

顾正彪教授主持“结构调控下的淀粉性能及其新资源探讨”特约专栏文章之二

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2024.02.002

屈腾飞, 涂园, 黄双霞, 等. 酶解耦合湿热处理对板栗淀粉消化性能与回生性能的影响[J]. 粮油食品科技, 2024, 32(2): 14-20.

QU T F, TU Y, HUANG S X, et al. Effects of enzymolysis coupled with hydrothermal treatment on digestion and retrogradation of chestnut starch[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2024, 32(2): 14-20.

# 酶解耦合湿热处理对板栗淀粉 消化性能与回生性能的影响

屈腾飞, 涂园, 黄双霞, 何忠超, 陈玲, 李晓玺✉

(华南理工大学 食品科学与工程学院 淀粉与植物蛋白深加工教育部工程研究中心  
广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室, 广东 广州 510640)

**摘要:** 板栗淀粉的消化和回生性能制约着板栗食品产业发展, 合理选择食品加工方法调控板栗淀粉的消化和回生性能对开发高品质营养健康的板栗食品具有重要意义。本文探究了普鲁兰酶酶解及耦合湿热处理对板栗淀粉的消化率、长期回生和多尺度结构的影响。结果显示, 酶解处理增加了板栗淀粉的直链淀粉含量, 改变了淀粉链长分布, 提高了淀粉短程有序结构和结晶结构, 从而降低了淀粉消化率; 进一步的湿热处理促进淀粉链相互作用, 提高了淀粉短程有序结构、结晶结构和纳米聚集体结构, 导致了更低的淀粉消化率。在储存过程中, 由于酶解导致更短的 A 链增加及易于重排的 B1 链降低, 使得淀粉形成的结晶结构和纳米聚集体结构较少, 从而降低了淀粉的回生程度; 湿热处理促进了 A 链分子与其他分子的相互作用, 加剧抑制淀粉分子重排程度, 导致回生程度继续降低。因此, 酶解耦合湿热处理可作为一种有效的调控淀粉消化和回生性能的方法, 促进慢消化和低回生度板栗淀粉食品的开发。

**关键词:** 板栗淀粉; 普鲁兰酶酶解; 湿热处理; 消化率; 回生; 多尺度结构

中图分类号: TS201.2; S-3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2024)02-0014-07

网络首发时间: 2024-03-07 11:38:32

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.3863.TS.20240304.1818.015>

## Effects of Enzymolysis Coupled with Hydrothermal Treatment on Digestion and Retrogradation of Chestnut Starch

QU Teng-fei, TU Yuan, HUANG Shuang-xia, HE Zhong-chao, CHEN Ling, LI Xiao-xi✉

(School of Food Science and Engineering, Ministry of Education Engineering Research Center of Starch and Protein Processing, Guangdong Province Key Laboratory for Green Processing of Natural Products and Product Safety, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510640, China)

**Abstract:** The digestion and retrogradation performance of chestnut starch constrains the development of

收稿日期: 2024-01-12

基金项目: 国家自然科学基金(32072172); 国家重点研发计划(2019YFD1002305)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 32072172); National Key Research and Development Project of China (No. 2019YFD1002305)

作者简介: 屈腾飞, 男, 1998 年出生, 在读硕士生, 研究方向为淀粉功能化修饰与调控。E-mail: qtfffff@163.com

通讯作者: 李晓玺, 男, 1977 年出生, 博士, 教授, 副院长, 研究方向为碳水化合物功能化修饰与营养组分控释递送。E-mail: xxlee@scut.edu.cn. 本专栏背景及作者详细介绍 PC7-10

chestnut food industry. It is of great significance to select reasonable processing methods to regulate the digestion and retrogradation properties for the development of nutritious and healthy chestnut foods with high quality. Therefore, the effects of pullulanase enzymatic hydrolysis coupled with hydrothermal treatment on digestibility, long-term retrogradation and multi-scale structure of chestnut starch were investigated. Results showed that enzymatic hydrolysis increased amylose content, and changed chain length distribution. Short-range ordered and crystalline structures were also improved, and the starch digestibility were also reduced. Hydrothermal treatment promoted starch chain interactions, and improved short-range ordered, crystalline and nano-aggregate structures of starch, leading to the lower starch digestibility. During long-term retrogradation, due to the increase of shorter A chains and the decrease of B1 chains which are easy to rearrange, starch crystalline and nano-aggregate structures decreased, which retarded starch retrogradation. Hydrothermal treatment promoted the interactions among A chains and other molecules, and further inhibited the degree of starch molecule rearrangement, which could lead to the lower degree of retrogradation. Therefore, enzymatic hydrolysis coupled with hydrothermal treatment can be used as an effective method to regulate the digestion and retrogradation performance of starch, which could promote the development of chestnut starch-based foods with slower digestion rate and lower retrogradation degree.

