

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20190279

淀粉-脂质复合物制备及其体外益生作用

项丰娟^{1,2}, 秦仁炳^{1,2}, 王硕³, 王书军^{1,2}

(1. 天津科技大学食品营养与安全国家重点实验室, 天津 300457;

2. 天津科技大学食品科学与工程学院, 天津 300457;

3. 南开大学医学院天津市食品科学与健康重点实验室, 天津 300071)

摘要: 作为膳食纤维的抗性淀粉(RS)对人体营养与健康起积极作用. 由淀粉和脂质形成的淀粉-脂质复合物被定义为一种新型抗性淀粉 RS5. 通过差示扫描量热仪(DSC)、衰减全反射-傅里叶变换红外光谱(ATR-FTIR)、激光共聚焦显微-拉曼光谱(LCM-Raman)和X射线衍射仪(XRD)研究抗性淀粉的热力学性质、短程有序性和长程有序性,并通过体外发酵实验分析其益生作用. 结果表明:制备的RS5为包含V型和B型晶体结构的复合物,具有较好的热稳定性,凝胶化峰值温度为116.2℃,高于RS2的87.9℃. 与对照组相比,RS2可显著增加乳酸菌、双歧杆菌和拟杆菌数量,而抑制产气荚膜梭菌的增殖;RS5可显著增加乳酸菌、双歧杆菌和拟杆菌数量,有效抑制肠杆菌、肠球菌和气荚膜梭菌增殖. RS5组发酵液具有较低pH(4.7)和较高的益生元指数(13.08). 因此,与RS2相比,RS5具有更好的益生效果.

关键词: 淀粉-脂质复合物; 肠道菌群; 体外发酵; 结构

中图分类号: TS231

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2020)04-0014-07

Preparation of Starch-lipid Complex and its Probiotic Effect in Vitro

XIANG Fengjuan^{1,2}, QIN Renbing^{1,2}, WANG Shuo³, WANG Shujun^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

3. Tianjin Key Laboratory of Food Science and Human Health, School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Resistant starch as a dietary fiber plays a positive role in human nutrition and health. A starch-lipid complex formed with starch and lipid is defined as a novel resistant starch, RS5. In the present study, DSC was used to determine the thermo properties of each RS sample. ATR-FTIR, LCM-Raman and XRD were used to character the short- and long-range molecular orders of the RS samples. The probiotics were analyzed by *in vitro* fermentation experiments. The experimental results showed that RS5 is a B-type and V-type crystal structure and has better thermal stability. The peak gelatinization temperature of RS5 was 116.2 °C, higher than that of RS2 (87.9 °C). Both RS2 and RS5 can significantly increase the number of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Bacteroides*, but the former can inhibit the number of *Clostridium perfringens*, while the latter can effectively inhibit the number of *Enterobacteria*, *Enterococcus* and *Clostridium perfringens*. The pH of the RS5 fermentation broth was reduced to 4.7 and its probiotics index was increased to 13.08. Therefore RS5 has better probiotic effects than RS2.

Key words: starch-lipid complex; intestinal flora; in vitro fermentation; structure

抗性淀粉(RS)不被健康人的胃和小肠消化吸收,但可以被大肠内的肠道菌发酵分解,产生短链脂

收稿日期: 2019-11-25; 修回日期: 2019-01-04

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(31871796)

作者简介: 项丰娟(1989—),女,河南商丘人,博士研究生;通信作者: 王书军,教授, sjwang@tust.edu.cn

肪酸(SCFAs)^[1-2]、乳酸和CO₂等多种代谢产物,对改善肠道功能和提高机体健康具有重要作用。RS可以分为五类:物理包埋淀粉RS1、未糊化的天然淀粉颗粒RS2、回生淀粉RS3、化学改性淀粉RS4、淀粉-脂质复合物RS5^[3]。抗性淀粉作为新型膳食纤维,具有比传统膳食纤维更好的外观、质地和口感等功能特性^[4],且没有传统膳食纤维口感粗糙等弊端。因此,作为食品添加剂的抗性淀粉被添加到多种食品中以提高食品的品质和总膳食纤维含量。

由于体外发酵模型是在高度可控的环境下进行,被认为是研究人类结肠微生物群的有效手段^[5-6],因此许多科学家利用体外发酵模型研究抗性淀粉对人体肠道微生物菌群的影响。RS5是一种由直链淀粉和脂质组成的新型抗性淀粉。目前,关于RS5在体内的生理功能研究报道较少^[7-8],未见有关体外RS5益生元效果的相关研究报道。本文采用厌氧体外培养系统,对淀粉-脂质复合物(RS5)和一种常见商业化的抗性淀粉(RS2)的体外发酵性质进行研究,综合比较这两类抗性淀粉对常见微生物(乳酸菌、双歧杆菌、肠杆菌、肠球菌和产气荚膜梭菌)的影响,并进一步评价了RS5作为益生元的益生效果,本研究旨在阐明不同抗性淀粉对肠道微生物群落的影响,并为开发利用新型抗性淀粉产品提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料、试剂与仪器

高直链玉米淀粉Ⅶ(RS2)由Ingredion Inc.(Westchester, IL, USA)公司提供。

MRS培养基(乳酸菌)、BBL培养基(双歧杆菌)、伊红美蓝培养基(肠杆菌)、叠氮钠-结晶紫-七叶苷培养基(肠球菌)、TSC培养基(产气荚膜梭菌)和改良GAM培养基(拟杆菌)购于北京奥博星生物技术有限公司;所有其他化学品均为分析纯。

