

知识介绍

酶法制备微孔淀粉的研究进展

唐忠锋, 凌新龙, 谢清若, 陈薇, 孙倩娜

(广西工学院生物与化学工程系, 柳州 545006)

摘要:微孔淀粉是淀粉酶在低于淀粉糊化温度下水解生淀粉形成的一种新型变性淀粉。本文综述了酶法制备微孔淀粉的一些相关影响因素,并探讨了酶法制备微孔淀粉的基本研究成果和进展,以及酶法淀粉微孔化技术的前景展望。

关键词:微孔淀粉; 淀粉酶; 变性淀粉

淀粉一直是人类和大多数动物的主要能量来源。然而据科学统计,我国变性淀粉2004产量约50万吨,仅占世界变性淀粉总产量10%。我国今后变性淀粉市场规模潜力至少在109万吨以上。因此大力发展变性淀粉迫在眉睫^[1,2]。微孔淀粉在医药上可用作缓释剂、食品工业中可用作包埋剂,在化妆品、农药等领域也有广泛的应用。目前在国内外报道的变性淀粉的研究中,微孔淀粉的相关报道较少,淀粉微孔化技术单一,微孔淀粉的理化性质和应用性能研究不足^[3]。因此,微孔淀粉的制备及其性能应用研究对中国具有特别重要的意义。酶法微孔淀粉的生产不仅可以弥补我国在此类变性淀粉生产上的空白,也能为医药、食品等行业提供一种廉价工业原料,具有重要现实意义。

1 微孔淀粉的形态及结构

微孔淀粉是淀粉酶在低于淀粉糊化温度下水解生淀粉形成的一种新型变性淀粉。微孔淀粉表面布满直径为1 μ m左右小孔,小孔由表面向中心深入,孔的容积占颗粒体积50%左右^[4]。Zhao等^[5]研究氯化汞在微孔淀粉乳中扩散时发现,最初扩散速度稍慢,而当趋于淀粉粒中心时,扩散速度会增大,即微孔淀粉内部可能存在逐渐变小的密度梯度。通过扫描电镜观察微孔淀粉粒切面,发现其中心存在由表及里的孔相交后形成的大洞穴,在由表及里的孔上还能观察到起伏变化,这可能是由于同心生长环的密度变化所导致。Sarikaya等^[6]利用扫描电镜观察 α -淀粉酶水解淀粉颗粒后的结构,发现在玉米、大米、小麦的颗粒中都呈现同心或离心结构,而在马铃薯颗粒中却只呈现离心结构。

2 酶法制备微孔淀粉的影响因素

微孔淀粉中微孔的形成主要取决于如下条件^[7]:淀粉的种类、淀粉酶的来源、品种及浓度、作用温度、反应体系、搅拌程度等因素。控制淀粉的水解程度可调节孔的数目、大小、深度、颗粒的坚固性及结构稳定性。

2.1 微孔淀粉原料选择与处理

不同淀粉对生淀粉酶的敏感性是有差异的,甚至在同一淀粉粒的不同区域也存在区别。Fannon等^[8]发现玉米、高粱、黍等淀粉粒表面存在固有的小孔(直径约为0.1000 μ m),成束状分散;在小麦、黑麦、大麦等淀粉粒中心线上也有小孔存在;而在其它淀粉如稻米、燕麦、马铃薯、木薯等表面未发现小孔。用糖化

基金项目:广西工学院基金项目(500420)资助;

作者简介:唐忠锋,男,吉林长岭人,工学硕士,讲师,研究方向为高分子材料合成与加工, E-mail: zftang2005@163.com.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

酶($\text{pH}=5.0, 37^\circ\text{C}$)处理玉米淀粉、燕麦淀粉和马铃薯淀粉,发现玉米淀粉表面、燕麦淀粉中心线处存在直径约为 $1\mu\text{m}$ 小孔,而马铃薯表面只能看到酶作用后留下的杂乱纹路。酶的作用扩大了淀粉粒表面固有的孔,这种现象说明这些孔洞可能是酶最初作用的位点,其允许酶分子直接进入淀粉粒内部发挥作用。

实验证明:淀粉经处理后,能显著提高其对生淀粉酶的敏感性。Martínez-Bustos 等^[9]发现淀粉颗粒经机械处理后,其物理和化学性能发生了改变。姚卫蓉等^[10]用粳米制备微孔淀粉,发现在粒度大的粳米淀粉颗粒表面,生淀粉酶作用的位点少。颗粒粉碎得越细,颗粒受损的位点就越多,酶作用的位点也就越多,越易形成多孔淀粉,但原料的利用率和微孔淀粉结构的稳定性可能会下降。

