淀粉微胶囊对茶多酚的载运及其对餐后血糖反应的影响

刘天棋，　张根义 *

（江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122）

摘要： 为了保护茶多酚及实现其在小肠上半段的定点释放，实验以轻度糊化玉米淀粉吸附茶多酚，再将其包埋入海藻酸钠和氯化钙、壳聚糖组成的外壁里，得到载运茶多酚的淀粉微胶囊。最好的工艺为 1.5 g 轻度糊化玉米淀粉，20 mL 25 mg/mL 的茶多酚，10 mL 0.25%的海藻酸钠，25 mL 0.1%的壳聚糖，25 mL 1.0%的氯化钙，pH3.5 制备的微胶囊包埋率可达 84.08%，平均包载量达 207.6 mg/g。体外模拟胃肠道实验及小鼠实验均验证了微胶囊实现了对茶多酚的保护及释控，小鼠餐后血糖整体趋势相对平缓，峰值减小且延后。

关键词： 轻度糊化玉米淀粉；茶多酚；海藻酸钠；壳聚糖；定点释放微胶囊；餐后血糖反应

中图分类号：TS 201.1　**文章编号：**1673-1689(2019)08-0001-09　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.08.001

Transport of Tea Polyphenols by Starch Microcapsule and Its Effect on Postprandial Blood Glucose Response

LIU Tianqi，　*ZHANG Genyi**

（School of Food Science and Technology，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract： In order to target deliver the tea polyphenols(TP) to the duodenum of the small intestine，the microencapsulated TP was prepared and its effect on the postprandial glycemic response to corn starch was investigated. The microencapsulated TP was prepared through a co-gelation of alginate and chitosan in the presence of calcium chloride and tea polyphenol-absorbed corn starch that was mildly gelatinized. The experimental results showed an entrapment rate of 84.08% with a loading capacity of 207.6 mg/g when the capsules were prepared in the optimized conditions：1.5 g modified starch，20 mL tea polyphenol solution （25 mg/mL），10 mL sodium alginate （0.25% w/v），25 mL chitosan （0.1% w/v），25 mL calcium chloride （1.0% ） at pH 3.5. The in vitro simulated gastrointestinal experiment demonstrated a significant decrease of gastric release of TP(10.09%) and reduced rapidly digestible starch content （RDS=59.2%） compared to mixture of TP and corn starch. A substantial reduction of the postprandial glycemic response to normal corn starch （29.8% at

收稿日期： 2017-10-13

基金项目： 国家自然科学基金项目(31471585)。

* **通信作者：** 张根义(1968—)，男，博士，教授，博士研究生导师，主要从事细胞毒理学、食品化学和食品营养学方面的研究。

E-mail：genyiz@gmail.com

引用本文： 刘天棋，张根义. 淀粉微胶囊对茶多酚的载运及其对餐后血糖反应的影响[J]. 食品与生物技术学报，2019，38(08)：01-09.

response peak compared to TP-starch mixture) was also observed in the mouse model experiment. Thus, microencapsulated tea plyphenols, compared to TP itself, is effective to reduce the glycemic response, which can be used as a functional material in practical applications.

Keywords: mildly gelatinized corn starch, tea polyphenols, sodium alginate, chitosan, microencapsulation, blood glucose response

茶多酚(Tea polyphenols,TP)含多种羟基,具有强抗氧化性,是一种自然强抗氧化剂[1],拥有抗肿瘤等各种生理活性[2],能够较好地抑制淀粉的酶解[3-9],有助于淀粉慢消化,降低餐后血糖水平,从而能够对有关的慢性疾病起到预防和治疗的作用,是当代营养学与食品科学范畴的钻研热门。但茶多酚稳定性较差,对环境因素敏感,极易被破坏,因此当机体直接摄入茶多酚,茶多酚由于受到对消化环境敏感、小肠对茶多酚的转运效率低、机体代谢速度快、膳食环境复杂等许多方面的影响[10],造成其在达到小肠上半段充分施展其功能之前,就已经在胃里大量损失了。

为应对以上情况,本文先选取载运体系包载茶多酚,然后选用合适的壁材进行二次包埋。目前对于茶多酚的载运体系有竹叶纤维[11]、交联 PVP 凝胶[12]、酸性白土[13]、脂质体[14]、酵母细胞[15]等。这些材料都有其自身的局限性,存在工艺复杂、容易残留、生理相容性较差等问题。轻度糊化淀粉是采用物理改性的方法,在淀粉糊化的峰值温度以下,处理淀粉较短的时间,在其并未完全糊化的状态下,再利用冷冻干燥技术制备的吸附力较强的一种改性淀粉[16]。同其他吸附材料对比,轻度糊化玉米淀粉不仅具有耗资少、易于操作、不添加化学试剂、无毒[17]等特点,还有较大的比表面积和孔容比,能够将客体分子吸附到淀粉颗粒孔洞内部,依靠分子间作用力对客体分子起到类似于“包埋”的作用。因此,轻度糊化玉米淀粉是非常好的淀粉基包埋材料和缓释剂。

海藻酸钠是一种天然褐藻和海藻衍生的带阴离子的多糖[18],与 Ca^{2+}等同时存在时会发生凝胶化,且其凝胶对 pH 很敏感、同人体的相容程度好,具有抗酸和肠溶性特点,被广泛应用于食品、药品等行业[19-22]。壳聚糖是由甲壳素去掉乙酰官能团后获取的链是线性的多糖,含有大量伯胺基[23],能与海藻酸钠的羧基形成聚电解质膜。壳聚糖具有与植物纤维素和人体骨胶原组织相似的双重结构,生物特性极好[24]。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 主要材料、试剂 茶多酚购自杭州禾田生物技术有限公司;普通玉米淀粉,购自国民淀粉化学有限公司;海藻酸钠、壳聚糖、无水 $CaCl_2$、95%乙醇、醋酸、醋酸钠、NaOH、没食子酸、Folin-phenol 试剂、碳酸氢钠、盐酸、KH_2PO_4 等和胰蛋白酶是国药购买;HK 法测定葡萄糖试剂盒购买于利德曼 (北京);α-淀粉酶、葡萄糖苷酶、胃蛋白酶从 Sigma 公司购买。