YQX-II型厌氧培养箱,上海龙跃仪器设备有限公司;高压灭菌锅,日本Hirayama公司;DSC200 F3型差示扫描量热仪(DSC),德国NETZCH公司;D8 Advance型广角X射线衍射仪(XRD),德国Bruker公司;inVia Reflex型激光共聚焦显微-拉曼光谱(LCM-Raman),英国雷尼绍公司。

1.2 实验方法

1.2.1 RS2基本成分的测定

高直链玉米淀粉基本成分中水分含量、总蛋白含量、灰分和粗脂肪含量分别采用GB 5009.3—2016^[9]、

GB 5009.5—2016^[10]、GB 5009.4—2016^[11]和GB 5009.6—2016^[12]方法进行测定。采用Chrastil^[13]的方法测定RS2的直链淀粉含量。

1.2.2 RS5的制备

RS5的制备参考Qin等^[14]的方法。将高直链玉米淀粉与0.2 mol/L醋酸钠缓冲液(pH 5.0)混匀配成10%淀粉悬浮液,置于高压灭菌锅中130℃处理60 min,使高直链玉米淀粉充分凝胶化。将凝胶化的淀粉糊冷却至60℃,加入普鲁兰酶(每克淀粉加入80 NPUN)搅拌12 h使其脱支。将脱分支之后淀粉悬浮液再次于130℃加热30 min,然后加入棕榈酸(添加量为悬浮液中淀粉干基质量分数的10%),于90℃水浴锅中搅拌复合1 h,使淀粉与棕榈酸充分复合,然后冷却至25℃。淀粉-脂质复合物悬浮液2 000 g离心20 min,用体积分数50%乙醇溶液洗涤3次,得到无盐淀粉-脂质复合物。制备得到淀粉-脂质复合物命名为RS5,然后冷冻干燥,研磨后过100目筛,放在密闭容器中于4℃冰箱储存备用。

1.2.3 DSC分析

利用差示扫描量热仪和热分析数据站对样品的热性能进行测定。称取RS样品3 mg置于40 μL铝盘坩锅中,向铝盘坩锅内添加去离子水使水与RS的质量比例为3:1。制备好的RS-水混合物样品在室温下平衡过夜,将样品以10℃/min的升温速率从20℃加热至135℃。用空DSC铝盘坩锅作为空白对照,用仪器自带的热分析软件分析RS的热转变温度(起始凝胶化温度 T_0 、峰值温度 T_p 和终止温度 T_c)和凝胶化焓值变化(ΔH)^[15]。

1.2.4 LCM-Raman测定

将少量冻干RS样品用载玻片压至紧实平整,在莱卡显微镜视野中选择清晰界面进行激光测试,激光光源为波长785 nm的绿色二极管。具体测试参数:扫描范围100~3 200 cm⁻¹,激光功率50%,每个样品至少采集6个不同的点,使用仪器自带软件WIRE 2.0处理样品图谱,并记录半峰宽数据^[16]。

1.2.5 衰减全反射-傅里叶变换红外光谱(ATR-FTIR)分析

称取150 mg RS样品,通过压片机进行压片,ATR全波长(400~4 000 cm⁻¹)扫描。分辨率为4 cm⁻¹,扫描累加64次,用OMNIC 8.0对红外图谱进行分析处理,对红外谱图基线校正后选取波长范围为800~1 200 cm⁻¹进行去卷积处理,选取半峰宽19 cm⁻¹,增强因子1.9,通过自带软件进行标峰读取波数为995、1 022、1 047 cm⁻¹的峰强,并计算比值,

该比值代表淀粉结构的有序性程度。

1.2.6 广角 X 射线衍射分析

利用 X 射线衍射仪在 40 kV 和 40 mA Cu-K α 辐射 ($\lambda = 0.154\ 06\ \text{nm}$) 条件下进行检测 RS 样品的相对结晶度. RS 样品在含有饱和 NaCl 溶液的密闭容器中于室温平衡 7 d 后进行分析. X 射线衍射光谱的扫描范围 (2θ) 为 $4^\circ \sim 35^\circ$, 扫描速率 $2^\circ/\text{min}$, 步长 0.02° . 用 TOPAS 5.0 软件并按照式(1)计算样品的相对结晶度.

$$\text{相对结晶度} = \frac{\text{结晶区面积}}{\text{结晶度面积} + \text{无定形区面积}} \times 100\% \quad (1)$$

1.2.7 抗性淀粉体外模拟大肠发酵过程

无菌发酵瓶中加入 45 mL 基础培养基, 每升基础培养基中含有 2 g 蛋白胨、2 g 酵母膏、0.1 g NaCl、0.04 g K₂HPO₄、0.04 g KH₂PO₄、0.01 g MgSO₄·7H₂O、0.01 g CaCl₂·2H₂O、2 g NaHCO₃、0.5 g L-半胱氨酸盐酸盐、0.5 g 胆盐、10 μL 维生素 K₁、2 mL 吐温 80 和 50 mg 氯高铁血红素溶液, 以上成分溶解后调节基础培养基 pH 至 7.0, 加入质量分数为 0.025% 刃天青溶液 4 mL 并灭菌^[17]. 样品分为空白对照组、RS2 组和 RS5 组; 淀粉添加量为 1%.

