

# 抗性淀粉的酶法研制\*

蹇华丽 高群玉 梁世中

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510640)

**摘 要** 以玉米淀粉为原料,在糊化时加入耐热 $\alpha$ -淀粉酶,采用酶脱支反应等手段改变淀粉原有的分子结构并重新形成晶体,以提高产品中抗性淀粉的含量。试验证明,加入一定量的耐热 $\alpha$ -淀粉酶处理后再进行脱支化处理,适当的普鲁兰酶反应条件为:温度 $60^{\circ}\text{C}$ , $\text{pH}$ 值5.5,酶相对用量1.5~2.5,反应时间12h,较有利于抗性淀粉的形成,其含量可高达19.02%。

**关键词** 抗性淀粉 耐热 $\alpha$ -淀粉酶 普鲁兰酶 糊化

长期以来,人们都认为膳食中的淀粉在人的小肠能被完全水解吸收,但近十几年来研究发现,有少部分淀粉受某种因素或加工过程的影响,其结构发生变化,在小肠中产生抗消化现象,即在人体肠胃中仍不被水解。英国生理学家 Hans 于 1983 年首先将它定义为抗性淀粉(resistant starch,简称 RS)<sup>[1]</sup>。

抗性淀粉跟膳食纤维一样不被小肠吸收,能原封不动地进入大肠,部分为肠道菌发酵利用而产生短链脂肪酸如丁酸<sup>[2]</sup>等,较同等膳食纤维产生的丁酸还要多,而丁酸会阻止癌细胞的生长与繁殖,与直肠癌的防止密切相关。另外,抗性淀粉可增加粪便体积,促进肠道蠕动,对于便秘、炎症、痔疮、结肠癌等疾病有良好的预防效果。摄入高抗性淀粉食物,具有较少胰岛素反应,可延缓餐后血糖上升,能有效地控制糖尿病病情<sup>[3]</sup>。同时,抗性淀粉可增加脂质排泄,将食物中脂质部分排除从而减少热量的摄取<sup>[4]</sup>,而且抗性淀粉本身几乎不含热量<sup>[5]</sup>,作为低热量添加剂添加到食物中,可有效控制体重。抗性淀粉以其显著优点及特殊的生理功能,引起了生理学家、酶学家等众多学者极大的兴趣和广泛的关注,成为食品营养学的1个研究热点。有关抗性淀粉的制备研究国外近10年来发展较快,研究非常活跃,国内则处于刚起步阶

段。采用酶法制备,是1个新的研究领域,目前尚未见报道。

## 1 试验材料和方法

### 1.1 试验材料

玉米淀粉:河北秦皇岛淀粉厂(优级品);  
耐热 $\alpha$ -淀粉酶:丹麦 Novo Nordisk 生物加工有限公司;

普鲁兰酶:丹麦 Novo Nordisk 生物加工有限公司;

全淀粉分析套酶:包括耐热 $\alpha$ -淀粉酶、淀粉葡萄糖苷酶、葡萄糖显色试剂(也称 GO-POD 试剂,由葡萄糖氧化酶/过氧化物酶和 4-氨基安替比林组成)、葡萄糖标准液,爱尔兰 Megazyme 公司出品;

二甲基亚砜(DMSO):广州医药站化学试剂公司(分析纯);

### 1.2 仪器及设备

不锈钢反应罐:250 mL,自行设计制造加工;

超级恒温器:CS501 型,重庆试验设备厂;

电子分析天平:德国 Sartorius 公司, $d=0.1\text{ mg}$ ;

离心机:800 型,上海手术器械厂;

漩涡混合器:XW—80A,上海精科实业有

第一作者:硕士研究生。

\* 国家自然科学基金资助项目(No.29906002)

收稿时间:2002-01-09

限公司；

光栅分光光度计 722 型,上海第三分析仪器厂。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 耐热 $\alpha$ -淀粉酶用量对 RS 形成的影响

在淀粉乳质量分数为 6%, pH 为 6.0 ~ 6.4, 糊化温度 140℃, 糊化时间 20 min 的糊化条件下, 加入不同量的耐热  $\alpha$ -淀粉酶进行糊化, 然后加入普鲁兰酶处理(普鲁兰酶脱支条件固定为 pH 5.0, 温度 45℃, 时间 24 h, 加酶量 1.6 PUN/g 干淀粉), 用以研究不同耐热  $\alpha$ -淀粉酶用量对 RS 形成的影响。

