

加酶挤压处理玉米淀粉对低聚异麦芽糖产量的影响

Influence of enzymatic extrusion of corn starch on preparation of isomalto-oligosaccharides

葛洁^{1,2} 吴春森^{1,2} 王滢^{1,2} 王韧^{1,2}
GE Jie^{1,2} WU Chun-sen^{1,2} WANG Ying^{1,2} WANG Ren^{1,2}
金征宇^{2,3} 徐学明^{1,3} 焦爱权^{1,3} 周星^{1,3}

JIN Zheng-yu^{2,3} XU Xue-ming^{1,3} JIAO Ai-quan^{1,3} ZHOU Xing^{1,3}

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122;
3. 江南大学食品安全与营养协同创新中心, 江苏 无锡 214122)

(1. The State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China;
2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China;
3. Synergetic Innovation Center of Food Safety and Nutrition, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:采用加酶挤压技术处理玉米淀粉,以挤出产物制备低聚异麦芽糖。以异麦芽糖(IG₂)、潘糖(P)、异麦芽三糖(IG₃)含量之和作为低聚异麦芽糖产量指标,通过正交试验优化相关参数,确定最优的加酶挤压工艺(挤压过程中挤压温度为 95℃,挤压物料含水量为 45%,挤压加酶量为 0.8%)。通过上述参数进行试验所得的低聚异麦芽糖产量最高可达 35% 以上。

关键词:α-淀粉酶;挤压;玉米淀粉;低聚异麦芽糖

Abstract: The treatment of corn starch by adding enzyme extrusion technology as material to produce isomalto-oligosaccharide. With the sum content of isomaltose (IG₂), panose (P) and maltotriose (IG₃) as the yield index of isomalto-oligosaccharide, the parameters were optimized by orthogonal experiment, and the optimum processes for production of isomalto-oligosaccharide from corn starch with enzymatic extrusion were as followed: the extrusion temperature 95℃, the water content 45%, and the amount of enzyme 0.8%. And the yield of the isomalto-oligosaccharide with the highest yield could reach over 35%.

Keywords: α-amylase; extrusion; corn starch; isomalto-oligosaccharide

低聚异麦芽糖(Isomalto-oligosaccharides, IMOs)是一种分支性功能低聚糖,葡萄糖单位间至少有一个 α-1,6 糖苷键连接而成^[1]。作为食品添加剂可以降低甜度,改善口感;在酸性和高温条件下较稳定;保湿能力强;不易被微生物利用,所提供的能量较低;低聚异麦芽糖属于非消化性低聚糖,是益生菌的增值因子,能促进改善肠道菌群,提高生理机能^[2-3]。因其特殊的生理功能,已被广泛运用在食品、医药等领域。目前,低聚异麦芽糖的生产主要是以淀粉为原料,通过喷射液化的方式对原料进行液化预处理,再经糖化和转苷等步骤实现低聚异麦芽糖的生产^[4-6]。然而利用此法,在高压喷射处理阶段存在着蒸汽使用量大、处理原料浓度低、能耗大等问题。因此,寻求一种高效率、低能耗的生产方式将大有前途^[7]。早先就有提出将挤压机作为连续生物反应器用于生产的概念,将挤压技术运用在淀粉糖的生产中,则具有零蒸汽消耗、所处理的淀粉浓度可达 50% 以上、设备要求低等优点,是一种有效降低能耗,绿色环保的淀粉糖生产方式^[8-10]。高温高剪切的挤压条件可以有效糊化、降解淀粉,挤压时添加耐热型的 α-淀粉酶能进一步液化降解淀粉,使淀粉黏度下降,有利于调浆等后续操作^[11-15]。

综上,考虑将挤压技术运用于低聚异麦芽糖的生产。本试验研究了将加酶挤压技术代替传统的喷射液化对玉米淀粉进行处理,并将挤压产物用于低聚异麦芽糖的生产,考察了挤压温度、物料水分含量、挤压加酶量 3 种挤压参数对淀粉降解及最终低聚异麦芽糖产量的影响。根据正交试验确定了加酶挤压处理玉米淀粉生成低聚异麦芽糖的最优生产工艺参数。