1.1.2 主要仪器、动物 型号 PB4001E 精密电子天平:美塔雷脱立多国家股份公司;电子天平:精密科学 (上海) 有限公司;DELTA320 pH 计:Mettler Toledo;H0one-A 恒温磁力搅拌器:上海赛斯设备有限公司;THZ-Eight2 恒温水浴振荡器:Guohua 有限公司;DZF-1B 型真空干燥箱:Abotai 实验设备有限公司(上海);超低温冷冻冰箱:美国瑞威克有限公司;1 mL 注射器(0.5 mm×20 mm):无锡 SoulYu 医疗器械有限公司;80-2B 型低速度离心机:安亭实验仪器责任有限公司;光谱 M5 型酶标仪:美国分子器件有限公司;2800UV 型紫外分光光度计: 上海 Unique 仪器有限公司;S3500 型激光粒度自动分析仪: 美国麦奇克有限公司;IS10 傅里叶红外变换光谱仪:美国尼克莱特公司;FEI Quanta 200 扫描电子显微镜、血糖测试仪、测定纸:美国强生公司;One-Touch 血糖测试仪:强生(中国)医疗器材有限公司。

SPF 级健康 KM 雄性小鼠, 于 Slake 实验动物公司购买,江南大学实验动物中心饲养,饲养条件:温度(25±2) ℃,相对湿度(60±5)%。

1.2 实验方法

1.2.1 茶多酚用量的测定方法 选用福林酚[25-26]法量化溶液里茶多酚的量,将没食子酸(Gallic acid)作比照品, 设置适当浓度梯度与福林酚溶液作用,经

过 3~8 min,添加 4 mL 质量浓度 75 g/L Na_2CO_3 溶液,加水,然后摇匀,室温静置 1 h,于 765 nm 条件下量定吸光度(Abs)并制作标准曲线。

茶多酚的包载量及包埋率的量化方法为

包载量=$(c_1V_1-c_2V_2)/M$

包埋率=$(c_1V_1-c_2V_2)/(c_1V_1)$

式中:c_1 为 TP 溶液质量浓度;V_1 为 TP 溶液体积;c_2 为洗涤液和滤液 TP 质量浓度;V_2 为滤液及洗涤液体积;M 为干燥后微胶囊质量。

1.2.2 轻度糊化玉米淀粉的制备 取适量普通玉米淀粉(通过 GB/T 21305—2007/IOS712:1998 测得其水分含量为 13.4%),于 90 ℃(低于糊化温度)处理 1 min,然后立即在-40 ℃冰箱预冻 12 h,之后冷冻干燥 48 h(-80 ℃、真空度 10 Pa),经粉碎处理后就获得轻度糊化玉米淀粉。

1.2.3 微胶囊的制备 取适量轻度糊化玉米淀粉,加入 20 mL 25 mg/mL 茶多酚,放入 20 ℃恒温水浴振荡器里吸附 60 min,转速设定为 110 r/min,之后与海藻酸钠 10 mL 搅动均匀,取一定浓度的壳聚糖和氯化钙各 25 mL 搅拌均匀并调节 pH。用齿轮泵将轻度糊化玉米淀粉、茶多酚与海藻酸钠混合液匀速泵入装有壳聚糖、氯化钙的烧杯里,静置 20 min 后过滤并水洗,将滤液和洗涤液混合之后测定总体积与吸光度,计算茶多酚含量。真空干燥即得微胶囊。

1.2.4 海藻酸质量浓度作用于微胶囊释放茶多酚的情况 称取轻度糊化玉米淀粉 1.5 g 放入烧杯,向烧杯添加 20 mL 25 mg/mL 茶多酚,放入 20 ℃恒温水浴振荡器里,110 r/min 吸附 60 min。配置质量浓度分别为 0.5、1.5、2.5、3.5 和 4.5 g/L 的海藻酸钠溶液,各取 10 mL 分别加入到上述混合液中,搅匀后泵入 25 mL 质量浓度 1 g/L 的壳聚糖和 25 mL 质量浓度 10 g/L $CaCl_2$ 构成的混合液里。将最终获得的各微胶囊放入模拟胃、肠液里测量茶多酚的释放情况,确定海藻酸钠的最适质量浓度。

1.2.5 正交试验设计 以壳聚糖质量浓度(A)、氯化钙质量浓度(B)、pH 值(C)3 要素各选取 3 水平实施正交试验,用样品于模拟胃液、模拟肠液里处理 30 min 时茶多酚释放速率做评定标准,表明各要素对茶多酚在胃肠道里释放情况的作用水平。

1.2.6 轻度糊化玉米淀粉及微胶囊粒径分布 选取激光粒度分析仪,对样品的粒径情况做测量,将微胶囊样品置于样品槽中,经过对粒群衍射,由计算机推算出粒群相应粒径散布。

1.2.7 傅里叶变换红外分析 准确称取样品与溴化钾粉末(20:1)混合均匀,研磨后压片,通过 IS10 型傅里叶红外光谱仪进行测试,以空白溴化钾片作为参比,测定限度为 420~4 000 cm^{-1}。

