

制备工艺对高直链玉米淀粉—硬脂酸 复合物性质的影响

Influences of preparation process on the properties of high amylose corn starch-stearic acid complex

张雯^{1,2} 刘步瑜² 吴卫成² 袁高峰¹ 张治国²

ZHANG Wen^{1,2} LIU Buyu² WU Weicheng² YUAN Gaofeng¹ ZHANG Zhiguo²

(1. 浙江海洋大学食品与药学院, 浙江 舟山 316022; 2. 浙江省农业科学院食品科学研究所, 浙江 杭州 310021)

(1. School of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022, China;

2. Food Science Institute, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, Zhejiang 310021, China)

摘要: [目的] 优化高抗性淀粉(RS)含量的淀粉—脂质复合物制备工艺, 探究工艺参数对复合物抗消化性的影响。 [方法] 采用单因素试验和正交设计研究了高直链玉米淀粉(HA)预处理及其与硬脂酸(SA)络合过程中温度和时间参数对复合物 RS 含量的影响, 分析最优工艺制备的 HA-SA 复合物的理化性质、抗消化性及水合特性。 [结果] 在糊化温区继续升高预处理温度、延长预处理时间、络合温度高于 75 °C 均导致 RS 含量显著降低 ($P < 0.05$); HA-SA 复合物最优制备工艺为: HA 经 85 °C 的退火温度预处理 12 h 后, 在 75 °C 与 SA 络合 90 min; 所制备的 HA-SA 具有 V 型晶体特征、完整的淀粉颗粒, 为 I 型淀粉—脂质复合物; 与 HA 相比, 其热稳定性、抗消化性显著升高, 但膨胀力显著降低 ($P < 0.05$)。 [结论] 退火温度预处理和适宜的络合温度有利于 HA-SA 中 RS 组分的形成; 预处理过程中加热强度的增加使淀粉过度糊化, 阻碍了直链淀粉与脂质的络合, 络合过程中过高的温度也导致复合物中 RS 组分的解离, 使 RS 含量降低; 退火预处理使 HA 保留了完整的颗粒结构, 是 HA-SA 抗消化性高的原因之一。

关键词: 高直链玉米淀粉; 硬脂酸; 淀粉—脂质复合物; 热稳定性; 抗消化性

Abstract: [Objective] This study aimed to establish a preparation process for starch-lipid complex with high resistant starch (RS)

content and to explore the effects of process parameters on the anti-digestibility of the complex. [Methods] Using RS content as the indicator, one-way experimental and orthogonal designs were employed to study the effects of temperature and time parameters during the pretreatment of high amylose corn starch (HA) and its complexation with stearic acid (SA). The physicochemical properties, anti-digestibility, and hydration characteristics of the HA-SA complex prepared by the optimal process were analyzed. [Results] Increasing pretreatment temperature in the gelatinization temperature range, prolonging the pre-treatment time, and complexing temperature above 75 °C all led to a significant decrease in RS content of HA-SA ($P < 0.05$). The optimal process was as following: HA being pretreated at an annealing temperature of 85 °C for 12 h, and then complexed with SA at 75 °C for 90 min. The prepared HA-SA showed the V-type crystalline pattern and entire starch granules shape, and was characterized as the type I complex. It also presented the significantly enhanced thermal stability, bettered anti-digestibility, and lowered swelling power than HA ($P < 0.05$). [Conclusion] Annealing temperature pretreatment and optimal complexation temperature favored to prepare the starch-lipid complex with higher anti-digestibility and entire granule structure. Excessive thermal strength during pretreatment causing excessive gelatinization could impede the formation of RS in the complexes. And a complexation temperature over 75 °C led to the disassociation of the complexation, decreasing the RS content. Annealing pretreatment preserved the entire starch granule of HA, which was one of the reasons for the higher digestibility of HA-SA.

Keywords: high amylose corn starch; stearic acid; starch-lipid complex; thermal stability; anti-digestibility

基金项目: 国家重点研发计划项目政府间国际科技创新合作专项 (编号: 2022YFE0123100); 浙江省“尖兵领雁+X”研发攻关计划 (编号: 2024C04017)

作者简介: 张雯, 女, 浙江海洋大学在读硕士研究生。

通信作者: 张治国 (1977—), 男, 浙江省农业科学院高级工程师, 博士。E-mail: zhangkii@126.com

收稿日期: 2024-01-26 **改回日期:** 2024-06-01

淀粉是人类膳食中的主要供能营养素,也是引起餐后血糖应答的主要原因。基于消化速率差异,Englyst 等^[1]将淀粉分为快消化淀粉(rapidly digestible starch, RDS)、慢消化淀粉(slowly digestible starch, SDS)和抗性淀粉(resistant starch, RS)。其中,RS 不被小肠内的淀粉酶消化,但可被肠道菌群发酵,维持餐后血糖稳态,促进肠道有益菌的增殖,并产生短链脂肪酸、胆汁酸等有益代谢物^[2]。临床干预试验证实了膳食补充 RS 在调节超重或肥胖、糖尿病人群餐后血糖乃至空腹血糖等方面的有益效果^[3-4]。如今,随着糖尿病、肥胖等代谢性疾病高发,RS 的开发应用逐渐成为迫切需求。

根据来源和理化性质,RS 可被分为 5 种类型,包括被完整地物理包被的淀粉(RS1 型)、高直链淀粉(RS2 型)、老化淀粉(RS3 型)、化学修饰淀粉(RS4 型)和淀粉与脂质络合形成的复合物(RS5 型)^[2]。其中,RS5 具有较高的酶抗性,并且热加工可以进一步增加其抗消化性^[5-6],表现出较好的加工稳定性。此外,经肠道菌群发酵后,与 RS2 和 RS3 相比,RS5 产生更多对人体肠道健康及免疫系统调节起着关键作用的丁酸;比 RS2 更大程度上降低了发酵体系 pH,为益生菌的繁殖提供了适宜的微生态环境^[7],呈现更好的健康功效,因而更受关注。

淀粉-脂质复合物是由脂质的疏水碳链嵌入直链淀粉的单螺旋疏水腔形成的 V 型晶体结构,该结构在 2θ 13.0° 和 20.0° 附近呈现特征衍射峰,被广泛用于淀粉-脂质复合物的鉴别^[8]。国内外学者广泛报道了以玉米淀粉、薯类淀粉、大米淀粉、小麦淀粉、豆类淀粉等为原料,与不同链长和饱和度的脂质复合,制备得到淀粉-脂质复合物,并分析了其热稳定性、抗消化性和黏度特性等^[9-11],通过对比分析发现复合物的结构、热稳定性、抗消化性等受淀粉种类、直链淀粉聚合度、脂肪酸种类、链长、饱和度等因素的影响及其规律^[8]。这些研究为 RS5 型抗性淀粉制备提供了原料选择依据。

