

非晶颗粒态马铃薯淀粉的结构特征 及酶降解活性研究

梁 勇¹, 张本山², 杨连生², 高大维²

(1.华南师范大学化学系, 广东 广州 510641; 2.华南理工大学轻化所, 广东 广州 510641)

摘 要: 本文采用扫描电子显微镜、光学显微镜等分析测试方法, 以原淀粉为参照, 对非晶颗粒态马铃薯淀粉的颗粒形貌以及酶降解过程进行了观察和研究, 结果发现, 在非晶化处理过程中发生了从内向外爆裂式膨胀而形成一条大而深的长条形的爆裂孔, 以此爆裂孔为突破口, 在酶作用下非晶颗粒态淀粉逐渐降解, 直至淀粉颗粒的完全消失, 而原淀粉具有致密的结晶结构, 在相同条件下酶降解活性远远低于非晶颗粒态淀粉。

关键词: 马铃薯淀粉; 非晶颗粒态; 结构特征 酶降解活性

Study on Structure Characteristics and α -amylase Degraded Activity of Potato Starch in Non-crystallized Granule State

LIANG Yong¹, ZHANG Ben-shan², YANG Lian-sheng², GAO Da-wei²

(1.Department of Chemistry, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; 2.Light and Chemical Industry Institute, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: Using the SEM and polarized light microscope analytical method, the structure characteristics and degrade process of potato starch in non-crystallized granule state were investigated. It was found that in non-crystalline process, blowing out opening with big and deep slot were formed because of the "blowing out" way of swelling from inside to out. Starting from the blowing out opening starch granules, the starch granules were degraded deeply by α -amylase along the blowing out opening

收稿日期: 2004-02-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29976016)

作者简介: 梁勇(1965-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为淀粉化学。

4.1 玫瑰茄红色素是一种花青甙类色素, 纸层析出现紫红、浅红、浅橙三个色斑, 紫红色为玫瑰茄红色素主要呈色物质, 其 R_f 为 0.203。

4.2 玫瑰茄红色素分离提纯的最佳展开剂为正丁醇:冰醋酸:水=4:1:1, 最佳洗脱剂为 0.1% 稀盐酸。

4.3 紫红色色素的粗提取率为 0.704%, 占色素总含量的 46.93%。

参考文献:

- [1] 余华, 颜军, 王小军. 微波法提取玫瑰茄红色素及其稳定性研究[J]. 食品科学, 2003, (4) 专: 31-35.
- [2] 王华兴, 陈锦屏. 山楂色素基本性质及其热降解动力学[J].

食品科学, 1992, (11): 10-15.

- [3] 刘贤明. 天然食用色素落葵红的初步研究[J]. 食品科学, 1990, (8): 9-13.
- [4] 林棋. 微波法萃取花生壳天然草色素及其稳定性研究[J]. 食品科学, 2002, (12): 32-36.
- [5] 王景辰, 王学增, 王亚莉. 黑米天然黑(紫)色素的研究[J]. 食品科学, 1993, (6): 13-16.
- [6] 刘淑玲, 全建波, 李美萍, 等. EDTA对红花黄色素的稳定效应[J]. 食品工业科技, 2003, (3): 31-35.
- [7] 何丽一. 平面色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社.
- [8] 寺田喜文雄, 等. 纸色谱及其应用[M]. 北京: 科学出版社.
- [9] C T Du, F J Francis. Food Sci, 1974, 38(5): 810-12.

until complete disappearance. Native starch with compact crystallized structure, because of having no opening on the surface of starch granules, α -amylase degrade activity was much less than that of starch with non-crystallized granule state.

Key words: potato starch; non-crystallized granule state; structure characteristics degrade activity

中图分类号: TS539.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0082-05

在八十年以前, P Scherrer 就证明淀粉具有结晶性, 1941 年 J R Katz 在研究面包的变质问题时, 建立了目前仍在使用的淀粉结晶结构的一些概念即天然的淀粉颗粒主要产生两种类型的各具特色的 X 射线粉末衍射图^[1], 将淀粉分为 A 型模式、B 型模式和 C 型模式, 1977 年 Fench A D 发现直链淀粉形成络合物的典型 X-衍射图形即水合 V 型模式^[2], 1993 年 C.Gernat 等用 X 射线衍射研究了不同含量链淀粉的谷类和豆类淀粉, 发现高链淀粉含有 74.6%~84.6% B-type 和 15.4%~22.6% V-type^[3]。1999 年 P Lebail 等发现水分和温度对结晶类型有决定性作用, 在高水分含量情况下, 络合物形成 V 型结构, 中等水分则形成 A+V 型(对高直链淀粉 B+V)^[4]。

