

ТРАНСФОРМАЦИЯ ВОДНЫХ КЛАСТЕРОВ ВО ВЛАЖНЫХ КРАХМАЛАХ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ УСЛОВИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

© 2017 г. Т.В. Белопольская, Г.И. Церетели, Н.А. Грунина*, О.И. Смирнова

Санкт-Петербургский государственный университет, 198504, Старый Петергоф, ул. Ульяновская, 1

*Государственный университет гражданской авиации, 196210, Санкт-Петербург, ул. Пилотов, 38

E-mail: nagrunina@mail.ru

Поступила в редакцию 30.11.16 г.

Методом дифференциальной сканирующей калориметрии исследована трансформация распределения водных кластеров во влажном картофельном крахмале (27–45% воды) при изменении температуры от -50 до $+80^{\circ}\text{C}$. Наблюдаемая трансформация существенно различается для областей температур ниже и выше 0°C . При $T < 0^{\circ}\text{C}$ как при охлаждении, так и при нагревании возможна реорганизация исходного распределения водных кластеров по размерам, характерного для комнатной температуры. Такие изменения могут приводить к увеличению среднего размера кластеров как при кристаллизации, так и при плавлении. Интенсивность происходящей трансформации зависит от содержания воды и скорости сканирования и различается для нативного и аморфного состояний крахмала. При этом распределение кластеров по размерам остается одномодальным. В то же время нагревание влажного нативного крахмала до температур, близких к началу его аморфизации (75 – 80°C), приводит к бимодальному распределению за счет появления крупных водных кластеров, что увеличивает гетерогенность распределения воды внутри нативных гранул.

Ключевые слова: калориметрия, крахмал, водные кластеры, кристаллизация, плавление, распределение по размерам.

Настоящая работа является продолжением калориметрических исследований тепловых свойств вымораживаемой воды (ВВ), диспергированной во влажных крахмалах. Часть этих исследований была опубликована ранее в работах [1,2]. В этих же статьях было приведено описание особенностей архитектуры нативных гранул крахмала, основанное на представлениях, изложенных в работах [3,4]. В данной работе основное внимание сконцентрировано на особенностях структуры гранул, связанной с гетерогенностью распределения в них воды [5,6]. К настоящему времени установлено, что распределение воды в грануле по всему ее объему неравномерно. В гранулах, размеры которых в зависимости от происхождения крахмала варьируют от 1 до 100 мкм, существуют расположенные примерно по окружности чередующиеся зоны различной плотности, так называемые «кольца роста». Ширина этих зон составляет доли микрона. Менее плотные кольца содержат в основном аморфную фазу. Значительную часть более плотных колец составляет кристал-

лическая фаза. Каждый отдельный кристаллит имеет размер ~ 10 нм. Содержание кристаллогидратной, т.е. невымораживаемой, связанной воды в нанокристаллитах строго фиксировано для каждого из реализуемых в природных крахмалах типов кристаллических решеток (А- и В-типы) [7]. Содержание воды в аморфной фазе нативной гранулы может изменяться в широких пределах, но не может превышать 50% для всех типов крахмалов. При влажности крахмала выше 23–24% именно эта часть воды является вымораживаемой, т.е. кристаллизуется при переохлаждении относительно ее $T_{\text{пл}}$ [4]. В работах [8–15] было показано, что эта вода сильно диспергирована и образует кластеры наномасштаба, параметры плавления которых зависят от их размера.

Основной задачей настоящей работы является более детальное изучение трансформации водных кластеров во влажных крахмалах под воздействием меняющихся условий их окружения. Вопрос об изменении размеров кластеров при изменении концентрации компонент в системе «крахмал–вода» обсуждался ранее [1]. Этот вопрос в основном связан с изменением границы между вымораживаемой и невыморажи-

Сокращения: ВВ – вымораживаемая вода, ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия.

ваемой водой не только в крахмалах, но и в других биополимерах [1,16,17]. В данной работе рассмотрена трансформация распределения водных кластеров, характерного для крахмалов с разной влажностью при комнатной температуре, которая происходит в результате изменения температуры как ниже, так и выше 0°C. Кроме того, обсуждается процесс установления концентрационного равновесия воды после различного теплового воздействия на крахмал как в нативном, так и в аморфном состояниях. При этом значительное внимание обращено на обратимость (необратимость) всех обсуждаемых процессов.

Исследование трансформации водных кластеров в биополимерной матрице имеет большое значение как для научных, так и для прикладных целей. Результаты такого исследования важны прежде всего для понимания физических процессов, сопровождающих замораживание/размораживание содержащих крахмал веществ. Полученные результаты могут быть использованы для выработки конкретных условий, обеспечивающих сохранение жизнеспособности различных биополимеров и биотканей после хранения при низких температурах. Проведенное исследование кристаллизации и плавления ВВ может также способствовать выяснению причин, приводящих к ухудшению потребительских качеств крахмалосодержащих продуктов питания, косметических и лекарственных препаратов в процессе повышения температуры их хранения в области температур как ниже, так и выше 0°C.

МЕТОДИКА

Методика эксперимента подробно описана в предыдущих работах [1,2], посвященных проявлению размерного эффекта в процессах плавления и кристаллизации диспергированной воды в нативном и аморфном крахмале с различной степенью гидратации. Исследования выполнены методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) на калориметре DSC111 (SETARAM Instrumentation, Франция). Измерения проводили как в режиме нагревания в интервале температур, охватывающем в целом, в зависимости от задачи, диапазон от -50 до 110°C, так и в режиме охлаждения в области температур от 25 до -50°C. Скорость нагревания и охлаждения образцов была одинаковой и равнялась в основном 5 град/мин. Концентрация воды в исследуемой системе «картофельный крахмал-вода» варьировала от 27 до 45%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведены термограммы процессов плавления и кристаллизации вымораживаемой воды в картофельном крахмале при различных концентрациях. Эти данные в первую очередь наглядно демонстрируют существование гистерезиса между процессами плавления и кристаллизации ВВ как в нативном, так и в аморфном состояниях крахмала. Ранее были опубликованы результаты обработки таких термограмм по температурам и теплотам этих процессов, свидетельствующие о сложной зависимости этих параметров от содержания воды в крахмале [1,2]. Было установлено, что для теплот плавления и кристаллизации ВВ и в нативном, и в аморфном крахмале наблюдается размерный эффект, в то время как для температур этих процессов размерный эффект характерен лишь для его нативного состояния. Что касается аморфного состояния крахмала, то полученная зависимость температур плавления и кристаллизации водных кластеров носит другой характер.

