

微波-酶法制备 RS₃ 型玉米抗性淀粉 工艺参数优化研究

张华东, 张 淼, 沈晓萍, 卢晓黎*
(四川大学食品工程系, 四川 成都 610065)

摘 要: 运用响应面法, 对微波-酶法制备 RS₃ 型玉米抗性淀粉的工艺参数进行优化。 α -淀粉酶酶解的优化工艺参数为: 液料比 4:1, 酶解温度 85℃, 酶解时间 10min, 酶浓度 1.68U/g 淀粉; 微波糊化的优化工艺参数为: 功率 1.26kW, 加热温度 92℃, 加热时间 1min; 普鲁兰酶脱支优化工艺参数为: 酶浓度 4.13 NPUN/g 淀粉, 酶解温度 53.31℃, 酶解时间 3.26h。按以上工艺参数制备的抗性淀粉得率为 13.45%。

关键词: 抗性淀粉; 微波-酶法; 响应面法; Box-Behnken 实验设计

Optimization of Parameters for Preparation of Corn Retrograded Starch by Microwave-Enzyme Method

ZHANG Hua-dong, ZHANG Miao, SHEN Xiao-ping, LU Xiao-li*
(Department of Food Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: The processing parameters of microwave-enzyme method, used to produce corn retrograded starch, were optimized by respond surface methodology. The optimal hydrolyzing parameters by α -amylase are 85 °C for 10 min, the ratio of liquid to solid 4:1, α -amylase 1.68 U/g starch; the optimal pasting parameters with microwave are 1.26 kW 92 °C for 1min; the optimal dealing parameters with pullulanase are 53.31 °C for 3.26 h, pullulanase 4.13 NPUN/g starch. The productivity of resistant starch reaches 13.45% with the optimal processing method.

Key words resistant starch; microwave-enzyme method; response surface methodology (RSM); Box-Behnken design
中图分类号: TS234 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2007)04-0237-04

抗性淀粉是指不被健康人体小肠吸收的淀粉及其分解物的总体。它分为四类: RS₁ 物理包埋淀粉(physically trapped starch)、RS₂ 抗性淀粉(resistant starch granules)、RS₃ 回生淀粉(retrograded starch)和 RS₄ 化学改性淀粉(chemically modified starch)。其中 RS₃ 可由淀粉回生产, 是抗性淀粉中易于人为制备的一种。它具有防治肠道疾病、降脂、控制体重、促进矿物质吸收和某些维生素的体内合成等功能。能防治现代生活容易出现的一些健康问题。因此对其生物功能和制备方法的研究越来越多。

本文以玉米淀粉为原料, 运用 SAS 软件和响应面法, 对微波-酶法制备玉米抗性淀粉的工艺参数进行了优化研究, 旨在为抗性淀粉的研究提供理论依据和技术方法参考。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米淀粉 自备, 淀粉含量 > 95%, 蛋白质含量 < 0.08%, 脂肪含量 < 0.03%; 耐高温 α -淀粉酶(48000U/ml)、普鲁兰酶(1125NPUN/ml) 诺维信公司。

1.2 仪器设备

YQ2G-03 型微波加热机; LD4-2A 型离心机; TU-1800PC 型紫外可见分光光度计。

1.3 方法

1.3.1 工艺

淀粉分子链在一定的长度下容易老化, 通过适量 α -淀粉酶酶解可以使淀粉分子的长度降低到一定的程度, 并且可以降低物料的粘度。再经过微波加热糊化(同时也可让残留的淀粉酶失活), 使淀粉生成立体网状结构, 有利于普鲁兰酶对支链淀粉的作用, 产生更多直链淀粉, 从而提高抗性淀粉得率。据此设计的试验工艺为: 玉米淀粉制备 $\rightarrow$ α -淀粉酶酶解 $\rightarrow$ 微波加热糊化 $\rightarrow$ 普鲁兰酶脱支 $\rightarrow$ 回生 $\rightarrow$ 抗性淀粉含量测定。

