

中强电场对 α -淀粉酶水解玉米淀粉的影响

蒋黎明, 陶 阳, 韩永斌, 李丹丹

Effect of Moderate Electric Field on α -Amylase-Catalyzed Hydrolysis of Corn Starch

JIANG Liming, TAO Yang, HAN Yongbin, and LI Dandan

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030257>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同直链淀粉含量玉米淀粉挤出物的酶解力与糊化度研究

Enzymatic hydrolysis and gelatinization degree of extruded corn starch with different amylose content

食品工业科技. 2018, 39(10): 1-6

脉冲电场对玉米淀粉成膜性能的影响与优化

Effect and optimization by pulsed electric field on performance of corn starch film

食品工业科技. 2017(24): 222-226

三种玉米淀粉对微波复热鸡米花品质特性的影响

Effect of three kinds of corn starch on the quality characteristics of microwave-reheating chicken popcorn

食品工业科技. 2017(21): 52-55

葡萄籽乙醇提取物对玉米淀粉微观结构及回生性质的影响

Effect of Ethanol Extract of Grape Seed on the Microstructure Structure and Retrogradation Characteristics of Corn Starch

食品工业科技. 2020, 41(11): 46-50

玉米淀粉制备中挤压联用亚硫酸浸泡预处理工艺优化

Pretreatment of Corn Starch by Extrusion Combined with Soaking in Sulfite Acid

食品工业科技. 2021, 42(14): 196-203

玉米淀粉在离子液体中流变学特性的研究

Study on rheological properties of corn starch in the ionic liquid

食品工业科技. 2017(03): 113-117



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

蒋黎明, 陶阳, 韩永斌, 等. 中强电场对 α -淀粉酶水解玉米淀粉的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(1): 80–86. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030257

JIANG Liming, TAO Yang, HAN Yongbin, et al. Effect of Moderate Electric Field on α -Amylase-Catalyzed Hydrolysis of Corn Starch[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(1): 80–86. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030257

中强电场对 α -淀粉酶水解玉米淀粉的影响

蒋黎明, 陶 阳, 韩永斌, 李丹丹*

(南京农业大学食品科技学院全谷物食品工程研究中心, 江苏南京 210095)

摘 要: 本文旨在利用中强电场强化 α -淀粉酶催化的玉米淀粉水解。以还原糖含量为指标, 考察电场强度、频率、缓冲液浓度、酶液比等因素对淀粉酶解效率的影响, 并利用扫描电子显微镜、X 射线衍射仪、差示扫描量热仪和热重分析表征酶解产物的结构和热性质。结果表明, 电场强度、缓冲液浓度和酶液比显著影响淀粉酶解效率, 但电场频率的影响不明显。当电场强度低于 5 V/cm 时, 淀粉的酶解程度较小, 酶解产物保持淀粉原有的颗粒和结晶结构, 淀粉热稳定性略有降低; 但随着电场强度的进一步增加, 淀粉水解程度加剧, 淀粉颗粒发生破裂、结晶峰逐渐消失、相对结晶度降低, 糊化温度先增加后降低、热稳定性显著降低。

关键词: 中强电场, 玉米淀粉, α -淀粉酶, 水解

中图分类号: TS234

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)01-0080-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030257



本文网刊:

Effect of Moderate Electric Field on α -Amylase-Catalyzed Hydrolysis of Corn Starch

JIANG Liming, TAO Yang, HAN Yongbin, LI Dandan*

(College of Food Science and Technology, Whole Grain Food Engineering Research Center, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: This study aimed to enhance α -amylase-catalyzed hydrolysis of corn starch via moderate electric field (MEF). The effect of MEF intensity, frequency, buffer concentration, and enzyme-solution ratio on enzymatic hydrolysis efficiency was investigated by using reducing sugar content as index. The structural and thermal properties of hydrolyzed starch were characterized by scanning electron microscope (SEM), X-ray diffractometer (XRD), differential scanning calorimeter (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). Results suggested that the hydrolysis efficiency was highly dependent on the electric field intensity, buffer concentration, and enzyme-solution ratio, but showed no significant change with increasing frequency. At MEF intensities lower than 5 V/cm, starch experienced a mild hydrolysis, the hydrolysates remained the granular and crystal structure as native starch, and the thermal stability slightly decreased. As MEF intensity increased, extensive hydrolysis happened, starch granules was broken into pieces, the crystallization peak gradually disappeared, the relative crystallinity decreased, the gelatinization temperature initially increased but then increased, and the thermal stability significantly decreased.

Key words: moderate electric field; corn starch; α -amylase; hydrolysis

淀粉分为直链淀粉和支链淀粉^[1]。直链淀粉是主要由 α -1,4-糖苷键形成的线性聚合物, 支链淀粉则由 95% 的 α -1,4-糖苷键和 5% 的 α -1,6-糖苷键形成的多分支结构构成^[2]。淀粉除了作为生命体的主要供能物质外, 它还具有可食用性、可降解性、可开发

性等多种特性, 成为了食品、制药、造纸、纺织和生物塑料等行业中最常用的材料之一^[3]。然而, 天然淀粉难溶于冷水、热稳定性差、淀粉糊粘度大、易回生等特性极大地限制了其加工应用。酶促水解是一种高效的绿色方法, 可以将淀粉降解为可溶于水的、低

收稿日期: 2021-03-22

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (32102131); 江苏省自然科学基金青年项目 (KB20190523); 中国博士后面上项目 (2020M681631); 镇江市“金山英才”现代农业领军人才项目 (2020 年)。

作者简介: 蒋黎明 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工, E-mail: jiangliming@126.com。

