

DSC 分析方法在淀粉凝胶化研究中的应用

孙秀萍 于九皋* 刘延奇

(天津大学理学院化学系 天津 300072)

摘 要 综述了近年来 DSC 技术在淀粉热力学性质特别是淀粉凝胶化性质研究中的重要贡献及与凝胶化相关的一些问题。分别介绍了直链淀粉含量、盐的种类和浓度及体系湿含量对淀粉凝胶化性质的影响, 阐述了淀粉凝胶化作用机制, 并对利用 DSC 曲线预测淀粉、淀粉—水体系结构特性的方法进行了探讨。

关键词 DSC 淀粉 凝胶化 直链淀粉

Application of Differential Scanning Calorimetry in Study of Starch Gelatinization

Sun Xiuping, Yu Jiugao*, Liu Yanqi

(School of Science, Tianjin University, Tianjin 300072)

Abstract The applications of differential scanning calorimetry(DSC) technology in the study of starch thermodynamic properties, especially starch gelatinization, and the relevant problems are reviewed. The study of starch gelatinization and the effects of amylose content, salt, salt concentration and water content on the starch gelatinization are introduced respectively. Several starch gelatinization mechanisms are described. The methods by means of DSC curves for predicting the structures of starch and starch-water systems are discussed.

Key words Differential scanning calorimetry (DSC), Starch, Gelatinization, Amylose

近 20 年来, DSC 分析方法作为一种简单而有效的测试手段已成为研究淀粉结构和性质的最普遍技术之一, 特别是应用于热力学性质的测定。另外, 与其它的物理和物理化学方法结合运用是分析淀粉、淀粉混合物体系的熔融性质和预测结构所必需的, 且对于更好理解高直链淀粉络合物的结晶形成^[1]和天然植物的生长过程也是很有益的。

本文介绍了近年来 DSC 技术在淀粉研究中的应用, 重点讨论了其在淀粉凝胶化性质研究中的重要作用及与凝胶化相关的一些问题。

所谓淀粉的凝胶化是指淀粉悬浮液在过量水中加热而于某一特殊温度下结晶结构熔融、淀粉颗粒高度溶胀甚至颗粒破裂糊化的过程。这是一个不可逆的、从有序结构到无序结构的突跃过程, 伴随着颗粒溶胀、水分缔合、结晶损失和直链淀粉的抽提, 形成网状结构的淀粉凝胶。正是淀粉的这种凝胶化性质对其功能和在食品工业上的广泛应用具有重要作用。

1 淀粉凝胶作用的研究现状

孙秀萍 女, 25 岁, 硕士生, 现从事天然聚合物修饰改性及功能化研究。*联系人
2002-07-21 收稿, 2002-12-31 修回

目前对淀粉凝胶化的讨论主要可分为以下三类：(1)A、B 或 C 型淀粉在过量水中的熔融过程^[2~6]。不考虑溶剂的作用，三者的熔融行为具有以下特点：A 型和 B 型的吸热峰较窄，B 型多晶的熔融温度低于 A 型多晶。C 型淀粉可看作(A+B)型的混合物，凝胶化过程取决与 A 型和 B 型晶体的排列。在 C 型淀粉 DSC 的焓变图中，低温熔融峰属于 B 型，较高温吸热峰属于 A 型(图 1)。(2)热力学性质，特别是凝胶化性质与结构变化的关系^[3,7,8]，焓变反映了结构的损失(表 1)。直链淀粉含量、熔融协同单元的数量、结晶片层的厚度等对焓变具有很大影响。对天然淀粉而言，分子有序性明显比结晶有序性高，两者都与凝胶作用的残余焓变有关。两有序结构在凝胶化过程中同时破裂，但分子有序性的损失更快。(3)盐的存在对淀粉熔融性质的影响^[4,9]。盐的种类不同其对水的性质和聚合物-溶质之间相互作用的贡献不同，从而影响淀粉凝胶作用机制，盐浓度也会影响 DSC 曲线形状。一般来说，盐的存在对 A 型淀粉熔融的影响比 B 型明显。