**Key words:** chestnut starch; pullulanase hydrolysis; hydrothermal treatment; digestibility; retrogradation; multi-scale structures

板栗 (*Castanea mollissima*), 壳斗科栗属植物的果实, 具有丰富的营养价值和独特的风味, 是我国重要的经济果实。然而, 作为板栗的主要成分, 板栗淀粉的结构与功能特性制约着板栗深加工产品的品质<sup>[1]</sup>。板栗淀粉经不同加工后, 其中的快消化淀粉能够引起人体餐后血糖升高, 易引发代谢性慢性疾病<sup>[2]</sup>。此外, 板栗淀粉类食品在储藏期内易发生淀粉分子重组, 继而会导致食用品质劣变<sup>[3]</sup>。为了设计具有特定消化性能和质构品质的板栗淀粉类食品, 亟需通过现代加工技术协同调控板栗淀粉的消化和回生性能。

板栗淀粉的消化和回生性能主要取决于板栗淀粉的多尺度结构<sup>[4-5]</sup>, 而不同的食品加工方式和条件的变化对淀粉多尺度结构的影响程度不同。合理选择食品加工条件可调控淀粉多尺度结构从而进一步控制淀粉的消化和回生性能<sup>[6-8]</sup>。普鲁兰酶可水解淀粉中支链淀粉分子内部的  $\alpha$ -1,6 键, 从而改变淀粉分子的直链淀粉与支链淀粉之间的比例<sup>[6]</sup>。湿热处理可使淀粉分子的链结构和聚集态结构在不同条件下发生变化<sup>[5]</sup>。由此可见, 酶法处理及湿热处理方式均可导致淀粉分子链结构的变化继而引起淀粉分子链聚集行为的变化。而淀粉分子聚集行为的变化直接影响淀粉的消化行为

和回生行为。因此, 通过合理控制酶解耦合湿热处理对板栗淀粉多尺度结构的影响, 明晰加工后多尺度结构与消化和回生性能之间的关系, 对于协同控制板栗淀粉类食品的消化和回生性能具有重要意义。

本研究将选取普鲁兰酶酶解条件(酶解时间)及湿热处理条件(湿热处理温度), 探究酶解耦合湿热处理对板栗淀粉消化及回生性能的影响, 采取现代仪器分析技术系统解析酶解及酶解耦合湿热处理对储藏前后板栗淀粉多尺度结构的变化, 以获取酶解耦合湿热处理影响其消化和回生性能的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

板栗淀粉: 广东省鲜绿态农场; 普鲁兰酶、异淀粉酶: Aladdin 公司; 无水乙醇、醋酸钠、氢氧化钠、叠氮化钠, 均为分析纯; 福成化学有限公司; 直链淀粉试剂盒、葡萄糖氧化试剂盒: Megazyme 公司; 淀粉葡萄糖苷酶、胰  $\alpha$ -淀粉酶: Sigma 公司。

YZHR-250M 型水热反应釜: 上海市岩征仪器有限公司; FJ300-SH 型高速剪切均质机: 上海昂

尼仪器有限公司; 722 型紫外可见分光光度计: 上海第三分析仪器厂; Pyris 4000 型差示扫描量热仪: 美国 PerkinElmer 公司; X'pert Powder 型 X 射线衍射仪: 荷兰 PANalytical 公司; SAXSess 型小角 X 射线散射仪: 奥地利 Anton Paar 公司; Tensor 37 型傅里叶红外光谱仪: 德国 Bruker 公司。

### 1.2 板栗淀粉的酶解与湿热耦合处理

酶解处理: 将板栗淀粉(以干基计)配成 8% (w/w) 的淀粉乳 (pH=6.5), 于 58 °C 下与 15、25、45、75 和 125 U/g 的普鲁兰酶孵化 60 min。孵化后加入无水乙醇, 在 3 500 rpm 离心 10 min 后收集酶解的淀粉, 并于 30 °C 下干燥 12 h, 粉碎过筛获得酶解板栗淀粉, 分别用 ECS-15 U、ECS-25 U、ECS-45 U、ECS-75 U 和 ECS-125 U 表示。以天然板栗淀粉作为对照样品, 简称为“CS”。

湿热处理: 称取酶解板栗淀粉(以干基计)并调节水分含量为 20%, 置于 4 °C 下平衡水分 12 h 后, 分别在 80、90、100、110 和 120 °C 的条件下在水热反应釜中湿热处理 2 h。随后取出样品, 经冻干、粉碎、过筛后得到湿热处理样品, 分别用 HECS-80 °C、HECS-90 °C、HECS-100 °C、HECS-110 °C 和 HECS-120 °C 表示。

