

# GMS含量对包埋益生菌的双凝胶体系结构及递送特性的调节

张甜甜, 刘国琴\*

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 该研究以单硬脂酸甘油酯(GMS)基油凝胶和黄原胶基水凝胶构建油包水型双凝胶结构将植物乳杆菌包封在内部水相。通过改变GMS含量对双凝胶体系结构进行调控,对其微观结构、力学性质、流变特性进行表征,通过模拟体外消化实验探究该体系对益生菌活性的保护作用。研究表明,增大GMS添加量,双凝胶样品的均匀性、抗应力性、结晶度和体系稳定性提高,但GMS添加量高于10%时,体系稳定性有所下降。模拟体外胃肠消化发现,将益生菌包埋在双凝胶体系内部水相位置,经胃肠消化后,游离益生菌样品未检测到活性,包埋体系中益生菌数量均高于7.5 log CFU/g。胃肠消化后活菌数以及其在小肠中的释放量随着GMS含量增加产生变化,其中GMS含量较高的样品中益生菌胃肠消化活性和释放量均较高。这说明调节双凝胶体系中GMS含量可调控包埋物质益生菌的活性并且增加其在肠道中的释放特性。该研究为益生菌递送体系和功能性食品的开发提供理论依据。

**关键词:** 双凝胶; 单硬脂酸甘油酯; 益生菌; 体外消化; 细胞活力

文章编号: 1673-9078(2024)10-89-96

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.10.1172

## Modulatory Effect of Glycerol Monostearate Concentration on the Structure and Delivery Properties of A Bigel System Embedded with Probiotics

ZHANG Tiantian, LIU Guoqin\*

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** A water-in-oil bigel structure was constructed with a glycerol monostearate (GMS)-based oleogel and a xanthan-gum-based hydrogel to encapsulate *Lactobacillus plantarum* in the internal aqueous phase. The structure of the bigel system was modulated by changing the concentration of GMS. The microstructure, mechanical properties, and rheological properties of the system were characterized. The protective effect of the system on the viability of probiotics was explored through simulated *in vitro* digestion experiments. The results showed that the homogeneity, stress resistance, crystallinity, and system stability of the bigel samples improved with increasing GMS concentration; however, the system stability decreased when the GMS concentration exceeded 10%. After gastrointestinal digestion in the simulated *in vitro* gastrointestinal digestion experiments, no viable probiotics were detected in the free probiotics samples, while the counts of viable probiotics were higher than 7.5 log CFU/g in all samples with probiotics embedded in the aqueous phase of the bigel system. The count

引文格式:

张甜甜,刘国琴.GMS含量对包埋益生菌的双凝胶体系结构及递送特性的调节[J].现代食品科技,2024,40(10):89-96.

ZHANG Tiantian, LIU Guoqin, et al. Modulatory effect of glycerol monostearate concentration on the structure and delivery properties of a bigel system embedded with probiotics [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(10): 89-96.

收稿日期: 2023-09-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(31972002); 区域创新发展联合基金重点支持项目(U21A200270)

作者简介: 张甜甜(1996-),女,硕士研究生,研究方向:包埋益生菌的双凝胶体系构建, E-mail: zhang1710150142@163.com

通讯作者: 刘国琴(1962-),女,博士,教授,研究方向:油脂营养与安全研究, E-mail: liuguoqin2009@126.com

of viable probiotics after gastrointestinal digestion and their release in the small intestine varied with the GMS concentration, with higher probiotic viability and release in samples with higher GMS concentrations. These results suggest that regulating the GMS concentration in the bigel system can modulate the viability of the embedded probiotics and their release in the intestine. This study provides a theoretical basis for the development of probiotic delivery systems and functional foods.

**Key words:** bigel; glycerol monostearate; probiotics; *in vitro* digestion; cell viability

益生菌是对人体肠道健康起着非常重要的作用的活的微生物, 这些微生物与机体相互作用, 影响着机体健康<sup>[1]</sup>。越来越多的研究发现, 益生菌与许多健康优势相关联: 维持肠道菌群平衡, 产生消除有害细菌的抗菌物质, 并增强自身的防御系统<sup>[2]</sup>。植物乳杆菌属于乳酸菌的一种, 主要存在于乳制品<sup>[3]</sup>、肉类<sup>[4]</sup>、胃肠道以及泌尿生殖道; Liu 等<sup>[5]</sup>发现每天摄入植物乳杆菌 PS128 可以降低小鼠大脑炎症并提高神经递质分泌, 从而改善小鼠焦虑行为, 这可能有助于改善精神障碍。然而益生菌的生存力易受 pH 值、温度、氧气影响, 尤其是胃肠的环境对其活性影响较大。益生菌有益作用发挥的前提是有足够的数量到达体内相应的位置, 如何提高其在食品生产以及通过胃肠的生存率是一个具有挑战的问题。

