

马铃薯淀粉颗粒的粒度与酶解特性相关性研究

Relationship of potato starch granule and its enzymatic hydrolysis properties

詹锦玲^{1,2} 孙冰华¹ 谢雅芸¹ 金征宇¹ 田耀旗¹

ZHAN Jin-ling^{1,2} SUN Bing-hua¹ XIE Ya-yun¹ JIN Zheng-yu¹ TIAN Yao-qi¹

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122;

2. 江南大学粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122)

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China; 2. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:淀粉颗粒分级目前主要通过机械粉碎的方法实现,由于粉碎导致淀粉颗粒破损,在酶解过程中很难科学阐述淀粉的完整颗粒结构与酶解特性关系。基于此,通过自主构建颗粒沉降系统,在不破坏淀粉颗粒结构的前提下分级得到不同粒度的马铃薯淀粉颗粒,其平均等效粒径分别为17.39, 25.81, 38.77, 56.53 μm ;采用酶解动力学等方法,研究发现淀粉颗粒越小,其比表面积越大,酶解效率越高;淀粉颗粒的消化速率系数与其尺寸大小呈负相关。综上所述,小颗粒马铃薯淀粉可作为多孔淀粉的制备原料,大颗粒马铃薯淀粉可作为抗性淀粉的制备原料。

关键词:马铃薯;淀粉颗粒;等效粒径;分级;酶解

Abstract: Mechanical pulverization was generally used to fractionate starch granules, but this method produced broken starch granules, thus resulting in the difficulties in finding the relationship between particle size of starch granule and hydrolysis efficiency by enzymes. Therefore, a sedimentation method based on stokes law was developed to produce unbroken starch granules with different particle sizes. The results showed that four sizes of starch granules were obtained and their average equivalent particle diameters were 17.39, 25.81, 38.77, and 56.53 μm , respectively. Furthermore, smaller starch granules possessed large specific surface and exhibited higher hydrolysis rate. A negative correlation was observed between granule size and digestion rate (K). These findings suggest that smaller starch granules could be used as materials for porous starch and larger starch granules could be applied to prepare resistant starch.

Keywords: Potato; starch granules; equivalent particle diameter; fractionation; enzymatic hydrolysis

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:31571792)

作者简介:詹锦玲,女,江南大学助理实验师,硕士。

通信作者:田耀旗(1981—),江南大学教授,博士。

E-mail: yqtian@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2017-08-22

天然的淀粉以颗粒的形式存在,不同植物来源的淀粉颗粒因其遗传性和生长环境条件的差异而具有不同的大小、形状(球形、椭圆形、多面体和不规则形)及粒径分布^[1]。淀粉颗粒的酶水解过程除了受反应条件、酶的特异性、非淀粉多糖等外在因素的影响外,还受淀粉颗粒自身因素,比如超分子结构(生长环和结晶度)、分子结构(直链淀粉和支链淀粉的精细结构)、形貌结构(形状、大小和孔隙度)等因素的影响^[2]。近年来,科学工作者^[3-6]在淀粉颗粒大小与其理化特性的相关性研究方面取得了较大的进展。但相关研究中淀粉颗粒均由机械外力粉碎的方法得到,这种粉碎方法会导致淀粉颗粒原有的形貌结构受到不同程度损伤^[7-9],难以阐述完整的淀粉颗粒结构与酶解特性关系。

基于此,本研究利用斯托克斯沉降定律^[10],自主构建颗粒沉降系统分级得到结构无损的、不同粒度的马铃薯淀粉颗粒,并对其相关的酶解特性进行研究,以期揭示马铃薯淀粉颗粒大小与酶解特性的关联性,为多孔淀粉、抗性淀粉等功能性食品配料的开发提供参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

α -淀粉酶:50 U/mg,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;

3,5-二硝基水杨酸:分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司;

马铃薯淀粉:实验室自制;

其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与amp;设备

激光粒度分析仪:S3500型,美国Microtrac公司;

离心机:5804R型,德国艾本德公司;

双光束紫外可见分光光度计:TU-1900型,北京普析通用仪器有限责任公司。

1.3 淀粉颗粒分级的原理

斯托克斯定律是指颗粒半径与其在静水中自由沉降速率的关系式。当直径 d 的球形颗粒在液体中发生沉降时,沉降速度为:

$$V_o = \sqrt{\frac{4d(\rho_w - \rho)g}{3\rho\delta}}, \quad (1)$$

式中:

V_o ——颗粒在静水中的初始速度, m/s;

d ——颗粒的等效粒径, m;

ρ_w ——颗粒密度, kg/m³;

ρ ——流体密度, kg/m³;

δ ——阻力系数;

g ——重力加速度, m/s²。

天然的淀粉颗粒具有冷水不可溶的特性。本研究颗粒的分级是利用粒径不同的淀粉颗粒在静水中自由沉降的速率不同而实现的。具体的分离过程:

称取 25 g 淀粉置于 1 L 的量筒中,加入蒸馏水(20 ℃)至 1 L 刻度线处,保鲜膜封口,剧烈晃动以保证所有淀粉颗粒均匀分散在蒸馏水中;静置一段时间后,用移液管吸取上端 500 mL 溶液,然后再将蒸馏水加至量筒 1 L 刻度线处,重复上述步骤直到上端 500 mL 溶液澄清。根据预试验结果,本研究共设置了 4 个静置时间段,分别为 50, 30, 10, 0 min, 将每次的淀粉悬浮离心, 40 ℃ 真空干燥 48 h, 保存备用。

1.4 淀粉颗粒酶解特性的测定

精确称量 0.10 g 淀粉置于 50 mL 锥形瓶中,加入 9 mL 醋酸-醋酸钠缓冲溶液(0.2 mol/L, pH=5.9), 40 ℃ 混匀保温 10 min 后加入 1 mL 酶液(150 U/mL), 40 ℃ 水浴振荡反应 1, 2, 4, 12, 24, 48 h。随后向其中加入 1 mL NaOH 溶液(4 g/100 mL)以灭酶活,离心(3 000×g, 5 min),上清液用于葡萄糖当量的测定。根据式(2)采用 DNS 法测定葡萄糖当量,以式(3)计算出淀粉颗粒的酶水解效率。

$$y = 0.387x - 0.003 \quad (R^2 = 0.997), \quad (2)$$

式中:

x ——葡萄糖浓度, mg/mL;

y ——吸光度。

$$\eta = \frac{c \times 0.9}{0.1 \times 1\,000}, \quad (3)$$

式中:

η ——酶解效率, %;

c ——葡萄糖当量, mg;

0.9——葡萄糖转化为淀粉的系数;

0.1——初始样品质量, g;

1 000——单位换算系数。

2 结果与讨论

2.1 淀粉颗粒的分级

根据斯托克斯定律可知,球形物体在流体中运动所受的阻力等于该球形物体的半径、速度、流体的黏度与 6π 的乘积。

天然的马铃薯淀粉颗粒虽有部分球形的但多是椭圆形的。试验设计过程中假设马铃薯淀粉颗粒为光滑的球形,沉降过程中颗粒间的相互作用忽略不计。此外,考虑到淀粉颗粒在冷水中的不可溶性,假定淀粉颗粒自沉降过程中主要是由水的阻力来影响沉降速率,而水的阻力是由水的黏度引起的。

表 1 中列出了分级后不同粒度马铃薯淀粉颗粒的平均比表面积。由表 1 可知,随着淀粉颗粒粒度的增加,其比表面积逐渐下降,即淀粉颗粒的大小与其比表面积呈负相关,这充分说明了沉降分离技术分离淀粉的有效性。

表 1 不同粒度淀粉颗粒的比表面积及得率

Table 1 The superficial area and yield of the potato starch granules with different sizes

样品号	颗粒等效粒径/ μm	比表面积/($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	得率/%
1#	17.39	0.23	6.34
2#	25.81	0.15	17.68
3#	38.77	0.10	39.47
4#	56.53	0.07	36.51
原淀粉	39.56	0.10	—