基金项目:国家自然科学基金(编号:31301505);江苏省自然科学基金(编号:BK20130140, BE2013311)
作者简介:葛洁,女,江南大学在读硕士研究生。
通讯作者:周星(1982-),女,江南大学副教授,博士。
E-mail:zhouxing@jiangnan.edu.cn
收稿日期:2016-04-29

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

玉米淀粉:食品级,市售;
耐高温 α -淀粉酶、普鲁兰酶、真菌 α -淀粉酶、 β -淀粉酶:丹麦 Novozymes 公司;
 α -葡萄糖苷转移酶:日本 Amano 酶制剂公司;
潘糖标品、异麦芽糖标品、异麦芽三糖标品:美国 Sigma 化学试剂公司;
乙腈:色谱纯,天津赛孚瑞科技有限公司;
3,5-二硝基水杨酸:化学纯,国药集团化学试剂有限公司;
氢氧化钠、苯酚等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电热恒温振荡摇床:DKZ 型,上海一恒科技有限公司;
高效液相色谱仪:LC-20A 型,岛津公司;
高效液相柱:APS-2 HYPERSIL 型,赛默飞世尔科技有限公司;
双螺杆挤压机:POLYLAB 型,美国赛默飞世尔科技公司;
紫外—可见光度计:SP-2102UV 型,上海光谱仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 玉米淀粉加酶挤压试验

主要对挤压温度、物料水分含量、耐热性 α -淀粉酶的添加量三个因素对加酶挤压淀粉生产低聚异麦芽糖的影响进行讨论。根据试验要求,分别调节原料玉米淀粉水分含量(质量分数)为 35%,40%,45%,相应添加质量比为 0.0%,0.1%,0.5%,0.8%,1.0%含量的耐热型 α -淀粉酶,挤压物料混合均匀后,放于 4℃冰箱内平衡水分 12 h。挤压温度分别设定为 75,85,95,105℃进行原料淀粉的挤压试验,其中螺杆转速均为 150 r/min,喂料速率均为 200 kg/h。

1.2.2 挤压产物糖化转苷生成低聚异麦芽糖

取适量挤压产物加入 pH 4.0 的醋酸盐缓冲液中,沸水浴灭酶 10 min,灭酶后的挤压产物加水调浆至物料浓度(质量分数)为 30%,pH 调为 5.5,分别添加 20 U/g 真菌 α -淀粉酶、20 U/g β -淀粉酶及 10 U/g 普鲁兰酶,置于 55℃的水浴摇床中震荡反应,糖化 2 h 后添加 30 U/g α -转移葡萄糖糖苷酶,反应 48 h 后沸水浴灭酶,取样分析低聚异麦芽糖含量。

1.2.3 挤压产物 DE 值测定

挤压产物经灭酶、稀释处理,4 500 r/min 离心 15 min,取上清,利用 DNS 法测定 540 nm 处吸光度值,计算还原糖含量,进一步计算得到挤压产物的葡萄糖当量值(DE 值)^[16]。

$$\text{DE 值} = \frac{\text{还原糖总量}}{\text{干物含量}} \times 100。$$

(1)

1.2.4 低聚异麦芽糖含量测定

利用高效液相色谱法对糖液进行组分分析,流动相为水—乙腈混合液,水与乙腈的体

积比为 20:80,流速 1 mL/min,采用示差检测,柱温 30℃,低聚异麦芽糖(IMO_s)含量以异麦芽糖(IG₂)、潘糖(P)、异麦芽三糖(IG₃)总和进行表示^[17]。