包埋是指运用物理或者化学的方式, 将益生菌捕获在包封材料中, 使菌体与外界隔离开, 以减少外界环境对益生菌的影响。益生菌包埋方式主要集中在益生菌的微胶囊化, 传统的微囊化方法如喷雾干燥、挤压法、超临界流体技术、冷冻干燥等应用较为广泛, 但在生产过程中存在明显的缺陷。如冷冻干燥和喷雾干燥会对菌体造成机械损伤, 对益生菌后续的益生作用有较大影响; 挤压法制作的微胶囊颗粒感较强且产率较低, 难以达到大规模生产<sup>[6]</sup>。随着益生菌市场需求的扩大, 如静电纺丝、Pickering 乳液、水凝胶等方式被用于包埋益生菌。但它们也存在引入聚合物、稳定性差以及保护作用弱等局限性。

双凝胶是由水凝胶和油凝胶组成的双相体系, 其外部相和内部相的结构化使得液滴很难脱离凝胶的三维网络, 不易发生聚集或絮凝<sup>[7]</sup>; 改变双凝胶体系中的任一组分其结构也会发生变化, 因此, 通过调节双凝胶的组成单元, 可以调节其结构性质, 从而调节加入的功能性成分的释放。此外它还可可在同一体系中荷载亲水性和亲脂性物质。双凝胶优越的性能, 使得其在药物输送方面得到了广泛研究, 有研究使用瓜尔胶水凝胶和小烛树蜡油凝胶制备双凝胶, 探究双凝胶体系作为生物活性分子盐酸莫西

沙星 (MH) 的载体<sup>[8]</sup>; Zhu 等<sup>[9]</sup>通过使用不同比例的单硬脂酸甘油酯-蜂蜡基油凝胶和高酰基结冷胶水凝胶的混合物制备双凝胶包封番茄红素。但双凝胶在包埋益生菌方面的研究较为少见。

本研究以单硬脂酸甘油酯基油凝胶和黄原胶基水凝胶构建 W/O 型双凝胶结构将植物乳杆菌包封在内部水相。通过改变 GMS 含量对双凝胶体系结构进行调整, 对其微观结构观察、力学分析、流变特性进行表征, 并通过模拟体外消化实验检测该体系对益生菌活性的保护作用。本研究的结论为新型功能食品的开发提供理论支持和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

单硬脂酸甘油酯 (GMS) 购买自 AlfaAesar 化学有限公司、葵花籽油购买自佳格食品 (中国) 有限公司; 植物乳杆菌购买自中科嘉亿生物工程有限公司; 活细菌/死细菌双染试剂盒 (上海懋康生物)、胃蛋白酶、胰蛋白酶购买自美国 Sigma 公司; 黄原胶 (USP 级)、尼罗红 (NileRed, >95%) 购买自 Aladdin 试剂公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 植物乳杆菌菌液制备

将植物乳杆菌用 MRS 肉汤两次活化, 取第二次活化 12 h 后的菌液离心分离, 用生理盐水洗涤 2 次后, 将菌体悬浮与生理盐水中形成活菌数为  $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$  CFU/mL 的菌悬液。

#### 1.2.2 包埋益生菌双凝胶体系制备

以葵花籽油作为油相, 加入不同质量分数 (6%、8%、10% 和 12%, *m/m*) 单硬脂酸甘油酯 (GMS) 作为凝胶因子, 80 °C 下搅拌至 GMS 完全溶解, 室温成胶后转移至 25 °C 下放置 24 h 备用。将质量分数为 1% 的黄原胶分散到菌悬液, 在磁力搅拌器下均质 1 h, 得到含益生菌水凝胶。油脂凝胶与水凝

胶以 7:3 的比例常温下均质得到双凝胶, 将混合物放置在 4 °C 下作进一步分析。

### 1.2.3 微观结构观察

普通显微镜, 使用配备 5616×3744 像素成像数码相机(日本佳能)的奥林巴斯显微镜, 在 10 倍下观察样品粒径分布, 少量样品均匀涂抹在载玻片上, 立即用盖玻片覆盖并成像。激光共聚焦显微镜(CLSM): 使用蔡司激光共聚焦显微镜, 对样品中油相用 1 mg/mL 的尼罗红(530/635 nm)染色, 益生菌用 Syto9(480/500 nm)染色。取少量样品均匀铺在载玻片上, 立即用盖玻片覆盖, 在 40 倍下成像, 观察益生菌在双凝胶中的分布。利用活细菌/死细菌双染试剂盒, 对消化后样品中的益生菌染色。Syto9 与活细胞结合后在激发波长 480 nm 处呈现绿色荧光, 而 PI 与受损细胞结合后在激发波长 580 nm 处呈现红色荧光。

### 1.2.4 流变学分析

使用哈克流变仪在 25 °C 下进行振幅扫描以确定双凝胶的线性粘弹区(LVR)。采用 P35 探头配备 35 mm 几何平行板, 板间距设为 1 mm, 应力扫描在 0.1~1 000 Pa 之间, 频率恒定为 1Hz。频率扫描采用 P35 探头配备 35 mm 几何平板, 板间距设为 1 mm, 应力设置为 10 Pa, 频率范围设为 0.1~10Hz。

