

发酵过程中原花青素对大米淀粉多尺度结构及体外消化特性的调控

涂园, 李晓玺*, 陆萍, 陈玲, 李琳

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 为了调控发酵米制品的消化性能, 采用小角 X 射线散射、凝胶渗透色谱及体外模拟消化等多种现代分析技术, 系统考察原花青素在大米淀粉发酵过程中对淀粉结构和消化性能的影响。研究表明, 在发酵过程中原花青素与淀粉分子间存在相互作用, 进而提高大米淀粉颗粒的抗消化性能, 且在原花青素的添加量为 8% 时 RS 含量可达 66.85%。在原花青素协同微生物发酵过程中, 原花青素抑制微生物胞外酶活性并降低了淀粉分子被降解及聚集态结构无序化的程度; 原花青素与淀粉分子形成淀粉分子-原花青素-淀粉分子的复合结构, 促使淀粉半结晶层状结构中半结晶层厚度增大、无定型层厚度降低及聚集态结构紧密程度和表面短程有序化结构比例增加, 且其在消化过程中释放原花青素并抑制淀粉酶活性, 最终显著降低淀粉的消化性能。研究结果为发酵米制品消化性能的调控提供了依据。

关键词: 发酵; 原花青素; 大米淀粉; 多尺度结构; 消化性能

文章编号: 1673-9078(2022)03-152-158

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.3.0251

Procyanidins Regulate the Multi-scale Structures and *in Vitro* Digestibility of Rice Starch during Fermentation

TU Yuan, LI Xiaoxi*, LU Ping, CHEN Ling, LI Lin

(School of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: To regulate the digestibility of fermented rice products, the effects of procyanidins on digestibility and multi-scale structures of rice starch during fermentation were systematically examined by small-angle X-ray scattering, gel penetration chromatography and *in vitro* simulated digestion. Research results showed that the digestive resistance of rice starch granules increased due to the interactions between the procyanidin and starch molecules during the fermentation process. The resistant starch (RS) content reached 66.85% when the amount of added procyanidins was 8%. During the synergistic fermentation by procyanidins and microbes, procyanidin inhibited the activities of microbial extracellular enzymes and reduced the degrees of starch degradation and disorder of aggregated structure. The procyanidins and starch molecules formed starch-procyanidin-starch complexes, which increased the thickness of the semi-crystalline layer in starch semi-crystalline layered structure, decreased the thickness of the amorphous layer, and raised the degree of compactness of aggregated structures and the proportion of short-range ordered structures on the surface. The starch-procyanidin-starch complexes also allowed the release of procyanidins and inhibition of amylase activity during digestion, which ultimately significantly decreased the digestibility of rice starch. The research results provide a basis for regulating the digestibility of fermented rice products.

Key words: fermentation; procyanidin; rice starch; multi-scale structure; digestibility

引文格式:

涂园, 李晓玺, 陆萍, 等. 发酵过程中原花青素对大米淀粉多尺度结构及体外消化特性的调控[J]. 现代食品科技, 2022, 38(3): 152-158, +285

TU Yuan, LI Xiaoxi, LU Ping, et al. Procyanidins regulate the multi-scale structures and *in vitro* digestibility of rice starch during fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(3): 152-158, +285

收稿日期: 2021-03-10

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFD0400401-3)

作者简介: 涂园 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 淀粉功能化修饰与调控, E-mail: yuan_tu@foxmail.com

通讯作者: 李晓玺 (1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 淀粉功能化修饰与调控, E-mail: xxlee@scut.edu.cn

大米中的淀粉组分在米制品经过加工处理后经人体消化可快速转化为葡萄糖, 为人体提供能量。但快速消化的淀粉容易提高人体餐后血糖生成指数 (GI), 进而增加消费者患上糖尿病和肥胖等相关慢性疾病的几率。

研究表明, 在加工过程中, 淀粉分子与食品中其他组分 (如蛋白、脂质及多酚等) 之间由于存在非共价相互作用可形成复合物, 而不同加工条件又引起淀粉复合物结构的变化, 继而影响淀粉类食品的消化和营养特性^[1-5]。多酚广泛存在于果蔬和杂粮中, 是食品中重要组分之一, 且其对淀粉酶活性具有较佳的抑制效果^[6]。因此, 若采用适当的食品加工方式将多酚与淀粉分子进行复合, 可明显延缓淀粉的消化性。

在传统米制品生产过程中, 微生物发酵是常见的加工方式之一, 其可赋予发酵米制品特有的风味及质构^[3,7,8]。在微生物发酵过程, 由于微生物所分泌酶对淀粉有降解作用, 因此可导致淀粉链结构和聚集态结构发生不同程度的破坏^[9], 使得淀粉分子间的氢键相解旋而使其具有良好的分子自由度。因此, 发酵过程中淀粉分子自由度增加可促使其与体系中多酚分子的相互作用并发生复合, 从而改变淀粉多尺度结构。同时, 多酚在消化过程中又可抑制淀粉酶对淀粉的水解。因此, 掌握多酚与大米淀粉的互作及多酚对淀粉结构的影响并建立其与消化性能之间的关系对调控发酵类淀粉食品的消化性能至关重要。

