龙眼-枸杞-红枣营养餐粉的研制及其 体外调节肠道菌群作用

黄菲¹,周文君^{1,2},易阳²,张名位¹,张瑞芬¹,刘磊¹,贾栩超¹,陈燕霞¹,池建伟^{1*} (1.广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所、农业农村部功能食品重点实验室、广东省农产品加工重点实验室、广东广州 510610)(2.武汉轻工大学食品科学与工程学院、湖北武汉 430023)

摘要:为开发一款具有调节肠道菌群功效的营养餐粉,该研究以龙眼干、枸杞干和红枣干为原料,通过正交试验优化确定 3 种原料的粉碎工艺,采用混料设计辅以其他营养配料,以流动性、稳定性、感官评分等为指标,确定龙眼-枸杞-红枣营养餐粉的最佳配方,并评价其对肠道菌群的调节作用。结果表明,3 种原料粉碎制得复合果粉的工艺为:乳清蛋白为辅料,原辅料比 1:1.5,冷冻超微粉碎时间 150 s,其中 3 种原料配比为龙眼干:枸杞干:红枣干为 3.59:4.60:1。混料设计确定营养餐粉的配方比例:复合果粉 50%、全脂奶粉 5%、植物脂肪粉 5%、大米膨化粉 10%、麦芽糊精 30%。该配方得到的龙眼-枸杞-红枣营养餐粉冲调性好、稳定性强、感官较佳、营养均衡。该餐粉能显著促进乳酸杆菌属、双歧杆菌属、拟杆菌属和阿克曼氏菌 4 种肠道菌的增殖,且促进肠道短链脂肪酸,尤其是乙酸和丁酸的产生,由此表明龙眼-枸杞-红枣营养餐粉具有调节肠道菌群作用。

关键词: 龙眼; 枸杞; 红枣; 营养餐粉; 肠道菌群

文章篇号: 1673-9078(2022)02-143-154

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.2.0611

Development of Longan-Goji-Jujube Nutritional Meal Replacement

Powder and Its Regulatory Effects on Intestinal Microbiota in vitro

HUANG Fei¹, ZHOU Wenjun^{1,2}, YI Yang², ZHANG Mingwei¹, ZHANG Ruifen¹, LIU Lei¹, JIA Xuchao¹, CHEN Yanxia¹, CHI Jianwei^{1*}

(1.Sericultural and Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products

Processing, Guangzhou 510610, China)

(2. College of Food Science & Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: Dried longan, dried goji, and dried jujube were used as raw materials to develop a nutritional meal replacement powder that could regulate the intestinal flora. The process of crushing these raw materials was optimized and evaluated using an orthogonal experimental design. Other nutritional ingredients were added using a mixture design. Next, fluidity, stability, and sensory scores were used as testing indicators to determine the optimal formulation of the longan-goji-jujube nutritional meal replacement powder. In addition, the effect of the nutritional meal replacement powder on the intestinal flora was evaluated. The results showed that the optimal processing of the compound fruit powder was as follows: using whey protein as a supplemental material, the mass ratio of raw material to supplemental material was 1:1.5, and the freezing ultrafine grinding time was 150 s. The ratio of the 3 raw materials was dried longan: dried goji: dried jujube=3.59:4.60:1. The

引文格式:

黄菲,周文君,易阳,等,龙眼-枸杞-红枣营养餐粉的研制及其体外调节肠道菌群作用[J],现代食品科技,2022,38(2):143-154,+244

HUANG Fei, ZHOU Wenjun, YI Yang, et al. Development of Longan-Goji-Jujube nutritional meal replacement powder and its regulatory effects on intestinal microbiota *in vitro* [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(2): 143-154, +244

收稿日期: 2021-06-09

基金项目:国家重点研发计划项目(2019YFD1002300);广东省引进创新创业团队项目(2019BT02N112);广东省科技专项资金项目(mmk j2020001);广东省农业科学院农业优势产业学科团队建设项目(20210BTD)

作者简介: 黄菲(1987-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品营养, E-mail: hf1311@163.com

通讯作者: 池建伟(1963-),男,研究员,研究方向: 功能食品开发,E-mail: Jianweichi@126.com

nutritional meal replacement powder was developed based on the proportion of the mixture design. The optimal proportion of longan-goji-jujube nutritional meal replacement powder was determined using a mixture design as follows: 50% compound fruit powder, 5% whole milk powder, 5% plant fat powder, 10% puffed rice powder, and 30% maltodextrin powder. The obtained longan-goji-jujube nutritional meal replacement powder showed good stability, sensory scores, and nutritional balance. The longan-goji-jujube nutritional meal replacement powder significantly promoted the growth of members from *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Bacteroides* and *Akkermansia muciniphila*, as well as the production of short-chain fatty acids, particularly acetic acid and butyric acid. Thus, the longan-goji-jujube nutritional meal replacement powder showed regulatory effects on the intestinal microbiota *in vitro*.

Key words: longan; goji; jujube; nutritious meal replacement powder; intestinal microbiota

肠道菌群与人体健康紧密相关,肠道菌群失衡不仅会诱发肠道炎症,影响机体免疫,还会参与其他一些疾病如肥胖、糖尿病的发病过程^[1,2]。目前,肠道菌群的调节制剂主要集中在增加益生菌的摄入。然而,益生菌存在存活率低、货架期短、在胃液中不耐受、定殖困难等问题。益生元作为一种调节肠道菌群的膳食补充剂,可在一定程度上缓解肠道菌群失调问题。目前市场上的益生元产品主要为功能性低聚糖类产品,其他类型的益生元产品缺乏。植物多糖作为一种新型益生元,其调节肠道菌群的功效逐渐被人们认识。开展植物多糖益生元及相应产品研发可丰富益生元产品类型,对提高人体健康水平具有重要的意义。

龙眼、枸杞和红枣都是典型的食药同源资源,具有补虚长智、益精明目、养血安神等功效,研究发现多糖是其主要功能因子,龙眼、枸杞和红枣的改善肠道功能、免疫调节等功效与其多糖调节肠道菌群有关 [3-5]。龙眼多糖、枸杞多糖、红枣多糖作为潜在的天然益生元,通过调节肠道菌群、促进短链脂肪酸生成,发挥调节肠道免疫的作用。本研究在前期发现龙眼多糖、枸杞多糖和红枣多糖具有协同益生活性的基础上 [6],拟以龙眼、枸杞和红枣为原料,开发一款具有调节肠道菌群功效的营养餐粉。

龙眼干、枸杞干、红枣干具有高糖高粘特点,难以直接制粉。因此,本研究首先通过添加大豆蛋白粉、抗性糊精、乳清蛋白等辅料,采用冷冻超微粉碎制得复合果粉,进一步采用混料设计辅以其他营养配料,以流动性、稳定性、感官评分等为考察指标,研发龙眼-枸杞-红枣营养餐粉,并评价其调节肠道菌群功效的营养餐粉,为相关产品研发提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

龙眼干产地广东,品种为"储良";枸杞干产地宁夏,品种为"宁夏枸杞";红枣干产地新疆,品种为"灰

枣",以上三种原料购自广州天平架水果市场;大米膨化粉、抗性糊精、麦芽糊精、乳清蛋白、大豆分离蛋白、全脂奶粉、菊粉,广州力衡临床营养品有限公司;植物脂肪粉,青岛海智源生命科技有限公司;乙酸、丙酸、正丁酸(色谱纯标准品),上海麦克林生化科技有限公司;Solution I 快速连接液,日本 Takara 公司。其他试剂均为国产分析纯。

GHRH-20 热泵干燥机,广东省农业机械研究所; XDW-6B1 振动式细胞级超微粉碎机,济南达微机械有限公司; SX2-5-12N 马弗炉,上海一恒科学仪器有限公司; SOX416 脂肪测定仪,德国 Gerhardt 分析仪器有限公司; Bio Tek Gen5 酶标仪,美国伯腾仪器有限公司; Biofuge Stratos Sorvall 高速冷冻离心机,美国 Thermo Fisher 公司; StarchMaster2 RVA 快速粘度仪,瑞典 Perten(波通)公司; GC-2010Plus 气相色谱仪,日本岛津公司; CFX96 定量 PCR 仪,美国 Bio-Rad 公司; 洁净工作台,苏净安泰公司; K5500 紫外分光光度计,北京凯奥公司。

1.2 试验方法

1.2.1 复合果粉粉碎工艺优化

表 1 正交试验因素水平

Table 1 Factors and their levels of orthogonal test

水平	因素								
70-1	辅料	原辅料质量配比	冷冻超微粉碎时间/s						
1	大米膨化粉	1:0.5	30						
2	抗性糊精	1:1	90						
3	麦芽糊精	1:1.5	150						
4	乳清蛋白	1:2	210						
5	大豆分离蛋白	1:2.5	270						

