraction III ($1 \leq DP \leq 10$), 其各组分的比例如图 2 所示。LDA0 中 Fraction I 的百分含量高达 95.22%, Fraction II 检出为 4.62%, 而 Fraction III 仅为 0.16%。随着酸水解时间的增加, Fraction I 的

比例减少了近 1/3, 该组分含量在 LDA96 中仅为 65.76%, 而 Fraction II 的含量则呈上升趋势, 其在 LDA96 中的占比相比于 LDA0 提高了近 8 倍。Fraction III, 通常称为寡糖, 其在 LDA0 中占比极低, 仅为 0.16%。随着酸水解时间的增加, Fraction III 的含量从 0.16% 仅增加到 0.51%, 可能是蒸馏水洗脱导致大量冷水可溶的寡糖损失。综上, 随着水解时间的延长, LDAs 的 DP_{\max} 和 DP_{avg} 不断降低, 主要表现为 Fraction III 和 Fraction I 含量的减少以及 Fraction II 含量增加。

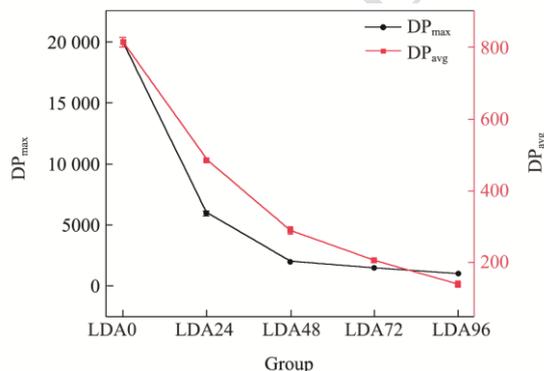


图 1 线性糊精聚集物 (LDAs) 的最大聚合度 (DP_{\max}) 和平均聚合度 (DP_{avg})

Fig.1 The maximum degree of polymerization (DP_{\max}) and average degree of polymerization (DP_{avg}) of linear dextrin aggregates (LDAs)

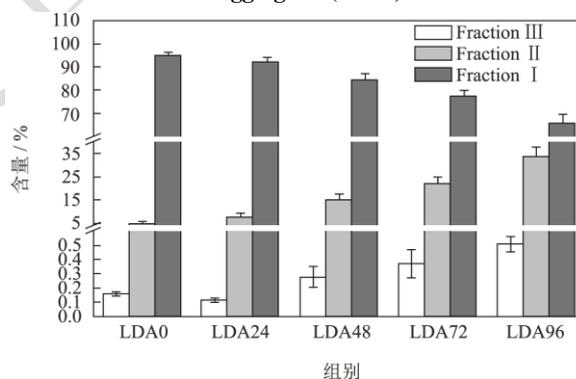


图 2 线性糊精聚集物 (LDAs) 的链长分布

Fig.2 Chain length distributions of linear dextrin aggregates (LDAs)

2.2 微胶囊的短程及长程有序结构

为分析 DHA/LDA 微胶囊的短程有序结构, 对 $1\ 075\sim 950\ \text{cm}^{-1}$ 波数范围内的傅里叶红外谱图进行去卷积化, 如图 3 所示, 并在表 1 中给出了不同微胶囊短程有序结构的参数, 包括 $1\ 047\ \text{cm}^{-1}/1\ 022\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 022\ \text{cm}^{-1}/955\ \text{cm}^{-1}$ 的吸光度比值 R_1 和 R_2 。结果表明, 从 DHA/LDA0 到 DHA/LDA72, R_1 和 R_2 分别增加和减少, 表明微胶囊的短程有序性逐渐提高, 说明缩短链长分布有利于形成线性糊精-DHA 络合物, 即 V-直

链淀粉结构以及双螺旋结构。然而, DHA/LDA96 的 R_1 和 R_2 值相比于 DHA/LDA72 均无显著 ($P < 0.05$) 变化, 表明缩短链长分布对微胶囊短程有序性的提高存在极限效应。