### 1.3 板栗淀粉回生性能的测定

将淀粉样品配制成浓度为 25% (以干基计) 的淀粉乳, 85 °C 水浴 30 min 后于 25 °C 下储藏 0、3、7、14、21 d。称取储藏淀粉样品约 6 mg (以干基计) 至差示扫描量热仪高压盘中, 以 3:7 (淀粉: 水) 的比例加入去离子水后在室温下密封平衡 12 h。测试条件: 升温程序 10~100 °C, 升温速率 10 °C/min。板栗淀粉样品的回生度 (DR) 计算参考 Baik<sup>[9]</sup> 的方法:

$$DR = \frac{\Delta H_t - \Delta H_0}{\Delta H_n}$$

$\Delta H_0$ : 未回生样品的糊化焓;  $\Delta H_t$ : 样品回生  $t$  时间的熔融焓;  $\Delta H_n$ : 天然板栗淀粉样品的糊化焓。

### 1.4 板栗淀粉消化性能的测定

根据 Englyst 方法<sup>[10]</sup>, 对淀粉样品的体外消化性能进行测定。将含有 1 g 样品(淀粉干基)和 20 mL 醋酸缓冲液 (0.1 M, pH 5.2) 的溶液在

85 °C 下加热糊化。随后, 将糊化溶液冷却至 37 °C, 放入恒温振荡器 (165 stroke/min) 中, 与猪胰酶淀粉酶、淀粉葡糖苷酶和玻璃球在体温下孵育。采用葡萄糖氧化试剂盒测定特定时间间隔 (20 和 120 min) 释放的葡萄糖含量, 计算快速消化淀粉 (RDS)、慢消化淀粉 (SDS) 和抗消化淀粉 (RS) 含量。

### 1.5 淀粉的链结构

淀粉样品的直链淀粉含量通过直链淀粉试剂盒测定。淀粉样品的链长分布通过高效阴离子交换色谱分析。将 10 mg 样品溶于 90% 二甲基亚砜 (450  $\mu$ L) 和双蒸馏水 (2 250  $\mu$ L) 中, 添加醋酸钠缓冲液 (300  $\mu$ L, pH 4.5)、NaN<sub>3</sub> (5  $\mu$ L) 溶液和异淀粉酶 (5  $\mu$ L) 于样品溶液中。混合液置于 38 °C 静置 24 h 后在 12 000 rpm 下离心 5 min, 上清液在 30 °C 下采用液相色谱柱 Dionex™ CarboPac™ PA10 进行测试。测试条件如下: 流动相速度 0.3 mL/min, 测试体积 20  $\mu$ L。流动相由 A 相 (200 mM NaOH) 和 B 相 (200 mM NaOH 及 200 mM NaAC) 组成。梯度洗脱程序: 90% A 相和 10% B 相冲洗 2 min, 40% A 相和 60% B 相冲洗 15 min, 90% A 相和 10% B 相冲洗 5 min。

### 1.6 淀粉短程有序结构的测定

将 2 mg 样品置于傅里叶红外光谱仪对板栗淀粉样品进行扫描。扫描条件: 波长范围 4 000~400  $\text{cm}^{-1}$ , 分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ 。对获得的谱图进行基线校正、归一化和去卷积处理, 去卷积的参数为: 半峰宽和增强因子分别为 19 和 1.9。采用 Peakfit-v4.12 软件计算短程有序结构。

### 1.7 淀粉结晶结构的测定

对待测样品进行水分平衡, 置于 X-射线衍射 (XRD) 仪样品台中进行测试, 测试条件: 管压和管流为 40 kV 和 40 mA, 扫描范围  $2\theta = 5^\circ \sim 40^\circ$ , 扫描速度 12 °/min, 步长 0.013°, 连续扫描, 扫描时间 15 s。利用 Peakfit-v4.12 软件计算相对结晶度。

### 1.8 淀粉纳米聚集体结构的测定

样品与去离子水以 3:7 的比例配置成淀粉溶液, 在室温下平衡 12 h 后, 将淀粉样品于波长为

0.154 2 nm 的 Cu-K $\alpha$  光源下进行曝光 5 min, 测试电压和电流为 40 kV 和 50 mA。通过计算小角 X 射线散射 (SAXS) 曲线中  $q = 0.2 \sim 0.5 \text{ nm}^{-1}$  区域的斜率来获得板栗淀粉样品的分形维数 ( $\alpha$ ), 用于分析纳米聚集态结构。

### 1.9 数据处理

实验数据通过 SPSS 和 Origin 软件进行分析作图, 利用 LSD 法分析同组不同数据之间的统计学差异性, 表中数据右上角不同字母代表各组中的样品间存在显著性差异, 其中  $P < 0.05$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 酶解及酶解耦合湿热处理对板栗淀粉消化性能的影响