因此, 本研究通过采用体外模拟消化等技术, 研究了原花青素与发酵淀粉分子间的互作对淀粉多尺度结构的影响规律, 揭示在发酵过程中原花青素与大米淀粉的结合对其消化性能的影响机制, 为功能性发酵类食品的研发奠定基础。

1 实验材料和方法

1.1 实验试剂

大米, 购置于广东太粮米业; 酵母菌和乳酸菌, 购自安琪酵母股份公司; 原花青素 C1, 陕西森弗天然制品有限公司; GOPOD 试剂盒, 爱尔兰 Megazyme; 淀粉葡萄糖苷酶和猪胰酶, 美国 Sigma-Aldrich; 其余采用分析纯试剂。

1.2 主要仪器设备

紫外分光光度计, 上海第三分析仪器厂; 恒温恒湿箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 扫描电子显微镜, 德国 ZEISS; 小角 X 射线散射仪, 奥地利 Anton Paar; 傅里叶红外光谱仪和固体核磁共振仪, 德国 Bruker; 凝胶

渗透色谱仪, 美国 Waters。

1.3 实验方法

1.3.1 大米淀粉与原花青素的共同发酵

称取不同质量的原花青素 C1 (淀粉质量的 2%、4%、8%), 加入事先加了 7% 混合发酵剂 (酵母菌: 乳酸菌=3:1) 的水中, 分散后加入 100 g 大米淀粉 (干基), 按比例 (大米淀粉: 水=1:1.2) 加水搅拌均匀。将混合后的浆液于恒温恒湿箱中进行发酵, 发酵条件为: 70% 湿度、37 °C、3 h。发酵后的样品冻干后置于烘箱中进行灭酶处理 (50 °C、30 min), 样品经磨粉过筛后密封装袋待用。将样品命名为“发酵大米淀粉-原花青素添加量”, 即 FRS-0AC、FRS-2AC、FRS-4AC、FRS-8AC 等, 以未经发酵的原大米淀粉作为对照样品并命名为“Rice Starch”。

1.3.2 大米淀粉-原花青素复合物的消化性能

大米淀粉-原花青素复合物的消化性能根据 Englyst 方法^[10]进行测定, 可获得大米淀粉-原花青素复合物的 RDS、SDS 和 RS 含量。

1.3.3 大米淀粉-原花青素复合物直链淀粉含量

大米淀粉-原花青素复合物中直链淀粉含量的测定参考 GB/T 15683-2008。

1.3.4 大米淀粉-原花青素复合物层状结构

在大米淀粉-原花青素复合物样品中加入 70% 的去离子水, 并在室温下平衡 12 h 后进行测定。采用 SAXSquant 3.0 软件和 SAXSquant 2D 软件进行数据处理^[11,12]。利用一维线性相关函数分析 SAXS 曲线 $0.2 < q < 1.4 \text{ nm}^{-1}$ 区域并通过计算得到半结晶层状结构参数^[13], 采用 $\text{Chi}^{[14]}$ 的方法计算 SAXS 曲线 $q=0.2\sim 0.5 \text{ nm}^{-1}$ 区域的斜率来计算表面/质量分形结构的分形维数。

1.3.5 大米淀粉-原花青素复合物结晶结构

测定前将样品置于恒湿环境中平衡 12 h。其测试条件为: 扫描速度是 1.2 °/min, 步长为 0.02 °, 扫描范围为 5 °~40 ° (2 θ)。利用 Peakfit-v4.12 软件计算淀粉的结晶度及 A 型和 V 型结晶比例^[15]。

1.3.6 大米淀粉-原花青素复合物螺旋结构测定

利用 ¹³C CP/MAS NMR 测定大米淀粉-原花青素复合物螺旋结构测定。核磁共振的测试参数条件设置为 150.9 MHz 的频率和 10000 kHz 的转速, 接触时间为 1 ms。利用 Tan 和 Witt 等人的方法进行分峰拟合并计算淀粉样品中的单螺旋和双螺旋含量^[16,17]。

1.3.7 大米淀粉-原花青素复合物表面有序结构

傅里叶红外光谱 (FT-IR) 可以用于测定大米淀粉-原花青素复合物样品表面的有序结构。其测试条件为在 4000 至 400 cm^{-1} 范围内扫描, 以空气为背景。测定结束后, 利用 Peakfit-v4.12 软件对样品的红外光谱图 (800~1200 cm^{-1}) 进行分峰处理, 计算 1042 与 1014 cm^{-1} 的强度比 (R1042/1014), 用于衡量淀粉短程有序化结构的含量^[15]。

