

糯小麦淀粉形态及内部结构的研究

陈佩,张 晓,赵 冰,肖 南,李远志
(华南农业大学 食品学院,广东广州 510642)

摘 要:利用偏光显微镜、扫描电镜和 X 射线衍射仪和激光共聚焦显微镜对糯小麦淀粉和普通小麦淀粉的颗粒形貌、结晶性质和内部结构进行了对比研究和分析。结果表明:糯小麦淀粉和普通小麦在颗粒形貌、颗粒大小分布、结晶结构和内部结构方面具有相似的性质。与普通小麦淀粉相比,糯小麦淀粉颗粒表面不平滑,存在较多凹坑,且能够观察到明显的微孔;两种小麦淀粉 A 型颗粒直径基本相同,但糯小麦淀粉 B 型颗粒直径小于普通小麦淀粉;糯小麦淀粉和普通小麦淀粉均呈现典型的 A 型结晶特征,但糯小麦淀粉的相对结晶度高于普通小麦淀粉;两种淀粉均呈现生长环结构,直链淀粉主要集中在颗粒中心部位。

关键词:糯小麦淀粉,形态,内部结构

Morphological features and internal structure of waxy wheat starch

CHEN Pei,ZHANG Xiao,ZHAO Bing,XIAO Nan,LI Yuan-zhi

(College of Food Science,South China Agricultural University,Guangzhou 510642,China)

Abstract: Morphological features, crystalline properties and internal structure of waxy wheat starch were compared with those of normal wheat starch using polarization microscope, scanning electron microscopy (SEM), X ray diffraction (XRD) and confocal laser scanning microscope (CLSM). The morphologies, granule populations, crystalline properties and internal structure were found to be similar with the two starches. However, the surface of waxy wheat starch granules was not smooth, more holes were observed on the surface. A-type starch granules were basically the same, however, waxy wheat starch contained a smaller proportion of B-type granules. XRD results shows that both starches exhibit A type crystalline structure and waxy wheat starch had higher degree of crystallinity than normal wheat starch. Growth ring structures can be clearly identified by CLSM and amylose mainly concentrated in particles near the center.

Key words: waxy wheat starch; morphological features; internal structure

中图分类号: TS231

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)01-0070-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.01.006

淀粉是小麦籽粒的重要组成部分,约占小麦籽粒的 60%~70%。淀粉分为直链淀粉和支链淀粉,普通小麦淀粉由 20%~30% 的直链淀粉和 70%~80% 的支链淀粉组成。糯小麦则是籽粒中淀粉不含直链淀粉或直链淀粉含量很低的小麦品种。至今,在普通小麦中尚未发现天然糯性突变体,主要原因可能是普通小麦为异源六倍体,具有三个染色体组,只有当三对与直链淀粉合成有关的基因(W_x-A1 、 W_x-B1 、 W_x-D1)同时缺失时,才表现为糯性胚乳^[1]。日本、澳大利亚等国自 20 世纪 90 年代初期就对糯小麦开展了研究,包括糯小麦资源鉴定、遗传育种、加工品质评价、分子标记等^[2]。而我们国家在 20 世纪 90 年代后期才开展对糯小麦的研究,但已在糯小麦育种和品质评价、糯小麦基因资源的筛选和鉴定和蜡质基因的遗传等方面取得了可喜进展^[3]。与普通小

麦相比,糯小麦几乎不含直链淀粉的特性使其在糊化、膨胀、凝胶、结晶等方面均具有独特的物理和化学特性^[4],故而在淀粉加工业、食品工业以及其他工业上有着重要的用途。我国有关糯小麦淀粉的研究主要集中在物理特性、深加工及食品加工品质应用上,而有关糯小麦淀粉形貌及内部结构的研究却很少。本研究采用水洗和离心相结合的工艺提取糯小麦淀粉,对比研究糯小麦淀粉与普通小麦淀粉在形貌结构及内部结构上的差异,为糯小麦淀粉的工业化生产提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

