

李颖颖, 蒋彦婕, 李文奇, 等. 稻米淀粉体外消化试验方法的优化及应用[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(2) : 539-546.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.02.028

稻米淀粉体外消化试验方法的优化及应用

李颖颖^{1,2}, 蒋彦婕¹, 李文奇¹, 陶亚军¹, 王芳权¹, 陈智慧¹, 许 扬^{1,3}, 王 军^{1,3},
范方军¹, 朱建平¹, 夏士健¹, 李 霞^{1,2,3}, 杨 杰^{1,3}

(1.江苏省农业科学院粮食作物研究所, 农业农村部淮河下游种质创新重点实验室, 江苏 南京 210014; 2.南京农业大学生命科学学院, 江苏 南京 210095; 3.江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心, 江苏 扬州 225009)

摘要: 为实现快捷、经济的稻米升糖指数(*GI*)估测, 首先以不同直链淀粉含量的水稻品种紫金糯 2 号、南粳 04062、宁西优 Y16 稻米为研究材料, 分析了样品前处理方式、 α -淀粉酶和淀粉糖苷酶的添加量及方式等对稻米淀粉水解的影响, 明确了稻米淀粉体外消化的适宜前处理方式、 α -淀粉酶和淀粉糖苷酶的适宜添加量和方式, 进而根据淀粉水解指数和水解率进行了稻米升糖指数的估算。结果表明, 稻米升糖指数估算适宜的淀粉体外消化试验方法是 0.75 g 精米加水煮熟后, 人工研棒挤压 30 下, 加 pH6.8 的磷酸盐缓冲液定容至 15 ml, 同时加入 300 U/ml 的 α -淀粉酶和 50 U/ml 的淀粉糖苷酶各 1 ml 联合水解 60 min, 通过监测水解液葡萄糖含量动态变化, 计算 1 h 内的淀粉水解指数及 1 h 的水解率, 即可实现稻米升糖指数的估算; 9 个稻米样本的 *GI* 估算结果表明本研究建立的试验方法能实现低 *GI* 稻米资源和遗传材料的初步筛选。

关键词: 水稻; 淀粉水解率; 升糖指数(*GI*); 淀粉体外消化

中图分类号: S511; R151.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023) 02-0539-08

Optimization and application of *in vitro* digestion test method of rice starch

LI Ying-ying^{1,2}, JIANG Yan-jie¹, LI Wen-qi¹, TAO Ya-jun¹, WANG Fang-quan¹, CHEN Zhi-hui¹,
XU Yang^{1,3}, WANG Jun^{1,3}, FAN Fang-jun¹, ZHU Jian-ping¹, XIA Shi-jian¹, LI Xia^{1,2,3}, YANG Jie^{1,3}

(1. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Germplasm Innovation in Downstream of Huaihe River (Nanjing), Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, Nanjing 210014, China; 2. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Collaborative Innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops of Jiangsu Province, Yangzhou 225009, China)

Abstract: In order to estimate the glycemic index (*GI*) of rice quickly and economically, the rice varieties Zijinnuo 2, Nanjing 04062 and Ningxiyou Y16 with different amylose contents were used as the research materials. The effects of sample pretreatment methods, the addition amount and method of α -amylase and amyloglucosidase on the hydrolysis characteristics of rice starch were analyzed. The suitable pretreatment method of rice starch *in vitro* digestion, the suitable addition amount and method of α -amylase and amyloglucosidase were determined. The *GI* value of rice was estimated according to the starch hydrolysis index and hydrolysis rate. The results showed that the suitable starch *in vitro* digestion test scheme for estimating the glycemic index of rice was as follows: 0.75 g of polished rice was boiled with water, then extruded 30 times by artificial stick, and the

收稿日期: 2022-04-20

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(20) 3008]; 江苏省重点研发计划(现代农业) 项目(BE2020); 国家自然科学基金项目(31571585)

作者简介: 李颖颖(1998-), 女, 安徽宿州人, 硕士研究生, 研究方向为水稻营养。(E-mail) 2361350374@qq.com

通讯作者: 李 霞, (E-mail) jsplx@ jaas. ac. cn; 杨 杰, (E-mail) yangjie168@ aliyun.com

volume was adjusted to 15 ml with pH 6.8 phosphate buffer. Then, 1 ml 300 U/ml α -amylase and 1 ml 50 U/ml amyloglucosidase were added synchronously to hydrolyze for 60 min. By monitoring the dynamic change of glucose content in the hydrolysate, the *GI* value of rice could be estimated by the starch hydrolysis index within 1 h and the hydrolysis rate at 1 h. The *GI* estimation values of nine rice samples indicated that the experimental method established in this study could realize the preliminary screening of low *GI* rice resources and genetic materials.

