

文章编号: 1674-5566(2018)02-0213-08

DOI:10.12024/jsou.20170502051

螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的模拟胃肠消化特性

杨卫杰¹, 李启乐², 郭锐华¹, 张朝燕¹, 吴文惠^{1,3}, 包 斌^{1,2}

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 国家淡水水产品加工技术研发分中心, 上海 201306)

摘要: 分析和评价螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的消化速率和消化程度的营养学特征。使用氨基酸分析法测定螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的氨基酸含量和构成, 计算氨基酸评分(AAS)和化学评分(CS)。采用凯氏定氮法测定螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂体外模拟胃肠消化的氮释放量及其消化速率。螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂 A、B、C 都含有 18 种氨基酸, 8 种必需氨基酸组成合理, 其总氨基酸含量分别为 61.00%、18.25%、18.24% 和 18.22%。螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂 A、B 和 C 模拟胃肠消化体系的必需氨基酸最高分别为 207.6、66.8、62.4 和 64.2 mg/100 mL, 分别占初始样品必需氨基酸总量的 84%、94%、89% 和 92%。螺旋藻氮释放量慢于螺旋藻肠内营养制剂 A、B、C, 螺旋藻肠内营养制剂 C 又缓慢于 A、B, 胃肠消化后的螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂 A、B、C 的氮释放量范围为(88.09% ± 0.98%) ~ (92.24% ± 1.87%), 三种螺旋藻肠内营养制剂氮释放量之间的差异不显著, 螺旋藻与螺旋藻肠内营养制剂之间差异显著。螺旋藻肠内营养制剂成分配比合理, 体外消化速率稳定, 螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂是营养支持的优良原料和制剂。

关键词: 螺旋藻; 螺旋藻肠内营养制剂; 氨基酸分析; 模拟胃肠消化; 氮释放量

中图分类号: S 968.2 **文献标志码:** A

螺旋藻(Spirulina)是一种分布于热带、亚热带地区淡水或盐碱性湖泊中的丝状蓝藻(blue green algae), 又称蓝细菌(Cyanobacteria)^[1]。螺旋藻富含蛋白质, 含量高达 60% ~ 72%^[2], 发挥类生长因子作用的藻胆蛋白的含量约为总蛋白的 1/3^[3], 螺旋藻所含蛋白质不仅数量多, 而且消化吸收率优良^[4], 是优质的蛋白质供给源。螺旋藻还含有多种维生素(如 B1、B2、B3、B6、B12 等)、矿物质(如钙、镁、磷、铁、钠、锰等)、多糖、酶类和肌醇^[5]等。螺旋藻含有的不饱和脂肪酸中包含对人体起重要调节作用的 γ -亚麻酸^[6]。螺旋藻因丰富的营养成分而被誉为“21 世纪最佳保健品”“明天最理想的食物”等^[7]。

近年来, 关于螺旋藻的研究集中在抗氧化、增强免疫、降血糖、保护肝脏和降血脂等生理功效^[8]方面。

体外胃肠消化模拟是一种基于生物活体生

理学特点, 安全、快速、简单的方法, 因此常被用来替代生物活体实验研究^[9]。近年来有很多通过体外模拟胃肠道消化过程评价食物消化特征的研究。顾浩峰等^[10]研究表明羊奶婴儿配方奶粉中的蛋白质在体外模拟消化过程中胃、肠消化率均显著高于牛奶配方奶粉和全脂羊奶粉。WANG 等^[11]对重组人乳铁蛋白的体外模拟胃肠环境中稳定性研究表明, 在体外模拟人体胃肠环境中重组人乳铁蛋白易被降解消化。杜芬等^[12]发现体外模拟胃肠消化过程中鳕鱼源金属螯合肽氨基酸组成不变, 空间构象发生改变, 钙铁离子螯合能力变化不大, 具有很高的消化耐受性。因此体外模拟胃肠消化可以很好地评价食物真实的消化特征, 具有良好的现实意义。

本文设计螺旋藻肠内营养制剂, 通过测定螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的氨基酸含量和构成, 以及螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的消化速

收稿日期: 2017-05-11 修回日期: 2017-12-11

基金项目: 国家自然科学基金(81502955); 上海市科技创新行动计划(15410722500)

作者简介: 杨卫杰(1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物制药。E-mail: 1561777463@qq.com

通信作者: 包 斌, E-mail: bbao@shou.edu.cn

率和消化程度,评价和判定其营养特征。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

螺旋藻冻干粉惠赠自上海绿鼎生物科技有限公司,胃蛋白酶(效价比 1:10 000)购自 Sigma-Aldrich 中国,胰蛋白酶(效价比 1:250)购自 Genview 中国,其他试剂购自国药集团化学试剂有限公司。