#### 2.1.1 酶解对板栗淀粉消化性能的影响

不同量普鲁兰酶处理的板栗淀粉消化性能如表 1 所示。酶解处理降低了板栗淀粉 RDS 含量, 提高了 SDS 含量, 且随着普鲁兰酶添加量的增加, RDS 含量先降低后增加, SDS 和 RS 含量先增加后降低。普鲁兰酶能够特异性水解位于无定形和不完美晶体结构区域中的支链淀粉, 产生短直链淀粉分子; 同时, 短直链淀粉分子在干燥冷却过程中会重新靠近并缠绕形成双螺旋有序结构<sup>[11]</sup>。因此, 在低酶添加量 (15~25 U/g) 时, 普鲁兰酶通过对支链淀粉进行脱支, 持续产生的短直链淀粉分子通过聚集进而增加了 SDS 和 RS 含量。在高酶添加量 (45~125 U/g) 时, 由于普鲁兰酶对板栗淀粉的水解程度显著增加, 板栗淀粉原有的有序结构被酶解破坏的程度远大于短直链淀粉分子聚集形成的有序结构, 这最终导致 SDS 和 RS 含量的降低。

#### 2.1.2 湿热处理对酶解板栗淀粉的消化性能的影响

在普鲁兰酶酶解处理的基础上, 对酶解板栗淀粉进行不同温度的湿热处理, 其消化性能如表 1 所示。随着湿热处理温度的升高, HECS 的 RDS 先降低后增加, RS 先增加后降低。在湿热处理过程中, 自由水在加热条件的诱导下能够向淀粉颗粒内部迁移, 破坏淀粉分子之间的氢键, 导致淀粉有序结构受到破坏。同时, 酶解板栗淀粉中部分无序的分子链在湿热处理过程中又可重新通过氢键形成有序化结构<sup>[4]</sup>。因此, 湿热处理温度的

表 1 酶解及酶解耦合湿热处理后板栗淀粉消化性能

Table 1 Digestibility of chestnut starches under enzymolysis and enzymolysis coupled with hydrothermal treatment %

样品组	RDS	SDS	RS
CS	80.17±2.01 <sup>a</sup>	13.68±1.48 <sup>c</sup>	6.16±2.38 <sup>ab</sup>
ECS-15 U	49.41±0.61 <sup>d</sup>	45.71±2.65 <sup>a</sup>	4.88±2.03 <sup>c</sup>
ECS-25 U	44.25±0.75 <sup>e</sup>	46.42±1.39 <sup>a</sup>	9.34±2.04 <sup>a</sup>
ECS-45 U	50.58±0.90 <sup>d</sup>	41.66±0.90 <sup>b</sup>	7.76±1.12 <sup>a</sup>
ECS-75 U	57.00±2.08 <sup>c</sup>	37.59±0.95 <sup>c</sup>	5.41±1.95 <sup>bc</sup>
ECS-125 U	68.37±0.52 <sup>b</sup>	28.60±0.98 <sup>d</sup>	3.04±0.51 <sup>c</sup>
CS	80.17±2.01 <sup>a</sup>	13.68±1.48 <sup>c</sup>	6.16±2.38 <sup>c</sup>
HECS-80℃	72.38±0.75 <sup>b</sup>	24.60±0.31 <sup>a</sup>	3.02±0.99 <sup>d</sup>
HECS-90℃	70.23±0.90 <sup>b</sup>	23.57±1.11 <sup>ab</sup>	6.20±0.35 <sup>c</sup>
HECS-100℃	67.65±0.51 <sup>c</sup>	22.52±1.21 <sup>ab</sup>	9.83±0.75 <sup>b</sup>
HECS-110℃	63.47±1.15 <sup>d</sup>	22.99±0.71 <sup>b</sup>	13.54±0.52 <sup>a</sup>
HECS-120℃	66.45±2.12 <sup>c</sup>	22.29±1.25 <sup>b</sup>	11.25±0.88 <sup>b</sup>

增加提高 HECS 的 RS 含量, 并降低其 RDS 含量。随着处理温度不断提高 ( $\geq 110 \text{ }^\circ\text{C}$ ), 酶解板栗淀粉的结晶区因水分子的侵入而在更高的温度下变得容易被破坏<sup>[4]</sup>, 导致 ECS 中破坏的有序化结构比例高于重排生成的有序化结构比例, 最终使得 HECS 的 RDS 含量增加而 RS 含量降低。

### 2.2 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的回生性能

综合酶解及酶解耦合湿热处理对板栗淀粉消化性能的影响规律, 选择普鲁兰酶添加量为 25 U/g (ECS) 及该酶解条件耦合 110  $^\circ\text{C}$  湿热处理条件下 (HECS) 制备的样品进行回生处理, 以探究不同处理方式对板栗淀粉回生性能的影响, 结果如表 2 所示。随着储藏时间的延长, CS、ECS 和 HECS 的回生焓值 ( $\Delta H$ ) 逐渐增大, 且在同一储藏时间下, 其大小为: CS>ECS>HECS, 表明不同加工方式处理下的板栗淀粉均在储藏过程中发生了不同程度的回生。经 21 天回生后, CS 的回生度为 48.18%, ECS 和 HECS 的回生度分别为 42.66% 和 32.96%, 均小于 CS 的回生度。这表明酶解及酶解耦合湿热处理均能抑制板栗淀粉的回生, 并且酶解耦合湿热处理对板栗淀粉回生的抑制程度高于酶解处理。