Key words: rice; starch hydrolysis rate; glycemic index (*GI*); starch digestion *in vitro*

肥胖、Ⅱ型糖尿病和相关慢性病的发病率在发展中国家和发达国家均不断增加。据报道,2022 年全世界约 1.9×10^9 成年人超重或肥胖,其中 5.37×10^8 人患有Ⅱ型糖尿病^[1]。由于肥胖、糖尿病等大多与过量摄食有关,因此通过膳食干预是解决这些全球健康问题经济有效的手段^[2]。目前医学界普遍认为,食用低血糖生成指数(或升糖指数,*GI*)的食品对肥胖、糖尿病等疾病的预防和控制具有较好作用^[3]。

水稻是全球数十亿人的主食作物。据国际粮农组织报告,2022 年度全球精米消费量估计超过 5×10^8 t,人均消费量超过 65 kg^[4]。精米是最常见的大米消费形式,它是稻谷通过物理加工去除谷壳和麸皮,露出的淀粉状胚乳。精米的淀粉含量高达 90%^[5],因此淀粉性状是精米升糖指数的决定性因素。与许多其他淀粉食品相比,目前人们食用大米的 *GI* 相对较高,属于高 *GI* 食品^[6]。目前食品升糖指数的检测标准通常是根据健康人群食用食物及对照品之后 2 h 内的血液中血糖变化来计算。对于低 *GI* 稻米的培育以及低 *GI* 产品的加工来说,需要快速便捷的 *GI* 估算方法,为此,科学家根据食品在人体中的消化过程,尝试在体外建立食品 *GI* 的估测方法^[7]。

食物的血糖反应在很大程度上与其碳水化合物的消化速度相关,用混合酶类对食物进行水解,测定水解后的还原糖量以判断消化程度,就可对食物的升糖指数进行估测^[8]。目前已经建立了不少体外消化方法来评估食物中的淀粉水解率,进而估计食物的 *GI*^[9-10],淀粉体外消化的反应时间在 1~4 h 均有报道^[11-14]。已有研究结果表明,不同淀粉样品在消化 60 min 之后,葡萄糖的释放量趋于稳定,没有大幅度的递增^[15];马铃薯淀粉体外酶解 60 min 时得到的估计升糖指数与人体检测得到的升糖指数一致性最好^[16]。而在稻米淀粉的体外水解方面,研究人员在水解反应液 pH 值、酶的种类和浓度、体外消

化时间以及操作步骤等方面还没有一个统一的检测标准^[17-18]。此外,还需要依赖昂贵的体外消化模拟设备在水解前对稻米样品进行破碎处理^[19],这就导致目前的稻米淀粉体外水解方法的普适性、通用性不强。碳水化合物的体外模拟消化速度可用水解率、水解指数、淀粉消化指数等指标来反映,但不同来源淀粉样品各指标的实验程序和计算方法并不一致^[2]。因此,有必要建立一种简单省时、可靠且成本低廉的稻米淀粉体外消化方法,来估测稻米的升糖指数,以实现稻米低升糖指数水稻资源以及初级遗传材料的筛选。为此,本研究以粳糯紫金糯 2 号、粳稻南粳 04062、杂交籼稻宁西优 Y16 稻米为试验材料,从样品前处理、水解酶种类、水解酶含量以及水解时间等对稻米淀粉水解的影响进行分析,尝试建立一个简单有效且经济的稻米淀粉体外消化方法,以估测稻米的升糖指数;并选取了 9 个稻米样品来验证本方法的有效性,为低 *GI* 稻米快速便捷鉴定提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

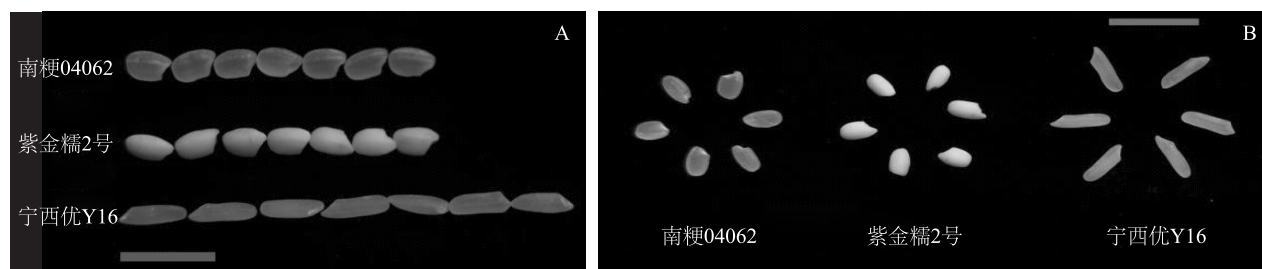
本研究选取的材料包括本单位保存水稻品种的精米及市场上购买的不同类型精米。本单位保存的水稻品种包括紫金糯 2 号、南粳 04062、宁西优 Y16、JYJ-1(籼稻)和 JYJ-2(籼稻)等。其中,粳糯紫金糯 2 号属于粳亚种,稻米不透明,直链淀粉含量 $\leq 2\%$;粳稻南粳 04062 也属于粳亚种,但稻米透明,直链淀粉含量 $14\% \sim 16\%$;杂交籼稻宁西优 Y16 属于籼稻亚种,米粒狭长,直链淀粉含量 $18\% \sim 20\%$ 。具体稻米外观见图 1。市场上购买的精米产品包括米抗儿低 *GI* 精米(中农海稻深圳生物科技有限公司产品)、米无忌高抗性淀粉精米(南京晶健米业有限公司产品)、牧谷屋中 *GI* 精米(哈尔滨沃禾农业发展有限公司产品)、降特 3D 特制脱水加工精米(特素生物科技天津有限公司产品)。白面包(曼可

