

淀粉酶分解马铃薯淀粉的因素研究

赵 瑛^{1,2}, 赵 萍³, 李红玉¹

(1. 兰州大学生命科学学院, 甘肃 兰州 730070 2. 甘肃省农业科学院农产品贮藏加工研究所, 甘肃 兰州 730070
3. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 研究 α -淀粉酶与 β -淀粉酶对马铃薯淀粉的分解效果。在控制一定温度和时间条件下, 采用正交设计、因素分析、优化处理、均衡试验。实验结果表明, α -淀粉酶添加量0.15%(4000U), 淀粉量20%, 处理温度80.0℃, 时间13min, 液化效果达到最佳; β -淀粉酶量0.15%(50000U)、温度60℃、时间46h、pH5.4, 糖化效果最佳。

关键词: 淀粉酶; 分解; 马铃薯淀粉; 因素

Study on Factors of Amylase Hydrolysis Potato Starch

ZHAO Ying^{1,2}, ZHAO Ping³, LI Hong-yu¹

(1. Life Science College, Lanzhou University, Lanzhou 730070, China;
2. Processing and Preserving Research Institute, Gansu Agricultural Academy, Lanzhou 730070, China;
3. Life Science and Engineering College, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730000, China)

Abstract: The paper deals with the effects of using α -amylase and β -amylase to break down potato starch with temperature and time control. Different amylases, potato starch, temperatures, and times were designed with orthogonal test. The optimum hydrolysis conditions were α -amylase 0.15%(4000 U), potato starch concentration 20%, temperature 80.0 °C, time 13 min, for β -amylase 0.15%(50000 U), temperature 60.0 °C, time 46 h, pH5.4.

Key words: amylase; potato starch; hydrolysis; factors

中图分类号: TS235.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0196-05

马铃薯淀粉除了在食品中得到广泛应用, 目前也逐步成为发酵生产低聚糖、糊精、乙醇等产品的主要原料。马铃薯淀粉颜色洁白, 具有晶体状光泽, 淀粉黏度高、吸水性强, 粒径在15至100 μ m之间, 颗粒呈圆形或椭圆形, 有轮纹^[1]。与其他种类原淀粉相比, 马铃薯淀粉还有糊化温度低的特点。酶法分解马铃薯淀粉是通过化学、物理或生物等方法改变原淀粉性能, 使淀粉分解转化为低聚糖作为发酵产品的原料。淀粉酶在马铃薯淀粉分解过程中起着关键性的作用, 生产中 α -淀粉酶反应温度常为90~95℃, β -淀粉酶反应温度常为60~65℃。本实验结合马铃薯淀粉糊化温度低的特点, 采用中温 α -淀粉酶和 β -淀粉酶结合处理马铃薯淀粉, 希望通过使用活性较高、反应温度较低的 α -淀粉酶, 改良马铃薯淀粉酶分解工艺, 取得良好的淀粉液化效果, 增加 β -淀粉酶的糖化效果。

1 材料与方法

1.1 材料

马铃薯淀粉 市售。

中温 α -淀粉酶 无锡博立生物制品有限公司; β -淀粉酶 无锡酶制剂厂; CaCl₂、柠檬酸、NaOH均为化学纯。

1.2 仪器

GS5-10型电热恒温水浴锅 国华电器有限公司; 电子天平(分度值0.001g); PHS-2型酸度计; 阿贝折光仪。

1.3 测定方法

pH值的测定: PHS-2型酸度计测定。

可溶性还原糖测定: 兰爱农法。

淀粉含量测定: 酸水解和兰爱农法。

可溶性固形物含量测定: 阿贝折射法。

1.4 工艺流程及操作要点

1.4.1 工艺流程

以马铃薯淀粉为原料, 酶解转化为低聚糖的工艺流程如下:

收稿日期: 2007-06-08

作者简介: 赵瑛(1967-), 女, 副研究员, 博士研究生, 主要从事农产品深加工技术与开发。

淀粉原料→调浆→升温液化→糖化→灭酶→过滤→糖化液

1.4.2 操作要点

淀粉调浆：按比例称取一定量的马铃薯淀粉，加入水搅拌均匀。

调 pH：用 2% 的柠檬酸液调淀粉浆 pH 约 6.0，并加入适量钙盐。

液化：加入 α -淀粉酶，与淀粉浆混匀，升温至 60℃ 开始液化，升温至 85℃ 液化完成，液化时间 10~20 min，降温。

糖化：将一定 DE 值的马铃薯淀粉液化液调 pH 约 5.5，恒温 60℃ 按试验方案要求加入 β -淀粉酶，糖化 40~48 h。

灭酶、过滤：将糖化液升温至 95℃ 灭酶，真空过滤得糖化液。

1.5 正交试验设计

在马铃薯淀粉酶分解工艺中，多种因素影响淀粉的转化，经过初步试验确定：加酶量、淀粉量、温度、时间为主要因素，各因素选取三个水平，以分解液中可溶性固形物为指标，选用 $L_9(3^4)$ 正交表设计正交试验，见表 1。

表 1 马铃薯淀粉酶分解正交试验因素水平设计
Table 1 Orthogonal test factors and levels of amylase disposed of potato starch

水平	A 加酶量(%)	B 淀粉量(%)	C 温度(℃)	D 时间(min)
1	0.10	15	75	10
2	0.15	10	80	13
3	0.20	20	85	15

2 结果与分析

根据 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验，并对试验结果进行级差分析，确定影响马铃薯淀粉酶分解转化率的主要因素和水平，试验结果见表 2。

2.1 α -淀粉酶分解马铃薯淀粉试验

由表 2 级差分析可知，因素对 α -淀粉酶分解马铃薯淀粉工艺的影响程度顺序依次为：D > A > C > B， α -淀粉酶分解马铃薯淀粉最佳工艺条件为：A₂B₃C₁D₁，加酶量 0.15%、淀粉量 20%、温度 80℃、时间 13 min。在此工艺条件下 α -淀粉酶分解马铃薯淀粉效果最好。

2.2 加酶量对马铃薯淀粉液化的影响

图 1 结果表明，随着酶用量的增加，马铃薯淀粉水解度呈增高趋势。马铃薯淀粉水解度在酶用量为 0.2% 时，速度增加较快，在酶用量为 0.1% 时增加较为缓慢。从节约酶用量和降低生产成本角度考虑， α -淀粉酶水解马铃薯淀粉的适宜酶用量应为 0.15%。

表 2 α -淀粉酶分解马铃薯淀粉试验结果

Table 2 Results of orthogonal test of α -amylase hydrolysis potato starch

试验号	因素				液化液透明度 分值
	A 加酶量(%)	B 淀粉量(%)	C 温度(℃)	D 时间(min)	
1	1(0.10)	1(15)	3(75)	2(10)	87
2	2(0.15)	1	1(80)	1(13)	94
3	3(0.20)	1	2(85)	3(15)	90
4	1	2(10)	2	1	94
5	2	2	3	3	90
6	3	2	1	2	96
7	1	3(20)	1	3	95
8	2	3	2	2	93
9	3	3	3	1	92
K ₁	271	276	285	280	T=831
K ₂	280	277	277	276	X=92
K ₃	280	278	269	275	
k ₁	90.33	92.00	95.00	93.33	
k ₂	93.33	92.33	92.33	92.00	
k ₃	93.33	92.67	89.67	91.67	
R	3.00	0.67	5.33	1.67	

