

X射线衍射法研究不同类型淀粉高静压处理后晶体结构的变化

刘培玲^{1,2}, 沈群¹, 胡小松¹, 吴继红^{1*}

1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083
2. 内蒙古工业大学化工学院, 内蒙古 呼和浩特 010051

摘要 对 300, 450 和 600 MPa 不同高静压力下导致的淀粉结晶结构变化进行研究。选择不同类型、不同链/支比的三种淀粉为研究对象, 进行高静压处理, 利用 X 射线衍射法分析高静压对不同类型, 不同链/支比淀粉晶体结构的影响。结果表明: 由于 X 射线衍射峰加强及相对结晶度增大, 糯玉米淀粉在 300 MPa 表现为糊化作用, 在 450 MPa 结晶结构完全解体, 600 MPa 时发生重结晶; Hylon VII 淀粉在 600 MPa 以下的高静压处理只表现出糊化效果, 结晶度增加但不明显; 木薯淀粉在 300 MPa 具有糊化作用, 600 MPa 结晶结构完全消失, 表现为糊化-颗粒结晶解体两个过程。因此, 本文提出淀粉颗粒在高静压处理过程中经历压缩糊化-晶体结构解体-重结晶三个发展阶段。

关键词 高静压; 淀粉; X 射线衍射; 结晶结构

中图分类号: O636.1+2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2012)09-2579-04

引言

高静压(high hydrostatic pressure, HHP)技术是指在室温或温和条件下利用 100~2 000 MPa 的压力处理, 达到杀菌或加工食物原料的目的。自 1982 年关于超高压处理淀粉的论文发表以来, 至今已经有 20 多种淀粉被 HHP 处理过, 包括 A 型的小麦、大麦、燕麦、黑麦、玉米、粘玉米、稻米、粘稻米、花生、苋菜红、高粱淀粉; B 型的马铃薯、木薯淀粉等; C 型美人蕉、豌豆、木薯、小扁豆、绿豆、莲、巴巴苏仁、板栗淀粉等^[1]。

HHP 处理对于淀粉的理化特性如晶体结构、糊化特性、质构特性等都有不同程度的影响^[2]。HHP 处理的淀粉颗粒大多只膨胀不破裂, 仅有少量的直链淀粉释放, 且直链淀粉含量越高, 越不容易糊化^[3]。HHP 处理时间对淀粉的性质几乎没有影响。因此 HHP 作为物理变性手段具有其独特的优势。

不同类型, 不同链/支比的淀粉在不同压力处理下的关系未见研究报道, 体现在结构内因和条件外因两方面的作用都不清晰。结构内因即 A, B 和 C 三种类型、链/支淀粉比例不同对结构变化产生的影响及其变化规律。因此, 本研究选择不同类型、不同链/支比的三种淀粉为研究对象, 即 A 型

全支链糯玉米淀粉(100%支链), B 型 Hylon VII 淀粉(30%支链)及 C 型木薯淀粉(70%支链)。利用 X 射线衍射法分析 HHP 对不同类型, 不同链/支比淀粉晶型结构的影响。

1 实验部分

1.1 试验材料与原料处理

糯玉米淀粉(A 型, 微量直链淀粉)购自国民淀粉上海分公司, 其初始水分含量为 $1.277 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 蛋白质含量 $0.048 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灰分含量为 $0.051 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; Hylon VII 淀粉(B 型, $7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 链淀粉)购自国民淀粉上海分公司, 初始水分含量为 $1.277 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 蛋白质含量为 $0.093 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灰分含量为 $0.055 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 木薯淀粉(C 型, $1.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 链淀粉)由广西武鸣安宁淀粉有限公司友情赞助, 水分含量为 $0.674 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 蛋白质含量为 $0.062 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灰分含量为 $0.068 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

