

两步酶解法制备香蕉抗性淀粉的工艺研究

黄志强¹, 唐健^{1,2}, 杜冰¹, 白永亮¹, 陈庆发¹, 杨公明¹

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510623)

摘要: 本文主要研究果胶酶、纤维素酶和中温 α -淀粉酶制备香蕉抗性淀粉的酶解工艺。研究发现: 第一步酶解中果胶酶与纤维素酶配比 1:2, 酶添加量为 0.22%, 温度 45 °C, pH 5.0, 时间 35 min, 第二步酶解添加中温 α -淀粉酶 0.35%、温度 52 °C、pH 6.3、时间 3.5 h 为酶解最适条件, 此时的香蕉抗性淀粉含量达到 81.24%。

关键词: 酶解; 香蕉; 抗性淀粉

文章编号: 1673-9078(2013)4-800-803

Two-step Enzymatic Extraction of Banana Resistant Starch

HUANG Zhi-qiang¹, TANG Jian^{1,2}, DU Bing¹, BAI Yong-liang¹, CHEN Qing-fa¹, YANG Gong-ming¹

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(2. Infinitus (China) Company Limited, Guangzhou 510623, China)

Abstract: In this paper, a two-step enzymatic method was used for the extraction of banana resistant starch (RS) by using pectinase, cellulase and α -amylase. The results showed that, in the first enzymolysis step, the optimum conditions were mass ratio of pectinase to cellulase of 1:2, enzyme dosage of 0.22%, reaction temperature of 45 °C, pH value of 5.0 and reaction time of 35min. In the second enzymolysis step, the best extraction conditions were α -amylase dosage of 0.35%, reaction temperature of 52 °C, pH value of 6.3 and reaction time of 3.5 h. With this method, the extract rates of RS were 81.24%.

Key words: enzymatic extraction; banana; resistant starch

香蕉乃世界上新鲜销售量最大的水果,分布广泛,主要分布在热带亚热带地区。中国是香蕉主要生产国之一^[1]。根据联合国粮农组织 (Food and Agriculture Organization, FAO) 统计, 2008 年我国香蕉总产量约为 804.27 万 t, 占世界总产量的 8.9%, 位居世界第 3。但是, 香蕉价格波动大, 特别是近些年来发生的一系列香蕉事件, 更是直接影响香蕉的价格, 严重影响果农收入^[2]。因此, 探索香蕉深加工技术显得尤为重要。抗性淀粉 (Resistant Starch, RS) 是健康人体小肠中不吸收的淀粉及其降解产物, 进入后肠可发酵产生多种短链脂肪酸。近年来研究表明 RS 可降低糖尿病、结直肠癌、肥胖等慢性病的发病风险^[3]。香蕉中富含 RS 颗粒, 与生豆子、生马铃薯、老化后的直链淀粉等, 被列为常见食物中抗性淀粉含量最高的几种食品^[4]。本实验以青香蕉为原料, 利用两步酶解法制备 RS, 对促进我国香蕉深加工产业发展具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

青香蕉, 采购于华南农业大学三角市场; 果胶酶、纤维素酶由诺维信公司提供; 中温 α -淀粉酶, 广州裕立宝生物科技有限公司; SHZ-88 台式水浴恒温振荡器, 江苏太仓市实验设备厂; HR2003/71 打浆机, 飞利浦公司; BS110S 精密电子天平, 北京赛多利斯天平有限公司; 752 紫外分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 香蕉抗性淀粉的制备工艺流程

青香蕉→清洗→去皮切块→护色液浸泡→打浆→调 pH→第一步酶解 (纤维素酶和果胶酶) →离心脱水→调 pH→第二步酶解 (中温 α -淀粉酶) →离心→50 °C 烘干过夜

1.2.2 抗性淀粉的测定

参考 Goni 法^[5]。

2 结果与讨论

2.1 果胶酶与纤维素酶对香蕉 RS 含量的影响

2.1.1 复合酶比对香蕉 RS 含量的影响

在酶添加量 0.15%、温度 40 °C、时间 20 min、

收稿日期: 2012-09-19

基金项目: 东莞市科技计划资助项目 (200910810100600)

