

细微玉米粉的低温酶解

缪冶炼, 吴琴燕, 姜 岷, 杨晓瑞

(南京工业大学制药与生命科学学院, 南京 210009)

摘 要: 为了开发玉米粉低温酶解新工艺, 采用双酶法对粒度不同的市售玉米粉(中位粒径 $273.6\ \mu\text{m}$) 和细微玉米粉(中位粒径 $17.1\ \mu\text{m}$) 进行液化、糖化处理, 调查了 $30\sim 70^\circ\text{C}$ 范围内的液化温度对液化速度和葡萄糖收率的影响。试验结果表明, 市售玉米粉在 $40\sim 70^\circ\text{C}$ 的温度范围内, 细微玉米粉在 $30\sim 70^\circ\text{C}$ 的温度范围内, 液化速率常数与温度的关系可用 Arrhenius 方程式表示。细微粉碎使液化反应活化能从市售玉米粉的 $4.63\times 10^4\ \text{J/mol}$ 降低到 $2.15\times 10^4\ \text{J/mol}$ 。 40°C 时, 细微玉米粉的液化速度大约是市售玉米粉的 2.5 倍。液化温度对细微玉米粉的葡萄糖收率没有显著影响。细微玉米粉的葡萄糖收率可达 95.4%, 大大高于市售玉米粉的 79.2%。由此可见, 通过细微粉碎可以降低玉米粉的液化温度, 同时提高液化速度和葡萄糖收率。

关键词: 玉米粉; 细微化; 酶解; 液化速度; 葡萄糖收率

中图分类号: TS245.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2007)9-0220-05

缪冶炼, 吴琴燕, 姜 岷, 等. 细微玉米粉的低温酶解[J]. 农业工程学报, 2007, 23(9): 220-224.

Miao Yelian, Wu Qinyan, Jiang Min, et al. Enzymatic hydrolysis of micronized corn flour at low temperatures[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(9): 220-224. (in Chinese with English abstract)

0 引 言

随着绿色化工的发展, 玉米糖液作为酒精、丁二酸、柠檬酸等有机化工品生产原料的应用越来越广泛。目前, 双酶法是玉米粉糖化的主要方法。双酶法玉米粉糖化过程包括液化和糖化两个阶段, 其中液化阶段利用耐高温 α -淀粉酶, 需要 $120\sim 145^\circ\text{C}$ 、最低 90°C 的高温^[1,2]。但是, 高温液化中存在有下列问题^[3-5]: 1) 水、电、汽消耗量大, 对设备要求高; 2) 随着料液浓度增加, 黏度增大, 不易拌匀; 3) 生成不发酵性糖, 使淀粉损失 1.2% 左右; 4) 蛋白质变性, 同时不饱和脂肪酸氧化成酮和醛, 降低了它们在后续发酵中的利用率。相反, 降低液化温度, 不仅可以降低能耗, 提高糖液质量, 而且糖液中的蛋白质易于被后续发酵中酵母菌利用^[4], 特别在发酵生产酒精时可提高出酒率^[1]。

玉米粉除主要成分淀粉以外, 还含有蛋白质、脂肪和纤维素等。在玉米粉的结构上, 淀粉以颗粒形式存在, 且被蛋白质的连续相包围^[6]。因此, 为了促进玉米粉中淀粉颗粒的酶解, 必须首先破坏其蛋白质保护层。

近年来, 超微粉碎技术有了迅速发展。采用球磨机 and 气流粉碎机对淀粉颗粒进行机械力作用, 可以使其粒

度减小。随着粒度的减小, 淀粉颗粒的结晶结构受到破坏^[7], 从而导致其理化性质的变化, 如糊化温度降低^[8], 酶解和消化速度加快^[9,10]等。

本文的研究目的是, 采用双酶法对细微玉米粉进行液化、糖化处理, 探讨液化温度对液化速度、葡萄糖收率的影响, 并与市售玉米粉进行对比, 阐明细微玉米粉低温酶解的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1) 玉米粉

在超市购入市售玉米粉(安徽燕之坊食品有限公司)。市售玉米粉的主要成分为: 水分 10.5%, 淀粉 77.8%, 蛋白质 5.2%, 脂肪 4.1%, 灰分 0.7%。