用蒸馏水配制淀粉水混合液, 质量百分比浓度为 30%, 室温条件下搅拌均匀后装入聚乙烯袋中, 然后进行真空封口。样品放入 HHP 处理釜中高压处理。压力水平分别为 300, 450 和 600 MPa, 保压时间为 30 min。HHP 设备型号 HHP-750, 由包头科发高压科技有限公司与中国农业大学国家果蔬工程中心联合研制, 传压介质为蒸馏水, 最大工作压

收稿日期: 2012-02-27, 修订日期: 2012-06-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(21006043, 30972067)和内蒙古自然科学基金项目(2009MS1205)资助

作者简介: 刘培玲, 女, 1980 年生, 中国农业大学食品科学与营养工程学院博士研究生 e-mail: lpl1023@126.com

* 通讯联系人 e-mail: wjhcau@yahoo.com.cn

力是 600 MPa。所得的样品迅速降低到室温条件下进行冷冻干燥, 粉碎, 然后放置在 4 °C 保藏准备进行 X 射线衍射分析。

1.2 X 射线衍射

淀粉晶体 X 衍射分析利用日本岛津公司的 XRD-6000 型 X 射线衍射仪。分析条件: 特征射线 CuK α , 石墨单色器, 电压 40 kV, 电流 30 mA, 测量角度范围为 $2\theta=4^{\circ}\sim 40^{\circ}$, 发射及防反射狭缝 1° , 接收狭缝为 0.3 mm, 扫描速度 $1.5^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$, 步宽 0.05° 。为了避免不同样品相对水分含量差异对相对结晶强度的误差, 测量前应先先将淀粉样品在室温下置于相对湿度 100% 的干燥皿中平衡。

1.3 数据分析处理

试验数据用 SPSS 16.0 for Windows 统计分析软件和 Microsoft Excel 2003 数据处理系统进行统计处理, 计算标准偏差 ($\pm\text{SE}$) 或进行差异显著分析。利用 Origin 7.5 数据分析和制图软件对数据作图, 各试验均重复进行 3 次。

2 结果与讨论

2.1 糯玉米淀粉分析

淀粉由结晶和无定型两部分组成, 因此其 X 射线衍射曲线表现为由尖峰衍射和弥散衍射特征两部分构成, 是典型的多晶体系的衍射曲线。

糯玉米淀粉在衍射角 2θ 为 15.04° , 17.2° , 17.8° 和 22.9° 时出现较强的特征衍射峰, 同时在 2θ 为 19.8° , 26.5° 和 30.2° 时出现弱的衍射峰, 这属于典型的 A 型淀粉的衍射图谱。300 MPa 的 HHP 处理后糯玉米淀粉的晶型结构没有发生变化, 但衍射强度增加, 如图 1 所示。相对结晶度从 $(33.42\pm 5.76)\%$ 增加到 $(59.66\pm 15.64)\%$ (表 1), 具有显著性差异 ($p<0.05$)。究其原因, 由于糯玉米淀粉几乎完全由支链淀粉组成^[4], 支链淀粉与支链淀粉之间的交互作用, 使得分子链上的羟基相互作用形成氢键, 产生新的双螺旋结构, 形成新的结晶体。因此, 300 MPa 高静压对糯玉米淀粉只具有韧化作用。450 MPa 处理后, 糯玉米淀粉 X 射线衍射图谱在 2θ 为 17.2° 与 17.8° 的两个强衍射峰合并为一个峰, 成为 B 型淀粉的衍射谱图特征 (图 1), 因此糯玉米淀粉在 450 MPa 处理后晶型特征由 A 型转变为 B 型。各个衍射峰强度下降, 结晶度降低显著 (表 1, $p<0.05$), 接近于 0, 说明结晶结构几乎全部瓦解, 形成完全的无定型淀粉, 即 450 MPa 的 HHP 处理导致糯玉米淀粉发生糊化。一方面由于 A 型淀粉构成其晶体结构的支链淀粉分子相对有较多的短支链, 支链间形成的双螺旋结构较为松散, 在压力作用下很容易使原来的双螺旋结构破坏而形成新的螺旋结构, 并导致晶体结构的变化, 进而表现出晶型结构的变化^[5]。另一方面说明 A 型淀粉最不耐高压, 在较低的压力条件下就会有部分淀粉颗粒发生糊化, 如大麦淀粉 (A 型) 在 450 MPa 条件下就会发生完全糊化^[6]。这主要是由于部分水分子进入淀粉内部, 颗粒发生有限制的膨胀, 结晶区部分淀粉链双螺旋结构被解开, 颗粒内部结晶部分被破坏而减少所致。600 MPa 处理后, X 射线衍射峰又比 450 MPa 有所增强 (图 1), 结晶度又上升为 $(14.4$

