

# $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉动力学模型研究

钟昔阳, 杨积东, 汤玉清, 张淑芬, 徐玉红, 姜绍通

(合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230009)

**摘要:** 在研究底物质量浓度、酶用量、酶解 pH 值及酶解温度对  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉反应速率影响的基础上, 采用 Lineweaver-Burk 作图法和 Wilkinson 统计法求解酶解过程的动力学常数  $K_m$  和  $V_m$ , 并建立酶解动力学方程。结果表明: 在 pH 值为 6.0, 温度为 60℃ 条件下, 动力学常数  $K_m$  为 2.940 mg/mL,  $V_m$  为 0.348 mg/(mL·min), 米氏方程为  $v = \frac{0.348[S]}{2.940 + [S]}$ , 且验证实验表明, 方程的预测值与实测值基本吻合。在 30~60℃ 的条件下, 酶解动力学方程为  $v = \frac{0.2100\exp(-3755.4/RT)}{6.887\exp(-2343/RT) + [S]}[E]_{\text{总}}[S]$ 。

**关键词:**  $\alpha$ -淀粉酶; 小麦面粉; 酶解动力学

## Kinetic Modeling of Enzymatic Hydrolysis of Wheat Flour with $\alpha$ -Amylase

ZHONG Xi-yang, YANG Ji-dong, TANG Yu-qing, ZHANG Shu-fen, XU Yu-hong, JIANG Shao-tong

(School of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

**Abstract:** The effects of substrate concentration, enzyme concentration, pH and temperature on the hydrolysis rate of wheat flour by  $\alpha$ -amylase were analyzed. Based on this, the Michealis constant ( $K_m$ ) and maximum rate ( $V_m$ ) were deduced by Lineweaver-Burk plotting and Wilkinson statistical method. Results showed that, under the optimal conditions of pH 6.0 and temperature 60 °C, the  $K_m$  and  $V_m$  were 2.940 mg/mL and 0.348 mg/(mL·min), respectively. The Michaelis-Menten equation was  $v = \frac{0.348[S]}{2.940 + [S]}$ . The model-predicted values were consistent with the actually measured values from confirmation tests. At temperatures ranging from 30 to 60 °C, an enzymatic kinetic equation was obtained as  $v = \frac{0.2100\exp(-3755.4/RT)}{6.887\exp(-2343/RT) + [S]}[E]_{\text{total}}[S]$ .

**Key words:**  $\alpha$ -amylase; wheat flour; enzymatic kinetics

中图分类号: Q556

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)07-0096-05

$\alpha$ -淀粉酶是一类在食品工业中占有重要地位的淀粉酶, 主要用于酶解淀粉或糖元获取传统制糖、发酵类食品加工所需的糖类化合物原料或实现对焙烤类食品的品质改善<sup>[1-2]</sup>。近年来, 为进一步拓宽  $\alpha$ -淀粉酶在食品工业的应用领域, 国内外学者提出了利用  $\alpha$ -淀粉酶酶解谷物原料中的淀粉以帮助分离制备蛋白类产品的研究新思路, 对玉米蛋白、米渣蛋白和小麦麸皮蛋白的分离制备工艺及酶解动力学开展了较为系统的研究<sup>[3-8]</sup>。

谷朊粉俗称小麦面筋蛋白、活性面筋粉, 其蛋白含量高、营养丰富, 且资源丰富、经济性好, 在食品工业、饲料工业中得到广泛应用。目前, 谷朊粉的制备均是以小麦或面粉为原料, 采用水洗或离心分离的手段而得以实现的, 这种加工过程水的消耗量非常大, 产生的废水多, 且加工能耗高<sup>[9]</sup>。针对这一现状, 借鉴当前利用  $\alpha$ -淀粉酶法分离制备谷物蛋白类产品的这一研究新思路, 以小麦面粉为对象, 开展了添加  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉分离制备谷朊粉的新工艺研究, 取得了

