

Optimization of Enzymolysis Conditions for Treatment of Wheat Germ Starch Using Response Surface Methodology

Yunfang Ye, Yong Liu*, Miaomiao Wang, Junhui Wang

School of Food and Biotechnology Engineering, Hefei University of Technology, Hefei Anhui
Email: 1663112905@qq.com, *liuyong@hfut.edu.cn

Received: Oct. 8th, 2018; accepted: Oct. 24th, 2018; published: Oct. 31st, 2018

Abstract

Based on the four single-factor experiments, namely enzyme dosage, solid-liquid ratio, temperature and time, the optimization of enzymolysis conditions for treatment of wheat germ starch by α -amylase was studied using response surface methodology. A second-order mathematic model for the enzymolysis of wheat germ starch was established by statistical methods. The results showed that the optimal enzymolysis conditions were as follows: the enzyme dosage of 44 U/mL at 88°C for 70 min. Under the optimal enzymolysis conditions, the reducing sugar content was obtained to $(14.75 \pm 0.36)\%$. The optimized enzymolysis conditions were proved reasonable and feasible, which can provide a theoretical basis for the development of wheat germ solid beverages.

Keywords

Wheat Germ, Enzymolysis, Response Surface Methodology, Process Optimization

响应面实验优化小麦胚芽淀粉酶解工艺

叶云芳, 刘 咏*, 汪苗苗, 王军辉

合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽 合肥
Email: 1663112905@qq.com, *liuyong@hfut.edu.cn

收稿日期: 2018年10月8日; 录用日期: 2018年10月24日; 发布日期: 2018年10月31日

摘 要

在加酶量、料液比、酶解时间及酶解温度四个单因素试验的基础上, 运用响应面分析法, 以小麦胚芽中
*通讯作者。

还原糖含量为评价指标,对 α -淀粉酶酶解小麦胚芽中淀粉的最佳工艺进行了研究,并利用统计学方法建立了 α -淀粉酶酶解小麦胚芽淀粉的二次多项数学模型。结果表明,最佳酶解条件为:酶添加量44 U/mL,酶解温度88℃,酶解时间70 min。在此条件下酶解产物的还原糖含量达(14.75 ± 0.36)%。该试验用响应面法优选出的酶解工艺合理可行,为小麦胚芽固体饮料的开发提供了理论依据。

关键词

小麦胚芽, 酶解, 响应面法, 工艺优化

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

小麦胚芽又称麦芽粉、胚芽,金黄色颗粒状,是小麦发芽和生长的器官,约占小麦籽粒重量的2%~3% [1]。小麦胚芽富含高品质蛋白质和脂肪酸、维生素E、B1和膳食纤维以及生理活性物质如黄酮类化合物和甾醇,营养价值非常的高[2]。但是由于小麦胚芽高灰分和色泽的影响,若将其混入面粉中,会影响面粉的色泽,也不利于面粉的长期贮藏。因此在小麦制粉过程中胚芽往往被脱除,作为下脚料扔掉或用作饲料[3]。

目前国内外对小麦胚芽的综合开发利用有很多,包括麦胚面制品、麦胚豆制品以及小麦胚芽油等[4]。葛焕生[5]等通过优化小麦胚芽饮料加工工艺,研制出一种利于人体生理健康的天然饮料,提高了小麦胚芽的综合利用率。但是,由于小麦胚芽中含有的淀粉在经过加热后易糊化,糊化后的淀粉容易老化产生沉淀或分层,造成制成的饮料溶解性差[6][7]。用 α -淀粉酶处理小麦胚芽中的淀粉,使其生成小分子糊精和还原糖[8],制成后的饮料溶解性比较理想。而且降低了物料的黏度,有利于小麦胚芽固体饮料制作后期喷雾干燥制粉的工艺过程。

