

多孔淀粉制备工艺优化

金照,石晓华,周彩荣,裴丽娟

(郑州大学化工与能源学院,河南郑州450001)

摘要:在碱法制备大米淀粉的基础上,以大米淀粉为原料,对酶解制备多孔淀粉的工艺条件进行优化。分别考察了酶配比、反应时间、温度、pH、加酶量和底物质量分数6个因素的影响。采用单因素试验法优化了复合酶酶解大米淀粉的工艺条件,并改进了多孔淀粉的分析方法。得到的较佳工艺条件是:温度50℃,时间12 h, pH为4.6, $m(\alpha\text{-淀粉酶}):m(\text{糖化酶})=1:12$, 酶质量分数为0.50%, 底物质量分数25%。制备的多孔淀粉的吸水率和吸油率分别是125.8%和163.2%, 比表面积是2.219 m²/g。此工艺可为多孔淀粉工业化生产提供参考数据,并为我国的大米和淀粉资源的综合开发利用提供一条有效途径。

关键词:多孔淀粉;酶法;比表面积

中图分类号:TS23

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2011)05-0049-04

Process optimization of preparation of porous starch

JIN Zhao, SHI Xiao-hua, ZHOU Cai-rong, PEI Li-juan

(School of Chemical and Energy Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: On the basis of the preparation of rice starch by alkali method, porous starch under enzymatic hydrolysis conditions are optimized. Enzyme ratio, reaction time, temperature, pH, enzyme concentration and substrate concentration are investigated. The optimal technical conditions are obtained as follows: 50℃ of the temperature, 12 hours of the reaction time, 4.6 of pH, 1:12 of the ratio of α -amylase and glucoamylase by mass, 0.5% (by mass) of enzymes, and 25% of substrate concentration. The absorption ability of water and oil is 125.8% and 163.2% for porous starch, respectively. And the specific surface area is 2.219 m²/g. This enzymatic hydrolysis route is very helpful to the industrial production of porous starch and is more promising as an effective approach to the comprehensive utilization of the domestic rice and starch resources.

Key words: porous starch; enzymatic method; the specific surface area

多孔淀粉是指以淀粉为原料,经过生物加工,使淀粉表面形成一些孔径范围在几十纳米乃至几微米的蜂窝状小孔的一种变性淀粉,是近年来才开发出来的一种新型有机吸附材料。其作为一种理想的微米-纳米级物料包埋剂,被广泛用于医药、农药、印刷、日用化工、化妆品、食品和铸造等行业,具有广泛的应用前景^[1-2]。

目前,制备多孔淀粉的方法有3种:(1)物理方法^[3](超声波照射、喷雾);(2)机械方法^[4](机械撞击);(3)生化方法(醇变性^[5]、酸水解^[6]、酶水解^[7])。其中,超声波照射、机械撞击方法的生产成本较高,不易实现产业化;而喷雾法与醇变性法形成的多孔淀粉是一种实心的端聚物球体,吸附作用只发生在表面,吸附量有限。化学及生物方法中,酶水解法生产多孔淀粉是最有实用价值的方法,酶制剂可大批量工业化生产,酶解生产多孔淀粉的工艺简单易行,得到的多孔淀粉为中空颗粒,具有较大的吸附量;另外,酶法制备多孔淀粉可以大大降低生产成本。目前国内对酶水解法生产多孔淀粉的技术及吸附性能的研究甚少,只有刘雄等^[6]研究报道。

笔者采用酶水解法制备多孔淀粉,考察了pH、温度、加酶量、酶配比、底物质量分数、时间6个影响因素,采用单因素试验优化了工艺条件,并改进了多孔淀粉的分析方法,用溶液吸附法测定多孔淀粉的比表面积,找到了快速简便的多孔淀粉分析方法。

1 实验部分

1.1 多孔淀粉制备工艺

称取一定量的原淀粉,用一定pH的HAc-NaAc缓冲液制成一定浓度的悬浮液,在一定温度下预热一段时间,然后加入一定配比的复合酶,恒温震荡,反应一段时间后,用一定质量分数的NaOH中止反应,离心(5 000 r/min, 10 min),分离上清液,水洗离心3次,将前2次上清液倒入锥形瓶中,进行水解率测定。底层产品恒温干燥至恒重,研磨后即得多孔淀粉。

