

超声辅助酶法提取麻栎树籽淀粉工艺优化及理化特性分析

陈 晖, 杨晓聪, 王 清, 王梦媛, *陈 龙

(信阳农林学院 食品学院, 河南省大别山特色食物资源综合利用工程技术研究中心, 河南 信阳 464000)

摘要:以麻栎树籽为原料, 优化超声辅助碱性蛋白酶提取麻栎树籽淀粉工艺, 并研究其理化特性。以淀粉提取率为评价指标, 在单因素试验的基础上通过正交试验优化麻栎树籽淀粉提取条件, 并对提取后的麻栎树籽淀粉理化特性进行分析。结果表明, 最佳工艺为超声时间 120 min, 提取温度 45 ℃, 酶添加量 0.4%, 在该条件下测得麻栎树籽淀粉提取率为 80.51%。制得的麻栎树籽淀粉冻融稳定性较差, 析水率高达 74.47%, 淀粉糊透光率较低、弹性较大, 故麻栎树籽淀粉适合加工成凉粉、果冻类食品, 不适合应用于冷冻食品中。

关键词:麻栎树籽淀粉; 超声辅助; 碱性蛋白酶; 提取; 理化性质

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

doi: 10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2023.10.038

Optimization of Ultrasonic Assisted Enzymatic Extraction Technology and Analysis of Physicochemical Properties of *Quercus acutissima* Carruth. Seed Starch

CHEN Hui, YANG Xiaocong, WANG Qing, WANG Mengyuan, *CHEN Long

(Food College, He'nan Province Dabie Mountain Characteristic Food Resources Comprehensive Utilization Engineering Technology Research Center, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang, He'nan 464000, China)

Abstract: Using *Quercus acutissima* Carruth. seeds as raw materials, the process of ultrasonic assisted alkaline protease extraction of *Quercus acutissima* Carruth. seed starch was optimized, and its physicochemical properties were studied. Based on the evaluation index of starch extraction rate, the extraction conditions of *Quercus acutissima* Carruth. seed starch was optimized through orthogonal experiments on the basis of single factor experiments, and the physicochemical properties of the extracted *Quercus acutissima* Carruth. seed starch were analyzed. The results showed that the optimal process was ultrasound time of 120 min, extraction temperature of 45 ℃, and enzyme addition of 0.4%. Under these conditions, the extraction rate of *Quercus acutissima* Carruth. seed starch was 80.51%. The prepared *Quercus acutissima* Carruth. seed starch had poor freeze-thaw stability, with a water precipitation rate of up to 74.47%. The starch paste has low transparency and high elasticity. Therefore, *Quercus acutissima* Carruth. seed starch was suitable for processing into cold jelly and jelly foods, and is not suitable for use in frozen foods.

Key words: *Quercus acutissima* Carruth. seed starch; ultrasound assisted; alkaline protease; extrac; physicochemical characteristics

麻栎属于壳斗科栎属植物^[1], 我国麻栎树籽资源丰富, 分布范围十分广泛。麻栎树籽是壳斗科栎属植物橡树的果实, 外壳坚硬, 棕色, 内仁如板栗仁, 富含淀粉, 淀粉含量可达 50%~70%, 仅次于谷类而高于豆类^[2], 是很好的天然淀粉资源。麻栎树籽淀粉是麻栎树籽最主要的应用资源, 可用于饲料加工^[3]、

发酵生产酒精^[4], 也可用于食品生产^[5]。目前, 我国麻栎树籽淀粉生产多为碱法和乙醇提取法, 碱法提取的淀粉提取率较高且工艺简单, 会产生很大的用水量及废水量, 严重时会对环境造成污染^[6]。乙醇提取法的淀粉提取率较低, 蛋白质及其他杂质含量较高, 并且乙醇使用量大。因此, 亟需对麻栎树籽淀