### 2.3 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的链结构

不同处理方式导致的板栗淀粉链结构的差异可引起淀粉分子链的重排行为变化, 最终导致消化性能和回生性能相应发生变化。因此测定了样品的直链淀粉含量和链长分布, 结果如表 3 所示。

表 2 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的回生性能

Table 2 Retrogradation properties of chestnut starches under enzymolysis and enzymolysis coupled with hydrothermal treatment

样品组	$T_o/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H/(\text{J/g})$	回生度/%
CS	71.22±0.16 <sup>a</sup>	76.21±0.38 <sup>a</sup>	87.20±0.04 <sup>a</sup>	17.87±0.29 <sup>a</sup>	—
CS-0d	50.91±0.17 <sup>d</sup>	60.89±0.47 <sup>f</sup>	65.73±0.36 <sup>f</sup>	0.70±0.03 <sup>f</sup>	0.00
CS-3d	54.46±0.19 <sup>b</sup>	64.98±0.21 <sup>d</sup>	78.17±0.06 <sup>c</sup>	4.70±0.32 <sup>e</sup>	22.38
CS-7d	51.82±0.03 <sup>c</sup>	66.15±0.40 <sup>b</sup>	78.65±0.06 <sup>d</sup>	5.38±0.30 <sup>d</sup>	26.19
CS-14d	50.16±0.30 <sup>e</sup>	65.15±0.08 <sup>c</sup>	79.31±0.33 <sup>c</sup>	6.73±0.07 <sup>c</sup>	33.74
CS-21d	47.32±0.34 <sup>f</sup>	63.31±0.18 <sup>c</sup>	84.08±0.27 <sup>b</sup>	9.31±0.15 <sup>b</sup>	48.18
ECS	76.41±0.23 <sup>a</sup>	79.35±0.01 <sup>a</sup>	90.47±0.15 <sup>a</sup>	14.44±0.01 <sup>a</sup>	—
ECS-0d	58.17±0.25 <sup>b</sup>	62.00±0.18 <sup>d</sup>	66.67±0.23 <sup>f</sup>	0.36±0.10 <sup>f</sup>	0.00
ECS-3d	53.43±0.12 <sup>c</sup>	63.47±0.45 <sup>c</sup>	79.38±0.16 <sup>c</sup>	2.39±0.09 <sup>e</sup>	14.06
ECS-7d	51.84±0.27 <sup>d</sup>	63.34±0.47 <sup>c</sup>	76.77±0.29 <sup>e</sup>	3.73±0.13 <sup>d</sup>	23.34
ECS-14d	53.61±0.04 <sup>c</sup>	65.86±0.08 <sup>b</sup>	78.10±0.41 <sup>d</sup>	5.74±0.30 <sup>e</sup>	37.26
ECS-21d	47.45±0.45 <sup>e</sup>	63.44±0.32 <sup>c</sup>	80.49±0.45 <sup>b</sup>	6.52±0.42 <sup>b</sup>	42.66
HECS	73.37±0.34 <sup>a</sup>	79.74±0.04 <sup>a</sup>	92.12±0.09 <sup>a</sup>	14.38±0.28 <sup>a</sup>	—
HECS-0d	57.43±0.43 <sup>c</sup>	61.65±0.40 <sup>f</sup>	65.29±0.31 <sup>f</sup>	0.48±0.08 <sup>f</sup>	0.00
HECS-3d	59.59±0.09 <sup>b</sup>	66.98±0.04 <sup>d</sup>	74.15±0.05 <sup>e</sup>	1.96±0.12 <sup>e</sup>	10.29
HECS-7d	55.68±0.20 <sup>d</sup>	64.73±0.16 <sup>e</sup>	75.62±0.32 <sup>d</sup>	2.29±0.08 <sup>d</sup>	12.59
HECS-14d	52.26±0.39 <sup>d</sup>	66.49±0.01 <sup>c</sup>	79.67±0.05 <sup>c</sup>	3.91±0.10 <sup>c</sup>	23.85
HECS-21d	49.96±0.43 <sup>e</sup>	68.11±0.36 <sup>b</sup>	80.88±0.15 <sup>b</sup>	5.22±0.16 <sup>b</sup>	32.96

表 3 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的链结构

Table 3 Chain structure of chestnut starches under enzymolysis and enzymolysis coupled with hydrothermal treatment