糯质小麦面粉 江苏楚龙面粉厂;普通小麦面粉 市售。

JA2003A 电子分析天平 上海精科天平公司; DHG-9053BS 电热恒温鼓风干燥箱 上海新苗医疗器械制造有限公司; TDL-5A 台式离心机 常州市凯航仪器有限公司; Axioskop 40 Pol/40 A Pol 型偏光显微镜 德国 ZEISS 公司; Phillips XL-30 FEGSEM 扫描电镜 美国 Phillips 公司; XRD-6000 粉末 X 射线

收稿日期:2014-03-27

作者简介:陈佩(1983-),女,博士,讲师,主要从事农产品加工方向的研究。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31101340)。

衍射仪 日本岛津公司;激光共聚焦显微镜 德国 Leica 公司,使用镜头为 100 xPlan apo/1.4 oil,气体激光器 Ar/Kr 激光发射波长为 488nm。

1.2 淀粉提取

称取约 50g 小麦面粉,边搅拌边加入适量蒸馏水,调制成面团。静置 20min 后,加入 500mL 的蒸馏水,用手反复洗搓,将洗好的面筋置于 50mL 清水中反复揉洗,重复 3~4 次,直至洗出水用碘液测试不变色。将所有的淀粉浆经过 100 目筛过滤,然后以 3000r/min 转速离心分离。提取分离液的下层,刮除表面黄色物质,取出下层白色淀粉,40℃ 烘干,粉碎过 100 目筛,即得小麦淀粉样品。

1.3 直链淀粉含量测量

参照国标《直链淀粉含量测定方法》(GB7648287)对上述试制样品直链淀粉含量测量。测得糯小麦淀粉直链淀粉含量为 2.6%;普通小麦淀粉直链淀粉含量为 27%。

1.4 偏光显微镜观测颗粒形态

配制 5% 淀粉乳置于载玻片上,分别在普通光和偏光条件下观察淀粉颗粒形态。

1.5 颗粒粒径分布分析

淀粉颗粒的直径通过 Gun 图像处理程序进行计算。把淀粉颗粒看作球形,测量其最长轴的直径。每一个样品计算至少 500 个颗粒的直径将直径范围归类并计算其平均值。

1.6 扫描电镜观测颗粒形态

将粉状样品均匀固定于样品台上,喷金镀膜,置于扫描电镜下全方位观测。

1.7 结晶度测定

采用连续扫描法,扫描速率为 4°/min,步长为 0.1,管压管流分别为 30kV 和 30mA,靶电极为 Cu。采用 Origin7.0 软件进行分析。

相对结晶度(%) = $I_c / (I_a + I_c) \times 100$,其中 I_a 是 X 射线衍射图谱中非结晶区的面积, I_c 是结晶区的面积。

1.8 激光共聚焦显微镜观测内部结构

染色步骤部分修改自 Blennow^[5]等。取 2mg 玉米淀粉与新鲜配制的 3μL 10mmol/L APTS(醋酸为溶剂)及 3μL 1mol/L 氰基硼氢化钠混合,于 30℃ 下反应 15h,接着以 1mL 溶剂清洗五次,再将淀粉颗粒悬浮于 20μL 50% 甘油、水混合液中。取一滴淀粉悬浮液于载玻片上,盖上盖玻片后观察。

2 结果与分析

2.1 淀粉的颗粒形态及偏光十字

图 1 为由显微镜观察到的在同一视野的普通光和偏振光下糯小麦和普通小麦淀粉颗粒的照片。由图中可以看出,糯小麦和普通小麦淀粉颗粒均呈现双模型结构,即颗粒较大的 A 型与颗粒较小的 B 型。A 型淀粉颗粒主要为椭圆形和圆形,B 型淀粉形状较为多样,有多角形、椭圆形、圆形等,也有些是 A 型淀粉破碎的部分。B 型淀粉颗粒的数量明显多于 A 型。直链淀粉含量较高的普通小麦淀粉颗粒比糯小