收稿日期: 2023-06-13

基金项目:河南省科技攻关项目 (212102110314); 河南省高等学校重点科研项目 (23B550006); 信阳农林学院 2019 年度学校青年基金项目 (2019LG002); 2022 信阳农林学院科技创新团队 (XNKJTD-001); 信阳农林学院高水平科研孵化基地建设基金项目 (FCL202110)。

作者简介:陈 晖 (1993—), 女, 硕士, 助教, 研究方向为食品功能因子与保健机理。

***通讯作者:**陈 龙 (1989—), 男, 硕士, 讲师, 研究方向为食品加工与安全。

粉传统提取工艺进行优化,以提高麻栎树籽淀粉的提取率。

超声辅助提取法主要是利用超声波产生的热效应和空化效应使得物料中的纤维素和蛋白质加快分离,以提高淀粉的提取率^[7-8],在淀粉提取方面应用较为普遍。现阶段,关于超声辅助酶法提取麻栎树籽淀粉的研究鲜见报道,基于此,以麻栎树籽为原料,采用超声辅助酶法提取其中的淀粉,进行超声时间、提取温度、酶用量、料液比4个单因素试验,选择影响较大的因素进行正交试验,研究各因素对麻栎树籽淀粉提取率的影响,以获得一个最佳工艺条件,并对提取的麻栎树籽淀粉的溶解性、冻融稳定性、透光率等理化特性进行分析,以期为麻栎树籽淀粉的精深加工提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

麻栎树籽,采自河南信阳市董家河镇;碱性蛋白酶(200 000 U/g),上海源叶生物有限公司提供;浓硫酸(AR)、高锰酸钾(AR)、硫酸铜(GR)、氢氧化钠(AR)、无水乙醇(AR)、盐酸(AR),天津大茂化学试剂厂提供。

1.2 仪器与设备

SB-1200DTY型超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司产品;TDL-40B型离心机,上海安亭科学仪器厂产品;QZ165型鼓风干燥箱,上海跃进医疗器械厂产品;A390型紫外可见分光光度计,翱艺仪器(上海)有限公司产品;TMS-PRO型质构仪,美国FTC公司产品;DZKW型电热恒温水浴锅,凯丰集团有限公司产品;WTC20002型电子天平,杭州万特衡器有限公司产品。

1.3 试验方法

1.3.1 麻栎树籽脱单宁处理

挑选无虫、无霉的麻栎树籽烘干,然后去壳粉碎过120目筛备用。参考薛文艳等人^[9]的方法稍作修改,对麻栎树籽粉末进行脱单宁处理。取一定量麻栎树籽粉末按1:20(g:mL)料液比加入质量分数为0.5%的NaOH溶液搅拌处理,每隔6h除去上清液,重复3次,将沉淀置于55℃鼓风干燥箱中干燥,然后粉碎过120目筛备用。

1.3.2 单因素试验

取脱单宁后的麻栎树籽粉10g,研究料液比(g:mL)1:3,1:4,1:5,1:6,1:7;碱性蛋白酶添加量0.2%,0.3%,0.4%,0.5%,0.6%;超声时间40,60,80,100,120min;提取温度35,40,45,50,55℃对麻栎树籽淀粉提取率的影响。

1.3.3 正交试验设计

根据单因素试验结果,以麻栎树籽淀粉提取率

为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交表对超声时间(A)、酶解温度(B)、酶添加量(C)3个因素进行正交优化试验,以获得最佳提取条件。

正交试验因素与水平设计见表1。

表1 正交试验因素与水平设计

水平	A 超声时间 t / min	B 提取温度 θ / ℃	C 酶添加量 / %
1	-1	-1	-1
2	0	0	0
3	1	1	1

1.3.4 单宁残留量测定

参照刘瑞亮^[10]的方法测定脱单宁后的麻栎树籽粉中单宁残留量,绘制单宁酸标准曲线为 $Y=87.135X-0.0286$, $R^2=0.996$ 。按照公式(1)计算单宁残留量。

$$W = \frac{C \times N \times V}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中:W——单宁残留量,%;

C——标准曲线所得的单宁质量浓度,mg/mL;

