

生物酶修饰对于玉米粉品质的影响

王景会^{1,2}, 刘景圣^{1,*}, 闵伟红¹, 修琳¹, 王宝石¹

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院农产品加工研究中心, 吉林 长春 130033)

摘 要: 为了改善玉米的加工及食用品质, 同时开发生物酶在食品行业应用的新途径。采用枯草芽孢杆菌和黑曲霉分泌的生物酶对玉米粉进行修饰改性, 结果表明: 经过两种酶修饰后, 玉米粉的真蛋白含量、总淀粉含量明显下降, 直链淀粉含量、溶解度有所增加, 枯草芽孢杆菌胞外酶修饰玉米粉的保水力、凝胶膨胀率和黏度都有所提高, 而黑曲霉胞外酶修饰玉米粉的保水力、凝胶膨胀率和黏度都有所降低。在物性测定方面, 两种酶修饰后玉米面团的延展性、韧性等都大幅度增加, 具有加工面条、水饺等主食品的潜力, 说明玉米粉的加工及食用品质得到了明显的改善。

关键词: 枯草芽孢杆菌; 黑曲霉; 生物酶; 玉米粉; 品质

Effect of Enzymatic Modification on Corn Flour Quality

WANG Jing-hui^{1,2}, LIU Jing-sheng^{1,*}, MIN Wei-hong¹, XIU Lin¹, WANG Bao-shi¹

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. Center of Agro-food Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: In order to improve the processing characteristics and eating quality of corn and develop a new approach for the application of microbial enzymes in the food industry, corn flour was modified by enzymes from *Bacillus subtilis* or *Aspergillus niger*. The results indicated that the contents of starch and protein in corn flour decreased significantly after both enzymatic treatments, while amylose content and solubility increased. The water-holding capacity, swelling power and viscosity of corn flour were increased after treatment with crude extracellular enzyme from *Aspergillus niger* but decreased after treatment with crude extracellular enzyme from *Bacillus subtilis*. Both enzymatic treatments could result in a considerable increase in the extensibility and resistance of corn flour dough, thereby having the potential for applications in noodles, dumplings and other staple foods. In conclusion, enzymatic modification can be used to improve the processing characteristics and eating quality of corn flour.

Key words: *Bacillus subtilis*; *Aspergillus niger*; biological enzyme; corn flour; quality

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)11-0008-04

我国是世界玉米第二生产大国, 玉米的种植面积和产量都仅次于水稻, 居于粮食作物第二位^[1]。玉米曾经是我国北方地区人民最重要的主食品之一, 随着人民生活水平的不断提高及玉米主食品自身的食用品质差, 口感粗糙等因素逐渐淡出了人们的生活。然而, 玉米具有丰富的营养和重要的保健作用^[2-4], 玉米中除了含有碳水化合物、蛋白质、脂肪、胡萝卜素外, 还含有约为稻米、小麦的5~10倍的核黄素等多种维生素, 这些物质对预防心脏病、癌症等疾病有很大的作用^[5]。

枯草芽孢杆菌与黑曲霉都是美国FDA公布的安全菌种^[6], 枯草芽孢杆菌可以分泌包括淀粉酶、蛋白酶在内的十几种酶类, 目前大约有50%工业用酶是通过该类菌

发酵生产的^[7-9]。黑曲霉也具有强大的酶系, 除分泌淀粉酶外, 还能大量分泌蛋白酶、糖化酶等^[10-11], 利用上述两种微生物生产的酶制剂已被广泛应用于发酵工业及食品行业^[12-14]。本研究采用枯草芽孢杆菌和黑曲霉分泌的生物酶对玉米粉进行修饰改性, 改善其加工及食用品质, 探讨改性后玉米粉制作主食品的可行性, 同时, 开发生物酶应用于食品行业的新途径。

1 材料与方法

1.1 材料与菌种

玉米粉: 普通黄色凹齿玉米粉, 由吉林省农业科学院提供。

收稿日期: 2011-07-22

基金项目: 国家“863”计划项目(2008AA100802)

