文章编号:1673-1689(2008)06-0001-05

## 第三类抗消化淀粉(RS3)在益生菌微胶囊 方面的应用进展

庄海宁, 张燕萍, 金征字\* (江南大学食品学院,江苏无锡 214122)

摘 要: 第三类抗消化淀粉作为一种益生元,可以促进益生菌的生长与增殖。将其添加到益生菌 微胶囊中,不仅可以充当微胶囊的一部分壁材,还可以作为益生菌生长所需的碳源,延长益生菌的 存活期。作者综述了第三类抗消化淀粉在益生菌微胶囊方面的应用原理及其进展。

关键词: 抗消化淀粉: 益生元: 益生菌: 微胶囊

中图分类号: TS 236.9

文献标识码:A

# Review of Resistant Starch 3 and Its Application in Probiotic Bacteria Microcapsule

ZHUANG Hai-ning, ZHANG Yan-ping, JIN Zheng-yu\* (School of Food Science and Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Resistant starch is a kind of prebiotic, which could facilitate the growth and proliferation of probiotic bacteria. Resistant starch microcapsule could be used in encapsulating the probiotic bacteria, which not only be used as a part of wall material of microcapsule but also provide the carbon resources to the growth of probiotic bacteria to extend the growth period of the bacteria. The application principle of resistant starch 3 in probiotic bacteria microcapsule and its application progress were mainly reviewed in this manuscript.

Key words: resistant starch; prebiotic; probiotic bacteria; microcapsule

EURESTA(欧洲抗消化淀粉协会)在1992年 将抗消化淀粉(RS)定义为:不被健康人体小肠所 吸收的淀粉及其降解物的总称。食物中存在的抗 消化淀粉主要有4种类型:物理包埋淀粉(Physically Trapped Starch, RS1),抗消化淀粉颗粒(Resistant Starch Granules, RS2), 老化淀粉(Retrograded Starch, RS3), 化学改性抗消化淀粉(Chemically Modified Starch, RS4)[1]。

抗消化淀粉可以替代人类膳食中 30%的纤维组分<sup>[2]</sup>,其在胃肠道中的功效与其它纤维类成分,

收稿日期:2007-06-25.

基金项目:国家自然科学基金项目(20436020).

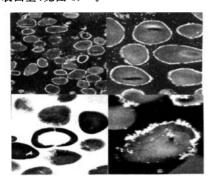
作者简介: 庄海宁(1980~),女,江苏邳州人,粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生.

\*通讯作者:金征字(1960-),男,江苏扬州人,教授,工学博士,博士生导师,主要从事碳水化合物研究. Email:jin-lab2008@yahoo.com

如纤维素、半纤维素、果胶等相似,它可以不被胃和小肠所消化,而进入结肠作为双歧杆菌和乳酸菌等厌氧益生菌的碳源物质。与膳食纤维不同的是,抗消化淀粉被发酵后的终产物为质量分数 25%~30%的短链脂肪酸及其盐类,其中主要为丁酸盐类物质<sup>[3]</sup>。 J.酸盐可以参与结肠上皮细胞代谢,从有助利避免这些细胞转化为恶性细胞。它也降低为恶性细胞分化和抗肿瘤效应<sup>[4]</sup>。此外,还可以降低质过内的 pH值,从而抑制肠道内有害菌的生长<sup>[5-6]</sup>。因此,Topping等在"膳食纤维与人类健康"会议上指出,具有抗消化性的高直链淀粉,可以作为肠道有益微生物的益生元,为人类和动物的肠道菌群所发酵利用<sup>[7-8]</sup>。

#### 1 RS3-益生菌微胶囊课题的提出

对于某些需在大肠释放的药物,当它们经过胃和小肠时很有可能被消化而失效。如果用抗消化淀粉将其包埋起来则可保证它在大肠内的释放。因为抗消化淀粉不能被小肠内的淀粉酶所降解而直接到达大肠,在大肠中它被微生物降解后将所包埋的药物释放出来。这样就起到了对某些药物的保护作用。抗消化淀粉由于其在小肠内不被消化,故可以将它作为微胶囊的壁材用来包埋某些药物而达到在特定位点释放的目的[9-11]。此外,有道研究了双歧杆菌对不同淀粉颗粒表面粘附的现象,发现有些双歧杆菌能很好地粘附在马铃薯淀粉颗粒的表面上(见图1)[9]。