采用球磨机对市售玉米粉湿磨 3 h, 制备出细微玉米粉。湿磨后, 玉米粉浆的含水率为 75.9%。

图 1 表示市售玉米粉、细微玉米粉和玉米淀粉的粒度分布。经过细微粉碎, 玉米粉的粒度减小, 且粒度分布集中, 细微玉米粉的粒度分布与玉米淀粉近似。市售玉米粉和细微玉米粉的中位粒径分别为 273.6 、 $17.1\ \mu\text{m}$ 。

2) 酶制剂

酶活力 $2000\ \text{U/mL}$ 、最适温度 $60\sim 70^\circ\text{C}$ 、最适 pH $6.0\sim 6.5$ 的中温 α -淀粉酶(无锡赛德生物工程有限公司); 酶活力 $100000\ \text{U/mL}$ 、最适温度 60°C 、最适 pH $4.0\sim 4.5$ 的糖化酶(无锡赛德生物工程有限公司)。

收稿日期: 2006-11-22 修订日期: 2007-06-12

基金项目: 江苏省高校自然科学研究计划一般项目(05KJB180043)

作者简介: 缪冶炼(1958-), 男, 博士, 教授, 主要从事生物材料加工、生物质能利用的研究。南京 南京工业大学制药与生命科学学院, 210009。Email: ylmiao@njut.edu.cn

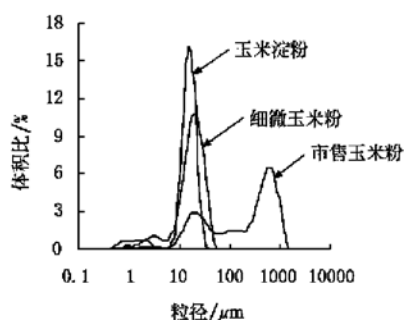


图1 市售玉米粉、细微玉米粉和玉米淀粉的粒度分布

Fig. 1 Particle size distributions of commercial corn flour, micronized corn flour and corn starch

1.2 主要设备

250500 型球磨机(南京理工大学); 2000 型粒度分析仪(MALVERN); HH-4 型数字恒温水浴锅(国华电气有限公司); HT-3 型搅拌机(国华电气有限公司); SBA 型葡萄糖传感分析仪(山东省科学院生物研究所)。

1.3 液化

取干物质量为 60 g 的玉米粉于 1000 mL 三口烧瓶中, 加入适量的去离子水, 调制浓度为 10% 的料液, 并用 5% H_2SO_4 溶液和 1% $NaOH$ 溶液将料液的 pH 值调整至 6.0~6.5。向料液中加入中温 α -淀粉酶, 酶用量以料液中的干物质量为基准, 设定在 10 U/g。将三口烧瓶置于温度一定的水浴锅中, 并均匀搅拌料液, 市售玉米粉分别在 40、50、60、70℃、细微玉米粉分别在 30、40、50、70℃ 的温度条件下进行液化。市售玉米粉在 30℃ 时不能液化。

另外, 通过正交试验, 讨论温度、 α -淀粉酶用量和料液浓度等液化条件对葡萄糖收率影响的显著性。市售玉米粉和细微玉米粉液化正交试验的因素、水平如表 1 和表 2 所示。

在液化过程中, 按一定时间间隔取料液 3 mL, 采用 DNS 法^[11-13]测定还原糖, 并按下式计算还原糖含量, 即葡萄糖当量 (DE 值):

$$DE = \frac{C \cdot V \cdot n}{m \times 1000} \times 100\% \quad (1)$$

式中 DE ——葡萄糖当量, %; C ——还原糖浓度, mg/mL; V ——液化反应的总体积, mL; n ——稀释倍数; m ——玉米粉原料质量, g; 1000——mg 换算成 g 的系数。

在液化接近终了时, 根据碘反应法判断液化终点。

1.4 糖化

将液化后的料液冷却至室温, 利用 5% H_2SO_4 溶液调整 pH 值至 4.0~4.5。向料液中加入糖化酶, 酶用量

以料液中的干物质量为基准, 设定在 200 U/g。糖化温度为 60℃。在糖化过程中, 按一定时间间隔取样 0.5 mL, 稀释 100~200 倍后, 用葡萄糖传感分析仪测定葡萄糖浓度, 并按照下式计算葡萄糖收率:

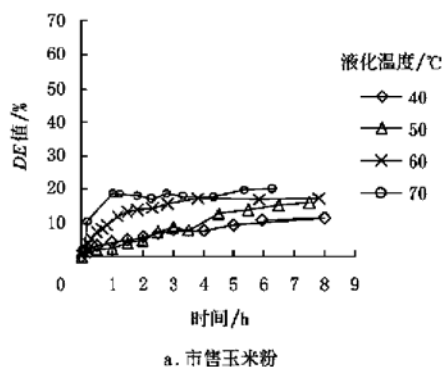
$$\text{葡萄糖收率} = \frac{C_1 \cdot V \cdot n}{m \times 1000} \times 100\% \quad (2)$$

式中 C_1 ——葡萄糖浓度, mg/mL。

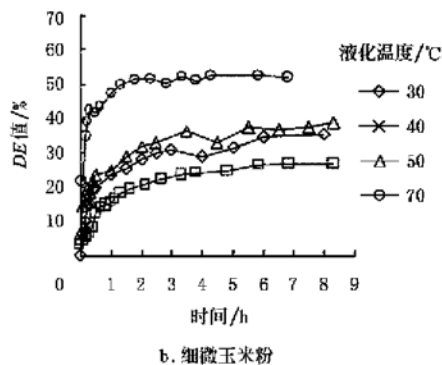
2 结果与分析

2.1 液化速度

市售玉米粉和细微玉米粉在液化过程中的 DE 值变化分别如图 2a、b 所示。 DE 值在液化开始后迅速上升, 6 h 后趋于平衡, 因此本文将液化 6 h 的 DE 值定义为平衡 DE 值。



a. 市售玉米粉



b. 细微玉米粉

注: 酶用量: 10 U/g, 料液浓度: 10%

图2 玉米粉液化中的 DE 值变化

Fig. 2 Changes of DE value in the liquefaction of corn flours (enzyme use level: 10 U/g, feed concentration: 10%)

平衡 DE 值随着温度的降低而减小。市售玉米粉平衡 DE 值的变化范围是 10.8%~21.2%, 而细微玉米粉平衡 DE 值的变化范围是 26.7%~52.8%, 与市售玉米粉相比, 细微玉米粉的平衡 DE 值较大。

在本文中, 玉米粉的液化程度用反应率 f 表示:

$$f = \frac{DE - DE_0}{DE_e - DE_0} \quad (2)$$

式中 DE_0 ——初始 DE 值, %; DE_e ——平衡 DE 值,

%。反应率 f 的变化范围为 0 ~ 1。

假设玉米粉液化反应为一级反应, 则液化反应率 f 和时间 t 的关系可用式(3)表示^[14]

$$\ln \frac{1-f_0}{1-f} = kt \quad (3)$$

式中 f_0, f —— 反应初始时刻和任意时刻的反应率;
 k —— 反应速率常数, s^{-1} ; t —— 时间, s 。

此外, 对于酶催化反应, 在某一温度范围内的反应速率常数与温度符合 Arrhenius 方程^[15], 即

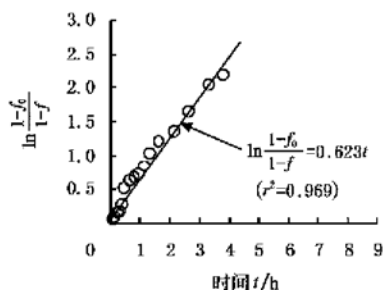
$$k = A \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) \quad (4)$$

式中 A —— 频率因子, s^{-1} ; E —— 活化能, J/mol ;
 R —— 气体常数, $8.314 J/(mol \cdot K)$; T —— 温度, K 。

由式(4)可以推出,

$$\ln k = \ln A - \frac{E}{RT} \quad (5)$$

图 3 为玉米粉液化中 $\ln \frac{1-f_0}{1-f}$ 与时间 t 的关系的一例。 $\ln \frac{1-f_0}{1-f}$ 与时间 t 之间存在线性关系, 证明式(3)成立, 从回归直线方程可得其反应速率常数 k 为 $0.623 h^{-1}$ 。



注: 酶用量: 10 U/g, 料液浓度: 10%

图 3 细微玉米粉 30℃ 液化中 $\ln \frac{1-f_0}{1-f}$ 与时间的关系

Fig. 3 Relationship of $\ln \frac{1-f_0}{1-f}$ and time in the

30°C liquefaction of micronized corn flour

(enzyme use level: 10 U/g, feed concentration: 10%)

图 4 表示玉米粉液化的 Arrhenius 图。从 $\ln k$ 与 $\frac{1}{T}$ 的回归直线方程式可以求得, 市售玉米粉在 40 ~ 70℃ 温度范围内液化的 Arrhenius 方程式,

