

酶法处理和超声波作用对抗酶解淀粉形成的影响

郭星, 温其标

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

摘要: 本文以木薯淀粉为原料, 研究了 α -淀粉酶、普鲁兰酶和超声波作用对抗酶解淀粉形成的影响。结果表明, 酶作用对抗酶解淀粉形成的最佳条件为: 淀粉浓度为 5%, 耐热 α -淀粉酶量为 10 mL (酶活力为 3 U/mL), 普鲁兰酶量为 30 mL (酶活力为 22.5 NPUN/mL), 冷却升温次数为 2 次。得到的产品中抗酶解淀粉含量可达到 14.52%。超声波频率为 25 kHz, 作用时间为 120 s 时, 产品中抗酶解淀粉含量最高, 为 19.19%。

关键词: 抗酶解淀粉; 耐热 α -淀粉酶; 普鲁兰酶; 超声波

中图分类号: TS236.9; **文标标识码:** A; **文章篇号:** 1673-9078(2007)01-0008-03

The Influence of Amylase and Ultrasonic Wave on the Formation of Resistant Starch

GUO Xing, WEN Qi-biao

(College of Light Industry and Food Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Using tapioca starch as material, the influence of amylase and ultrasonic wave on the formation of resistant starch was explored in this study. Results showed that, for the preparation of resistant starch, the optimal concentration of tapioca starch, thermostable α -amylase dosage (3U/mL), pullulanase dosage (22.5 NPUN/mL) and cooling-heating cycles is 5%, 10mL, 30mL and two times, under which the yield of RS available was up to 14.52%. When the frequency of ultrasonic wave was 25 kHz and the treatment time was 120 s, the highest content of resistant starch content was achieved as 19.19%.

Key words: Resistant starch; Thermostable α -amylase; Pullulanase; Ultrasonic wave

抗酶解淀粉 (RS) 是指经过氢氧化钾或二甲基亚砷溶解后才能被 α -淀粉酶、普鲁兰酶和葡萄糖淀粉酶水解的淀粉或变性淀粉以及它们的降解产物, 并且水解是在上述特定的条件下进行的^[1]。可分为四类: 物理包埋淀粉 (RS1)、抗酶解淀粉颗粒 (RS2)、凝沉淀粉 (RS3)、化学改性淀粉 (RS4)^[2]。抗酶解淀粉具有特殊的生理功能, 对维护肠道健康和抑制膳食后血糖升高等都具有重要作用。

目前研究较多的是凝沉淀粉 (RS3), 对其形成机理比较一致的解释是: 淀粉在凝沉过程中分子重新聚集, 形成了有序的结晶结构。由于结晶区的出现, 妨碍淀粉酶靠近结晶区域的 D-葡萄糖苷键, 并阻止淀粉酶活性基团中的结合部位与淀粉分子结合, 使淀粉难于被淀粉酶作用, 从而产生抗酶解性。本文以木薯淀粉为原料, 研究了耐热 α -淀粉酶、普鲁兰酶和超声波作用对抗酶解淀粉形成的影响。

1 主要试验材料和仪器设备

收稿日期: 2006-05-27

1.1 主要试验材料

木薯淀粉: 广东清远市华丰工贸有限公司; 耐热 α -淀粉酶: 诺维信公司 (酶活力 30000 U/mL); 普鲁兰酶 (Promozyme D2): 诺维信公司 (酶活力 1125 NPUN/mL); 淀粉分析试剂组: Megazyme 化学公司; 吗啉丙磺酸钠 (MOPS): Sigma 化学公司; 二甲基亚砷 (DMSO): 天津市永大化学试剂开发中心, 分析纯。

1.2 主要仪器设备

水浴恒温振荡器: 江苏省金坛市宏华仪器厂; pHHS-25 型酸度计: 上海虹益仪器仪表有限公司; YX-280 型手提压力蒸汽消毒器: 江阴滨江医疗设备厂; 电冰箱: 江苏小天鹅营销有限责任公司; TDL-40B 台式离心机: 上海安亭科学仪器厂; 干燥箱: 上海市实验仪器总厂; T6 新世纪紫外可见分光光度计: 北京普析通用仪器有限责任公司; 超声波清洗机: 广州市新栋力超声电子设备有限公司, 频率为 25 kHz。

2 试验方法

2.1 抗酶解淀粉的制备方法

将木薯淀粉调成一定浓度的淀粉乳, 调节 pH 为 6.5, 加入耐热 α -淀粉酶在沸水浴中加热糊化 10min, 然后调 pH 为 4.0 并在 120 °C 下继续处理 20 min。糊化后的淀粉糊调 pH 为 5.0, 加入普鲁兰酶在 50 °C 下反应 10 h。反应完毕, 将淀粉糊在 85 °C 下加热 5 min, 以破坏残余酶活性。淀粉糊冷却至室温, 放置于 4 °C 下进行冷却凝沉, 维持 12 h 后, 迅速升温至 35 °C 解冻。经过冷却升温后, 将淀粉糊脱水干燥、粉碎、过筛, 即可得到抗酶解淀粉样品。