参考 Zhou 等^[18]的方法收集菌种, 用新鲜人粪作为发酵接种物对抗性淀粉进行体外发酵研究. 分别收集 4 名健康的志愿者 (2 名男性和 2 名女性) 新鲜粪便, 提供粪便志愿者无胃肠道疾病, 至少 3 个月没有接受任何抗生素治疗. 然后取等量 4 名志愿者粪便混合于无菌小瓶中, 用 0.1 mol/L、pH 7.2 无菌磷酸盐缓冲液 (PBS) 稀释, 得到质量分数 20% 的溶液, 然后匀浆. 粪液用 4 层无菌纱布过滤, 过滤液作为体外发酵菌种, 粪便接种质量分数为 1%.

发酵液于 4°C 、13 000 r/min 离心 10 min, 分离得上清液, 采用 pH 计测定上清液的 pH.

采用平板计数法计数, 发酵液用生理盐水稀释一定倍数, 选取梯度稀释液 100 μL 均匀涂布于不同选择培养基上. 于 37°C 厌氧培养 24 ~ 48 h, 每毫升发酵液的菌落形成单位用 mL^{-1} 表示.

1.2.8 益生元指标的测定

抗性淀粉在体外分批发酵中的益生元效果采用益生元指数 (PI) 和肠道内双歧杆菌与肠杆菌数值的比值 (B/E) 进行评价^[19]. 这种对益生元的定量描述将有助于食品工业合理地开发食品, 并为比较不同产品的益生元提供一种手段.

1.3 数据分析

用 SPSS 19.0 数据分析软件对实验数据进行统计分析, 实验结果以“平均值 \pm 标准方差”表示.

2 结果与讨论

2.1 RS2 的基本成分

经测定, RS2 的基本成分 (干基): 水分含量 (12.3 ± 0.3)%, 总蛋白 (0.05 ± 0.08)%, 灰分 (0.04 ± 0.01)%, 直链淀粉含量 (66.8 ± 0.4)%, 脂肪含量 (0.15 ± 0.07)%. RS2 的直链淀粉含量显著高于普通玉米淀粉的直链淀粉含量 20% ~ 30% 和普通小麦淀粉的直链淀粉含量 17% ~ 29%^[20].

2.2 抗性淀粉的长程有序性

不同抗性淀粉的 X 射线衍射图如图 1 所示. RS2 表现出典型的 B 型淀粉的特征, 在 5.5° 、 16.8° 、 19.6° 、 22.2° 和 24.0° 处有明显的 XRD 衍射峰. 而 RS5 在 7.5° 、 12.9° 、 16.8° 、 19.8° 和 22.6° 处具有较强的 XRD 衍射峰, 表明淀粉-脂质复合物具有典型的 B 型或 V 型晶体结构. RS5 在 21.3° 和 24.2° 处具有的两个衍射峰是未复合棕榈酸的 XRD 衍射峰^[21-22]. RS5 具有明显的 V 型晶体结构, 说明形成了大量直链淀粉-脂质复合物. 但是, 从图 1 可以看到 RS5 也具有 B 型晶体结构衍射峰, 这说明经脱分支的高直链玉米淀粉仍有一部分没有与脂肪酸形成复合物, 也就是说并非所有直链淀粉链分子都完全分散在溶液中并能有效与脂质结合^[23], 这样直链淀粉链分子会通过回生形成 B 型晶体结构.

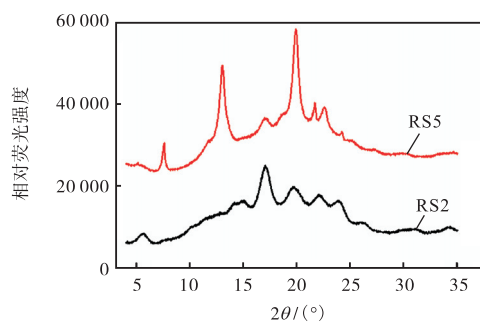


图 1 抗性淀粉样品的 XRD 衍射图谱
Fig. 1 X-ray diffraction patterns of RS samples

2.3 抗性淀粉的短程有序性

抗性淀粉样品的 ATR-FTIR 图谱和 LCM-Raman 图谱如图 2 和图 3 所示.

与 RS2 相比, RS5 的红外光谱在 $1\ 710\ \text{cm}^{-1}$ 和 $2\ 846\ \text{cm}^{-1}$ 处有额外的吸收, 分别为羰基的伸缩振动

和脂肪酸亚甲基的 C—H 不对称拉伸振动峰^[25-26]. 红外光谱中 1047 cm^{-1} 和 1022 cm^{-1} 附近分别对应于淀粉的晶体区域和无定形区域, $1047\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 和 $995\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 表明淀粉的短程有序性, 比值越大, 淀粉的短程有序性越好^[27-28]. 从表 1 可以看出 RS2 的 $1047\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 和 $995\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 比值高于 RS5 的, 说明 RS2 的短程有序性优于 RS5 的. 拉曼图谱的 480 cm^{-1} 处的半峰宽对淀粉短程有序性(即螺旋簇的排列 FWHM)的变化敏感, FWHM 值越小, 表明淀粉短程有序结构越高^[29-30]. 其中 RS2 和 RS5 的 480 cm^{-1} 处的半峰宽分别为 15.8 ± 0.4 和 16.3 ± 0.2 , 说明 RS2 的短程有序性优于 RS5 的, 这与红外结果相一致.

