

# 不同蛋白质对大黄米淀粉老化特性的影响

肖 瑜, 杨新标, 林 楠, 郑明珠\*, 刘景圣

(吉林农业大学食品科学与工程学院 小麦和玉米深加工国家工程实验室, 吉林 长春 130118)<sup>1</sup>

**摘 要:** 本文通过物性检测仪 (TPA), 差示扫描量热仪 (DSC), 傅立叶红外光谱 (FT-IR) 和 X-射线衍射 (XRD) 研究了添加玉米醇溶蛋白, 大豆分离蛋白和乳清分离蛋白对大黄米淀粉老化机制的影响。结果表明, 添加三种蛋白质均可和大黄米淀粉形成质地较为柔软的凝胶, 体系硬度降低, 尤其是乳清分离蛋白的加入, 硬度在第 7 d 从 407.32 g 降到 196.12 g。傅立叶红外结果显示体系没有形成新的基团, 说明淀粉-蛋白质体系是由氢键作用力紧密相连并构成一个紧密缠绕的三维凝胶网络结构。通过 X-射线衍射的结果表明: 样品在老化后在 17° 左右出现较强的衍射峰, 属于典型的 B 型结构。老化过程中发现添加蛋白质均可以显著降低体系的老化焓, 表明蛋白质的加入可以抑制大黄米淀粉的重结晶, 从而延缓样品的老化。利用 Avrami 方程拟合老化动力学发现, 蛋白质的加入可以延缓大黄米淀粉的重结晶速率, 体系的成核类型均为散发性核的棒状生长 ( $1 < n \leq 2$ )。综上所述, 三种蛋白质均能不同程度的影响大黄米淀粉的老化, 其中以乳清分离蛋白的效果最为显著。本研究表明蛋白质不仅可以提供营养, 还可以作为一种淀粉质食品老化抑制剂, 为延缓老化提供理论依据, 并对实际生产有一定的指导意义。

**关键词:** 大黄米淀粉; 玉米醇溶蛋白; 大豆分离蛋白; 乳清分离蛋白; 老化; Avrami 方程

## Effects of adding different proteins on retrogradation of proso millet starch

XIAO Yu, YANG Xinbiao, LIN Nan, ZHENG Mingzhu\*, LIU Jingsheng

(College of Food Science and Engineering, National Engineering Laboratory for Wheat and Corn Deep Processing, Changchun, 130118, China)

**Abstract:** Effects of adding zein, soy protein isolate (SPI), and whey protein isolate (WPI) on the retrogradation of proso millet starch were investigated by Textural profile analysis (TPA), Differential scanning calorimetry (DSC), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), and X-ray diffraction (XRD). The results showed that adding three protein decreased the hardness of proso millet starch, and the mixtures gel were softer, especially WPI. The hardness decreased from 407.32 g to 196.12 g at 7 day. FTIR showed that no new functional group appeared, indicating that the starch-protein system is closely linked by hydrogen bonding forces and constitutes a tightly wound three-dimensional gel network structure. And the XRD analyzed that after retrogradation, the sample show a strong diffraction peak at around 17°, which is a typical B-type structure. The results found that adding protein significantly reduced the thermal enthalpy during the retrogradation, indicated that protein can retard the proso millet starch recrystallization, and then retarded the samples retrogradation. Fitting aging kinetics with Avrami equation, suggested that the rate of recrystallization reduced, and the nucleation type of system recrystallisation close to rod-like growth of sporadic nuclei ( $1 < n \leq 2$ ). Overall, Zein, SPI, and WPI affect proso millet starch in

基金项目: “十三五”国家重点研发计划“中华传统谷物食品工业化加工关键技术研究与装备开发” (2016YFD0400401)

第一作者简介: 肖 瑜 (1994-) (ORCID: 0000-0002-2484-1424), 女, 硕士, 研究方向为粮食深加工。

E-mail: xy080022@163.com

\*通讯作者简介: 郑明珠 (1979-) (ORCID: 0000-0002-8381-9913), 女, 副教授, 博士, 研究方向为粮食深加工。E-mail: zhengmzhu@163.com

varying degree, especially WPI. This study shows that protein is not only provide nutrition, but also as an starchy food anti-aging agent. It provides a theoretical basis for delaying aging and has a certain guide significance for actual production.

**Keywords:** proso millet starch; zein; soy protein isolate; whey protein isolate; retrogradation; Avrami equation

中图分类号: TS231

文献标志码: A

**DOI:** 10.7506/spkx1002-6630-20190709-121

大黄米(*Panicum miliaceum* L.), 又称软黄米, 是黍子脱壳后的产物, 在美国、印度、日本和非洲等多个国家, 大黄米的利用, 生产和加工都较为普遍, 有的国家甚至将其作为主食。而我国大黄米加工产品缺乏, 对大黄米的利用率远不及国外。另外, 大黄米富含淀粉且具有丰富的蛋白、矿物质和维生素, 含有较多的活性物质<sup>[1, 2]</sup>。大黄米中淀粉的含量为 70%左右<sup>[3]</sup>, 而以淀粉为基础的食品大多存在易于老化、货架期短等问题, 大黄米淀粉的老化严重影响其产品在贮藏过程中的品质。淀粉的老化是直链淀粉分子的缠绕有序和支链淀粉外侧短链重结晶所引起<sup>[4]</sup>。淀粉老化可分为短期老化和长期老化, 导致淀粉老化的原因有淀粉分子结构(直链淀粉和支链淀粉的比值)、淀粉中的水分含量和外源添加物质(蛋白质、脂肪、糖、多酚和盐等)。通常直链淀粉含量越高, 老化程度越大, 直链淀粉的老化可形成结晶核, 且协助核结晶的增加<sup>[5]</sup>。与直链淀粉相反的是, 支链淀粉含量越高, 老化速度越慢, 支链淀粉含量与长期老化有关<sup>[6]</sup>。由于淀粉的老化, 保水能力下降, 质地变硬, 影响其产品的品质, 造成食品浪费和经济损失<sup>[7]</sup>。