1.2.5 加酶挤压玉米淀粉生产低聚异麦芽糖正交试验

在单因素试验结果基础上,采用正交试验方法,优化加酶挤压生产低聚异麦芽糖中挤压操作单元。

2 结果与讨论

2.1 挤压温度对挤压产物 DE 值和低聚异麦芽糖产量的影响

高温剪切可促进淀粉糊化,利于高温 α -淀粉酶作用,但过高的挤压温度不仅会使酶活性降低甚至失活,在试验中发现,同时也会导致挤压产物颜色变深生成不良产物,因此选择挤压温度在 75~105℃为宜。由图 1 可知,在高温高压的挤压剪切条件下有利于淀粉糊化降解, α -淀粉酶的添加可以使糊化的淀粉发生进一步的降解,随挤压温度增加挤压产物 DE 值逐渐增加,当温度升至 105℃时,相应的 DE 值略有降低,这主要是在相同的挤压条件下,挤压温度的变化会进一步影响淀粉糊化以及耐热型 α -淀粉酶的活性。随着温度的提高,耐高温 α -淀粉酶的活性逐渐升高,这有利于促进淀粉降解,进一步提高挤压温度,淀粉酶会出现部分失活,从而使淀粉水解程度降低,DE 值降低。对不同挤压温度条件下的样品分别进行糖化转苷试验,由所得的低聚异麦芽糖含量可知,随着挤压温度的升高,低聚异麦芽的产量呈现先升高后降低的趋势,结合淀粉 DE 值变化情况分析,这可能是在加酶挤压处理的过程中,淀粉发生糊化、降解,大颗粒的淀粉被降解为小的淀粉链,小片段淀粉可作为后续反应中糖化酶及转苷酶的作用底物,利于低聚异麦芽糖的生成。

2.2 物料水分含量对挤压产物 DE 值和低聚异麦芽糖产量的影响

物料水分含量过低,会使淀粉在挤压剪切过程中不易糊化,甚至在挤压过程中造成堵料现象,影响机器正常运行。同时,在挤压过程中添加的酶制剂也需要一定的水分含量才能正常发挥其水解作用。因此,在挤压处理过程中,提高物料淀粉的水分含量将有利于促进淀粉糊化,提高酶利用率,

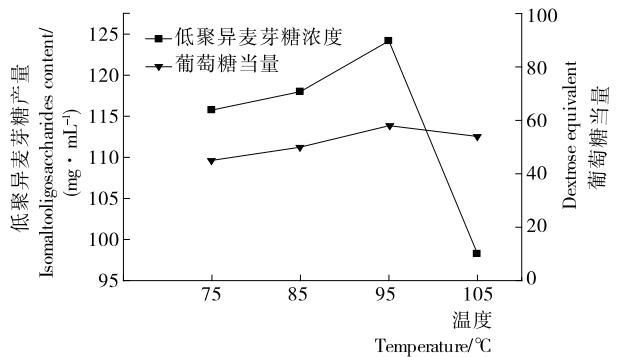


图 1 挤压温度对挤压产物葡萄糖当量和低聚异麦芽糖产量的影响

Figure 1 Effect of extrusion temperature on dextrose equivalent and isomalto-oligosaccharides content

有效降低挤压产物的黏度。然而,水分含量过高不利于剪切过程中摩擦力的产生,使挤压机剪切能力降低,不利于淀粉糊化水解,降低了挤压剪切效率。因此,本试验选择挤压物料水分含量在 35%~45%。由图 2 可知,试验所涉及的物料水分含量对挤压产物的 DE 值影响不大,随着水分含量的增加物料的 DE 值只有略微增加,基本在 55 左右。提高物料水分含量可以使淀粉充分糊化,另外,由于酶促反应也需要水分参与,水分含量的提高会加速酶反应,促进淀粉水解。但同时,水分含量的增加会使挤压机剪切能力降低,不利于淀粉糊化水解,因此需控制适当的物料水分含量。在试验所选择的物料水分含量范围内,随着物料的水分含量的增加,挤压淀粉转化生成的低聚异麦芽糖产量越高,最高可达 129 mg/mL,说明随水分含量增加,酶解挤压降解的淀粉产物有利于转化生产低聚异麦芽糖。