N——稀释倍数;

V——浸提液体积,mL;

m——样品质量,g。

1.3.5 淀粉提取率测定

按照公式(2)计算淀粉提取率。

$$\text{淀粉提取率} = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (2)$$

式中: m_1 ——麻栎树籽淀粉质量,g;

m_2 ——脱单宁后麻栎树籽淀粉质量,g。

1.3.6 麻栎树籽淀粉理化性质分析

(1)冻融稳定性分析。参照李梁等人^[11]的方法略作修改,将质量分数6%的麻栎树籽淀粉溶液置于100℃水浴中加热糊化,取出冷却至室温。取10mL于离心管中,加盖冷藏24h。取出后自然解冻并称重,记为 m_3 ,以转速4000r/min离心25min,除去上清液,用滤纸将沉淀物中多余的水分除去并称重,记为 m_4 ,析水率计算见公式(3)。

$$\text{析水率} = \frac{m_3 - m_4}{m_3} \times 100\% \quad (3)$$

式中: m_3 ——麻栎树籽淀粉质量,g;

m_4 ——脱水后麻栎树籽淀粉质量,g。

(2)凝沉特性分析。参照高丽琼等人^[12]的方法对麻栎树籽淀粉的凝沉特性进行测定。

(3)凝胶质构分析。参照张晶等人^[13]的方法略作修改,将质量分数12%的麻栎树籽淀粉液置于100℃水浴中糊化25min,取出冷却至室温,然后冰箱冷藏24h。测试前将凝胶从冰箱取出在室温下平衡1h,选择TPA模式,P5探头,质构条件为触发力20N,测试速率60mm/min,下压距离5.0mm。测后的上升速度5mm/s,2次测定时间间隔为3s。测定指标包括硬度、黏附性、弹性。

(4) 透光率分析。参照丁卫英等人^[14]的方法稍作修改,将质量分数1%的麻栎树籽淀粉液置于100℃水浴加热35 min,取出冷却至室温,利用分光光度计测定其在波长650 nm处的透光率。

(5) 溶解度和膨胀度分析。参考白婷等人^[15]和朱巧巧^[16]的方法略作修改,分别将质量分数为3%的麻栎树籽淀粉液置于50, 60, 70, 80, 90, 100℃水浴搅拌30 min,冷却至室温,以转速4 000 r/min离心20 min,将上层清液水浴蒸干、烘干后称质量,按照公式(4)计算溶解度,沉淀物称质量按照公式(5)计算膨胀度。

$$\text{溶解度}(S)=\frac{m_6}{m_5} \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{膨胀度}(B)=\frac{m_7}{m_5(1-S)} \times 100\% \quad (5)$$

式中: m_6 ——上层清液烘干后剩余物质量, g;

m_7 ——沉淀物质量, g;

m_5 ——淀粉干基质量, g。

1.3.7 数据处理

所有试验重复3次,试验结果使用SPSS 26软件和Minitab 18软件进行处理,使用Origin 2021软件绘图。

2 结果与分析

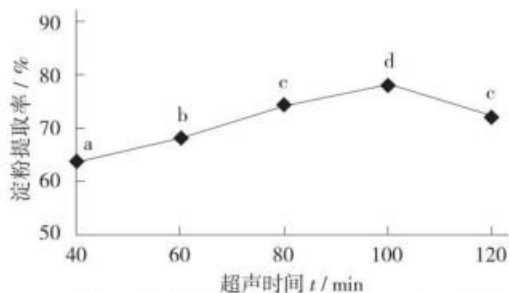
2.1 麻栎树籽粉脱单宁处理效果

经质量分数为0.5%的NaOH溶液进行脱单宁处理后的麻栎树籽粉中单宁残留量为0.115%,与传统麻栎树籽脱单宁方法相比,可减少用水量,缩短处理时间^[17]。

2.2 单因素试验结果分析

2.2.1 超声时间对麻栎树籽淀粉提取率的影响

超声时间对麻栎树籽淀粉提取率的影响见图1。



注: 不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。下同。

图1 超声时间对麻栎树籽淀粉提取率的影响

由图1可知,随着超声时间的延长,麻栎树籽淀粉提取率呈先显著增大 ($p < 0.05$) 后显著减小 ($p < 0.05$) 的趋势,超声时间为100 min时,淀粉提取率最高,达到78.39%。可能是由于超声波产生的热效应和空化效应使蛋白质颗粒与麻栎树籽淀粉之间的结合力降低,碱性蛋白酶能更好地将蛋白质水