作者简介: 黄志强 (1987-), 男, 硕士研究生, 食品加工、贮藏及包装方向

通讯作者: 杨公明 (1987-), 男, 博士, 教授, 主要研究食品先进技术及其应用

pH=4.5 的条件下,考察果胶酶与纤维素酶的配比 3:1、2:1、1:1、1:2、1:3 对香蕉 RS 含量的影响。结果如图 1 所示。

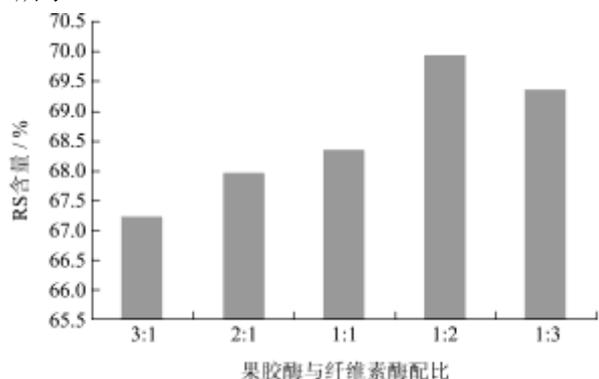


图 1 复合酶比对香蕉 RS 含量的影响

Fig.1 Effect of mass ratio of pectinase to cellulase on banana RS

由图 1 可知,在果胶酶与纤维素酶配比大于 1:2 时,随着复合酶中纤维素酶的比例增大,香蕉 RS 的含量不断升高。当复合酶配比为 1:2 时,香蕉 RS 含量达到最大。继续增大复合酶中纤维素酶的比例,香蕉 RS 的含量反而出现下降趋势。因此,果胶酶与纤维素酶配比为 1:2 时,香蕉 RS 的含量较高。

2.1.2 复合酶添加量对香蕉 RS 含量的影响

在复合酶配比 1:2、温度 40 °C、时间 20 min、pH 4.5 的条件下,考察酶添加量 0.05%、0.1%、0.15%、0.2%、0.25% 对香蕉 RS 含量的影响,结果如图 2 所示。

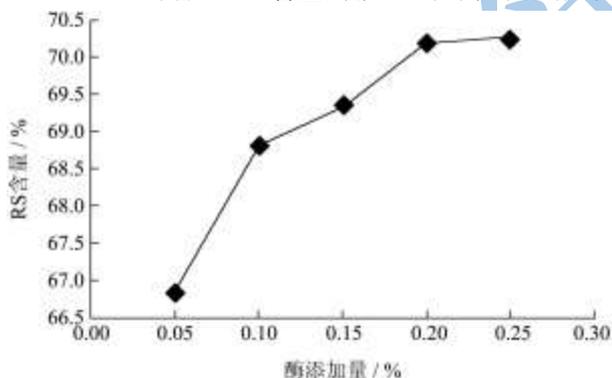


图 2 复合酶添加量对香蕉 RS 含量的影响

Fig.2 Effect of enzyme dosage on banana RS

由图 2 可知,香蕉 RS 含量随着酶添加量的增加而增大。当酶添加量为 0.2% 时,香蕉 RS 含量达到最大值。继续增加酶添加量未能增大香蕉 RS 含量。这是因为在一定酶解条件下,酶添加量较低时酶解不彻底,底物过剩,产量不高。当酶添加量达到最佳值时,酶解充分彻底,从而香蕉 RS 含量达到最高。

2.1.3 复合酶的反应温度对香蕉 RS 含量的影响

在复合酶配比 1:2、酶添加量 0.2%、时间 20 min、pH=4.5 的条件下,考察反应温度 30 °C、35 °C、40 °C、45 °C、50 °C、55 °C 对香蕉 RS 含量的影响,结果如