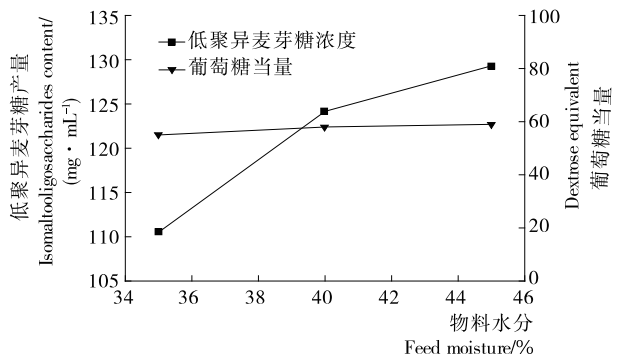


图 2 物料水分含量对挤压产物葡萄糖当量和低聚异麦芽糖产量的影响

Figure 2 Effect of feed moisture content on dextrose equivalent and isomalto-oligosaccharides content

2.3 加酶量对挤压产物 DE 值和低聚异麦芽糖产量的影响

高温高剪切的挤压条件可以促进淀粉糊化降解,在挤压过程中添加酶制剂可以促进淀粉进一步液化降解,降低淀粉黏度。因此,选择在挤压时添加耐热型 α -淀粉酶,该酶可以适用于试验条件下挤压机内的高温环境,酶解淀粉,促进水解,有效降低淀粉黏度,利于后续调浆糖化。由图 3 可知,随着耐热型 α -淀粉酶添加量的提高,淀粉水解程度增加,DE 值

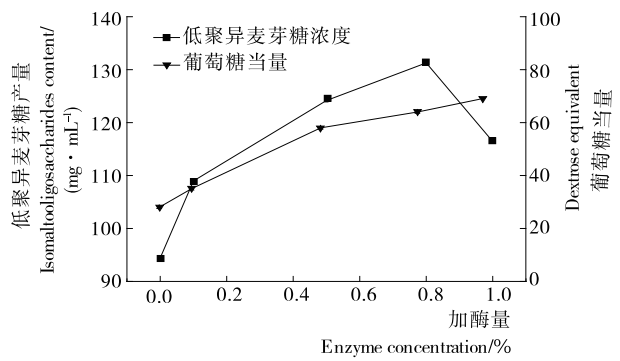


图 3 加酶量对挤压产物葡萄糖当量和低聚异麦芽糖产量的影响

Figure 3 Effect of enzyme concentration on dextrose equivalent and isomalto-oligosaccharides content

逐渐升高。同时随着挤压加酶量的提高低聚异麦芽糖的含量呈现先增加后降低的趋势,这可能是淀粉在加酶挤压过程中发生水解生成的短链淀粉成为了后续糖化酶和转苷酶适宜的反应底物,有利于低聚异麦芽糖的生成。但过高的加酶量会使淀粉过度水解,导致葡萄糖的含量明显增高,不利于后续反应。

2.4 正交优化加酶挤液化生产低聚异麦芽糖

为进一步优化加酶挤压生产低聚异麦芽糖的生产工艺,根据 DE 值和各挤压参数对低聚异麦芽糖产量影响的单因素试验结果,选择挤压温度、物料水分含量以及耐热型 α -淀粉酶加酶量做三因素三水平正交试验,正交因素水平见表 1。分析正交挤压样品糖化转苷后,其低聚异麦芽糖产量($IG_2 + P + IG_3$),从而进一步确定挤压液化的最优组合。试验设计及结果见表 2。

表 1 正交因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment test

水平	A 温度/℃	B 水分含量/%	C 加酶量/%
1	85	35	0.5
2	95	40	0.8
3	105	45	1.0

表 2 正交试验设计与结果

Table 2 Design and result of orthogonal experiment test

序号	A	B	C	($IG_2 + P + IG_3$)/ ($mg \cdot mL^{-1}$)
1	1	1	1	109.75
2	1	2	2	122.01
3	1	3	3	122.34
4	2	1	2	131.43
5	2	2	3	128.31
6	2	3	1	123.57
7	3	1	3	108.57
8	3	2	1	98.43
9	3	3	2	106.57
K_1	118.03	116.58	110.58	
K_2	127.77	116.25	120.00	
K_3	104.52	117.49	119.74	
R	23.25	1.24	9.42	