主要仪器包括:L-800 型氨基酸分析仪(日立仪器有限公司,中国),Mini PRESS-II SF 型桌上压片机(Rimek CO., India),Kjeltel2300 型全自动凯氏定氮仪(FOSS CO, Danmark),UV1102 紫外可见分光光度计(天美科学仪器,上海有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 螺旋藻营养制剂制备

自制螺旋藻肠内营养(Enteral Nutrition, EN)制剂按总量 100 g 计算,以人体所需求的营养以及代谢特性^[13],设计出糖尿病人需要用的螺旋藻营养制剂,每 100 g 糖尿病人 EN 粉剂能量≤1980 kJ,糖尿病患者的摄取能量值,按照我国健康人群也即体质量 65 kg、身高 170 cm,从事轻度体力劳动的健康人群所对应的每日推荐摄入量能耗值,即 8 151 kJ/d,另总能量中 55%~65% 的能量为碳水化合物,脂肪供能需在总能量的 20%~30%,其他组分的添加参照《食品安全国家标准——特殊医学用途配方食品通则》^[14]。调节螺旋藻的添加量,设计出 3 种剂量的肠内营养制剂,分别是螺旋藻肠内营养制剂 A (Spirulina enteral nutrition powder A, SENA)、螺旋藻肠内营养制剂 B (Spirulina enteral nutrition powder B, SENB)、螺旋藻肠内营养制剂 C (Spirulina enteral nutrition powder C, SENC)。用桌上压片机压成质量(1.0±0.1) g、中心厚度为 5.0~7.0 mm 的片剂。螺旋藻肠内营养制剂的组成成分见表 1。

1.2.2 氨基酸分析

参考 BARTOVA 等^[15]的方法并稍有改动。蛋白质水解方法:称取螺旋藻和 SENA、SENB、SENC 样品各 1 g,放于安瓿瓶中,并分别加入 4 mL 6 mol/L 的盐酸溶液,将安瓿瓶置于 0℃ 冷冻 3~5 min 后取出,抽成真空后填满氮气并密封,每个样品密封 3 min 后取出,置于 110℃ 的恒

温干燥箱内水解 22 h,将样品取出冷却至室温后过滤,滤液放在 80℃ 水浴中蒸发,所得干物质用去离子水溶解并定容至 10 mL,用 0.54 μm 的微孔滤膜过滤,得到样品液用氨基酸分析仪测定。

表 1 螺旋藻肠内营养制剂的组成成分
Tab. 1 The composition of enteral nutrition preparation of spirulina

构成成分 Composition	SENA /%	SENB /%	SENC /%
螺旋藻 Spirulina	11.68	8.99	6.01
精氨酸 Arginine	1.05	1.19	1.37
谷氨酰胺 Glutamine	1.05	1.19	1.37
乳清蛋白 Whey protein	10.45	11.97	13.68
其他 Others	75.78	76.64	77.59

1.2.3 氨基酸评分和化学评分的方法

采用 FAO/WHO 氨基酸评分(Amino acid score, AAS)标准模式^[16]和中国预防医学科学营养与食品卫生研究所提出的全鸡蛋蛋白模式^[17]进行评分,AAS 和化学评分(Chemical score, CS)按以下公式计算:

$$ASS = \frac{m_s}{m_{FW}} \quad (1)$$

式中:AAS 为采用 FAO/WHO 氨基酸评分; m_s 为受试蛋白质中某氨基酸的含量; m_{FW} 为 FAO/WHO 评分模式下参考蛋白质中同种氨基酸的含量。

$$CS = \frac{m_s}{m_e} \quad (2)$$

式中:CS 为采用 FAO/WHO 化学评分; m_s 为受试蛋白质中某氨基酸的含量; m_e 为参考蛋白质(全鸡蛋)中同种氨基酸的含量。

1.2.4 体外模拟胃肠消化方法

根据 JOVANI 等^[18]和陈佳捷等^[19]的方法,分别称取 3 g 螺旋藻和 SENA、SENB、SENC 悬浮于 300 mL pH 2.5 的 HCl 溶液(0.5 mol/L)形成 10 g/L 的溶液,置于 37℃ 水浴预热处理 3~5 min;然后以酶:底物为 1:50 加入胃蛋白酶,缓慢振动,在不同的时间(0 min、15 min、30 min、60 min、120 min、180 min)取样,所取的样品用 1 mol/L NaOH 调节至 pH 7.0 以中止消化反应。将上述消化液调节 pH 至中性,加入适量胰蛋白酶,以酶:底物为 1:50,再分别在不同消化时间(0 min、15 min、30 min、60 min、120 min、180 min)取样分析。每次取 10 mL 不同消化液,5 000 r/min 离心 10 min 后,倒出上清液,用于氨基酸分析。