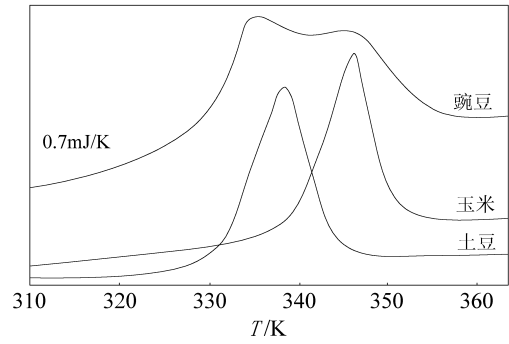


图 1 玉米淀粉(A 型)土豆淀粉(B 型)及豌豆淀粉(C 型)在过量水条件下的 DSC 曲线^[4]
Fig.1 DASM-4 DSC thermograms of maize(A), potato(B) and pea(C) starches in excess water^[4]

表 1 淀粉颗粒和结晶模型的结构和焓变性质^[3]
Tab.1 Structural and enthalpic properties and model crystallites^[3]

| | 结晶有序性/% | 分子有序性/% | 熔融焓/(J/g) | $T_p/^{\circ}\text{C}$ |
|----------|---------|---------|-----------|------------------------|
| 小麦 | 20 | 39 | 9.7 | 57.7 |
| 玉米 | 27 | 43 | 14.3 | 70.2 |
| 土豆 | 24 | 40 | 16.2 | 58.3 |
| 蜡性玉米 | 28 | 48 | 16.0 | 72.2 |
| 木薯 | 24 | 44 | 16.9 | 67.3 |
| A 型去支链肝糖 | >85 | >90 | 35.0 | 76.9 |

2 影响淀粉凝胶化性质的因素

淀粉凝胶化受到多种因素的影响，如加热速率、凝沉^[10,11]，但对其起主要作用的因素是直链淀粉含量、盐的种类和浓度(如果存在)及体系湿含量。

2.1 直链淀粉含量产生影响的因果关系

在豌豆和玉米淀粉的研究中发现，直链淀粉含量的增加导致淀粉结晶片层增加、颗粒中结晶减少、大分子结晶结构的改变^[12]。直链淀粉含量的不同导致了结构的改变而引起热力学性质的不同^[7]。直链淀粉含量增加使结晶度降低，熔融温度增大，但熔融焓与不同种类淀粉中直链淀粉含量的关系并不清晰^[13,14]。可以明确的是，通常情况下低温焓值是结晶薄层熔融的结果，高温峰是由直链淀粉-类酯化合物和单螺旋分解引起的。

根据热力学公式可知, 恒压条件下 $\Delta H = \int C_p dt$, 显然热容是表征凝胶化性质的另一重要参数, 它与直链淀粉含量的关联性须分情况来描述^[15]: 含量较低时, 淀粉是单一的 A 型, 含量增大则热容增加。低直链玉米淀粉的热容变化可用线性函数表示; 高直链成分含量淀粉包括 B、B* 和 V 型晶体结构^[7]。热容值由式(1)描述:

$$C_p = C_{pB} + C_{pB}^* + C_{pV} \quad (1)$$

C_{pB} 、 C_{pB}^* 和 C_{pV} 分别是 B、B* 和 V 型结构对高直链淀粉热容值 C_p 的贡献, 显然高直链淀粉的热容变化需要测定每种结构的热容。

对于淀粉-水体系, 热容随着直链淀粉含量增大而增大^[16,17]。出现这种情况是由于水合晶相的热容值比非水合晶相高, 结晶合成聚合物中结晶的减少, 水-淀粉分子可接触表面积增大, 导致大分子可移动性和热容值的增加。

淀粉-水体系组成和热力学参数之间的关系可用式(2)表示:

$$C_p^{\text{exp}} = C_p^s (V_p/V_p^s) - (\Delta C^{\text{APP}}/m) \quad (2)$$

其中 C_p^{exp} 为淀粉样品的摩尔热容

C_p^s 为水的摩尔热容

V_p , V_p^s 为样品和水的实际摩尔体积

ΔC^{APP} 为溶剂和样品溶液分散质的热容差 m 为量热重复单元的质量损失。

2.2 盐类对凝胶化性质的影响

盐的作用取决于它本身的性质和浓度^[9]。盐的存在能够引起凝胶化温度和焓变的升高或降低, 且相应地增加或降低凝胶化和凝沉的速率和程度, 影响溶胀性质、贮存模量、凝胶尺寸和不同方式下的凝胶速率常数。