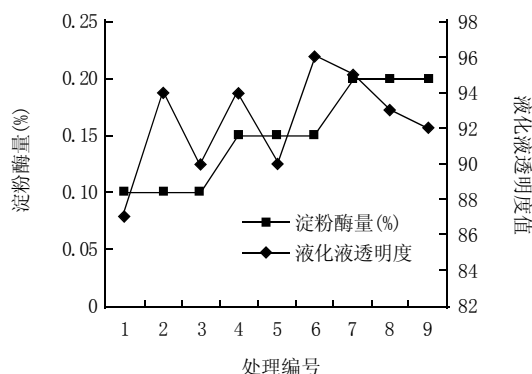


图 1 淀粉酶量对马铃薯淀粉水解度的影响

Fig.1 Effects of amylase amount on hydrolysis degree of potato starch

2.3 淀粉量对马铃薯淀粉液化的影响

淀粉包括直链淀粉和支链淀粉，直链淀粉由约 200~980 个葡萄糖分子以 α -1,4 糖苷键缩合而成；支链淀粉由约 600~6000 个葡萄糖残基以 α -1,4 糖苷键连接外，还有 5%~6% 存在于分支点处的 α -1,6 糖苷键。 α -淀粉酶是内切淀粉酶，其作用部位是直链或支链淀粉的 α -1,4 糖苷键。它可以将直链淀粉切成麦芽糖和葡萄糖。对于支链淀粉， α -淀粉酶可以把它水解为葡萄糖、麦芽糖和 α -极限糊精^[2]。在一定条件下， α -淀粉酶使淀粉浆黏度迅速下降，淀粉浆失去原来的黏稠状，产生液化现象^[3]。

由图 2 可知，当淀粉量为 15% 时，马铃薯淀粉的水解度较大，以后随着淀粉量的增加，淀粉水解度降

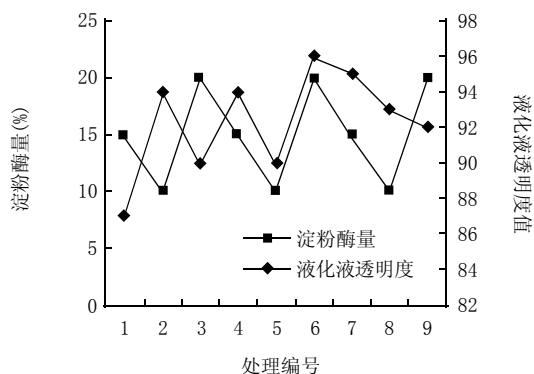


图2 淀粉量对马铃薯淀粉水解度的影响
Fig.2 Effects of starch concentration on hydrolysis degree of potato starch

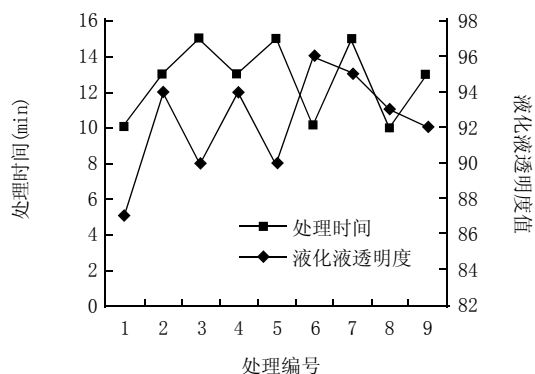


图4 时间对马铃薯淀粉水解度的影响
Fig.4 Effects of reaction time on hydrolysis degree of potato starch

低。其原因可能是淀粉浓度较小时，酶与淀粉的接触机率较少，而当淀粉浓度过大时，又会导致淀粉分散不均匀，从而影响酶的催化效率及产物分子扩散，导致水解度降低。因此，本试验确定的 α -淀粉酶水解马铃薯淀粉的适宜淀粉量为15%。

2.4 温度对马铃薯淀粉液化的影响

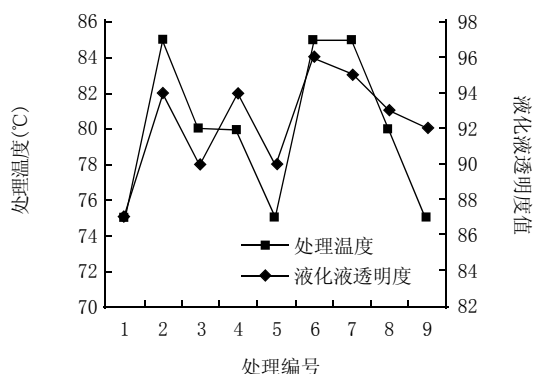


图3 温度对马铃薯淀粉水解度的影响
Fig.3 Effects of reaction temperature on hydrolysis degree of potato starch