图 1 是淀粉级分的粒度分布图。由图 1 可知:原淀粉颗粒的等效粒径分布相对比较宽(10~100 μm),其中等效粒径为 31.11 μm 的淀粉颗粒占比为 15.07%,等效粒径为 37.00 μm 的淀粉颗粒占比为 18.47%,等效粒径为 44.00 μm 的淀粉颗粒占比为 17.35%,等效粒径为 52.32 μm 的淀粉颗粒占比为 12.45%。表 1 中列出了经过不同静置时间段的分级分离制备得到的 4 种不同粒度的淀粉颗粒的粒径以及各自得率。1# 样品的得率为 6.34%,其颗粒等效粒径主要分布在 13.08~22.00 μm ,其中等效粒径为 13.08 μm 的淀粉颗粒占比为 14.36%,等效粒径为 15.55 μm 的淀粉颗粒为 23.68%,等效粒径为 18.50 μm 的淀粉颗粒为 22.96%,等效粒径为 22.00 μm 的淀粉颗粒为 14.71%。2# 样品的得率为 17.68%,其等效粒径分布主要集中在 18.50~31.11 μm ,其中淀粉颗粒等效粒径为 18.50, 22.00, 26.16, 31.11 μm 所占的比例分别为 10.50%, 22.78%, 26.48%, 18.76%。相对于 1# 和 2# 样品而言,3# 和 4# 样品的得率远大于 1# 和 2# 样品的,其等效粒径的主要分布范围分别为 31.11~52.32 μm 和 44.00~73.99 μm 。

2.2 不同粒度淀粉颗粒的酶解特性

由图 2 可知:随着酶作用于底物时间的延长,马铃薯淀粉颗粒均表现出了水解率增大的趋势。就不同的粒度而言,在相同的酶解时间下,水解率增大的总体趋势是 4# < 3# < 2# < 1#,与表 1 中的淀粉粒径的大小呈负相关,即粒径越小,其酶解效率越高。可能与淀粉颗粒独特的酶水解反应机制有关^[10]。天然淀粉的酶水解反应发生在固-液界面,酶分子需要先扩散并吸附在底物上,然后才能催化糖苷键裂解^[10]。因此,酶扩散至淀粉颗粒表面并进入颗粒内部的过程便成为了酶水解的关键限速步骤。颗粒小的淀粉具有较