本实验以超微粉碎的小麦胚芽粉为原料,采用 α -淀粉酶进行小麦胚芽淀粉的酶解,在单因素实验的基础上,运用响应面法优化酶解条件。旨在解决淀粉引起的饮料溶解性问题,为实现规模化生产营养健康的小麦胚芽饮料提供一定的理论基础。

2. 材料与方法

2.1. 材料与试剂

新鲜小麦胚芽购自河南省驻马店汝南县,将小麦胚芽放置在温度为-20℃的冰箱内,保存备用。

α -淀粉酶: 国药集团化学试剂有限公司。其他试剂均为分析纯。

2.2. 试验方法

2.2.1. 小麦胚芽粉的制备

将小麦胚芽放入干燥箱中烘干,使用超微粉碎机将干燥的小麦胚芽粉碎15 min,过100目筛,得到小麦胚芽粉。

2.2.2. 单因素实验

将 α -淀粉酶加入到小麦胚芽粉溶液中,进行酶解条件的单因素实验。 α -淀粉酶加入量为10~50 U/mL,

料液比为 1:8~1:16, 酶解时间为 30~90 min, 酶解温度为 80℃~100℃, 逐个考察不同单因素酶解条件对还原糖含量的影响。

2.2.3. 响应面优化实验设计

根据单因素试验结果,以 α -淀粉酶的添加量、酶解时间和酶解温度为影响因素,酶解后的产物还原糖含量为响应值,采用 Design-Expert. V8.0.6 软件进行响应面优化实验。

2.2.4. 测定指标与方法

还原糖含量的测定采用 DNS 比色法[9]。

2.3. 数据处理与统计分析

采用 Excel 2010 和 应用统计分析软件 Origin 9.0 对实验数据进行整理和分析,同时采用 Design-Expert. V8.0.6 统计软件进行响应面优化分析。

3. 结果与讨论

3.1. 单因素实验结果

3.1.1. 酶添加量对还原糖含量的影响

在料液比 1:12, 酶解温度为 90℃ 的小麦胚芽粉溶液中,分别按酶添加量为 10、20、30、40、50 U/mL 加入 α -淀粉酶水解 60 min。冷却至室温,取离心后的上清液测定还原糖含量,结果见图 1。当酶添加量较低时,小麦胚芽酶解液中还原糖含量呈现显著增大的趋势。这可能是因为酶解反应的初期,反应速率与酶含量成正比。增加酶含量,底物与酶充分接触、结合,淀粉颗粒迅速被降解成小分子的糖类,因此酶解液中还原糖含量不断增加。当继续增加酶浓度时,底物与酶分子的结合程度达到饱和,没有更多的接触位点与底物结合反应,还原糖含量趋于平缓。因此, α -淀粉酶酶添加量最适宜单因素浓度为 40 U/mL,可得还原糖含量为(6.40 ± 0.009)%。

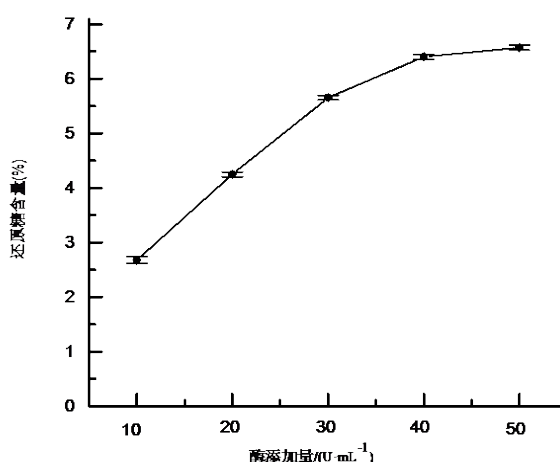


Figure 1. Effect of enzyme dosage on reducing sugar content
图 1. 加酶量对还原糖含量的影响

3.1.2. 料液比对还原糖含量的影响

在加酶量为 40 U/mL, 酶解温度为 90℃, 酶解时间 60 min 的条件下,研究料液比 1:8、1:10、1:12、1:14、1:16 对酶解反应还原糖含量的影响。冷却至室温,取离心后的上清液测定还原糖含量,结果如图

