

唾液酸对一种特殊医学用途全营养配方食品体外消化特性的影响

程园梦, 丰珂珏, 左 摇, 胡 雄, 熊 文, 邓乾春, 陈亚淑, 李翔宇

Effect of Sialic Acid on the *in-Vitro* Digestion Properties of A Whole Nutrition Food for Special Medical Purposes

CHENG Yuanmeng, FENG Kejue, ZUO Yao, HU Xiong, XIONG Wen, DENG Qianchun, CHEN Yashu, and LI Xiangyu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023090188>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

特殊医学用途全营养配方食品的稳定性研究

Study on the Stability of Whole Nutritional Formula Foods for Special Medical Purposes

食品工业科技. 2021, 42(3): 277-283 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040101>

唾液酸对急性酒精性肝损伤小鼠的抗氧化作用

Protective Effect of Sialic Acid on Acute Ethanol-induced Oxidative Damage in Mice

食品工业科技. 2019, 40(22): 321-324,333 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.22.056>

基于粒子特性研究特殊医学用途配方食品全营养乳剂的稳定性

Stability of Total Nutrient Emulsion of Food for Special Medical Purpose by Particle Analysis

食品工业科技. 2021, 42(1): 334-341,347 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020020176>

N-丙酰-唾液酸衍生物的化学酶法合成及在测定禽蛋中唾液酸含量的应用

Chemoenzymatic Synthesis of N-Propionyl-Neuraminic Acid Derivative and Its Application in the Determination of Sialic Acid Content in Poultry Eggs

食品工业科技. 2021, 42(1): 28-34,41 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020010142>

一种特殊医学用途糖尿病全营养配方粉的研制

Development of One Kind of Diabetic Total Nutrition Formula Powder for Special Medical Purposes

食品工业科技. 2021, 42(5): 188-193,199 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060005>

关于苯丙酮尿症特殊医学用途配方食品研发与应用进展

Development and Application Progress of Food for Special Medical Purpose for Phenylketonuria

食品工业科技. 2022, 43(16): 413-420 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070262>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

程园梦, 丰珂珏, 左摇, 等. 唾液酸对一种特殊医学用途全营养配方食品体外消化特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(18): 42–48. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090188

CHENG Yuanmeng, FENG Kejue, ZUO Yao, et al. Effect of Sialic Acid on the *in-Vitro* Digestion Properties of A Whole Nutrition Food for Special Medical Purposes[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(18): 42–48. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090188

· 研究与探讨 ·

唾液酸对一种特殊医学用途全营养配方食品 体外消化特性的影响

程园梦¹, 丰珂珏², 左摇³, 胡雄², 熊文², 邓乾春⁴, 陈亚淑⁴, 李翔宇^{2,3,*}

(1.湖北大学材料与化工学院, 湖北武汉 430000;

2.嘉必优生物技术(武汉)股份有限公司, 湖北武汉 430000;

3.武汉中科光谷绿色生物技术有限公司, 湖北武汉 430000;

4.中国农业科学院油料作物研究所, 湖北武汉 430000)

摘要: 本文探究了添加唾液酸(SA)对1~10岁全营养特医食品在体外模拟消化过程中脂肪及脂溶性营养素(如维生素E)消化特性的影响。结果表明, SA的添加促进了特医食品在水溶液中的分散, 液滴尺寸从 $0.84\pm 0.09\ \mu\text{m}$ 下降到 $0.63\pm 0.04\ \mu\text{m}$, 电位没有出现显著性变化($P>0.05$)。SA的添加对特医食品中的脂肪酸在消化过程中的释放率与维生素E的生物可及性均有正向提高效果, 脂肪酸释放率从76.65%提高到93.10%, 维生素E生物可及率从79.75%提高到91.64%。此外, SA的加入对特医食品中脂肪消化过程中氧化稳定性无显著性影响($P>0.05$)。本研究为后续SA应用于特医食品领域提供了参考依据。

关键词: 唾液酸, 特医食品, 体外消化, 氧化稳定性

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)18-0042-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023090188

本文网刊:



Effect of Sialic Acid on the *in-Vitro* Digestion Properties of A Whole Nutrition Food for Special Medical Purposes

CHENG Yuanmeng¹, FENG Kejue², ZUO Yao³, HU Xiong², XIONG Wen², DENG Qianchun⁴,
CHEN Yashu⁴, LI Xiangyu^{2,3,*}

(1.College of Materials and Chemical Engineering, Hubei University, Wuhan 430000, China;

2.Jiabiutechnology (Wuhan) Co., Ltd., Wuhan 430000, China;

3.Wuhan Zhongke Optics Valley Green Biotechnology Co., Ltd., Wuhan 430000, China;

4.Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430000, China)

Abstract: This article explored the effects of the addition of SA on the *in-vitro* digestion characteristics of lipids and fat-soluble nutrients (vitamin E) in the whole nutrition food for special medical purposes for children aged 1 to 10 years old. The results showed that the addition of SA can promote the dispersibility of the food for special medical purposes in water. The droplet size decreased from $0.84\pm 0.09\ \mu\text{m}$ to $0.63\pm 0.04\ \mu\text{m}$ with the addition of SA, while there was no significance in ζ -potential ($P>0.05$). SA showed a positive effect on the release rate of fatty acids and the bioavailability of vitamin E. The release rate of fatty acids increased from 76.65% to 93.10%, and the bioaccessibility of vitamin E increased from 79.75% to 91.64%. In addition, the addition of SA had no significant effect on the oxidative stability during lipid digestion in special medical foods ($P>0.05$). This study provides an important reference basis for the subsequent application of SA in special medical and dietary food additives.