### 1.2.5 X射线衍射分析

使用多位自动进样 X 射线衍射仪(X-ray diffractometer, XRD)对双凝胶晶型分析。XRD 采用测试条件为: Cu/K $\alpha$ 放射源(波长  $\lambda=1.5406\text{\AA}$ ), 工作电压 40 kV, 工作电流为 40 mA, 温度 25 °C, 扫描范围  $2\theta$  为 10~30°, 扫描步长 0.013°  $2\theta/s$ 。

### 1.2.6 植物乳杆菌计数

参考先前报道<sup>[10]</sup>, 取 1 g 样品加入到 9 g 葵花籽油中, 涡旋使益生菌充分释放, 之后用含 3% 吐温 80 的生理盐水梯度稀释后进行平板涂布, 37 °C 培养 48 h 后计数, 取菌落在 30~300 之间的平板计数, 计算植物乳杆菌数量。

### 1.2.7 包埋益生菌双凝胶样品消化特性

植物乳杆菌胃肠消化活性: 模拟胃肠消化, 根据之前报道方法<sup>[11]</sup>, 采用两阶段体外胃肠消化模型。胃消化阶段, 将 0.5 g 样品与 10 mL 含 3.2 mg/mL 胃蛋白酶的模拟胃液混合, 用 1 mol/L 的 HCl 调整 pH 值为 2, 将混合物置于 37 °C、100 r/min 下孵育 120 min。小肠消化阶段, 将胃消化阶段所得混合物用 1 mol/L 的 NaOH 将 pH 值调至 7, 加入 10 mL 模

拟肠液(SIF), SIF 由胰酶 2.5 mg/mL、胰脂肪酶 2.5 mg/mL 和胆汁盐 3.5 mg/mL 组成, 将混合物在 37 °C、100 r/min 下孵育 120 min。每阶段结束后, 采用 1.2.6 的方法对消化后样品中的益生菌计数。

肠消化阶段植物乳杆菌释放: 在样品进入肠消化阶段, 每隔 30 min 定期取一次肠消化液, 用生理盐水梯度稀释后进行平板涂布, 37 °C 培养 48 h 后计数, 计算小肠消化过程中植物乳杆菌的释放。

小肠消化阶段游离脂肪酸释放: 小肠消化阶段, 随着脂解反应的进行, 游离脂肪酸(FFA)逐渐积累, 体系 pH 值不断下降。为了评估肠消化阶段脂质消化程度, 采用 Ph-Stat 自动滴定装置, 以 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定以保持体系 pH 值恒定在 7.0, 并记录消耗 NaOH 溶液的体积<sup>[12]</sup>。FFA 释放百分比由公式计算:

$$F = \frac{V_1 \times M_1 \times M_2}{W_2 \times 2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

$F$ —FFA 释放量, %;

$V_1$ —滴定过程中消耗的 NaOH 总体积, L;

$M_1$ —NaOH 的摩尔浓度, mol/L;

$W_2$ —脂质的质量, g;

$M_2$ —葵花籽油平均分子量, g/mol。

## 1.3 数据处理

所有数据分析均为三份, 采用 SPSS 软件进行方差分析, 各组间差异采用  $t$  检验 ( $P < 0.05$ )。使用 OriginPro 2021 进行制图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 表观及微观结构分析

图 1a 为 GMS 油凝胶和黄原胶水凝胶制备双凝胶样品的表观图, 从图中可得样品具有自支撑结构, 颜色均匀, 表面光滑, 各样品均未油和水相分离现象。图 1 明场显微镜可以发现在 GMS 含量较低的体系中, 内相液滴粒径较大, 随着 GMS 含量的增加, 液滴尺寸减小且更加均匀。这可能是因为 GMS 的两亲性, 降低液面张力, 更利于形成小的液滴。小的液滴为分散相和连续相之间提供更大的接触面积, 增加了双凝胶的稳定性。通过对益生菌和油相染色, 激光共聚焦显微镜观察结果如图 1c, 绿色荧光为益生菌, 红色为由尼罗红染色后的油相, 表明四种凝胶剂添加量下形成的双凝胶结构均为 W/O 型, 植物乳杆菌被成功的包埋在内部水相位置<sup>[13]</sup>。