根据前期发现龙眼多糖、枸杞多糖和红枣多糖具有协同益生活性的最佳质量配比(龙眼多糖:枸杞多糖:红枣多糖=2:3:1)及其多糖得率(龙眼多糖得率 1.59%,枸杞多糖得率 1.84%,红枣多糖得率 4.07%) 计算龙眼干、枸杞干和红枣干的质量比为 3.59:4.60:1^[6]。将 3种原料混合后,选择大米膨化粉、抗性糊精、麦芽糊精、乳清蛋白或大豆分离蛋白作为辅料。将原料与辅

料按一定比例配比,进行冷冻超微粉碎,采用正交试验优化制粉工艺。选择原辅料质量配比与冷冻超微粉碎时间为变量,具体设计见表 1,以过筛率和吸湿率为考察指标,利用 L_{25} (5^6) 正交表设计的实验分组进行实验。检测复合果粉的过筛率和吸湿率,根据公式(1) 和(2) 计算综合评分,以综合评分作为考察指标优化制粉工艺 $^{[7]}$ 。

综合评分=过筛隶属度 × 0.5 + 吸湿率隶属度 × 0.5 (2)

1.2.2 龙眼-枸杞-红枣营养餐粉的配方优化

采用软件 Design Expert 8.0.6 中 D-最优混料试验 (D-optimal)设计,固定复合果粉为 50 g,配料为 50 g,根据预实验结果,确定配料中全脂奶粉、植物脂肪粉、大米膨化粉和麦芽糊精的添加水平范围,即各辅料占配料的质量比值范围,结合软件设计得到的 20个配方,采用综合评分法对不同配方营养餐粉的流动性、粘结性、水溶性、吸水性、持油能力、粘度、稳定性、分散稳定时间、感官评分进行权重评分。混料试验因素和水平范围见表 2。

表 2 混料试验因素和水平范围(质量比值)

Table 2 Factors and their levels of mixture design test

因素	最低值	最高值
A(全脂奶粉)	0.10	0.40
B(植物脂肪粉)	0.00	0.10
C(大米膨化粉)	0.20	0.70
D (麦芽糊精)	0.20	0.70

1.2.3 粉体特性测定

1.2.3.1 过筛率测定

过筛率可以表示粉体颗粒的粒径大小,间接反映 粉体物料的结块性。过筛率越小,说明粉体颗粒粒径 越大,粉体物料结块程度越严重。

在环境相对湿度 40%、温度 25 \mathbb{C} 条件下,准确 称取 10 g 样品,通过 90 目标准筛,称量筛下物重量^[8]。

过筛率/%=
$$\frac{$$
筛下物重量(g)} 样品重量(g) × 100% (3)

1.2.3.2 吸湿率测定

吸湿率反映粉剂产品在贮存过程中,由于吸收环境中水分而导致结块的程度。吸湿率越小说明产品越不易吸收水分,产品质量越稳定。

用恒重称量皿准确称取 2 g 样品,打开盖子置于内有 NaCl 饱和溶液的干燥器中 (相对湿度=57.28%),于 25 \mathbb{C} 放置 24 $h^{[9]}$ 。

1.2.3.3 流动性和粘结性测定

参照 $Carr^{[10]}$ 和 $Hausner^{[11]}$ 等人的方法测定不同配比营养餐粉的流动性和粘结性。取一定量的样品,倒入预先称重的 25 mL 量筒中,加样品至 25 mL 时记录此时粉体体积数 V_1 (mL),将量筒置于涡旋振动器上振动 2 min 以排除颗粒间的间隙,记录此时粉体体积数 V_2 (mL)。以 Carr's 指数 (Carr Index, CI) 和 Hausner 比(Hausner Ratio,HR)表示的粉末流动性和粘结性分级见表 <math>3,不同配比营养餐粉的流动性和粘结性指数根据 CI 和 HR 计算,计算公式如下:

$$CI / \% = \frac{V_1 - V_2}{V_1} \times 100\%$$
 (5)

HR / % =
$$\frac{V_2}{V_1} \times 100\%$$
 (6)

表 3 基于 CI 和 HR 指标分级的粉末流动性和粘结性

Table 3 Classification of powder flowability and cohesiveness

based o	based on Carr index and Hausner ratio									
CI/%	流动性	HR/%	粘结性							
<15	非常好	<1.2	低							
15~20	好	~1.2	164							
20~35	一般	1.2 ~ 1.4	介于中间							
35~45	不好	>1 4	古							
>15	非党不好	~1.4	高							

1.2.3.4 吸水性和水溶性测定

参考 Anderson 等人 $^{[12]}$ 的方法测定不同配比营养 餐粉的吸水性指数(Water absorbability index,WAI)和水溶性指数(Water solubility index,WSI)。称取 2.5 g 的样品(M_1),放入 50 mL 离心管(M_2)中,再加入 30 mL 蒸馏水,涡旋振动均匀后,以 200 r/min 速率振摇 30 min,然后以 4000 r/min,离心 15 min,上 清液到入恒重干燥皿(M_3)中,放入 105 $^{\circ}$ C烘箱中干燥至恒重(M_4);离心后的沉淀物直接称重(M_5)。 WAI 和 WSI 的计算公式如下:

$$WSI / \% = \frac{M_4 - M_2}{M_1} \times 100\% \tag{7}$$

$$WAI / (g / g) = \frac{M_5 - M_2}{M_1}$$
 (8)

式中:

*M*₁——样品质量, g;

 M_2 ——离心管质量, g;

 M_3 ——恒重干燥皿质量,g;

 M_4 ——上清液干燥后和干燥皿的质量, g;

 M_5 ——沉淀物和离心管质量,g。

1.2.3.5 粘度测定

样品粘度的测定:参考 GB/T 24852-2010,采用

快速粘度仪法测定。

1.2.3.6 稳定性测定

称取 10 g 样品置于 150 mL 量筒中,量取 $80~90 \text{ }^{\circ}$ 的蒸馏水 100 mL 倒入量筒中搅拌,静置 120 min,测量上清液体积 h 和冲调液总体积 H,得到冲调稳定性 K 值,K 值越小,稳定性越高^[13]。K 按照下式计算:

$$K = \frac{h}{H} \tag{9}$$

式中:

h——上清液体积, mL;

H——冲调液总体积, mL。

1.2.3.7 分散稳定时间

取 2.5 g 样品,溶于 25 mL 蒸馏水中,搅拌震荡均匀,转移到 100 mL 量筒内,记录开始静置时间到溶液分层时间;重复三次,取其平均值,作为该样品分散稳定时间^[14]。

1.2.3.8 感官评价

将龙眼-枸杞-红枣营养餐粉与 80 ℃的蒸馏水以 1:4(g/mL)的比例冲调搅拌 1~2 min 后进行感官评价,指标包括色泽与形态、香气、口感和滋味。感官评价评分标准见表 4。

表 4 感官评价评分标准

Table 4 Sensory evaluation scoring criteria

Tubi	c 4 Schsory evaluation scoring criteria	
指标	标准	评分
4 12 1- 11 1-	橙黄色均匀鲜亮,无结块	14~20
色泽与形态 (20分)	淡黄色, 较均匀, 少量结块	6~13
(20),)	灰白色,不均匀,大量结块	<6
·	 有龙眼、枸杞、红枣的香气	14~20
香气 (20分)	香味不纯正,有大米粉、奶粉的味道	6~13
(20),)	有霉变、酸败、苦味或其它异味	<6
t-	口感细腻,粗细均一,入口顺滑	20~30
口感 (30分)	口感较细腻,有颗粒感	10~19
(30%)	口感粗糙,入口不舒适	10
·	 酸甜适宜,滋味浓	20~30
(30分)	味道一般,有大米粉、奶粉滋味	10~19
	甜比例失调, 过甜或滋味寡淡	10

1.2.3.9 综合评分

参照刘玉环^[15]和何梦影^[16]等研究中的评分方法,对产品吸水性、水溶性、粘度、稳定性、分散稳定时间、感官评价的权重进行分值分配。水溶性和吸水性主要影响营养餐粉的冲调特性;稳定性和分散稳定时间主要是考察营养餐粉冲调后的稳定性能;结合流动性、粘结性、黏度、感官评分等指标来整体评价营养餐粉的产品特性。由于流动性和粘结性的模型并不显著,所以不考察其分值,仅作为营养餐粉的参考指标。