收稿日期: 2023-09-19

作者简介: 程园梦 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 复配植物乳稳态调控, E-mail: 1423656868@qq.com。

* 通信作者: 李翔宇 (1978-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 生物化工, 营养化学品产业化, E-mail: neal_lee@cabio.cn。

Key words: sialic acid; special medical food; *in-vitro* digestibility; oxidation stability

特殊医学用途配方食品(特医食品)是为了满足特殊医学状况或对于特定疾病人群的营养需要而研制的一类特殊膳食食品,当目标人群无法进食普通膳食或无法用日常膳食满足其营养需求时,特殊医学用途配方食品可以作为一种营养补充途径,起到营养支持作用,同时能更好适应特定疾病状态或疾病某一阶段的营养需求,为患者提供有针对性的营养支持,目前其良好的临床效果已得到全世界范围的广泛认可^[1-3]。全营养配方食品是特医食品的一种,由蛋白质、脂肪、碳水化合物、维生素和矿物质等多种营养素制备而成,可作为单一营养来源满足目标人群营养需求^[4]。其中,针对渐进性消瘦、皮下脂肪减少、水肿及各器官功能紊乱、生长发育和疾病康复缓滞等小儿营养不良症状,以补充 1~10 岁儿童生长发育足量营养物质(如高蛋白、健康油脂、高维生素等),开发 1~10 岁全营养特医食品可以满足因消化不足造成的营养不良的 1~10 岁人群的营养需求,降低营养不良的风险。目前国家市场监督管理总局发布注册的 1~10 岁人群全营养特医食品营养成分等特性符合 GB 29922-2013《特殊医学用途配方食品通则》要求,但整体获批不足 10 项且多为国外公司产品,而国内相关研究较少,因此此类产品可作为特医食品的研究模型之一。

N-乙酰神经氨酸(Neu5Ac),是一种以九碳糖神经氨酸为基本结构的衍生物的总称,因最早由 Blix 从牛下颌唾液腺蛋白中分离得到的,被称为唾液酸(SA)^[5]。SA 作为细胞膜的重要组成成分,广泛存在于生物系统中,有参与神经系统的发育和突触细胞传递的功能^[6]。SA 作为婴儿早期生长发育的重要营养物质,主要通过食用母乳获得。母乳中的唾液酸主要以唾液酸低聚糖(14%~33%)的形式存在,有促进大脑发育提升认知能力和记忆力^[7]、保护神经细胞抗神经疾病、改善肠道环境促进肠道对营养素的吸收和抑菌抗毒作用^[8-9]。适用于 1~10 岁人群的全营养配方食品额外添加 SA 能够使其营养组成更接近母乳。国家卫生和计划生育委员会已于 2017 年批准 SA 作为食品原料^[10]。然而,当前 SA 在特医食品领域上的应用仍缺乏研究,尤其是对脂肪酸的释放率和脂溶性营养素的生物可及率的影响,这是评价特医食品优劣的重要指标。

在适用于 1~10 岁人群的全营养配方食品中,脂肪是提供热量和脂肪酸的主要成分,主要以三酰甘油的形式存在,当前研究者常选择将脂溶性营养素添加至脂肪中以进一步强化特医食品的营养性。脂肪摄入人体后,消化主要在小肠中进行,通过胆盐和相关脂肪酶的作用,生成脂肪酸进入线粒体为人体供能,还可以促进脂溶性维生素和多酚的溶解吸收^[11]。脂肪在消化过程中影响因素多种多样主要分为两类:

a.脂肪自身状态,其中包括脂肪状态、脂肪结构等;
b.消化道内的促氧化环境,主要包括低 pH、促氧化物质、活性氧等^[12]。SA 作为一种电负性物质,可以与肠道中钙离子等矿物质和一些维生素结合,提高人体对的脂溶性营养素的吸收与利用。此外 SA 的电负性还可以提高血液中的细胞间的排斥作用,从而减少不必要的细胞间相互作用^[13]。因此,明晰 SA 对特医食品中脂肪及脂溶性营养素消化特性影响规律,对 SA 在特医食品领域中的应用较为重要。

本文研究了添加 SA 对特殊医学全营养配方食品食用品质的影响,通过模拟体外消化,脂肪酸释放率,维生素 E 的生物可及性,氧化指标等多项指标明确 SA 对全营养配方食品中脂肪及脂溶性营养素维生素 E 消化的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

小安素 新加坡雅培制药有限公司; SA 纯度 $\geq 98\%$,嘉必优;粘蛋白、 α -淀粉酶(380 U/g)、胃蛋白酶(3000 U/g)、胰酶(2000 U/g)、胰脂肪酶(20000 U/g)、胆汁盐 Sigma 公司;正己烷、异丙醇 色谱级 默克股份两合公司;其余试剂均为国产分析纯。

Mastersizer 3000 激光粒度仪、ZetaSizer Nano-ZS 纳米粒径分析仪 美国马尔文仪器公司;Timao 2.5 pH-STAT 消化滴定仪 瑞士万通公司;LSM880 激光共聚焦显微镜 德国蔡司;7890a 气相色谱分析仪 安捷伦公司。

1.2 实验方法

1.2.1 脂肪酸组成的测定 参考 GB 5009.168-2016^[14],称取 0.3 g 小安素粉末于 10 mL 塑料离心管中,加 2 mL 正己烷,与超声仪中超声 20 min,随后加入 3 mL 0.5 mol/L 的甲醇钠溶液进行甲酯化,离心(4000 r/min, 10 min)取上清液待测。

