

# 高温根霉低聚糖酶制备 淀粉原料低聚直链葡萄糖浆

无锡轻工业学院发酵工程系

金其荣 徐 云

## 摘 要

低聚糖糖浆在西方国家正被开发为一种新型甜味剂。本文介绍与国内外目前生产淀粉糖浆与低聚糖浆不同的一种新型低聚糖浆的制备。该糖浆组成成分中含有50%以上的低聚糖,具有甜味纯正,口感厚实的特点。本文还对糖浆制备的条件及HPLC分析结果进行了讨论。

## 前 言

淀粉糖浆是食品工业中重要的甜味剂,目前,国内生产的淀粉糖浆多数是麦芽糖浆和果葡糖浆。随着人们口味的变化,对低甜度的低聚糖浆的要求日益增加。这种低聚糖浆含有较高比例的 $G_3-G_7$ 直链低聚葡萄糖,因此,这种糖浆具有较低的甜度、较好及较厚实的口感。这种糖浆在饮料、固体饮料、高级糖果、雪糕、糕点、罐头等食品生产中具有广泛的应用前景。

低聚糖浆目前在国外正作为取代果葡糖浆的第三代糖浆而大量生产。国外生产低聚糖浆是利用灰色链霉菌(*Streptomyces griseus*)和专门地衣芽孢杆菌(*B. Licheniformis*)、施氏假单胞菌(*Ps. stutzeri*)等产生的低聚糖酶来生产的。国内低聚糖浆和低聚糖酶的生产尚属空白。

本研究是利用根霉菌产生的高温低聚糖酶,进行淀粉原料低聚糖浆的制备,并对糖浆成分及部分特性进行了研究。

## 材 料

1. 低聚糖酶:低聚糖酶液采用高温根霉菌固体培养麸曲的水提取液,自行制备。

2.  $\alpha$ -淀粉酶:无锡酶制剂厂生产的普通中温 $\alpha$ -淀粉酶(6000单位/克)。

3. 玉米淀粉:由无锡市第三制药厂提供制药原料用玉米淀粉。

其余化学药品均为市售A.R., HPLC所用溶剂乙腈为层析纯。

## 方 法

### 1. 酶液制备

固体培养的高温根霉菌麸曲,经水浸泡后过滤,稀释至所需体积,即为低聚糖酶液。低温保存备用。

### 2. 淀粉的液化

300克玉米淀粉,加水至1000毫升,加0.1克氯化钙和0.1克用水调研过的 $\alpha$ -淀粉酶,于沸水浴中在不断搅拌下,液化半小时。液化后,煮沸5分钟,冷却后,即为液化醪液。

### 3. 糖浆制备

1000毫升液化醪中加入50毫升稀释10倍的根霉低聚糖酶酶液,置于恒温水浴中糖化;至预定时间后,取出煮沸5分钟,冷却后加入0.3%活性炭和0.1%硅藻土,脱色,必要时,可第二次脱色。脱色后的糖浆应无色透明。糖浆可在60°C自然蒸发浓缩或在50°C以下减压浓缩。浓缩至原液化醪体积1/3~1/4时,即

为含水量为30%的浓缩糖浆。

#### 4. 低聚糖酶酶液的液化力测定

采用《工业发酵分析》中“液化型淀粉酶活力的测定”所介绍方法。

#### 5. 浓缩糖浆还原糖测定

采用《工业发酵分析》中介绍的斐林试剂热滴定法测定。

#### 6. 糖浆成分分析

采用高压液相色谱仪分析糖浆成分。

仪器型号：美国 Waters 209型

柱：氨基柱25mm×4.9mm

流动相：乙腈：水=70：30

流速：1ml/min

示差折光折光检测器衰减：8×

标准曲线：采用3%麦芽三糖 乙腈—水溶液，进样量从10μl—70μl分7点。

进样量：10μl稀释50倍的浓缩糖浆。

#### 7. 糖浆甜度测定

浓缩糖浆稀释一倍后，与不同浓度蔗糖溶液品尝对比。

#### 8. 糖浆熬制温度

糖浆置烧杯中，于油浴中加热，至中心部分色泽变为棕色与标准棕色相同为止。

### 结 果

#### 1. 高温根霉低聚糖酶液化力测定

经测定，根霉麸曲水提取液没有α-淀粉酶活力，对淀粉无液化能力。

#### 2. 糖浆制备

按表1所列条件分批次制备糖浆，其中，

0号批次为对照的液化醪液。

#### 3. 糖浆成分比较分析

糖化醪液与液化醪液成分比较见表2。由表中可知，糖化醪与液化醪相比，麦芽六糖以上低聚糖及糊精含量明显降低，而葡萄糖及麦芽糖至五糖含量有不同程度增高，其中增加最多的是麦芽糖及麦芽三糖组分。