#### 1.3.2 普鲁兰酶作用条件与 RS 含量的关系

固定淀粉糊化条件及加入耐热  $\alpha$ -淀粉酶的用量(1.3.1 得出的结果), 做有关普鲁兰酶作用条件的正交试验, 步骤同 1.3.1(先糊化后加入普鲁兰酶处理)。正交试验因素水平见表 1。

表 1 普鲁兰酶作用条件正交试验因素水平

水平	A 温度/℃	B 反应 pH 值	C 相对加酶量(酶活力/干淀粉量)	D 时间/h
1	35	4.5	0.5	12
2	45	5.5	1	18
3	55	6.5	2	24
4	60	7.5	4	30

#### 1.3.3 抗性淀粉的测定

用 Megazyme 公司的全淀粉酶分析试剂组, 根据美国谷物化学家协会(AACC)的 76-13 标准方法<sup>[6]</sup>, 并经适当改进后测定抗性淀粉含量。按下式计算:

$$RS = E \times F \times 10 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} = \frac{EF}{0.9W}$$

式中:  $E$ —样品的吸光度;  $F$ —100  $\mu\text{g}$  葡萄糖/100  $\mu\text{g}$  葡萄糖的吸光度(将吸光度转变成葡萄糖  $\mu\text{g}$  数); 10—10 mL 溶液中取 1 mL;  $1/1000$ —微克数转换成毫克数;  $W$ —样品的毫克数;  $162/180$ —游离葡萄糖与脱水葡萄糖之间的换算系数。

## 2 结果与讨论

### 2.1 耐热 $\alpha$ -淀粉酶用量对 RS 形成的影响

采用酶法制备抗性淀粉的主要原理如下: 首先将淀粉糊化, 淀粉颗粒在糊化过程中, 分子结晶区大部分氢键断裂, 原有的结晶结构受到破坏, 导致淀粉双螺旋结构的展开和解离。此时将淀粉糊的温度和 pH 调到一定值, 加入普鲁兰酶。普鲁兰酶作用于  $\alpha$ -1, 6 葡萄糖苷键, 从而使淀粉水解产物中含有更多游离的直链分子。将处理过的淀粉糊静置并于低温下凝沉, 此时被打乱的分子链尤其是直链分子又重新靠近, 链之间发生缠绕、延伸, 形成双螺旋、折叠乃至最后形成新的晶体等一系列变化。此时淀粉糊中直链分子较多, 更容易形成晶体, 晶体结构也更加牢固和稳定。

在实验过程中发现, 在淀粉糊化时加入耐热  $\alpha$ -淀粉酶进行液化, 然后再加入普鲁兰酶进行处理, 所得到的淀粉样品中 RS 含量高于未加液化酶处理的样品。究其原因可能是由于在没有加液化酶的情况下, 直接加入普鲁兰酶, 会导致淀粉糊中直链分子的长短差异过大, 不利于晶体形成。因此采用先加入液化酶处理, 再进行脱支制备样品, 测试其 RS 含量, 结果如图 1 所示。

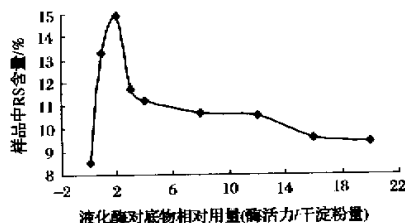


图 1 高温液化酶用量对 RS 形成的影响

液化酶对于淀粉分子的作用是从中间随机切开  $\alpha$ -1, 4 葡萄糖苷键, 从而迅速降低淀粉糊的粘度, 因此液化酶用量多少与淀粉糊的粘度大小紧密相关。当加入酶量少时, 分子被切断程度不够, 淀粉糊的粘度仍然很大, 不利于直链淀粉分子相互接近而形成结

晶,酶量太大,粘度过低,直链淀粉分子相互接近的概率减小,也不利于抗性淀粉的形成。同时,加酶量多少也会影响被切断后的分子链长短比例以至于影响晶体形成的难易程度。实验表明,当加入一定量的液化酶时最有利于 RS 的形成,含量达到 14.9%。