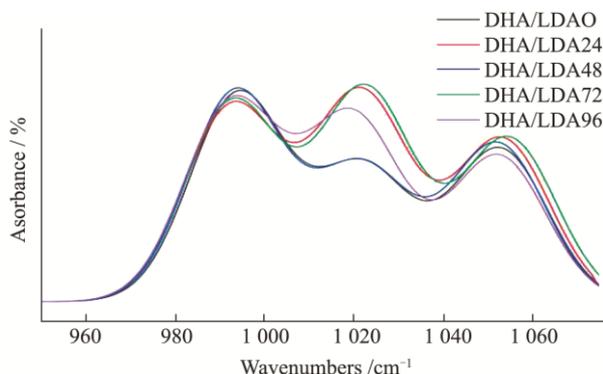


图3 微胶囊的傅里叶红外光谱图

Fig.3 FT-IR spectra of microcapsules

表1 短程有序性的结构参数

Table 1 Structural parameters of short-range orderliness

Samples	1 047 cm ⁻¹ /1 022 cm ⁻¹	1 022 cm ⁻¹ /955 cm ⁻¹
DHA/LDA0	0.65±0.01 ^c	1.08±0.02 ^a
DHA/LDA24	0.69±0.03 ^{bc}	1.08±0.01 ^a
DHA/LDA48	0.73±0.01 ^b	0.91±0.01 ^b
DHA/LDA72	1.02±0.05 ^a	0.67±0.01 ^c
DHA/LDA96	1.04±0.01 ^a	0.66±0.01 ^c

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

如图4所示, 给出了V型与B型的相对结晶度以及二者结晶度之比(V/B), 便于进一步分析DHA/LDA微胶囊的长程有序性。微胶囊 DHA/LDA24, DHA/LDA48, DHA/LDA72 和 DHA/LDA96 的 V/B 值分别为 1.17、1.59、2.67 和 3.29, 均大于 1, 表明其结晶结构主要为 V 型。DHA/LDA0 的 V/B 值仅为 0.150, 说明 LDAs 含较多的长链线性糊精分子 (Fraction I) 不利于线性糊精-DHA 络合物的有序堆积。这可能是长链线性糊精分子的空间位阻较大, 导致其与 DHA 的络合效果较差, 也可能是较宽的链长分布降低了络合物的同质性进而阻碍其有序堆积^[24]。

由图4可知, DHA/LDA 微胶囊的 B 型结晶度显著低于 LDAs 样品 ($P < 0.05$), 这是因为线性糊精-脂质络合物的形成会抑制线性糊精的重结晶^[25]。微胶囊的 B 型结晶度从 7.84% (DHA/LDA0) 逐渐降低到 2.57% (DHA/LDA96), 可能是大量的线性糊精分子与 DHA 组成了络合物, 导致能在回生过程中形成双螺旋结构的线性糊精分子数量减少。从 DHA/LDA0 到 DHA/LDA96, V 型结晶度从 1.18% 逐渐增加到 8.44%, 进一步说明了 LDAs 链长分布的变窄有利于线性糊精-DHA 络合物的有序堆积。

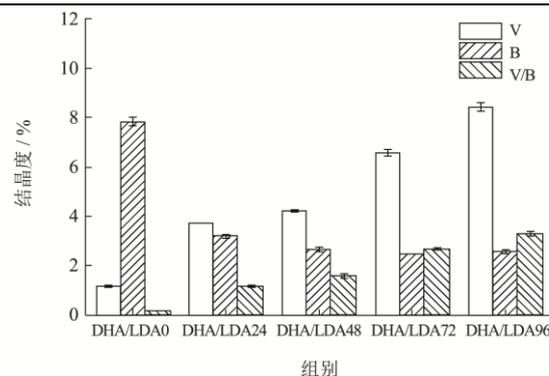


图4 微胶囊的相对结晶度

Fig.4 Relative crystallinities of microcapsules

2.3 微胶囊的包埋效率

理论上微胶囊中V型晶体占比越高则表示线性糊精-DHA 络合物含量越多, 即包埋效果越好, 然而微胶囊中存在大量未参与络合的 DHA, 仅以 V 型结晶度的高低来衡量包埋效果是不准确的。因此, 实验分别测定了微胶囊中 DHA 的总量及表面含量, 得出微胶囊的重要理化性能包埋效率, 如图5所示。