* 通信作者: 李丹丹 (1994-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 淀粉基产品开发、食品电磁场加工, E-mail: lidandan@njau.edu.cn。

粘度的小分子物质。其中, α -淀粉酶是应用最为广泛的淀粉酶,可以从淀粉分子内部切开 α -1,4-糖苷键,生成糊精和还原糖,在酿造、发酵、粮食加工、纺织品等工业中应用广泛^[4-6]。但是,淀粉分子通常以颗粒堆积的方式形成,内部结构致密,限制了淀粉酶对其的亲合力。因此,探寻一种能够增强 α -淀粉酶水解淀粉的技术手段具有必要性。

电场处理是一种新兴的食品加工技术。诸多研究证实电场处理可改善酶的活性。例如,OHSHIMA 等^[7]发现,利用电场强度 12~13 kV/cm 的脉冲电场处理过氧化物酶、转化酶、葡糖淀粉酶、烯醇酶、 β -半乳糖苷酶和乳酸脱氢酶时,这些酶活性可提高 5%~25%。LU 等^[8]进行响应面法优化交变电场处理下人参皂苷 Rb1 的实验发现,在电场强度 15 kV/cm、频率 8 Hz 和酶浓度 3%(w/w)时, β -葡萄糖苷酶活性达到初始酶活性的 125%、人参皂苷 Rb1 转化为 Rd 的得率达 91.42%。SAMARANAYAKE 等^[9]利用电场(1 V/cm, 1 Hz~1 MHz)处理 α -淀粉酶发现,当频率为 1~60 Hz 时,酶活性最高可提高 41%。DURHAM 等^[10]发现电场在低温条件下可改善纤维素酶的活力,但在高温条件下将降低其热稳定性。这些研究证实了电场技术在淀粉酶法改性中的应用潜力。然而,关于电场强化淀粉酶法改性的报道却极少。仅有 LI 等^[11]和 VARELLA 等^[12]初步证明了电场技术用于强化淀粉酶解的可能性,其作用机制尚不明确。因此,本文以玉米淀粉为原料,利用中强电场辅助 α -淀粉酶水解玉米淀粉,探究不同电场强度、频率、缓冲液浓度、酶添加量等处理条件下玉米淀粉的酶解情况,并通过扫描电子显微镜、X-射线衍射仪、差示扫描量热仪和热重分析仪对酶解淀粉的颗粒形态、结晶性质和热特性等进行分析研究,从而为新型淀粉加工方法和淀粉基材料开发应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

玉米淀粉 沈阳蕾心有限公司;高温 α -淀粉酶(产自地衣芽孢杆菌,酶活力 20000 U/mL,最适反应 pH5.0~6.5)、DNS 试剂 上海源叶生物试剂有限公司;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、盐酸、氢氧化钠 国药集团化学试剂有限公司;所有试剂均为分析纯。

KHD-1100 单相输出 500VA 变频电源 宁波凯华德电子科技有限公司;HP33120A 紫外可见分光光度计 南京菲勒仪器有限公司;DT-810 红外测温仪 深圳华盛昌科技实业股份有限公司;ST300C 便携式电导率仪 奥豪斯仪器(常州)有限公司;EVO-LS10 扫描电子显微镜 德国卡尔·蔡司股份有限公司;D2PHASER X 射线衍射仪 美国 Bruker 仪器公司;Q20 差氏扫描量热仪 美国 TA 仪器公司;TG/DTA7200 热重分析仪 日本日立公司;FreeZone 6L 冷冻干燥机 美国 LANCONCO 公司;GL-20G-H 高速离心机 上海安亭科学仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 电场处理 电场处理方法参考 LI 等^[11]的报道,略有修改。准确称量 5.00 g 玉米淀粉于三角瓶中,与一定浓度的 50 mL 磷酸缓冲液(pH6)混合均匀后,向其中加入一定量的 α -淀粉酶,插入电极片进行电场处理。电极片材料:铂;电极片尺寸:20 mm×20 mm×2 mm;电极片间距离:20 mm。电场处理过程中,利用 DT-810 红外测温仪在线监测反应体系的温度变化曲线,每 min 记录一次。

1.2.2 电场强度对还原糖含量的影响 5.00 g 玉米淀粉与 50 mL 磷酸缓冲溶液(0.2 mol/L, pH6)、5% α -淀粉酶混合均匀后,在电场强度 0、1、2.5、5、7.5、10、15 V/cm 和电场频率 50 Hz 条件下处理 30 min。电场处理结束,用 0.2 mol/L NaOH 将混合液 pH 调节至 10 进行灭酶处理后,用 0.2 mol/L HCl 将混合液 pH 调节至 6~8,在转速 5000 r/min 条件下离心 10 min。取离心后的上清液进行还原糖的测定。离心得到的沉淀物经纯水洗涤三次后,冻干,贮藏于干燥器中备用。

1.2.3 电场频率对还原糖含量的影响 固定电场强度 5 V/cm(1.2.2 的优化条件),调控电场频率 50、60、100、200、400 Hz,其他条件同 1.2.2。

1.2.4 缓冲液浓度对还原糖含量的影响 固定电场强度 5 V/cm(1.2.2 的优化条件)、电场频率 50 Hz(结合 1.2.3 结果和国内交流电常用频率),调控缓冲液浓度 0.02、0.05、0.1 和 0.2 mol/L,其他条件同 1.2.2。