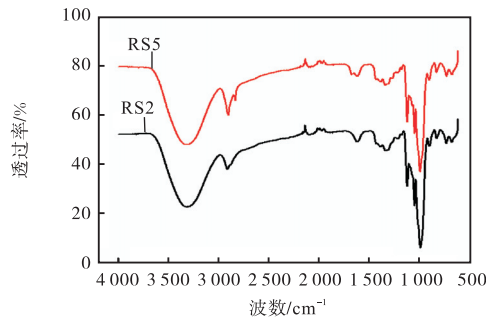


图 2 抗性淀粉样品的 ATR-FTIR 图谱
Fig. 2 ATR-FTIR spectra of RS samples

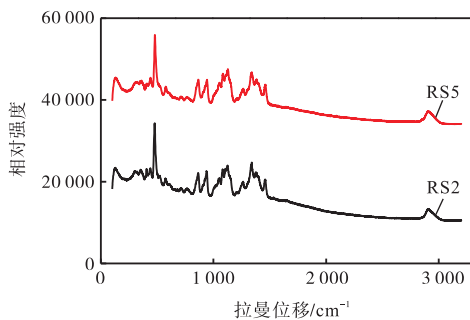


图 3 抗性淀粉样品的拉曼图谱
Fig. 3 Raman spectra of RS samples

表 1 抗性淀粉的结构特征

Tab. 1 Structural characteristics of RS samples

样品	RS2	RS5
结晶度/%	25.7 ± 1.2	32.4 ± 0.2
红外 $1047\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 比值	0.63 ± 0.00	0.53 ± 0.01
红外 $995\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 比值	0.81 ± 0.03	0.70 ± 0.05
拉曼 480 cm^{-1} FWHM	15.8 ± 0.4	16.3 ± 0.2

2.4 RS 样品的热力学性质

两类抗性淀粉的凝胶化转变温度、焓值和 DSC 图谱见表 2 和图 4. 从图 4 可以看出 RS2 有一个熔融峰, 为淀粉的凝胶化转变峰. 而 RS5 有两个吸热转

变, 较低转变温度是由于游离脂肪酸的熔融引起的, 较高转变温度是由于直链淀粉-脂质复合物的凝胶化引起的^[24]. 对于 RS2 其凝胶化转变温度 T_o 、 T_p 和 T_c 分别为 $(72.3 \pm 2.4)^\circ\text{C}$ 、 $(87.9 \pm 0.9)^\circ\text{C}$ 和 $(97.4 \pm 7.9)^\circ\text{C}$, 焓值为 $(8.0 \pm 1.3)\text{ J/g}$. 而 RS5 的凝胶化转变温度明显后移, T_o 、 T_p 和 T_c 分别为 $(106.9 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、 $(116.2 \pm 0.4)^\circ\text{C}$ 和 $(122.3 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 表明 RS5 为 II 型淀粉-脂质复合物. 结果表明 RS5 具有较好的热稳定性, 不容易在热加工过程中被破坏.

表 2 抗性淀粉的热力学性质

Tab. 2 Thermal properties of RS samples

样品	RS2	RS5
$T_o/^\circ\text{C}$	72.3 ± 2.4	106.9 ± 0.5
$T_p/^\circ\text{C}$	87.9 ± 0.9	116.2 ± 0.4
$T_c/^\circ\text{C}$	97.4 ± 7.9	122.3 ± 0.5
$\Delta H/(\text{J}\cdot\text{g}^{-1})$	8.0 ± 1.3	8.2 ± 1.0

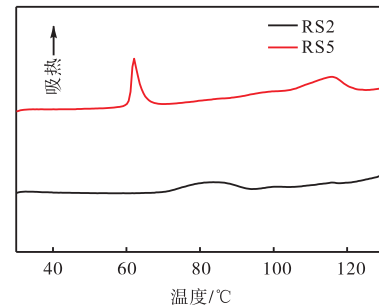


图 4 抗性淀粉的 DSC 曲线

Fig. 4 DSC curves of RS samples

2.5 抗性淀粉体外对肠道菌群的影响

乳酸菌的益生机制可能包含竞争黏附位点、产生抗菌代谢物、调节宿主的免疫防御与非免疫防御系统等方面^[31-32]. 从表 3 可以看出两种抗性淀粉均能对乳酸菌产生一定增殖效果. 与对照相比, RS2 能够对乳酸菌产生持续增殖效果, 到 24 h 时 RS2 的乳酸菌为 $(1.42 \pm 0.20) \times 10^8\text{ mL}^{-1}$, 明显高于对照组 24 h 的 $(6.40 \pm 0.17) \times 10^7\text{ mL}^{-1}$. RS5 对乳酸菌的增殖在 6 h 达到最大, 为 $(7.77 \pm 0.42) \times 10^8\text{ mL}^{-1}$, 明显高于对照组 6 h 的 $(2.09 \pm 0.12) \times 10^8\text{ mL}^{-1}$, 主要因为 RS2 具有完整淀粉结构, 结构紧密乳酸菌利用效率低, 乳酸菌能快速利用 RS5 进行大量繁殖. 随着发酵时间延长, 乳酸菌的数量减少, 说明随培养时间的延长大量营养物质被消耗, 代谢废物大量积累不利于乳酸菌生长. 双歧杆菌是人体肠道内普遍存在的有益菌, 具有相似的实验现象.

