

文章编号: 1005—8893 (2002) 03—0022—03

淀粉液化液灭酶方法的研究^{*}

杨柳新, 徐以撒

(江苏石油化工学院 化学工程系, 江苏 常州 213016)

摘要: 某些情况下淀粉液化液需要严格控制液化的程度, 因此需要及时终止残余淀粉酶的活性。实验用降低液化液 pH 值、升高温度、以及两者并用等 3 种方法结束液化反应过程, 实验结果可作为工业生产过程参考。

关键词: 淀粉酶; 灭酶; 加酸; 升温

中图分类号: TQ 316.3

文献标识码: A

近数 10 年来, 淀粉的酶法水解逐渐代替了传统的酸法水解, 广泛应用于淀粉糖、发酵、变性淀粉等行业中。酶法水解的第一步就是淀粉浆的糊化和液化。糊化过程破坏淀粉的结晶结构, 为液化型淀粉酶的快速作用提供条件。通常这两个过程是同时进行的。常用的液化型淀粉酶有中温 α -淀粉酶和耐高温 α -淀粉酶。前者的最适作用温度 75 ~ 85 $^{\circ}\text{C}$, 最高许用温度 95 $^{\circ}\text{C}$, 后者的最适作用温度达到 90 ~ 95 $^{\circ}\text{C}$, 短时间可耐受高温达 102 ~ 108 $^{\circ}\text{C}$ 。耐高温 α -淀粉酶的特性可以使淀粉的糊化更为彻底, 有利于提高淀粉的利用率, 便于采用喷射液化等先进的技术。但是耐高温 α -淀粉酶如此稳定的活性, 对于某些需要严格控制淀粉液化程度的工业生产过程, 却又成为一个挠头的问题。例如, 在制备高纯度麦芽糖、低转化率麦芽糊精时, 就必须及时终止淀粉酶的活性, 以免在随后的糖化及精制过程中继续水解淀粉衍生物, 使目标产物进一步发生不希望有的降解。

工业上终止液化型淀粉酶活性常用的办法是, 把液化液的 pH 值调到液化酶的适用范围之外; 或升高液化液的温度到稳定温度之外, 使得液化酶的蛋白质分子发生变性而失去活性。由于碱性容易在使酶失活的同时引起不希望有的生色美拉德反应, 所以调 pH 一般是往低调。升高温度需要消耗能量, 需要一定的加热时间, 对于耐高温液化淀粉酶

还需要受压设备。

如果生产工艺要求把液化的程度控制得较低, 那么在保证淀粉糊化完全的基础上, 可以采用中温液化淀粉酶, 并在达到要求的液化程度以后, 及时地调低液化液的 pH 值, 或开始升温, 或两者兼用。

本文通过对调整液化液的 pH 值和升高温度的系列条件试验, 确定了终止中温液化酶活性的适宜条件。

1 实验部分

1.1 实验主要仪器设备

D—8401 电动搅拌机, PHS—25pH 计, HL—3 恒流泵, 管式液化器 (自制), 501 型超级恒温槽, KWS—SAE 恒温培养箱, TG—3282 分析天平, WZS—1 阿贝折光仪, 还原糖滴定装置 (自制)。

1.2 主要实验试剂

优级玉米淀粉, 氯化钙 (分析纯), 中温液化淀粉酶, 盐酸 (分析纯), 氢氧化钠 (分析纯), 酒石酸钾钠 (分析纯), 亚铁氰化钾 (分析纯), 硫酸铜 (分析纯), 次甲基蓝 (分析纯)。

^{*} 收稿日期: 2002—09—03

作者简介: 杨柳新 (1969—), 男, 江苏常州人, 实验师。

1.3 实验方法

将工业级淀粉称量后加入 3 倍质量的水调成粉浆，用稀酸或稀碱液调整其 pH 值为 6.0~6.4，加入少量的氯化钙使钙离子的质量分数为 100×10^{-6} 。加入适量的中温淀粉酶，用恒流泵送入管式液化器，在 112~114℃油浴中间接加热进行糊化，料液流入超级恒温槽，在 90℃保温液化。1.5 h 后取出液化液，进行如下不同方法的灭酶处理：①不加酸，液化液用常压水浴煮沸处理 25 min；②加入不同量的盐酸，混合均匀，室温放置 25 min；③加入不同量的盐酸，混合均匀后在水浴中常压加热煮沸 25 min。