1.2.5 氮释放量的测定(TCA-NSI 法)

参考 GEA 等^[20]方法在不同消化时间(0 min、15 min、30 min、60 min、120 min、180 min)分别取 10 mL 的不同消化液加入 10 mL 的 10% TCA,于 8 000 r/min 离心 30 min 后,倒出上清液。沉淀部分用 10 mL 的 10% TCA 洗涤,同条件下离心,得 TCA 不溶组分。用凯氏定氮法测样品总氮和 TCA 不溶性氮含量。消化过程氮释放量(%)由下式计算而得:

$$N(\%) = \frac{N_0 - N_t}{N_{tot}} \times 100 \quad (3)$$

式中: N 为氮释放量(%), N_t 为消化 t 时的 TCA 不溶性氮(mg); N_0 为样品中的 TCA 不溶性氮(mg); N_{tot} 为样品的总氮量(mg)。

以上实验均重复测定 3 次,取平均值分析。

2 结果

2.1 螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的氨基酸组成分析

螺旋藻和 SENA、SENB、SENC 4 种样品的氨基酸组成分析结果列入表 2。

表 2 螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂样品的氨基酸组成

Tab. 2 Amino acid composition of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina g/100g

氨基酸 Amino acid	藻粉 Spirulina powder	SENA	SENB	SENC	小球藻 ^[21] Chlorella
Asp	5.84	1.73	1.73	1.73	5.45
Thr*	3.14	0.81	0.79	0.77	2.46
Ser	3.02	1.75	1.87	2.01	1.94
Glu	8.63	2.69	2.71	2.72	6.77
Gly	3.15	0.53	0.47	0.40	3.67
Ala	4.74	1.03	0.98	0.91	4.77
Cys	1.05	0.38	0.39	0.41	0.41
Val*	3.97	0.93	0.89	0.85	3.55
Met*	1.62	0.40	0.39	0.37	1.02
Ile*	3.54	0.94	0.92	0.90	2.55
Leu*	5.52	1.93	1.97	2.01	5.34
Tyr	2.66	0.66	0.64	0.62	1.82
Phe*	2.80	0.65	0.62	0.59	3.22
Lys*	3.13	1.32	1.38	1.44	3.62
His	1.00	0.19	0.17	0.15	1.31
Arg	4.14	1.71	1.77	1.85	3.28
Pro	2.25	0.50	0.47	0.44	3.17
Trp*	0.84	0.10	0.08	0.05	1.58
总氨基酸 Total amino acids	61.00	18.25	18.24	18.22	55.95
总必需氨基酸 Total essential amino acids	24.56	7.08	7.04	6.98	23.35
必需氨基酸/非必需氨基酸(%) essential amino acids/Nonessential amino acid	67.40	63.38	62.86	62.09	72.00
必需氨基酸/总氨基酸(%) essential amino acids/Total amino acids	40.26	38.79	38.59	38.30	42.00

注:表中*代表必需氨基酸,数字为 3 次重复测定的平均值,没有列入标准差

Note: In the table * represent essential amino acids, the number is the average of the three repeated measurements and is not included the standard deviation

表 2 显示,螺旋藻含有 18 种氨基酸,其中亮氨酸 Leu、天冬氨酸 Asp、谷氨酸 Glu 含量较多,而色氨酸 Trp、半胱氨酸 Cys、组氨酸 His 的含量较少。必需氨基酸甲硫氨酸 Met、赖氨酸 Lys、亮氨酸 Leu、缬氨酸 Val、异亮氨酸 Ile、苏氨酸 Thr、苯丙氨酸 Phe 和色氨酸 Trp 分别占螺旋藻的 1.62%、3.13%、5.52%、3.97%、3.54%、3.14%、

2.80% 和 0.84%,总必需氨基酸含量为 24.53%。

螺旋藻粉、SENA、SENB、SENC 中必需氨基酸分别占总氨基酸含量的 40.26%、38.79%、38.59% 和 38.30%,合乎 WHO/FAO 必需氨基酸占总氨基酸比例 40% 左右为优的标准。螺旋藻粉、SENA、SENB、SENC 必需氨基酸与非必需氨基酸质量之比分别是 67.40%、63.38%、62.86%

和 62.09%,超过了 WHO/FAO 提出的参考蛋白模式中必需氨基酸与非必需氨基酸之比为 0.6 的模式。螺旋藻粉、SENA、SENB、SENC 的氨基酸分数优于 FAO/WHO 的标准蛋白模式。