收稿日期: 2007-03-23

*通讯作者

作者简介: 张华东(1980-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与保藏应用技术。

1.3.2 α -淀粉酶酶解工艺参数优化

影响淀粉酶酶解程度的因素有液料比、酶浓度、酶解温度和酶解时间, pH 值定为耐高温 α -淀粉酶的最佳作用 pH 值(5.3)。试验以抗性淀粉得率为响应值进行 Box-Behnken 实验设计(见表 1)。其它工艺参数如下:微波功率 0.9kW, 作用温度 86℃, 作用时间 5min; 普鲁兰酶浓度 4NPUN/g 淀粉, 酶解温度 55℃, 酶解时间 3h。

1.3.3 微波糊化工艺参数优化

影响微波糊化效果的因素有微波功率、作用温度和作用时间。试验以抗性淀粉得率为响应值进行 Box-Behnken 实验设计(见表 3)。 α -淀粉酶酶解的工艺参数按其优化参数, 其它工艺参数如下: 普鲁兰酶浓度 4NPUN/g 淀粉, 酶解温度 55℃, 酶解时间 3h。

1.3.4 普鲁兰酶脱支工艺参数优化

影响普鲁兰酶脱支效果的因素有普鲁兰酶浓度、酶解温度和酶解时间, pH 值定为普鲁兰酶的最佳作用 pH 值(4.8)。试验以抗性淀粉得率为响应值进行 Box-Behnken 实验设计(见表 5)。 α -淀粉酶酶解和微波糊化工艺参数均采用其优化参数。

1.3.5 抗性淀粉含量测定方法

采用高温 I. Goni 法^[1]。

2 结果与分析

2.1 α -淀粉酶酶解工艺参数优化试验结果

用 α -淀粉酶酶解淀粉主要有两个作用: 一是将淀粉分子链截成一定的长度, 二是降低浆液粘度。淀粉分子链在一定的长度下最有利于淀粉的老化, 而较低粘度有利于后续工序中普鲁兰酶的脱支作用。

分析表 2 可知, α -淀粉酶酶解对抗性淀粉得率的影响主要取决于液料比和酶浓度, 酶解温度和酶解时间在试验所取范围内对抗性淀粉得率的影响较小, 四个影响因素与抗性淀粉得率均成反比。由图 1 可知最高点并非稳定点, 且降低液料比和酶浓度可以进一步提高抗性淀粉得率。但是预试验时发现如果液料比小于 4:1, 在微波加热时极易出现焦糊现象; 而酶浓度如果小于 1.68U/g 淀粉时淀粉浆过于粘稠, 普鲁兰酶很难同淀粉浆混合均匀且难以作用。最终确定 α -淀粉酶酶解的优化工艺参数为: 液料比 4:1, 酶浓度 1.68U/g 淀粉, 酶解温度 85℃, 酶解时间 10min。

经 SAS 软件优化的数学模型为:

$$RS=1.857807-0.18704 \times B-0.31847 \times E-0.03887 \times TE-0.0471 \times TI+0.15521 \times B \times B-0.11156 \times B \times E-0.00905 \times B \times TE$$

2.2 微波糊化工艺参数优化试验结果

微波加热速度极快, 使得物料中的水分在短时间内

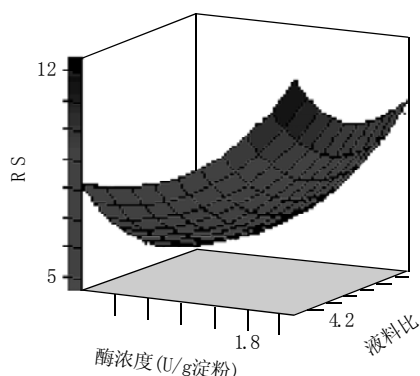
表 1 α -淀粉酶酶解工艺参数优化试验设计及结果Table 1 Test's data from the response surface design of α -amylase processing

