

富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的流变学和体外消化特性研究

魏世杰¹, 苏翠馨¹, 常明昌^{1,3*}, 孟俊龙^{1,3}, 冯翠萍^{1,3}, 曹谨玲^{1,2}, 云少君^{1,2}, 徐丽婧^{1,2},
耿雪冉^{1,2}, 程菲儿^{1,2}, 程艳芬^{1,2*}

¹山西农业大学食品科学与工程学院 山西太谷 030801

²山西省黄土高原食用菌重点实验室 山西太谷 030801

³山西省食用菌工程技术研究中心 山西太谷 030801

摘要 为研究富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的流变学特性及体外消化特性,在蛹虫草乳中分别添加乳清分离蛋白(WP)或大豆分离蛋白(SPI)使蛹虫草乳中蛋白含量在 10%以上,加入增稠剂黄原胶(XG)、卡拉胶(KC)或羧甲基纤维素钠(CMC),测定其流动性、黏弹性和消化特性。结果表明,所有样品都表现出弱凝胶行为,表观黏度(η):CM-WP-XG(1.986 Pa·s)>CM-SPI-CMC(1.826 Pa·s)>CM-SPI-XG(1.548 Pa·s)>CM-SPI-KC(1.201 Pa·s);凝胶强度($G'_0-G''_0$)和复合模量(η^*):CM-SPI-XG(996.3 和 121.39 Pa·s)>CM-SPI-CMC(613.41 和 56.80 Pa·s)>CM-SPI-KC(290.62 和 34.11 Pa·s)>CM-WP-XG(93.02 和 8.82 Pa·s);损耗系数($\tan\delta$):CM-WP-KC(0.66)>CM-WP-CMC(0.61)>CM-SPI-KC(0.44)>CM-SPI-CMC(0.42)。通过体外消化发现,CM-SPI-CMC(0.3096%)和 CM-SPI-XG(0.3033%)游离氨基酸含量较高,同时通过对 G^* 和 $\tan\delta$ 比较,高 G^* 和低 $\tan\delta$ 的蛹虫草乳更适合吞咽困难人群。根据以上比较,CM-SPI-XG 和 CM-SPI-CMC 具有良好的弹性和抗变形性,更有利于吞咽困难和老年人食用。综合试验分析,CM-SPI-XG 是适合中度吞咽困难患者或老年人食用的最佳组合。这项研究表明蛋白质-增稠剂相互作用,食物基质影响流变学和消化特性,研究结果为吞咽困难和老年人的饮食需求提供一定的理论支持。

关键词 蛹虫草; 中度吞咽困难; 增稠剂; 流动黏弹性; 体外消化

文章编号 1009-7848(2024)10-0105-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.10.010

蛹虫草(*Cordyceps militaris*)隶属于子囊菌门麦角菌科虫草属,又称北冬虫夏草或北虫草,是一种名贵的食药两用菌。Sun 等^[1]研究表明,蛹虫草营养丰富,富含蛋白质、氨基酸、糖类生物活性物质,具有抗肿瘤、消炎、抗氧化、保肝等作用。

据统计,世界上有 8% 的老年人会出现不同程度的吞咽困难症状,而且老年人蛋白质流失较快会导致其营养不良,影响其免疫力和生活质量^[2]。研发适合吞咽困难人群食用的高蛋白食物,有助于解决这一困境。稀薄液体样食物可能会导致吞咽困难人群窒息、误吸、肺炎,甚至死亡^[3]。Nishi-

nari 等^[4]通过使用增稠剂来得到较大稠度和黏性的食物或液体,使食物或液体成为更有凝聚力的复合物,解决了这一问题。国际吞咽障碍食物标准行动委员会将吞咽障碍食物分为 4 个稠度级别:1)稀薄型(1~50 mPa·s);2)花蜜型(51~350 mPa·s);3)蜂蜜型(351~1 750 mPa·s);4)布丁型(>1 750 mPa·s)^[2-5]。这 4 个级别分别适用于不同程度的吞咽困难人群,其中主要以中度吞咽困难患者为主。李敏等^[6]认为蜂蜜型糊状食物更适合中度吞咽困难患者食用。目前,对质地改性食品流变行为影响的研究主要集中在其影响因素方面,如 pH 值、时间、温度等^[7-8],然而,对比不同的增稠剂在相同的食物基质上的流变、黏弹性和消化行为的研究报道较少。

本研究通过在蛹虫草乳中分别添加乳清分离蛋白或大豆分离蛋白,以及不同的增稠剂(黄原胶、卡拉胶或羧甲基纤维素钠)制成富含蛋白质浓稠的蛹虫草乳,对其在流动黏弹性和体外消化方面进行表征,以期筛选出较好的蛋白质源和增稠

收稿日期: 2023-10-05

基金项目: 山西省科技重大专项计划“揭榜挂帅”项目(202301140601015);山西省现代农业产业技术体系建设专项(2023CYJSTX09);山西省基础研究计划(自由探索类)项目(20210302123384)

第一作者: 魏世杰,男,硕士生

通信作者: 常明昌 E-mail: sxndcmc@163.com

程艳芬 E-mail: cyf2341986@163.com

剂来制作吞咽困难患者的食物。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

蛹虫草粉;牛奶,市售;乳清分离蛋白,美国希尔玛乳酪公司;大豆分离蛋白,临沂山松生物制品有限公司;黄原胶,新疆梅花氨基酸有限公司;卡拉胶,滕州市香凝生物工程有限责任公司;羧甲基纤维素钠,宜兴通达化学有限公司;猪胃蛋白酶,美国 Sigma 公司;胰酶、胆汁酸盐,上海源叶公司。