顿食品上海有限公司产品)。此外, α -淀粉酶(4 000 U/g)购自源叶生物科技有限公司,淀粉糖苷酶(AMG,103 U/mg)购自 Sigma 公司,葡萄糖检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所,可溶性淀粉购自成都市科龙化工试剂厂,其他试剂均为化学分析纯。

α -淀粉酶母液:分别取原酶(4 000 U/g)0.050 0 g、0.062 5 g、0.075 0 g、0.087 5 g、0.100 0 g、0.112 5 g 加水定容至 1 ml,配置成含量分别为 200 U/ml、

250 U/ml、300 U/ml、350 U/ml、400 U/ml、450 U/ml 的反应酶母液。

淀粉糖苷酶母液:分别取原酶(103 U/mg)0.97 mg、1.94 mg、2.90 mg、3.90 mg、4.90 mg、5.80 mg、6.80 mg 加水定容至 1 ml,配置成含量分别为 100 U/ml、200 U/ml、300 U/ml、400 U/ml、500 U/ml、600 U/ml、700 U/ml 的酶溶液,稀释 10 倍得到含量分别为 10 U/ml、20 U/ml、30 U/ml、40 U/ml、50 U/ml、60 U/ml、70 U/ml 的反应酶母液。



A: 稻米长度;B: 稻米透明度(图中标尺均为 1 cm)。

图 1 三种典型稻米表型特征

Fig.1 Three typical rice apparent characteristics

1.2 仪器设备

研钵、研棒、JA203H 分析天平购自常州市幸运电子设备有限公司,DK-8D 三孔电热恒温水槽购自上海一恒科学仪器有限公司,L3-5K 台式低速离心机购自湖南可成仪器设备有限公司,UV-3200 紫外分光光度计购自上海美谱达仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品前处理 以紫金糯 2 号精米为试验材料,分析咀嚼和研磨两种前处理方式对测试结果的影响。取 2 份 0.75 g 米样洗净,按照文献[20]加入适量的水,常压蒸制 30 min,以确保米粒完全煮熟,冷却至室温,然后采用咀嚼和研磨的方式对煮熟的米饭,分别经研棒研磨 30 下和人工咀嚼 30 下,然后再分别加 pH6.8 的磷酸盐缓冲液定容到 15 ml,37 °C 恒温孵育,分别加入 1 ml 含量为 200 U/ml、250 U/ml、300 U/ml、350 U/ml α -淀粉酶母液反应 60 min,100 °C 热失活 10 min,静置至室温,再加 1 ml 含量为 70 U/ml 淀粉糖苷酶母液,继续反应 30 min,100 °C 热失活 10 min 终止反应,4 000 r/min 离心 5 min,测得水解液体积。取 10 μ l 上清液,用葡萄糖检测试剂盒测定上清液中葡萄糖含量。每个处理重复 3 次。

1.3.2 淀粉消化酶含量以及加酶方式的确定 根据 Fitzgerald 等^[20],Lin 等^[21]和 Goni 等^[22]方法,分别在水解酶用量、加酶的顺序以及水解反应时间等方面进行优化,具体如下:

1.3.2.1 α -淀粉酶含量确定 以紫金糯 2 号、南粳 04062、宁西优 Y16 精米为试验材料,各取 5 份 0.75 g 米样,洗净,按照文献[23]加入适量的水,常温蒸至米粒熟透,以研磨方式进行前处理,然后加入 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液定容到 15 ml,再分别加入 1 ml 含量为 250 U/ml、300 U/ml、350 U/ml、400 U/ml、450 U/ml 的 α -淀粉酶母液,37 °C 保温,进行体外水解反应,反应 60 min 后,100 °C 热失活 10 min,静置至室温,再加 1 ml 含量为 70 U/ml 淀粉糖苷酶母液,继续反应 30 min,100 °C 热失活 10 min 终止反应,4 000 r/min 离心 5 min,测量各处理水解液体积。取 10 μ l 上清液用葡萄糖检测试剂盒测定其葡萄糖含量。每个处理重复 3 次。

1.3.2.2 淀粉糖苷酶含量确定 以紫金糯 2 号、南粳 04062、宁西优 Y16 精米为试验材料,各取 5 份 0.75 g 米样,常温蒸至米粒熟透,以研磨方式进行前处理,然后加入 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液定容到 15 ml,统一加入 1 ml 含量为 300 U/ml 的 α -淀粉