肠杆菌和肠球菌是人类和动物肠道中的条件致病菌, 可以引起人类疾病. 从表 3 可以看出 RS2 对肠

杆菌和肠球菌没有明显的抑制效果. 而 RS5 对肠杆菌和肠球菌有明显的抑制效果, 到 24 h 时 RS5 组的肠杆菌为 $(3.10 \pm 0.10) \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$, 明显低于对照组的 $(1.06 \pm 0.17) \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$. 到 24 h 时 RS5 组的肠球菌为 $(1.50 \pm 0.07) \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$, 显著低于对照组的 $(7.00 \pm 0.14) \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 和 RS2 组的 $(3.05 \pm 0.21) \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$. RS5 发酵液里有益菌(乳酸和双歧杆菌)的大量增殖产生大量酸性物质降低了发酵液的 pH, 抑制肠杆菌和肠球菌生长繁殖.

产气荚膜梭菌是肠道中主要有害菌, 在肠道中过度增殖能产生大量的氨、硫化氢、粪臭素和细菌毒素等有害物质, 从而进一步影响机体的健康. 从表 3 可以看出: 两种类型的抗性淀粉均能对产气荚膜梭菌产生较好的抑制效果, 其中 RS5 抑制效果最好, 随培养时间的延长两组抗性淀粉组的产气荚膜梭菌急剧减少, 到 24 h 时 RS2 组和 RS5 组菌落数分别为 $(5.20 \pm$

$0.62) \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 和 $(2.86 \pm 0.11) \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, 远低于对照组 24 h 时的菌落数 $(8.17 \pm 0.76) \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$. 对照组随发酵时间的延长产气荚膜梭菌的数量变化不大, 而培养基中加入抗性淀粉后产气荚膜梭菌的数量变少, 进一步证明抗性淀粉能够抑制产气荚膜梭菌生长, 这主要因为随发酵时间延长, 培养基 pH 下降, 抑制气荚膜梭菌生长.

拟杆菌是人体肠道内菌群数量最大的微生物之一. 拟杆菌具有参与人体的营养吸收以及维持肠道的正常生理作用, 可以吸收和降解膳食中人体不能够降解的植物多糖, 参与脂肪代谢, 调节细菌毒素的产生与增强宿主固有的免疫反应等^[33-34]. 从表 3 可以看出抗性淀粉 RS2 和 RS5 对拟杆菌均有较好增殖效果, 主要因为拟杆菌能以抗性淀粉作为碳源, 通过碳水化合物降解酶(AZymes)对抗性淀粉进行降解, 从而为菌体生长繁殖提供碳源和能源^[35].

表 3 抗性淀粉体外发酵对肠道菌群数量的影响

Tab. 3 Effect of in vitro fermentation of resistant starch on intestinal flora

细菌	时间/h	对照/ mL^{-1}	RS2/ mL^{-1}	RS5/ mL^{-1}
乳酸菌	0	$(3.67 \pm 0.58) \times 10^6$	$(3.12 \pm 0.58) \times 10^6$	$(3.35 \pm 0.58) \times 10^6$
	6	$(2.09 \pm 0.12) \times 10^8$	$(1.96 \pm 0.19) \times 10^8$	$(7.77 \pm 0.42) \times 10^8$
	12	$(1.17 \pm 0.75) \times 10^8$	$(2.03 \pm 0.11) \times 10^8$	$(1.81 \pm 0.13) \times 10^8$
	24	$(6.40 \pm 0.17) \times 10^7$	$(1.42 \pm 0.20) \times 10^8$	$(7.67 \pm 0.59) \times 10^7$
双歧杆菌	0	$(3.80 \pm 0.28) \times 10^6$	$(3.84 \pm 0.57) \times 10^6$	$(3.78 \pm 0.61) \times 10^6$
	6	$(3.93 \pm 0.15) \times 10^7$	$(7.03 \pm 0.95) \times 10^7$	$(9.95 \pm 0.21) \times 10^7$
	12	$(7.15 \pm 0.49) \times 10^6$	$(1.22 \pm 0.83) \times 10^8$	$(1.12 \pm 0.12) \times 10^8$
	24	$(3.83 \pm 0.76) \times 10^6$	$(7.60 \pm 0.36) \times 10^7$	$(3.95 \pm 0.71) \times 10^7$
肠杆菌	0	$(5.83 \pm 0.76) \times 10^7$	$(5.72 \pm 0.15) \times 10^7$	$(5.77 \pm 0.89) \times 10^7$
	6	$(7.77 \pm 0.32) \times 10^7$	$(9.17 \pm 1.00) \times 10^7$	$(3.93 \pm 0.47) \times 10^7$
	12	$(1.01 \pm 0.06) \times 10^8$	$(1.10 \pm 0.06) \times 10^8$	$(3.55 \pm 0.58) \times 10^7$
	24	$(1.06 \pm 0.17) \times 10^8$	$(1.22 \pm 0.01) \times 10^8$	$(3.10 \pm 0.10) \times 10^7$
肠球菌	0	$(1.40 \pm 0.85) \times 10^7$	$(1.63 \pm 0.33) \times 10^7$	$(1.38 \pm 0.55) \times 10^7$
	6	$(7.10 \pm 0.6) \times 10^7$	$(5.23 \pm 0.59) \times 10^7$	$(1.64 \pm 0.70) \times 10^8$
	12	$(3.27 \pm 0.15) \times 10^7$	$(8.20 \pm 0.70) \times 10^7$	$(6.20 \pm 0.36) \times 10^7$
	24	$(7.00 \pm 0.14) \times 10^6$	$(3.05 \pm 0.21) \times 10^7$	$(1.50 \pm 0.07) \times 10^4$
产气荚膜梭菌	0	$(1.70 \pm 0.14) \times 10^6$	$(1.64 \pm 0.34) \times 10^6$	$(1.66 \pm 0.28) \times 10^6$
	6	$(1.41 \pm 0.08) \times 10^8$	$(7.25 \pm 0.92) \times 10^7$	$(1.42 \pm 0.09) \times 10^8$
	12	$(8.83 \pm 0.98) \times 10^7$	$(5.86 \pm 0.48) \times 10^7$	$(6.00 \pm 0.57) \times 10^7$
	24	$(8.17 \pm 0.76) \times 10^7$	$(5.20 \pm 0.62) \times 10^6$	$(2.86 \pm 0.11) \times 10^6$
拟杆菌	0	$(2.27 \pm 0.15) \times 10^6$	$(1.45 \pm 0.46) \times 10^6$	$(2.12 \pm 0.29) \times 10^6$
	6	$(1.17 \pm 0.15) \times 10^6$	$(1.50 \pm 0.10) \times 10^6$	$(5.20 \pm 0.10) \times 10^6$
	12	$(7.00 \pm 1.00) \times 10^5$	$(3.40 \pm 0.10) \times 10^6$	$(4.07 \pm 0.10) \times 10^6$
	24	$(5.00 \pm 1.00) \times 10^5$	$(1.36 \pm 0.57) \times 10^7$	$(3.25 \pm 0.35) \times 10^6$