## 2.2 普鲁兰酶作用条件与 RS 含量的关系

酶作用条件正交试验结果见表 2,正交结果的极差分析见表 3。

表 2 正交试验结果

试验号	A 温度 /℃	B 反应 pH 值	C 相对加酶量 (酶活力/干淀粉量)	D 时间 /h	样品中 RS 质量分数/%
1	35	4.5	0.5	12	7.78
2	35	5.5	1	18	9.25
3	35	6.5	2	24	4.54
4	35	7.5	4	30	14.02
5	45	4.5	1	24	17.84
6	45	5.5	0.5	30	7.56
7	45	6.5	4	12	15.06
8	45	7.5	2	18	5.02
9	55	4.5	2	30	14.23
10	55	5.5	4	24	15.72
11	55	6.5	0.5	18	4.78
12	55	7.5	1	12	5.56
13	60	4.5	4	18	17.54
14	60	5.5	2	12	19.02
15	60	6.5	1	30	16.99
16	60	7.5	0.5	24	5.27

由表 2 正交试验结果可以看出,本试验所得抗性淀粉含量最高可达到 19.02%。由表 3 正交结果极差分析可得影响抗性淀粉形成的普鲁兰酶作用条件中各因素主次为 C(加酶量)>B(pH 值)>A(温度)>D(时间),最好的因素水平组合为 A<sub>4</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>,即反应温度 60℃,反应 pH 值 5.5,普鲁兰酶相对用量 1.5~2.5,反应时间 12 h。

表 3 正交试验结果分析

因素	A	B	C	D
K1	35.59	57.39	25.39	47.42
K2	45.48	51.55	49.64	36.59
K3	40.29	41.37	37.19	43.37
K4	58.82	29.87	62.34	52.80
R	23.23	27.52	36.95	16.21
因素主次	C>B>A>D			
较优水平组合	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub>			

某些天然的抗性淀粉含量较高的植物淀粉,一般说来其淀粉分子中直链成分也是较高的,例如高链玉米淀粉(直链淀粉高达 70% 左右)、绿豆淀粉(直链淀粉 35% 左右)等等,说明淀粉分子中直链淀粉、支链淀粉的比例与 RS 的形成关系密切。同样,经普鲁兰酶处理过的淀粉糊在凝沉时重新形成晶体的过程中,也会因为直链、支链淀粉的比例不同而形成不同形态和性质的晶体,从而导致 RS 的含量有高低。当然,重新形成晶体的过程和机理是相当复杂的,除了直链、支链淀粉的比例会影响结晶外,直链分子的分子量大小也是 1 个关键因素。淀粉糊在凝沉时,其中的分子链都是不断运动的,当 2 条分子链靠近时就会相互缠绕从而形成双螺旋或其他类似结构,然后进一步延伸,延伸的分子链进一步发生折叠卷曲,最后形成晶体。但是每种分子链运动的速度都不相同,分子量大的直链分子运动的速度相对较慢,而分子量小的则运动很快。因为运动快的链碰撞在一起的几率及稳定的几率相对小,所以直链分子过短(即分子量过小)反而不利于晶体的形成。因此 RS 的含量不仅由链淀粉含量决定,也跟直链分子的分子量大小密切相关。普鲁兰酶的几个脱支条件综合影响到直链、支链淀粉的比例以及直链分子的分子量大小等诸多方面,通过正交试验才可得出较好的条件组合。从最后的结果可以看出,普鲁兰酶的加入量是其中最重要的影响因素。

## 3 结 论

通过对抗性淀粉酶法制备的研究,证明此种方法对于抗性淀粉含量的提高效果是相当明显的。试验证明,在酶法制备抗性淀粉过程中,控制耐热  $\alpha$ -淀粉酶的用量及普鲁兰酶的作用条件非常重要,当加入一定量的耐热  $\alpha$ -淀粉酶,普鲁兰酶作用条件为反应温度 60℃,反应 pH 值 5.5,酶相对用量 1.5~2.5,反应时间 12 h 时较有利于抗性淀粉的形成,质量分数达到 19.02%。

