

核磁共振及其成像技术研究抗性淀粉和普通淀粉体外消化的影响

张锦胜^{1,2}, 金志强^{1,2}, 刘玉环^{1,2}, 林向阳^{1,3}, 阮榕生^{1,2,*}, 钱菲^{1,2}

(1.南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 2.生物质转化教育部工程研究中心, 江西 南昌 330047; 3.福州大学生物科学与工程学院, 福建 福州 350002)

摘要: 采用核磁共振及其成像技术(NMR 和 MRI)研究抗性淀粉(RS)和普通淀粉在体外的消化情况。结果表明, 从弛豫时间 T_{22} 和 T_{23} 可看出, 普通淀粉中 T_{22} 的下降趋势比抗性淀粉明显, 而 T_{23} 在普通淀粉中比在抗性淀粉中增加趋势明显。NMR 在研究食品体系中的水分分布和流动性来说明内部物质间的相互作用, 体现出明显的优势; 抗性淀粉在体内的消化, 表现出明显的抗性。

关键词: 核磁共振(NMR); 抗性淀粉(RS); 体外消化

Use of NMR and MRI to Study *in vitro* Digestibility of Resistant Starch and Normal Starch

ZHANG Jin-sheng^{1,2}, JIN Zhi-qiang^{1,2}, LIU Yu-huan^{1,2}, LIN Xiang-yang^{1,3}, RUAN Rong-sheng^{1,2,*}, QIAN Fei^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
2. Engineering Research Center for Biomass Conversion, Ministry of Education, Nanchang University, Nanchang 330047, China;
3. College of Biological Science and Technology, Fuzhou University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The *in vitro* assimilation of resistant starch (RS) and normal starch of wheat, corn and sweet potato was investigated using NMR and MRI. A more remarkable decreasing tendency of T_{22} and a more remarkable increasing tendency of T_{23} were observed in normal starch in comparison with RS. NMR presents obvious advantages in studying water mobility and distribution to account for the interactions among components in a food system. In addition, RS was more resistant to *in vivo* digestion than normal starch.

Key words: NMR; RS; starch; assimilation *in vitro*

中图分类号: TS231

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)15-0099-05

抗性淀粉是指不能在健康人体小肠中消化吸收的淀粉及其降解物的总称^[1]。自1993年欧洲抗性淀粉协会(European Flair Concerted Action on Resistant Starch, EURESTA)将其定义以来, 关于抗性淀粉的研究一直成为人们关注的焦点。抗性淀粉具有比传统膳食纤维更为优越的生理功能和食品加工性能, 是一种“药食两用”的食品资源。

NMR技术主要应用与医学成像, 诊断病灶部位, 在食品上的应用还比较少, 在国内还处于领先地位。Assifaoui等^[1]利用¹HNMR技术研究了饼干面团水分流动

性。通过FID序列测得的弛豫时间 $T_2^* = 11\text{ms}$ 与棕榈油、淀粉、麸质的结晶相有关。通过CPMG测得的弛豫时间分为三组数据, 即 $T_{21} = 2\text{ms}$ 、 $T_{22} = 12\text{ms}$ 、 $T_{23} = 105\text{ms}$, T_{21} 与内部质子有关、 T_{22} 表示与蔗糖和淀粉相互作用的那部分质子、 T_{23} 则表示非极性质子, 与饼干面团中的脂肪含量相同^[2]。Choi等^[3]利用¹HNMR对化学改性后的小麦淀粉进行分子流动性研究。

目前, 国内外的研究多集中于抗性淀粉的制备、性能及其生理功能等方面, 对其在胃肠道的代谢也有研究。然而抗性淀粉在人体内的消化吸收的过程研究报道

收稿日期: 2009-05-06

基金项目: 国家重点实验室自由探索课题(SKLF-TS-2008014); 江西省教育厅项目(S00478);

教育部“长江学者和创新团队发展计划”项目(IRT0540); 福建省青年科技人才创新项目(2007F3052);

福建省新世纪优秀人才支持计划项目(XSJRC2007-23)