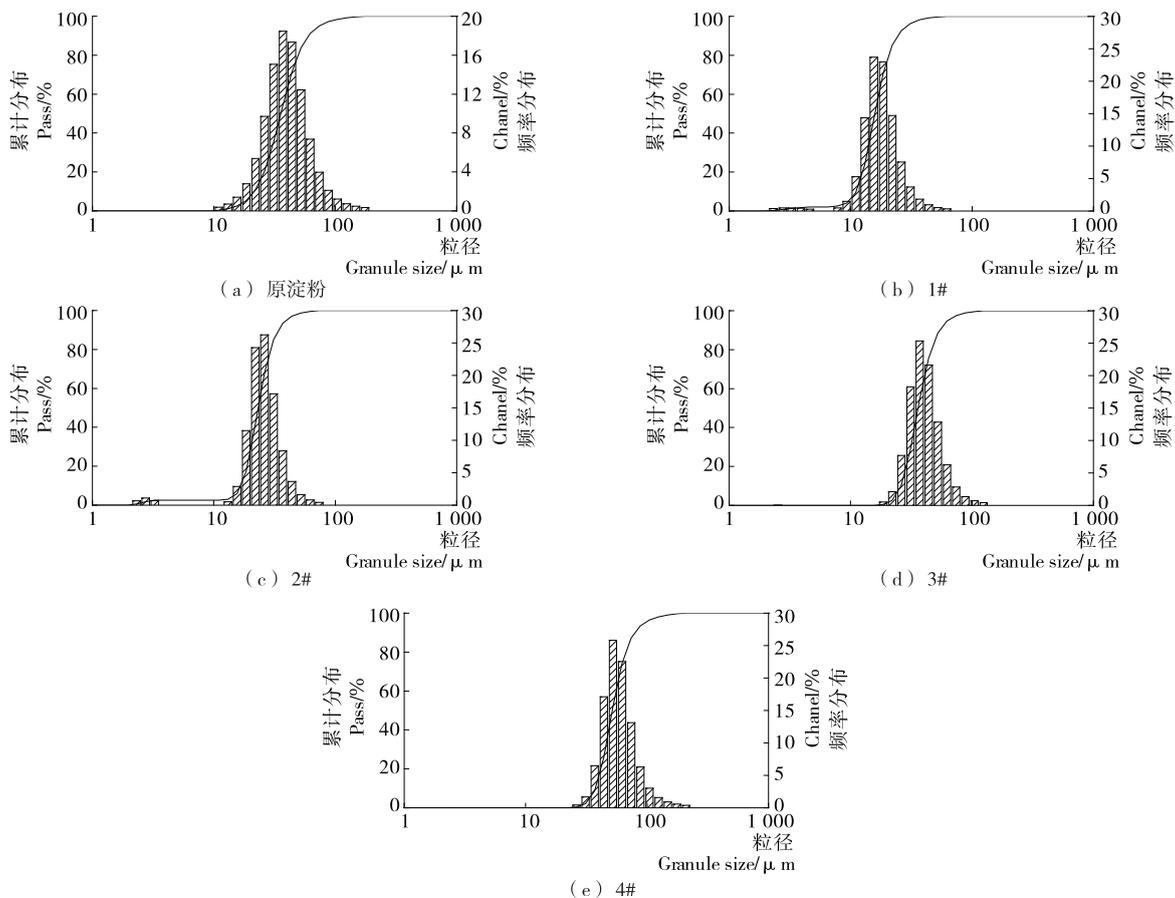


图 1 淀粉级分的粒度分布图

Figure 1 The size distribution of different starch granule fractions

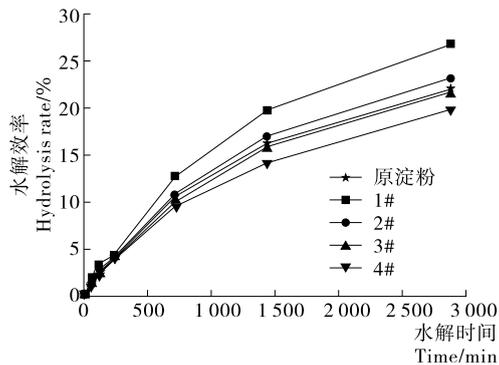


图 2 淀粉级分的酶解效率

Figure 2 The hydrolysis efficiency of fractionated starch granules

大的比表面积,这使得酶分子吸附在其颗粒表面的几率增大,从而促进小颗粒淀粉的水解^[11]。

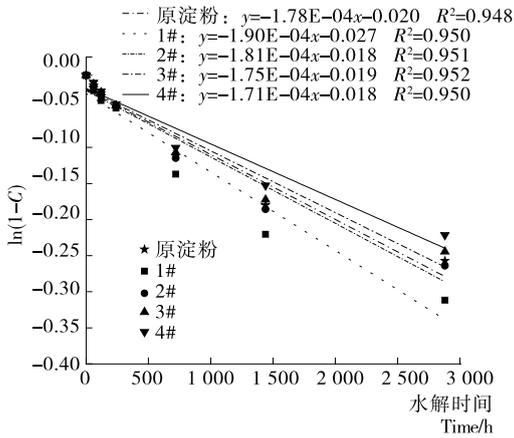
此外,图 2 中所有曲线的斜率均随着时间的增加而逐步减小。以 1# 样品为例,在酶解 1 h 的时间段内,曲线斜率为 $3.55 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$;在酶解 2 h 的时间段内,曲线斜率为 $2.88 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$;在酶解 4 h 的时间段内,曲线斜率为

$1.86 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$;在酶解 12 h 的时间段内,曲线斜率为 $1.78 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$;在酶解 24 h 的时间段内,曲线斜率为 $1.37 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$;在酶解 48 h 的时间段内,曲线斜率为 $9.30 \times 10^{-5} \text{ min}^{-1}$ 。说明酶解反应体系中的淀粉浓度越低,酶解反应速率便越小,即马铃薯淀粉的酶解反应速率与淀粉浓度的一次方呈负相关,符合一级反应的典型特征^[12],推测这一现象与淀粉颗粒自身独特的结晶区以及无定型区交替层状结构有关^[12-13]。淀粉颗粒是半晶体系,一般颗粒的结晶区比非结晶区要致密得多,所以其抗酶解能力也比非结晶区强得多,非结晶区比例较大的淀粉更容易酶解^[14]。结合以往的研究^[15]结果,推测在水解过程中淀粉颗粒的非结晶区优先被水解。

2.3 酶解动力学曲线

为了更好地理解粒度效应与酶水解特性之间的关系,图 3 建立了相关的一阶动力学曲线。其中, C 是经过水解时间 t (min) 后已消化的淀粉占总淀粉的百分比(%); $1-C$ 是水解时间 t 后未消化的淀粉占总淀粉的百分比(%); K 是消化速率系数, min^{-1} 。由图 3 可知,淀粉颗粒的粒径越小,其酶解一级动力学曲线斜率越小,表明它的消化速率系数 K 越大。