较好效果。在前期的研究中已获取了最佳工艺参数, 为了进一步深入理解该工艺特点及相关反应机理, 本实验拟对其酶解过程的动力学问题展开研究, 以期以后产业化开发谷朊粉提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

特一级小麦面粉(淀粉含量 73.28%, 蛋白含量 11.73%) 安徽省亳州市利辛县面粉厂;  $\alpha$ -淀粉酶(食品级 3700U/g) 枣庄市杰诺生物酶有限公司; 酒石酸钾钠、氢氧化钠、五水合硫酸铜、盐酸等(分析纯) 合肥工业大学化学试剂厂; 3,5-二硝基水杨酸(分析纯)、葡萄糖(标准试剂) 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

HH-2 数显恒温水浴锅 江苏省金坛市荣华仪器有限公司; TDL-40B 高速离心分离机 上海安亭科学仪器

收稿日期: 2011-09-28

基金项目: 合肥工业大学博士专项基金项目(210HGBZ0570); 国家大学生创新性实验计划项目(101035938)

作者简介: 钟昔阳(1973—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为粮油食品加工。E-mail: sunriseset@sina.com

厂; CM-2 均质机 上海尚贵流体有限公司; DZF-1B 真空干燥箱 江苏省南通市锐锋制药有限公司; PHS-3B 精密 pH 计 上海精密科学仪器有限公司; SP-721 型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 小麦粉脱脂

取 60g 的小麦面粉, 用 10 倍体积的无水乙醚加入搅拌 30min 进行 2 次脱脂, 脱脂后置于慢速滤纸上除去乙醚, 并用少量的水清洗滤纸后放在通风橱通风 5~6h, 再将其放置在 40℃ 干燥箱中烘干待用<sup>[10]</sup>。

#### 1.3.2 酶解动力学研究

##### 1.3.2.1 还原糖含量测定

准确称脱脂小麦面粉, 按一定的固液比加水配制成为一定质量浓度(以面粉中的淀粉计)的面粉溶液, 搅拌并均质 10min, 调节 pH 值到一定的值, 再加一定量的  $\alpha$ -淀粉酶, 然后放在振荡器内振荡, 在振荡 5min 时吸取 10mL 酶解液, 85℃ 灭酶 5min, 于 5000r/min 离心 10min, 取上清液用 DNS 法测定还原糖含量<sup>[11]</sup>。

##### 1.3.2.2 葡萄糖标准曲线的制作

准确称取经干燥后的葡萄糖 0.1g, 加适量蒸馏水溶解, 转入 100mL 容量瓶, 加蒸馏水稀释定容, 配制成为质量浓度 1.0mg/mL 的葡萄糖标准溶液。准确吸取葡萄糖标准溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5mL 于 25mL 的容量瓶, 分别向其中加入 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0mL 蒸馏水, 再向每个容量瓶加入 1.5mL DNS 溶液, 充分混匀后于 100℃ 水浴中加热 5min, 迅速冷却, 加蒸馏水稀释定容。选择 1cm 比色皿, 于 540nm 波长处测定吸光度<sup>[12]</sup>。得回归方程为  $y = 0.5617x + 0.0061 (R^2 = 0.9993)$ ,  $x$  为葡萄糖质量浓度;  $y$  为吸光度)。

##### 1.3.2.3 不同条件对酶解速率的影响

研究底物质量浓度、酶用量、酶解 pH 值及酶解温度对  $\alpha$ -淀粉酶反应速率的影响, 底物质量浓度 10mg/mL、酶用量 6U/mL、温度 60℃ 及 pH6.0, 在其他条件不变的情况下, 分别改变反应的 pH 值(3、4、5、6、7、8)、温度(30、40、50、60、70、80℃)、酶用量(2、4、6、8、10U/mL)及底物质量浓度(2、5、10、15、20、25mg/mL), 按上述方法进行酶解实验, 测定酶解 5min 时的还原糖, 根据测定的上清液中还原糖含量, 按式(1)计算反应速率  $v$ 。