$\pm 0.12)\%$ (表 1, $p<0.05$), 表明淀粉发生重结晶。由于 HHP 处理造成的有限膨胀, 且直链淀粉溶出很少, 因此淀粉的重结晶发生在颗粒的内部^[1]。又由于淀粉的重结晶焓变与压力保持时间没有明显的相关性, 因此推断在 HHP 处理后, 淀粉迅速发生重结晶, 而并非在处理过程中^[5]。这一结论与 Stute 等的研究有相似之处, 他们发现 HHP 处理后小麦淀粉溶液发生了糊化及重结晶现象。综上, HHP 对糯玉米淀粉有压缩韧化-晶体解体-重结晶的三步作用阶段, 导致糯玉米淀粉分子结构经历有序化加强-无序化-重新有序化的三步变化过程。

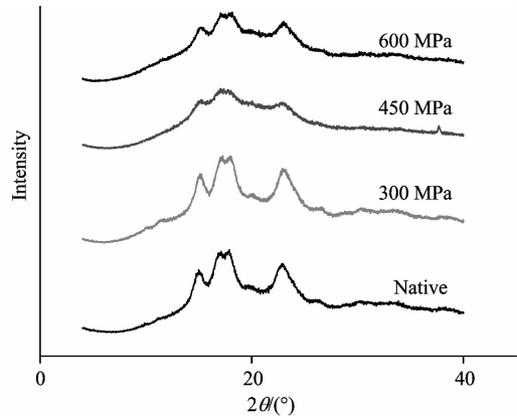


Fig. 1 X-ray powder diffraction patterns of waxy starch treated at different pressure level

Table 1 X-ray powder diffraction parameters of waxy starch treated at different pressure level

Sample	Crystal type	Amylose /%	Peak area	Total area	RC* /%
Native	A	0	7 746	27 067	33.4 ± 5.76^c
300 MPa	A	0	731 078	1 156 911	59.7 ± 15.64^d
450 MPa	A	0	44	20 106	0.2 ± 0.00^a
600 MPa	A	0	7 247	27 937	14.4 ± 0.12^b

* All values were means of triplicate determinations \pm SD; values sharing the same uppercase letters within columns were not significantly different ($p<0.05$)

2.2 Hylon VII 淀粉

Hylon VII 淀粉在衍射角 2θ 为 13.3° , 17.0° , 20.6° 和 22.5° 时出现较强的特征衍射峰 (图 2), 属于典型的 B 型淀粉的衍射图谱。试验发现, Hylon VII 淀粉变化的方向和糯玉米淀粉差异很大。相比原淀粉, Hylon VII 淀粉在 300 MPa HHP 处理后晶型结构不发生任何变化, X 衍射强度未见任何变化 (图 2), 结晶度仍为 0 (表 2, $p<0.05$), 说明 300 MPa 处理压力还不足以对 Hylon VII 淀粉结构产生影响。随着压力进一步增加, 450 MPa 的 HHP 处理后晶型结构在 20.6° 衍射峰强度略有增加, 表现为结晶度只有 $(2.47\pm 0.01)\%$ (表 2, $p<0.05$)。这与 A 型糯玉米淀粉在 300 MPa 处理后的结果相似, 也就是说 450 MPa 对 Hylon VII 淀粉有韧化作用, 可以使得非晶区的有序性增加, 从而显示出增加的相对结晶度。600 MPa 处理后在 20.6° 的衍射峰强度又有所增加, 结晶度