吸水性和水溶性作为粉体冲调性的重要指标,提高其权重;分散稳定时间直接反映了粉体冲调后的稳定性能,感官品质是营养餐粉重要的商业指标,也分别提高权重。根据综合评分方法:

(1) 吸水性指数评分(满分20分)的计算公式为:

$$WAI = 20 \times (WAI_{act} / WAI_{max}) \tag{10}$$

式中:

 WAI_{act} ——实测吸水性指数值, g/g;

 WAI_{max} ——所测吸水性指数的最大值,g/g。

(2) 水溶性指数评分(满分20分)的计算公式为:

$$WSI = 20 \times (WSI_{act} / WSI_{max})$$
 (11)

式中:

WSIact--实测水溶性指数值,%;

WSI_{max}——所测水溶性指数的最大值,%。

(3) 粘度评分(满分10分)的计算公式为:

$$R = 10 \times (R_{\min} / R_{\text{act}}) \tag{12}$$

式中·

 R_{\min} ——所测粘度的最小值, RUV;

 $R_{\rm act}$ ——实测粘度值,RUV。

(4) 稳定性评分(满分10分)的计算公式为:

$$K = 10 \times (K_{\text{act}} / K_{\text{max}}) \tag{13}$$

式中:

 K_{act} ——实测稳定性值;

 K_{max} ——所测稳定性的最大值。

(5) 分散稳定时间评分(满分20分)的计算公式为:

$$T = 20 \times (T_{\text{act}} / T_{\text{max}}) \tag{14}$$

式中:

 $T_{\rm act}$ ——实测分散稳定时间值, min;

 T_{max} ——所测分散稳定时间的最大值, min.

(6) 感官评分(满分20分)的计算公式为:

$$G = 10 \times (G_{\text{act}} / G_{\text{max}}) \tag{15}$$

式中:

 G_{act} ——实测感官评分;

 G_{max} ——所测感官评分的最大值。

(7) 综合评分 (满分 100 分) 的计算公式为:

$$Y = WAI + WSI + R + K + T + G \tag{16}$$

1.2.4 营养餐粉成分检测

- (1) 水分含量的测定:参考 GB 5009.3-2016, 105 ℃烘箱干燥法。
- (2) 粗蛋白含量的测定:参考 GB 5009.5-2016, 凯氏定氮法。
 - (3) 粗脂肪含量的测定:参考 GB 5009.6-2016,

索氏抽提法。

- (4) 灰分含量的测定: 参考 GB 5009.4-2016, 灼 烧法。
 - (5) 碳水化合物含量的测定:

碳水化合物含量/%=1-(水分含量+粗蛋白含量+粗脂肪含

- (6) 多糖含量: 参考 SN-T 4260-2015, 苯酚-硫 酸法[17]。
- (7) 总热量参考卫生部印发的《食品营养标签管 理规范》[18], 计算公式见式(18):

总热量 (kcal)=
$$\frac{C \times 17 + P \times 17 + F \times 37}{4.184}$$
 (18)

式中:

C——碳水化合物, g;

P---蛋白质, g;

F——脂肪, g。

1.2.5 营养餐粉体外模拟消化酵解

1.2.5.1 体外模拟消化

模拟人体消化液参照 Mills^[19]和 Maccaferri^[20]的方 法制备:模拟口腔液:将3.9g淀粉酶溶于1.25 mL1 mmol/L CaCl₂溶液。模拟胃液:将 3.1 g NaCl、1.1 g KCl、0.15 g CaCl₂、0.6 g NaHCO₃溶于 1 L 蒸馏水中 制得胃电解液;在 150 mL 胃电解液中添加 35.40 g 猪 胃蛋白酶和 1.5 mL 1 mol/L CH₃COONa,用 0.5 mol/L HCl 调 pH=2.0 得到模拟胃液。模拟小肠液:将 5.4 g NaCl、0.65 g KCl、0.25 g CaCl₂溶于 1 L 蒸馏水中制 得小肠电解液;在25 mL 小肠电解液中添加50 mL4% 猪胆汁盐,25 mL7%猪胰腺胰酶上清液,13 g 胰蛋白 酶,用 0.5 mol/L NaOH调 pH=7.0 得到模拟小肠液。

模拟体外消化参照龚凌霄[21]和柳芳伟[22]的方法 进行:将 12 g 龙眼-枸杞-红枣营养餐粉溶于 200 mL 蒸馏水,加入7mL模拟口腔液,在37℃水浴中振摇 30 min 进行模拟口腔消化;再用 6 mol/L HCl 调 pH=2.0, 加入 5 mL 模拟胃液, 在 37 ℃水浴中振摇 2 h 进行模拟胃消化; 再用 6 mol/L NaOH 调 pH=6.8, 加入 25 mL 模拟小肠液,在 37 ℃水浴中振摇 3 h后 倒入1ku的透析袋中透析14h进行模拟小肠消化;将 消化后的营养餐粉冻干得到消化粉。

1.2.5.2 体外模拟酵解

生长培养基制备:将2g蛋白胨、2g酵母提取物、 0.1 g NaCl, 0.04 g K₂HPO₄, 0.04 g KH₂PO₄, 0.01 g MgSO₄·7H₂O、0.01 g CaCl₂、2 g NaHCO₃、0.5 g L-盐 酸半胱氨酸、0.5g胆汁盐、1mg刃天青和2mL吐温 80 溶于 1 L 蒸馏水中,用 1 mol/L 盐酸调节 pH=6.8,

经高压灭菌冷却后备用。

粪便菌悬液制备:选取两位志愿者(普通饮食, 肠道健康,至少3个月没有抗生素治疗史),每人取 10g粪便,将两人的粪便混合均匀后使用 0.1 mol/L 磷 酸盐缓冲溶液稀释(W:V=1:10)后用 4 层纱布过滤得 到人体粪便菌悬液。

体外酵解参照 Guergoletto^[23]的方法进行:实验分 为空白对照组(Black Control, BC)、阳性对照组 (Positive Control, PC)、龙眼-枸杞-红枣营养餐粉组 (CF)。空白对照组添加蒸馏水,阳性对照组添加菊 粉,餐粉组为添加消化后的龙眼-枸杞-红枣营养餐粉, 各组的添加量均为1%。分别将各组0.1 g样品加入9 mL 的生长培养基中,并加入1 mL 人体粪便菌悬液, 培养 24 h, 分别于 0、6、12、24 h 取样, 4000 r/min 离心 10 min, 沉淀和上清液分别于-80 ℃保存待测。

1.2.5.3 有益菌数量的测定

参考石梦玄[24]的方法采用实时荧光定量聚合酶 链式反应(qPCR)对样品中乳酸杆菌属、双歧杆菌属、 拟杆菌属、阿克曼氏菌等细菌进行绝对定量。以上述 4种细菌的特异性扩增引物(表5)采用基因克隆方法 构建相应细菌的质粒标准品,梯度稀释后制作 qPCR 标准曲线。

以总 DNA 为模板,利用特异性引物 (表 5) 进行 qPCR 测定。扩增体系(20 μL): 正、反向引物各 0.5 μL, 2×SsoRobust Tag PCR ProMix 10 μL, 模板 DNA 1 μL, 灭菌水补足至 20 μL。反应程序: 预变性 95 ℃ 3 min; 变性 95 ℃ 10 s; 退火 60 ℃ 30 s; 延伸 72 ℃ 10 s; 35 个循环; 循环结束后继续延伸 72 ℃ 5 min。根 据各细菌的特异性基因标准曲线, 计算出各个样品中 不同细菌的特异性基因拷贝数, 以每毫升酵解液中所 含的不同细菌的特异性基因拷贝数的对数(lg copies/µL)表示菌浓度。

表 5 各基因引物序列

Table 5 Sequence of primers for intestinal microbiota

菌属	引物名称	引物序列 (5'-3')
乳酸杆菌属	LAC-FP	CAGCAGTAGGGAATCTTCCAC
和政们 困 街	LAC-RP	GGCTTCTGGCACGTAGTTAG
双歧杆菌属	BIF-FP	CAATGGCGAAGGCAGGTCT
双设竹围禺	BIF-RP	GCGTGGACTACCAGGGTATCTAATC
 拟杆菌属	BAC-FP	TCGAAAGTGTGGGTATCAAACA
拟竹围偶	BAC-RP	CTGTATATCGCAAACAGCGAGT
阿克曼氏菌	AKK-FP	CAATGCCCAGTACAGAGGGG
門兄叟氏国	AKK-RP	CGTAGCTGATGCGCCATTAC