DAPI 和碘液染色,显微镜横切面观察,厚度 4μm, 290×(左上),725×(右上),725×(左下),1450×(右下)

图 1 双歧杆菌在马铃薯淀粉颗粒上的粘附

Fig. 1 Adhesion of Bifidobacterium on potato starch granules

通常利用冷冻干燥或喷雾干燥把益生菌制成 粉末而添加到食品中。但是在喷雾干燥或冷冻干燥的过程中,大多数益生菌不能存活。且存活的益 生菌直接在室温下贮藏几周后也会大部分失活。 为了避免添加到食品中的大部分益生菌失活,可以 采用益生菌微胶囊化来进行保护。益生菌微胶囊 化的方法已报道的有喷雾干燥法、挤压法、乳化法 和相分离法[12]。

选择淀粉质作为微胶囊的壁材一方面是因为它可以作为益生菌的益生元,另一方面它可以用于益生菌的包埋。1996年,芬兰 VTT 生物技术公司开始一项为期 4 年的功能食品研究计划,其中包括"益生菌的淀粉微胶囊化"项目。该研究的自目的企业查生菌的淀粉微胶囊化。该研究的自己。该研究的自己。该研究的自己。该研究的自己。该研究的自己。该研究的自己。该研究的自己。该研究的是由,VTT已经开发完成此项基于淀粉的益生菌微胶囊技术。他们选取粒径较大的马铃薯淀粉(50~100 μm),经酶处理产生多孔结构,再使菌液进入孔内,然后,将某种高直链淀粉加热溶解、冷却(此时已具有抗消处性)并沉淀到包埋满益生菌的马铃薯淀粉颗粒化性)并沉淀到包埋满益生菌的马铃薯淀粉颗粒化性,最后,将此产品干燥即可得到微胶囊益生菌(见图2)[13]。

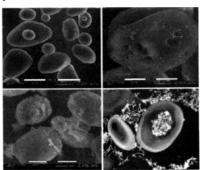


图 2 马铃薯原淀粉颗粒(左上,290×);酶解后的带孔 颗粒(右上,725×);抗性淀粉覆被的马铃薯淀粉 颗粒(左下,725×);包埋益生菌后马铃薯淀粉颗 粒的横切面(右下,1450×)

Fig. 2 Raw starch granules of potato (Left superior, 290×); porous granules with enzymatic hydrolysis (Right superior, 725 ×); potato starch granules coated with resistant starch (Left inferior, 725 ×); cross — section of potato starch granule after embedded with prebiotics (Right inferior, 1450×)

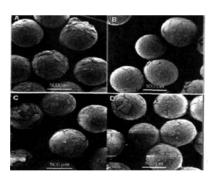
#### 2 RS3 及其微胶囊的制备

RS3 是将一定浓度的淀粉悬浮液经糊化后再经老化等处理过程制得。研究人员在此基础上进行了一定的改进,可明显增加成品中抗消化淀粉的含量。刘亚伟等于 2003 年采用酸变性-沸水浴法制备甘薯抗消化淀粉,利用酸快速水解无定型区的支

链淀粉,产生更多的直链淀粉,有利于淀粉老化,形成抗消化淀粉,该法制得的抗消化淀粉得率为13.91%。酸解虽有一定的脱支效果,但其专一性差 $^{[14]}$ 。蹇华丽等于 2002 年采用酶法制备 RS3,在 糊化时加入耐热  $\alpha$ -淀粉酶,然后加入普鲁兰酶进行脱支处理,通过工艺参数的优化,得出在 pH 值为5.5,普鲁兰酶相对加入量为  $1.5\%\sim2.5\%$ ,60  $\bigcirc$  反应 12 h 的条件下,RS3 得率为 19.02%