序号	B 液料比	E 酶浓度 (U/g 淀粉)	TE 酶解温度 (℃)	TI 酶解时间 (min)	RS 得率 (%)
1	4	1.68	90	20	12.09
2	4	3.60	90	20	9.59
3	6	1.68	90	20	9.10
4	6	3.60	90	20	4.62
5	5	2.64	85	10	8.21
6	5	2.64	85	30	6.08
7	5	2.64	95	10	7.10
8	5	2.64	95	30	5.75
9	4	2.64	90	10	9.01
10	4	2.64	90	30	8.81
11	6	2.64	90	10	6.63
12	6	2.64	90	30	6.01
13	5	1.68	85	20	10.23
14	5	1.68	95	20	10.18
15	5	3.60	85	20	5.44
16	5	3.60	95	20	4.95
17	4	2.64	85	20	8.43
18	4	2.64	95	20	7.90
19	6	2.64	85	20	6.55
20	6	2.64	95	20	5.92
21	5	1.68	90	10	11.56
22	5	1.68	90	30	11.41
23	5	3.60	90	10	5.06
24	5	3.60	90	30	5.48
25	5	2.64	90	20	6.41
26	5	2.64	90	20	5.64
27	5	2.64	90	20	5.72

表 2 α -淀粉酶酶解工艺参数优化二次回归模型Table 2 Coefficients and R^2 of the second-order polynomial for the response functions of α -amylase processing

模型	非标准化系数	t	显著性检验
B	-0.18704	-5.99993	0.0001
E	-0.31847	-10.2161	0.0001
TE	-0.03887	-1.24682	0.236251
TI	-0.0471	-1.51087	0.156698
B × B	0.15521	3.319244	0.006119
B × E	-0.11156	-2.06605	0.061113
B × TE	-0.00905	-0.16758	0.869701
B × TI	-0.01893	-0.35065	0.73193
E × E	0.183674	3.927972	0.002006
E × TE	-0.02237	-0.41436	0.685923
E × TI	0.0232	0.429671	0.675049
TE × TE	0.031153	0.666228	0.517869
TE × TI	0.022363	0.414178	0.686051
TI × TI	0.089702	1.918318	0.079171
R^2		93.44%	

迅速汽化, 并在内部积累形成压力梯度, 产生膨化效应。同时膨化内动力是水蒸汽, 在此过程中淀粉分子氢键断开, 淀粉充分糊化, 并产生多孔的网状结构。这些均有利于普鲁兰酶的脱支作用。

图1 RS得率与液料比、 α -淀粉酶浓度响应面图Fig.1 Response surface for productivity as a function of liquid and solid ratio and α -amylase concentration

分析表4可知,微波功率、加热温度和加热时间对抗性淀粉得率都有明显的影响。其中微波功率和加热温度同抗性淀粉得率成正比,加热时间同抗性淀粉得率成反比。微波糊化的优化工艺参数为:功率1.26kW,加热温度92℃,加热时间1min。

表3 微波糊化工艺参数优化试验设计及结果

Table 3 Test's data from the response surface design of microwave processing

序号	P 功率(kW)	TE温度(℃)	TI时间(min)	RS得率(%)
1	0.54	80	5	10.21
2	0.54	92	5	10.87
3	1.26	80	5	10.89
4	1.26	92	5	12.16
5	0.90	80	2	10.67
6	0.90	80	8	9.11
7	0.90	92	2	13.27
8	0.90	92	8	11.40
9	0.54	86	2	11.21
10	1.26	86	2	12.58
11	0.54	86	8	9.74
12	1.26	86	8	11.36
13	0.90	86	5	11.21
14	0.90	86	5	11.14
15	0.90	86	5	11.16

表4 微波糊化工艺参数优化二次回归模型

Table 4 Coefficients and R^2 of the second-order polynomial for the response functions of microwave processing