解除去,淀粉提取率上升,而随着超声时间延长,脱除蛋白的淀粉更容易溶胀并水解^[18],使得淀粉提取率下降。因此,选择80, 100, 120 min的超声时间作为正交水平。

2.2.2 提取温度对麻栎树籽淀粉提取率的影响

提取温度对麻栎树籽淀粉提取率的影响见图2。

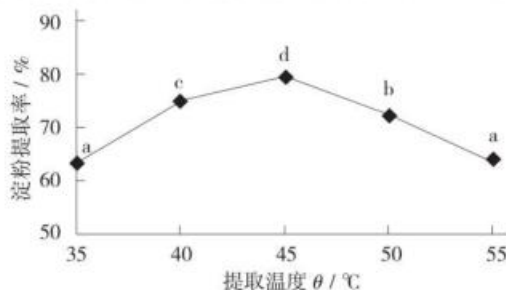


图2 提取温度对麻栎树籽淀粉提取率的影响

由图2可知,随着提取温度的上升,溶液受热扩散速度加快,酶活性提升使麻栎树籽淀粉加速溶出,提取率显著升高 ($p < 0.05$),当提取温度为45℃时,淀粉提取率最高,为79.66%。当提取温度继续上升,酶活性下降,淀粉可能会糊化导致淀粉提取率显著下降 ($p < 0.05$)。因此,选择40, 45, 50℃的提取温度作为正交水平。

2.2.3 料液比对麻栎树籽淀粉提取率的影响

料液比对麻栎树籽淀粉提取率的影响见图3。

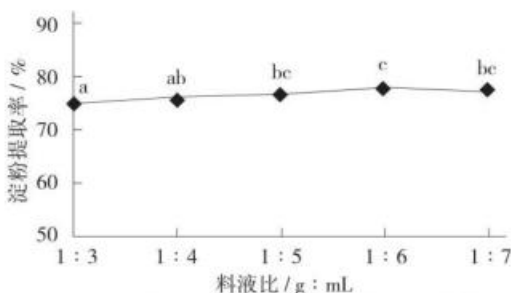


图3 料液比对麻栎树籽淀粉提取率的影响

由图3可知,随着料液比的升高,麻栎树籽淀粉中提取率升高,当料液比为1:6时,淀粉提取率最高,达到77.77%,当料液比高于1:6时,淀粉提取率未显著上升,并且5个水平的料液比的麻栎树籽淀粉提取率未见明显显著性变化 ($p < 0.05$)。因此,在正交试验中舍去料液比这个因素。

2.2.4 酶添加量对麻栎树籽淀粉提取率的影响

酶添加量对麻栎树籽淀粉提取率的影响见图4。

由图4可知,随着碱性蛋白酶添加量增加,麻栎树籽淀粉提取率显著增加 ($p < 0.05$),当酶添加量达到0.4%时,淀粉提取率最高可达78.29%。当酶添加量大于0.4%时,淀粉提取率显著下降 ($p < 0.05$)。在一定浓度范围内,随着酶添加量增加,酶和麻栎树籽中蛋白质分子的碰撞机会增加,淀粉中蛋白水解越充分。但在酶添加量超过0.4%后,添加的酶很