根霉低聚糖浆与国内外生产的几种主要淀

表1. 各批糖浆制备条件

批次	pH	糖化温度(°C)	糖化时间(小时)
0	6	60	2
1	4	50	3
2	4	60	6
3	4	70	12
4	4	80	24
5	5	50	6
6	5	60	3
7	5	70	24
8	5	80	12
9	6	50	12
10	6	60	24
11	6	70	3
12	6	80	6
13	7	50	24
14	7	60	12
15	7	70	6
16	7	80	3

表2. 液化醪及糖化醪成分比较

批号	总糖*	还原糖**	G	M	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>	M <sub>6</sub>	D	G+M	M <sub>3-6</sub>
0	24	36.7	0.026	8.48	8.66	5.62	5.0	8.88	63.3	8.5	28.16
5	23.9	92.5	10.36	28.2	26.4	14.33	8.51	4.72	7.5	38.56	53.96
13	22.7	96.5	9.16	30.2	26.7	15.1	8.59	6.75	3.5	39.36	57.2

注：\*总糖一项所列总糖在醪中的百分比

\*\*还原糖及其余各项均为各种糖占总糖之百分比

G：葡萄糖，M：麦芽糖，M<sub>3</sub>、M<sub>4</sub>、M<sub>5</sub>、M<sub>6</sub>分别表示麦芽三糖、麦芽四糖、麦芽五糖、麦芽六糖，D：糊精（下同）

表3.

根霉低聚糖浆与国内外主要淀粉糖浆成分比较

百分比 糖浆种类	葡 萄 糖	麦 芽 糖	麦芽三糖	麦芽四糖	麦 芽 五 糖	大 于 五 糖
根霉低聚糖浆	9	26	26	15	34	
中转化糖浆	17.6	16.6	16.2		29.6	
高转化糖浆	32	19	13	36		
麦芽糖浆	26	17	13	10	34	
低聚糖浆（美）	1.1	1.9	4.4	26.2	36.4	
低聚糖浆（地衣芽孢杆菌）（日）	6.8	8.2	15.8	7.7	33.3	37.5

注:表中所列为各组分糖占总糖百分比

粉糖浆成分比较见表3。由表中可见,根霉低聚糖浆与国内外生产的淀粉糖浆成分都有所不同,其特点是麦芽糖及麦芽三糖含量较高。

4. 温度、pH、及糖化时间对糖浆制备的影响

温度对糖浆成分影响见图1。在70°C左右时还原糖含量较高但麦芽三糖却较少,麦芽三糖含量在50°C~60°C时较高。

pH对糖浆成分影响见图2。在酸性pH范围内,pH变化对糖浆成分影响不大。

糖化时间对糖浆成分影响见图3。在十二小

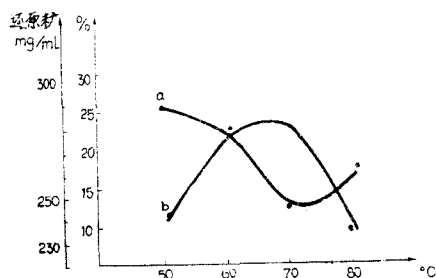


图1. 温度对糖浆成分的影响

a、糖浆中总还原糖; b、麦芽三糖含量

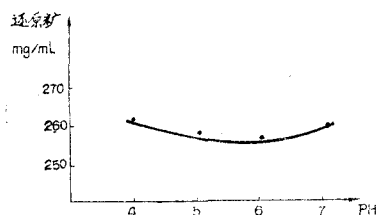


图2. pH对糖浆还原糖含量的影响

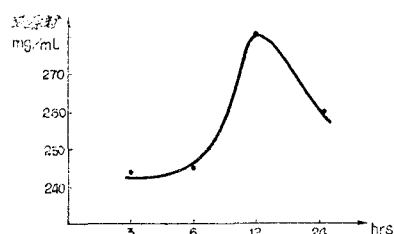


图3. 糖化时间对糖浆还原糖含量的影响

时左右还原糖的含量有一峰值。

5. 糖浆HPLC分析结果

部分糖浆样品HPLC分析结果见表4。几种批次样品HPLC图谱见图4。

6. 糖浆甜度测试

浓缩糖浆稀释一倍后,与3%、3.5%、4%、4.5%及5%的蔗糖溶液进行品尝对比。结果如下:

2人 认为与3.5%蔗糖相当。

3人 认为与4%蔗糖溶液相当。

2人 认为与4.5%蔗糖溶液相当。

1人 认为与5%蔗糖溶液相当。

平均后认为糖浆稀释一倍后与4%蔗糖溶液相当。

7. 糖浆熬制温度测试

经测试糖浆熬制温度都在135°C以上。

8. 原料及糖浆的水分测试。

淀粉原料水份为15.5%。

糖浆水份测试按GB 5009.3-85 标准测试,测得浓缩糖浆水份为29.07%。

表4.