作者简介: 张锦胜(1971—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为食品科学。E-mail: zjsmcl@163.com

* 通讯作者: 阮榕生(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: ruanx001@umn.edu

较少,利用核磁共振技术进行研究还未见相关报道。因此实验针对抗性淀粉在人体内的消化吸收情况,并利用磁共振技术对其进行深入分析,研究抗性淀粉和淀粉在体外消化过程中的差异,进一步认识抗性淀粉。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小麦抗性淀粉、红薯抗性淀粉、玉米抗性淀粉均为自制;红薯淀粉、小麦淀粉、玉米淀粉等均为超市购买;透析袋 国药集团化学试剂有限公司;胃蛋白酶、胰蛋白酶 上海蓝季科技有限公司;盐酸、磷酸二氢钾、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 仪器与设备

0.3 T ¹H YOMINGMR2 IMAGING 核磁共振成像系统(配备内径为 15.6cm 的射频线圈) 宁波健信机械有限公司;PYX-190H-B 恒温培养箱 广州科力智能仪器有限公司;SL2002N 型电子天平 上海民桥精密科学仪器有限公司;LTI-700 低温恒温培养箱 上海爱朗仪器有限公司;INSTRON3369 型万能测试仪 美国 Instron 公司;多功能 pH 计 Meitler Tolfdo 公司;ZDX-35BI 型座式自动电热压力蒸汽灭菌锅 上海申安医疗器械厂。

1.3 方法

1.3.1 人工胃液及人工肠液的配制

人工胃液的配制:9.5%~10.5% 的盐酸 8.2ml,加水稀释,使 pH 值达到 4.0;灭菌 15min,冷至 50℃以下时,每 100ml 液体中加入 1g 胃蛋白酶,混匀后待用^[4]。

人工肠液的配制:磷酸二氢钾 6.8g,加水 500ml 溶解,用 0.4% 氢氧化钠溶液调 pH 6.8,加水稀释至 1000ml,灭菌 15min,冷至 50℃以下时,每 100ml 液体中加入 1g 胰蛋白酶,混匀后待用^[4]。

1.3.2 抗性淀粉的制备

制备小麦抗性淀粉的最佳工艺条件:淀粉乳浓度 30%、pH 6.0、沸水浴预糊化、压热温度 120℃、压热时间 40min、4℃ 放置 24h。

制备玉米抗性淀粉的最佳工艺条件:淀粉乳浓度 25%、pH 8.0、沸水浴预糊化、压热温度 120℃、压热时间 30min、4℃ 放置 24h。

制备红薯抗性淀粉的最佳工艺条件:淀粉乳浓度 20%、pH 7.0、80℃ 预糊化、压热温度 120℃、压热时间 30min、4℃ 放置 24h。

最后将制得的抗性淀粉在干燥箱 80℃ 下烘干,粉碎,即得到抗性淀粉。

1.3.3 弛豫特性测定

将样品置于永久磁场中心位置的射频线圈的中心,

用 CPMG 脉冲序列测量样品的自旋-自旋弛豫时间 T_2 。

CPMG 实验采用的参数:采样点数 $TD = 8192$,回波个数 $C_0 = 380$ 、重复扫描次数 $NS = 16$ 、弛豫衰减时间 $D_0 = 3s$ 。利用 T_2_Fit 拟和程序计算出 T_2 值。

还原糖测定:DNS 法^[5]。

2 结果与分析

2.1 淀粉和抗性淀粉体外消化在磁共振上的表现

通过磁共振弛豫时间的测定,利用 CPMG 拟合得到三组数据,即 T_{21} 、 T_{22} 、 T_{23} 。抗性淀粉和普通淀粉在人工肠液中的消化过程表现出明显差异,普通淀粉的弛豫时间 T_{21} 、 T_{22} 、 T_{23} 明显高于抗性淀粉的弛豫时间。普通淀粉在消化过程中 T_{21} 在 35~70ms、抗性淀粉在 50~70ms 的范围内基本上相似;普通淀粉的 T_{22} 在 120~200ms 的范围内、抗性淀粉在 150~300ms 的范围内,这部分结合水表现出明显差异;普通淀粉的 T_{23} 在 1000~1800ms 的范围内、抗性淀粉的 T_{23} 在 400~600ms 的范围内,代表自由水分的这部分水分差异非常显著(图 1、2)。