MCR102 安东帕流变仪、64R 高速冷冻台式离心机,贝克曼库尔特(美国)股份有限公司;UV-1100 型可见分光光度计,上海美谱达仪器有限公司。

1.2 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的制备

蛹虫草粉和全脂牛奶按比例混合(1:20,1:40,1:60,1:80,1:100,g/mL),混合搅拌均匀后,在电磁炉上冷水放入锅中,水开蒸 3 min,配制成蛹虫草乳。通过 10 名在校男生和 10 名在校女生进行风味评分,评分标准见表 1。向蛹虫草乳中分别加入大豆分离蛋白或乳清分离蛋白,通过凯氏定氮法确认蛹虫草乳中蛋白质的含量在 10%以上。再向富含蛋白质的蛹虫草乳中加入不同的增稠剂,搅拌均匀,在流变仪上检测富含蛋白质蛹虫草乳的表观黏度,使得表观黏度达到 351~1 750 mPa·s,得到富含蛋白质浓稠的蛹虫草乳。用于制备样品增稠剂的质量分数(%)及蛹虫草乳表观黏度见表 2。然后,将所有样品均质,直到分散均匀,并在 4℃保存 24 h 后进行分析。

表 1 蛹虫草乳风味评分标准

Table 1 *Cordyceps militaris* milk flavor evaluation criteria

项目	评分标准	分数
滋味(50分)	蛹虫草味道很重,蛹虫草乳味道差	1~15
	蛹虫草味道偏重,蛹虫草乳味道较差	16~32
	蛹虫草味道适中,蛹虫草乳味道香甜	33~50
气味(50分)	蛹虫草气味很重,奶味轻	1~15
	蛹虫草气味重,奶味较轻	16~32
	蛹虫草气味适中,奶味适中,香甜	33~50

1.3 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的流动黏弹性特性的表征

在安东帕流变仪上测量样品的流动性和黏弹特性,直径 50 mm,型号为 PP50 的不锈钢锥板,锥角 1°,温度 37℃,Gap 值 1.000 mm,剪切速率 0.01~100 s⁻¹。在测量前,样品放置在测量系统中,设置等待时间 180 s,以促进结构恢复和温度稳定。表观黏度值在剪切速率为 50 s⁻¹时,确定每种增稠剂的浓度,以便样品间比较。国家吞咽困难饮食指南建议将 50 s⁻¹的剪切速率作为评估表观黏度,以确保安全吞咽的标准。

1.3.1 稳态流变行为测定 在 1.3 节测试条件下,进行样品稳态流变行为测定。

1.3.2 线性黏弹区间测定 测定富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的模量随振荡应变的变化,找出线性黏弹性区域。测试条件:振荡应变 0.1%~100%,角频

率 0.1~100 rad/s。

1.3.3 动态流变行为测定 在线性黏弹区内,测定不同温度(15~80℃),不同角频率(0~100 rad/s)下,富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的储能模量(G')和损耗模量(G'')随角频率的变化。测试条件:振荡应变 10%,等待时间 180 s,PP50 锥板。

1.4 模拟唾液、胃和小肠消化试验

将新鲜唾液充分混匀,4 400×g 离心 10 min,取上清。将唾液上清液与富含蛋白质浓稠蛹虫草乳样品充分混匀,37℃孵育 2 min,沸水浴 5 min,使唾液中的淀粉酶失活。

将 3 g 唾液消化残液与 4.0 mL 人工模拟胃液混匀,调 pH 值至 3.0,37℃孵育 2 h。孵育完成后,取适量消化液,沸水浴 5 min,收集备用,人工模拟胃液由 3.6 mL 的胃电解质液(0.053 mol/L NaCl, 0.15 mol/L KCl, 0.001 mol/L CaCl₂·2H₂O, 0.007

mol/L NaHCO_3)和 0.4 mL 的胃蛋白酶溶液(30 mg 胃蛋白酶溶解于 1 mL 1 mol/L CH_3COONa)组成。

将 3 g 胃消化液与 4.0 mL 的人工模拟小肠液混匀,调 pH 值至 7.0,37 °C 孵育 2 h。孵育完成后,取适量消化液,沸水浴 5 min,收集备用。模拟小肠液由 2.0 mL 小肠电解质液(0.092 mol/L NaCl ,0.009 mol/L KCl ,0.002 mol/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、1.0 mL 胰酶溶液(1.25 g 胰酶溶于 5 mL 蒸馏水)和 1.0 mL 胆汁盐溶液(4 g 胆汁酸盐溶于 100 mL 蒸馏水)组成。

1.5 消化后富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的流动流变行为

消化后样品的流动流变性能按照 1.3 节所述条件进行评估,确定了 η 、 n 、 K 、 R^2 等参数。 η 值在 10 s^{-1} 时测量,因为该剪切速率接近生理学报道。

1.6 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳蛋白质消化率的测定

用 Bradford 法测定样品可溶性蛋白含量;用双指示剂甲醛滴定法测定作为蛋白水解指标的游离氨基含量;用三氯乙酸法测定可溶性肽的含量。

1.7 数据处理

使用 Excel 2019 和 SPSS 软件进行数据处理以及显著性分析。

2 结果与分析

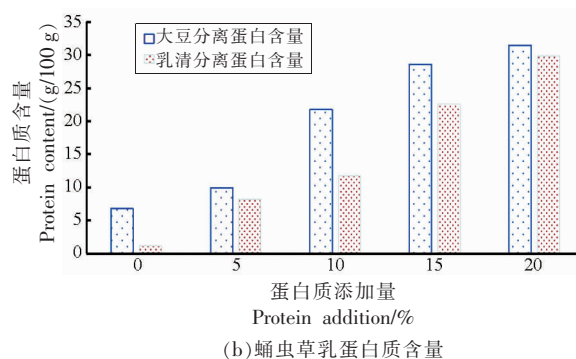
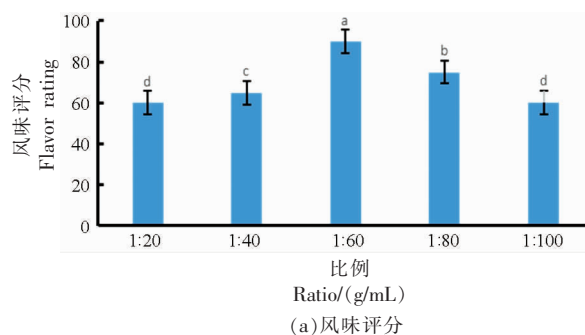
2.1 富含蛋白质蛹虫草乳的风味评分和蛋白质含量