根据正交试验极差结果显示,挤压温度>加酶量>物料水分含量,说明加酶挤压参数中影响后续低聚麦芽糖生成主要因素是挤压温度,其次是加酶量,而物料水分含量影响最小。比较各因素均值效果值,随着物料水分含量提高低聚异麦芽糖产量逐渐增加,但低聚异麦芽糖产量并非随着挤压温度及加酶量的增加而增加。据分析,选择最优因素水平组合方案为 $A_2B_3C_2$ 。在此优化条件下进行实验验证,3 次平行实验结果($IG_2 + P + IG_3$) 含量均在 120 mg/mL 以上, ($IG_2 + P + IG_3$) 产率大于 35%,已达中国低聚异麦芽糖 IMO-50 生

产标准(GB/T 20881—2007)。

3 结论

加酶挤压处理玉米淀粉可以有效降解淀粉,降低物料黏度,所处理的淀粉物料有利于后续糖化转苷。DE 值可用于衡量淀粉的液化程度,DE 值越大,淀粉降解越大,黏度变小。试验发现淀粉降解有利于低聚异麦芽糖的生产,但过高的DE 值,会使产量降低。利用单因素试验对挤压温度、物料水分含量和挤压加酶量对挤压产物 DE 值和最终低聚异麦芽糖产量的影响进行分析,通过三因素三水平正交试验对条件进行优化,最终确定最佳工艺参数:挤压温度为,95 ℃挤压物料含水量为 45%,挤压加酶量为 0.8%。利用此优化条件进行实验验证,最终所得粗糖中(IG₂ + P + IG₃)含量均在 35%以上,已达中国规定低聚异麦芽糖 IMO-50 的生产标准。因此,本研究为加酶挤压技术代替传统的喷射液化对淀粉原料处理进行低聚异麦芽糖生产提供了一定的理论参数依据。

参考文献

[1] 李芃,曾凡骏,柳玲,等. 大米制取低聚异麦芽糖工艺研究[J]. 粮食与饲料工业, 2007(6): 21-23.

[2] 车夏宁,林海龙,赵永武,等. 低聚异麦芽糖理化功能特性及生产方法研究进展[J]. 中国酿造, 2014, 33(7): 20-23

[3] LIN Qin-lu, XIAO Hua-xi, ZHAO Jian, et al. Production of isomalto-oligosaccharide syrup from rice starch using an one-step conversion method[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2011, 46(6): 1 194-1 200.

[4] 陈辉. 籼米淀粉制取低聚异麦芽糖技术研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2008: 2-9.

[5] 王镇发. 木薯淀粉制备低聚异麦芽糖及沸石在其分离纯化中的

应用[D]. 泉州: 华侨大学, 2012: 4-10.

[6] 刘国凌,汪芳安. 异麦芽低聚糖酶法制备研究[J]. 韶关学院学报: 自然科学版, 2002, 23(12): 132-135.

[7] 汪芳安,董佳,潘从道. 异麦芽低聚糖及其生产与应用[J]. 武汉工业学院学报, 2001(4): 14-16.

[8] 郝国东,徐磊,段志林. 提高玉米淀粉糖化率新工艺[J]. 黑龙江农业科学, 2009(4): 102-103.

[9] LI Hong-yan, JIN Zheng-yu, XU Xue-ming. Design and optimization of an efficient enzymatic extrusion pretreatment for Chinese rice wine fermentation[J]. Food Control, 2013, 32(2): 563-568.

[10] BAKS Tim, KAPPEN Frans H J, JANSSEN Anja E M, et al. Towards an optimal process for gelatinisation and hydrolysis of highly concentrated starch-water mixtures with alpha-amylase from B. licheniformis[J]. Journal of Cereal Science, 2008, 47 (2): 214-225.