1.2.5 酶液比对还原糖含量的影响 固定电场强度 5 V/cm(1.2.2 的优化条件)、电场频率 50 Hz(结合 1.2.3 结果和国内交流电常用频率)、缓冲液浓度 0.1 mol/L(1.2.4 的优化条件),调控酶液比 1%、2%、3%、4% 和 5%,其他条件同 1.2.2。

1.2.6 电导率的测定 利用电导率仪在 25 ℃ 时测定浓度为 0.02、0.05、0.1 和 0.2 mol/L 的磷酸缓冲液的电导率,温度补偿值设定为 2%^[13]。

1.2.7 还原糖含量的测定 采用 DNS 法测定水解产生的还原糖浓度^[14-15]。移取 2 mL 上清液于 25 mL 试管中,加入 2 mL DNS 试剂,于沸水浴中加热 5 min 后,迅速置于冰水浴中冷却至室温,用蒸馏水定容至 25 mL,摇匀,在 540 nm 波长下检测吸光值。还原糖含量根据标准曲线 $y=0.9774x-0.014(R^2=0.9981)$ 进行计算。

1.2.8 扫描电镜观测(SEM) 测定方法参考文献报道,略有修改^[13]。首先在载物盘上粘上双面胶带,取少量酶解淀粉粉末放在胶带中心部位,然后用洗耳球吹去粘结不牢的粉末,真空喷金后,用扫描电镜对粉末表面形态进行观察(加速电压为 5000 V;放大倍数 3000×和 200×)。

1.2.9 X-射线衍射分析(XRD) 测定方法参考文献

报道,略有修改^[13]。将玉米淀粉置于盛有饱和食盐水的干燥器中7 d,平衡水分。之后,利用XRD分析淀粉的结晶结构,测定条件为:Cu K α 辐射,管压40 kV,管流40 mA,扫描速度4 °/min,扫描范围(2 θ)4~40 °,步长0.028,接受狭缝0.2 mm。通过软件MDI Jade 5.0分析谱图,计算结晶度。

1.2.10 差氏扫描量热分析(DSC) 测定方法参考文献报道,略有修改^[13]。淀粉与蒸馏水以质量比1:2的比例混合均匀后,取样5 mg于铝坩埚中,压片后置于4 °C冰箱中平衡12 h,以空皿为参比,以5 °C/min的速率升温,从25 °C加热至100 °C,记录T₀(起始温度)、T_p(峰值温度)、T_c(终止温度)及焓值(ΔH)的变化情况。

1.2.11 热重分析(TGA) 测定方法参考文献报道,略有修改^[16]。将淀粉颗粒(约5 mg)放入TGA专用的氧化铝坩埚中,采用热重分析仪对样品进行测定。设置氮气流量为20 mL/min,温度范围为30~800 °C,升温速率为10 °C/min。

1.3 数据处理

实验重复三次,结果取平均值。采用Origin8.6进行原始数据处理和制图。使用软件SPSS 21.0进行显著性分析,以标准偏差表征数据误差, $P<0.05$ 代表差异性显著。

2 结果与分析

2.1 电场处理对 α -淀粉酶水解玉米淀粉的影响

2.1.1 电场强度的影响 图1a为电场处理过程中电场强度对还原糖含量的影响。当电场强度为0时,反应液中还原糖含量为1.60 g/mL。随着电场强度的增加,淀粉水解产生的还原糖含量逐渐增加。当电场强度为15 V/cm时,淀粉水解后产生的还原糖达到最大值2.79 g/mL,比电场强度为0时提高了74.37%。电场可驱动带电粒子定向迁移产生电流,该电流通过液体样品时会产生焦耳热。高温条件下,淀粉发生糊化,与酶分子间的亲和力大大增加。根据焦耳定律,焦耳热效应的强度与电场强度平方成正比^[17]。由图2a可知,随着电场强度的增加,升温速率逐渐加快,淀粉颗粒被破坏的速率加快,从而淀粉酶解速率增加。但值得注意的是,随着电场强度从10 V/cm增加到15 V/cm时,还原糖含量增加不显著($P>0.05$)。这可能是由于电场强度超过10 V/cm后,电场处理产生的温度超过了淀粉的糊化温度,完全破坏了淀粉的颗粒结构。除了热效应外,电场亦可诱导蛋白质分子极化,改变酶的构象和活性。低强度电场作用下,酶分子发生轻微极化,活性基团外露,与淀粉间的亲和力增加;高强度电场则导致酶分子的强烈极化,破坏维持酶构象的次级键,导致酶活性的部分或全部丧失^[18]。但值得注意的是,当电场强度超过5 V/cm后,淀粉颗粒被完全破坏,不适合用于制备多孔淀粉;且电极表面可能发生电化学反应导致电极片发黑。综上,下面的实验中采用5 V/cm的电场强度进行进

