

大米淀粉纯化工艺及其性质的研究

陈季旺^{1,2}, 刘英^{1,2}, 刘刚¹, 王慧溪¹

(1. 武汉工业学院食品学院, 武汉 430023; 2. 湖北省稻谷加工工程技术研究中心, 武汉 430023)

摘 要: 该文采用碱性蛋白酶对碱法制备得到的大米淀粉进行纯化, 酶解条件为 pH 9, 温度 45℃, 酶与底物比 48 AU/kg, 时间 60 min。大米淀粉中的蛋白质含量从 2.87% 降低到 0.40%。扫描电镜分析大米淀粉的超微结构显示, 碱性蛋白酶纯化处理后的大米淀粉中未见明显的蛋白质颗粒存在。比较纯化前后的大米淀粉发现, 大米淀粉经过碱性蛋白酶纯化后, 其溶解度和膨润力都明显增加。

关键词: 大米淀粉; 碱性蛋白酶; 扫描电子显微镜(SEM); 溶解度; 膨润力

中图分类号: TS234

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2007)9-0225-04

陈季旺, 刘英, 刘刚, 等. 大米淀粉纯化工艺及其性质的研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(9): 225-228.

Chen Jiawang, Liu Ying, Liu Gang, et al. Purification and characteristics of rice starch[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(9): 225-228. (in Chinese with English abstract)

0 引言

稻谷是中国的主要粮食作物之一, 稻谷深加工后产生 55% 的整米, 15% 的碎米, 10% 的米糠和 20% 的谷壳。虽然整米售价很高, 但其副产物特别是碎米的售价和全利用水平较低, 没有使稻谷资源得到应有的增值^[1,2]。

大米淀粉是碎米中的主要成份之一, 与其他淀粉颗粒相比较, 大米淀粉颗粒非常小, 一般在 2~8 μm, 且颗粒分布均匀, 呈多角形。糊化后的大米淀粉吸水快, 质构非常柔滑似奶油状, 具有脂肪的口感。蜡质大米淀粉除了有类似脂肪的性质外, 还具有极好的冻融稳定性, 可防止冷冻过程中的脱水收缩。基于大米淀粉的这些特性, 它可用作化妆品扑粉、照相纸用的粉末和造纸用胶、润滑剂、糖果的糖衣和药片的赋形剂等。因此, 大米淀粉以其特有的物理化学性质广泛用于食品、化工等行业, 有巨大的市场潜力^[3-11]。

笔者采用碱酶两步法制备大米蛋白时, 稀碱初步分离后得到的淀粉浆经干燥后其蛋白质残留较高^[12], 蛋白质含量过高的淀粉容易变质, 而且在大米淀粉的产品中, 蛋白质会和淀粉中转化的葡萄糖发生非酶褐变, 影响产品质量和外观^[13-16]。蛋白酶可以有效地去除淀粉中的蛋白质, 对大米淀粉也没有破坏性, 并且不会带来污染。为制备得到蛋白质含量较低的(参照食用玉米淀

粉国家标准, GB/T 8885-1988) 大米淀粉, 因此, 采用酶法进一步去除大米淀粉中的蛋白质。

本文利用稀碱分离后得到的淀粉浆为原料, 通过研究不同工艺条件对大米淀粉纯化的影响, 并对其性质进行研究, 以达到制备纯度较高的大米淀粉的目的。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

碎米(含淀粉 78.4%, 蛋白质 9.2%, 脂肪 1.0%, 水分 11.52%, 灰分 2.06%) 由湖南金键米业股份有限公司提供, 碱性蛋白酶 2.4 L(Novo Nordisk 公司北京分公司, 酶活力 2.4 AU/g), 其他化学试剂为分析纯。

1.2 仪器与设备

离心机 LXJ-II(上海医用分析仪器厂); 电热恒温鼓风干燥箱 101-I-BS(上海跃进医疗器械厂); SYC 智能超级恒温水槽(巩义市英峪华仪器厂); 90-磁力搅拌器(上海亚荣生化仪器厂); DELTA 320 pH 计(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); 旋转蒸发器 RE-52C(巩义市英峪华仪器厂); 精密搅拌机 RW20.N(德国 IKA(组装)); WZZ-2B 自动旋光仪(上海精密科学仪器有限公司); QUAMTA-200 扫描电镜(日本明石公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 常规成分的测定