近年来, 许多研究将外源添加物质如亲水胶体<sup>[8]</sup>、脂质<sup>[9]</sup>、多糖<sup>[10]</sup>和多酚<sup>[11]</sup>添加到淀粉中, 从而影响淀粉的老化。蛋白在食品行业中应用越来越广泛, 在食品中添加适量的蛋白质不仅可改善食品的风味和口感还可以提高食品的营养价值<sup>[12-14]</sup>。蛋白质添加对淀粉的影响, 国内外研究主要集中在蛋白质的添加对淀粉理化性质及消化性影响方面。Xu 和 Zhang 研究发现, 用玉米醇溶蛋白微胶囊包裹埋淀粉颗粒, 经冷冻干燥和低温喷雾干燥处理后微胶囊颗粒的慢消化淀粉、抗性淀粉含量显著增加<sup>[15]</sup>。另外有研究表明, 在 35 °C 的条件下将玉米醇溶蛋白与玉米淀粉混合, 玉米醇溶蛋白中的  $\alpha$ -螺旋结构增加, 形成粘弹性系统, 从而增加了玉米醇溶蛋白-淀粉面团的延展性<sup>[16]</sup>。有研究发现糯性玉米淀粉和大豆分离蛋白之间的相互作用比普通玉米淀粉和大豆分离蛋白之间的作用对淀粉的理化性质更明显<sup>[17]</sup>。并且, 当蛋白存在食品基质中可能会影响淀粉的消化率。Yang<sup>[18]</sup>和 Ma<sup>[19]</sup>研究发现, 凝胶化是乳清蛋白的重要功能特性, 其已被广泛用于改善食物的质地和味道, 马铃薯和小麦淀粉可以增强乳清分离蛋白的凝胶化。

因此, 本试验以大黄米淀粉-玉米醇溶蛋白、大黄米淀粉-大豆分离蛋白和大黄米淀粉-乳清分离蛋白混合物为研究对象, 从热特性、晶体结构、质构等方面研究添加外源蛋白质与大黄米淀粉之间的相互作用对淀粉老化的影响, 以期为提高糯性谷物淀粉及淀粉产品质量和附加值提供参考和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大黄米 市售 辽宁建平县惠丰源粮食加工有限公司; 玉米醇溶蛋白(Zein)、大豆分离蛋白(Soy Protein Isolate, SPI)、乳清分离蛋白(Whey Protein Isolate, WPI) 上海源叶生物科技有限公司; 试验中所有试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

FD-1A-50 真空冷冻干燥机 北京博医康实验仪器有限公司; 高速离心机 上海安亭科学仪器厂; TA-XT Plus 型物性测定仪 英国 Stable Micro Systems 公司; Q2000 DSC 仪 美国 TA 公司; VERTEX 70 傅里叶红外光谱仪 德国 Bruker 公司; D/MAX2500 X-射线衍射仪 日本理学公司; 电热恒温鼓风干燥箱: 上海柏欣仪器设备厂。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 大黄米淀粉提取

大黄米→磨粉→过筛(100目)→碱液浸泡(0.075 mol/L NaOH)<sup>[20]</sup>→离心→刮去上层黄褐色软层→淀粉粗浆→加水稀释成淀粉乳→调节 pH=7→离心(反复洗涤沉淀3次)→淀粉精浆→干燥(40℃)→大黄米淀粉(Proso millet starch, PMS)(100 g 大黄米粉可提取 60 g 淀粉, 其中碱液浸泡可除去谷物中的脂质, 分散基质蛋白质。)

#### 1.3.2 大黄米淀粉理化指标测定

蛋白质含量测定: GB 50095-2016; 水分含量测定: GB 50093-2016; 脂肪含量测定: GB/T 5009.6-2016; 总淀粉含量和直链淀粉含量测定: 用总淀粉试剂盒和直链淀粉/支链淀粉试剂盒(伴刀豆球蛋白 A 方法)<sup>[21]</sup>测定淀粉含量; 灰分测定: GB 5009.4-2016 食品安全国家标准。

#### 1.3.3 样品的制备与处理

玉米醇溶蛋白(zein, 15%, w/v)先分散于 60%的乙醇溶液中, 再缓慢加入大黄米淀粉<sup>[22]</sup>; 大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI, 15%, w/v)先分散于 1/15 M, pH 7.8 的磷酸缓冲溶液中, 再缓慢加入大黄米淀粉<sup>[23]</sup>; 乳清分离蛋白(whey protein isolate, WPI, 10%, w/v)先分散于蒸馏水中, 磁力搅拌 30 min, 置于 4℃条件下不断搅拌过夜, 调节 pH=7, 缓慢加入大黄米淀粉<sup>[24]</sup>; 将上述混合物置于 90℃水浴搅拌 30 min 后, 取出样品冷冻干燥, 既得大黄米淀粉-玉米醇溶蛋白、大黄米淀粉-大豆分离蛋白和大黄米淀粉-乳清分离蛋白混合物, 研磨过 80 目, 筛下物备用。

准确称取大黄米淀粉及其混合物各 20 g, 加入 80 mL 蒸馏水搅拌混合后置于蒸锅中加热 20 min, 将糊化后的样品置于 4℃条件下储存 1 d、7 d、15 d。一部分用于质构特性的测定, 另一部分冻干粉碎过筛(100目)备用。各种混合物分别命名为: PMS、PMS-zein、PMS-SPI、PMS-WPI。

#### 1.3.4 样品凝胶质构特性的测定

样品(高为 2 cm 的圆柱体)的凝胶质构性质通过 TA-XT 物性检测仪测定。参考物性仪 TPA 测定模式, 采用圆柱形金属探头(P/0.5R, 平底)。测试条件: 测前速率 1.0 mm/s; 测试速率 2.0 mm/s; 测后速率 2.0 mm/s; 压缩程度为 40%; 两次压缩间隔为 2 s, 每个样品做三组平行试验, 得到质构参数曲线。通过 Texture Expert Excede Version 1.0 (Stable Micro Systems Software)软件分析处理数据, 得到硬度、粘附性、胶粘性 and 咀嚼性。

