

不同酶处理对多孔大米淀粉性能的影响

王翠玲¹, 戴常军¹, 王晶¹, 刘晴², 董晓慧², 史冬梅^{1*}, 潘博¹, 孙丽容¹, 李宛¹

(¹黑龙江省农业科学院 农产品质量安全研究所 哈尔滨 150000

²黑龙江省农业科学院绥化分院 黑龙江绥化 152000)

摘要 使用麦芽糖 α -淀粉酶(MA)和淀粉葡萄糖苷酶(AMG)分别处理制备多孔大米淀粉,对其表征特性进行对比分析。通过扫描电镜可知,这两种酶均使淀粉颗粒表面产生蜂窝状多孔结构。经酶处理的大米淀粉颗粒的相对结晶度(25.54%~33.26%)均高于天然淀粉的相对结晶度(23.74%)。MA 处理增加了短支链淀粉链的数量,并且随着酶处理时间的延长降低了分子质量。与对照组相比,MA 和 AMG 处理的淀粉颗粒溶胀度、表观直链淀粉含量、峰值黏度、崩解值、最终黏度和回生值均下降。MA 处理的淀粉颗粒具有更高的溶解指数(1.46%~2.57%),AMG 处理的淀粉颗粒的溶解指数均小于 0.42%。与对照组相比,经酶处理的大米淀粉糊化温度会延迟 0.8~6.0 $^{\circ}\text{C}$,焓变增加范围在 1.0~3.8 J/g。

关键词 多孔大米淀粉; 麦芽糖 α -淀粉酶; 淀粉葡萄糖苷酶; 结构表征; 特性分析

文章编号 1009-7848(2023)05-0021-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.05.003

大米中的主要成分是淀粉,分为两大类,即直链淀粉和支链淀粉。大米中直链淀粉和支链淀粉的比例(即直链淀粉含量)是影响稻米蒸煮条件和食味品质的主要因素^[1]。直链淀粉具有异质性,可增加淀粉的糊化温度和凝沉性,对淀粉产品质量会产生负面影响^[2-4],可通过物理、化学或酶法修饰对直链淀粉进行改性。化学改性因为会造成环境污染从而引起消费者的担忧,而酶修饰具有选择性,对环境污染少,并且能够降低副产物的产量^[5-7]。

多孔淀粉作为一种新型的有机吸附剂被广泛应用于食品、医药、化工和农业等各个领域。多孔淀粉较高的比表面积特性有助于酶和化学试剂进入淀粉颗粒内部进行修饰,因此,人们对其的关注度越来越高。多孔淀粉作为挥发性化合物的吸收剂或载体剂能够保护敏感元素,如:维生素、益生菌和油脂等^[8-10]。酶法改性是生产多孔淀粉的有效方法之一。例如,商业水解酶【STARGEN™ 001,淀粉葡萄糖苷酶(AMG)和 α -淀粉酶(MA)的混合物】33.26 被用于水解天然或交联的玉米淀粉和木薯

淀粉等^[11]。研究表明,淀粉颗粒修饰主要发生在表面,而在颗粒内部也存在空隙。经 AMG 和 MA 处理的天然玉米淀粉产生的多孔淀粉具有基于酶处理的微观结构^[12]。此外,通过扫描电镜评估 AMG 水解对颗粒形态的影响表明,酶解后淀粉颗粒的孔径随水解程度的提高而逐渐增大^[13]。AMG 能够特异性地从淀粉的非还原端水解 α -1,4 糖苷键,从而产生葡萄糖。AMG 虽能够水解 α -1,6 糖苷键,但其水解速率降低约 80 倍。MA 是多功能酶,除了具有释放麦芽糖的外切 α -1,4-葡聚糖酶活性外,还可对部分分子内键表现出内切葡聚糖酶的活性^[14-16]。MA 主要作为防腐剂,通过缩短支链淀粉的最外层链抑制支链淀粉的回生,如糯玉米淀粉和小米淀粉等^[17]。目前尚未报道使用 MA 制备多孔大米淀粉。基于 AMG 和 MA 的不同催化作用,可能提供颗粒状大米淀粉不同的结构和理化性质。本研究分别使用 AMG 和 MA 制备多孔大米淀粉,并对其形态、结构和理化性质进行表征分析。

收稿日期: 2022-05-07

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程生物育种重大科技专项(2020ZX16B01); 黑龙江省重点研发计划指导类项目(GZ20210144); 黑龙江省自然科学基金优秀青年项目(YQ2022C032)

第一作者: 王翠玲,女,硕士,助理研究员

通信作者: 史冬梅 E-mail: shidongmei@126.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大米淀粉,黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所;乙酸钠、马来酸钠、醋酸钠、氢氧化钠、氢氧化钾、氯化钙、甲酸铵、淀粉葡萄糖苷酶(300 U/mL)、异淀粉酶(250 U/mg)、支链淀粉酶(50 U/

mg)西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;麦芽糖 α -淀粉酶(500 U/g),诺维信(中国)生物技术有限公司。