表 6 正交试验结果和极差分析

Table 6 Orthogonal experiment result and result analysis

四素 A B C 空列1 空列2 空列3 建降率% 吸温率% 評分			Table					it alialysis		
2 1 2 2 2 2 2 2 45.34 5.02 0.21 3 1 3 3 3 3 3 3 62.43 5.32 0.42 4 1 4 4 4 4 4 4 4 63.07 4.22 0.28 5 1 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5.24 6 2 1 2 3 4 5 1 79.46 5.26 0.20 7 2 2 3 4 5 1 2 59.39 5.19 0.38 9 2 4 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 5 2 4 51.1 5.50 0.34 11 3 1 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 11 3 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 11 3 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 11 3 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 11 3 3 3 5 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 11 3 3 3 5 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 11 3 3 3 5 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 11 4 3 4 1 3 5 5 2 44 1 79.42 4.64 0.50 11 5 3 5 5 2 4 1 1 3 50.85 3.80 0.10 11 6 4 1 4 2 2 5 3 66.74 5.48 0.49 11 7 4 2 5 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 11 8 4 3 1 4 2 5 5 3 66.74 5.48 0.49 11 7 4 2 5 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 11 8 4 3 1 4 2 2 5 90.68 5.40 0.72 11 9 4 4 4 2 5 5 3 1 82.15 6.31 0.76 12 0 4 5 3 1 4 3 2 1 5 5 0.65 13 1 4 74.89 0.72 14 5 4 5 7 7 8 7 8 8 0.70 15 5 5 5 6 6.89 7.48 0.70 16 6 7 8 7 8 7 8 8 0.70 17 8 8 0.70 0.61 18 9 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	因素						空列 3	过筛率/%	吸湿率/%	评分
3 1 3 3 3 3 3 3 62.43 5.32 0.42 4 1 4 4 4 4 4 4 63.07 4.22 0.28 5 1 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 9.81 4.07 0.23 6 2 1 2 3 4 5 1 79.46 5.26 0.20 7 2 2 3 3 4 5 1 79.46 5.26 0.59 8 2 3 4 5 1 2 3 61.11 5.27 0.40 10 2 5 1 2 3 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 5 2 4 51.31 5.50 0.34 112 3 2 4 1 3 3 5 65.13 4.74 0.37 113 3 3 5 5 2 4 51.31 5.50 0.34 112 3 2 4 1 3 3 5 65.13 4.74 0.37 113 3 3 5 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 114 3 4 1 3 5 5 2 46.01 4.42 0.14 115 3 5 2 4 1 3 3 5 0.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 118 4 3 1 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 118 4 3 1 4 2 5 3 1 8 8.17 119 4 4 2 5 5 3 1 8 8.17 119 4 4 4 2 5 5 3 1 8 8.17 119 4 4 4 2 5 5 3 1 8 8.17 120 4 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 118 4 3 1 4 2 5 5 3 1 66.74 5.48 0.49 117 4 2 5 5 3 1 5 4 3 8 8.17 118 4 3 1 4 7 5.55 0.65 118 4 3 1 4 2 5 5 3 1 8 8.17 119 4 4 4 2 5 5 3 1 8 8.17 119 4 5 3 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	1	1	1	1	1	1	1	47.04	5.57	0.30
4 1 4 4 4 4 4 4 63.07 4.22 0.28 5 1 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 9.81 4.07 0.23 6 2 1 2 3 4 5 1 79.46 5.26 0.20 7 2 2 3 4 5 1 2 59.39 5.19 0.38 9 2 4 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 2 4 1 3 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 2 4 601 4.42 0.14 15 3 5 2 4 1 3 5 5 8.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 1 4 6.35 5.74 0.50 17 4 2 5 3 1 4 6.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 8.12 5.55 0.65 18 4 3 3 1 4 2 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 2 5 3 1 8.12 5.55 0.65 21 5 1 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 22 5 2 1 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K1 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K2 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K3 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K4 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K5 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k1 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k2 0.40 0.44 0.43 0.47 0.36 0.54 k3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27	2	1	2	2	2	2	2	45.34	5.02	0.21
5 1 5 5 5 5 5 59.81 4.07 0.23 6 2 1 2 3 4 5 40.64 5.26 0.20 7 2 2 3 4 5 1 79.46 5.26 0.59 8 2 3 4 5 1 2 59.39 5.19 0.38 9 2 4 5 1 2 3 61.11 5.27 0.40 10 2 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 2 4 51.31 5.50 0.34 12 3 2 4 1 3 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 <td>3</td> <td>1</td> <td>3</td> <td>3</td> <td>3</td> <td>3</td> <td>3</td> <td>62.43</td> <td>5.32</td> <td>0.42</td>	3	1	3	3	3	3	3	62.43	5.32	0.42
6 2 1 2 3 4 5 40.64 5.26 0.20 7 2 2 2 3 4 5 1 79.46 5.26 0.59 8 2 3 4 5 1 79.46 5.26 0.59 8 2 3 4 5 1 2 59.39 5.19 0.38 9 2 4 5 1 2 3 61.11 5.27 0.40 110 2 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 111 3 1 3 5 2 4 51.31 5.50 0.34 112 3 2 4 1 3 5 5 2 4 51.31 5.50 0.34 112 3 2 4 1 3 5 5 2 4 60.13 4.74 0.37 113 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 114 3 4 1 3 5 5 2 460.1 4.42 0.14 115 3 5 2 4 1 3 3 5 0.88 5 3.80 0.10 116 4 1 4 2 5 3 3 66.74 5.48 0.49 117 4 2 5 3 3 1 4 64.35 5.74 0.50 118 4 3 1 4 2 5 5 3 66.74 5.48 0.49 117 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 118 4 3 1 4 2 5 5 90.68 5.40 0.72 119 4 4 4 2 5 3 3 1 82.15 6.31 0.76 120 4 5 3 1 4 3 81.72 5.55 0.65 121 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 122 5 5 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 125 5 5 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 126 5 7.9 0.53 127 5 7.0 0.61 128 7 7 8.64 5.01 0.54 K1 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K2 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K3 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K4 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K5 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k1 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k5 0.58 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 □ ★ ± → x → x → x → x → x → x → x → x → x →	4	1	4	4	4	4	4	63.07	4.22	0.28
7 2 2 3 4 5 1 79.46 5.26 0.59 8 2 3 4 5 1 2 59.39 5.19 0.38 9 2 4 5 1 2 3 61.11 5.27 0.40 10 2 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 2 4 51.31 5.50 0.34 12 3 2 4 1 3 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 2 46.01 4.42 0.14 15 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 <	5	1	5	5	5	5	5	59.81	4.07	0.23
8 2 3 4 5 1 2 59.39 5.19 0.38 9 2 4 5 1 2 3 61.11 5.27 0.40 10 2 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 2 4 51.31 5.50 0.34 112 3 2 4 1 3 5 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 5 2 46.01 4.42 0.14 15 3 5 2 4 1 3 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 5 2 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 23 5 3 2 1 5 4 75.57 5.70 0.61 24 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k₅ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27	6	2	1	2	3	4	5	40.64	5.26	0.20
9 2 4 5 1 2 3 61.11 5.27 0.40 10 2 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 2 4 51.31 5.50 0.34 12 3 2 4 1 3 5 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 5 2 46.01 4.42 0.14 15 3 5 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 24 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k₃ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 □□素主→次 A>B>C	7	2	2	3	4	5	1	79.46	5.26	0.59
10 2 5 1 2 3 4 70.06 5.00 0.46 11 3 1 3 5 2 4 51.31 5.50 0.34 12 3 2 4 1 3 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 2 2 46.01 4.42 0.14 15 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 81.72 5.55 0.65 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 24 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k₁ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k₅ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 □□★主→次 A>B>C	8	2	3	4	5	1	2	59.39	5.19	0.38
11 3 1 3 5 2 4 51.31 5.50 0.34 12 3 2 4 1 3 5 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 15 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 81.72 5.55 0.65 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 24 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k₃ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 □素主→次 A>B>C	9	2	4	5	1	2	3	61.11	5.27	0.40
12 3 2 4 1 3 5 65.13 4.74 0.37 13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 2 46.01 4.42 0.14 15 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 81.72 5.55 0.65 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 75.57 5.70 0.61 24 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₅ 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k₁ 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 K₅ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 □ ★主→次 A>B C	10	2	5	1	2	3	4	70.06	5.00	0.46
13 3 3 5 2 4 1 79.42 4.64 0.50 14 3 4 1 3 5 2 46.01 4.42 0.14 15 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 2 60.68 7.48 0.70 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 75.57 5.70 0.61 24 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₃ 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k₁ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 K₃ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27	11	3	1	3	5	2	4	51.31	5.50	0.34
14 3 4 1 3 5 2 46.01 4.42 0.14 115 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 116 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 117 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 118 4 3 1 4 2 5 5 3 1 82.15 6.31 0.76 118 4 4 2 5 5 3 1 82.15 6.31 0.76 119 4 4 2 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 120 4 5 3 1 4 3 2 60.68 7.48 0.70 121 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 122 5 2 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 123 5 3 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 124 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 125 5 5 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 11 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 11 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 11 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 11 1.45 2.63 2.51 2.51 2.51 2.51 2.51 2.51 2.51 2.51	12	3	2	4	1	3	5	65.13	4.74	0.37
15 3 5 2 4 1 3 50.85 3.80 0.10 16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 81.72 5.55 0.65 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 75.57 5.70 0.61 24 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25	13	3	3	5	2	4	1	79.42	4.64	0.50
16 4 1 4 2 5 3 66.74 5.48 0.49 17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 2 60.68 7.48 0.70 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 75.57 5.70 0.61 24 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₅ 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k₁ 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k₅ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 □煮主→次 A>B>C	14	3	4	1	3	5	2	46.01	4.42	0.14
17 4 2 5 3 1 4 64.35 5.74 0.50 18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 75.57 5.70 0.61 24 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₅ 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k₁ 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k₅ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 □ ★主→次 A>B>C	15	3	5	2	4	1	3	50.85	3.80	0.10
18 4 3 1 4 2 5 90.68 5.40 0.72 19 4 4 4 2 5 3 1 82.15 6.31 0.76 20 4 5 3 1 4 3 2 60.68 7.48 0.70 21 5 1 5 4 3 2 60.68 7.48 0.70 22 5 2 1 5 4 3 67.10 5.79 0.53 23 5 3 2 1 5 4 75.57 5.70 0.61 24 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 4 3 2 1 5 76.18 4.98 0.51 25 5 5 5 4 3 2 1 78.64 5.01 0.54 K₁ 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K₂ 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K₃ 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K₄ 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K₅ 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k₁ 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k₂ 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k₃ 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k₄ 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k₅ 0.58 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 図素主→次 A>B>C	16	4	1	4	2	5	3	66.74	5.48	0.49
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	17	4	2	5	3	1	4	64.35	5.74	0.50
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	18	4	3	1	4	2	5	90.68	5.40	0.72
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	19	4	4	2	5	3	1	82.15	6.31	0.76
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	20	4	5	3	1	4	3	81.72	5.55	0.65
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	21	5	1	5	4	3	2	60.68	7.48	0.70
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	22	5	2	1	5	4	3	67.10	5.79	0.53
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	23	5	3	2	1	5	4	75.57	5.70	0.61
K_1 1.45 2.03 2.15 2.34 1.80 2.69 K_2 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K_3 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K_4 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K_5 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k_1 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k_2 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 R 2.60 0.62 0.63 0.58 0.91 1.27 R 1.66 0.65 0.63 0.58 <t< td=""><td>24</td><td>5</td><td>4</td><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>5</td><td>76.18</td><td>4.98</td><td>0.51</td></t<>	24	5	4	3	2	1	5	76.18	4.98	0.51
K_2 2.02 2.21 1.88 2.17 2.22 1.43 K_3 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K_4 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K_5 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k_1 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k_2 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91	25	5	5	4	3	2	1	78.64	5.01	0.54
K_3 1.45 2.63 2.51 1.81 2.71 2.60 K_4 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K_5 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k_1 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k_2 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C	K ₁	1.45	2.03	2.15	2.34	1.80	2.69			
K_4 3.11 2.10 2.06 2.39 2.16 2.18 K_5 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k_1 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k_2 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 R	K_2	2.02	2.21	1.88	2.17	2.22	1.43			
K_5 2.90 1.98 2.33 2.23 2.05 2.03 k_1 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k_2 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C	K_3	1.45	2.63	2.51	1.81	2.71	2.60			
k_1 0.29 0.41 0.43 0.47 0.36 0.54 k_2 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 $A>B>C$	K_4	3.11	2.10	2.06	2.39	2.16	2.18			
k_2 0.40 0.44 0.38 0.43 0.44 0.29 k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C	K_5	2.90	1.98	2.33	2.23	2.05	2.03			
k_3 0.29 0.53 0.50 0.36 0.54 0.52 k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C	k ₁	0.29	0.41	0.43	0.47	0.36	0.54			
k_4 0.62 0.42 0.41 0.48 0.43 0.44 k_5 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C	k_2	0.40	0.44	0.38	0.43	0.44	0.29			
k ₅ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C	\mathbf{k}_3	0.29	0.53	0.50	0.36	0.54	0.52			
k ₅ 0.58 0.40 0.47 0.45 0.41 0.41 R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C	k_4	0.62	0.42	0.41	0.48	0.43	0.44			
R 1.66 0.65 0.63 0.58 0.91 1.27 因素主→次 A>B>C										
因素主→次 A>B>C										