#### 1.3.5 傅立叶红外光谱扫描

使用傅立叶红外光谱(FT-IR)测定样品的结构。参考 Cai 等<sup>[25]</sup>方法, 有些许改动: 称取 1 mg 样品与 100 mg 溴化钾充分混合研磨, 在 15 MPa 下抽真空压片 1 min。扣除溴化钾薄片的背景, 于 4000~400 cm<sup>-1</sup> 下扫描 64 次, 分辨率为 4 cm<sup>-1</sup>, 使用 origin 8.5 进行数据处理, 得到红外光谱图。

#### 1.3.6 X-射线衍射分析

对大黄米淀粉和混合物样品进行 X-射线衍射分析。采用铜靶 Cu K<sub>α</sub>, 于管压 40 kV, 管流 30 mA, 扫描范围为 5~50° (2θ), 扫描速度 10°/min, 步长 0.02°<sup>[26]</sup>。测量结果采用 MDI Jade 6.5 软件进行分析。

#### 1.3.7 热特性分析

参考 Wang 等<sup>[27]</sup>方法, 有些许改动。准确称取 3 mg 样品置于差示扫描量热仪(DSC)坩埚中, 并加入 10 μL 去离子水, 混合均匀后密封。将密封后的坩埚于室温条件下平衡 24 h, 用空坩埚作参比。通入氮气(氮气流速 50 mL/min), 升温速度 10℃/min, 由 30℃升至 130℃, 得到起始温度(T<sub>o</sub>), 峰值温度(T<sub>p</sub>)、最终温度(T<sub>c</sub>)和老化焓值(ΔH)。每个样品测定三次平行。

Avrami 方程被广泛用于研究淀粉老化动力学<sup>[28, 29]</sup>, 方程表示如下:

$$R = \frac{\Delta H_t - \Delta H_0}{\Delta H_\infty - \Delta H_0} = 1 - \exp(-kt^n) \quad (1)$$

式中: R 是样品结晶率;  $H_t$ (J/g)、 $H_0$ (J/g)和  $H_\infty$ (J/g)分别为 t 时间、0 时间和∞时间的焓变; k 代

表结晶速率常数； $n$  为 Avrami 参数。

1.3.8 数据处理

采用 SPSS 24.0 对试验数据进行统计分析和处理，采用 Duncan 法进行差异显著性分析， $P < 0.05$  为差异显著，数据以平均值 $\pm$ 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 大黄米淀粉的成分分析结果

表 1 大黄米淀粉成分分析结果

Table1. The composition of proso millet starch

	总淀粉含量 (%)	直链淀粉含量 (%)	蛋白含量 (%)	脂肪含量 (%)	水分含量 (%)	灰分含量 (%)
PMS	89.85 $\pm$ 0.49	10.84 $\pm$ 0.24	0.43 $\pm$ 0.03	0.27 $\pm$ 0.05	4.73 $\pm$ 0.30	0.15 $\pm$ 0.04

由表 1 可知大黄米淀粉中的直链淀粉含量较低，根据直链淀粉含量，大黄米可分为两种类型：糯性（低直链淀粉含量）和非糯性（高直链淀粉含量）<sup>[3]</sup>。

2.2 不同蛋白质对大黄米淀粉老化影响的质构特性

表 2 大黄米淀粉-蛋白质混合物老化 1d、7d 和 15d 的质构特性

Table 2. The texture profile of proso millet starch-protein mixtures under retrogradation 1 d, 7 d and 15 d.

样品	老化天数	硬度/g	粘附性/g.s	胶粘性/g	咀嚼性/g.mm
PMS	Day1	97.49 $\pm$ 1.11 <sup>d</sup>	-82.02 $\pm$ 1.55 <sup>d</sup>	75.38 $\pm$ 0.23 <sup>d</sup>	133.92 $\pm$ 10.74 <sup>c</sup>
PMS-Zein	Day1	89.79 $\pm$ 3.55 <sup>c</sup>	-88.93 $\pm$ 1.57 <sup>c</sup>	66.06 $\pm$ 1.66 <sup>c</sup>	84.43 $\pm$ 16.08 <sup>b</sup>
PMS-SPI	Day1	58.73 $\pm$ 3.16 <sup>b</sup>	-97.37 $\pm$ 2.60 <sup>b</sup>	54.14 $\pm$ 2.45 <sup>b</sup>	67.95 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>
PMS-WPI	Day1	17.21 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	-129.09 $\pm$ 3.28 <sup>a</sup>	12.23 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	10.81 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>
PMS	Day7	407.32 $\pm$ 2.92 <sup>d</sup>	-49.72 $\pm$ 0.52 <sup>d</sup>	267.11 $\pm$ 2.04 <sup>c</sup>	266.23 $\pm$ 1.61 <sup>c</sup>
PMS-Zein	Day7	395.47 $\pm$ 9.48 <sup>c</sup>	-59.12 $\pm$ 0.28 <sup>c</sup>	198.83 $\pm$ 18.30 <sup>b</sup>	166.57 $\pm$ 20.87 <sup>b</sup>
PMS-SPI	Day7	320.23 $\pm$ 9.00 <sup>b</sup>	-67.01 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>	194.20 $\pm$ 8.24 <sup>b</sup>	188.08 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>
PMS-WPI	Day7	196.12 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>	-80.40 $\pm$ 1.73 <sup>a</sup>	89.68 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	97.62 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>
PMS	Day15	727.50 $\pm$ 5.23 <sup>d</sup>	-30.47 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	391.86 $\pm$ 11.86 <sup>d</sup>	398.30 $\pm$ 7.06 <sup>c</sup>
PMS-Zein	Day15	688.67 $\pm$ 2.14 <sup>c</sup>	-32.92 $\pm$ 0.40 <sup>bc</sup>	324.82 $\pm$ 9.76 <sup>c</sup>	285.17 $\pm$ 26.90 <sup>b</sup>
PMS-SPI	Day15	630.93 $\pm$ 1.22 <sup>b</sup>	-37.61 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>	294.95 $\pm$ 8.28 <sup>b</sup>	266.62 $\pm$ 11.06 <sup>b</sup>
PMS-WPI	Day15	397.52 $\pm$ 1.80 <sup>a</sup>	-59.61 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	123.29 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	170.17 $\pm$ 4.54 <sup>a</sup>