与小球藻相比较,螺旋藻中总氨基含量略高于小球藻,必需氨基酸含量与小球藻接近。一些重要氨基酸明显高于小球藻。由此可得,螺旋藻中所含有的氨基酸种类齐全,必需氨基酸含量成比例,是较理想的优质蛋白质源,螺旋藻的 3 种肠内营养制剂氨基酸构成合理,符合 FAO/WHO

模式,可以作为优质的营养供给来源。

2.2 螺旋藻粉和 SEN A、SENB、SENC 的 AAS、CS 分析

螺旋藻粉和 SEN A、SENB、SENC 的 AAS 值计算结果列入表 3,螺旋藻粉中苏氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸 + 酪氨酸、蛋氨酸 + 赖氨酸、色氨酸、异亮氨酸以及缬氨酸含量均高于 FAO/WHO 的标准模式; SEN A、SENB、SENC 中亮氨酸、蛋氨酸 + 赖氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸 + 酪氨酸、色氨酸、缬氨酸以及苏氨酸均低于 FAO/WHO 的标准模式。

表 3 与 FAO/WHO 标准模式相比螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的必需氨基酸组成

Tab.3 Essential amino acid compositions of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina compared with the FAO/WHO pattern

氨基酸 Amino acid	藻粉 Spirulina powder	SENA	SENB	SENC	FAO/WHO 参考模式	AAS 得分			
						藻粉 Spirulina powder	SENA	SENB	SENC
Ile	35.4	9.40	9.20	9.00	40.0	1.48	0.36	0.35	0.37
Leu	55.2	19.3	19.70	20.10	70.0	1.32	0.42	0.43	0.46
Lys	31.3	13.2	13.80	14.40	55.0	0.95	0.36	0.38	0.41
Met + Lys	47.5	17.2	17.70	18.10	35.0	2.3	30.7	30.78	0.82
Phe + Tyr	54.6	13.1	12.80	12.10	60.0	1.52	0.33	0.32	0.32
Trp	8.4	1.00	0.80	0.50	10.0	1.40	0.15	0.12	0.08
Thr	31.4	8.10	7.90	7.70	40.0	1.33	0.30	0.29	0.30
Val	39.7	9.30	8.90	8.50	50.0	1.34	0.28	0.28	0.27

螺旋藻粉和 SEN A、SENB、SENC 的 CS 值列入表 4。与全鸡蛋蛋白质的标准模式相比,螺旋藻粉中异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸 + 赖氨酸、苯丙氨酸 + 酪氨酸、苏氨酸以及缬氨酸含量均高于其

模式。与 FAO/WHO 的标准模式相比, SEN A、SENB、SENC 中异亮氨酸、亮氨酸、蛋氨酸 + 赖氨酸、苯丙氨酸 + 酪氨酸、色氨酸、苏氨酸以及缬氨酸均低于其模式。

表 4 与全鸡蛋蛋白质相比螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂的必需氨基酸组成和品质评价

Tab.4 Essential amino acid compositions of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina compared with the whole egg protein

氨基酸 Amino acid	藻粉 Spirulina powder	SENA	SENB	SENC	全鸡蛋蛋白质/ (mg/g 粗蛋白质) Whole egg protein	CS 得分			
						藻粉 Spirulina powder	SENA	SENB	SENC
Ile	35.4	9.40	9.20	9.00	54.0	1.10	0.25	0.26	0.27
Leu	55.2	19.3	19.70	20.10	86.0	1.07	0.33	0.35	0.37
Lys	31.3	13.2	13.80	14.40	70.0	0.75	0.28	0.31	0.32
Met + Lys	47.5	17.2	17.70	18.10	57.0	1.30	0.45	0.48	0.51
Phe + Tyr	54.6	13.1	12.80	12.10	93.0	1.10	0.21	0.22	0.21
Trp	8.4	1.00	0.80	0.50	17.0	0.82	0.09	0.08	0.05
Thr	31.4	8.10	7.90	7.70	47.0	1.12	0.25	0.26	0.25
Val	39.7	9.30	8.90	8.50	66.0	1.00	0.21	0.20	0.20

当以 FAO / WHO 的氨基酸评分标准模式

AAS 为参考量时,螺旋藻的第一限制氨基酸为赖

氨酸,第二限制氨基酸为亮氨酸,SENA、SENB、SENC 的第一限制氨基酸均为色氨酸,第二限制氨基酸为缬氨酸。当以化学评分 CS 为参考标准时,螺旋藻的第一限制氨基酸为赖氨酸,第二限制氨基酸为色氨酸。SENA、SENB、SENC 的第一限制氨基酸均为色氨酸,第二限制氨基酸为缬氨酸。两种评分模式下,螺旋藻的第一限制氨基酸均为赖氨酸,SENA、SENB、SENC 的第一限制氨基酸均为色氨酸。