$$v/(\text{mg}/(\text{mL} \cdot \text{min})) = \frac{m}{V \times t} \quad (1)$$

式中:  $m$  为上清液中还原糖质量 /mg;  $V$  为反应体积 /mL;  $t$  为反应时间 /min。

每组实验重复 3 次, 采用 Excel 软件分析处理数据。

#### 1.3.2.4 酶解动力学模型的建立

Michaelis-Menten 假定了酶与底物的酶促反应按下两步进行<sup>[11]</sup>:



式中:  $k_1$  为 ES 生成的反应速率常数;  $k_2$  和  $k_3$  分别代表 ES 分解为  $E + P$  和  $E + S$  的反应速率常数;  $k_4$  为  $E + P$  生成 ES 的反应速率常数。

酶(E)与底物(S)首先结合成中间产物(ES), 中间产物分解成产物(P)后, 酶重新游离出来, 在反应初期, 没有产物(P)或产物浓度[P]极低, 不足以引起可逆反应, 故  $k_4$  可以忽略不计, 第二步反应是单向的, 即可推出反应的动力学方程为:

$$v = \frac{K_2[E]_0[S]}{(K_2 + K_3)/K_1 + [S]} \quad (3)$$

式中:  $[S]$  为底物质量浓度 / (mg/mL);  $[E]_0 / (U/mL) = [E] + [ES]$ ;  $[ES]$  为中间产物 / (U/mL)。

令  $K_m = (K_2 + K_3)/K_1$ ,  $V_m = K_2[E]_0$ , 则方程(2)可简化为:

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m + [S]} \quad (4)$$

方程(3)即为米氏方程, 其中  $K_m$  为米氏常数 / (mg/mL);  $V_m$  为最大反应速率 / ((mg/mL) · min)。

将米氏方程进行线性化, 即可得到如下方程:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m[S]} \quad (5)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 pH 值对酶解速率的影响

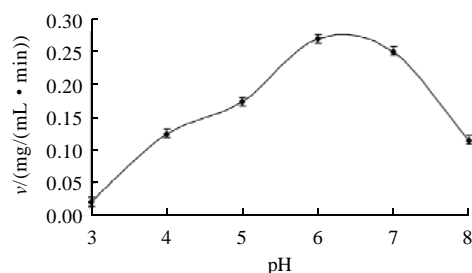


图1 pH 值与酶解反应速率的关系

Fig.1 Effect of pH on hydrolysis rate of  $\alpha$ -amylase

由图 1 可知, pH 值为 6.0 左右时, 反应速率达到最大, 表明此时是酶的最适 pH 值, 在 pH 值为 5.5~7.5 时, 反应速率较大, 低于或超过了这个范围, 反应速率降低, 即酶活性降低。刘洋等<sup>[13]</sup>研究表明,  $\alpha$ -淀

粉酶最适反应 pH 值为 6.0, 在 pH6.0~8.0 有较高的活力, 结果与其基本一致。pH 值可影响酶分子, 特别是活性中心上必需基团的解离程度和催化基团中质子供体或质子受体所需的离子化状态, 也可影响底物与酶的解离程度, 从而影响酶与底物的结合<sup>[14]</sup>, 因此在 pH 值为 6.0 时,  $\alpha$ -淀粉酶与小麦面粉中淀粉结合的最好, pH 值低于或超过了这个较适范围, 此时酶的活性中心构象发生了改变, 甚至整个酶分子结构发生了改变<sup>[15]</sup>, 使酶的活性降低, 故结合实验和  $\alpha$ -淀粉酶的酶学特性, 酶解的最佳 pH 值为 6.0。