1.3.8 大米淀粉-原花青素复合物淀粉分子量

取 5 mg 样品与 5 mL 二甲基亚砷溶液 (含 50 mmol/L 溴化锂) 置于具塞试管中并混合均匀, 将其进行沸水浴处理 1 h 以及水浴 (60 $^{\circ}\text{C}$) 振荡 12 h。测定前, 利用 5.0 μm 滤膜对大米淀粉-多酚复合物样品进行过滤。流动相为采用超声脱气并经 0.2 μm 有机相过滤膜过滤的二甲基亚砷 (含 50 mmol/L 溴化锂); 其中样品测试条件为: 100 μL 、0.7 mL/min、40 $^{\circ}\text{C}$ 以及 $\lambda=632.8\text{ nm}$, 其中样品中 dn 与 dc 的比值为 0.074 g/mL, 利用 Astra 软件对数据进行分析处理^[18,19]。

1.4 数据处理

所有实验数据均取三次平均值, 利用 SPSS 20.0 及 LSD 法分析各组数据之间的显著性差异水平 ($p<0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 原花青素对发酵大米淀粉消化性能的影响

在微生物对大米淀粉进行发酵的过程中, 原花青素的添加量对其颗粒消化性能的影响如表 1 所示。与未发酵大米淀粉对比, 发酵后大米淀粉 RS 含量明显降低, 原花青素加入后使得大米淀粉颗粒的 RDS 含量降低和 RS 含量增加, 且随原花青素添加量的增加 RDS 和 RS 含量变化程度明显提高; 当原花青素添加量为 8% 时, 大米淀粉颗粒的 RS 含量达到最大为 66.85%。研究表明, 淀粉酶的活性可被原花青素抑制^[19]; 同时, 原花青素通过与淀粉结合形成复合物结构。原花青素对淀粉酶活性的抑制在发酵过程中能降低大米淀粉因微生物发酵而降解的程度, 同时其还可通过

与淀粉分子形成复合结构, 进而降低淀粉的消化性能。因此, 系统探讨发酵过程中原花青素如何影响大米淀粉的多尺度结构, 对利用原花青素来调控大米淀粉消化性能的具有重要的研究意义。

表 1 发酵协同原花青素复合对大米淀粉消化性能的影响 (%)

Table 1 Effect of fermentation and procyanidin complexation on the digestibility of rice starch (%)

样品	RDS	SDS	RS
RiceStarch	33.10±1.00 ^{a*}	51.88±1.53 ^b	15.02±1.53 ^c
FRS-0AC	37.32±1.47 ^a	56.02±3.17 ^a	6.66±3.16 ^e
FRS-2AC	31.47±1.90 ^b	57.24±1.80 ^a	11.29±1.81 ^d
FRS-4AC	24.86±0.84 ^c	57.17±0.46 ^a	17.97±0.46 ^b
FRS-8AC	9.24±0.33 ^d	23.92±1.64 ^c	66.85±1.65 ^a

注: 所有数据均以平均值±标准偏差表示, 同一列中不同字母表示数据具有统计学显著性差异 ($p<0.05$), 下表同。

2.2 原花青素对大米淀粉半结晶层状结构的影响

影响

小角 X 射线散射技术可以考察在大米淀粉发酵过程中, 原花青素对大米淀粉颗粒半结晶层状结构的影响, 结果如图 1 和表 2 所示。

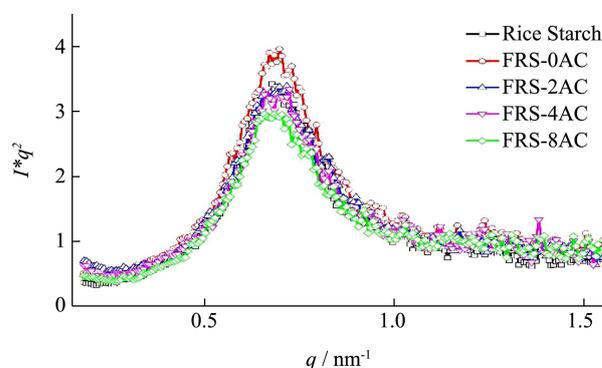


图 1 发酵过程中添加不同原花青素后大米淀粉的小角 X 射线衍射图谱

Fig.1 The SAXS patterns of rice starch co-fermented with different amount of procyanidin

表 2 发酵过程中添加不同原花青素后大米淀粉的半结晶层及分形结构特征

Table 2 The lamellar parameters and fractal structure features of rice starch co-fermented with different amount of procyanidin