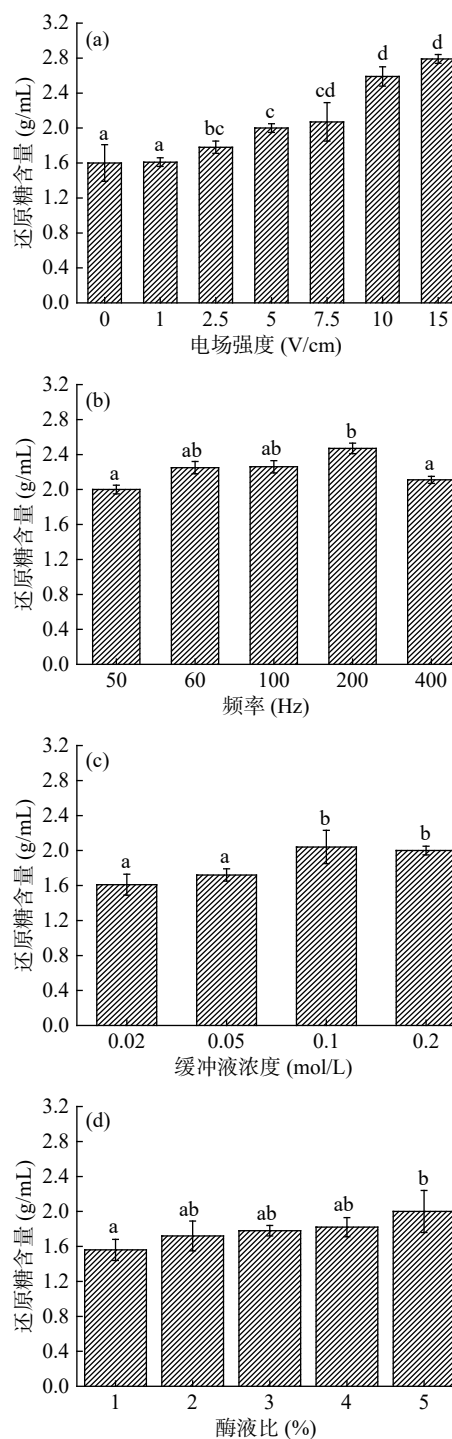


图1 电场处理对还原糖含量的影响

Fig.1 Effect of electric field treatment on reducing sugar content

注:(a)电场强度;(b)电场频率;(c)缓冲液浓度;(d)酶液比;图中不同字母表示差异显著, $P<0.05$ 。

一步研究。

2.1.2 电场频率的影响 图1b为电场处理过程中频率对还原糖含量的影响。由图可知,随着频率的不断升高,还原糖含量先增加后减少,当电场频率为200 Hz时,还原糖含量达到最大值。但由于国内交流电的常用频率为50 Hz,故本实验采取50 Hz的电场频率进行下一步实验。电场的频率会改变酶分子的运动规律,进而影响酶分子攻击淀粉链的速率。

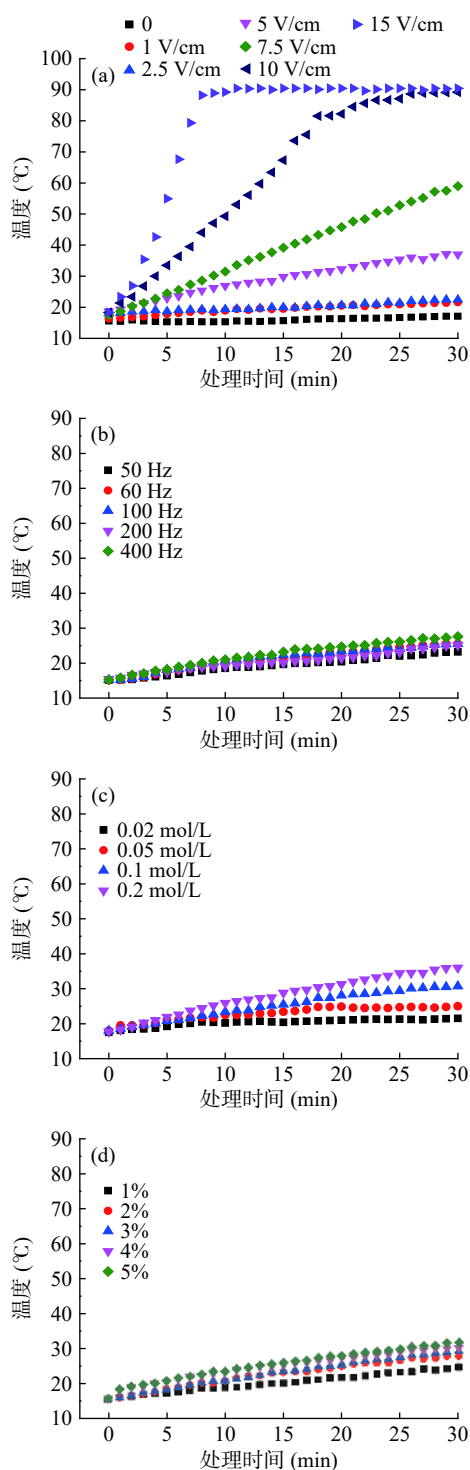


图 2 电场处理过程中反应体系的温度变化曲线

Fig.2 Changes in temperature profiles of reaction mixtures during electric field treatment

注: (a)电场强度; (b)电场频率; (c)缓冲液浓度; (d)酶液比。

SAMARANAYAKE 等^[9]研究 1 Hz~100 MHz 电场对 α -淀粉酶活力的影响时发现, 在 1~60 Hz 范围内, 淀粉酶活力逐渐增加, 最高相对酶活力达 141%; 但随着电场频率进一步的增加, 淀粉酶活力略有下降或不变。他们通过分子动力学模拟手段研究 α -淀粉酶在不同频率电场作用下的运动规律, 认为淀粉酶活力的变化与其平移/旋转运动模式及运动位移有关。果胶甲酯化酶的研究结果与 α -淀粉酶一致^[19]。但本实

验发现电场频率 200 Hz 时, 还原糖含量最高。这可能是由于 SAMARANAYAKE 等研究中采用的电场强度为 1 V/cm, 忽略了热效应的影响, 而在本研究中, 电场强度选择的是 5 V/cm, 存在明显的热效应。图 2b 为不同频率电场作用下, 反应体系的温度变化曲线。