В то же время установленный экспериментально факт существования различий между параметрами процессов плавления и кристаллизации водных кластеров в обоих состояниях влажного крахмала заставляет предположить, что при нагревании и охлаждении происходит их перестройка. Иными словами, имеет место изменение распределения водных кластеров, характерного для нативного и аморфного состояний крахмала при комнатной температуре. (Здесь важно подчеркнуть, что для установления равновесного распределения заданной влажности как по всему объему, так и по грануле крахмала все образцы после приготовления были выдержаны в течение суток при $T_{\text{комн}}$.)

В настоящей работе значительное внимание уделено анализу формы наблюдаемых кривых плавления и кристаллизации ВВ в крахмалах с различной влажностью. Подчеркнем, что, по нашему мнению, форма кривых плавления ВВ в крахмалах, получаемая с помощью ДСК, отражает распределение водных кластеров по размерам, хотя и зависит от условий сканирования [1,2]. Такие же представления лежат в основе анализа кривых плавления и других кристаллических наноструктур, в частности нанокристаллитов частично кристаллических синтетических полимеров [18–20], кристаллических структур собственно крахмалов [21,22], а также упорядоченных вторичных структур биополимеров [23,24]. Интересно, однако, что предпринятые нами попытки трансформировать форму кривой плавления ВВ в нативном крахмале

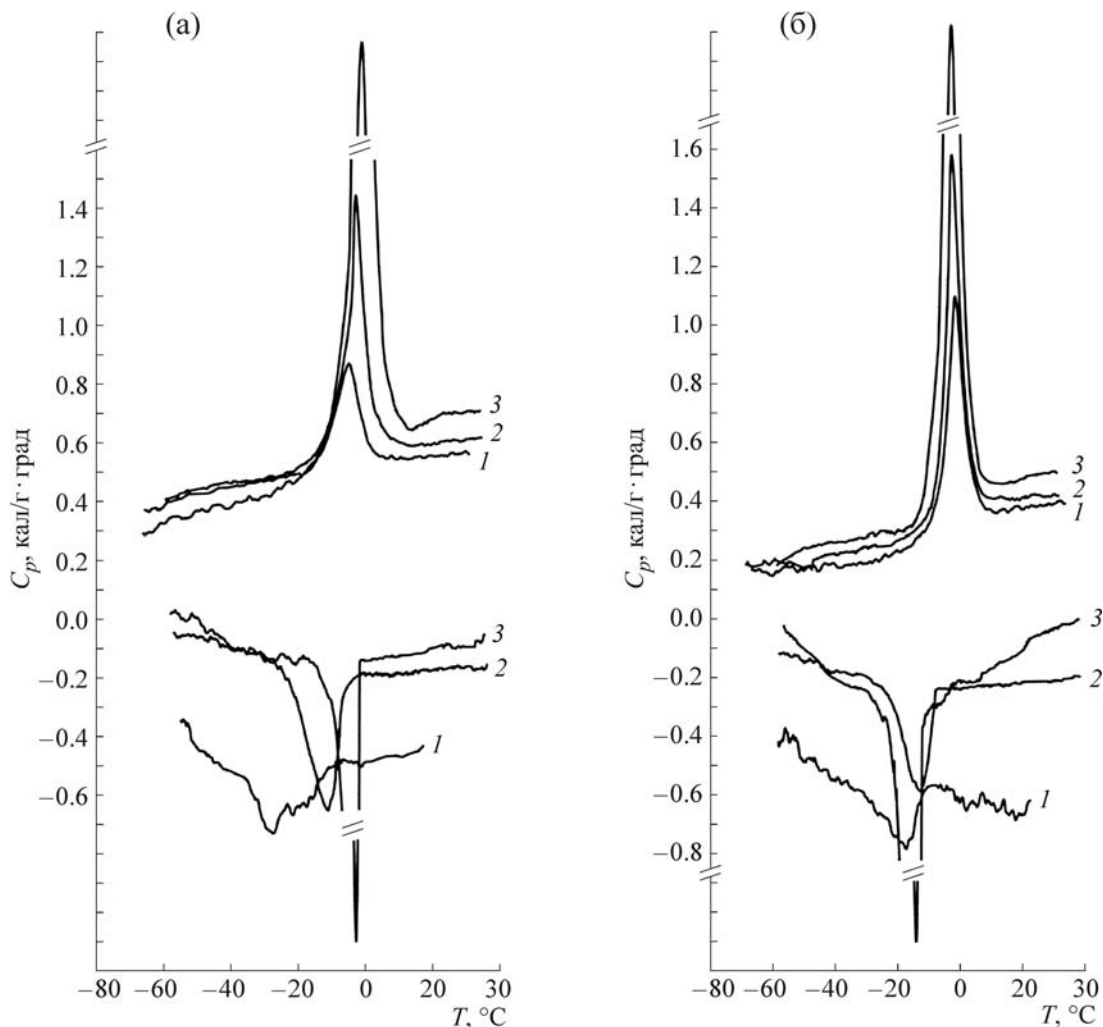


Рис. 1. Термограммы нагревания/охлаждения в области плавления/кристаллизации ВВ в нативном (а) и аморфном (б) картофельном крахмале при различных концентрациях воды (%): 1 – 30, 2 – 35, 3 – 45; $V_{\text{нагр}} = V_{\text{охл}} = 5$ град/мин.

путем отжига образца при различных температурах вблизи и внутри интервала перехода дали отрицательный результат. В то же время хорошо известно, что опыты подобного рода при плавлении собственно полимерных и биополимерных кристаллических структур приводят к существенной трансформации их кривых плавления [18–24].