增大到(8.85±0.01)%, 相比 300 MPa 有显著性差异(表 2, $p<0.05$)。这说明 600 MPa 以内 HHP 处理只对 Hylon VII 淀粉的结晶结构具有韧化作用, 使颗粒内缺陷型结晶层的有序性增强, 导致淀粉相对结晶度增大。Zavareze 等^[7]认为韧化改性处理只能使已存在于淀粉颗粒中的晶体结构变得更完善, 而不会在淀粉的无定型区域内形成新晶体。Waduge 等在对大麦的研究中^[8], 也发表了类似的报道, 发现经 HHP 韧化处理后, 链淀粉-脂络合物形成的衍射峰($2\theta\sim 20^\circ$)得到了增强, 与本试验的观察结果相吻合(图 2)。HHP 处理在 600 MPa 以下都表现为韧化作用, 说明 B 型淀粉相比 A、C 型淀粉的耐高压性, 如马铃薯淀粉(B 型)在 800~1 000 MPa 压力条件下才开始糊化^[9]。另外, 600 MPa 以下的 HHP 处理对 Hylon VII 淀粉的韧化作用比糯玉米淀粉在 300 MPa 的韧化效果更小, 这是由于 Hylon VII 淀粉的支淀粉含量很少, 因此使支淀粉有序化更为困难。

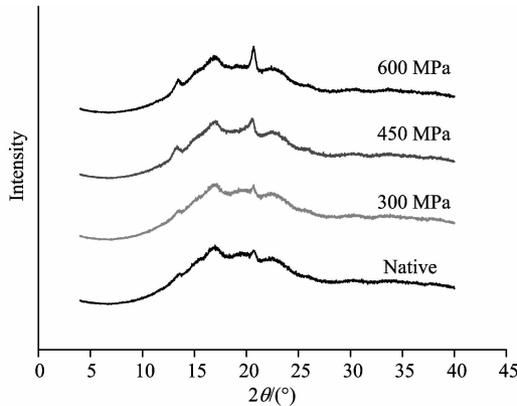


Fig. 2 X-ray powder diffraction patterns of Hylon VII starch treated at different pressure level

Table 2 X-ray powder diffraction parameters of Hylon VII starch treated at different pressure level

Sample	Crystal type	Amylose /%	Peak area	Total area	RC* /%
Native	B	70	49	996 711	0.00±0.00 ^a
300 MPa	B	70	40	804 254	0.00±0.00 ^a
450 MPa	B	70	25 279	1 025 531	2.47±0.01 ^{ab}
600 MPa	B	70	92 110	1 032 504	8.85±2.22 ^b

* All values were means of triplicate determinations ± SD; values sharing the same uppercase letter within columns were not significantly different ($p<0.05$)

2.3 木薯淀粉

木薯淀粉在衍射角 2θ 为 15.3° , 17.2° , 17.8° 出现较强的特征衍射峰, 介于 A 型和 B 型淀粉之间, 属于典型的 C 型淀粉的衍射图谱(图 3)。300 MPa 的 HHP 处理后木薯淀粉的衍射特征没有发生变化, 也没有特定衍射峰的消失, 即晶型结构没有发生变化; 但衍射峰明显加强(图 3), 结晶度从 22.98 ± 0.23 增加到 51.57 ± 0.00 (表 3, $p<0.05$), 表明 300 MPa 对淀粉有韧化作用; 随着压力增加到 450 MPa, X 的衍射峰强度逐渐减弱(图 3), 结晶度显著减小(表 3, $p<0.05$),