气相色谱测定条件:Agilent 6890 型气相色谱仪,Agilent 7683B 自动进样器,氢火焰离子化检测器(FID)。色谱条件:色谱柱 HP-INNOWAX(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μ m);载气为氮气,流速为 1.5 mL/min;进样量为 1 μ L;进样口温度为 260 $^{\circ}$ C,分流比为 80:1,分流流量为 120 mL/min;升温程序:210 $^{\circ}$ C 保持 9 min,20 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C,保持 10 min,然后运行。

1.2.2 模拟体外消化 体外消化方法采用文献[15-16]方法,样品在消化前现配现用(15 g 小安素粉末+100 mL 水)。SA 组额外加入 0.1% 的 SA(0.015 g),取 20 mL 溶液在 50 mL 的离心管中,加入 16 mL 含粘蛋白的口腔消化液,然后加入 100 μ L 0.3 mol/L 的 CaCl_2 ,调节 pH6.8,加入超纯水(1.9-V_{NaOH}),随后加入 2 mL α -淀粉酶溶液,在恒温摇床

中孵育 2 min。(37 ℃, 100 r/min)本阶段 α -淀粉酶的酶活为 75 U/mL。

取上述 20 mL 口腔消化液加入 16 mL 胃消化液,随后用 1 mol/L HCl 调 pH3.0,加入超纯水($2.99-V_{HCl}$),加入 10 μ L $CaCl_2$,加入 1 mL 胃蛋白酶,在恒温摇床中孵育 2 h。(37 ℃, 100 r/min)本阶段胃蛋白酶的酶活为 2000 U/mL。

取上述 20 mL 胃消化后的溶液与 8 mL 小肠消化液混合,加入 3 mL 胆汁盐和 40 μ L $CaCl_2$,随后用 1 mol/L NaOH 调 pH7.0,加入超纯水($3.96-V_{NaOH}$),加入 3 mL 胰酶溶液和 2 mL 胰脂肪酶溶液,在恒温摇床中孵育 2 h。(37 ℃, 100 r/min)本阶段胰酶的酶活为 100 U/mL,胰脂肪酶的酶活为 2000 U/mL。

1.2.3 粒径大小及粒径分布的测定 参考 Yang 等^[17],利用激光粒度仪通过激光衍射技术,测定原始样品及消化后不同阶段消化液的粒径大小及粒径分布。

1.2.4 Zeta 电位的测定 将不同阶段的消化样品采用对应消化液以 1:250 进行稀释,使用 ZetaSizer Nano-ZS 纳米粒径分析仪测定消化过程中各个阶段的电位值^[18]。

1.2.5 激光扫描共聚焦显微镜(Confocal laser scanning microscope, CLSM) 参考 Cheng 等^[19],制样前先将所有样品稀释至油浓度一致。使用激光共聚焦显微镜的 63 $\times$ 油镜检测原始样品及消化过程中各个阶段油脂的微观结构。将 200 μ L 的样品与 200 μ L 超纯水(v/v, 1:1)混合。然后,在混合物中加入 20 μ L 尼罗红乙醇溶液(1 mg/mL),分别使用 543 nm 和 605 nm 的激发波长和发射波长记录图像。

1.2.6 初级氧化产物含量的测定 参考 Meng 等^[20]测量氢过氧化物的方法,0.3 mL 样品和 1.5 mL 溶液(异辛烷:异丙醇=3:1)混合,涡旋振荡 10 s,重复三次,离心(4000 r/min, 10 min)。取 200 μ L 上层有机相和 2.8 mL 甲醇/丁醇(2:1)混合,随后加入 Fe^{2+} 和硫氰酸铵混合液(1:1)30 μ L,混合均匀,在避光条件下孵育 20 min,在 510 nm 波长测量吸光值。使用过氧化氢异丙苯作为标准溶液制备标曲。标曲方程: $y=0.0072x+0.0089$ (其中 x 为提取液浓度, y 为提取液在 510 nm 测量出的吸光值);原始样品中初级氧化产物含量计算公式为:

$$C = \frac{X \times V}{W}$$

其中, X 为提取液浓度; V 为提取液体积; W 为样品中油脂质量。

1.2.7 次级氧化产物含量的测定 采用 Cheng 等^[19]测量 TBARS 的方法对体系中丙二醛含量进行测定,1 mL 样品和 2 mL TBA 试剂充分混合,沸水浴反应 15 min,冷却至室温,离心(4000 r/min, 10 min),取上

清液在 532 nm 波长测量吸光值。使用 1,1,3,3-四乙氧基丙烷配制标准溶液制备标曲。标曲方程: $y=0.0554x+0.0023$ (其中 x 为上清液浓度, y 为上清液在 532 nm 测量出的吸光值);原始样品中次级氧化产物含量计算公式为:

$$C = \frac{X \times V}{W}$$

其中, X 为上清液浓度; V 为上清液体积; W 为样品中油脂质量。

1.2.8 游离脂肪酸释放率的测定 小肠阶段使用 pH-STAT 消化滴定仪进行滴定,滴定温度恒定在 37 ℃(pH=7),模拟小肠消化测定游离脂肪酸释放率含量。油脂相对分子量的计算方法如下:

$$m_{lipid} = M_{甘油} + 3 \times M_{脂肪酸} - 3 \times 18$$

其中, $M_{甘油}$ 是甘油的分子量为 92; $M_{脂肪酸}$ 是小安素中脂肪酸的平均相对分子质量; 3×18 是脱去三个水分子的分子量。

脂肪酸释放率计算公式如下^[21]:

$$FFA \text{ 释放率}(\%) = \frac{V_{NaOH} \times m_{NaOH} \times m_{lipid}}{w_{lipid} \times 2} \times 100$$