图 3 所示。

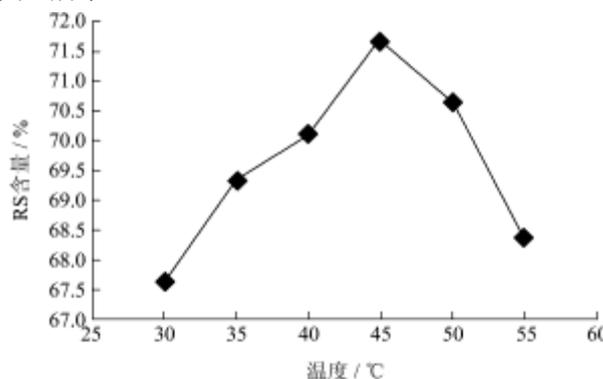


图 3 复合酶的反应温度对香蕉 RS 含量的影响

Fig.3 Effect of reaction temperature on banana RS

由图 3 可知,随着反应温度升高,香蕉 RS 含量不断增大。在反应温度 45 °C 时,香蕉 RS 含量达到最大。而后随着温度的升高,香蕉 RS 含量反而降低。因此,反应温度为 45 °C 为较佳反应条件。

2.1.4 复合酶的 pH 对香蕉 RS 含量的影响

在复合酶配比 1:2、酶添加量 0.2%、温度 45 °C、反应时间 20 min 的条件下,考察 pH 4、4.4、4.8、5.2、5.6 对香蕉 RS 含量的影响,结果如图 4 所示。

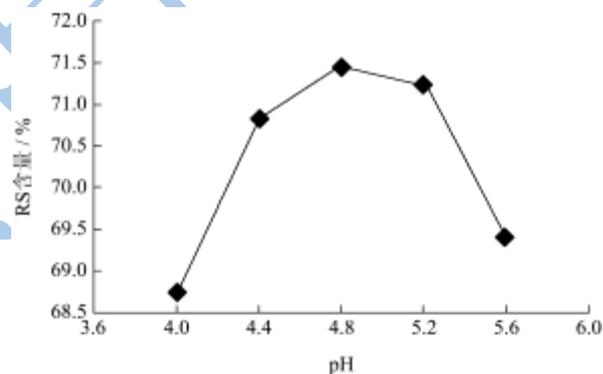


图 4 复合酶的 pH 对香蕉 RS 含量的影响

Fig.4 Effect of pH value on banana RS

由图 4 可知,香蕉 RS 含量随着酶解初始 pH 值的升高而增大。在 pH=4.8 时达到最大值。继续增大 pH 值香蕉 RS 含量反而呈现下降趋势。因此可得知, pH 在 4.8 左右时,复合酶的活力处于较佳状态。

2.1.5 复合酶的反应时间对香蕉 RS 含量的影响

在复合酶配比 1:2、添加量 0.2%、温度 45 °C、pH 4.8 的条件下,考察反应时间 15 min、20 min、25 min、30 min、35 min 对香蕉 RS 含量的影响,结果如图 5 所示。

由图 5 可知,香蕉 RS 含量随着反应时间的延长的而增大,主要原因是随着时间的延长,酶活力得到充分的利用,酶解反应进行的比较彻底。在反应时间 30 min 时,香蕉 RS 含量达到最大值,时间继续延长并未明显提升 RS 含量。

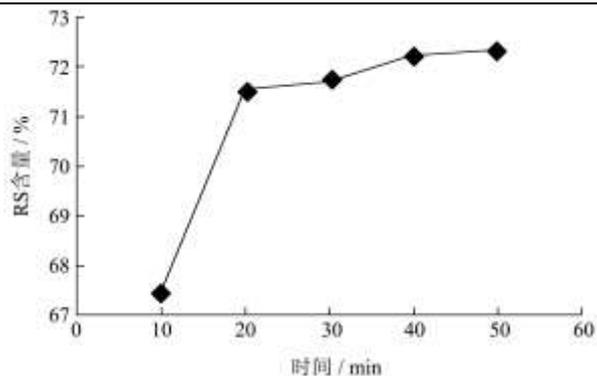


图5 复合酶的反应时间对香蕉RS含量的影响

Fig.5 Effect of reaction time on banana RS

2.1.6 果胶酶和纤维素酶复合酶解条件的优化

为了确定复合酶最佳的酶解条件,在以上单因素实验基础上对酶添加量、温度、时间、pH值采用四因素三水平的 $L_9(3^4)$ 的试验设计,正交实验因素水平表及结果分析分别见表1和表2。