关于盐影响淀粉凝胶化过程的论述很多。Evans 等^[18]假定溶质对凝胶化温度的作用可用体系的水溶性和颗粒中水的体积分数的对数泛函来描述。Oosten^[19]揭示淀粉是作为弱酸离子交换, 且阳离子倾向于保护颗粒结构稳定; 而阴离子是凝胶化剂, 使氢键断裂。Jane^[20]认为盐溶液中淀粉凝胶化作用的机制归因于结构形成和结构破裂对盐和淀粉中羟基之间水及静电反应相互作用的影响。根据上述结论不难看出, 离子对淀粉凝胶化、溶胀的影响是霍夫迈斯特序排列的必然结果。

盐对凝胶化过程的影响与大多数络合物及非离子溶剂(如蔗糖)不同。盐对淀粉凝胶化起作用主要归因于其对淀粉结构、水合作用及水性质的影响, 盐的存在减小了水对凝胶作用过程的有效值。凝胶化温度增加是由于溶质的活性减小了水对淀粉的有效性, 降低了水的化学势。但是, 糖和盐对淀粉凝胶作用的影响不仅仅是由于水的可利用性降低, 因为凝胶作用能量并没有随着液相中糖和氯化钠的量而有规律减小。

Evans 等^[18]在 Flory-Huggins 理论方程基础上提出不同溶质对凝胶化温度影响的直接或间接值:

$$1/T_m - 1/T_m^0 \approx (T_m^0 - T_m)/(T_m^0)^2 \approx k[1 - \ln(a_w/u_1)] \quad (3)$$

其中 T_m 为体系的熔点; T_m^0 为纯晶体聚合物的熔点; a_w 为水的活度; k 为常数; u_1 为水的体积分数。

2.3 体系湿含量影响^[21~24]

水是淀粉破裂或热力学加工的增塑剂之一, 它对淀粉的热力学性质影响主要体现在凝胶化作用中。DSC 测定的多种焓变主要取决于样品中的水含量。高湿含量(>60%)颗粒中无定形区的

水合/溶胀能促进结晶区域向无定形相转变,这是结晶部分在凝胶化过程中被周围分子挤压、渗透以及牵扯的结果。在低水量(<20%)下,只有部分结晶是力学作用导致熔融,其余残留的另一部分在高温产生第二个焓变,该温度符合聚合物-溶剂相互作用的 Flory 理论。湿含量小于 20% 产生双焓迁,在中等水量(40%)合并成单一带。由 DSC 研究可知,随着湿含量减少,焓变个数增加,焓跃变温度由 Flory 方程估计。

假定非晶相是通过分子内或分子间氢键形成的网状物理结构,则溶胀的自由能 ΔH_s 是网状的弹性自由能与溶剂(水)和聚合物(淀粉)混合的自由能之和, ΔH_s 可由(4~6)式计算:

$$\Delta H_s = \Delta H_m + \Delta H_{\text{net}} \quad (4)$$

$$\Delta H_m = NRT_x \phi_1 \phi_2 \quad (5)$$

$$\Delta H_{\text{net}} = (3 \rho^0 k_B V_1^0 N / 2 M_C) T (\phi_2)^{1/3} \quad (6)$$

其中 ΔH_m 和 ΔH_{net} 分别是混合焓变和网状焓变; R 为气体常数; N 为溶剂和聚合物的摩尔总量; ϕ_1 、 ϕ_2 为溶剂和聚合物的体积分数; x 为 Flory-Huggins 相互作用参数; ρ^0 为未溶胀聚合物的密度; M_C 为每一部分的平均分子量或连接之间的平均分子量; V_1^0 为纯溶质的摩尔体积; k_B 为波尔兹曼常数。