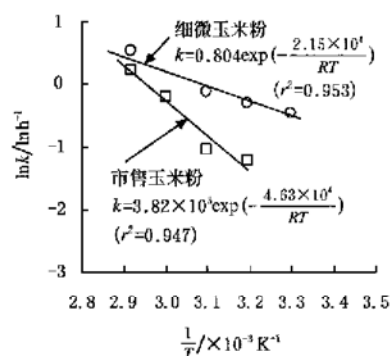
$$k = 3.82 \times 10^3 \exp\left(-\frac{4.63 \times 10^4}{RT}\right) \quad (r^2 = 0.947) \quad (6)$$

同样可得细微玉米粉在 30 ~ 70℃ 范围内液化的 Arrhenius 方程式,

$$k = 0.804 \exp\left(-\frac{2.15 \times 10^4}{RT}\right) \quad (r^2 = 0.953) \quad (7)$$

市售玉米粉和细微玉米粉的液化活化能分别为 4.63×10^4 、 $2.15 \times 10^4 J/mol$ 。由此可知, 微粉碎降低了玉米粉液化反应的活化能, 即减小了玉米粉液化反应阻力。

微粉碎提高玉米粉液化反应速度的效果在低温时特别明显。70℃ 时, 细微玉米粉的液化反应速率常数仅略大于市售玉米粉; 40℃ 时, 细微玉米粉和市售玉米粉的液化反应速率常数分别是 0.736 、 $0.296 h^{-1}$, 细微玉米粉液化速度大约为市售玉米粉液化速度的 2.5 倍。



注: 酶用量: 10 U/g, 料液浓度: 10%

图 4 玉米粉液化的 Arrhenius 图

Fig. 4 Arrhenius plot for the liquefaction of corn flours

2.2 葡萄糖收率

对液化后的玉米粉液料进行糖化, 得到如图 5a、b 所示的葡萄糖收率。各料液在糖化 3 h 后, 葡萄糖收率趋向平衡, 表明糖化反应基本结束。市售玉米粉(图 5a)中, 葡萄糖收率随液化温度的升高而增加, 70℃ 液化料液的葡萄糖收率可达 79.2%, 而 40℃ 液化料液的葡萄糖收率只有 26.1%。细微玉米粉(图 5b)中, 在 30 ~ 70℃ 的液化温度范围内, 葡萄糖收率受液化温度的影响不大, 大约为 87%。30℃ 液化料液同样有较高的葡萄糖收率。

一般来说, 在双酶法淀粉水解中, 葡萄糖收率随液化 DE 值变化, 液化 DE 值控制在 15% ~ 20% 时, 葡萄糖收率最高^[16]。而对于细微玉米粉, 葡萄糖收率在液化 DE 值为 26.7% ~ 52.8% 的大范围内不受液化 DE 值的影响, 基本稳定在 87% 左右(图 2b、图 5b)。此结果充分显示, 细微玉米粉不但可以低温液化, 而且具有液化 DE 值控制方便等特点。

对于淀粉来说, 细微化处理能使其结晶度下降, 消化速度大大加快^[7, 10]。因此可以推测, 细微玉米粉液化速度和葡萄糖收率提高的主要原因是, 玉米粉的蛋白质膜结构和淀粉结晶结构在湿磨中受到破坏, 从而使淀粉更容易受到酶的作用。

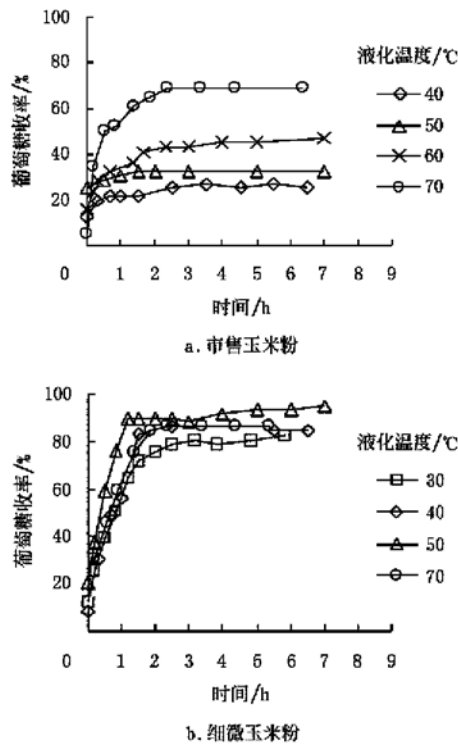


图 5 玉米粉糖化中的葡萄糖收率变化
Fig. 5 Changes of glucose yield in the saccharification of corn flours