注：不同的小写字母表示同一列之间存在显著性差异，相同的小写字母表示同一列之间无显著性差异， $P < 0.05$ 。PMS：大黄米淀粉；PMS-Zein：大黄米淀粉-玉米醇溶蛋白；PMS-SPI：大黄米淀粉-大豆分离蛋白；PMS-WPI：大黄米淀粉-乳清分离蛋白。

采用 TPA 测定不同蛋白对大黄米淀粉的凝胶质构特性，结果如表 2 所示。凝胶质构分析结果来看，在 4 °C 条件下储存 15 d 添加玉米醇溶蛋白的大黄米淀粉的凝胶硬度从 727.50 g 显著( $P < 0.05$ )降至 688.67 g，大豆分离蛋白和乳清分离蛋白的添加显著( $P < 0.05$ )降低了大黄米淀粉的硬度，其硬度分别降至 630.93 g 和 397.52 g。样品凝胶的硬度随着储存天数的增加而增加，这与 Singh 等<sup>[30]</sup>一致。而随着储存天数的增加，样品凝胶硬度逐渐增大，这主要是由于淀粉长期老化引起的，老化初期，直链淀粉在氢键的作用下，可形成具有一定韧性的淀粉凝胶网络结构<sup>[31]</sup>，分子间的缠绕程度越强，其形成的网络结构强度则越高，而支链淀粉的重结晶则进一步增强网络结构的刚性。大黄米淀粉含有较高的支链淀粉，支链淀粉外链长的淀粉容易老化，添加蛋白后，淀粉-蛋白体系的硬度降低表明在凝胶储存的过程中蛋白质可降低淀粉的硬度。这可能是由于蛋白质会导致淀粉微相区浓度下降，抑制淀粉分子进行重排，从而延缓淀粉老化<sup>[32]</sup>。粘附性指淀粉凝胶粘附在其他物体上的能力，反映

探头测试样品的粘着作用所消耗的功。添加蛋白质的大黄米淀粉形成的凝胶比不添加蛋白质所形成的凝胶具有更高的粘附性,并且粘附性和老化天数成反比。样品的胶着性和咀嚼性也随着老化天数的增加而增加,而添加不同蛋白质导致了不同的结果,这可能是由于三种蛋白质之间的结构组成不一致,并且淀粉凝胶的这些机械性质亦取决于淀粉分子的结构。淀粉凝胶的质构特性是决定食品体系中淀粉性能的重要标准。综上可知,添加乳清分离蛋白,随着贮藏时间的增加,体系的硬度增大的最为缓慢,延缓大黄米淀粉老化的效果最好。

### 2.3 不同蛋白质对大黄米淀粉老化影响的红外分析

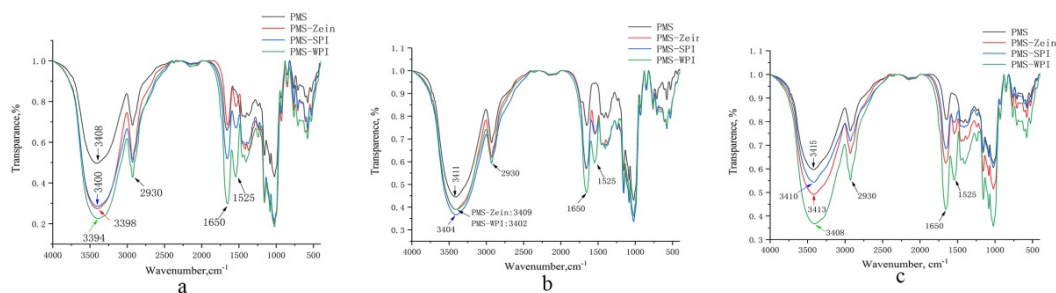


图1 大黄米淀粉-蛋白质混合体系的红外光谱(a)老化1 d;(b) 老化7 d;(c)老化15 d

Fig.1FTIR spectra of proso millet starch-protein mixtures system.(a) retrogradation 1 d;(b) retrogradation 7 d;(c) retrogradation 15 d

淀粉的是一种多羟基的高分子聚合物,其每一个葡萄糖结构单元的2,3,6位碳上均含有羟基,因此在其分子内和分子间存在大量维系体系三维结构的氢键<sup>[33]</sup>。采用FTIR对老化不同天数的样品进行检测,未添加蛋白和添加蛋白的样品结果如图1所示。FTIR也可以用来检测样品在老化期间是否有新的基团生成或偏移以及氢键的作用。

从图1a, b和c可以看出,样品在 $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ 处呈现的一个宽而强的吸收峰,这是多聚体分子间典型的缔合羟基特征峰,这说明淀粉分子间的晶体是通过氢键而紧密相连的。对于淀粉-玉米醇溶蛋白体系是N-H键的收缩振动,淀粉-大豆分离蛋白和淀粉-乳清分离蛋白则是O-H键的收缩振动。添加不同蛋白质后,吸收峰往低波长方向移动,说明体系之间的氢键作用力在增强。在 $2930\text{ cm}^{-1}$ 左右处的吸收峰为C-H键的振动吸收峰,这与淀粉中蛋白和脂肪含相关<sup>[34]</sup>,从图可看出,淀粉-蛋白体系在 $2930\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰强于淀粉。大黄米淀粉和淀粉-蛋白体系在 $1650\text{ cm}^{-1}$ 处呈现强的特征吸收峰,是因为C=O的弯曲振动,而不同于大黄米淀粉,淀粉-蛋白体系在 $1525\text{ cm}^{-1}$ 附近为蛋白特征吸收峰(酰胺II)<sup>[35]</sup>。本文研究发现,添加三种蛋白质后未出现新的特征吸收峰,这说明蛋白质的加入并未和淀粉形成新的基团,主要还是通过氢键作用力构成一个紧密缠绕的三维凝胶网络结构。