1.2.8 SEM 扫描电镜分析 采用 SEM 扫描定性分析样品颗粒。将适量的样品进行固定、脱水、干燥和粘样后,镀上一层重金属膜,便可进行镜检,放大适当的倍数,观察样品的形态变化情况。

1.2.9 微胶囊于模拟胃液环境的释放情况 首先制备模拟胃液:将 9 mL 盐酸、80 mL 蒸馏水和 10 g 胃蛋白酶混合,搅拌均匀,pH 调节至 1.2,用 1 000 mL 容量瓶定容再预热至 37 ℃备用。每种样品称 1 g 加入 100 mL 具塞锥形瓶里,添加 40 mL 模拟胃液,预热至 37 ℃,放到恒温振荡器(<200 r/min)处理,在 0、5、10、15、20、30、40、60、75、90、105 和 120 min 取样 1 mL,检测总酚含量(以空白胃液与福林酚试剂反应作为分光光度测定时候的空白对照),计算累积释放率,并补充等量模拟液。

1.2.10 微胶囊于模拟肠液环境的释放情况 制备模拟肠液:称取 6.8 g 磷酸二氢钾,用 250 mL 蒸馏水溶解,添加 190 mL 0.2 mol/L 的氢氧化钠和 400 mL 水,加入 10 g 胰蛋白酶,调节 pH 值为 7,用 1 000 mL 容量瓶定容后预热至 37 ℃备用。分离出上述模拟胃液中处理 0.5 和 2.0 h 的微胶囊,洗涤后放到盛有 50 mL 模拟肠液(预热到 37 ℃)锥形瓶里,放入恒温振荡器(<300 r/min)里处理,在 10、20、30、60、90、120 、150 和 180 min 取样 1 mL,检测总酚含量(以空白肠液与福林酚试剂反应作为分光光度测定时候的空白对照),获得释放率的累计值,并增补同样体积的模拟液。

1.2.11 微胶囊对小麦粉体外消化性的影响 称取 95 mg 小麦粉与 5 mg 茶多酚和相应质量的各样品(使得茶多酚占淀粉质量的 5%)于具塞试管中,加入 pH 为 5.2 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液 5 mL,再加入搅拌子,95 ℃水浴 20 min,磁力搅拌速度为 500 r/min。冷却至 37 ℃后,分别移取 1 mL 样品,加入备好到 37 ℃的 1 mL α-淀粉酶及葡萄糖苷酶(290 U/mL:15 U/mL)酶液里,在 37 ℃前提下处理,分别在酶解反应的第 0~120 min 内每隔 20 min 抽样 100 μL,加入 900 μL 无水乙醇,离心 3 min(转速 1 000

r/min)后采用己糖激酶(HK)法[27]测量反应后体系里葡萄糖的量，并按如下方法求出小麦粉体外消化率,计算快消化淀粉、慢消化淀粉及抗性淀粉所占比例。

淀粉体外消化率=葡萄糖含量×0.9×100%

RDS 快消化淀粉(%)=(G20−FG)×0.9/TS

SDS 慢消化淀粉(%)=(G120−G20)×0.9/TS

RS 抗性淀粉(%)=[TS−(RDS+SDS)]/TS

其中:FG 为淀粉中游离的葡萄糖含量,G20 为样品水解 20 min 后的葡萄糖含量,G120 为样品水解 120 min 后的葡萄糖含量,TS 为总淀粉含量。

1.2.12 *微胶囊对小鼠餐后血糖反应的影响* 选取禁食 5 h 后空腹血糖正常的小鼠,随机划成 4 组,各组 6 只,设定为空白组、对照组 1、对照组 2 及样品组（组间差不大于 1.1 mmol/L)[28]。空白组按照 0.1 mL/10 g 给小鼠灌胃糊化后的小麦粉；对照组 1 灌胃糊化后的小麦粉与茶多酚(占总质量的 5%)混合物;对照组 2 灌胃糊化后的小麦粉与未包埋茶多酚的微胶囊;样品组灌胃糊化后的小麦粉与包埋了茶多酚的微胶囊(保证样品组的茶多酚含量与对照组 1 的相等)，并在 0、15、30、45、60、90 和 120 min 选择尾尖取血,利用强生血糖仪测量血糖值。

2 结果与讨论

2.1 没食子酸标准曲线

获得回归方程 y=0.011 32x+0.009 77,R^2=0.999 5。其中:x 为没食子酸的质量浓度,y 为吸光值。

2.2 海藻酸质量浓度作用于微胶囊释放茶多酚的情况

海藻酸钠的黏度相对较大,与干燥后微胶囊释放茶多酚的速度也有较大关系,因此,寻找适当的海藻酸钠质量浓度,对于实现茶多酚在胃中被保护及在小肠上端迅速定点释放很重要。实验显示,若海藻酸钠的质量浓度较高(3.5 和 4.5 g/L),形成的微胶囊在胃中 120 min 时的 TP 释放率分别为 9.12%和 7.30%,缓释效果较好,但在肠中 30 min 的释放率分别为 43.0%和 37.7%,释放较慢,无法实现在小肠上半段的定点释放；而当质量浓度较低(0.5 和 1.5 g/L）时,TP 在肠中释放率较高分别为 61.0%和 60.99%，但在胃中 120 min 的释放率分别为 31.0%和 19.9%,释放率较大,无法有效保护茶多酚；若海藻酸钠质量浓度是 2.5 g/L，微胶囊在胃中 120 min 释放率为 13.32%，释放率较低，而在肠中 30 min 的释放率为 59.7%,释放较快。因此,综合在胃和肠道的释放效果，选择海藻酸钠的质量浓度为 2.5 g/L。

2.3 正交试验结果分析

经过分析,选取 1.5 g 轻度糊化玉米淀粉、质量浓度 2.5 g/L 的海藻酸钠 10 mL、25 mg/mL 的茶多酚溶液 20 mL、壳聚糖和氯化钙都是 25 mL。实施的正交试验的结果如表 1 所示。