样品	直链淀粉含量/%	平均链长	A 链 (DP<12, %)	B1 链 (13<DP<24, %)	B2 链 (25<DP<36, %)	B3 链 (DP>36, %)
CS	21.98±0.73 <sup>b</sup>	22.07±0.45 <sup>a</sup>	23.14±0.16 <sup>b</sup>	48.41±1.41 <sup>a</sup>	13.54±0.52 <sup>b</sup>	14.91±1.05 <sup>a</sup>
ECS	24.92±0.74 <sup>a</sup>	22.31±0.07 <sup>a</sup>	24.45±0.01 <sup>a</sup>	43.92±0.35 <sup>b</sup>	16.18±0.16 <sup>a</sup>	15.47±0.19 <sup>a</sup>
HECS	25.85±0.75 <sup>a</sup>	22.31±0.11 <sup>a</sup>	24.41±0.19 <sup>a</sup>	44.30±0.10 <sup>b</sup>	15.81±0.01 <sup>a</sup>	15.49±0.28 <sup>a</sup>

普鲁兰酶处理后，板栗淀粉的直链淀粉含量从 21.98% 增加到 24.92%，而平均链长无显著变化，同时 A 链、B2 链和 B3 链含量显著增加，B1 链显著含量减少。然而，湿热处理对酶解板栗淀粉链结构的影响不大，其直链淀粉含量和链长分布无显著变化。Shi 和 Seib 报道<sup>[12]</sup>链长在 14~24 的线性淀粉链（B1 链）相比于其他淀粉链更倾向于形成双螺旋结构，容易快速形成结晶。这可能导致了 ECS 和 HECS 较低的消化率。此外，较多的 A 链不仅难以组装以延缓淀粉消化，而且能够与支链淀粉纠缠，从而抑制淀粉回生。这可能导致 ECS 和 HECS 在长期回生中表现出比 CS 更低的回生度。

#### 2.4 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的短程有序结构

为了明确酶解及酶解耦合湿热处理对板栗淀

粉多尺度结构的影响及板栗淀粉分子在储存过程中的重组行为，首先测定了样品的短程有序结构，如表 4 所示。CS、ECS 和 HECS 的表面短程有序度分别为 0.355 9、0.379 4 和 0.609 9。表明酶解产生的短直链淀粉分子发生重排和聚集，从而使得 ECS 的短程有序结构显著增加。而 HECS 中更高的短程有序结构表明湿热处理促进了淀粉分子链间相互作用形成短程有序结构<sup>[13]</sup>。与未回生淀粉样品对比，CS-21d、ECS-21d 及 HECS-21d 的短程有序结构均有所增加，其中 HECS-21d 的增加幅度最低，表明 HECS 在长期回生过程中分子链发生重排形成的短程结构有所降低。

#### 2.5 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的结晶结构

由 CS、ECS 和 HECS 的 XRD 图（图 2）可知，所有淀粉样品的结晶结构均表现出典型的 C

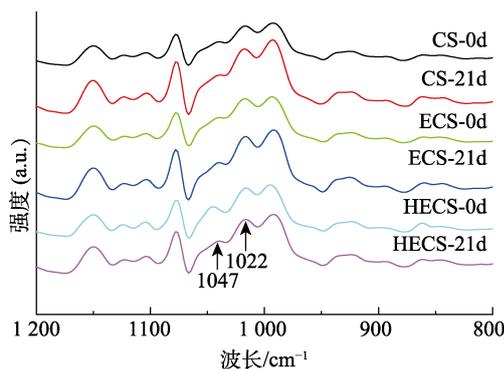


图 1 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的红外谱图  
 Fig. 1 The infrared spectrogram of chestnut starches under enzymolysis and enzymolysis coupled with hydrothermal treatment

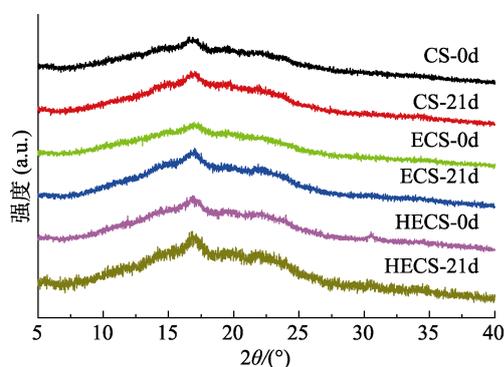


图 2 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉 X 射线衍射图谱

Fig. 2 The XRD pattern of chestnut starches under enzymolysis and enzymolysis coupled with hydrothermal treatment

型晶型<sup>[14]</sup>, 表明酶解及湿热处理并未改变板栗淀粉结晶结构的晶型。进一步计算样品的相对结晶度(RC, %), 其大小为: HECS-0d>ECS-0d> CS-0d (表 4)。ECS-0 d 的结晶度增加可能是由于普鲁兰酶作用于淀粉的无定形和部分结晶区, 导致了无定区的破坏及短直链淀粉分子的溶出, 生成的短直链淀粉分子通过重聚集形成了 A 型晶体结构<sup>[15]</sup>。