### 2.4 不同蛋白质对大黄米淀粉老化影响的结晶结构分析

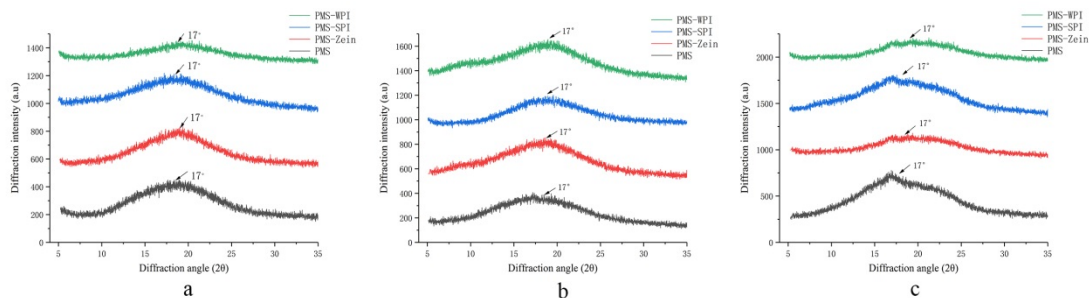


图2 大黄米淀粉-蛋白质混合体系的X-射线衍射图(a)老化1 d;(b) 老化7 d;(c)老化15 d

Fig.2 X-ray diffraction patterns of proso millet starch-protein mixtures system.(a) retrogradation 1 d;(b) retrogradation 7 d;(c) retrogradation 15 d

在 4℃ 下储存 1、7 和 15 d 后，对老化的样品进行 XRD 分析，从而评价样品的老化特性。淀粉因品种来源和结晶结果的差异而形成不同类型的 XRD 图谱<sup>[36, 37]</sup>。淀粉主要分为结晶型和非结晶型，而淀粉的结晶结构主要有 A、B、C、V 四种类型，A 型主要存在谷物中，一般在 15°、23° 处有较强的单衍射峰，17° 和 18° 处有较强的双衍射峰。不同蛋白质对淀粉 XRD 图谱的影响如图 2。XRD 图 2 显示，老化 1 天的样品在 17° 左右出现较强衍射峰，这是典型的 B 型结晶结构。老化样品呈现 B 型结晶结构可能是由于在加热过程中部分颗粒结晶度消失，这也伴随着聚合物和溶剂（脱水收缩）之间的刚性和相分离逐渐增加。老化样品的峰接近 17°，峰的形成是淀粉无定性区的熔融结晶的结果，主要可能是因为支链淀粉部分的重结晶，这也表明淀粉 A 型结晶结构 15° 的特征峰经过糊化后被破坏<sup>[27]</sup>。图 2 显示，加入不同蛋白质后 XRD 的峰强度减弱，一般的，XRD 的峰强度表明了糊化后淀粉的老化程度<sup>[38]</sup>，衍射峰越高越窄，老化程度越强。本文研究表明，加入蛋白后可抑制大黄米淀粉的老化，这与 TPA 和 DSC 结果相一致。

## 2.5 不同蛋白质对大黄米淀粉老化影响的热特性分析

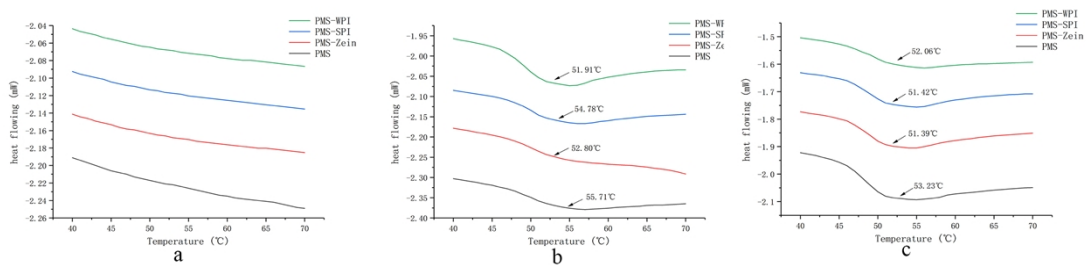


图 3 大黄米淀粉-蛋白质混合体系的 DSC 图谱(a)老化 1d;(b) 老化 7d;(c)老化 15d.

Fig.3 DSC of proso millet starch-protein mixtures system.(a) retrogradation 1 d;(b) retrogradation 7 d;(c) retrogradation 15

d

表 3 大黄米淀粉-蛋白质混合物老化 7d 和 15d 的热特性

Table 3. The thermal analysis of proso millet starch-protein mixtures under retrogradation 7 d and 15 d..

样品	老化天数	起始温度(°C)	峰值温度(°C)	最终温度(°C)	老化焓值(J/g)
PMS	Day7	47.98±0.16 <sup>a</sup>	55.71±0.00 <sup>d</sup>	68.06±0.56 <sup>c</sup>	2.48±0.16 <sup>a</sup>
PMS-Zein	Day7	50.14±0.11 <sup>c</sup>	52.80±0.02 <sup>b</sup>	58.48±0.11 <sup>a</sup>	1.58±0.13 <sup>b</sup>
PMS-SPI	Day7	48.56±0.16 <sup>b</sup>	54.78±0.00 <sup>c</sup>	62.45±0.23 <sup>b</sup>	1.73±0.10 <sup>b</sup>
PMS-WPI	Day7	47.86±0.07 <sup>a</sup>	51.91±0.00 <sup>a</sup>	58.32±0.14 <sup>a</sup>	1.61±0.07 <sup>b</sup>
PMS	Day15	46.60±0.02 <sup>a</sup>	53.23±0.00 <sup>a</sup>	59.16±0.19 <sup>b</sup>	3.51±0.10 <sup>a</sup>
PMS-Zein	Day15	46.89±0.09 <sup>b</sup>	51.39±0.00 <sup>a</sup>	58.79±0.14 <sup>a</sup>	2.69±0.08 <sup>c</sup>
PMS-SPI	Day15	46.94±0.05 <sup>b</sup>	51.42±0.00 <sup>a</sup>	60.51±0.21 <sup>c</sup>	3.13±0.11 <sup>b</sup>
PMS-WPI	Day15	47.41±0.08 <sup>c</sup>	52.06±0.00 <sup>a</sup>	59.47±0.19 <sup>b</sup>	1.71±0.09 <sup>d</sup>

