

学校代码: 10327

学 号: 1120180689



南京财经大学

硕 士 学 位 论 文

低聚果糖浸渍处理对米饭品质和抗回生
特性改善作用研究

学 院: 食品科学与工程学院

专 业: 食品科学与工程

研 究 方 向: 农产品储藏与加工

姓 名: 倪晓蕾

指 导 教 师: 裴 斐

完 成 日 期: 二〇二一年三月

答 辩 日 期: 二〇二一年五月

**RESEARCH ON THE EFFECTS OF FRUCTO-
OLIGOSACCHARIDES MACERATION TREATMENT ON
QUALITY ENHANCEMENT AND ANTI-
RETROGRADATION PROPERTIES OF COOKED RICE**

A Dissertation Submitted to

Nanjing University of Finance and Economics

For the Academic Degree of Master of Food Science and

Engineering

BY

Xiaolei Ni

Supervised by

Associate Professor Fei Pei

College of Food Science and Engineering

Nanjing University of Finance and Economics

March 2021

学位论文独创性声明

本论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。论文中除了特别加以标注和致谢的地方外，不包含其他人或其它机构已经发表或撰写过的研究成果。其他同志对本研究的启发和所做的贡献均已在论文中作了明确的声明并表示了谢意。

作者签名：倪晓蕾

日期：2021年6月15日

学位论文使用授权声明

本人完全了解南京财经大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留送交论文的复印件，允许论文被查阅和借阅；学校可以公布论文的全部或部分内容，可以采用影印、缩印或其它复制手段保存论文。保密的论文在解密后遵守此规定。

作者签名：倪晓蕾 导师签名：张非 日期 2021年6月15日

基金项目

“十三五”国家重点研发计划——野外自热食品品质提

升与制造关键技术研究

(NO. 2018YFD0400500) 资金资助

Supported by the National Key Research and

Development Program of China

摘要

随着生活水平和节奏的提高,方便米饭产业发展迅猛。然而,市售方便米饭产品仍存在复水性差、易回生、口感差、营养不充分等问题。其中,大米熟制后淀粉的快速回生导致这些问题的重要原因。本文针对大米蒸煮后米饭品质改善和淀粉抗回生的关键技术问题,研究了低聚果糖对米饭品质、淀粉回生特性的影响,并探究其对肠道菌群的调节作用,主要研究结果如下:

1. 以山梨糖醇和麦芽糖醇作对照,研究了不同浓度低聚果糖浸渍处理对大米蒸煮后的米饭食用品质,回生和消化特性的影响。结果表明,山梨糖醇、麦芽糖醇和低聚果糖浸渍处理均能够提高大米的吸水率和米饭的感官评分,降低米饭的硬度和体外消化水解率。与对照组相比,1.6%低聚果糖浸渍处理组的大米吸水率提高了15.32%,米饭直链淀粉比例、糊化焓和冷藏24 h后硬度值分别降低了7.36%,22.91%和21.79%,且显著降低了糊化焓值,并形成了均匀致密的孔状结构,有效提升米饭的食用品质。

2. 为了进一步探究低聚果糖浸渍处理改善米饭回生品质的机制,以 β -环糊精为对照,研究了低聚果糖对大米淀粉抗回生特性的影响。结果表明,与空白对照组(大米淀粉)相比,低聚果糖处理能显著降低大米淀粉糊化后的峰值粘度、终值粘度和回生值。此外,在短期冷藏后低聚果糖处理组的析水率、硬度和渗漏直链淀粉含量分别显著降低了21.82%,16.26%和17.25%,有利于提高大米淀粉的保水性和稳定性。同时,低聚果糖处理组的储能模量、水流动性、相对结晶度和红外 $1047\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 比率降低,网络结构更加紧密,表现出较好的抗回生特性。而与 β -环糊精相比,低聚果糖在延缓大米淀粉的回生方面更具优势。证明了通过添加低聚果糖能够显著提升大米淀粉的抗回生特性。

3. 通过接种人源肠道菌进行体外厌氧培养,研究了低聚果糖浸渍处理对米饭体外消化过程中总碳水化合物含量变化和在发酵过程pH值、短链脂肪酸浓度以及肠道菌群分布的变化。结果表明,在体外消化过程中,低聚果糖浸渍处理组在消化液中的总碳水化合物含量低于对照组,且低聚果糖含量无显著变化。在发酵过程中,与对照组相比,低聚果糖浸渍处理组的发酵液pH值降低,短链脂肪酸浓度显著升高。此外,低聚果糖浸渍处理组可以显著促进发酵液中*Bifidobacterium*和*Lactobacillus*等益生菌的增殖,有效改善了肠道菌群的分布。该研究为大米精深加工与高品质健康方便米饭产品开发提供理论依据。

关键字: 低聚果糖; 淀粉回生; 方便米饭; 质构品质; 菌群分布

ABSTRACT

With the improvement of living standard and pace, the instant rice industry develops rapidly. However, commercially available instant rice products still have problems such as poor rehydration, easy retrogradation, poor taste and insufficient nutrition, which are mainly caused by the rapid retrogradation of rice starch in cooked rice. Aiming at the key technical problems of improving rice quality and anti-retrogradation properties after cooking, the effects of fructo-oligosaccharides and other additives on rice quality and starch retrogradation characteristics were studied, and its regulation effect on intestinal microflora were explored. The main research results are as follows:

1. Using sorbitol and maltitol as controls, the effects of different concentrations of fructo-oligosaccharides maceration treatments on the edible quality, anti-retrogradation and digestive properties of rice cooking were studied. The results showed that the maceration treatments of fructo-oligosaccharides, sorbitol and maltitol could improve the water absorption of rice and sensory score of cooked rice, reduce the hardness and hydrolysis rate in vitro digestion of cooked rice. Compared to the control group, the water absorption of rice added with 1.6% fructo-oligosaccharides increased by 15.32%; amylose content, gelatinization enthalpy and hardness of cooked rice after refrigerated for 24 h decreased by 7.36%, 22.91% and 21.79%, respectively. Moreover, it significantly reduced the gelatinization enthalpy, and formed a uniform and dense porous structure, which effectively improved the sensory quality.

2. In order to further explore the mechanism of fructo-oligosaccharides maceration treatment improving anti-retrogradation quality of cooked rice, the β -cyclodextrin was used as the control to study the effects of fructo-oligosaccharides on the anti-retrogradation properties of rice starch. The results showed that compared to the blank control group (rice starch), fructo-oligosaccharides treatment significantly decreased the peak viscosity, final viscosity and setback value of gelatinized rice starch. In addition, the short-time refrigeration of rice starch exhibited lower syneresis rate (21.82%), hardness (16.26%) and amylose leaching (17.25%), indicating that fructo-oligosaccharides could improve its water retention and stability. Also, fructose-oligosaccharides decreased the storage modulus, water fluidity, relative crystallinity, and transmittance ratio in the wavelength of 1047 cm^{-1} and 1022 cm^{-1} from rice starch, and the network structure was more compact, showing better anti-retrogradation

properties. Compared to β -cyclodextrin, fructo-oligosaccharides had more advantages in delaying the retrogradation of rice starch. The results proved that the addition of fructo-oligosaccharides could significantly improve the anti-retrogradation properties of rice starch.

3. By inoculating human intestinal bacteria to anaerobic culture in vitro, the changes of total carbohydrate content during in vitro digestion, pH value and concentration of short-chain fatty acids during in vitro fermentation, as well as the changes of bacterial flora distribution after fermentation on cooked rice added with fructo-oligosaccharides were studied. The results showed that the total carbohydrate content of fructo-oligosaccharides maceration treatment group in digestive juice was lower than that of the control group, and there were no significant changes in fructo-oligosaccharides contents. Meanwhile, the pH value of the fructo-oligosaccharides maceration treatment group decreased and the short-chain fatty acids concentration increased significantly compared to those of the control group in the fermentation process. In addition, the fructo-oligosaccharides maceration treatment group could significantly promote the proliferation of probiotics in fermentation broth such as *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, and effectively improved the distribution of intestinal flora. It provides a theoretical basis for the deep processing of rice and the development of high quality, healthy and convenient rice products.

KEY WORDS: Fructo-oligosaccharides; Starch retrogradation; Instant rice; Texture quality; Bacterial phase distribution

目 录

摘要	I
ABSTRACT	II
第一章 绪论	1
1.1 方便米饭简介与其面临的问题	1
1.2 米饭品质的影响因素	2
1.2.1 大米品种对米饭品质的影响	2
1.2.2 回生对米饭品质的影响	2
1.2.3 大米蒸煮预处理技术对米饭品质的影响	3
1.3 低聚果糖在改善食品质构及肠道菌群的应用进展	4
1.3.1 低聚果糖在改善食品质构方面的应用	5
1.3.2 低聚果糖在改善淀粉回生方面的应用	5
1.3.3 低聚果糖在改善肠道菌群方面的应用	5
1.4 研究的目的地意义	6
1.5 研究内容	6
1.6 技术路线图	7
第二章 低聚果糖浸渍处理对米饭品质和回生特性的影响	8
2.1 前言	8
2.2 实验材料、试剂及仪器	8
2.2.1 实验材料与试剂	8
2.2.2 仪器与设备	8
2.3 试验方法	9
2.3.1 大米浸泡吸水率的测定	9
2.3.2 米饭样品的制备	9
2.3.3 直链淀粉比例测定	10
2.3.4 米饭感官评定	10
2.3.5 不同放置时间下米饭硬度的测定	11
2.3.6 热特性的测定	11
2.3.7 米饭微观结构观察	11
2.3.8 米饭体外消化	11
2.3.9 数据分析	11
2.4 结果与分析	12
2.4.1 低聚果糖对大米浸泡吸水率的影响	12

2.4.2 低聚果糖对米饭中直链淀粉含量的影响.....	13
2.4.3 低聚果糖对米饭感官评价的影响.....	13
2.4.4 低聚果糖对不同冷藏时间米饭硬度的影响.....	16
2.4.5 低聚果糖对样品热力学性质的影响.....	17
2.4.6 低聚果糖对米饭微观结构的影响.....	18
2.4.7 低聚果糖对米饭体外消化的影响.....	19
2.5 本章总结.....	20
第三章 低聚果糖对大米淀粉回生特性的影响	22
3.1 前言.....	22
3.2 实验材料、试剂及仪器.....	22
3.2.1 实验材料与试剂.....	22
3.2.2 主要仪器.....	23
3.3 试验方法.....	23
3.3.1 RVA 测定	23
3.3.2 析水率测定.....	23
3.3.3 渗漏直链淀粉含量的测定.....	24
3.3.4 硬度测定.....	24
3.3.5 动态流变分析.....	24
3.3.6 红外光谱分析.....	24
3.3.7 低场核磁共振测定.....	24
3.3.8 微观结构分析.....	25
3.3.9 X 射线衍射分析.....	25
3.3.10 激光共聚焦扫描显微镜分析.....	25
3.3.11 数据分析.....	25
3.4 结果与分析.....	25
3.4.1 低聚果糖对大米淀粉粘度的影响.....	25
3.4.2 低聚果糖对大米淀粉析水率、硬度和浸出直链淀粉含量的影响.....	26
3.4.3 低聚果糖对大米淀粉动态流变特性的影响.....	27
3.4.4 低聚果糖对大米淀粉分子结构和水分分布的影响.....	28
3.4.5 低聚果糖对大米淀粉 X 射线衍射的影响.....	30
3.4.6 低聚果糖对大米淀粉微观结构的影响.....	31
3.5 本章小结.....	32
第四章 低聚果糖浸渍处理对米饭肠道菌群的影响	34
4.1 前言.....	34

4.2 实验材料、试剂及仪器.....	34
4.2.1 实验材料与试剂.....	34
4.2.2 主要仪器.....	35
4.3 试验方法.....	35
4.3.1 样品制备.....	35
4.3.2 样品体外消化方法.....	35
4.3.3 消化过程中成分测定.....	36
4.3.4 样品体外发酵方法.....	36
4.3.5 培养过程中 pH 值的测定.....	36
4.3.6 培养过程中短链脂肪酸的测定.....	37
4.3.7 DNA 提取及测序分析.....	37
4.3.8 伦理学申明.....	37
4.3.9 统计分析.....	37
4.4 结果与分析.....	37
4.4.1 总碳水化合物和低聚果糖在消化过程中的变化.....	37
4.4.2 培养过程中 pH 值的变化.....	39
4.4.3 培养过程中短链脂肪酸的变化.....	40
4.4.4 测序结果分析.....	41
4.5 本章总结.....	45
全文结论	46
创新点	47
研究展望	48
参考文献	49

第一章 绪论

1.1 方便米饭简介与其面临的问题

大米是世界上栽种最广泛，消费量最大的粮食作物之一。米饭是大米通过添加适量的水经过蒸煮工艺而制成的食物，具有丰富的营养。随着生活水准的提高，消费者对日常饮食的要求逐渐提高，使得米饭的食用品质越来越受到重视。米饭的食用品质主要是指在蒸煮过程和食用过程中，大米表现出来的各种理化特性和感官特性，如膨胀性、糊化性、吸水性、溶解性以及米饭的硬度、粘弹性、风味等（刘思含, 2017）。

如今，随着生活节奏的加快和消费水平的提高，消费者对主食的要求不仅是食用口感，还考虑营养、方便携带和食用等方面。因此，方便产品如方便米饭、方便饭团等大量涌现。方便米饭是指米饭在食用前只需要简单加热或者直接食用的一种工业化批量生产的产品（孙明辉, 2013）。方便食品产业的出现顺应了当下时代的潮流，给人们的生活带来了一定的便利。然而，目前国内市售方便米饭存在复水性差、易回生、口感差等一系列的问题，其根本原因是大米在熟制加工过程和贮藏过程中大米淀粉快速回生导致的（刘思含, 2017；倪嘉能, 2010）。淀粉回生是糊化后的淀粉分子链通过氢键缠绕在一起形成双螺旋结构，进行有序排列形成结晶的过程，导致了米饭、饭团等淀粉基食品在熟制加工和储藏过程中变硬、干缩等问题，严重影响了米饭的口感和保质期（Karim, 2009），是限制方便米饭产业发展的瓶颈问题。因此，提升大米淀粉抗回生性能，提高米饭的品质是非常有必要的。

目前对米饭品质的研究主要通过分析大米中淀粉的组成、直链淀粉含量、质构特性、糊化特性、淀粉回生特性、消化特性、感官评价等指标（曹珍珍, 2019；张玉荣, 2020）。大米中直链淀粉含量与大米吸水率、米饭的硬度、粘性、感官品质等指标密切相关。不同品种的大米蒸煮后的硬度随着直链淀粉含量的增加而增加，而粘度、吸水率和感官品质随着直链淀粉含量的增加而降低。直链淀粉精细结构还影响了淀粉消化率，直链淀粉支链越长，消化率越高（李志航, 2018）。也有一些机理方面的研究，例如可以通过应用差式扫描量热仪（DSC）来测定米饭的糊化特性；通过低场核磁共振技术（LF-NMR）分析米饭体系中的水分分布情况以及在回生过程中的水分迁移情况；通过傅里叶变换红外光谱技术（FTIR）分析大米淀粉分子中氢键的变化。此外，也有些人应用X射线衍射技术（XRD）和电子显微镜技术（SEM，LSCM）等测定米饭的分子结构，应用差式扫描量热仪、

RVA 快速粘度仪法等来探究抑制米饭回生的机理等。

1.2 米饭品质的影响因素

1.2.1 大米品种对米饭品质的影响

大米中的营养结构主要包括淀粉、蛋白质、脂类和微量的维生素、矿物质等。然而不同品种的大米营养结构组成含量不同,导致熟制后米饭的质构、食味品质、回生程度存在差异。

淀粉是大米的主要组成成分,对米饭的食用品质具有重要的影响。淀粉分为直链淀粉和支链淀粉。不同品种的大米含有直链淀粉含量不同,在熟制后米饭的食用品质存在很大差异。王佳(2013)研究发现大米品种、类型和产地能够显著影响脱水方便米饭的品质,具有中等含量直链淀粉(16%~20%)、较低含量蛋白质(7%~9%)的大米品种制成的脱水方便米饭品质较好。Yu(2009)研究了11种不同直链淀粉含量(1.2~35.6%干基)的大米制成的米饭在 $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 贮藏期间的回生情况,通过皮尔逊相关性分析发现与直链淀粉含量低的大米制成的米饭相比,直链淀粉含量高的大米制成的米饭回生速度更快。

大米中不同的脂质含量对米饭的适口性、风味和保质期产生很大影响,并且与米饭的水溶性和糊化性质有关(余世锋,2008)。吴焱(2021)研究了不同脂肪含量的大米熟制后对米饭回生过程中淀粉热力学特性、米饭食味品质、质构特性的影响。结果表明,中脂类型品种米粉的糊化热焓值较高,回生热焓值和回生程度较低,并且与低脂类型和高脂类型品种相比,中脂类型品种制成的米饭显著提高了食味品质和质构特性。

不同的大米品种所含蛋白质的含量也存在差异。蛋白质含量不同能够导致米饭蒸煮过程初期的吸水性的差异,进而对米饭的质构产生影响(闫清平,2001)。蛋白质含量越高的大米在蒸煮后的米饭硬度变大,黏度和弹性降低,色泽和食味品质变差。Furukawa(2006)研究结果表明添加外源蛋白能够降低米饭的食味品质,醇溶蛋白处理后的大米能够使蒸煮后米饭硬度升高,黏性降低,谷蛋白处理米饭的外观品质降低。王鹏跃(2016)也表明,醇溶蛋白处理显著降低米饭的黏度和食味品质,并且含量越高,米饭弹性、米饭粒的完整性越低。此外,蛋白质能与脂质、淀粉之间发生相互作用,干扰了淀粉分子的伸展和淀粉颗粒的润胀,影响米饭的食用品质。

1.2.2 回生对米饭品质的影响

米饭回生是一个非常复杂的过程,包含物理变化和化学变化,能够导致米饭硬度、结晶性、酶消化性、口感及可溶性淀粉含量等发生变化。完全糊化的米饭

发生回生现象一般会经历柔软, 硬化, 板结成块, 粉质, 渗水脱水等过程。米饭的硬化一般从米饭中心开始, 然后逐渐扩展到外层, 最后整颗饭粒越来越硬。米饭的黏聚性、弹性和柔软性会随着米饭硬化程度的加深而逐渐降低, 并且难以消化。而淀粉发生回生是导致米饭回生现象的最根本原因。淀粉回生是指在低温下, 完全糊化的淀粉分子间通过糊化时被破坏的氢键再重新结合, 重新进行有序排列形成结晶的过程。米饭的冷却速率能够显著影响淀粉的回生速度, 通过缓慢冷却的方式能够加重淀粉的回生, 导致米饭硬度增加, 黏性降低。冷却温度在 $2\sim 10^{\circ}\text{C}$ 范围内淀粉最易回生, 而小于 -20°C 或大于 60°C 范围下淀粉回生现象变的缓慢。余世锋(2010)发现不同的冷冻速率和贮藏温度能够显著影响淀粉凝沉和米饭质构特性, 在 -18°C 条件下冻藏 5 个月内淀粉没有发生凝沉现象, 而在 4°C 条件下冷藏后, 发现米饭的回生焓和硬度显著上升, 米饭品质下降。Ding(2019)研究表明, 大米淀粉回生后其结晶类型由 A 型转变为 B+V 型, B 型结晶度随含水率的增加而增加, 从总体上看, 含水率 42% 的大米淀粉加热后在 4°C 贮藏 8 h 后的总回生焓最高, 回生程度最大。因此, 延缓大米淀粉的回生是提升方便米饭食用品质, 延长其货架期的首要途径。

1.2.3 大米蒸煮预处理技术对米饭品质的影响

现有研究表明, 通过超高压、超声波、挤压处理和添加外源添加剂浸渍等大米蒸煮预处理技术, 可以改善米饭的食用品质。其中, Meng(2018)研究了静态超高压浸泡对黑米的蒸煮特性和回生特性的影响。结果表明, 静态超高压浸泡处理后提高了黑米的吸水率, 降低了浸出直链淀粉含量, 煮熟的黑米硬度降低, 弹性, 内聚性和弹性增加, 表现出较低的回生程度。此外, 通过差示扫描量热法发现静态高压处理降低了黑米的焓值和回生度, 并且通过 x 射线衍射分析表明处理后的黑米在贮藏过程中相对结晶度降低。王曦(2017)通过超高压处理研究了其对发芽糙米方便米饭消化特性的影响, 结果发现经过超高压处理的发芽糙米饭能够显著提升米饭消化性。其中, 超高压处理后能够提高糙米饭中的易消化淀粉含量, 降低抗性淀粉降低含量, 并且延缓了发芽糙米饭的回生速度, 提高了发芽糙米饭的品质。Wang(2016)研究不同挤压条件对糙米面食产生的品质影响, 发现在挤出温度和螺杆速度为 120°C 和 120 rpm 条件下生产的糙米面食能够提高糙米面食的可溶性纤维, 降低脂质和直链淀粉含量, 能够显著提高其食用品质。崔璐(2010)研究了槽式超声波对糙米理化特性的影响, 结果发现通过槽式超声波处理糙米能够显著缩短蒸煮时间, 降低糙米的硬度, 提高粘附性、粘聚性和含水率, 从而改善了糙米的蒸煮、质构特性和感官品质。但是这些方法对设备选型要求较高, 前期资金投入量大, 不利于产业化应用。