## 2.2 温度对酶解速率的影响

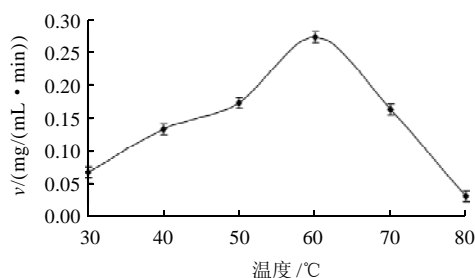


图2 温度与酶解反应速率的关系

Fig.2 Effect of temperature on hydrolysis rate of  $\alpha$ -amylase

由图2可知, 在30~60℃之间随温度的升高, 反应速率逐渐增大, 在60℃时酶表现出的活性最强, 反应速率达到最大, 超过60℃以后, 反应速率迅速下降。原因可能是温度对酶促反应速率的影响主要表现在两个方面, 其一是当温度升高时, 与一般化学反应一样, 反应物能量增加, 单位时间内有效碰撞次数也增加, 促使反应速率加快; 其二是由于酶的本质是蛋白质, 随着温度的升高, 酶蛋白会因逐渐变性而失活, 从而导致酶促反应反应速度下降<sup>[16]</sup>, 所以结合实验和酶学特性, 酶解的最适温度为60℃。

## 2.3 酶用量对酶解速率的影响

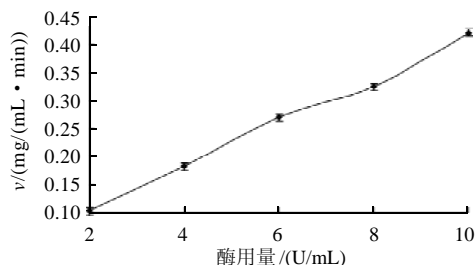


图3 酶用量与酶解反应速率的关系

Fig.3 Effect of amylase concentration on hydrolysis rate

由图3可知, 在酶解反应的初期, 当酶用量增大时, 反应速率也随之增大, 两者呈直线关系。理论分析可知在底物充足而酶用量处在较低水平时, 随着酶用量增大, 反应速率也随之增大; 当底物不充足时增大酶

用量, 反应速率的增大会变得缓慢, 甚至出现下降的趋势<sup>[16]</sup>。由于本实验是酶解反应初期, 底物充足且较大, 故酶用量与酶解速率呈现直线型的变化规律。

## 2.4 底物质量浓度对酶解速率的影响

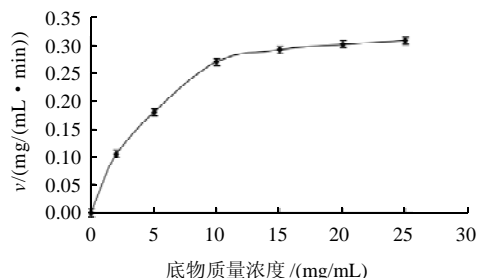


图4 底物质量浓度与酶解反应速率的关系

Fig.4 Effect of substrate concentration on hydrolysis rate of  $\alpha$ -amylase

由图4可知, 随着底物质量浓度的增加, 反应速率先增大后趋于平缓。当底物质量浓度较低时, 反应速率增加的较快, 呈一级反应; 当底物质量浓度很大时, 反应速率几乎没有增加, 呈零级反应, 这是由于酶全部被底物利用, 反应速率与底物质量浓度无关。图中[S]与v呈典型的双曲线关系, 符合经典的表征酶促反应特征的米氏方程所绘制的曲线形状, 表明 $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学遵循米氏方程的规律, 故可以用米氏方程实验数据进行拟合。

## 2.5 酶解动力学研究

### 2.5.1 最佳条件下动力学方程的建立

#### 2.5.1.1 Lineweaver-Burk 双倒数法作图法求解方程参数

将图4数据按照1/v对1/[S]作图, 得到Lineweaver-Burk, 结果如图5所示。其中1/[S]为横坐标(x), 1/v为纵坐标(y), 用最小二乘法线性拟合, 可以得到米氏常数  $K_m$ /(mg/mL)和最大反应速率  $V_m$ /(mg/(mL · min))。