通过评估富含蛋白质蛹虫草乳的滋味和气味特征来进行评分。如图 1a 所示,当料液比为 1:20 和 1:100 时,富含蛋白质蛹虫草乳的评分最低,为 60 分,用这两个料液比制备的蛹虫草乳口味中蛹虫草的味道占比较大,影响蛹虫草乳的口味;而当料液比为 1:60 时,蛹虫草乳的评分最高,为 90 分,此时,蛹虫草乳的风味更香甜,更容易被大众接受。因此,最终确定蛹虫草粉和全脂牛奶的比例为 1:60。通过凯氏定氮法确定蛹虫草乳中蛋白质的含量在 10% 以上(图 1b),得到富含蛋白质的蛹虫草乳。

2.2 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的流动黏弹性表征

2.2.1 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的流动性表征

通过在安东帕流变仪上测定蛹虫草乳的流动性,



注:不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著,下同。

图 1 蛹虫草乳风味评分及蛋白质含量

Fig.1 *Cordyceps militaris* milk flavor score and protein content

表 2 用于制备不同蛹虫草乳的增稠剂的质量分数及其表观黏度

Table 2 The mass fraction and apparent viscosity of thickener used to prepare different *Cordyceps militaris* milk

样品	增稠剂	增稠剂质量分数/%	表观黏度 (η)/Pa·s
CM-WP-XG	XG	1	1.986
CM-WP-KC	KC	24	0.885
CM-WP-CMC	CMC	1	1.009
CM-SPI-XG	XG	0.16	1.548
CM-SPI-KC	KC	5	1.201
CM-SPI-CMC	CMC	0.6	1.826

注:温度 37 °C,剪切速率 50 s^{-1} 。

使用 Herschel-Bulkley 模型拟合其流动参数。稳态流动特性试验样品流变参数见表 3。屈服应力(δ_0)表示样品开始流动时所需的最小剪切应力,与试样内部结构的破坏有关^[9-10]。所测得的 δ_0 可以归因于不同体系的紧密堆积,这是由于增稠剂提高了

食物颗粒之间的凝聚力所致^[11]。

所有样品的稠度系数(K)值在 1.69~46.11 Pa·s 之间。同时,所有蛹虫草乳的流动性能指数(n)值均小于 1,表明它们表现出剪切变稀的流动特性。这些结果与 Vieira 等^[12]设计不同增稠剂溶液得到的结果一致。 n 值小于 1 的食物更有利于吞咽,降低了误吸的风险,因此适合老年人和中度吞咽障碍患者食用^[13-14]。

2.2.2 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的黏弹性表征

图 2 显示了 37 °C 下不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的储能模量(G')、损耗模量(G'')和损耗系数($\text{Tan}\delta$)值随频率的变化。可以观察到,在所测的频率范围内,所有样品的 G' 值都高于 G'' 值,这表明所有样品均表现出较弱的凝胶特性^[15]。此外,通过对 $\text{Tan}\delta$ 的测量($\text{Tan}\delta = G''/G'$),对 G' 和 G'' 做出了更多的解释。 $\text{Tan}\delta$ 值大于 1 表示稀溶液,而 $\text{Tan}\delta$ 值在 0.1~1 之间的值表示弱凝胶。在所研究的整

表 3 不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的稳态流动行为的流动流变参数

Table 3 Flow rheological parameters of steady-state flow behavior of different protein-rich dense

<i>Cordyceps militaris</i> milk					
样品	$K/\text{Pa}\cdot\text{s}$	n	δ_0/Pa	R^2	$\eta/\text{Pa}\cdot\text{s}$
CM-WP-XG	3.24	0.61	43.57	0.99	1.986
CM-WP-KC	1.69	0.66	1.77	1.00	0.885
CM-WP-CMC	8.48	0.35	—	0.99	1.009
CM-SPI-XG	7.79	0.56	12.62	0.99	1.548
CM-SPI-KC	11.06	0.44	—	0.99	1.201
CM-SPI-CMC	46.11	0.30	—	0.99	1.826

注:温度 37 °C,剪切速率 50 s⁻¹,“—”表示未测出。

个频率范围内,所有样品的 $\text{Tan}\delta$ 值均在 0.23~0.93 之间(图 2c),证实了它们的弱凝胶特性^[14]。Ribes 等^[16]在为吞咽障碍患者设计质地改良酱料中也得出了类似的结果。