酶, 37 ℃ 保温, 进行体外水解反应, 反应 60 min 后, 然后在南粳 04062 和宁西优 Y16 样品中分别添加 1 ml 含量为 10 U/ml、20 U/ml、30 U/ml、40 U/ml、50 U/ml 的淀粉糖苷酶母液, 在紫金糯 2 号样品中分别添加 1 ml 含量为 30 U/ml、40 U/ml、50 U/ml、60 U/ml、70 U/ml 的淀粉糖苷酶母液, 继续 37 ℃ 水解 40 min, 100 ℃ 热失活 10 min 终止反应, 4 000 r/min 离心 5 min, 测量各处理水解液体积。取 10 μl 上清液, 用葡萄糖检测试剂盒测定上清液中葡萄糖含量。每个处理重复 3 次。

1.3.2.3 加酶顺序的确定 以紫金糯 2 号精米为试验材料, 取 6 份 0.75 g 米样, 常温蒸至米粒熟透, 以研磨方式进行前处理, 加入 pH 6.8 的磷酸盐缓冲液定容到 15 ml, 然后以两种方法加入酶反应液。第一种方法是先加入 1 ml 含量为 300 U/ml α-淀粉酶母液, 37 ℃ 水解反应 60 min, 100 ℃ 热失活 10 min, 冷却至 37 ℃, 再加 1 ml 含量为 50 U/ml 淀粉糖苷酶母液, 继续水解反应 30 min, 100 ℃ 热失活 10 min 终止反应(依次加酶法); 第二种方法是在定容后的样液中, 同时加入 1 ml 含量为 300 U/ml α-淀粉酶母液和 1 ml 含量为 50 U/ml 淀粉糖苷酶母液, 37 ℃ 反应 90 min, 100 ℃ 热失活 10 min 终止反应(合并加酶法)。两种加酶方法的反应液均通过 4 000 r/min 离心 5 min, 测量反应液体积, 各取 10 μl 上清液, 用葡萄糖检测试剂盒测定上清液中的葡萄糖含量。每个处理重复 3 次。

1.3.3 稻米体外模拟消化时间的确定 每个精米样品取 15 份 0.75 g 米样洗净, 按照文献[23], 以精米的类型加入适量的水, 常压蒸制 30 min, 以确保米粒完全煮熟, 冷却至室温, 上下挤压研磨 30 下后加入 pH 6.8 磷酸盐缓冲液定容到 15 ml, 同时加入 1 ml 300 U/ml α-淀粉酶母液和 1 ml 50 U/ml 淀粉糖苷酶母液, 37 ℃ 恒温孵育水解, 分别在水解反应 20 min、30 min、40 min、50 min 和 60 min 时各取 3 份水解反应液, 100 ℃ 热失活 10 min 终止反应。不同时间点取出的反应液均经 4 000 r/min 离心 5 min 后, 测量各处理反应液体积, 取 10 μl 上清液用葡萄糖检测试剂盒测定水解反应液中葡萄糖浓度。每个处理重复 3 次。

1.3.4 相关指标计算 本研究中主要采用碳水化合物水解率和水解指数(HI)来估计升糖指数, 淀粉水解率按公式 1 计算^[24-27]:

$$SHR = C \times V \times 0.9 / (M \times SC) \times 100\% \quad (1)$$

式中, SHR 为样品的淀粉水解率, C、V 分别为取样时间点水解反应液中葡萄糖含量和体积, M 为样品总干物质质量, SC 为样品中淀粉含量。

再根据不同水解时间点的淀粉水解率绘制水解曲线, 水解曲线与时间轴间的积分面积表示样品水解后的葡萄糖变化总量, 并以可溶性淀粉标准品的水解曲线作为对照, 按照公式 2 计算样品水解指数(HI)^[10,27]。

$$HI = \text{样品水解曲线下积分面积}(0 \sim 60 \text{ min}) / \text{标准品水解曲线下积分面积}(0 \sim 60 \text{ min}) \times 100\% \quad (2)$$

再根据 Goñi 等的方法^[23]进行升糖指数(eGI)的估算:

$$eGI = 39.71 + 0.549HI \quad (3)$$

此外, 直接用样品水解 60 min 得到的葡萄糖质量与等质量的葡萄糖来估算升糖指数, 算法如下:

$$eGI = (C \times V \times M / m_2) \times 100\% \quad (4)$$

式中, C 为 50 g 样品水解 60 min 时葡萄糖浓度(mmol/L); V 为反应液总体积(L); M 表示葡萄糖摩尔质量, 0.18 g/mmol; m_2 表示 50 g 葡萄糖。