2 所示。随着溶剂用量的增加,还原糖含量逐渐增大,当料液比在 1:10 时,还原糖含量达到最大值。随后再增大溶剂用量,还原糖含量随之降低。这可能是由于较大的料液比将淀粉酶和底物浓度稀释,酶解效果反而下降。因此,最适宜的料液比为 1:10,还原糖含量为 $(9.48 \pm 0.013)\%$ 。

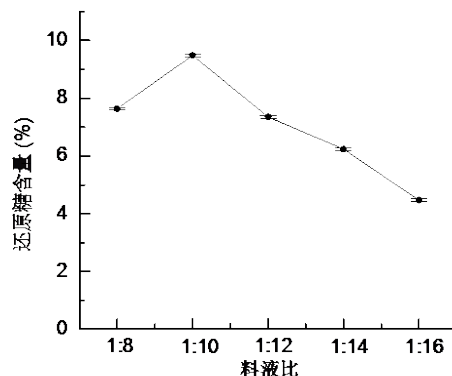


Figure 2. Effect of solid-liquid ratio on reducing sugar content

图 2. 料液比对还原糖含量的影响

3.1.3. 酶解时间对还原糖含量的影响

选取最适宜料液比 1:10、加酶量为 40 U/mL 的小麦胚芽液,酶解温度 90℃,考察酶解时间分别为 30、45、60、75、90 min 对酶解反应还原糖含量的影响。冷却至室温,取离心后的上清液测定还原糖含量,结果见图 3。随着酶解时间的延长,还原糖含量先逐渐增大,超过 60 min 后还原糖含量随时间延长而逐渐降低,在 60 min 时出现最大值。酶解时间增加还原糖含量反而降低,可能是由于底物浓度的降低和产物的增加对反应的抑制作用。所以,最适酶解时间为 60 min,还原糖含量为 $(11.62 \pm 0.002)\%$ 。

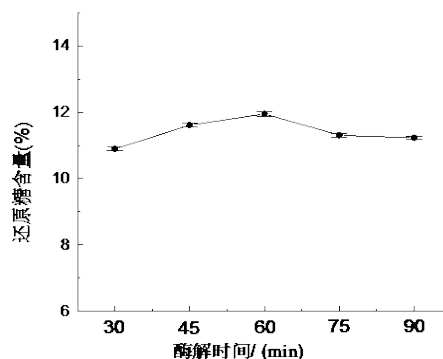


Figure 3. Effect of enzymatic time on reducing sugar content

图 3. 酶解时间对还原糖含量的影响

3.1.4. 酶解温度对还原糖含量的影响

选取最适宜料液比 1:10、加酶量为 40 U/mL 的小麦胚芽液以最适酶解时间 60 min,在 80℃-100℃的温度梯度下分别进行酶解反应。冷却至室温,取离心后的上清液测定还原糖含量,结果见图 4。在 80℃~90℃范围内,还原糖含量随着温度的上升而增加,这可能是由于淀粉在加热条件下吸水膨胀,更容易与淀粉酶接触反应。继续增加酶解温度,还原糖含量降低,这可能是由于高温下部分 α -淀粉酶失活,酶解反应下降。所以,最适酶解温度为 90℃,其还原糖含量为 $(13.75 \pm 0.003)\%$ 。