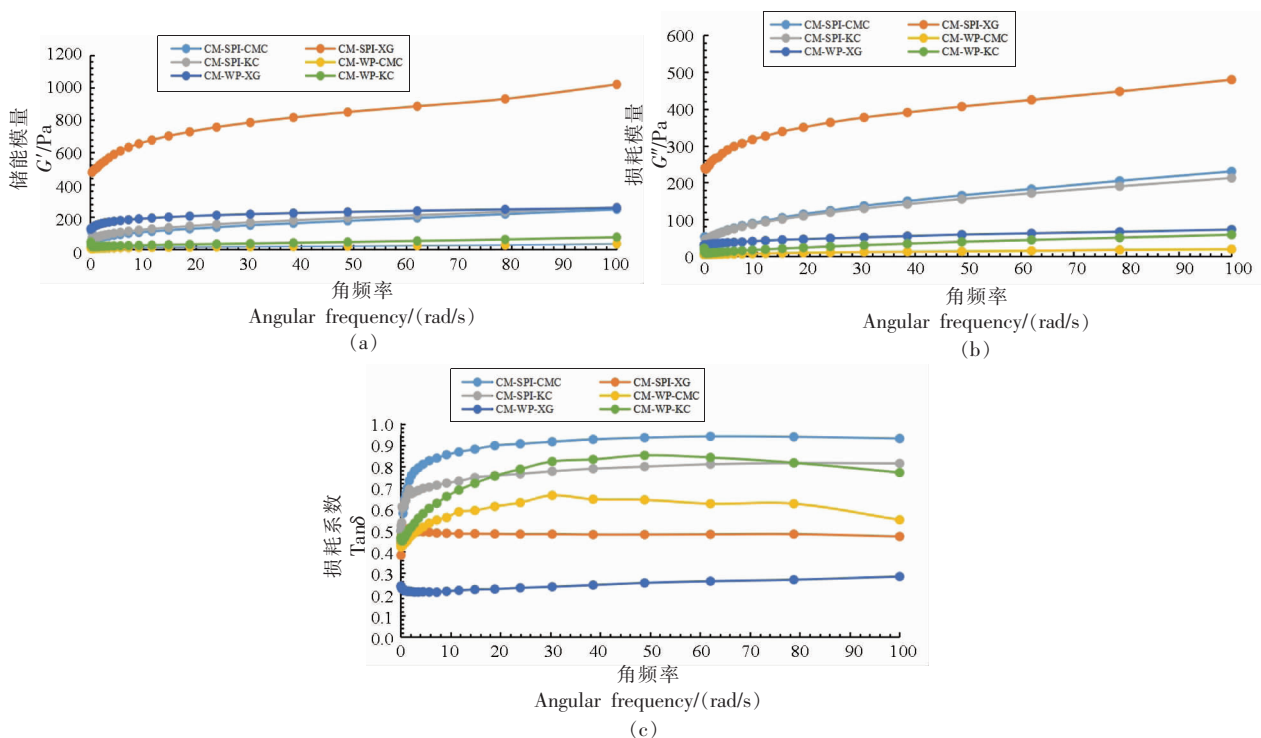


图 2 37 °C 不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的储能模量(a)、损耗模量(b)和损耗系数(c)与角频率之间的关系

Fig.2 Relationship between energy storage modulus (a), loss modulus (b) and loss coefficient (c) and angular frequency of different protein-rich dense *Cordyceps chrysalis* milk at 37 °C

通过计算在对数变化下不同样品的 G' 、 G'' 的斜率(分别表示 n' 、 n'')与频率的关系来解释 G' 、 G''

值与频率的关系,研究富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的凝胶特性^[17]。此外,频率为 1 Hz 时的 $G'_0 - G''_0$ 值

被用来衡量凝胶强度。表 4 总结了在 37 °C 频率扫描测试所得到的不同样品的凝胶特性参数。可以观察到,所有样品的 n' 和 n'' 值都在 0~1 之间,这可以表明所有样品都表现为弱凝胶的行为^[18]。实际上,所有富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的 n'' 值普遍高于 n' 值,这表明 G'' 比 G' 更依赖于频率。关于 G_0' - G_0'' 值,CM-SPI-XG 样品显示出最高值,是由于黄

原胶会增加分子结合的数量,从而重组生物聚合物的链,增加凝胶强度^[19]。同时,表 4 为在 37 °C 频率扫描测试中获得的不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的黏弹性参数。为比较这些结果,所有样品的黏弹性参数均在频率为 1 Hz 时测量。所有样品都表现出主要的弹性行为($G' > G''$),与之前所测量的结果一致。

表 4 37 °C 频率扫描下不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的凝胶性能参数

Table 4 Gel properties of different protein-rich dense *Cordyceps militaris* milk at 37 °C

样品	凝胶性能参数		
	n'	n''	$G_0' - G_0''$
CM-SPI-XG	0.0001 ± 0.0000 ^c	0.0003 ± 0.0001 ^c	996.30 ± 187.73 ^a
CM-SPI-KC	0.0004 ± 0.0000 ^c	0.0009 ± 0.0001 ^c	290.62 ± 29.39 ^c
CM-SPI-CMC	0.0002 ± 0.0000 ^c	0.0006 ± 0.0001 ^c	613.41 ± 33.12 ^b
CM-WP-XG	0.0015 ± 0.0002 ^c	0.0065 ± 0.0011 ^b	93.02 ± 14.03 ^d
CM-WP-KC	0.0062 ± 0.0011 ^b	0.0093 ± 0.0011 ^b	10.83 ± 0.70 ^d
CM-WP-CMC	0.0143 ± 0.0035 ^a	0.0237 ± 0.0057 ^a	5.26 ± 0.04 ^d

注:不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著,下同。

表 5 在 37 °C 频率扫描下不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的黏弹性参数

Table 5 Viscoelastic parameters of different protein-rich dense *Cordyceps militaris* milk at 37 °C

样品	黏弹性性能参数				
	G'/Pa	G''/Pa	G^*/Pa	$\eta^*/Pa \cdot s$	Tan δ
CM-SPI-XG	2 564.60 ± 494.17 ^a	854.35 ± 161.18 ^a	2 985.80 ± 231.08 ^a	121.39 ± 23.13 ^a	0.33 ± 0.03 ^c
CM-SPI-KC	696.18 ± 107.73 ^c	304.35 ± 46.59 ^c	759.82 ± 117.20 ^c	34.11 ± 5.26 ^c	0.44 ± 0.01 ^b
CM-SPI-CMC	1 305.15 ± 114.62 ^b	526.42 ± 43.85 ^b	1 407.30 ± 112.75 ^b	56.80 ± 11.73 ^b	0.42 ± 0.03 ^b
CM-WP-XG	191.55 ± 27.61 ^d	44.08 ± 6.79 ^d	196.55 ± 28.42 ^d	8.82 ± 1.28 ^d	0.23 ± 0.01 ^d
CM-WP-KC	46.84 ± 9.35 ^d	30.45 ± 3.59 ^d	59.88 ± 9.87 ^d	2.51 ± 0.44 ^d	0.66 ± 0.07 ^a
CM-WP-CMC	20.53 ± 4.95 ^d	12.44 ± 3.25 ^d	24.01 ± 5.88 ^d	1.08 ± 0.26 ^d	0.61 ± 0.04 ^a

复合模量(G^*)与样品的刚性和硬度有关,而复合黏度(η^*)是基于角频率来评估样品的整体流动阻力^[19]。通过对所有样品进行频率扫描,由表 5 所示,CM-SPI-XG 显示出最大的 G^* 和 η^* 值,可能是由于黄原胶诱导的分子结合和生物聚合物链的重排^[20]。相反,CM-WP-CMC 显示出了最小的 G^* 和 η^* 值,可能是由于 WP 和 CMC 之间的相互作用比较弱,降低了富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的刚性和硬度。此外,所有样品的 Tan δ 值均 < 1 ,表明所有样品具有明显的弹性特性。Tan δ 可以作为易吞咽物质的流变参数。Nystrom 等^[21]指出吞咽困难人群更容易吞咽高弹性的稀液体。同样,Ishihara