淀粉-脂质复合物的制备过程中,淀粉经历了预处理和络合两个阶段:在预处理阶段,淀粉的天然晶体结构被破坏,使直链淀粉获得足够的分子动能,为与脂质络合提供必要条件;在络合阶段,直链淀粉缠绕形成内部疏水的左旋单螺旋结构,脂质分子的疏水碳链嵌入螺旋的疏水腔,依靠疏水作用力与其络合形成 V 型晶体结构^[12-13]。目前报道的预处理方式主要是将淀粉经远高于其糊化温度的热处理,使其彻底糊化^[10-11],或糊化后再经脱支酶处理^[5],使直链淀粉彻底释放,所制备的淀粉-脂质复合物具有不规则的形状和层状多孔的微观结构^[11]。Zhang 等^[14]报道,玉米淀粉经退火预处理(即在高于玻璃化转变温度但低于糊化起始温度的条件下热处理),可与月桂酸络合形成具有完整颗粒结构、较高热稳定性和剪切稳定性的淀粉-脂质复合物。说明预处理阶

段不同的热处理强度会导致淀粉-脂质复合物结构的较大差异,并可能进一步引起其理化性质的变化。在络合阶段,较低的络合温度($<60^\circ\text{C}$)下,主要形成无明显结晶区域、热稳定性较低的 I 型复合物;而在较高的温度($>90^\circ\text{C}$)下,形成具有明显半结晶区域、热稳定性较高的 II 型复合物^[15]。但 Sun 等^[16]报道, 75°C 下络合制备的玉米淀粉-油酸复合物的晶体熔融温度和 RS 含量显著高于在 95°C 下制备的复合物。Yassaroh 等^[12]报道,在 $72\sim 90^\circ\text{C}$ 范围内,马铃薯淀粉-硬脂酸复合物的结晶度随络合温度的升高而降低。这些研究表明,预处理和络合阶段的热效应对淀粉-脂质复合物的结构、热稳定性和抗消化性有重要影响。然而,当前的研究主要关注络合阶段的温度对其热稳定性的影响,鲜有资料系统地评估制备各阶段的热效应对产物抗消化性的影响,而这一研究对 RS5 型抗性淀粉高效制备工艺的的建立尤为重要。

研究拟以高直链玉米淀粉(high amylose corn starch, HA)和硬脂酸(stearic acid, SA)为原料制备 RS5 型抗性淀粉,探究预处理和络合阶段的温度和时间对复合物中 RS 含量的影响,通过单因素试验和正交优化退火预处理制备高 RS 含量的淀粉-脂质复合物的工艺,并分析其晶体特征、微观结构、热学性质、淀粉水解性和加工适应性,以期阐明制备工艺对复合物的热稳定性、抗消化性和加工适应性的影响及其规律,建立高效的 RS5 型抗性淀粉制备技术提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

高直链玉米淀粉:直链淀粉含量为 69.08%,糊化温度范围为 $88.00\sim 104.73^\circ\text{C}$,广州健达生物科技有限公司;

硬脂酸(纯度 $\geq 98\%$)、胰酶(1:4 000)、胃蛋白酶(猪源,1:3 000)、直链淀粉标准品(来源于马铃薯,含量为 68%):上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

淀粉葡萄糖苷酶(260 U/g)、 α -淀粉酶(来源于猪胰腺, ≥ 5 U/mg):美国 Sigma-Aldrich 公司;

总淀粉检测试剂盒(K-TSTA-100A)、葡萄糖检测试剂盒(K-GLUC):爱尔兰 Megazyme 公司;

无水乙醇、氢氧化钠、三氯乙酸、碘化钾、氯化钾、碘、乙酸钠、盐酸、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、马来酸、无水氯化钙:分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

可拆洗破壁机:SP53S 型,浙江苏泊尔股份有限公司;

智能磁力搅拌器:YRGS 型,郑州卓成仪器科技有限公司;

恒温振荡器:SHA-B型,上海力辰邦西仪器科技有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-8000型,上海元析仪器有限公司;

台式冷冻离心机:H21000R型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

差示量热扫描仪:DSC214 Polyma型,德国NETZSCH公司;

X射线衍射仪:D8 ADVANCE型,德国Bruker公司;

扫描电子显微镜:Regulus 8100型,日本Hitachi公司。

1.2 方法

1.2.1 高直链玉米淀粉—硬脂酸复合物(HA-SA)制备

参考Chang等^[17]的方法,修改如下:称取适量HA置于烧杯中,加入蒸馏水配制成40%的淀粉乳,以保鲜膜封口(针刺小孔以释压),放入恒温磁力搅拌器的水浴锅内,以设定的预处理温度水浴搅拌(100 r/min)一定时间;打开封口,按 $m_{HA}:m_{SA}=5:2$ 加入SA(溶于50%乙醇)后,以预处理相同的温度、200 r/min快速搅拌15 min,使SA分布均匀,同时挥去乙醇;再将烧杯封口,以设定的络合温度、100 r/min继续水浴搅拌一定时间,促进SA与HA络合。所得复合物冷却至室温,1 500 × g离心10 min,沉淀用50%的乙醇溶液洗涤3次,除去未结合的脂肪酸,37 °C烘干,粉碎并过100目筛。

(1) 单因素试验:对HA-SA制备过程中的预处理温度、预处理时间、络合温度、络合时间4个因素进行单因素试验,根据复合物中RS的含量评价工艺参数对HA-SA形成的影响。

单因素试验中,4个因素的考察范围依次为:预处理温度80~95 °C;预处理时间9~21 h;络合温度65~85 °C;络合时间60~180 min。当作为固定因素时,预处理温度为85 °C、预处理时间为15 h、络合温度为75 °C、络合时间为120 min。

(2) 正交优化:根据单因素试验的结果(络合时间对RS含量的影响不显著),使用Minitab 19.1软件设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,考察预处理温度、预处理时间、络合温度3个工艺参数对复合物中RS含量的影响,优化出HA-SA制备的最佳工艺。