其中, v_{NaOH} 为 NaOH 的消耗体积(L); m_{NaOH} 为 NaOH 的浓度(mol/L); m_{lipid} 为油脂的平均相对分子质量; w_{lipid} 为消化液中油脂的质量(g)。

1.2.9 维生素 E 生物可及率的测定 胶束提取:取小肠消化后的溶液进行离心(10000 r/min, 1 h)后取上清液即为胶束溶液。采用高效液相色谱测定其中维生素 E 的含量。

取 5 mL 样品加入 10 mL 正己烷涡旋 30 min,离心(4000 r/min, 10 min),取上清液氮吹,随后加入 1 mL 正己烷复溶,过 0.2 μ m 滤膜,于棕色样品瓶中待测。

液相色谱分析条件: LC-6AD 高效液相色谱,流动相为正己烷:异丙醇=99.5:0.5(V/V),流速 1 mL/min,进样量 20 μ L,温度 30 ℃。

根据如下公式计算维生素 E 的生物可及率^[22]:

$$\text{生物可及率}(\%) = \frac{C_{胶束}}{C_{肠液}} \times 100$$

其中, $c_{胶束}$ 表示胶束中维生素 E 的浓度; $c_{肠液}$ 表示肠液中维生素 E 的浓度。

根据下述公式计算维生素 E 在消化过程中的稳定性:

$$\text{稳定性}(\%) = \frac{c_{肠液} \times 8}{c_{原始}} \times 100$$

其中, $c_{肠液}$ 表示肠液中维生素 E 的浓度; $c_{原始}$ 表示消化前溶液中维生素 E 的浓度; 8 表示样品从原始至小肠消化结束稀释的倍数。

1.2.10 分子对接分析 分子对接是一种可以提供相互作用详细信息的理论方法。Discovery Studio(DS)中的 CDocker 程序是一种半柔性对接算法,采用

该程序进行分子对接模拟, 研究脂肪酶和唾液酸的相互作用。脂肪酶的三维结构模型从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载, 其 PDB 编号为 1ETH。从 PubChem 数据库下载唾液酸的 3D 结构。将唾液酸结构导入到 DS 中, 设置其 pH 为 7.0, 并采用 CHARMM 力场优化进一步优化其结构。优化后的脂肪酶与唾液酸被赋予 CHARMM 力场。采用 DS 软件进行分子对接, 选择能量 (-CDOCKER energy、-CDOCKERinteraction energy) 最高的对接结果为最优构象并可视化 SCG-PB2 间的相互作用^[23]。

1.3 数据处理

所有实验重复操作 3 次, 实验数据的平均值和方差通过 Origin 2021 分析, 数据的显著性差异使用软件 SPSS 进行分析。

2 结果与分析

2.1 特医食品的脂肪酸组成

从表 1 可以看出特医食品中主要包括棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸, 其含量从高到低分别是油酸>亚油酸>棕榈酸>硬脂酸, 根据脂肪酸组成可以计算出特医食品中油脂的相对分子质量为 877。

表 1 特医食品中油脂的脂肪酸组成

Table 1 Fatty acid composition of oils and fats in specialty food

样品	棕榈酸(%)	硬脂酸(%)	油酸(%)	亚油酸(%)
特医食品	8.89±1.40 ^b	4.37±1.26 ^a	60.83±0.43 ^d	25.90±2.23 ^c

注: 不同字母表示不同脂肪酸含量的比重有显著性差异, $P<0.05$ 。

2.2 SA 对特医食品消化前后粒径影响

如图 1 所示, 经过体外模拟消化之后, 添加 SA 与未添加 SA 的特医食品溶液的粒径变化趋势基本一致, 消化后粒径显著增加($P<0.05$)。数据显示, 消化前的特医食品的粒径 $D[3,2]$ 为 $0.84\pm0.09\ \mu\text{m}$, 添加 SA 之后在口腔消化液中的粒径下降至 $0.63\pm0.04\ \mu\text{m}$, 说明 SA 促进了特医食品在水中分散。经过口腔消化之后粒径均有一定的提高, 发生较小程度的聚集, 是因为口腔消化液中的粘蛋白和无机盐产生的屏蔽效应造成的液滴聚集^[24-25]; 在胃模拟消化之后液滴发生大程度的聚集, 粒径显著增大($P<0.05$), 可能是因为低表面电荷降低了颗粒间静电排斥, 导致液滴发生聚集, 胃消化液的酸性环境以及胃蛋白酶的存在破坏了颗粒界面的特性^[26]; 在经过肠道消化之后, 粒径均进一步增大, 主要是由于较高浓度的盐粒子影响产生较大程度的聚集, 也可能是因为脂肪的消化和胰酶消化的产物置换造成的液滴聚集^[27]。SA 的加入对该特医食品体外消化过程中的粒径变化趋势没有产生明显影响。从图 1b~图 1c 也可以看出, 添加 SA 之后对消化过程中液滴的粒径分布没有产生影响。

