发芽对精白保胚米淀粉分子结构的影响

王发祥,张冬生,刘永乐*,李向红,俞健,周小玲,王建辉 (长沙理工大学化学与生物工程学院,湖南长沙 410114)

摘 要:目的:研究发芽对精白保胚米淀粉分子结构的影响。方法:采用扫描电子显微镜、高效液相色谱、X 射线衍射仪及傅里叶红外光谱(FT-IR)分析精白保胚发芽米淀粉颗粒的表面结构、相对分子质量分布、结晶度和特 征结构的变化。结果: 精白保胚米发芽之后淀粉颗粒表面结构变化不明显,但淀粉的相对分子质量、结晶度降 低;发芽后精白保胚米淀粉的红外透光率降低,O-H键、C-H键和C-O键的伸缩振动均增强。结论:发芽 过程中直链淀粉和支链淀粉降解,使精白保胚米淀粉分子结构发生明显变化。 关键词:精白保胚米;发芽;分子结构;结晶度;傅里叶红外光谱

Effect of Germination on Molecular Structure of Starch from Polished Rice with Germ

WANG Fa-xiang, ZHANG Dong-sheng, LIU Yong-le*, LI Xiang-hong, YU Jian, ZHOU Xiao-ling, WANG Jian-hui (College of Chemical and Biological Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410114, China)

Abstract : Objective: To explore the effect of germination on molecular structure of starch from polished rice with germ. Methods: Scanning electron microscope (SEM), high performance liquid chromatography (HPLC), X-ray diffractometer (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) were used to analyze the changes in surface structure, relative molecular weight distribution, crystallinity and characteristic structure of starch granules from germinated and non-germinated rice. Results: Compared with non-germinated rice, the surface microstructure of starch granules from germinated rice did not exhibited a significant change, but their molecular weight, crystallinity and IR transmittance revealed an obvious decrease, and the stretching vibration of O - H, C - H and C - O bonds was enhanced. Conclusion: During the germinated polished rice with germ. **Key words:** polished rice ; germ ; molecular structure ; crystallinity ; FT-IR 中图分类号 : TS231.3 文献标识码 : A 文章编号 : 1002-6630(2011)17-0045-04

大米中淀粉含量高达 80%(干基)以上,在所有已知的 谷物淀粉中,稻米淀粉颗粒最小,粒径约为2~10µm, 其形状多呈不规则的多角形,且棱角显著^[1]。大米中淀 粉的含量和分子结构直接关系到蒸煮特性米饭的品质。 淀粉精细结构的变化包括分子的大小、平均聚合度、平 均链数、平均链长度和链长分布等,都会影响淀粉颗 粒的理化性质^[2]。Jane 等^[3]发现支链淀粉的支链长度强烈 影响淀粉的糊化性能、凝胶强度。长支链淀粉和中等 大小的直链淀粉还是淀粉黏度的主要影响因素^[4]。

精白保胚米是去除了糙米的部分糠层而又保留了胚 芽的精白米,将其在一定温度、湿度下进行培养,待 发芽到一定程度时将其干燥,得到的产品就是精白保胚 发芽米。精白保胚米在发芽过程中所含的淀粉会吸水, 淀粉酶被激活,淀粉的含量和结构都会相应发生一定变 化,因此,其蒸煮特性和米饭的品质都会明显改善。 因此,本实验从分子水平上研究精白保胚米发芽前后淀 粉的分子结构变化,阐明发芽过程对其淀粉分子结构的 影响,为探寻精白保胚发芽米米饭品质增强的机理、倡 导推广使用精白保胚发芽米提供理论依据。

1 材料与方法

 1.1 材料与试剂 稻谷:东北粳稻(空育131),购自东北北大荒种 业;精白保胚米:稻谷以精白保胚米制米机加工制得。

葡聚糖标准品(T2000、T500、T300、T100、T70) 美国 Sigma 公司。

收稿日期:2010-11-29

基金项目:国家 "863" 计划重点项目(2008AA100801);湖南省科技厅科技支撑计划项目(2010NK3003) 作者简介:王发祥(1978—),男,博士,研究方向为食品生物技术。E-mail:wfaxiang@163.com *通信作者:刘永乐(1962—),男,教授,博士,研究方向为粮食深加工及食品生物技术。E-mail:lyle19@163.com © 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 仪器与设备

MLNP型精白保胚米制米机 湖南省湘粮机械制造 有限公司; JSM-6700F扫描电子显微镜 日本电子公 司; Agilent 1100 高效液相色谱 美国安捷伦公司; D8 discover X 射线衍射仪 德国布鲁克仪有限公司; Nicolet Nexus 470 傅里叶红外光谱仪 美国热电公司。

1.3 方法

1.3.1 精白保胚发芽米的制备

称一定质量的优质精白保胚米放于 5 倍体积的体积 分数 0.5% 次氯酸钠溶液浸泡消毒 5min,用 0.02mg/L 的 赤霉素溶液浸泡 16h,将浸泡好的精白保胚米 25 培养 24h,然后 45 干燥 8h,干燥后得到精白保胚发芽米。