由表 1 可知,各因素影响茶多酚在胃中和肠中的释放率的顺序都为氯化钙质量浓度>pH 值>壳聚糖质量浓度。最佳工艺为 $A_2B_2C_2$,即壳聚糖质量浓度

表 1 正交试验设计及结果

Table 1 Orthogonal experiment design and results

试验号	A/(g/L)	B/(g/L)	C	胃液中 30 min 释放率/%	肠液中 30 min 释放率/%
1	2(3)	10(2)	2(3)	19.37	54.70
2	2(3)	12(3)	5(1)	20.51	31.00
3	1(2)	8(1)	2(3)	22.00	38.60
4	1(2)	12(3)	5(1)	17.00	33.70
5	1(2)	10(2)	3.5(2)	10.32	61.37
6	0.5(1)	12(3)	2(3)	19.72	30.26
7	0.5(1)	8(1)	5(1)	30.00	41.50
8	2(3)	8(1)	3.5(2)	23.40	34.12
9	0.5(1)	10(2)	3.5(2)	15.00	52.80
K_1	64.72/124.56	75.4/114.22	67.51/106.2		
K_2	49.32/133.67	44.69/168.87	48.72/148.29		
K_3	63.28/119.82	57.23/94.96	61.09/123.56		
$\overline{K}_1$	21.573/41.52	25.133/56.29	22.503/35.4		
$\overline{K}_2$	16.44/44.557	14.897/56.29	16.24/49.43		
$\overline{K}_3$	21.093/39.94	19.077/31.653	20.363/41.187		
R	5.133/4.617	10.237/56.29	6.263/14.03		

1 g/L、氯化钙质量浓度 10 g/L、pH 值 3.5。表 2 方差分析表明,要素壳聚糖质量浓度(A)、氯化钙质量浓度(B)、pH 值(C)于茶多酚在胃中的释放率都存在显著性影响($P < 0.05$),从表 3 可知,要素氯化钙质量浓度(B)于茶多酚在肠中的释放率存在显著影响($P < 0.05$),因素壳聚糖的质量浓度(A)、pH 值(C)没有显著影响。为检验这个最佳试验水平,再做 3 次重复试验,得到微胶囊对茶多酚的包埋率分别是 86.32%、84.5%、81.42%,平均包埋率为 84.08%;包载量分别是 214.7、207.13 和 201.97 mg/g,平均包载量为 207.6 mg/g;在胃液中处理 30 min 时的茶多酚释放率分别是 12.3%、9.57%、8.4%,平均释放率是 10.09%;在肠液中处理 30 min 时的茶多酚释放率分别是 65.5%、60.7%、58.06%,平均释放率是 61.42%。3 次试验的数据相差不大,证明这个制备条件相对稳定,试验可行性强,获得的微胶囊外观形状规则、不粘连。

表 2 方差分析(胃液中 30 min 释放率)

Table 2 Analysis of variance (release rate of 30 min in gastric juice)

方差来源	III 型平方和	df	F 值	显著性
A	48.235	2	34.028	0.029
B	132.736	2	93.641	0.011
C	34.602	2	24.411	0.039
D(误差)	1.418	2		

表 3 方差分析(肠液中 30 min 释放率)

Table 3 Analysis of variance(release rate of 30 min in the intestinal fluid)

方差来源	III 型平方和	df	F 值	显著性
A	33.031	2	1.42	0.412
B	700.247	2	30.2	0.032
C	18.498	2	0.8	0.556
D(误差)	23.191	2		

当不添加壳聚糖时,测定微胶囊的茶多酚包埋率为(42.37±1.4)%,包载量为(90.4±3.67) mg/g,饱满效果较差,且制备的微胶囊在胃液中 30 min 的释放率较大,为(37.56±1.21)%,无法实现对茶多酚的有效保护,因此在制备微胶囊时须添加壳聚糖。

2.4 轻度糊化玉米淀粉及微胶囊粒径分布

用激光粒度仪将轻度糊化玉米淀粉、没有包载芯材茶多酚的壁壳和包载了茶多酚的微胶囊做了分析,结果如图 1 所示。

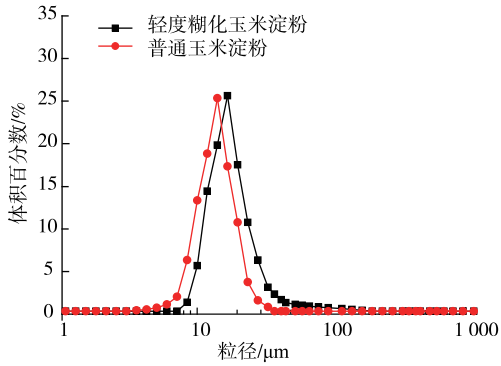


图 1 轻度糊化玉米淀粉粒径分布

Fig. 1 Particle size distribution of mild gelatinized corn starch

由图 1 可知,和普通玉米淀粉相比,经过轻度糊化处理的淀粉粒径稍有增大,但增大幅度不明显。分析其原因是糊化过程水分子进入到淀粉颗粒内部使得淀粉膨胀,之后水分子经预冻后结冰并升华,淀粉颗粒框架不变,致使粒径增大[29]。

如图 2 所示,微胶囊的粒径分布为:1 100~1 000 μm 占 1.1%;1 000~830 μm 占 9.79%;830~600 μm 占 16.1%;600~530 μm 占 41.26%;530~400 μm 占 21.79%;400~330 μm 占 6.4%;330~250 μm 占2.66%;250~175 μm 占 0.9%,符合高斯分布。且同未包载芯材茶多酚的外壁相比较,微胶囊的粒径有所增大,推测是由于外壁包载了茶多酚,使得微胶囊的粒径增加。