2.3 SA 对特医食品消化前后电位的影响

如图 2 所示, 经过口腔消化后溶液的负电荷均

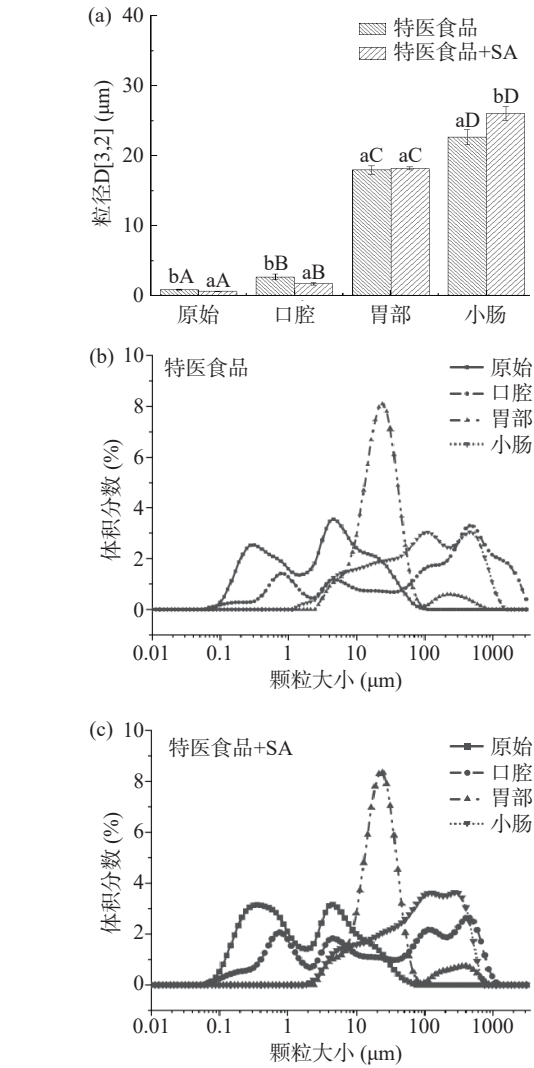


图 1 特医食品及特医食品+SA 在消化过程中的粒径
Fig.1 Particle size of special medical food and special medical food+SA during digestion process

注: (a)为消化过程中的粒径变化; (b)~(c)分别为特医食品、特医食品+SA 在消化过程中的粒径分布; 图(a)中不同小写字母表示同一环境不同样品之间数据差异显著, $P<0.05$; 不同大写字母表示, 同一样品不同环境之间数据差异显著, $P<0.05$; 图 2 同。

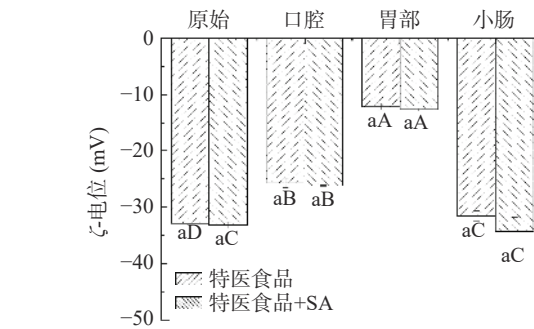


图 2 特医食品及特医食品+SA 在消化过程中的电位
Fig.2 Potential of special medical food and special medical food+SA during digestion process

显著降低($P<0.05$), 是因为口腔消化液中的电解质对表面电荷产生的屏蔽作用^[28]。胃消化后电位值进一步下降, 主要可能有几个原因: 较高离子强度的胃相

电解质可以屏蔽静电相互作用^[22]；胃消化液中的胃蛋白酶可以水解溶液中液滴表面的蛋白质，界面膜结构被破坏，降低了溶液中颗粒的稳定性^[16]。在经过小肠消化后负电荷都显著增加($P<0.05$)，主要是因为小肠消化液中的胆汁盐和脂肪酶改变油滴界面组成，肠道环境使消化液从 pH3 提高到 pH7，一些肠道成分例如胆汁盐、肽和游离脂肪酸，在 pH7.0 时水解为阴离子状态^[24]。图 2 中两组样品的电位图对比也可以看出 SA 的加入对特医食品在模拟体外消化过程中的电位没有显著性影响($P>0.05$)，可以推测 SA 的加入没有改变特医食品分散在水中颗粒的界面膜结构。

2.4 SA 的加入对特医食品消化前后微观形态的影响

从图 3 中可以看出原始样品溶解状态较好，油滴分布较为均匀，加入 SA 后分布更加均匀，说明加入 SA 之后溶液分散的更彻底，在经过口腔消化发生一定程度的聚集，可能是由于口腔消化液中的粘蛋白造成的桥接絮凝^[29]。经过胃部消化 2 h 之后聚集现象更加明显，粒径增加更明显，主要原因是胃消化环境中的低酸性 pH 和高离子强度降低了液滴表面的静电排斥力，胃蛋白水解油滴表面的蛋白质造成油滴聚集导致粒径增大^[30]；在经过小肠消化之后几乎没有可观测到的信号，说明大部分油滴已经被脂肪酶分解为游离脂肪酸存在于肠液中。SA 的加入对特医食品整个消化过程中的微观结构变化没有明显影响。

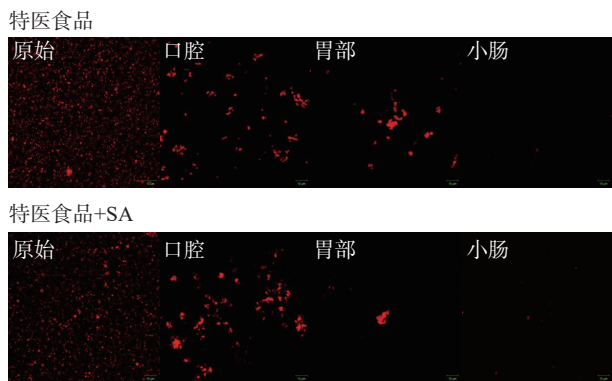


图 3 添加 SA 前后特医食品在不同消化阶段的微观结构
Fig.3 Microstructure of special medical food at different stages of digestion before and after SA supplementation