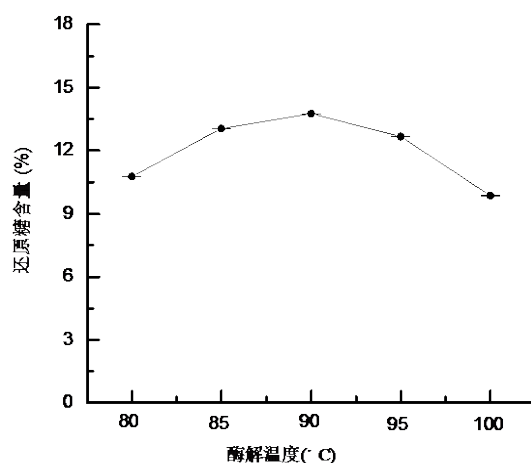


Figure 4. Effect of enzymatic temperature on reducing sugar content

图 4. 酶解温度对还原糖含量的影响

3.2. 响应面法优化酶解条件

3.2.1. 响应面法优化实验设计

以 α -淀粉酶加酶量、酶解时间及酶解温度为影响因素，酶解产物还原糖含量为响应值，采用 Design-Expert. V8.0.6 软件进行设计与分析，通过响应面法优化酶解工艺，实验因素水平设计见表 1。

Table 1. Factors and levels used in Box-Behnken experimental design

表 1. Box-Behnken 试验设计因素及水平

因素	水平		
	-1	0	1
A 酶添加量/(U·mL ⁻¹)	35	40	45
B 酶解温度/(°C)	85	90	95
C 酶解时间/(min)	50	60	70

3.2.2. 响应面法的实验设计与结果

根据 Box-Behnken 试验设计原理，结合单因素实验结果，酶解工艺响应面优化的数据结果如表 2 所示。

Table 2. BBD and results for amylase hydrolysis

表 2. 酶解反应响应面优化设计与试验结果

试验号	A:酶添加量/(U·mL ⁻¹)	B:酶解温度(°C)	C:酶解时间/(min)	还原糖含量%
1	1 (45)	1 (95)	0 (60)	12.97
2	1	0 (90)	1 (70)	14.74
3	0 (40)	0	0	13.65
4	-1 (35)	-1 (85)	0	11.45
5	0	-1	-1 (50)	10.64
6	0	0	0	13.86

Continued

7	0	0	0	13.95
8	0	1	1	14.45
9	0	0	0	14.04
10	-1	1	0	12.17
11	0	1	-1	11.94
12	-1	0	1	13.05
13	0	-1	1	14.05
14	1	0	-1	12.02
15	0	0	0	14.32
16	1	-1	0	13.86
17	-1	0	-1	10.55

根据表 2 结果,利用 Design-Expert. V8.0.6 软件建立小麦胚芽粉酶解液还原糖含量(Y)对酶添加量(A)、酶解温度(B)、酶解时间(C)的二次多项回归模型: $Y = 13.964 + 0.79625A + 0.1925B + 1.39125C - 0.4025AB + 0.055 AC - 0.2225BC - 0.7645A^2 - 0.587B^2 - 0.6095C^2$ 。

还原糖含量(%)在回归方程中, A、B、C 变量的正系数表明该变量的正向变化能引起响应值的增加, 负的二次项的系数表明方程的抛物面开口向下, 具有极大值点, 能够进行最优分析[10]。

