

酸湿热处理小麦面粉的性质及酶解动力学研究

黄立新¹, 张欣欣¹, 吴小员¹, 郭峰²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 广州双桥股份有限公司, 广东广州 510280)

摘要: 本文采用水热反应釜酸湿热处理小麦面粉, 分析了小麦面粉处理前后基本成分变化、显微形貌、热力学性质、糊粘度曲线、结晶性质、红外图谱和酶解动力学方程。研究表明, 经过酸湿热处理后的作用产物, 蛋白质含量减少, 部分颗粒出现浅层裂痕, 偏光十字模糊; 差示扫描量热分析显示, 处理产物与原面粉相比吸热峰后移, 吸热焓 ΔH 降低了 2.976 J/g; 布拉班德粘度曲线表明, 产物的起糊温度由 82.6 °C 增加到 87 °C, 峰值粘度由 82 BU 降到 63 BU; X 射线衍射分析显示产物结晶度增大 3.8%; 红外图谱变化不大。酶解动力学研究发现, 在模拟体外消化条件下, α -淀粉酶对小麦面粉处理前后样品的降解遵循 Michaelis-Menten 规律, 产物的 α -淀粉酶酶解动力学方程为 $V=0.161[S]/(1.093+[S])$, 与处理前比, 米氏常数 K_m 及最大反应速率 V_m 均降低。

关键词: 小麦面粉; 酸湿热处理; 性质; 酶解动力学

文章编号: 1673-9078(2013)6-1202-1206

Effect of Acid & Heat-moisture Treatment on Properties and Enzymatic Kinetics of Wheat Flour

HUANG Li-xin¹, ZHANG Xin-xin¹, WU Xiao-yuan¹, GUO Feng²

(1. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangzhou Shuangqiao Limited Company, Guangzhou 510280, China)

Abstract: Wheat flour was modified by acid and heat-moisture treatment in thermal water kettle. Polarization microscope, scanning electron micrograph, differential scanning calorimetry (DSC) instrument, Brabender viscosity instrument, X-ray diffraction (XRD), infrared spectrometer were used to study the properties enzymatic kinetics of wheat flour before and after the treatment. It was found that, after modification, the protein content was reduced and part of starch granules had shallow crack. Polarization cross was blurring. DSC showed endothermic peak moved backward and absorption enthalpy (ΔH) decreased 2.976 J/g. Brabender viscosity curve indicated that pasting temperature increased from 82.6 °C to 87 °C and viscosity decreased from 82 BU to 63 BU. XRD showed crystalline structure of starch increased 3.8%. Under in vitro digestion conditions, α -Amylase hydrolyzation of treatment product followed Michaelis-Menten, and enzymatic kinetic equation of product with α -Amylase was obtained as $V=0.161[S]/(1.093+[S])$. Compared with that without modification, Micheals constant (K_m) and maximum rate (V_m) decreased.

Key words: wheat flour; acid & heat-moisture treatment; properties; enzymatic kinetics

小麦面粉是北方地区最重要的食物来源, 主要组分为淀粉与蛋白, 小麦淀粉占到75%左右, 蛋白含量在6.5~13.5%之间, 已有的研究报道表明小麦淀粉与蛋白可以形成特定的复合物, C. Lamacchia^[1]用添加大豆粉的粗粒小麦粉制作意大利式细面条, 结果表明大豆蛋白与粗粒小麦粉在面条制作过程中, 形成了高分子量

收稿日期: 2013-03-21

基金项目: 2012 年度国家自然科学基金重点项目 (31130042); 广东省教育部产学研结合项目 (2011A090200062); 广州市科技计划项目 (2012J430058); 2011 年华南理工大学校级教学研究项目“利用产学研资源提高学生工程及科研能力的研究”

作者简介: 黄立新 (1967-), 男, 博士, 副教授, 主要从事碳水化合物功能化和蛋白质改性技术研究

的聚合物; 陈建省^[2]等人研究表明, 面筋蛋白在糊化体系中会自然产生一些丝状纤维, 它们会通过共价键附着在淀粉颗粒表面形成复合物, 且量面筋蛋白添加量和面筋蛋白类型会显著影响峰值黏度、低谷黏度、黏度面积、反弹值和峰值时间等特征参数, 进而显著影响小麦淀粉的糊化特性。另外, 琚长青^[3]等人研究木薯淀粉与胶原蛋白的酸热作用产物的结构及其体外消化等等性质, 开发新型的变性淀粉产品。另外, 肖湘等人^[4]以脱脂绿豆粉为原料, 分别采用柠檬酸、盐酸、硫酸及干热的酸热作用方法, 制备出了含蛋白质的变性淀粉产物, 并测定了产物的结构、性质以及消化的特性; 李源等人^[5]以水磨米粉为原料, 通过酸湿热的作用处理, 测定了处理前后米粉各性质的变化, 结果表明