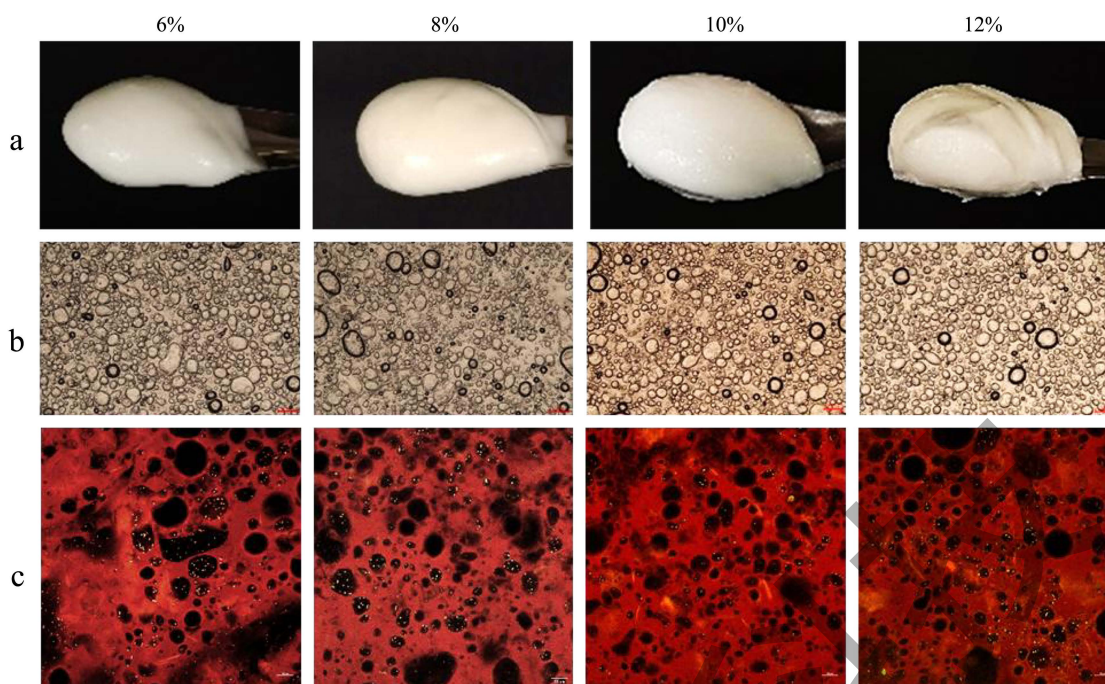


图 1 不同 GMS 含量的双凝胶样品图像

Fig.1 Images of bigels with different GMS contents

注: (a) 外观图; (b) 明场显微镜图; (c) 激光共聚焦显微镜图。

## 2.2 不同GMS添加量下包埋体系流变特性

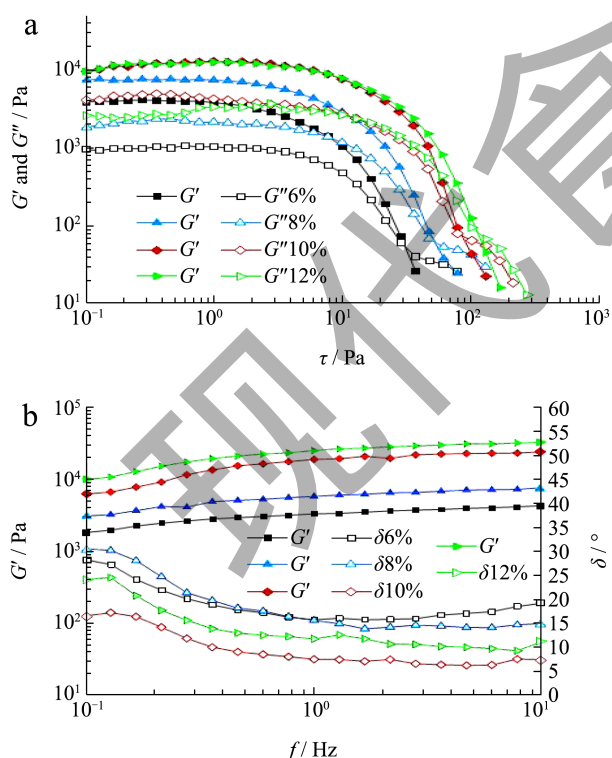


图 2 不同 GMS 含量的双凝胶样品应力扫描曲线 (a) 和频率扫描曲线 (b)

Fig.2 Stress sweep curves (a) and frequency sweep curve (b) of bigels with different GMS contents

通过应力扫描和频率扫描测试, 探究不同 GMS 添加量下, 双凝胶体系的结构特性, 从图 2a 可以看出所有样品在线性粘弹区 (LVR) 内, 储能模量 ( $G'$ ) 均大于损耗模量 ( $G''$ ), 表明样品主要发生弹性形变, 具有类固体特性。随着 GMS 含量的增加, 样品的  $G'$  增大, 其中 10% 和 12%  $G'$  相似, 表明两种样品均拥有较高的机械强度。此外, 屈服应力 ( $G'=G''$ ) 是破坏凝胶结构所需应力, 图中可以发现 GMS 含量增加, 双凝胶体系的临界应力值随之增大, GMS 添加量为 12% 时, 体系具有更强的抗应力性。

在 LVR 范围内选择合适的应力值对样品进行频率扫描, 从图 2b 可以看出, 随着扫描频率  $f$  的增大, 四种样品的  $G'$  均略有增加, 展现出低的频率依赖性。图 2b 中还可以发现, 在较高的频率下各样品均保持凝胶行为, 未发生凝胶-溶液的转变 (相变角  $>45^\circ$ ), 其中 10% 相变角最低, 表明其内部结构更为稳定。Francesca 等<sup>[14]</sup>的研究发现油脂凝胶中结晶数量的增多在一定程度上增强双凝胶的结构, 但结晶过多时均质过程中结晶会破坏水凝胶的结构。