样品	Apeak	d/nm	da/nm	dc/nm	α	Dm
Rice Starch	0.93±0.00 ^{a*}	9.61±0.01 ^a	2.09±0.01 ^a	7.52±0.00 ^d	2.04±0.02 ^d	2.04±0.02 ^d
FRS-0AC	0.91±0.00 ^b	9.69±0.01 ^b	2.06±0.01 ^b	7.63±0.00 ^c	1.97±0.01 ^e	1.97±0.00 ^e
FRS-2AC	0.78±0.00 ^c	9.69±0.00 ^b	2.04±0.01 ^b	7.65±0.00 ^c	2.86±0.02 ^b	2.86±0.02 ^b
FRS-4AC	0.72±0.01 ^d	9.73±0.01 ^c	2.00±0.00 ^c	7.73±0.01 ^b	2.98±0.02 ^a	2.98±0.02 ^a
FRS-8AC	0.71±0.00 ^d	9.80±0.01 ^d	1.97±0.01 ^d	7.83±0.01 ^a	2.45±0.04 ^c	2.45±0.04 ^c

图1中 $q \approx 0.65 \text{ nm}^{-1}$ 处的散射峰对应于淀粉的半结晶层状结构。由图1和表2可见, 微生物发酵显著降低淀粉特征散射峰面积, 即表明发酵后淀粉半结晶层状结构的有序程度降低; 此外, 微生物发酵可使淀粉半结晶层状结构的厚度 (d) 及结晶层的厚度 (dc) 增大, 这是由于微生物胞外酶降解了半结晶层状结构中无定型层中支链淀粉分子并诱导其在临界结晶层处发生有序化重排。而在发酵过程中淀粉特征散射峰的峰面积随着原花青素添加量的增加而进一步降低, 表明在发酵过程中原花青素的加入进一步降低了淀粉半结晶层结构的有序化程度。即原花青素对发酵大米淀粉半结晶层状结构有序化程度的破坏作用强于其对淀粉酶降解破坏淀粉有序化程度的抑制作用。同时, 由表2可知, 原花青素的添加可使大米淀粉半结晶层状结构中的无定型层厚度 (da) 显著降低、半结晶层厚度 (d) 及结晶层厚度 (dc) 显著增加, 表明原花青素与淀粉分子二者间的相互作用可显著改变淀粉分子在半结晶层状结构中的分子排布方式。首先, 原花青素可作为酶抑制剂显著降低微生物对大米淀粉半结晶层结构的破坏程度^[20]; 其次, 原花青素在发酵中可通过氢键竞争性与淀粉分子发生分子间相互作用^[11], 最终改变淀粉半结晶层状结构。由图1及表2可知, 原花青素通过竞争性氢键相互作用破坏或抑制了淀粉分子间的原有氢键相互作用, 进而降低半结晶层状结构中结晶层的有序化程度; 同时, 原花青素通过在淀粉分子间形成新的氢键相互作用, 使得半结晶层状结构中无定型层的支链淀粉分子链或降解后的淀粉分子链形成相对有序的淀粉分子-原花青素-淀粉分子复合结构, 才能使得发酵大米淀粉半结晶层状结构中无定型层厚度 (da) 显著降低、半结晶层厚度 (d) 及结晶层厚度 (dc) 增加。

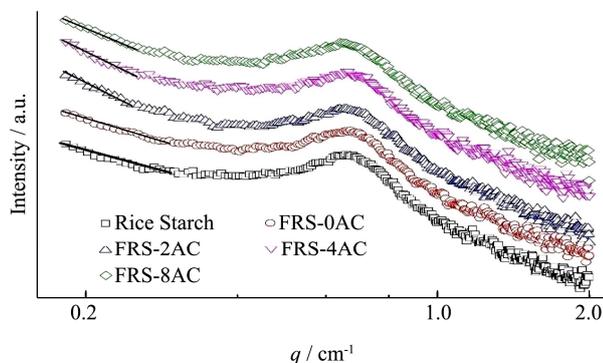


图2 发酵过程中添加不同原花青素后大米淀粉的分形结构图

Fig.2 The fitting curves of fractal structures of rice starch co-fermented with different amount of procyanidin

淀粉的分形维数范围在 $1 < \alpha < 3$ 时为质量分形结构, 分形维数 $D_m = \alpha$ ^[21,22]。且淀粉分形维数越大, 表

明淀粉聚集的越紧密, 其有序化程度越高。大米淀粉的分形维数拟合及其结果分别如图2和表2。经微生物发酵后, 淀粉的分形维数降低, 说明大米淀粉经发酵后其半结晶层状结构的整体有序化程度降低。而在此过程中由于原花青素的添加, 大米淀粉的分形维数先增大 (原花青素添加量 $< 4\%$) 后降低 (原花青素添加量 $> 4\%$), 说明原花青素的添加显著改变其半结晶层状结构的整体有序化程度。在大米淀粉发酵过程中, 根据原花青素对其半结晶层状结构厚度的影响可知, 由于原花青素的介入, 淀粉分子链与其二者间产生大量新的分子间氢键, 可形成相对有序的复合物结构并提高半结晶层状结构中无定型层淀粉分子链的有序化程度; 然而, 在较高多酚添加量时, 原花青素可能作为“增塑剂”抑制淀粉分子间的有序排列^[23], 使得高添加量的原花青素条件下发酵大米淀粉半结晶层状结构的整体有序化程度反而降低。