作者简介: 王景会(1976—), 女, 副研究员, 博士研究生, 研究方向为农产品深加工。E-mail: wjhjaas@yahoo.com.cn

*通信作者: 刘景圣(1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为粮食深加工。E-mail: liujings1007@vip.sina.com.cn

黑曲霉(*Aspergillus niger*)由吉林农业大学食品科学与工程学院保存;枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)由吉林省农业科学院食品生物技术实验室分离鉴定。

1.2 仪器与设备

MLS-3780 高压蒸汽灭菌锅 日本 Sanyo 公司; HZQ-F160 全温摇床 哈尔滨东联电子科技发展有限公司; RC 高速冷冻离心机 美国 Thermo 公司; BX51+DP71 正置荧光显微镜 日本 Olympus 公司; 101A-1ET 电热鼓风干燥箱 上海实验仪器厂有限公司; IDENT803201 微型黏度糊化仪 德国 Brabender 公司; TA-XT Plus 物性测定仪 英国 Stable Micro System 公司。

1.3 培养基及胞外粗酶液的制备

LB 培养基: 蛋白胨 10g、酵母浸粉 5g、氯化钠 5g, pH7.0, 用双蒸水定容至 1000mL, 121℃ 灭菌 20min, 配制固体培养基时加入琼脂粉 15g。

PDA 培养基^[15]: 马铃薯 200g 去皮, 切成 1cm 左右的正方体块, 加入双蒸水 800mL 煮沸 20min, 两层纱布过滤, 滤液加入葡萄糖 20g、琼脂粉 15g, 充分融化后定容至 1000mL, 121℃ 灭菌 20min。

麸皮发酵培养基: 15.5g 麸皮加入双蒸水 10mL, 121℃ 灭菌 20min。

取在 LB 平板上活化的枯草芽孢杆菌, 接入到 LB 液体培养基中, 37℃、220r/min 振荡培养 16h, 4℃、8000r/min 离心 10min, 上清液即为该菌分泌的粗酶液。用适量的双蒸水将 PDA 平板上活化的黑曲霉孢子洗下, 并稀释成 1×10^8 个/mL 的孢子悬液, 取上述孢子悬液 10mL 接入麸皮发酵培养基, 30℃ 静置培养 120h, 在黑曲霉麸皮发酵培养基中加入质量浓度 0.4g/100mL 的氯化钠无菌水 100mL, 30℃、150r/min 浸提 4h, 4℃、8000r/min 离心 20min, 上清液即为黑曲霉分泌的粗酶液。

1.4 生物酶对于玉米粉的修饰改性

玉米粉分别加入适量的上述两种微生物发酵的粗酶液, 45℃、150r/min 反应 72h 后离心, 沉淀于 45℃ 烘干后粉碎过 100 目筛待用。

1.5 生物酶修饰对于玉米淀粉颗粒形态的影响

用透明胶条黏附少许淀粉样品贴于载玻片上, 于显微镜下用 400 倍油镜观察。

1.6 生物酶修饰后玉米粉中淀粉及真蛋白含量的测定

1.6.1 真蛋白含量测定^[6]

为了防止可能来源于粗酶液或玉米蛋白水解产生的氨基酸等含氮物对测量结果的影响, 在玉米粉的水溶液中加入过量 CuSO_4 , 在碱性条件下, 纯蛋白被 $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 沉淀, 用水洗去水溶性含氮物, 沉淀部分烘干后参照 GB/T 14771—1993《食品中蛋白质的测定方法》测定。

1.6.2 总淀粉、直链淀粉含量测定

采用 Megazyme 公司总淀粉、直链淀粉试剂盒(AM/AMP 01/96)和国际谷物科学与技术协会的方法 ICC standard method No.168 测定。

1.7 玉米粉溶解度、保水力和凝胶膨胀率测定^[16]