注：不同的小写字母表示同一列之间存在显著性差异，相同的小写字母表示同一列之间无显著性差异， $P < 0.05$ 。PMS：大黄米淀粉；PMS-Zein：大黄米淀粉-玉米醇溶蛋白；PMS-SPI：大黄米淀粉-大豆分离蛋白；PMS-WPI：大黄米淀粉-乳清分离蛋白。

表 3 是不同蛋白质对老化 7 d 和 15 d 的大黄米淀粉热特性的影响，测定结果如表所示。储存期间，老化样品的起始温度，峰值温度和最终温度变化不大，而老化后的峰值温度较低<sup>[17, 39]</sup>但无显著差异 ( $P > 0.05$ )，峰值温度基本在 50℃ 左右，属于支链淀粉老化的解离峰<sup>[40]</sup>，直链淀粉的老化解离峰 $\geq 100^\circ\text{C}$ <sup>[10]</sup>。此外，样品老化一天在 30-130℃ 的升温过程中并未从老化曲线观察到老化焓，而样品在储存 7 d 和 15 d 再加热的过程产生热转变，表明样品在储存的过程中发生老化。淀粉老化的过程是直链淀粉和支链淀粉之间通过氢键形成一个更有序的结构。随着储存天数的增加，样品的焓值逐渐增大，这意味着在储存期间支链淀粉结晶融化需要更多的能量<sup>[41]</sup>。储存 15 d 之后大黄米淀粉焓值变化从第 7 d 的 2.48 J/g 升至 3.51 J/g，含有蛋白质的大黄米淀粉老化焓比大黄米淀粉低，这可能是由于蛋白质的存在减少了淀粉的含量，因此蛋白质可以降低淀粉的老化。另一方面，大黄米淀粉

中的支链淀粉含量较大，而支链淀粉比直链淀粉更易重结晶，会呈现更高的老化焓。DSC 结果显示，乳清分离蛋白比玉米醇溶蛋白和大豆分离蛋白对大黄米淀粉老化的影响更大。结果表明在大黄米淀粉中添加蛋白质可以抑制淀粉的老化，尤其是可以抑制支链淀粉的重结晶。

## 2.6 结晶动力学

通过老化过程的模型化研究,可以掌握由老化引起的淀粉食品品质的变化规律,对食品品质的预测和控制有较大意义。淀粉回生焓值反应的就是晶体形成的熔化，且其晶体熔化形成的吸热峰是支链淀粉长期回生后再熔化引起的，而非直链淀粉<sup>[8]</sup>。淀粉在结晶过程中生成结晶属于天然高分子，Avrami方程描述了储存期间焓的变化，因此采用Avrami模型来描述淀粉回生过程，该模型可表达晶核成核方式和生长速率。

建立老化动力学模型研究三种蛋白对大黄米淀粉老化性质的影响，利用DSC测量4℃下保存不同时间的样品的老化焓，其结果如图4所示。

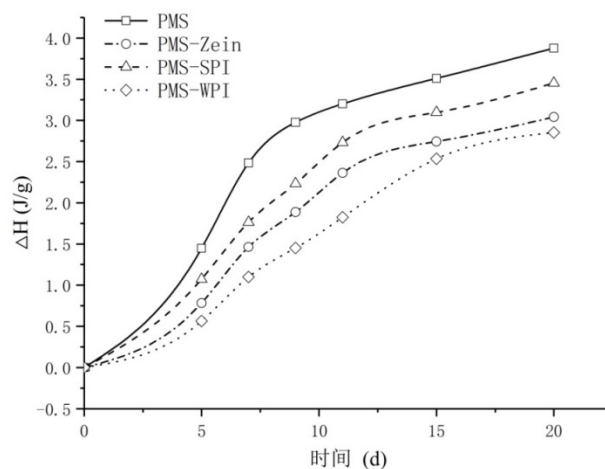


图4 DSC检测大黄米淀粉-蛋白质混合体系老化

Fig.4 Retrogradation of proso millet starch-protein monitored by DSC

图4反应未加入和加入蛋白的大黄米淀粉储存不同天数的热力学参数，随着储存时间的延长，所有样品的老化焓增大，表明结晶更多，需要更多的能量融化。将老化不同天数的老化焓代入公式（1）中，得到样品动力学方程及参数（表5）。

表5 大黄米淀粉-蛋白质混合体系老化动力学模型（4℃）

Table 5 Avrami retrogradation kinetic models of proso millet starch-protein mixtures (4℃)

样品	Avrami 方程	k	lnk	n	R <sup>2</sup>
PMS	y=1.554x-0.0443	0.04431±0.01861	-3.11654±0.35065	1.55406±0.20178	0.9857
PMS-Zein	y=1.882x-0.0158	0.01583±0.00361	-4.14585±0.20543	1.8815±0.10464	0.9964
PMS-SPI	y=1.693x-0.0256	0.02562±0.00451	-3.66438±0.16215	1.69349±0.08145	0.9974
PMS-WPI	y=1.984x-0.0093	0.00934±0.0024	-4.67345±0.2287	1.98427±0.11308	0.9953

注：PMS：大黄米淀粉；PMS-Zein：大黄米淀粉-玉米醇溶蛋白；PMS-SPI：大黄米淀粉-大豆分离蛋白；PMS-WPI：大黄米淀粉-乳清分离蛋白。

利用Avrami方程研究不同蛋白质对大黄米淀粉老化的影响机理，结果表明，老化动力学数据符合Avrami方程（R<sup>2</sup>=0.9857~0.9974）。Avrami指数（n）反应了成核过程的晶体形态，n值越小，成核越快。由表7可知，大黄米淀粉-蛋白质混合体系主要是以自发成核为主（1<n≤2），其成核类型为接近于散发性核的棒状生长方式<sup>[27, 42]</sup>，这和XRD的结果相一致。加入蛋白质的大黄米淀粉的n值均高于不含蛋白质的大黄米淀粉，表明晶核在结晶开始形成时成核速度变慢。淀粉结晶速率常数（k）代