蛋白质含量的测定: 半微量凯氏定氮法。将大米蛋白含氮量转换成蛋白质含量时的转换系数为 5.95 (GB5511-1985)。

脂肪含量的测定: 索氏抽提法(GB5497-1985)

水份含量的测定: 105℃恒重法(GB5512-1985)

灰份含量的测定: 550℃灼烧法(GB5505-1985)

收稿日期: 2006-09-18 修订日期: 2007-03-26

基金项目: 国家“十五”重大科技专项项目(2001BA501A03)

作者简介: 陈季旺(1971-), 男, 湖北崇阳人, 副教授, 博士, 研究方向: 生物技术在食品中的应用。武汉市常青花园中环西路特 1 号 武汉工业学院食品科学与工程学院, 430023。Email: jiwangchen@yahoo.com.cn

淀粉含量的测定: 旋光仪法^[17]

1.3.2 大米淀粉的制备工艺

蛋白液→大米蛋白

↑

碎米→粉碎(80目)→稀碱提取(pH 11, 40℃, 水料比 8, 120 min)→离心(3000 r/min, 20 min)→淀粉浆→蛋白酶水解(碱性蛋白酶: pH 9, 48 AU/kg, 45℃; 中性蛋白酶: pH 7, 20 AU/kg, 50℃; 风味酶: pH 7, 10000 LAPU/kg, 45℃; 复合蛋白酶: pH 7, 30 AU/kg, 45℃)→离心(3000 r/min, 20 min)→沉淀→干燥→粉碎→大米淀粉

1.3.3 大米淀粉得率计算

$$G = M_i / M_0$$

式中 G ——大米淀粉得率, %; M_i ——分离物中大米淀粉的质量; M_0 ——大米粉质量。

1.3.4 淀粉的超微结构分析

将大米淀粉在 4℃ 下用 5% (v/v) 戊二醛混合液, 用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗数次; 再用 1% (v/v) 四氧化钼固定, 用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗数次; 后经 30%、50%、70%、90%、100% (v/v) 乙醇逐级脱水, 用醋酸异戊酯置换出乙醇后, 采用临界点干燥法进行干燥, 经离子溅射喷金后, 置于扫描电子显微镜 (SEM) 下观察, 拍照。

1.3.5 大米淀粉的溶解度与膨润力测定

参考文献[18-19], 取待测大米淀粉 0.4 g 加入 12.5 mL 水, 置于 15 mL 带刻度的离心管中, 在 25℃ 下平衡 5 min 加热到一定温度保持 30 min, 然后放入冰水中 1 min, 在 25℃ 下再平衡 5 min, 离心 (3000 r/min, 20 min), 分别倾出上清液至 105℃ 下已恒重的铝盒, 并将其在 90℃ 水浴蒸干, 再将沉淀物与上清液在 105℃ 下烘至恒重。计算公式:

$$\text{溶解度 } S(\%) = (A/W) \times 100\%$$

$$\text{膨润力 } B = P \times 100 / W(100 - S)$$

式中 W ——样品干基质量; A ——上清液质量; P ——沉淀物质量。

2 结果与分析

2.1 酶法纯化大米淀粉的研究

笔者在碱酶两步法中制备大米蛋白的研究中, 确定了稀碱分离大米淀粉和大米蛋白的较佳工艺条件为: pH 11、温度 40℃、水料比为 6、时间 120 min^[12]。在此条件下, 大米淀粉的得率为 78.74%, 纯度为 84.88%, 蛋白质残留量为 2.87%。由于用稀碱分离法制备的大米淀粉中蛋白质含量较高, 因此, 采用蛋白酶进行纯化。

2.1.1 酶种类的选择

试验从复合蛋白酶、风味酶、中性蛋白酶和碱性蛋

白酶中选用其中一种效果较好的蛋白酶用于纯化大米淀粉。由表 1 中数据可看出, 在相同酶与底物比的条件下, 采用碱性蛋白酶去除大米蛋白的效果明显好于其他 3 种蛋白酶, 用碱性蛋白酶作用过的大米淀粉中的蛋白质残留量只有 1.25%, 远远低于其他 3 种蛋白酶作用过的大米淀粉, 因此选用碱性蛋白酶纯化大米淀粉。