1.3.2 淀粉的制备

大米经高速粉碎机研磨后称取一定质量的米粉在 0.05mol/L NaOH(固液比为 1:5)溶液中浸泡搅拌 2h,离心 去掉黄色上清液,再用蒸馏水水洗 2 次,然后 50 烘 干,将风干后的淀粉用 5 倍体积的正己烷搅拌脱脂 2h, 自然风干 24h,得到大米淀粉。

1.3.3 淀粉的表面结构变化

参考 Raeker 等^[5]方法,分别将发芽前后精白保胚米的淀粉均匀分布于玻片上,固定在载物台上,真空条 件下镀金处理后,置于扫描电子显微镜下观察淀粉颗粒 形貌的变化。

1.3.4 淀粉相对分子质量的测定

采用高效液相色谱分析,色谱条件如下:色谱 柱:Ultrahydrogel Linear Column(7.8mm × 300mm);流 动相:0.1mol/L NaNO3;柱温:45 ;流速: 0.9mL/min;进样量:10µL;2410示差折光检测器和 M32工作站。

样品处理:将已脱脂的淀粉样品进行水洗、除砂 和醇洗纯化处理,用10mL90%的二甲基亚砜(DMSO)溶 液在60 的水中溶解20~50µg的淀粉样品,30min后 得到澄清透明的溶液,然后3000r/min离心20min,取 上层清夜过0.45µm的滤膜,再取10µL的滤液进行测 定,以葡聚糖标准品为标样,经相同方式处理得到相 关系数 R^2 =0.9983的工作曲线方程: lgM_r =11.5 - 0.359t (M_r 为相对分子质量,t为保留时间)。

1.3.5 淀粉的 FT-IR 分析

采用 KBr 制样法^[6]。分辨率为 4cm⁻¹,扫描累加 32 次,扫描光谱范围 500~4000cm⁻¹,利用 Omnic 6.2 软件 叠加 FT-IR 图谱。

1.3.6 淀粉的 X 射线衍射分析

采用 D8 型 X 射线衍射仪,参照 Fuiita 等^[7]的方法。 其测试条件为: CuK 辐射,电压 40kV,电流 250mA, 衍射角度 2 =3 °~ 50 °, 扫描速度 3 %min。实验结果按照 Cheetham 等^[8]的方法,采用 Jade5.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 发芽对淀粉颗粒表面结构的影响





A.精白保胚米;B.精白保胚发芽米。 图 1 两种淀粉颗粒的扫描电镜图 Fig. 1 Scanning electron microscopic images of two kinds of starch

淀粉分子是一种颗粒状的形态,粒径约为3~8μm。 由图1可见,发芽前和发芽后的精白保胚米淀粉颗粒均 呈不规则的多角形,棱角明显。两种淀粉的表面显微 形态相似,没有明显不同,说明其表面结构在发芽过 程中没有被破坏,可见发芽是一种温和的物理改性的过 程,不会影响淀粉分子的表面结构。

2.2 发芽对精白保胚米淀粉相对分子质量的影响

精白保胚米淀粉是由支链淀粉(amylopection, Ap)、中间级分(intermediate,Im)和直链淀粉(amylose, Am)3 个级分组成^[3],由图 2 可知,发芽后精白保胚米 淀粉 3 种级分的相对分子质量均明显减少,说明淀粉分 子在发芽过程中会发生一定程度的降解,造成相对分子 质量变小。可能是因为支链淀粉在脱支酶的作用下被脱 支,而部分脱支的片段成为中间级分和直链淀粉,使支 链淀粉的相对分子质量降低;另外,部分直链淀粉分子 和中间级分也会被 - 淀粉酶等降解为更小的片段。





2.3 淀粉分子的傅里叶红外光谱分析



由图 3 可知,在特征光谱区域内,波数 3405 cm⁻¹ 处 有一较大吸收峰,是由 O - H 的伸缩振动产生的;在波 数 2927 cm⁻¹ 附近的吸收峰是由 C - H 伸缩振动产生;波 数 1641、1155、1080 cm⁻¹和 1021 cm⁻¹ 处的强烈吸收峰是 C - O 伸缩振动产生的^[9-10]。可以看出精白保胚发芽米淀 粉和精白保胚米淀粉的的 FT-IR 图谱十分相似,说明两 种淀粉具有相同的基本结构和性质,只是发芽后精白保 胚米淀粉的透光率降低,O - H 键、C - H 键和C - O 键 的伸缩振动增强。

2.4 发芽对淀粉分子结晶度的影响

淀粉颗粒是由支链淀粉分子以疏密相间的结晶区与 无定形非结晶区组合而成,中间掺杂以螺旋结构存在的 直链淀粉分子^[11],其颗粒的 X 射线衍射图形可归纳成 A 型、B 型、C 型^[12-13]。由图 4 可见,两种淀粉的 X 射 线衍射图形相似均属 A 型。结晶度是指淀粉粒内部半结 晶区的大小,两种淀粉的X射线衍射图谱表明发芽后半结晶区减小,精白保胚米发芽后淀粉的结晶度(24.30%) 比发芽前(30.07%)有所降低,可能是因为发芽过程中脱 支酶被激活,使支链淀粉分子上的长链变短,从而导 致淀粉结晶度的降低。