浸渍处理是通过大米在浸泡时添加外源添加剂,如酶制剂、乳化剂、蛋白质、亲水胶体、多羟基化合物等(Dun, 2020; Hou, 2020; Hu, 2020; Yu, 2020; Zhang, 2015),来改善米饭及淀粉的品质特性,提高其短期或长期抗回生的能力。其中,酶处理是用淀粉酶,胰蛋白酶,脂肪酶,果胶酶和纤维素酶等酶制剂通过改变原料的某些特性来影响食物品质(Li, 2020)。变性淀粉又称改性淀粉,是在原淀粉分子上利用物理、化学、生物等方法引入新的官能团或改变淀粉分子大小和淀粉颗粒性质而得到的一类淀粉衍生物(姚阳, 2016),可能对淀粉糊的粘度、回生作用等产生影响,常用于淀粉基产品中,以获得理想的物理和质地性能。常用的变性淀粉有乙酰化淀粉,氧化淀粉,羟丙基淀粉等(Hu, 2020)。在这些方法中,化学修饰(如氧化淀粉、乙酰化淀粉等)和传统改良剂(金鑫, 2020)安全性较低,长期或过量食用易产生毒性,带来食品安全问题(吴跃, 2011);酶处理容易产生各种水解产物,破坏食物表面和其原有的味道,降低食物的营养价值(Palacios, 2004)。然而亲水胶体是一类具有较好的持水性、稳定性、增稠性等特点的水溶性多糖或蛋白质,它能与淀粉的相互作用而改变食品体系的流变特性和质构特性(姬云云, 2020),已广泛用于我们日常生活中以淀粉为原料的食品的制备(范欣, 2020),特别是以黄原胶、 β -环糊精(β -CD)为代表的亲水胶体延缓淀粉回生的作用已经被广泛报道。袁芳(2021)研究了黄原胶浸渍对糯米饭品质的影响,结果表明,与 β -淀粉酶相比,黄原胶浸渍处理后的糯米饭在冷藏一段时间后显著降低了其硬度,显著提高了颜色色度和感官评分,有利于提高冷藏后糯米饭的品质。Tian(2009)研究了 β -环糊精(β -CD)对大米淀粉短期回生的影响,结果发现 β -CD与淀粉中的直链淀粉通过非共价作用,如范德华力、静电力和 β -CD存在时形成的氢键,形成直链淀粉- β -CD复合物,降低了直链淀粉比例和大米淀粉的回生速率。刘莉(2013)通过超高压技术辅助促进了 β -环糊精渗透到米饭颗粒内部,利用 β -环糊精外疏水内亲水的特性可以与淀粉分子相互作用,抑制米饭回生。然而,具有功能性的天然低聚糖对提升米饭及大米淀粉品质和抗回生性方面关注较少。

1.3 低聚果糖在改善食品质构及肠道菌群的应用进展

低聚果糖(FOS)是指果糖基通过 β -2, 1糖苷键连接而成的聚合度2~9的功能性低聚糖(刘宗利, 2016),主要成分为蔗果三糖(GF2)、蔗果四糖(GF3)、蔗果五糖(GF4)。低聚果糖溶解性良好,具有耐高温性、热稳定性,保湿性,有助于改善食物的口感,可以降低水活性来抑制淀粉回生。此外,低聚果糖可以提高微生物稳定性,促进有益菌增殖。

1.3.1 低聚果糖在改善食品质构方面的应用

FOS 具有高水溶性, 高稳定性和保湿性, 可以改善食物的口感和质地, 延长货架期 (Kumar, 2018)。Park (2016) 发现, 在冷冻面团中添加 FOS 提高了冷冻面团的烘焙质量, 增加了面包的水分含量, 降低面包的硬度。Angioloni (2011) 表明, 添加羧甲基纤维素和 FOS 可以改善面包的品质, 降低淀粉的水解, 降低升糖指数。张岩 (2016) 研究了 FOS 对乳酸菌发酵以及酸奶品质的影响, 结果发现 FOS 处理提高了酸奶的持水率和感官评分, 有较好的质构品质和食用口感。Cáceres (2004) 研究了 FOS 对传统低脂香肠感官特性的影响, 结果表明 FOS 能够较好地提升香肠的感官特性和质构特性, 是肉制品中良好的脂肪替代品。

1.3.2 低聚果糖在改善淀粉回生方面的应用

FOS 具有较强的亲水性, 且不易结晶, 其亲水基团可通过与直链淀粉结合形成稳定的络合物, 从而抑制淀粉分子之间的重结晶, 延缓淀粉的回生速度 (薛山, 2012), 在淀粉性能改良等方面具有重要作用。Zeng (2016) 表明, 小麦淀粉中添加 FOS 能够提高其溶胀率、淀粉凝胶的吸水指数和水溶性指数, 并且能够延缓小麦淀粉凝胶的回生。Su (2020) 研究了在低冷冻条件下低聚糖处理后对小麦淀粉的糊化、回生、热特性及粒径变化的影响, 结果表明, FOS 可以降低淀粉颗粒的真密度、孔隙率、退化和膨胀率, 有效提高小麦淀粉的冷冻稳定性, 减少冷冻和淀粉回生对淀粉结构的损害。

1.3.3 低聚果糖在改善肠道菌群方面的应用

作为功能性食品原料, FOS 具有膳食纤维和益生元的双重功效, 可以选择性地刺激益生菌的生长并维持其定植, 特别是双歧杆菌和乳酸菌 (Mutanda, 2014), 并减少其他细菌 (如拟杆菌属和梭状芽胞杆菌属等) 的数量而表现出良好的益生元作用。马岩 (2012) 研究了不同剂量 FOS 对小鼠肠道菌群的影响。结果显示, 用 FOS 连续灌胃 14 天后, 高剂量组小鼠肠道中双歧杆菌数量和乳杆菌数量显著增加, 产气荚膜梭菌和肠球菌数量降低。此外, FOS 在治疗肠道疾病方面具有显著效果, 主要作用包括有增加短链脂肪酸的产生, 减少粘膜损伤、炎症细胞浸润, 减少肥胖等。Galdino (2018) 通过在动物实验研究发现, FOS 可减少炎症浸润和肠渗透性, 保护肠道黏膜, 提高过氧化氢酶水平, 说明对肠道屏障功能具有保护作用。Zhao (2020) 研究了凝结芽孢杆菌 13, 002 (BCS) 和 FOS 对用烷基化剂环磷酰胺 (CTX) 处理的小鼠的影响。结果表明, BCS 和 FOS 可以增加小鼠的免疫球蛋白并调节免疫因子, 并且能够增加短链脂肪酸, 促进有益细菌的生长, 最终通过调节肠源性和粪便微生物群来提高 CTX 诱导的免疫抑制小鼠的免疫力。

另一方面, FOS 作为能够促进有益肠道细菌生长的益生元成分, 在功能食品方面应用越来越多, 特别是在乳制品、面包等食品的制作中 (Franck, 2002)。然而, 经过 FOS 浸渍处理后的大米经过高温熟制的米饭对肠道菌群具有调节作用还不明确。

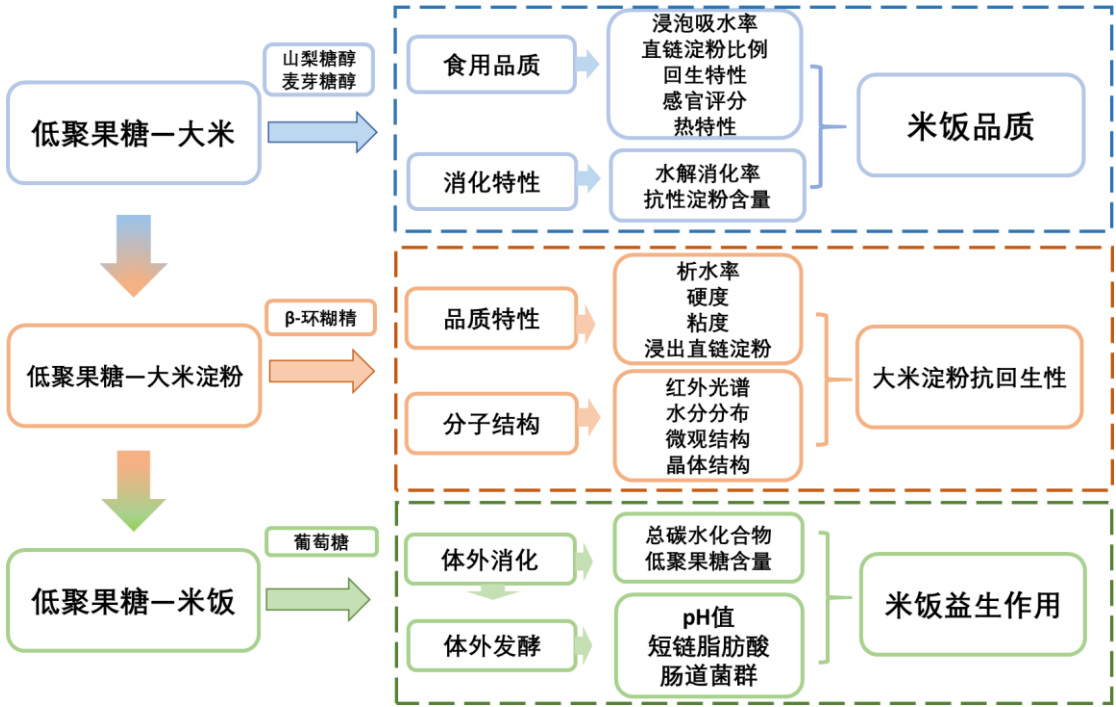
1.4 研究的目的及意义

随着生活节奏和消费水平的提高, 对具有营养、便携的方便米饭越来越受到消费者的青睐。但是目前市售方便米饭仍存在复水性差、易回生、口感差等一系列的问题, 而大米熟制后淀粉快速回生是造成这些问题的根本原因, 导致了米饭、饭团等淀粉基食品在熟制加工过程和储藏过程中变硬、干缩等问题, 影响了口感和复水性, 是限制方便米饭产业发展的瓶颈问题。因此, 如何改善米饭及淀粉品质特性, 提升大米淀粉抗回生性能对于方便米饭的品质改善具有重要意义。本研究以山梨糖醇和麦芽糖醇为对照, 研究了不同浓度低聚果糖浸渍处理对米饭食用品质、热特性和消化特性的影响, 筛选最优处理浓度, 以得到米饭最佳的食用品质、抗回生能力和消化特性。为了进一步探究低聚果糖对米饭抗回生能力的机制, 研究了低聚果糖对大米淀粉的抗回生特性的影响, 明确低聚果糖对大米淀粉回生特性的影响规律。最后利用体外实验探究低聚果糖浸渍处理的大米在高温熟制后的米饭对肠道微生物的调节作用。为大米精深加工与高品质健康方便米饭产品开发提供理论依据。

1.5 研究内容

本论文的研究内容主要包括以下几点: 以山梨糖醇和麦芽糖醇为对照, 研究了不同浓度低聚果糖浸渍处理对大米浸泡吸水率、米饭直链淀粉比例、硬度、微观结构、感官评价及消化特性等指标的影响, 来分析低聚果糖浸渍处理对米饭的食用品质、回生和消化特性的影响, 并筛选最优处理浓度; 为了进一步探究低聚果糖浸渍处理对米饭抗回生能力的机制, 以 β -环糊精为对照, 研究了低聚果糖对大米淀粉的回生值、析水率、硬度、直链淀粉浸出量和动态流变学的影响, 并利用傅里叶变换红外、低场核磁共振、扫描电镜、x 射线衍射和激光共聚焦扫描显微镜, 来分析低聚果糖对大米淀粉短期回生特性的影响; 利用体外发酵实验, 接种肠道微生物进行体外厌氧培养, 提取发酵液中的 DNA 进行测序分析, 来研究低聚果糖浸渍处理的米饭对发酵液中人源肠道微生物菌群种类和结构的影响, 并测定在体外消化过程中消化液的总碳水化合物和低聚果糖含量和在发酵过程中发酵液的 pH 值、短链脂肪酸含量的变化。

1.6 技术路线图



第二章 低聚果糖浸渍处理对米饭品质的影响

2.1 前言

中国是大米生产和消费的大国,随着生活条件改善和生活节奏加快,人们对主食的要求不断提高,方便携带和食用等要求越来越受到重视。方便米饭的出现顺应时代的要求,但是仍然存在复水性差、易回生、口感差等一系列的问题。这些问题与大米品种、淀粉组分、蒸煮方法、改良剂以及加工工艺等多种因素有关,不同程度的影响其持水力、硬度和回生。因此,如何改善米饭品质和回生特性显得尤为重要。低聚果糖是一种具有耐高温性、稳定性和改善肠道功能的功能性低聚糖(李飞, 2015; 王金海, 2015)。在面包的冷冻储藏过程中低聚果糖的添加能够有效地改善由冷冻面团制成的面包的质量,延缓面包的硬化程度。已有研究表明,功能性甜味剂山梨糖醇、麦芽糖醇和低聚果糖可以改善淀粉基食品的品质(彭博, 2017; 杨柳, 2016; Park, 2016),但利用低聚果糖浸渍处理提升米饭的品质相关研究较少。

因此,在本章节中,以山梨糖醇和麦芽糖醇为对照,研究了低聚果糖浸渍处理对米饭品质的影响,利用质构仪、扫描电子显微镜、差式扫描量热仪和体外模拟消化等手段,分析低聚果糖浸渍处理对米饭食用品质的影响。

2.2 实验材料、试剂及仪器

2.2.1 实验材料与试剂

实验材料:五常大米(水分 13.7%, 淀粉 64.6%)购买于江苏省南京市苏果超市;食品级低聚果糖购于河南豫中生物科技有限公司;食品级山梨糖醇购于罗盖特(中国)精细化工有限公司;食品级麦芽糖醇购于山东福田药业有限公司。

主要试剂:盐酸、醋酸、氢氧化钠、碘、碘化钾均购于国药集团化学试剂有限公司; α -淀粉酶购于索莱宝生物科技有限公司;糖化酶购于阿拉丁试剂有限公司;葡萄糖测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

2.2.2 仪器与设备

Spectra Max 190 酶标仪	美国 Molecular Devices 公司
WSYH26A 电蒸锅	美的集团股份有限公司
TA-XT2i 质构仪	英国 Stable Micro Systems 公司
HH-6 数显恒温水浴锅	江苏国华电器有限公司

DSC8000 差式扫描量热仪	美国 PerkinElmer 股份有限公司
FreeZone 12 L 真空冷冻干燥机	美国 Labconco 公司
AL1043 电子天平	瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司
TM3000 扫描电子显微镜	日本 Hitachi 公司
DSC8000 差式扫描量热仪	美国 PerkinElmer 股份有限公司

2.3 试验方法

2.3.1 大米浸泡吸水率的测定

所用的浓度比例是基于前期对低聚果糖、麦芽糖醇和山梨糖醇浓度梯度进行预实验,结果表明低聚果糖浓度在 0.8-2.4%,麦芽糖醇和山梨糖醇浓度在 0.4-1.6% 对大米吸水率、米饭硬度值有显著差异。并且低聚果糖浸渍处理及其添加量符合“卫生部关于批准菊粉、多聚果糖为新资源食品的公告(2009 年第 5 号)”,《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》(GB 14880)、《食品安全 国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760)等法规标准。将 50 mL 超纯水加入到 100 mL 烧杯中,分别加入 0.8%、1.6%、2.4%低聚果糖,0.4%、0.8%、1.6%山梨糖醇和 0.4%、0.8%、1.6%麦芽糖醇(以大米质量为基准的百分浓度)形成不同浓度的溶液,放入水浴锅中保持 25 °C 恒温。称取约 20 g(精确到 0.001 g)的大米 m_1 进行浸泡,浸泡 5、15、25、35 min 后取出,吸干表面水分,称重记为 m_2 (Miwa, 2002)。按照下列公式(1)计算大米浸泡吸水率:

$$\text{浸泡吸水率}(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

式中: m_1 为称取大米的质量/g; m_2 为浸泡后大米的质量/g。

2.3.2 米饭样品的制备

米饭蒸煮的方法参考樊奇良(2015)的方法,并稍作调整。大米 50 g 淘洗后沥干,加入配置好的以大米质量为基准的不同百分浓度低聚果糖、山梨糖醇和麦芽糖醇溶液 70 mL,米水比(w/w)为 1:1.4,在 25 °C 条件下浸渍 30 min。然后一同进行蒸煮 35 min,得到样品备用。

工艺流程为:

原料大米→淘洗→加水量为米水比 1: 1.4 (w/w),加入添加剂溶解,制成浸泡液(以大米质量为基准的百分浓度)→浸泡(30 min)→蒸制(35 min)

2.3.3 直链淀粉比例测定

将熟米饭进行真空冷冻干燥后磨成粉。在 100 mL 锥形瓶中分别加入 100 ± 0.5 mg 直链淀粉、支链淀粉的标准样品和测定样品，用移液枪取 1.0 mL 95%乙醇溶液加入后，在涡旋仪上混匀。再取 9.0 mL 1 N NaOH，进行轻轻摇晃，使分散。将上述标准液和样品液在室温下放置 10 min，然后在 100 mL 水浴锅中水浴 10 min，结束后在室温下放置至少 2 h，冷却至室温。将冷却后的标准液和样品液转移至 100 mL 容量瓶中，定容。分别取 5.0 mL 系列标准液、样品液至 100 mL 容量瓶中，再加入 1 mL 1N 乙酸和 2 mL 碘液，定容，在常温下避光静置 30 min。利用酶标仪在 620 nm 处读取吸光值（AACC61-03, 2000）。

2.3.4 米饭感官评定

参照 GB/T15682-2008 制定感官评价表如表 2.1 所示。挑选经过专业培训的 10 名食品专业的学生作为评价员，独立对新鲜米饭和冷藏 24 h 后再加热的米饭进行品评，根据下表进行打分。感官评分过程中，分值越高则代表该指标属性越好，更符合人的口感标准。

表 2.1 米饭感官评价表

评分指标	分值	评价标准	评分分数
气味	20	米饭香气浓郁	18-20
		米饭香气正常	13-17
		米饭香气不明显	7-12
		无米饭香气	0-6
外观结构	颜色	颜色洁白均一	8-10
		颜色正常	4-7
		颜色发暗	0-3
	光泽	有明显光泽	8-10
		略有光泽	4-7
		无光泽	0-3
	米粒外观	完整饱满	8-10
		部分不完整	4-7
		细碎，不完整	0-3
适口性	粘性	质地均匀，粘度合适	8-10
		略有粘结成团，略粘牙或者比较松散，粘性不大	4-7
		粘结成团，粘性过大或者无粘性	0-3
		有一定弹性和咀嚼性	8-10
	弹性	略有弹性	4-7
		无弹性	0-3
	硬度	软硬适中，口感好	8-10

滋味	20	较硬或者较软	4-7
		过硬或者过软	0-3
		咀嚼时，甜味正常	18-20
		咀嚼时，甜味较淡	13-17
		咀嚼时，甜味较浓	7-12
		咀嚼时，无甜味	0-6
		总分	100

2.3.5 不同放置时间下米饭硬度的测定

利用质构分析仪 TPA 模式 (texture profile analysis) 测定在 4 °C 下冷藏不同时间 0 h、12 h、24 h 后的米饭硬度, 分析不同浸渍处理对米饭的回生程度。质构仪参数为, 测前速度: 5 mm/s, 测定速度: 0.5 mm/s, 测后速度: 5 mm/s, 触发力: 5 g, 两次压缩间隔时间: 5 s, 压缩程度: 75%, 探头型号: P/36R。

2.3.6 热特性的测定

将大米粉碎得到生米粉, 称取一定质量的生米粉, 加入三倍的水, 然后分别加入以生米粉干重为基准不同浓度的低聚果糖、山梨糖醇和麦芽糖醇。然后搅拌 2 h, 通过移液枪快速转移处于搅拌状态的样品 12 mg 于 DSC 铝盘中, 在 4 °C 下平衡过夜, 利用差式扫描量热仪进行测定。扫描温度从 20 °C 到 95 °C, 升温速率为 20 °C/min, 然后再冷却到 20 °C。

2.3.7 米饭微观结构观察

利用扫描电子显微镜观察米饭的微观结构。将真空冷冻干燥后的样品粘贴在专用铝载物台上, 对粘贴好的样品进行喷金, 测定。

2.3.8 米饭体外消化

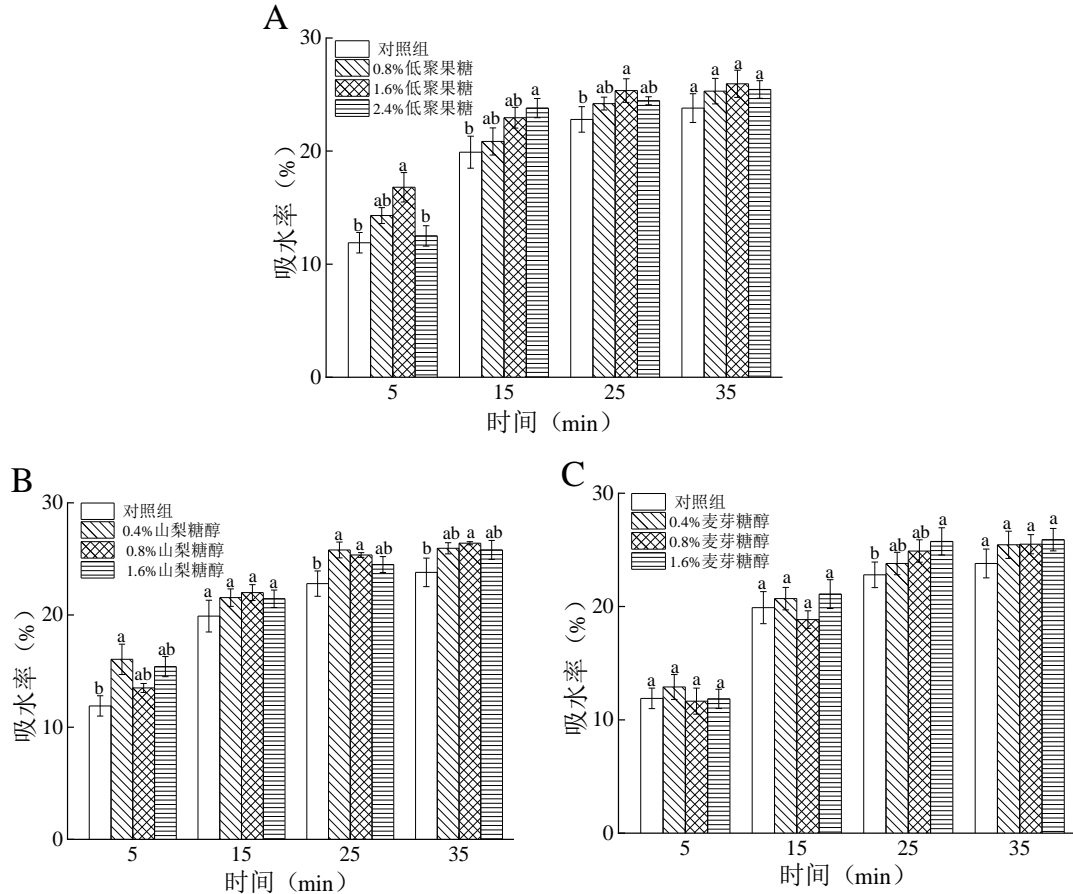
参照 Englyst (1992) 的方法并稍作调整, 称取米饭 0.4 g 加入 15 mL 0.5 mol/L pH 5.2 的醋酸缓冲液, 加入 10 mL α -淀粉酶 (290 U/mL) 和糖化酶 (15 U/mL) 混酶溶液, 在 37 °C, 200 r/min 的震荡水浴锅中进行震荡。当 10、20、30、60、90、120、180 min 时, 用移液枪分别吸取 0.5 mL, 加入 4 mL 无水乙醇, 3000 r/min 离心 10 min, 利用葡萄糖测定试剂盒测定葡萄糖含量。