2.1.3 缓冲液浓度的影响 图 1c 为电场处理过程中缓冲液浓度对还原糖含量的影响。由图可知, 当缓冲液浓度从 0.02 mol/L 增加到 0.1 mol/L 时, 还原糖含量显著增加 ($P<0.05$); 但随着缓冲液浓度的进一步增加, 还原糖含量变化不显著 ($P>0.05$)。根据焦耳定律, 焦耳热效应强度与反应介质的电导率值成正比^[17]。随着缓冲液浓度从 0.02 mol/L 增加到 0.1 mol/L, 电导率从 4.24 mS/cm 增加到 15.31 mS/cm (表 1)。电场处理过程中, 加热速率从 0.13 °C/min 增加到 0.61 °C/min (图 2c)。随着加热速率的增加, 淀粉颗粒被破坏的速率加快, α -淀粉酶对其亲和力增加, 淀粉水解速率加快。但当缓冲液浓度从 0.1 mol/L 增加到 0.2 mol/L, 电导率从 15.31 mS/cm 增加到 18.27 mS/cm, 未发生数量级上的变化, 加热速率变化减少, 从而还原糖含量变化不显著 ($P>0.05$)。故在后续实验中采用 0.1 mol/L 的缓冲液浓度。

表 1 不同浓度磷酸缓冲液的电导率值

Table 1 Electrical conductivity of phosphate buffer with different concentrations

磷酸缓冲液浓度(mol/L)	电导率值(mS/cm)
0.02	4.24±0.05 ^a
0.05	8.80±0.06 ^b
0.1	15.31±0.09 ^c
0.2	18.27±0.08 ^d

注: 同列不同字母表示差异显著($P<0.05$); 表2同。

2.1.4 酶液比的影响 图 1d 为电场处理过程中酶液比对还原糖含量的影响。当淀粉酶的添加量从 1% 增加到 5%, 还原糖含量从 1.56 g/mL 提高到 2.00 g/mL, 提高了 28%。通常地, 随着酶添加量的增加, 淀粉与酶的碰撞几率增加, 酶促反应效率增加。例如, LU 等^[20]报道随着脂肪酶添加量从 0.05 g 增加到 0.20 g, 淀粉棕榈酸酯的取代度从 0.110 增加到 0.153。此外, 通过监测不同酶添加量时, 电场处理过程中反应体系的温度变化发现, 随着酶添加量的增加, 热效应强度逐渐增加 (图 2d)。这是由于在 pH6 的磷酸缓冲液中, 淀粉酶本身也带电荷, 也会导致体系电导率的增加, 从而导致体系升温速率增加。温度的增加有助于提高酶的活性和反应活化能, 从而有助于淀粉酶解的进行。

2.2 电场辅助酶解产物的颗粒结构表征

在实际生产中, 通常电场频率固定为 50 Hz (国内) 或 60 Hz (美国等); 缓冲液浓度增加会引入大量的盐, 后续处理复杂; 酶添加量的增加一方面会提高生产成本, 另一方面图 1d 和图 2d 表明随着酶添加量

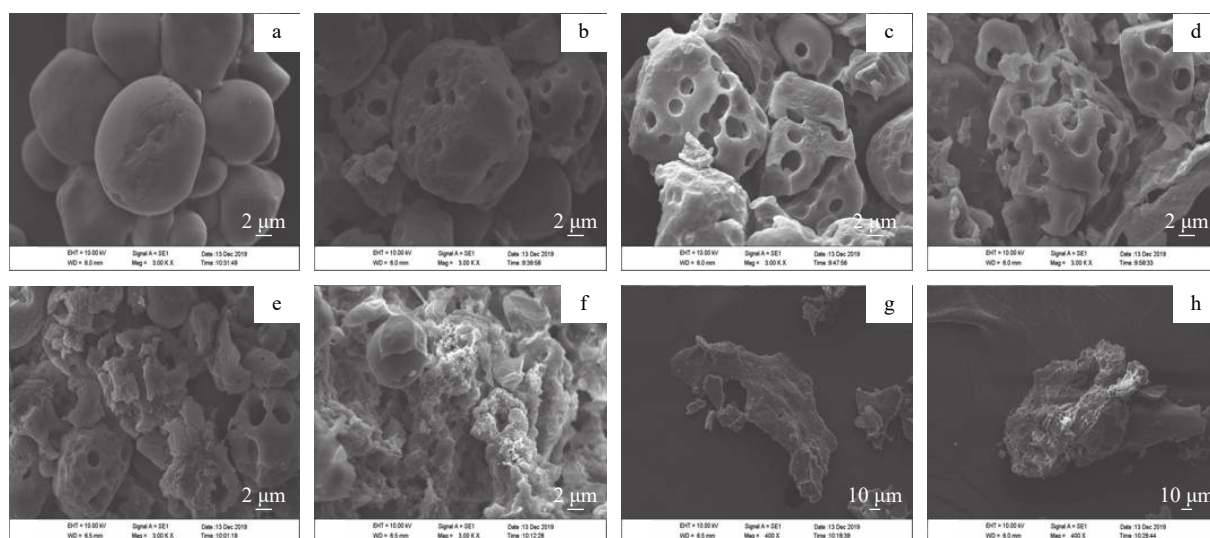


图3 天然玉米淀粉及不同强度电场作用下酶解淀粉的扫描电镜图像

Fig.3 SEM pictures of native corn starch and starches treated by moderate electric field at different intensities in the presence of α -amylase

注: a: 天然淀粉; b: 0 V/cm, 3000 $\times$; c: 1 V/cm, 3000 $\times$; d: 2.5 V/cm, 3000 $\times$; e: 5 V/cm, 3000 $\times$; f: 7.5 V/cm, 3000 $\times$; g: 10 V/cm, 400 $\times$; h: 15 V/cm, 400 $\times$ 。