准确称量玉米粉 0.3~0.4g(精确到 0.0001g)加入 10mL 蒸馏水, 置于 15mL 带有刻度的离心管(需先称量好其质量)中, 涡旋振荡器上先混合 5min, 25℃ 再平衡 5min 后置于 92.5℃ 水浴中保温 30min, 然后放在冰水浴中 1min, 25℃ 继续平衡 5min, 5000r/min 离心 10min, 将上清液小心地倒入铝铂(需事先称量使其质量恒定)中烘干(105℃、2h), 分别称量离心管及干燥好的铝铂的质量, 测定凝胶体积。

$$\text{溶解度}/\% = \frac{\text{上清液干质量}/\text{g}}{\text{原玉米粉质量}/\text{g}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{保水力}/\% = \frac{\text{离心后沉淀质量}/\text{g}}{\text{原玉米粉质量}/\text{g}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{膨胀率}/(\text{mL}/\text{g}) = \frac{\text{凝胶体积}/\text{mL}}{\text{玉米粉质量}/\text{g}} \quad (3)$$

1.8 玉米粉糊化性质测定^[17]

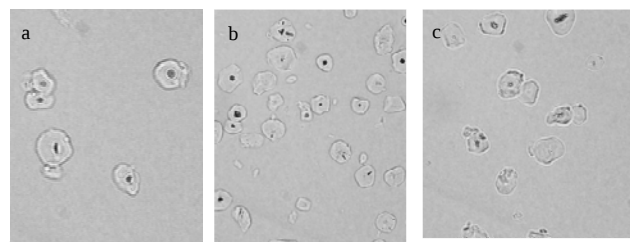
准确称量玉米粉 9.8g, 加入 105mL 蒸馏水混匀。测定的条件为: 转速 250r/min, 从 30℃ 以 7.5℃/min 的速率升温至 93℃, 保温 5min 后, 以 7.5℃/min 的速率降温至 50℃, 保温 1min。

1.9 玉米面团的质构特性(TPA)测定^[16]

取玉米粉 10g, 加入蒸馏水 9mL 和成面团, 室温条件下放置 10min, 做成约 0.5cm 厚的面饼, 用取样器(直径为 20mm)取样测定, 物性仪选用的探头为 P/36R, 测定的条件为: 测量前速率 1.00mm/s, 测量速率 2.00mm/s, 测量后速率 2.00mm/s, 压缩率为 50.00%, 两次压缩间隔 5.00s, 强制触发力 5.0g, 触发距离 2.000mm。

2 结果与分析

2.1 玉米粉颗粒的显微观察



a. 对照; b. 枯草芽孢杆菌胞外酶修饰; c. 黑曲霉胞外酶修饰。

图 1 淀粉颗粒的显微观察

Fig.1 Micrograph of starch granules

图1分别为生物酶修饰前后淀粉颗粒形态的显微照片,可以看出玉米淀粉颗粒都呈多边形^[18],酶的修饰并没有引起淀粉颗粒崩溃,而是渗入淀粉颗粒内部^[17],通过改变淀粉的分子结构,分子取向等发生作用,进而改变玉米粉的品质^[19-20]。同时,淀粉颗粒中小颗粒的淀粉也有所增加,这与闵伟红^[16]报道的结果相类似。吴俊等^[21]的研究表明,玉米淀粉粒度的下降,会导致相对分子质量下降,直链淀粉含量相对增加等。

2.2 生物酶修饰对于玉米粉真蛋白含量的影响

表1 不同生物酶修饰玉米粉的真蛋白含量

Table 1 Protein contents of corn flour subjected to different treatments

处理方式	对照	枯草芽孢杆菌胞外酶修饰	黑曲霉胞外酶修饰
真蛋白含量/%	6.36	5.33	5.51

由表1可知,经过枯草芽孢杆菌或黑曲霉分泌的胞外酶修饰改性,玉米粉中真蛋白含量由6.36%分别下降到5.33%和5.51%,相对含量分别下降了16.19%和13.36%。这是由于两种微生物都可以分泌大量的蛋白酶^[22-24],降解了玉米中的蛋白质,同时也破坏了蛋白质与淀粉的络合结构^[25],促使了淀粉纯化,这都有利于玉米粉品质的改善。