等^[22]认为 Tan δ 值在 0.1~1 之间可以作为评判易吞咽物质的流变学标准。具有高抗变形性(高 G^* 值)和良好弹性(低 Tan δ 值)的食品吞咽更安全,因此,CM-SPI-XG 和 CM-SPI-CMC 更适合中度吞咽障碍患者和老年人。另一方面,为了确定温度对样品结构变化的影响,从 15~80 °C 进行温度扫描试验,如图 3 所示。当温度升高时, G' 和 G'' 值均呈现降低趋势,因为有更多的热能被用来克服螺旋内部链之间的分子间和分子内键的能量^[23]。

在整个温度扫描范围内,CM-SPI-XG、CM-SPI-KC、CM-SPI-CMC 和 CM-WP-XG 的 Tan δ 值保持稳定。尽管其它富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的

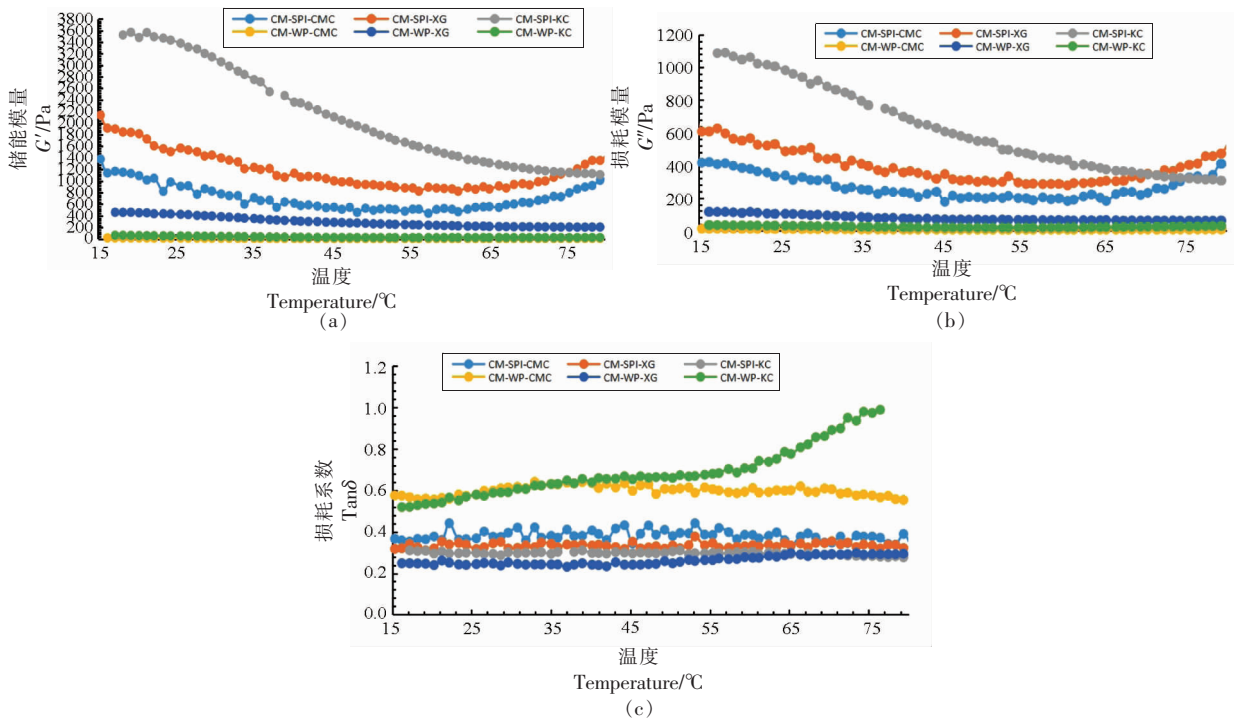


图3 在15~80℃下不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的储能模量(a)、损耗模量(b)和损耗系数(c)与角频率之间的关系

Fig.3 The relationship between energy storage modulus (a), loss modulus (b) and loss coefficient (c) and angular frequency of different protein-rich dense *Cordyceps militaris* milk at 15℃ to 80℃

Tan δ 值发生了变化,但它们的值在0.1~1之间。可以表明所有样品都具有良好弹性,这些样品对于中度吞咽困难患者和老年人来说是可以安全吞咽的。

2.3 消化过程中富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的流动流变特性

口腔、胃和肠道中酶的作用以及每个消化阶段离子强度、pH值的变化都会影响消化期间样品的构象及其流变行为^[24]。此外,由于复杂的食物基质,样品的不同组成和物理化学性质,以及添加蛋白质的性质、大小、结构和增稠剂的电荷,会极大地影响其流动特性。在体外消化过程中,消化样品的流变特性计算出的参数 η (在 10 s^{-1} 时)、 n 、 K 和 R^2 ,见表6。

所有样品均表现出剪切变稀行为($n < 1$)。此时, η 值在整个消化过程中有所下降。这种现象是由于胃肠道状况对食物基质结构造成影响,而不是由于添加消化液导致的样品稀释^[25]。pH值和离子强度控制着带电残基的电离程度以及蛋白质和增稠剂之间静电力的相互作用,从而支配着蛋白

质-增稠剂复合物的行为。消化后的样品中CM-WP-KC的 K 值和 η 值最高(分别为 $49.57\text{ Pa}\cdot\text{s}$ 和 $1.0230\text{ Pa}\cdot\text{s}$),其次就是CM-SPI-XG,表明这些富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的结构受口腔中 α -淀粉酶的影响较小。然而,在胃消化后的CM-WP-KC中,由于胃蛋白酶对乳清蛋白的水解作用强烈,这些参数急剧降低,从而降低了以乳清分离蛋白作为蛋白源蛹虫草乳样品的黏度和稠度^[26]。CM-SPI-XG和CM-WP-XG在胃消化后的 η 值和 K 值较高,说明蛋白质与XG可以形成相对致密的网状结构,增加蛹虫草乳的黏度^[27]。肠消化结束后,CM-WP-XG的 η 值和 K 值较高,同样说明了蛋白质与XG的相互作用,形成了紧密的结构,提高了样品的黏度。