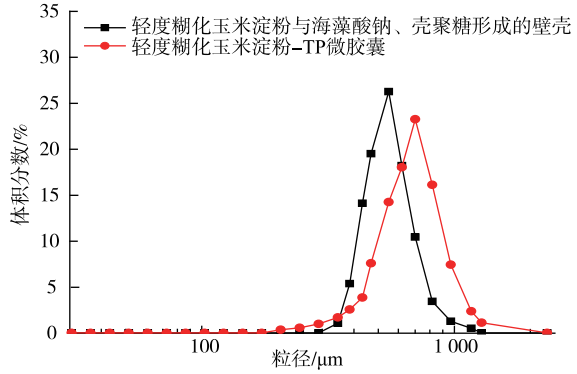


图 2 轻度糊化玉米淀粉、壳聚糖、海藻酸钠组成的外壁及微胶囊粒径分布

Fig. 2 Particle size distribution of microcapsules and wall shell formed by mild gelatinized starch, sodium alginate and chitosan

2.5 傅里叶红外分析

由图 3 可见,壳聚糖的 O-H 特征峰在 3 415 cm^{-1},$-NH_2$ 的吸收峰在 1 575 cm^{-1};海藻酸钠的 O-H

特征峰在 3 400 cm^{-1}，苯环的 C–H 振动在 2 930 cm^{-1}，1 615 cm^{-1} 是–COO–不对称伸缩振动峰；轻度糊化玉米淀粉的 O–H 的特征峰出现在3 000~3 500 cm^{-1}，而 707 cm^{-1} 处出现淀粉的特征峰。这些表明了壳聚糖上氨基与海藻酸钠上羧基相结合成了聚电解质膜，包载了轻度糊化玉米淀粉。

轻度糊化玉米淀粉+壁材吸收峰幅度明显减小，可能是因为形成的壁壳是复合凝聚物。轻度糊化玉米淀粉–TP 微胶囊图谱的 TP 的峰显着削弱，并且组合体的图谱和壁壳的类似，说明茶多酚进到了微胶囊的内腔，羟基的特征吸收峰在 3 000~3 700 cm^{-1}，这一波段代表了不同羟基的波数，包埋了茶多酚的微胶囊的峰比胃包埋茶多酚的壁壳的峰强度高，说明微胶囊包埋了茶多酚，壁壳和茶多酚之间形成了更多的羟基，羟基的种类和数量有所增加。这些都证明了包埋物的生成。

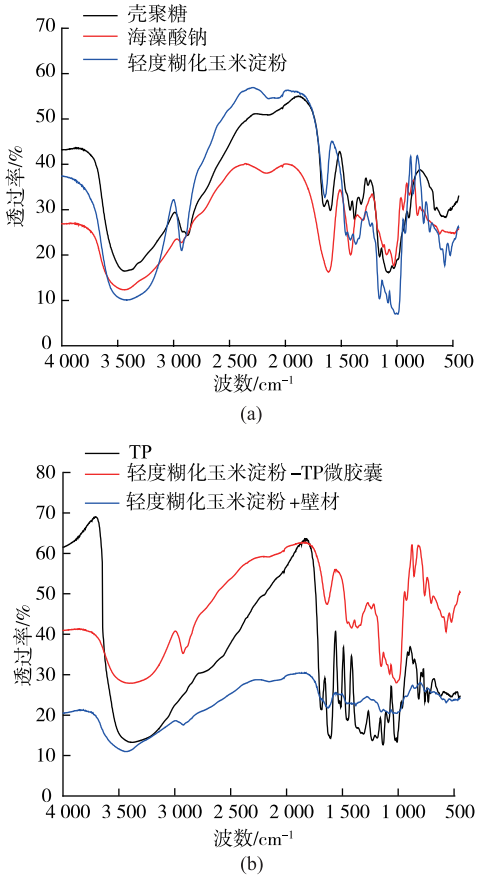
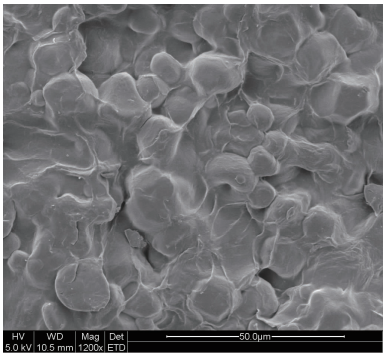


图 3　各组分及微胶囊的 FTIR 图

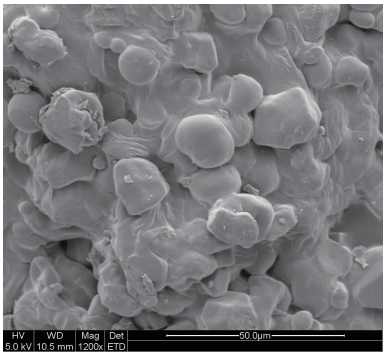
Fig. 3　FTIR spectrum of each component and microcapsule

2.6　SEM 扫描表征分析

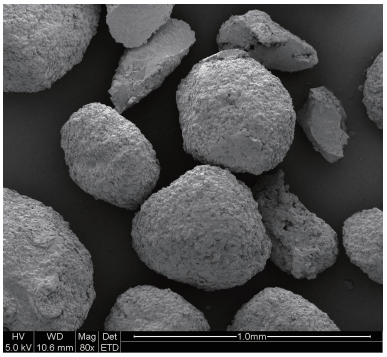
从图 4 可看出，未添加茶多酚时的外壁褶皱较为明显且外观粗糙，可能是外壁表面有较多孔隙，而加入茶多酚之后，微胶囊褶皱相对平浅，外观相对平滑，这或许是茶多酚被包埋造成的。且从图中褶皱处可以看出由壁材包埋形成的外壁层较薄，这将有利于微胶囊在进入小肠时快速释放茶多酚，以实现茶多酚的定点释放。