部分糖浆HPLC分析结果

批号	总 糖	还原糖	D	G	M	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>	M <sub>6</sub>	G+M	M <sub>3-6</sub>
1	23.7	78.06	21.9	8.8	22.5	20.6	11	9.5	5.58	31.3	46.72
2	25.3	70.36	29.6	7.036	18	19	9.5	9	7.81	25.05	45.31
3	29	45.5	54.5	3.82	11.79	11.83	7.33	6.33	4.42	15.61	29.9
5	23.9	92.5	7.5	10.36	28.2	26.4	14.33	8.51	4.72	38.56	53.96
6	24.9	77.7	22.3	7.07	22.07	22.77	12.43	8.2	5.13	29.1	48.5
7	29.5	50	50	4.33	14.71	14.1	8	6.6	2.3	19	31
9	27.1	78.6	21.4	8.7	27.1	26.8	8.96	4.4	2.6	35.8	42.76
10	26.6	83.46	16.5	7.93	37.81	25.7	8.8	3.2	0	45.7	37.7
12	21.4	68.7	31.3	4.1	16.86	18.2	12.7	8.655	8.106	20.99	47.7
13	22.7	96.5	3.5	9.16	30.2	26.7	15.1	8.59	6.75	39.36	57.2
14	32.6	68.4	31.6	5.7	24.35	20.9	10.2	5.27	2.05	30.0	38.4
0	24	36.7	63.3	0.026	8.48	8.66	5.62	5.0	8.88	8.5	28.16

注:总糖一项所列为占溶液的百分比。其余各项为占总糖的百分比。

## 讨 论

1. 高温根霉低聚糖酶不具备液化酶活力,因此,淀粉不是此酶底物。

2. 淀粉经 $\alpha$ -淀粉酶液化后,经过高温根霉低聚糖酶作用,糖化醪的总还原糖、葡萄糖、麦芽糖、及麦芽三、四、五糖含量比液化醪都有不同程度的提高;而六糖、七糖及糊精含量则有明显下降。由此,可认为高温根霉低聚糖酶作用底物为DP6以上的低聚糖及糊精,经不规则内切后,产生葡萄糖到麦芽五糖各种产物。

3. 根霉低聚糖浆的组成成分与国内生产的普通麦芽糖浆及高、中转化糖浆不同,其葡萄糖及麦芽糖含量明显低于国内生产的各种淀粉糖浆,而麦芽三糖、四糖及五糖的含量则有明显提高。但是,根霉低聚糖浆组成成分也与美国、日本生产的低聚糖浆不同。美国糖浆四糖含量较高,日本糖浆五糖含量较高,而根霉低聚糖浆三糖含量较高。由此可见,根霉低聚糖浆是一种与目前国内外生产的糖浆都不同的新型糖浆。由于其含有少量的葡萄糖、麦芽糖及

麦芽三糖,因此它具有蔗糖十分之一的甜度,在糖果制造工艺中,可减少蔗糖的添加量。又因为其含有相当比例的低聚糖,因此该糖浆品尝后具有口感厚实、甜味纯正的特点。

4. 根霉低聚糖酶表现出耐高温的特性。在70-75°C下,此酶可保留相当的酶活力,甚至在80°C经12小时,此酶仍不失活。如按糖浆还原糖含量计算,该酶最适温度为70°C,但考虑到糖浆中低聚糖的含量及比例,则以工艺上选择60~65°C较为适宜。

5. 在微酸性pH下制备的糖浆、其成分基本不变,pH对酶活力影响不大。考虑到生产工艺上的简便,在用该酶进行糖浆生产时,可选用自然pH或pH7为工艺控制条件。

6. 糖化时间以10小时左右为宜。

7. 根霉低聚糖酶制备的低聚糖浆中,还有相当数量的葡萄糖,因此熬制温度还不太高,如果对菌种改进或利用纯化的酶,可进一步降低葡萄糖含量,提高低聚糖比例。这是今后提高的方向。