随着对淀粉结晶研究的深入, 人们发现了淀粉颗粒在某些条件下具有非晶化现象, 1994 年荷兰的 S Veelaert 等报道它们在高碘酸氧化马铃薯淀粉制备双醛淀粉时发现马铃薯淀粉颗粒偏光十字逐渐消失的非晶化现象^[5]。1996 年德国的 R Stute 等报道了他们在高静压力处理分散于水中的玉米、稻米和豆类淀粉时所发现的淀粉颗粒偏光十字消失的非晶化现象^[6]。1997 年法国的 V Garcia 博士等报道了他们研究在中等水分含量时加热木薯淀粉所引起的淀粉颗粒的非晶化和偏光十字消失的现象^[7]。1998 年日本的 S Tamaki 等报道了球磨机对玉米淀粉颗粒进行长达 320h 研磨后, 淀粉颗粒发生的逐渐非晶化现象^[8]。我们关注到这一研究热点, 在三氯氧磷高交联改性反应是, 发现改性对淀粉颗粒的非晶化作用, 并顺利制备高交联的非晶颗粒态淀粉^[9], 在此基础上, 本文利用经高温溶胀非晶化后得到的非晶颗粒态淀粉, 研究了非晶颗粒态马铃薯淀粉结构及酶降解的活性。

1 仪器与材料

LEO-1530VP 型扫描电子显微镜 德国; OLYMPUS VANOX BHS-2 型多功能新显微镜 日本; 可控摇床 辽阳市恒温仪器厂; K-1 型快速混匀器 上海分析仪器厂; 马铃薯淀粉: 工业优级, 上海伯奥生物科技公司; 非晶马铃薯淀粉, 实验室自制; 大曲, 工业优级; α -淀粉酶(中温) 江门酶制剂厂 2500 活力单位/ml; HAc-NaAc 缓冲溶液(pH=5.5)实验室自制。

2 实验方法

2.1 非晶颗粒态淀粉的制备

非晶颗粒态马铃薯淀粉的制备见文献[9]。

2.2 颗粒形貌的观察

扫描电子显微镜测试方法 把待测淀粉样品置于 105℃烘箱中干燥 4~5h, 在红外灯下用双面胶将样品固定在样品台上, 然后喷金并将处理后的样品保存于干燥器中。测试时将样品置于扫描电子显微镜中并观察、拍摄具有代表性的淀粉颗粒形貌。

2.3 淀粉的酶降解方法

将盛有一定体积 HAc-NaAc 缓冲溶液的三角锥形瓶中, 在 121℃将此缓冲液高温灭菌 30min, 密封冷却至室温, 分别准确称取一定量原淀粉和非晶颗粒态淀粉, 加入到该三角锥形瓶中, 充分混匀, 加入一定体积的酶液, 然后将此装置放入摇床中, 选择不同时间、温度、酶量进行降解。

2.4 淀粉降解颗粒形貌观察

选择不同酶降解时间的原淀粉及非晶颗粒态淀粉, 按一定比例调成淀粉乳, 滴于载玻片上, 盖上盖玻片, 放入显微镜样品台, 选择适当的目镜和物镜以实现要求的放大倍数, 选择滤光片, 调整光源电压使曝光时间小于 0.01s, 在普通光线下观察并拍摄观察原淀粉及非晶颗粒态淀粉在微生物降解过程中颗粒形貌的变化情况。

3 结果与讨论

3.1 非晶颗粒态淀粉的结构特征

图 1 和图 2 为在扫描电镜下观察到的原马铃薯淀粉的颗粒形貌。从图中可见原马铃薯淀粉颗粒的基本形状为椭圆形, 表面非常平滑无孔洞。

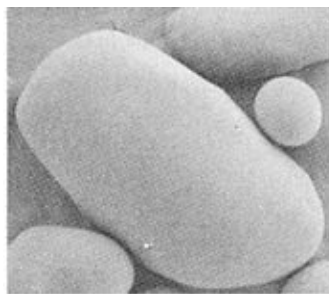


图 1 原马铃薯淀粉扫描电镜图($\times 35000$)

Fig.1 SEM-micrograph of native potato starch ($\times 35000$)