1.3.5 数据处理 试验数据采用 Excel 2019 和 Origin 9.1 处理和作图。并对试验结果进行单因素方差(One-Way ANOVA)分析。

2 结果与讨论

2.1 稻米淀粉体外水解方法的优化

2.1.1 样品前处理 咀嚼、研磨、机械损伤以及均质化等前处理方法对样品升糖指数的测定均有较大影响^[28-33]。不同 α-淀粉酶含量下样品前处理方式对紫金糯 2 号稻米水解 60 min 时淀粉水解率的影响如图 2 所示。从图 2 可以看出两种前处理方法对稻米的淀粉水解率存在一定的差异, 其中咀嚼的淀粉水解率虽然在 200 U/ml 和 250 U/ml α-淀粉酶含量下, 显著高于人工研磨, 其原因可能是咀嚼处理方法下人体口腔分泌的唾液会促进样品的水解。但是随着 α-淀粉酶含量的增加, 增加了酶与底物的充分接触, 两种前处理方法对样品淀粉水解率的差异在缩小。为了提高检测方法的可比较性, 选用人工研磨(用研棒挤压 30 下)作为样品前处理方法, 以减少前处理方法造成淀粉水解程度的差异。

2.1.2 淀粉体外水解酶含量的确定

2.1.2.1 α-淀粉酶含量的选择 不同 α-淀粉酶含量

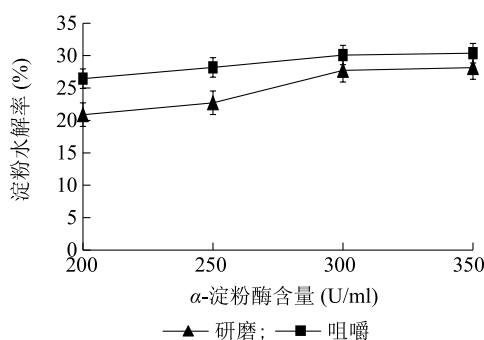


图2 不同前处理方法对紫金糯2号稻米淀粉水解率的影响

Fig.2 Effects of different pretreatment methods on starch hydrolysis rate in Zijinnuo 2

对紫金糯2号、南梗04062、宁西优Y16稻米样品进行90 min水解后淀粉水解率变化如图3所示。从图3可以看出,随着反应液中 α -淀粉酶含量增加,3种样品的水解率不断上升,其中糯稻的水解率最高,籼稻的水解率最低,该结果与王淑颖等^[34]的研究结果一致。值得关注的是,当 α -淀粉酶含量增加到300 U/ml时,3种稻米样品区分比较明显。进一步增加酶含量,对样品的水解率增幅有限,结合图2样品前处理的结果以及节约成本的考虑,选择300 U/ml α -淀粉酶含量为稻米样品体外水解的适宜酶含量。

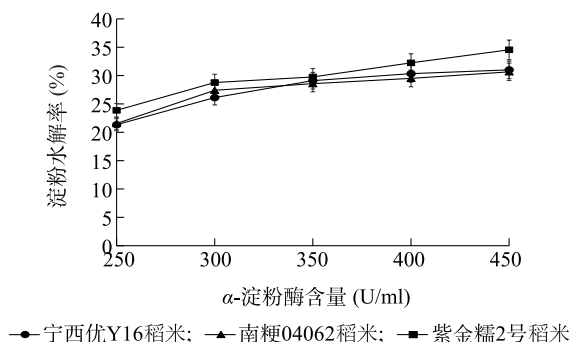


图3 不同 α -淀粉酶含量对样品淀粉水解率的影响

Fig.3 The effect of different α -amylase content on the hydrolysis rate of rice starch

2.1.2.2 淀粉糖苷酶含量的选择 紫金糯2号、南梗04062、宁西优Y16稻米样品添加300 U/ml α -淀粉酶水解60 min后,进一步添加不同含量的淀粉糖苷酶到反应液中,继续水解40 min,3个样品的淀粉水解率如表1所示。在0~50 U/ml,随含量的增加淀粉水解率增加,而且在50 U/ml淀粉糖苷酶含量下,3个样品水解程度有差异。当淀粉糖苷酶含量进一步增加时,紫金糯2号稻米淀粉水解率并没有

显著增加,因此,淀粉糖苷酶50 U/ml作为适宜含量。

2.1.3 加酶顺序的确定 紫金糯2号稻米经前处理后, α -淀粉酶和淀粉糖苷酶合并后添加水解60 min,其淀粉水解率为 $41.67\% \pm 0.62\%$,显著高于依次加入两种酶的处理($30.13\% \pm 0.67\%$),而且两种酶合并后添加水解时间可以节省至少50 min,为此,认为采用 α -淀粉酶和淀粉糖苷酶合并后添加的方法检测精米GI更高效。

