

酶法制备抗性淀粉新工艺的研究

林 杨,赵新淮*

(东北农业大学食品学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘 要:以普通玉米淀粉为原料,采用 121℃ 20min 压热—4℃ 24h 冷却的循环处理和酶解处理相结合的方法制备抗性淀粉,对压热—冷却循环次数和普鲁兰酶的添加顺序及酶作用时间进行研究。结果表明,在选定的酶用量 ($30\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和酶作用温度 (60℃) 条件下,压热—冷却循环结合酶水解法,即糊化或老化 1 次后添加普鲁兰酶,可以显著提高普通玉米淀粉制备抗性淀粉的得率,并且老化 1 次后加入普鲁兰酶的作用效果更好。

关键词:抗性淀粉,普鲁兰酶,制备

Study on new preparation technology of resistant starch by pullulanase hydrolysis

LIN Yang,ZHAO Xin-huai*

(College of Food Science,Northeast Agriculture University,Harbin 150030,China)

Abstract: Common maize starch was used as raw material, the combination of autoclaving-cooling (121℃ 20min then 4℃ 24h) and pullulanase hydrolysis was used to prepare resistant starch. The treatment times of autoclaving-cooling, together with time that added pullulanase and hydrolysis time of pullulanase were studied. The results showed that at the condition of selected amount of pullulanase ($30\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$) and hydrolysis temperature (60℃), the method which combined cycles of autoclaving and cooling with pullulanase hydrolysis, namely, the method which added pullulanase after starch gelatinization or regradation, may significantly increase the yield of resistant starch from maize starch. And the effect of the method which added pullulanase after starch regradation was much better.

Key words: resistant starch; pullulanase; preparation

中图分类号: TS236.9

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2009)03-0258-03

抗性淀粉(resistant starch, RS)是指不被健康人体小肠吸收的淀粉及其分解物的总体,可分为 4 类: RS1(物理包埋淀粉)、RS2(抗性淀粉颗粒)、RS3(老化淀粉)、RS4(化学改性淀粉)。抗性淀粉具有多种功能,包括:抑制餐后血糖升高^[1],减少血清中的胆固醇和甘油三酸酯^[2],促进肠道有益菌的生长、繁殖,是一种双歧杆菌增殖因子^[3];在大肠中发酵或部分发酵,产生挥发性短链脂肪酸,特别是丁酸,降低大肠中的 pH,减少结肠癌发病率,抑制致病菌的生长、繁殖^[4]。抗性淀粉具有持水力低、口感细腻等加工特性和感官特点,可用于改善食品的加工工艺,增加食品的脆度、膨胀性及提高最终产品的质地^[5]。由于 RS1 和 RS2 对热不稳定,在加工过程中大部分损失,但 RS3 对热稳定,因此 RS3 成为国内外的研究重点。一般来说,RS3 的制备方法为压热法,即将一定浓度的淀粉悬浮液经糊化、再经老化等处理过程制得。近年来,研究人员将淀粉进行脱支处理后,再进行压热处理,提高了抗性淀粉的得率。酶法脱支是淀粉脱支的一种,但酶对生淀粉的水解程度较差,脱支效

果不好。压热处理可以破坏淀粉的结构,有利于酶的进入和水解。因此在本研究中,以普通玉米淀粉为原料,对经过压热处理的淀粉样品进行酶解,研究各因素对抗性淀粉得率的影响,为今后利用不同原料淀粉来生产抗性淀粉提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

普通玉米淀粉 吉林省杞参食品有限公司;
 α -淀粉酶、糖化酶 北京奥博星生物技术有限责任公司;普鲁兰酶 无锡酶制剂厂;所用分析试剂 均为分析纯。

电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;手提式压力灭菌器 镇海金鑫医疗器械有限公司;数显电热恒温水浴锅 天津市泰斯特仪器有限公司;LD4-2A 型低速离心机 北京医用离心机厂;电热恒温鼓风干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司;冰箱 青岛海尔股份有限公司;YQ-3 型电动匀浆机 江苏江阴科研器械厂;万能粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 玉米淀粉的压热—冷却处理 称取 10g 淀粉样品,置于三角瓶中,加入 40mL 蒸馏水,平行样数为

收稿日期:2008-08-11 * 通讯联系人

作者简介:林杨(1983-),男,在读硕士研究生,研究方向:食品化学。

4个。将淀粉溶液置于高压灭菌锅中, 121℃处理 20min 进行糊化。取出后冷却至室温, 于 4℃冰箱中保存 24h 以充分老化。

1.2.2 处理条件对抗性淀粉得率的影响

1.2.2.1 压热-冷却循环次数的影响 将淀粉样品分别进行压热-冷却循环, 循环次数为 1~6 次。测定每一循环处理后样品中的抗性淀粉含量, 确定适宜的压热-冷却循环次数。