2.3 生物酶修饰对于玉米淀粉含量的影响

表2 不同生物酶修饰玉米粉的总淀粉、直链淀粉含量

Table 2 Amylose and total starch contents of corn flour subjected to different treatments

处理方式	对照	枯草芽孢杆菌胞外酶修饰	黑曲霉胞外酶修饰
直链淀粉含量/%	22.09	23.91	25.68
总淀粉含量/%	75.95	41.33	56.38

玉米粉的主要成分是淀粉,淀粉的组成即支链淀粉与直链淀粉的比例及直链淀粉的含量,对玉米粉的品质有很重要的影响^[26],由表2可知,两种生物酶的修饰都可以促使玉米粉中总淀粉的含量下降和直链淀粉含量增加,这可能是因为生物酶的水解作用,致使玉米粉的干物质含量有所下降,同时两种菌分泌的淀粉酶主要作用于支链淀粉,所以直接导致了总淀粉含量的下降和直链淀粉含量的相对增加。

2.4 玉米粉的凝胶性质

保水力即淀粉吸水膨胀的能力。由图2可知,与对照相比,枯草芽孢杆菌胞外酶修饰玉米粉的保水力及凝胶体积膨胀率都有所提高,而黑曲霉胞外酶修饰玉米粉的保水力及凝胶体积膨胀率都有所降低。较高的保水力,意味着相同条件下淀粉颗粒能够吸收更多水分,更多水分的吸收则有利于凝胶的形成,或者促使凝胶在较低的温度下形成^[27],同时凝胶体积膨胀率越大,淀粉凝胶的弹性越好^[16,27]。由图3可知,两种酶处理玉米粉

的溶解度都明显提高,溶解度的提高将会直接导致玉米粉干物质含量的减少,这与2.3节中,两种生物酶的修饰都可以使玉米粉中总淀粉含量下降的结果互为验证。

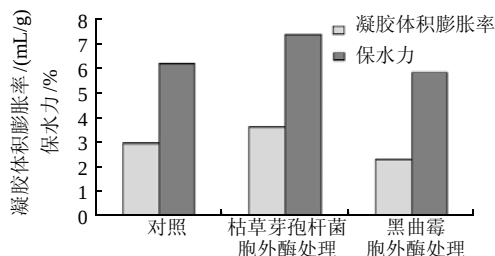


图2 不同生物酶修饰玉米粉的凝胶体积膨胀率和保水力

Fig.2 Gel dilatability and water-holding capacity of corn flour subjected to different treatments

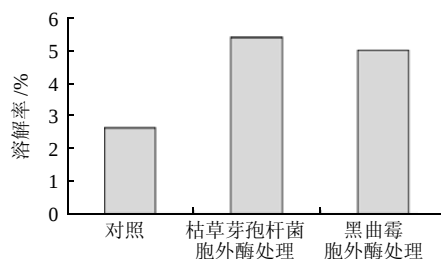


图3 不同生物酶修饰玉米粉的溶解度

Fig.3 Solubility of corn flour subjected to different treatments

2.5 玉米粉的糊化性质

表3 不同生物酶修饰玉米粉糊化特征值

Table 3 Viscosity of corn flour subjected to different treatments

处理方式	A/℃	B/BU	C/BU	DBU	B-D /BU	E/BU	(E-B)/B	F/BU	E-F /BU
对照	72.3	57	57	46	11	61	0.07	60	1
黑曲霉胞外酶修饰	89.5	27	21	26	1	34	0.26	32	2
枯草芽孢杆菌胞外酶修饰	83.7	71	54	69	2	73	0.03	72	1

注: A. 糊化温度/℃; B. 峰值黏度/BU; C. 升温至93℃时玉米粉糊的黏度/BU; D. 93℃保温后的黏度/BU; E. 玉米粉糊冷却到50℃时的黏度/BU; F. 50℃保温后的黏度/BU; |B-D|. 玉米粉糊的热黏度稳定性/BU; |E-F|. 玉米粉糊的冷黏度稳定性/BU; (E-B)/B值的大小代表玉米粉糊凝沉性的强弱。