2.5 SA 的加入对特医食品消化过程中氧化指标影响

所有样品在消化前和消化过程中均未检测到初级氧化产物(样品吸光值和空白吸光值一致)，如表 2 所示，原始特医食品和添加 SA 的特医食品

表 2 消化过程中的次级氧化产物(丙二醛)的含量(mmol/kg oil)

Table 2 Amount of secondary oxidation products (malondialdehyde) during digestion (mmol/kg oil)

样品	原始	口腔	胃部	小肠
特医食品	0.54±0.04 ^a	0.90±0.07 ^a	1.00±0.03 ^a	1.07±0.08 ^a
特医食品+SA	0.54±0.02 ^a	0.87±0.05 ^a	1.00±0.07 ^a	1.07±0.05 ^a

注：不同小写字母表示同列数据差异显著， $P<0.05$ 。

TBARS 值是 0.54 mmol/kg oil, SA 的加入对 TBARS 值的变化趋势几乎没有影响，在经过口腔消化后 TBARS 值有一定程度的上升达到 0.9 mmol/kg oil，在胃和小肠消化后 TBARS 值没有明显波动，推测可能是因为特医食品中存在 V_E 等抗氧化剂抑制了消化过程中的氧化发生。SA 的加入对于存在促氧化剂的体系可能起到更加明显的效果。

2.6 SA 对特医食品中游离脂肪酸释放的影响

从图 4 中可以看出在消化的前 30 min 游离脂肪酸的释放速率较快，原始特医食品的脂肪酸释放率先变慢，并且在 120 min 时，添加 SA 组的脂肪酸释放率相比于原始样品显著提高($P<0.05$)，从 76.65% 提高到 93.10%。FFA 的释放的差异可能是由于加入 SA 之后小安素粉末在溶液中的分散程度更好，有更小的粒径。研究表明较小的液滴具有较大的比表面积，可以使脂肪酶与油脂界面更好的接触，因此具有更高的水解速率和脂肪水解程度^[31]。

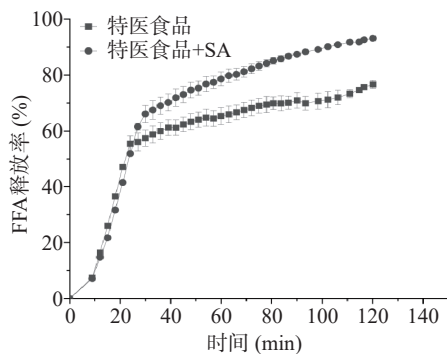


图 4 特医食品添加 SA 前后的游离脂肪酸释放率
Fig.4 Free fatty acid release rate before and after SA addition to special medical food

2.7 SA 对特医食品中维生素 E 生物可及率和稳定性的影响

稳定性和生物可及率是评判维生素 E 生物利用度的重要因素，主要取决于维生素 E 从油滴内部的释放和在混合胶束中溶解^[32]。从图 5 中可以看出添加 SA 前后维生素 E 的稳定性均在 82% 左右且没有

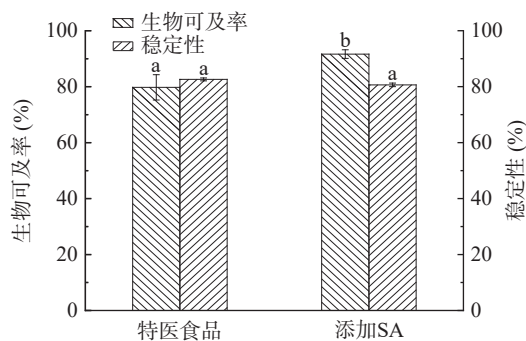


图 5 添加 SA 对特医食品中 V_E 生物可及率和稳定性影响
Fig.5 Effect of SA addition on the bioavailability and stability of V_E in special medical foods