1.2.5.4 短链脂肪酸的测定

短链脂肪酸标准曲线:精确量取一定量的乙酸、 丙酸、正丁酸标准品溶液,混合均匀后添加适量的双 蒸水,梯度稀释成不同浓度,每个浓度分别取 1 mL, 过 0.22 μm 水相滤膜后进行气相色谱分析,用双蒸水作为空白对照,绘制标准曲线,得到回归方程。

样品测定:将酵解上清液过 0.22 μm 水相滤膜后进行气相色谱分析。气相色谱分析条件如下:选用

DB-FFAP 色谱柱, FID 检测器; 载气为 N₂, N₂的流 速 30.0 mL/min, 空气的流速 400 mL/min, H2 流速为 30 mL/min, 分流比为 1:5。柱前压为 136.5 kPa, 气化 室温度、检测器温度、进样口温度以及柱温均为 240 ℃;每个样品的进样体积是1μL,进样前用溶剂 清洗8次, 进样后用溶剂清洗10次, 每个样品均重复 测定 3 次。色谱柱升温程序: 先升温至 70 ℃并保持 1 min, 然后以 10 ℃/min 的速度升温至 220 ℃保持 5 min, 最后以 10 ℃/min 的速度升温至 240 ℃保持 14 min。每次测定时间 42.47 min。依据标准曲线, 计算 每个样品中各短链脂肪酸和总短链脂肪酸含量。

1.2.6 统计分析

每个试验重复3次,通过SPSS 19.0.0 软件分析数 据,并用 Duncan 检验比较组间差异,以不同小写字 母表示 (p < 0.05)。结果以均数±标准差 (x + s)表示, 采用 Origin 9.0 和 Excel 软件制表作图。

2 结果与讨论

2.1 复合果粉的粉碎工艺

复合果粉粉碎工艺的正交试验结果和方差分析见 表 6 和表 7, 结果表明对复合果粉粉体影响最大的是 辅料种类,其次为原辅料质量配比,最后为冷冻超微 粉碎时间。粉体效果最好的方案为 A₄B₃C₃,即辅料为 乳清蛋白,原辅料质量比为1:1.5,冷冻超微粉碎时间 为 150 s。该方案并未列入实验设计,通过进一步的验 证实验确定最佳方案下复合果粉的过筛率为91.24%、 吸湿率为5.01%。

2.2 营养餐粉配方优化的混料试验

混料设计中不同配方营养餐粉粉体特性及综合评 分见表 8, 从表中可以看出, 20 个配方餐粉的 CI 指数 在 27.52%~39.26%, 平均值为 31.26%, 说明营养餐粉 的流动性一般; HR 比在 0.61%~0.72%, 平均值为 0.69%, 说明营养餐粉的粘结性较低; WAI 在 1.72~3.57 g/g, 平均值为 2.45 g/g, 说明营养餐粉一般可吸收自身 两倍重量的水; WSI 在 56.28%~78.66%, 平均值为 68.92%, 说明营养餐粉至少有一半以上的营养物质可

溶于水; 粘度在 10~48 RVU, 平均值为 25.25 RVU, 说 明不同配比的营养餐粉粘度差异较大: K 值范围是 0.72~0.96, 平均值为 0.88, 说明营养餐粉冲调 120 min 仍然较为稳定;分散稳定时间范围是34.10~59.10 min, 平均值为 47.12 min, 说明营养餐粉冲调半小时后仍不 会出现沉积: 感官评价得分范围是 66~95, 平均值为 78.33, 说明不同配比的营养餐粉的感官特性差异较大。