2.3 原花青素对大米淀粉结晶结构的影响

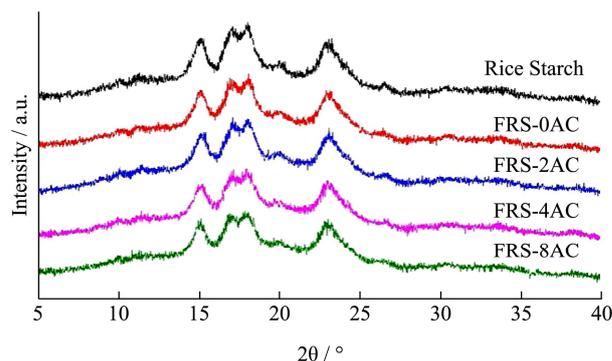


图3 发酵过程中添加不同原花青素后大米淀粉的X射线衍射图谱

Fig.3 The XRD pattern of rice starch co-fermented with different amount of procyanidin

发酵过程中原花青素对大米淀粉的结晶构型及相对结晶度 (Relative crystallinity, RC) 的影响如图3及表3所示。微生物发酵前后, 大米淀粉X射线衍射图谱均在 15° 、 17° 、 18° 、 23° (2θ) 附近出现A型结晶特征衍射峰^[15]、约 20° (2θ) 处出现V型结晶结构的衍射峰^[23], 表明大米淀粉在微生物发酵前后均呈现A+V的复合结晶构型。经微生物发酵后, 大米淀粉的相对结晶度及A型结晶比例明显下降, 表明微生物发酵过程显著破坏淀粉的结晶结构。而在原花青素加入后, 发酵大米淀粉的A型结晶比例、V型结晶比例及相对结晶度相对未添加原花青素的样品有显著降低, 但该变化随原花青素添加量的变化没有显著性差异。再次说明, 原花青素通过抑制大米淀粉颗粒被淀粉酶酶解从而延缓大米淀粉的结晶程度降低的同时, 由于原花

青素可在淀粉分子链间竞争性的形成氢键相互作用，破坏淀粉分子原有氢键相互作用及抑制淀粉分子间的进一步有序排列，因此，降低大米淀粉的 A 型结晶结构比例和相对结晶程度。而进一步增加原花青素添加量后，其与淀粉分子间竞争性形成氢键的程度以及 V 型结晶结构比例逐渐增加。由此可见，原花青素与淀粉分子间的竞争性氢键相互作用及相对有序复合物的形成是大米淀粉结晶结构改变的主要因素。

2.4 原花青素对大米淀粉螺旋结构的影响

大米淀粉颗粒螺旋结构在原花青素协同发酵过程中的变化如表 3 所示。微生物发酵显著降低大米淀粉整体双螺旋结构比例并提高无定型结构比例，对单螺旋结构没有显著影响。随着原花青素的添加，淀粉整体无定型结构比例逐步增加，双螺旋比例逐步降低。这与大米淀粉 A 型结晶比例及相对结晶度的变化趋势相一致。在发酵过程中，原花青素与淀粉分子因二者间存在竞争性氢键相互作用进而形成复合物，同时也破坏淀粉颗粒原有的双螺旋结构；而随着原花青素与淀粉分子间竞争性形成氢键的程度增加，新形成相对有序的复合物逐步增多，而该复合物主要有淀粉单螺旋分子链构成，且由于原花青素的增塑作用使得复合物中淀粉分子很难进一步聚集成双螺旋结构。因此，发酵大米淀粉的双螺旋结构明显降低，而单螺旋结构变化不大。这与大米淀粉发酵过程中，原花青素的添

加对其不同结晶结构的影响规律相同。

2.5 原花青素对大米淀粉短程有序结构的影响

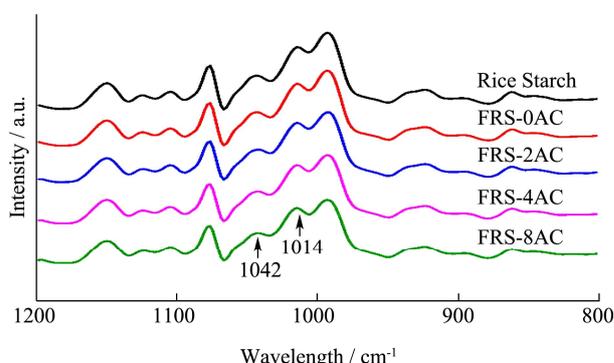


图 4 发酵过程中添加不同原花青素后大米淀粉的红外谱图
Fig.4 The infrared spectrogram of rice starch co-fermented with different amount of procyanidin