Далее возникает естественный вопрос: что же отражает получаемая с помощью ДСК кривая кристаллизации ВВ в биополимере? В этом случае связать непосредственно температуры кристаллизации с размером водных кластеров, как это принято делать для процесса их плавления [1,2,25,26], не представляется возможным. Известно, что интенсивность проявления кристаллизации переохлажденной жидкости определяется двумя кинетическими факторами: скоростью процесса зародышеобразования и ско-

ростью роста кристаллов, а именно, соотношением скоростей этих процессов, а также степенью их перекрывания на оси температур при заданной скорости охлаждения [27]. Тем не менее проследить за относительным изменением размеров кластеров на основе имеющихся данных по соответствующим изменениям значений температур и теплот кристаллизации ВВ в зависимости от ее содержания в крахмале, а также теплового воздействия, на наш взгляд, вполне возможно.

Полученные данные свидетельствуют о том, что исходное распределение водных кластеров в крахмале с фиксированной влажностью может трансформироваться как при нагревании, так и при охлаждении. Интенсивность возможной трансформации зависит от ряда факторов, таких как концентрация воды в крахмале, скорость нагревания и охлаждения, а также тем-

пература прогревания крахмала в диапазоне существования его в нативном состоянии.

Трансформация водных кластеров в нативных и аморфных крахмалах при температурах ниже 0°C. Сравнение температур плавления и кристаллизации ВВ в крахмалах с разной влажностью. Как подчеркивалось выше, во всем рассмотренном интервале концентраций воды сопоставление кривых плавления и кристаллизации ВВ в картофельном крахмале с фиксированной влажностью демонстрирует их различное расположение относительно друг друга на соответствующих термограммах нагревания и охлаждения (рис. 1).

Вначале обсудим *нативное состояние*. Было получено, что при увеличении степени гидратации крахмала с 27 до 45% температура начала процесса плавления ВВ (T_0) практически не изменяется и составляет -20°C . Оценка размеров кластеров с такой температурой плавления, с использованием известного уравнения Гиббса–Томсона, дает величину порядка 1 нм. Если $T_{\text{пл}}$ ВВ в крахмале составляет -1°C , то определяемый размер – ~ 40 нм. Заметим, что проводимая оценка зависит также от используемой величины теплоты плавления. С учетом реальной, полученной экспериментально величины удельной теплоты плавления ВВ в крахмале определяемые размеры водных кластеров будут больше.

Из рис. 1а следует, что кривые плавления ВВ образцов крахмала с меньшей влажностью находятся внутри кривых плавления образцов с большей влажностью. При этом полуширина кривых плавления ($\Delta T_{\text{пл}}/2$) с ростом концентрации воды изменяется не очень сильно, уменьшаясь с 9 до 6°C .

В отличие от процесса плавления ВВ в картофельном крахмале минимальная влажность, при которой нам удалось достаточно отчетливо при выбранной скорости сканирования зафиксировать экзотермический максимум кристаллизации, составила 29% [2]. В процессе охлаждения конечная температура кристаллизации ВВ при увеличении степени гидратации крахмала в диапазоне 30–45% смещается от -40 до -20°C . При этом температура максимума кривой кристаллизации $T_{\text{кр}}$ изменяется от -30 до -2°C . В итоге кривые кристаллизации ВВ для крахмалов с влажностью 30 и 45%, в отличие от кривых плавления, практически не перекрываются (рис. 1а). Кроме того, из приведенных данных следует, что полуширина кривых кристаллизации ВВ ($\Delta T_{\text{кр}}/2$) в этом интервале изменения влажности крахмала резко уменьшается, а именно с 20 до $3\text{--}4^\circ\text{C}$, т.е. в

пять–шесть раз. Полученные результаты свидетельствуют о том, что чем больше содержание ВВ в крахмале, тем быстрее проходит процесс ее кристаллизации. Более того, эти результаты позволяют предположить, что при охлаждении в процессе кристаллизации образцов с высокой влажностью (45%) в исходном распределении водных кластеров по размерам, характерном для $T_{\text{комн}}$, происходит существенное изменение. Кластеры наименьшего размера, присутствие которых отчетливо проявляется при влажности 30%, не видны на термограммах образцов с влажностью 45%. По-видимому, в этом случае происходит процесс присоединения мелких кластеров к более крупным, следствием которого и является перераспределение воды внутри гранулы крахмала. При этом нанокластеры с теплотой кристаллизации порядка $2,5$ кал/г поглощаются полностью, а с теплотой ~ 20 кал/г – частично. Такой процесс представляется довольно естественным, поскольку является термодинамически выгодным, приводя к уменьшению поверхностной энергии водных кластеров. Из приведенных данных также следует вывод о высокой подвижности самых мелких кластеров переохлажденной воды в интервале температур от -40 до -20°C .

Аморфное состояние крахмала. Было установлено, что рассмотренное выше различие соотношений между кривыми плавления и кристаллизации ВВ в крахмале в зависимости от влажности наблюдается только для его нативного состояния. В аморфном крахмале, как следует из рис. 1б, при изменении степени гидратации от 27 до 45% кривые плавления небольших по размеру водных кластеров расположены, как и в нативном крахмале, внутри кривой плавления крупных кластеров. При этом кристаллизация ВВ в аморфном крахмале проходит также в одной и той же области температур независимо от влажности (рис. 1б), чем существенно отличается от кристаллизации в нативном состоянии. Как указано в работе [2], последнее естественно связать со свойствами самой биополимерной матрицы. Как известно, различные влажные биополимеры после теплового разрушения в них нативных структур (коллаген [28,29], глобулярные белки и ДНК [30,31] и крахмалы [31–33]) переходят в стеклообразное состояние. Температура стеклования в аморфном крахмале, как и в других денатурированных биополимерах, сильно зависит от влажности и в исследованном в настоящей работе интервале концентраций лежит ниже 0°C [31] (см. рис. 2). На этом же рисунке приведена зависимость температуры аморфизации ($T_{\text{пл}}$ нанокристаллитов) крахмала от его степени гид-