1.2 设备与仪器

JULABO SW23 振荡恒温水浴槽,优莱博技术(北京)有限公司;DGG-9203 型电热恒温鼓风干燥箱,上海森信实验设备有限公司;Polystat K6 恒温水浴锅,德国 Huber 公司;Millipore-Q 密理博超纯水仪,美国 MILLIPORE 公司;FE-SEM 扫描电子显微镜,德国卡尔蔡司集团;BELSORP-miniI 全自动比表面和孔隙度测定仪,日本麦奇克拜尔有限公司;WAXS 广角 X 射线散射结构分析仪,法国赛诺普公司;Dionex ICS-6000 离子色谱仪(配有脉冲安培检测器)、GS-520HQ 色谱柱和 CarboPac PA200 碳水化合物分析柱,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;Viscotek 多检测器凝胶色谱系统,英国马尔文有限公司;DSC2500 差示扫描量热仪,美国 TA 仪器公司;AL104 电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 多孔淀粉的制备 称取 10 g 大米淀粉(干基)置于 20 mL 20 mmol/L 马来酸钠和 5 mmol/L CaCl_2 (pH 5.5)缓冲液(MA 处理)中或 20 mmol/L 乙酸钠(pH 4.5)缓冲液(AMG 处理)中。将淀粉溶液置 60 °C 水浴中加热 30 min,然后,AMG 或 MA 按每克淀粉 100 U 的添加量分别加入淀粉溶液中,60 °C 水浴振荡(180 r/min)孵育 3,6,12 h 和 24 h。在淀粉溶液中加入 40 mL 去离子水,过滤后收集淀粉颗粒,用去离子水洗涤 3 次,样品在 60 °C 预干燥 20 min 后在 130 °C 干燥 2 h。将干燥后的淀粉样品研磨、过筛(100 目),储存在干燥器中,备用。淀粉样品对照组除不添加酶外,其余步骤同上。

1.3.2 多孔淀粉颗粒表征的测定

1.3.2.1 多孔淀粉颗粒的微观形态的测定 采用扫描电镜法(Scanning electron microscopy, SEM)测定多孔淀粉颗粒的微观形态。取 1 g 待测样品用溶解至 100 mL 无水乙醇中,每个样品滴 1 滴在盖玻片上,在 50 °C 下干燥 3 h。每个样品的薄层置于带有导电碳带的铝薄上并镀金钼,加速电压为 3.0 kV。

1.3.2.2 淀粉颗粒比表面积(Brumauer emmeller, BET)的测定 先将淀粉样品在 100 °C 下干燥 6 h,然后将该样品(200 mg)在 125 °C 下脱气 24 h 后浸入液氮(-196 °C)中。通过分配特定部分的氮气(2 L)并测量相对压力(P/P_0)来对比比表面积,单层值采用 BET 方程计算^[18]。

1.3.2.3 相对结晶度的测定 相对结晶度基于广角 X 射线散射(Wideangle X-ray scattering, WAXS)进行测定^[19]。表观直链淀粉的含量通过优化的碘蓝比色法^[20]测定。

1.3.3 支链淀粉链长分布的测定 采用高效阴离子交换色谱(High performance anion exchange chromatography, HPAEC)结合脉冲安培检测器测定支链淀粉链长分布。将淀粉样品(5 mg/mL)加热糊化,在 40 °C 下通过异淀粉酶(2 μL , 250 U/mg)和支链淀粉酶(2 μL , 50 U/mg)脱支处理。将 10 μL 样品注入色谱柱中,流速为 0.5 mL/min。洗脱条件:0~2 min,150 mmol/L NaOH;2~5 min,150 mmol/L NaOH,110 mmol/L 醋酸钠(线性梯度);5~130 min,150 mmol/L NaOH,400 mmol/L 醋酸钠(线性梯度),基于检测器对单峰进行积分和校正。

1.3.4 分子质量分布的测定 基于三重探测阵列的分子排阻色谱法(Size-exclusion chromatography with triple detection array, SEC-TDA)进行分子质量分布的测定。分子组成通过分子排阻色谱法(SEC)确定。该系统配备有 GS-520HQ 色谱柱,连接到 TDA302 模块(三重探测阵列),该模块包括示差折光检测器、粘度计检测器和光散射检测器。光散射检测器由直角光散射和低角光散射组成。首先以非颗粒淀粉制备样品,将非颗粒淀粉(5 mg)溶解在 25 μL 2 mol/L 氢氧化钾中,在 4 °C 下溶解 24 h,然后重新悬浮在 975 μL 去离子水中,在 80 °C 条件下振荡(1 200 r/min)5 h,最终质量浓度为 1 mg/mL。以支链淀粉为标准品进行校准,样品成分用甲酸铵(10 mmol/L)洗脱,流速 0.5 mL/min,进样量 50 μL ,柱温 60 °C 恒定。使用 OMNISEC 软件进行数据分析^[21]。

1.3.5 溶胀度和溶解指数的测定 溶胀度(Swelling capacity, SC)和溶解指数(Solubility index, SI)的测定是基于 Rosell 等^[22]的方法并稍加优化。称取 100 mg 淀粉样品放入离心管中,加

入 10 mL 去离子水,在 60 °C 下加热 30 min,然后以 4 000 r/min 离心 15 min,将上清液转移到培养皿中,在 110 °C 干燥过夜并称重。上清液干燥后得到的固体沉淀物代表溶解在水中的淀粉量。

$$SI(\%) = (\text{干上清液质量} / \text{干淀粉质量}) \times 100 \quad (1)$$

$$SC(\text{g/g}) = \text{沉淀物质量} / [\text{干淀粉质量} \times (1 - S/100)] \quad (2)$$

1.3.6 糊化特性的测定 通过快速黏度分析仪 (Rapid Visco Analyser, RVA) 监测糊化特性。向含有 2.5 g 淀粉样品 (水分含量 14%) 的铝制 RVA 罐中添加 25 mL 离子水。RVA 设置条件:从 50 °C 到 95 °C 加热 282 s,随后在 300 s 内冷却至 50 °C。初始搅拌速度为 960 r/min,持续 10 s,然后以 160 r/min 的速度搅拌。