颗粒的结晶结构开始瓦解, 直到压力增加到 600 MPa 后, 颗粒的结晶有序结晶结构被完全破坏, 表现为典型的非晶弥散峰(图 3), 且相对结晶度为 0(表 3, $p<0.05$)。这表明木薯淀粉结构中由于无定形结构的水合及结晶区域的不可逆的变形导致了颗粒结构的明显变化^[7]。又由于膨胀引起的半晶结构的破坏将加剧结晶结构的失稳效应导致结晶结构的消失^[9, 10], 从而最终导致木薯淀粉在 600 MPa 发生糊化。对比以上两种淀粉, 说明 C 型淀粉对于压力的敏感程度介于 A 型和 B 型之间。

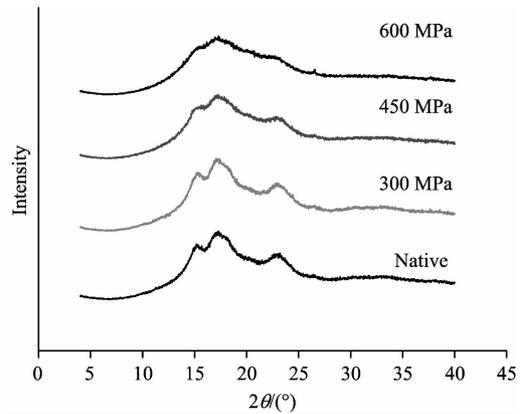


Fig. 3 X-ray powder diffraction patterns of tapioca starch treated at different pressure level

Table 3 X-ray powder diffraction parameters of tapioca starch treated at different pressure level

Sample	Crystal type	Amylose /%	Peak area	Total area	RC* /%
Native	C	17	209 414	911 289	22.98±0.23 ^c
300 MPa	C	17	572 950	1 110 908	51.57±0.00 ^c
450 MPa	C	17	47 246	1 069 039	4.42±0.01 ^b
600 MPa	C	17	115	877 436	0.01±0.15 ^a

* All values were means of triplicate determinations ± SD; values sharing the same uppercase letter within columns were not significantly different ($p<0.05$)

通过以上分析, 总结并讨论 HHP 处理前后 3 种不同类型淀粉的 X 射线衍射光谱研究。可以看出, 经 HHP 物理方法处理后, 糯玉米淀粉的晶型结构由 A 型淀粉转变为 B 型淀粉, 其他两种淀粉的晶型结构没有变化。但是不同类型淀粉的衍射强度及其所反映的相对结晶度有明显差异, HHP 处理只对糯玉米型及木薯淀粉的相对结晶度产生明显影响。糯玉米淀粉最不耐压, 而 Hylon VII 淀粉最耐压, 木薯淀粉介于中间。主要原因从两方面考虑, 一方面从晶型结构考虑, 糯玉米作为 A 型淀粉, 晶格中仅有 8 个水分子, 几乎不含直链淀粉, 而支链淀粉分子相对有较多的短支链, 支链间形成的双螺旋结构较为松散^[3, 5]。另一方面, Hylon VII 作为 B 型淀粉, 晶格具有空腔结构, 空腔结构和 36 个水分子通过氢键相互结合从而可以很好的对淀粉的晶体结构起到稳定作用^[3, 5]。木薯淀粉作为 C 型淀粉, 由于其晶格组成既含有 A 型, 又含有 B 型晶格, 因此其压力稳定性也介于糯玉米淀粉

与 Hylon VII 淀粉之间。另一方面从链支比例考虑,随着直链淀粉含量的增加(从糯玉米淀粉—木薯淀粉—Hylon VII 淀粉),淀粉的相对结晶度逐渐减小,主要是由于支链淀粉是形成双螺旋有序结构的主要成分,支链淀粉越多,越容易形成有序结晶结构^[3, 8]。