2.2 抗酶解淀粉含量的测定方法

用 Megazyme 公司淀粉分析试剂组, 根据美国谷物化学家协会 (AACC) 的 76-13 标准方法^[3], 测定样品中抗酶解淀粉的含量。

2.3 正交试验

影响普鲁兰酶水解的因素有: 底物浓度(A), α -淀粉酶量(B), 普鲁兰酶量(C), 冷却升温次数(D), 通过初步实验已确定了各个因素的大概范围, 现以抗酶解淀粉含量为指标, 采用 $L^{16}(4^4)$ 正交试验, 见表 1。

表 1 正交试验因素与水平

水 平	因素			
	A 底物浓度 /%	B α -淀粉酶量 /mL	C 普鲁兰酶 量/mL	D 冷却升温 次数
1	5	2	20	1
2	6	6	25	2
3	7	10	30	3
4	8	14	35	4

3 结果与讨论

3.1 耐热 α -淀粉酶对抗酶解淀粉形成的影响

试验发现, 在淀粉糊化时加入适量的耐热 α -淀粉酶进行液化, 然后再加入普鲁兰酶进行处理, 所得到的淀粉样品中抗酶解淀粉含量高于未加液化酶处理的样品。原因可能是由于木薯淀粉中直链淀粉的链较长, 不易于凝沉, 通过加入 α -淀粉酶, 它将从淀粉分子内部以随机的方式断 α -1,4 糖苷键, 在一定程度上降低直链淀粉的聚合度, 从而利于直链淀粉的凝沉。

改变制备过程中耐热 α -淀粉酶的用量, 并测定制得的样品中抗酶解淀粉含量, 结果见图 1 所示。由图 1 可知, 随着 α -淀粉酶用量的增加, 产品中抗酶解淀粉含量先呈上升趋势, 当加酶量为 10 mL, 即为 2.82 U/g 干淀粉时, 抗酶解淀粉含量最高, 但过多地加入 α -淀粉酶, 抗酶解淀粉的含量将会降低。因为当加入酶量少时, 分子被切断程度不够, 淀粉糊的粘度仍然很

大, 不利于直链淀粉分子相互接近而形成凝沉; 酶量太大, 淀粉水解过度, 也不利于抗酶解淀粉的形成。因此, α -淀粉酶的添加量必须控制在适当的范围之内。

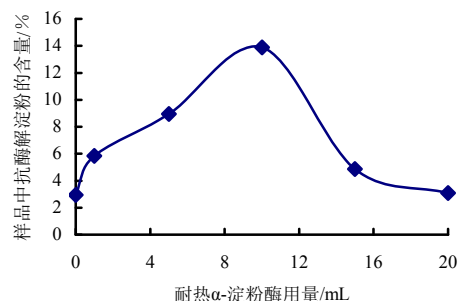


图 1 耐热 α -淀粉酶对抗酶解淀粉形成的影响

3.2 普鲁兰酶对抗酶解淀粉形成的影响

改变制备过程中普鲁兰酶的用量, 并测定制得的样品中抗酶解淀粉含量, 结果见图 2 所示。由图 2 可知, 普鲁兰酶添加量在 15~30 mL 时, 抗酶解淀粉的得率随着加酶量的增加而增加, 之后随着加酶量的增加而降低。在加酶量为 30 mL 时, 即为 63.38 NPUN/g 干淀粉左右时, 脱支效果最好, 抗酶解淀粉含量最高。

普鲁兰酶可以水解支链淀粉中 α -1,6 糖苷键, 从而提高直链淀粉的含量, 因此普鲁兰酶作用后可提高抗酶解淀粉的含量。但在加酶量为 30 mL 之后, 随着加酶量的增加, 抗酶解淀粉的含量反而降低, 原因可能是由于本试验所采用的是工业用普鲁兰酶, 其中含有少量的糖化酶的原因。

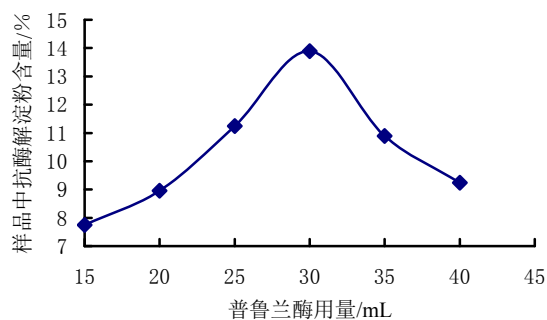


图 2 普鲁兰酶对抗酶解淀粉形成的影响

3.3 酶法制备抗酶解淀粉的正交试验

酶法制备抗酶解淀粉的正交试验结果见表 2, 正交结果的极差分析见表 3。由表 3 可知, 在酶法制备抗酶解淀粉的过程中, 影响产品中抗酶解淀粉含量的主次因素为 D (冷却升温次数) > A (底物浓度) > B (α -淀粉酶量) > C (普鲁兰酶量), 最优的因素水平组合为: $A_1B_3C_3D_2$, 即底物浓度为 5%, α -淀粉酶量