2.3 体外模拟胃肠消化特性和氮释放量曲线

模拟胃肠液消化是根据人体胃肠消化液的主要成分及消化环境,在体外建立模拟胃肠消化体系。螺旋藻和螺旋藻肠内营养制剂在 37 ℃, 0.5 mol/L HCl 溶液中,分别使用胃蛋白酶和胰蛋白酶分两阶段各消化 3 h,得到消化特性曲线如图 1。

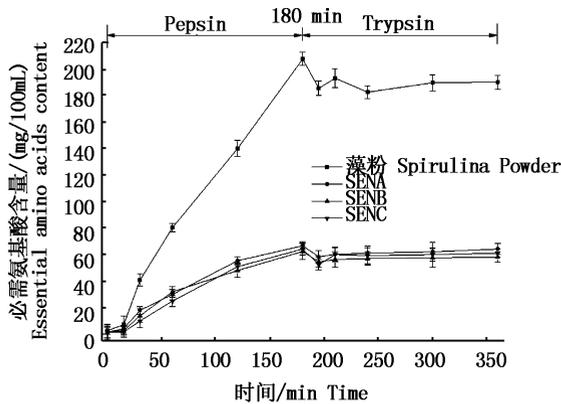


图 1 体外模拟消化过程中螺旋藻及其肠内营养制剂的必需氨基酸总数

Fig. 1 Amounts of the EAAs of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina during simulated gastrointestinal digestion *in vitro*

图 1 可以看出前 3 h 的胃蛋白酶消化阶段,在螺旋藻粉、SENA、SENB、SENC 的消化液中,随着消化时间的增加 8 种必需氨基酸检出数量都缓慢上升,在 3 h 时达到最大值分别为 207.6、66.8、62.4 和 64.2 mg/100 mL,分别占初始原料中总必需氨基酸含量的 84%、94%、89% 和 92%;其中必需氨基酸总数的检出量螺旋藻粉高于 3 种肠内营养制剂,而 3 种肠内营养制剂之间的必需氨基酸总数差异不大。在进入胰蛋白酶消化阶段螺旋藻粉及 3 种肠内营养制剂的 8 种必需氨基酸检出量数值无较大波动,均趋于平缓。但是,3 种 SENA、SENB、SENC 必需氨基酸相对数量

在模拟胃肠消化阶段都显著 ($P < 0.05$, 数据未显示) 高于螺旋藻粉的必需氨基酸相对数量。结果显示,SENA、SENB、SENC 的必需氨基酸水解效率高于螺旋藻粉。

螺旋藻粉、SENA、SENB、SENC 在体外模拟消化过程中的氮释放量变化如图 2 所示,由图 2 可知在消化过程的初期,3 种肠内营养制剂的消化速度上升很快高于螺旋藻粉,并且 3 种制剂的氮释放量差别不大;在之后的胰蛋白酶消化阶段 4 者都趋于平缓并且都能达到 90% 左右,螺旋藻及其肠内营养制剂均能被很好地消化吸收,而肠内营养制剂又显著优于螺旋藻粉 ($P < 0.05$)。与大豆乳清蛋白的体外模拟消化相比^[22],螺旋藻粉、SENA、SENB、SENC 等 4 种样品都明显高于大豆乳清蛋白(50%)。

在 0 ~ 360 min 的胃消化阶段和肠消化阶段,螺旋藻粉、SENA、SENB、SENC 处理间存在差异显著 ($P < 0.05$),这种差异显著性,随着胃消化或肠消化的进行,SENA、SENB、SENC 3 者趋于一致,在 360 min 体现出螺旋藻粉与 SENA、SENB、SENC 的差异显著性 ($P < 0.05$)。

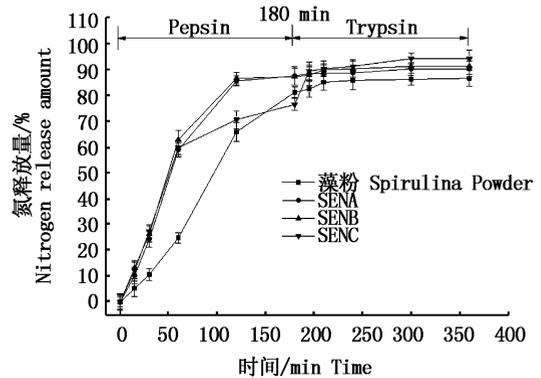


图 2 体外模拟消化过程中螺旋藻及其肠内营养制剂的氮释放量

Fig. 2 The nitrogen release amount of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina samples during simulated gastrointestinal digestion *in vitro*