## 参 考 文 献

- 1 Englyst H N ,Andersen V ,Cummings J H. J.Sci.Food Agric. ,1983 34 :1434 ~ 1440
- 2 Baghurst P A ,Baghurst K J ,Record S J. Food Australia ,1996 48 ( 3 ) :S3 ~ S35
- 3 Cairns P ,Sun L ,Morris V J ,Ring S G. J.Cereal Sci. ,

1995 21 37 ~ 47

- 4 Ranhotra G S ,Gelroth J A ,Glaser B K. Cereal Chem. ,1996a 73 ( 2 ) :176 ~ 178
- 5 Ranhotra G S ,Gelroth J A ,Glaser B K. Journal of Food Science ,1996 61 ( 2 ) :453 ~ 455
- 6 American Association of Cereal Chemists. “ Approved Methods of the AACC ”. Method 76 ~ 13 , approved 1976

## Preparation of Resistant Starch with Enzymes Process

Jian Huali Gao Qunyu Liang Shizhong

( The College of Food &amp; Biotech. Eng. ,South China Univ. of Tech. ,Guangzhou 510640 )

**ABSTRACT** Corn starch was used as material in the experiments. The molecule structure of starch was changed by adding thermostable  $\alpha$ -amylase during the starch gelatinization and pullulanase hydrolysis. New crystal is reformed and the content of resistant starch was increased. Experiments proved that the maxium efficiency was obtained when the amount of thermostable  $\alpha$ -amylase was added to starch slurry. At the same time , the optimum condition of pullulanase hydrolysis have been confirmed. It was maintained at a temperature of 60℃ , a pH of 5.5 and may add pullulanase of 1.5 ~ 2.5 ( relative amount ) for 12 hours. The highest yield of resistant starch is 19.02% in the experiments.

**Key words** resistant starch , thermostable  $\alpha$ -amylase , pullulanase , gelatinization

## 果味啤酒利润可观

众所周知 ,原麦汁为 12°BX 的啤酒每升含 1 825 kJ 的热量 ,但近些年来 ,随着人们保健意识的逐渐增强 ,啤酒的发展也逐渐趋向于低浓度、低酒精、功能型、果味型。长期以来 ,国内众多啤酒厂家都在生产单一口味的啤酒 ,使市场缺乏活力、新鲜感。开发各种低酒精型或果味型啤酒 ,既可满足消费者不同的需求 ,更受到女士、青年及运动型人群所喜爱 ,同时也可为企业带来可观的效益和利润。

对于 18 ~ 34 岁的年轻人来说 ,喝 1 种带有新鲜的颜色、低酒精含量、独特口味的啤酒则是代表了 1 种时尚 ,体现了现代化的充满激情的生活 ,而果味啤酒恰恰可以满足他们的这种需要。

在国外 ,较为流行的果味啤酒有 柠檬型、菠萝型、苹果型、草莓型等。欧洲的一些企业纷纷推出了各自品牌的果味啤酒 ,如 Henninger、Bavaria - St. Pauli 等。在德国 1993 年果味啤酒产量仅为 2 万 t 左右 ,而到了 2001 年 ,其产量已达到 20 万 t 以上 ,欧洲其他各国的果啤市场也显示出了良好的发展潜力。

在国内 ,虽然众多厂家都有生产果啤的经历 ,但由于市场定位不当及宣传不够 ,消费者一下难以接受 ,所以果啤产量未能有所突破 ,去年产量只有 2 万多吨。但现在国内各大啤酒公司已开始关注果啤产品 ,如燕京、青啤、重啤、兰州黄河、四川蓝剑等均已生产果味啤酒 ,并取得了较好的成绩与可观的利润。各大啤酒企业的关注终将快速推进果味啤酒的发展。目前国内市场上已出现了由上海成智啤酒技术有限公司与世界最大的饮品配料企业 “德国 doehler”公司合作提供的果味啤酒生产工艺、技术、配方和原料以及各种保健型啤酒、功能型啤酒的工艺和配方 ,如菊花啤酒、西洋参啤酒、螺旋藻啤酒、双岐因子啤酒、枣汁啤酒等。众多的品种为丰富果啤市场提供了更多选择。