由表3可知,与对照相比,经过胞外酶的处理两种玉米粉的糊化温度(A点)都有所提高,只是黑曲霉处理玉米粉的糊化温度提高幅度更大,说明生物酶处理的玉米粉都需要在更高的温度下发生糊化。在黏度方面(B、C、D、E、F点),黑曲霉处理玉米粉黏度的值都明显低于对照,说明黑曲霉胞外酶修饰降低了玉米粉糊的黏度,而枯草芽孢杆菌处理的玉米粉,除B点峰值黏度略有降低外,其他的黏度值都高于对照,说明增加了玉米粉糊的黏度,这可能是因为不同微生物分泌的酶系不同,造成玉米粉中淀粉、蛋白等水解程度不

同造成的。两种玉米糊的热稳定性($|B - D|$)都显著提高,而玉米糊的冷黏度稳定性($|E - F|$)都变化较小。黑曲霉胞外酶处理的玉米粉糊凝沉性($(E - B)/B$)明显高于对照及枯草芽孢杆菌处理的玉米粉,凝沉性强意味着淀粉颗粒的保水能力差,进而导致玉米粉凝胶的体积膨胀率降低。

2.6 玉米面团的 TPA 测定

物性分析仪主要是通过对距离、时间和作用力这三者相互作用关系的处理和分析,获得对实验对象的物性测试结果。它完全可以将难以表述的人的感觉,转化为可量化的、具体的电子数字讯号,因此可大大减少食品分析过程中主观因素造成的误差,提高食品分析的准确性、可靠性和可操作性^[28]。物性分析仪能同时测试产品的多项特性指标,如弹性、胶着性、凝聚力、回复性等^[29]。

表 4 玉米面团 TPA 测试数据分析结果

Table 4 TPA parameters of corn flour dough subjected to different treatments

处理方式	弹性	凝聚力	胶着性/g	咀嚼力/g	回复性
对照	0.231	0.121	690.695	159.551	0.049
黑曲霉胞外酶修饰	0.189	0.131	1682.431	317.979	0.110
枯草芽孢杆菌胞外酶修饰	0.241	0.169	3692.538	889.902	0.183

由表 4 可知,通过两种酶修饰后,玉米面团的各项物性指标都得到了明显的改善,凝聚力增大,说明经生物酶处理的玉米粉分子内部间结合力增大,即处理后玉米淀粉形成凝胶的网络增强,而凝胶的网络强度与直链淀粉含量有关^[16],这与 2.3 节中直链淀粉含量增加相一致。弹性、回弹能力的增强表明玉米面团的延展性较好,同时,胶着性、咀嚼力增大表明玉米面团更有韧性。

3 结 论

玉米由于不含有面筋蛋白,所以缺乏黏弹性,柔韧性也很差,不适合加工主食品,通过合适的方法使其改性,形成类似小麦粉的应用性质,是解决玉米粉制作食品的关键问题^[30]。本研究采用枯草芽孢杆菌和黑曲霉分泌的生物酶对玉米粉进行修饰改性,测定了生物修饰酶对玉米淀粉及蛋白的影响,同时,通过对玉米粉凝胶性质、糊化性质和玉米面团物性的测定证明,生物酶修饰后尤其是枯草芽孢杆菌胞外酶修饰后,玉米粉糊的黏度、玉米面团的延展性、韧性等都大幅度提高,说明生物酶修饰的玉米粉有做饺子、面条等主食品的潜力。同时,也说明枯草芽孢杆菌胞外酶可以应用于玉米粉的修饰改性。

参考文献:

- [1] 张中东,惠国强,张红梅,等.玉米的营养及药用价值研究进展[J].玉米科学,2006,14(3):173-176.
- [2] 李建珍,刘景圣,张大力,等.超高压技术对玉米糊化度的影响[J].食品科学,2011,32(6):148-150.
- [3] 陈玉香,周道玮,张玉芬.玉米营养成分时空动态[J].应用生态学报,2004,15(9):1589-1593.
- [4] 李春红.玉米传统食品加工的相关因子研究[D].北京:中国农业科学院,2001.
- [5] 刘晓涛.玉米的营养成分及其保健作用[J].中国食物与营养,2009,13(3):60-61.
- [6] 闫亚婷.固态发酵玉米条件的优化及营养物质变化的比较研究[D].雅安:四川农业大学,2010.
- [7] 李明,双宝,李海涛,等.枯草芽孢杆菌的研究与应用[J].东北农业大学学报,2009,40(9):111-114.
- [8] 彭霞.枯草芽孢杆菌在养猪生产上的应用[J].广东饲料,2010,19(2):26-27.
- [9] SCHALLMEY M, SINGH A, WARD O P. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2004, 50(1): 1-17.
- [10] 郭鲁宏,杨顺楷.黑曲霉产生的酶类及其应用[J].天然产物研究与开发,1998,10(4):87-93.
- [11] 郭艳梅,郑平,孙际宾.黑曲霉作为细胞工厂:知识准备与技术基础[J].生物工程学报,2010,26(10):1410-1418.
- [12] 李阜棣,胡正嘉.微生物学[M].北京:中国农业出版社,2008:150-160.
- [13] 马明,杜金华.枯草芽孢杆菌酶在工业生产中的应用[J].山东科学,2006,19(3):35-38.
- [14] 夏凡,琚争艳.微生物碱性蛋白酶在食品工业中的应用及其安全性研究进展[J].山东食品与发酵,2008,12(2):19-22.
- [15] 高维东,甘伯中,丁福军,等.微小毛霉凝乳酶的酶学性质研究[J].食品科学,2010,31(3):185-188.
- [16] 闵伟红.乳酸菌发酵改善米粉食用品质机理的研究[D].北京:中国农业大学,2003.
- [17] 章华伟.荞麦淀粉的加工工艺、特性及其改性研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2003.
- [18] JACOBS H, DELCOUR J A. Hydrothermal modification of granular starch, with retention of the granular structure[J]. J Agric Food Chem, 1998, 46(8): 2895-2905.
- [19] 鲁战会.生物发酵米粉的淀粉改性及凝胶机理研究[D].北京:中国农业大学,2002.
- [20] 曾洁.玉米面粉面团品质特性及加工改良方法的研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2007.
- [21] 吴俊,谢守和.玉米淀粉的粒度效麻时其糊化行为影响研究[J].中国粮油学报,2006,21(1):51-54.
- [22] POTUMARTHI R, SUBHAKAR Ch, JETTY A. Alkaline protease production by submerged fermentation in stirred tank reactor using *Bacillus licheniformis* NCIM-2042: effect of aeration and agitation regimes [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 20(5): 56-65.
- [23] IBRAHIM RAJOKA M, YASMEEN A. Induction and production studies of a novel glucoamylase of *Aspergillus niger*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2005, 21(2): 179-187.
- [24] DEMAÏN A L, ADRIO J L. Contributions of microorganisms to industrial biology[J]. J Mol Biotechnol, 2008, 38(1): 41-55.
- [25] 王晓杰,郑喜群,刘晓兰,等.利用纳豆杆菌发酵玉米蛋白粉新工艺研究[J].食品研究与开发,2006,27(5):42-45.
- [26] 修琳,刘景圣,蔡丹,等.鲜玉米中可溶性糖含量的测定[J].食品科学,2011,32(4):174-176.
- [27] 徐忠,张海华.乳酸菌对玉米粉品质的影响研究[J].食品科学,2007,28(9):346-349.
- [28] 孙辉,姜薇莉,田晓红,等.利用物性测试仪分析小麦粉馒头品质[J].中国粮油学报,2005,20(6):121-125.
- [29] 焦健.新型物性测试仪在食品工业中的应用[J].中国食品工业,1999,6(4):38-40.
- [30] 李新华,王立群,徐亚平.玉米面粉面团品质改良技术研究[J].沈阳农业大学学报,2002,33(5):370-373.