麦淀粉颗粒稍大,且更接近圆形,颗粒边缘破碎较少。

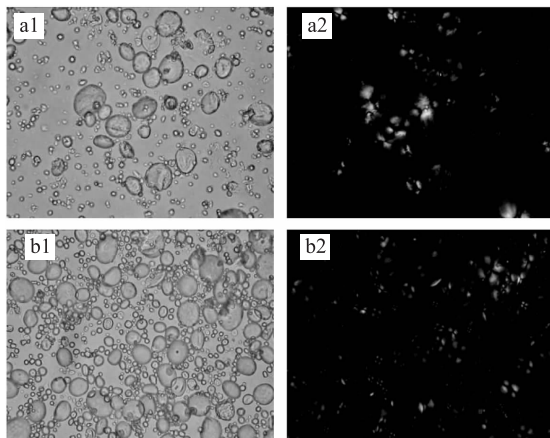


图 1 糯小麦(a1,a2)和普通小麦(b1,b2)淀粉的显微镜照片

Fig.1 Granular structure of waxy(a1,a2)

and normal wheat starch(b1,b2) observed by microscope

注:a1 和 b1 为普通光下照片,a2 和 b2 为偏正光下照片。

偏光十字是考察淀粉颗粒结晶结构完整性较为直观的方法,由图 1 偏光显微镜照片可以看出,糯小麦和普通小麦淀粉颗粒的偏光十字均较为完整,且交叉点基本在淀粉颗粒中央,但偏光十字的亮度有一定差异,糯小麦淀粉的偏光十字比普通小麦淀粉亮,且糯小麦淀粉 A 型颗粒中存在较多偏光十字亮度很强的颗粒,普通小麦淀粉颗粒的偏光十字亮度则较均匀。

图 2 所示为糯小麦和普通小麦淀粉颗粒的扫描电镜图片,可以更加清晰地观察到淀粉颗粒的表面结构和立体形态。可以观察到两种小麦淀粉颗粒的立体形态相似:A 型颗粒主要呈现碟形或两面凹陷的透镜形状,颗粒直径分布在 10~35μm;B 型淀粉颗粒主要为球形、椭球形或不规则、有角的形状,颗粒直径大多在 10μm 以下。B 型淀粉颗粒被损坏的较多,而 A 型颗粒则较完整。两种小麦淀粉颗粒的表面结构形态存在较大差异:糯小麦淀粉颗粒表面不平滑,存在较多凹坑,且能够观察到明显的微孔;普通小麦淀粉颗粒表面较平滑,有少量较小的凹坑,没有观察到微孔的存在。糯小麦和普通小麦淀粉颗粒表面均能观察到较普遍存在的“赤道槽”^[6]。

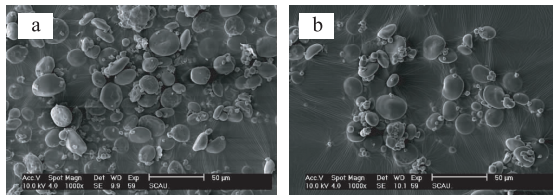


图 2 糯小麦(a)和普通小麦(b)淀粉的扫描电镜图片

Fig.2 Granular structure of waxy(a) and normal wheat starch(b) observed by SEM

2.2 淀粉颗粒大小及粒径分布

图 3 是糯小麦淀粉和普通小麦淀粉颗粒直径分布图,横坐标为颗粒直径,纵坐标为颗粒数百分比。糯小麦和普通小麦淀粉颗粒直径均呈现“双峰型”分

布,两个峰值分别在颗粒直径 $7\mu\text{m}$ 和 $16\mu\text{m}$ 处,这与小麦淀粉颗粒的双模型结构相符合。对两种小麦淀粉颗粒直径及颗粒分布情况进行统计分析,得出两种淀粉颗粒的平均粒径约为:糯小麦淀粉 A 型颗粒为 $19.0\mu\text{m}$,B 型颗粒为 $6.0\mu\text{m}$;普通小麦淀粉 A 型颗粒平均直径为 $19.0\mu\text{m}$,B 型颗粒为 $7.6\mu\text{m}$ 。可知两种小麦淀粉 A 型颗粒直径基本相同,但糯小麦淀粉 B 型颗粒直径小于普通小麦淀粉。