大米淀粉的红外光谱图及表面短程有序结构含量 (R1042/1014) 如图 4 及表 3 所示。大米淀粉的短程有序结构在微生物发酵后显著增加。这是因为大米淀粉颗粒表面短程无定型结构相对于短程有序结构更容易被降解，使得大米淀粉的短程有序结构含量相对增大，而发酵大米淀粉表面短程有序化程度在进一步添加原花青素后也逐步增加。再次证实，发酵过程中原花青素可与无定型区域的淀粉分子链或者被降解后的淀粉分子链发生竞争性氢键相互作用而形成相对有序的原花青素与淀粉分子复合物。

表 3 发酵过程中添加不同原花青素后大米淀粉的多尺度结构特征参数分析

Table 3 The analysis of multi-scale structural characteristic parameters of rice starch co-fermented with different amount of procyanidin

Samples	A-type/%	V-type/%	RC/%	Amorphous structure/%	Single helix/%	Double helices/%	R1042/1014
Rice Starch	36.19±0.61 ^{a*}	3.37±0.11 ^b	39.56±0.83 ^a	50.30±0.62 ^c	10.49±0.26 ^a	39.21±0.58 ^a	0.56±0.01 ^d
FRS-0AC	26.22±0.23 ^b	3.84±0.15 ^a	30.06±0.07 ^b	52.53±0.19 ^d	11.97±0.28 ^a	35.50±0.23 ^b	0.58±0.01 ^c
FRS-2AC	24.22±0.05 ^c	2.14±0.05 ^c	26.29±0.92 ^c	54.31±0.32 ^c	12.40±0.30 ^a	33.30±0.18 ^c	0.65±0.01 ^b
FRS-4AC	23.79±0.27 ^c	2.12±0.12 ^c	25.91±0.30 ^c	56.18±0.41 ^b	11.46±0.21 ^a	32.35±0.20 ^d	0.66±0.01 ^b
FRS-8AC	23.10±0.39 ^c	2.26±0.07 ^c	25.36±0.32 ^c	59.38±0.36 ^a	11.82±0.23 ^a	28.80±0.25 ^e	0.70±0.02 ^a

表 4 原花青素协同发酵前后大米淀粉的分子量及其分布

Table 4 The molecular mass and its distribution of rice starch co-fermented with different amount of procyanidin

Samples	$M_w \times 10^7$ g/mol	$< 2 \times 10^7$ g/mol	$2 \times 10^7 \sim 2.5 \times 10^7$ g/mol	$2.5 \times 10^7 \sim 3 \times 10^7$ g/mol	$3 \times 10^7 \sim 3.5 \times 10^7$ g/mol	$> 3.5 \times 10^7$ g/mol	Amylose/%
Rice Starch	4.00(1%)*	0	0	0	34.67	65.33	12.49±0.54 ^a
FRS-0AC	2.19(1%)	29.49	50.29	12.85	7.37	0	12.65±0.37 ^a
FRS-2AC	2.14(1%)	30.79	43.30	18.13	4.90	2.88	11.65±0.31 ^b
FRS-4AC	2.34(1%)	30.74	23.71	22.77	17.36	5.42	11.11±0.31 ^b
FRS-8AC	2.31(1%)	35.44	16.00	28.99	14.46	5.11	10.07±0.47 ^c