2.6 抗性淀粉的益生作用

采用益生元指数 PI 值系统地衡量了抗性淀粉作为益生元的益生能力. 不同的 PI 值代表不同的益生能力, PI 值越高则益生能力越强. 由图 5 可知: 体外发酵 24 h 后, RS2 组和 RS5 组的 PI 值显著增加, 分

别为 10.67 和 13.08, 这说明两种抗性淀粉均具有一定益生作用. RS5 组的益生效果要明显优于 RS2 组.

B/E 值也是评价肠道菌群结构的重要指标, 两者的对比可以反映肠道健康状况. 由图 6 可知: 发酵过程中 RS5 组的 B/E 值高于 RS2 组, 其中在发酵 12 h

两种抗性淀粉的 B/E 值最高,然后缓慢下降.这主要因为随发酵时间延长,营养物质消耗和有害物质积累不利于双歧杆菌生长繁殖所致. B/E 值结果与 PI 值结果分析相一致,说明了 RS5 组的益生效果要明显优于 RS2 组,表明 RS5 作为益生元可以有效促进有益菌的生长,抑制有害菌生长,能够改善肠道菌群结构,具有较好的益生作用.

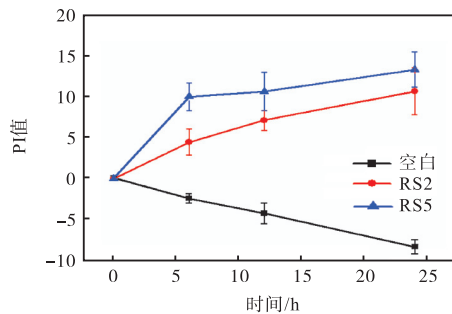


图 5 发酵过程的益生元指数的变化

Fig. 5 Changes of probiotics index during fermentation.

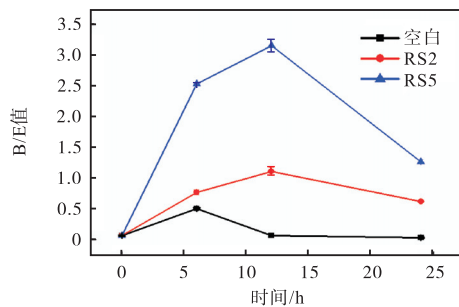


图 6 肠道菌群 B/E 值的变化

Fig. 6 Changes of B/E value of intestinal flora

2.7 发酵体系 pH 变化

发酵液中 pH 的变化如图 7 所示,发酵 24 h 后对对照组、RS2 组和 RS5 组的 pH 显著降低,分别为 6.71、6.39 和 4.70.

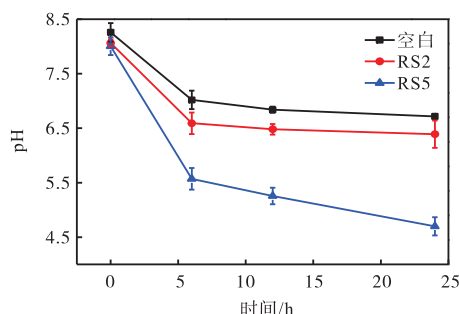


图 7 发酵液中 pH 变化曲线

Fig. 7 pH curve of fermentation broth

在整个发酵过程中,RS 组的 pH 随着发酵时间的延长而显著降低,而对对照组 pH 降低幅度小,这些

结果表明 RS 在肠道微生物作用下,能够分解产生一系列代谢产物,从而降低肠道环境 pH. 较低的 pH 能抑制肠道中有害菌的生长繁殖,防止腐败现象的发生,减少由有害菌代谢产生的有害物质,促进双歧杆菌、乳酸菌等有益菌的生长繁殖,中和发酵过程中产生的游离氨、吲哚、 H_2S 等有害代谢产物. 导致发酵液 pH 降低的原因是微生物在培养过程中,培养基中的碳源经微生物分解、氧化形成有机酸(乙酸、丙酸、丁酸和乳酸),使 pH 下降.