表1 果胶酶和纤维素酶正交实验因素水平表

Table 1 Orthogonal test design of pectinase and cellulose

| 水平 | 因素 | | | |
|----|-----------|----------|-------|-----------|
| | A(酶添加量/%) | B(温度/°C) | C(pH) | D(时间/min) |
| 1 | 0.18 | 42 | 4.6 | 25 |
| 2 | 0.20 | 45 | 4.8 | 30 |
| 3 | 0.22 | 48 | 5 | 35 |

表2 果胶酶和纤维素酶正交实验结果

Table 2 Orthogonal test results of pectinase and cellulase

| 实验号 | A | B | C | D | RS/% |
|-------|--------|--------|--------|--------|-------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 68.84 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 70.72 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 72.74 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 70.59 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 73.21 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 70.48 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 71.63 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 72.74 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 71.94 |
| K_1 | 70.767 | 70.353 | 70.687 | 71.33 | |
| K_2 | 71.427 | 72.223 | 71.083 | 70.943 | |
| K_3 | 72.103 | 71.72 | 72.527 | 72.023 | |
| 极差 R | 1.336 | 1.87 | 1.84 | 1.08 | |

由表2可知,果胶酶和纤维素酶对香蕉RS含量影响的主次因素为 $B>C>A>D$,可知复合酶酶解条件中对香蕉RS含量影响最大的是反应温度,其实是pH,再次是酶添加量,最后是反应时间。最佳实验方案是 $A_3B_2C_3D_3$,即酶添加量为0.22%、温度45℃、pH5.0、时间35min。在最佳条件下进行试验,得到香蕉RS

含量为73.56%。

2.2 中温 α -淀粉酶对香蕉RS含量的影响

在果胶酶和纤维素酶的最优酶解条件下进行处理,然后继续考察中温 α -淀粉酶对香蕉RS含量的影响。

2.2.1 α -淀粉酶的酶添加量对香蕉RS含量的影响

在温度50℃、时间2h、pH6.0的条件下,考察酶添加量0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%对香蕉RS含量的影响,结果如图6所示。

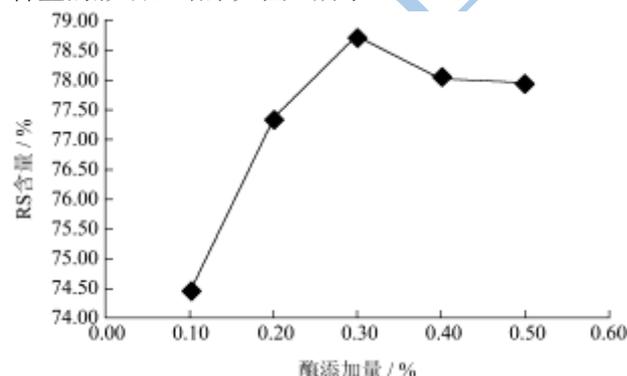


图6 α -淀粉酶的酶添加量对香蕉RS含量的影响

Fig.6 Effect of α -amylase dosage on banana RS

由图6可知,香蕉RS含量随着 α -淀粉酶添加量的增加而增大。当酶添加量为0.3%时,香蕉RS含量达到最大值。继续加大酶解量,香蕉RS含量反而下降。这可能是因为存在竞争抑制,使酶解反应进行不彻底^[6]。