(a)轻度糊化玉米淀粉与海藻酸钠、壳聚糖制备的外壁



(b)添加TP后形成的轻度糊化玉米淀粉-TP微胶囊



(c)轻度糊化玉米淀粉-TP微胶囊群体

图 4　壁壳、轻度糊化玉米淀粉–TP 微胶囊及微胶囊群体的扫描电镜图

Fig. 4　SEM images of wall, mild gelatinized corn starch–TP microcapsules and mild gelatinized corn starch–TP microcapsule group

2.7　微胶囊于模拟胃液环境的释放情况

同时研究了几种不同组合方式微胶囊，从图 5

可以看出有突释情况,这是没有被包载的残留在微胶囊表面的 TP 造成的,在突释后的释放过程中,茶多酚从微胶囊里释放的同时也会遭到胃液的破坏,所以释放率曲线表现出波动的状况。

轻度糊化玉米淀粉在吸附 TP 后,在没有添加壁材时,在模拟胃液里的释放速度较快,释放率也较高,使得 TP 损失较多,不能对 TP 起到较好的保护作用,而添加了壁材之后,TP 于胃里的释放速率和释放量降低明显,证明了添加壁材的重要性。

以改性淀粉为芯材载体的微胶囊与以普通玉米淀粉为芯材载体形成的微胶囊相比,在胃中对 TP 的保护效果更好,这是因为与普通玉米淀粉相比,改性淀粉由于其自身物理结构的改变,吸附 TP 的能力更强,因此在胃中的释放更为缓慢,释放率也更低。

微胶囊在胃液里的释放率为 0.5 h:(10.09±0.25)%,2.0 h:(16.22±0.84)%。表明在 pH1.2 时,包埋物的释放较缓慢。

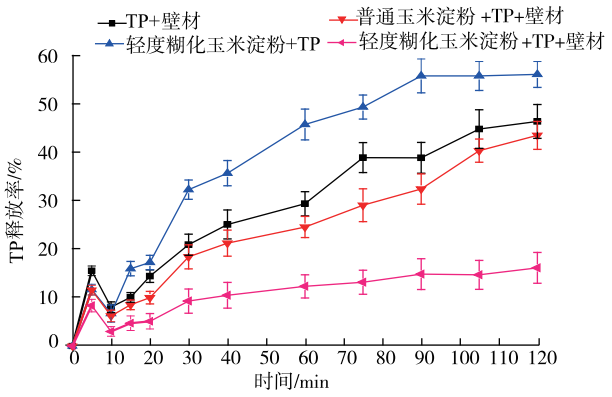


图 5 微胶囊于模拟胃液的释放情况

Fig. 5 Release of microcapsules in simulated gastric fluid

2.8 微胶囊于模拟肠液环境的释放情况

从图 6 可以看出,在胃液里停留 0.5 与 2.0 h 的微胶囊在肠液里都出现了快速释放,在肠液里反应 0.5 h 时,在胃液里停留 0.5 h 的微胶囊释放速率达到(61.42±1.13)%,在胃里停留 2.0 h 的微胶囊的释放率达到了(72.40±1.32)%,后者在肠中的释放率稍快,但两者没有显著差异,说明制备的微胶囊在胃中比较稳定,不因为在胃中停留的时间过长而结构被破坏,在进入肠中以后受肠液 pH 的影响快速释放出茶多酚,能够达到包埋物于胃中少溶于肠中快速释放。

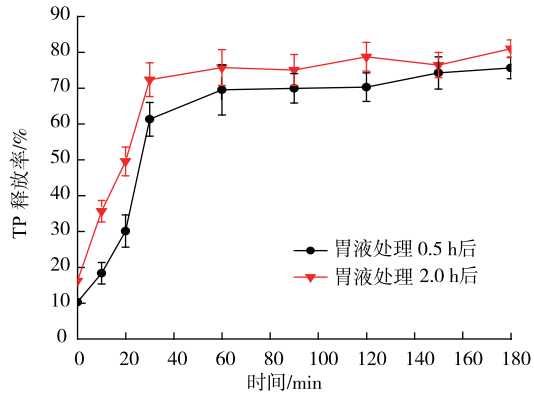
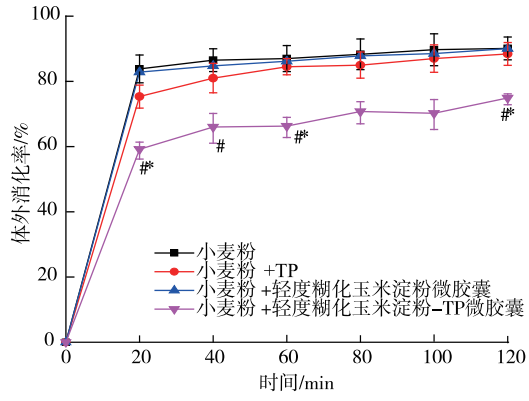


图 6 胃液分别处理 0.5 h 和 2.0 h 后微胶囊在模拟肠液里的释放情况

Fig. 6 Release of microcapsules in simulated intestinal fluid after being treated by simulated gastric fluid for 0.5 and 2.0 hours

2.9 微胶囊对小麦粉体外消化性的影响

由图 7 和表 4 可知,直接添加茶多酚的小麦粉组与单独的小麦粉组的体外消化结果并无明显差异,说明直接添加茶多酚时,茶多酚由于未被保护而大量损失,无法发挥促进淀粉慢消化的效果;没有包载茶多酚的轻度糊化玉米淀粉微胶囊组与单独的小麦组的消化结果无明显差异,说明芯材载体轻度糊化玉米淀粉的慢消化作用可忽略不计;而含有等量茶多酚的轻度糊化玉米淀粉–TP 组的快消化淀粉含量减少了 16.13%,抗性淀粉的含量增加 13.51%,表明微胶囊较好地保护了茶多酚,且茶多酚发挥了有效的促进淀粉慢消化的功能。