2.4 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的蛋白质消化率

通过测量消化期间富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的可溶性蛋白质、可溶性肽和游离氨基酸的含量来评估体外消化期间不同富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的蛋白质消化率(图4)。图4a表示可溶性蛋白质的含量。消化前,添加WP样品的可溶性蛋白质

表 6 富含蛋白质浓稠蛹虫草乳在体外胃肠消化过程中的流动流变学行为参数

Table 6 Flow rheological behavior parameters of protein-rich dense *Cordyceps militaris* milk during gastrointestinal digestion *in vitro*

消化阶段	参数	消化样品					
		CM-SPI-XG	CM-SPI-KC	CM-SPI-CMC	CM-WP-XG	CM-WP-KC	CM-WP-CMC
口腔	<i>n</i>	0.49 ± 0.050 ^c	0.71 ± 0.010 ^b	0.87 ± 0.010 ^a	0.24 ± 0.080 ^d	0.16 ± 0.030 ^c	0.85 ± 0.020 ^a
	<i>K</i> /Pa·s	4.48 ± 0.620 ^b	1.63 ± 0.050 ^b	0.75 ± 0.070 ^b	4.91 ± 0.300 ^b	49.57 ± 5.570 ^a	0.05 ± 0.010 ^b
	<i>R</i> ²	0.99	0.99	0.91	0.99	0.99	0.95
	η /Pa·s	0.85 ± 0.040 ^b	0.76 ± 0.230 ^c	0.56 ± 0.070 ^c	0.34 ± 0.010 ^d	1.02 ± 0.020 ^a	0.05 ± 0.010 ^c
胃	<i>n</i>	0.52 ± 0.250 ^{cd}	0.71 ± 0.010 ^{bc}	1.63 ± 0.260 ^a	0.31 ± 0.050 ^d	0.87 ± 0.060 ^b	0.81 ± 0.100 ^b
	<i>K</i> /Pa·s	0.15 ± 0.120 ^b	0.03 ± 0.010 ^{bc}	0.0001 ± 0.0001 ^c	0.41 ± 0.130 ^a	0.04 ± 0.010 ^{bc}	0.003 ± 0.0004 ^c
	<i>R</i> ²	0.99	0.99	0.91	0.99	0.99	0.82
	η /Pa·s	0.03 ± 0.007 ^c	0.01 ± 0.0003 ^d	0.02 ± 0.002 ^d	0.03 ± 0.0004 ^a	0.04 ± 0.006 ^b	0.002 ± 0.001 ^d
小肠	<i>n</i>	0.30 ± 0.140 ^b	0.61 ± 0.080 ^b	0.64 ± 0.130 ^b	0.19 ± 0.330 ^b	0.45 ± 0.080 ^b	0.004 ± 0.004 ^a
	<i>K</i> /Pa·s	0.24 ± 0.050 ^a	0.04 ± 0.020 ^a	0.05 ± 0.040 ^a	0.76 ± 0.270 ^a	0.11 ± 0.020 ^a	0.85 ± 1.480 ^a
	<i>R</i> ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.74
	η /Pa·s	0.04 ± 0.001 ^b	0.03 ± 0.002 ^d	0.03 ± 0.003 ^c	0.06 ± 0.001 ^a	0.03 ± 0.00007 ^c	0.0003 ± 0.0001 ^c

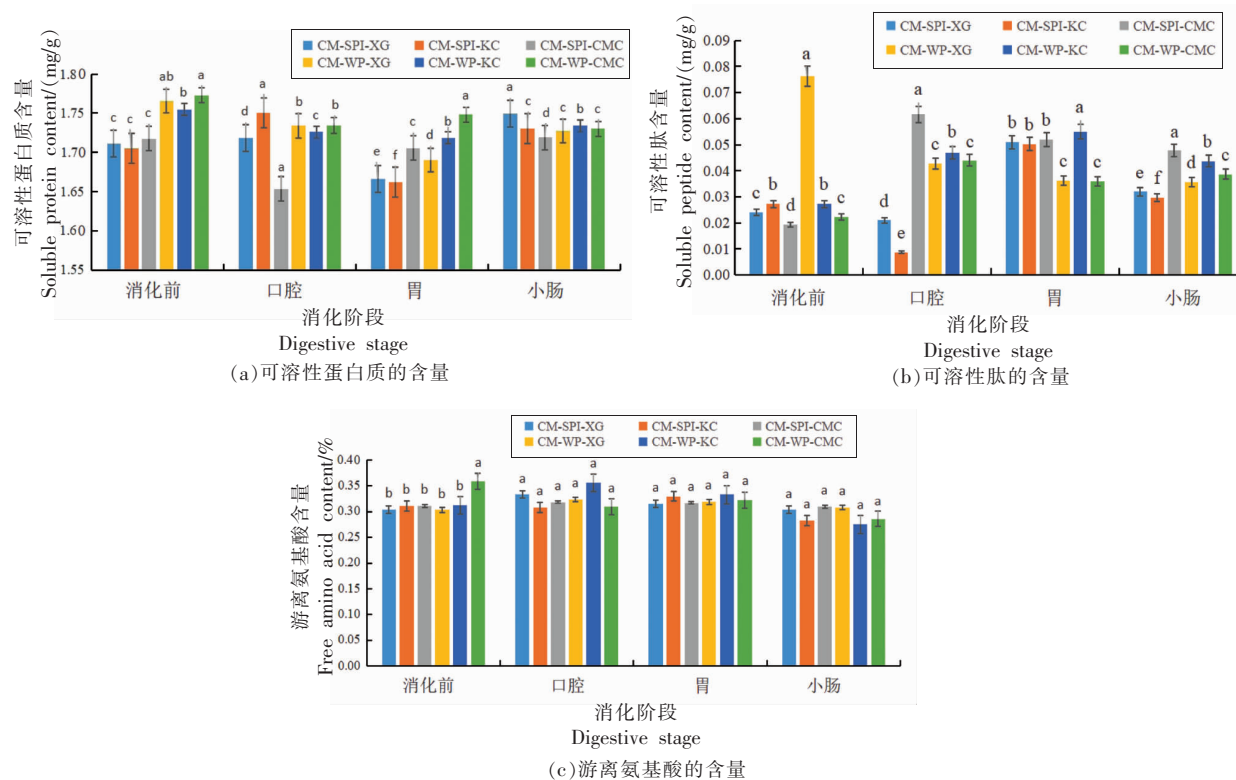


图 4 在体外消化前和消化过程中的富含蛋白质浓稠蛹虫草乳的蛋白质消化率

Fig.4 The protein digestibility of protein-rich dense *Cordyceps militaris* milk before and during digestion *in vitro*