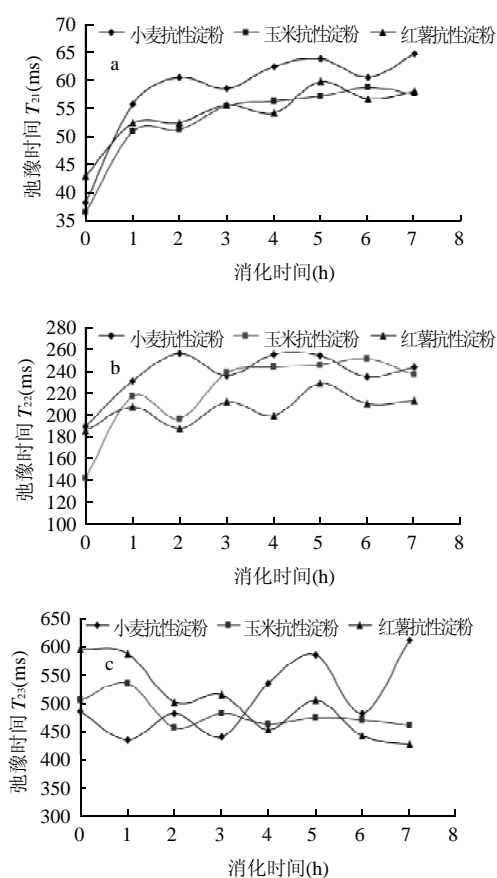


图 1 不同抗性淀粉在人工肠液中弛豫时间随消化时间的变化
Fig.1 Changes of relaxation time of resistant starches from different sources in artificial gastric juice during digestion

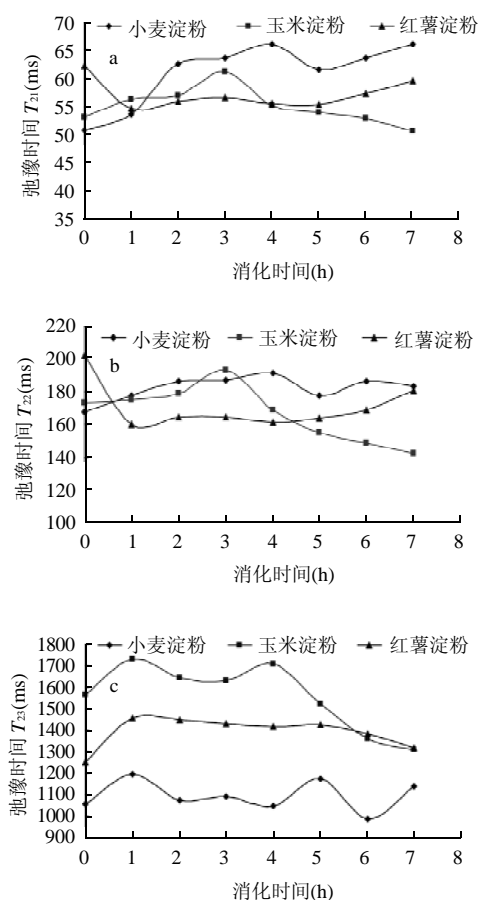


图2 不同普通淀粉在人工肠液中弛豫时间随消化时间的变化
Fig.2 Changes of relaxation time of normal starches from different sources in artificial gastric juice during digestion