由图3可以看出，温度从75℃升高到85℃，马铃薯淀粉的水解速度升高，当温度高于85℃时，随着温度的升高，水解速度急剧下降，这一现象与酶促反应的普遍规律吻合，即温度升高时，反应速度加快，但超过其适宜温度范围时，酶蛋白逐渐变性失活，反应速度降低。表明 α -淀粉酶水解马铃薯淀粉的适宜温度为80℃。

2.5 时间对马铃薯淀粉液化的影响

由实验观察和图4可以看出，从0到8min期间中温 α -淀粉酶对淀粉的水解度逐渐增加，8~13min马铃薯淀粉的水解度迅速增加，14min以后水解度基本趋于稳定。这表明中温 α -淀粉酶水解马铃薯淀粉的速度很快，适宜时间为13min。

2.6 β -糖化酶分解马铃薯淀粉液化液试验

表3 β -糖化酶分解马铃薯淀粉液化液试验结果
Table 3 Results of test of β -amylase disposed of potato starch liquefaction liquid

试验号	因素				可溶性固形物 (%)
	A 加酶量 (%)	B 温度 (°C)	C 时间 (min)	D pH	
1	1(0.05)	1(62.0)	3(46)	2(5.2)	21.20
2	2(0.10)	1	1(48)	1(5.4)	22.10
3	3(0.15)	1	2(44)	3(5.6)	19.60
4	1	2(60.0)	2	1	20.90
5	2	2	3	3	21.80
6	3	2	1	2	21.80
7	1	3(64.0)	1	3	18.70
8	2	3	2	2	20.30
9	3	3	3	1	24.00
K ₁	60.80	62.90	62.60	67.00	T=190.40
K ₂	64.20	64.50	60.80	63.30	X=21.16
K ₃	65.40	63.00	67.00	60.10	
k ₁	20.27	20.97	20.87	22.33	
k ₂	21.40	21.50	20.27	21.10	
k ₃	21.80	21.00	22.33	20.03	
R	1.53	0.53	2.07	2.30	

由表3级差分析可知，因素对 β -糖化酶分解马铃薯淀粉液化液工艺的影响程度顺序依次为：D > C > A > B， β -糖化酶分解马铃薯淀粉液化液最佳工艺条件为：A₃B₂C₃D₁，加酶量0.15g、温度60℃、时间46h、pH5.4。在此工艺条件 β -糖化酶分解马铃薯液化液效果最好。

2.7 加酶量对马铃薯淀粉糖化的影响

由图5可知，随着酶用量的增加，马铃薯淀粉水解液糖化呈增高趋势。糖化酶用量为0.2%时，速度增加较快，在酶用量为0.1%时增加较为缓慢。 β -淀粉酶糖化马铃薯淀粉水解液的适宜酶用量应为0.15%。