## 2.3 双凝胶样品的晶型分析

利用 XRD 衍射仪测定双凝胶样品中晶体结构的分子堆积情况, 结果如图 3 所示, 含 GMS 的油凝胶与含 GMS 的双凝胶的 XRD 谱图相似, 均具有

GMS 的特征峰。其中  $2\theta$  为  $19.8^\circ$  处的“馒头峰”，主要是由于液体油脂中的无定形散射引起的，在  $19.43^\circ$  和  $22.73^\circ$  处存在两个强的衍射峰，对应的晶面间距为  $4.56 \text{ \AA}$  和  $3.91 \text{ \AA}$ ，表明 GMS 形成的主要是  $\beta$  晶体，在  $20.47^\circ$  处的小衍射峰，对应的晶面间距是  $4.34 \text{ \AA}$ ，代表  $\beta'$  晶体<sup>[15]</sup>。有研究报道 GMS 含量的增加导致油凝胶中  $\beta$  型晶体和  $\beta'$  型晶体的比例增加，较大的  $\beta$  型晶体颗粒有利于提高凝胶的强度，而较小的  $\beta'$  型晶体则倾向于形成细长的网状结构来固定液态油。

为了更好地解释 GMS 含量的改变对样品的结晶度的影响，选择  $2\theta$  为  $22.73^\circ$  计算晶体参数，结果如表 1 所示，随着 GMS 添加量从 6%~10%，半峰全宽 (fwhm) 不断减小，fwhm 取决于样品结晶度，一般来说，fwhm 越低<sup>[16]</sup>，样品的结晶度越高，晶体尺寸越大。这表明 GMS 浓度的增加对晶体的增长有促进作用，样品 12% fwhm 值略微增大，这可能是由于双凝胶体系中 GMS 添加量较高时，体系中水凝胶相对其晶体增长的阻碍作用较大。

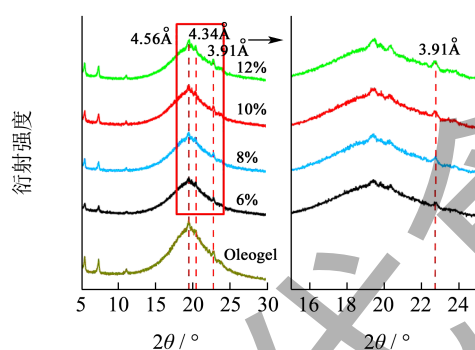


图 3 GMS 油凝胶和不同 GMS 含量的双凝胶样品的 XRD 图

Fig.3 XRD spectra of GMS oleogel and bigel samples with different GMS contents

表 1 不同 GMS 含量双凝胶样品中 GMS 的晶体参数

Table 1 Crystal parameters of GMS in bigels with different GMS contents

油凝胶剂质量分数/%	$2\theta$	$d/\text{\AA}$	fwhm
6	22.727	3.908	0.660
8	22.728	3.910	0.557
10	22.720	3.909	0.451
12	22.731	3.909	0.548

## 2.4 植物乳杆菌包埋活性

测定将植物乳杆菌包埋到 W/O 双凝胶内对其活性的影响，如图 4 柱状图所示，初始益生菌的浓度为  $9.15 \log \text{ CFU/g}$ ，包埋进水凝胶后浓度下

降为  $8.96 \log \text{ CFU/g}$ ，将益生菌包埋进不同 GMS 含量的双凝胶样品中各样品的益生菌活性分别为  $8.66$ 、 $8.57$ 、 $8.53$  和  $8.48 \log \text{ CFU/g}$ ，通过  $t$  检验分析发现，与游离益生菌相比，各组样品中益生菌的活性下降 ( $P>0.05$ )，这可能是由于双凝胶包埋体系制备过程的剪切等机械作用，使益生菌活性略有下降；并且四种双凝胶样品中，益生菌活性无明显差异 ( $P<0.05$ )，这说明 GMS 浓度的改变对植物乳杆菌在制备过程中存活性的影响无显著性差别。

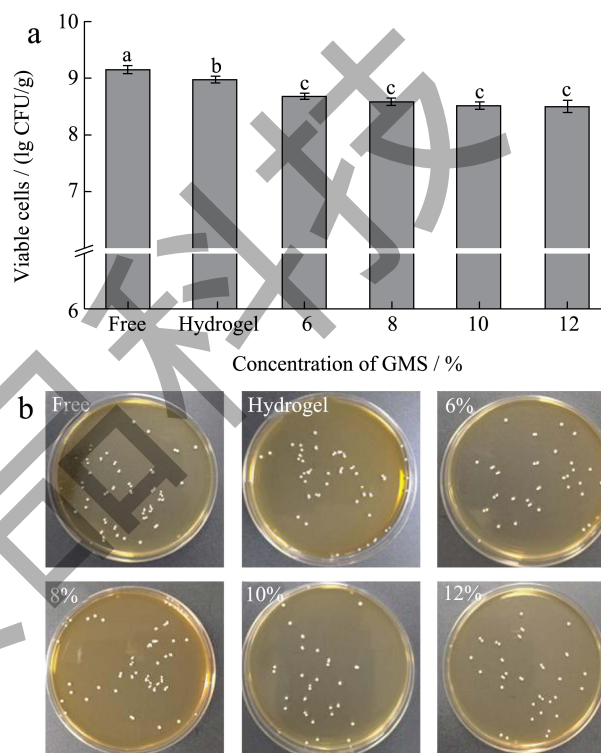


图 4 不同 GMS 含量的双凝胶样品中植物乳杆菌包埋活性 (a) 和平板图像 (b)