3 讨论

螺旋藻作为优良的普通食品,被认为是地球上发现的营养最均衡、最丰富的天然食品,世界卫生组织和联合国粮农组织推荐螺旋藻为 21 世纪人类最理想食品和最佳保健品^[2]。基于螺旋

藻的蛋白质含量,设计成功了3种类型糖尿病特殊医学用途配方食品(Food of the Special medical purpose for Diabetes Mellitus Patients, FSDMP),通过能量计算,每100 g螺旋藻糖尿病 FSDMP 的能量大于295 kJ且小于1 980 kJ,其中60%的能量来自碳水化合物,28%的能量来自脂肪,血糖指数低于55,膳食纤维的含量超过0.2 g/100 kJ,能

达到《食品安全国家标准——特殊医学用途配方食品通则》^[14]关于糖尿病特殊医学用途配方食品的组件或构成成分,特别是螺旋藻含有的多种功效成分,标志着它是特殊医学用途配方食品的优良组件。

表5 体外模拟消化过程中螺旋藻及其肠内营养制剂氮释放量的差异性

Tab.5 The nitrogen release amount difference of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina during simulated gastrointestinal digestion in vitro

时间/min Time	不同消化时间的氮释放量/% Nitrogen release at different digestion time			
	藻粉 Spirulina powder	SENA	SENB	SENC
0	0	0	0	0
15	5.61 ± 0.03 ^a	10.68 ± 0.22 ^b	12.92 ± 0.41 ^c	13.33 ± 0.37 ^c
30	10.59 ± 0.86 ^a	22.69 ± 0.45 ^b	27.94 ± 1.38 ^c	27.46 ± 0.94 ^c
60	22.80 ± 1.82 ^a	58.44 ± 1.01 ^b	61.75 ± 1.23 ^c	57.73 ± 0.89 ^b
120	66.83 ± 1.55 ^a	71.17 ± 1.89 ^b	77.00 ± 1.60 ^c	77.76 ± 1.44 ^c
180	79.57 ± 1.57 ^a	86.01 ± 1.12 ^b	87.85 ± 1.22 ^b	78.26 ± 1.67 ^a
195	82.84 ± 0.63 ^a	88.57 ± 0.68 ^b	87.74 ± 0.47 ^b	83.95 ± 0.65 ^a
210	83.76 ± 1.15 ^a	87.81 ± 1.31 ^b	89.91 ± 0.32 ^c	91.44 ± 0.86 ^c
240	85.96 ± 1.43 ^a	89.11 ± 0.64 ^b	90.22 ± 0.67 ^b	92.52 ± 1.01 ^c
300	86.83 ± 1.58 ^a	90.09 ± 0.69 ^b	91.24 ± 0.14 ^b	94.11 ± 0.84 ^c
360	88.09 ± 0.98 ^a	90.33 ± 0.11 ^b	91.57 ± 1.76 ^b	92.24 ± 1.87 ^b

将螺旋藻与肠内营养制剂或特殊医学用途配方食品的其他蛋白质配合,能调整各种必需氨基酸的比例,制备获得螺旋藻肠内营养制剂A、B、C,分别是SENA、SENB、SENC。在模拟胃消化过程,螺旋藻粉有比SENA、SENB、SENC更高的必需氨基酸含量(mg/mL),例如胃消化60 min,SENA、SENB、SENC的必需氨基酸含量为25~32 mg/mL,螺旋藻粉为80 mg/mL。螺旋藻粉必需氨基酸含量是SENA、SENB、SENC的2.5~3.2倍。螺旋藻粉加入到SENA、SENB、SENC,有利于其胃消化。在肠消化阶段,螺旋藻粉也有比SENA、SENB、SENC更高的必需氨基酸含量(mg/mL),例如胃消化结束后进入肠消化60 min,SENA、SENB、SENC的必需氨基酸含量是55~60 mg/mL,螺旋藻粉是182 mg/mL。螺旋藻粉必需氨基酸含量是SENA、SENB、SENC的3.0~3.3倍。螺旋藻粉加入到SENA、SENB、SENC,有利于其肠消化和吸收。研究结果清楚地表明,螺旋藻作为肠内营养制剂或特殊医学用途配方食品的优良组件,在体外模拟胃肠消化体系,以必需氨基酸含量为标志,螺旋藻提高了SENA、SENB、SENC的胃消化、肠消化与吸收。