1.2.2.2 一次糊化-酶解法制备抗性淀粉 称取 10g 淀粉样品, 加入 40mL 蒸馏水, 置于高压灭菌锅中, 121℃处理 20min 进行糊化。取出后冷却, 向样品中加入 1mL 普鲁兰酶($30\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$), 持续搅拌下, 60℃分别作用 2、6、10、12h。然后取出冷却至室温, 于 4℃冰箱中保存 24h 以充分老化。再压热循环处理适宜的次数后, 测定样品中的抗性淀粉含量。平行样数为 4 个, 重复实验 2 次, 以平均值作为测量结果, 确定适宜的酶解时间。

1.2.2.3 一次老化-酶解法制备抗性淀粉 称取 10g 淀粉样品, 加入 40mL 蒸馏水, 置于高压灭菌锅中, 121℃处理 20min 进行糊化。取出后冷却至室温, 于 4℃冰箱中保存 24h 以充分老化。取出, 向样品中加入 1mL 普鲁兰酶($30\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$), 持续搅拌下, 60℃分别作用 2、6、10、12h。再压热循环处理适宜的次数后, 测定样品中的抗性淀粉含量。平行样数为 4 个, 重复实验 2 次, 以平均值作为测量结果, 确定适宜的酶解时间。

1.2.2.4 抗性淀粉含量的测定 根据改进的 Goñi 等的方法^[6], 分析各种处理所得淀粉样品中的抗性淀粉含量。向待测样品中加入 1mL 1% α -淀粉酶($2700\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$), 持续搅拌下, 60℃水解 24h。水解后, 样品沸水浴 5min。加入 95% 乙醇, 体积为沉淀体积的 4 倍, 12h 后转至离心管中。 $4000\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20min, 弃去上清液, 加入 10mL 95% 乙醇反复洗涤沉淀 2 次。沉淀 105℃烘干, 粉碎, 过 100 目筛。称取 1g 粉碎样品于离心管中, 加入 6mL 蒸馏水和 6mL $4\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KOH, 室温持续搅拌 30min。加入 $11.5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 和 6mL $0.4\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸钠缓冲液 (pH 4.75), 调节 pH 至 4.5。加入 1mL 1% 糖化酶($1500\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$), 60℃水解 45min, 样品沸水浴 5min。 $4000\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20min, 收集上清液。加入 10mL 蒸馏水反复洗涤沉淀 2 次。上清液合并, 定容至 100mL, 直接滴定法测定上清液中还原糖的含量 (GB/T5009.7-2003), 数据乘以 0.9 即为抗性淀粉的含量。

2 结果与分析

2.1 压热-冷却循环次数对抗性淀粉得率的影响

经过预实验, 以及考虑到生产周期等因素, 本研究将循环次数限制在 6 次以内进行研究。随着压热-冷却循环处理次数的增多, 抗性淀粉的得率显著提高, 从 4% 逐步增加到 11% (见图 1)。

抗性淀粉是由适宜链长的直链淀粉分子在老化过程中聚集结晶而成^[7]。在压热过程中, 淀粉粒吸水膨胀、糊化, 淀粉粒完全被破坏, 同时释放出直链淀

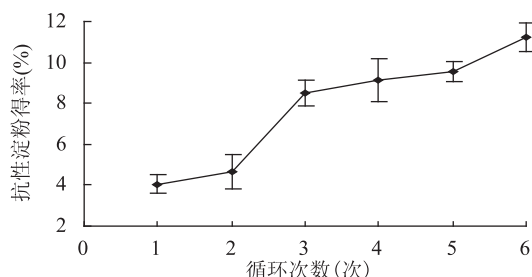


图 1 压热-冷却循环次数对抗性淀粉得率的影响

粉分子^[8]。随压热次数的增加, 不断释放出直链淀粉分子, 从而有利于抗性淀粉的形成。

循环处理 3 次后所得的抗性淀粉得率较前 2 次提高了 1 倍, 但是随后的 3 次循环对抗性淀粉得率的提高幅度较小。考虑到生产周期等实际生产因素, 选定压热-冷却循环 3 次进行以后的研究。