综合各种文献,已作为制备微孔淀粉原料有:玉米淀粉、木薯淀粉、芋类淀粉、马铃薯淀粉、小麦淀粉、大麦淀粉、粳米淀粉等等。

2.2 淀粉酶品种及浓度对微孔淀粉的影响

1980 年 Fuwa 等^[11]全面考察了不同淀粉酶对生淀粉颗粒的水解情况,发现除了 β -淀粉酶无生淀粉的降解能力外,其它酶或多或少都有降解生淀粉的能力。Nidhi 等^[12]在自然土壤样中的分解得到一种杆状细菌酶,发现其对马铃薯淀粉较高的分解能力。在 70°C 、 $\text{pH}=7.0$ 条件下酶活性达到最大值。Ma 等^[13]利用 α -淀粉酶、葡萄糖酶等四种酶水解玉米淀粉,研究发现葡萄糖酶对玉米淀粉的水解最有效,且利用 X 射线衍射和扫描电镜证实了所得结果。

姚卫蓉等^[10]测定了国产的葡萄糖淀粉酶、 α -淀粉酶、普鲁兰酶等 10 种酶的生淀粉酶活力,发现葡萄糖淀粉酶的活性较高, β -淀粉酶的酶活性几乎为零; α -淀粉酶和葡萄糖淀粉酶组合后使用效果较好。当两者比例为 1:4 时形成的微孔淀粉吸水率、吸油率高。刘雄等^[14]研究发现,随淀粉酶用量的增加,水解率增加。但当淀粉酶质量分数增加到 $1.2\%\sim 1.5\%$ 以后,酶含量增加,水解率增加不大。因此从生产成本角度考虑,酶用量应以选择在 $1.0\%\sim 1.2\%$ 较为合适。Whistler 等^[15]研究发现,在玉米淀粉乳、小麦淀粉乳中加入等量的 α -淀粉酶和糖化酶($\text{pH}=5.0, 25^\circ\text{C}$ 下处理 8h),酶解得到微孔淀粉,其孔径比单独使用一种酶都大。马蜎等^[16]利用复合酶进行配比,并结合扫描电子显微镜观察水解后淀粉颗粒的形态结构,从而初步确定复合酶处理微孔淀粉的最佳工艺条件和参数。葡萄糖淀粉酶和 α -淀粉酶复合,酶配比 $1.0\sim 3.0$ 。再增大酶配比至 $4.0\sim 5.0$,发现酶水解效果不明显,并且淀粉颗粒出现片层结构剥落,甚至部分结构的坍塌。

2.3 淀粉酶反应条件对微孔淀粉的影响

酶法制备微孔淀粉,既要使淀粉粒表面布满小孔,又要保持颗粒的完整性。为了节约反应时间和成本,避免在反应过程中淀粉发生糊化,反应温度一般要控制在 50°C 以下,反应时间为 $8\sim 24\text{h}$,酶添加量为 $0.5\%\sim 1.0\%$ ^[4,15]。 pH 值会影响底物分子和酶分子解离状态,任何一种酶都有其适合的 pH 值。综合各种文献资料,利用 α -淀粉酶、糖化酶制备微孔淀粉时,一般通过柠檬酸缓冲液或醋酸缓冲液使 pH 在 $4.2\sim 5.5$ 范围内。林江涛等^[17]通过实验得出糖化酶最适宜的 pH 值为 $4.0\sim 4.5$ 。马蜎等^[3]通过单因素实验得出,葡萄糖淀粉酶处理制备微孔淀粉的最佳反应条件:酶用量 1.5% ,反应温度 50°C , pH 值 5.0 ,反应时间 24h ; α -淀粉酶处理制备微孔淀粉的最佳反应条件:酶用量 1.5% ,反应温度 50°C , pH 值 4.0 ,反应时间 24h ;普鲁蓝酶处理制备微孔淀粉的最佳反应条件:酶用量 1.5% ,反应温度 40°C , pH 值 6.0 ,反应时间 8h 。对比发现,单酶处理生淀粉颗粒后的水解效果顺序依次为葡萄糖淀粉酶 $>$ α -淀粉酶 $>$ 普鲁蓝酶。

3 微孔淀粉性质

原淀粉颗粒被酶作用后性能发生了很大变化。X 射线衍射分析表明:酶解主要在颗粒的无定形区^[18,19],或是结晶少、密度小的敏感区域^[20]。结晶区结构致密,淀粉酶在此区域水解能力低。未水解的高度结晶区形成彼此相连的“桥”形网状结构,形成了微孔淀粉。