1.3.7 热力学特性的测定 采用差示扫描量热仪 (Differential scanning calorimeter, DSC) 分析样品的热力学特性。将 10 mg 样品约装入铝盘中,添加 30 mL 去离子水。将样品密封,在室温条件下平衡 24 h 后分析。以 5 °C/min 的加热速率从 25 °C 升至 130 °C 进行热分析。将初始温度 (T_i) 定义为样品开始糊化的温度,分别测定起始温度 (T_o)、峰值温度 (T_p)、结束温度 (T_c)、糊化温度范围 ($\Delta T = T_c - T_i$) 和焓 (ΔH)。

1.4 数据分析

所有试验重复 3 次,结果表示为“平均值 \pm 标准偏差”。方差分析检测结果时:不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。使用软件 SPSS 25.0 和 OriginPro 2016 进行相关数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 多孔大米淀粉颗粒表征的分析

分别用淀粉葡萄糖苷酶和麦芽糖 α -淀粉酶对大米淀粉进行酶法改性。为了排除其它的影响因素控制变量,将每次修饰时的酶处理组与未使用酶处理的对照组进行对比,扫描电镜结果如图 1 所示。天然高直链大米淀粉颗粒呈多边形,表面光滑,有明显的小孔洞。经酶处理的颗粒表面会有明显的影响,产生的凹痕和孔洞与之前的研究结果相似^[23-24]。具体来说,AMG 处理的大米淀粉呈现大而浅的孔,而 MA 处理的大米淀粉孔径小,比 AMG 处理的孔洞深。此结果说明 AMG 的空心结

构内的淀粉颗粒更具活性。此外,由图 2 可知,与 MA 组相比,AMG 组水解的孔径范围更广泛且具有多样性。随着酶促反应时间的延长 (3~12 h),AMG 的平均孔径变大,一些颗粒经 24 h 的改性处理后破裂,如图 1d 所示,这会导致平均孔径下降。相关研究表明^[25-27],与 α -淀粉酶相比,用 AMG 处理的玉米淀粉具有更大的孔隙和更宽的孔径。

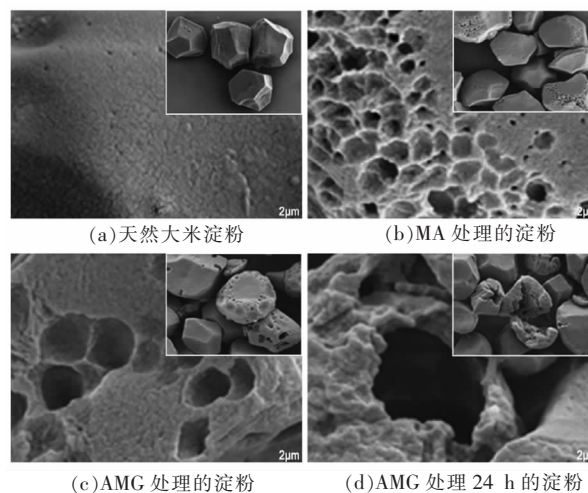


图 1 大米淀粉的 SEM 图

Fig.1 SEM images of rice starch

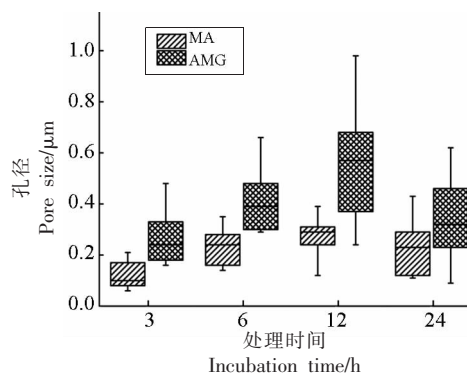


图 2 基于 SEM 图像对 MA 或 AMG 处理的多孔淀粉的孔径分析

Fig.2 Pore size analysis of porous starch treated with MA or AMG based on SEM images

由图 3 可知,酶处理后的淀粉颗粒比表面积增加,特别是经 AMG 处理后尤为明显。经过 AMG 和 MA 处理的多孔淀粉分别在处理 12 h 和 24 h 时达到最高 S_{BET} 值,其原因可能在于 MA 和 AMG 在敏感表面区域的吸收能力较强,并能够降解淀

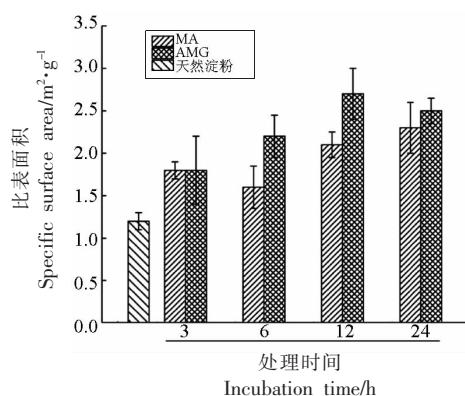


图3 不同酶处理时间的多孔淀粉的比表面积

Fig.3 Specific surface area of porous starch with different enzyme treatment time

粉颗粒的外部结构。随着外部降解,孔径变得足够宽,而内部降解是酶从颗粒表面狭窄的孔隙渗入,并向颗粒中心延伸。特别是,MA是一种内切水解酶,可有效水解淀粉颗粒内部的 α -葡聚糖链,因此,MA处理的淀粉孔隙比AMG窄、深。

为了进一步研究酶解处理对晶体和非晶态区域的影响,使用WAXS检测相对结晶度。如表1所示,AMG对照组的相对结晶度通常与天然淀粉没有区别。然而,MA的对照组与天然淀粉相比相对结晶度增加可能是由于淀粉在pH 5.5处理时导致分子重新排列所致。与相应各对照组及天然淀粉相比,所有经酶处理的淀粉相对结晶度均有所增加。随着酶处理时间的延长,经AMG处理的大米淀粉相对结晶度呈平稳增加态势,而经MA酶解的大米淀粉在3 h内,结晶度激增至28.06%。MA处理的大米淀粉12 h的相对结晶度和AMG处理的大米淀粉24 h的相对结晶度达到最高值,分别为33.26%和29.05%。随着处理时间的延长,MA会破坏结晶区,导致24 h时大米淀粉的相对结晶度降到27.79%。该结果表明,AMG虽然水解速率较慢但可以在非晶区逐渐水解,MA的水解速率较快但会破坏结晶区。