1.2.2 晶体结构分析 采用X射线衍射测定HA和HA-SA的晶体结构差异。分析条件为:铜 $K\alpha$ 辐射为X射线源,在 $5^\circ\sim 40^\circ$ 范围内作 2θ 扫描,扫描速率为 $7^\circ/\text{min}$,步长为 0.05° ,采用Highscore plus 3.0e软件分析衍射数据。

1.2.3 显微结构分析 样品用双面胶固定于样品台上,

喷金,在加速电压为3 kV条件下,在1 000和4 000放大倍数下观察淀粉的表面形态。

1.2.4 热学性质分析 采用差示量热扫描法测定HA和HA-SA的糊化温度。准确称取待测样品3.0 mg置于铝坩埚中,加入2倍样品质量的去离子水,密封,于4 °C平衡24 h,以空坩埚为空白对照,以 $10^\circ/\text{min}$ 的速度,于30~130 °C范围内扫描热量变化,记录吸热峰的起始温度(T_o)、峰值温度(T_p)、终止温度(T_c)和吸热焓值(ΔH)。

1.2.5 水合特性分析

(1) 溶解度和膨胀力:参考Lee等^[18]的方法,修改如下:称取200 mg样品,加入10 mL去离子水,混匀。分别置于55,65,75,85,95 °C水浴中磁力搅拌30 min。待样品冷却至室温后,15 000 × g离心10 min,分别收集上清液和沉淀物,于105 °C恒重。分别根据式(1)和式(2)计算样品的溶解度(solubility, S)和膨胀力(swelling power, SP)。

$$S = \frac{m_1}{m_0} \times 100\%, \quad (1)$$

$$Y_{SP} = \frac{m_2}{m_0 \times (1-S)} \times 100, \quad (2)$$

式中:

S——溶解度,%;

Y_{SP} ——膨胀力,g/g;

m_0 ——样品原始质量,g;

m_1 ——上清液干燥后质量,g;

m_2 ——沉淀物干燥后质量,g。

(2) 直链淀粉渗漏:参考Chrastil^[19]的方法,修改如下:称取直链淀粉标准品,加入1 mL无水乙醇和4.5 mL 1 mol/L NaOH溶液,混匀,沸水浴10 min,冷却至室温后,定容至50 mL,配制为2.0 mg/mL的直链淀粉标准溶液。分别吸取1.0,3.0,5.0,7.0,9.0 mL直链淀粉标准溶液,加入去离子水定容至10.0 mL,配制成不同浓度的直链淀粉工作液。分别吸取上述工作液0.10 mL,加入5 mL 0.5%三氯乙酸溶液和0.05 mL 0.01 mol/L KI-I₂溶液,涡旋混匀,室温避光反应30 min,620 nm处测定吸光值,计算标准曲线回归方程。取待测样品100 mg,加入2 mL去离子水,分别于55,65,75,85,95 °C水浴中磁力搅拌30 min,再冷却至室温,4 °C、10 000 × g离心10 min,取上清液0.1 mL,加入三氯乙酸溶液和KI-I₂溶液,混匀后室温避光反应,620 nm处测定吸光值,根据标准曲线计算上清液中的直链淀粉含量,以及样品在处理温度下的直链淀粉渗漏量。

1.2.6 体外消化评价

(1) 淀粉消化谱分析:参考吕欣欣^[20]的方法,修改如下:称取200 mg待测样品,加入5.0 mL乙酸钠缓冲液(0.25 mol/L, pH 5.2, 含20 mmol/L CaCl₂),磁力搅拌

30 min 使其完全分散,沸水浴 20 min 后,再置于 37 °C 水浴中恒温 10 min。向样品中加入 10 mL 胃蛋白酶溶液 (5 mg/mL),于相同条件下继续恒温 30 min。然后,向样品中加入 6 个玻璃珠和 5 mL 乙酸钠缓冲液,37 °C 恒温 30 min 后,再加入 2 mL 混合酶液 (130 U/mL 胰酶 + 260 U/mL 淀粉葡萄糖苷酶),在 37 °C、160 r/min 条件下水浴振荡消化 120 min。分别于消化至 0,20,120 min 时,取 50 μ L 消化液,加入 950 μ L 无水乙醇,混匀,3 500 \times g 离心 10 min。取 0.1 mL 上清液,采用葡萄糖检测试剂盒测定不同消化时间下的葡萄糖浓度。采用总淀粉试剂盒测定样品的总淀粉含量,根据式(3)~式(5),计算样品中快消化淀粉(RDS)、慢消化淀粉(SDS)、抗性淀粉(RS)含量。

$$R_{RDS} = \frac{m_{20} - m_0}{m_{TS}} \times 0.9 \times 100\%, \quad (3)$$

$$R_{SDS} = \frac{m_{120} - m_{20}}{m_{TS}} \times 0.9 \times 100\%, \quad (4)$$

$$R_{RS} = 1 - R_{RDS} - R_{SDS}, \quad (5)$$

式中:

R_{RDS} ——样品中快消化淀粉含量,%;

R_{SDS} ——样品中慢消化淀粉含量,%;

R_{RS} ——样品中抗性淀粉含量,%;

m_{TS} ——样品中总淀粉的质量,mg;

m_{20} ——20 min 模拟消化后样品水解产生的葡萄糖质量,mg;

m_{120} ——120 min 模拟消化后样品水解产生的葡萄糖质量,mg;

0.9——葡萄糖折算为淀粉的换算系数。

(2) 模拟消化升糖指数(eGI):参考 Granfeldt 等^[21]的方法,作如下修改:100 mg 待测样品中加入 2 mL 去离子水,涡旋混匀,沸水浴 20 min。待样品冷却至室温后,加入 10 mL HCl-KCl 缓冲液(0.1 mol/L, pH 1.5),涡旋混合 40 s 后,再加入 0.2 mL 胃蛋白酶溶液(5 mg/mL),37 °C、150 r/min 水浴振荡 1 h。胃蛋白酶消化完成后,向样品中加入 15 mL 的 Tris-马来酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 6.9,含 4 mmol/L $CaCl_2$)和 5 mL α -淀粉酶溶液(0.52 U/mL),涡旋混匀,37 °C、150 r/min 水浴振荡 3 h。每 30 min 吸取 1.0 mL 消化液,沸水浴 5 min 后冷却至室温后,分别加入 3.0 mL 乙酸钠缓冲液(0.4 mol/L, pH 4.75)和 60 μ L 淀粉葡萄糖苷酶(3 300 U/mL),60 °C 水浴 45 min 后,3 500 \times g 离心 10 min,取 0.1 mL 上清液,采用葡萄糖氧化酶法测其葡萄糖含量,计算相应时间点样品的水解率,绘制水解率变化曲线,计算曲线下面积。以白面包为对照样品,以待测样品与对照样品淀粉水解率曲线下面积的比值计算水解指数(hydrolysis index, HI),根据式(6)计算样品 eGI 值。

$$Y_{eGI} = (0.682 \times X_{HI}) + 8.198, \quad (6)$$

式中:

Y_{eGI} ——样品的估算血糖生成指数;

X_{HI} ——样品的水解指数。

1.2.7 数据处理与分析 试验均重复测定 3 次,数据以平均值士标准偏差表示。采用 SPSS 26.0 进行统计分析, $P < 0.05$ 视为差异显著。采用 Origin pro 22.0 进行数据绘图。

2 结果与分析

2.1 预处理和络合参数对 RS 形成的影响

预处理温度对 RS 含量的影响见图 1(a)。在固定的络合条件下(75 °C, 90 min),预处理温度从 85 °C 升高至 90 °C,复合物中 RS 含量显著升高($P < 0.05$),继续升高至 95 °C,RS 含量下降,但仍显著高于 85 °C($P < 0.05$)。固定预处理温度为 90 °C,随着预处理时间的延长,RS 含量总体呈下降趋势,预处理时间对 RS 含量影响显著($P < 0.05$),见图 1(b)。

研究表明,淀粉-脂质复合物的抗消化性受直链淀粉聚合度(DP)的影响,DP < 30 的直链淀粉与脂肪酸络合形成热稳定性较低的 I 型复合物,且不会增加淀粉的抗消化性;DP 为 100~900 时,复合物的热稳定性和抗消化性均随 DP 增大而增加^[8]。虽然 HA 的直链淀粉 DP 为 392.0~561.8 时^[22],有利于与 SA 形成热稳定性和抗消化性好的复合物。但淀粉糊化会使支链淀粉中的短直链被释放出来,可与 SA 形成不具有抗消化性、热稳定性弱的 I 型复合物,并可能竞争性抑制长直链与 SA 的络合。试验使用的 HA 的糊化温度区间为 88.00~104.73 °C,预处理温度从 90 °C 升高到 95 °C 加剧了 HA 的糊化程度,可能导致更多短直链片段的释放,并可能使部分直链淀粉断裂形成短直链片段,因而表现出更低的 RS 含量。85 °C 预处理时,RS 含量随时间延长呈降低趋势[图 1(b)],也是热处理时间延长导致糊化程度增加引起的。虽然该温度尚未达到糊化起始温度,但 Jayakody 等^[23]认为,低于糊化起始温度的退火热处理时,淀粉的糊化已经开始。

络合温度对 RS 含量的影响见图 1(c)。在 55~85 °C 范围内,复合物中 RS 含量先升高后降低,75 °C 时 RS 含量为(24.32 \pm 1.61)%,显著高于其他温度的($P < 0.05$)。Sun 等^[16]报道,经糊化预处理的普通玉米淀粉(6% 淀粉乳,95 °C,30 min)在 75 °C 下与油酸的络合指数、络合产物的抗消化性和结晶度显著高于 95 °C,表明更多的淀粉-油酸复合物的形成。加热处理可以使不稳定的 I 型复合物解离成直链淀粉和脂肪酸,并在较高温度下重新络合成热稳定性较高的 II 型复合物。因此,络合温度超过 75 °C 时,RS 含量的降低可能是 I 型复合物解离造成

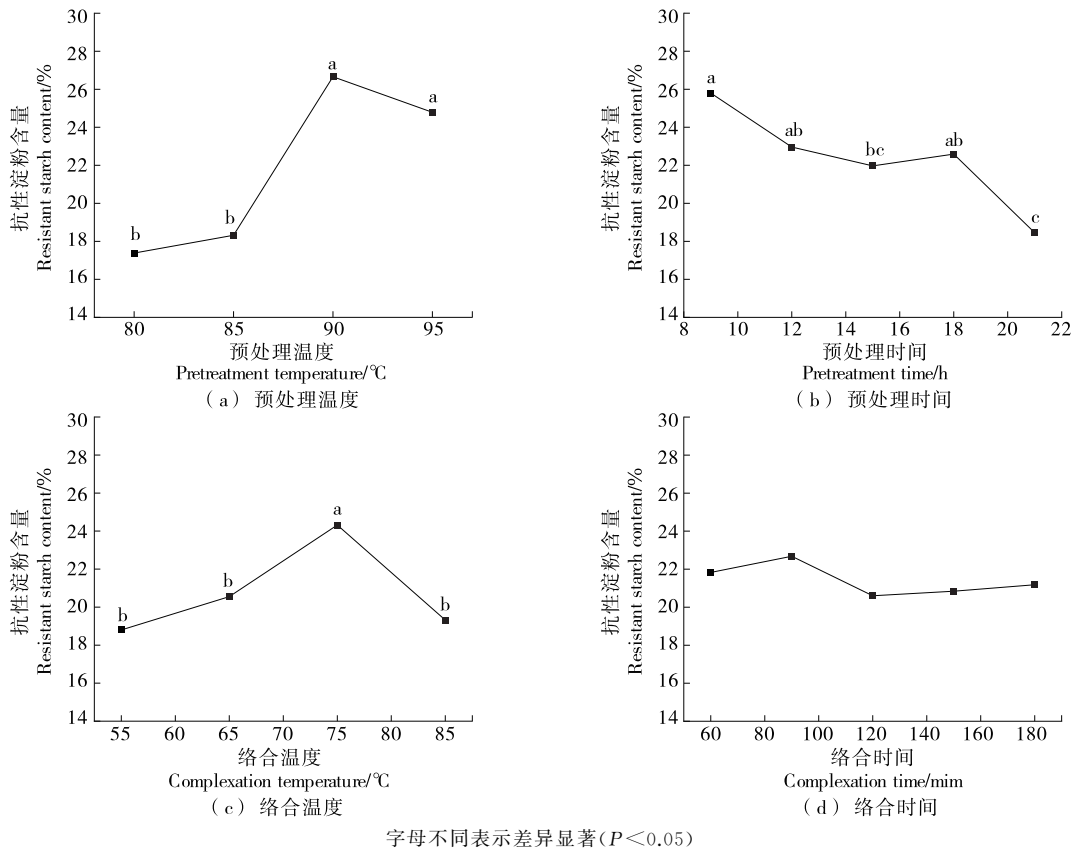


图1 预处理温度、预处理时间、络合温度和络合时间对高直链玉米淀粉—硬脂酸复合物(HA-SA)中抗性淀粉含量的影响

Figure 1 Effects of pretreatment temperature and time, and complexation temperature and time on the resistant starch content in HA-SA