Fig.4 *Lactobacillus plantarum* encapsulation activity in bigel samples with different GMS content (a) and plate image (b)

注：图 a 中小写字母表示样品间的显著性差异。

## 2.5 胃肠消化活性

益生菌在胃肠消化后的活性是筛选包埋体系是否合适的重要指标，采用模拟体外消化的方法，测量游离益生菌和不同 GMS 添加量的双凝胶体系中益生菌在胃肠消化后活性的变化，结果如图 5a 所示。对于游离植物乳杆菌，在胃部消化后未检测到活菌，6%、8%、10% 和 12% 样品中的活菌数由初始的  $8.66$ 、 $8.57$ 、 $8.53$  和  $8.48 \log \text{ CFU/g}$  下降为  $7.86$ 、 $8.26$ 、 $8.28$  和  $8.31 \log \text{ CFU/g}$ ，其中 6% 的样品中益生菌活性减少了  $0.8 \log \text{ CFU/g}$ ，下降最为明显，这可能是由于 6% 样品结构最为松散，胃酸分子渗透到样品内部

与益生菌直接接触导致较多益生菌失活；其余样品中益生菌活性略微下降，这可归因于 W/O 型双凝胶结构为益生菌提供了物理屏障，保护益生菌免受胃酸的损伤。Picone 等<sup>[17]</sup>报道发现，以结冷胶和 GDL 制备的 W/O 乳状液包封鼠李糖乳杆菌的存活率为 77.4%，表明凝胶结构可以提高微生物细胞对体外消化条件的抵抗力。从图 5a 中可以发现，小肠消化后，各样品中的益生菌活性下降为 6.63、7.12、7.45 和 7.43 log CFU/g，6% 和 8% 与初始值相比，分别下降了 2.03、1.45 log CFU/g，这可能是由于脂肪酶的脂解导致双凝胶结构崩溃，内部水相益生菌释放到消化液中，由于胆汁盐和脂肪酶的存在，导致益生菌活性进一步下降。从图中还可以发现，10% 和 12% 样品与初始值相比，分别下降 1.08、1.05 log CFU/g，这表明胃肠消化后益生菌活性显著提高。Zhang 等<sup>[18]</sup>以蜂蜡油凝胶为油相，制备油包水高内相乳剂包封双歧杆菌，在胃肠消化后益生菌数量从消化前 8.28 log CFU/g，下降为 5.63 log CFU/g，而对照组中未包封益生菌活性在胃肠消化后未检测到活性，这表明益生菌位于 W/O 乳剂的内部水域中，油相部分可保护益生菌免受外部水相中有害物质的侵害。

为了更加直观地说明益生菌在各消化阶段活性的变化，对消化前后的益生菌通过活死菌双染试剂盒进行染色，通过激光共聚焦显微镜 (CLSM) 观察，根据荧光染料对细胞膜的穿透性不同，完好的细胞呈绿色荧光，而受损的细胞呈红色荧光。由图 5B 可以发现，与初始状态相比，胃肠消化后所以样品图像中红色荧光都明显增强，其中游离益生菌最为明显，6% 和 8% 也有大量红色荧光出现，其他两种样品的绿色荧光占多数，这与平板涂布结果一致。

## 2.6 游离脂肪酸释放

小肠消化阶段脂肪酸释放曲线如图 6 所示，肠道消化初期，对照组的初始速率最高，可能是因为消化液中的胰酶和脂肪酶能毫无“阻碍”的与 TAG 接触，但消化速率在 5 min 后减缓；其中，6% 样品初始 FFA 释放速率高于其它三组样品，这是因为 6% 样品网络结构强度较低，结构对脂肪酶与 TAG 消化位点的接触阻碍较小，但 10 min 后消化速率减缓，这可能是由于脂质水解产生的 FFA 逐渐增加，并积累在 O/W 界面，影响脂解反应的进行。从图中还可以发现，在消化结束时，对照组总脂肪酸释放量最低为 50.71%，样品 6%、8%、10% 和 12% 中总脂肪酸释放量分别为 59.31%、64.55%、69.16%

和 69.65%，可以发现随着 GMS 添加量增加，总脂肪酸释放量增大，这是由于 GMS 作为一种单甘脂，可水解释放出硬脂酸<sup>[19]</sup>；另一方面由于 GMS 具有表面活性，有助于油脂的胶束化，提高油脂的脂解程度，Areen 等<sup>[20]</sup>的研究发现单甘酯能够有效的吸附在 O/W 界面处，为脂肪酶提供更多的作用位点。油相中的凝胶网络，作为一种物理屏障，减缓液态油的流动，对脂肪酶和 TAG 消化位点的接触造成阻碍，可显著减缓脂质初期的消化速度，实现有效成分的缓释<sup>[21]</sup>。