表1 不同酶处理条件下大米淀粉的特性参数

Table 1 Characteristic parameters of rice starch under different enzyme treatment conditions

样品名称	相对结晶度/%	表观直链淀粉含量/%	溶胀度/ $g \cdot g^{-1}$	溶解指数/%
天然淀粉	23.74 ± 0.17 ^a	30.58 ± 0.10 ^{ij}	2.91 ± 0.12 ^{bcd}	0.40 ± 0.09 ^b
MA-3 对照组	26.01 ± 1.19 ^d	30.95 ± 0.03 ^k	3.02 ± 0.17 ^{cde}	0.45 ± 0.11 ^b
MA-3	28.06 ± 0.54 ^e	29.93 ± 0.11 ^g	2.75 ± 0.13 ^{abc}	1.46 ± 0.18 ^{ef}
MA-6 对照组	25.65 ± 0.78 ^{cd}	30.41 ± 0.07 ⁱ	2.94 ± 0.21 ^{bcd}	0.81 ± 0.16 ^c
MA-6	27.74 ± 0.75 ^c	29.13 ± 0.09 ^{cl}	2.68 ± 0.19 ^{ab}	1.65 ± 0.25 ^{fg}
MA-12 对照组	25.32 ± 0.37 ^{bcd}	30.58 ± 0.07 ⁱ	3.09 ± 0.25 ^{de}	1.04 ± 0.29 ^d
MA-12	33.26 ± 0.56 ^f	29.01 ± 0.03 ^{bc}	2.51 ± 0.19 ^a	1.85 ± 0.09 ^g
MA-24 对照组	23.91 ± 0.15 ^{ab}	30.85 ± 0.21 ^{jk}	3.54 ± 0.14 ^g	1.31 ± 0.21 ^{de}
MA-24	27.79 ± 0.05 ^c	29.17 ± 0.12 ^{de}	2.77 ± 0.08 ^{abc}	2.57 ± 0.20 ^h
AMG-3 对照组	23.65 ± 0.09 ^a	30.89 ± 0.04 ^k	3.25 ± 0.24 ^{ef}	1.21 ± 0.17 ^d
AMG-3	25.54 ± 0.68 ^{cd}	30.65 ± 0.09 ^{ij}	2.79 ± 0.31 ^{bc}	0.42 ± 0.25 ^b
AMG-6 对照组	23.13 ± 0.21 ^a	30.20 ± 0.11 ^h	3.15 ± 0.10 ^{de}	1.09 ± 0.11 ^d
AMG-6	25.77 ± 0.59 ^{cd}	29.53 ± 0.16 ^f	2.65 ± 0.09 ^{ab}	0.40 ± 0.18 ^b
AMG-12 对照组	24.24 ± 0.08 ^{abc}	29.41 ± 0.05 ^{ef}	3.50 ± 0.28 ^{fg}	1.19 ± 0.32 ^d
AMG-12	28.79 ± 0.75 ^e	28.92 ± 0.04 ^b	2.99 ± 0.17 ^{cde}	0.13 ± 0.03 ^a
AMG-24 对照组	22.73 ± 1.56 ^a	30.53 ± 0.06 ⁱ	3.82 ± 0.29 ^h	1.87 ± 0.28 ^g
AMG-24	29.05 ± 0.17 ^c	28.78 ± 0.07 ^a	2.86 ± 0.32 ^{bcd}	0.11 ± 0.02 ^a

注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 表观直链淀粉的测定

采用碘络合法测定直链淀粉的含量,其结果见表1。天然大米淀粉含有30.58%的表观直链淀

粉,属于高直链大米淀粉。虽然酶对于表观直链淀粉含量的影响很小,但是与其对照组相比,MA和AMG均显著降低了表观直链淀粉的含量。随着酶

处理时间的增加,AMG 使表观直链淀粉含量逐渐下降,而酶处理 3 h 时,MA 对表观直链淀粉的影响更明显,降低了 2.1%。与天然淀粉相比,经 MA 和 AMG 处理的直链淀粉含量分别在 12 h 和 24 h 时达到最低值,分别降低了 5.1%和 5.9%。淀粉颗粒上外切酶的限速步骤会受非还原端的可及性影响。MA 和 AMG 都具有外切作用,而 MA 的内切作用还会切割大米淀粉的长链。因此,MA 处理的大米淀粉可导致表观直链淀粉含量下降地更快,此结果与 MA 处理后大米淀粉结晶度明显增加的结果一致。

2.3 支链淀粉的链长分布表征分析

由图 4a 可知,由于淀粉颗粒结构的复杂性,

酶处理后的支链淀粉侧链链长分布的变化较小。然而,大米淀粉的链长分布有明显的变化趋势。在酶处理时间为 3 h 时,经 AMG 处理的短支链淀粉聚合度 (Degree of polymerization, DP)6~12 减少,而 DP 13~22 增加。AMG 酶解时间为 24 h 时,由于处理时间延长,DP 21~30 (较长 B 链) 被水解,导致 DP 13~20 (较短 B 链) 增加。短支链的减少可能归因于 AMG 的外切,主要作用于淀粉颗粒外层短链的非还原端^[28]。相反,由图 4b 可知,经 MA 处理 3 h 后 DP 2~16 增加而 DP 17~40 降低。随着酶解时间的延长(24 h)此现象越来越明显。此结果可能是由于 MA 具有内切作用,主要作用于长链,产生短链,导致淀粉短支链数会增加。