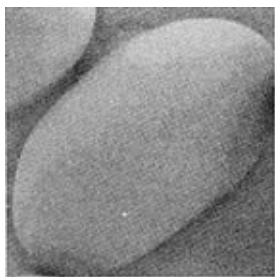
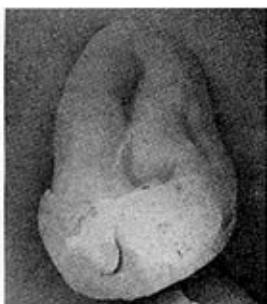
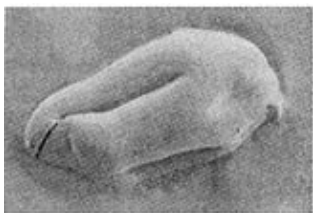
图2 原马铃薯淀粉扫描电镜图($\times 35000$)Fig.2 SEM-micrograph of native potato starch ($\times 3500$)图3 非晶马铃薯淀粉扫描电镜图($\times 4000$)Fig.3 SEM-micrograph of non-crystallized potato starch ($\times 4000$)图4 非晶马铃薯淀粉扫描电镜图($\times 4000$)Fig.4 SEM-micrograph of non-crystallized potato starch ($\times 4000$)图5 非晶马铃薯淀粉扫描电镜图($\times 4000$)Fig.5 SEM-micrograph of non-crystallized potato starch ($\times 4000$)

图3、图4和图5为非晶颗粒态马铃薯淀粉即通过高温水分散系加热非晶化处理后的颗粒形貌。由于三偏磷酸钠的高度交联作用淀粉颗粒已经具有了非糊化性, 尽管经过了高温水分散系中的加热处理非晶淀粉仍然保持着颗粒状态, 但与原淀粉相比颗粒形貌发生了明显的变化, 即在非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒首端脐点处形成了一个大而深的长条形爆裂孔。这种爆裂孔的形状因颗粒的不同而不同, 有的爆裂孔宽而深, 有的爆裂孔细而窄, 只形成一个长条, 这可能与淀粉在反应时颗粒交联程度不同所引起的。此外, 非晶马铃薯淀粉为长条形, 这与马铃薯淀粉颗粒的形状为椭球形且颗粒的脐点位于颗粒首端有关。非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒的爆裂孔是由于在非晶化处理过程中发生了从内向外爆裂式膨胀而形成的。

总之, 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒有着与原马铃薯淀粉颗粒不同的形貌, 非晶颗粒态淀粉基本上保持了淀粉的颗粒形态, 但经过一系列变性处理, 结构发生了一定程度的变化, 颗粒表面形成了明显的爆裂孔, 酶降解大多以此为突破口来进行下一步降解反应。

3.2 非晶颗粒态淀粉的酶降解活性

图6至图15为马铃薯非晶颗粒态淀粉及原淀粉不同作用时间颗粒形貌。

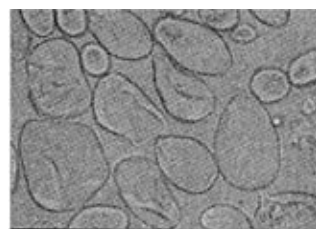
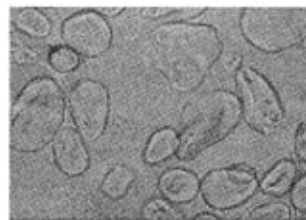
图6 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
($\times 400$, 25°C , 酶降解 15min)Fig.6 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 15min ($\times 400$, 25°C)图7 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
($\times 400$, 25°C 酶降解 30min)Fig.7 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 30min ($\times 400$, 25°C)



图 8 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃, 酶降解 45min)

Fig.8 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 45min (× 400, 25℃)

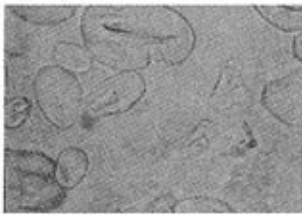


图 12 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃酶降解 105min)

Fig.12 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 105min (× 400, 25℃)



图 9 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃, 酶降解 60min)

Fig.9 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 60min (× 400, 25℃)



图 13 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃, 酶降解 120min)

Fig.13 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 120min (× 400, 25℃)

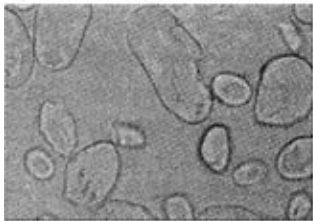


图 10 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃, 酶降解 75min)

Fig.10 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 75min (× 400, 25℃)



图 14 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃酶降解 135min)

Fig.14 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 135min (× 400, 25℃)



图 11 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃, 酶降解 90min)

Fig.11 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 90min (× 400, 25℃)



图 15 非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒形貌
(× 400, 25℃, 酶降解 150min)

Fig.15 Microphoto of non-crystallized potato starch degraded 150min (× 400, 25℃)

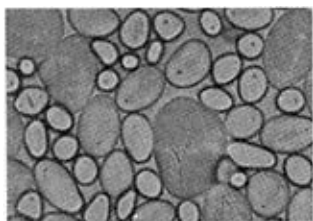


图16 原马铃薯淀粉颗粒形貌
($\times 400$, 25°C 酶降解 75min)