β -淀粉酶是外切酶，直接作用于直链或支链淀

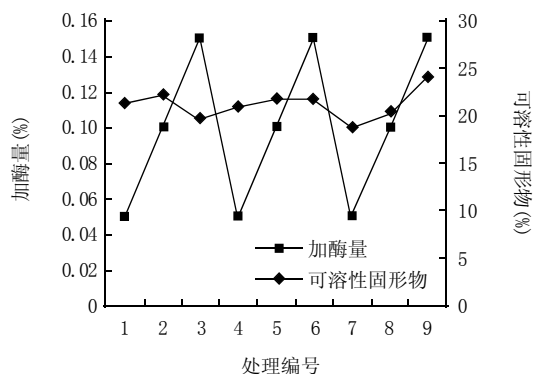


图5 加酶量对马铃薯淀粉糖化的影响

Fig.5 Effects of amylase amount on saccharine degree of potato starch

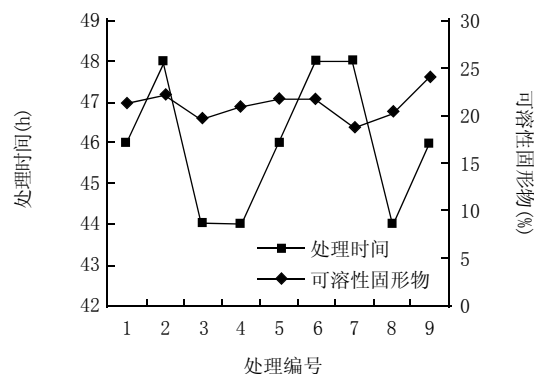


图7 时间对马铃薯淀粉糖化的影响

Fig.7 Effects of reaction time on saccharine degree of potato starch

粉,从淀粉的末端每次切下一个麦芽糖单位^[4]。 β -淀粉酶可将液化液中的麦芽糖、糊精等分解为葡萄糖。

2.8 温度对马铃薯淀粉糖化的影响

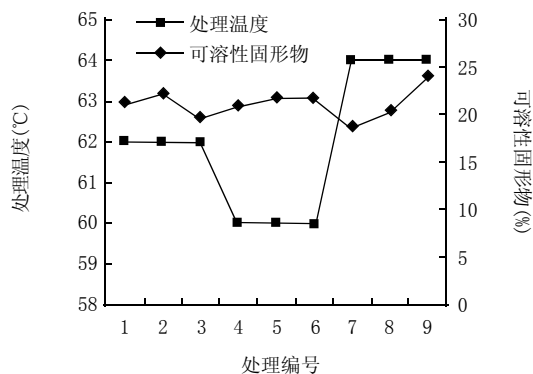


图6 温度对马铃薯淀粉糖化的影响

Fig.6 Effects of reaction temperature on saccharine degree of potato starch

由图6可知,随着温度的增加,马铃薯淀粉糖化DE值呈增加趋势。温度有利于糖化的进行,当温度达到一定范围时,糖化趋于一定值,得到糖化最佳温度为60℃。

2.9 时间对马铃薯淀粉糖化的影响

由图7可知,随着时间的增加,马铃薯淀粉糖化DE值呈增加趋势。时间有利于糖化的进行,当时间达到一定范围时,糖化趋于一定值,得到糖化最适时间为46h。

2.10 pH对马铃薯淀粉糖化的影响

图8显示,当pH值为5.4时,马铃薯淀粉的糖化程度最大;当pH大于5.5时,随着pH值的升高,糖化度逐渐降低。这与酶的自身性质有关,即酶在一定的pH值范围内表现出最大活力,pH值过高或过低均会改变酶的活性中心构像,甚至改变整个酶分子的结构使其变性失活。结果表明,淀粉酶糖化马铃薯淀粉液化

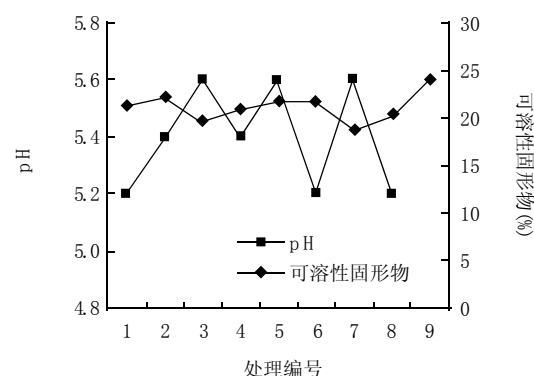


图8 pH值对马铃薯淀粉糖化的影响

Fig.8 Effects of pH on saccharine degree of potato starch

液的适宜pH为5.4。

3 结论

3.1 通过对中温 α -淀粉酶的液化试验观察,中温 α -淀粉酶的液化速度较快,中温 α -淀粉酶作为液化酶较好。

3.2 α -淀粉酶分解马铃薯淀粉工艺的影响程度顺序依次为: $D > A > C > B$, α -淀粉酶分解马铃薯淀粉最佳工艺条件为: $A_2B_3C_1D_1$, 加酶量0.15%、淀粉量20%、温度80℃、时间13min。在此工艺条件下 α -淀粉酶分解马铃薯淀粉效果最好。

3.3 β -糖化酶分解马铃薯淀粉液化液工艺的影响程度顺序依次为: $D > C > A > B$, β -糖化酶分解马铃薯淀粉液化液最佳工艺条件为: $A_3B_2C_3D_1$, 加酶量0.15g、温度60℃、时间46h、pH5.4。在此工艺条件 β -糖化酶分解马铃薯液化液效果最好。