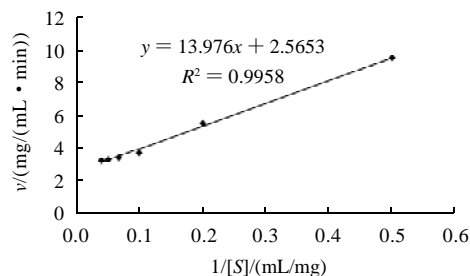


图5 Lineweaver-Burk 双倒数法作图

Fig.5 Lineweaver-Burk plot

通过图5各对应点, 用最小二乘法线性拟合, 得到米氏常数  $K_m = 5.448$  mg/mL 和最大反应速率  $V_m = 0.390$  mg/(mL · min)。即可得到 $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学米氏方程为:

表1 Wilkinson 统计法求估算解

Table 1 Calculation of provisional values by Wilkinson method

[S]/(g/100mL)	v/(mg/(mL · min))	$x = v^2$	$y = v^2/[S]$	$xy$	$x^2$	$xy$	$xy$	$y^2$
0.2	0.105 ± 0.0035	0.011 ± 0.0007	0.055 ± 0.0037	0.001 ± 0.0001	0.000 ± 0.0000	0.006 ± 0.0006	0.000 ± 0.0000	0.003 ± 0.0004
0.5	0.180 ± 0.0040	0.032 ± 0.0014	0.064 ± 0.0029	0.006 ± 0.0003	0.001 ± 0.0000	0.012 ± 0.0007	0.002 ± 0.0002	0.004 ± 0.0004
1.0	0.270 ± 0.0050	0.073 ± 0.0027	0.073 ± 0.0027	0.020 ± 0.0011	0.005 ± 0.0004	0.020 ± 0.0011	0.005 ± 0.0004	0.005 ± 0.0004
1.5	0.292 ± 0.0057	0.085 ± 0.0033	0.057 ± 0.0022	0.025 ± 0.0015	0.007 ± 0.0006	0.017 ± 0.0010	0.005 ± 0.0004	0.003 ± 0.0002
2.0	0.302 ± 0.0045	0.091 ± 0.0027	0.046 ± 0.0014	0.027 ± 0.0012	0.008 ± 0.0005	0.014 ± 0.0006	0.004 ± 0.0002	0.008 ± 0.0001
2.5	0.308 ± 0.0051	0.095 ± 0.0029	0.038 ± 0.0025	0.029 ± 0.0013	0.009 ± 0.0004	0.012 ± 0.0007	0.004 ± 0.0004	0.009 ± 0.0004
Σ				0.108	0.031	0.079	0.021	0.033
代号				$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\varepsilon$

表2 Wilkinson 统计法求精校解

Table 2 Fine adjustment of values by Wilkinson method

[S]/(g/100mL)	$[S] + K_m^0$	$V_m^0[S]$	$f$	$f'$	$f^2$	$f'^2$	$ff'$	$vf$	$vf'$
0.2	0.316	0.062	0.196	0.619	0.038	0.383	0.121	0.021	0.065
0.5	0.616	0.154	0.251	0.407	0.063	0.166	0.102	0.045	0.073
1.0	1.116	0.309	0.277	0.248	0.077	0.062	0.069	0.075	0.067
1.5	1.616	0.463	0.287	0.177	0.082	0.031	0.051	0.084	0.052
2.0	2.116	0.618	0.292	0.138	0.085	0.019	0.040	0.088	0.042
2.5	2.616	0.772	0.295	0.113	0.087	0.013	0.033	0.091	0.035
Σ					0.432	0.674	0.416	0.403	0.334
代号					$\alpha'$	$\beta'$	$\gamma'$	$\delta'$	$\varepsilon'$

$$v = \frac{0.390[S]}{5.448 + [S]}$$

方程的相关系数  $R^2 = 0.9958$ , 方程极显著。

#### 2.5.1.2 Wilkinson 统计法求解方程参数

目前, Wilkinson 统计法被认为是研究酶解动力学的一种最可靠的方法, 它分为两个过程: 最小二乘法求估算解, 计算过程列于表1; 泰勒展开式求精校解, 计算过程列于表2。