注：不同小写字母表示同一指标不同样品差异显著， $P<0.05$ 。

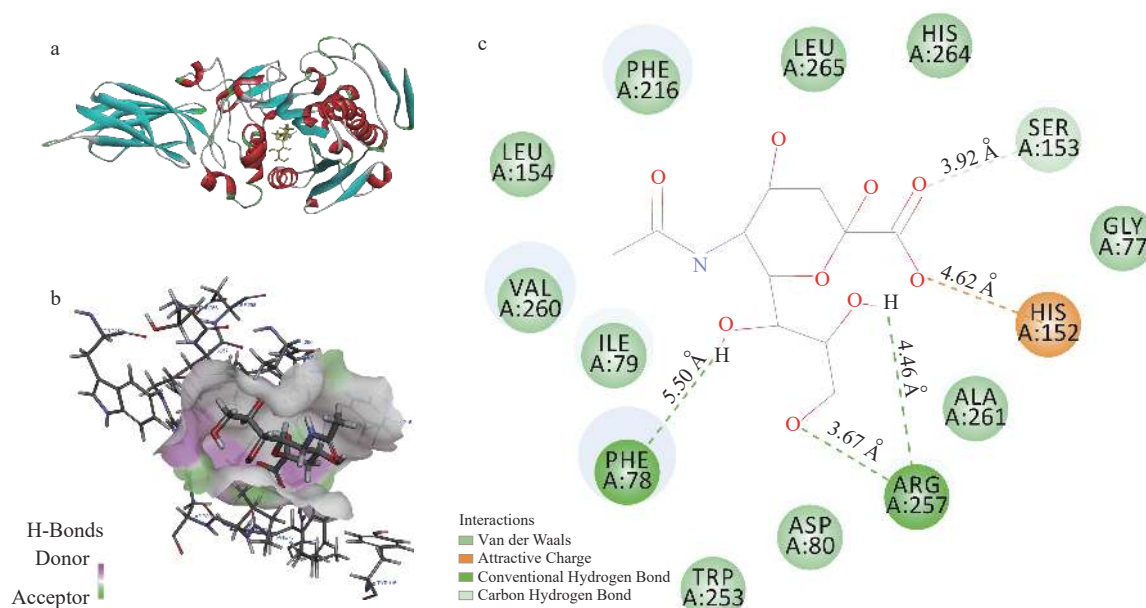


图 6 SA 与脂肪酶的分子对接可视化结果

Fig.6 Visualization results of molecular docking between SA and lipase two-dimensional binding mode diagram

注: a、b 为三维结合模式图; c 为二维结合模式图。

显著差异 ($P>0.05$)。原特医食品的生物可及性为 79.75%, 在加入 SA 后提高到 91.96% ($P<0.05$)。生物可及率提高可能是因为加入 SA 之后溶液液滴粒径变小, 消化的更加彻底, 使更多的维生素 E 进入胶束中被充分的利用^[32]。

2.8 SA 与脂肪酶的分子对接分析

分子对接作为预测两个分子间结合模式的一种有效手段^[33]。根据对接结果参数, 选择了对接能 (-34.9 kcal/mol) 及对接相互作用 (-44.3 kcal/mol) 最低的构象作为具体的对接分析。由图 6a~图 6b 可知唾液酸插入到了脂肪酶活性空腔, 并与众多氨基酸发生了相互作用。如图 6c 所示, SA 可能与脂肪酶的 Gly 77, Phe 78, Ile 79, Asp 80, His 152, Ser 153, Leu 154, Phe 216, Trp 253, Arg 257, Val 260, Ala 261, His 264, Leu 265 这些氨基酸残基发生了作用, 形成键长分别为 5.50 Å、4.62 Å、3.92 Å、3.67 Å 的氢键。以上结果表明, SA 和脂肪酶可能通过以氢键为主的相互作用连接在一起, 从而改变了脂肪酶的空间结构, 因此可能影响消化过程中脂肪酶的活性与脂肪酸的释放^[34]。

3 结论

本文主要研究了 SA 对 1~10 岁全营养特医食品小安素的消化特性、脂肪酸释放率和维生素 E 消化情况的影响。结果表明加入 SA 之后可以促进特医食品在水中的分散, 并进一步促进了其模拟消化过程, 使脂肪酸释放率提高 16.45%, 维生素 E 的生物可及性从 79.75% 提高到 91.64%, 分子对接结果表明 SA 可以通过氢键相互作用改变脂肪酶的空间结构, 从而影响脂肪酶活性。本研究说明 SA 具有应用于 1~10 岁人群的全营养配方食品中的潜力, 它在提

高儿童唾液酸摄入的同时, 还可以提高脂肪的消化以及脂溶性生物活性物质的生物可及性。后续可通过更加全面的研究, 探究在全营养配方的基础上添加唾液酸对不同全营养特医食品营养特性的研究及作用机制, 推动我国特殊医学用途全营养配方食品的发展。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 29922-2013 特殊医学用途配方食品通则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, State Food and Drug Administration. GB 29922-2013 General principles for formula foods for special medical purposes[S]. Beijing: Standards Press of China, 2013.]
- [2] 朱明炜, 崔红元. 肠内营养制剂的合理应用[J]. 临床药物治疗杂志, 2009, 7(6): 14-17. [ZHU M W, CUI H Y. Reasonable application of enteral nutrition preparations[J] Journal of Clinical Pharmacotherapy, 2009, 7(6): 14-17.]
- [3] CANGELOSI M J, AUERBACH H R, COHEN J T, et al. A clinical and economic evaluation of enteral nutrition[J]. Current Medical Research & Opinion, 2011, 27(2): 413-422.
- [4] MCCLEMENTS D J. Food emulsions: Principles, practices, and techniques[M]. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2015.
- [5] ZHANG X, LIU Y, LIU L, et al. Microbial production of sialic acid and sialylated human milk oligosaccharides: Advances and perspectives[J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(5): 787-800.
- [6] 解鸿蕾. 唾液酸对婴儿生长发育影响的研究进展[J]. 中国食品工业, 2021, (13): 122-123. [XIE H L. Research progress on the effect of sialic acid on infant growth and development[J] China

Food Industry, 2021, (13): 122-123.]

[7] XIE Y, ZENG H L, HUANG Z J, et al. Effect of maternal administration of edible bird's nest on the learning and memory abilities of suckling offspring in mice[J]. Neural Plasticity, 2018(2018): 1-13.

[8] 徐佳, 张瑞廷, 马利平, 等. 唾液酸的生物活性及其检测方法的研究进展[J]. 农产品加工, 2022(17): 95-98. [XU J, ZHANG R T, MA L P, et al. Research progress on the biological activity and detection methods of sialic acid[J]. Agricultural Product Processing, 2022(17): 95-98.]

[9] 李宏越, 柳鹏福, 史吉平, 等. 唾液酸的生理功能、应用及其生产方法[J]. 食品工业科技, 2014, 35(3): 363-368. [LI H Y, LIU P F, SHI J P, et al. The physiological function, application, and production method of sialic acid[J]. Food Industry Technology, 2014, 35(3): 363-368.]