的,虽然形成了热稳定性更高的V型晶体,但会导致抗消化的淀粉—脂质复合物含量的降低。

固定络合温度为75℃,络合时间对RS含量的影响见图1(d)。在试验范围内,不同的络合时间制备的复合物中RS含量差异不显著。这可能是由于络合温度较低,HA与SA分子络合速度较快有关^[15]。超过90 min后,RS含量略有降低,但在120~180 min范围内呈升高趋势,这可能也是不稳定I型复合物解离后重新络合成II型复合物的结果。

2.2 HA-SA制备工艺正交优化结果

由于络合时间对RS含量的影响不显著,因此,将络合时间固定为90 min,研究预处理温度、预处理时间和络合温度对RS含量的影响。正交试验的因素水平取值见表1,试验设计与结果见表2。根据极差分析的R值,各因素对RS含量的影响顺序依次为:络合温度>预处理温度>预处理时间。以RS的最大生成量为目标,最佳的HA-SA制备条件为:预热温度85℃,预热时间12 h,络合温度75℃,络合时间120 min。

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Levels and factors of $L_9(3^4)$ orthogonal design

水平	A 预处理温度/℃	B 预处理时间/h	C 络合温度/℃
1	85	12	65
2	90	15	75
3	95	18	85

最优的预处理温度落在HA的退火温度区间,说明HA可在未完全糊化的条件下与SA发生络合。Zhang等^[14]报道了普通玉米淀粉经50℃退火24 h,可与油酸络合形成具有V型晶体结构的复合物。其他学者^[8, 20]也报道,未达糊化程度的热处理后的淀粉,可与脂质形成具有完整颗粒结构的淀粉—脂质复合物。极差分析的k值表明,预处理温度升高到糊化温区(90, 95℃),以及延长预处理时间反而导致RS含量的下降(见表2),进一步说明糊化程度增加不利于SA与直链淀粉络合。

在络合阶段,75℃络合时复合物中RS含量最高,高于或低于此温度都导致RS含量下降。Sun等^[16]报道了类似的结果,即75℃络合制备的普通玉米淀粉—油酸复

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal experiment results

试验号	A	B	C	抗性淀粉含量/%
1	1	1	1	37.49±1.36
2	1	2	2	39.24±1.67
3	1	2	3	29.20±2.15
4	2	1	2	35.76±0.74
5	2	2	3	30.44±2.94
6	2	3	1	28.03±1.89
7	3	1	3	27.22±1.67
8	3	2	1	27.29±1.88
9	3	3	2	32.61±1.92
k_1	35.31	33.49	30.94	最优因素组合:
k_2	31.41	33.32	35.87	$A_1B_1C_2$
k_3	29.04	29.95	28.95	
R	6.27	3.54	6.92	

合物的 RS 含量显著高于在 95 °C 下制备的复合物;X-衍射图谱表明,95 °C 络合产物仅表现出 V 型晶体的特征衍射峰,而 75 °C 络合产物中,除了 V 型晶体的特征峰,还存在直链淀粉之间或其他支链淀粉聚合物的衍射峰,使产物呈现更高的长程和短程有序性,因而贡献了更多的 RS 组分。

2.3 X-衍射图谱分析

HA 和 HA-SA 的 X-衍射图谱见图 2。HA 在 2θ 17.0° 呈现最强衍射峰,在 5.6°,15.0°,19.7°,22.2°,24.0° 附近出现相对较弱的衍射峰,呈现 B 型淀粉晶体特征^[22,24]。HA-SA 的最强衍射峰在 2θ 19.7°,在 13.0° 附近出现较宽的衍射峰,表现出 V 型淀粉晶体的衍射特征^[8],与其他学者^[10,14,25] 报道的淀粉-脂质复合物 X-衍射特征一致。

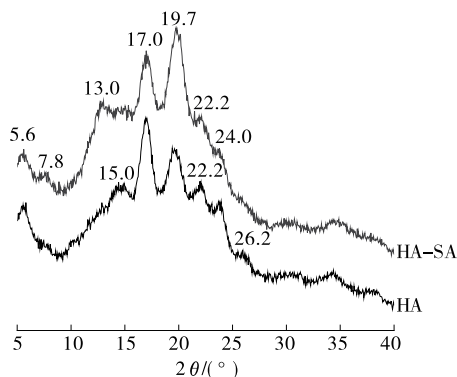


图 2 高直链玉米淀粉(HA)及其硬脂酸复合物(HA-SA)的 X 衍射图谱

Figure 2 XRD patterns of high amylose maize starch (HA) and its complex with stearic acid (HA-SA)

2θ 7.8° 的衍射峰一般被认为是游离的脂质峰^[8],但也有学者^[10] 认为是 V 型晶体的衍射峰。此外,HA 在 2θ 19.7° 附近也存在较强的衍射峰,说明其中存在一定量的天然的 V 型淀粉晶体^[22]。

2.4 显微结构分析

采用扫描电镜观察了 HA 和 HA-SA 的表面形态,见图 3。HA 主要呈球形、椭圆形,少数呈棒状及其他不规则形状,未经处理的 HA 颗粒表面光滑。85 °C 退火处理 12 h,再与 SA 络合形成的复合物仍然保持了完整的淀粉颗粒结构,但其表面粗糙,出现不同程度的细纹,部分淀粉颗粒表面出现隆起,其颗粒粒径与 HA 无显著差异。Chen 等^[25]、Zhang 等^[14] 在退火法制备不同淀粉-脂质复合物中都观察到完整的淀粉颗粒结构,这与退火预处理时淀粉未完全糊化有关。而经完全糊化预处理制备的淀粉-脂质复合物,其淀粉颗粒形态完全消失,呈现出形状不规则的、致密的层状结构^[8,11]。退火过程中,淀粉颗粒吸水膨胀,干燥后其粒径仍显著增大^[23];而该研究以及 Chen 等^[25] 的研究中,淀粉-脂质复合物的粒径并未出现显著增大,这可能是由于直链淀粉与脂质的络合增加了淀粉颗粒的疏水性,限制了其吸水膨胀。