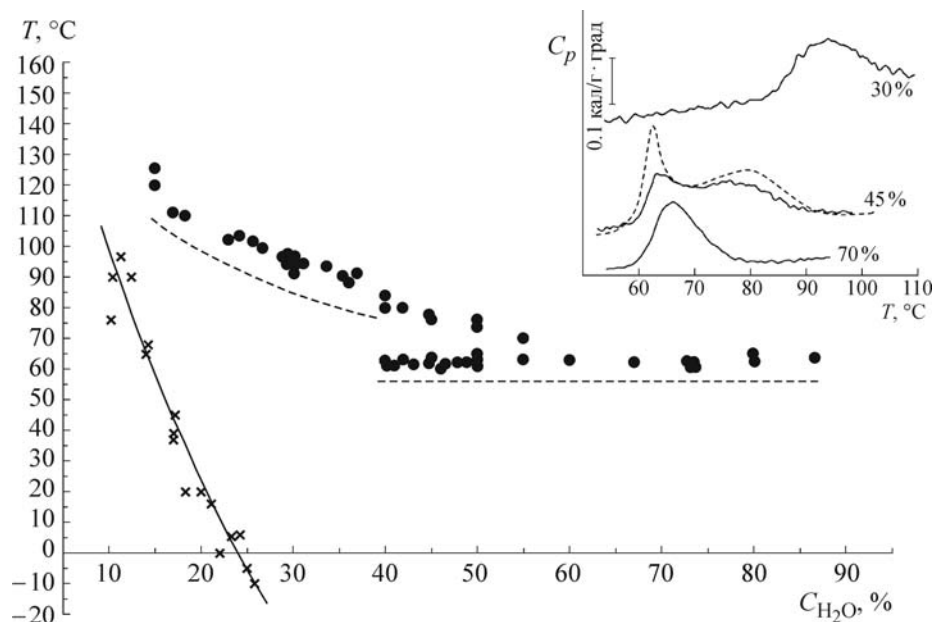


Рис. 2. Зависимости температур аморфизации (кружки) [24] и стеклования (крестики) [31] картофельного крахмала от влажности. Пунктирная линия соответствует температуре начала процесса аморфизации (T_0). На врезке приведены термограммы нагревания нативного картофельного крахмала с различным содержанием воды. Сплошная линия соответствует $V_{\text{нагр}} = 5$ град/мин, пунктирная линия – $V_{\text{нагр}} = 1$ град/мин.

ратации [32] (обсуждение этой зависимости см. ниже). Таким образом, в аморфном состоянии биополимерная матрица в исследуемой области температур находится в высокоэластическом состоянии, которое характеризуется более высокой молекулярной подвижностью полимерных цепей и системы «крахмал–вода» в целом по сравнению с нативным состоянием, что и приводит к изменению условий для кристаллизации ВВ в аморфном крахмале.

Итак, используемые в настоящей работе условия регистрации процесса кристаллизации ВВ позволили установить, что при охлаждении на-

Значения теплот всех рассматриваемых процессов, определенные из сглаженных кривых $Q(C_{\text{H}_2\text{O}})$, построенных по экспериментальным данным работы [2]

$C_{\text{H}_2\text{O}}, \%$	$Q_{\text{пл}}^{\text{N}},$ кал/г	$Q_{\text{кр}}^{\text{N}},$ кал/г	$Q_{\text{пл}}^{\text{D}},$ кал/г	$Q_{\text{кр}}^{\text{D}},$ кал/г
30	3,6	2,5	5,5	2,5
32	4,0	2,7	5,8	2,5
34	5,2	3,7	6,8	2,9
36	7,1	5,3	8,7	4,0
38	9,5	7,7	11,0	6,0
40	12,4	10,8	13,5	8,8
42	15,4	14,3	16,0	12,2
44	18,8	17,8	18,8	15,6

тивных гранул крахмала в области температур ниже 0°C происходит процесс укрупнения водных кластеров.

Сравнение теплот плавления и кристаллизации ВВ для нативных и аморфных образцов крахмала. Ранее сопоставление наблюдаемых значений теплот плавления и кристаллизации водных кластеров, нормированных на полную массу образца, для нативного и аморфного состояний картофельного крахмала показало, что $Q_{\text{пл}}$ ВВ во всех случаях больше, чем $Q_{\text{кр}}$ [2]. Для обсуждения в данной работе относительных изменений значений теплот всех рассматриваемых процессов в таблице приведены их значения, определенные из сглаженных кривых $Q(C_{\text{H}_2\text{O}})$, построенных по экспериментальным данным из работы [2]. Именно эти значения (нормированные на полную массу образца) будем использовать в дальнейшем, обозначая их для простоты как «теплота плавления ВВ» и «теплота кристаллизации ВВ» в крахмале.

Из данных, приведенных в таблице, видно, что в нативном состоянии при низких влажностях разница $Q_{\text{пл}}^{\text{N}} - Q_{\text{кр}}^{\text{N}}$ составляет 1–2 кал/г, а в аморфном – $Q_{\text{пл}}^{\text{D}} - Q_{\text{кр}}^{\text{D}} = 3–5$ кал/г. Важно при этом понимать, что $Q_{\text{пл}}$, независимо от условий нагревания, относится к полному количеству расплавившейся ВВ, а $Q_{\text{кр}}$ – к тому количеству, которое «успело» закристаллизоваться при заданных условиях эксперимента.

Из таблицы также следует, что при одной и той же влажности теплота плавления ВВ в аморфном крахмале $Q_{\text{пл}}^{\text{D}}$ во всех случаях выше, чем в нативном, $Q_{\text{пл}}^{\text{N}}$. Следует помнить, что приведенные значения $Q_{\text{пл}}^{\text{D}}$ ВВ получены при плавлении ВВ непосредственно после аморфизации. Через 10–20 ч $Q_{\text{пл}}^{\text{D}}$ ВВ значительно уменьшается [1,2].

В итоге, с учетом вышесказанного, при каждой заданной влажности в условиях проведенного эксперимента полученные значения теплот исследуемых переходов можно расположить в следующем порядке $Q_{\text{пл}}^{\text{D}} > Q_{\text{пл}}^{\text{N}} > Q_{\text{кр}}^{\text{N}} > Q_{\text{кр}}^{\text{D}}$. При этом наблюдаемая разница в теплотах уменьшается с увеличением влажности крахмала и соответственно с ростом самих значений определяемых теплот.