· 李光磊等在 2005 年采用压热法将马铃薯淀粉与水以一定比例混合,经沸水预糊化,高温高压下(121℃)处理一定时间,取出,自然冷却,4℃放置一定时间,80℃烘干 16 h,粉碎,过 100 目筛。确定了制备马铃薯抗消化淀粉的最佳工艺参数:淀粉乳质量浓度为 250 g/L,调 pH 值为 6.0,121 ℃压热处理 30 min,4℃放置 12 h。在压热法制备马铃薯抗消化淀粉时,进行酶法处理,在耐热 α-淀粉酶用量为 1 U/g 干淀粉,普鲁兰酶用量为 2.4 U/g 时,可进一步增加抗消化淀粉的产率,其产率可由 6.8%上升到 22%<sup>[16]</sup>。

Anna 等在 2004 年以玻璃珠为模型,使用流化床技术,制备用作微胶囊壁材的高直链淀粉膜。这些膜在水溶液中稳定,但可被 α-淀粉酶完全消化。添加抗消化淀粉到这些膜中可以显著增加其对酶的抗消化性,但也会使膜表面出现裂纹,如图 3 所示<sup>[17]</sup>



A. 未经处理;B. 37  $\mathbb{C}$ ,75 r/min 的情况下,先在 pH=1.6 连续进行 2 h 的分解实验,然后在 pH=7.0 连续进行 3 h 的分解实验后的结果;C. 用 35 U/mL 胰腺 a-淀粉酶进行 1 h 的酶消化实验结果;D. 37  $\mathbb{C}$ ,75 r/min 的情况下,用 35 U/mL 胰腺 a-淀粉酶进行 3 h 的酶消化实验结果。

图 3 HACS与40%RS(3%固体)复合后的SEM图像 Fig. 3 SEM photos of HACS and 40% RS (3% solids) mixture

其具体方法是将 3 g/dL 高直链玉米淀粉 (HACS)乳于 120 ℃糊化 2 h,冷却至室温。取 4.1 mg 高温 α-淀粉酶溶解在 1 mL(pH 6.0,0.08 mol/L)磷酸缓冲液中,然后添加到 3 g/dL 糊化的

HACS 溶液中,于 95 ℃培养 1 h,将此溶液离心,沉淀以蒸馏水润洗 3 次,润洗的沉淀再复溶到 1 000 mL(pH 7.5,0.08 mol/L)的磷酸缓冲液中,于 40 ℃培养 4 h,离心,取沉淀以体积分数 95%乙醇润洗两次,再以蒸馏水润洗一次,沉淀冷冻干燥即得抗消化淀粉(RS3),再将该抗消化淀粉加入到 3 g/dL的预糊化 HACS 溶液中,将此溶液以氟氏细胞压碎器于 1 500 kPa 下均质。利用 Starea-1 流化床采用底部喷雾技术对玻璃珠进行覆膜处理,其中 HACS-RS 进料速率为 1.5 mL/min,流化床的温度和速率分别为 80 ℃ 和 fan-14,可以得到厚度分别 0.4,1.2,1.4 mg/cm²的 HACS-RS3 微胶囊用膜。因此,使用 RS3 与其它材料(例如 HACS)进行复合从而改善微胶囊壁材的抗消化性能时,应努力克服壁材表面会出现裂纹的缺点。

#### 3 RS3 在益生菌微胶囊中的应用

添加有抗消化淀粉的 L. rhamnosus VTTE-97800 微胶囊使该菌在室温和正常的气压、湿度条件下的存活期可达 6 个月;当冷冻贮藏后,可达 18 个月。使用体外模拟的胃肠道消化实验表明,胶囊的壁材在肠道的上部比较稳定,仅 10 %降解;而体内的实验表明,微胶囊化的 L. rhamnosus VTT E-97800 经过人体的胃肠道消化系统后,益生菌仍有存活<sup>[9]</sup>。

Iyer 等 2005 年将抗消化淀粉 Hi-maize™加人含有 Lactobacillus S. 的益生菌菌悬液中,再覆以壳聚糖包埋,在体外模拟胃酸和胆盐的环境中培养 3 h,结果发现其活菌数要多于仅用海藻酸盐包埋后培养的<sup>[18]</sup>。

Muthukumarasamy 等 2006 年比较了几种用于包埋 Lactobacillus reuteri 益生菌的微胶囊壁材的性能,结果发现,微胶囊 L. reuteri 的存活性能因壁材不同而有显著差异,其中以海藻酸盐和抗消化淀粉为壁材制得的 L. reuteri 微胶囊其抗模拟胃酸的性能最好,所得活菌数最高[19]。