然后将灭酶处理后的液化液样品放在 70℃的恒温培养箱内保温相同的时间，使其中残余的酶继续作用，用未经任何灭酶处理的液化液做对照。取样测定各样品的还原性糖占样品中固形物的质量分数，用 w（DE）值表示，反映淀粉酶残余活力的情况，w（DE）值越大，淀粉酶残余活力越强。

1.4 实验测定方法

1.4.1 液化液含固量测定

用阿贝折光仪直接读取，再进行温度校正。

1.4.2 液化液 w（DE）值测定

w（DE）是表示淀粉水解程度的常用参数。原淀粉的 w（DE）值为 0，纯葡萄糖的 w（DE）值为 100。由不同数量葡萄糖单位构成的多糖，其单位质量的还原能力小于葡萄糖，故 w（DE）值介于 0~100 之间。按文献 [1] 快速法测定。用硫酸铜和次甲基蓝配制成 A 液，用酒石酸钾钠、氢氧化钠和亚铁氰化钾配制成 B 液，各取 5 mL 混合后加入适量待测样品，在电炉上加热至沸腾状态，用 0.1% 标准葡萄糖溶液反滴至蓝色消失为终点。

2 实验结果

2.1 升温灭酶法

将液化液分成 6 份，每份 80 mL，置于烧杯中，放入预先煮沸的水浴锅内，隔水常压蒸煮，每隔 5 min 取出一个样品，分别测定其 w（DE）值。然后将其在室温 28℃下放置 4 h，（考察中温淀粉酶在室温下和热处理下的活性）再测定各样品的 w（DE）值。结果见表 1。

表1 常压煮沸对酶活性的影响

样品号	1	2	3	4	5	6
蒸煮时间/min	0	5	10	15	20	25
蒸煮后 w（DE）	14.45 ¹⁾	11.24	12.44	12.57	14.45	14.71
4 h 后 w（DE）	19.26 ¹⁾	12.57	13.11	13.38	15.25	15.52
w（DE）变化	4.81	1.33	0.67	0.81	0.80	0.81

1) 本论文中所有测得的 w（DE）值，均为取两个平行样的平均值，相对误差均小于 5%。

由表 1 可以看出，液化液在常压水浴中煮沸过程中，w（DE）值仍在上升，与 1 号样 w（DE）值同步上升（1 号样 w（DE）值为室温放置 25 min 以后所测的值）表示在 100℃温度下中温淀粉酶仍有一定的活性。但煮沸 20 min 后变化不大。未经加热处理的液化液样品，在室温下 w（DE）值上升明显比其他各样品快。有 1) 表示在煮沸 25 min 期间，室温放置样品 w（DE）值升高较快，在随后的 4 h 中，该样品中酶的残余活力显著高于热处理的样品。表中第 3、4、5、6 号样品在灭酶后室温放置 4 h 后，w（DE）值上升基本相同，可以推测在中温淀粉酶中有一定比例的耐高温液化酶成份^[2]。

2.2 加酸灭酶法

将同一批淀粉液化液分成 6 份，每份 80 mL，置于可密封的玻璃容器中。在其中加入不同量的 5% 的盐酸溶液，搅拌均匀，测定其 w（DE）值；然后将各样品密封后置于 70℃恒温箱内，保温 48 h，（考察中温淀粉酶加酸灭活性后，在其活性适宜的温度下充分作用的情况）使其中的淀粉酶继续起作用，取样测定各样品的 w（DE）值。测定结果见表 2。

表2 加酸量对灭酶的效果

样品号	1	2	3	4	5	6
5%盐酸加入量/mL	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
样品 pH 值	6.69	4.77	3.07	2.64	2.38	2.31
加酸后 w（DE）	15.24	11.93	10.12	9.83	9.55	9.41
保温后 w（DE）	35.40	21.21	10.81	9.55	9.83	9.83
w（DE）变化	20.16	9.28	0.69	0.72	0.28	0.42

表中数据说明，加酸调低液化液的 pH 值对于灭酶有显著的作用。当液化液的 pH 值在 3.07 以下时，酶的活性基本消除。在 70℃保温之前 w（DE）值随加酸量而有规律的变化，是因为每个样品 w（DE）值测定需要 10~15 min，第 3、4、5、6 号样品在保温过程前后 w（DE）值增量的不同仍在测定误差范围之内。相对于 3 号样品，2 号的灭酶显得不彻底，但相对于不加酸的 1 号样品，

pH 4.77 的灭酶效果则是明显可见的。

2.3 加酸升温灭酶法

将同一批淀粉液化液分成 6 份, 每份 80 mL, 置于可密封的玻璃容器中。在其中加入不同量的 5% 的盐酸溶液, 搅拌均匀, 测定其 pH 值; 然后将其放入预先煮沸的水浴锅内, 隔水常压蒸煮, 每隔 5 min 依次取出一个样品, 测定其 w (DE) 值; 各样品取出后, 密封放置于 70 °C 恒温箱内保温 48 h, 再测定其 DE 值。综合灭酶的效果见表 3。