Итак, из приведенных выше данных следует, что в результате нагревания того набора водных кластеров, кристаллизация которого регистрируется при охлаждении, происходит увеличение теплоты плавления. Можно рассматривать различные процессы, которые могут привести к такому результату. Во-первых, причиной увеличения $Q_{\text{пл}}$ может быть кристаллизация переохлажденных водных кластеров, не успевших закристаллизоваться при охлаждении с используемой скоростью. Во-вторых, увеличение $Q_{\text{пл}}$ может происходить за счет дальнейшего роста размера зародышей кристаллитов, образовавшихся в процессе охлаждения. И, наконец, к росту $Q_{\text{пл}}$ может приводить перекристаллизация мелких кластеров в процессе нагревания. Возможно, при нагревании сначала происходит плавление самых мелких закристаллизованных при охлаждении кластеров, т.е. превращение их в переохлажденные водные кластеры, а затем присоединение их к более крупным (замерзшим) кластерам. Разделить эти составляющие процесса, приводящие к дополнительной кристаллизации кластеров в исследуемой системе, не представляется возможным. Однако нам удалось этот процесс экспериментально зафиксировать. Сопоставление термограмм нагревания образца с влажностью 37% в нативном и аморфном состояниях показывает, что, во-первых, в аморфном образце до начала плавления ВВ идет заметное дополнительное, по сравнению с нативным, выделение тепла, что свидетельствует о процессе дополнительной кристаллизации (рис. 3). Во-вторых, увеличивается теплота плавления ВВ, а $T_{\text{пл}}$ ВВ незначительно сдвигается в сторону высоких температур, что указывает на рост числа кластеров с большим размером.

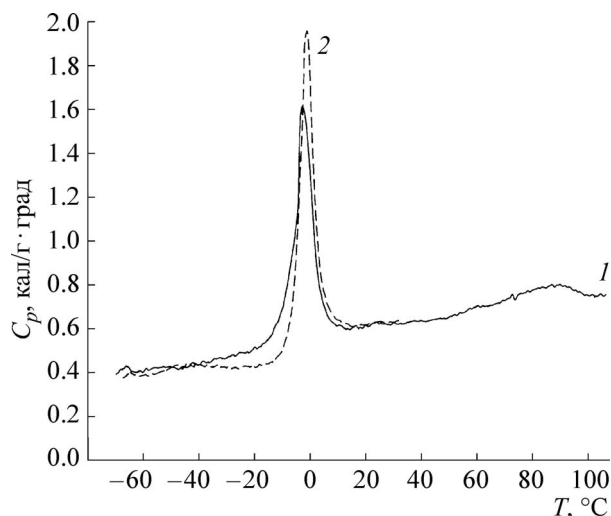


Рис. 3. Термограммы нагревания нативного (1) и аморфного (2) образцов картофельного крахмала с $C_{\text{H}_2\text{O}} = 37\%$. $V_{\text{нагр}} = 5$ град/мин.

Напомним, что увеличение размера исходных кристаллитов в процессе плавления многократно наблюдалось в синтетических полимерах [19,20], в том числе одним из авторов настоящей работы [18]. Было обнаружено, что если скорости процессов нагревания и перестройки в системе кристаллитов сопоставимы, то экспериментально наблюдаемые кривые плавления являются дублетными. Вид этого дублета зависит от используемой скорости нагревания. Однако наблюдаемая теплота плавления остается постоянной (не зависит от скорости нагревания). Отметим, что при этом зависимость $Q_{\text{пл}}$ кристаллитов от их размеров в синтетических полимерах никогда калориметрически не наблюдали и не обсуждали. В исследуемой системе «крахмал–вода», как было показано [1,2,21], теплота плавления водных кластеров минимальных размеров по крайней мере в два раза меньше $Q_{\text{пл}}$ чистой воды. Именно поэтому увеличение среднего размера кластеров и последующий рост $Q_{\text{пл}}$ ВВ в крахмалах при нагревании проявляется столь однозначно.

Итак, в результате получено, что во влажных крахмалах как охлаждение, так и нагревание в области температур меньше 0°C может привести к укрупнению водных кластеров, существовавших в образце крахмала при $T_{\text{комн}}$, откуда следует вывод о достаточно высокой подвижности водных кластеров нанометрового диапазона при $T < 0^\circ\text{C}$ в исследуемой системе. Можно предположить, что если процесс охлаждения провести на скорости, существенно большей (например, 100 град в мин), то можно предотвратить процесс укрупнения кластеров

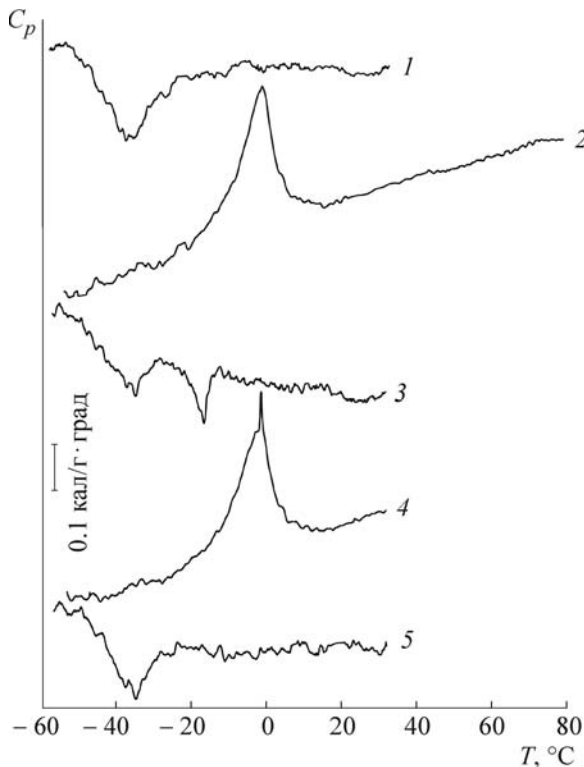


Рис. 4. Термограммы прямого и обратного сканирования в области плавления/кристаллизации ВВ образца нативного картофельного крахмала с различной тепловой историей: 1 – охлаждение исходного образца, 2 – нагревание этого образца до $T = 85^\circ\text{C}$, 3 – охлаждение сразу после высокотемпературного прогревания, 4 – последующее нагревание прогретого образца, 5 – охлаждение образца через сутки после хранения при $T_{\text{комн}} = 20^\circ\text{C}$; $C_{\text{H}_2\text{O}} = 30\%$, $V_{\text{нагр}} = V_{\text{охл}} = 5$ град/мин.