从 2% 增加到 5%, 淀粉酶解效率变化不显著 ($P>0.05$); 而电场强度通常被认为是影响电加工效率的最关键因素^[21]。图 1a 也证实随着电场强度的增加, 还原糖含量显著增加。因此, 本论文将主要针对不同强度电场辅助酶解产物的结构和理化性质进行表征。图 3 为天然玉米淀粉及经过不同强度电场(0~15 V/cm)辅助酶解后的淀粉的扫描电镜图片。天然玉米淀粉颗粒完整, 表面光滑, 呈椭球形或多边形(图 3a), 与文献报道一致^[22]。当仅添加 α -淀粉酶、未利用电场处理时, 淀粉颗粒表面出现少许褶皱和孔洞, 可作为优良的吸附剂和包埋剂(图 3b)^[23-24]。随着电场强度从 1 V/cm 增加到 2 V/cm, 淀粉水解程度增加, 孔洞数目和尺寸增加(图 3c~d)。当电场强度为 5 V/cm 和 7.5 V/cm 时, 淀粉进一步水解, 淀粉大颗粒被破坏成小的片段, 且小的片段间相互聚集(图 3e~f)。随着电场强度进一步增加到 10 V/cm 和 15 V/cm, 淀粉完全丧失原有颗粒形状(图 3g~h)。XUE 等^[25]在利用感应电场对玉米淀粉改性时发现, 淀粉经过处理后表面会产生小孔及碎片。AN 等^[26]在关于欧姆加热的研究中发现高强度电场处理将会导致淀粉发生更严重的糊化。

2.3 电场辅助酶解产物的结晶结构分析

淀粉的 X-射线衍射图谱有三种: A 型淀粉在衍射角 15、17、18、23 $^{\circ}$ 附近有较强衍射峰; B 型淀粉在衍射角 18 $^{\circ}$ 出现明显的衍射峰, 在 5.6、20、22 和 24 $^{\circ}$ 附近出现较弱的衍射峰; C 型淀粉为含 A 型和 B 型结晶混合结构的淀粉^[27]。由图 4 可以看出, 天然玉米淀粉在 $2\theta=15.3$ 、16.9、17.6、23.2 $^{\circ}$ 出现衍射峰, 属于典型的 A 型淀粉。当电场强度在 0~5 V/cm 之间时, 淀粉的衍射曲线、衍射峰的位置相近, 此时淀粉仍保有原有的结晶结构; 当电场强度为 7.5~

15 V/cm 时, 衍射曲线发生明显变化, 衍射峰消失, 说明淀粉的结晶结构被破坏。通过 MDI Jade 5.0 软件计算得出淀粉的结晶度分别是 9.8%、2.1%、1.9%, 呈逐渐降低的规律, 与衍射峰逐渐消失的现象相符合。这是因为电场促进了淀粉的酶解, 使淀粉分子受破坏的程度逐渐增强, 甚至使淀粉分子破裂, 导致结晶度降低。LI 等^[28]通过大米淀粉的 X-射线衍射图谱得出, 经过微波处理过的大米, 结晶度降低。HAN 等^[29]也在研究中得出, 淀粉在经过过强的脉冲电场处理后, 淀粉颗粒破坏, 结晶度降低。此现象也与扫描电镜中观察到的淀粉形态结果一致(图 3)。

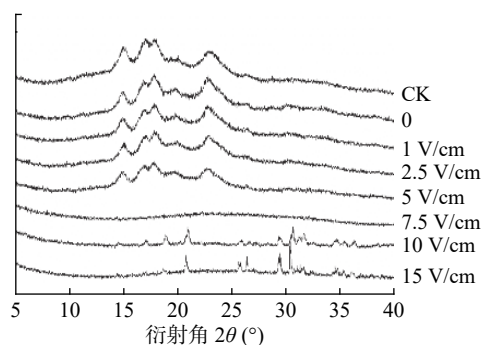


图4 天然玉米淀粉(CK)及不同强度电场作用下酶解淀粉的 X-射线衍射图

Fig.4 XRD patterns of native corn starch (CK) and starches treated by moderate electric field at different intensities in the presence of α -amylase

2.4 电场辅助酶解产物的糊化性质分析

表 2 为天然淀粉和不同强度电场辅助淀粉酶解产物的热特性分析结果。从表 2 中可以看出, 淀粉的 T_o 、 T_p 、 T_c 及焓变值的趋势大致为先增高后降低。当电场强度小于 7.5 V/cm 时, 酶解淀粉的糊化温度和焓值逐渐增加。这是由于淀粉由致密的结晶

表 2 天然玉米淀粉(CK)和不同强度电场作用下酶解淀粉的热特性参数

电场强度 (V/cm)	起始温度 T_0 (°C)	峰值温度 T_p (°C)	终止温度 T_c (°C)	焓值 ΔH (J/g)
CK	64.40±0.15 ^a	70.71±0.15 ^a	78.48±0.70 ^a	8.71±0.31 ^a
0	69.42±0.20 ^b	75.22±0.25 ^b	84.80±1.57 ^b	10.60±0.29 ^c
1	69.21±0.11 ^b	74.99±0.01 ^b	85.52±0.65 ^b	11.36±0.23 ^c
2.5	69.61±0.36 ^b	76.67±0.16 ^b	88.51±0.30 ^c	9.55±0.41 ^b
5	69.28±0.01 ^b	75.73±0.13 ^b	88.43±1.12 ^c	10.82±0.24 ^c
7.5	73.76±0.35 ^c	77.48±0.48 ^c	87.13±1.53 ^c	9.70±0.10 ^b
10	65.09±0.64 ^a	70.94±0.26 ^a	82.46±0.96 ^{ab}	11.83±0.44 ^c
15	—	—	—	—

