

- 淀粉酶水解玉米淀粉的研究

郝晓敏^{1, 2}, 王 遂^{1*}, 崔凌飞¹

(1. 哈尔滨师范大学理学院化学系, 黑龙江 哈尔滨 150080;

2. 广东海洋大学应用化学系, 广东 湛江 524006)

摘 要: 研究了中温和耐高温 α -淀粉酶水解玉米淀粉制取糊精, 确定了它们水解适宜的工艺条件。中温 α -淀粉酶最佳的工艺条件为温度 84℃、时间 20min、酶用量 16U/g; 耐高温 α -淀粉酶最佳的工艺条件为温度 95℃、时间 40min、酶用量 15U/g。

关键词: 玉米淀粉; 酶解; α -淀粉酶

Study on Enzymatic Hydrolysis to Corn Starch by α -amylase

HAO Xiao-min^{1, 2}, WANG Sui^{1*}, CUI Ling-fei¹

(1. Department of Chemistry, School of Physics and Chemistry, Harbin Normal University, Harbin 150080, China; 2. Department of Applied Chemistry, Guangdong University of Ocean, Zhanjiang 524006, China)

Abstract: Maltodextrins were produced from corn starch using two kinds of α -amylase: a common one and a thermal-stable one. The common α -amylase and thermal-stable α -amylase conditions were given as follows, common α -amylase: temperature 84℃, hydrolysis time 20min, dosage of enzyme 16U/g; common thermal-stable α -amylase: temperature 95℃, hydrolysis time 40min, dosage of enzyme 15U/g.

Key words: corn starch; enzymatic hydrolysis; α -amylase

中图分类号: TS203

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0141-03

淀粉是植物通过光合作用合成的天然有机化合物, 它广泛存在于小麦、玉米、薯类等可再生植物中的多糖类物质, 是人类生存必需的三大食物之一。淀粉及其深加工产品除广泛应用于食品中以外, 还用于纺织、医药、饲料、石油钻井、铸造、建筑涂料等工业中。玉米淀粉是玉米的初级产品, 截止 2000 年底世界淀粉年产量近 5000 万吨, 其中 80% 是玉米淀粉, 其余为薯类、豆类、小麦淀粉。我国玉米淀粉年产量已达 500 万吨, 对其进行深加工受到生产企业和科研院校的高度重视, 同时也是国内外研究的热点之一^[1]。

玉米淀粉水解产物, 包括糊精、糖浆、高果糖浆和葡萄糖浆等, 由于它们具有独特的功能性质, 在食品工业中用途非常广泛。糊精是一种 DE 值较小的淀粉不完全水解产物, 它无色无味可溶于水, 是优良的风味载体和体相大分子替代品。不同 DE 值的糊精具有不同的功能性质, 它们可以用在焙烘、肉制品、冰淇淋等食品中取代脂肪, 不仅具有脂肪的质感, 更重要的是减少人体脂肪的摄取量, 使人类的饮食结构更为合

理。同时也可以用作喷雾助剂或干燥载体等。由于其成本低, 来源广, 是市场前景较好且具有高附加值的玉米淀粉深加工产品之一^[2~4]。

糊精的生产主要分为酸法工艺和酶法工艺两种类型。在酸法工艺中由于无法控制其产品组分分布, 目前研究的较少。而酶法工艺具有条件温和、产品组分分布均匀、副反应少、无需中和脱盐等优点, 是糊精生产的优选方案。关于酶法制备玉米淀粉糊精研究已有报道^[5, 6], 但其制备的适宜工艺条件尚未见报道。本文较系统地研究了中温和耐高温 α -淀粉酶水解玉米淀粉制取糊精, 用正交实验确定了适宜的水解工艺条件, 为开发碳水化合物型脂肪替代物新产品奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米淀粉 吉林省杞参食品有限公司; 中温 α -淀粉酶 活力 100000U/g; 耐高温 α -淀粉酶 活力 25094U/ml。

收稿日期: 2005-08-11

*通讯作者

作者简介: 郝晓敏(1967-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学。

1.2 主要仪器

SHA-C水浴恒温振荡器 上海医疗器械五厂; PHSJ-3F型实验室pH计 上海精密科学有限公司; MP200A型电光分析天平 上海第二天平仪器厂; DHG-9070型电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科技有限公司; 秒表、碱式滴定管及各种玻璃器皿。

1.3 主要试剂

可溶性淀粉、碘、碘化钾、磷酸氢二钠、柠檬酸、硫代硫酸钠等均为分析纯试剂。

1.4 方法

1.4.1 酶解工艺流程

称取25g玉米淀粉→加100ml蒸馏水, 搅拌调浆30min→加0.1mol/L NaOH调节pH至6.0→移入已恒温的蒸馏水中加适量的酶水解→灭酶→冷却液化液→测DE值

1.4.2 酶活的测定

按照白磁板法进行测定。

1.4.2.1 中温 α -淀粉酶活力的测定^[7]

配制磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液、碘原液、标准稀碘液、可溶性淀粉液、标准糊精溶液和酶液等。