注：括号内的数字为结果的测试偏差。

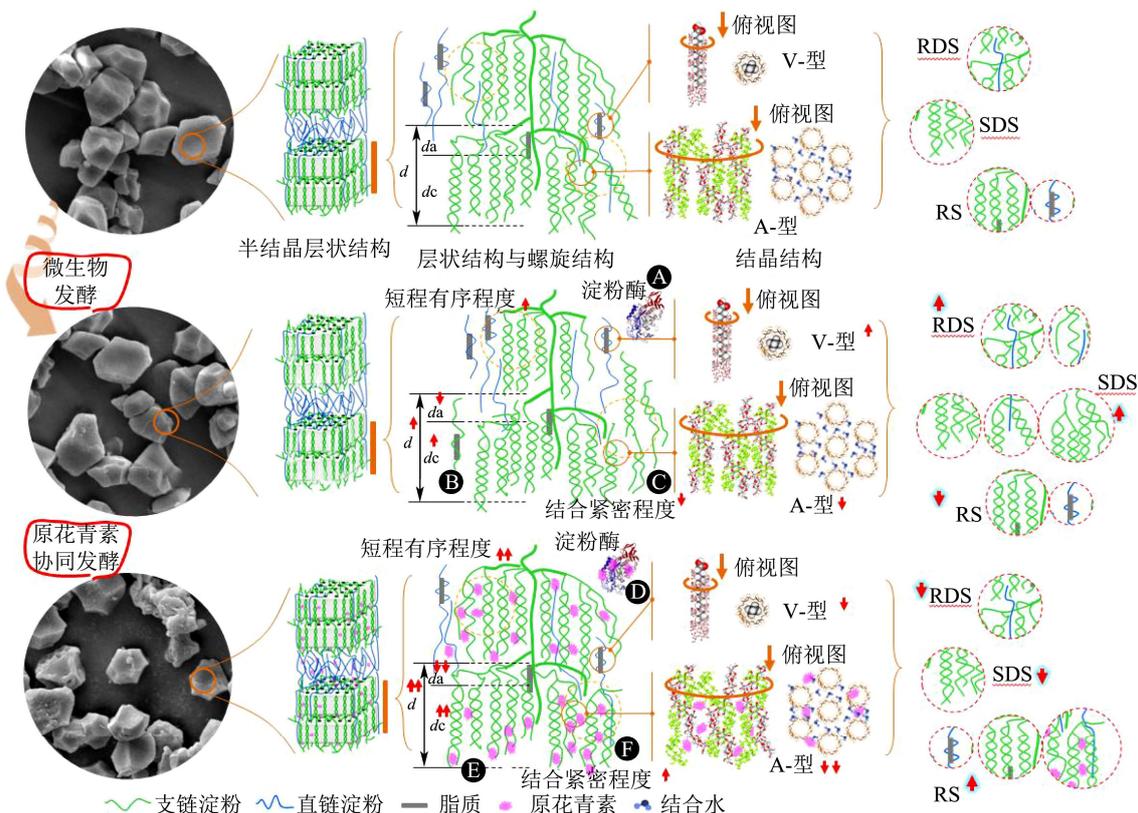


图5 原花青素协同发酵过程中大米淀粉多尺度结构及消化性能转变机制图

Fig.5 Schematic presentation of the changes of rice starch multi-scale structures and digestibility during co-fermentation with procyanidin

注：箭头数量表示增大或降低。

2.6 原花青素对大米淀粉分子量及直链淀粉含量的影响

大米淀粉的重均分子量 M_w 及分子量分布变化见表 4。大米淀粉经微生物发酵后其分子量显著降低，且在 $M_w < 3 \times 10^7$ g/mol 的分子链片段显著增多。通过提高发酵过程中原花青素的添加量，淀粉分子的重均分子量逐步增大、淀粉分子在较大分子量范围内的分布增多，说明原花青素的添加降低了淀粉分子被微生物胞外酶降解的程度。一方面是原花青素作为酶抑制剂抑制微生物胞外酶的活性^[20]，降低酶对淀粉分子的降解；另一方面是原花青素不仅与淀粉分子通过形成复合物来降低了淀粉的半结晶层结构有序化程度、结晶结构及双螺旋结构比例，其还可通过氢键作用促进无定型淀粉分子的排列，使得半结晶层厚度、结晶层厚度、分形维数、表面短程有序结构显著增大，抑制淀粉分子在发酵过程中的进一步降解。大米淀粉的直链淀粉含量在微生物发酵作用下略微有所增加。而原花青素的加入使得大米淀粉的直链淀粉含量逐步减少。原花青素与大米淀粉半结晶层状结构中无定型层支链

淀粉相互作用并提高结晶层厚度，使得支链淀粉不易被微生物胞外酶作用而生成短直链淀粉分子。同时，直链淀粉所在的无定型背景区域易受微生物胞外酶的作用，而引起直链淀粉含量降低。

2.7 原花青素对大米淀粉多尺度结构及消化性能的影响机制

原花青素协同微生物发酵对大米淀粉多尺度结构和消化性能的影响分子机制如图 5 所示。在微生物发酵过程中，淀粉分子量降低（图 5A）及淀粉半结晶层状结构、结晶结构、双螺旋结构均遭到破坏（图 5C），整体有序化结构显著降低；而由于降解后的淀粉分子在此发酵过程中发生重排，大米淀粉的半结晶层状结构的厚度及结晶层厚度增加、V 型结晶结构和单螺旋结构增加（图 5B 及 5C）。而在发酵过程中原花青素的加入，促进了其与淀粉分子间形成的竞争性氢键相互作用，也显著改变大米淀粉多尺度结构进而引起其消化性能的变化。由上述大米淀粉在发酵过程中原花青素对其多尺度结构及消化性能的影响规律可知，原花青素协同发酵调控大米淀粉消化性能的机制如下：