Khalida 等(2000)将 2 g/dL 的海藻酸盐与 2 g/dL 的高直链玉米抗消化淀粉(Hi-Maize RS)以及质量分数 0.1%的菌种混合,滴入质量分数 0.02%的吐温 80 中,然后快速搅拌至稠,再沿烧杯壁快速加入 0.1 mol/L 氯化钙溶液,静置 30 min,使海藻酸钙微球沉淀,将油层吸干,低速离心,得到的微球以含体积分数 5%甘油的生理盐水润洗后,4 ℃贮藏。所得到的微胶囊益生菌,在高胆盐和高酸-性的环境中,其活菌数下降不明显。对酸奶中 L.

acidophilus 和 Bifidobacterium S. 微胶囊化后存活数的研究表明,所包埋的这两种益生菌在经过 8 周后活菌数下降了 0.5 个对数数量级,而未包埋的下降了 1 个对数数量级。其中,添加了 Hi-Maize RS 的微胶囊的活菌数要明显高于未添加的,这表明抗消化淀粉作为益生元被微胶囊中的益生菌所利用,提高了益生菌存活率和存活期[20]。

Godward and Kailasapathy 在 2003 年采用乳化法以海藻酸盐和抗消化淀粉混合制备直径(0.5~1 mm)凝胶微球,用于微胶囊化 Lactobacillus acidophilus 2401 和 Bifidobacterium infantis 1912,并比较了冰淇淋中未微胶囊化、刚微胶囊化和冷冻干燥后微胶囊化的活菌的存活率。结果发现,经过一20 °C24 周的贮藏后,未微胶囊化的活菌数高于冷冻干燥后微胶囊化的,刚微胶囊化的活菌数高于冷冻干燥后微胶囊化的,但是当冰淇淋中混入空气后,微胶囊化过的活菌数要高于未不微胶囊化的[21]。

#### 4 结 语

随着益生菌强化食品的出现和兴起,益生菌的微胶囊化已变得日趋重要,鉴于抗消化淀粉在益生菌微胶囊化中的独有功能特性,以抗消化淀粉为辅助材料的益生菌微胶囊将极有可能发展成为益生菌微胶囊化的主流。

因此,在今后的研究中,应着重于含抗消化淀粉的新型复合微胶囊壁材的大力开发,同时进一步创新原料,例如高直链大麦淀粉颗粒,其直链淀粉分子之间聚集得十分紧凑,具有天然的抗消化性,可以尝试应用于包埋益生菌微胶囊的壁材中。此外,研制新的可以增强微胶囊疏水性的添加剂,增加微胶囊在水相中的稳定性也是一个研究方向。最后,根据不同的食品基质要求,选择合适的益生菌微胶囊添加到相应的食品中也是今后需要解决的问题[22]。

#### 参考文献(References):

- [1] 徐丹鸿,徐红华. 抗性淀粉的制备及其形成影响因素的研究 [J]. 粮食科技与经济, 2006(1):50-51. XU Dan-hong, XU Hong-hua. Preparation of resistant starch and the influential factors of its formation[J]. Grain Science and Technology and Economy, 2006(1):50-51. (in Chinese)
- [2] Englyst H. Classification and measurement of plant polysaccharides[J]. Animal Feed Science and Technology, 1989, 23:
- [3] Weaver G A. Krause J A, Miller T L. Cornstarch fermentation by the colonic microbial community yields more butyrate than does cabbage fiber fermentation; cornstarch fermentation rates correlate negatively with methanogenesis [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1992, 55:70-77.
- [4] Tharanathan R N. Food-derived carbohydrates—structural complexity and functional diversity [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2002, 22:65-84.
- [5] Kleessen B, Stoof G, Proll J. Feeding resistant starch affects fecal and cecal microflora and short chain fatty acids in rats [J]. Journal of Animal Science, 1997, 75:2453-2462.
- [6] Le Blay, Michel C, Blottière H M. Enhancement of butyrate production in the rat caecocolonic tract by long—term ingestion of resistant potato starch [J]. British Journal of Nutrition, 1999, 82:419-426.
- [7] Topping D L; Fukushima M, Bird A R. Resistant starch as a prebiotic and synbiotic[C]. Edinburgh: Proceeding of Nutrition Society. 2003.
- [8] Macfarlane G. The Colonic Flora, Fermentation and Large Bowel Digestive Function[M]. New York: Raven Press, 1991.
- [9] Crittenden R, Laitil A. Adhesion of Bifid bacteria to granular starch and its implication in probiltic technologies [J]. Applied Microbiology, 2001, 67(8):3469-3479.
- [10] Oriordan K, Andrews D. Evaluation of microencapsulation of a bifid bacterium strain with starch as an approach to prolong viability during storage [J]. Applied Microbiology, 2001, 91(6):1059-1066.
- [11] Vandamme T, Lenourry A. The use of polysaccharides to target drugs to the colon [J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 48 (3):219-231.
- [12] Ross R P, Desmond C, Fitzgerald G F. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods [J]. Journal of Applied Microbiology, 2005, 98:1410-1417.
- [13] Myllärinen P, Forssell P, Von Wright. Starch capsules containing microorganisms and/or polypeptides or proteins and a process for producing them: Finland, WO9952511A1[P]. 2005-10-31.