微孔淀粉具有很好的吸附性能,与其它吸附剂相比,具有如下优点^[21]:(1)纯天然物质,安全无毒,使用剂量不受限制;(2)生产工艺简单;(3)具有较大比孔容积和比表面积,吸水能力和吸油能力好,分散在水及其它溶剂中能保持其结构的完整性;(4)在制备微孔淀粉过程中,不仅可控制其孔数、孔径和孔深,还

可根据被吸附物质特性对其进行改性,以增强其吸附专一性;(5)可生物降解。

3.1 微孔淀粉的物理性质

林江涛等^[17]对微孔淀粉与原淀粉的糊化性能进行对比,发现微孔淀粉的淀粉糊起始糊化温度低。温度达到 95℃时粘度降低,保持 30min 后粘度显著下降,粘度稳定性下降。这是因为淀粉形成微孔状后结构变疏松,水分子很容易进入淀粉粒内部,使颗粒的糊化容易。水解后淀粉链的长度变短,抵抗剪切和搅拌的能力减弱,因此粘度稳定性下降。林江涛等^[17]对微孔淀粉溶液性能进行检测,发现透明度增加,冻融稳定性下降,沉降体积减少。这是因为淀粉粒结构受到一定程度的破坏后,淀粉链长度变短,导致淀粉分子更易重新取向排列,淀粉糊溶液易形成均匀水合体系,淀粉持水性能下降。

目前,微孔淀粉主要作为一种吸附功能性物质的载体,其吸附性能是关键,吸附能力的大小将直接决定微孔淀粉的最终用途。苏东民等^[22]发现微孔淀粉对功能性物质的吸附量可达到原淀粉的 2.5~4.3 倍。这是因为原淀粉是依靠其表面原子(或原子团)的化合价的剩余力产生吸附力,这种吸附力很微弱;当被吸附物受到来自空间更大的吸引力时,吸附就会解体;而微孔淀粉的凹孔部位产生的吸引力较为集中,功能性物质被吸附于孔的内壁时,外界的吸引力很难达到。因此微孔淀粉产生的吸附更为牢固,而且具有“隐藏”作用,对不稳定、易挥发和易散失的物质的吸附更加有效。

刘雄^[14]对甘薯微孔淀粉研究时发现,通过酶水解得到微孔淀粉对功能性物质及油脂的吸附性能有了显著改善。适当增加生淀粉水解率,可提高微孔淀粉对物质的吸附能力。但当水解率超过 60%时,淀粉对物质的吸附性会随水解率的增加而迅速降低。这是因为水解率过大,使部分淀粉颗粒发生崩解,失去淀粉的微孔性,从而丧失其吸附性能。

3.2 结构改变对微孔淀粉性能的影响

3.2.1 交联反应对微孔淀粉性能的影响 交联反应能增强淀粉粒结构,增加抗机械破碎能力和抑制淀粉粒在水中膨胀,使淀粉糊溶液变得稳定,不易回生。Whistler^[15]指出适合的交联剂有:磷氧氯化物如三氯氧磷等,β-β-二氯二乙硫醚酯、表氯醇、二羧酸衍生物,尤其是 C₂~C₆ 二羧酸如顺式丁烯二酸,戊二酸等。林江涛等^[17]将微孔淀粉在 40℃,pH=10 的条件下与 0.5% 的 POCl₃ 作用 120min 制成交联微孔淀粉。经检测,交联微孔淀粉的粘度波动值显著降低,沉降体积显著增加,相对分子质量变大,淀粉粒变得坚韧且难于吸水膨胀而糊化,淀粉糊溶液变得稳定不易回生。苏东民等^[22]发现交联微孔淀粉的吸附量可达原淀粉的 3.0~7.5 倍,交联后物理性能显著提高。

3.2.2 表面处理对微孔淀粉性能的影响 微孔淀粉吸附各类物质的能力取决于淀粉基质与被吸附物质的相容性。淀粉粒表面布满了亲水性的羟基,对脂溶性物质的吸附程度有限。对微孔淀粉进行表面活性处理后,可使颗粒更易吸收脂溶性物质。常用的表面改性的物质有:甲基纤维素、聚-N-乙烯-2-吡咯烷酮、聚丙烯酰胺、卡拉胶和其它食用胶。苏东民等^[22]对微孔淀粉用甲基纤维素处理后,吸附 β-胡萝卜素的最大吸附量为 0.15mg/g,远远低于对 VB₆ 的吸附量(150mg/g)。这可能是因为虽然引入了一定的亲油基团,但仍远远低于亲水性的羟基。另外,为提高微孔淀粉吸附的专一性,可在其表面或内部接上相应的基团,如极性或非极性基团、阴离子或阳离子基团等等。与长链脂肪酸形成的衍生物,可使淀粉选择性吸附液体基质。如用硬脂酸或琥珀酸酐与微孔淀粉反应,可增强淀粉表面的亲油性^[4,5]。用长链脂肪酸的氯化物醚化淀粉,或用醋酸酐乙酰化淀粉均能提高其亲油性。琥珀酸酐也能给予一定的亲油性,但需要更高的取代度。在非极性溶液如甲苯、二甲苯、乙烷中,将硅酮聚合物与淀粉作用得到硅质包复处理后的微孔淀粉,对不良气体吸附能力有所增强。