3 结论

制备的 RS5 为包含 V 型和 B 型晶体结构的复合物,具有较好的热稳定性,凝胶化峰值温度为 $116.2\text{ }^\circ\text{C}$,高于 RS2 的 $87.9\text{ }^\circ\text{C}$. 与对照组相比,RS2 可显著增加乳酸菌、双歧杆菌和拟杆菌数量,而抑制产气荚膜梭菌的增殖;RS5 可显著增加乳酸菌、双歧杆菌和拟杆菌数量,有效抑制肠杆菌、肠球菌和气荚膜梭菌增殖. RS5 组发酵液具有较低 pH (4.7) 和较高的益生元指数 (13.08). 因此,与 RS2 相比,RS5 作为新型抗性淀粉具有较好的热稳定性和益生效果,在食品工业具有广泛的应用前景.

参考文献:

- [1] Ahmed R, Segal I, Hassan H. Fermentation of dietary starch in humans[J]. American Journal of Gastroenterology, 2000, 95(4): 1017-1020.
- [2] Jiminez J A, Uwiera T C, Abbott D W, et al. Impacts of resistant starch and wheat bran consumption on enteric inflammation in relation to colonic bacterial community structures and short-chain fatty acid concentrations in mice[J]. Gut Pathogens, 2016, 8(1): 67.
- [3] Ma Z, Boye J I. Research advances on structural characterization of resistant starch and its structure-physiological function relationship: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58(7): 1059-1083.
- [4] Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella S S, et al. Application of cereals and cereal components in functional foods: A review[J]. International Journal of Food Microbiology, 2002, 79(1/2): 131-141.
- [5] Pham V T, Mohajeri M H. The application of in vitro human intestinal models on the screening and development of pre- and probiotics[J]. Beneficial Microbes, 2018, 9(5): 725-742.

- [6] Wang M, Wichienchot S, He X, et al. In vitro colonic fermentation of dietary fibers: Fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 88: 1-9.
- [7] Zhao Y, Hasjim J, Li L, et al. Inhibition of azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the rat colon by a cooked stearic acid complexed high-amylose corn-starch[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(17): 9700-9708.
- [8] Hasjim J, Lee S O, Hendrich S, et al. Characterization of a novel resistant-starch and its effects on postprandial plasma-glucose and insulin responses[J]. *Cereal Chemistry*, 2010, 87(4): 257-262.
- [9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.3—2016 食品安全国家标准·食品中水分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [10] 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 5009.5—2016 食品安全国家标准·食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.4—2016 食品安全国家标准·食品中灰分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [12] 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 5009.6—2016 食品安全国家标准·食品中脂肪的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [13] Chrastil J. Improved colorimetric determination of amylose in starches or flours[J]. *Carbohydrate Research*, 1987, 159(1): 154-158.
- [14] Qin R, Yu J, Li Y, et al. Structural changes of starch-lipid complexes during post-processing and their effect on in vitro enzymatic digestibility[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(5): 1530-1536.
- [15] Wang S, Wang S, Liu L, et al. Structural orders of wheat starch do not determine their in vitro enzymatic digestibility[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(8): 1697-1706.
- [16] Wang S, Wang J, Yu J, et al. Effect of fatty acids on functional properties of normal wheat and waxy wheat starches: A structural basis[J]. *Food Chemistry*, 2016, 190: 285-292.
- [17] Olano-Martin E, Mountzouris K C, Gibson G R, et al. In vitro fermentability of dextran, oligodextran and maltodextrin by human gut bacteria[J]. *British Journal of Nutrition*, 2000, 83(3): 247-255.
- [18] Zhou W, Yan Y, Mi J, et al. Simulated digestion and fermentation in vitro by human gut microbiota of polysaccharides from bee collected pollen of Chinese wolfberry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(4): 898-907.
- [19] 崔琳琳, 姜玥, 周一鸣, 等. 苦荞抗性淀粉体外益生元的作用[J]. *食品工业*, 2019, 40(8): 205-210.
- [20] Delcour J A, Bruneel C, Derde L J, et al. Fate of starch in food processing: From raw materials to final food products[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2010, 1: 87-111.
- [21] Tang M C, Copeland L. Analysis of complexes between lipids and wheat starch[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2007, 67(1): 80-85.
- [22] Lesmes U, Cohen S H, Shener Y, et al. Effects of long chain fatty acid unsaturation on the structure and controlled release properties of amylose complexes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(3): 667-675.
- [23] Seo T R, Kim J Y, Lim S T. Preparation and characterization of crystalline complexes between amylose and C18 fatty acids[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64(2): 889-897.
- [24] Ai Y, Hasjim J, Jane J L. Effects of lipids on enzymatic hydrolysis and physical properties of starch[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 92(1): 120-127.
- [25] Rodriguez-Saona L E, Koca N, Harper W J, et al. Rapid determination of Swiss cheese composition by Fourier transform infrared/attenuated total reflectance spectroscopy[J]. *Journal of Dairy Science*, 2006, 89(5): 1407-1412.
- [26] Koca N, Rodriguez-Saona L E, Harper W J, et al. Application of Fourier transform infrared spectroscopy for monitoring short-chain free fatty acids in Swiss cheese[J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(8): 3596-3603.
- [27] Wei C, Qin F, Zhou W, et al. Comparison of the crystalline properties and structural changes of starches from high-amylose transgenic rice and its wild type during heating[J]. *Food Chemistry*, 2011, 128(3): 645-652.
- [28] Capron I, Robert P, Colonna P, et al. Starch in rubbery and glassy states by FTIR spectroscopy[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2007, 68(2): 249-259.
- [29] Wang S J, Zheng M G, Yu J L, et al. Insights into the formation and structures of starch protein lipid complexes[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(9): 1960-1966.
- [30] Wang S, Zhang X, Wang S, et al. Changes of multi-scale