2.2.2 α -淀粉酶的反应pH对香蕉RS含量的影响

在酶添加量0.3%、温度50℃、时间2h的条件下,考察pH5.5、5.9、6.3、6.7、7.1对香蕉RS含量的影响,结果如图7所示。

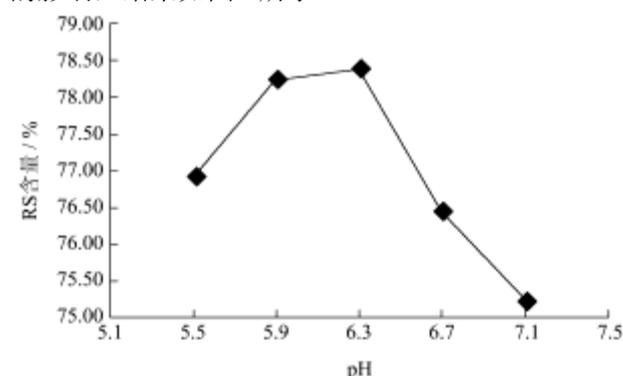


图7 α -淀粉酶的反应pH对香蕉RS含量的影响

Fig.7 Effect of pH value on banana RS in α -amylase-catalyzed extraction

由图7可知,香蕉RS含量先随着反应初始pH值的升高而增大,在pH=6.3时达到最大值,继续增大pH值香蕉RS含量反而急剧下降。因此可得知,pH在6.3附近时,复合酶的活力处于较佳状态。

2.2.3 α-淀粉酶的反应温度对香蕉抗性淀粉含量的影响

在酶添加量 0.3%、pH=6.3、时间 2 h 的条件下，考察反应温度 44 °C、48 °C、52 °C、56 °C、60 °C 对香蕉 RS 含量的影响，结果如图 8 所示。

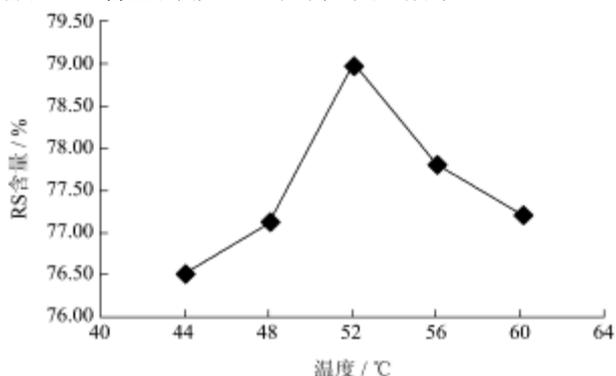


图 8 α-淀粉酶的反应温度对香蕉抗性淀粉含量的影响

Fig.8 Effect of extraction time on banana RS in α-amylase-catalyzed extraction

由图 8 可知，随着反应温度升高，香蕉 RS 含量不断增大。在反应温度 52 °C 时，香蕉 RS 含量达到最大。而后随着温度的升高，香蕉 RS 含量反而急剧下降。因此，该中温 α-淀粉酶的最适温度 48~56 °C 之间。

2.2.4 α-淀粉酶的反应时间对香蕉抗性淀粉含量的影响

在酶添加量 0.3%、pH 6.3、温度 52 °C 的条件下，考察反应时间 1 h、2 h、3 h、4 h、5 h 对香蕉 RS 含量的影响，结果如图 9 所示。

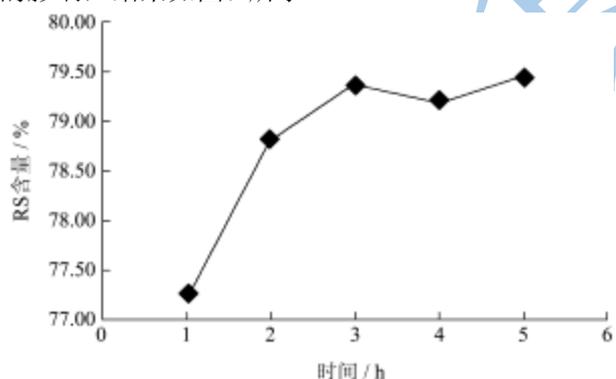


图 9 α-淀粉酶的反应时间对香蕉抗性淀粉含量的影响

Fig.9 Effect of reaction temperature on banana RS in α-amylase-catalyzed extraction