表 1 不同蛋白酶对大米淀粉纯化效果的比较

Table 1 Comparison of the purification effect of rice starch with different proteases

酶种类	碱性蛋白酶	中性蛋白酶	复合蛋白酶	风味酶
蛋白质残留量/%	1.25	2.46	1.54	2.32

2.1.2 酶与底物比对大米淀粉纯化的影响

根据已测得的蛋白质含量确定碱性蛋白酶的添加量, 分别选择酶与底物比为 96、48、24 AU/kg 进行试验, 结果见表 2。由表中可以知道, 在相同的条件下, 酶与底物比越高, 制备的大米淀粉中蛋白质残留量越低。当酶与底物比为 96 AU/kg, 蛋白质残留量为 0.3%, 酶与底物比为 48 AU/kg 和 24 AU/kg 时, 蛋白质残留量分别为 0.35% 和 1.22%。考虑到生产成本和大米淀粉生产的实际需要, 选用酶与底物比为 48 AU/kg。

表 2 酶与底物比对大米淀粉纯化的影响

Table 2 Effect of the ratio of enzyme to protein on the purification of rice starch

酶与底物比/AU · kg ⁻¹	96	48	24
蛋白质残留量/%	0.3	0.35	1.22

2.1.3 酶解时间对大米淀粉纯化的影响

由表 3 可知, 在相同条件下, 蛋白质的去除率随时间延长而增加。时间越长, 蛋白质残留量越低。30 min 时淀粉浆中蛋白质残留量为 0.75%; 到 60 min 时已降为 0.35%。但随着时间的延长蛋白质残留量减少缓慢, 90 min 时蛋白质残留量为 0.3%, 变化不是很明显。考虑到生产的效率和大米淀粉产品的实际需要, 选用碱性蛋白酶的酶解时间为 60 min。

表 3 酶解时间对大米淀粉纯化的影响

Table 3 Effect of time on the purification of rice starch

时间/min	30	60	90
蛋白质残留量/%	0.75	0.35	0.3

综合以上研究, 确定碱性蛋白酶纯化大米淀粉的较佳工艺条件为: pH 9, 45℃, 酶与底物比为 48 AU/kg, 时间 60 min。在此工艺条件下对大米淀粉进行纯化, 纯化大米淀粉得率为 77.1%, 纯度为 87.1%, 蛋白质残留量由 2.87% 降低到 0.4%。

2.2 纯化大米淀粉成分分析

由表 4 可知, 经过碱性蛋白酶水解后的淀粉纯度可达到 87.10%。其次为水分, 含量为 10.04%, 粗脂肪、灰分和蛋白质含量分别为 0.81%、1.00% 和 0.4%。符合大米淀粉的国家标准, 可以在生产中应用。

表 4 大米淀粉产品中成分含量

Table 4 Components and their percentage in rice starch products

成 分	大米蛋白/%
蛋白质	0.4
淀粉	87.10
粗脂肪	0.81
水分	10.04
灰分	1.00

2.3 大米淀粉的超微结构

采用扫描电镜对大米淀粉的超微结构进行分析, 结果见图 1。由图中可知, 未经处理的大米淀粉颗粒上有明显的蛋白体、纤维素和脂肪颗粒存在, 淀粉颗粒间的间隙小(图 1a)。稀碱分离得到的大米淀粉比较光滑, 有少量的蛋白体存在(图 1b)。说明经稀碱分离后, 大米淀粉颗粒上的蛋白体、纤维素、脂肪颗粒已基本去除。经碱性蛋白酶纯化处理后的大米淀粉颗粒大小在 3~8 μm 之间, 颗粒大小分布均匀, 大米淀粉颗粒表面非常光滑, 未见明显的蛋白体存在, 颗粒之间间隙较大(图 1c)。说明经过碱性蛋白酶纯化后, 已基本去除了稀碱提淀粉中的残留蛋白质。这与上述大米淀粉的成分分析结果一致。