SENA、SENB、SENC 3种特殊医学用途配方食品的氮释放量为88.09%~92.24%。胃消化阶段,螺旋藻粉的氮释放量低于SENA、SENB、SENC,例如,同样是胃消化60 min,螺旋藻粉的氮释放量是25%,SENA、SENB、SENC的氮释放量是59%~65%;胃消化结束后进入肠消化60 min,螺旋藻粉的氮释放量85%接近于SENA、SENB、SENC的90%~95%。蛋白质从螺旋藻藻体和SENA、SENB、SENC被胃蛋白酶(胃消化体系)或胰蛋白酶(胰蛋白体系)持续地溶解出来,体现于氮释放量的高或低。研究结果表明,在体外模拟胃肠消化体系,以氮释放量为标志,螺旋藻提高了SENA、SENB、SENC的胃、肠消化速率(见表5)。

目前我国的肠内营养制剂有:①氨基酸型、短肽型;②整蛋白型;③组件式肠内营养剂。螺旋藻肠内营养制剂属于整蛋白型肠内营养制剂,该类肠内营养制剂以整蛋白或蛋白质游离物为氮源,渗透压接近等渗,口感较好,适于口服,亦可管饲,适于胃肠功能正常的患者^[23]。研究结果显示,螺旋藻作为肠内营养制剂的辅助氮和其他成分的供给源,能制备合乎营养需求和满足产品

质量标准的特殊医学用途配方食品 and 全营养配方食品。

参考文献:

- [1] GUTIÉRREZ-SALMEÁN G, FABILA-CASTILLO L, CHAMORRO-CEVALLOS G. Nutritional and toxicological aspects of *Spirulina* (Arthrospira). [J]. *Nutrición Hospitalaria*, 2015, 32(1): 34-40.
- [2] VO T S, NGO D H, KIM S K. Nutritional and pharmaceutical properties of Microalgal *Spirulina*[M]//KIM S K. *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*. Amsterdam: Elsevier Inc. 2015: 299-308.
- [3] ZHENG Y, ZHU F, LIN D, et al. Optimization of formulation and processing of *Moringa oleifera* and spirulina complex tablets[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2017, 24(1): 122-126.
- [4] CHEN X M, MEI X G. Anticancer activity and mechanism of polysaccharide and phycobiliprotein from *Spirulina platensis* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2004, 35(1): 100-103.
- [5] 李全顺, 贾庆舒. 螺旋藻的生物特性及其应用价值[J]. *沈阳教育学院学报*, 2006, 8(2): 122-125.
LI Q S, JIA Q S. Biological character and application value of spirulina platensis [J]. *Journal of Shenyang College of Education*, 2006, 8(2): 122-125.
- [6] 王菲, 余星星, 孙冰洁, 等. 螺旋藻 γ -亚麻酸的提取优化及体外抗氧化活性的研究[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(19): 68-72.
WANG F, SHE X X, SUN B J, et al. Study on the optimized extraction and *in vitro* antioxidant activities of γ -Linolenic acid from *Spirulina platensis* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(19): 68-72.
- [7] 张晓燕, 刘楠, 周德庆. 螺旋藻食品质量安全现状与分析[J]. *包装与食品机械*, 2012, 30(4): 50-53.
ZHANG X Y, LIU N, ZHOU D Q. The quality and safety situation and analysis of spire health food[J]. *Packaging and Food Machinery*, 2012, 30(4): 50-53.
- [8] 刘灵杰, 陈卫卫, 梁迪, 等. 螺旋藻营养保健作用及脱腥味的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(2): 213-219.
LIU L J, CHEN W W, LIANG D, et al. Review on removing alage smell, nutrition and health action of spirulina [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2017, 23(2): 213-219.
- [9] 张卿. 体外人胃肠模拟系统的研究进展[J]. *生物化工*, 2016, 2(4): 65-68.
ZHANG Q. Research progress of human gastrointestinal simulation system *in vitro* [J]. *Biological Chemical Engineering*, 2016, 2(4): 65-68.
- [10] 顾浩峰, 张富新, 张怡. 羊奶婴儿配方奶粉中蛋白质体外模拟消化研究[J]. *食品科学*, 2013, 34(19): 302-305.
GU H F, ZHANG F X, ZHANG Y. *In vitro* digestion of proteins in goat milk formula[J]. *Food Science*, 2013, 34(19): 302-305.
- [11] WANG X J, WANG J, ZHANG L, et al. Digestibility of recombinant human lactoferrin in simulated gastric and intestinal fluid *in vitro* [J]. *Journal of Environment and Health*, 2012, 29(11): 992-994.
- [12] 杜芬, 侯虎, 赵玉然, 等. 鲑鱼源金属螯合肽体外模拟胃肠消化稳定性研究[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(7): 33-38.
DU F, HOU H, ZHAO Y R, et al. Stability of alaska Pollock-derived metal chelating peptide during *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(7): 33-38.
- [13] 石勇铨, 刘志民, 洪涛, 等. 《糖尿病人膳食食品通则》的研究与制定[J]. *上海标准化*, 2006, (6): 9-15.
SHI Y Q, LIU Z M, HONG T, et al. Research and development of the general rules of food for diabetics [J]. *Shanghai Standardization*, 2006, (6): 9-15.
- [14] 韩军花. 《特殊医学用途配方食品通则》(GB29922-2013) 解读[J]. *中华预防医学杂志*, 2014, 48(8): 659-662.
HAN J H. General rules for formula foods for special medical purposes[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2014, 48(8): 659-662.
- [15] BÁRTOVÁ V, BÁRTA J, BRABCOVÁ A, et al. Amino acid composition and nutritional value of four cultivated South American potato species [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 40: 78-85.
- [16] FAO/WHO. *Energy and Protein Requirements*[M]. Rome: FAO Nutrition Meeting Report Series, 1973: 52.
- [17] 李世敏. *应用营养学与食品卫生管理*[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
LI S M. *Applied Nutrition and Food Hygiene Management* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002.
- [18] JOVANÍ M, BARBERÁ R, FARRÉ R, et al. Calcium, Iron, and Zinc uptake from digests of infant formulas by Caco-2 cells [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(7): 3480-3485.
- [19] 陈佳捷, 吴文惠, 倪玲, 等. 蚕蛹蛋白和蚕蛹短肽的模拟胃肠道消化特性研究[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(1): 333-338.
CHEN J J, WU W H, NI L, et al. Nutritional characteristics of silkworm pupae protein and peptides after simulated gastric and simulated intestinal digestion *in vitro* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(1): 333-338.
- [20] GEA S J, BAI H, YUAN H S, et al. Continuous production of high degree casein hydrolysates by immobilized proteases in column reactor[J]. *Journal of Biotechnology*, 1996, 50(2/3): 161-170.
- [21] 史坤, 张旗, 王娜, 等. 小球藻和螺旋藻的营养成分及其降血糖活性比较[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(10): 121-125.