而酶解后的板栗淀粉在湿热处理过程中不稳定的晶体结构被高温破坏, 同时酶解产生的短直链淀粉分子在湿热处理过程中进一步重排, 所生成的有序化结构要多于湿热处理过程对结晶结构破坏的程度, 最终使得 HECS-0d 的相对结晶度高于 ECS-0d。

比较 CS、ECS 和 HECS 的相对结晶度在长期回生过程中的变化值 ( $\Delta RC$ ) (表 4), 发现酶解及酶解耦合湿热处理均能抑制板栗淀粉样品相对结晶度的增加, 其中 HECS 相对结晶度变化最小。这是由于酶解产生较多的游离短直链淀粉分子 (A 链) 与支链淀粉纠缠交联, 限制了支链淀粉链间相互作用, 同时产生易于重排的 B1 链分子较少, 进而降低 ECS-0d 的  $\Delta RC$ 。而湿热处理进一步促进短直链淀粉分子在支链淀粉中的扩散及与淀粉链的相互作用程度, 这导致了 HECS-0d 的  $\Delta RC$  最低。

## 2.6 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的纳米聚集体结构

分形维数  $\alpha$  的大小可用于评价有序聚集体的结构紧密程度,  $\alpha$  越大, 有序聚集体的结构紧密程度和有序化程度越大<sup>[16]</sup>。CS、ECS 以及 HECS 的纳米聚集体结构如图 4 和表 4 所示。与 CS-0d 相比, ECS-0d 的分形维数较低; 而 HECS-0d 的分形维数显著高于 CS-0d 和 ECS-0d 的分形维数。这表明酶解降低了板栗淀粉纳米聚集体紧密程度, 而湿热处理促进淀粉分子间相互作用和分子链的重排<sup>[4]</sup>, 进而提高了酶解板栗淀粉的纳米聚集体的有序度, 导致了 HECS-0d 的分形维数显著增加。

表 4 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的表面短程有序结构、结晶结构和聚集体结构  
 Table 4 Short-range ordered, crystalline and aggregate structures of chestnut starches under enzymolysis and enzymolysis coupled with hydrothermal treatment

样品	RC/%	$\Delta (RC)^*$	A-type/%	B-type/%	$R_{1047/1022}$	$\alpha$	$\Delta\alpha$
CS-0d	8.20±0.68 <sup>c</sup>	11.95±0.54 <sup>a</sup>	61.22±0.55 <sup>b</sup>	33.65±0.76 <sup>c</sup>	0.355 9±0.001 8 <sup>c</sup>	0.76±0.01 <sup>d</sup>	0.20±0.02 <sup>a</sup>
CS-21d	20.15±0.40 <sup>b</sup>		39.34±0.96 <sup>d</sup>	48.25±0.44 <sup>a</sup>	0.613 5±0.002 2 <sup>c</sup>	0.96±0.02 <sup>a</sup>	
ECS-0d	12.77±0.42 <sup>d</sup>	9.89±0.44 <sup>b</sup>	78.12±0.86 <sup>a</sup>	17.56±0.93 <sup>d</sup>	0.379 4±0.005 9 <sup>d</sup>	0.64±0.01 <sup>c</sup>	0.09±0.01 <sup>b</sup>
ECS-21d	22.66±0.45 <sup>a</sup>		48.67±0.76 <sup>c</sup>	48.72±0.26 <sup>a</sup>	0.778 4±0.002 1 <sup>a</sup>	0.75±0.01 <sup>d</sup>	
HECS-0d	16.60±0.07 <sup>c</sup>	7.29±0.52 <sup>c</sup>	65.65±0.72 <sup>b</sup>	22.98±0.18 <sup>d</sup>	0.609 9±0.005 8 <sup>c</sup>	0.87±0.01 <sup>c</sup>	0.04±0.02 <sup>c</sup>
HECS-21d	23.89±0.97 <sup>a</sup>		41.89±0.43 <sup>d</sup>	41.90±0.35 <sup>b</sup>	0.749 3±0.003 4 <sup>b</sup>	0.91±0.02 <sup>b</sup>	

注: \*:  $\Delta (RC)$  表示储藏 21 d 前后的相对结晶度的差值;  $\Delta (\alpha)$  表示储藏 21 d 前后的分形维数差值。

Note:  $\Delta (RC)$  means the difference of RC before and after 21 days of storage;  $\Delta (\alpha)$  means the difference of  $\alpha$  before and after 21 days of storage.