2.3.9 数据分析

所有的实验都至少重复三次。利用 Origin 8.5 软件对数据进行处理并作图, 利用 SPSS 25 软件 Duncan 检验对数据进行统计分析, $P < 0.05$ 表示数据具有显著性差异。

2.4 结果与分析

2.4.1 低聚果糖对大米浸泡吸水率的影响



注：不同字母表示同一种改良剂在浸泡相同时间下的浸泡吸水率具有显著差异 ($P < 0.05$)

图 2.1 不同浸渍处理对大米吸水率的影响

Fig. 2.1 Effect of different impregnation treatments on water absorption of rice

大米在蒸煮之前通过浸泡处理，能够让米粒吸水膨胀，有利于内部淀粉吸收水分和蒸煮过程淀粉的均一糊化（邓灵珠, 2012）。大米的浸泡吸水率越高，蒸煮后米饭的食用品质越高。将大米分别浸泡在不同浓度低聚果糖、山梨糖醇和麦芽糖醇溶液中，通过计算得到的浸泡吸水率见图 2.1。由图可知，与对照组相比，低聚果糖、麦芽糖醇和山梨糖醇的添加均能提高大米的浸泡吸水率。在浸泡 5 min 后，1.6%低聚果糖和 0.4%山梨糖醇浸渍处理组的大米浸泡吸水率显著提高 ($P < 0.05$)。在浸泡 25 min 后，与对照组相比，1.6%低聚果糖、0.4%山梨糖醇和 1.6%麦芽糖醇浸渍处理组的大米浸泡吸水率分别显著提高 11.18%、13.16%、12.94% ($P < 0.05$)。随着米粒吸水膨胀，大米表面缝隙增多，内部淀粉快速吸收水分，水分在大米内部达到饱和，浸泡吸水率趋于稳定。糖醇和低聚果糖都具有多羟基

结构，具有很强的与水结合的能力，能够随着水分渗透到淀粉颗粒的内部，帮助大米吸收更多的水分子，提高大米的浸泡吸水率，有利于改善蒸煮后米饭的食用品质。

2.4.2 低聚果糖对米饭中直链淀粉比例的影响

大米中直链淀粉和支链淀粉的含量能够影响大米蒸煮后的食用品质（卢毅, 2018），比如米饭的硬度、弹性和黏性等。大米中直链淀粉含量高，蒸煮后米饭较硬，而直链淀粉含量低的大米，蒸煮后米饭软硬适中，品质较好。不同浸渍处理对米饭中直链淀粉的影响如图 2.2 所示，与对照组相比，0.8%和 1.6%低聚果糖浸渍处理组米饭中直链淀粉比例显著降低（ $P<0.05$ ），分别降低了 8.50%和 7.36%。低聚果糖的添加提高了大米的吸水率，使水分在大米内部分散均匀，在糊化过程中形成较多的网络结构，使得有更多的直链淀粉溶出（杨柳, 2017），导致米饭中直链淀粉含量降低，有利于降低米饭的硬度和食用品质（Lee, 2016）。

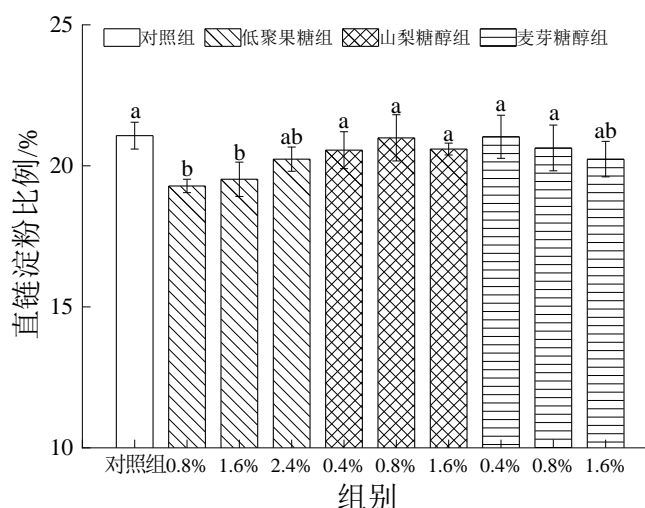


图 2.2 不同浸渍处理对米饭中直链淀粉比例的影响

Fig. 2.2 Effects of different impregnation treatments on the ratio of amylose in rice

注：不同小写字母代表具有显著性差异（ $P<0.05$ ）

2.4.3 低聚果糖对米饭感官评价的影响

表 2.2 新鲜米饭的感官评定结果

Table 2.2 Sensory evaluation of fresh cooked rice

项目	气味	外观结构			滋味	适口性			总分
		颜色	光泽	米粒外观		粘性	弹性	硬度	
对照组	13.00±1.85	8.00±1.07	7.00±1.20	7.88±1.25	15.75±1.75	7.00±1.41	7.13±0.64	6.75±0.89	72.50±2.93cd
0.8%低聚果糖	14.88±1.96	8.25±0.71	7.63±1.69	7.63±1.19	17.38±1.85	7.50±0.93	7.50±1.20	7.50±1.85	78.25±5.65ab
1.6%低聚果糖	15.50±1.69	8.00±0.76	8.00±1.51	8.13±0.99	18.13±0.83	7.88±0.99	8.38±0.92	7.75±1.39	81.75±5.06a
2.4%低聚果糖	15.63±1.30	8.25±1.39	7.75±1.16	8.50±1.20	17.13±1.55	8.00±1.07	8.00±0.76	7.88±1.13	81.13±4.97ab
0.4%山梨糖醇	12.88±1.55	8.50±1.2	7.63±1.60	7.25±1.58	15.00±2.07	6.50±1.20	7.25±1.39	7.38±1.41	72.38±6.86cd
0.8%山梨糖醇	15.13±1.25	8.13±0.83	7.13±1.55	8.00±0.76	14.88±2.10	7.38±0.92	7.88±1.46	7.38±1.19	75.88±4.29bcd
1.6%山梨糖醇	15.25±1.58	8.13±0.64	7.50±1.51	7.63±0.92	16.25±1.83	6.75±1.91	7.75±0.46	7.75±1.04	77.00±4.28abc
0.4%麦芽糖醇	14.38±1.77	8.50±0.76	8.13±1.25	8.50±1.31	15.25±1.83	7.50±1.41	7.75±1.39	7.13±1.36	77.13±5.67abc
0.8%麦芽糖醇	12.88±1.96	7.63±1.41	7.25±1.67	8.00±1.20	14.00±2.73	6.75±1.16	7.63±1.06	6.88±0.99	71.00±4.78d
1.6%麦芽糖醇	12.50±1.93	8.00±1.07	7.13±0.83	7.63±1.30	14.63±2.39	7.13±1.36	7.63±0.74	7.75±0.89	72.38±5.07cd

注：不同小写字母代表具有显著性差异（ $P<0.05$ ）

表 2.3 冷藏 24 h 后复热米饭的感官评定结果

Table 2.3 Sensory evaluation of cooked rice reheated after 24h cold storage

项目	气味	外观结构			滋味	适口性			总分
		颜色	光泽	米粒外观		粘性	弹性	硬度	
对照组	11.88±1.46	6.63±1.06	6.50±0.93	6.75±0.89	15.50±1.77	6.00±1.07	5.63±0.92	6.88±1.13	65.75±3.54e
0.8%低聚果糖	15.38±0.92	7.25±0.71	7.63±0.74	7.50±0.76	16.75±1.04	7.25±1.04	6.75±1.16	7.38±0.74	75.88±3.40abc
1.6%低聚果糖	15.50±0.93	7.75±1.04	7.88±0.64	7.63±0.52	16.75±1.16	7.13±1.13	6.88±0.99	7.25±1.04	76.75±2.82a
2.4%低聚果糖	15.88±0.99	7.63±0.52	7.75±0.71	7.50±0.53	16.88±0.83	7.00±1.07	6.50±0.93	7.13±1.13	76.25±2.38ab
0.4%山梨糖醇	14.50±1.41	7.38±1.19	7.13±1.13	7.13±1.36	15.63±0.74	6.00±1.20	5.50±0.53	6.38±1.19	69.63±4.27de
0.8%山梨糖醇	13.88±1.36	7.75±0.89	7.38±1.19	7.13±1.46	15.88±1.89	6.63±1.19	6.88±1.64	6.75±1.16	72.25±6.61bcd
1.6%山梨糖醇	14.13±1.13	7.25±0.89	7.50±0.53	7.25±0.71	15.63±1.19	7.00±0.76	6.13±1.36	6.88±0.83	71.75±4.10cd
0.4%麦芽糖醇	12.75±1.98	7.00±0.93	7.25±0.46	7.50±1.07	15.25±1.04	6.63±0.92	6.50±1.31	6.38±1.60	69.13±4.12de
0.8%麦芽糖醇	12.75±0.89	7.63±1.30	7.13±1.13	7.63±0.74	15.38±1.69	6.75±0.89	6.25±1.49	6.88±1.36	70.38±4.84d
1.6%麦芽糖醇	15.50±1.77	7.00±0.76	6.63±1.06	7.00±1.20	15.75±1.16	6.13±0.64	6.00±0.53	5.88±0.83	69.88±3.68de

注：不同小写字母代表具有显著性差异（ $P<0.05$ ）

为了进一步分析米饭食用品质, 针对米饭的气味、颜色、光泽、米粒外观、粘性、弹性、硬度、滋味等方面进行感官评价。新鲜米饭的感官评分结果如表 2.2 所示。经过不同浸渍处理后的米饭对感官评分结构有很大的影响, 在低聚果糖浸渍处理下新鲜米饭的气味、外观、滋味和适口性分值较高, 总分较其他组显著提高 ($P<0.05$), 说明低聚果糖的添加使得米饭香味较浓郁, 米粒外观表现和适口性提高。与对照组相比, 浸渍处理组的米饭咀嚼时口感较好, 甜味正常, 表明添加这三种改良剂不影响米饭正常的味道。

将煮熟的米饭在 4°C 下冷藏 24 h, 然后对其复热, 再次进行感官评定, 结果如表 2.3 所示。经过冷藏后的米饭在颜色、粘性、弹性、硬度等指标与新鲜米粉相比差异较为突出, 和总分值均发生不同程度下降, 说明冷藏过程中米饭发生回生现象, 显著影响米饭的感官品质。其中, 在低聚果糖浸渍处理下总分显著高于对照组 ($P<0.05$), 说明低聚果糖的添加延缓了米饭的回生, 提高了米饭的食用品质。

2.4.4 低聚果糖对不同冷藏时间米饭硬度的影响

大米糊化后极易发生回生现象, 导致米饭的硬度增加, 食用品质降低 (夏青, 2018)。而在温度为 4°C 下冷藏 24 h 内, 米饭发生回生速度最快 (Sitakalin, 2000), 而米饭的硬度可以直接反映出米饭的回生程度。图 2.3 是在 4°C 冷藏条件下, 不同浸渍处理后米饭在 24 h 内硬度的变化。由图可知, 在冷藏 0 h 时, 各组米饭硬度值没有明显差异。随着冷藏时间的延长, 对照组硬度值迅速增加。冷藏 24 h 后, 对照组硬度值显著高于浸渍处理组 ($P<0.05$), 表明三种浸渍处理均能延缓米饭硬化速度, 降低米饭的回生程度。而低聚果糖浸渍处理组在冷藏过程中米饭的硬度值上升速度较慢。其中, 1.6% 低聚果糖浸渍处理下米饭硬度值显著降低 ($P<0.05$), 比对照组降低 21.79%。糖醇和低聚果糖都是多羟基结构, 能够与水分子通过氢键发生相互作用, 提高米饭整体的保水性, 达到延缓米饭回生的效果 (刘莉, 2013)。

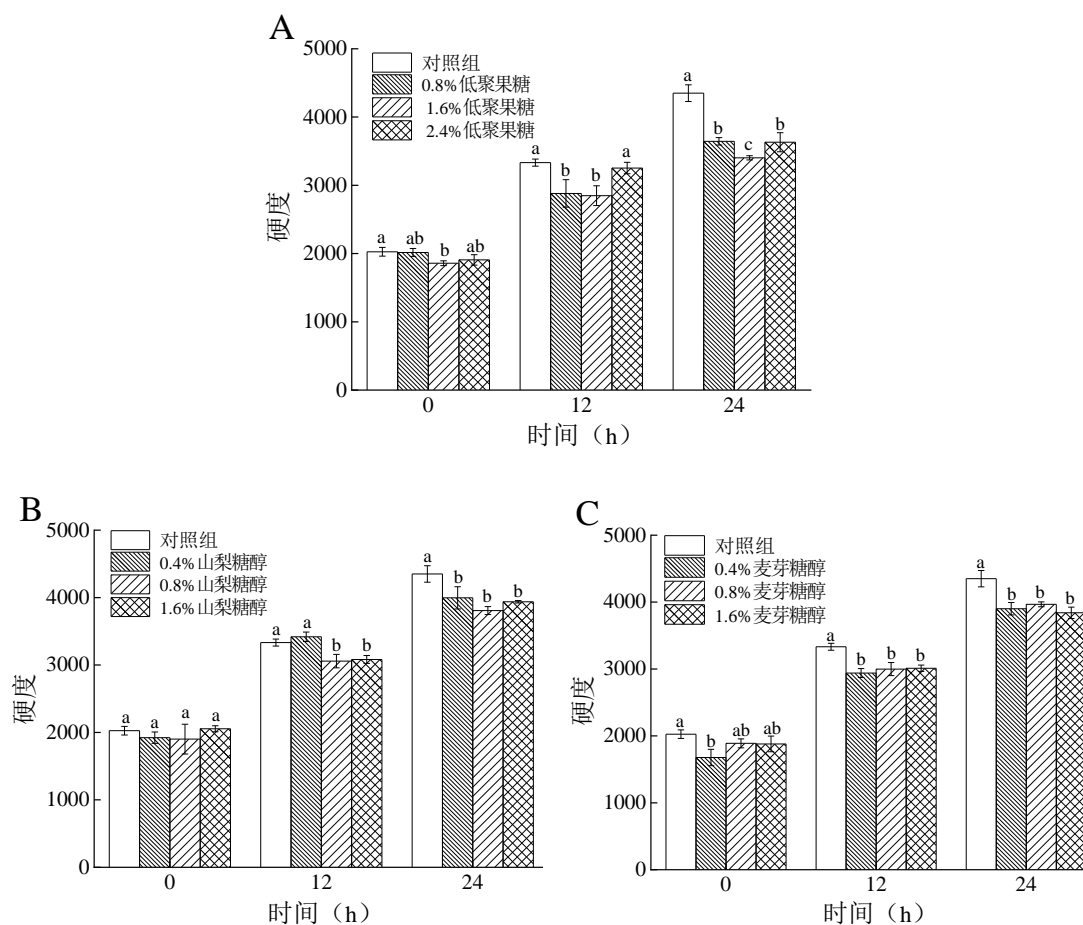


图 2.3 不同浸渍处理对米饭放置 24 h 内硬度变化

Fig. 2.3 The hardness changes of cooked rice with different impregnation treatments within 24 h.

注：不同字母表示同一种改良剂在放置相同时间下的硬度具有显著差异 ($P < 0.05$)

2.4.5 低聚果糖对样品热力学性质的影响

淀粉分子受热发生扩散，导致氢键断裂，在这个糊化过程中伴有能量变化，利用差示量热扫描仪对糊化过程进行测定。表 2-4 为不同浸渍处理后对样品热力学性质的影响。由表中可以看出，与对照组相比，低聚果糖浸渍处理组和山梨糖醇处理组的糊化温度 (T_0) 和峰值温度 (T_p) 显著升高 ($P < 0.05$)，最终温度 (T_c) 没有显著变化。淀粉颗粒大小、晶体结构、淀粉颗粒的形态及分布等均能影响糊化温度 (Li, 2017)。这些改良剂与淀粉分子竞争水分子，降低了体系中的自由水含量，从而影响了淀粉分子的溶胀，抑制淀粉糊化，提高整个体系的稳定性，导致糊化温度增加 (Biliaderis, 2006)。糊化焓 (ΔH) 是淀粉在糊化过程中双螺旋结构解聚和熔融所需的能量 (Ratnayake, 2001)，它受淀粉颗粒溶胀、微晶区熔融、分子链的重排和水合作用影响。与对照组、山梨糖醇浸渍处理组和麦芽糖醇浸渍

处理组相比, 不同浓度低聚果糖浸渍处理组的 ΔH 值显著降低 ($P<0.05$), 这可能是由于体系中水的可用性降低, 导致淀粉颗粒结晶区域部分糊化 (Chaisawang, 2006)。

表 2.4 低聚果糖、山梨糖醇和麦芽糖醇的添加对样品的热力学性质

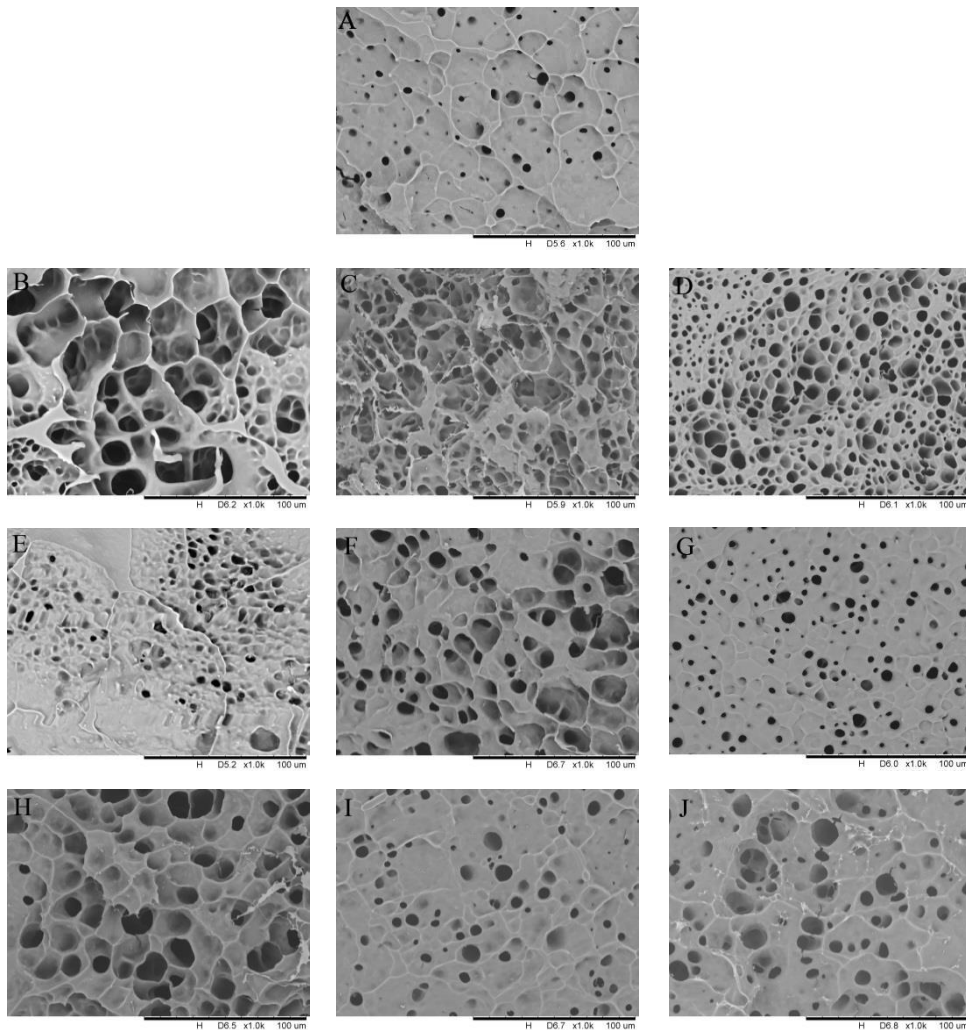
Table 2.4 Changes of thermal properties of samples added with fructo-oligosaccharide, sorbitol and maltitol

组别	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔH (J/g)
对照组	65.97±0.96c	70.87±1.29b	76.11±1.23b	6.94±0.80a
0.8%低聚果糖	68.04±0.53a	72.77±0.03a	77.01±0.09ab	5.56±0.66b
1.6%低聚果糖	67.62±0.06a	72.61±0.48a	77.19±0.53ab	5.35±0.43b
2.4%低聚果糖	67.77±0.44a	72.58±0.22a	76.90±0.19ab	5.13±0.79b
0.4%山梨糖醇	67.42±0.07ab	72.06±0.28a	76.76±0.86ab	6.30±0.36ab
0.8%山梨糖醇	67.33±0.14ab	72.48±0.21a	77.33±0.16a	6.06±0.11ab
1.6%山梨糖醇	67.16±0.11ab	72.24±0.18a	76.46±0.33ab	5.71±0.14ab
0.4%麦芽糖醇	67.85±0.73a	72.37±0.11a	76.81±0.03ab	6.03±0.14ab
0.8%麦芽糖醇	66.18±0.56bc	72.28±0.23a	76.46±0.36ab	7.01±0.20a
1.6%麦芽糖醇	66.99±0.83abc	72.45±0.27a	76.89±0.60ab	6.34±0.82ab