区和疏松的无定形区交替排列形成,在淀粉酶解过程中,酶分子会优先攻击疏松的无定型区,导致淀粉相对结晶度的增加。当电场强度为 10 V/cm 时, T_0 、 T_p 、 T_c 值降低。这可能是由于淀粉的颗粒结构已经发生破坏,热稳定性随之下降。当电场强度为 15 V/cm 时,系统升温速率快,淀粉发生完全糊化和显著降解,结晶结构已经被完全破坏,导致 DSC 曲线上无吸热峰出现。淀粉的水解通常包括两个阶段:第一阶段的快速分解是由于淀粉颗粒中无定形部分的水解,第二部分分解速率缓慢,是由于无定形区域和结晶区域同时水解导致的^[27]。无定形部分的优先水解导致结晶度的增加,从而提高了糊化温度和焓值。ABDORREZA 等^[30] 研究发现,酸解西米淀粉的糊化温度和焓值随水解程度的增加而增加,但过高的电场强度会破坏淀粉颗粒中的晶体结构,从而导致焓值降低。HAN 等^[31] 研究发现,随着脉冲电场强度增加,马铃薯淀粉热稳定性逐渐降低。

2.5 电场辅助酶解产物的热稳定性分析

图 5 为天然玉米淀粉(CK)及电场辅助酶解产物的 TGA 曲线。如图所示,淀粉的热分解主要有三个阶段:30~100 °C 为第一阶段,此阶段的少量失重主要是因为淀粉表面的游离水和内部结合水的蒸发;

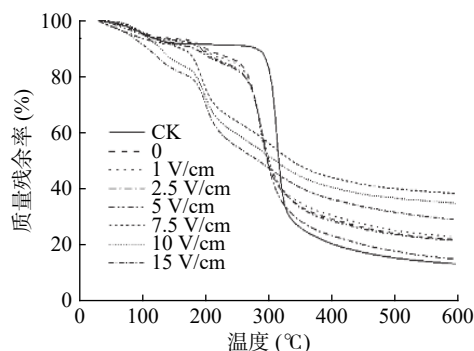


图 5 天然玉米淀粉(CK)及不同强度电场作用下酶解淀粉的热重分析曲线

Fig.5 TGA curves of native corn starch (CK) and starches treated by moderate electric field at different intensities in the presence of α -amylase

第二阶段是由于淀粉材料的分解引起的;第三阶段,淀粉发生碳化。从图中可以看出,天然淀粉能够在 300 °C 之前保持较高的残余率,在热分解进行到最后质量残余率最低。经过电场酶解过后的淀粉的失重速率都与天然淀粉存在着差异。当电场强度从 0 增加到 5 V/cm 时,酶解淀粉的失重曲线仍与天然淀粉的失重曲线相似,说明此时淀粉受电场酶解的影响较小,淀粉分子中的氢键破坏较少,淀粉颗粒仍具有一定的晶体结构;当电场强度从 7.5 V/cm 增加到 15 V/cm 时,淀粉的热稳定性逐渐降低,起始分解温度较低,可以看出此时淀粉分子的结构受到强烈破坏,分子内部网状结构几乎消失,抵抗热分解能力较弱。WU 等^[32] 也发现酶促水解可降低淀粉的热稳定性。STEPHEN 等^[33] 在利用脉冲电场处理壳聚糖-玉米醇溶蛋白时发现,脉冲电场可改变复合物间的相互作用,从而影响其热稳定性。TGA 与 DSC 结果一致。

3 结论

中强电场可促进 α -淀粉酶水解玉米淀粉。在本论文所采用的实验条件下:电场强度对于催化效率的影响最显著,随着电场强度的增加,电场热效应增强,从而淀粉酶解效率显著增加;电场频率对升温速率以及酶解效率的影响均不显著;体系电导率增加,电场热效应增加,淀粉酶解效率增加;缓冲液浓度和淀粉酶添加量的增加均会导致体系电导率的增加。SEM 结果表明,随着电场强度的增加,酶解产物表面孔洞数量和尺寸逐渐增加,直至淀粉颗粒结构完全被破坏。XRD 结果表明,电场强度在 5 V/cm 以下时,淀粉结晶晶型不变,但相对结晶度逐渐下降;当电场强度达 7.5 V/cm 以上后,淀粉结晶结构被完全破坏。通过 DSC 和 TGA 测定则发现,电场强化酶解后,淀粉的热稳定性下降;且随着电场强度的增加,下降程度增加。本研究探究了电场处理对淀粉酶解特性的影响,可为电场技术在淀粉深加工领域的应用提供理论依据。

参考文献

- [1] REN F, WANG J, XIE F, et al. Applications of ionic liquids in starch chemistry: A review[J]. *Green Chemistry*, 2020, 22(7): 2162–2183.
- [2] FAN Y, PICCHIONI F. Modification of starch: A review on the application of “green” solvents and controlled functionalization[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 241: 116350.
- [3] GILET A, QUETTIER C, WIATZ V, et al. Unconventional media and technologies for starch etherification and esterification[J]. *Green Chemistry*, 2018, 20(6): 1152–1168.
- [4] LIU Q Z, ZHANG H, DAI H Q, et al. Inhibition of starch digestion: The role of hydrophobic domain of both α -amylase and substrates[J]. *Food Chemistry*, 2021, 341: 128211.
- [5] SADEGHIAN M S F, ARIAENEJAD S, SALAMI M, et al. Improving the quality of gluten-free bread by a novel acidic thermostable α -amylase from metagenomics data[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352: 129307.