- [14] 刘亚伟, 张杰. 酸解一水热处理对甘薯抗性淀粉形成的影响研究 [J]. 食品科学, 2003, 24(6):41-45.

  LIU Ya-wei, Zhang Jie. Effects of acidic hydrolysis-hydrothermal process on sweet potato resistant starch formation[J].

  Food Science, 2003, 24(6): 41-45. (in Chinese)
- [15] 蹇华丽,高群玉,梁世中. 抗性淀粉的酶法研制 [J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(5),6-9.

  JIAN Hua-li, GAO Qun-yu, LIANG Shi-zhong. Preparation of resistant starch with enzymes process[J]. Food and Fermentation Industry, 2002, 28(5); 6-9. (in Chinese)
- [16] 李光磊,李新华,金锋. 马铃薯抗性淀粉的制备条件分析 [J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(4),491-493.

  LI Guang-lei, LI Xin-hua, JIN Feng. Analysis on preparation condition of potato resistant starch[J]. **Journal of Shenyang**Agricultural University, 2005, 36(4), 491-493. (in Chinese)
- [17] Anna D, Menahem G, Ellina K. Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2004(5):93-100.
- [18] Iyer C, Kailasapathy K. Effect of Co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt [J]. Journal of Food Science, 2005, 70(1):18-23.
- [19] Muthukumarasamy P, Allan-Wojtas P, Holley R A. Stability of lactobacillus reuteri in different types of microcapsules [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(1), 20-24.
- [20] Khalida S, Georgia G, Reynolds N. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate—starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt [J]. International Journal of Food Microbiology, 2000, 62(1-2):47-55.
- [21] Godward G, Kailasapathy K. Viability and survival of free, encapsulated and co-encapsulated probiotic bacteria in ice cream [J]. Milchwissenschaft, 2003, 58(3-4):161-164.
- [22] Mattila-Sandholm T, Myllarinen P, Crittenden R. Technological challenges for future probiotic foods [J]. International Dairy Journal, 2002, 12(2-3),173-182.

(责任编辑:朱明)

### 《食品与生物技术学报》征稿征订启事

《食品与生物技术学报》(双月刊)是教育部主管、江南大学主办的有关食品、生物工程及其相关研究的专业性学术期刊,为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国期刊方阵双效期刊,目前被美国化学文摘(CA)等国内外 10 余家著名检索系统收录。主要刊发食品科学与工程,食品营养学,粮食、油脂及植物蛋白工程,制糖工程,农产品及水产品加工与贮藏,动物营养与饲料工程,微生物发酵,生物制药工程,环境生物技术等专业最新科研成果(新理论、新方法、新技术)的学术论文,以及反映学科前沿研究动态的高质量综述文章等,供相关领域的高等院校、科研院所、企事业单位的教学、科研等专业技术人员、专业管理人员以及有关院校师生阅读,热忱欢迎广大读者订阅。

《食品与生物技术学报》为 A4(大 16K) 开本,128 页,全年 6 期,每册定价 15.00 元,邮发代号:28-79,全国各地邮局均可订阅。

《食品与生物技术学报》编辑部