表重结晶的速度,其可能受到支链淀粉的比值,温度,pH,淀粉颗粒大小分布和非淀粉组分的影响<sup>[43]</sup>。k值越大,结晶速率越快,加入蛋白质的样品的k值要比大黄米淀粉的更低,表明加入蛋白后体系的重结晶增长速率降低,因此,蛋白质的存在影响了支链淀粉回生。三种蛋白对大黄米淀粉成核及结晶速率的影响程度不同,这可能是因为三种蛋白的结构和分子量不同,乳清分离蛋白对大黄米淀粉的影响最大,其成核较慢,这是由于成核方式偏向于棒状生长方式。不同分子量的蛋白可能有助于淀粉和蛋白混合体系k值的差异。

### 3 结论

本文主要研究了3种不同蛋白质和大黄米淀粉混合体系的质构特性、热力学性质、结晶结构等,通过这些指标来表征蛋白质对大黄米淀粉老化的影响。研究结果发现玉米醇溶蛋白、大豆分离蛋白和乳清分离蛋白以不同程度延缓大黄米淀粉的老化。与大黄米淀粉相比,大黄米淀粉-蛋白质混合体系的硬度下降,质地变得较为柔软,储藏期的稳定性提高,表明改善了大黄米淀粉的品质。红外图谱表明三种蛋白质和大黄米淀粉之间没有形成新的特征峰,主要是通过氢键形成一个紧密缠绕的三维凝胶网络结构。由于支链淀粉的重结晶或是因加热而使部分结晶消失,老化后的样品呈现典型的B型结构,XRD峰强度随着老化天数的增加而增加,而含有蛋白质的大黄米淀粉的峰强度弱于大黄米淀粉,说明蛋白质可以延缓大黄米淀粉的老化,这与TPA和DSC的结果一致。热焓值随着老化天数的增加而增大,热焓值的增加与支链淀粉的重结晶有关,同时,添加蛋白质后混合体系的热焓值减小,说明蛋白质的加入可以抑制大黄米淀粉的长期老化,其动力学模型(Avrami方程)表示蛋白质可以延缓支链淀粉重结晶的速率,并且体系的成核方式均偏向于散发性的棒状生长( $1 < n \leq 2$ ),符合XRD的结果。三种蛋白质对大黄米淀粉的老化性质影响程度不一致,可能是因为三种蛋白质的结构和分子量不同,这表明蛋白质可以抑制大黄米淀粉的老化,其中乳清分离蛋白对大黄米淀粉的影响最为明显。

### 参考文献

1. SHAHIDI F, ARACHCHI J K V, JEON Y J. Food applications of chitin and chitosans[J]. Trends in Food Sci Technol, 1999, 10(2): 37-51. Doi:10.1016/S0924-2244(99)00017-5
2. 刘勇, 姚惠源, 王强. 黄米营养成分分析[J]. 食品工业科技, 2006, (2): 172-174. Doi:10.3969/j.issn.1002-0306.2006.02.058
3. YANG Q, ZHANG P, QU Y, et al. Comparison of physicochemical properties and cooking edibility of waxy and non-waxy proso millet (*Panicum miliaceum* L.)[J]. Food Chemistry, 2018, 257: 271. Doi:10.1016/j.foodchem.2018.03.009
4. AMBIGAIPALAN P, HOOVER R, DONNER E, et al. Retrogradation characteristics of pulse starches[J]. Food Research International, 2013, 54(1): 203-212. Doi:10.1016/j.foodres.2013.06.012
5. YU S, MA Y, SUN DW. Impact of amylose content on starch retrogradation and texture of cooked milled rice during storage[J]. Journal of Cereal Science, 2009, 50(2): 139-144. Doi:10.1016/j.jcs.2009.04.003
6. FREDRIKSSON H, SILVERIO J, ANDERSSON R, et al. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches[J]. Carbohydr Polym, 1998, 35(3-4): 119-134. Doi:10.1016/S0144-8617(97)00247-6
7. WANG S, LI C, COPELAND L, et al. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2015, 14(5): 568-585. Doi:10.1111/1541-4337.12143
8. 唐敏敏, 洪雁, 顾正彪, 等. 黄原胶对大米淀粉长期回生的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(07): 692-697. Doi:10.3969/j.issn.1673-1689.2013.07.004
9. GERMANI R, CIACCO C F, RODRIGUEZ - AMAYA D B. Effect of Sugars, Lipids and Type of Starch on the Mode and Kinetics of Retrogradation of Concentrated Corn Starch Gels[J]. Starch - Stärke, 2010, 35(11): 377-381.