含量最高达到 1.77 mg/g, 而添加 SPI 样品的可溶性蛋白质含量最低 (<1.75 mg/g)。口腔消化后可溶性蛋白含量减少, 特别是在 CM-SPI-CMC 中显著减少, 可能是由于 α -淀粉酶的作用导致蛋白质沉

淀或聚集, 因为在这一阶段可能不会发生蛋白质水解^[28]。体外消化结束后, CM-SPI-XG 的可溶性蛋白质含量最高。对于可溶性肽来说, 随着消化的进行, 在胃消化阶段, 添加 SPI 的不同样品之间

无显著差异($P>0.05$)。然而,在消化结束时,添加 SPI 样品的可溶性肽值比添加 WP 样品的可溶性肽值高约 1.2 倍(图 4b),证明肠道中的酶(主要是胰蛋白酶)在水解蛋白质和生成多肽和游离氨基酸方面发挥了关键作用。

在肠消化阶段,可溶性肽含量最低的是 CM-SPI-KC(0.030 mg/g)。对于游离氨基含量来说(图 4c),CM-WP-CMC 在胃消化前的游离氨基含量最高,然而在肠消化后,根据添加的蛋白质和增稠剂类型的不同,游离氨基含量不存在显著差异($P>0.05$)。这些结果表明,蛋白质消化率会受到样品的组成、结构组织和理化性质的影响,这是由于蛋白质、增稠剂与食物基质相互作用所致^[29]。蛋白质-增稠剂的相互作用取决于化合物的结构和组成、pH 值、离子强度等^[29],并可通过增加或减少消化酶的作用来影响食物消化。

3 结论

富含蛋白质浓稠蛹虫草乳具有相似的流动特性。然而,蛹虫草乳的黏弹性结果表明,CM-SPI-XG 和 CM-SPI-CMC 由于其高抗变形性和良好的弹性,更适合中度吞咽困难患者和老年人。唾液中 α -淀粉酶引起了添加 CMC 作为增稠剂样品的降解,所以用 XG 做增稠剂制备的样品更适合有吞咽困难人群食用。在模拟胃肠道消化过程中,含有 SPI 和 WP 蛋白质源与 XG 结合形成的蛹虫草乳可以形成致密的结构,使得胃消化阶段前样品的黏度和稠度值较高。本研究证实,添加蛋白质和增稠剂与食物基质之间的相互作用决定了样品的流变学和消化特性,因此,在设计适合中度吞咽困难或老年人的食品时,以 SPI 为蛋白质源和以 XG 为增稠剂制备的食品是一个很好的选择。

参 考 文 献

- [1] SUN T L, DONG W P, JIANG G H, et al. *Cordyceps militaris* improves chronic kidney disease by affecting TLR4/NF- κ B redox signaling pathway[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 2019(1): 7850863.
- [2] CICHERO J A Y. Thickening agents used for dysphagia management: Effect on bioavailability of wa-
- [3] MARTINO R, FOLEY N, BHOGAL S, et al. Dysphagia after stroke: Incidence, diagnosis, and pulmonary complications [J]. *Stroke*, 2005, 36 (12): 2756-2763.
- [4] NISHINARI K, TAKEMASA M., BRENNER T, et al. The food colloid principle in the design of elderly food[J]. *Texture Stud*, 2016, 47(4): 284-312.
- [5] GALLEGOS C, QUINCHIA L, ASCANIO G, et al. Rheology and dysphagia: An overview [J]. *Annual Transactions of the Nordic Rheology Society*, 2012, 20: 3-10.
- [6] LI M, WANG Z, HAN W J, et al. Effects of paste diet on nutritional status and swallowing function in elderly patients with moderate dysphagia [J]. *Journal of Nursing*, 2014, 21(9): 47-51.
- [7] ZARGARAAN A, RASTMANESH R, FADAVI G, et al. Rheological aspects of dysphagia-oriented food products: A mini review [J]. *Food Science Human Wellness*, 2013, 2(3/4): 173-178.
- [8] ABU-ZARIM N, ZAINUL-ABIDIN S, ARIFFIN F. Rheological studies on the effect of different thickeners in texture-modified chicken rendang for individuals with dysphagia [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 55: 4522-4529.
- [9] MACKLEY M R, TOCK C, ANTHONY R, et al. The rheology and processing behavior of starch and gum-based dysphagia thickeners [J]. *Rheol*, 2013, 57 (6): 1533-1553.
- [10] AUGUSTO P E D, CRISTIANINI M, IBARZ A. Effect of temperature on dynamic and steady-state shear rheological properties of siriguella (*Spondias purpurea* L.) [J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 108(2): 283-289.
- [11] TASHIRO A, HASEGAWA A, KOHYAMA K, et al. Relationship between the rheological properties of thickener solutions and their velocity through the pharynx as measured by the ultrasonic pulse Doppler method [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2010, 74(8): 1598-1605.
- [12] VIEIRA J M, ANDRADE C C P, SANTOS T P, et al. Rheology and soft tribology of thickened dispersions aiming the development of oropharyngeal dysphagia-oriented products [J]. *Current Research in Food Science*, 2021, 111: 19-29.