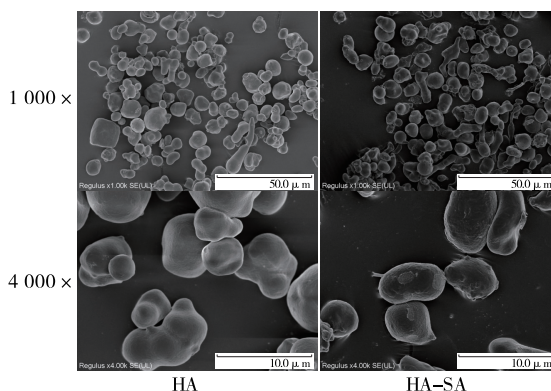


图 3 高直链玉米淀粉(HA)及其与硬脂酸复合物(HA-SA)的扫描电镜图

Figure 3 Micrographs of high amylose maize starch (HA) and its complex with stearic acid (HA-SA)

2.5 DSC 分析

采用差示量热扫描仪分析了 HA 和 HA-SA 的热性质,结果见表 3。HA 的糊化吸热峰在 88.00~104.73 °C,其 T_0 、 T_p 和 T_c 均明显高于普通玉米淀粉,这与其较高的直链淀粉含量有关^[22]。HA-SA 在 97.05~107.46 °C 出现一个吸热峰,该峰与淀粉-脂质复合物的熔融有关,其 T_0 、 T_p 、 T_c 和 ΔH 均显著高于 HA ($P < 0.05$),说明热稳定性显著增加,与前人^[14] 报道的淀粉-脂质复合物的热学性质一致。HA-SA 的糊化温度范围 (T_0 - T_c) 显著低于

表 3 DSC 试验结果[†]

Table 3 Results of DSC analysis

样品	起始温度	峰值温度	终值温度	糊化温度范围	熔融焓
	$T_o/^\circ\text{C}$	$T_p/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$T_o-T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H/(\text{J}\cdot\text{g}^{-1})$
HA	88.00±1.04 ^b	95.67±1.06 ^b	104.73±1.83 ^b	15.57±1.50 ^a	2.59±0.11 ^b
HA-SA	97.05±0.21 ^a	102.79±0.15 ^a	107.46±0.41 ^a	10.41±0.62 ^b	4.80±0.21 ^a

† 同列字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

HA($P<0.05$),这与彻底糊化预处理制备的淀粉—脂质复合物中,其糊化温度范围显著增大的现象不一致^[26]。HA-SA的糊化温度范围减小的现象可能与其退火预处理有关。Jayakody等^[23]认为,退火过程中,直链淀粉与支链淀粉之间重新聚合形成结构均一度较高的多晶型物质,导致其糊化温度范围的减小。

淀粉—脂质复合物的晶体熔融吸热峰在90~140 $^\circ\text{C}$,I型复合物的峰值温度在95~105 $^\circ\text{C}$,II型复合物的峰值温度一般大于110 $^\circ\text{C}$ ^[10,15]。Sun等^[10]对5种淀粉进行彻底糊化处理后,在75 $^\circ\text{C}$ 下与豆蔻酸络合90 min,形成的复合物在90~130 $^\circ\text{C}$ 范围内呈现2个吸热峰,其中普通玉米淀粉和高直链玉米淀粉(直链淀粉含量59.47%)—豆蔻酸复合物的 T_{p1} 和 T_{p2} 分别在102,120 $^\circ\text{C}$ 附近。试验中,退火预处理及75 $^\circ\text{C}$ 络合形成的HA-SA只有一个吸热峰,其 T_p 与Sun等^[10]报道的高直链玉米淀粉—豆蔻酸的 T_{p1} 接近,且根据其 T_p 值,推测其为I型复合物。Zhang等^[14]报道,经退火预处理的普通玉米淀粉与油酸的复合物也只有一个吸热峰,即使其络合温度高于95 $^\circ\text{C}$,其 T_p 也低于Sun等^[10]报道的玉米淀粉—豆蔻酸复合物的 T_{p1} (98.92 $^\circ\text{C}$ vs. 102.24 $^\circ\text{C}$)。淀粉和脂肪酸性质的差异固然是造成这些复合物晶体熔融峰值温度差异的主要原因^[6],预处理方法可能也是重要的影响因素,退火预处理制备的淀粉—脂质复合物的热稳定性可能低于彻底糊化预处理制备的复合物。

2.6 水合特性

淀粉的膨胀力、溶解度和直链淀粉渗漏量可反映淀粉在加热条件下的水合能力,是其加工特性的重要参

考^[27]。55~95 $^\circ\text{C}$ 下HA和HA-SA的膨胀力、溶解度和直链淀粉渗漏量变化见表4。

温度从55 $^\circ\text{C}$ 升高到95 $^\circ\text{C}$,HA的膨胀力变化幅度虽然不大(2.43~4.24 g/g),但随温度升高而显著增加($P<0.05$),其溶解度在85 $^\circ\text{C}$ 及以上才随温度升高而显著增大($P<0.05$),但直连淀粉渗漏在75 $^\circ\text{C}$ 以上即随温度增加显著增大($P<0.05$),说明HA在75 $^\circ\text{C}$ 时可能已经开始糊化,85 $^\circ\text{C}$ 的溶解度达糊化峰值温度(95 $^\circ\text{C}$)的62%,已呈部分糊化状态。Jayakody等^[23]也认为,淀粉的加热糊化始于其退火温度阶段。

然而,温度升高仅导致HA-SA的膨胀力在狭窄的范围内波动(2.90~3.43 g/g),且在各温度之间无显著差异;其溶解度呈阶梯式变化,即:65 $^\circ\text{C}$ 溶解度显著高于55 $^\circ\text{C}$ ($P<0.05$),65~75 $^\circ\text{C}$ 无显著变化,75 $^\circ\text{C}$ 之后随温度升高而显著增大($P<0.05$);其直链淀粉渗漏量也在75 $^\circ\text{C}$ 以上随温度增加而显著增大($P<0.05$),但其增幅远小于HA。此外,由表4可知,HA-SA的膨胀力和直链淀粉渗漏量在85,95 $^\circ\text{C}$ 时显著低于HA($P<0.05$)。但是,在各温度下,HA-SA溶解度都显著大于HA($P<0.05$)。