- MODIS 气溶胶产品在中国区域的适用性[J]. 科学通报, 2007, 52(4): 477-486.
- [5] 马小雨, 陈正华, 李凯涛, 等. 南宁市地基遥感气溶胶光学厚度与 Angstrom 指数研究[J]. 广西大学学报: 自然科学版, 2018, 43(6): 2445-2454.
- [6] 吕睿, 于兴娜, 沈丽, 等. 北京春季大气气溶胶光学特性研究[J]. 中国环境科学, 2016, 36(6): 1660-1668.
- [7] 申彦波, 沈志宝, 汪万福. 2001 年春季中国北方大气气溶胶光学厚度与沙尘天气[J]. 高原气象, 2003, 22(2): 185-190.
- [8] Xie Y S, Li D H, Li K T, et al. Aerosol optical and microphysical properties in haze days based on ground-based remote sensing measurements[J]. Journal of Remote Sensing, 2013, 17(4): 970-980.
- [9] 张龙, 李保生, 李凯涛, 等. MICROTOPS II 型太阳光度计对比定标分析[J]. 遥感信息, 2013, 28(5): 32-36.
- [10] 刘玉光. 卫星海洋学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009: 142-143.
- [11] Tanré D, Kaufman Y J, Holben B N, et al. Climatology of dust aerosol size distribution and optical properties derived from remotely sensed data in the solar spectrum[J]. Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 2001, 106(D16): 18205-18217.
- [12] Dubovik O, Holben B, Eck T F, et al. Variability of absorption and optical properties of key aerosol types observed in worldwide locations[J]. Journal of the Atmospheric Sciences, 2002, 59(3): 590-608.
- [13] 徐丹, 邓孺孺, 陈启东, 等. 基于 CE318 观测的广州市气溶胶光学特性[J]. 热带地理, 2015, 35(1): 21-28.
- [14] 权晓晶, 张镭, 曹贤洁, 等. 2007 年兰州市冬季大气气溶胶光学厚度特性[J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 2009, 45(3): 39-44.
- [15] Ångström A. The parameters of atmospheric turbidity[J]. Tellus, 1964, 16(1): 64-75.
- [16] Pan L, Che H Z, Geng F H, et al. Aerosol optical properties based on ground measurements over the Chinese Yangtze Delta Region[J]. Atmospheric Environment, 2010, 44(21/22): 2587-2596.
- [17] 刘敬乐, 姚青, 蔡子颖, 等. 基于太阳光度计的天津城区气溶胶光学特性[J]. 中国环境科学, 2017, 37(11): 4013-4021.
- [18] 韦晶, 孙林, 刘双双, 等. 大气颗粒物污染对土地覆盖变化的响应[J]. 生态学报, 2015, 35(16): 5495-5506.
- [19] Gong S L, Zhang X Y, Zhao T L, et al. Characterization of soil dust aerosol in China and its transport and distribution during 2001 ACE-Asia; 2. Model simulation and validation[J]. Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 2003, 108(D9): 469-474.
- [20] Zhang Y M, Zhang X Y, Sun J Y, et al. Characterization of new particle and secondary aerosol formation during summertime in Beijing, China[J]. Tellus B: Chemical and Physical Meteorology, 2011, 63(3): 382-394.
- [21] Gobbi G P, Kaufman Y J, Koren I, et al. Classification of aerosol properties derived from AERONET direct sun data[J]. Atmospheric Chemistry and Physics, 2007, 7(2): 453-458.

责任编辑: 周建军

(上接第 20 页)

- structure during mimicked DSC heating reveal the nature of starch gelatinization[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 28271.
- [31] Sanz Y, Nadal I, Sanchez E. Probiotics as drugs against human gastrointestinal infections[J]. Recent Pat Antiinfect Drug Discov, 2007, 2(2): 148-156.
- [32] Ljungh A, Wadstrom T. Lactic acid bacteria as probiotics[J]. Current Issues in Intestinal Microbiology, 2006, 7(2): 73-89.
- [33] Ley R E, Backhed F, Turnbaugh P, et al. Obesity alters gut microbial ecology[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(31): 11070-11075.
- [34] Xu J, Bjursell M K, Himrod J, et al. A genomic view of the human-*Bacteroides thetaiotaomicron* symbiosis[J]. Science, 2003, 299(5615): 2074-2076.
- [35] Kaoutari A, Armougom F, Gordon J I, et al. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota[J]. Nature Reviews: Microbiology, 2013, 11(7): 497-504.

责任编辑: 郎婧