表 2 是不同粒度马铃薯淀粉的消化速率系数 K 。由表 2 可知,1# 样品的消化速率系数 K 较 2# 样品的增大了 4.97%,



1#、2#、3#、4# 分别对应马铃薯淀粉颗粒的平均等效粒径范围为 13.08~22.00, 18.50~31.11, 31.11~52.32, 44.00~73.99 μm

图3 淀粉级分的酶解一级动力学曲线

Figure 3 First-order kinetics of enzymolysis for fractionated starch granules

表2 不同粒度马铃薯淀粉的消化速率系数 K[†]

Table 2 The digestion rate coefficient K for different potato granule sizes min⁻¹

样品号	K
1#	1.90×10 ⁻⁴
2#	1.81×10 ⁻⁴
3#	1.75×10 ⁻⁴
4#	1.71×10 ⁻⁴
原淀粉	1.78×10 ⁻⁴

† 1#、2#、3#、4# 分别对应马铃薯淀粉颗粒的平均等效粒径范围为 13.08~22.00, 18.50~31.11, 31.11~52.32, 44.00~73.99 μm。

2# 样品的消化速率系数 K 较 3# 样品的增大了 3.43%, 3# 样品的消化速率系数 K 较 4# 样品的增大了 2.34%, 说明淀粉颗粒粒径与消化速率呈负相关性。

3 结论

本研究阐明了结构无破损马铃薯淀粉颗粒的粒度大小与其酶解特性的关联性, 证明小颗粒马铃薯淀粉可作为多孔淀粉的制备原料, 大颗粒马铃薯淀粉可作为抗消化类功能性淀粉原料。后续工作将针对小颗粒马铃薯淀粉吸油持水特性、大颗粒马铃薯淀粉的耐酶解特性进行深入研究。

参考文献

[1] 张根生, 孙静, 岳晓霞, 等. 马铃薯淀粉的物化性质研究[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 22-25.
 [2] NODA T, TAKIGAWA S, MATSUURA-ENDO C, et al. Physicochemical properties and amylopectin structures of large, small, and extremely small potato starch granules[J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 60(2): 245-251.

[3] AO Z, JANE J L. Characterization and modeling of the A- and B-granule starches of wheat, triticale, and barley[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 67(1): 46-55.
 [4] 李林静, 唐汉军, 李高阳, 等. 甘薯营养成分及淀粉理化特性研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 54-58.
 [5] TAO Han, WANG Pei, WU Feng-feng, et al. Particle size distribution of wheat starch granules in relation to baking properties of frozen dough [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 137: 147-153.
 [6] LIN Ling-shang, HUANG Jun, ZHAO Ling-xiao, et al. Effect of granule size on the properties of lotus rhizome C-type starch [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 134: 448-457.
 [7] 李晓文. 淀粉粒度对马铃薯淀粉糊流变特性的影响[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2008, 31(1): 78-81.
 [8] 吴俊, 谢守和. 玉米淀粉的粒度效应对其糊化行为影响研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(6): 51-54.
 [9] 吴俊, 李斌. 玉米淀粉的粒度效应与其微观形貌和性能关系研究[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(5): 23-26.
 [10] DHITAL S, SHRESTHA A K, GIDLEY M J. Relationship between granule size and in vitro digestibility of maize and potato starches [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82 (2): 480-488.
 [11] DE LA HERA E, GOMEZ M, ROSELL C M. Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98 (1): 421-427.
 [12] MAHASUKHONTHACHAT K, SOPADE P A, GIDLEY M J. Kinetics of starch digestion in sorghum as affected by particle size[J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(1): 18-28.
 [13] TESTER R F, KARKALAS J, QI Xin. Starch: composition, fine structure and architecture[J]. Journal of Cereal Science, 2004, 39(2): 151-165.
 [14] DHITAL S, WARREN F J, ZHANG Bin, et al. Amylase binding to starch granules under hydrolysing and non-hydrolysing conditions[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 113: 97-107.
 [15] 张雅媛, 游向荣, 洪雁, 等. 青香蕉全粉与淀粉理化性质及消化特性研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 50-53.