其中淀粉的消化特性发生了变化。

对于小麦面粉的研究一般是将其淀粉与蛋白分离进行研究,将小麦面粉作为一个整体研究报道不多。本研究尝试直接以小麦面粉为原料,利用面粉自身的淀粉和蛋白质,采用酸湿热处理方法,制备出含蛋白质的复合变性淀粉产物,掌握处理前后小麦面粉的微观形态、热力学性质、糊化性质、结晶性质、红外图谱的变化,另外还研究其该产物的酶解动力学方程,为其开发应用提高基础依据。

1 材料与方法

1.1 原料和试剂

面粉:广州福佳德面粉厂;猪胰 α -淀粉酶(22000 U/g):Sigma公司;其他分析纯试剂。

1.2 仪器和设备

烘箱,恒温摇床,分析天平,电导率仪,FW100型高速万能粉碎机。

BH2型多功能光学显微镜;S3700N扫描电镜;Micro Visco-Amylo-Graph Brabender粘度仪;DSCQ100型差示扫描量热仪;D/max 2200VPC型X射线衍射光谱仪;AVATAR360型红外光谱仪。

1.3 样品制备

取50g面粉样品,将一定比例的30%柠檬酸与无水乙醇混合液均匀的喷洒于样品表面,混合均匀一定时间,调节水分含量至25%,置于水热反应釜中,密封24h平衡水分。将反应釜置于120℃反应2h,冷却至室温,用去离子水洗涤离心2~3次,直至洗液电导率在100 μ S/cm以下,将沉淀物45℃烘干至水分约10%,粉碎过100目筛,室温下平衡水分12h,得酸湿热处理的小麦面粉产物。

1.4 测定方法

1.4.1 成分分析

水分按照GB5009.2-1985方法,蛋白质按照GB/T5009.5-2003凯氏定氮法,粗脂肪按照GB5512-1985索氏抽提法,灰分按照GB5009.4-2010方法。

1.4.2 微观性质

1.4.2.1 光学显微形貌

样品用50%甘油配制成一定浓度的乳液,滴于载玻片上,盖上盖玻片,放入显微镜样品台,观察颗粒形貌及偏光十字情况。

1.4.2.2 扫描电镜

将样品用导电胶固定在样品台上,真空喷金处理,放入电镜中,观察拍摄样品颗粒形貌。

1.4.3 差示扫描量热分析

样品乳浓度为20% (m/V),称样量约2mg,以空

白的样品池做参比物。扫描温度范围30~110℃,速率为10℃/min,氮气流量40mL/min。

1.4.4 布拉班德粘度曲线

温度程序:30℃ \rightarrow (7.5℃/min) \rightarrow 95℃ \rightarrow (5min) \rightarrow 95℃ \rightarrow (-7.5℃/min) \rightarrow 50℃ \rightarrow (5min) \rightarrow 50℃。测量盒扭矩:350cmg,测定转速:250r/min,测定浓度为6.0% (m/m)。记录粘度曲线的特征值。

1.4.5 X射线衍射分析

衍射角范围为4~60°;步长为0.02;扫描速率10°/min;靶型:Cu;发射及防反射狭缝1°,接受狭缝0.3mm;管压:40kV,管流:20mA。

1.4.6 红外光谱分析

采用溴化钾压片法在4000~400cm⁻¹范围内对样品进行扫描测量。

1.4.7 酶解动力学研究

1.4.7.1 试验方法

参照Englyst等人^[6]方法,模拟体外消化条件下 α -淀粉酶酶解酸湿热处理前后小麦面粉样品的动力学方程^[7]。

1.4.7.2 酶解动力学模型的建立

将米氏(Michaelis-Menten)方程: $V=V_m \times [S] / (K_m + [S])$ 变成倒数,即为: $1/V = K_m/V_m \times 1/[S] + 1/V_m$;将其看为一个直线方程,其斜率为 K_m/V_m ,截距为 $1/V_m$ ^[8]。