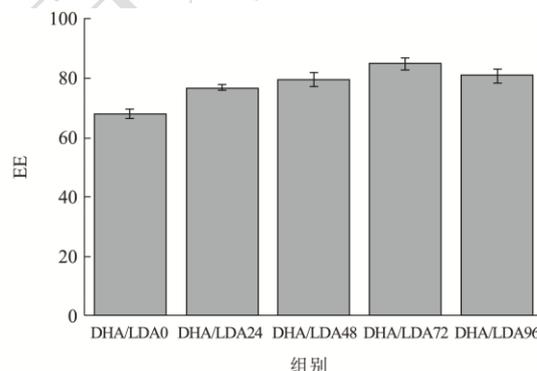


图5 微胶囊的包埋效率

Fig.5 Encapsulation efficiency of microcapsules

随着 LDAs 链长分布的缩短, 包埋效率由 68.07% (DHA/LDA0) 逐渐增加到 84.95% (DHA/LDA72)。根据有序结构的分析可知, 链长的缩短促进了微胶囊中线性糊精-DHA 络合物的形成和有序堆积, 导致被包封进微胶囊中 DHA 的数量增多, 在宏观上则表现为包埋效率的增加。然而 DHA/LDA0 的 V 型结晶度仅为 1.18%, 但其包埋效率却高达 68.07%。正如 Bertoft 等^[26]报道, 长链线性糊精分子倾向于形成多孔的空间网络, 且能够吸附大量小分子脂肪酸。对于 LDA96 壁材, 其较低的 Fraction I ($DP \geq 100$) 限制了空间网络结构的形成, 从而导致 DHA/LDA96 包埋效率 (80.84%) 显著 ($P < 0.05$) 低于 DHA/LDA72。综上所述, 当 LDAs 含有过量的 Fraction I ($DP \geq 100$) 或 Fraction II ($10 < DP < 100$) 均会降低微胶囊的包埋效果, LDAs 的最佳链长分布为 22.17% 的 Fraction II 和

77.46%的 Fraction I。

2.4 微胶囊的氧化稳定性

微胶囊在贮藏期间会生成醛酮类化合物，并且氧化速率与温度呈正相关，一般来说温度每提高 10 °C 氧化速率将提高一倍。为快速评价 DHA/LDA 微胶囊的氧化稳定性，将微胶囊置于 45 °C 恒温箱中贮藏 7 d，并分别在 0、1、3、5 和 7 d 测定过氧化值，如图 6 所示。

结果显示，微胶囊在第 0 d 的过氧化值分别为：1.88、1.69、1.78、1.94 和 1.81 mEq/kg，显著高于新鲜 DHA 的 0.35 mEq/kg，这是因为在制备过程中 DHA 不可避免要与氧气和光接触。但微胶囊的过氧化值均处在行业规定的范围内，如欧盟药典^[27]：小于 5 mEq/kg。然而在 45 °C 下贮藏 1 d 后，DHA 的过氧化值高达 4.03 mEq/kg，显著高于微胶囊（不足 3 mEq/kg）（ $P<0.05$ ）。贮藏 7 d 后，微胶囊的过氧化值均低于 14 mEq/kg，远低于未包封的 DHA（22.18 mEq/kg），甚至未达到裸露 DHA 贮藏 5 d 的水平（14.28 mEq/kg），表明 LDAs 能够为 DHA 构建有效的物理屏障，从而提高了其氧化稳定性。由图 6 可知，随着 LDAs 中 Fraction II（ $10<DP<100$ ）含量的增加微胶囊的氧化稳定性先增强后减弱，拐点为 DHA/LDA72，这与包埋效率实验结果一致，在之前的 Charles 等^[28]研究中也发现了类似的发现。这是因为微胶囊的包埋效率越高，其表面 DHA 含量越低，即在贮藏过程中产生的过氧化物则越少。微胶囊具有最佳氧化稳定性时，对应 LDAs 的链长分布为 22.17% 的 Fraction II 和 77.46% 的 Fraction I。

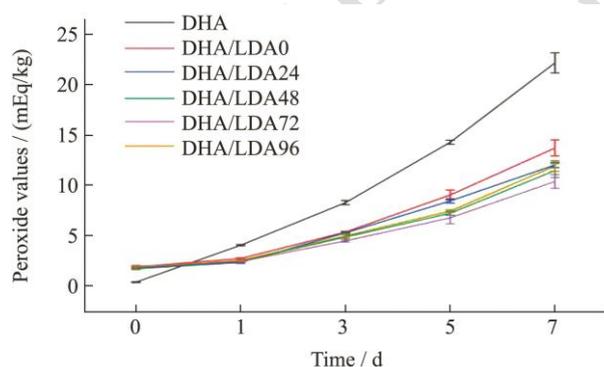


图 6 微胶囊的过氧化值
Fig.6 Peroxide values of microcapsules

2.5 微胶囊的抗消化性

通过体外模拟消化实验，测定了 DHA/LDA 微胶囊中快消化淀粉（Rapidly Digestible Starch, RDS）、慢消化淀粉（Slowly Digestible Starch, SDS）和抗性淀粉（Resistant Starch, RS）的含量，如表 2 所示。