3 淀粉凝胶化机制即凝胶化作用模型

针对凝胶化中所表现出的 DSC 曲线特征,结合其它物理化学方法对淀粉凝胶化过程中的结构变化进行观察分析,人们提出以下凝胶作用模型^[25]。

最早的模型由 Donovan 提出。该模型认为结晶和分子有序性的损失是同时进行的。颗粒无定形区溶胀首先是淀粉链从结晶表面“抽离”,结晶有序性破坏。该溶胀过程产生 DSC 焓变(对应于 G)。水量不大时(通常解释 DSC 曲线中的第二个焓)不可能以这种方式破碎全部结晶,则位于水分高度集中的区域经受“抽离”,G 焓变增长,直到这个过程结束,在较高温度熔融,产生 M1 焓。如含水量减小至没有任何结晶可进行“抽离”,则只能观察到熔融的 M1 焓。结晶“抽离”会使螺旋打开,产生水合作用。

Blanshand 在 Donovan 的基础上对凝胶化模型作了不同解释。Blanshand 假设 G 焓是无定形区中链移动的结果,水过量可导致总溶胀和结晶破碎,与 Donovan 的观点一致,但是对水量不大的体系无定形区的溶胀对结晶的作用很小,因此在高温熔融产生 M1 焓。最近对结晶破裂的 WAXS 研究结果与 Blanshand 的理论矛盾,该结果认为结晶是通过 G 和 M1 二者损失的。

Evans 等^[17]提出高协同的‘积极反馈’机制来解释凝胶化焓变。他们假定颗粒中存在稳定性最小的结晶,其熔融受溶胀的约束很小,允许颗粒缔结更多的表面水,具有降低剩余结晶熔点,促进更多水缔合和更多结晶熔融的作用,且每种颗粒的熔程都非常小。这个机制能够解释含水量减小效应,但只有含水量较小时颗粒中才包含以上机制中所说的稳定性最小的结晶。然而其中会出现自由水开始缔合的瞬间,这一瞬间后不同结晶的熔融之间没有更多的协同反应,剩下的结晶在高温熔融,且假定这些结晶产生 M1 焓。值得注意的是这个模型的一些显著特征并不依赖于淀粉颗粒中的无定形区。

Biliaderis^[23]认为水量少时,DSC 产生两个焓是重结晶和最终熔融这两部分共同作用的结果。加热速率变化引起 G 和 M1 焓跃迁的合并证明了这一点。较高的加热速率在时间不充足的条件下有利于重结晶。水分过量,凝胶化被大多数无定形相的玻璃化转变所促成,从而熔融和重结

晶过程同时出现。正如水含量可减小玻璃化转变和熔融温度之间的差异，熔融和重结晶跃迁能在 DSC 曲线中分别找到。但最近研究认为玻璃化转变与凝胶化前的突跃是不同的。

纵观前面的模型发现，各种观点不尽相同，且分歧仍未解决。Jenkins 等^[25]试图给出一个清晰的模型。他们认为无定形区的溶胀是最集中的，且半结晶的重复间距在凝胶化的整个过程大部分保持不变。这是由于水从外表面转移量增大，颗粒不能迅速适应自身潜在的溶胀过程。因为分子在生长环到半结晶片层之间是连通的，一旦大量的溶胀在无定形区中出现，则有足够的压力会对结晶自身的破碎施加影响，结晶的最终损失和颗粒的最终破碎仅在凝胶化接近结束时才出现。

基于淀粉与手性侧链聚合物液晶之间的相似性，Waigh 等^[26,27]采用液晶方法研究了淀粉的凝胶化过程。对支链淀粉分子相行为特性有三个重要的参数：片层有序性参数(Y)，支链淀粉双螺旋的纵向有序性参数(f)，样品的螺旋性(h ，螺旋/盘绕比率，测定双螺旋的螺旋—盘绕跃迁)。淀粉凝胶化的液晶性质用支链淀粉不同部分可移动程度和有序参数来描述。

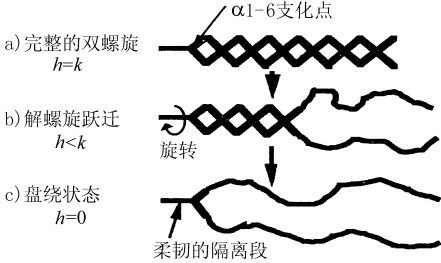


图2 支链淀粉双螺旋的螺旋—盘绕跃

Fig.2 The helix-coil transition in amylopectin double helices
(k-完全缔合时的螺旋性)