3 讨论

发芽米是由保胚米在一定条件下发芽获得,其营养 价值较发芽前大大提高,特别是富含 - 氨基丁酸 (GABA)和肌醇六磷酸(IP-6)等,具有多种保健功能,因 而是当前的一个研究热点。传统的发芽米都是由糙米 发芽制得,虽然营养价值很高,但由于保留胚芽的同 时也保留了米糠层,因而风味不佳,不受市场欢迎。 本课题组经过多年研究,发明了精白保胚米制米机 组,并开发了精白保胚发芽米,不仅提高了精白米的 营养价值,还使其米饭的蒸煮特性和品质明显改善, 而米饭品质的提升与淀粉分子理化性质和分子结构的变 化有关。

精白保胚米淀粉是由支链淀粉、中间级分和直链淀 粉组成^[3],发芽后3个级分的相对分子质量均明显减少; Demiate等^[14]研究发现几种来源不同的木薯淀粉因为其主 要的组成部件(直链淀粉和支链淀粉)相同,所以吸收峰 的位置相同,本研究中,两种淀粉分子的FT-IR 图谱十 分相似,说明它们具有相同的基本结构和性质;Noda 等^[15]研究发现支链淀粉是半结晶区的骨架,支链淀粉分 子上短链分支的增多将阻碍半结晶区分子的有序排列, Teli等^[16]认为玉米发芽后存在于游离水中的酶被激活使得 淀粉的结晶度降低和淀粉分子的降解。在本研究中,通 过 X 射线衍射图谱计算,发芽后精白保胚米淀粉的结晶 度降低,这与 Noda 和 Teli 研究结果一致。

总之,精白保胚米发芽之后其淀粉颗粒的表面结构、基本性质与发芽前相比变化不明显,但淀粉的相对分子质量降低、结晶度及红外光谱透光率都明显降低,O-H键、C-H键和C-O键的伸缩振动增强。 这些结果为阐明精白保胚发芽米发芽过程中的淀粉分子的微观变化及其发芽前后淀粉的理化性质变化提供了生物学证据。

参考文献:

- WHISTLER R L, PASCHALL E F. Starch: chemistry and technology [M]. New York: Academic Press, 1967.
- [2] THITIPRAHUNKUL K, UTTAPAPA D, PIYACHOMKWAN K, et al. A comparative study of edible canna (*Canna edulis*) starch from different cultivars.part II. molecular structure of amylose and amylopectin[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 54(4): 489-498.
- [3] JANE J, CHEN J F. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch[J]. Cereal Chemistry, 1992, 69: 60-65.
- [4] SUZUKI A, HIZUKURI S, TAKEDA Y. Physicochemical studies of kuzu starch[J]. Cereal Chemistry, 1981, 58: 286-290.
- [5] RAEKER M D, GAINES C S, FINNEY P L, et al. Granules size distribution and chemical composition of starches from 12 soft wheat cultivars[J]. Cereal Chem, 1998, 5: 721-728.

- [6] HARRICK N. Internal reflection spectroscopy[M]. New York: Harrick Scientific Corporation, 1979.
- [7] FUJITA S, YAMAMOTO H, SUGIMOTOY. Thermal and crystalline properties of waxy wheat (*Triticum aestivum* L.)starch[J]. Cereal Scince, 1998, 27: 1-5.
- [8] CHEETHAM N W H, TAO Leping. Variation in crystalline type with amlose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study[J]. Carbohydr Polym,1998, 36: 277-284.
- [9] 林红辉,郑为完. 辛烯基琥珀酸淀粉酯的合成及应用研究[J]. 食品 科学, 2008, 29(8): 314-317.
- [10] 缪铭, 江波, 张涛. Kabuli 和 Desi 品种鹰嘴豆淀粉结构及功能性质[J]. 吉林大学学报, 2008, 38(6): 1495-1500.
- [11] 闫清平,朱永义.大米淀粉、蛋白质与其食用品质关系[J]. 粮食与 油脂,2001(5): 29-31.
- [12] BULEON A, COLONNA P, PLANCHOT V, et al. Starch granules: structure and biosynthesis[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1998, 23: 85-112.
- [13] 赵思明, 熊善柏, 张声华. 不同类型稻米淀粉的理化特性[J]. 中国粮 油学报, 2002, 17(6): 39-43.
- [14] DEMIATE I M, DUPUY N, HUYENNE J P, et al. Relationship between baking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy[J]. Carbohydrate Polymers, 2000, 42: 149-158.
- [15] NODA T, TAKAHATA Y, NAGATA T. Developmental changes in properties of sweet potato starches[J]. Starch - Stärke, 1992, 44(11): 405-409.
- [16] TELI M D, ROHERA P, SHERKH J, et al. Application of germinated maize starch in textile printing[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 75(4): 599-603.