对试验数据进行回归分析,建立指标模型概况如表 9 所示。流动性和粘结性的回归方程 p 值均为 0.48, 不 具有显著性(p>0.05)。水溶性、分散稳定时间、吸水性、 粘度、稳定性、感官评价的回归方程, 具有显著性 (p<0.05)。因此,在综合评分时,对不具有显著性的指 标不考察其分值,仅作为营养餐粉的参考指标。对综合 评分用 Quadratic 回归方程法进行分析,建立综合评分的 回归模型,方差分析结果见表 10。通过方差分析得到模 型的 F 值是 5.2929>F_{0.05} (9,10) =4.9424, 这表明模型极 其显著 (p<0.01), 能够很好的描述各因素与综合评分之 间的关系。同时, 失拟项 F 值 0.2796 及其 P 值 0.9059, 表明失拟项并不显著。决定系数 (R^2) 为 0.8265,这表 明模型中82.65%的稳定性变化归因于自变量(A、B、C 和 D)。校正后的相关系数 $R_{Adi}^2 = 0.6703$,表明模型方程 能较好地拟合综合评分和配方之间的关系。校正后本实 验变异系数为 3.48%, 说明置信度较高, 这些结果证明 所建模型足以表现出各条件参数之间的真实关系,可以 用来预测综合评分。通过拟合得到回归方程:

综合评分=25.52A-1797.62B+74.40C+73.04D+ 1905.60AB+115.49AC+44.22AD+2015.29BC+2410.26 BD-15.11CD (19)

对回归方程进行分析计算,得到龙眼-枸杞-红枣 营养餐粉混料设计的最佳配方为复合果粉添加量为 50%,全脂奶粉添加量为5%,植物脂肪粉添加量为 5%,大米膨化粉添加量为 10%,麦芽糊精添加量为 30%, 选用该配比进行验证试验, 三次平行试验得到, 营养餐粉的水溶性指数、吸水性指数、粘度、稳定性、 分散稳定时间、感官评分分别为 77.74%、1.88 g/g、 16 RVU、0.97、68.50 min、98.00,综合评分(90.52) 与理论值(88.62)较为接近,重复性好,说明该模型 得到的数据结论准确可靠。

表 7 正交试验的方差分析表

Table 7 Variance analysis table of score

		****	ee uniuj	525 000010	2 50020	
差异源	SS	df	MS	F值	F _{0.05} (4,20)	F _{0.01} (4,20)
A(辅料)	0.49	2	0.124	5.64**		
B (原辅料质量配比)	0.05	2	0.013		2.07	4.42
C (超微粉碎时间)	0.05	2	0.012		2.87	4.43
误差	0.44	20	0.022			

表 8 D-optimal 试验设计及结果

Table 8 D-optimal mixture design and the result

试验号	A 全脂奶粉	B植物脂肪粉	C大米膨化粉	D 麦芽糊精	CI/%	HR/%	WAI/(g/g)	WSI/%	粘/RVU	稳定性 K	分散稳定时间/min	感官评分	综合评分
1	0.32	0.00	0.38	0.30	29.72	0.70	2.38	67.92	31	0.88	41.30	78.00	73.46
2	0.30	0.03	0.48	0.20	30.43	0.70	2.60	66.54	34	0.95	38.50	95.00	77.39
3	0.40	0.08	0.26	0.27	29.2	0.71	2.21	72.76	27	0.90	39.50	76.00	73.33
4	0.24	0.00	0.33	0.43	28.18	0.72	2.14	68.77	22	0.93	40.20	66.00	71.22
5	0.38	0.00	0.24	0.38	31.03	0.69	2.02	73.09	20	0.96	35.20	73.00	72.16
6	0.12	0.00	0.32	0.56	34.78	0.65	2.21	72.40	17	0.94	34.10	73.00	73.44
7	0.30	0.03	0.48	0.20	28.57	0.71	2.69	66.53	10	0.93	41.30	90.67	84.83
8	0.10	0.00	0.20	0.70	31.25	0.69	1.72	77.00	30	0.93	39.80	75.67	71.67
9	0.23	0.10	0.35	0.31	28.1	0.72	2.34	69.96	22	0.96	50.10	70.00	77.15
10	0.40	0.00	0.40	0.20	29.32	0.71	2.46	68.18	48	0.90	39.50	93.00	75.56
11	0.15	0.00	0.54	0.31	31.45	0.69	2.93	62.60	27	0.95	48.30	71.00	77.34
12	0.24	0.05	0.20	0.51	27.52	0.72	1.84	76.21	15	0.90	46.10	81.00	78.41
13	0.23	0.10	0.35	0.31	29.17	0.71	2.24	70.94	22	0.85	52.30	81.00	78.84
14	0.10	0.00	0.70	0.20	39.26	0.61	3.57	56.28	34	0.72	47.60	70.00	75.61
15	0.10	0.03	0.43	0.44	30.28	0.70	2.59	66.40	20	0.82	57.50	69.50	79.05
16	0.10	0.08	0.62	0.20	32.77	0.67	3.24	60.00	39	0.77	59.10	73.33	79.51
17	0.10	0.08	0.62	0.20	32.77	0.67	3.24	60.00	39	0.77	59.10	73.33	79.51
18	0.10	0.10	0.20	0.60	31.30	0.69	2.06	76.79	10	0.86	57.90	89.00	88.37
19	0.24	0.05	0.20	0.51	36.59	0.63	1.75	78.66	14	0.87	58.20	95.00	85.77
20	0.10	0.03	0.43	0.44	33.58	0.66	2.77	67.39	24	0.87	56.80	73.00	80.48

表 9 指标模型概况

Table 9 Summary of the model parameters

		Table 7 Summary of the model parameters		
指标	模型类型	预测方程	p 值	R^2
流动性		821.77A-3226.15B+154.50C+137.65D-7188.43AB-2125.68AC-2105.50AD+3834.64BC+4569.17BD-384.19CD+21096.56ABC+17598.14ABD+4697.87ACD-9159.84BCD	0.4795	0.7054
**************************************	Special	-7.22A+33.26B-0.55C-0.38D+71.88AB+21.26AC+21.05AD-38.35BC-45.69BD+3.84CD-210.97ABC-175.99ABD-46.98ACD+91.60BCD	0.4792	0.7055
水溶性	Ĉubic	266.81A-856.53B+62.72C+109.00D-2177.06AB-444.11AC-494.60AD+1196.97BC+ 1326.72BD-58.19CD+6286.87ABC+5492.44ABD+934.26ACD-2929.00BCD	<0.0001	0.9943
 分散 稳定时间		-789.11A+1994.10B-34.15C-55.06D+9636.91AB+2097.69AC+2108.23AD-2743.00BC -4087.35BD-28063.57ABC-15078.14ABD-4522.29ACD+15148.73BCD	0.0186	0.9286
粘度	Linear	29.27A-18.60B+46.86C+4.29D	0.0454	0.3859
吸水性		5.32A-0.64B+4.93C+0.96D-3.13AB-8.53AC-6.04AD-1.44BC+8.19BD+0.93CD	< 0.0001	0.9924
稳定性	Ouadratic	-0.06A+6.93B+0.35C+0.90D-4.52AB+3.00AC+1.17AD-5.96BC-8.46BD+0.07CD	0.0464	0.7360
感官评分	Quadratic	3.801A-3322.40B+70.57C+123.29D+3505.70AB+336.40AC-36.67AD+3640.27BC+4091.44BD-195.61CD	0.0083	0.8239

表 10 综合评分回归模型的方差分析表

Table 10 Variance analysis table of comprehensive score regression model

			-	8		
来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	348.1580	9	38.6842	5.2929	0.0078	**
线性混合模型	134.2525	3	44.7508	6.1230	0.0124	*
AB	65.9127	1	65.9127	9.0184	0.0133	*
AC	18.1231	1	18.1231	2.4797	0.1464	
AD	2.8535	1	2.8535	0.3904	0.5461	
BC	74.8129	1	74.8129	10.2361	0.0095	**
BD	102.1881	1	102.1881	13.9817	0.0039	**
CD	1.2600	1	1.2600	0.1724	0.6868	
 残差	73.0870	10	7.3087			
失拟项	15.9709	5	3.1942	0.2796	0.9059	不显著
纯误差	57.1161	5	11.4232			
总变异	421.2451	19				
			$R^2 = 0.8265$	R _{Adj} ² =0.6703	C.V.%=3.48%	

注: *差异显著, p<0.05; **差异极显著, p<0.01。

表 11 龙眼-枸杞-红枣营养餐粉的成分及供能比

Table 11 Composition and energy supply ratio of nutritious meal replacement powder composed with longan, goji and jujube