3.2.3. 模型的建立与显著性检验

利用 Design-Expert. V8.0.6 软件对各试验条件下的数据结果(表 2)进行二次多元回归拟合, 得到了方差分析结果, 如表 3 所示。

Table 3. ANOVA for the fitted quadratic polynomial model on amylase hydrolysis

表 3. 酶解反应响应面模型的方差分析

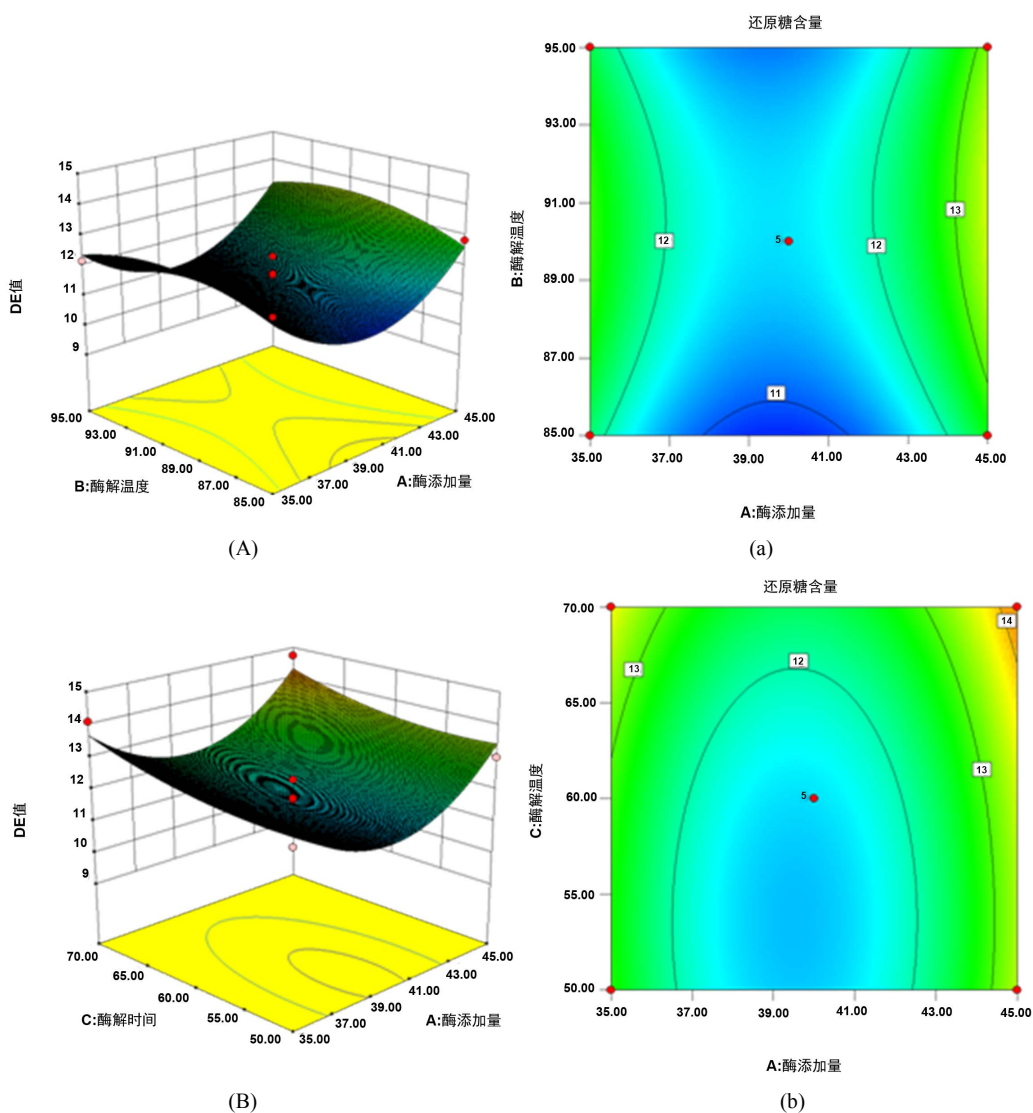
Source	SS	Df	MS	F-Value	Prob > F	显著性
Model	27.82	9	3.09	29.09	<0.0001	**
A	5.07	1	5.07	47.74	0.0002	**
B	0.3	1	0.3	2.79	0.1388	
C	15.48	1	15.48	145.74	<0.0001	**
AB	0.65	1	0.65	6.1	0.0429	*
AC	0.01	1	0.01	0.12	0.7457	
BC	0.2	1	0.2	1.86	0.2144	
A ²	2.46	1	2.46	23.16	0.0019	**
B ²	1.45	1	1.45	13.65	0.0077	**
C ²	1.56	1	1.56	14.72	0.0064	**
失拟项	0.5	3	0.17	2.76	0.1756	
纯误差	0.24	4	0.06			
总和	28.56	16				
R ²	0.97					
R ² _{Adj}	0.94					
R ² _{Pred}	0.71					
Adeq Precision	17.5					