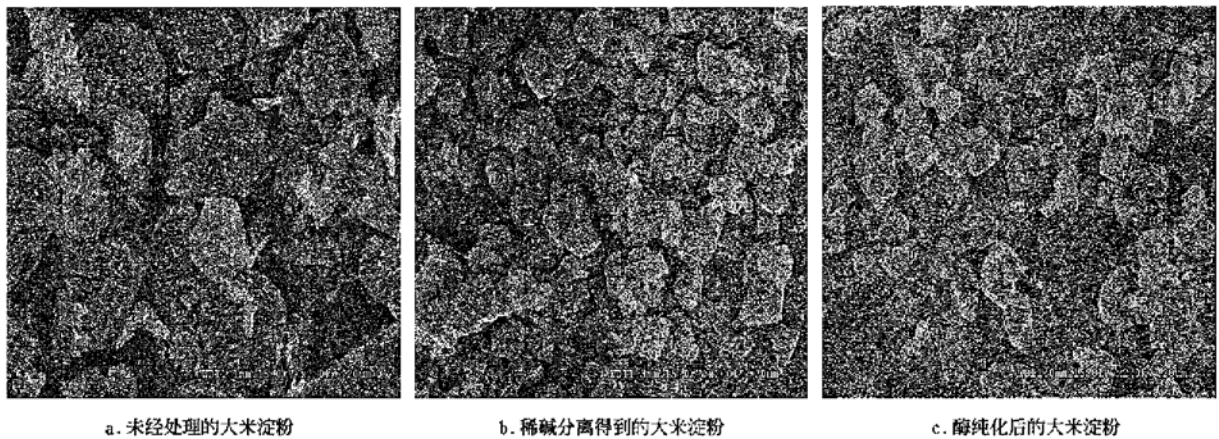


图 1 大米淀粉的超微结构

Fig. 1 Pictures of the ultrastructure of rice starch

2.4 大米淀粉的膨润力与溶解度

吸水性能影响淀粉的加工特性, 研究淀粉—水体系的性状在食品中具有重要的意义。淀粉润胀反映了其中直链淀粉的特性, 而淀粉的溶解主要是直链淀粉从润胀的颗粒中逸出, 淀粉的溶解和膨润与淀粉粒的大小、形态、组成、直链和支链淀粉的分子量和比例以及支链淀粉中长短链所占的比例有关^[3]。分别测定 3 种大米淀粉在不同温度下的膨润力和溶解度, 结果见表 5。

表 5 中数据显示: 温度越高各种淀粉的膨润力与溶解度越大。70℃ 时, 淀粉颗粒受热膨胀急剧吸收周围的水分, 溶解度和膨润力迅速变大。从表中数据分析发现, 在同样的条件下, 大米粉溶解度和膨润力高于碱提淀粉和酶纯化淀粉, 可能是经过碱提、酶纯化工艺后, 大米粉中的一部分可溶性淀粉留在蛋白液中^[12]。酶纯化淀粉的溶解度和膨润力高于碱提淀粉, 可能是经过碱性蛋白酶纯化后, 大米淀粉颗粒之间的间隙增大, 水分子容易进入到大米淀粉颗粒之间。另外, 可能改变了大米淀粉

中支链淀粉的分子结构^[18, 19]。

表 5 3 种大米淀粉的溶解度与膨润力

Table 5 Solubility and swelling power of three kinds of rice starch

温度/℃	溶解度/膨润力	大米粉	碱提淀粉	酶纯化淀粉
30	S/%	3.51	2.53	2.78
	B	3.21	2.29	2.59
40	S/%	3.75	2.84	3.08
	B	3.58	2.65	3.03
50	S/%	5.30	3.29	3.76
	B	3.74	2.91	3.52
60	S/%	5.34	4.47	6.97
	B	4.06	3.23	3.86
70	S/%	16.97	7.51	7.83
	B	6.26	5.29	5.83

3 结 论

1) 碱性蛋白酶能够很好地去除大米淀粉中的蛋白

质。当 pH 9, 45℃, 酶与底物比 48 AU/kg, 60 min, 大米淀粉得率为 77.1%, 纯度为 87.1%, 蛋白质残留量由 2.87% 降低到 0.4%。