在150ml锥形瓶中加入2%可溶性淀粉20ml, 加入缓冲液5ml, 在60℃水浴中平衡温度4~5min, 加入0.5ml稀释酶液, 立即记时, 充分混匀, 定时取出1ml反应液于预先盛有3ml比色碘液的试管内, 当颜色反应由紫色逐渐变成棕橙色, 与标准比色管颜色相同时, 即达到终点。记录时间为液化时间。

1.4.2.2 高温 α -淀粉酶活力测定^[8]

(1) 稀释酶液

取1ml酶液加入pH值为6.0的缓冲液, 分别稀释100、200、300、400倍数的溶液备用。

(2) 测定

取2ml的2%可溶性淀粉和5ml pH值为6.0的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液, 放于150ml的锥形瓶中, 在70℃恒温水浴中预热4~5min。然后加稀释好的酶液0.5ml, 立即记录时间, 充分摇匀, 定时用滴定管取出反应液0.5ml, 滴于预先充满比色稀碘液的白磁空穴内。当颜色反应由紫色逐渐变为红棕色时, 即为反应终点, 并记录时间。

1.4.2.3 DE值的测定

配制0.1mol/L碘溶液、0.05mol/L硫代硫酸钠、0.15mol/L氢氧化钠、2mol/L硫酸和碘化钾试液等。

称取液化液约为比重瓶的三分之一移入250ml的容量瓶中, 用加蒸馏水定容, 摇匀。用移液管吸取10ml, 置于碘量瓶中, 加入15ml 0.1mol/L碘液, 再用滴定管漫漫加入15ml 0.15mol/L氢氧化钠, 边加边摇匀。加毕, 在暗处放置20min, 温度在20℃为宜, 加入2mol/L硫

酸2ml酸化, 用0.05mol/L硫代硫酸钠溶液滴定过量的碘, 同时作空白实验, 用10ml水代替10ml液化液。

1.4.2.4 最佳水解条件的确定

为了确定酶水解的最佳工艺条件, 根据预试验结果, 设计正交试验 $L_9(3^4)$, 试验因素水平见表1、表2。

表1 中温 α -淀粉酶正交试验因素水平表Table 1 Factor and level of orthogonal test of the common α -amylase

水平	因素		
	温度A(℃)	酶用量B(U/g)	时间C(min)
1	80	10	20
2	82	16	25
3	84	20	30

表2 耐高温 α -淀粉酶正交试验因素水平表Table 2 Factor and level of orthogonal test of the common thermal-stable α -amylase

水平	因素		
	温度A(℃)	时间B(min)	酶用量C(U/g)
1	80	20	7
2	90	30	15
3	95	40	20

2 结果与分析

经过单因素试验, 可以得到各因素的最佳值, 根据这些最佳值来确定每个因素的最佳使用范围进行正交试验, 正交试验结果如表3~6所示。

2.1 中温 α -淀粉酶

由表3、4可知:

(1) $F_B > F_{0.01}$ 说明该因子的改变对试验结果有高度显著影响, 从 I_B 、 II_B 、 III_B 大小可看出选16U/g为好。

(2) $F_{0.01} > F_A > F_{0.05}$ 说明该因子的改变对试验结果有

表3 中温 α -淀粉酶酶解试验方案及结果分析Table 3 Text scheme and result of the common α -amylase

试验号	因素				DE值		合计yi
	A(℃)	B(U/g)	C(min)	D			
1	80	10	20	1	4.87	3.82	8.69
2	80	16	25	2	6.25	6.55	12.8
3	80	20	30	3	3.49	4.09	7.58
4	82	10	25	3	3.43	3.44	6.87
5	82	16	30	1	5.26	5.34	10.6
6	82	20	20	2	6.97	6.95	13.92
7	84	10	30	2	4.48	4.50	8.98
8	84	16	20	3	7.24	7.18	14.42
9	84	20	25	1	7.82	7.84	15.66
I_j	29.07	24.54	37.03	34.95	G=99.52		
II_j	31.39	37.82	35.33	35.7	$G^2=9904.23$		
III_j	39.09	37.16	27.16	28.87	CT=550.23		
R^2_j	3357.25	3413.43	3357.09	3329.47	S总=41.74		
$R^2_j/3X2$	559.54	568.90	559.52	554.91	S总=42.52		
S_j	9.31	18.70	9.28	4.68	$Se_2=0.78$ $Se=19.37$		

表4 方差分析(中温 α -淀粉酶)
Table 4 Variance analysis of the experiments
(common α -amylase)

方差来源	偏差平方和	自由度	平均偏差平方和	F比	显著性
A	$S_A=9.31$	2	$S_A/2=4.65$	$F_A=4.08$	*
B	$S_B=18.7$	2	$S_B/2=9.35$	$F_B=8.20$	**
C	$S_C=9.28$	2	$S_C/2=4.64$	$F_C=4.07$	*
误差	$S_e=19.4$	17	$S_e/17=1.14$		