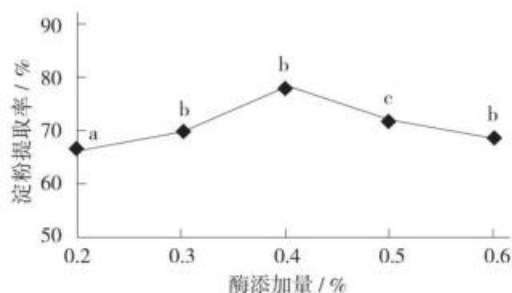


图4 酶添加量对麻栎树籽淀粉提取率的影响

可能导致淀粉溶液中蛋白质含量升高,导致最终的蛋白质残留量增加。酶添加量过多会导致蛋白质暴露更多的疏水性基团,过度水解。蛋白质发生疏水水合作用后相互聚集^[19],导致溶液中蛋白质溶解性减弱,使得蛋白与淀粉分离困难。因此,选择0.3%,0.4%,0.5%的酶添加量作为正交水平。

2.3 正交试验结果与分析

根据单因素试验结果,选择超声时间、提取温度、酶添加量3个因素进行正交优化试验。

正交试验结果见表2。

表2 正交试验结果

试验号	A	B	C	淀粉提取率 / %
1	1	1	1	71.52
2	1	2	2	77.36
3	1	3	3	74.61
4	2	1	2	79.55
5	2	2	3	70.88
6	2	3	1	79.83
7	3	1	3	76.25
8	3	2	1	78.42
9	3	3	2	80.24
$\bar{K}_1$	74.5	76.6	74.2	
$\bar{K}_2$	76.7	79.1	77.8	
$\bar{K}_3$	78.3	73.9	77.5	
R	3.8	5.1	3.6	

由表2可知,各因素对麻栎树籽淀粉提取率的影响依次是提取时间(B) > 超声时间(A) > 酶添加量(C),提取最佳方案是 $A_3B_2C_2$,即超声时间120 min,提取温度45℃,酶添加量0.4%,此时麻栎树籽淀粉提取率为80.51%,高于该9组试验,具有良好的重复性,证明该优化工艺较为稳定。

2.4 理化性质结果与分析

2.4.1 冻融稳定性

麻栎树籽淀粉冻融稳定性测定结果见表3。

表3 麻栎树籽淀粉冻融稳定性测定结果

指标	淀粉糊 质量 / g	沉淀物 质量 / g	析水率 / %	冻融次数 / 次
麻栎树籽淀粉糊	8.73 ± 0.13	2.83 ± 0.12	67.56 ± 0.21	1

淀粉的冻融稳定性反映了淀粉糊冻融后的脱水程度,析水率越低,冻融性稳定性越好,反之越差^[20]。

由表3可知,经过1次冻融处理后,麻栎树籽淀粉糊析水率达到67.56%,析出量较大,说明其淀粉糊冻融稳定性较差。可能是由于在冷冻时,麻栎树籽淀粉糊中的直链淀粉分子与支链淀粉分子会通过氢键结合起来,从而导致晶体结构发生老化,使淀粉糊的胶体特性受到破坏。在结冻过程中水从糊状物中分离出来,最终呈海绵状^[21]。因此,麻栎树籽淀粉不适合应用于冷冻食品中。

2.4.2 凝沉特性

静置时间对上清液体积分数的影响见图5。

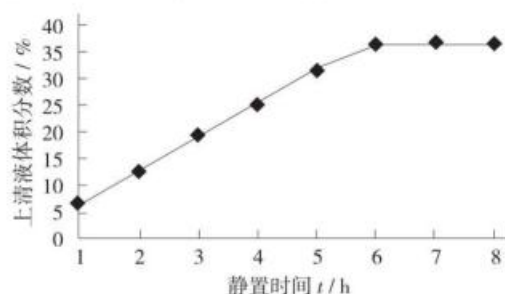


图5 静置时间对上清液体积分数的影响

由图5可知,静置时间的延长逐渐增加,麻栎树籽淀粉糊上清液析出体积逐渐增加,在6 h后析出体积分数为36.55%,随着时间延长基本达到稳定,说明麻栎树籽淀粉具有较强的凝沉稳定性。与粉葛、玉米淀粉相比^[22],麻栎树籽淀粉静置至稳定所用的时间较短,提示麻栎树籽淀粉易老化,不易进行深加工。