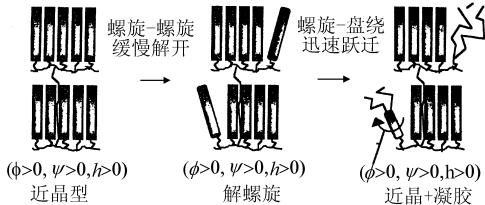


图3 淀粉在过量水中的凝胶化的一两状态过程

Fig.3 The two-stage process involved in the gelatinisation of starch in excess water

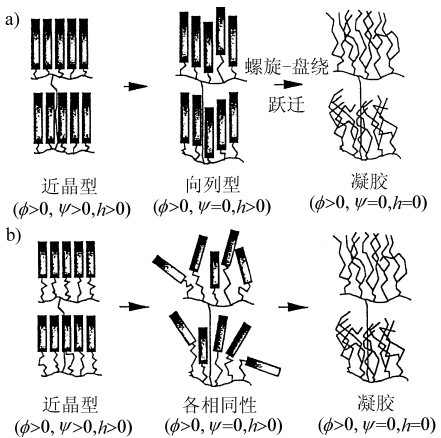


图4 少量水条件下淀粉凝胶化过程的两-状态模型

(a-B 型淀粉, b-A 型淀粉)

Fig.4 The two-stage process involved in the gelatinisation of starch in limiting water. Two different process are shown for A and B type starches

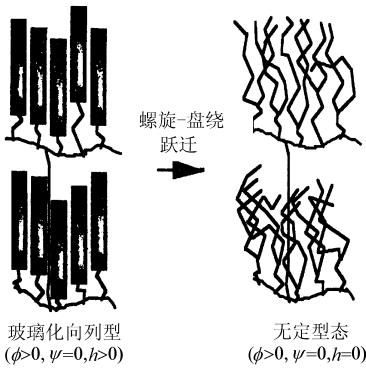


图5 水含量低时淀粉凝胶化的单一状态模型

Fig.5 The single stage process involved in the gelatinisation of starch at low water contents

淀粉结构由 4 个尺寸范围组成：分子范围($\sim \text{\AA}$)；片层结构($\sim 90\text{\AA}$)；生长环($\sim 0.1\mu\text{m}$)和整个颗粒形态($\sim \mu\text{m}$)，上述 4 个尺寸范围都对凝胶化作用有贡献。过量水条件下近晶/向列(近晶-各相同性)的 DSC 吸热峰的螺旋—盘绕跃迁(图 2)之间的不同极小。推断近晶型结晶的最终损失

和螺旋解开几乎同时发生(图 3)。水含量减少, 两个吸热峰会分开: 第一个峰是近晶型结晶到向列型/各向同性的相转变, 第二个峰是解螺旋跃迁(图 4)。过渡相由支链淀粉螺旋尺寸测定, A 型的过渡相为各向同性(图 4b), B 型淀粉为向列型(图 4a), 二者过程的不同可以预测淀粉的晶型。B 型淀粉中有序性很快大量损失, 产生吸收峰, 且结晶损失比螺旋损失快。在 A 型淀粉中由于弹性增加促进了结晶和无定形主体之间的无定形隔离段快速解析。

在室温下 B 型/A 型淀粉样品最初分别是玻璃化向列状/结晶态。提高温度时两种样品直接从螺旋向盘绕相转变(图 5)。

4 对于淀粉、淀粉-水体系其它特性的预测

对一些谷类和豆类淀粉的 DSC 曲线进行处理, 可估算熔融协同单元的数量(u)、结晶片层厚度(L_{crl})^[6,28]。

首先对 DSC 曲线进行图解, 如图 6 所示^[7]。峰的最大纵坐标对应熔融温度 T_m , 熔融起始温度 T_m 由三角形方法确定(图 6b), 热吸收峰下的阴影区是熔融量热部分 H^{exp} :