注: **P < 0.01, 差异极显著; *P < 0.05, 差异显著。

利用 Design-Expert. V8.0.6 软件进行二次多元回归拟合, 由软件失拟项测试推荐的二次模型拟合实验数据, 采用二次模型进行变异分析。回归方程中各变量对响应值(还原糖含量)影响的显著性由 F 检验来判定, 概率 P 的值越小, 则相应变量的显著程度越高[11]。由表 3 方差分析结果可知, 总回归方程模型 F 检验 p 值 < 0.0001 , 达到极显著的水平。决定系数 $R^2 = 0.97$, 纯误差 = 0.06, 说明该模型与实际值拟合良好。并且回归方程的失拟项 = 0.1756 (> 0.05), 失拟性不显著, 说明未知因素对实验结果干扰很小, 可以用于优化小麦胚芽淀粉酶解实验的理论预测。A ($p = 0.0002$)、C ($p < 0.0001$) 这 2 个因素对试验模型是极显著的。这 3 个因素对酶解反应还原糖含量影响大小排序依次是 $C > A > B$, 即酶解时间 $>$ 酶添加量 $>$ 酶解温度。

3.2.4. 各因素交互作用对还原糖含量的响应面分析

通过观察图 5 中响应面的变化情况和等高线的稀疏程度可直观地反映酶添加量(A)、酶解温度(B)、酶解时间(C)之间的交互作用对小麦胚芽淀粉酶解后的还原糖含量的影响, 当等高线呈椭圆形或马鞍形时表示两因素交互作用显著, 而呈圆形则表示两因素交互作用不显著[12]。



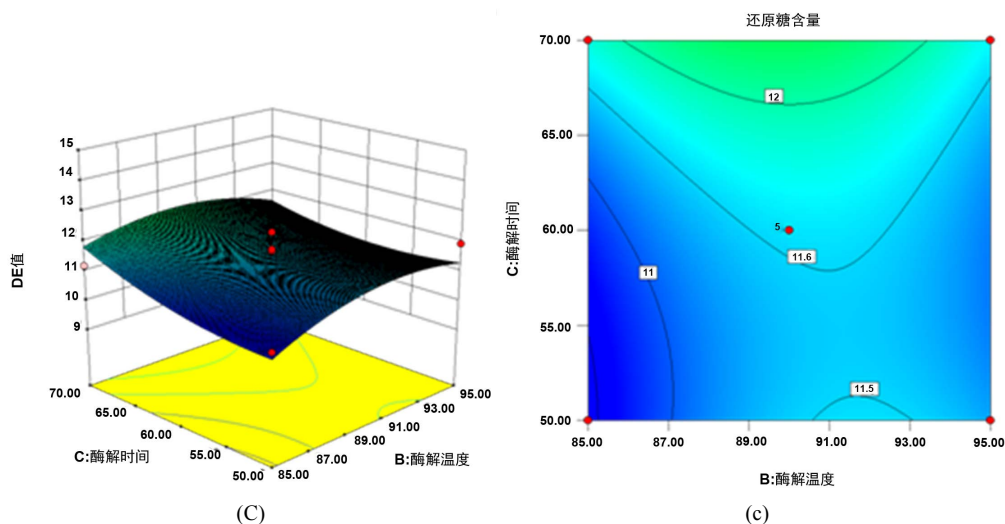


Figure 5. 3D-response surface plots (A), (B), (C) and contour plots (a), (b), (c) for amylase hydrolysis (a) Enzyme dosage and temperature; (b) Enzyme dosage and time; (c) Temperature and time

图 5. 酶解反应三维响应面(A)、(B)、(C)和二维等高线图(a)、(b)、(c), (a) 酶添加量与酶解温度; (b) 酶添加量与酶解时间; (c) 酶解温度与酶解时间