由表1可知,  $\Delta = \alpha\varepsilon - \gamma\delta = 0.00195$ ;

$$V_m^0 = \frac{\beta\varepsilon - \delta^2}{\Delta} = 0.309 \text{ mg/(mL} \cdot \text{min)};$$

$$K_m^0 = \frac{\beta\gamma - \alpha\delta}{\Delta} = 0.116 \text{ g/100mL}。$$

式中:  $\Delta$  为  $\alpha\varepsilon - \gamma\delta$ ,  $V_m^0$ 、 $K_m^0$  分别为最大反应速率和米氏常数的估算解。

$$\text{其中, } f = \frac{V_m^0[S]}{K_m^0 + [S]}, f' = \frac{-V_m^0[S]}{(K_m^0 + [S])^2}。$$

由表2可得到,  $\Delta' = \alpha'\beta' - \gamma'^2 = 0.1181$ ;

$$b_1 = \frac{\beta'\delta' - \gamma'\varepsilon'}{\Delta'} = 1.126; b_2 = \frac{\alpha'\varepsilon' - \gamma'\delta'}{\Delta'} = 0.201。$$

最后可得到精校解为:  $V_m = V_m^0 b_1 = 0.348 \text{ mg/(mL} \cdot \text{min)}$ ;  $K_m = K_m^0 + b_2/b_1 = 2.940 \text{ mg/mL}$ 。

#### 2.5.1.3 Lineweaver-Buck 法和 Wilkinson 统计法的比较

表3 Lineweaver 与 Wilkinson 求解结果比较

Table 3 Comparisons of  $V_m$  and  $K_m$  values obtained by Lineweaver and Wilkinson methods

求解方法	$K_m$ /(mg/mL)	$V_m$ /(mg/(mL · min))
Lineweaver-Buck法	5.448	0.390
Wilkinson 统计法	2.940	0.348

由表3比较可知, 两种方法计算得到的米氏常数和最大反应速率是有一定的区别的。钟穗生<sup>[17]</sup>、张国权<sup>[18]</sup>等研究表明, 对于 Lineweaver-Buck 作图法而言, 方便快捷, 计算量较小, 它一般适用于底物质量浓度([S])在  $0.33K_m \sim 2.0K_m$  之间; 而 Wilkinson 统计法计算结果较为可靠, 但是计算过程较为复杂。所以本实验又对实验数据进行了 Wilkinson 统计法校正, 求得精校解  $V_m$  为  $0.348 \text{ mg/(mL} \cdot \text{min)}$ ,  $K_m$  为  $2.940 \text{ mg/mL}$ 。即可得到  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学米氏方程为:

$$v = \frac{0.348[S]}{2.940 + [S]}$$

#### 2.5.2 酶解动力学方程的验证实验

取不同质量浓度的面粉溶液, 在酶用量  $6 \text{ U/mL}$ 、 $\text{pH}6.0$  及温度  $60^\circ\text{C}$  条件下进行验证实验, 将两种方法得到的动力学方程的理论值与实际测定值相比较, 验证方程的可靠性及准确性。