代表与小麦粉相比有显著差异 ($P < 0.05$),* 代表与小麦粉+TP 相比有显著差异($P < 0.05$)。

图 7 微胶囊对小麦粉体外消化性的影响

Fig. 7 Effects of microcapsules on the digestive properties of wheat flour in vitro

表 4　不同样品中的 RDS、SDS、RS 的含量($\bar{x}\pm s$, n=3)

Table 4　Content of fast digested starch (RDS), slow digested starch (SDS) and resistant starch (RS) in different samples

样品	RDS/%	SDS/%	RS/%
小麦粉	83.83±0.11	6.29±0.18	9.88±0.37
小麦粉+TP	75.33±0.25	13.10±0.13	11.57±0.32
小麦粉+轻度糊化玉米淀粉微胶囊	82.84±0.37	7.24±0.26	9.92±0.5
小麦粉+轻度糊化玉米淀粉-TP 微胶囊	59.20±0.19#*	15.72±0.35#	25.08±0.24#*

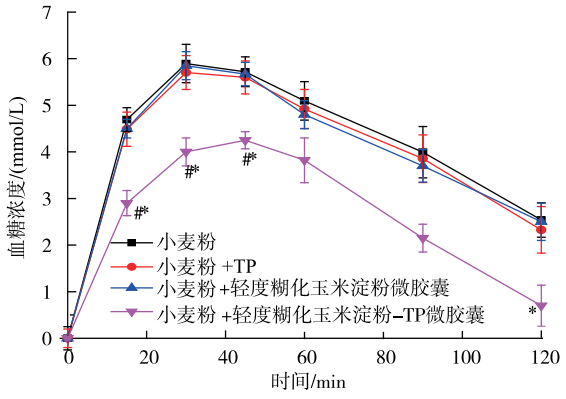
注:# 代表与小麦粉相比有显著差异 ($P<0.05$),* 代表与小麦粉+TP 相比有显著差异($P<0.05$)。

2.10　微胶囊对小鼠餐后血糖反应的影响

将以轻度糊化玉米淀粉为芯材载体的茶多酚微胶囊对小鼠实施灌胃,并观测小鼠的餐后血糖波动,结果如图 8 所示。

由图 8 可以看出,单独只灌胃小麦粉后,小鼠餐后血糖迅速升高, 并在 30 min 血糖升高了 5.90 mmol/L,达到餐后血糖峰值,且与小麦粉直接和茶多酚混合组相比,并无显著差异。

与只灌胃小麦粉组和小麦粉直接与茶多酚混合组相比, 具有等量茶多酚的轻度糊化玉米淀粉-TP 微胶囊组的餐后血糖反应明显较低,微胶囊组在餐后 15 min 的血糖含量仅为小麦粉组的 61.80%左右,为小麦粉直接加茶多酚组的 64.64%左右,餐后 30 min 的血糖相比小麦组降低了 32.15%,相比小麦粉直接加茶多酚组降低了 29.87%,血糖明显降低。



代表与小麦粉相比有显著差异 ($P<0.05$),* 代表与小麦粉+TP 相比有显著差异($P<0.05$)。

图 8　灌胃微胶囊的小鼠餐后血糖反应曲线

Fig. 8　Blood glucose response curve after meals of mice fed with microcapsules

微胶囊组的餐后血糖的峰值出现在 45 min,推迟了 15 min, 且血糖最大波动值分别仅为 4.20 mmol/L,证明茶多酚微胶囊能够使餐后血糖波动整体趋势相对平缓。

3　结　语

本实验采用轻度糊化玉米淀粉包载茶多酚,再利用抗酸与肠溶性、且对 pH 敏感、生物相容较高的海藻酸钠、壳聚糖为壁材,对芯材进行包埋,壁材的质量浓度及比例在经优化后既能成膜包裹芯材载体及芯材, 又不至于影响芯材在小肠中的快速释放,实现壁壳在胃中稳定,减少茶多酚在胃中的损失,而到达小肠上半段快速溶解,定点释放茶多酚。确定制备条件是 1.5 g 轻度糊化玉米淀粉,20 mL 25 mg/mL 的茶多酚,10 mL 2.5 g/L 的海藻酸钠,25 mL 1 g/L 的壳聚糖,25 mL 10 g/L 的氯化钙,用 $NaHCO_3$ 调节 pH 为 3.5, 在最佳条件下获得的轻度糊化玉米淀粉-TP 微胶囊的茶多酚包埋率达 84.08%,平均包载量为 207.6 mg/g。若只采用海藻酸钠和壳聚糖来包载茶多酚, 干燥之后骨架脆弱,整体呈片状,而本实验通过添加改性淀粉,克服了这一缺点,使微胶囊形态得到完善,包埋率也得到提高。

将微胶囊进行小麦粉体外消化实验,结果表明相对于未经保护的茶多酚直接与小麦粉的消化结果, 经微胶囊化的茶多酚能很好地实现淀粉慢消化,且在小鼠实验中也得到了验证,相对于直接灌胃茶多酚的小鼠,灌胃微胶囊组的小鼠餐后血糖波动整体趋势相对平缓,血糖峰值明显降低,且峰值出现的时间推迟了 15 min。淀粉微胶囊实现淀粉慢消化及对餐后血糖反应影响的原理还有待进一步研究。

参考文献:

[1] MUKHTER H,AHMAD N.Tea polyphenols:prevention of cancer and optimizing health [J]. **Am J Clin Nutr**,2000,71(6):1698S-1702S.