由图 5(a)可知, 酶添加量的变化曲面比酶解温度的变化曲面陡峭, 说明酶解温度比酶解时间的影响更显著一些, 与方差分析结果相符。由图 5(b)可知, 酶解时间的变化曲面和酶添加量的变化曲面均较陡峭, 说明酶解时间和酶添加量对还原糖含量的影响均较显著, 与方差分析结果相符。由图 5(c)可知, 酶解时间的变化曲面较陡峭, 相比之下, 酶解温度的变化曲面平缓一些, 说明酶解时间较酶解温度对还原糖含量的影响显著, 与方差分析结果相符。

3.2.5. 最佳条件的确定和回归模型的验证

响应面曲线及其等高线分析, 模型方程优化求解表明, 小麦胚芽酶解最佳工艺条件为酶添加量为 44.05 U/mL, 酶解温度为 88.35℃, 酶解时间为 69.80 min, 在此条件下得到的还原糖含量为 14.98%。实际操作中稍作调整确定的最佳工艺条件为酶添加量 44 U/mL, 酶解温度 88℃, 酶解时间 70 min, 在此条件下进行验证实验, 得到的还原糖含量为(14.75 ± 0.36)%, 与模型的预测值基本相符。

4. 结论

本研究在单因素实验的基础上, 通过响应面软件优化 α -淀粉酶对小麦胚芽酶解反应后, 获得的小麦胚芽最优酶解条件为酶添加量 44 U/mL、酶解温度 88℃和酶解时间 70 min, 得到的还原糖含量为(14.75 ± 0.36)%。获得还原糖含量与酶解条件各因素变量的二次方程模型, 该模型回归显著, 对试验拟合程度好, 表明小麦胚芽淀粉酶解条件的优化准确可靠。

参考文献

- [1] 徐斌. 微波辐射对小麦胚芽的稳定化作用机制及其应用研究[D]: [博士学位论文]. 镇江: 江苏大学, 2011.
- [2] Gili, R.D., Irigoyen, R.M.T., Penci, M.C., *et al.* (2017) Physical Characterization and Fluidization Design Parameters of Wheat Germ. *Journal of Food Engineering*, **212**, 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.011>
- [3] 王茜, 马娇, 陶海腾, 等. 小麦胚芽营养价值分析及开发利用[J]. 农产品加工, 2013(5): 13-15.
- [4] 葛毅强, 孙爱东, 蔡同一. 麦胚食品的研制开发[J]. 山东农业大学学报, 2001, 32(2): 207-211.
- [5] 葛焕生, 李书国, 于新. 小麦胚芽饮料的制作工艺研究[J]. 食品工程·技术, 2010(9): 93-95.

- [6] 李忠海, 刘建军, 钟海雁, 等. 响应面法优化甘薯淀粉酶解条件的研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(10): 64-69.
- [7] 高义霞, 路兴旺, 吴亚楠. 响应面法优化荸荠淀粉酶解工艺及动力学研究[J]. 食品工业科技, 2015(8): 215-218.
- [8] 张佳艳, 熊建文, 李嘉琪, 等. 马铃薯交联淀粉酶解工艺的研究[J]. 食品工业, 2018, 39(3): 4-7.
- [9] 李湘江, 杨丹, 邢家溧, 等. α -淀粉酶和 γ -淀粉酶水解麦麸淀粉工艺优化[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(2): 447-451.
- [10] 万阅, 齐计英, 曾红, 等. 响应面法优化香菇多糖的超声辅助提取工艺[J]. 生物技术通报, 2015, 31(1): 79-85.
- [11] 周思思, 王榆元, 刘丹, 等. 超声波辅助提取人参花多糖工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 76-81.
- [12] 李斌, 雷月, 孟宪军, 等. 响应面法优化超声波辅助提取蓝靛果多酚工艺及其抗氧化活性[J]. 食品科学, 2015, 36(22): 33-39.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2166-613X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjfn@s@hanspub.org