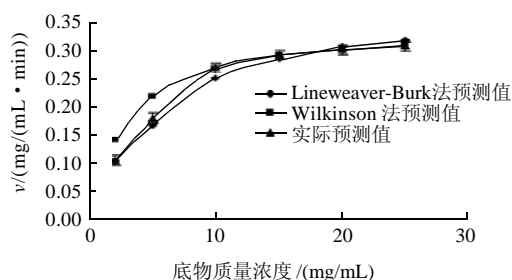


图6 酶解动力学方程的验证

Fig.6 Validation of the developed hydrolysis kinetic model

由图6可知,  $[S]$  在  $0 \sim 10 \text{ mg/mL}$  之间时, 采用 Lineweaver-Burk 法预测得到的  $v$  与实际值更接近, 当  $[S] \geq 10 \text{ mg/mL}$  后, 采用 Wilkinson 统计法预测得到的  $v$  比较准确, 这与钟穗生<sup>[17]</sup>、张国权<sup>[18]</sup>等研究表明的相似, 本实验中的底物质量浓度为  $10 \text{ mg/mL}$ , 故采用 Wilkinson 统计法较为准确可靠, 米氏方程拟合出  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学方程有效, 且在最佳 pH 6.0 及温度  $60^\circ\text{C}$  条件下,  $K_m$  为  $2.940 \text{ mg/mL}$ ,  $V_m$  为  $0.348 \text{ mg/(mL} \cdot \text{min)}$ 。

### 2.5.3 一般条件下动力学方程的建立

由上述实验表明, 在最佳 pH 值和温度条件下,  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学方程遵循米氏方程规律, 所以在米氏方程的基础上, 可以拟合出一般条件下的动力学方程。

温度在  $30 \sim 60^\circ\text{C}$  之间, 反应速率随温度升高而增大, 超过  $60^\circ\text{C}$ , 反应速率开始降低; 当温度在  $30 \sim 60^\circ\text{C}$  之间,  $\ln v$  对  $1/T (\times 10^3)$  作图呈直线关系, 表明温度引起的参数的变化确实服从阿累尼乌斯(Arrhenius)方程<sup>[19]</sup>:

$$\ln K_2 = -\frac{E_a}{RT} + \ln A$$

式中:  $R$  为气体常数  $/(J/(\text{mol} \cdot K))$ ;  $E_a$  为活化能  $/(kJ/mol)$ ;  $A$  为指前因子  $/(mg/(mL \cdot min))$ 。

对图2数据进行线性回归, 可以求得  $E_a = 3.754 \text{ kJ/mol}$ ,  $A = 0.2100 \text{ mg/(mL} \cdot \text{min)}$ 。统计检验的相关系数为 0.983, 表明用 Arrhenius 方程对本研究数据的拟合是显著的。

平衡常数  $K_s$  与温度  $T$  的关系服从范特柯夫(Van't Hoff)方程:

$$\ln K_s = -\frac{\Delta H}{RT} + \ln B$$

式中:  $K_s$  为平衡常数;  $\Delta H$  为焓变  $/(kJ/mol)$ ;  $B$  为频率因子;  $R$  为气体常数  $/(J/(\text{mol} \cdot K))$ 。

在酶促反应中  $K_2 \gg K_3$ ,  $K_s \approx K_m$ 。以不同温度梯度下测得的米氏常数  $K_m$  回归, 求得焓变  $\Delta H$  为  $2.343 \text{ kJ/mol}$ ,  $B$  为 6.887。统计检验的相关系数为 0.971, 表明拟合有效。运用方程(2)拟合出一般条件下,  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学方程:

$$v = \frac{K_2[E]_{\text{总}}[S]}{K_m + [S]} = \frac{A \exp(-E_a/RT)}{B \exp(-\Delta H/RT) + [S]} [E]_{\text{总}}[S]$$

$$= \frac{0.2100 \exp(-3755.4/RT)}{6.887 \exp(-2343/RT) + [S]} [E]_{\text{总}}[S]$$

该动力学方程在  $30 \sim 60^\circ\text{C}$  的温度范围内适用。

## 3 结论

3.1  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学过程遵循米氏方程的规律, 可以用米氏方程实验数据进行拟合。