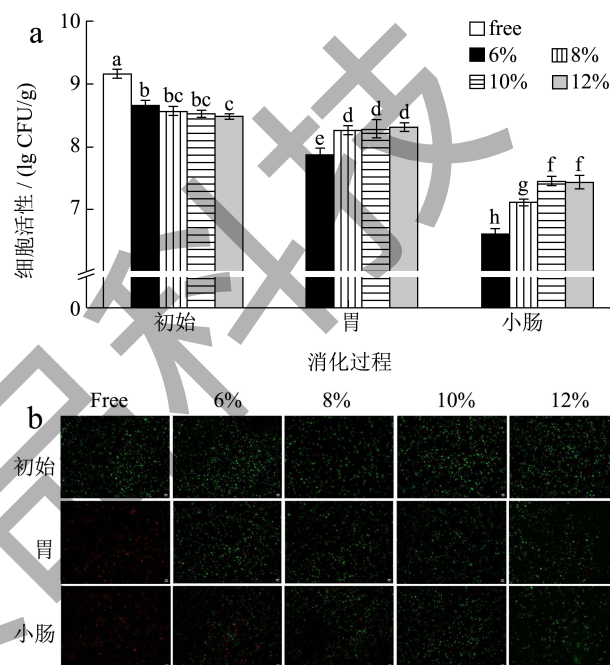


图 5 体外消化后不同 GMS 含量的双凝胶样品中植物乳杆菌活性变化 (a) 和荧光变化 (b)

Fig.5 *Lactobacillus plantarum* activity changes (a) and fluorescence changes (b) in double-gel samples with different GMS contents during vitro digestion

注：图 a 中小写字母表示样品间的显著性差异。

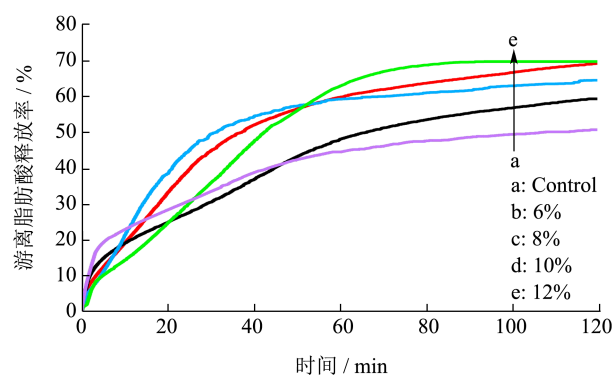


图 6 不同 GMS 含量的双凝胶样品小肠消化过程中总脂肪酸释放曲线

Fig.6 Total FFA release profiles during small intestinal digestion of bigel samples with different GMS contents

## 2.7 小肠释放特性

除了胃肠消化后益生菌的活性之外,其在肠道中的释放量也是益生菌输送的重要指标,因此对包埋植物乳杆菌的双凝胶体系在小肠释放特性进行探究,结果如图7所示。0~30 min,样品6%、8%、10%和12%释放量依次降低,这是由于肠消化前期,双凝胶体系中的网络结构对荷载植物乳杆菌的束缚,使其无法释放到消化液中<sup>[22]</sup>。在小肠消化后期,油凝胶剂含量较高的样品益生菌的释放速率和释放量显著增加,肠消化阶段结束时,各消化液中植物乳杆菌的释放量分别为6.75、6.83、7.33和7.32 log CFU/g,这可能是随着消化时间的增长,双凝胶体系的结构逐渐被分解,油相脱离结构束缚,促进更多益生菌释放,这与小肠消化过程中脂肪酸的释放特性结果相一致。

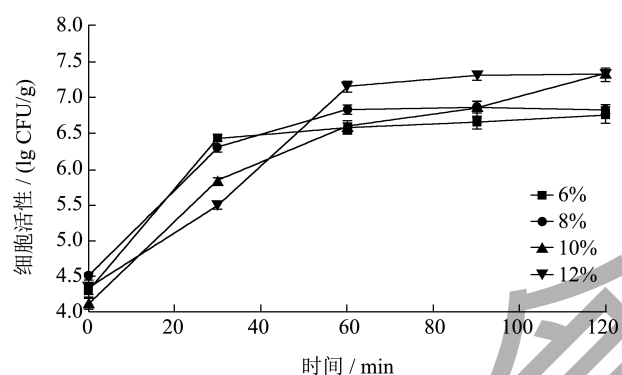


图7 不同GMS含量的双凝胶样品小肠消化过程中植物乳杆菌释放

Fig.7 Release of *Lactobacillus plantarum* during small intestine digestion of bigel samples with different GMS contents

## 3 结论

本研究构建了包埋益生菌的油包水型双凝胶体系,并探讨了油凝胶剂GMS添加量对包埋体系力学性能、包埋物即益生菌在消化过程中的存活率以及其在小肠中的释放特性的影响。结果表明,随着GMS添加量的增加(6%~10%),体系的机械性能增强,但GMS结晶数量过多时,会破坏体系中水凝胶的结构,从而影响整体结构的稳定性;在体外消化过程中,双凝胶体系可以显著提高益生菌在消化过程中的稳定性,在胃肠消化后益生菌活性高达7.4 log CFU/g。且随着体系中GMS含量的增加,益生菌在小肠消化过程中的最终释放量增加,最高可达7.33 log CFU/g。综上所述,油包水型双凝胶结构可以降低益生菌在胃肠消化过程中的损伤,调节