成分	含量	供能比/%
能量/(kcal/100 g)	398.18	
蛋白质/(g/100 g)	25.3	25.82
脂肪/(g/100 g)	5.8	12.88
碳水化合物/(g/100 g)	60.1	61.33
多糖/(g/100 g)	1.5	
钠/(mg/100 g)	101	
水分/(g/100 g)	6.75	
灰分/(g/100 g)	2.1	

2.3 龙眼-枸杞-红枣营养餐粉的营养成分

龙眼-枸杞-红枣营养餐粉的营养成分如表 11 所示,该营养餐粉的蛋白质主要由乳清蛋白粉和全脂奶粉提供,富含优质的蛋白质来源;过多的脂肪摄入会导致肥胖等一系列疾病的发生,该营养餐粉的脂肪供能比远小于《中国居民膳食指南》^[25]中规定的 30%;碳水化合物的供能比与 60%相近,符合从一岁小朋友到八十岁以上的老人的营养需求;食盐摄入过高会引起人体高血压、胃癌或脑卒中的发生,该营养餐粉低钠少盐,适合多种人群食用。此外,该餐粉中多糖含量为 1.50 g/100 g,根据前期研究复合多糖益生活性效

果可推测该营养餐粉具有促进益生菌增殖功效。

2.4 营养餐粉体外对肠道菌群的调节作用

双歧杆菌和乳酸菌是肠道内重要的益生菌; 拟杆 菌是健康人体肠道菌群中的主导菌种,为人体提供营 养并维持肠道的正常生理功能: 阿克曼氏菌能改善肠 道屏障,是一种潜在益生菌[26]。因此,本研究采用体 外模拟酵解模型分析龙眼-枸杞-红枣营养餐粉对肠道 内乳酸杆菌属、双歧杆菌属、拟杆菌属和阿克曼氏菌 的影响,结果见图1所示。与空白组相比,龙眼-枸杞-红枣营养餐粉在整个发酵过程中均能显著促进 4 种菌 增殖,且在0~6 h期间,4种菌增殖速度较快,6~24 h 逐渐趋于稳定。龙眼-枸杞-红枣营养餐粉对乳酸杆菌的 增殖效果在6h和24h与菊粉相当,但在12h低于菊 粉 (p<0.05), 但显著高于空白对照组。龙眼-红枣-枸 杞营养餐粉促双歧杆菌增殖效果显著强于菊粉,两者 均优于空白对照组。3个发酵组中拟杆菌属含量较高, 其对拟杆菌促增殖效果为: 龙眼-枸杞-红枣营养餐粉> 菊粉>空白对照。3个发酵组中阿克曼氏菌属丰度最低, 菊粉和空白对照组中其增殖效果相当,显著低于龙眼-红枣-枸杞营养餐粉。由此表明,龙眼-枸杞-红枣营养

餐粉对肠道益生菌有显著的促增殖作用。

短链脂肪酸是肠道微生物代谢的主要产物, 本研 究分析了龙眼-枸杞-红枣营养餐粉酵解液中 SCFAs 的 种类和含量,结果见表 12。由表可知,在 0 h 时,空 白对照组、餐粉组和菊粉阳性对照组的 SCFAs 含量均 较低, 经过24 h 的发酵后, 3 组发酵产物中 SCFAs 含 量表现不同程度的增加,其中餐粉组总短链脂肪酸含 量由初始的 1.88 μL/mL 提高为 8.22 μL/mL,提高了 337.23%,与空白对照组和阳性对照组相比,分别提高 了 262.11%和 38.15%。与空白组相比,餐粉能显著提 高乙酸、丙酸和丁酸含量,且提高程度为丁酸>乙酸> 丙酸 (p<0.05); 与阳性对照相比, 餐粉中丁酸和乙酸 含量显著提高(p<0.05), 丙酸含量相对较少。由上可 知, 龙眼-枸杞-红枣餐粉能显著促进短链脂肪酸增加, 尤其是丁酸和乙酸。乙酸是肠道内含量最多的一种短 链脂肪酸, 主要给机体心脏、肌肉、大脑等组织供能, 参与脂肪生成和糖异生过程[27]; 丁酸是肠上皮细胞的 重要能量来源,在调节结肠细胞、T细胞增殖,肠粘膜 免疫稳态中发挥重要作用[28]。因而,龙眼-枸杞-红枣营 养餐粉对人体健康有较好的促进作用。

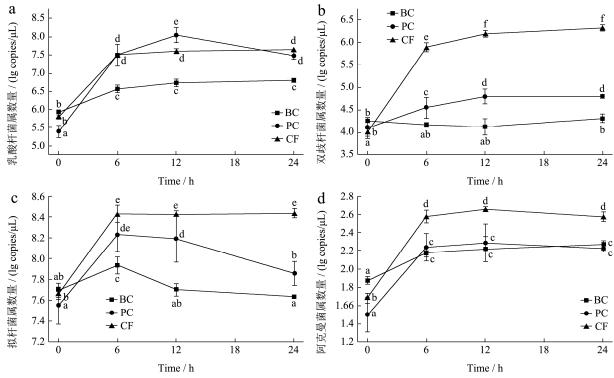


图 1 体外发酵各组乳酸杆菌属(a)、双歧杆菌属(b)、拟杆菌属(c)和阿克曼氏菌属(d)数量变化

Fig.1 The number of *Lactobacillus* (a), *Bifidobacterium* (b), *Bacteroides* (c), and *Akkermansia mucinipila* (d) of each group *in vitro* fermentation

注: 将龙眼-枸杞-红枣营养餐粉经体外模拟消化后采用粪便菌群酵解,分别在 0、6、12、24 h 取样,采用 qPCR 检测 4 种有益菌的数量。BC: 空白对照组; PC: 阳性对照组; CF: 龙眼-枸杞-红枣营养餐粉组。

表 12 体外发酵各组短链脂肪酸种类及含量变化

Table 12 Changes of species and content of SCFAs of each group in vitro fermentation

和米	时间/h						
什矢 -	0	6	12	24			
乙酸	0.89 ± 0.00^{a}	1.02±0.01 ^b	1.10±0.02°	1.13±0.01 ^d			
丙酸	0.33 ± 0.00^{a}	0.53 ± 0.00^{b}	0.59 ± 0.04^{c}	0.64 ± 0.06^{c}			
正丁酸	0.25 ± 0.00^{a}	0.34 ± 0.02^{b}	0.50±0.01°	0.51 ± 0.04^{c}			
总短链脂肪酸	1.47 ± 0.00^{a}	1.90 ± 0.01^{b}	2.19 ± 0.07^{c}	2.27±0.11°			
 乙酸	1.00±0.05 ^a	2.14±0.09 ^d	1.92±0.11°	1.69±0.09 ^b			
丙酸	0.33 ± 0.01^{a}	1.76 ± 0.23^{b}	2.77 ± 0.14^{c}	2.95±0.23°			
正丁酸	0.30 ± 0.02^{a}	0.86 ± 0.10^{b}	1.18±0.14°	1.35±0.13°			
总短链脂肪酸	1.64 ± 0.08^{a}	4.80 ± 0.45^{b}	5.87±0.39°	5.95±0.41°			
 乙酸	1.23±0.08 ^a	3.72±0.20 ^b	3.31±0.45 ^b	3.25±0.29 ^b			
丙酸	0.36 ± 0.01^{a}	2.53 ± 0.26^d	2.12±0.22 ^c	1.59 ± 0.12^{b}			
正丁酸	0.29 ± 0.01^{a}	1.23 ± 0.02^{b}	2.42±0.16°	3.39 ± 0.25^{d}			
总短链脂肪酸	1.88±0.10 ^a	7.48 ± 0.48^{b}	7.85 ± 0.84^{b}	8.22±0.66 ^b			
	丙酸 正丁酸 总短链脂肪酸 乙酸 丙酸 正丁酸 乙酸 丙酸 正丁酸 总短链脂肪酸	0 乙酸 0.89±0.00 ^a 丙酸 0.33±0.00 ^a 正丁酸 0.25±0.00 ^a 总短链脂肪酸 1.47±0.00 ^a 乙酸 1.00±0.05 ^a 丙酸 0.33±0.01 ^a 正丁酸 0.30±0.02 ^a 总短链脂肪酸 1.64±0.08 ^a 乙酸 1.23±0.08 ^a 丙酸 0.36±0.01 ^a 正丁酸 0.29±0.01 ^a	一	种类 0 6 12 乙酸 0.89±0.00 ^a 1.02±0.01 ^b 1.10±0.02 ^c 丙酸 0.33±0.00 ^a 0.53±0.00 ^b 0.59±0.04 ^c 正丁酸 0.25±0.00 ^a 0.34±0.02 ^b 0.50±0.01 ^c 总短链脂肪酸 1.47±0.00 ^a 1.90±0.01 ^b 2.19±0.07 ^c 乙酸 1.00±0.05 ^a 2.14±0.09 ^d 1.92±0.11 ^c 丙酸 0.33±0.01 ^a 1.76±0.23 ^b 2.77±0.14 ^c 正丁酸 0.30±0.02 ^a 0.86±0.10 ^b 1.18±0.14 ^c 总短链脂肪酸 1.64±0.08 ^a 4.80±0.45 ^b 5.87±0.39 ^c 乙酸 1.23±0.08 ^a 3.72±0.20 ^b 3.31±0.45 ^b 丙酸 0.36±0.01 ^a 2.53±0.26 ^d 2.12±0.22 ^c 正丁酸 0.29±0.01 ^a 1.23±0.02 ^b 2.42±0.16 ^c			