Fig.16 Microphoto of native potato starch degraded
135min ($\times 400$, 25°C)

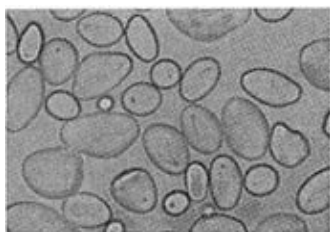


图17 原马铃薯淀粉颗粒形貌
($\times 400$, 25°C , 酶降解 150min)

Fig.17 Microphoto of native potato starch degraded
150min ($\times 400$, 25°C)

大多数非晶马铃薯淀粉颗粒仍然保留着原淀粉颗粒的基本结构即椭圆形。酶侵蚀方向沿椭圆形颗粒从爆裂口开始一步步侵蚀,有少数颗粒为圆形,它们主要沿爆裂口方向均匀向外扩张(如图6、7、8)。在酶侵蚀过程中,有的颗粒淀粉在原淀粉进行高交联时交联作用不均匀,导致在非晶化过程膨胀程度不同,因而导致颗粒被侵蚀情况不同。例如,有的颗粒溶胀后,颗粒变薄,酶作用后不久,从一边破裂,有的颗粒中间较薄,被侵蚀一半就破裂,只剩一半(如图9、10、11、12、13),有的颗粒在酶作用时,从爆裂口并未发现明显作用就模糊、消失了,甚至有的颗粒根本未发现明显侵蚀迹象,整个颗粒很快消失了(如图14、15),所以从以上发生变化的各种不同情况来看,随着时间的延长,非晶颗粒态淀粉被逐渐降解,但由于颗粒较大交联不均匀,所以酶作用的情况并不十分相同,研究并解释其变化的原因,从中了解淀粉的结构和性质成为该研究工作的一个很有意义的问题,原淀粉和非晶颗粒态淀粉在相同温度和时间下进行降解,并进行一一对比,由图16、17可知,原淀粉随着时间的延长,在整个降解过程中没有观察到明显的变化,由此证明非晶淀粉酶降解反应活性大于原淀粉。

4 结 论

4.1 原马铃薯淀粉颗粒的基本形状为椭球形,表面非常平滑无孔洞。

4.2 非晶颗粒态马铃薯淀粉非晶化处理过程中在颗粒首端脐点处形成了一个大而深的长条形爆裂孔,酶降解大多以此为突破口来进行下一步降解反应。

4.3 在 α -淀粉酶作用下,酶对非晶颗粒态马铃薯淀粉颗粒作用速度较快,随着作用时间的延长淀粉颗粒逐渐减少,但由于其交联的程度不同呈现出各种不同的降解形式。

4.4 原淀粉和非晶颗粒态淀粉在相同温度和时间下进行降解,原淀粉随着时间的延长,在整个降解过程中没有观察到明显的变化。

4.5 非晶颗粒态马铃薯淀粉酶降解反应活性远远大于原淀粉酶降解活性。

参考文献:

- [1] M.Samec, M Blinc. "Die Neuere Entwicklung der Kolloidchemie der Stdrke", Steinkopf, Dresden and Ldipzihg, 1941. 477-478.
- [2] Fench A D, Murphy V G. Cereal Foods World, 1977, 22: 61-63.
- [3] Christine Gernat, Berlin, Sylvia Radosta, et al. Crystalline parts of three different conformations detected in native and enzymatically degraded starches starch, 1993, 45(9): 309-314.
- [4] P Lebail, H Bizot, M Ollivon, et al. Monitoring the crystallization of amylose-lipid complexes during maize starch melting by synchrotron x-ray diffraction[J]. Biopolymers, 1999, 50(7): 99-110.
- [5] Veelaert S, Polling M, Wit D D. Structural and physico-chemical changes of potato starch along periodate oxidation [J]. Starch, 1995, 46(7): 263-268.
- [6] Stute R, Klingler R W, Boguslawski S. Effect of high pressures treatment on starches[J]. Starch, 1996, 48(11/12): 399-408.
- [7] Garcia V, Colonna R, Bouchet B. Structural changes of cassava starch granules after heating at intermediate water contents[J]. Starch, 1997, 49(5): 171-179.
- [8] Tamaki S, Hisamatsu M, Teranishi K. Strutural changes of maize starch granules by ball-mill treatment[J]. Starch, 1998, 50(8): 342-348.
- [9] 张本山, 梁勇, 高大维, 等. 高交联非晶颗粒态淀粉制备方法研究[J]. 精细化工, 2002, 19(3): 173-176.