注: 每一列中的不同小写字母代表其有差异性 ($P<0.05$)。

2.4.6 低聚果糖对米饭微观结构的影响

图2.4显示了低聚果糖、山梨糖醇和麦芽糖醇浸渍处理对米饭微观结构的变化, 表现出不同等级的孔隙结构。图2.4 A为对照组, 孔隙较为稀疏。图2.4 B-D 对应不同浓度低聚果糖浸渍处理后的米饭截面微观结构, 结果表明, 该浸渍处理条件下的米饭表面孔隙致密均匀, 有利于提高干燥米饭的复水率, 缩短复水时间。复水是指在冻干过程中形成蜂窝状的孔隙结构, 遇水后迅速吸水, 孔隙越大, 吸水回复的速度越快 (李建芳, 2009)。图2.4 E-G和H-J分别为不同浓度山梨糖醇和麦芽糖醇浸渍处理后的米饭截面微观结构, 可以观察到有少量的孔隙。与对照组和其他浸渍处理组相比, 低聚果糖浸渍处理组表现出更多孔致密的结构。通过对大米进行不同的浸渍处理, 经过蒸煮后显著增加了米饭孔洞数量, 有利于提高干燥米饭复水率, 提高复水米饭的食用品质。



A: 空白对照组; B: 0.8%低聚果糖; C: 1.6%低聚果糖; D: 2.4%低聚果糖; E: 0.4%山梨糖醇; F: 0.8%山梨糖醇; G: 1.6%山梨糖醇; H: 0.4%麦芽糖醇; I: 0.8%麦芽糖醇; J: 1.6%麦芽糖醇

图 2.4 不同浸渍处理对米饭截面微观结构的变化

Fig. 2.4 Changes of microstructure of rice with different impregnation treatments

2.4.7 低聚果糖对米饭体外消化的影响

图 2.5 显示了不同浸渍处理对米饭体外消化水解率的影响。由图中可以看出，米饭在最初的 30 min 内迅速水解，而后速度变慢。与对照组相比，低聚果糖、山梨糖醇和麦芽糖醇浸渍处理组的体外消化水解率均有所降低。影响淀粉消化的因素很多，如淀粉的分子结构和添加改良剂的种类等(Bai, 2017; Ishwarya, 2013; Zhang, 2006)。低聚果糖、山梨糖醇和麦芽糖醇可能与淀粉分子发生相互作用在

淀粉颗粒周围形成了屏障，延缓了淀粉的水解（Brennan, 2004）。体外消化水解率越低，表明米饭含有抗性淀粉含量越多。

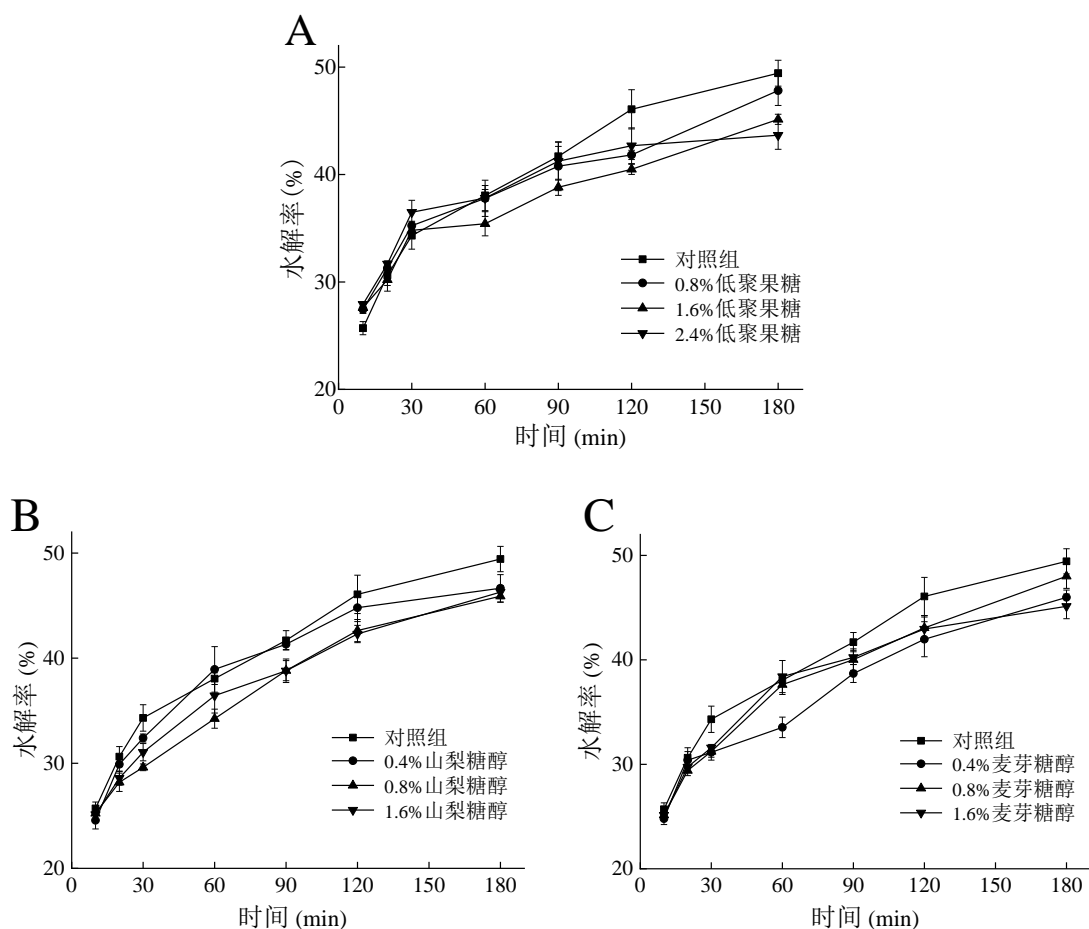


图 2.5 不同浸渍处理对米饭的体外消化水解率

Fig. 2.5 In vitro starch hydrolysis rate of rice samples with different impregnation treatments

2.5 本章总结

本章以山梨糖醇和麦芽糖醇为对照，研究了低聚果糖浸渍处理对米饭食用品质、抗回生效果和消化特性的影响，主要结论如下：

1. 低聚果糖浸渍处理能够提高大米的吸水率，降低米饭中直链淀粉比例米饭和 ΔH 值，并形成均匀致密的孔状结构。感官评分表明添加低聚果糖的新鲜米饭气味、外观、滋味和适口性分值较高。其中在 1.6% 低聚果糖浸渍处理下，总分与其他组相比显著提高，有利于提高米饭的食用品质。

2. 在米饭冷藏 24 h 后，低聚果糖浸渍处理组的米饭硬度与对照组相比显著降低，冷藏后复热米饭的感官评分显著提高。其中 1.6% 低聚果糖浸渍处理下，米饭的硬度显著降低，有利于提高米饭的抗回生能力。

3. 低聚果糖浸渍处理组的体外消化水解率均低于对照组，表明低聚果糖浸渍处理可能延缓米饭的体外消化速率。

第三章 低聚果糖对大米淀粉回生特性的影响

3.1 前言

大米淀粉是大米的主要成分, 约占大米干重的 90% (Amagliani, 2016)。目前, 国内市售方便米饭存在复水性差、易回生、口感差等一系列的问题, 而大米熟制后中淀粉快速回生是造成这些问题的根本原因。回生导致了米饭、饭团等淀粉基食品在熟制加工过程和储藏过程中变硬、干缩等问题, 严重影响了口感和保质期 (Karim, 2009), 是限制方便米饭产业发展的瓶颈问题。因此, 提升大米淀粉抗回生性能对方便米饭的品质改善具有重要意义。而传统淀粉改良方法如通过化学修饰 (孙福生, 2017), 酶处理 (王玉娟, 2017) 和淀粉改良剂 (曾思敏, 2018) 等都存在安全性较低、易产生毒性 (吴跃, 2011) 或破坏产品原有味道和营养等问题 (Palacios, 2004)。然而, 具有生物活性的功能性亲水胶体对大米淀粉抗回生性方面关注较少。我们前期发现经过低聚果糖浸渍处理能够显著改善米饭的食用品质、抗回生能力和消化特性, 有效提升了米饭适口性。然而, FOS 改善大米淀粉抗回生能力需进一步研究。

本章以广泛报道抗回生改良剂 β -环糊精 (β -CD) (田耀旗, 2008; Tian, 2009) 为对照, 探讨低聚果糖对大米淀粉短期回生的影响, 利用快速粘度分析、动态流变学、质构仪、低场核磁共振、傅立叶变换红外光谱、X 射线衍射光谱、扫描电镜和激光共聚焦扫描显微镜分析了低聚果糖对大米淀粉回生值、动态流变学、分子结构、晶体结构和微观结构等的影响, 明确 FOS 处理对大米淀粉延缓回生作用, 从而为以淀粉为主要成分的快捷、营养方便食品的开发和品质提升提供理论依据。

3.2 实验材料、试剂及仪器

3.2.1 实验材料与试剂

实验材料: 大米淀粉 (RS, 水分 7.52%, 直链淀粉含量 32.4%) 由安徽顺鑫晟源生物食品有限公司提供; β -环糊精 (β -CD, 纯度 97%) 购自索莱宝生物科技有限公司; 低聚果糖 (FOS, 纯度 95%) 购自中国上海源业生物科技有限公司。

主要试剂: 三氯乙酸、氢氧化钠、碘、碘化钾均购自国药集团化学试剂有限公司; 异硫氰酸荧光素和罗丹明 B 均购自上海麦克林生化科技有限公司。

3.2.2 主要仪器

RVA 快速黏度分析仪	澳大利亚 Newport Scientific 仪器公司
FreeZone 12 L 真空冷冻干燥机	美国 Labconco 公司
AL1043 电子天平	AL1043 电子天平
DELTA320 型 pH 计	Mettler Toledo 公司
Allegra 64R 台式离心机	美国贝克曼公司
HH-6 数显恒温水浴锅	江苏国华电器有限公司
Spectra Max 190 酶标仪	美国 Molecular Devices 公司
TA-XT2i 质构仪	英国 Stable Micro Systems 公司
MCR302 旋转流变仪	奥地利安东帕公司
TENSOR 27 型傅里叶变换红外光谱仪	德国 BRUKER 公司
NMI20-Analyst 核磁共振成像分析仪	上海纽迈电子科技有限公司
TM3000 扫描电子显微镜	日本 Hitachi 公司
Smartlab SE X-射线衍射仪	日本 Rigaku Smartlab 公司
MilliQ 超纯水仪	密理博中国有限公司
Ultra VIEW Vox 激光共聚焦显微镜	美国 PerkinElmer 公司

3.3 试验方法

3.3.1 RVA 测定

采用 RVA 快速粘度分析仪制备样品。根据前期对 FOS 添加量的研究,将 1.6% 大米淀粉质量的 FOS 和 β -CD 分别溶解于 25 mL 蒸馏水中,和 3 g 大米淀粉在 RVA 铝容器混合、搅拌,制成淀粉匀浆,进行糊化特性的测定。程序为:在 50 °C 下保持 1 min,然后升温到 95 °C 下保持 2 min 后,冷却到 50 °C 在保持 2 min。试验过程中,塑料叶片转速始终保持在 160 r/min。RS 为大米淀粉样品, FOS-RS 为添加低聚果糖的大米淀粉样品, β -CD-RS 为添加 β -环糊精的大米淀粉样品。

3.3.2 析水率测定

将 1.6%大米淀粉质量的 FOS 和 β -CD 分别溶解于 30 mL 蒸馏水中,加入 3 g 大米淀粉,充分分散后加热制成糊以后,在 4 °C 下冷藏 4 h。参考郑明静(2019)的方法,分析不同处理大米淀粉在回生后样品析水率,回生样品经过 10000 r/min 离心 15 min 后,计算上清液占样品总重量的百分比。按照下列公式(1)计算样

品析水率:

$$\text{析水率}(\%) = \frac{M_2}{M_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: M_2 为样品离心后的上清液/g; M_1 为离心前样品总重量/g。

3.3.3 渗漏直链淀粉含量的测定

取 3.3.2 中离心后的一定质量上清液, 加入 0.33 mol/L 的 NaOH 6 mL 并在 95 °C 加热 30 min。取加热后的溶液 0.1 mL, 加入 0.5% 三氯乙酸 (5 mL) 调节 pH 值在 5.5 左右, 再用 0.01 N 的 I_2 -KI 溶液显色 (0.05 mL), 避光静置 30 min, 利用酶标仪在测定样品在 620 nm 下的吸光值, 用蒸馏水作对照。取直链淀粉标品配置系列浓度, 重复上述操作制作标准曲线。通过计算得出上清液中的直链淀粉含量, 然后除以大米原淀粉重量, 计算出渗漏的直链淀粉含量 (Chen, 2014)。

3.3.4 硬度测定

将 RVA 测定后的淀粉糊在 4 °C 冷藏 4 h 后得到回生样品, 回生样品的硬度通过 TA-XT2i 质构仪进行测定。测定条件为 TPA 模式, 探头为 P/50, 测试前速度、测试中速度和测试后速度分别为 1.5 mm/s、1.0 mm/s 和 1.0 mm/s, 压缩比为 40%。

3.3.5 动态流变分析

对回生样品进行动态流变特性测试。实验条件为在温度 25 °C 的 6 cm 的平板夹、板间距 500 μ m 以及应变值 1% 条件下, 对样品进行动态频率为 0.1-10 Hz 范围扫描, 测定不同处理对大米淀粉的储能模量 G' 、损耗模量 G'' 的变化。

3.3.6 红外光谱分析

回生样品经真空冷冻干燥后磨成粉末, 与光谱纯溴化钾按 1:100 (w/w) 的比例混合, 然后在玛瑙研钵中研磨至无颗粒感, 时间约 5 min。先通过真空压片机对样品进行压片, 然后进行测定。测定参数: 扫描波长为 400-4000 cm^{-1} , 分辨率为 4 cm^{-1} 。结果利用 OMNIC 软件分析, 通过傅里叶自去卷积处理测定淀粉的短程有序性。

3.3.7 低场核磁共振测定

采用低场核磁共振技术测定回生样品的水分分布。采用 Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) 序列, 在 23 MHz 和 25 °C 条件下进行 SIRT 反演。采

集参数为谱宽 200.000 kHz, 扫描次数 8 次。共采集 8000 个回波进行分析, 实验平行重复 3 次。

3.3.8 微观结构分析

将回生样品通过真空冷冻干燥机进行干燥处理, 对干样品固定并喷金, 然后进行分析。

3.3.9 X 射线衍射分析

利用 X 射线衍射仪 (XRD) 对样品进行晶体结构的测定。按照 3.3.7 的方法制备样品粉末。测试参数: 扫描角度为 $5-40^{\circ}$, 扫描速度为 $2^{\circ}/\text{min}$ 。采用 MDI Jade V6.0 软件计算回生样品的相对结晶度。

3.3.10 激光共聚焦扫描显微镜分析

利用激光共聚焦显微镜测定回生样品的淀粉网络分布。将两种类型的荧光染料异硫氰酸荧光素 ($20\ \mu\text{L}$, $2\ \text{mg/mL}$) 和若丹明 B ($20\ \mu\text{L}$, $2\ \text{mg/mL}$) 与回生样品混合 ($500\ \mu\text{L}$) 染色 20 min 后进行观察。扫描条件: 激发波长 488 nm, 发射波长为 543 nm, 以 100 倍的倍数采集图像。

3.3.11 数据分析

所有的实验都至少重复三次。利用 Origin 8.5 软件对数据进行处理并作图, 利用 SPSS 25 软件 Duncan 检验对数据进行统计分析, $P<0.05$ 表示数据具有显著性差异。

3.4 结果与分析

3.4.1 低聚果糖对大米淀粉粘度的影响

利用 RVA 快速粘度仪分析不同处理后大米淀粉在加热和冷却过程中粘度的变化。从表 3.1 和图 3.1 可以看出, 与 RS 相比, FOS-RS 和 β -CD-RS 均显著降低了峰值粘度、谷值粘度、终值粘度和回生值 ($P<0.05$)。淀粉糊在冷却过程中, 淀粉中的直链淀粉和支链淀粉分子间通过氢键结合, 重新进行有序排列, 形成较为稳定的三维结构。淀粉糊冷却期间粘度上升越快, 越容易发生短期回生 (李云, 2017)。而回生值为 RVA 糊化曲线上终值粘度与谷值粘度的差值, 回生值越高表明短期回生的程度越高, 与冷却过程中糊化淀粉分子特别是直链淀粉的再结合程度更加密切 (Tang, 2013)。与 RS 相比, FOS-RS 和 β -CD-RS 的峰值粘度、谷

值粘度、终值粘度和回生值显著降低说明经过处理能够显著降低大米淀粉糊化后的回生程度。这是由于 β -CD 和 FOS 分子在淀粉周围形成水合层限制了直链淀粉分子的重排，稳定了短期储藏过程中的产物，在一定程度上减少直链淀粉分子之间的相互作用（赵琳琳, 2015；Long, 2018）。

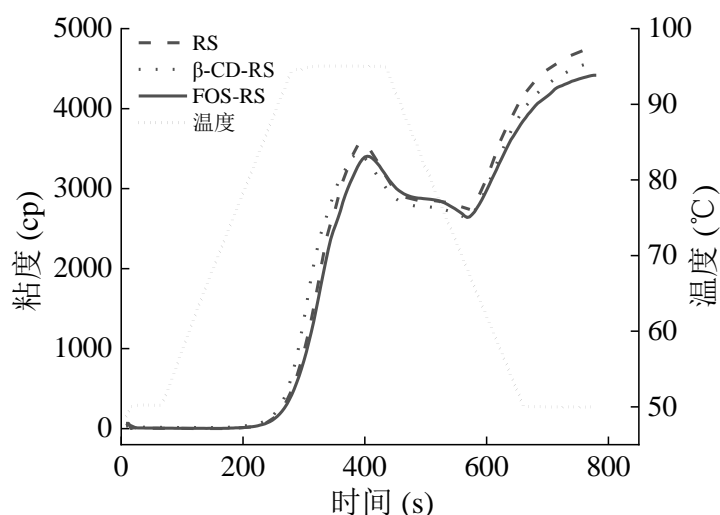


图 3.1 不同处理对大米淀粉的粘度变化的影响

Fig. 3.1 Effect of different treatments on viscosity change of rice starch

注：RS 为大米淀粉样品，FOS-RS 为添加低聚果糖的大米淀粉样品， β -CD-RS 为添加 β -环糊精的大米淀粉样品。

表 3.1 不同处理对大米淀粉的 RVA 参数的影响

Table 3.1 Effects of different treatments on RVA parameters of rice starch

样品	峰值粘度 (cP)	谷值黏度 (cP)	崩解值 (cP)	终值粘度 (cP)	回生值 (cP)
RS	3540±35a	2737±18a	804±39a	4849±165a	2112±161a
β -CD-RS	3419±23b	2641±17b	778±20a	4518±63b	1877±67ab
FOS-RS	3386±28b	2637±19b	749±23a	4436±25b	1799±30b

注：RS 为大米淀粉样品，FOS-RS 为添加低聚果糖的大米淀粉样品， β -CD-RS 为添加 β -环糊精的大米淀粉样品。同一列不同小写字母表示差异性显著 ($P < 0.05$)。

3.4.2 低聚果糖对大米淀粉析水率、硬度和浸出直链淀粉含量的影响

析水率是由于淀粉凝胶离心后脱水而释放的水分量，是衡量淀粉回生程度的一个指标，能够通过凝胶中水分的析出量反映体系结构的稳定性。直链淀粉分子之间通过氢键作用相互缠绕是淀粉发生短期回生的主要原因，缠绕的程度越强，

形成的网络结构强度越强, 会导致淀粉凝胶硬度增加 (Niu, 2017)。不同处理后回生大米淀粉的析水率和硬度见表 3.2。与 RS 和 β -CD-RS 相比, FOS-RS 显著降低了析水率和硬度值 ($P<0.05$)。与 RS 相比, FOS-RS 的析水率和硬度值分别降低了 21.82%和 16.26%。说明 FOS 有利于提高大米淀粉的保水性能, 同时, 也减少了在短期回生过程直链淀粉结晶所需的水分 (张晓宇, 2012), 从而降低大米淀粉硬度, 阻碍了回生速度。

表 3.2 不同处理对大米淀粉的析水率、硬度和渗漏直链淀粉含量的影响

Table 3.2 Effect of different treatments on the syneresis rate, firmness and leached amylose content of rice starch

样品	析水率 (%)	硬度 (g)	渗漏直链淀粉含量 (mg/g)
RS	52.48 \pm 1.27a	35.36 \pm 1.25a	23.15 \pm 0.89a
β -CD-RS	44.59 \pm 0.11c	36.75 \pm 0.99a	21.33 \pm 0.60b
FOS-RS	40.96 \pm 1.10b	29.61 \pm 1.36b	18.25 \pm 0.20c

注: RS 为大米淀粉回生样品, FOS-RS 为添加低聚果糖的大米淀粉回生样品, β -CD-RS 为添加 β -环糊精的大米淀粉回生样品, 下同。同一列不同小写的样本均值差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