- Doi:10.1002/star.19830351103
10. WANG L, XU J, FAN X, et al. Effect of disaccharides of different composition and linkage on corn and waxy corn starch retrogradation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61: 531-536. Doi:10.1016/j.foodhyd.2016.06.010
  11. 李蟠莹, 戴涛涛, 军 陈, 等. 原花青素对大米淀粉老化性质的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(18): 6-11. Doi:10.13386/j. issn1002 — 0306. 2018. 18. 002
  12. KASAAI M R. Zein and zein -based nano-materials for food and nutrition applications: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 79: 184-197. Doi:10.1016/j.tifs.2018.07.015
  13. SMITHERS G W. Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’[J]. *International Dairy Journal*, 2008, 18(7): 695-704. Doi:10.1016/j.idairyj.2008.03.008
  14. KOSHY R R, MARY S K, THOMAS S, et al. Environment friendly green composites based on soy protein isolate – A review[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 50: 174-192. Doi:10.1016/j.foodhyd.2015.04.023
  15. XU H,ZHANG G. Slow digestion property of microencapsulated normal corn starch[J]. *Journal of Cereal Science*, 2014, 60(1): 99-104. Doi:10.1016/j.jcs.2014.01.021
  16. MEJIA C D, MAUER L J,HAMAKER B R. Similarities and differences in secondary structure of viscoelastic polymers of maize  $\alpha$ -zein and wheat gluten proteins[J]. *Journal of Cereal Science*, 2007, 45(3): 353-359. Doi:10.1016/j.jcs.2006.09.009
  17. QIU C, LI X, JI N, et al. Rheological properties and microstructure characterization of normal and waxy corn starch dry heated with soy protein isolate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 48: 1-7. Doi:10.1016/j.foodhyd.2015.01.030
  18. YANG N, ASHTON J,KASAPIS S. The influence of chitosan on the structural properties of whey protein and wheat starch composite systems[J]. *Food Chem*, 2015, 179: 60-7. Doi:10.1016/j.foodchem.2015.01.121
  19. MA D, TU Z-C, WANG H, et al. Fabrication and characterization of nanoemulsion-coated microgels: Electrostatic deposition of lipid droplets on alginate beads[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 71: 149-157. Doi:10.1016/j.foodhyd.2017.05.015
  20. SINGH H, LIN J H, HUANG W H, et al. Influence of amylopectin structure on rheological and retrogradation properties of waxy rice starches[J]. *Journal of Cereal Science*, 2012, 56(2): 367-373. Doi:10.1016/j.jcs.2012.04.007
  21. YOU S Y, LIM S T, JU H L, et al. Impact of molecular and crystalline structures on in vitro digestibility of waxy rice starches[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 112(112C): 729-735. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.065
  22. 高萍萍, 玉米醇溶蛋白-淀粉复合物的制备及性质研究[D]. 2017, 中国农业科学院.
  23. GUAN J J, QIU A Y, LIU X Y, et al. Microwave improvement of soy protein isolate-saccharide graft reactions[J]. *Food Chemistry*, 2006, 97(4): 577-585. Doi:10.1016/j.foodchem.2005.05.035
  24. DANG H V, LOISEL C, DESRUMAUX A, et al. Rheology and microstructure of cross-linked waxy maize starch/whey protein suspensions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(7): 1678-1686. Doi:10.1016/j.foodhyd.2009.01.004
  25. CAI J, MAN J, HUANG J, et al. Relationship between structure and functional properties of normal rice starches with different amylose contents[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 125: 35-44. Doi:10.1016/j.carbpol.2015.02.067
  26. XIAO H, LIN Q, LIU G-Q, et al. Inhibitory Effects of Green Tea Polyphenols on the Retrogradation of Starches from Different Botanical Sources[J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2011, 6(8): 2177-2181. Doi:10.1007/s11947-011-0739-8
  27. WANG L, XU J, FAN X, et al. The effect of branched limit dextrin on corn and waxy corn gelatinization and retrogradation[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 106: 116-122. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.181
  28. BERSKI W, ZIOBRO R, WITCZAK M, et al. The retrogradation kinetics of starches of different botanical origin in the presence of glucose syrup[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 114(15): 1288-1294. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.019
  29. JIN X, FAN X, NING Y, et al. Effect of spring dextrin on retrogradation of wheat and corn starch gels[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 33(2): 361-367. Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.03.013
  30. SINGH H, LIN J-H, HUANG W-H, et al. Influence of amylopectin structure on rheological and retrogradation properties of waxy rice starches[J]. *Journal of Cereal Science*, 2012, 56(2): 367-373. Doi:10.1016/j.jcs.2012.04.007
  31. MORIKAWA K,NISHINARI K. Effects of concentration dependence of retrogradation behaviour of dispersions for native

- and chemically modified potato starch[J]. Food Hydrocolloids, 2000, 14(4): 395-401. Doi:[https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00021-7](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00021-7)
32. LUO D, LI Y, XU B, et al. Effects of inulin with different degree of polymerization on gelatinization and retrogradation of wheat starch[J]. Food Chem, 2017, 229: 35-43. Doi:10.1016/j.foodchem.2017.02.058
33. 唐敏敏, 黄原胶对大米淀粉回生性质的影响及其机理初探[D]. 2013, 江南大学.
34. LIAN X, SUN H, LI L, et al. Characterizing the chemical features of lipid and protein in sweet potato and maize starches[J]. Starch - Stärke, 2014, 66(3-4): 361-368. Doi:10.1002/star.201200270
35. CHEN X, HE X, ZHANG B, et al. Structure, physicochemical and in vitro digestion properties of ternary blends containing swollen maize starch, maize oil and zein protein[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 76: 88-95. Doi:10.1016/j.foodhyd.2017.04.025
36. 陈福泉, 张本山, 黄强, 等. X 射线衍射测定淀粉颗粒结晶度的研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 31(1): 432-435. Doi:10.13386/j.issn1002-0306.2010.01.079
37. 郭宏伟, 赵城彬, 吴玉柱, 等. 红豆淀粉-脂质复合物结构及体外消化性质研究[J/OL]. 食品科学 Doi:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20190102.1538.149.html>
38. XIAO H, LIN Q, LIU G-Q, et al. Effect of green tea polyphenols on the gelatinization and retrogradation of rice starches with different amylose contents[J]. JOURNAL OF MEDICINAL PLANTS RESEARCH, 2011, 5(17): 4298-4303.
39. REN F, YU B, DONG D, et al. Rheological, thermal and microstructural properties of whey protein isolate-modified cassava starch mixed gels at different pH values[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(11): 2445-2454. Doi:10.1111/ijfs.13529
40. CHEN X, HE X W, ZHANG B, et al. Effects of Adding Corn Oil and Soy Protein to Corn Starch on the Physicochemical and Digestive Properties of the Starch[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 104: 481-486. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.06.024
41. CHEN L, REN F, ZHANG Z, et al. Effect of pullulan on the short-term and long-term retrogradation of rice starch[J]. Carbohydr Polym, 2015, 115: 415-21. Doi:10.1016/j.carbpol.2014.09.006
42. 张春媛, 朱跃进, 张海华, 等. 茶多糖对小麦淀粉回生动力学影响的研究[J]. 中国茶叶加工, 2014, (2): 16-19. Doi:10.15905/j.cnki.33-1157/ts.2014.02.002
43. TIAN Y, LI Y, FRANK A M N, et al. Influence of  $\alpha$ -cyclodextrin on the short-term retrogradation of rice starch[J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 54-58. <https://eurekamag.com/research/024/862/024862375.php>