3 结 论

HHP 处理对不同类型淀粉的影响有显著不同。HHP 对糯玉米淀粉有压缩初化(≤ 300 MPa)-晶体解体(450 MPa)-重结晶(≥ 600 MPa)的三步作用阶段,导致糯玉米淀粉分子结构经历有序化加强-无序化-重新有序化的三步变化过程。600 MPa 以下的 HHP 处理对 Hylon VII 都表现为初化作用,但比糯玉米淀粉在 300 MPa 的初化效果更小,这是由于 Hylon VII 淀粉的支淀粉含量很少,因此使支淀粉有序化更为困

难。木薯淀粉经历初化(≤ 300 MPa)-晶体解体(450~600 MPa)两步作用阶段。因此推断淀粉颗粒在 HHP 的作用下的变化过程及变化机制可划分为三个阶段:初化阶段,在较小的压力下,所施压力能够抑制淀粉颗粒膨胀,不但无法破坏淀粉内部的链支结构,反而使链淀粉的有序排列程度增加,即结晶度增加;结晶解体阶段:随着所施压力的增加,内部结晶结构消失,短直链淀粉少量渗出,水分适度进入,此阶段是非晶颗粒态淀粉^[11]的形成阶段;重结晶阶段:随着所施压力增大到足够大,颗粒在此阶段完全崩解,破裂,HHP 处理后颗粒内部内部有序化增强,发生重结晶。预测对于每种淀粉,只要压力足够大,都能够实现完整的三步作用阶段,只是不同的淀粉其每个阶段所需要的压力有所不同。

目前 HHP 导致不同类型淀粉重结晶性质变化的规律及相关性,HHP 处理淀粉结构和性质变化的数学模型或模式等,都值得继续深入研究。

References

- [1] LIU Pei-ling, ZHANG Pu-sheng, BAI Yun-fei, et al(刘培玲,张甫生,白云飞,等). Chinese Journal of High Pressure Physics(高压物理学报), 2011, (6): 472.
- [2] Liu P L, Hu X S, Shen Q. Starch/Stärke, 2010, 62(12): 615.
- [3] Pérez S, Bertoft E. Starch/Stärke, 2010, 62(8): 389.
- [4] Simonin H, Guyon C, Orlowska M, et al. LWT-Food Science and Technology, 2011, 44(3): 779.
- [5] Kawai K, Fukami K, Yamamoto K. Carbohydrate Polymers, 2012, 87: 314.
- [6] Liu P L, Zhang Q, Sun Q, et al. LWT-Food Science and Technology, 2012, 47(2): 450.
- [7] Zavareze E R, Dias A R G. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(2): 317.
- [8] Kohyama K, Sasaki T. Carbohydrate Polymers, 2006, 63(1): 82.
- [9] Vallons K J R, Arendt E K. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2009, 10(4): 449.
- [10] Blaszcak W, Bidzinska E, Dyrek K, et al. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(1): 86.
- [11] Liu P, Zhang B, Shen Q, et al. International Journal of Food Engineering, 2010, 6(4): 2.

X-Ray Diffraction Study of High Hydrostatic Pressure on Crystalline Structure of Different Type Starches

LIU Pei-ling^{1,2}, SHEN Qun¹, HU Xiao-song¹, WU Ji-hong^{1*}

1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. College of Chemistry and Engineering, Inner Mongolia University of Technology, Huhhot 010051, China

Abstract Crystalline changes of different type starches after high hydrostatic pressure treated under 300, 450, 600 MPa were studied by X-ray diffraction. Waxy maize (A type, 100% amylopectin), hylon VII (B type, 30% amylopectin) and tapioca starch (C type, 83% amylopectin) were chosen. The results indicated that for waxy maize starch, annealing effect was observed at 300 MPa, disappearance of crystalline structure happened at 450 MPa and retrogradation at 600 MPa. The results proved that the granule under high hydrostatic pressure processing experiences “three development stages” including annealing effect, disappearance of crystalline structure and recrystalline after granule disintegration.

Keywords High hydrostatic pressure(HHP); Starch; X-ray diffraction; Crystalline structure

* Corresponding author

(Received Feb. 27, 2012; accepted Jun. 1, 2012)