热处理会引起淀粉溶液中直链淀粉的渗漏, 渗漏出的直链淀粉聚集形成三维网状结构, 其在淀粉的凝胶形成和回生过程中发挥重要作用 (Bordenave, 2014)。由表 3.2 可知, 与 RS 和 β -CD-RS 相比, FOS-RS 显著降低了渗漏直链淀粉含量 ($P<0.05$)。与 RS 相比, FOS-RS 的渗漏直链淀粉含量降低了 17.25%。直链淀粉自身分子间的聚合受到干扰, 导致大米淀粉回生程度降低。FOS 与渗漏的直链淀粉分子之间的相互作用抑制了直链淀粉分子之间的结合, 从而降低了大米淀粉的直链淀粉浸出 (Li, 2017; Tang, 2013), 从而延缓了大米淀粉的回生。因此, FOS 在提高大米淀粉的保水性能、稳定性, 降低硬度和抑制直链淀粉分子之间的结合等较 β -CD 更具优势。

3.4.3 低聚果糖对大米淀粉动态流变特性的影响

动态流变学可以用来测定不同样品的黏弹性模量, 从而判断该流体的粘弹特性。其中, 储能模量 G' 能够反映样品的弹性能力, 损耗模量 G'' 能够反映样品的黏性能力。不同处理后回生大米淀粉的储能模量 G' 和损耗模量 G'' 如图 3.2 所示。由图可知, 在 0.1-10 Hz 范围内, 所有回生样品的 G' 值均比 G'' 值大, 且 G' 与 G'' 无交叉, 这些特征均表明不同处理后的回生样品均为典型的弱凝胶体系。与 RS

和 β -CD-RS 相比, FOS-RS 的 G' 模量显著下降, 表明 FOS 处理后大米淀粉体系的弹性性能减弱, 这是由于 FOS 分子与淀粉分子相互交缠并粘附到淀粉颗粒的表面, 同时阻碍了淀粉颗粒的吸水膨胀的速度, 使得浸出直链淀粉分子数量锐减, 从而降低了淀粉凝胶的 G' 值 (Nagano, 2008)。同时, 与 RS 相比, β -CD-RS 和 FOS-RS 的 G'' 降低, 黏性性质降低, 这一结果和 RVA 分析结果一致。这是由于 FOS 具有较强的亲水性, 阻碍水分子和淀粉分子之间的相互作用, 导致淀粉颗粒在淀粉糊化过程中溶胀受到阻碍, 粘度降低。此外, β -CD-RS 的 G' 和 G'' 模量在任何频率都低于 RS, 这表明 FOS 的存在干扰了直链淀粉链之间的结合 (Long, 2018), 进而能够延缓大米淀粉的短期回生。

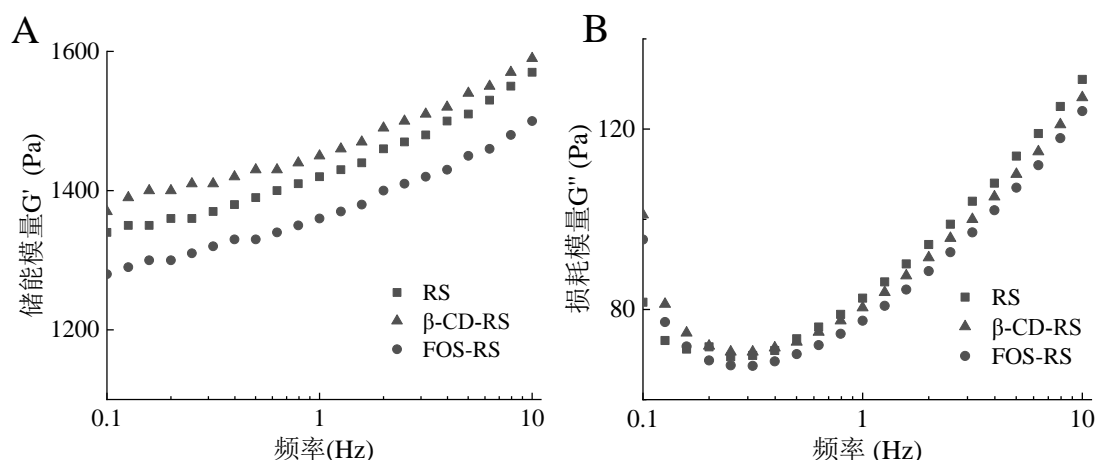


图 3.2 不同处理对大米淀粉储能模量 G' (A) 和损耗模量 G'' (B) 随频率变化的影响。

Fig. 3.2 Effects of different treatments on storage modulus G' (A) and loss modulus G'' (B) of rice starch with frequency

3.4.4 低聚果糖对大米淀粉分子结构和水分分布的影响

利用红外光谱 (FTIR) 和低场核磁 (LF-NMR) 分别测定了不同处理后回生样品的分子结构和水分分布。由图 3.3 可知, 与 RS 相比, β -CD-RS 和 FOS-RS 没有形成新的特征峰, 只存在一些吸收峰的峰形、峰强度或谱带频率的变化, 说明加入的 β -CD 和 FOS 与大米淀粉之间没有发生共价结合且并未形成新的基团 (李云, 2017), 表明与大米淀粉之间有较好的相容性。而在 $3100-3600\text{ cm}^{-1}$ 范围内, 所有回生样品的红外谱图中存在一个强烈的吸收峰, 属于多糖分子间的羟基伸缩振动吸收峰 (Sheng, 2016)。与 RS 相比, FOS 的添加使得表示氢键的羟基伸缩振动峰向低波数方向发生较大的位移, 从 3444.72 降低到 3421.37 cm^{-1} , 表明 FOS 与大米淀粉分子间的氢键作用得到了增强 (陈龙, 2015)。而 β -CD 和 FOS 都含有大量的亲水性基团-羟基, 与大米淀粉分子间能够存在氢键相互作用。

因此, FOS 与大米淀粉分子之间可能存在氢键作用力, 阻碍了直链淀粉间氢键的形成 (Long, 2018)。

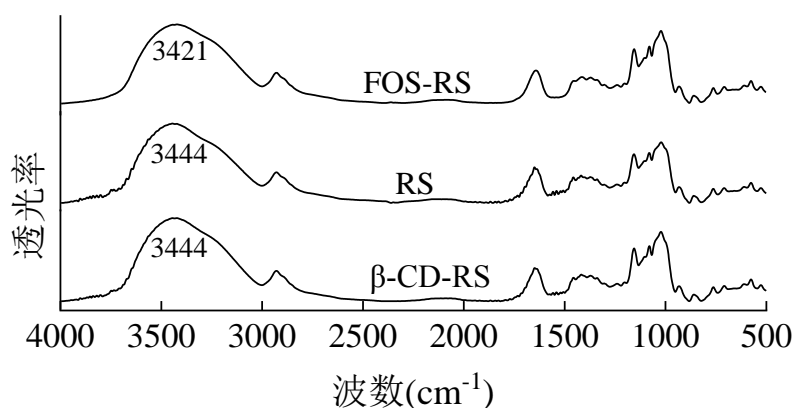


图 3.3 不同处理对大米淀粉红外光谱的影响

Fig. 3.3 Effect of different treatments on FTIR spectrum of rice starch

表 3.3 不同处理对大米淀粉的红外 1047 cm⁻¹/1022 cm⁻¹ 和豫弛峰面积的影响

Table 3.3 Effects of different treatments on the 1047 cm⁻¹/1022 cm⁻¹ ratios in FTIR and the proportion of peak area in LF-NMR of rice starch

样品	红外 1047 cm ⁻¹ /1022 cm ⁻¹	豫弛峰面积 (%)		
		A ₂₁	A ₂₂	A ₂₃
RS	0.5725±0.0112a	0.53±0.08c	3.78±0.10b	95.81±0.29a
β-CD-RS	0.5777±0.0024a	1.48±0.11b	4.16±0.27a	94.25±1.41a
FOS-RS	0.5070±0.0047b	2.26±0.03a	4.29±0.09a	93.89±0.84a

注: A₂₁ 表示强结合水峰面积; A₂₂ 表示弱结合水峰面积; A₂₃ 表示自由水峰面积。同一列不同小写字母表示差异性显著 ($P<0.05$)。

在 FTIR 光谱 800 ~ 1200 cm⁻¹ 范围内的吸收峰主要和 C - C 和 C - O 键的拉伸有关, 反映了淀粉的短程有序结构 (Liu, 2017)。光谱中 1022 cm⁻¹ 和 1047 cm⁻¹ 分别表示淀粉颗粒中无定形和有序 (结晶) 区域大小的比例 (Zhong, 2020), 因而常用 1047 cm⁻¹/1022 cm⁻¹ 的透光率比值来表示晶体区域的有序度 (Wang, 2015), 反映淀粉的结晶程度。对应的 1022 cm⁻¹ 与 1047 cm⁻¹ 比值见表 3.3。与 RS 和 β-CD-RS 相比, FOS-RS 显著降低了 1047 cm⁻¹/1022 cm⁻¹ 的强度比值 ($P<0.05$)。与 RS 相比, FOS-RS 的 1047 cm⁻¹/1022 cm⁻¹ 的强度比值降低了 11.36%。由此可见, 与 β-CD 相比, FOS 能显著降低大米淀粉体系的短程有序结构, 延缓淀粉回生程度。

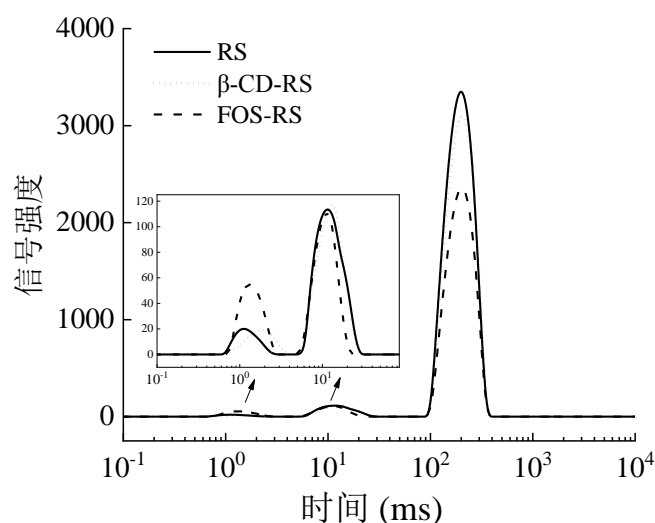


图 3.4 不同处理对大米淀粉水分分布的影响

Fig. 3.4 Effect of different treatments on moisture distribution of rice starch

不同处理后回生大米淀粉的水分分布如图 3.4 所示。由图可知，样品的弛豫谱中都有三种不同迁移率的水分子，从左到右分别代表凝胶体系中的强结合水、弱结合水和自由水（许可, 2021）。不同组的弛豫时间 T_2 比较相似。一些研究表明，水胶体对晶体模式或螺旋形态没有影响（Zheng, 2019）。通过对弛豫谱的积分，可以计算出三个峰的峰面积，面积大小代表不同类型水分的相对含量。强结合水、弱结合水和自由水的峰面积比例分别表示为 A_{21} 、 A_{22} 、 A_{23} （表 3.3）。FOS-RS 的强结合水分和弱结合水含量显著高于 RS 和 β -CD-RS ($P < 0.05$)，且游离水成分含量降低。在低温下糊化后的淀粉分子链之间快速形成氢键，使得水分子与淀粉链间形成的氢键发生断裂，从而结合水被挤出，转变成自由水（方玲玲, 2017）。随着回生程度的增加，自由水的比重会呈现增长的趋势。 β -CD 和 FOS 都具有多羟基结构，而 FOS 的相对分子量小于 β -CD，FOS 比 β -CD 更容易渗透进淀粉颗粒内部，更多的与暴露出来的淀粉分子链末端的自由羰基通过氢键相互作用，阻碍直链淀粉分子之间的氢键的形成，干扰了直链淀粉自身分子间的聚合，减少了体系内自由水的比重，进而减少淀粉凝胶的有序结构，有效抑制了大米淀粉的短期回生（Hou, 2020）。

3.4.5 低聚果糖对大米淀粉 X 射线衍射的影响

利用 x 射线衍射测定淀粉重结晶信息，可以进一步研究 FOS 对大米淀粉回生的影响。一般的天然大米淀粉在 15° 、 17° 、 17.9° 和 22.8° 附近有四个特征衍射峰，具有典型的 A 晶型（Niu, 2017; Xiao, 2017）。糊化后的大米淀粉的结晶结

构被破坏, 导致结晶峰消失 (Hu, 2020)。在低温下糊化后的淀粉发生回生现象, 回生时间越长, 回生程度随之增大, 结晶度也随之增加 (姜辰昊, 2020)。不同处理样品的 X 射线衍射图和相对结晶度如图 3.5 所示。从图中可以看出, 在 13° 、 17° 和 20° 附近处出现了衍射峰, 表明样品发生了回生现象, 从天然大米淀粉的 A 晶型转变为回生淀粉典型的 B 晶型峰 (Hu, 2020)。利用衍射图计算各组的结晶度, 结果表明, 与 RS 和 β -CD-RS 相比, FOS-RS 的相对结晶度显著降低, 主要原因是 FOS 显著提高了淀粉体系的保水性能、稳定性, 阻碍直链淀粉分子之间的氢键的形成, 干扰了直链淀粉自身分子间的聚合, 进而减少淀粉凝胶的有序结构, 有效抑制了大米淀粉的短期回生, 结晶度随之降低 (Zhang, 2018)。

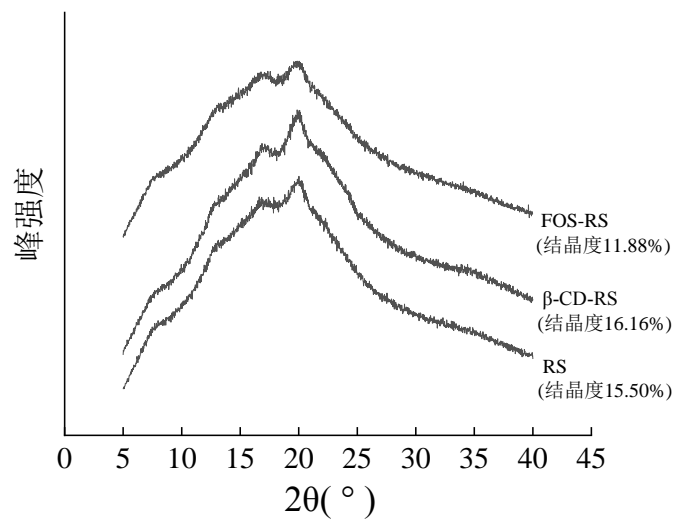


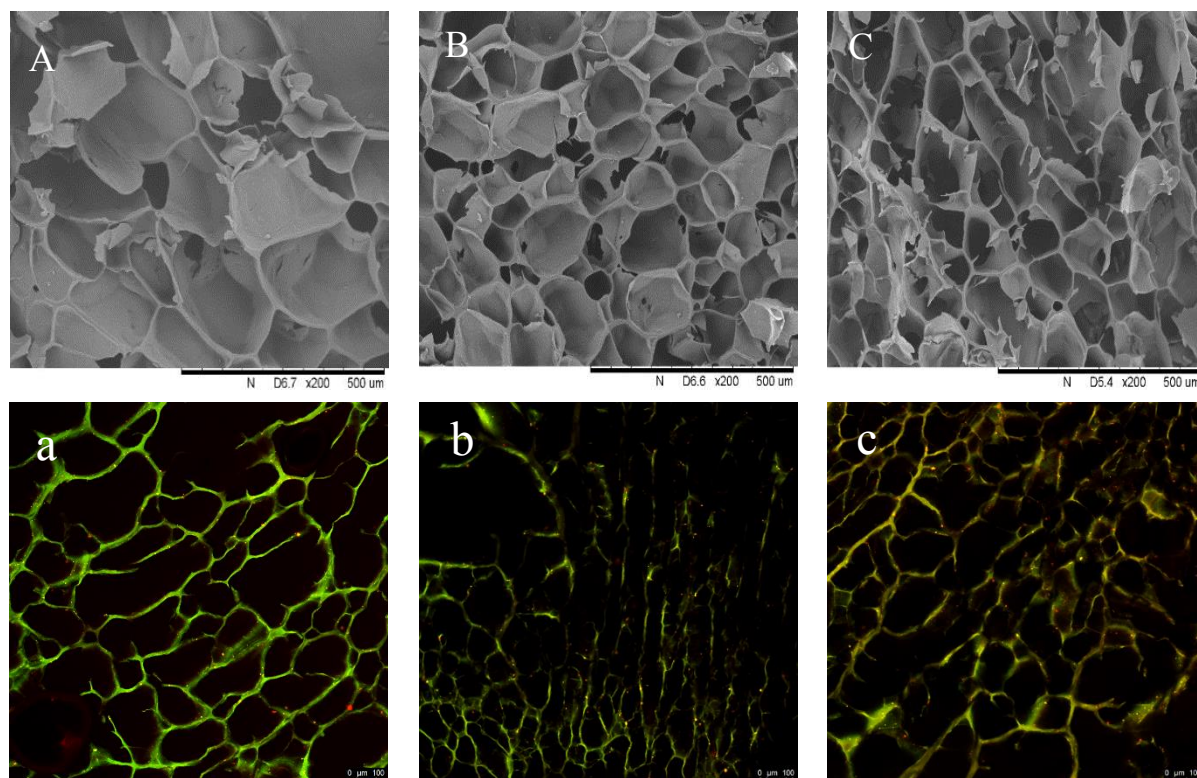
图 3.5 不同处理对大米淀粉的 X 射线衍射和相对结晶度的影响

Fig. 3.5 Effect of different treatments on X-ray diffraction and relative crystallinity of rice starch

3.4.6 低聚果糖对大米淀粉微观结构的影响

冻干淀粉样品呈现出致密多孔的蜂窝网状结构 (Zhang, 2019)。不同处理下回生大米淀粉样品冻干后的微观结构如图 3.6 所示。与 RS 和 β -CD-RS 相比, FOS-RS 的蜂窝网状结构更致密, 网状结构的孔隙更均匀 (图 3.6 A-C)。通过激光共聚焦显微镜进一步研究 FOS 对大米淀粉回生后淀粉网络分布的影响 (图 3.6 a-c), 发现 RS 和 β -CD-RS 淀粉网络较松散不均匀, 而 FOS-RS 的网状结构更加均匀、紧密, 与扫描电镜结果一致。因此, FOS 的添加能使大米淀粉体系结构更加紧密, 可以促进淀粉形成良好的凝胶结构, 并且有利于抑制大米淀粉的回生,

这与 Zeng (2016) 研究结果相一致。



A 和 a: RS; B 和 b: β -CD-RS; C 和 c: FOS-RS

图 3.6 不同处理对大米淀粉的微观结构的影响

Fig. 3.6 Effect of Different treatments on microstructure of rice starch

3.5 本章小结

本章以 β -CD 为对照，研究了 FOS 对大米淀粉短期回生特性影响，结果如下：

1. 利用 RVA 研究了在加热和冷却过程中不同处理后大米淀粉粘度的变化，发现 FOS 处理能显著降低大米淀粉糊化后的峰值粘度、终值粘度和回生值，有利于延缓大米淀粉糊化后的回生程度。

2. 与空白对照组 (RS) 相比，在短期冷藏后 FOS-RS 的析水率、硬度和渗漏直链淀粉含量显著降低，有利于提高大米淀粉的保水性和稳定性。同时，FOS-RS 的储能模量、水流动性，相对结晶度和红外 $1047\text{ cm}^{-1}/1022\text{ cm}^{-1}$ 比率显著降低，网络结构更加紧密，表现出较好的抗回生特性。

3. 与 β -CD 相比，FOS 在延缓大米淀粉的回生方面更具优势，能够有效阻碍直链淀粉分子之间的氢键的形成，减少淀粉凝胶的有序结构，进而抑制大米淀粉的短期回生。因此，FOS 在延缓以大米淀粉为主要成分的方便食品回生方面具有

较大潜力。

第四章 低聚果糖浸渍处理对米饭肠道菌群的影响

4.1 前言

低聚果糖(FOS)是一种益生元,不影响食物原有味道,且不会被胃肠道消化,但可选择性刺激并维持益生菌生长定植,尤其是双歧杆菌和乳酸菌(Mutanda, 2014)。目前,低聚果糖广泛用于改善淀粉制品的品质,降低升糖指数值,改善食用品质。我们前期的研究已经发现,经过低聚果糖浸渍处理可以降低米饭的体外水解速率,提高大米的抗回生性和食用品质。然而,低聚果糖浸渍处理后大米经过高温蒸煮,制成的米饭能否体现益生性还不明确。

葡萄糖(Glu)的结构简单,且没有益生性,因此本章以葡萄糖为对照,通过体外实验,接种肠道微生物进行体外厌氧培养,厌氧培养后提取发酵液中微生物的DNA,利用Illumina MiSeq PE250二代测序平台对肠道微生物V4区进行测序,研究低聚果糖浸渍处理对米饭肠道菌群的种类和结构产生的影响,同时测定在消化过程中消化液总碳水化合物和低聚果糖含量变化,以及在发酵过程中的pH值和短链脂肪酸含量。

4.2 实验材料、试剂及仪器

4.2.1 实验材料与试剂

实验材料:五常大米(水分13.7%,淀粉64.6%)购买于江苏省南京市苏果超市;低聚果糖(纯度95%)、葡萄糖(纯度99%)均购于中国上海源叶生物科技有限公司。

主要试剂:蔗果三糖,蔗果四糖,蔗果五糖均购于中国上海源叶生物科技有限公司; α -淀粉酶,胃蛋白酶,胰液素,磷酸盐缓冲液均购于索莱宝生物科技有限公司; Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl , HCl , NaOH , NaHCO_3 , H_2SO_4 , K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , 苯酚, 乙腈, 吐温-80, 猪胆盐均购于国药集团化学试剂有限公司;氯化血红素, 半胱氨酸, 维生素 K_1 (98%), 刃天青钠, 蛋白胨, 酵母提取物、乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸和4-甲基戊酸短链脂肪酸标准品均购于阿拉丁试剂有限公司;MP土壤基因组DNA纯化试剂盒购于美国MP Biomedicals公司。