2.2 压热处理结合酶处理对抗性淀粉含量的影响

普鲁兰酶能催化淀粉分子中支链结构的 α -1, 6 糖苷键水解, 增加直链淀粉片段的含量, 有利于抗性淀粉的形成。压热处理破坏支链淀粉的 α -1, 6 键, 同时对 α -1, 4 键也产生一定的裂解作用, 有利于酶的渗入和水解^[9]。根据前述研究得出的结论, 以下研究将淀粉的压热-冷却循环总次数定为 3 次。

2.2.1 一次糊化-酶解法对抗性淀粉得率的影响

将淀粉样品压热处理 1 次后, 进行支链淀粉的脱支处理, 并继续进行老化和压热-冷却循环处理, 其对抗性淀粉得率的作用效果见图 2。酶处理 6h 所得的抗性淀粉得率较酶处理 2h 有显著的提高 (从 12.7% 提高到 21.6%), 提高幅度近 1 倍, 并且是单纯 6 次压热-冷却循环处理所得抗性淀粉得率的 2 倍; 而酶处理 6h 与 12h 所得的抗性淀粉得率差异不大。因此, 考虑到生产周期等因素, 淀粉糊化后, 经普鲁兰酶处理 6h 是适宜的。统计分析结果表明, 普鲁兰酶处理时间对抗性淀粉的得率影响显著 ($P < 0.05$)。

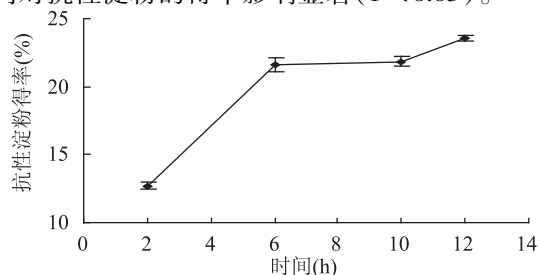


图 2 糊化后普鲁兰酶处理不同时间对抗性淀粉得率的影响

朱旻等以普通玉米淀粉为原料, 将淀粉于 120℃下糊化后, 加入普鲁兰酶作用一定时间, 然后 4℃放置 24h, 最终得到 18% 的抗性淀粉^[10]。高峻鹏同样在普通玉米淀粉糊化后, 先后加入普鲁兰酶和耐高温 α -淀粉酶作用一定时间, 再经过 1 次压热-冷却处理, 最终得到 28% 的抗性淀粉^[11]。本研究的结果与这些研究的结论相一致。

抗性淀粉主要由直链淀粉分子形成。普鲁兰酶作用于淀粉的 α -1, 6 糖苷键, 使其断裂, 产生更多的直链淀粉片段, 有利于抗性淀粉的形成。因此, 随着普鲁兰酶作用时间的增加, 抗性淀粉得率逐渐提高; 由于只有适宜链长的直链淀粉分子才能够形成抗性

淀粉,直链淀粉分子过长或过短都不利于抗性淀粉的形成,所以随着普鲁兰酶作用时间的继续增加,直链淀粉分子渐渐趋于变短,不适宜形成抗性淀粉,导致抗性淀粉得率增加的趋势变缓。张泽生等用普鲁兰酶对糊化后的马铃薯淀粉进行脱支处理,发现随着普鲁兰酶作用时间的增加,抗性淀粉得率逐渐升高,达到最大值后,抗性淀粉得率下降^[12]。因此,对于本研究,随着普鲁兰酶作用时间的延长,抗性淀粉得率的增加幅度开始降低,普鲁兰酶过长的作用时间已经没有必要。

2.2.2 一次老化-酶解法对抗性淀粉得率的影响

将淀粉样品压热处理1次、老化处理1次后,进行支链淀粉的脱支处理,再进行压热-冷却循环处理,其对抗性淀粉得率的作用效果见图3。随着普鲁兰酶作用时间的增加,抗性淀粉的得率也逐步增加,但是酶作用6h时,抗性淀粉的得率增加不显著;酶作用10h时,抗性淀粉的得率达到最大(为32.4%),是单纯6次压热-冷却循环处理所得抗性淀粉得率的3倍;之后,随着时间增加,抗性淀粉的得率逐渐降低。因此,淀粉老化后,加入普鲁兰酶处理10h是适宜的,可以显著提高抗性淀粉的得率。SAS统计分析结果表明,普鲁兰酶处理时间对抗性淀粉的得率影响显著($P < 0.05$)。