3.2 在最佳 pH 值为 6.0, 温度为  $60^\circ\text{C}$  条件下, 采用 Lineweaver-Burk 法和 Wilkinson 统计法可以求解出  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的  $K_m$  和  $V_m$ , 且 Wilkinson 统计法较 Lineweaver-Burk 法更为可靠, 得出  $K_m$  为  $2.940 \text{ mg/mL}$ ,  $V_m$  为  $0.348 \text{ mg/(mL} \cdot \text{min)}$ , 米氏方程为  $v = \frac{0.348[S]}{2.940 + [S]}$ ; 验证实验表明, 方程的预测值与实测值基本吻合。

3.3 在  $30 \sim 60^\circ\text{C}$  的条件下,  $\alpha$ -淀粉酶酶解小麦面粉的动力学方程为  $v = \frac{0.2100 \exp(-3755.4/RT)}{6.887 \exp(-2343/RT) + [S]} [E]_{\text{总}}[S]$ 。

## 参考文献:

- [1] 冯健飞.  $\alpha$ -淀粉酶的应用及研究进展[J]. 现代农业科技, 2010(17): 354-355.
- [2] HIDALGO A, BRANDOLINI A. Evaluation of heat damage, sugars, amylases and colour in breads from einkorn, durum and bread wheat flours[J]. Journal of Cereal Science, 2011, 54(1): 90-97.
- [3] 李梦琴, 李运罡, 吴坤, 等. 玉米黄粉酶解提取浓缩蛋白工艺优化研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 269-271.
- [4] 金梅, 赵瑞昌, 姜东. 响应面法优化麦麸蛋白超声波: 酶法提取工艺[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(8): 6-9.
- [5] WANG M, HETTIARACHCHY N S, QI M, et al. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(2): 411-416.
- [6] DELGADO R, CASTRO A J, VAZQUEZ M. A kinetic assessment of the enzymatic hydrolysis of potato (*Solanum tuberosum*) [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(4): 797-804.
- [7] 刘社际, 谭辉玲. 玉米淀粉酶催化糖化的反应动力学模型[J]. 重庆大学学报, 1997, 20(1): 109-111.
- [8] 田蔚, 林亲录, 刘一洋. 米渣蛋白的提取及应用研究[J]. 粮食加工, 2009, 34(2): 31-37.
- [9] 钟昔阳. 高活性小麦谷朊粉产业化加工技术研究及其应用概述[J]. 食品科学, 2004, 25(21): 95-100.
- [10] 邓红, 田芸芸, 田子卿, 等. 响应曲面法优化文冠果仁蛋白的碱溶酸沉提取工艺[J]. 食品工业科技, 2010, 31(8): 197-199.
- [11] 夏雨, 徐勇, 李燕杰, 等. 中把大焦淀粉的稳定性及酶解动力学[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 74-79.
- [12] 赵凯, 许鹏举, 谷广焯, 等. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 534-536.
- [13] 刘洋, 沈微, 石贵阳, 等. 中温  $\alpha$ -淀粉酶的酶学性质研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 373-377.
- [14] 蔡丽华, 马美湖. 4 种常用蛋白酶对牛骨蛋白的酶解动力学研究[J]. 食品科学, 2010, 31(5): 150-154.
- [15] 赵燕, 涂勇刚, 郭建军, 等. 玉米淀粉的  $\beta$ -淀粉酶酶解动力学研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 193-194.
- [16] 郑宝东. 食品酶学[M]. 南京: 东南大学出版社, 2006: 88.
- [17] 钟穗生, 刘生玉, 张林香. 马铃薯淀粉糖化动力学的研究[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(1): 21-25.
- [18] 张国权, 史一一, 魏益民, 等. 荞麦淀粉的真菌淀粉酶酶解动力学研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(5): 42-46.
- [19] SCHWAAB M, PINTO J C. Optimum reference temperature for reparameterization of the Arrhenius equation. Part I: Problems involving one kinetic constant[J]. Chemical Engineering Science, 2007, 62(10): 2750-2764.