8. 该低聚糖浆经品尝后认为,该低聚糖浆具有甜味纯正,口感厚实、甜度为蔗糖的

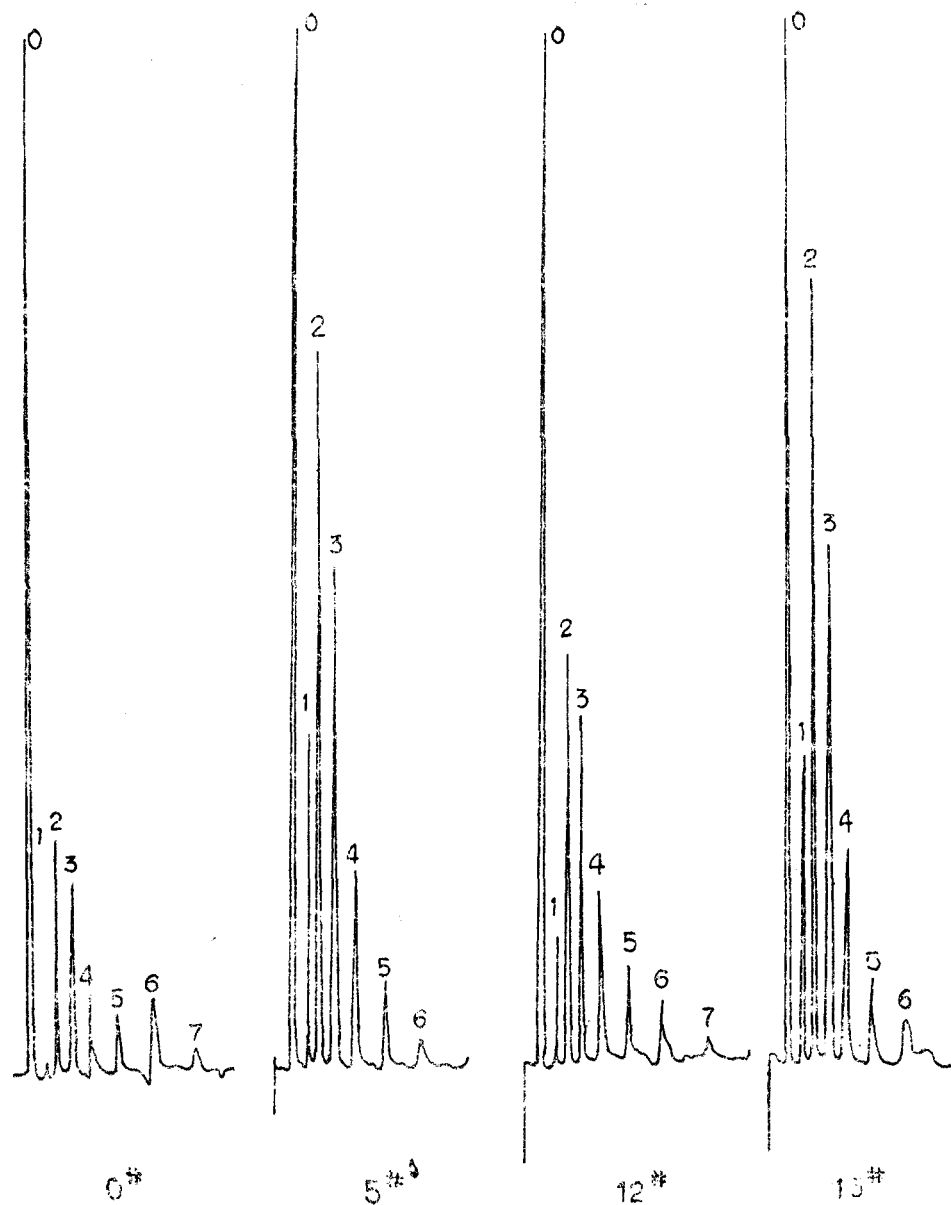


图4. 部分糖浆及液化酶的HPLC图谱

注:0#为液化酶, 5#、12#、13#为糖浆批号。峰:0-溶剂峰, 1-葡萄糖, 2-7分别为麦芽糖至麦芽七糖。

1/8左右的特点。是一种新型低甜度甜味剂。

### 结 论

利用高温根霉产生的低聚糖酶制备的淀粉低聚糖浆, 是一种新型低甜度甜味剂。它与国内外目前生产的淀粉糖浆及低聚糖浆相比, 在组成成分及利用的微生物种类上都不相同, 因此具有首创性。当以30%淀粉溶液为原料, 利

用根霉低聚糖酶, 在pH7、60°C条件下, 经10小时糖化, 可获得70%浓度, 含麦芽三糖25%以上的低聚糖浆。这种低聚糖浆具有甜味纯正, 口感厚实、熬制温度较高的特点, 是制造各类高级糖果、糕点、雪糕、罐头的甜味剂, 也可以应用于饮料制造中作为甜味剂及增厚添加剂。该糖浆制造工艺简单, 投资少, 上马快。