[10] 韩娇, 阳崇岭, 丁亮, 等. 结合检测实例解读《食品安全国家标准食品中脂肪酸的测定》(GB 5009.168-2016)[J]. 现代食品, 2023, 29(3): 34-9. [HAN J, YANG C L, DING L, et al. Interpretation of the determination of fatty acids in food of national food safety standard (GB 5009.168-2016)[J]. Modern Food, 2023, 29(3): 34-9.]

[11] KISH-TRIER E, SCHWARZ E L, PASQUALI M, et al. Quantitation of total fatty acids in plasma and serum by GC-NCI-MS[J]. Clinical Mass Spectrometry, 2016, 2: 11-17.

[12] WARAH O T, MCCLEMENTS D J, DECKER E A. Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions[J]. Trends in Food Science & Technology, 2011, 22(1): 3-13.

[13] 程斌, 高春芳. 唾液酸的生物学意义及其在肝病中的研究进展[J]. 检验医学, 2013, 28(4): 333-336. [CHENG C, GAO C F. The biological significance of sialic acid and its research progress in liver diseases[J]. Laboratory Medicine, 2013, 28(4): 333-336.]

[14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.168-2016 食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, State Food and Drug Administration. GB 5009.168-2016 National food safety standard. Determination of fatty acids in food[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.]

[15] ZHANG S, CHEN H, GENG F, et al. Natural oil bodies from typical oilseeds: Structural characterization and their potentials as natural delivery system for curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 128: 107521.

[16] 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.

[17] YANG J, DUAN Y, GENG F, et al. Ultrasonic-assisted pH shift-induced interfacial remodeling for enhancing the emulsifying and foaming properties of *Perilla* protein isolate[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 89: 106108.

[18] YANG N, FENG Y, SU C, et al. Structure and tribology of κ -carrageenan gels filled with natural oil bodies[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 107(2): 105945.

[19] CHENG C, YU X, MCCLEMENTS D J, et al. Effect of flaxseed polyphenols on physical stability and oxidative stability of flaxseed oil-in-water nanoemulsions[J]. Food Chemistry, 2019, 301: 125207.

[20] MENG R, WU Z, XIE Q T, et al. Zein/carboxymethyl dextrin nanoparticles stabilized pickering emulsions as delivery vehicles: Effect of interfacial composition on lipid oxidation and *in vitro* digestion[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108(2): 106020.

[21] FAROOQ S, AHMAD M I, ZHANG Y, et al. Fabrication, characterization and *in vitro* digestion of camellia oil body emulsion gels cross-linked by polyphenols[J]. Food Chemistry, 2022, 394: 133469.

[22] ZHENG B, ZHANG X, PENG S, et al. Impact of curcumin delivery system format on bioaccessibility: Nanocrystals, nanoemulsion droplets, and natural oil bodies[J]. Food & Function, 2019, 10(7): 4339-4349.

[23] LI Y, ZHONG M, XIE F, et al. The effect of pH on the stabilization and digestive characteristics of soybean lipophilic protein oil-in-water emulsions with hypromellose[J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125579.

[24] ZHENG B, ZHANG X, LIN H, et al. Loading natural emulsions with nutraceuticals using the pH-driven method: formation & stability of curcumin-loaded soybean oil bodies[J]. Food & Function, 2019, 10(9): 5473-5484.

[25] HUANG X N, ZHOU F Z, et al. Fabrication and characterization of pickering high internal phase emulsions (HIPEs) stabilized by chitosan-caseinophosphopeptides nanocomplexes as oral delivery vehicles[J]. Food Hydrocolloids, 2019(93): 34-45.

[26] XU X, SUN Q, MCCLEMENTS D J. Effects of anionic polysaccharides on the digestion of fish oil-in-water emulsions stabilized by hydrolyzed rice glutelin[J]. Food Research International, 2020, 127: 108768.

[27] DICKINSON E. Food emulsions and foams: Stabilization by particles[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2010, 15(1): 40-49.

[28] TAN Y, LI R, LIU C, et al. Chitosan reduces vitamin D bioaccessibility in food emulsions by binding to mixed micelles[J]. Food & Function, 2020, 11(1): 187-199.

[29] GOLDING M, WOOSTER T J, DAY L, et al. Impact of gastric structuring on the lipolysis of emulsified lipids[J]. Soft Matter, 2011, 7(7): 3513-3523.

[30] XU D, YUAN F, GAO Y, et al. Influence of whey protein-beet pectin conjugate on the properties and digestibility of β -carotene emulsion during *in vitro* digestion[J]. Food Chemistry, 2014, 156: 374-379.

[31] TAN Y, ZHOU H, ZHANG Z, et al. Bioaccessibility of oil-soluble vitamins (A, D, E) in plant-based emulsions: Impact of oil droplet size[J]. Food & Function, 2021, 12(9): 3883-3897.

[32] DAI T T, CHEN J, DAVID J M, et al. Protein-polyphenol interactions enhance the antioxidant capacity of phenolics: Analysis of rice glutelin-procyanidin dimer interactions[J]. Food & Function, 2019, 10(2): 765-774.

[33] Du X P, BAI M L, HUANG Y J, et al. Inhibitory effect of astaxanthin on pancreatic lipase with inhibition kinetics integrating molecular docking simulation[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 48: 551-557.

[34] HUAN X, SUN D X, LIU P Z, et al. Pancreatic lipase-inhibiting protein hydrolysate and peptides from seabuckthorn seed meal: Preparation optimization and inhibitory mechanism-Science Direct[J]. LWT, 2020, 134: 109870.