在普通淀粉和抗性淀粉消化的过程中,普通淀粉很容易在胰蛋白酶的作用下水解为单糖,使得结合水分的能力下降,普通淀粉与水的结合能力比抗性淀粉强,但是此淀粉在酶的作用下,分解为小分子物质,从而结合水的能力下降,抗性淀粉在酶的作用下产生抗性,不容易被分解消化,在人体大肠中发酵产生短链脂肪酸,所以代表结合水分的这部分水分的弛豫时间与抗性淀粉的相比,有所降低;然而代表自由水分的那部分水分的弛豫时间明显比抗性淀粉的升高。在消化过程中,淀粉中大分子物质降解的速度比抗性淀粉降解的迅速,并且降解程度也比抗性淀粉的高。因此,结合水在消化过程中,抗性淀粉的偏高,而自由水分反呈现相反的变化规律。抗性淀粉在消化过程中,自身发酵,消化速度比较慢,黏度较高。磁共振结果表明,抗性淀粉的 T_{23} 与淀粉相比明显降低。由于大分子物质降解为小分子物质,大分子结合水分的能力显著下降,并向自由水分的方向转化,淀粉的自由水分明显高于淀粉,并且高达2.5~3倍。

在消化的过程中,普通淀粉和抗性淀粉的结合水部分均呈现一定的变化趋势,抗性淀粉结合水的能力呈现轻微的增加趋势,变化比较平缓;淀粉在降解过程中,在酶的作用下,基本上全部被降解,所以结合水分的能力基本丧失,呈现下降的趋势;抗性淀粉在消化过程中,自由水分基本上处于稳定状态,淀粉的自由水分呈现明显增加的趋势,在消化1h之后基本上处于稳定状态,在消化的过程中,内部结合水分和自由水分的相互转化,最后均会达到稳定状态。

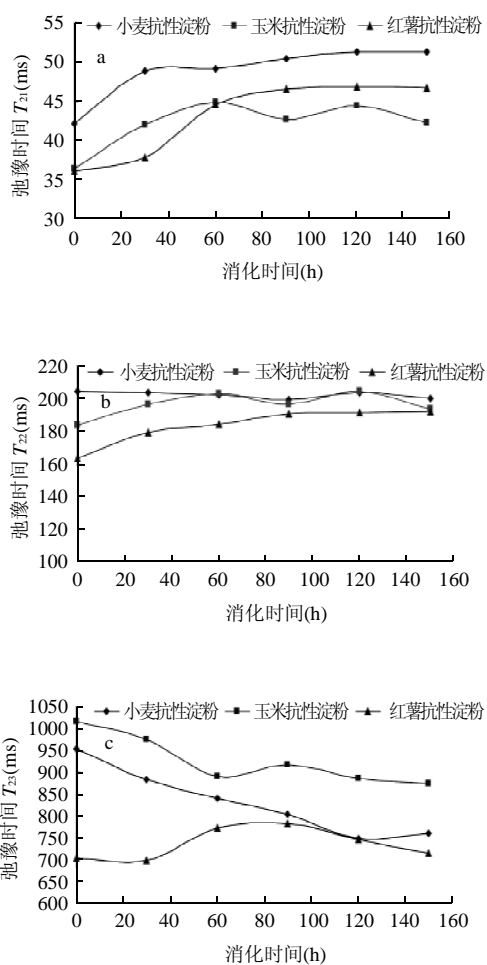
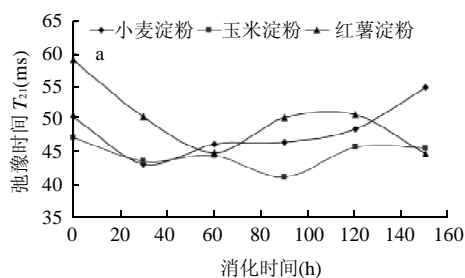


图3 不同抗性淀粉在人工胃液中弛豫时间随消化时间的变化
Fig.3 Changes of relaxation time of resistant starches from different sources in artificial intestinal juice during digestion