1.2 淀粉测定方法

采用斐林试剂法测定水解率;采用溶剂法测定比表面积;采用扫描电子显微镜(SEM)^[8]测定原淀粉和孔淀粉的表面形貌。

收稿日期:2010-12-30

作者简介:金照(1985-),男,硕士生;石晓华(1978-),女,博士,副教授,主要从事精细有机合成和制药工程方面的研究,通讯联系人,0371-67781034,shixiaohua@zzu.edu.cn。

吸附性能用吸水率和吸油率^[9]来表征。

精确称取烘干后的样品 m_1 , 一定温度下与蒸馏水、大豆油混合搅拌一定时间后进行离心(5 000 r/min, 15 min), 分离弃去上层液, 将底层多孔淀粉进行称重(m_2)。根据多孔淀粉前后的质量差, 计算吸水率和吸油率(S)。计算公式见式(1)。

$$S = (m_2 - m_1) / m_1 \quad (1)$$

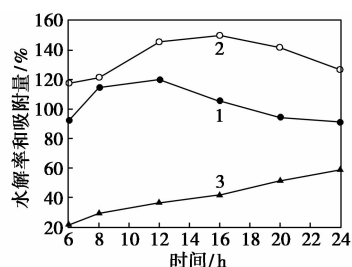
2 结果与讨论

2.1 酶法制备多孔淀粉的影响因素

以吸水率为考察指标进行了预实验, 由预实验结果分析得到6个因素对产品的影响大小分别是: 时间 > 酶配比 [$m(\alpha\text{-淀粉酶}) : m(\text{糖化酶})$] > 加酶量 > 温度 > pH > 底物质量分数, 在此基础上, 以吸水率、吸油率和水解率为指标, 分别对6个因素进行单因素试验, 以确定最佳条件。

2.1.1 反应时间的影响

考察反应时间为6、8、12、16、20、24 h时的产品性能。其他因素分别是: $m(\alpha\text{-淀粉酶}) : m(\text{糖化酶})$ 为1:10, 酶质量分数为0.50%, 温度55℃, pH为4.6, 底物质量分数20%。所得的多孔淀粉进行吸水率、吸油率和水解率测定, 结果见图1。



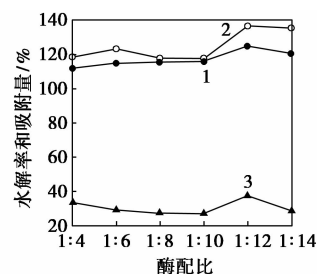
1—吸水率;2—吸油率;3—水解率

图1 反应时间对多孔淀粉吸附性能的影响

从图1可知, 从吸水率走向趋势得到最佳时间是12 h, 此时淀粉的水解率是36.3%; 从吸油率走向趋势得到的最佳时间是16 h, 淀粉的水解率是41.3%。考虑到反应时间太长会增加生产成本, 降低多孔淀粉的得率, 选择在12 h为宜。

2.1.2 酶配比的影响

多孔的形成并不是一种酶作用的结果, 几种酶协同作用的效果会更好。在总酶量一定的情况下, 将 $\alpha\text{-淀粉酶}$ 与糖化酶按1:4、1:6、1:8、1:10、1:12、1:14的酶活比例加入淀粉中进行反应, 其他条件分别是: 时间12 h, 添加的酶质量分数0.50%, 温度55℃, pH为4.6, 底物质量分数20%。结果如图2所示。



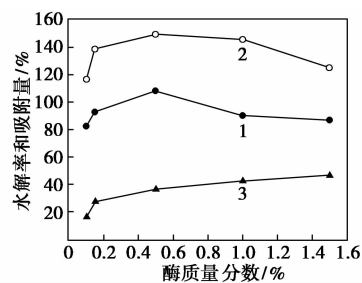
1—吸水率;2—吸油率;3—水解率

图2 酶比对多孔淀粉吸附性能的影响

由图2可知, 当 $m(\alpha\text{-淀粉酶}) : m(\text{糖化酶})$ 为1:12时, 淀粉的水解率最大, 为37.5%。此时得到的产品吸水率、吸油率都达到最大值, 说明这2种酶以此比例配比的协同作用最好。