直链淀粉主要以无定形形式存在于淀粉颗粒中,当淀粉颗粒糊化且支链淀粉膨胀时,直链淀粉会从颗粒中释放出来^[28-29]。直链淀粉—脂质络合物的形成在淀粉分子表面形成一层不溶性薄膜,阻碍了水分子的渗透,从而进一步限制了淀粉颗粒的溶胀,也导致HA-SA的直链淀粉渗漏量的减少^[30]。HA-SA溶解度的增加可能与淀粉在85 $^\circ\text{C}$ 退火处理时的部分糊化有关。退火处理过程

表 4 不同温度下的膨胀力、溶解度和直链淀粉渗漏量[†]

Table 4 Swelling power, solubility, and amylose leaching under different temperatures

温度/ $^\circ\text{C}$	膨胀力/ $(\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$		溶解度/%		直链淀粉渗漏量/ $(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	
	HA	HA-SA	HA	HA-SA	HA	HA-SA
55	2.43±0.09 ^{e,B}	3.34±0.12 ^A	1.55±0.41 ^{c,B}	3.55±0.21 ^{d,A}	0.50±0.04 ^{d,A}	0.40±0.01 ^{d,B}
65	2.71±0.18 ^d	3.32±0.38	1.56±0.03 ^{c,B}	5.39±0.24 ^{c,A}	0.56±0.11 ^d	0.58±0.03 ^d
75	3.04±0.07 ^c	2.93±0.09	1.53±0.06 ^{c,B}	5.83±0.43 ^{c,A}	3.46±0.22 ^{c,A}	0.98±0.04 ^{c,B}
85	3.83±0.04 ^{b,A}	2.90±0.03 ^B	5.11±0.15 ^{b,B}	6.91±0.24 ^{b,A}	6.72±0.20 ^{b,A}	1.27±0.28 ^{b,B}
95	4.24±0.03 ^{a,A}	3.06±0.07 ^B	8.20±0.58 ^{a,B}	9.24±0.15 ^{a,A}	8.22±0.14 ^{a,A}	1.78±0.10 ^{a,B}

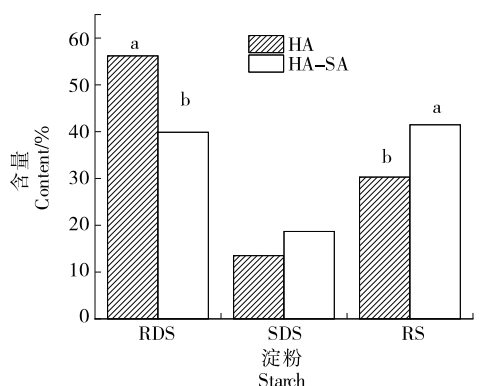
† 小写字母不同表示不同温度之间差异显著($P<0.05$);大写字母不同表示不同样品之间差异显著($P<0.05$)。

中,淀粉内部的双螺旋结构被破坏,淀粉颗粒产生裂隙或孔径增大^[23],使得颗粒内部的淀粉片段更容易进入溶液中,因而 HA-SA 呈现较高的溶解度。

2.7 体外消化特性分析

体外模拟消化结果表明,退火预处理制备的 HA-SA 中,RS 含量达到 41.47%,显著高于 HA,RDS 含量则显著降低($P < 0.05$),SDS 含量也有一定程度的升高,但与 HA 差异不显著[见图 4(a)],说明复合物的生成使 HA 中的部分 RDS 转化为 SDS 和 RS。进一步分析了 180 min 内淀粉水解率的变化,结果见图 4(b)。在 30~150 min 范围内,HA-SA 的淀粉水解率显著低于 HA ($P < 0.05$),表现出较好的抗消化性。以白面包为参照,计算得 HA 和 HA-SA 的 eGI 值分别为 55.92 和 42.77,复合物的 eGI 值仅为 HA 的 76.48%,表现出更好的低 GI 特性。

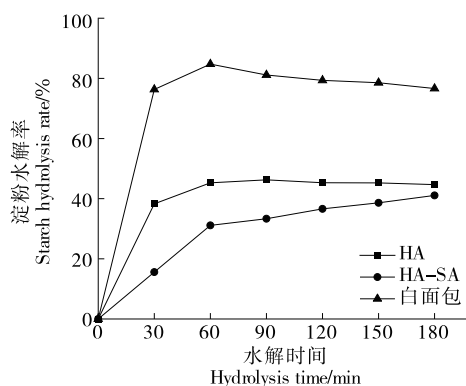
抗消化性是淀粉—脂质复合物的重要性质之一。



字母不同表示不同样品之间差异显著($P < 0.05$)

(a) 淀粉消化淀粉谱

Krishnan 等^[8]认为,直链淀粉与脂质络合形成包裹紧密的微小晶球,这些晶球平行聚集并紧密贴附于淀粉颗粒表面,形成更有序的层状晶体形态,从而阻碍了酶与淀粉颗粒的接触,限制了其酶解过程。然而,Zhang 等^[14]通过激光共聚焦显微镜观察了退火预处理制备的马铃薯淀粉—月桂酸复合物中月桂酸的分布,发现月桂酸主要位于淀粉颗粒内部,且集中在淀粉颗粒的中央。Liu 等^[30]将淀粉—脂质复合物的抗消化性归因于其螺旋构象。这一构象阻止了直链淀粉的分散及其与淀粉酶的结合,阻碍了其消化进程^[31]。试验中,HA-SA 的直链淀粉渗漏量显著下降说明了直链淀粉自由度的降低,其与消化酶结合的概率也大幅降低;此外,高于 85 °C 的预处理温度也会导致复合物中 RS 含量的降低(表 2),这可能与过度糊化导致淀粉颗粒结构被破坏有关,说明 HA-SA 完整的颗粒结构也可能是其较高抗消化性的原因之一。



(b) 淀粉水解曲线

图 4 高直链玉米淀粉(HA)及其硬脂酸复合物(HA-SA)的体外消化特性

Figure 4 Starch digestion profile and starch hydrolyzation curve of high amylose maize starch(HA)and its complex with stearic acid (HA-SA) during simulated digestion *in vitro*

3 结论

(1) 高直链玉米淀粉经 85 °C 的退火温度处理 12 h,在 75 °C 与硬脂酸络合 90 min,可形成具有完整颗粒结构的 I 型淀粉—脂质复合物,表现出较高的热稳定性、低膨胀力和良好的抗消化性。