4.2.2 主要仪器

AL1043 电子天平	瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司
WSYH26A 电蒸锅	美的集团股份有限公司
HH-6 数显恒温水浴锅	江苏国华电器有限公司
FreeZone 12 L 真空冷冻干燥机	美国 Labconco 公司
SHA-B 水浴恒温振荡器	金坛市荣华仪器制造有限公司
Agilent1200 高效液相色谱仪	美国 Agilent 公司
Alltech3300 型蒸发光散射检测器	美国 Agilent 公司
Ruskinn Bugbox 袖珍式厌氧工作站	英国 Ruskinn 公司
DELTA320 型 pH 计	Mettler Toledo 公司
Agilent7890a 气相色谱仪	美国 Agilent 公司
Allegra 64R 台式离心机	美国贝克曼公司
Milli-Q Integral 实验室超纯水系统	南京赛恩斯仪器公司
Sartorius 电子分析天平	北京赛多利斯天平公司

4.3 试验方法

4.3.1 样品制备

大米分别浸泡在以大米质量为基准的 1.6%的低聚果糖溶液 (w/w) 和 1.6% 葡萄糖 (w/w) 溶液中, 水米比为 1:1.4 (w/w)。将浸渍过的大米与浸渍液在蒸锅中蒸约 35 min, 然后将煮熟的米饭捣碎以供后续使用。

4.3.2 样品体外消化方法

根据 Zhao (2018) 和 Ayimbila (2018) 的方法基础上做出一些修改, 将体外消化的过程分为三个阶段: 模拟口腔 (0-1 h), 胃 (1-3 h), 小肠 (3-6 h)。在 12 g 样品中添加 150 mL 人工唾液 (2.38 g Na_2HPO_4 , 0.19 g KH_2PO_4 , 8 g NaCl , 1 L 超纯水), pH 值调整到 7。加入淀粉酶, 获得 200 U 酶活性。加入人工胃液 5 mL (0.1 mol/L HCl , 含 0.54 g 胃蛋白酶), 调节 pH 至 2, 在 37 °C, 200 rpm 恒温水浴振荡器培养 2 h, 模拟胃消化。通过 6 mol/L NaOH 将 PH 值调整到 6.8 后, 添加 25 mL 人工肠液 (0.11 g 胰液素和 0.7 g 的猪胆汁盐溶解在 25 mL 0.5 M NaHCO_3), 在 37 °C, 200 rpm 恒温水浴振荡器培养 3 h。收集样品并进行冷冻干燥, 以备后续实验使用。

4.3.3 消化过程中成分测定

总碳水化合物含量采用苯酚-硫酸法测定 (Huang, 2020)。它可以准确、快速地测定溶液中总的可溶性碳水化合物 (Rover, 2013)。苯酚-硫酸法标准曲线的制作方法: 称取 1 g 无水葡萄糖烘干至恒重, 用超纯水配置浓度为 1 mg/mL 的母液, 加水稀释, 得到浓度为 10、20、30、40、50、60 $\mu\text{g/mL}$ 的葡萄糖标准溶液。用移液枪分别吸取 0.5 mL 不同浓度的标准溶液和样品于 7 mL 离心管中, 加入 0.5 mL 5% 的苯酚试剂, 混匀后再加入 2.5 mL 浓硫酸溶液, 在静置 10 min 后摇匀, 在 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴 15 min 后, 测定 490 nm 处的吸光值。

利用高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 测定 FOS 含量。具体情况如下: 色谱柱为 Sugar D (250 mm \times 4.60 mm, 5 μm), 流动相、流速、进样量、柱温分别为乙腈: 水 (75:25, v/v)、1 mL/min、20 μL 、25 $^{\circ}\text{C}$ 。所有样品和标准品在使用前均经过 0.45 μm 微孔膜过滤。

4.3.4 样品体外发酵方法

基础培养液参照 Guergoletto (2016) 和 Pham (2017) 的配方, 并做了一些修改。在 1000 mL 的去离子水中加入: 蛋白胨 2 g、酵母提取物 3 g、氯化钠 0.1 g、 KH_2PO_4 0.04 g、 K_2HPO_4 0.04 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g、 CaCl_2 0.01 g、 NaHCO_3 2 g、氯化血红素 0.05 g、半胱氨酸 0.5 g、胆汁盐 0.5 克、吐温-80 2 mL、维生素 K_1 10 μL 、刃天青钠 1 mg。取 120 mL 基础培养液, 加入 1.2 g 样品混匀制成肠道微生物厌氧培养液, 空白对照组 (Blank) 选择加入 1.2 mL 去离子水的基础培养液, 最后进行 120 $^{\circ}\text{C}$ 高压蒸汽灭菌备用。

选择三名年龄在 22-24 岁之间的健康男性受试者, 三个月内肠胃健康, 并且没有服用抗生素类药物。收集到的新鲜全便用无氧无菌磷酸盐缓冲液 1:10 (稀释 10 倍, w/v) 进行稀释。混合均匀后, 550 rpm 离心 5 min (Chen, 2016)。

取 2.7 mL 培养液和 0.3 mL 粪便悬液于 4 mL 离心管, 充分摇匀, 整个过程操作均在厌氧培养箱中完成。每组实验设置三个平行, 厌氧培养时间为 48 h (Zhao, 2018)。

4.3.5 培养过程中 pH 值的测定

分别取 0, 6, 12, 24, 36, 48 h 发酵液样品后, 放入冰水浴中 20 min, 8000 rpm 离心 15 min, 测定上清液的 pH 值 (Ji, 2020)。

4.3.6 培养过程中短链脂肪酸的测定

分别取 0 h、6 h、12 h、24 h、36 h、48 h 发酵液样品于 4800 r/min 下离心 5 min，取上清液进行测定。根据 Ji (2020) 的方法并进行了一些修改，采用 Agilent7890a 气相色谱系统，HP-INNOWax 柱 (30 mm × 0.32 mm × 0.50 μm) 和氢火焰离子化检测器进行色谱分离。所有样品经 0.2 μm 水相滤膜后用进行气相色谱分析。气相色谱分析条件为：载气为氮气；载气流速为 19 mL/min (分流比=1:10)；空气流速为 300 mL/min；氢气流速为 30 mL/min；检测器温度为 240 °C；进样口温度为 240 °C；升温程序为 100 °C，保持 1 min，后按照 5 °C/min 速度升至 180 °C；样品进样量为 1 μL；样品测定时间为 15 min。根据每个对照品的保留时间对短链脂肪酸进行鉴定。

4.3.7 DNA 提取及测序分析

采用 MP 土壤基因组 DNA 纯化试剂盒 (MP Biomedicals company, America) 对发酵 48 h 后各个样品的 DNA 进行提取分离，委托上海天昊生物科技有限公司 (ShangHai, China) 进行测序分析。利用 PCR 扩增细菌 16S rDNA 高变区 4 (V4)。在 Illumina Miseq 平台上进行高通量测序，采用 2250 bp 双端测序法，对文库进行定量、混合和质量检测。

4.3.8 伦理学申明

本研究的志愿者们均自愿参与，并在相关法律指导下进行实验。

4.3.9 统计分析

所有的实验都至少重复三次。利用 Origin 8.5 软件对数据进行处理并作图，利用 SPSS 25 软件 Duncan 检验对数据进行统计分析， $P < 0.05$ 表示数据具有显著性差异。

4.4 结果与分析

4.4.1 总碳水化合物和低聚果糖在消化过程中的变化

米饭经过淀粉酶 (Tamura, 2017)、胃蛋白酶 (Chi, 2018)、胰酶 (Sullivan, 2018) 等一系列消化分解过程，在体内产生葡萄糖、氨基酸、脂肪酸等。对纯米饭对照组 (CR)、低聚果糖浸渍处理米饭组 (FCR) 和葡萄糖浸渍处理组 (GCR) 3 个处理组进行研究，其体外模拟消化过程中消化液里总碳水化合物浓度的变化如图

4.1 所示。在口腔模拟消化阶段（0-1 h），三组在消化液中的总碳水化合物浓度无显著差异（ $P>0.05$ ）。随着淀粉酶的添加，米饭开始快速消化，消化液中的总碳水化合物浓度迅速增加。在胃模拟消化阶段（1-3 h），随着胃蛋白酶的加入，三组总碳水化合物浓度开始出现差异。在小肠模拟消化（3-6 h）中，GCR 的总碳水化合物浓度最高，这可能是由于胰酶的加入，促进淀粉分解，导致总碳水化合物浓度增加。结合之前的研究，低聚果糖浸渍处理可能延缓了米饭体外水解速率，使得 FCR 消化液中的总碳水化合物浓度明显低于 GCR 和 CR。

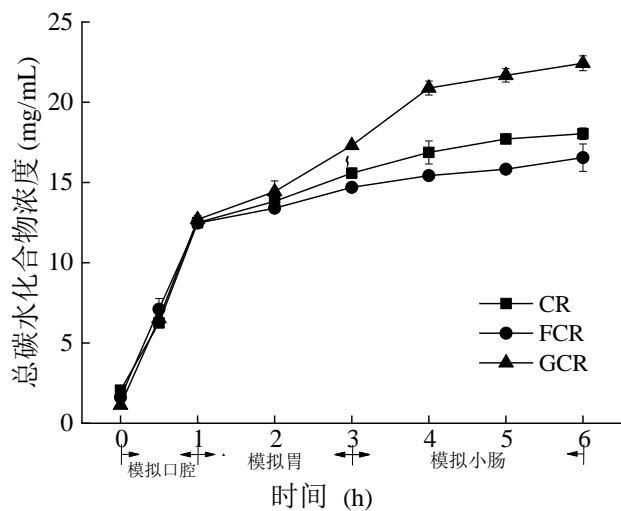


图 4.1 在消化过程中总糖浓度的变化

Fig. 4.1 Changes of the total sugar concentration during digestion

注：CR 为纯米饭组；FCR 为低聚果糖浸渍处理的米饭组；GCR 为葡萄糖浸渍处理米饭组，下同。

表 4.1 在不同消化阶段的消化液中低聚果糖的含量变化

Table 4.1 In vitro digestion of FOS in digestive juice at different phases.

样品	浓度（mg/mL）		
	口腔（0-1 h）	胃（2-3 h）	小肠（4-6 h）
蔗果三糖 GF ₂	1.06±0.02a	1.011±0.01a	1.04±0.01a
蔗果四糖 GF ₃	1.35±0.02a	1.39±0.02a	1.33±0.09a
蔗果五糖 GF ₄	0.72±0.05a	0.66±0.04a	0.67±0.04a

注：同一列不同小写字母表示差异性显著（ $P<0.05$ ）。

模拟口腔、胃和肠道环境测得的低聚果糖含量如表 4.1 所示。低聚果糖的主要成分为蔗果三糖（GF₂）、蔗果四糖（GF₃）、蔗果五糖（GF₄），在模拟体外消化过程中，不同消化阶段之间没有差异（ $P>0.05$ ），这说明 FOS 在消化过程中没

有被消耗，并且可以到达肠道发挥作用。

4.4.2 培养过程中 pH 值的变化

经过体外模拟消化后，将消化液进行冷冻干燥得到样品。将样品加入培养基后，放在厌氧环境中进行发酵。厌氧培养 48 h 内培养基 pH 值的变化如图 4.2 所示。厌氧培养开始时，空白对照组(Blank)与米饭组相比没有显著性差异($P>0.05$)。在培养 12 h 时，所有组发酵液的 pH 值均明显下降，并呈继续下降的趋势，在培养 24 h 后趋于平缓，这一趋势与 Fu (2018) 的发现一致，他们对一种从鼠尾藻中提取的新型多糖进行体外发酵实验，发现在 0 到 24 h 的发酵过程中 pH 值显著下降，随后略有上升。在培养结束时，三个实验组发酵液的 pH 值与空白对照组相比显著降低($P<0.05$)，其中 GCR 和 FCR 的发酵液 pH 值均比 CR 低。而 GCR 的 pH 下降最为明显，可能是因为 Glu 作为单糖可以直接被肠道微生物利用，快速产生代谢产物，降低发酵液的 pH 值。

厌氧培养液中的营养成分被肠道微生物分解利用，产生链长更短的脂肪酸如乙酸和丙酸等代谢产物 (Huang, 2020)，使发酵液的 pH 值明显下降 ($P<0.05$)。研究发现荔枝果肉提取的多糖在体外发酵实验中降低发酵液的 pH 值，增加总短链脂肪酸、乙酸和正丁酸的产量 (Huang, 2019)。通过降低 pH 值可以抑制有害菌的增殖，维持肠道内环境稳态，对人体肠道产生有益影响。FCR 和 GCR 的发酵液中 pH 值降低，说明其可以通过降低发酵液的 pH 值对肠道健康产生有利影响。

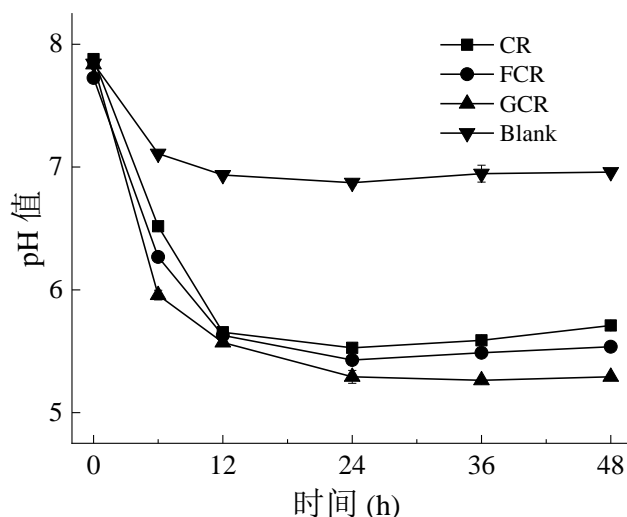


图 4.2 厌氧培养过程中发酵液 pH 值的变化

Fig. 4.2 Changes of the pH value of fermentation liquor during anaerobic culture

4.4.3 培养过程中短链脂肪酸的变化

短链脂肪酸是碳水化合物发酵过程中产生的主要代谢物，其浓度被认为是肠道微生物群活动的重要反映 (Wang, 2019)，并且是导致发酵环境中 pH 值降低的因素之一 (Sun, 2020)。短链脂肪酸与人体内正常代谢有关，在维持肠道健康方面起着重要作用 (Mineo, 2013)。如乙酸是由结肠细菌产生的含量最丰富的短链脂肪酸 (Topping, 2001)，是人体合成各种辅酶的前体；丙酸可以抑制肝脏内胆固醇产生，可有效预防高血脂和心血管疾病等 (Daihan, 2015)；丁酸是结肠微生物重要能量来源，可调节细胞增殖和分化 (Owolabi, 2020)。因此，分析了不同处理组在发酵过程中短链脂肪酸含量的变化。在厌氧培养过程中不同处理组总短链脂肪酸的变化情况如图 4.3 A 所示。随着培养的进行，各组的总短链脂肪酸的含量开始增加。与空白对照组 (Blank) 相比，米饭组 (GCR、FCR 和 CR) 的总短链脂肪酸含量均显著升高 ($P < 0.05$)。培养 48 h 后，GCR 和 FCR 的总短链脂肪酸含量显著高于 CR ($P < 0.05$)。图 4.3 B-D 分别揭示了在厌氧培养过程中乙酸、丙酸和正丁酸含量的变化。在培养时间 6 h~36 h 内，FCR 和 GCR 的乙酸含量显著高于 CR ($P < 0.05$)。而培养结束时，乙酸含量没有差异 ($P > 0.05$) (图 4.3 B)。此外，FCR 和 GCR 的丙酸和正丁酸含量升高，在培养时间为 36 h 后的含量显著高于 CR ($P < 0.05$)。

大米富含碳水化合物，这些碳水化合物能够被肠道微生物利用分解，产生代谢产物 (Adebawale, 2019)。葡萄糖是最容易被利用的碳源之一，在厌氧培养过程中，样品中的葡萄糖作为单糖可直接被肠道微生物利用，快速产生代谢产物，提高了发酵液中总短链脂肪酸含量，但在人体中葡萄糖会直接被胃肠道吸收，不会被肠道微生物利用。一些不可消化的碳水化合物和益生元 (如 FOS 和菊糖) 可以作为肠道菌群的碳源和能量来源，在促进短链脂肪酸的产生的同时刺激其生长 (Chen, 2018; Ding, 2017; Gullón, 2014)。FOS 是一种不易消化的低聚糖，通过浸渍处理的米饭在体外实验中能够降低发酵液的 pH 值并且提高总短链脂肪酸的产量，进而调节肠道微生物群的代谢活动 (Arcila, 2015)。

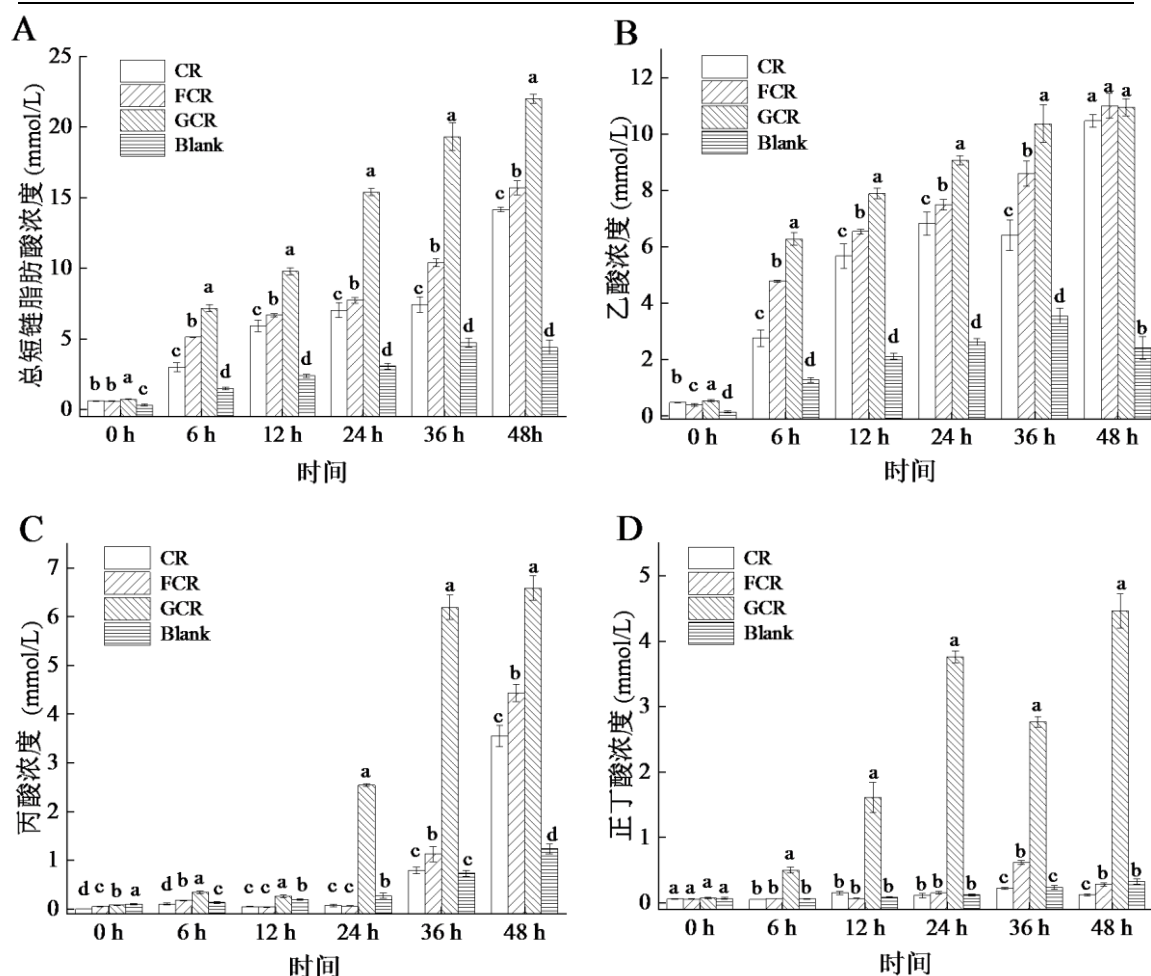


图 4.3 发酵液中总 SCFAs (A)、乙酸 (B)、丙酸 (C)、丁酸 (D) 的浓度 (mmol/L)。不同小写字母在同一发酵时间内表示具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 4.3 The concentrations (mmol/L) of total SCFAs (A), acetic acid (B), propionic acid (C), butyric acid (D) of the fermentation liquor. Different lowercase letters were significantly different in the same fermentation time.