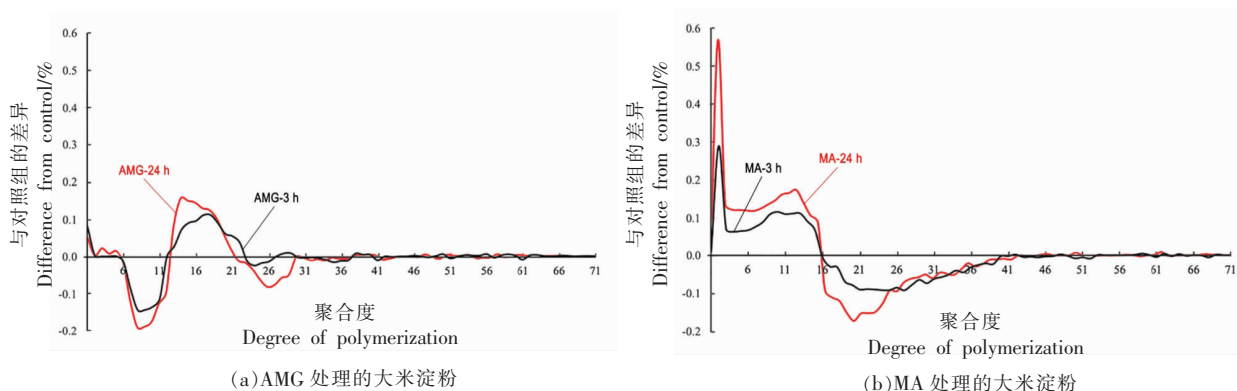


图 4 大米支链淀粉的链长分布差异图

Fig.4 Differences in chain length distribution of branched chain starch in rice

2.4 分子质量分布的表征分析

通过 SEC 法测定天然、对照和酶处理的大米淀粉的分子质量。所有待测淀粉样品均检测到高分子质量和低分子质量,分别为等级 I 和 II。对于未处理的天然样品,这些分别对应于支链淀粉和直链淀粉。结果表明,天然大米淀粉 I 级和 II 级的分子质量分别为 5.95×10^7 u 和 2.48×10^7 u。在 AMG 酶解 6 h 时,I 级的淀粉分子质量下降迅速,II 级的淀粉分子质量轻微下降,而后随着酶处理时间的延长,I 和 II 级的淀粉分子质量略有降低。与 AMG 变化趋势相反,随着酶处理时间的延长,MA 处理的淀粉分子质量会迅速下降,分别降至 0.96×10^7 u 和 0.54×10^7 u。值得注意的是,在处理时间为 6 h 时,MA 处理的淀粉分子质量高于 AMG 处理的淀粉分子质量,而 24 h 后,MA 处理的淀粉

分子质量低于 AMG 处理的淀粉,可能是由于与 α -1,4 糖苷键的快速水解速率相比,AMG 对 α -1,6 糖苷键的催化速率更慢。另外,具有内切作用的 MA 可以继续水解^[29],导致淀粉样品分子质量的持续下降。

2.5 大米淀粉的溶胀度和溶解指数

大米淀粉样品的溶胀度和溶解指数如表 1 所示。经酶处理的淀粉溶胀度显著低于相应的对照组,表明经酶修饰的大米淀粉吸水量变少。水解淀粉样品的溶胀能力受酶修饰后多孔结构变化的影响较大,经酶修饰后孔洞的内壁上会产生更多的疏水表面,从而限制与水结合的能力^[23]。由表 1 中溶解指数变化可知,经 MA 处理后淀粉颗粒溶解指数的提高可能是由于其酶解产生了小的淀粉碎片,并且这些碎片粘附在淀粉颗粒上。此结果与链

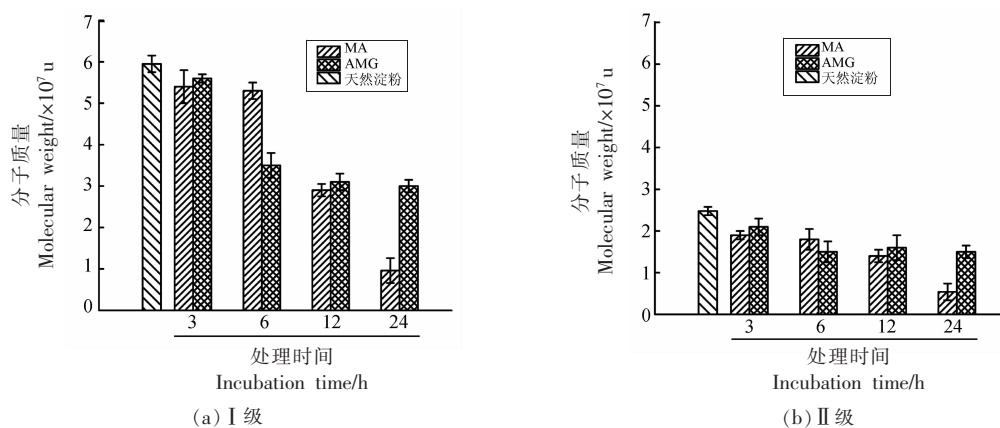


图5 I级和II级的分子质量变化

Fig.5 Changes in molecular weight of fraction I and II

长分布的结果一致,即MA处理增加了短链的数量,而AMG处理使短链数减少。MA处理的淀粉颗粒溶解指数显著增加,而AMG处理的淀粉颗粒溶解指数显著下降,此变化趋势随酶处理时间的延长而更加明显。本研究中的溶解指数是表示从淀粉中释放的固体化合物的量。AMG在外部水解支链淀粉并释放葡萄糖,使淀粉颗粒的溶解指数降低。此修饰作用可以诱导淀粉链的重组,从而生成更复杂的颗粒结构,并使淀粉颗粒释放的化合物减少^[30]。此外,所有对照组样品的溶胀度和溶解指数均高于天然淀粉。此现象可能是在修饰过程中水分渗透到淀粉颗粒中,非结晶区域受到破坏,使淀粉颗粒能够自由膨胀,并从淀粉颗粒中释放出可溶性化合物。