油凝胶剂添加量可以很好地调节双凝胶的结构,从而实现对所加入的益生菌功能的保护和释放。将包埋益生菌的双凝胶体系应用到沙拉酱或涂抹酱中,为开发富含益生菌的功能性食品提供理论依据和技术支持。

## 参考文献

- [1] AGUILAR-TOALÁ J E, GARCIA-VARELA R, GARCIA H S, et al. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field [J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 75: 105-114.
- [2] DIMITRELLOU D, SIDIRA M, CHARALAMPOPOULOS D, et al. Effect of cell immobilization on properties of presumptive probiotics [J]. In Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food, 2015, 17: 257-268.
- [3] MIN HSIU C, SHU FENG H, JIAU HUA C, et al. Antibacterial activity *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented vegetables and investigation of the plantaricin genes [J]. African Journal of Microbiology Research, 2016, 10 (22): 796-803.
- [4] MEJRI L, HASSOUNA M. Characterization and selection of *Lactobacillus plantarum* species isolated from dry fermented sausage reformulated with camel meat and hump fat [J]. Applied Biological Chemistry, 2016, 59 (4): 533-542.
- [5] LIU W H, CHUANG H L, HUANG Y T, et al. Alteration of behavior and monoamine levels attributable to *Lactobacillus plantarum* PS128 in germ-free mice [J]. Behavioural Brain Research, 2016, 298: 202-209.
- [6] BURGAIN J, GAIANI C, LINDER M, et al. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications [J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104 (4): 467-483.
- [7] LUPI F R, GENTILE L, GABRIELE D, et al. Olive oil and hyperthermal water bigels for cosmetic uses [J]. J Colloid Interface Science, 2015, 459: 70-78.
- [8] SHAIKH H M, ANIS A, POULOSE A M, et al. Development of bigels based on date palm-derived cellulose nanocrystal-reinforced guar gum hydrogel and sesame oil/candelilla wax oleogel as delivery vehicles for moxifloxacin [J]. Gels, 2022, 8 (6): 330.
- [9] ZHU Q, GAO J, HAN L, et al. Development and characterization of novel bigels based on monoglyceride-beeswax oleogel and high acyl gellan gum hydrogel for lycopene delivery [J]. Food Chemistry, 2021, 365: 130419.
- [10] GAO H, HUANG X, XIE Y, et al. Improving the gastrointestinal activity of probiotics through encapsulation within biphasic gel water-in-oil emulsions [J]. Food

- Function, 2022, 13 (22): 11455-11466.
- [11] 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.
- [12] YAN CH, XUN XM, WANG J, et al. An alternative solution for  $\alpha$ -linolenic acid supplements: *in vitro* digestive properties of silkworm pupae oil in a pH-stat system [J]. Food & Function, 2021, 12 (6): 2428-2441.
- [13] GAO H, MA L, SUN W, et al. Impact of encapsulation of probiotics in oil-in-water high internal phase emulsions on their thermostability and gastrointestinal survival [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 126: 107478.
- [14] LUPI F R, SHAKEEL A, GRECO V, et al. A rheological and microstructural characterisation of bigels for cosmetic and pharmaceutical uses [J]. Materials Science and Engineering: C, 2016, 69: 358-365.
- [15] DA PIEVE S, CALLIGARIS S, CO E, et al. Shear nanostructuring of monoglyceride organogels [J]. Food Biophysics, 2010, 5 (3): 211-217.
- [16] SWE M T H, ASAVAPICHAYONT P. Effect of silicone oil on the microstructure, gelation and rheological properties of sorbitan monostearate-sesame oil oleogels [J]. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2018, 13 (5): 485-497.
- [17] PICONE C S F, BUENO A C, MICHELON M, et al. Development of a probiotic delivery system based on gelation of water-in-oil emulsions [J]. LWT Food Science and Technology, 2017, 86: 62-68.
- [18] ZHANG Y, XIE Y, LIU H, et al. Probiotic encapsulation in water-in-oil high internal phase emulsions: Enhancement of viability under food and gastrointestinal conditions [J]. LWT Food Science and Technology, 2022, 163(15): 113499.
- [19] SÉVERAC E, GALY O, TURON F, et al. Continuous lipase-catalyzed production of esters from crude high-oleic sunflower oil [J]. Bioresource Technology, 2011, 102 (8): 4954-4961.
- [20] ASHKAR A, LAUFER S, ROSEN-KLIGVASSER J, et al. Impact of different oil gelators and oleogelation mechanisms on digestive lipolysis of canola oil oleogels [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 97: 105218.
- [21] ASHKAR A, ROSEN-KLIGVASSER J, LESMES U, et al. Controlling lipid intestinal digestibility using various oil structuring mechanisms [J]. Food & Function, 2020, 11(9): 7495-7508.
- [22] LU Y, ZHONG Y, GUO X, et al. Structural modification of O/W bigels by glycerol monostearate for improved co-delivery of curcumin and epigallocatechin gallate [J]. ACS Food Science & Technology, 2022, 2(6): 975-983.