2 结果与讨论

2.1 处理后面粉的基本成分

表1为酸湿热处理前后样品的基本成分测定结果。从表1可见,原面粉经酸湿热处理及洗涤后,面粉的吸水性降低;蛋白质在酸湿热条件下部分水解成小分子肽或氨基酸,这些小分子溶于水在洗涤时被弃去,使得蛋白含量减少;粗脂肪、灰分含量略微减少。

表1 处理前后基本成分分析结果(%)

Table 1 The content of the wheat flour samples before and after acid & heat-moisture treatment

| 项目 | 水分 | 蛋白质 | 粗脂肪 | 灰分 |
|-------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|
| 原面粉 | 13.70 \pm 0.75 | 11.25 \pm 0.16 | 1.03 \pm 0.06 | 0.68 \pm 0.04 |
| 处理后面粉 | 9.65 \pm 0.31 | 9.52 \pm 0.28 | 0.98 \pm 0.09 | 0.66 \pm 0.05 |

2.2 显微形貌分析

小麦原面粉和酸湿热处理样品的光学显微形态和偏光十字如图1(A)和(B)所示,原面粉颗粒的显微形态及其偏光十字非常清晰,颗粒表面光滑,原面粉中小麦淀粉颗粒存在大小两种颗粒:大的在20~35 μ m,小的在2~10 μ m,中间大小的较少^[9]。由照片可以看出,酸湿热处理后样品颗粒表面粗糙,这可能是由于蛋白质包裹在淀粉颗粒表面,与原面粉相比,部分颗粒表

面存在裂痕, 偏光十字变模糊。淀粉颗粒形状和偏光十字的变化, 说明在湿热处理过程中颗粒的结构遭到了一定的破坏。根据图1(C)扫描电镜照片分析可知, 酸湿热处理面粉颗粒表面比较粗糙部分颗粒出现浅层裂痕, 附着物较多, 应为蛋白质组分, 这与在偏光显微镜下看到的现象相同。

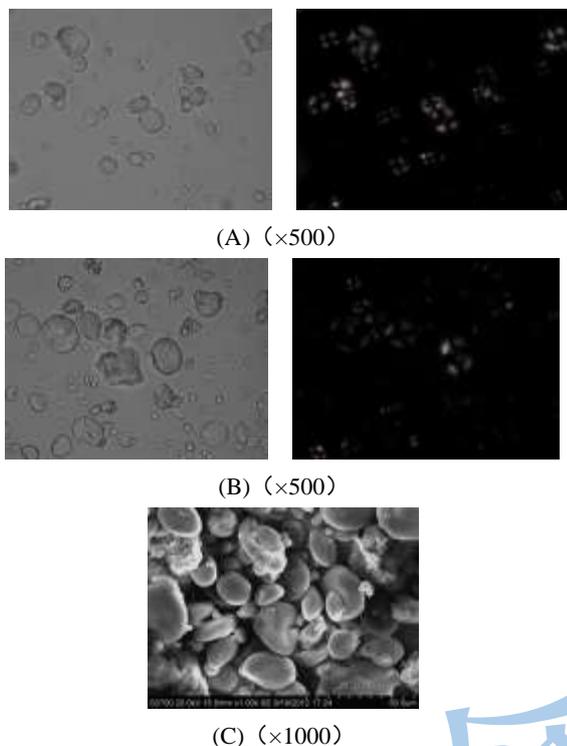


图1 酸湿热处理前后小麦面粉的光学显微照片及处理后扫描电镜照片

Fig.1 The optical and scanning electron micrograph of the wheat flour sample before and after acid & heat-moisture treatment

注: A: 原面粉光学显微照片; B: 酸湿热处理面粉的光学显微照片; C: 酸湿热处理面粉的扫描电镜照片。

2.3 差示扫描量热分析

图2为酸湿热处理后面粉样品的DSC曲线图和热力学性质参数表。相变初始温度 T_0 、吸热高峰温度 T_p 、相变最终温度 T_c 的大小与支链淀粉短链的长度有关, 取决于结晶区的分子构造^[10]。由图2可见, 与原面粉相比, 酸湿热处理样品的 T_0 、 T_p 、 T_c 都增大了, 说明由于酸和热的双重作用, 样品的分子构造发生了变化。半峰宽度 T_p-T_0 与微晶的形状与大小相关^[11], 经酸湿热处理过的面粉样品的 T_p-T_0 变大, 说明