2.6 大米淀粉的糊化特性分析

由表2可知大米淀粉的糊化特征值。酶处理通过延迟糊化形成,进而影响淀粉的糊化特性。随酶处理时间的延长,MA处理组糊化温度升高,而AMG处理组在处理12h和24h后糊化温度升高。因为糊化过程前的吸水使淀粉颗粒的溶胀度发生改变,导致AMG和MA处理的淀粉与其对照组相比具有较低的溶胀度。与对照组相比,酶处理还降低了峰值黏度、崩解值、最终黏度和回生值。在处理时间为24h时,AMG处理的淀粉峰值黏度降低了14.9%,而MA处理的淀粉降低了30.7%。峰值黏度的下降可能是因为淀粉颗粒表面被破坏,以及延长处理时间导致颗粒被分解破碎所致。淀粉颗粒的崩解值代表颗粒的稳定性,表明淀粉

颗粒在加热过程中能更好地抵抗剪切力。经MA和AMG处理24h,淀粉颗粒结构减弱,使崩解值分别下降51.4%和26.7%。更重要的是,与对照组相比,酶处理后淀粉的回生值显著降低,并且随着处理时间的延长该值下降明显,在24h后分别下降39.4%和50.6%,表明少量的直链淀粉链降低了糊化形成能力。

2.7 大米淀粉的热力学特性

通过DSC监测推导出的热力学特征值见表3。酶处理淀粉(除AMG-6外)的初始温度(T_i)和起始温度(T_o)高于天然淀粉样品,表明糊化过程被延迟,这与表2中糊化特性结果一致。MA处理的淀粉样品中观察到 T_i 的增加不显著,而AMG处理的淀粉样品中观察到 T_i 的增加显著。较高的有序性和相对结晶度使酶处理的淀粉颗粒具有较高的结构稳定性。在酶处理的样品中发现 T_i 和 T_o 增加,这可能与溶胀度的下降有关。此外,观察到AMG样品的糊化温度范围(ΔT)显著缩小,说明淀粉颗粒均匀并发生了微晶熔融。酶处理过的淀粉比对照组的焓(ΔH)高,表明酶处理产生了诱导效应。然而,对照组的 ΔH 值低于天然大米淀粉,这可能是由于退火使得 T_i 变高,导致双螺旋重新排列。然而,重排的结果导致分子有序结构数量的减少^[24]。

3 结论

本研究首次使用麦芽糖 α -淀粉酶(MA)处理大米淀粉制备多孔淀粉,并与淀粉葡糖苷酶

表 2 不同酶处理大米淀粉的糊化特征值

Table 2 The gelatinization characteristic value of rice starch treated with different enzymes

样品名称	糊化温度/°C	峰值黏度/mPa·s	崩解值/mPa·s	最终黏度/mPa·s	回生值/mPa·s
天然淀粉	79.5 ^{ab}	2 617 ^c	552 ^{bcd}	2 918 ^{de}	841 ^e
MA-3 对照组	79.1 ^{ab}	3 027 ^{ef}	766 ^g	3 026 ^e	762 ^{de}
MA-3	79.5 ^{cd}	2 200 ^{ab}	525 ^{bc}	2 295 ^{ab}	618 ^{bcd}
MA-6 对照组	79.5 ^a	2 748 ^{cd}	699 ^{defg}	2 786 ^d	734 ^{de}
MA-6	80.3 ^{cd}	2 212 ^b	412 ^{ab}	2 272 ^{ab}	470 ^{abc}
MA-12 对照组	79.1 ^{abc}	2 997 ^{ef}	756 ^g	3 037 ^e	794 ^e
MA-12	80.7 ^d	2 196 ^{ab}	411 ^{ab}	2 306 ^{ab}	518 ^{abcd}
MA-24 对照组	79.1 ^{abc}	2 910 ^{de}	693 ^{defg}	2 939 ^{de}	719 ^{ode}
MA-24	81.1 ^c	2 017 ^a	337 ^a	2 117 ^a	436 ^{ab}
AMG-3 对照组	79.5 ^{ab}	3 113 ^f	720 ^{efg}	3 008 ^e	612 ^{bcd}
AMG -3	81.1 ^{cd}	2 718 ^{cd}	563 ^{cd}	2 575 ^c	418 ^{ab}
AMG -6 对照组	79.1 ^a	2 988 ^{ef}	719 ^{efg}	2 801 ^d	527 ^{abcd}
AMG -6	81.1 ^{cd}	2 595 ^e	606 ^{cd}	2 448 ^{bc}	456 ^{ab}
AMG -12 对照组	79.8 ^{abc}	2 962 ^{ef}	633 ^{cd}	2 774 ^d	442 ^{ab}
AMG -12	81.5 ^d	2 755 ^{cd}	591 ^{cd}	2 550 ^c	383 ^{ab}
AMG -24 对照组	79.9 ^{abc}	3 122 ^f	768 ^g	2 966 ^{de}	609 ^{bcd}
AMG -24	85.9 ^e	2 657 ^c	563 ^{cd}	2 401 ^{bc}	301 ^a

注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

表 3 不同酶处理大米淀粉的热力学特征值

Table 3 Thermodynamic characteristic values of rice starch treated by different enzymes