$F_{0.01}(2, 17)=6.11$; $F_{0.05}(2, 17)=3.59$; $F_{0.1}(2, 17)=2.64$ 。

显度影响, 从 I_A 、 II_A 、 III_A 大小可看出选 84°C 为好。

(3) $F_{0.01} > F_C > F_{0.05}$ 说明该因子的改变对试验结果有显著影响, 从 I_c 、 II_c 、 III_c 大小可看出选 20min 为好。

所以对于中温 α -淀粉酶最佳酶解工艺条件为: 温度 84°C 时间 20min 酶用量 16U/g, 酶用量的影响是显著的。

2.2 耐高温 α -淀粉酶

表5 耐高温 α -淀粉酶酶解试验方案及结果分析
Table 5 Text scheme and result of the common thermal-stable
 α -amylase

试验号	因素				DE值		合计 y_i
	A($^\circ\text{C}$)	B(min)	C(U/g)	D			
1	80	20	7	1	—	—	—
2	80	30	15	2	10.7	10.60	21.30
3	80	40	20	3	11.7	11.80	23.50
4	90	20	15	3	8.85	8.84	17.69
5	90	30	20	1	3.97	4.07	8.04
6	90	40	7	2	5.64	5.63	11.27
7	95	20	20	2	8.35	8.33	16.68
8	95	30	7	3	8.59	8.60	17.19
9	95	40	15	1	12.07	12.06	24.13
I_j	44.80	34.37	28.46	32.17	$G=139.8$		
II_j	37.00	46.53	63.12	49.25	$G^2=19544.04$		
III_j	58.00	58.90	48.22	58.38	$CT=1085.78$		
R^2_j	6740.04	6815.55	71199.27	6868.70	$S_{总}=247.47$		
$R^2_{3/3X2}$	1123.34	1135.92	1186.55	1144.78	$S_{总}=247.49$	$S_{e1}=109.14$	
S_i	37.56	50.14	100.77	59.00	$S_{e2}=0.014$	$S_e=109.16$	

由表5、6可知:

(1) $F_C > F_{0.01}$ 说明该因子的改变对试验结果有高度显度影响, 从 I_c 、 II_c 、 III_c 大小可看出选 15U/g 为好。

(2) $F_{0.01} > F_B > F_{0.05}$ 说明该因子的改变对试验结果有显度影响, 从 I_B 、 II_B 、 III_B 大小可看出选 40min 为好。

表6 方差分析(耐高温 α -淀粉酶)
Table 6 Variance analysis of the experiments
(common thermal-stable α -amylase)

方差来源	偏差平方和	自由度	平均偏差平方和	F比	显著性
A	$S_A=37.56$	2	$S_A/2=18.78$	$F_A=2.93$	*
B	$S_B=50.14$	2	$S_B/2=25.07$	$F_B=3.91$	*
C	$S_C=100.77$	2	$S_C/2=50.38$	$F_C=7.85$	**
误差	$S_e=109.16$	17	$S_e/17=6.42$		

$F_{0.01}(2, 17)=6.11$; $F_{0.05}(2, 17)=3.59$; $F_{0.1}(2, 17)=2.64$ 。

(3) $F_{0.05} > F_A > F_{0.1}$ 说明该因子的改变对试验结果有一定的影响, 从 I_A 、 II_A 、 III_A 大小可看出选 95°C 为好。

所以对于耐高温 α -淀粉酶最佳酶解工艺条件为: 温度 95°C 时间 40min 酶用量 15U/g, 酶用量的影响是显著的。

3 结论

本文采用正交试验法确定了中温和耐高温 α -淀粉酶水解玉米淀粉制备糊精的适宜工艺条件, 中温 α -淀粉酶最佳工艺条件为温度 84°C 、时间 20min、酶用量 16U/g; 耐高温 α -淀粉酶最佳工艺条件为温度 95°C 、时间 40min、酶用量 15U/g。此工艺条件较为简单、便于操作, 同时也为进一步开发新产品奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] 薛国庆. 简论我国淀粉化学品生产应用现状及前景[J]. 河西学院学报, 2002, (2): 39-41.
- [2] 杨玉玲, 许时婴. 淀粉为基质的脂肪替代品[J]. 食品业科技, 2002, (12): 85-87.
- [3] 姚怀芝, 姚惠源. 脂肪替代品的现状及发展[J]. 广州食品工业科技, 2004, (2): 73-74.
- [4] 蔡秋声. 脂肪替代品特性及其开发现状和前景[J]. 粮食与油脂, 1998, (3): 31-38.
- [5] 王遂, 梁震. 耐高温淀粉酶生产超高麦芽糖浆中的研究[J]. 生物技术, 1996, (2): 18-19.
- [6] 徐良增, 许时婴, 杨瑞金. 酶法液化玉米淀粉制备麦芽糊精的研究[J]. 食品工业, 2001, (3): 24-25.
- [7] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001. 681-682.
- [8] 邓宇. 淀粉化学品及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 61-62.

中国期刊方阵双效期刊

百种中国杰出学术期刊