表3 酸湿热处理前后小麦面粉样品的主要衍射峰强度和结晶度

Table 3 X-ray diffraction peaks intensities and crystallinity of wheat flour before and after acid & heat-moisture treatment

| 样品 | 衍射特征值 $2\theta/^\circ$ (强度/cps) | 结晶度/% | 微晶区/% | 亚微晶区/% | 非晶区/% |
|-------|---|-------|-------|--------|-------|
| 原面粉 | 15.23(75),17.18(96),18.10(98),23.10(83) | 40.6 | 11.5 | 29.1 | 59.4 |
| 处理后面粉 | 15.14(79),17.23(100),18.00(105),22.96(94) | 44.4 | 11.2 | 33.2 | 55.6 |

在实验的条件下, 酸湿热处理对微晶的稳定性影响较大。 ΔH 与在相转变过程中双螺旋链的解开和熔融所需要的能量相关^[12], 经酸湿热处理样品的 ΔH 降低了 2.976 J/g, 这可能是因为酸湿热处理后, 结晶区发生部分改变, 双螺旋结构之间的作用力变弱, 发生相变需要更少的能量。

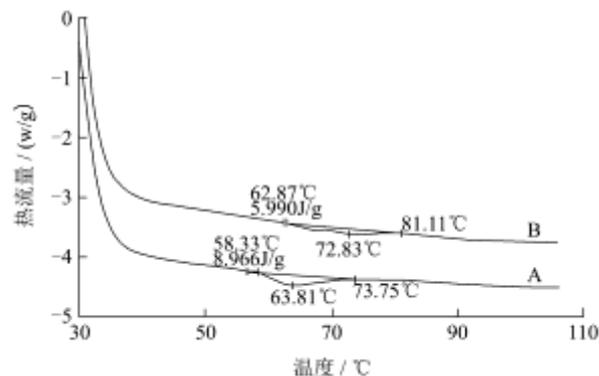


图2 酸湿热处理前后小麦面粉样品 DSC 曲线图

Fig.2 DSC curve of wheat flour samples before and after acid & heat-moisture treatment

注: A: 原面粉; B: 酸湿热处理面粉。

2.4 布拉班德粘度曲线

表2 酸湿热处理前后小麦面粉样品的粘度曲线的特征值

Table 2 Result of Brabender viscosity curve of wheat flour samples before and after acid & heat-moisture treatment

| 样品 | A/ $^\circ\text{C}$ | B/BU | C/BU | D/BU | E/BU | F/BU |
|-------|---------------------|------|------|------|------|------|
| 原面粉 | 82.6 | 82.0 | 77.0 | 65 | 133 | 132 |
| 处理后面粉 | 87.0 | 63.0 | 58.0 | 59 | 112 | 113 |

注: A: 起糊温度 ($^\circ\text{C}$); B: 升温过程的峰值粘度 (BU); C: 恒温阶段开始时粘度 (BU); D: 冷却阶段开始时的糊粘度 (BU); E: 冷却阶段结束时的糊粘度 (BU); F: 50°C 恒温阶段结束时的糊粘度 (BU)。

酸湿热处理前后小麦面粉样品的粘度曲线的特征值结果见表 2。粘度曲线受两个因素的影响, 一是面粉中淀粉颗粒的膨胀程度, 二是膨胀颗粒抗热剪切能力, 从表 2 可见, 经过酸湿热处理, 样品的起糊温度由 82.6°C 增加到了 87°C , 这与 DSC 曲线的结果一致, 升温过程的峰值粘度由 82 BU 降到了 63 BU, 产生此现象的原因主要是酸和热使得淀粉发生降解, 淀粉分子链变小^[13]。

2.5 X 射线衍射分析

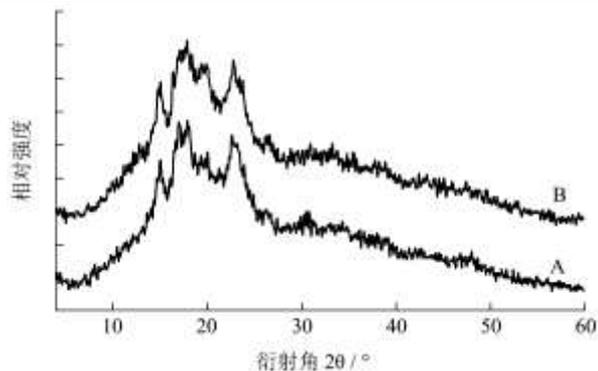


图3 酸湿热处理前后小麦面粉样品的X射线衍射图谱

Fig.3 X-ray diffraction pattern of wheat flour before and after acid & heat-moisture treatment