- [6] 马福强. 耐高温 α -淀粉酶在酒精生产中的应用[J]. *酿酒科技*, 2001(3): 42–43. [MA F Q. Application of high temperature resistant α -amylase in the production of alcohol[J]. *Liquor-making Science and Technology*, 2001(3): 42–43.]
- [7] OHSHIMA T, TAMURA T, SATO M. Influence of pulsed electric field on various enzyme activities[J]. *Journal of Electrostatics*, 2007, 65(3): 156–161.
- [8] LU C, YIN Y. Pulsed electric field treatment combined with commercial enzymes converts major ginsenoside Rb1 to minor ginsenoside Rd[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2014, 22: 95–101.
- [9] SAMARANAYAKE C P, SASTRY S K. In-situ activity of α -amylase in the presence of controlled-frequency moderate electric fields[J]. *LWT-Food Science & Technology*, 2018, 90: 448–454.
- [10] DURHAM E K, SASTRY S K. Moderate electric field treatment enhances enzymatic hydrolysis of cellulose at below-optimal temperatures[J]. *Enzyme and Microbial Technology* 2020, 142: 109678.
- [11] LI D, TAO Y, SHI Y, et al. Preparation of porous starch by α -amylase-catalyzed hydrolysis under a moderate electric field[J]. *LWT-Food Science & Technology*, 2021, 137: 110449.
- [12] VARELLA V, CONCONE B, SENISE J, et al. Continuous enzymatic cooking and liquefaction of starch using the technique of direct resistive heating[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1984, 26(7): 654–657.
- [13] LI D, JIANG L, TAO Y, et al. Enhancement of efficient and selective hydrolysis of maize starch via induced electric field[J]. *LWT*, 2021, 143: 111190.
- [14] WANG D, MA X, YAN L, et al. Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis of starch catalyzed by glucoamylase: Investigation on starch properties and degradation kinetics[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 175: 47–54.
- [15] MILLER G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. *Analytical Chemistry*, 1959, 31(3): 426–428.
- [16] LI D, WU Z, WANG P, et al. Effect of moderate electric field on glucoamylase-catalyzed hydrolysis of corn starch: Roles of electrophoretic and polarization effects[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 122: 107120.
- [17] KNIRSCH M C, SANTOS C A D, VICENTE A A M D O S, et al. Ohmic heating-a review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, 21(9): 436–441.
- [18] BARBA F J, PARNIAKOV O, PEREIRA S A, et al. Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry[J]. *Food Research International*, 2015, 77: 773–798.
- [19] SAMARANAYAKE C P, SASTRY S K. Effect of moderate electric fields on inactivation kinetics of pectin methylesterase in tomatoes: The roles of electric field strength and temperature[J]. *Journal of Food Engineering*, 2016, 186: 17–26.
- [20] LU X, LUO Z, YU S, et al. Lipase-catalyzed synthesis of starch palmitate in mixed ionic liquids[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(36): 9273–9279.
- [21] GITERU S G, OEY I, ALI M A. Feasibility of using pulsed electric fields to modify biomacromolecules: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 72: 91–113.
- [22] LIU Z, WANG C, LIAO X, et al. Measurement and comparison of multi-scale structure in heat and pressure treated corn starch granule under the same degree of gelatinization[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 108: 106081.
- [23] LI M N, CHEN H Q, BAO Z. Effects of the combination of repeated heat-moisture treatment and compound enzymes hydrolysis on the structural and physicochemical properties of porous wheat starch[J]. *Food Chemistry*, 2019, 274: 351–359.
- [24] BING Z, CUI D, LIU M, et al. Corn porous starch: Preparation, characterization and adsorption property[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 50(1): 250–256.
- [25] XUE L, MA Y, YANG N, WEI H. Modification of corn starch via innovative contactless thermal effect from induced electric field[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 255: 117378.
- [26] AN H J, KING J M. Pasting properties of ohmically heated rice starch and rice flours[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 71(7): C437–C441.
- [27] WANG S, COPELAND L. Effect of acid hydrolysis on starch structure and functionality: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2015, 55(8): 1081–1097.
- [28] LI N, CAI Z, GUO Y, et al. Hierarchical structure and slowly digestible features of rice starch following microwave cooking with storage[J]. *Food Chemistry*, 2019, 295: 475–483.
- [29] HAN Z, ZENG X A, ZHANG B S, et al. Effects of pulsed electric fields (PEF) treatment on the properties of corn starch[J]. *Journal of Food Engineering*, 2009, 93(3): 318–323.
- [30] ABDORREZA M N, ROBAL M, CHENG L H, et al. Physicochemical, thermal, and rheological properties of acid-hydrolyzed sago (*Metroxylon sagu*) starch[J]. *LWT-Food Science & Technology*, 2012, 46(1): 135–141.
- [31] HAN Z, ZENG X A, YU S J, et al. Effects of pulsed electric fields (PEF) treatment on physicochemical properties of potato starch[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2009, 10(4): 481–485.
- [32] WU J, LI K, PAN X, et al. Preparation and physical properties of porous starch/natural rubber composites[J]. *Starch-Stärke*, 2018, 70(11-12): 1700296.
- [33] STEPHEN A M, PHILLIPS G O. Food polysaccharides and their applications[M]. 2nd ed. CRC Press, 2016.