由图 9 可知，在反应时间 3 h 之前，香蕉 RS 含量随着反应时间延长而不断增大。在反应时间为 3 h 时达到最大值。继续延长反应时间，香蕉 RS 含量没有出现明显增加，而是在 79.37% 左右波动。因此可认为，时间 3 h 为较佳反应条件。

2.2.5 中温 α-淀粉酶酶解条件的优化

为了确定 α-淀粉酶最佳的酶解条件，在以上单因

素实验基础上对酶添加量、温度、时间、pH 值采用四因素三水平的 $L_9(3^4)$ 的试验设计，正交实验因素水平表及结果分析分别见表 3 和表 4。

表 3 中温 α-淀粉酶正交实验因素水平表

Table 3 Orthogonal test design of α-amylase-catalyzed extraction

| 水平 | 因素 | | | |
|----|-----------|----------|-------|---------|
| | A(酶添加量/%) | B(温度/°C) | C(pH) | D(时间/h) |
| 1 | 0.25 | 50 | 6.1 | 2.5 |
| 2 | 0.30 | 52 | 6.3 | 3 |
| 3 | 0.35 | 54 | 6.5 | 3.5 |

表 4 中温 α-淀粉酶正交实验结果

Table 4 Orthogonal test results of α-amylase

| 实验号 | A | B | C | D | RS/% |
|----------------|--------|--------|--------|--------|-------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 76.21 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 78.34 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 76.32 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 79.42 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 77.31 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 78.56 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 77.54 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 78.74 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 80.23 |
| K ₁ | 76.957 | 77.723 | 77.837 | 77.917 | |
| K ₂ | 78.43 | 78.13 | 79.33 | 78.147 | |
| K ₃ | 78.837 | 78.37 | 77.057 | 78.16 | |
| 极差 R | 1.88 | 0.647 | 2.273 | 0.243 | |

由表 4 可知，中温 α-淀粉酶对香蕉 RS 含量影响的主次因素为 C>A>B>D，可知酶解条件中对香蕉 RS 含量影响最大的是 pH，其实是酶添加量，再次是温度，最后是反应时间。最佳实验方案是 A₃B₂C₂D₃，即酶添加量为 0.35%、温度 52 °C、pH=6.3、时间 3.5 h。在最佳条件下进行试验，得到香蕉 RS 含量为 81.24%。

3 结论

经过本研究确定，第一步酶解工艺：酶添加量为 0.22%、温度 45 °C、pH=5.0、时间 35 min，得到香蕉 RS 含量为 73.56%。在此基础上，第二步酶解工艺：酶添加量为 0.35%、温度 52 °C、pH 6.3、时间 3.5 h，得到香蕉 RS 含量为 81.24%。酶解法提取 RS 工艺简单，制备得到的香蕉 RS 得率高，成分较理想，是一种可转化为工业生产的较理想的方法。

参考文献

[1] 过建春,柯佑鹏,夏勇开,等.中国香蕉产业经济研究[M].北

- 京:中国经济出版社,2010
- [2] 邱优辉,李会,徐贞贞,等.我国香蕉产业现状与发展的科技措施[J].农业现代化研究,2011,32(2):200-203
- [3] 郭秀兰,唐仁勇,刘达玉,等.抗性淀粉营养特性及生物学作用的研究进展[J].食品研究与开发,2011,32(10):165-169
- [4] 李丽,邓海燕,游向荣,等.香蕉抗性淀粉的制备及理化特性研究[J].中国食品添加剂,2011,6:148-152
- [5] 程燕锋,王娟,李尚新,等.几种测定香蕉抗性淀粉含量方法的比较[J].食品与发酵工艺,2007,33(8):153-157
- [6] 罗仓学,朱姐,雷学锋.纤维素酶法提取辣椒碱的工艺研究[J].现代食品科技,2007,23(11):47-50

现代食品科技