(1) 原花青素可作为淀粉酶抑制剂, 抑制微生物分泌的淀粉酶对大米淀粉分子链的降解(表4及图5D), 从而可提高发酵大米淀粉的半结晶层及结晶层厚度(表2), 从而延缓淀粉的无序化程度; (2) 原花青素通过竞争性氢键相互作用降低半结晶层状结构中结晶层有序化程度、双螺旋结构、A型结晶结构、分子量的同时(表2、3、4及图5A), 还可以与半结晶层状结构中无定型层的支链淀粉分子链或降解后的淀粉分子链形成相对有序的淀粉分子-原花青素-淀粉分子复合结构(图5E), 使得发酵大米淀粉半结晶层状结构中结晶层厚度增大、无定型层厚度降低, 聚集态结构紧密程度和表面短程有序化结构比例增加(表2、3、4及图5E和F), 从而抑制淀粉酶对淀粉分子链的消化酶解。(3) 淀粉与原花青素复合物在消化过程中由于淀粉分子链的部分降解, 可缓慢释放原花青素, 从而抑制淀粉酶对淀粉的降解。通过上述三方面的综合作用, 最终显著降低经发酵后的大米淀粉消化性能。

3 结论

本文系统研究了原花青素在发酵过程中对大米淀粉结构及消化性能的影响和调控。研究表明, 微生物发酵降解淀粉分子链并破坏半结晶层状结构、结晶结构和双螺旋结构, 诱导大米淀粉颗粒无序化。原花青素复合协同微生物发酵过程中, 原花青素抑制微生物胞外酶活性并降低淀粉分子的降解及聚集态结构无序化; 此外, 原花青素与淀粉分子形成淀粉分子-原花青素-淀粉分子的复合结构, 使得淀粉半结晶层状结构中结晶层厚度增大、无定型层厚度降低, 聚集态结构紧密程度和表面短程有序化结构比例增加, 同时复合结构在消化过程中释放原花青素, 在显著抑制淀粉酶活性的同时也最终提高发酵大米淀粉的RS含量。原花青素对淀粉酶活性的抑制及其与淀粉之间形成淀粉分子-原花青素-淀粉分子这样的复合结构是显著影响大米淀粉消化性能的重要因素。本研究不仅有助于分析发酵淀粉结构对其消化性能的影响机制, 还可通过调控原花青素的添加量获得具有不同消化性能的发酵类淀粉制品。

参考文献

[1] Tian J, Ogawa Y, Shi J, et al. The microstructure of starchy food modulates its digestibility [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018: 1-12

[2] Vanier N L, El Halal S L M, Dias A R G, et al. Molecular structure, functionality and applications of oxidized starches:

a review [J]. *Food Chemistry*, 2017, 221: 1546-1559

[3] Toutounji M R, Farahnaky A, Santhakumar A B, et al. Intrinsic and extrinsic factors affecting rice starch digestibility [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 88: 10-22

[4] 柏芸,熊善柏,王欢欢,等.传统发酵食品米发糕生产工艺的革新与现代化[J].*粮食与食品工业*,2009,16(5):4-6

BO Yun, XIONG Shanbo, WANG Huanhuan, et al. Innovation and modernization of traditional fermented food rice cake production technology [J]. *Grain and Food Industry*, 2009, 16(5): 4-6

[5] Zhu F. Interactions between starch and phenolic compound [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2015, 43(2): 129-143

[6] Ichikawa H, Ichiyangi T, Xu B, et al. Antioxidant activity of anthocyanin extract from purple black rice [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2001, 4(4): 211-218

[7] Kushwaha U K S. *Black Rice: Research, History and Development* [M]. Springer, 2016

[8] Carney J A, Carney J A. *Black Rice: the African Origins of Rice Cultivation in the Americas* [M]. Harvard University Press, 2009

[9] Li N, Zhang B, Zhao S, et al. Influence of *Lactobacillus/Candida* fermentation on the starch structure of rice and the related noodle features [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 882-888

[10] Englyst H N, Kingman S, Cummings J. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 1992, 46: S33-50

[11] Chi C, Li X, Zhang Y, et al. Digestibility and supramolecular structural changes of maize starch by non-covalent interactions with gallic acid [J]. *Food & Function*, 2017, 8(2): 720-730

[12] Wang H, Zhang B, Chen L, et al. Understanding the structure and digestibility of heat-moisture treated starch [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 88: 1-8

[13] Li J, Jiao A, Chen S, et al. Application of the small-angle X-ray scattering technique for structural analysis studies: a review [J]. *Journal of Molecular Structure*, 2018, 1165: 391-400

[14] Chi C, Li X, Zhang Y, et al. Understanding the effect of freeze-drying on microstructures of starch hydrogels [J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 101: 105509

(下转第 285 页)