由表可知，微胶囊中含有大量的 SDS 和 RS。微胶囊中未能进行有序堆积的双螺旋结构和线性糊精-DHA 络合物属于 SDS，因其分子间存在氢键作用而具有一定抗性，但在小肠内能够被完全消化吸收。由此可知，本实验制备的 DHA/LDA 微胶囊可实现 DHA 在靶向器官小肠内的缓慢释放，有利于其被上皮细胞充分吸收从而最大程度发挥生物活性。此外，线性糊精回生过程中发生重结晶会生成 RS3 抗性淀粉，其完美晶体结构能有效阻碍淀粉酶向结晶区中糖苷键靠近从而产生抗性^[29]。Seneviratne 等^[30]研究表明，直链淀粉-脂质络合物的酶解速率、程度与其长程有序性成反比，这种络合物形成的 V 型结晶体（又称 RS5 抗性淀粉）同样难以被酶解。微胶囊中 RS 能参与大肠中微生物的代谢，被降解产生丁酸等益生物物质从而维护肠道健康。

随着 LDAs 中 Fraction II（ $10<DP<100$ ）含量的增加，微胶囊内 SDS 和 RS 的含量从 19.37% 和 23.26%（DHA/LDA0）分别增加到了 28.21% 和 34.31%（DHA/LDA72），而 RSD 则由 57.37% 降低为 37.48%，表明 LDAs 链长分布的缩短有利于微胶囊中双螺旋结构和线性糊精-DHA 络合物的形成及有序堆积。Haralampu 等^[29]研究指出，DP 在 10~100 范围内的线性糊精分子更容易形成双螺旋结构。DHA/LDA96 微胶囊中 SDS 和 RS 含量分别为 21.84% 和 32.04%，稍低于 DHA/LDA72，可能是微胶囊疏松、小尺寸的颗粒结构导致其与酶可充分接触，从而导致其抗性降低。

表 2 微胶囊的快消化淀粉（RDS）、慢消化淀粉（SDS）和抗性淀粉（RS）含量

Table 2 Contents of rapidly digestible starch (RDS), slow digestible starch (SDS) and resistant starch (RS) in microcapsules

Samples	RDS	SDS	RS
DHA/LDA0	57.37 ± 0.51 ^a	19.37 ± 0.23 ^d	23.26 ± 0.47 ^e
DHA/LDA24	49.34 ± 0.33 ^b	25.97 ± 0.75 ^b	24.69 ± 0.62 ^d
DHA/LDA48	47.87 ± 0.42 ^c	26.06 ± 0.48 ^b	26.07 ± 0.94 ^c
DHA/LDA72	37.48 ± 0.59 ^e	28.21 ± 0.54 ^a	34.31 ± 0.69 ^a
DHA/LDA96	46.12 ± 0.24 ^d	21.84 ± 0.46 ^c	32.04 ± 0.72 ^b

3 结论

研究表明，增加线性糊精聚集物中聚合度为 10~100 线性糊精分子的含量，有利于双螺旋结构和线性糊精-DHA 络合物的形成。当线性糊精聚集物含有 22.17% 的短链线性糊精和 77.46% 的长链线性糊精，微胶囊的包封率最高（84.95%），过氧化值最低（10.38 mEq/kg），且慢消化淀粉（28.21%）和抗性