2.1.3 加酶量的影响

根据酶浓度对酶催化反应的理论影响, 随着酶浓度增加, 酶分子与底物的结合率增加, 反应速率加快, 酶浓度增加至一定程度时, 反应速率不再提高。因此本实验中考察了添加的酶质量分数为0.10%、0.15%、0.50%、1.00%、1.50%时的产品性能, 其他条件分别是: 时间12 h, 酶配比1:12, 温度55℃, pH为4.6, 底物质量分数20%。结果如图3所示。



1—吸水率;2—吸油率;3—水解率

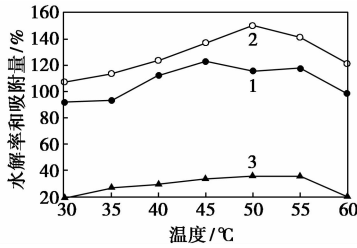
图3 加酶量对多孔淀粉吸附性能的影响

由图3可知, 随着酶用量的增大, 同一时刻被水解的淀粉增多, 水解率上升。从曲线走势可确定最佳的酶质量分数为0.50%。

2.1.4 温度的影响

由于原淀粉的糊化温度在50℃附近, 所以考察的反应温度分别为30、35、40、45、50、55、60℃。其他条件分别是: 时间12 h, 酶配比1:12, 酶质量分数0.50%, pH为4.6, 底物质量分数20%。结果如图4所示。

由图4可知, 随着温度的变化, 吸水率、吸油率以及水解率都是先升后降, 吸水率在50℃时达到顶点, 50℃之后随着温度的升高而降低; 吸油率在45℃左右达到最大值。从曲线走势确定最佳温度是50℃为宜。

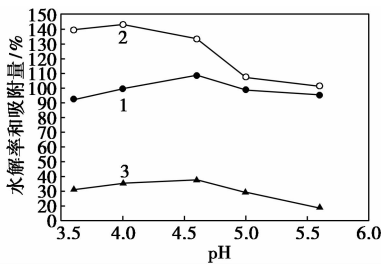


1—吸水率;2—吸油率;3—水解率

图4 温度对多孔淀粉吸附性能的影响

2.1.5 pH 的影响

分别在 pH 为 3.6、4.0、4.6、5.0、5.6 下进行反应,其他条件分别是:时间 12 h,温度 50℃,酶质量分数 0.50%,酶配比 1:12,底物质量分数 20%。结果如图 5 所示。



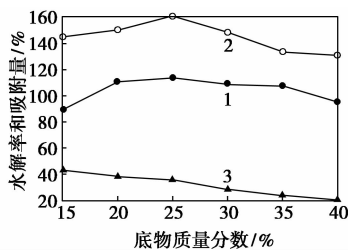
1—吸水率;2—吸油率;3—水解率

图5 pH对多孔淀粉吸附性能的影响

由图 5 可知,随着 pH 的增大,多孔淀粉的吸水率和吸油率都是先升后降。淀粉的水解率在 pH 为 4.6 时最大。故本实验中所选复合酶的最适 pH 为 4.6。

2.1.6 底物质量分数的影响

分别以底物质量分数 15%、20%、25%、30%、35%、40% 反应,其他条件分别是时间 12 h,温度 50℃,酶质量分数 0.50%,酶配比 1:12,pH 为 4.6。结果如图 6 所示。



1—吸水率;2—吸油率;3—水解率

图6 底物质量分数对多孔淀粉吸附性能的影响

由图 6 可知,产物的吸水率和吸油率随着底物质量分数的增加,是先上升后下降,在底物质量分数为 25% 时,制得的多孔淀粉其吸水率和吸油率最高。故最佳底物质量分数是 25%。

2.2 多孔淀粉比面积的测定

测定比表面积常用氮气吸附法。但由于淀粉的比表面积很小,脱附峰也很小,采用氮气吸附法测定拖尾现象比较严重,测量误差很大。在比较各种方法的基础上,选择溶液吸附法^[10]来测定多孔淀粉的比表面积。