2.4.3 凝胶质构特性

3种淀粉糊质构测定结果见表4。

表4 3种淀粉糊质构测定结果

质构特性	弹性	黏附性 / (N·sec)	硬度 / N
麻栎树籽淀粉糊	4.47 ± 0.30	0.10 ± 0.01	1.43 ± 0.03
小麦淀粉糊	0.85 ± 0.11	0.42 ± 0.02	62.90 ± 12.90
玉米淀粉糊	0.80 ± 0.07	0.40 ± 0.02	67.70 ± 5.40

由表4可知,对比董贝贝^[23]对小麦淀粉、玉米淀粉糊质构的测定,麻栎树籽淀粉的黏附性和硬度较低,而弹性较大,说明麻栎树籽淀粉适合加工成果冻、凝胶类食品。

2.4.4 透光率

透光率可表明淀粉糊的透明度,透光率越高,淀粉糊的透明度越高。麻栎树籽淀粉糊的透光率为6.46%,相对较差,可能与麻栎树籽淀粉中直链、支链淀粉含量比,淀粉的颗粒大小及膨胀度都有关^[24-25]。

2.4.5 溶解度和膨胀度

淀粉的溶解度和膨胀度不仅反映了淀粉分子与水之间相互作用力的大小,也反映了淀粉分子之间相互作用力的大小。

不同温度下麻栎树籽淀粉的溶解度(a)和膨胀度(b)见图6。

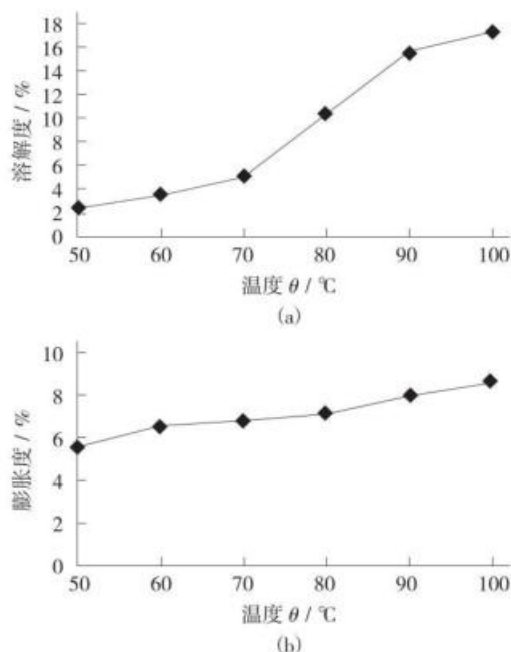


图6 不同温度下麻栎树籽淀粉的溶解度(a)和膨胀度(b)

由图6可知,麻栎树籽淀粉的溶解度和膨胀度随着温度的上升呈增大趋势,溶解度从50℃的4.25%上升至100℃的17.4%,膨胀度从50℃的5.55%上升至100℃的8.56%,究其原因可能是因为温度升高淀粉糊化程度加深,淀粉间氢键断裂,淀粉颗粒膨胀崩裂,淀粉分子大量溶出。

3 结论

试验采用超声辅助酶法提取麻栎树籽淀粉,在单因素的基础上进行正交试验,得到麻栎树籽淀粉最佳提取工艺为超声时间120 min,提取温度45℃,酶添加量0.4%,此时麻栎树籽淀粉提取率为80.51%。制备的麻栎树籽淀粉冻融稳定性较差,冻结和解冻过程不能保持原有的质构,因此麻栎树籽淀粉不适合应用于冷冻食品。麻栎树籽淀粉在温度较低时溶解度较差,透光率较低,凝沉稳定性较强,析水率高达74.47%,弹性相对小麦淀粉和玉米淀粉较大,故适合加工成凉粉、果冻类食品。

参考文献:

- [1] 张志健,王勇.我国橡子资源开发利用现状与对策[J].氨基酸和生物资源,2009,31(3):10-14.
- [2] 吕锋,解孝满,韩彪,等.麻栎天然群体种子表型变异分析[J].林业科学研究,2021,34(2):174-179.
- [3] 刘志龙,虞木奎,唐罗忠,等.麻栎资源研究进展及开发利用对策[J].中国林副特产,2009(6):93-96.
- [4] 李娜,赵文恩,李勇.橡实利用研究进展[J].中国野生植物资源,2016,35(2):45-50.
- [5] 朱莉莉.橡子粉生产柠檬酸加工工艺研究[D].西安:陕西师范大学,2019.
- [6] Li Songnan, Zhou Yibin, Liu Mei, et al. Nutrient composition and starch characteristics of *Quercus glandulifera* Bl. seeds from China [J]. Food Chemistry, 2015 (15): 371-376.
- [7] 张志华.超声波处理对淀粉结构与性质的影响研究[D].天津:天津科技大学,2012.
- [8] Wang Jia-qi, Lan Tian, Lei Yu-shan, et al. Optimization of ultrasonic-assisted enzymatic extraction of kiwi starch and evaluation of its structural, physicochemical, and functional characteristics [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021 (81): 105866.
- [9] 薛文艳,张文辉,杨斌,等.麻栎橡子单宁脱除工艺优化及抗氧化性[J].食品科学,2017,38(10):242-250.
- [10] 刘瑞亮.栎属橡子单宁提取与淀粉浓醪发酵工艺研究[D].北京:北京化工大学,2016.
- [11] 李梁,邹兰,张永县,等.正交法优化青稞淀粉提取工艺及其性质研究[J].粮食与油脂,2021,34(4):32-36.
- [12] 高立琼,陈丽冰,杨倩,等.橡子淀粉制备及其理化性质研究[J].食品科技,2015,40(4):215-218.
- [13] 张晶,张美莉.燕麦淀粉提取工艺优化及其相关特性研究[J].食品科技,2019,44(9):295-302.
- [14] 丁卫英,张玲,韩基明,等.不同品种玉米淀粉糊化和凝胶特性的研究[J].农产品加工,2021(14):56-59.
- [15] 白婷,靳玉龙,朱明霞,等.超声波改性淀粉的研究进展[J].粮食与食品工业,2019,26(6):30-33,37.
- [16] 朱巧巧.超声波处理对锥栗淀粉性质的影响及多孔淀粉的制备[D].福州:福建农林大学,2015.
- [17] 曹海霞.橡子中单宁脱除和纯化工艺研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2012.
- [18] 吴灵颖,陈樱,张馨月,等.超声辅助酶法提取芋头淀粉工艺优化及理化性质研究[J].粮食与油脂,2023,36(4):21-25.
- [19] 游新勇,李琼.苡麦淀粉的提取工艺技术研究[J].食品研究与开发,2020,41(15):107-112.
- [20] 江帆,杜春微,任妍婧,等.不同藜麦品种淀粉的理化性质与消化特性[J].中国粮油学报,2021,12(4):1-7.
- [21] 郭项雨,任清,张晓.传统高温炒制工艺对裸燕麦淀粉品质的影响[J].食品科学,2012,33(11):52-56.
- [22] 张钟,陈媛,张玲,等.高州粉葛淀粉提取及性质测定[J].食品工业科技,2014,35(17):193-197.
- [23] 董贝贝.八种淀粉糊化和流变特性及其与凝胶特性的关系[D].西安:陕西科技大学,2017.
- [24] Park H S, Chung H S. Evaluation of the physicochemical properties of starch isolated from thinned young Fuji apples compared to corn and potato starches [J]. The Korean Society of Food Preservation, 2021, 29(4): 501-509.
- [25] 祝水兰,周巾英,刘光宪,等.超声波辅助酸酶法提取碎米抗性淀粉工艺的优化[J].南方农业学报,2019,50(8):1814-1821.◇