淀粉(34.31%)含量最高,该研究为新型淀粉基DHA微胶囊的研制提供了理论指导。

参考文献

- [1] Horrocks L A, Yeo Y K. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA) [J]. *Pharmacological Research*, 1999, 40(3): 211-225.
- [2] Raikos V, Ranawana V. Designing emulsion droplets of foods and beverages to enhance delivery of lipophilic bioactive components - a review of recent advances [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(1): 68-80.
- [3] Desai K G H, Park H J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients [J]. *Drying Technology*, 2005, 23(7): 1361-1394.
- [4] Fang Z, Bhandari B. Encapsulation of polyphenols - a review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, 21(10): 510-523.
- [5] Tan L H, Chan L W, Heng, P. W. Alginate/starch composites as wall material to achieve microencapsulation with high oil loading [J]. *Journal of Microencapsulation*, 2009, 26(3): 263-271.
- [6] Loughrill E, Thompson S, Ware S O, et al. Controlled release of microencapsulated docosahexaenoic acid (DHA) by spray-drying processing [J]. *Food Chemistry*, 2019, 286: 368-375.
- [7] Luo S, Zeng Z, Mei Y, et al. Improving ordered arrangement of the short-chain amylose-lipid complex by narrowing molecular weight distribution of short-chain amylose [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 240: 1-5.
- [8] Gelders G G, Duyck J P, Goesaert H, et al. Enzyme and acid resistance of amylose-lipid complexes differing in amylose chain length, lipid and complexation temperature [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2005, 60(3): 379-389.
- [9] Yan X, Wei H, Kou L, et al. Acid hydrolysis of amylose granules and effect of molecular weight on properties of ethanol precipitated amylose nanoparticles [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 252: 1-7.
- [10] Chang Y, Yang J, Ren L, et al. Characterization of amylose nanoparticles prepared via nanoprecipitation: Influence of chain length distribution [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 194: 154-160.
- [11] Wu A C, Li E, Gilbert R G. Exploring extraction/dissolution procedures for analysis of starch chain-length distributions [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 114: 36-42.
- [12] Cave R A, Seabrook S A, Gidley M J, et al. Characterization of starch by size-exclusion chromatography: the limitations imposed by shear scission [J]. *Biomacromolecules*, 2009, 10(8): 2245-2253.
- [13] Zhou X, Wang C, Yue S, et al. Mutual interactions between alpha-amylase and amyloglucosidase in the digestion of starch with distinct chain-length distributions at a fully gelatinized state [J]. *Food Function*, 2022, 13: 3453-3464.
- [14] Vilaplana F, Gilbert R G. Characterization of branched polysaccharides using multiple-detection size separation techniques [J]. *Journal of Separation Science*, 2010, 33(22): 3537-3554.
- [15] Park E Y, Choi S M, Lim S T, et al. Effects of dextrinization and octenylsuccinylation of high amylose starch on complex formation with ω -3 fatty acids (EPA/DHA) [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 357-362.
- [16] Vaziri A S, Alemzadeh I, Vossoughi M, et al. Co-microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* and DHA fatty acid in alginate-pectin-gelatin biocomposites [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 199: 266-275.
- [17] Firtin B, Yenipazar H, Saygun A, et al. Encapsulation of chia seed oil with curcumin and investigation of release behaviour & antioxidant properties of microcapsules during in vitro digestion studies [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 134: 1-7.
- [18] Can Karaca A, Low N, Nickerson M. Encapsulation of flaxseed oil using a benchtop spray dryer for legume protein-maltodextrin microcapsule preparation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(21): 5148-5155.
- [19] 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.
- [20] Moretti R, Thorson J S. A comparison of sugar indicators enables a universal high-throughput sugar-1-phosphate nucleotidyltransferase assay [J]. *Analytical Biochemistry*, 2008, 377(2): 251-258.
- [21] Li C, Hu Y, Huang T, et al. A combined action of amylose and amylopectin fine molecular structures in determining the starch pasting and retrogradation property [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164: 2717-2725.
- [22] Yu W W, Zhai H L, Xia G B, et al. Starch fine molecular structures as a significant controller of the malting, mashing, and fermentation performance during beer production [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 105: 296-307.
- [23] Zhou X, Yu W, Li C. Protein content correlates with the *in*

- in vitro* starch digestibility of raw barley flour [J]. Food Bioscience, 2021, 43(9): 101292.
- [24] Wang Y, Zheng Z, Wang K, et al. Prebiotic carbohydrates: Effect on physicochemical stability and solubility of algal oil nanoparticles [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 228: 1-10.
- [25] Reddy C K, Lee D J, Lim S T, et al. Enzymatic debranching of starches from different botanical sources for complex formation with stearic acid [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 856-863.
- [26] Bertoft E, Annor G A, Shen X, et al. Small differences in amylopectin fine structure may explain large functional differences of starch [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 140: 113-121.
- [27] De Boer A A, Ismail A, Marshall K, et al. Examination of marine and vegetable oil oxidation data from a multi-year, third-party database [J]. Food Chemistry, 2018, 254: 249-255.
- [28] Charles A L, Abdillah A A, Saraswati Y R, et al. Characterization of freeze-dried microencapsulation tuna fish oil with arrowroot starch and maltodextrin [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 112: 1-8.
- [29] Haralampu S G. Resistant starch - a review of the physical properties and biological impact of RS3 [J]. Carbohydrate Polymers, 2000, 41(3): 285-292.
- [30] Seneviratne H D, Biliaderis C G. Action of α -amylases on amylose-lipid complex superstructures [J]. Journal of Cereal Science, 1991, 13: 129-143.