2.2 稻米体外淀粉水解优化方法在不同品种稻米水解中的应用

本研究选取了9个不同稻米样品,采用本研究建立的水解方法,检测样品体外水解后葡萄糖浓度随水解时间的变化。结果(图4)显示,白面包与一些常规稻米样品的淀粉水解率差异不大,用之来做GI估算的对照样品难以区分稻米样品间差异。而可溶性淀粉的淀粉水解率显著高于检测样品,因而更有利于区分升糖指数差异不大的遗传群体。在0~60 min水解时间,每个样品水解液的葡萄糖浓度和淀粉水解率均随水解时间的增加而增加,在前20 min内水解最快(图4)。水解60 min后,紫金糯2号稻米的水解率最高,降特3D特制脱水加工大米最低。降特3D特制脱水加工大米为即食大米,也就是通过脱水获得的稻米样品,其含水量较低,因此,具有稍低的淀粉水解率,这一结果与Ritudomphol等研究结果一致^[35]。已有研究结果表明,淀粉颗粒粒度、膳食纤维含量、直链淀粉与支链淀粉的比例、结晶度和直链淀粉-脂质复合物也会影响淀粉水解率^[36-37],深入分析上述样品的淀粉组成将有助于获得更多的低GI稻米的特征,加速低GI稻米品种的筛选和选育。

2.3 稻米淀粉体外消化的升糖指数的估算

根据公式3和公式4估算得到的升糖指数(eGI)如表2所示。从表中可以看出,两种算法得到的升糖指数表现出一定的同步性,但用60 min水解得到的葡萄糖质量与等质量的葡萄糖估算的升糖指数整体上小于用淀粉水解曲线积分面积估算的升糖指数。相对而言,用60 min水解得到的葡萄糖质量与等质量的葡萄糖来估算样品的eGI只体现了水解反应60 min的葡萄糖含量,没有全面反映淀粉水解成葡萄糖的过程。比如JYJ-1和JYJ-2稻米,从水解60 min后葡萄糖浓度看,两者差别不大,但是从两材料的水解

曲线看, JYJ-2 稻米在水解时, 前 30 min 葡萄糖的浓度低于 JYJ-1 稻米, 而水解 30 min 后则高于 JYJ-1 稻米, 说明两材料的快消化淀粉 (0~20 min 水解的淀粉) 和慢消化淀粉 (20 min 以后水解的淀粉) 比例有差异。其中通过淀粉水解曲线积分面积的估算方法, 可以反映稻米淀粉体外水解过程中的不同稻米组分对 *GI* 的影响。参考体内升糖指数的标准测定方法,

认为通过体外不同水解时间的淀粉水解曲线积分面积获得的 *eGI* 可能更接近于体内升糖指数测定的数值。但由于淀粉在体内消化、吸收及代谢过程比体外的水解更为复杂, 稻米产品的 *GI* 准确测定还是以人体试验为主, 但用稻米淀粉体外水解建立的稻米 *GI* 估算方法对低 *GI* 稻米资源以及遗传材料的初级筛选是合适的。

表 1 不同淀粉糖苷酶含量对稻米样品淀粉水解率的影响

Table 1 Effects of different amyloglucosidase content on starch hydrolysis rate of rice samples

样品	水解率 (%)						
	淀粉糖苷酶含量 10 U/ml	淀粉糖苷酶含量 20 U/ml	淀粉糖苷酶含量 30 U/ml	淀粉糖苷酶含量 40 U/ml	淀粉糖苷酶含量 50 U/ml	淀粉糖苷酶含量 60 U/ml	淀粉糖苷酶含量 70 U/ml
宁西优 Y16 稻米	12.36±0.70d	14.30±0.18c	15.04±0.07c	17.56±0.44b	19.75±0.29a	—	—
南粳 04062 稻米	13.42±0.04e	16.37±0.07d	18.84±0.26c	19.61±0.39b	21.17±0.42a	—	—
紫金糯 2 号稻米	—	—	19.56±0.18c	20.22±0.14b	23.50±0.51a	23.04±0.34a	23.46±0.32a

同一行不同小写字母表示相同样品不同酶含量下淀粉水解率存在显著性差异 ($P<0.05$)。

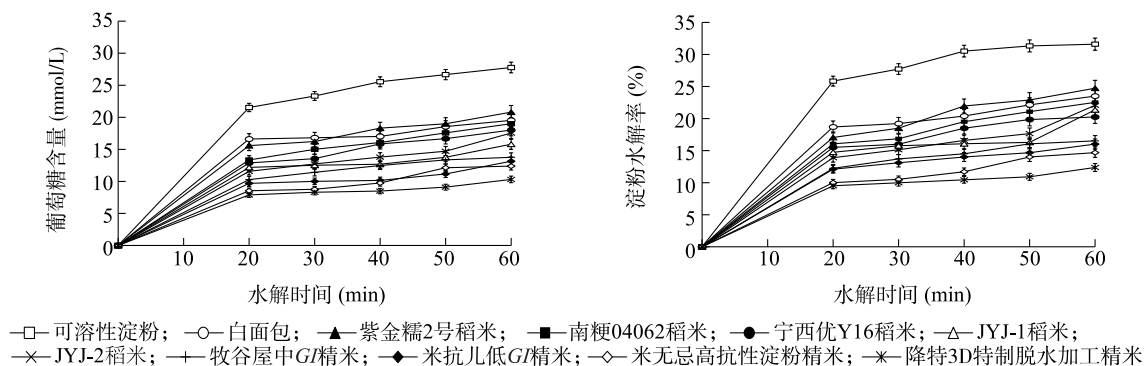


图 4 不同样品水解液中葡萄糖含量和淀粉水解率随时间变化特征

Fig.4 The variation characteristics of glucose content and starch hydrolysis rate of different samples with time