[2] SUN Tao,LIU Huawei,XIE Jing,et al. Effects of bamboo vinegar and tea polyphenols on fresh-keeping of beef [J]. **Journal of**

Food Science and Biotechnology,2013,32(4):405-409.(in Chinese)
[3] MIAO M,JIANG B,JIANG H,et al. Interaction mechanism between green tea extract and human alpha-amylase for reducing starch digestion[J]. **Food Chem**,2015,186:20-25.
[4] XIAO J,NI X,KAI G,et al. A review on structure-activity relationship of dietary polyphenols inhibiting alpha-amylase [J]. **Crit Rev Food Sci Nutr**,2013,53(5):497-506.
[5] YILMAZER-MUSA M,GRIFFITH A M,MICHELS A J,et al. Grape seed and tea extracts and catechin 3-gallates are potent inhibitors of alpha-amylase and alpha-glucosidase activity[J]. **J Agric Food Chem**,2012,60(36):8924-8929.
[6] LEE J Y,JEONG K W,KIM Y M. Epigallocatechin 3-gallate binds to human salivary α-amylase with complex hydrogen bonding interactions[J]. **Bulletin of the Korean Chemical Society**,2011,32(7):2222-2226.
[7] HE Q,LV Y P,KAI Y. Effects of tea polyphenols on the activities of α-amylase,pepsin,trypsin and lipase [J]. **Food Chem**,2007,101(3):1178-1182.
[8] KANDRA L,ZAJACZ A,REMENYIK J,et al. Kinetic investigation of a new inhibitor for human salivary alpha-amylase[J]. **Biochem Biophys Res Commun**,2005,334(3):824-828.
[9] RUAN Miaoyun,ZHANG Genyi. Study on the inhibitory effect of tea polyphenols on amylase [J]. **Food Science and Technology**,2008,36(11):4371-4373.(in Chinese)
[10] FERRUZZI M G. The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea [J]. **Physiol Behav**,2010,100(1):33-41.
[11] ZHU Xingyi,LIU Xiaoping. Study on the preparation of tea polyphenols by bamboo fiber adsorption [J]. **Journal of Zhejiang University of Technology**,2013,41(6):605-609.(in Chinese)
[12] YANG Xiaohui. Study on the adsorption of tea polyphenols by crosslinked PVP gel [J]. **Journal of Xi´an University of Arts and Science:Natural Science Edition**,2005,8(4):43-46.(in Chinese)
[13] WANG Zhaofeng,ZHANG Ji. Study on the process of adsorption of caffeine from tea polyphenols by acid clay [J]. **Chinese Patent Medicine**,2013,35(1):193-197.(in Chinese)
[14] 刘珍. 二氧化硅 - 壳聚糖修饰茶多酚纳米脂质体的结构和生物利用性[D]. 南昌:南昌大学,2015.
[15] 刘寅. 酵母对茶多酚吸附性能的研究[D]. 无锡:江南大学,2010:1-32.
[16] WANG Fang,LI Yue,ZHONG Fang. Study on preparation of high adsorptive starch by mild gelatinization at short time[J]. **China Science and Technology Paper,Online**,2016.(in Chinese)
[17] 尹卓林. 多孔淀粉的制备及其吸附应用研究[D]. 济南:齐鲁工业大学,2013.
[18] GAO J,TONG-TAO X,CHEN W S,et al. Study on the preparation and properties of sodium alginate gel microspheres mdified by n-octyl amine[J]. **China Pharmacy**,2012,23(25):2353-2355.
[19] PENG Jing,MA Yihua,CHEN Yan,et al. Immobilization of snail enzyme and biotransformation of icariin by microemulsion gel method. Studies on[J]. **Chinese Herbal Medicine**,2015,46(22):3326-3332.(in Chinese)
[20] YU Zhaohui,LIU Qiyuan,CUI Li,et al. Preparation of ginsenoside Rb1 by microsphere immobilized enzyme conversion of ginsenoside Compound K[J]. **Chinese Herbal Medicine**,2014,45(21):3092-3097.(in Chinese)
[21] PAN Yongyi,LIU Qiang,CAI Baota,et al. Preparation of airtight Chinese medicine sponge dressing [J]. **Chinese Herbal Medicine**,2014,45(4):485-489.(in Chinese)
[22] HE Rongjun,YANG Shuang,SUN Peilong,et al. Alginate chitosan microcapsule preparation and its application [J]. **Food and Machinery**,2010,26(2):166-169.(in Chinese)
[23] GUO Changsheng,LIN Haitao,JIANG Fang. Properties and applications of chitosan [J]. **Journal of Chengdu Textile College**,2017(2):212-215.(in Chinese)
[24] SAKURADA J. Poly(vinul alcohol)Fibers[M]. New York:Marcel Dekker,1985:192-196.
[25] CAO Xinzhi,YU Jianming,XIONG Li,et al. Optimization of extraction and determination of total phenols in the China brewing Langjiu wine lees[J]. **China Brewing**,2011,7(232):137-140.(in Chinese)
[26] AMERINE M A,OUGH C S. Methods for analysis of musts and wines[M]. New York:Wiley,1988.
[27] XU H,LENG X,WANG M Z,et al. Glucose measurement in the presence of tea polyphenols [J]. **Food Analytical Methods**,2011,5(5):1027-1032.
[28] 郑婵颖,楼庆明. 甲壳低聚糖对糖尿病小鼠模型空腹血糖和餐后血糖的影响[C]//[s.l.]:[s.n.],浙江中西部科技论坛,2005.
[29] CARLSTEDT J,WOJTASZ J,FYHR P,et al. Understanding starch gelatinization:The phase diagram approach [J]. **Carbohydr Polym**,2015,129:62-69.