样品名称	初始温度 (T_i)/°C	起始温度 (T_o)/°C	峰值温度 (T_p)/°C	结束温度 (T_c)/°C	糊化温度范围 (ΔT)/°C	焓(ΔH)/ $J \cdot g^{-1}$
天然淀粉	60.2 ^a	69.6 ^{cd}	75.0 ^{def}	80.8 ^h	20.6 ^h	14.1 ^f
MA-3 对照组	64.7 ^{bc}	69.5 ^c	74.4 ^{ab}	79.6 ^{ab}	15.0 ^f	13.1 ^d
MA-3	65.6 ^{cd}	69.9 ^{de}	74.6 ^{bc}	80.0 ^{bcd}	14.5 ^{def}	14.1 ^f
MA-6 对照组	66.2 ^{defg}	70.1 ^e	74.6 ^{bc}	80.0 ^{bcd}	14.2 ^{cd}	12.5 ^c
MA-6	66.5 ^{defghi}	70.5 ^{fg}	75.0 ^{def}	80.4 ^{efgh}	13.5 ^{abcde}	14.2 ^f
MA-12 对照组	66.7 ^{efghi}	70.8 ^{ghij}	75.2 ^{efg}	80.4 ^{efgh}	13.8 ^{bcd}	11.5 ^b
MA-12	67.6 ^{ghi}	71.1 ⁱ	75.5 ^{gh}	80.6 ^{gh}	13.1 ^{abc}	14.0 ^f
MA-24 对照组	66.8 ^{efghi}	70.2 ^{ef}	75.3 ^{efgh}	80.3 ^{cd}	13.5 ^{abcde}	10.6 ^a
MA-24	67.2 ^{ghi}	71.0 ^{ij}	75.6 ^h	80.4 ^{efgh}	13.2 ^{abcd}	13.2 ^{de}
AMG-3 对照组	63.5 ^b	69.1 ^a	74.4 ^{ab}	79.9 ^{bcd}	16.5 ^g	11.0 ^{ab}
AMG -3	66.5 ^{defgh}	70.0 ^e	74.8 ^{cd}	80.3 ^{cd}	13.9 ^{bcd}	13.8 ^{ef}
AMG -6 对照组	65.1 ^c	69.1 ^a	74.1 ^a	79.3 ^a	14.2 ^{cd}	11.0 ^{ab}
AMG -6	66.4 ^{defg}	69.4 ^{bc}	74.1 ^a	79.7 ^{ab}	13.3 ^{abcd}	14.8 ^g
AMG -12 对照组	65.3 ^{cd}	70.0 ^e	75.0 ^{de}	79.9 ^{bc}	14.6 ^{ef}	10.9 ^{ab}
AMG -12	67.9 ⁱ	70.6 ^{gh}	75.1 ^{def}	80.3 ^{cd}	12.5 ^a	13.8 ^{ef}
AMG -24 对照组	65.3 ^{cd}	70.6 ^{gh}	75.6 ^h	80.3 ^{cd}	15.0 ^f	11.0 ^{ab}
AMG -24	66.8 ^{hi}	71.0 ^{ij}	75.2 ^{efg}	80.5 ^{efgh}	12.7 ^{ab}	13.1 ^d

注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

(AMG)处理的多孔大米淀粉进行对比分析。结果表明:酶处理会影响非晶形和结晶部分的颗粒结构,经酶处理的大米淀粉颗粒的相对结晶度高于天然淀粉的相对结晶度。MA特异性地增加了短支链淀粉链并使溶解指数增加。经MA和AMG处理的淀粉颗粒糊化特性降低,包括峰值黏度、崩解值、最终黏度和回生值,而糊化温度提高。酶处理过程使其相对结晶度增加进而促使淀粉颗粒的热力学特性更加稳定。本研究提供了两种不同酶对大米淀粉颗粒的不同作用机制,与天然淀粉相比,经过酶处理作用能够优化多孔大米淀粉的理化特性。在未来,麦芽糖 α -淀粉酶将会在改性淀粉制备方面受到越来越多的关注,本研究能够为麦芽糖 α -淀粉酶和淀粉葡萄糖苷酶处理的多孔大米淀粉的特性分析提供一定的理论基础。

参 考 文 献

- [1] 卢毅, 路兴花, 张青峰, 等. 稻米直链淀粉与米饭物性及食味品质的关联特征研究[J]. 食品科技, 2018, 43(10): 219-223.
LU Y, LU X H, ZHANG Q F, et al. Correlation of rice amylose with physical properties and taste quality of rice [J]. Food Science and Technology, 2018, 43(10): 219-223.
- [2] 刘传菊, 李欢欢, 汤尚文, 等. 大米淀粉结构与特性研究进展[J]. 中国粮油学报, 2019, 34(12): 107-114.
LIU C J, LI H H, TANG S W, et al. A review on structures and properties of rice starches[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2019, 34(12): 107-114.
- [3] BELINGHERI C, GIUSSANI B, RODRIGUEZ - ESTRADA M T, et al. Oxidative stability of high-oleic sunflower oil in a porous starch carrier[J]. Food Chemistry, 2015, 166(6): 346-351.
- [4] YAIZA B G, DOLORES R, ROSELL C M. Thermal stabilization of probiotics by adsorption onto porous starches [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 197: 558-564.
- [5] 王静, 毛慧佳, 李洪岩. 大米淀粉结构与质构品质的研究进展[J]. 中国食品学报, 2020, 20(1): 1-9.
WANG J, MAO H J, LI H Y. Research progress of starch structure and rice texture [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(1): 1-9.
- [6] 徐晓茹, 周坚, 吕庆云, 等. 挤压前后大米淀粉理化性质的变化[J]. 中国食品学报, 2019, 19(12): 193-200.
XU X R, ZHOU J, LÜ Q Y, et al. Changes in the physicochemical properties of rice starch before and after extrusion[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(12): 193-200.
- [7] LI H, HO V T, TURNER M S, et al. Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch[J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 74: 542-549.
- [8] XU L Y, CHEN G J, PENG C Y, et al. Adsorptive removal of fluoride from drinking water using porous starch loaded with common metal ions [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 160: 82-89.
- [9] YUSSOF N S, UTRA U, ALIAS A K. Hydrolysis of native and cross-linked corn, tapioca, and sweet potato starches at sub-gelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes [J]. Starch - Stärke, 2013, 65(3/4): 285-295.
- [10] DURA A, BIASZCZAK W, ROSELL C M. Functionality of porous starch obtained by amylase or amyloglucosidase treatments [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 101: 837-845.
- [11] CHEN G, ZHANG B. Hydrolysis of granular corn starch with controlled pore size[J]. Journal of Cereal Science, 2012, 56(2): 316-320.
- [12] GREWAL N, FAUBION J, FENG G, et al. Structure of waxy maize starch hydrolyzed by maltogenic α -amylase in relation to its retrogradation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(16): 4196-4201.
- [13] LI X L, LI D, TIAN H, et al. Reducing retrogradation of gelatinized rice starch and rice meal under low temperature storage by addition of extremely thermostable maltogenic amylase during their cooking [J]. Food Research International, 2014, 62: 1134-1140.
- [14] AO Z, SIMSEK S, ZHANG G, et al. Starch with a slow digestion property produced by altering its chain length, branch density, and crystalline structure[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(11): 4540-4547.