2) 对纯化后的大米淀粉成分进行分析, 大米淀粉中的蛋白质含量为 0.4%, 淀粉含量为 87.1%, 水分含量为 10.04%, 粗脂肪含量为 0.81%, 灰分含量为 1%。

3) 扫描电镜分析大米淀粉的超微结构表明, 碱性蛋白酶纯化处理后的大米淀粉颗粒表面非常光滑, 颗粒之间间隙较大, 未见明显的蛋白体存在。说明经过碱性蛋白酶纯化后, 去除了碱提淀粉中的残留蛋白质。

4) 大米淀粉经过碱性蛋白酶纯化后, 其溶解度和膨润力都明显增加。

[参 考 文 献]

- [1] Shih F F. Value-added uses of co-products from the milling of rice [A]. Food of 21st Century-Food and Resource. Technology. Environment (II) [C]. 2000: 406 - 410.
- [2] Lasztity D S R. The chemistry of cereal protein [M]. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1996: 249- 266.
- [3] 李长河. 大米淀粉及其衍生物的现状与发展前景[J]. 现代化农业, 2004, 12: 37- 39.
- [4] Bachtel D B, Pomeranz Y. Ultrastructure of the mature ungerminated rice (oryza sativa) caryopsis-the starchy endosperm[J]. American Journal of Botany, 1978, 65: 684 - 690.
- [5] Navdeep S S, Morphological S N. Thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India[J]. Food Chemistry, 2003, 80(1): 99 - 108.
- [6] Navdeep S S, Morphological S N. Thermal and rheological properties of starches from different botanical sources [J]. Food Chemistry, 2003, 80(2): 219- 231.
- [7] Alexander R J. Fat replacer based on starch[J]. Cereal Foods World, 1995, 40: 366- 370.
- [8] 杨玉玲, 许时婴, 王 璋. 籼米制备脂肪替代品的酶水解工艺[J]. 无锡轻工大学学报, 2002, 21(6): 641- 644.
- [9] Marshall W, Wordsworth G. Rice science and technology [M]. New York: Marcel Dekker, Inc, 1994: 237- 259.
- [10] Yao Weirong, Yao Huiyuan. Adsorbent characteristics of porous starch[J]. Starch, 2002, 54: 260- 263.
- [11] Niba L L. Resistant Starch: a potent functional food ingredient[J]. Nutrition & Food Science, 2002, 32: 62- 67.
- [12] 陈季旺, 孙庆杰, 夏文水, 等. 碱酶两步法制备大米蛋白的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(5): 169- 173.
- [13] 王 立, 姚惠源. 大米淀粉生产、性质及其应用[J]. 粮食与油脂, 2004, 7: 4- 7.
- [14] Yamamoto K, Sumae S, Toshio O. Properties of rice starch prepared by alkali method with various conditions [J]. Denpun Kagaku, 1973, 20: 99- 102.
- [15] Juliano B O. Starch: chemistry and technology[M]. New York: Academic Press Inc, 1984: 507- 524.
- [16] Lumdubwong N, Seib P A. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet-milled rice flour [J]. Journal of Cereal Science, 2000, 31: 63- 74.
- [17] 李建武, 肖能赓, 余瑞元, 等. 生物化学实验原理和方法 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1994.
- [18] 闵伟红, 李里特, 王朝辉. 乳酸菌发酵对大米淀粉物理化学性质的影响[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 73- 76.
- [19] 洪 雁, 顾正彪. 粉丝用淀粉的结构和性质的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(1): 28- 32.

Purification and characteristics of rice starch

Chen Jiwang^{1,2}, Liu Ying^{1,2}, Liu Gang¹, Wang Huixi¹

(1. School of Food Science and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Hubei Technology Research Centre of Rice Process Engineering, Wuhan 430023, China)

Abstract: Alcalase was utilized to purify rice starch prepared by dilute alkali, the conditions of enzymatic hydrolysis were pH 9, 45℃, the ratio of enzyme to protein 48 AU/kg and 60 min. The content of protein in rice starch was decreased from 2.87% to 0.4%. The analysis results of scanning electromicroscope showed that protein granules didn't obviously exist in rice starch pured by alcalase, and the solubility and swelling power of rice starch increased remarkably after purification.

Key words: rice starch; alcalase; scanning electromicroscope; solubility; swelling power