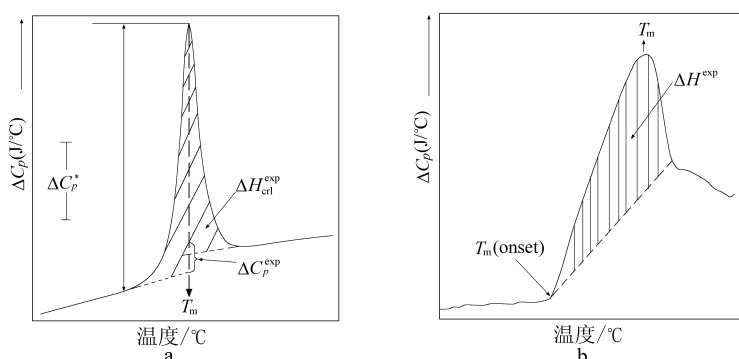


图 6 低直链(a)和高直链淀粉(b)在过量水中熔融的典型热力学曲线

Fig 6 Typical thermograms of the melting of a low(a) and a high amylose(b) starch in excess water

然后根据以下步骤进行计算:

熔融的范德-霍夫焓的计算公式:

$$H^{\text{V,H}} = 2T_m R^{1/2} (C_p - 0.5 C_p^{\text{exp}})^{1/2} \quad (7)$$

其中 T_m 为淀粉的熔融温度; R 为气体常数; C_p^* 为 DSC 曲线最大纵坐标 C_p^{exp} 为从天然淀粉到淀粉分散质的热容熔融协同单元(u)的计算根据 Dani lenko 方程:

$$v = H^{\text{V,H}} / H_{\text{crl}}^{\text{exp}} \quad (8)$$

其中 $H^{\text{V,H}}$ 和 $H_{\text{crl}}^{\text{exp}}$ 是从实验数据推导出的焓值。

对于片层排列的结晶, 由于熔融协同单元的平均值等于 14 个葡萄糖残基, 而每个葡萄糖残基是 0.35nm, 则结晶片层厚度(L_{crl})可由式(9)计算:

$$L_{\text{crl}} = 0.35u \quad (9)$$

聚合物的热力学性质中焓变是最重要的表征量之一, 显然其对基本结构的表征是有益的。同样, 一些基本的温度参数如 T_m 、 T_g , 也能够揭示聚合物的某些结构特征。

对淀粉-水体系, 因为支链淀粉是结晶共聚物的一种, 因此采取结晶共聚物的方法将 Flory 晶格理论应用于 T_m 的预测是可行的。Flory 方程如(10)式所示。

$$1/T_m = 1/T_m^0 + R/\Delta H_u (V_u/V_1)(u_1 - X_1 u_1^2) \quad (10)$$

其中 T_m^0 为纯晶体的平衡熔融温度; u_1 为溶剂的体积分数; ΔH_u 为重复单元的熔融变化焓; X 为 Flory-Huggins 相互作用参数; V_u 和 V_1 分别重复单元和溶剂的摩尔体积。

通过测定一系列 T_m 与 u_1 的变化曲线, 可以估计 V_u 和 H_u , 从而可预测重复单元构成等信息。

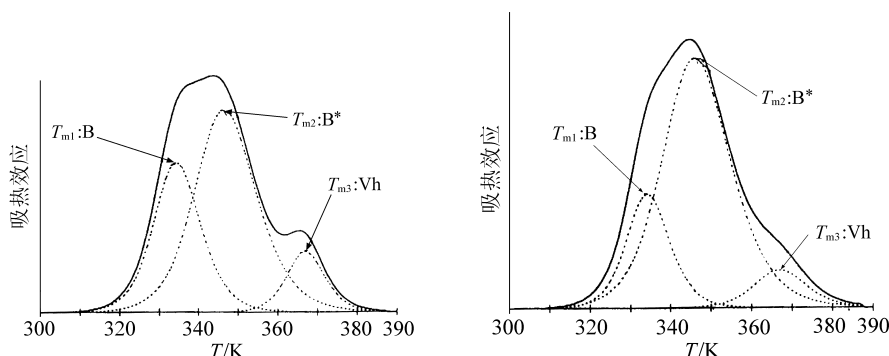


图 7 淀粉的 DSC 热力学曲线(—)和其量热峰分析结果(---)

Fig.7 Excess DSC-curves (—) and results of their deconvolution (---) for starches