([34] и ссылки в ней). Известно, что процесс укрупнения водных кластеров может приводить к повреждению биологических тканей. Однако выполнить процесс размораживания тканей на столь высоких скоростях весьма затруднительно, и поэтому укрупнение кластеров и разрыв биотканей практически неизбежны. Поиски минимизации таких последствий – важная задача для медицины и других отраслей промышленности.

Сам факт ухудшения потребительских качеств пищевых продуктов, содержащих в том числе и крахмал, в результате их замораживания, давно известен [33]. Также надежно установлено, что в значительной мере это связано именно с увеличением размеров водных кластеров в результате процессов оттаивания–замораживания. Исследование циклических процессов оттаивания–замерзания методами оптической спектроскопии наглядно продемонстрировало увеличение водных кластеров во влажных крахмалсодержащих пищевых продуктах

на микроуровне [35]. Разделить эти процессы, столь сильно влияющие на свойства влажных биополимеров, очень трудно. Однако, как нам представляется, в настоящей работе удалось достаточно наглядно продемонстрировать роль перераспределения водных кластеров в каждом из этих процессов на наноуровне.

Трансформация водных кластеров в нативных и аморфных крахмалах при температурах выше 0°C . До сих пор речь шла о трансформации водных кластеров, происходящей при охлаждении и нагревании ниже 0°C . Теперь на основе полученных данных по изменению формы соответствующих кривых плавления и кристаллизации ВВ в крахмале, а также вопроса о возможном влиянии этого процесса на форму кривых плавления нанокристаллитов собственно крахмала перейдем к обсуждению вопроса о трансформации водных кластеров, происходящей при нагревании выше 0°C .

Влияние термообработки на кривые плавления и кристаллизации ВВ в крахмале. Как показал проведенный эксперимент, при всем различии кривых плавления и кристаллизации ВВ в нативных крахмалах с разной влажностью оба типа кривых остаются одномодальными. Однако такая одномодальность нарушается, если нативный образец прогреть до температур, близких к началу кривых плавления нанокристаллитов крахмала (его аморфизации). Зависимость температуры начала процесса аморфизации от влажности крахмала приведена на рис. 2. Рис. 4 демонстрирует изменение формы кривых плавления и кристаллизации ВВ нативного образца с влажностью 30% в результате его нагревания до 85°C . Видно, что на кривой плавления ВВ появляется высокотемпературная компонента (кривая 4) и при этом несколько возрастает величина $Q_{\text{пл}}$. Проявляющаяся в этом случае бимодальность кривой плавления ВВ находит свое яркое отражение при записи кристаллизации ВВ (кривая 3). Отсюда можно сделать вывод о том, что прогревание нативных образцов крахмала в температурных пределах его существования в нативном состоянии приводит к дополнительной, по сравнению с исходной, гетерогенности в распределении ВВ по нативной грануле. (Напомним, что изменение среднего размера водных кластеров в результате аморфизации крахмала зависит от содержания в нем вымораживаемой воды. При малых ее количествах средний размер больше, чем в нативном крахмале, при больших – меньше [1,2], что определяется соответствующим повышением температуры аморфизации.)

Обсуждаемая бимодальность кривых кристаллизации наиболее ярко проявляется при

небольшом содержании вымораживаемой воды в крахмале (см. рис. 4, для $C_{H_2O} = 30\%$). Как было показано ранее, при повышении количества ВВ в крахмале кривые кристаллизации достаточно резко сдвигаются в сторону высоких температур. При этом разрешение между двумя пиками кристаллизации ВВ, соответствующими разным размерам кластеров, уменьшается. Но и в этом случае, как следует из рис. 5, по-прежнему наблюдается бимодальность, которая возникает после прогревания нативного крахмала с большей влажностью (35%) до температуры начала его аморфизации.

Следует подчеркнуть, что возникающая после прогревания нативного крахмала новая гетерогенность имеет обратимый характер. Было получено, что исходное распределение водных кластеров по размерам восстанавливается (рис. 4, сравни кривые 1 и 5), хотя для этого требуется относительно продолжительное время ~10–20 ч. Из этих данных следует вывод о том, что для установления концентрационного равновесия воды в системе «нативный крахмал–вода», если в ней появляются большие кластеры, $T_{пл}$ которых близка к 0°C , требуется значительно больше времени по сравнению с системой с кластерами малых размеров.

Влияние трансформации водных кластеров в крахмале с разной влажностью на форму кривых его аморфизации. Полученные данные об изменении распределения водных кластеров в нативных гранулах при нагревании их выше $T_{комн}$ представляют, на наш взгляд, значительный интерес также для понимания самого процесса желатинизации крахмала, т.е. его аморфизации. Хотя исследованию этого процесса посвящены сотни работ, информации о роли воды в нем недостаточно. Остановим внимание на одном из вопросов, возникающих при calorиметрических исследованиях систем крахмал–вода. При нагревании этих систем при температурах выше 60°C наблюдается, как известно, дополнительное поглощение тепла, которое, согласно данным рентгеноструктурного анализа, приводит к разрушению нативных нанокристаллических структур крахмала. Отсюда наблюдаемую методом ДСК эндотерму, соответствующую этому процессу, часто называют кривой плавления. Отметим, что процессы, которые следуют после разрушения нативных структур, сильно различаются для низких и высоких влажностей крахмала [3,4].