4 前景展望

微孔淀粉是一种新型变性淀粉,由于具有良好吸附性能,可用作功能性物质吸附包埋。目前,国内外对微孔淀粉的研究都尚处初级阶段,淀粉微孔化制造的原料较单一。在制备微孔淀粉的过程中淀粉酶对淀粉颗粒的降解速度远低于对糊化淀粉的降解速度,酶解效率偏低。针对这个问题,可以采用现代基因技术,利用酶分子进化技术,产生出高效降解生淀粉颗粒的淀粉酶,进而解决这个问题。淀粉经微孔化

后,其颗粒结构受到一定程度破坏,导致其一些物理性能指标如糊化温度、冻融稳定性、粘度稳定性、抗剪切能力和颗粒坚固性等都低于原淀粉。为了改善这些物理性能,还需加大研究力度如通过化学交联以增强其结构稳定性。关于微孔淀粉的应用,国内外研究均较少,市场上以微孔淀粉作为吸附材料的商品尚属空白。因此加强微孔淀粉的开发研究,对推动我国变性淀粉工业发展,弥补行业上空白,具有重要现实意义,也是当务之急。

参考文献:

- [1] 顾正彪. 食品与饲料工业, 2000, 8; 7.
- [2] 张燕萍. 变性淀粉制造与应用. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [3] 马 颢, 刘雄, 阚建全. 四川工业学院学报, 2004, 23(4); 54.
- [4] Ishii. USP, 5919486, 1999 年.
- [5] Zhao J, Madson M A, Whistler R L. Cereal Chemistry, 1996, 76(3); 379.
- [6] Sarikaya E, Higasa T, Adachi M, et al. Process Biochemistry, 2000, 35; 711.
- [7] 姚卫蓉, 姚惠源. 粮食与饲料工业, 2001, (1); 45.
- [8] Fannon J E, Richard J. Cereal Chem, 1992, 69(3); 284.
- [9] Martínez-Bustos F, López-Soto M, San Martín-Martínez E, et al. J Food Engineering, 2006, 1.
- [10] 姚卫蓉, 姚惠源. 中国粮油学报, 2001, 16(1); 36.
- [11] Fuwa H, Takaya T, Sugimoto Y. Mechanisms of Saccharide Polymerization and Depolymerization. Published by Academic Press, 1980.
- [12] Nidhi G, Gupta J K, Soni S K. Enzyme and Microbial Technology, 2005, 37; 723.
- [13] Ma Y, Cai C G, Wang J, et al. J Food Engineering, 2006, 73; 297.
- [14] 刘雄, 阚建全. 粮食与油脂, 2003, 3; 127.
- [15] Whistler. USP, 4985052, 1991 年.
- [16] 马颢, 阚建全, 陈道宗. 粮油加工与食品机械, 2004, 5; 62.
- [17] 林江涛, 刘国琴, 钟洁明, 等. 郑州粮食学院学报, 1999, 20(4); 42.
- [18] Freneo C M L, Ciacco C F, Tavares D Q. Starch, 1988, 40(1); 29.
- [19] Franeo C M L, Ciaeco C F. Starch, 1992, 44(11); 422.
- [20] Sreenath H K. Starch, 1992, 44(2); 61.
- [21] 唐忠锋, 梁兴泉, 杨思广, 等. 辽宁化工, 2004, (7); 403.
- [22] 苏东民, 金华丽, 任顺成, 等. 郑州粮食学院学报, 2002, 21(2); 24.

Research Progress in Micro-porous Starch Prepared by Enzyme Method

TANG Zhong-feng, LING Xin-long, XIE Qing-ruo, CHEN Wei, SUN Qian-na

(Department of Biological and Chemical Engineering, GuangXi University
of Technology, LiuZhou 545006, China)

Abstract: The micro-porous starch, which is hydrolyzed from raw starch by starch enzyme under the starch pasty point, is a new type of modified starch. Some influencing factors in the preparation of micro-pore starch were summarized. The research progress in the above field with enzyme method was discussed. In addition, the perspective of starch-micropored technology with enzyme method was also surveyed.

Key words: Micro-porous starch; Enzyme; Modified starch