[11] 申勋宇,申德超. 低温挤压酶解干法脱胚玉米取代淀粉生产糖浆技术[J]. 山东理工大学学报: 自然科学版, 2014(6): 55-58.

[12] 杜双奎,魏益民,张波. 挤压膨化过程中物料组分的变化分析[J]. 中国粮油学报, 2005(3): 39-43.

[13] 李桂杰,郭艳莉,肖志刚,等. 加酶挤压法对玉米淀粉基脂肪替代物全质构的影响[J]. 食品与机械, 2013, 29(3): 40-46.

[14] 杨夫光,李飞,母应春,等. 挤压碎米生产淀粉糖浆的工艺优化[J]. 食品与机械, 2013, 29(2): 190-194.

[15] 唐汉军,李林静,朱伟. 螺杆挤压工艺对米粉品质的改良作用[J]. 食品与机械, 2015, 31(5): 239-242.

[16] 宋巧. 马铃薯淀粉酶法制备高麦芽糖浆工艺研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012: 19.

[17] 林家永. 异麦芽低聚糖含量测定方法的研究[J]. 食品工业科技, 2009(6): 351-353.

(上接第 165 页)

[6] 皮少锋,胡铁,王烨,等. 香料中间体 9,10-环亚甲基假紫罗兰酮的制备[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 190-193.

[7] 胡铁,王烨,皮少锋,等. 柠檬醛合成紫罗兰酮的工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 224-227, 247.

[8] 沈润涛,胡四平,宋小华,等. 由 α -环柠檬醛直接缩合制备 β -紫罗兰酮的研究[J]. 高校化学工程学报, 2011, 25(3): 538-542.

[9] 晏日安,苏镜娱,曾陇梅. (±)-二氢猕猴桃内酯合成方法的改进[J]. 有机化学, 2006, 26(5): 730-732.

[10] 贾绍义,吴松海,曾林久,等. 磁化处理对山苍子油物理性质及精馏过程的影响[J]. 香料香精化妆品, 2008, 36(4): 9-12.

[11] 沙勇,肖宗源,吐松. 短程蒸馏山苍子油提纯柠檬醛的应用研究[J]. 现代化工, 2008, 28(S2): 298-300.

[12] 尹显洪,梁政,肖机生,等. 从山苍子油中提取柠檬烯和柠檬醛的研究[J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 1994, 12(3): 66-70.

[13] 韩艳利. 山苍子精油的提取、精制及物理改性研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2013: 33-43.

[14] 周海旭,李忠海,张慧,等. 微波辅助提取樟树叶木脂素工艺优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(6): 193-197.

[15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准

化管理委员会. GB/T 11424—2008 山苍子(精)油[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[16] 纪红兵,黄丽泉,石东坡,等. β -环糊精超分子催化剂用于液相有机合成[J]. 有机化学, 2008, 28(12): 2 072-2 080.

[17] 郭放,徐赫男,王秀梅,等. 利用螯形主体分子的识别功能选择包结分离蒿本挥发油中的肉豆蔻醚[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(3): 192-195.

[18] 常怀春,杨常春,王秀梅,等. 包结物品析法分离小茴香挥发油中茴香醚[J]. 应用化学, 2001, 18(6): 440-443.

[19] WANG Ying, JIANG Zi-tao, LI Rong. Complexation and molecular microcapsules of *Litsea cubeba* essential oil with β -cyclodextrin and its derivatives[J]. European Food Research and Technology, 2009, 228(6): 865-873.

[20] 旷春桃,李湘洲,韩艳利,等. 山苍子精油与 β -环糊精衍生物的包合作用研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(11): 214-221.

[21] 程丹,傅玉颖,梅子,等. 响应曲面法优化酵母微胶囊化核桃油工艺[J]. 中国食品学报, 2013, 13(11): 28-34.

[22] 杨锡洪,高学丽,解万翠,等. 微波辅助碱—酶法提取酵母 β -1, 3-葡聚糖工艺优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 145-148.

[23] 陈义勇,张德谨. 乌饭树叶黄酮超声—微波辅助提取工艺的优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 148-153.