表 3 加酸升温综合法对灭酶的效果

样品号	1	2	3	4	5	6
5% 盐酸加入量/mL	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
样品 pH 值	6.69	4.77	3.07	2.64	2.38	2.31
煮沸时间/min	0	5	10	15	20	25
保温前 w (DE)	24.46	18.66	12.39	12.27	11.73	11.61
保温后 w (DE)	38.40	18.58	12.56	12.45	12.01	11.51
w (DE) 变化	13.94	-0.08	0.17	0.18	0.28	-0.10

由表 3 可见, 未经加酸升温处理的液化液在 70 °C 下保温时 w (DE) 值的升高幅度相当大。而加酸调整液化液的 pH 值为 4.77 后再在 100 °C 下处理 5 min, 即可完全使中温淀粉酶的活性消失。与表 1 及表 2 的结果对照可知, 单单调低液化液 pH 值到 4~77 或单单升温 100 °C 保持 5 min, 都不能彻底灭酶, 而将两者结合起来, 就可以达到终止酶活性的目的。更低的 pH 及更长的煮沸时间, 灭酶更彻底是情理之中的。

2.4 调酸灭酶过程中酶活力的消失速度

同一批液化液均匀分成 6 份, 每份 80 mL, 置于可密封的玻璃容器中, 在其中加入不同量的 5% 盐酸溶液, 测定其 pH 值和 w (DE) 值; 然后用 4% 的氢氧化钠溶液将各样品的 pH 值回调到 6.0~6.4, 密封后置于 70 °C 恒温箱中保温 48 h, 再次测定各样品的 w (DE) 值。在加碱之前酶在酸性条

件下失去部分或全部活性, 恢复到酶的最佳作用 pH 之后, 残余酶的活力将有效地起液化作用。由此可以推测酶在酸性条件下的失活速度。对照实验的结果见表 4。

表 4 调酸灭酶过程中酶活力的消失速度

样品号	1	2	3	4	5	6
5% 盐酸加入量/mL	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
样品 pH 值	6.69	4.77	3.07	2.64	2.38	2.31
加酸后 w (DE)	24.46	18.92	11.12	11.27	10.97	10.75
加碱保温后 w (DE)	44.91	38.84	12.58	12.52	11.61	11.11
w (DE) 变化	20.45	19.92	1.46	1.25	0.64	0.36

上表中第 3, 4, 5, 6 号样品在加碱回调 pH 值并于 70 °C 保温前后 w (DE) 值变化不大, 说明在液化液上加酸调整其 pH 值到 3.07 以下时, 淀粉酶的活性可以很快消失。而第 2 号样品, 加酸后 pH 值 4.77 短时间内酶活性消失很少, 当液化液 pH 回调至适宜值后, 大部分的酶活力得到了恢复^[3]。

3 结 论

中温液化淀粉酶的活性可以通过加酸调低液化液的 pH 值到 3 以下有效的消除; 单用煮沸液化液的方法难于彻底除去淀粉酶的残余活性, 但是当将两种方法合并使用时, pH 4.77 及 100 °C 保温 5 min 即可获得满意的灭酶效果。这一条件在工厂生产中是容易实现的, 有节能和减少液化液生色的优点。

参考文献:

- [1] 王宝庆. 玉米淀粉和高果糖浆 [M]. 北京: 中国食品出版社, 1987. 153.
- [2] 李慧蓉. 生物监测技术及其研究进展 [J]. 江苏石油化工学院学报, 2002, 14 (2): 57-56.
- [3] 霍绍全. 新型杀菌剂 CT 10-4 的研及应用 [J]. 石油与天然气化工, 2002, 31 (4): 208-210.

The Study of Destroying Amylase in the Liquefying of Starch

YANG Liu-xin, XU Yi-sa

(Department of Chemical Engineering, Jiangsu Institute of Petrochemical Technology, Changzhou 213016, China)

Abstract: The liquefying degree of starch should be effectively controlled under some circumstances, therefore the residue activity of amylase needs to be destroyed on time. In this experiment, three means to end liquefying reaction have been tested, which are acidic pH adjustment, heat treatment and their combination. The results could be used for reference in industrial processes.

Key words: amylase; destroy activity; acid adjustment; heat treatment