4.4.4 测序结果分析

为了进一步揭示经过 FOS 浸渍处理的米饭在体外发酵后对肠道微生物的影响, 采用高通量测序法测定并分析体外培养结束后发酵液的菌相分布。如图 4.4 所示, 经过体外培养后, 肠道微生物的种类和结构主要包括变形菌门 (42.99 - 48.49%, 包括 *Klebsiella* 和 *Escherichia*), 拟杆菌门 (25.07 - 36.99%, 包括 *Bacteroides* 和 *Parabacteroides*), 厚壁菌门 (8.86 - 14.82%, 包括 *Clostridium XI* 和 *Lactobacillus*), 放线菌门 (0.09 - 11.39%, 包括 *Bifidobacterium* 和 *Collinsella*)。与 CR 相比, FCR 增加了放线菌门的相对丰度, 降低了厚壁菌门的相对丰度 (图 4.4 A)。从属水平上来看, 与空白组对照组 (Blank) 相比, 米饭组 (CR, FCR 和

GCR)降低了 *Clostridium XI* 和 *Klebsiella* 的相对丰度(图 4.5 C 和 D)($P<0.05$), 并且提高了 *Bifidobacterium* 和 *Lactobacillus* 的相对丰度(图 4.5 A 和 B)($P<0.05$)。据报道, *Clostridium XI* 和 *Klebsiella* 可能与败血症有关, 从而导致死亡(Podschun, 1998; Zheng, 2018)。而大米水解物的结肠发酵可以促进双歧杆菌和乳酸杆菌等益生菌的生长 (Ayimbila, 2018)。双歧杆菌和乳酸杆菌是肠道内非常重要的益生菌, 对人体肠道提供许多益处 (Silva, 2020)。此外, 米饭中存在抗性淀粉, 抗性淀粉可实现调节肠道微生物群生长和代谢活性功 (Arcila, 2015), 增加双歧杆菌和乳酸杆菌的含量 (Costabile, 2008; Martinez, 2010; Zhu, 2020)。因此, 米饭的食用对调节肠道菌群具有有益作用。

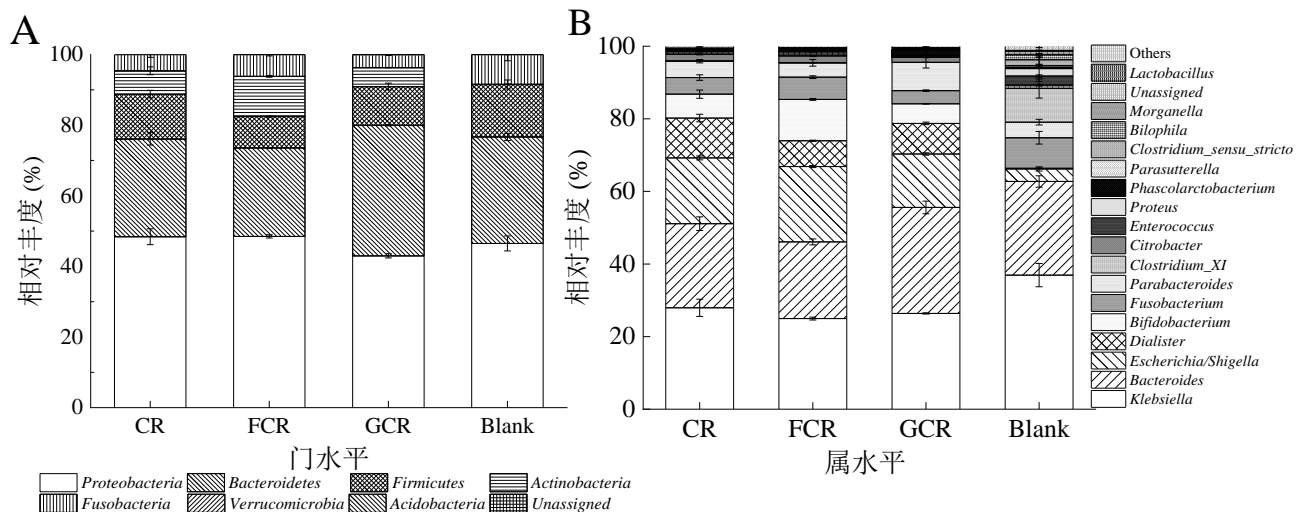


图 4.4 对不同处理组发酵液在门和属水平上进行细菌分类学分析

Fig. 4.4 Bacterial taxonomic profiling in the phylum (A) and genus(B) level of fermentation liquor from different treatment groups.

此外, FCR 在促进有益菌和抑制有害菌方面表现出优势。与 GCR 和 CR 相比, FCR 显著提高了 *Bifidobacterium* 和 *Lactobacillus* 的丰度 ($P<0.05$) (图 4.5 A 和 B)。FOS 可以选择性地刺激益生菌生长并维持其定殖, 特别是双歧杆菌和乳酸杆菌 (Mao, 2019)。在 *Bacteroides* 和 *Parabacteroides* 的相对丰度方面, GCR 显著高于 CR 和 FCR ($P<0.05$) (图 4.5 E 和 F)。*Bacteroides* 和 *Parabacteroides* 属于拟杆菌门, 是重要的条件厌氧病原体 (Demirci, 2020), 具有高度传染性 (Boente, 2010; Soki, 2020)。简而言之, FCR 可以促进有益菌(如 *Bifidobacterium* 和 *Lactobacillus*) 和抑制有害菌(如 *Bacteroides* 和 *Klebsiella*) 的增殖。同时, 与传统的 CR 相比, FCR 在体外培养过程中显著降低了发酵液的 pH 值, 提高了短链脂肪酸含量。从结果上来看, FOS 在开发优质健康大米食品方面具有很大的潜

力。

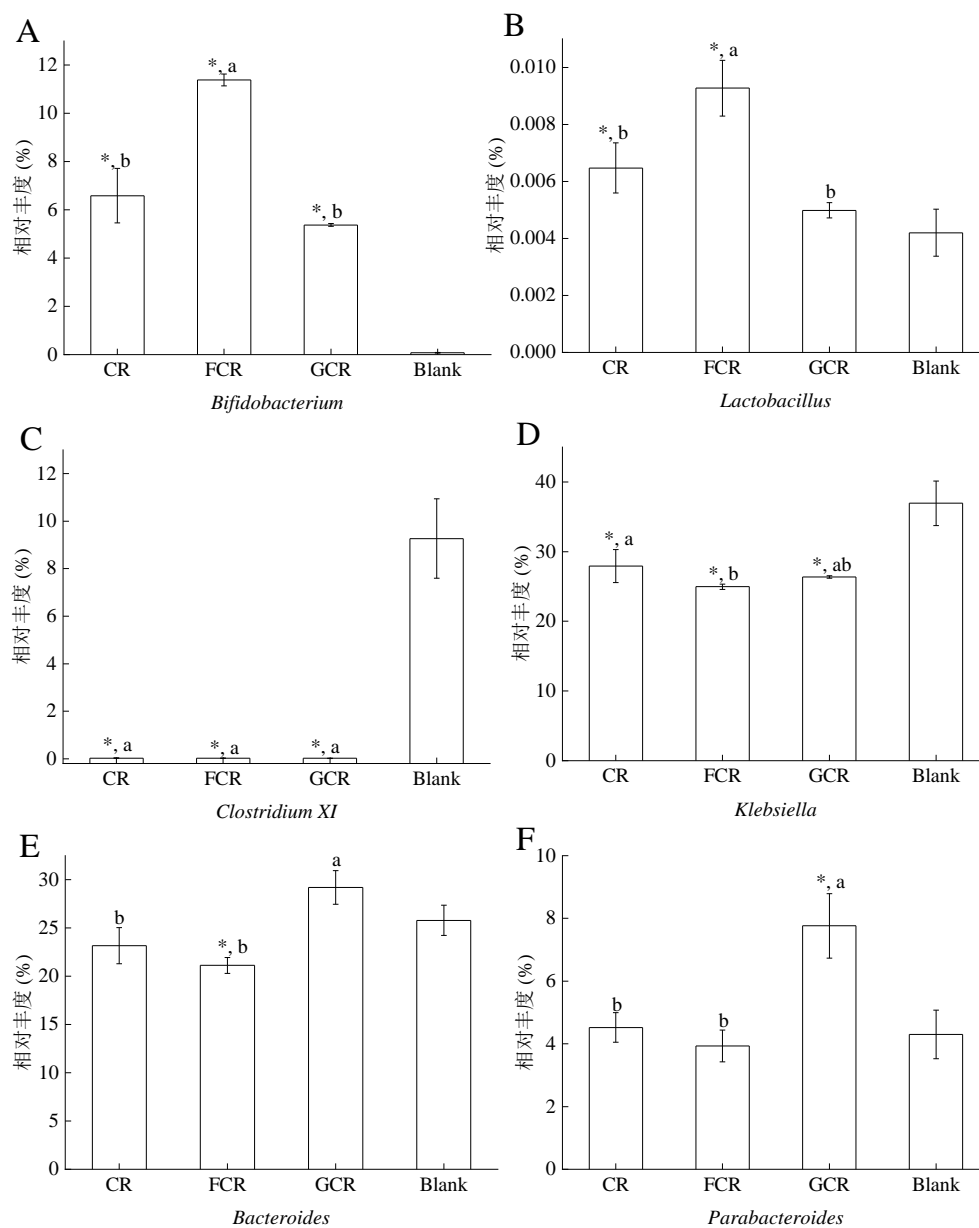


图 4.5 不同处理组发酵液属水平的相对丰度值。不同小写字母表示在三个米饭组中具有显著性差异 ($P<0.05$)。三个米饭组分别与空白组进行比较, 显著性用符号*表示。

Fig. 4.5 Relative abundance values in the genus levels of fermentation liquor from different treatment groups. Different lowercase letters indicate significant differences among the three cooked rice groups. The three cooked rice groups were compared to the blank group, and the significance was indicated by the symbol *.

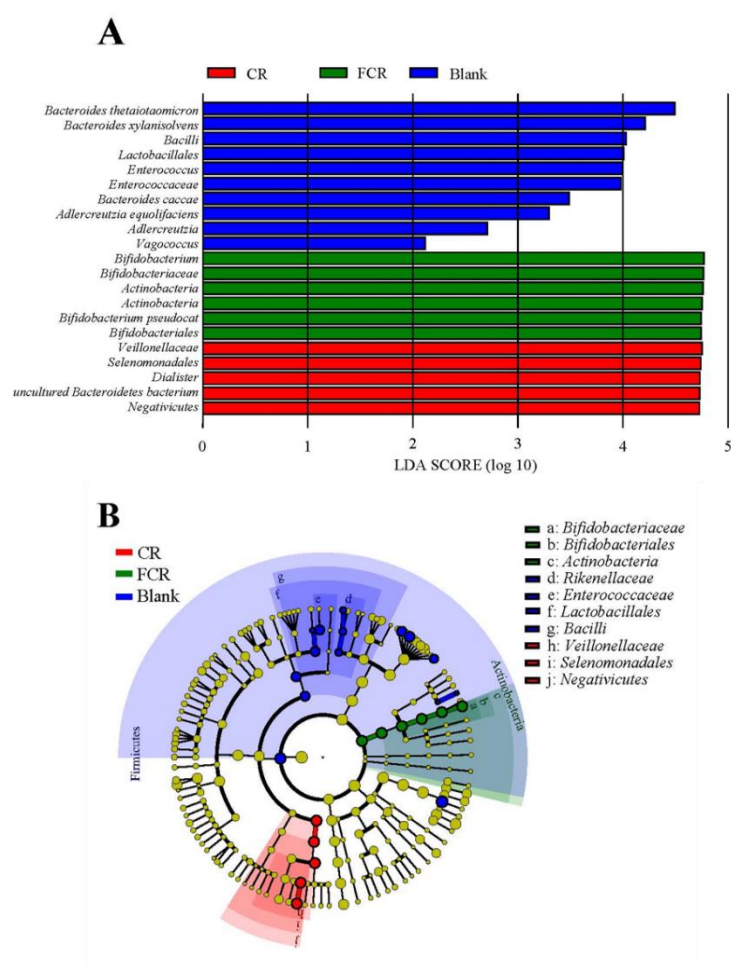


图 4.6 不同处理组肠道菌群的关键系统类型：(A) LDA 值分布柱状图；(B) 进化分支图

Fig. 4.6 Key phylotypes of gut microbiota in different treatment groups: (A) Histogram of LDA value distribution, (B) Cladogram.

进一步确定不同组中肠道菌群的关键系统类型，对 CR、FCR 和 Blank 进行 LEfSe 分析。图 4.6 A 为柱状图显示 LDA 评分 >2 的富集类群。LDA 评分越高，系统型微生物群在比较中越显著。LDA 结果显示，FCR 主要优势菌群为放线菌门、放线菌纲、双歧杆菌目和双歧杆菌科（LDA >4 , $P<0.05$ ）。CR 主要微生物群（LDA >4 , $P<0.05$ ）为 Firmicutes、Negativicutes、Selenomonadales、Veronococcaceae 和 Dialister。然后，再通过进化聚类分支图对主要微生物区系进行分类鉴定（图 4.6 B）。从内圈到外圈的彩色节点代表了从门到属的所有分类群的等级关系。FCR 组富集类群显示为绿色，CR 组富集类群显示为红色，空白组富集类群显示为蓝色，无显著变化的类群显示为黄色。每个小圆的直径代表了分类单元的丰度。在枝线图 4.6 B 中可以看出，在 FCR 绿色部分中双歧杆菌科丰度最高，在 CR 中红色部分中韦荣球菌科丰度最高。这些结果表明 FOS 浸渍处理促进了发酵

液中特定细菌的增殖，有效改善了肠道微生物群的主要分布。

4.5 本章总结

本章通过模拟体外消化和发酵实验，分析了经过 FOS 浸渍处理对米饭肠道菌群的影响，结果如下：

1. 在体外消化过程中，与 GCR 和 CR 相比，FCR 的消化液中总碳水化合物含量显著降低，表明 FOS 浸渍处理延缓了米饭的体外消化。并且，在不同消化阶段低聚果糖的主要成分蔗糖三糖、蔗糖四糖、蔗糖五糖无显著差异。

2. 在体外发酵过程中，FCR 的发酵液 pH 值较 CR 显著降低，SCFAs 浓度显著升高。此外，FCR 还具有促进发酵液中 *Bifidobacterium* 和 *Lactobacillus* 等有益菌的增殖，抑制 *Bacaeroides* 和 *Klebsiella* 有害菌增殖的优势。因此，FOS 浸渍处理有效改善了肠道微生物群的主要分布，在开发优质健康方便米饭产品方面具有很大的潜力。

全文结论

本文通过对大米进行低聚果糖等改良剂浸渍处理,探究低聚果糖等改良剂对米饭品质、淀粉回生特性的影响,及其对肠道菌群的调节作用,全文结论如下:

1. 低聚果糖浸渍处理能够改善米饭的食用品质、抗回生能力和消化特性。与对照组、山梨糖醇浸渍处理组和麦芽糖醇浸渍处理组相比,低聚果糖浸渍处理能提高大米的浸泡吸水率和米饭的感官评分,降低米饭硬度和体外消化水解率。其中,在 1.6%低聚果糖浸渍处理下,米饭直链淀粉含量、冷藏后硬度值、糊化焓值均显著低于其他组,并形成均匀致密的孔状结构,有效提升米饭的食用品质和抗回生能力。

2. 低聚果糖能够提高大米淀粉的抗回生特能。与空白对照组相比,低聚果糖的添加能显著降低大米淀粉糊化后的峰值粘度、终值粘度和回生值,有利于延缓大米淀粉糊化后的回生程度。此外,在短期冷藏后,低聚果糖处理组的析水率、硬度和渗漏直链淀粉含量显著降低,有利于提高大米淀粉的保水性和稳定性。同时,低聚果糖处理组的储能模量、水流动性、相对结晶度降低,网络结构更加紧密,表现出较好的抗回生特性。而与 β -环糊精相比,低聚果糖在延缓大米淀粉的回生方面更具优势,可以阻碍淀粉分子链之间氢键的形成从而阻碍分子链之间的缔合,有效地抑制大米淀粉的短期回生。

3. 经过低聚果糖浸渍处理后的米饭可以降低发酵环境的 pH 值,提高短链脂肪酸的含量,改善肠道菌群的组成结构。在体外消化过程中,低聚果糖浸渍处理组的消化液中总碳水化合物含量降低,且各阶段消化过程中低聚果糖含量无显著变化。在体外发酵过程中,低聚果糖浸渍处理组的发酵液中 pH 值与对照组(纯米饭)相比显著降低,总短链脂肪酸的浓度显著升高。此外,低聚果糖浸渍处理组促进了在发酵液中 *Bifidobacterium* 和 *Lactobacillus* 等有益菌和抑制 *Bacaeroides* 和 *Klebsiella* 等有害菌的增殖,显著改善了肠道菌群结构。

通过上述实验可得出结论:低聚果糖可以提升大米淀粉的抗回生特性,改善大米蒸煮后米饭的食用品质、抗回生效果;在体外实验中,低聚果糖浸渍处理组促进了发酵液中有益菌的增殖,显著改善肠道菌群结构。为大米精深加工和开发高品质健康方便米饭产品提供理论依据。

创新点

明确低聚果糖浸渍处理对提升米饭食用品质和大米淀粉抗回生特性的影响，揭示低聚果糖浸渍处理对米饭肠道菌群结构的改善作用。为大米精深加工与高品质健康方便米饭产品开发提供理论依据。

研究展望

本文探究了低聚果糖等改良剂对米饭品质、淀粉回生特性的影响，及其对肠道菌群的调节作用，但是在大米品种选择、低聚果糖性质分析方面存在不足，所以后续研究可以从以下几个方面进行深入研究：

（1）虽然研究发现低聚果糖浸渍处理能够改善米饭品质，但没有对其改善机理进行深层次研究。

（2）仅研究了一个品种大米浸渍处理对米饭品质的影响，可对别的多个不同品种大米进行研究。

（3）低聚果糖性质不同可能会影响米饭品质改善情况，可对不同聚合度的低聚果糖进行研究。

参考文献

- [1] 曹珍珍, 贾才华, 牛猛, 等. 模拟传统柴火烹饪方式对米饭食味及蛋白质营养特性的影响 [J]. 中国粮油学报, 2019. 34(8): 1-7+33.
- [2] 曾思敏, 曾习. 小分子糖对淀粉回生的影响的研究进展 [J]. 现代食品, 2018. (19): 8-10+14.
- [3] 陈龙. 普鲁兰多糖对大米淀粉性质的影响及机理研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- [4] 崔璐. 超声波处理对糙米理化特性的影响及其作用机理研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [5] 邓灵珠. 大米蒸煮与米饭物性及食味形成机理 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2012.
- [6] 樊奇良, 章烜. 不同米水比例对蒸煮米饭食味品质影响的研究 [J]. 粮食科技与经济, 2015. 40(6): 29-33.
- [7] 范欣, 李小平, 胡经纬, 等. 中国粮油学报 [J]. 亲水胶体对淀粉理化性质的影响及机理研究进展, 2020. 35(9): 195-202.
- [8] 方玲玲. 核磁共振技术应用于葛根淀粉晶体结构与老化特性的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2017.
- [9] 姬云云, 连惠章, 王凯. 亲水性胶体在速冻面米产品中的应用 [J]. 农产品加工, 2020. (21): 82-84+91.
- [10] 姜辰昊, 高增明, 王伟, 等. 洋葱皮乙醇提取物对玉米淀粉回生性质的影响 [J]. 中国粮油学报, 2020. 35(5): 52-57.
- [11] 金鑫, 廖卢艳, 樊少飞, 等. 复配品质改良剂对南方馒头冷冻面团冻藏品质的影响 [J]. 中国粮油学报, 2020. 35(4): 6-11+38.
- [12] 李飞, 陈梦雪, 胡雅婕, 等. 低聚糖对磷酸酯红薯淀粉性质的影响 [J]. 农业科技与装备, 2015. (8): 42-45.
- [13] 李建芳, 邬全喜, 周枫, 等. 冻干技术对米饭品质特性影响的研究 [J]. 粮食与饲料工业, 2009. (3): 9-10.
- [14] 李云. 菊粉与小麦淀粉相互作用的研究 [D]. 洛阳: 河南科技大学, 2017.
- [15] 李志航. 典型大米制品的质构与消化性能的物质基础研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- [16] 刘莉, 赵建伟, 焦爱权, 等. 超高压协同_环糊精渗入对米饭回生的抑制 [J]. 食品与发酵工业, 2013. 39(1): 16-20.
- [17] 刘思含. 抑制米饭回生技术研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
- [18] 刘宗利, 李克文, 王京博, 等. 低聚果糖的理化特性, 生理功效及其应用 [J]. 中国食品添加剂, 2016. (10): 211-215.

- [19] 卢毅, 路兴花, 张青峰, 等. 稻米直链淀粉与米饭物性及食味品质的关联特征研究 [J]. 食品科技, 2018. 43(10): 219-223.
- [20] 马岩, 郭靖. 不同剂量低聚果糖对生理菌群作用的影响分析 [J]. 农业机械, 2012. (2): 108-111.
- [21] 倪嘉能, 何剑飞, 宋瑶瑶, 等. 米饭制品抗老化的研究进展 [J]. 河北农业科学, 2010. (3): 65-67.
- [22] 彭博. 糖醇类物质对面团特性及面包品质的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [23] 孙福生. 植酸钠和过氧化氢化学修饰对小麦淀粉理化性质和功能特性影响的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2017.
- [24] 孙明辉. 蔗糖酯对大米粉物性及冷冻米饭品质影响研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2013.
- [25] 田耀旗, 徐学明, 金征宇, 等. B-环糊精抑制淀粉回生初探 [J]. 食品科学, 2008. 29(6): 49-51.
- [26] 王佳, 林亲录, 吴跃, 等. 脱水方便米饭的稻米品种筛选 [J]. 食品科学, 2013. 34(3): 16-20.
- [27] 王金海, 冯珊, 朱宏阳, 等. 低聚果糖生理作用及应用研究进展 [J]. 海峡药学, 2015. (7): 7-9.
- [28] 王鹏跃. 稻米蛋白质及组成对其蒸煮食味品质影响的研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2016.
- [29] 王曦. 超高压处理对发芽糙米饭淀粉体外消化特性的影响 [J]. 安徽农业科学, 2017. 45(13): 96-98.
- [30] 王玉娟, 李晓磊, 付婧超, 等. 普鲁兰酶水解制备抗消化性和低回生性木薯淀粉的研究 [J]. 粮食与油脂, 2017. 30(12): 46-49.
- [31] 吴焱, 袁嘉琦, 张超, 等. 粳稻脂肪含量对淀粉热力学特性及米饭食味品质的影响 [J]. 中国粮油学报, 2021.
- [32] 吴跃, 陈正行, 李晓暄. 抑制淀粉回生方法的研究现状和进展 [J]. 食品工业科技, 2011. 32(4): 423-427.
- [33] 夏青, 曹磊, 宋玉, 等. 不同抗氧化剂对方便米饭回生及品质影响的研究 [J]. 食品工业科技, 2018. 39(7): 28-31.
- [34] 许可, 邱国栋, 李星科, 等. 冻藏时间对面团水分物态变化及品质特性的影响 [J]. 轻工学报, 2021. 36(1): 9-16.
- [35] 薛山. 低聚果糖生物学功效及生产技术的研究新进展 [J]. 食品工业, 2012. (4): 115-119.
- [36] 闫清平, 朱永义. 大米淀粉、蛋白质与其食用品质关系 [J]. 粮食与油脂, 2001. (5): 29-32.