模型	非标准化系数	t	显著性检验
P	0.62	3.444046	0.018355
TE	0.8525	4.735563	0.00517
TI	-0.765	-4.24951	0.008096
P × P	-0.01375	-0.05189	0.960626
P × TE	0.1525	0.599007	0.575272
P × TI	0.0625	0.245495	0.815832
TE × TE	-0.12375	-0.46701	0.660136
TE × TI	-0.0775	-0.30441	0.773075
TI × TI	0.06625	0.250016	0.812523
R^2		91.40%	

经SAS软件优化的数学模型为:

$$RS=11.132+0.62 \times P+0.8525 \times TE-0.765 \times TI$$

2.3 普鲁兰酶脱支工艺参数优化试验结果

淀粉中直链淀粉的比例越高,淀粉越易老化。普鲁兰酶可催化淀粉分子中 α -1,6-糖苷键的水解,使支链淀粉转变为直链淀粉,从而提高抗性淀粉得率。

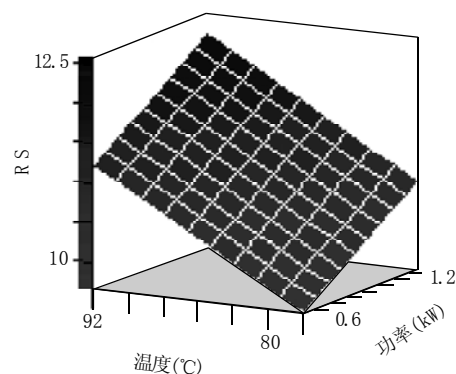


图2 RS得率与微波功率、加热温度响应面图

Fig.2 Response surface for productivity as a function of microwave power and heating temperature

分析表6可知,酶解温度和酶解时间对抗性淀粉的得率影响较大,酶浓度对抗性淀粉的得率影响较小。经SAS软件分析,此模型的最高点为稳定点(见图3)。普鲁兰酶脱支优化工艺参数为:酶浓度4.13NPUN/g淀粉,酶解温度53.31℃,酶解时间3.26h。

经SAS软件优化的数学模型为:

$$RS=13.40333+0.01625 \times E-0.23625 \times T+0.21 \times TI-0.85083 \times E \times E+0.5325 \times E \times TI-0.72583 \times TE \times TE$$

表5 普鲁兰酶脱支工艺参数优化试验设计及结果

Table 5 Test's data from the response surface design of pullulanase processing

序号	E 酶浓度 (NPUN/g 淀粉)	TE 酶解温度 (℃)	TI 酶解时间 (h)	RS 得率 (%)
1	2	45	3	12.34
2	2	65	3	11.61
3	6	45	3	12.05
4	6	65	3	11.32
5	4	45	1.5	11.89
6	4	45	4.5	12.25
7	4	65	1.5	11.80
8	4	65	4.5	11.91
9	2	55	1.5	11.89
10	6	55	1.5	11.18
11	2	55	4.5	11.43
12	6	55	4.5	12.85
13	4	55	3	13.38
14	4	55	3	13.42
15	4	55	3	13.42

2.4 试验结果验证

按以上三部分优化的工艺参数做三个平行验证试验, 分别测定抗性淀粉得率, 并对其求平均值(见表7)。

表6 普鲁兰酶脱支工艺参数优化二次回归模型

Table 6 Coefficients and R^2 of the second-order polynomial for the response functions of pullulanase processing

模型	非标准化系数	t	显著性检验
E	0.01625	0.160478	0.878786
TE	-0.23625	-2.33311	0.066952
TI	0.21	2.073874	0.092782
E × E	-0.85083	-5.70836	0.002305
E × TE	0	0	1
E × TI	0.5325	3.718499	0.013733
TE × TE	-0.72583	-4.86972	0.004594
TE × TI	-0.0625	-0.43644	0.680718
TI × TI	-0.71833	-4.8194	0.004801
R^2		94.89%	