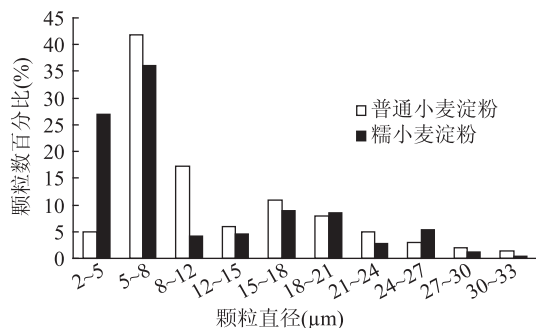


图3 糯小麦和普通小麦淀粉颗粒直径分布图

Fig.3 Average particle size and

size distribution(number) of different starches

2.3 淀粉的结晶结构及结晶度

图4为糯小麦和普通小麦淀粉的X射线衍射图谱。两种淀粉均呈现典型的A型结晶特征,在 2θ 角为 15° , 17° 和 23° 呈现较强的衍射峰。在 2θ 角为 20° 左右可观察到一个较弱的峰,Zobel等人^[7]的研究表明,这可能是由于直链淀粉-脂质复合物的存在而产生的。此峰在普通小麦淀粉的衍射图谱中较强,在糯小麦淀粉的衍射图谱中则较弱,原因可能是普通小麦淀粉中直链淀粉含量较高,可与较多脂质发生复合,产生较强的衍射峰;糯小麦淀粉中直链淀粉含量较低,形成的直链淀粉-脂质复合物较少,因此衍射峰也较弱。从两种淀粉的X射线衍射图谱中可看出,糯小麦淀粉比普通小麦淀粉的衍射峰强度高,表明糯小麦淀粉的结晶结构更强。对两种小麦淀粉的X射线衍射图谱分别进行积分计算,可知糯小麦淀粉的相对结晶度为22.35%,普通小麦淀粉的相对结晶度为19.64%。Hung^[8]等人研究了不同直链淀粉含量小麦淀粉的相对结晶度,结果表明直链淀粉含量越高,相对结晶度越低,这与本论文的研究结果相一致。图1中糯小麦淀粉的偏光十字亮度比普通小麦淀粉强,原因可能也是由于糯小麦淀粉的结晶结构较强。

2.4 淀粉颗粒的内部结构

在淀粉形态研究中,淀粉颗粒的内部结构是重要的未知内容,获得淀粉颗粒内部结构图像,一直是淀粉科学的研究重点。激光共聚焦显微镜(CLSM)是观察淀粉内部结构最有效的工具之一^[5]。激光共聚焦显微镜可以通过“光学切片”对被观测样品进行不同层面的连续逐层扫描,来获得各个层面的图像,而不需要进行物理切片的工作,这既简化了样品的前处理步骤,也避免了物理切片对样品内部结构造成破坏^[9]。激光共聚焦显微镜扫描的每个层面之间

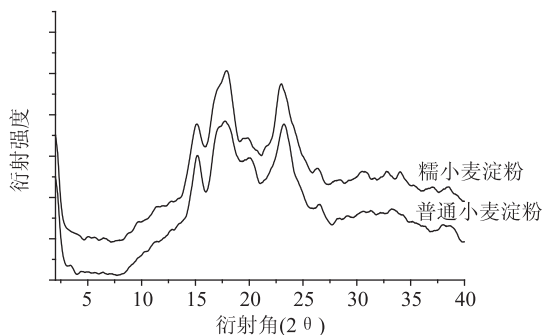


图4 糯小麦和普通小麦淀粉的X射线衍射图谱

Fig.4 WAXS patterns of waxy and normal wheat starch

的距离可以达到 $0.1\mu\text{m}$ 甚至更小,因此常用来观察淀粉颗粒的生长环、通道、孔洞和直链淀粉分布情况等内部结构^[10]。利用激光共聚焦显微镜观察样品时,被观察的样品必须有荧光现象。淀粉颗粒没有自发荧光,所以需要用合适的荧光染色剂进行染色。本实验采用荧光标记物8-氨基苊基-1,3,6-三磺酸(APTS)对淀粉颗粒进行染色。APTS是小分子染色剂,可以有效地标记淀粉颗粒的还原末端,使淀粉颗粒在488nm激发光下产生荧光现象。