注:不同小写字母表示同一样品、同一短链脂肪酸种类、不同发酵时间有显著差异 (p<0.05)。BC:空白对照组;PC:阳性对照组;CF:龙眼-枸杞-红枣营养餐粉组。

3 结论

龙眼干、枸杞干、红枣干的粉碎工艺为添加乳清蛋白辅料,原辅料质量配比为1:1.5,冷冻超微粉碎时间为150 s,获得复合果粉的过筛率为91.24%,吸湿率为5.01%。混料设计确定营养餐粉的配方比例为复合果粉50%、全脂奶粉5%、植物脂肪粉5%、大米膨化粉10%、麦芽糊精30%。该配方得到的龙眼-枸杞红枣营养餐粉冲调性好、稳定性强、感官较佳、营养均衡。经体外模拟消化酵解实验验证该营养餐粉能显著促进肠道乳酸杆菌属、双歧杆菌属、拟杆菌属和阿克曼氏菌属等益生菌增殖,促进乙酸、丁酸和总短链脂肪酸等代谢产物含量增加,具有显著调节肠道菌群的作用。关于该营养餐粉的有效剂量以及人体的推荐剂量有待进一步研究。本研究研制的龙眼-枸杞-红枣营养餐粉营养均衡,具有调节肠道菌群功效,为今后相关的产品开发提供一定的理论指导和参考价值。

参考文献

- Bischoff S C, Barbara G, Buurman W, et al. Intestinal permeability-a new target for disease prevention and therapy
 BMC Gastroenterology, 2014, 14: 189
- [2] 姚碧晴,陈铖.肠道菌群失调与糖尿病肾病的关系[J].中华实用诊断与治疗杂志,2020,34(1):102-105 YAO Biqing, CHEN Chen. Relationship of gut microbiota imbalance with diabetic nephropathy [J]. Journal of Chinese Practical Diagnosis and Therapy, 2020, 34(1): 102-105

- [3] 白亚娟.龙眼果肉多糖的肠道免疫调节作用及其机制研究 [D].武汉:华中农业大学,2018
 - BAI Yajuan. Intestinal immune regulation activity and mechanism of polysaccharide from longan pulp [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018
- [4] 王思月.枸杞多糖对肉鸡肠道微生物区系、免疫功能及相 关基因表达的影响[D].长春:吉林农业大学,2019
 - WANG Siyue. Effects of Lyciumbarbarum polysaccharides on intestinal microflora, immune function and expression of related genes in broilers [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2019
- [5] 白冰瑶.枣渣多糖提取物对小鼠肠黏膜免疫和肠道菌群的 影响[D].保定:河北农业大学,2018
 - BAI Bingyao. Effect of jujube residue polysaccharide on intestinal mucosal immunity and intestinal flora in mice [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2018
- [6] 周文君,池建伟,易阳,等.龙眼、枸杞和红枣多糖的理化性质及其协同益生活性[J].现代食品科技,2021,37(11):58-67 ZHOU Wenjun, CHI Jianwei, YI Yang, et al. Physicochemical properties and synergistic prebiotic activities of polysaccharide from longan, goji and jujube [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(11): 58-67
- [7] 李云雁,胡传荣.试验设计与数据处理[M].北京:化学工业出版社.2008
 - LI Yunyan, HU Chuanrong. Experiment Design and Data Processing [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008
- [8] 姜发堂.果汁型固体饮料的粒度及粒度分布与速溶性的关

- 系研究[J].软饮料工业,1995,3:31-34
- JIANG Fatang. Study on the relationship between particle size and particle size distribution of juice-type solid beverages and instant dissolution [J]. Soft Drink Industry, 1995, 3: 31-34
- [9] 李小燕.清瘟败毒胶囊的吸湿性研究及数据分析[J].时珍国 医国药,2002,13(8):459 LI Xiaoyan. Study on the moisture absorption of Qingwen Baidu capsule and the data analysis [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2002, 13(8): 459
- [10] Carr L R. Evaluating flow properties of solids [J]. Chemical Engineering, 1965, 72: 163-168
- [11] Hausner H H. Friction conditions in a mass of metal powder [J]. International Journal of Powder Metallurgy, 1967: 7-13
- [12] Anderson R A, Conway H F, Peplinski A J. Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming [J]. Starch-Stärke, 1970, 22(4): 130-135
- [13] 刘汶鹏.中老年黑豆营养方便食品的研究[D].长春:长春大学,2017

 LIU Wenpeng. Study on black bean nutrition convenience food of middle and old age [D]. Changehun: Changehun
 - food of middle and old age [D]. Changchun: Changchun University, 2017
- [14] 李佳宁.多元素营养粉的冲调性改良[D].无锡:江南大学, 2009LI Jianing. Study on Improving the dispering and dissolving ability in water of multi-element nutritional powder [D].

Wuxi: Jiangnan University, 2009

- [15] 刘玉环,焦扬,何利明.双孢蘑菇切片真空冷冻干燥工艺[J]. 中国蔬菜,2014,10:34-36 LIU Yuhuan, JIAO Yang, HE Liming. Studies on optimization of vacuum freeze drying technology for *Agaricus bisporus* slices [J]. Chinese Vegetables, 2014, 10: 34-36
- [16] 何梦影,张康逸,郭东旭,等.响应面优化捻转抗老化剂的复配工艺[J].现代食品科技,2018,34(1):201-208,124
 HE Mengying, ZHANG Kangyi, GUO Dongxu, et al. Optimization of compound process of Nianzhuan anti-aging additives by response surface methodology [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(1): 201-208, 124
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.SN-T 4260-2015.出口植物源食品中粗多糖的测定[S]
 General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. SN-T 4260-2015. Determination of Crude Polysaccharides from Export Plant-derived Food [S]
- [18] 中华人民共和国卫生部.食品营养标签管理规范[S]

- Ministry of Health of the People's Republic of China. Food Nutrition Labeling Management Practices [S]
- [19] D J S Mills, K M Tuohy, J Booth, et al. Dietary glycated protein modulates the colonic microbiota towards a more detrimental composition in ulcerative colitis patients and non-ulcerative colitis subjects [J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 105(3): 706-714
- [20] Maccaferri S, Klinder A, Cacciatore S, et al. *In vitro* fermentation of potential prebiotic flours from natural sources: impact on the human colonic microbiota and metabolome [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2012, 8(56): 1342-1352
- [21] 龚凌霄,李怡,余婷,等.全麦粉对体外肠道菌群的影响[J]. 食品工业科技,2019,40(6):131-136 GONG Lingxiao, LI Yi, YU Ting, et al. Effects of whole wheat grain on the gut microbiota *in vitro* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(6): 131-136
- [22] 柳芳伟,张珊珊,陈苏明,等.3 种富含多糖面包的体外消化 酵解特性[J].食品科学,2021,42(3):143-149 LIU Fangwei, ZHANG Shanshan, CHEN Suming, et al. Gastrointestinal digestion and fermentation characteristics *in vitro* of breads incorporated with three different polysaccharides [J]. Food Science, 2021, 42(3): 143-149
- [23] 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(1): 251-258

[24] 石梦玄,张璐,田美玲,等.基于体外模拟肠道微生态体系比

- 较不同果蔬全粉的益生元功效[J].中国食品学报,2020,2:87-94
 SHI Mengxuan, ZHANG Lu, TIAN Meiling, et al. The comparison of prebiotic roles of different vegetable and fruit powders using simulation intestinal microecology system [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 2: 87-94
- [25] 中国营养学会.中国居民膳食指南[M].北京:人民卫生出版 社,2016 Chinese Nutrition Society. Dietary Guidelines for Chinese Residents [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2016
- [26] Plovier H, Everard A, Druart C, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice [J]. Nature Medicine, 2016, 23(1): 107

(下转第244页)