- [15] MIAO M, XIONG S S, YE F, et al. Development of maize starch with a slow digestion property using maltogenic α -amylase [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 103: 164–169.
- [16] LE Q T, LEE C K, KIM Y W, et al. Amylolytically-resistant tapioca starch modified by combined treatment of branching enzyme and maltogenic amylase[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 75(1): 9–14.
- [17] MARTINEZ M M, PICO J, GOMEZ M. Synergistic maltogenic α -amylase and branching treatment to produce enzyme-resistant molecular and supramolecular structures in extruded maize matrices [J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 58: 347–355.
- [18] BRUNAUNER S, EMMETT S, TELLER E J. Adsorption of gases in multimolecular layers[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1938, 60(2): 309–319.
- [19] BOONNA S, TONGTA S. Structural transformation of crystallized debranched cassava starch during dual hydrothermal treatment in relation to enzyme digestibility[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 191: 1–7.
- [20] WICKRAMASINGHE H, BLENNOW A, NODA T. Physico-chemical and degradative properties of in-planta re-structured potato starch [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 77(1): 118–124.
- [21] KLUCINEC J D, THOMPSON D B. Fractionation of high-amylose maize starches by differential alcohol precipitation and chromatography of the fractions [J]. *Cereal Chemistry*, 1998, 75(6): 887–896.
- [22] ROSELL C M, YOKOYAMA W, SHOEMAKER C. Rheology of different hydrocolloids-rice starch blends. Effect of successive heating-cooling cycles [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(1): 373–382.
- [23] DURA A, ROSELL C M. Physico-chemical properties of corn starch modified with cyclodextrin glycosyltransferase [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 87: 466–472.
- [24] BENAVENT-GIL Y, ROSELL C M. Morphological and physicochemical characterization of porous starches obtained from different botanical sources and amylolytic enzymes [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 103: 587–595.
- [25] ZHAO A Q, YU L, YANG M, et al. Effects of the combination of freeze-thawing and enzymatic hydrolysis on the microstructure and physicochemical properties of porous corn starch [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 83(10): 465–472.
- [26] 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.
- [27] BENAVENT-GIL Y, ROSELL C M. Comparison of porous starches obtained from different enzyme types and levels [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 157: 533–540.
- [28] ERIC B. Understanding starch structure: Recent progress [J]. *Agronomy*, 2017, 7(3): 56–57.
- [29] MERTENS J A, SKORY C D. Isolation and characterization of a second glucoamylase gene without a starch binding domain from *Rhizopus oryzae* [J]. *Enzyme & Microbial Technology*, 2007, 40(4): 874–880.
- [30] XIE Y, LI M N, CHEN H Q, et al. 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.

Effects of Different Enzyme Treatments on the Properties of Porous Rice Starch

Wang Cuiling¹, Dai Changjun¹, Wang Jing¹, Liu Qing², Dong Xiaohui², Shi Dongmei^{*},
Pan Bo¹, Sun Lirong¹, Li Wan¹

¹Quality and Safety Institute of Agricultural Products, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150000
²Suihua Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suihua 152000, Heilongjiang)

Abstract Porous rice starches were prepared using maltose α -amylase (MA) and amyloglucosidase (AMG), respectively, and their characterisation was compared and analysed. Scanning electron microscopy showed that both enzymes produced a honeycomb-like porous structure on the surface of starch granules. The relative crystallinity of the enzymatically

treated rice starch granules was higher (25.54%–33.26%) than that of the natural starch (23.74%). The MA treatment increased the number of short-branched starch chains and reduced the molecular mass with increasing enzyme treatment time. The solubility, apparent straight-chain starch content, peak viscosity, disintegration value, final viscosity and re-generation value of starch granules decreased in both MA- and AMG-treated starch granules compared to the control. The solubility of starch granules from the MA treatment was higher (1.46%–2.57%) and the solubility of starch granules from the AMG treatment were both less than 0.42%. Compared to the control, the starch paste temperature of the enzyme-treated rice would be delayed by 0.8–6.0 °C, with an increase in enthalpy change in the range of 1.0 to 3.8 J/g.

Keywords porous rice starch; maltogenic α -amylase; amyloglucosidase; structure characterization; characteristic analysis