图5所示为糯小麦和普通小麦淀粉的激光共聚焦扫描层图。可以观察到大多数糯小麦淀粉颗粒的荧光强度较暗,而普通小麦淀粉颗粒的荧光强度较强,这是由于染色剂APTS是与淀粉链的还原性末端结合,同等重量下,直链淀粉含有较多的还原末端,可以与较多的APTS结合,因此显示较强的荧光强度^[5]。糯小麦淀粉几乎不含有直链淀粉,而普通小麦淀粉的直链淀粉含量较高,因此普通小麦淀粉的荧光强度较强。同时可以看到两种小麦淀粉颗粒的中心部位荧光强度均明显高于其他区域,较强的荧光强度表明直链淀粉在此处的分布较多。糯小麦淀粉颗粒只有中心部位荧光较强,其他区域荧光较弱,表明糯小麦淀粉颗粒中的直链淀粉主要集中在颗粒中心部位。

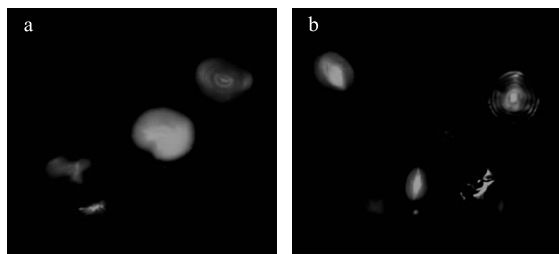


图5 糯小麦(a)和普通小麦(b)淀粉的CLSM扫描层图

Fig.5 CLSM optical sections of waxy (a)

and normal wheat (b) starch

在淀粉颗粒外层可看到明暗交替的环状结构,各个环层共同围绕着脐点,这种轮纹结构就是淀粉颗粒的生长环,是结晶层和无定形层的交替形成的。图5的CLSM扫描层图中可以清晰得观察到普通小麦淀粉颗粒中的生长环呈现明显的明暗交替结构,而糯小麦淀粉颗粒的生长环结构不明显。原因是淀粉颗粒中的结晶区主要成分为支链淀粉,而直链淀粉则主要形成无定型区域,因此直链淀粉含量较高

(下转第76页)

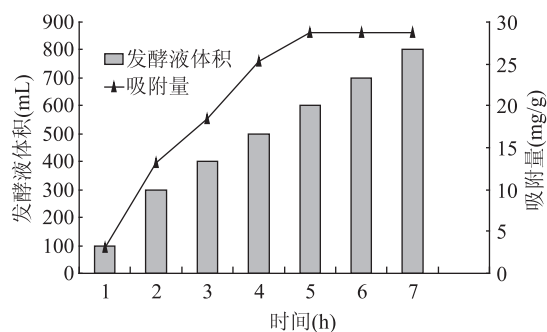


图5 HD-2树脂的最大吸附量测定结果

Fig.5 The maximum adsorption capacity of ϵ -poly-L-lysine on HD-2 resin

L-赖氨酸的方法。筛选出了弱酸型 HD-2 阳离子交换树脂,其最大吸附量可达到 28.8mg/g。

参考文献

- [1] 牟丹,钱海峰,谭志刚,等.利用超滤技术及离子交换法制备高纯度植酸的研究[J].食品工业科技,2014,35(5):225-228.
- [2] Yoshimitsu H. Occurrence, biosynthesis, biodegradation, and industrial and medical applications of a naturally occurring ϵ -poly-L-lysine [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2011, 75(7):1226-1233.
- [3] Shima S, Sakai H. Poly-L-lysine Produced By Streptomyces [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1977, 41(9):1907-1909.
- [4] Shima S, Heiichi S. Poly-L-lysine Produced By Streptomyces

(上接第72页)

的普通小麦淀粉在染色后能够更加清晰的观察到结晶区和无定形区的交替情况。

3 结论

糯小麦淀粉和普通小麦在颗粒形貌,颗粒大小分布,结晶结构和内部结构方面有相似的性质。与普通小麦淀粉相比,糯小麦淀粉颗粒表面不平滑,存在较多凹坑,且能够观察到明显的微孔;糯小麦和普通小麦淀粉颗粒均呈现双模型结构,两种小麦淀粉A型颗粒直径基本相同,但糯小麦淀粉B型颗粒直径小于普通小麦淀粉;糯小麦淀粉和普通小麦淀粉呈现典型的A型结晶特征,糯小麦淀粉的相对结晶度高于普通小麦淀粉;激光共聚焦显微镜结果表明两种小麦淀粉颗粒的中心部位荧光强度均明显高于其他区域,较强的荧光强度表明直链淀粉在此处分布较多。糯小麦淀粉颗粒只有中心部位荧光较强,其他区域荧光较弱,表明糯小麦淀粉颗粒中的直链淀粉主要集中在颗粒中心部位,两种淀粉均呈现生长环结构。