Хорошо известно, что при изменении концентрации воды в системе «крахмал–вода» происходит трансформация этих кривых плавления. Этот эффект многократно наблюдался, в том

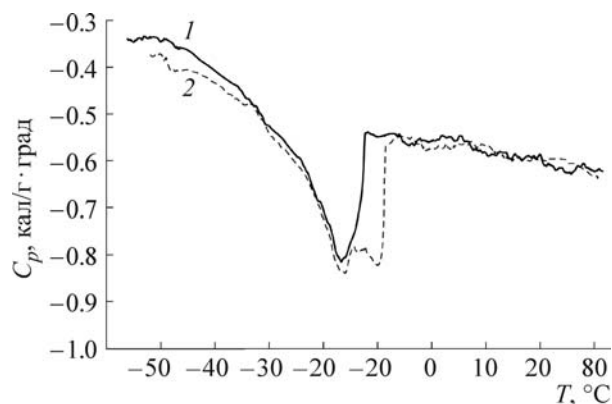


Рис. 5. Влияние прогревания нативного образца до $T = 80^\circ\text{C}$ на форму кривой кристаллизации ВВ в нативном картофельном крахмале: 1 – охлаждение исходного образца, 2 – охлаждение образца сразу после прогревания до $T = 80^\circ\text{C}$; $C_{H_2O} = 35\%$, $V_{охл} = 5$ град/мин.

числе и нами, при использовании метода ДСК [4,15,32,33,36–41]. При избытке воды (более 60%) наблюдается синглетная эндотерма, при промежуточных влажностях (60–35%) – дублетная, а при более низких влажностях она вновь становится синглетной. При этом понижение влажности сдвигает кривые плавления нативного крахмала в сторону высоких температур (см. врезку на рис. 2).

Среди множества работ, посвященных объяснению таких изменений формы кривых плавления нанокристаллитов крахмала, следует выделить две наиболее часто обсуждаемые гипотезы (модели). И в той, и в другой исследователи, естественно, связывают дублетную структуру кривых плавления крахмала с существованием кристаллитов с какими-то отличающимися свойствами. При этом в первой модели акцент делается на различии гидратного окружения кристаллитов [5,36–38], а во второй – на гетерогенности собственно нанокристаллитов [39–41].

В первой модели кристаллиты различаются по локализации их водного окружения. При этом, разумеется, речь не идет о количестве кристаллогидратной воды собственно в кристаллитах. Количество ее фиксировано в исследуемом интервале влажности, хотя и различается для разных типов кристаллических решеток крахмалов [7]. Речь идет о содержании воды в аморфной фазе, вплотную прилегающей к кристаллитам. Как уже отмечалось, аморфная фаза нативной гранулы крахмала неоднородна как на нано-, так и на микроуровнях. В первой модели предполагается, что низкотемпературный пик дублетной кривой плавления является

результатом разрушения кристаллитов, окруженных участками аморфной фазы с высокой влажностью. При этом высокотемпературный пик дублета отражает плавление кристаллитов, окруженных менее гидратированной аморфной фазой [5,36–38].

Во второй группе моделей в основу положены представления о гетерогенности строения собственно кристаллитов крахмала, связанной с их различной дефектностью. Такое предположение возникает естественным образом при сопоставлении кривых плавления крахмала при разных скоростях его нагревания [32] (см., например, рис. 2, врезка для 45%). Считается, что вначале плавятся наименее стабильные (наиболее дефектные) кристаллиты, при этом образовавшаяся из разупорядоченных полисахаридных цепей аморфная фаза адсорбирует дополнительное количество воды. Как следствие, в рассматриваемом диапазоне концентраций воды (27–45%) в крахмале, в отличие от ее избытка, создается определенный дефицит воды. Для того чтобы расплавить оставшиеся более термостабильные кристаллиты, требуется повышение температуры, поскольку общее количество воды фиксировано. Это и определяет, по мнению авторов, придерживающихся этой модели, появление второго пика в структуре эндотермического дублета [39–41].

Заметим, что однозначного эксперимента, свидетельствующего в пользу той или другой модели, до сих пор поставить не удалось.

Приведенные в настоящей работе результаты демонстрируют увеличивающуюся, по сравнению с исходной, гетерогенность в распределении водных кластеров по размерам при нагревании. Зафиксировать новое распределение водных кластеров удалось прерыванием сканирования при температурах, близких к началу аморфизации крахмала, и проведением записи их кристаллизации при последующем охлаждении (рис. 4). В результате нагревания гранул крахмала в температурных пределах его существования в нативном состоянии возникают дополнительные кластеры большого размера. Таких кластеров немного, но при этом общая поверхность водных кластеров уменьшается. Тем самым можно считать, что площадь соприкосновения кристаллитов с гидратированной аморфной фазой также уменьшается, приводя к возникновению дополнительного дефицита воды, необходимой для их плавления.

В целом приведенные данные демонстрируют существенную роль гидратного окружения, гетерогенность которого увеличивается в процессе нагревания нанокристаллитов до $T_{пл}$. Тем не менее не следует забывать и о возможном