2.3 液化条件对葡萄糖收率影响的显著性

表 1 表示市售玉米粉液化正交试验结果。在温度 50~ 70℃、 α -淀粉酶用量 5~ 15 u/g、料液浓度 10%~ 24% 的范围内, 各因素对葡萄糖收率的影响顺序是 A> C> B, 即液化温度> 料液浓度> 酶用量。方差分析^[17]显

表 1 市售玉米粉液化正交试验设计及结果

Table 1 Design and result of the orthogonal experiment for liquefaction of commercial corn flour

试验号	A 温度 /℃	B 酶用量 /U · g ⁻¹	C 料液浓度 /%	葡萄糖收率 /%
1	1(50)	1(5)	1(10)	45.0
2	1	2(10)	2(17)	35.15
3	1	3(15)	3(24)	38
4	2(60)	1	2	41.99
5	2	2	3	41.17
6	2	3	1	46.8
7	3(70)	1	3	64.92
8	3	2	1	79.20
9	3	3	2	70.31
K ₁	118.15	151.91	171.00	
K ₂	129.96	155.52	147.45	
K ₃	214.43	155.11	144.09	
k ₁	39.38	50.64	57	
k ₂	43.32	51.84	49.15	
k ₃	71.48	51.70	48.03	
R	32.1	1.2	8.97	

示, 液化温度对葡萄糖收率的影响在 $\alpha = 0.01$ 水平上具有显著性, 而料液浓度和酶用量对葡萄糖影响不显著。在 A₃B₂C₁, 即温度 70℃, 酶用量 10 u/g, 料液浓度 10% 的液化条件下, 得到最高葡萄糖收率 79.2%。

表 2 表示细微玉米粉液化正交试验结果。在温度 30~ 70℃、 α -淀粉酶用量 5~ 15 u/g、料液浓度 10%~ 24% 的范围内, 各因素对葡萄糖收率的影响顺序是 C> A> B, 即料液浓度> 液化温度> 酶用量, 但是, 各因素对葡萄糖收率的影响在 $\alpha = 0.05$ 水平上都没有显著性。在 A₂B₃C₁, 即温度 50℃, 酶用量 15 u/g, 料液浓度 10% 的液化条件下, 得到最高葡萄糖收率 95.4%。

表 2 细微玉米粉液化正交试验设计及结果

Table 2 Design and result of the orthogonal experiment for liquefaction of micronized corn flour

试验号	A 温度 /℃	B 酶用量 /U · g ⁻¹	C 料液浓度 /%	葡萄糖收率 /%
1	1(30)	1(5)	1(10)	90.00
2	1	2(10)	2(17)	82.02
3	1	3(15)	3(24)	78.53
4	2(50)	1	2	85.93
5	2	2	3	80.75
6	2	3	1	95.40
7	3(70)	1	3	83.92
8	3	2	1	90.00
9	3	3	2	87.88
K ₁	250.55	259.85	275.4	
K ₂	262.08	253.82	255.83	
K ₃	261.8	261.81	243.2	
k ₁	83.52	86.62	91.8	
k ₂	87.36	84.61	85.27	
k ₃	87.27	87.27	80.07	
R	3.84	2.66	11.73	

3 结 论

1) 市售玉米粉在 40~ 70℃ 的温度范围内, 细微玉米粉在 30~ 70℃ 的温度范围内, 液化速率常数与温度的关系可用 Arrhenius 方程式表示。细微粉碎使液化反应活化能从市售玉米粉的 4.63×10^4 J/mol 降低到 2.15×10^4 J/mol。40℃ 时, 细微玉米粉的液化速度大约是市售玉米粉的 2.5 倍。

2) 市售玉米粉的葡萄糖收率随液化温度的升高而增加, 而细微玉米粉在 30~ 70℃ 的液化温度范围内, 葡萄糖收率与液化温度无关, 稳定在 87% 左右。

3) 市售玉米粉在温度 70℃, 酶用量 10 U/g, 料液浓度 10% 的液化条件下, 得到葡萄糖收率 79.2%。细微玉米粉在温度 50℃, 酶用量 15 U/g, 料液浓度 10% 的液化条件下, 得到葡萄糖收率 95.4%。