(1) 作次甲基蓝溶液浓度对吸光度的工作曲线

配制不同浓度的次甲基蓝标准溶液,测其吸光度,然后以次甲基蓝标准溶液摩尔浓度对吸光度作图,即得工作曲线,经拟合得到直线方程为: $y = 0.1334x + 0.0289, R^2 = 0.9913$ 。

为了验证溶液吸附法测定淀粉比表面积的准确性,本实验中用市售大孔树脂 H103 树脂对其进行了标定,与比表面积分析仪测得的结果相比,相对误差 0.7%,溶液吸附法可以用来分析多孔淀粉的比表面积。

(2) 多孔淀粉的比表面积的测定

取洗净干燥的带塞锥形瓶,编号,分别准确称取样品 0.1 g 置于瓶中,按表 1 配制不同浓度 (C_0) 的次甲基蓝溶液 50 mL,振荡一定时间达到平衡后,离心得到吸附平衡后溶液。分别称取相同质量的上清液放入 500 mL 容量瓶中,蒸馏水定容。用紫外-可见分光光度计分别测其吸光度,然后从工作曲线中求得各平衡溶液的浓度 C ,由 C 和 C_0 根据式(2),可求得 Γ ,然后作 $C-C/\Gamma$ 曲线,如图 7 和图 8 所示。

$$\Gamma = (C_0 - C)V/m \quad (2)$$

表 1 溶液吸附法原始溶液的配制

编号	1	2	3	4	5
质量分数 0.2% 的次甲基蓝/mL	30	20	15	10	5
蒸馏水/mL	20	30	35	40	45

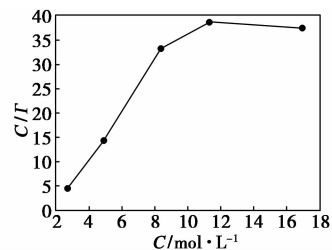


图7 原淀粉的 C-C/Gamma 曲线

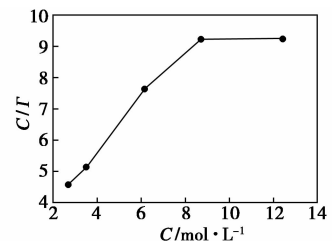


图8 最佳条件下多孔淀粉的 C-C/Gamma 曲线

由图 7 和图 8 可以看出,当次甲基蓝溶液的浓度达到一定值时,淀粉对次甲基蓝的吸附达到平衡状态, $C-C/I$ 值不再变化,由此求出 Γ_{∞} ,代入公式 $S_{比} = \Gamma_{\infty} L_D A$ 即可求出淀粉的比表面积。式中: A 为吸附质分子的截面积 (nm^2), $A = 39 \times 10^{-20}$ 。求得 $S_{原淀粉} = 0.687 \text{ m}^2/\text{g}$, $S_{多孔淀粉} = 2.219 \text{ m}^2/\text{g}$ 。由此可见,淀粉经酶解后的比表面积明显增加,可判断形成了多孔淀粉。