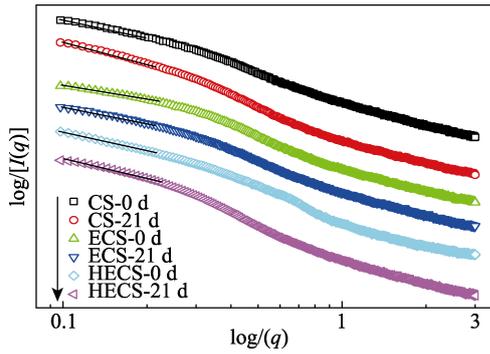


图 3 酶解及酶解耦合湿热处理板栗淀粉的 SAXS 图及分形维数拟合图

Fig.3 SAXS curves and their fitting curves for fractal structure of chestnut starches under enzymolysis and enzymolysis coupled with hydrothermal treatment

比较板栗淀粉样品的分形维数在储藏前后的变化值 $\Delta\alpha$  (表 4), 发现酶解及酶解耦合湿热处理均能抑制板栗淀粉分形维数的增加, 其中 HECS 的分形维数变化最小。这是由于酶解产生的短直链淀粉分子能延缓板栗淀粉分子在长期回生过程中的分子重排行为, 而湿热处理提高了短直链淀粉分子的扩散, 进而增大其与支链淀粉的纠缠程度, 最终使得 HECS 的 $\Delta\alpha$  低于 CS 和 ECS。

### 3 结论

本研究探究了酶解以及酶解耦合湿热处理对板栗淀粉消化率、回生性能和多尺度结构的影响。结果显示, 普鲁兰酶通过水解支链淀粉侧链增加了板栗淀粉的直链淀粉含量和 A 链含量, 提高了短程有序结构和结晶结构, 从而降低了淀粉消化率; 湿热处理进一步提高了淀粉短程有序结构、结晶结构和纳米聚集体结构, 最终导致淀粉消化率进一步降低。在长期储存过程中, 由于酶解导致更短的 A 链增加及易于重排的 B1 链降低, 使得淀粉形成的结晶结构和纳米聚集体结构较少, 从而降低了淀粉的回生程度; 而进一步的湿热处理促进了 A 链分子与其他分子的相互作用, 加剧抑制淀粉分子重排程度, 导致回生程度持续降低。

### 参考文献:

[1] LIU C, WANG S, CHANG X, et al. Structural and functional properties of starches from Chinese chestnuts[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 43: 568-76.  
[2] HAO H, LI Q, BAO W, et al. Relationship between physicochemical

characteristics and in vitro digestibility of chestnut (*Castanea mollissima*) starch[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 84: 193-9.  
[3] CHI C, LI X, ZHANG Y, et al. Progress in tailoring starch intrinsic structures to improve its nutritional value[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113.  
[4] TAN X, LI X, CHEN L, et al. Effect of heat-moisture treatment on multi-scale structures and physicochemical properties of breadfruit starch[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 161: 286-94.  
[5] CHUNG H J, LIU Q, HOOVER R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 75(3): 436-47.  
[6] LIN L, ZHANG L, CAI X, et al. The relationship between enzyme hydrolysis and the components of rice starches with the same genetic background and amylopectin structure but different amylose contents[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 84: 406-13.  
[7] ALHAMBRA C M, DE GUZMAN M K, DHITAL S, et al. Long glucan chains reduce in vitro starch digestibility of freshly cooked and retrograded milled rice[J]. Journal of Cereal Science, 2019, 86: 108-16.  
[8] GUDMUNDSSON M. Retrogradation of starch and the role of its components[J]. Thermochimica Acta, 1994, 246(2): 329-41.  
[9] BAIK M Y, KIM K J, CHEON K C, et al. Recrystallization kinetics and glass transition of rice starch gel system[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(11): 4242-8.  
[10] ENGLYST H N, CUMMINGS J H. Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine[J]. The American journal of clinical nutrition, 1985, 42(5): 778-87.  
[11] LIN J H, CHANG Y H. Effects of type and concentration of polyols on the molecular structure of corn starch kneaded with pullulanase in a Farinograph[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(2-3): 340-7.  
[12] SHI Y C, SEIB P A. The structure of four waxy starches related to gelatinization and retrogradation[J]. Carbohydrate Research, 1992, 227, 131-145.  
[13] SUN H, FAN J, TIAN Z, et al. Effects of treatment methods on the formation of resistant starch in purple sweet potato[J]. Food Chemistry, 2022, 367.  
[14] HUANG T T, ZHOU D N, JIN Z Y, et al. Effect of repeated heat-moisture treatments on digestibility, physicochemical and structural properties of sweet potato starch[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 54: 202-10.  
[15] LI Q, WU Q Y, JIANG W, et al. Effect of pulsed electric field on structural properties and digestibility of starches with different crystalline type in solid state[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 207: 362-70.  
[16] CAI L, SHI Y C. Preparation, structure, and digestibility of crystalline A- and B-type aggregates from debranched waxy starches[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 105: 341-50. 完

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lpspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。