注：A：原面粉；B：酸湿热处理面粉。

参照陈福泉^[14]等人的方法，将图3的X射线衍射图谱划分为微晶区、亚微晶区和非晶区，并利用MDI Jade软件计算出各区所占百分比，结果见表3。由图3和表3可以看出，处理前后的面粉在15°、17°、18°、23°处有明显衍射吸收峰，属于典型的A型晶体结构^[15]，晶型保持完好。酸湿热处理后结晶度增大3.8%，但是微晶结构略微减少，而亚微晶结构增加，可能是由于一方面部分非晶区水解而洗涤除去，使结晶度变大，另一方面高温作用使得淀粉颗粒中的部分微晶降解为亚微晶。

2.6 红外光谱分析

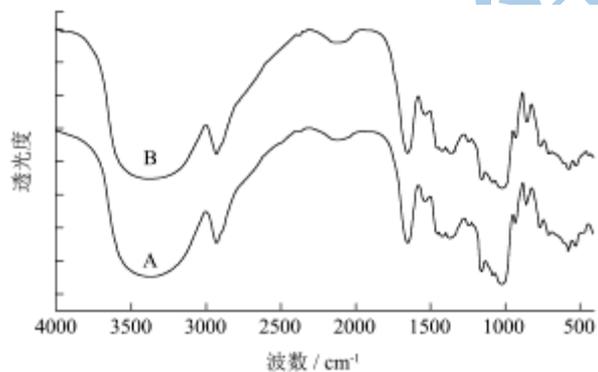


图4 酸湿热处理前后小麦面粉样品的红外光谱图

Fig.4 Infrared spectra of wheat flour samples before and after acid & heat-moisture treatment

注：A：原面粉；B：酸湿热处理面粉。

酸湿热处理前后小麦面粉样品的红外光谱见图4，对比图中的两条曲线，可看出两者特征吸收峰的位置基本一致。除了淀粉的吸收峰以外，小麦面粉样品在1542 cm⁻¹处也有强峰，应为蛋白质的酰胺II峰。从红外图谱分析来看，在实验条件下的酸湿热处理，并没有使产物形成多量的新的化学键或基团。

2.7 酶解动力学研究

由图5可知，随着小麦面粉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5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α-淀粉酶酶解酸湿热处理前后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。