- [37] 杨柳. 大米蒸煮溶出淀粉对米饭质构的影响及米饭质构的电化学评价 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [38] 杨柳, 王磊, 张一, 等. 麦芽糖醇对面包贮藏品质的影响 [J]. 粮食与油脂, 2016. 29(5): 21-23.
- [39] 姚阳. 老面发酵制作冷冻面团馒头工艺研究 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2016.
- [40] 余世锋. 低温和超低温预冷下大米淀粉凝沉特性及应用研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2010.
- [41] 余世锋, 马莺. 米饭品质影响因素及其老化机制研究进展 [J]. 食品工业科技, 2008. (12): 285-288.
- [42] 袁芳, 梁以婷. 黄原胶和 β -淀粉酶对冷藏期间黄色糯米饭品质的影响 [J]. 轻工科技, 2021. 37(2): 24-28.
- [43] 张晓宇. 小分子糖对木薯淀粉性质的影响研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- [44] 张岩, 李键, 陈炼红. 不同甜味剂对乳酸菌发酵以及牦牛酸奶品质的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016. (5): 118-121.
- [45] 张玉荣, 周显青, 彭超, 等. 不同储藏年限稻谷的品质及鲜湿米粉加工适应性分析 [J]. 食品科学, 2020. 41(23): 51-57.
- [46] 赵琳琳, 吴高升, 汤尚文, 等. B-环糊精对玉米淀粉糊化特性的影响 [J]. 粮食与饲料工业, 2015. (9): 21-24.
- [47] 郑明静. 莲子淀粉与亲水性胶体协效性及其作用机理的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2019.
- [48] AACC61-03. Amylose content of milled rice [J]. America: American Association of Cereal Chemists, 2000.
- [49] Adebawale T O, Yao K, Oso A O. Major cereal carbohydrates in relation to intestinal health of monogastric animals: A review [J]. Animal Nutrition, 2019. 5(4): 331-339.
- [50] Amagliani L, Oregan J, Kelly A L, et al. Chemistry, structure, functionality and applications of rice starch [J]. Journal of Cereal Science, 2016. 70: 291-300.
- [51] Angioloni A, Collar C. Physicochemical and nutritional properties of reduced-caloric density high-fibre breads [J]. LWT - Food Science and Technology, 2011. 44(3): 747-758.
- [52] Arcila J A, Rose D J. Repeated cooking and freezing of whole wheat flour increases resistant starch with beneficial impacts on in vitro fecal fermentation properties [J]. Journal of Functional Foods, 2015. 12: 230-236.
- [53] Ayimbila F, Keawsompong S. Effect of processing procedures on in vitro digestibility and colonic fermentation of riceberry rice [J]. Journal of Microbiology, Miotechnology Food Sciences, 2018. 8(3): 940-946.

- [54] Bai Y, Wu P, Wang K, et al. Effects of pectin on molecular structural changes in starch during digestion [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017. 69: 10-18.
- [55] Biliaderis C G, Maurice T J, Vose J R. Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry [J]. *Journal of Food Science*, 2006. 45(6): 1669-1674.
- [56] Boente R F, Ferreira L Q, Falcao L S, et al. Detection of resistance genes and susceptibility patterns in bacteroides and parabacteroides strains [J]. *Anaerobe*, 2010. 16(3): 190-194.
- [57] Bordenave N, Janaswamy S, Yao Y. Influence of glucan structure on the swelling and leaching properties of starch microparticles [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014. 103: 234-243.
- [58] Brennan C S, Kuri V, Tudorica C M. Inulin-enriched pasta: Effects on textural properties and starch degradation [J]. *Food Chemistry*, 2004. 86(2): 189-193.
- [59] Cáceres E, García M L, Toro J, et al. The effect of fructooligosaccharides on the sensory characteristics of cooked sausages - sciencedirect [J]. *Meat Science*, 2004. 68(1): 87-96.
- [60] Chaisawang M, Supphantharika M. Pasting and rheological properties of native and anionic tapioca starches as modified by guar gum and xanthan gum [J]. *Food Hydrocolloids*, 2006. 20(5): 641-649.
- [61] Chen C, Huang Q, Fu X, et al. In vitro fermentation of mulberry fruit polysaccharides by human fecal inocula and impact on microbiota [J]. *Food & Function*, 2016. 7(11): 4637-4643.
- [62] Chen G, Xie M, Wan P, et al. Digestion under saliva, simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation in vitro by human intestinal microbiota of polysaccharides from fuzhuan brick tea [J]. *Food Chemistry*, 2018. 244: 331-339.
- [63] Chen L, Tong Q, Ren F, et al. Pasting and rheological properties of rice starch as affected by pullulan [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014. 66: 325-331.
- [64] Chi C, Li X, Zhang Y, et al. Understanding the mechanism of starch digestion mitigation by rice protein and its enzymatic hydrolysates [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018. 84: 473-480.
- [65] Costabile A, Klinder A, Fava F, et al. Whole-grain wheat breakfast cereal has a prebiotic effect on the human gut microbiota: A double-blind, placebo-controlled, crossover study [J]. *British Journal of Nutrition*, 2008. 99(1): 110-120.
- [66] Daihan S, Bhat R S. Impact of propionic acid on liver damage in rats [J]. *International Journal of Molecular Cellular Medicine*, 2015. 4(3): 188-195.
- [67] Demirci M, Tokman H B, Taner Z, et al. Bacteroidetes and firmicutes levels in gut microbiota and effects of hosts tlr2/tlr4 gene expression levels in adult type 1 diabetes patients in istanbul, turkey [J]. *Journal of Diabetes its Complications*, 2020. 34(2): 107449.
- [68] Ding L, Zhang B, Tan C P, et al. Effects of limited moisture content and storing temperature on retrogradation of rice starch [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019. 137:

1068-1075.

[69] Ding Q, Nie S, Hu J, et al. In vitro and in vivo gastrointestinal digestion and fermentation of the polysaccharide from *ganoderma atrum* [J]. *Food Hydrocolloids*, 2017. 63: 646-655.

[70] Dun H, Liang H, Zhan F, et al. Influence of o/w emulsion on gelatinization and retrogradation properties of rice starch [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020. 103: 105652.

[71] Englyst H N, Kingman S M, Cummings J H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1992. 46: 33-50.

[72] Franck A. Technological functionality of inulin and oligofructose [J]. *British Journal of Nutrition*, 2002. 87(2): 287-291.

[73] Fu X, Cao C, Ren B, et al. Structural characterization and in vitro fermentation of a novel polysaccharide from *sargassum thunbergii* and its impact on gut microbiota [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018. 183: 230-239.

[74] Furukawa S, Tanaka K, Masumura T, et al. Influence of rice proteins on eating quality of cooked rice and on aroma and flavor of sake [J]. *Cereal Chemistry*, 2006. 83(4): 439-446.

[75] Galdino F, Andrade M, Barros P, et al. Pretreatment and treatment with fructo-oligosaccharides attenuate intestinal mucositis induced by 5-fu in mice [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018. 49: 485-492.

[76] Guergoletto K B, Costabile A, Flores G, et al. In vitro fermentation of juçara pulp (*euterpe edulis*) by human colonic microbiota [J]. *Food Chemistry*, 2016. 196: 251-258.

[77] Gullón B, Gullón P, Tavaría F, et al. Structural features and assessment of prebiotic activity of refined arabinoxyloligosaccharides from wheat bran [J]. *Journal of Functional Foods*, 2014. 6: 438-449.

[78] Hou C, Zhao X, Tian M, et al. Impact of water extractable arabinoxylan with different molecular weight on the gelatinization and retrogradation behavior of wheat starch [J]. *Food Chemistry* 2020. 318: 126477.

[79] Hou C, Zhao X, Tian M, et al. Impact of water extractable arabinoxylan with different molecular weight on the gelatinization and retrogradation behavior of wheat starch [J]. *Food Chemistry*, 2020. 318: 126477.

[80] Hu W, Chen J, Zhao J, et al. Effect of the addition of modified starch on gelatinization and gelation properties of rice flour [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020. 153: 26-35.

[81] Hu Y, He C, Zhang M, et al. Inhibition from whey protein hydrolysate on the retrogradation of gelatinized rice starch [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020. 108: 105840.

- [82] Huang F, Hong R, Yi Y, et al. In vitro digestion and human gut microbiota fermentation of longan pulp polysaccharides as affected by lactobacillus fermentum fermentation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020. 147: 363-368.
- [83] Huang F, Liu Y, Zhang R, et al. Structural characterization and in vitro gastrointestinal digestion and fermentation of litchi polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019. 140: 965-972.
- [84] Ishwarya S P, Prabhasankar P. Fructooligosaccharide – retention during baking and its influence on biscuit quality [J]. Food Bioscience, 2013. 4: 68-80.
- [85] Ji Y, Su A, Ma G, et al. Comparison of bioactive constituents and effects on gut microbiota by in vitro fermentation between ophiocordyceps sinensis and cordyceps militaris [J]. Journal of Functional Foods, 2020. 68: 103901.
- [86] Karim A A, Norziah M H, Seow C C. Methods for the study of starch retrogradation [J]. Food Chemistry, 2009. 71(1): 9-36.
- [87] Kumar, Ganesh C. Status and future prospects of fructooligosaccharides as nutraceuticals [J]. Role of Materials in Food Bioengineering, 2018. 451-503.
- [88] Lee J S, Cho S M, Kim B K, et al. Development of a cooked rice model for bibimbap and resulting physico-digestive properties [J]. Food Science Biotechnology, 2016. 25(2): 489-495.
- [89] Li C, You Y, Chen D, et al. A systematic review of rice noodles: Raw material, processing method and quality improvement - sciencedirect [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020. 107: 389-400.
- [90] Li Q, Wang Y, Chen H, et al. Retardant effect of sodium alginate on the retrogradation properties of normal cornstarch and anti-retrogradation mechanism [J]. Food Hydrocolloids, 2017. 69: 1-9.
- [91] Li Y, Duan R, Shi F, et al. Effects of high-temperature air fluidization (htaf) on the structural, functional, and in vitro digestive properties of corn [J]. Starch - Stärke, 2017. 69(5-6): 1600137.
- [92] Liu R, Xu C, Cong X, et al. Effects of oligomeric procyanidins on the retrogradation properties of maize starch with different amylose/amylopectin ratios [J]. Food Chemistry, 2017. 221: 2010-2017.
- [93] Long S, Peishan L, Huiqing W, et al. Tapioca starch-pullulan interaction during gelation and retrogradation [J]. LWT - Food Science Technology, 2018. 96: 432-438.
- [94] Mao W, Han Y, Wang X, et al. A new engineered endo-inulinase with improved activity and thermostability: Application in the production of prebiotic fructo-oligosaccharides from inulin [J]. Food Chemistry, 2019. 294: 293-301.
- [95] Martinez I, Kim J, Duffy P R, et al. Resistant starches types 2 and 4 have differential effects on

- the composition of the fecal microbiota in human subjects [J]. PLoS ONE, 2010. 5(11).
- [96] Meng L, Zhang W, Wu Z, et al. Effect of pressure-soaking treatments on texture and retrogradation properties of black rice [J]. LWT - Food Science and Technology, 2018. 93: 485-490.
- [97] Mineo H, Amita N, Kawawake M, et al. Dicarboxylic acids with limited numbers of hydrocarbons stabilize cell membrane and increase osmotic resistance in rat erythrocytes [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2013. 1828(11): 2379-2384.
- [98] Miwa S, Kuroda A, Oda H, et al. The relationship between the sensory properties of cooked rice and the water uptake of raw rice [J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2002. 49(1): 32-39.
- [99] Mutanda T, Mokoena M P, Olaniran A O, et al. Microbial enzymatic production and applications of short-chain fructooligosaccharides and inulooligosaccharides: Recent advances and current perspectives [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2014. 41(6): 893-906.
- [100] Nagano T, Tamaki E, Funami T. Influence of guar gum on granule morphologies and rheological properties of maize starch [J]. Carbohydrate Polymers, 2008. 72(1): 95-101.
- [101] Niu L, Wu L, Xiao J. Inhibition of gelatinized rice starch retrogradation by rice bran protein hydrolysates [J]. Carbohydrate Polymers, 2017. 175: 311-319.
- [102] Owolabi I, Dat-arun P, Yupanqui C, et al. Gut microbiota metabolism of functional carbohydrates and phenolic compounds from soaked and germinated purple rice [J]. Journal of Functional Foods, 2020. 66: 103787.
- [103] Palacios H R, Schwarz P B, D'Appolonia B L. Effects of α -amylases from different sources on the firming of concentrated wheat starch gels: Relationship to bread staling [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2004. 52: 5987-5994.
- [104] Park E Y, Jang S B, Lim S T. Effect of fructo-oligosaccharide and isomalto-oligosaccharide addition on baking quality of frozen dough [J]. Food Chemistry, 2016. 213(15): 157-162.
- [105] Pham T, Teoh K T, Savary B J, et al. In vitro fermentation patterns of rice bran components by human gut microbiota [J]. Nutrients, 2017. 9(11): 1237.
- [106] Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. As nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors [J]. Clinical Microbiology Reviews, 1998. 11(4): 589-603.
- [107] Ratnayake W S, Hoover R, Shahidi F, et al. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of starches from four field pea (pisum sativum L.) cultivars [J]. Food Chemistry, 2001. 74(2): 189-202.
- [108] Rover M R, Johnston P A, Lamsal B P, et al. Total water-soluble sugars quantification in bio-oil using the phenol-sulfuric acid assay [J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2013. 104:

194-201.

- [109] Sheng L, Tang G, Su P, et al. Understanding the influence of tween 80 on pullulan fermentation by *aureobasidium pullulans* cgmcc1234 [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016. 136: 1332.
- [110] Silva D, Sardi J, Pitangui N, et al. Probiotics as an alternative antimicrobial therapy: Current reality and future directions [J]. *Journal of Functional Foods*, 2020. 73: 104080.
- [111] Sitakalin C, Meullenet J F C. Prediction of cooked rice texture using extrusion and compression tests in conjunction with spectral stress strain analysis [J]. *Cereal Chemistry*, 2000. 77(4): 501-506.
- [112] Soki J, Wybo I, Hajdu E, et al. A europe-wide assessment of antibiotic resistance rates in *bacteroides* and *parabacteroides* isolates from intestinal microbiota of healthy subjects [J]. *Anaerobe*, 2020. 62: 102182.
- [113] Su H, Tu J, Zheng M, et al. Effects of oligosaccharides on particle structure, pasting and thermal properties of wheat starch granules under different freezing temperatures [J]. *Food Chemistry*, 2020. 315: 126209.
- [114] Sullivan A C, Pangloli P, Dia V P. Impact of ultrasonication on the physicochemical properties of sorghum kafirin and in vitro pepsin-pancreatin digestibility of sorghum gluten-like flour [J]. *Food Chemistry*, 2018. 240: 1121-1130.
- [115] Sun Q, Zhu L, Li Y, et al. A novel inulin-type fructan from *asparagus cochinchinensis* and its beneficial impact on human intestinal microbiota [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020. 247: 116761.
- [116] Tamura M, Okazaki Y, Kumagai C, et al. The importance of an oral digestion step in evaluating simulated in vitro digestibility of starch from cooked rice grain [J]. *Food Research International*, 2017. 94: 6-12.
- [117] Tang M, Hong Y, Gu Z, et al. The effect of xanthan on short and long-term retrogradation of rice starch [J]. *Starch - Stärke*, 2013. 65: 702-708.
- [118] Tian Y, Li Y, Manthey F A, et al. Influence of β -cyclodextrin on the short-term retrogradation of rice starch [J]. *Food Chemistry*, 2009. 116(1): 54-58.
- [119] Topping D L, Clifton P M. Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides [J]. *Physiological Reviews*, 2001. 81(3): 1031-1064.
- [120] Wang L, Duan W, Zhou S, et al. Effects of extrusion conditions on the extrusion responses and the quality of brown rice pasta [J]. *Food Chemistry*, 2016. 204: 320-325.
- [121] Wang S, Li C, Copeland L, et al. Starch retrogradation: A comprehensive review [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 2015. 14(5): 568-585.
- [122] Wang Y, Chen G, Peng Y, et al. Simulated digestion and fermentation in vitro with human gut microbiota of polysaccharides from *coralline pilulifera* [J]. *LWT - Food Science and Technology*,

2019. 100: 167-174.

[123] Xiao J, Zhong Q. Suppression of retrogradation of gelatinized rice starch by anti-listerial grass carp protein hydrolysate [J]. Food Hydrocolloids, 2017. 72: 338-345.

[124] Yu M, Xu Z, Ji N, et al. Inhibition of normal and waxy corn starch retrogradation by sodium borohydride [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020. 153: 341-348.

[125] Yu S, Ma Y, Sun D-W. Impact of amylose content on starch retrogradation and texture of cooked milled rice during storage [J]. Journal of Cereal Science, 2009. 50(2): 139-144.

[126] Zeng J, Hu Y, Gao H, et al. Fructooligosaccharides impact on the hydration and retro-gradation of wheat starch and gel [J]. International Journal of Food Properties, 2016. 19(12): 2682-2692.

[127] Zhang B, Bai B, Pan Y, et al. Effects of pectin with different molecular weight on gelatinization behavior, textural properties, retrogradation and in vitro digestibility of corn starch [J]. Food Chemistry, 2018. 264: 58-63.

[128] Zhang G, Venkatachalam M, Hamaker B R. Structural basis for the slow digestion property of native cereal starches [J]. Biomacromolecules, 2006. 7(11): 3259-3266.

[129] Zhang H, Sun B, Zhang S, et al. Inhibition of wheat starch retrogradation by tea derivatives [J]. Carbohydrate Polymers, 2015. 134: 413-417.

[130] Zhang Y, Chen C, Chen Y, et al. Effect of rice protein on the water mobility, water migration and microstructure of rice starch during retrogradation [J]. Food Hydrocolloids, 2019. 91: 136-142.

[131] Zhao R, Yang W, Pei F, et al. In vitro fermentation of six kinds of edible mushrooms and its effects on fecal microbiota composition [J]. LWT - Food Science and Technology, 2018. 96: 627-635.

[132] Zhao S, Peng X, Zhou Q, et al. Bacillus coagulans 13002 and fructo-oligosaccharides improve the immunity of mice with immunosuppression induced by cyclophosphamide through modulating intestinal-derived and fecal microbiota [J]. Food Research International, 2020. 140: 109793.

[133] Zheng M, Su H, You Q, et al. An insight into the retrogradation behaviors and molecular structures of lotus seed starch-hydrocolloid blends [J]. Food Chemistry, 2019. 295: 548-555.

[134] Zheng W, Wang K, Sun Y, et al. Dietary or supplemental fermentable fiber intake reduces the presence of clostridium xi in mouse intestinal microbiota: The importance of higher fecal bacterial load and density [J]. PLoS ONE, 2018. 13(10): e0205055.

[135] Zhong Y, Xiang X, Zhao J, et al. Microwave pretreatment promotes the annealing modification of rice starch [J]. Food Chemistry, 2020. 304: 125432-125432.

[136] Zhu Y, Dong L, Huang L, et al. Effects of oat β -glucan, oat resistant starch, and the whole oat flour on insulin resistance, inflammation, and gut microbiota in high-fat-diet-induced type 2 diabetic rats [J]. Journal of Functional Foods, 2020. 69: 103939.

后记

三年的时间转瞬即逝，在这段时光里有欢笑，有泪水，有汗水，会成为今后我们人生中美好的回忆。

在此我非常感谢我的指导老师裴斐副教授，在老师的指导和督促下，我慢慢开始独立思考，学会论文写作，能够按时完成实验进度。在生活中也时常鼓励和帮助任何一名学生，是一位称职的好老师。

其次，对我们课题组的苏安祥老师、马高兴老师、马宁老师、方勇老师、杨文建老师说声感谢，感谢在科研和写作中给予我的帮助。感谢周剑敏、樊艳、夏季、姚轶俊、薛梅、李浩丽老师，非常耐心的提供仪器指导和讲解实验操作。感谢仲磊、赵瑞秋、王月莹、肖坤鹏、纪阳、董禹彤、吴剑等师兄师姐在科研和日常生活中给我带来的帮助与欢乐。

在学习和生活中，我要感谢与我一起奋斗在实验室的同窗好友：于弋涵、黄沁沁、邵志颖、王鹤潼、熊超平、巩碧钏、吴红影、陈雨婷、孙磊、左常洲、陶天艺、徐圆程、张军淼、朱益清、王超在研究生生涯中的陪伴、鼓励与支持。我还要感谢我的舍友们的陪伴，我们互相鼓励、互相安慰，共同进步。感谢在实验和学习生活中给与我帮助的师弟师妹们：韩萍、杜逸飞、潘泓杉、李文、周志成等。最后，感谢我的家人对在学习和生活上无条件的支持。

此论文受国家重点研发计划项目（项目编号：2018YFD0400500）资助。

最后告诫自己，毕业不仅仅是结束，青年人任重而道远。

倪晓蕾

2021年3月于南京财经大学

攻读硕士期间学术成果

1. 裴斐, **倪晓蕾**, 仲磊, 杨文建, 姚轶俊, 马宁, 方勇, 胡秋辉. 3 种功能性甜味剂对大米蒸煮品质和消化特性的影响 [J]. 食品科学, 2019. (24): 74-80.
2. 裴斐, **倪晓蕾**, 孙昕炆, 杜逸飞, 杨文建, 方勇, 胡秋辉. 低聚果糖对大米淀粉回生特性的影响 (食品科学, 已接收).
3. Fei Pei, **Xiaolei Ni**, Xinyang Sun, Yijun Yao, Yong Fang, Wenjian Yang, Qiuhui Hu. Effect of cooked rice with added fructo-oligosaccharide on faecal microorganisms investigated by in vitro digestion and fermentation (International Food Research Journal, under review).