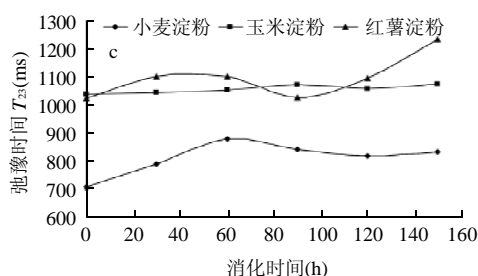
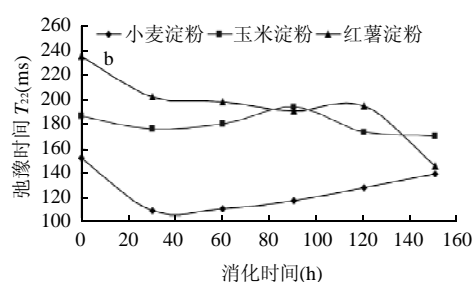


图4 不同普通淀粉在人工胃液中弛豫时间随消化时间的变化
Fig.4 Changes of relaxation time of normal starches from different sources in artificial intestinal juice during digestion

在人工胃液中, 消化情况和在人工肠液中类似, 但是也存在细微差别(图3、4)。淀粉的弛豫时间 T_{21} 均在 35~60ms 的范围内, T_{22} 在 100~240ms 的范围内, T_{23} 在 700~1200ms 的范围内。抗性淀粉的 T_{22} 比普通淀粉高, 抗性淀粉呈现增加的趋势, 而普通淀粉呈现下降的趋势, 这与在人工肠液中的变化趋势是一致的。弛豫时间 T_{23} 在抗性淀粉和普通淀粉中基本上呈现稳定的趋势, 但是抗性淀粉的自由水分比淀粉中的略低。抗性淀粉在胃液中的消化比在肠液中的消化强, 抗性淀粉更能抗肠液的消化。

2.2 普通淀粉和抗性淀粉体外消化还原糖的测定

利用 DNS 法, 得到葡萄糖浓度(y)与吸光度(x)的关系为: $y=0.2182x+0.0038$ ($R^2=0.9993$), 表明葡萄糖浓度标准工作曲线在测定范围内线性关系良好(图5)。

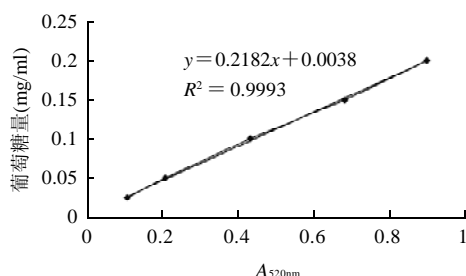


图5 还原糖测定标准曲线
Fig.5 Standard curve of glucose

抗性淀粉由结晶区和无定形区组成, 结晶区主要由结晶直链淀粉组成。抗性淀粉的抗消化能力主要是源于直链淀粉的结晶^[6]。

表1 抗性淀粉和普通淀粉在 pH6.8 的人工肠液中消化情况对比
Table 1 Comparisons of *in vitro* digestion of resistant starches and normal starches from different sources in artificial gastric juice at pH 6.8

淀粉种类	小麦		玉米		红薯	
	RS	普通淀粉	RS	普通淀粉	RS	普通淀粉
A_{520nm}	0.3343	0.3875	0.3205	0.3539	0.3304	0.3843
还原糖量(mg/ml)	0.07332	0.08493	0.07031	0.07760	0.07247	0.08423
还原糖降低量(%)	13.67		9.39		13.96	

表2 抗性淀粉和普通淀粉在 pH4.0 的人工胃液中消化情况对比
Table 2 Comparisons of *in vitro* digestion of resistant starches and normal starches from different sources in artificial intestinal juice at pH 4.0

淀粉种类	小麦		玉米		红薯	
	RS	普通淀粉	RS	普通淀粉	RS	普通淀粉
A_{520nm}	0.333	0.3845	0.3225	0.3476	0.3159	0.3995
还原糖量(mg/ml)	0.07304	0.08428	0.07075	0.07623	0.06931	0.08755
还原糖降低量(%)	13.33		7.18		20.84	