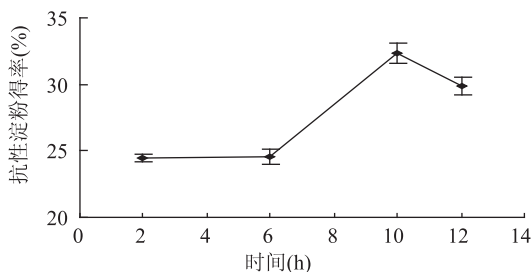


图3 老化后普鲁兰酶处理不同时间对抗性淀粉得率的影响

随着普鲁兰酶作用时间的增加,直链淀粉分子片段增多,抗性淀粉得率逐渐升高;当普鲁兰酶作用10h时,抗性淀粉的得率达到最大值;之后,随着普鲁兰酶作用时间的继续增加,直链淀粉分子渐渐变短,不易形成有序排列,因此不利于抗性淀粉的形成,导致抗性淀粉的得率降低。

整体上看,压热处理后进行酶水解处理对抗性淀粉的生产是有利的。所以,利用普通玉米淀粉制备抗性淀粉时,适宜的生产路线以及参数如图4。

3 结论

以普通玉米淀粉为原料,采用压热-冷却循环结合酶解法制备抗性淀粉。经分析,制备抗性淀粉的适宜条件分别为:淀粉糊化1次后加入普鲁兰酶,作用6h后老化24h,再压热-冷却循环处理2次,可将抗性淀粉的得率提升至23.5%;淀粉糊化后老化1次,加入普鲁兰酶作用10h,再压热-冷却循环处理2次,可将抗性淀粉的得率提升至32.4%。

压热-冷却循环结合酶水解法,可以显著提高普通玉米淀粉制备抗性淀粉的得率,并且老化1次后加入普鲁兰酶的作用效果更好。因此,结合压热-冷

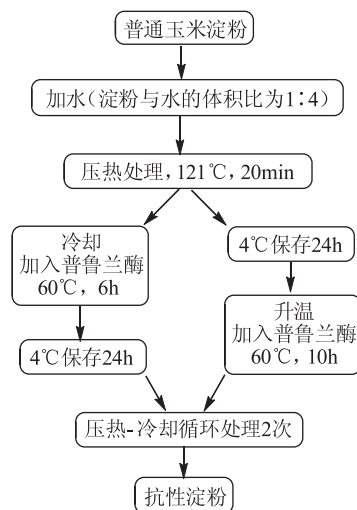


图4 压热-冷却循环结合酶水解法制备抗性淀粉的工艺流程

却循环处理的酶水解,是生产抗性淀粉的更好选择。

参考文献:

- [1] Raben A, Tagliabue A, Christensen N J, Madsen J, Holst J J, Astrup A. Resistant Starch; the effect on postprandial glycemia, hormonal response and satiety [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1994, 60 (4): 544~551.
- [2] De Deckere E A M, Kloots W J, Amelsvoort J M M. Resistant starch decreases serum total cholesterol and triacylglycerol concentration in rats [J]. American Institute of Nutrition, 1993, 123 (12): 2142~2151.
- [3] 杨月欣, 王竹, 洪洁. 抗性淀粉结肠内酵解对大鼠肠道健康的影响[J]. 营养学报, 2004, 12 (11): 2618~2622.
- [4] Haralampu S G. Resistant Starch—a review of the physical properties and biological impact of RS3 [J]. Carbohydrate Polymers, 2000, 41 (3): 285~292.
- [5] Sajilata M G, Rekha S Singhal, Pushpa R. Kulkarni. Resistant Starch—A Review [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2006, 5 (1): 1~17.
- [6] Goñi I, García-Diz L, Mañás E. Analysis of resistant starch; a method for foods and food product [J]. Food Chemistry, 1996, 56 (4): 445~449.
- [7] Eerlinger R C, Delcour J A. Formation, Analysis, Structure and Properties of Type III Enzyme Resistant Starch [J]. Cereal Chemistry, 1995, 22 (2): 129~138.
- [8] 罗志刚, 高群玉, 杨连生. 湿热处理对淀粉分子结构的影响[J]. 食品科技, 2004 (7): 14~16.
- [9] 杨波, 杨光, 刘灿召, 等. 湿热处理玉米淀粉对酸敏感性的研究[J]. 食品科学, 2007, 28 (8): 198~201.
- [10] 高峻鹏. 抗性淀粉的制备工艺及理化性质的研究[D]. 吉林农业大学硕士学位论文, 2005. 17~29.
- [11] 朱旻, 李新华, 刘爱华. 压热-酶解法制备玉米抗性淀粉的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2005 (6): 28~29.
- [12] 张泽生, 曹力心, 张建昌. 酶法制备马铃薯抗性淀粉的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27 (5): 57~60.