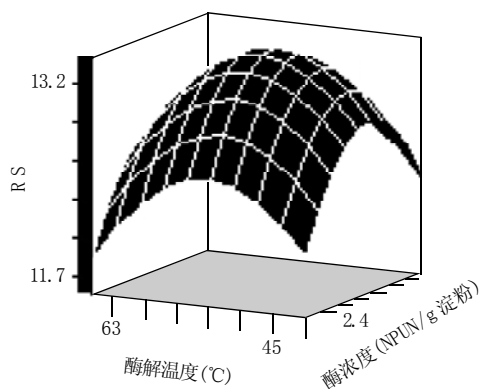


图3 RS得率与普鲁兰酶浓度、酶解温度响应面图

Fig.3 Response surface for productivity as a function of pullulanase concentration and processing temperature

表7 平行验证试验结果

Table 7 Results of confirmatory tests

样品号	RS 得率(%)	平均值(%)
1	13.43	
2	13.48	13.45
3	13.44	

抗性淀粉得率为 13.45%。

3 结 论

运用 SAS 软件和响应面法对微波-酶法制备抗性淀粉的工艺参数进行优化, 其优化值为: α -淀粉酶酶解工艺参数为: 液料比 4:1, 酶解温度 85℃, 酶解时间 10min, 酶浓度 1.68U/g 淀粉; 微波糊化工艺参数为: 功率 1.26kW, 加热温度 92℃, 加热时间 1min; 普鲁兰酶脱支工艺参数为: 酶浓度 4.13NPUN/g 淀粉, 酶解温度 53.31℃, 酶解时间 3.26h。

按以上工艺参数制备抗性淀粉, 其得率为 13.45%。

参考文献:

- [1] GARCIA-DIZ I G. Analysis of resistant starch: a method for foods and food product[J]. Food Chemistry, 1996, 56: 445-449.
- [2] APAR K D, OZBEK B. α -Amylase inactivation during corn starch hydrolysis process[J]. Process Biochemistry, 2004, 39: 1877-1892.
- [3] 李光磊, 李新华. 小麦抗性淀粉的制备研究[J]. 粮油食品科技, 2006 (14): 31-33.
- [4] 王洪燕, 周惠明. 抗性淀粉制备方法的研究[J]. 粮油加工, 2006 (8): 85-87.
- [5] 郭春峰, 张守文. 抗性淀粉生理功能研究进展[J]. 食品科技, 2006 (2): 1-3.

信 息

新研究称 β 胡萝卜素并不能防止老年视力减退

胡萝卜长期以来被认为能提高人们的视力, 但是一项最新研究发现 β 胡萝卜素药片对于一种老年人常见的视力减退没有作用。年龄增加导致的斑点是造成 65 岁以上人群失明的主要原因。约有 1 千万美国人患有这种疾病, 目前没有治愈手段。

之前的研究显示, 服用 β 胡萝卜素能减缓或预防老年的视力损伤发生。但是新的研究结果却与之相反。这对于吸烟者而言是一个安慰, 因为吸烟是造成斑点产生的原因之一, 而 β 胡萝卜素会增加吸烟者患肺癌的几率。

Pennsylvania 大学 Scheie 眼科研究所的 Stuart Fine 博士说: “这一结果至少说明了 β 胡萝卜素不是维生素组成中非常重要的成分。” 研究包括了超过 21000 位男性医生, 对他们进行平均 12 年追踪。这些医生随机的每隔一天服用一次药片, 其中有的含有 β 胡萝卜素, 有的没有。结果两组最后出现眼部问题的几率一样, 这表明 β 胡萝卜素没有起到作用。在服用 β 胡萝卜素的小组中, 最后有 162 例斑点病例, 而未服用的组为 170 例, 属于正常统计误差范围内。

合作者之一的 William Christen 博士表示, 这一实验只包括了男性, 因此他们希望针对女性进行同样的研究。研究结果发表在了 3 月份的《Archives of Ophthalmology》上。Christen 说: “目前最好的建议就是: 每天食用 5 份或更多的水果及蔬菜, 因为其中含有各种需要的营养物质。”