- [13] MORET -TATAY A, RODRÍGUEZ -GARCIA J, MARTÍ-BONMATÍ E, et al. Commercial thickeners used by patients with dysphagia: Rheological and structural behaviour in different food matrices [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 5(1): 318-326.
- [14] NAKAUMA M, ISHIHARA S, FUNAMI T, et al. Swallowing profiles of food polysaccharide solutions with different flow behaviors[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1165-1173.
- [15] SHARMA M, KRISTO E, CORREDIG M, et al. Effect of hydrocolloid type on texture of puree -d carrots: Rheological and sensory measures[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 478-487.
- [16] RIBES S, ESTARRIAGA R, GRAU R, et al. Physical, sensory, and simulated mastication properties of texture-modified Spanish sauce using different texturing agents[J]. Food & Function, 2021, 12(17): 8181-8195.
- [17] ALVAREZ M D, FUENTES R, GUERRERO G, et al. Characterization of commercial Spanish hummus formulation: Nutritional composition, rheology, and structure[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(4): 845-863.
- [18] IRANI M, RAZAVI S M A, ABDEL-AAL E S M, et al. Viscoelastic and textural properties of canary seed starch gels in comparison with wheat starch gel [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 124: 270-281.
- [19] SIMIONESCU B, IBANESCU S A, DANU M, et al. Rheology of gelatin-starch systems influence of system composition[J]. Revista de Chimie, 2013, 64(8): 909-913.
- [20] TALENS P, CASTELLS M L, VERDÚ S, et al. Flow, viscoelastic and masticatory properties of tailor made thickened pea cream for people with swallowing problems[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 29(2): 110265.
- [21] NYSTROM M, QAZI W M, BÜLOW M, et al. Effects of rheological factors on perceived ease of swallowing[J]. Applied Rheology, 2015, 25(6): 63876.
- [22] ISHIHARA S, NAKAUMA M, FUNAMI T, et al. Swallowing profiles of food polysaccharide gels in relation to bolus rheology [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(5): 1016-1024.
- [23] NETTER A B, GOUDOULAS T B, GERMAN N. Effects of bloom number on phase transition of gelatin determined by means of rheological characterization [J]. LWT -Food Science and Technology, 2020, 132: 109813.
- [24] CHEN M, GUO L, NSOR -ATINDANA J, et al. The effect of viscous soluble dietary fiber on nutrient digestion and metabolic responses: *In vitro* digestion process[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 107: 105971.
- [25] MALINAUSKYTE E, RAMANAUSKAITE J, KERSIENE M, et al. Impact of interfacial composition on emulsion digestion using *in vitro* and *in vivo* models[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(11): 2850-2857.
- [26] BORREANI J, LLORCA E, LARREA V, et al. Adding neutral or anionic hydrocolloids to dairy proteins under *in vitro* gastric digestion conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 57: 169-177.
- [27] CROSARA K T B, ZUANAZZI D, MOFFA E B, et al. Revealing the amylase interactome in whole saliva using proteomic approaches [J]. Biomed Research International, 2018, 2018: 1-15.
- [28] OGAWA Y, DONLAO N, THUENGTUNG S, et al. Impact of food structure and cell matrix on digestibility of plant-based food [J]. Food Science, 2018, 19: 36-41.
- [29] MOÚECOUCOU J, VILLAUME C, SANCHEZ C, et al. β -Lactoglobulin/ polysaccharide interactions during *in vitro* gastric and pancreatic hydrolysis assessed in dialysis bags of different molecular weight cut-offs[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, 2004, 1670(2): 105-112.

Study on Rheology and *in Vitro* Digestion of Dense *Cordyceps militaris* Milk Rich in Protein

Wei Shijie¹, Su Cuixin¹, Chang Mingchang^{1,3*}, Meng Junlong^{1,3}, Feng Cuiping^{1,3}, Cao Jinling^{1,2}, Yun Shaojun^{1,2},
Xu Lijing^{1,2}, Geng Xueran^{1,2}, Cheng Feier^{1,2}, Cheng Yanfen^{1,2*}

¹College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi

²Shanxi Key Laboratory of Edible Fungi on Loess Plateau, Taigu 030801, Shanxi

³Shanxi Engineering Research Center of Edible Fungi, Taigu 030801, Shanxi

Abstract In order to study the rheological and *in vitro* digestive properties of protein-rich dense *Cordyceps militaris* milk, whey protein isolate (WP) or soybean protein isolate (SPI) were added to make the protein content of *Cordyceps militaris* milk more than 10%, and thickening agents Xanthan gum (XG), Kappa-Carrageenan (KC) or Carboxymethyl-cellulose sodium (CMC) were added. The fluidity, viscoelasticity and digestive properties were determined. The results showed that all samples exhibited weak gel behavior, apparent viscosity (η): CM-WP-XG (1.986 Pa·s) > CM-SPI-CMC (1.826 Pa·s) > CM-SPI-XG (1.548 Pa·s) > CM-SPI-KC (1.201 Pa·s); Gel strength ($G_0' - G_0''$) and compound modulus (η^*): CM-SPI-XG (996.3 and 121.39 Pa·s) > CM-SPI-CMC (613.41 and 56.80 Pa·s) > CM-SPI-KC (290.62 and 34.11 Pa·s) > CM-WP-XG (93.02 and 8.82 Pa·s); Loss coefficient ($\text{Tan}\delta$): CM-WP-KC (0.66) > CM-WP-CMC (0.61) > CM-SPI-KC (0.44) > CM-SPI-CMC (0.42). *In vitro* digestion showed that CM-SPI-CMC (0.3096%) and CM-SPI-XG (0.3033%) had higher content of free amino acids. Meanwhile, by comparing G^* and $\text{Tan}\delta$, *Cordyceps militaris* milk with high G^* and low $\text{Tan}\delta$ was more suitable for people with dysphagic difficulty. According to the above comparison, CM-SPI-XG and CM-SPI-CMC had good elasticity and deformation resistance. More conducive to dysphagia and the elderly eat. In conclusion, CM-SPI-XG is the best combination suitable for patients with moderate dysphagia or the elderly. This study demonstrates how protein-thickener interactions and food substrates determine the rheological and digestive properties of samples, providing theoretical support for dysphagia and dietary needs of the elderly.

Keywords *Cordyceps militaris*; difficulty swallowing; thickener; flow viscoelastic; *in vitro* digestion