- SHI K, ZHANG Q, WANG N, et al. Comparison of chlorella and spirulina on nutrients and anti-diabetic effects[J]. Food Research and Development, 2015, 36(10): 121-125.
- [22] REN F L, YANG Y X, CHEN Y M, et al. In vitro simulated gastrointestinal digestion characteristics of whey soy protein and its glycosylated products [J]. China Oils And Fats, 2016, 41(9): 18-23.
- [23] KLEK S, SCISLO L, WALEWSKA E, et al. Enriched enteral nutrition may improve short-term survival in stage IV gastric cancer patients: a randomized, controlled trial [J]. Nutrition, 2017, 36: 46-53.

Nutritional characteristics of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina after simulated gastric and simulated intestinal digestion *in vitro*

YANG Weijie¹, LI Qile², GUO Ruihua¹, ZHANG Chaoyan¹, WU Wenhui^{1,3}, BAO Bin^{1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic-Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China; 3. National R&D Branch Center for Freshwater Aquatic Products Processing Technology, Shanghai 201306, China)

Abstract: This study was designed to explore nutritional characteristics of the digestion speed and digestibility of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina. The amino acid analysis method was used to measure the amino acid content and composition of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina, and calculate the amino acid score (AAS) and chemical score (CS). The kjeldahl was used to measure the nitrogen release quantity and calculate the digestion rate of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina after simulated gastric and simulated intestinal digestion *in vitro*. The results show that: 18 kinds of amino acids which the human body needs are contained in spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina A, B, C, 8 kinds essential amino acids composition is reasonable; The total amino acids content of the enteral nutrition preparation of spirulina A, B, C are 61%, 18.25%, 18.24%, 18.25%. The highest detectable amount of essential amino acids for spirulina and enteral nutrition preparation of spirulina A, B, C are 207.6 mg/100 mL, 66.8 mg/100 mL, 62.4 mg/100 mL, 64.2 mg/100 mL, which account for 84%, 94%, 89%, 92% of the total amino acid content of the original material, respectively. The released nitrogen of spirulina is slower than the enteral nutrition preparation of spirulina A, B, C, the enteral nutrition preparation of spirulina C is slower than spirulina A and B, the released nitrogen of spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina A, B, C after gastrointestinal digestion is $(88.09\% \pm 0.98\%) - (92.24\% \pm 1.87\%)$, and there was no significant difference in spirulina enteral nutrition, but there was significant difference between spirulina and spirulina enteral nutrition preparation. In conclusion, the composition of spirulina enteral nutrition preparation is reasonable, the rate of *in vitro* digestion is stable, spirulina and the enteral nutrition preparation of spirulina are good raw materials and preparation of enteral nutrition support.

Key words: spirulina; the enteral nutrition preparation of spirulina; amino acid analysis; simulated gastrointestinal digestion; released nitrogen