2.3 淀粉颗粒表面形貌

多孔淀粉的形成与否可以从淀粉颗粒的表面形貌的变化直观观察到,本文中采用 SEM 法来观察多孔的形成情况。通过 SEM 观察的淀粉颗粒表面形貌如图 9。

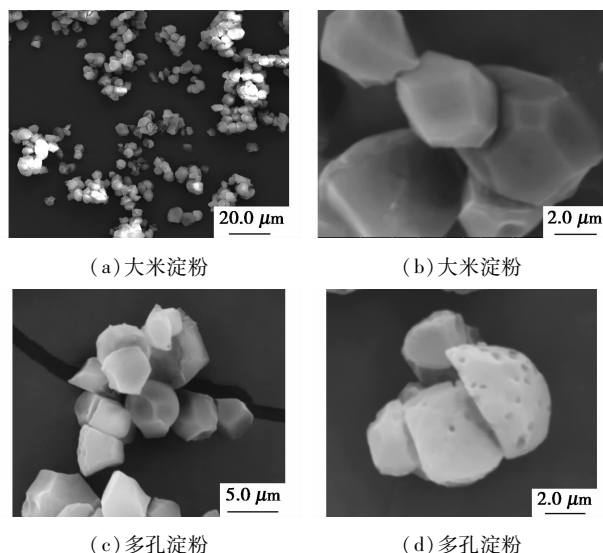


图 9 淀粉颗粒的 SEM 照片

2.4 原淀粉与多孔淀粉的物理性质比较

将原淀粉与多孔淀粉进行比较,其结果见表 2。

表 2 原淀粉和孔淀粉的物理性质比较

物理性质	原淀粉	多孔淀粉
吸水率/%	82.1	125.8
吸油率/%	107.5	163.2
比表面积/ $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	0.687	2.219
透明度	1.021	0.871
堆积密度/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	0.714	0.617

由表 2 可见,多孔淀粉吸水率、吸油率和比表面积都有较大幅度的增大,但透明度和堆积密度有所

降低。多孔淀粉具有较大的吸附能力,吸附目的物后对其有保护作用,也具有缓慢释放目的物的作用。利用多孔淀粉这个优势,可将其广泛应用于多种化工产品及其药品,如缓释化肥、缓释杀虫剂、包埋洗涤增香、柔软剂、微胶囊化蛋白酶、阿司匹林等。

3 结语

①采用酶法制备了大米多孔淀粉,考察了 6 个影响酶解的因素。并采用单因素试验法优化了酶解的较佳工艺条件,实验结果为温度 50°C ,时间 12 h, pH 为 4.6,酶配比 1:12,酶质量分数 0.50%,底物质量分数 25%。在此条件下,所得产品的吸水率是 125.8%,吸油率是 163.2%,比表面积是 $2.219 \text{ m}^2/\text{g}$,透明度 0.871,堆积密度 $0.617 \text{ g}/\text{cm}^3$,SEM 照片显示明显成孔。②采用溶液吸附法进行多孔淀粉比表面积的测定,找到了简便、快速评价多孔淀粉形成情况的检测方法。

参考文献

- [1] 吴立根,王岸娜,刘亚恒,等. 多孔淀粉制备及对速冻水饺品质的影响研究[J]. 粮油加工,2010,(11):83-86.
- [2] Pashkuleva I, López-Pérez P M, Azevedo H S, et al. Highly porous and interconnected starch-based scaffolds: Production, characterization and surface modification[J]. Materials Science and Engineering, 2010,30(7):981-989.
- [3] Zhao jingan, Madson M A, Whistler R L. Cavities in porous corn starch provide a large storage space[J]. Carbohydrate, 1996, 73(3):379-380.
- [4] 姚卫蓉,姚惠源. 多孔淀粉的概述[J]. 粮食与饲料工业,2004,(3):5-27.
- [5] 姚卫蓉,姚惠源. 醇变糊化籼米粉的研究[J]. 粮食与饲料工业,2000,(6):43-45.
- [6] 刘雄,阚建全,陈宗道,等. 酸法制备微孔淀粉的技术研究[J]. 食品科学,2003,24(10):81-83.
- [7] 姚卫蓉,姚惠源. 多孔淀粉的研究: I. 酶和原料粒度对形成多孔淀粉的影响[J]. 中国粮油学报,2001,16(1):36-39.
- [8] 王世中,臧鑫士. 电子显微镜基础[M]. 北京:北京航空学院出版社,1987:210-212.
- [9] 徐忠,缪铭,王鹏,等. 湿热处理对不同淀粉颗粒结构及理化性质的影响[J]. 哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2005,21(5):649-653.
- [10] 夏海涛. 物理化学试验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2003:222-226. ■

《现代化工》“海外纵横”栏目征稿启事

《现代化工》“海外纵横”主要介绍国外某一国家或地区热点科研领域的开发应用状况、开发方向,或某一行业的发展现状、发展方向和问题探讨,以及有突出表现的国外公司的科研动态和研发经验等。

有意投稿的作者,请与“海外纵横”栏目编辑童志勇联系,以确定合适的主题和格式。联系电话:010-64444105-839, e-mail: tongzy@cheminfo.gov.cn。(本刊编辑部)