(2) 预处理温度、时间和络合温度对高直链玉米淀粉—硬脂酸复合物中抗性淀粉含量有显著影响。过高的预处理温度和延长预处理时间增加了淀粉糊化程度,高于 75 °C 络合温度都不利于抗消化组分的形成。

(3) 高直链玉米淀粉—硬脂酸复合物的抗消化性与其相对完整的淀粉颗粒结构有关,也与硬脂酸的络合导致其疏水性增加,阻碍了淀粉与消化酶的接触有关。

参考文献

[1] ENGLST H N, KINGMANK S M, CUMMINGS J H. Classification

and measurement of nutritionally important starch fractions [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 1992, 46(Suppl 2): 33-50.
 [2] WEN J J, LI M Z, HU J L, et al. Resistant starches and gut microbiota[J]. Food Chemistry, 2022, 387: 132895.
 [3] PUGH J E, CAI M Z, ALTIERI N, et al. A comparison of the effects of resistant starch types on glycemic response in individuals with type 2 diabetes or prediabetes: a systematic review and meta-analysis[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1118229.
 [4] WANG Y, CHEN J, SONG Y H, et al. Effects of the resistant starch on glucose, insulin, insulin resistance, and lipid parameters in overweight or obese adults: a systematic review and meta-analysis [J]. Nutrition & Diabetes, 2019, 9: 19.
 [5] QIN R B, YU J L, LI Y F, et al. Structural changes of starch-lipid complexes during postprocessing and their effect on *in vitro* enzymatic digestibility [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(5): 1 530-1 536.
 [6] CAIC X, TIAN Y Q, SUN C R, et al. Resistant structure of extruded

- starch: effects of fatty acids with different chain lengths and degree of unsaturation[J]. *Food Chemistry*, 2022, 374: 131510.
- [7] QIN R B, WANG J, CHAO C, et al. RS5 produced more butyric acid through regulating the microbial community of human gut microbiota[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69 (10): 3 209-3 218.
- [8] KRISHNAN V, MONDAL D, THOMAS B, et al. Starch-lipid interaction alters the molecular structure and ultimate starch bioavailability: a comprehensive review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 182: 626-638.
- [9] OYEYINKA S A, SINGH S, AMONSOU E O. A review on structural, digestibility and physicochemical properties of legume starch-lipid complexes[J]. *Food Chemistry*, 2021, 349: 129165.
- [10] SUN S L, HONG Y, GU Z B, et al. Different starch varieties influence the complexing state and digestibility of the resulting starch-lipid complexes[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 141: 108679.
- [11] KANG X M, JIA S Q, GAO W, et al. The formation of starch-lipid complexes by microwave heating [J]. *Food Chemistry*, 2022, 382: 132319.
- [12] YASSAROH Y, WOORTMAN A J J, LOOS K. Physicochemical properties of heat-moisture treated, stearic acid complexed starch: the effect of complexation time and temperature[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 175: 98-107.
- [13] GUTIÉRREZ T J, TOVAR J. Update of the concept of type 5 resistant starch (RS5): self-assembled starch V-type complexes[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 109: 711-724.
- [14] ZHANG X, WANG Y S, CHEN H H. Effect of annealing temperature on morphology and physicochemical properties of cornstarch complexed with oleic acid and molecular dynamics simulation[J]. *Cereal Chemistry*, 2019, 96: 668-677.
- [15] LI L, LIU Z D, ZHANG W H, et al. Production and applications of amylose-lipid complexes as resistant starch: recent approaches[J]. *Starch-Stärke*, 2021, 73(5/6): 2000249.
- [16] SUN S L, HONG Y, GU Z B, et al. An investigation into the structure and digestibility of starch-oleic acid complexes prepared under various complexing temperatures[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 138: 966-974.
- [17] CHANG F D, HE X W, FU X, et al. Effects of heat treatment and moisture contents on interactions between lauric acid and starch granules[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62 (31): 7 862-7 868.
- [18] LEE M H, KIM H R, LIM W S, et al. Formation of debranched wheat starch-fatty acid inclusion complexes using saturated fatty acids with different chain length [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 141: 110867.
- [19] CHRASTIL J. Improved colorimetric determination of amylose in starches or flours [J]. *Carbohydrate Research*, 1987, 159 (1): 154-158.
- [20] 吕欣欣. 高直链玉米淀粉与交联淀粉结构及消化性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021: 9.
- LU X X. Study on the structure and digestibility of high amylose corn starch and cross-linked starch[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021: 9.
- [21] GRANFELDT Y, BJÖRCK I, DREWS A, et al. An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1994, 59(3): 777S-777S.
- [22] OBADI M, QI Y J, XU B. High-amylose maize starch: structure, properties, modifications and industrial applications [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 299: 120185.
- [23] JAYAKODY L, HOOVER R. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins: a review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 74 (3): 691-703.
- [24] POZO C, RODRÍGUEZ-LLAMAZARES S, BOUZA R, et al. Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis [J]. *Journal of Polymer Research*, 2018, 25(12): 266.
- [25] CHEN X Y, WANG C F, HE X Y, et al. The physicochemical properties of a starch-sodium stearyl lactylate complex formed via annealing treatment in ethanol solutions [J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 135: 108181.
- [26] CHEN H H, QIN F M, WANG Y S, et al. Effect of complexation temperature on thermal properties and enzymatic hydrolysis of starch-oleic acid complexes[J]. *Cereal Chemistry*, 2017, 94(2): 237-241.
- [27] SINGH N, SINGH S, ISONO N, et al. Diversity in amylopectin structure, thermal and pasting properties of starches from wheat varieties/lines [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009, 45(3): 298-304.
- [28] KAWAI K, TAKATO S, SASAKI T, et al. Complex formation, thermal properties, and in-vitro digestibility of gelatinized potato starch-fatty acid mixtures[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 27(1): 228-234.
- [29] YANG Y Y, JIAO A Q, ZHAO S N, et al. Effect of removal of endogenous non-starch components on the structural, physicochemical properties, and in vitro digestibility of highland barley starch[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 117: 106698.
- [30] LIU Q, WANG Y H, YANG Y Y, et al. Structure, physicochemical properties and in vitro digestibility of extruded starch-lauric acid complexes with different amylose contents[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 136: 108239.
- [31] LUO S J, ZENG Z L, MEI Y X, et al. Improving ordered arrangement of the short-chain amylose-lipid complex by narrowing molecular weight distribution of short-chain amylose[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 240: 116359.