因此,通过细微粉碎可以降低玉米粉的液化温度,同时提高液化速度和葡萄糖收率。

致谢:在本研究中,南京理工大学粉体技术中心李风生教授、姜炜研究员对玉米粉的微粉碎给予了极大的支持。在此表示衷心感谢。

[参 考 文 献]

- [1] 李大鹏, 罗文斌. 双酶法生产玉米酒精液化及糖化工艺条件的研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2004, 16(3): 74 - 77.
- [2] Nielsen B H, Rosendal P. Application of low-temperature liquefaction in production of ethanol from starch[J]. Proc Int Symp Alcohol Fuels Technology, 1980, 1: 51- 55.
- [3] 张成虎, 马心如. 低温双酶法液化、糖化工艺在我厂的应用[J]. 酿酒, 2002, 29(4): 108- 109.
- [4] 谢 林, 吕西军. 玉米酒精生产新技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.
- [5] 刘邻渭. 食品化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.
- [6] Chanvrier H, Colonna P, Valle G D, et al. Structure and mechanical behaviour of corn flour and starch-zein based materials in the glassy state[J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 59: 109- 119.
- [7] 吴 俊, 李斌, 苏喜生, 等. 玉米淀粉的粒度效应与其微观形貌和性能关系研究[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(5): 23 - 26.
- [8] 孙彦明. 淀粉微细化处理及其糊化特性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [9] 胡 飞, 陈 玲, 李 琳, 等. 微细化马铃薯淀粉的颗粒显微结构和粒度变化研究[J]. 化学工程, 2001, 29(4): 22- 24.
- [10] 陈 玲, 胡 飞, 李晓玺, 等. 机械力化学效应对马铃薯淀粉消化性能和抗酶解性能的影响[J]. 食品科学, 2001, 22(8): 15- 19.
- [11] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [12] 虞炳钧, 张福明. 采用固定化酵母以带渣的薯干糖化醪进行酒精发酵的研究[J]. 食品与发酵工业, 1991, (4): 1- 7.
- [13] Mojovic L, Nikolic S, Rakin M, et al. Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates[J]. Fuel, 2006, 85: 1750- 1755.
- [14] 王正烈, 周亚平, 李松林. 物理化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1983.
- [15] 戚以政, 汪叔雄. 生化反应动力学与反应器[M]. 北京: 化学工业出版社, 1999.
- [16] 王兆升, 董海洲. 耐高温 α -淀粉酶在玉米淀粉制备结晶葡萄糖中的应用研究[J]. 中国食品与营养, 2004, (4): 27- 30.
- [17] 郑少华, 姜奉华. 试验设计与数据处理[M]. 北京: 中国建材工业出版社, 2004.

Enzymatic hydrolysis of micronized corn flour at low temperatures

Miao Yelian, Wu Qinyan, Jiang Min, Yang Xiaorui

(College of Life Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 200019, China)

Abstract: In order to develop a new technology for enzymatic hydrolysis of corn flour at low temperatures, two-step enzymatic hydrolysis was performed for commercial corn flour(with median particle size of $273.6\ \mu\text{m}$) and micronized corn flour(with median particle size of $17.1\ \mu\text{m}$), and the effects of liquefaction temperature on the liquefaction rate and glucose yield were studied at the temperature range of $30\sim 70^\circ\text{C}$. Experimental results showed that the relationship between the liquefaction rate and the liquefaction temperature could be expressed by an Arrhenius equation at the temperature range of $40\sim 70^\circ\text{C}$ for commercial corn flour and at the range of $30\sim 70^\circ\text{C}$ for micronized corn flour. The activation energy of liquefaction for commercial corn flour was $4.63\times 10^4\ \text{J/mol}$. It was decreased to $2.15\times 10^4\ \text{J/mol}$ for micronized corn flour. At 40°C , the liquefaction rate of micronized corn flour was 2.5 times higher than that of commercial corn flour. In the enzymatic hydrolysis of micronized corn flour, the effect of liquefaction temperature on glucose yield was not significant. A glucose yield of 95.4% was obtained for micronized corn flour, which was considerably higher than 79.2% for commercial corn flour. It was found that liquefaction temperature could be decreased, and liquefaction rate and glucose yield could be increased by the micronizing of corn flour.

Key words: corn flour; micronization; enzymatic hydrolysis; liquification rate; glucose yield