参考文献

- [1] Nakamura T, Yamamori M, Hirano H, et al. Production of waxy (amylose-free) wheats [J]. Molecular and General Genetics, 1995, 248(3):253-259.
- [2] Yamamori M, Nakamura T, Endo TR, et al. Waxy protein deficiency and chromosomal location of coding genes in common wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1994, 89(2-3):

Part III. Chemical Studies [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1981, 45(11):2503-2508.

[5] 黄莉,唐仁勇,张佳敏,等.多聚赖氨酸产生菌的筛选及16SrDNA测序鉴定[J].食品工业科技,2013,34(17):163-167.

[6] 黄静敏,吴清平,刘盛荣,等. ϵ -聚赖氨酸产生菌新菌株的筛选和产物结构鉴定[J].微生物学通报,2011,38(6):871-877.

[7] 杨博,郭丽琼,郑冰昕,等. ϵ -聚赖氨酸产生菌的鉴定及产物特性研究[J].中国食品学报,2011,11(6):163-169.

[8] 刘延岭,周昌豹,李峰,等. ϵ -聚L-赖氨酸生产菌株的选育[J].四川食品与发酵,2008,4(2):47-49.

[9] 刘洁萍.从发酵液中提取生物防腐剂 ϵ -聚赖氨酸的初步研究[D].天津:天津科技大学,2004.

[10] 艾婷婷.发酵液中 ϵ -聚赖氨酸提取工艺的初步研究[D].无锡:江南大学,2013.

[11] 宗红,詹耀,吴翔,等.微生物发酵液中 ϵ -聚赖氨酸的分离提纯[J].食品科学,2011,32(1):131-134.

[12] 张海涛,李燕,欧杰,等.从发酵液中分离 ϵ -聚赖氨酸的树脂筛选[J].化学研究与应用,2008,20(1):108-112.

[13] Itzhaki R F. Colorimetric Method for Estimating Polylysine and Polyarginine [J]. Analytical Biochemistry, 1972, 50:569-574.

[14] Toru Takagishi I, Toshihiko Ueno I, Nobuhiko Kuroki I, et al. Interaction of α -poly-L-lysine and ϵ -poly-L-lysine with methyl orange and its homologs in aqueous solution: Results from dialysis and spectroscopic measurements [J]. Journal of Polymer Science, Polymer Chemistry Edition, 1984, 22(6):1281-1289.

179-184.

[3] Waduge RN, Xu S, Bertoft E, et al. Exploring the surface morphology of developing wheat starch granules by using Atomic Force Microscopy [J]. Starch-Starke, 2013, 65(5-6):398-409.

[4] Fujita S, Kumagai T, Yanagimachi M, et al. Waxy wheat as a functional food for human consumption [J]. Journal of Cereal Science, 2012, 55(3):361-365.

[5] Blennow A, Hansen M, Schulz A, et al. The molecular deposition of transgenically modified starch in the starch granule as imaged by functional microscopy [J]. Journal of Structural Biology, 2003, 143(3):229-241.

[6] 朱帆,徐广文,姚历,等.小麦淀粉颗粒的微观结构研究[J].食品科学,2008(5):93-96.

[7] Zobel HF, Illinois A. Starch Crystal Transformations and Their Industrial Importance [J]. Starch-Starke, 1988, 40:1-7.

[8] Chung Y-L, Lai H-M. Molecular and granular characteristics of corn starch modified by HCl-methanol at different temperatures [J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 63(4):527-534.

[9] Boren M, Glaring MA, Ghebremedhin H, et al. Molecular and physicochemical characterization of the high-amylose barley mutant Amol [J]. Journal of Cereal Science, 2008, 47(1):79-89.

[10] Chen P, Yu L, Simon G, et al. Morphologies and microstructures of cornstarches with different amylose-amylopectin ratios studied by confocal laser scanning microscope [J]. Journal of Cereal Science, 2009, 50(2):241-247.