T_{m1} , T_{m2} , T_{m3} 分别是 B, B*, Vh 晶型结构的熔融温度

由 DSC 曲线测定可知, 随着直链淀粉含量的增大, 淀粉的结晶结构变得复杂。高直链淀粉包括两种(B, Vh)到三种(B, B*, Vh)结晶结构。鉴于不同的淀粉结晶结构的熔融在每个相同的温度区间是各自独立的, 可根据量热峰分析(图)^[17]计算每种结晶结构对样品总体熔融焓的相对贡献, 从而得出 B、B*、Vh 型结晶在淀粉中的相对含量。

从图 7 可看出, 熔融过程用“两状态”模型描述。双螺旋总体的熔融可以用 B、B*表示, 也可用 Vh 表示。根据 B、Vh 型曲线的特征, 通过面积来确定各自的相对数量。

综上所述, 可知对于基本的实验研究方法(如 DSC 分析技术), 发掘其新的结构预测功能将会促进材料性能的研究。就淀粉而言, 因为凝胶作用的重要贡献, 应用范围的不断扩大, 采用更多的先进的技术方法研究结构与性质的关系, 必将促进淀粉的更好利用。

参考文献

- [1] F Tufvesson, A C Eliasson. Carbohydrate Polymer, 2000, 43: 359~365.
- [2] A N Danilenko, Y V Shtikova, V P Yuryev. Biophys., 1994, 39: 427~434.
- [3] D Cooke, M J Gidley. Carbohydrate Research, 1992, 227: 103~112.
- [4] T Y Bogracheva, V J Morris, S G Ring et al. Biopolymers, 1998, 45: 323~332.
- [5] Y I Matveev, N Y Elankin, E N Kalistrova et al. Starch/Stärke, 1998, 50: 141~147.
- [6] N R Andreev, E N Kalistratova, L A Wasserman et al. Starch/Stärke, 1999, 51: 422~429.
- [7] Y I Matveev, J J G Van Soest, C Nieman et al. Carbohydrate Polymer, 2001, 44: 151~160.
- [8] L Yu, G Christie. Carbohydrate Polymer, 2001, 46: 179~184.
- [9] E Chiotelli, G Pilosio, M L Meste. Biopolymers, 2002, 63: 41~58.
- [10] H Liu, J Lelièvre. Starch/Stärke, 1991, 43: 225~227.
- [11] J H ocobs, N Mischenko, H J Koch et al. Carbohydrate Research, 1998, 306: 1~10.
- [12] P J Jenkins, A M Donald. Int. J. Biol. Macromol, 1995, 17: 315~321.
- [13] M Wootton, J F Panozzo, S H Hong. Starch/Stärke, 1998, 50: 154~158.
- [14] M Wootton, D Mahdar. Starch/Stärke, 1993, 45: 295~299.
- [15] E N Kalistratova, I E Nemirovskaja, A V Persikov et al. Starch/Stärke, 2000, 52: 164~167.
- [16] E N Kalistratova, A V Persikov, D A N anilenko et al. Starch/Stärke, 1999, 51: 160~162.

- [17] G O Kozhevnikov, V A Protserov, L A Wasserman et al. *Starch/Stärke*, 2001, 53: 201~210.
- [18] I D Evans, H D R aisman. *Starch/Stärke*, 1982, 34: 224~231.
- [19] B J Oosten. *Starch/Stärke*, 1982, 34: 233~239.
- [20] J L Jane. *Starch/Stärke*, 1993, 45: 161~166.
- [21] A Maaruf 3G, Y B Che Man, B A Asbi et al. *Carbohydrate Polymer*, 2001, 46: 331~337.
- [22] Z Q Liu, X S Yi, Y Feng. *Starch/Stärke*, 1999, 51: 406~410.
- [23] R L Shogren. *Carbohydrate Polymer*, 1992, 19: 83~90.
- [24] J K Jang, Y R Pyun. *Starch/Stärke*, 1996, 48: 48~51.
- [25] P J Jenkins, A M Donald. *Carbohydrate Research*, 1998, 308: 133~147.
- [26] T A Waigh, A M Donald, F Heidelberg. *Biopolymers*, 1999, 49: 91~105.
- [27] T A Waigh, M J Gidley, B U Komanshek et al. *Carbohydrate Research*, 2000, 328: 165~176.
- [28] A Takashi, M J Gidley. *Starch/Stärke*, 1998, 50: 386~389.