参考文献:

- [1] 邓宇. 淀粉化学品及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 30-32.
- [2] 姜志义. 淀粉酶对麦芽糖和蔗糖的作用及酶的专一性[J]. 生物学教

响应曲面法优化微波辅助提取 黑灵芝孢子多糖工艺研究

黄 璞, 谢明勇*, 聂少平, 陈 奕, 李 昌, 谢建华
(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 为优化黑灵芝孢子粉多糖的微波提取工艺, 在单因素试验基础上, 选择提取温度、提取时间以及水料比为自变量, 多糖提取率为响应值, 采用中心组合设计的方法, 研究各自变量及其交互作用对多糖提取率的影响。利用 SAS 和响应面分析相结合的方法, 模拟得到二次多项式回归方程的预测模型, 并确定微波提取多糖最佳条件为: 温度 129℃、时间 27min、水料比为 31:1。在此条件下, 多糖提取率达到 2.64%。

关键词: 黑灵芝孢子粉; 微波辅助提取; 多糖; 响应面分析

Study on Microwave-assisted Extraction of Polysaccharides from Spores of *Ganoderma atrum*
with Response Surface Analysis

HUANG Pu, XIE Ming-yong*, NIE Shao-ping, CHEN Yi, LI Chang, XIE Jian-hua
(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: To optimize the microwave-assisted extraction (MAE) of polysaccharide from spores of *Ganoderma atrum* (PSGA), on the base of the single factor investigation, the extraction temperature, extraction duration and the ratio of water to material were studied with the central composite design and their interactions on the yield of polysaccharide from spores of *Ganoderma atrum* were also investigated. The predictive polynomial quadratic equations model was developed by SAS software. Optimal conditions of MAE of polysaccharides from spores of *Ganoderma atrum* can be concluded as follows: 27 min at 129℃, the ratio of solvent to material 31:1, purified water as the solvent. On these conditions, the yield of the PSGA is up to 2.64%.

Key words spores of *Ganoderma atrum*; microwave-assisted extraction; polysaccharides; response surface analysis

中图分类号: Q946.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)10-0200-04

灵芝(*Ganoderma lucidum*), 担子纲多孔菌科灵芝属真菌, 被我国历代民族医药视为固本扶正的“瑞草”。而灵芝孢子为灵芝的生殖细胞, 其药理作用主要有抗肿瘤, 免疫调节, 调节血脂以及对神经、心血管和呼吸系统有调节改善作用^[1]。目前市场上普遍存在的灵芝品种除了赤芝和紫芝外, 还有黑芝(*Ganoderma*

atrum), 但是有关黑芝中有效成分尤其是黑芝多糖类化合物的研究却鲜有报道。

微波辅助萃取技术(MAE)是近年来新发展起来的一种方法, 相比于传统的回流提取、索氏提取方法等, 具有选择性高、提高收率及提取物质纯度、快速高效、节能、节省溶剂、污染小、质量稳定的优点, 有利于萃

收稿日期: 2007-07-23

*通讯作者

基金项目: 江西省农业科技攻关重点项目(2005); 教育部长江学者和创新团队发展计划资助项目(IRT0540);

江西省自然科学基金资助项目(9920029); 南昌大学测试基金资助项目(2006017)

作者简介: 黄璞(1981-), 男, 硕士研究生, 研究方向为营养与食品卫生学。

学, 2005, 30(6): 64.

③ 张成虎, 马心如. 低温双酶法液化、糖化工艺在我厂的应用[J]. 酿酒, 2002, 29(4): 108-109.

④ 李士彦. 几种酶的功能简介[J]. 生物学教学, 2006, 31(12): 65-66.

⑤ 姬艳红, 王华雯, 董青山, 等. 双酶法工艺生产酒精的探讨[J]. 河南化工, 2001(7): 20.

⑥ 张国权, 史一一, 魏益民, 等. 荞麦淀粉酶水解工艺条件研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(9): 86-92.