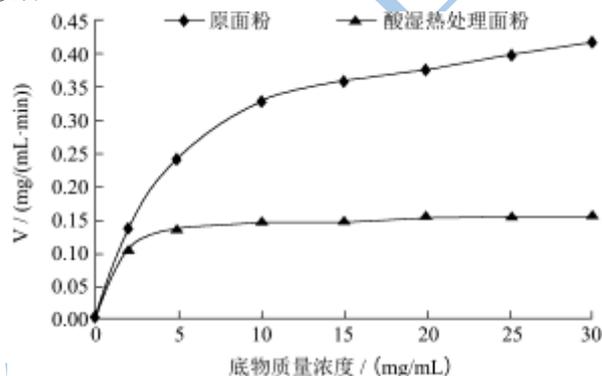


图5 小麦面粉样品底物质量浓度与反应速率关系

Fig.5 Effect of substrate concentration of wheat flour on hydrolysis rate

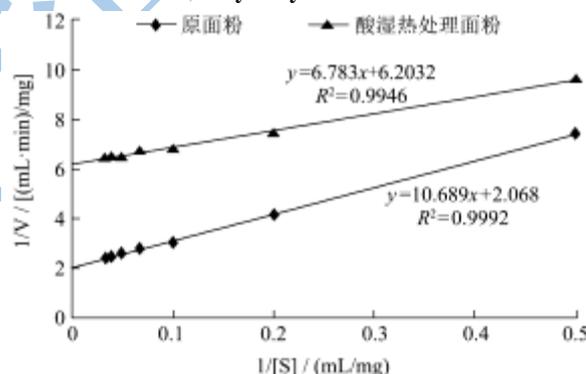


图6 Lineweaver-Burk 双倒数法作图

Fig.6 Lineweaver-Burk plot

将图5数据按照1/V对1/[S]作图，得到Lineweaver-Burk图，结果如图6所示。其中1/[S]为横坐标(x)，1/V为纵坐标(y)，对实验数据进行最小二乘法线性拟合。从图6可看出，在酶水解反应的初期，α-淀粉酶对酸湿热处理前后的面粉样品的降解遵循Michaelis-Menten规律。可得到在模拟体外消化条件下，底物为小麦原面粉时，α-淀粉酶米氏常数K_m=5.169 mg/mL和最大反应速率V_m=0.484 mg/mL·min，即可得到α-淀粉酶酶解小麦原面粉的动力学方程为v=0.484[S]/(5.448+[S]) (相关系数R²=0.9992)；底物为酸湿热处理小麦面粉时，K_m=1.093 mg/mL和V_m=0.161 mg/mL·min，酸湿热处理小麦面粉酶解动力学方程为v=0.161[S]/(1.093+[S]) (相关系数R²=0.9946)；由结果可知，原面粉经过酸湿热

处理后, K_m 降低, V_m 降低, 这可能是因为在酸热条件下, 淀粉与蛋白质很容易发生美拉德反应, 部分产物难以被淀粉酶水解, 因此 α -淀粉酶酶解初期能够接触反应的淀粉底物减少, 反应速率因此降低。

3 结论

经酸湿热处理后的小麦面粉, 蛋白质含量减少, 粗脂肪、灰分含量变化不大, 淀粉颗粒表面粗糙, 部分颗粒出现浅层裂痕, 偏光十字模糊。处理后的小麦面粉DSC热力学性质参数 T_o 、 T_p 、 T_c 增大, ΔH 减小, 起糊温度升高, 糊粘度降低, DSC与布拉班德粘度曲线得到的结论一致。处理后的小麦面粉结晶度增大, 微晶区略微减少, 亚微晶区增多, 红外光谱变化不大。在模拟体外消化条件下, α -淀粉酶酶解酸湿热处理前后的小麦面粉的动力学遵循米氏方程的规律, 可用米氏方程拟合, 得出酶解酸湿热处理小麦面粉的 $K_m=1.093$ mg/mL和 $V_m=0.161$ mg/(mL·min), 即 α -淀粉酶酶解酸湿热处理小麦面粉动力学方程为 $v=0.161[S]/(1.093+[S])$ (相关系数 $R^2=0.9946$), 且经过酸湿热处理后, K_m 降低, V_m 降低。

参考文献

- [1] C Lamacchia, A Baiano, S Lamparelli, et al. Study on the interactions between soy and semolina proteins during pasta making [J]. Food Research International, 2010, 43: 1049-1056
- [2] 陈建省, 邓志英, 吴澎, 等. 添加面筋蛋白对小麦淀粉糊化特性的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(2): 388-395
- [3] 琚长青, 黄立新, 李源, 等. 木薯淀粉与胶原蛋白作用理化及其体外消化性质的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(10): 103-106
- [4] 肖湘, 蔡莽劝, 张欣欣, 等. 酸处理绿豆的粉末结构形态及性质研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(6): 630-633
- [5] 李源, 张欣欣, 黄立新. 酸湿热处理对米粉性质的影响研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(7): 772-775
- [6] Englyst H N, Kingman S M, Cummings J H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 1992, 46: S33-S50
- [7] Dona A C, Pages G, Gilbert R G, et al. Digestion of starch: In vivo and in vitro kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(3): 599-617
- [8] Bao Y L, Chen L, Wang H L, et al. A kinetic model for cassava starch hydrolysis under cold enzyme two-stage hydrolysis condition [J]. Advanced Materials Research, 2011, 291: 2918-2921
- [9] 张力田. 变性淀粉[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 1992
- [10] 缪铭. 慢消化淀粉的特性及形成机理研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009
- [11] Z Maache-Rezzoug, I Zarguili, C Loisel, et al. Structural modifications and thermal transitions of standard maize starch after DIC hydro-thermal treatment [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 74: 802-812
- [12] Gallant D J, Bouchet B, Buleon A, et al. Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation [J]. European Journal of Clinical nutrition, 1992, 46: 3S-16S
- [13] Abraham T E. Stabilization of paste viscosity of cassava starch by heat-moisture treatment [J]. Starch, 1993, 45: 131-135
- [14] 陈福泉. 非晶颗粒态玉米淀粉半干法制备及机理[D]. 广州: 华南理工大学, 2010
- [15] Zobel H F. Starch transformation and their industrial importance [J]. Starch, 1988, 40: 1-7