вкладе гетерогенности собственно системы кристаллитов нативного крахмала в обсуждаемую трансформацию кривых плавления.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. N. A. Grunina, G. I. Tsereteli, T. V. Belopolskaya, and O. I. Smirnova, *Carboh. Polymers* **132**, 499 (2015).
2. Г. И. Церетели, Т. В. Белопольская, Н. А. Грунина и др. *Биофизика* **62** (1), 53 (2016).
3. Y. H. Roos *Phase transitions in foods* (Academic Press, New-York, 1995).
4. *Carbohydrates in food*, Ed. by A.-C. Eliasson (Marcel Dekker Inc, New-York, 1996).
5. A. M. Donald, in *Starch in food: Structure, function and applications*, Ed. by A.-C. Eliasson (Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2004), pp. 156–184.
6. E. Bertoft, in *Starch in food: Structure, function and applications*, Ed. by A.-C. Eliasson (Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2004), pp. 57–96.
7. S. Hizukuri, in *Carbohydrates in food*, Ed. by A.-C. Eliasson (Marcel Dekker Inc, New-York, 1996), pp. 347–429.
8. L. Slade and H. Levine, in *Water Relationships in Foods*, Ed. by H. Levine and L. Slade (Plenum Press, New-York, 1991), pp. 29–101.
9. T. V. Belopolskaya, G. I. Tsereteli, N. A. Grunina, et al., in *Starch: Recent Advances in Biopolymer Science and Technology*, Ed. by M. Fiedorowicz and E. Bertoft (Polish Society of Food Technologists, 2010), pp. 29–44.
10. T. V. Belopolskaya, G. I. Tsereteli, N. A. Grunina, et al., in *Starch Science Progress*, Ed. by L. A. Wasserman, G. E. Zaikov, P. Tomasik, et al. (Nova Science Publ., New-York, 2011), pp. 1–15.
11. N. A. Grunina, G. I. Tsereteli, T. V. Belopolskaya, et al., in *Quantitative chemistry, biochemistry and biology. Steps ahead*, Ed. by G. E. Zaikov, O. V. Stoyanov, W. Tyszkiewicz, et al. (Nova Science Publ., New-York, 2013), pp. 63–74.
12. S. Suzuki and S. Kitamura, *Food Hydrocolloids* **22**, 862 (2008).
13. K. Tananuwong and D. S. Reid, *J. Agricult. Food Chem.* **52**, 4308 (2004).
14. K. Tananuwong and D. S. Reid, *Carbohydrate. Polym.* **58**, 345 (2004).
15. T. Tran, K. Thitipraphunkul, K. Piyachomkwan, et al., *Starch/Stärk* **60**, 61 (2008).
16. В. М. Сохадзе, Г. М. Мревлишвили и Н. Г. Есипова, *Биофизика* **35** (3), 410 (1990).
17. Г. М. Мревлишвили, *Низкотемпературная калориметрия биологических макромолекул* (Мецниереба, Тбилиси, 1984).
18. И. В. Сочава, Г. И. Церетели и О. И. Смирнова, *Физика твердого тела* **14** (4), 553 (1972).
19. Б. Вундерлих, *Физика макромолекул* (Мир, М., 1984), т. 3.
20. Ю. К. Годовский, *Теплофизические методы исследования полимеров* («Химия», М., 1976).

21. N. A. Grunina, G. I. Tsereteli, T. V. Belopolskaya, et al., in *Starch science and technology*, Ed. by V. P. Yuryev, P. Tomasik, A. Blennow, et al. (Nova Science Publ., New-York, 2008), pp. 77–87.
22. V. P. Yuryev, L. A. Wasserman, N. R. Andreev, et al., in *Starch and starch containing origins: structure, properties and new technologies*, Ed. by V. P. Yuryev, A. Cesaro, and W. Bergthaller (Nova Science Publ., New-York, 2002), pp. 23–55.
23. Т. В. Белопольская и Г. И. Церетели, *Биофизика* **41** (3), 665 (1996).
24. Г. И. Церетели, Т. В. Белопольская, Н. А. Грунина и др., *Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 4* (2), 40 (2012).
25. S. Park, R. A. Venditti, H. Jameel, et al., *Carbohydrate Polym.* **66**, 97 (2006).
26. Н. А. Грунина, Г. И. Церетели, Т. В. Белопольская и др., *Вестн. С.-Петерб. ун-та, Сер. 4* (1), 5 (2014).
27. Л. Манделькерн, *Кристаллизация полимеров* (Химия, Л., 1966).
28. G. I. Tseretely and O.I. Smirnova, *J. Therm. Analysis* **38**, 1189 (1992).
29. Г. И. Церетели, Т. В. Белопольская и Т. Н. Мельник, *Биофизика* **42** (1), 68 (1997).
30. G. I. Tsereteli, T. V. Belopolskaya, N. A. Grunina, et al., *J. Therm. Anal. Calorim.* **62**, 89 (2000).
31. G. I. Tsereteli, T. V. Belopolskaya, and N. A. Grunina, *J. Therm. Anal. Calorim.* **92**, 711 (2008).
32. G. I. Tsereteli, T. V. Belopolskaya, N. A. Grunina, et al., in *Starch and Starch Containing Origins – Structure, Properties and New Technologies*, Ed. by V. P. Yuryev, A. Cesaro, and W. Bergthaller (Nova Science Publ., New-York, 2002), pp. 99–109.
33. *Water Relationships in Foods*, Ed. by H. Levine and L. Slade (Plenum Press, New-York, 1991).
34. P. G. Debenedetti and H. E. Stanley, *Physics Today* **41**, 40 (2003).
35. H. D. Goff, in *Starch in food: Structure, function and applications*, Ed. by A.-C. Eliasson (Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2004), pp. 425–427.
36. J. M. V. Blanshard, in *Starch: Properties and potential*, Ed. by T. Gallard (Wiley, Chichester, 1987), pp. 16–54.
37. P. J. Jenkins and A. M. Donald, *Carbohydrate Res.* **308**, 133 (1998).
38. I. D. Evans and D. R. Haisman, *Starch* **34**, 224 (1982).
39. H. Liu and J. Lelievre, *Carbohydrate Res.* **219**, 23 (1991).
40. H. Liu and J. Lelievre, *Carbohydrate Polym.* **17**, 145 (1992).
41. H. Liu, J. Lelievre, and W. Ayoungchee, *Carbohydrate Res.* **210**, 79 (1991).

Transformation of Water Clusters in Humid Starches under Environmental Changes

T.V. Belopolskaya*, G.I. Tseretely*, N.A. Grunina**, and O.I. Smirnova*

*St. Petersburg State University, ul. Ulyanovskaya 1, Peterhof, St. Petersburg, 198504 Russia

**State University of Civil Aviation, St. Petersburg, ul. Pilotov 38, 196210 Russia

Transformation of distribution of water clusters in the humid potato starches (27–45% water) within the temperature range from –50 to + 80°C has been studied by means of differential scanning calorimetry. The transformation processes observed at temperatures below and above 0°C differ significantly. At $T < 0^\circ\text{C}$ during cooling and heating the reorganization of the initial distribution of water clusters by size, which is characteristic for room temperature, is possible. Such changes may lead to an increase in average cluster size during both crystallization and melting. The intensity of the ongoing transformation depends on the water content and the scanning rate and differs for the native and amorphous states of starch. Herewith, the size distribution of clusters is unimodal. At the same time, heating of the humid native starch up to the temperatures close to the beginning of its amorphization (75–80°C) leads to a bimodal distribution due to the appearance of large clusters of water, thereby increasing the heterogeneity of water distribution within the native granules.

Key words: calorimetry, starch, water clusters, crystallization, melting, size distribution