为 10 mL, 普鲁兰酶量为 30 mL, 冷却升温次数为 2 次。采用此因素组合进行验证试验, 样品的抗酶解淀粉含量为 14.52%, 证明此因素水平组合为最佳工艺。

表 2 正交试验结果

试验号	A 底物浓度/%	B α -淀粉酶量/mL	C 普鲁兰酶量/mL	D 冷却升温次数	样品中抗酶解淀粉的含量/%
1	5	2	20	1	5.88
2	5	6	25	2	9.51
3	5	10	30	3	13.89
4	5	14	35	4	3.26
5	6	2	25	3	5.43
6	6	6	20	4	1.81
7	6	10	35	1	2.40
8	6	14	30	2	8.34
9	7	2	30	4	1.04
10	7	6	35	3	1.86
11	7	10	20	2	7.05
12	7	14	25	1	1.71
13	8	2	35	2	7.15
14	8	6	30	1	2.82
15	8	10	25	4	4.31
16	8	14	20	3	3.27

表 3 正交试验结果分析

因素	A	B	C	D
K ₁	32.54	19.5	18.01	12.81
K ₂	17.98	16	20.96	32.05
K ₃	11.66	27.65	26.09	24.45
K ₄	17.55	16.58	14.67	8.93
R	20.88	11.65	11.42	23.12
因素主次	D > A > B > C			
较优水平组合	A ₁ B ₃ C ₃ D ₂			

3.4 超声波处理对抗酶解淀粉形成的影响

淀粉糊经过酶处理并冷却至室温后, 放入超声波清洗机中作用一定时间, 改变超声波作用时间, 对样品中抗酶解淀粉含量的影响见图 3 所示。由图 3 可见, 随着超声波作用时间的增加, 抗酶解淀粉含量也不断增加, 并在作用时间为 120 s 时候达到最大值, 即 19.19%。之后, 随着作用时间的增加, 抗酶解淀粉含量将迅速降低。

淀粉糊中抗酶解淀粉的形成是直链淀粉的凝沉过程, 适当的超声波处理, 可以加速直链分子运动, 使其容易靠近而发生凝沉, 从而增加样品中抗酶解淀粉的含量。另一方面, 超声波处理能迅速使淀粉糊粘度

降低^[4], 原因可能是超声波所提供的振动动能和空穴作用导致淀粉链的化学键断裂^[5]。淀粉糊粘度过高, 将阻碍直链分子的运动; 而粘度过低时, 直链分子碰撞在一起的几率及稳定的几率会降低, 都将不利于晶体的形成, 因此, 通过适当的超声波作用, 淀粉糊粘度处于合适的范围, 有助于直链淀粉的凝沉, 抗酶解淀粉的含量也最高。

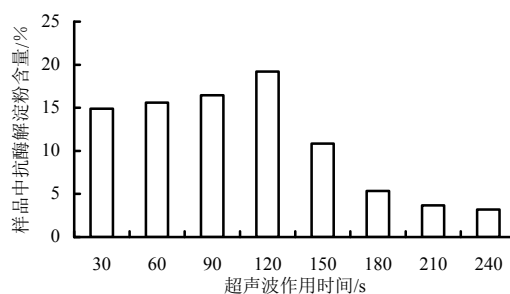


图 3 超声波作用对抗酶解淀粉形成的影响

4 结论

耐热 α -淀粉酶和普鲁兰酶的用量对抗酶解淀粉的形成都有重要影响。两者的用量太高或太低都不利于抗酶解淀粉的形成。通过正交试验得到酶法制备抗酶解淀粉的最适条件为: 淀粉浓度为 5%, 耐热 α -淀粉酶量为 10 mL, 普鲁兰酶量为 30 mL, 冷却升温次数为 2 次。得到的产品中抗酶解淀粉含量可达 14.52%。各影响因素的主次顺序是: 冷却升温次数、底物浓度、 α -淀粉酶量和普鲁兰酶量。

通过超声波处理可以提高产品中抗酶解淀粉含量, 频率为 25 kHz, 作用时间为 120 s 时, 产品中抗酶解淀粉含量最高, 为 19.19%, 作用时间太短或太长都不能取得最佳的效果。

参考文献

- [1] 温其标. 抗酶解淀粉[J]. 精细与专用化学品. 2002, (6): 11~13
- [2] Englyst H.N. and Macfarlane G. T. Breakdown of Resistant and Readily Digestible Starch by Human Gut Bacteria[J]. J. Sci. Food Agric. 1986, 37: 699-706
- [3] American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the AACCR[R]. 1976, 10: 76-13
- [4] 付陈梅等. 超声波对淀粉降解及其性质影响[J]. 粮食与油脂. 2002, (12): 31-32
- [5] A. Azhar, M.K. Hamdy. Sonication Effect on Potato Starch and Sweet Potato Powder[J]. Food Sci. 1979, 44(3): 801-804