由表1、2可知, 抗性淀粉和普通淀粉在进行体外消化的过程中与对照组相比, 小麦、玉米和红薯抗性淀粉生成的葡萄糖浓度比原淀粉低 9.39%、13.67%、13.96%。所以抗性淀粉对人工肠液(pH6.8)的消化产生抗性。普通淀粉能够被胰蛋白酶分解成单糖, 故原淀粉能够被小肠消化吸收。抗性淀粉不能被胰蛋白酶分解, 故抗性淀粉不能被小肠消化吸收^[7-8]。

小麦、玉米和红薯抗性淀粉生成的葡萄糖浓度比原淀粉低 7.18%、13.33%、20.84%, 可知抗性淀粉对人工胃液(pH4.0)的消化也产生抗性。普通淀粉能被胃蛋白酶分解成单糖, 故普通淀粉在胃中能够被消化吸收。抗性淀粉不能被胃蛋白酶分解, 故抗性淀粉在胃中不被消化吸收。

抗性淀粉在人工胃液(pH4.0)、人工肠液(pH6.8)中被消化吸收的程度不大, 与对照组普通淀粉相比, 人工胃肠液的环境对抗性淀粉的消化作用不大, 所生成的还原糖含量极少, 可见抗性淀粉的确不能在健康人体小肠中消化吸收, 胃蛋白酶和胰蛋白酶对抗性淀粉不具有催化作用。大肠液对抗性淀粉及普通淀粉均产生了影响。因为抗性淀粉能被大肠液中的微生物发酵或部分发酵, 产生挥发性短链脂肪酸。对于抗性淀粉能在大肠中被微生物分解发酵, 产生短链脂肪酸的机理和过程需要做进一步地讨论和研究。

3 结论

3.1 从磁共振特性看, 由于普通淀粉易分解为小分子单糖, 结合水的能力下降, 抗性淀粉不易被水解为单糖, 结合水的能力较淀粉强。从弛豫时间 T_{22} 和 T_{23} 上可看出, 普通淀粉中 T_{22} 的下降趋势比抗性淀粉的明

显, 而 T_{23} 在普通淀粉中比在抗性淀粉增加趋势明显。这充分说明抗性淀粉的消化转化为单糖较少, 具有明显的抗消化性。

3.2 体外消化过程中, 利用 DNS 法测定的还原糖的含量, 可以看出玉米抗性淀粉和红薯抗性淀粉的抗性比小麦抗性淀粉的抗性强。在人工肠液中, 玉米抗性淀粉和红薯抗性淀粉的抗性基本相同, 并且均比小麦抗性淀粉强。在人工胃液中, 红薯抗性淀粉的抗性最强, 玉米抗性淀粉在人工肠液和胃液中的抗性基本相同。因而在实际生产和生活中, 应该尽量使用红薯淀粉来制备抗性淀粉。

参考文献:

- [1] MARCHINI J S, FAISANT N, CHAMP M, et al. Effects of an acute raw resistant potato starch supplement on postprandial glycemia, insulinemia, lipemia in healthy adults[J]. Nutrition Research. 1998, 18(7): 1135-1145.
- [2] ASSIFAOU A. Characterization of water mobility in biscuit dough using a low-field ^1H NMR technique[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 64: 197-204.
- [3] CHOI S G, WILLIAM L K. Effects of chemical modification of wheat starch on molecular mobility as studied by pulsed ^1H NMR[J]. Lebensm Wiss u Technol, 2003, 36: 105-112.
- [4] 尚晓娅. 抗性淀粉体外消化模拟的研究[J]. 食品工业科技, 2007(5): 218-220.
- [5] 齐香君. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定溶液中还原糖的研究[J]. 纤维素科学与技术, 2004, 12(3): 17-19.
- [6] 吕微. 抗性淀粉生理功能研究[J]. 粮食与油脂, 2007(4): 17-19.
- [7] FASSLE C, ARRIGONI E, VENEMA K, et al. Digestibility of resistant starch containing preparations using two *in vitro* models[J]. Europe Nutrition, 2006, 45: 445-453.
- [8] GONI I. *In vitro* fermentation of different types of α -amylase resistant corn starches[J]. Eur Food Res Technol, 2002, 211: 316-321.