表 2 不同方法估算的稻米升糖指数比较

Table 2 Comparison of glycemic index of rice samples estimated by different methods

样品	水解 60 min 得到的 葡萄糖质量与等质量 的葡萄糖估算的 升糖指数 (%)	淀粉水解曲线 积分面积估算 的升糖指数 (%)
紫金糯 2 号稻米	74.20±0.77a	80.71±0.88a
南粳 04062 稻米	70.31±1.04b	74.89±0.50b
宁西优 Y16 稻米	61.20±1.27d	72.78±1.56c
JYJ-1 稻米	64.08±0.82c	69.71±1.35c
JYJ-2 稻米	65.74±0.89c	71.44±1.00c
米抗儿低 <i>GI</i> 精米	48.78±0.90e	64.20±1.46e
米无忌高抗性淀粉精米	44.60±0.84f	62.08±0.81e
降特 3D 特制脱水加工精米	37.11±0.50g	60.46±1.01f
牧谷屋中 <i>GI</i> 精米	48.92±1.40e	66.73±1.15d

同列不同小写字母表示样品间差异显著 ($P<0.05$)。

3 结论

人类对米饭的消化和吸收是完全或接近完全的^[38], 然而, 消化速度受到一些内在因素 (例如淀粉性质、淀粉-蛋白质相互作用和淀粉-脂质相互作用)^[39] 和外部因素 (例如水热处理和家庭烹饪的变化) 的影响^[40]。淀粉体外水解方法可以快速经济地检测稻米的升糖特性, 为低 *GI* 稻米品种筛选与培育提供有效的技术手段。本研究利用两种淀粉酶, 在 60 min 内, 通过淀粉体外消化的水解曲线, 估算了稻米样品的升糖指数, 可以有效区分不同升糖特性的稻米样品。与已报道的淀粉体外消化法相比, 该方法的主要优点是操作简单、快速且相对便宜, 为低升糖指数的水稻种质资源大批量筛选提供了一种

实用方法。

参考文献:

- [1] INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF diabetes atlas (EB/OL). [2022/04/20]. <https://www.diabetesatlas.org/en/>.
- [2] MICHELLE R T, ASGAR F, ABISHEK B S, et al. Intrinsic and extrinsic factors affecting rice starch digestibility[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 88: 10-22.
- [3] 冯 博. 低GI与低碳水饮食对超重、肥胖症者的减脂效果[J]. 食品安全导刊, 2022(21): 134-136.
- [4] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION. Rice market monitor (EB/OL). [2022/04/20]. <https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/rice/fao-rice-price-update/en/>
- [5] BUTARDO V M, SREENIVASULU N, JULIANO B O. Improving rice grain quality: state-of-the-art and future prospects[J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1892: 19-55.
- [6] LEE K Y, LEE H G. Comparative effects of slowly digestible and resistant starch from rice in high-fat diet-induced obese mice[J]. Food Science and Biotechnology, 2016, 25(5): 1443-1448.
- [7] TRINIDAD T P, MALLILLIN A C, ENCABO R R, et al. The effect of apparent amylose content and dietary fibre on the glycemic response of different varieties of cooked milled and brown rice[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2013, 64(1): 89-93.
- [8] PHYLLIS A C. Fact: The glycemic response to foods[J]. Nutrition Today, 1984, 19(2): 6-11.
- [9] JAMES W W, JOHN A M, CHARLES S, et al. Simulating human carbohydrate digestion in vitro: a review of methods and the need for standardisation[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2008, 43(12): 2245-2256.
- [8] 杨小雪, 王丽丽, 丁 岚, 等. 加工方式对红小豆粉理化性质及预估血糖生成指数的影响[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(1): 33-38.
- [9] GRANFELDT Y, BJÖRCK I, DREWS A, et al. An *in vitro* procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1994, 59(3): 777S.
- [10] BUTARDO V M, SREENIVASULU N. Tailoring grain storage reserves for a healthier rice diet and its comparative status with other cereals[J]. International Review of Cell and Molecular Biology, 2016, 23: 31-70.
- [11] 姜彩霞, 汪 睿, 郑喜群, 等. 白芸豆中 α -淀粉酶抑制剂的制备及性质研究[J]. 食品科技, 2022, 47(2): 251-255.
- [12] 李 恒, 刘 静, 孙桂菊, 等. 抗性淀粉、脂肪和蛋白质对淀粉体外消化速度的影响[J]. 卫生研究, 2007(3): 308-310.
- [13] BUTARDO V M, SREENIVASULU N, JULIANO B O. Improving rice grain quality: State-of-the-art and future prospects[J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1892: 19-55.
- [14] 张翼麟, 谢 勇, 易川虎, 等. 青稞结构对淀粉体外消化的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(15): 98-103.
- [15] 曾 悦. 稻谷类及豆类碳水化合物消化速度与血糖反应的初步研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [16] KAI L, WANG S, LE C, et al. Discovery of a low-glycemic index potato and relationship with starch digestion *in vitro* [J]. British Journal of Nutrition, 2013, 111(4): 699-705.
- [17] TOUTOUNJI M R, BUTARDO V M, ZOU W J, et al. A high-throughput *in vitro* assay for screening rice starch digestibility[J]. Foods, 2019, 8(12): 601.
- [18] FERNANDES J M, MADALENA D A, PINHEIRO A C, et al. Rice *in vitro* digestion: application of INFOGEST harmonized protocol for glycemic index determination and starch morphological study[J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 57: 1393-1404.
- [19] JENKINS D J, WOLEVER T M, TAYLOR R H, et al. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1981, 34(3): 362-366.
- [20] FITZGERALD M A, RAHMAN S, RESURRECCION A, et al. Identification of a major genetic determinant of glycemic index in rice[J]. Rice, 2011, 4(2): 66-74.
- [21] LIN L S, CAI C H, GILBERT R G, et al. Relationships between amylopectin molecular structures and functional properties of different-sized fractions of normal and high-amylose maize starches[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 359-368.
- [22] GOÑI I, GARCIA-ALONSO A, SAURA-CALIXTO F. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index[J]. Nutrition Research, 1997, 17(3): 427-437.
- [23] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 优质稻谷 GB/T 17891-2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [24] 刘 辉, 王成祥, 刘兵军, 等. 一种血糖生成指数体外检测方法: CN105911007A[P]. 2016-08-31.
- [25] 顾 娟, 洪 雁, 顾正彪. 荞麦淀粉理化性质的研究[J]. 食品与发酵工业, 2008(4): 36-39.
- [26] AHMED R, SEGAL I, HASSAN H. Fermentation of dietary starch in humans [J]. American Journal of Gastroenterology, 2000, 95(4): 1017-1020.
- [27] 徐 箐, 柳 嘉, 林 静, 等. 低GI淀粉原料的筛选及理化特性和体外消化特性的研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(20): 8-14.
- [28] LI C, YU W W, WU P, et al. Current *in vitro* digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 96: 114-126.
- [29] PAN Z, YE A Q, LI S, et al. Dynamic *in vitro* gastric digestion of sheep milk: Influence of homogenization and heat treatment [J]. Foods, 2021, 10(8): 1938.
- [30] CAI Y D, QIN W, SUNANTHA K, et al. Impact of particle size of pulverized citrus peel tissue on changes in antioxidant properties of digested fluids during simulated *in vitro* digestion [J]. Food Sci-

- ence and Human Wellness,2020,9(1):58-63.
- [31] TSUGAMI Y,SUZUKI N,KAWAHARA M,et al. Establishment of an *in vitro* culture model to study milk production and the blood-milk barrier with bovine mammary epithelial cells[J]. Animal Science Journal,2020,91(1):e13355.
- [32] MUIR J G,O'DEA K. Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion *in vitro*[J]. American Journal of Clinical Nutrition,1992,56(1):123-127.
- [33] 曾悦,刘芳,刘波,等. 一种淀粉类食品消化速度体外测定法的探讨及应用[J]. 食品与发酵工业,2005(5):114-118.
- [34] 王淑颖,范志红,刘波. 不同品种稻米中碳水化合物的消化特性[J]. 中国农业大学学报,2012,17(4):129-134.
- [35] RITUDOMPHOL O,LUANGSAKUL N. Optimization of processing condition of instant rice to lower the Glycemic Index[J]. Journal of Food Science,2019,84(1):101-110.
- [36] RANAWANA D,HENRY C J,LIGHTOWLER H J,et al. Glycaemic index of some commercially available rice and rice products in Great Britain[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition,2009,60(4):99-110.
- [37] ARAYA H,CONTRERAS P,ALVÍÑA M,et al. A comparison between an *in vitro* method to determine carbohydrate digestion rate and the glycemic response in young men[J]. European Journal of Clinical Nutrition,2002,56(8):735-739.
- [38] JULIANO B O. Rice: Chemistry and technology[M]. St Paul, MN: American Association of Cereal Chemists,1985.
- [39] BUTARDO V M, SREENIVASULU N, JULIANO B O. Rice grain quality: State of the art and future prospects[M]//SREENIVASULU N. Rice grain quality: Methods and protocols. Clifton: Humana Press,2019.
- [40] STROCCHI A, LEVITT M D. Measurement of starch absorption in humans[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 1991,69:108-110.

(责任编辑:石春林)