

麦芽糊精硬脂酸酯的酶法合成及其乳化性的研究

孙 平, 杨惠娟, 王雅琦, 刘可志, 徐雅雯

(食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学, 天津 300457)

摘要:研究了麦芽糊精硬脂酸酯的酶法合成工艺及其性能,对该工艺的影响因素进行单因素及正交试验。所确定的较佳工艺条件为:硬脂酸与糊精质量比为 4:1,酶添加量为 7 g/L,反应温度 65 ℃,反应时间 60 h,并研究了其结构与乳化性能。结果表明:乳液的乳化性随糖酯的质量分数增加而增加。在相同质量分数下,麦芽糊精硬脂酸酯乳化性最好,高于麦芽糖脂肪酸酯以及淀粉脂肪酸酯。

关键词: 麦芽糊精;硬脂酸;乳化性

中图分类号: TS 201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)01—0009—06

Lipase-Catalyzed Synthesis and Emulsification of Dextrin Ester

SUN Ping, YANG Hui-juan, WANG Ya-qi, LIU Ke-zhi, XU Ya-wen

(Key Laboratory of Nutrition and Safety of Ministry of Education, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In this paper, the process of enzymatic catalysis for the synthesis of dextrin ester was investigated. The single factor and the orthogonal experiments for the affecting factors of this technology were carried out. Under the optimum conditions of 7 g/L lipase from Novozym 435, and acid/dextrin molar ratio of 4:1 at 65 ℃ for 60 h, the optimum process was achieved. The results showed that: the emulsification increased with the concentration of dextrin esters. At the same concentration, the emulsification of the dextrin ester is higher than that of maltose ester and starch ester.

Keywords: dextrin, stearic acid, emulsification

麦芽糊精也称水溶性糊精,是一种介于淀粉和淀粉糖之间的水解产物,其水解程度用 DE 值表示,麦芽糊精的 DE 值与平均相对分子质量成反比,一般小于 30,其影响麦芽糊精甜度、粘性、吸湿性、溶解性以及着色性^[1]。在麦芽糊精分子中, α -D-吡喃葡

萄糖残基通过 α -1,4 糖苷键连接形成线性长链,同时也有少许 α -1,6 分支点形成的支链^[2],但其具体组成主要由生产麦芽糊精所用的原淀粉有关。同时在组成葡萄糖单位 C₂、C₃、C₆ 的醇羟基反应活性较高,因此可以利用一些物质的官能团来替代麦芽糊

收稿日期: 2012-06-05

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAD23B00)。

作者简介: 孙 平(1955—),男,天津人,教授,主要从事变性淀粉与制糖技术研究。E-mail: sp5186@126.com

精中该碳位的羟基,从而引入不同的化学基团,发生氧化,重排,分子置换,交联,酯化等反应,以改善麦芽糊精的性质^[3-4]。酶法酯化麦芽糊精产品是一种用生物催化剂生产的变性糊精,它是通过脂肪酶的作用对糊精进行修饰,酶法合成具有反应条件温和,选择性高,能耗低,副产物少^[5],排污小^[6-7]等优点,具有一定的研究价值。麦芽糊精本身为亲水性分子,不具有乳化性,如果通过反应引入脂肪酸链等疏水性官能团,则可以赋予其双亲性质,使其具有乳化效果^[8-9],如图1,再加上其无毒,无臭,无皮肤刺激等性质^[10],麦芽糊精硬脂酸酯可作为乳化剂、稳定剂、增稠剂等广泛应用于食品、医药^[11]、日化^[12]等行业。作者以DE值为18的麦芽糊精为原料,与硬脂酸通过酶法反应制得硬脂酸糊精酯,该产物、方法尚未见相关报道。合成麦芽糊精硬脂酸酯的反应式如图2所示,通过单因素及正交试验确定较佳的合成工艺条件并初步研究了产物的乳化性能。

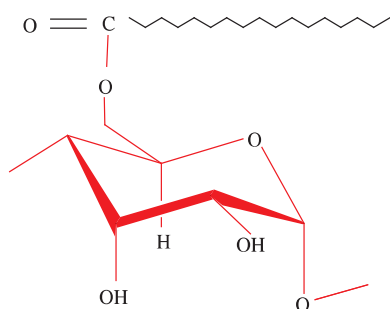


图1 糊精酯结构式

Fig. 1 Structure of the dextrin fatty acid ester



式中 DE-OH 为糊精

图2 麦芽糊精硬脂酸酯反应式

Fig. 2 Lipase-catalyzed synthesis pathway of dextrin fatty acid ester

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

试剂:麦芽糊精(DE值为18),硬脂酸,氢氧化钠,盐酸,无水乙醇,乙醇(体积分数95%),正己烷,叔丁醇均为分析纯试剂;Novozym435固定化脂肪酶;10000PLU/g,诺维信公司提供。

仪器:超级恒温水浴搅拌器:天津市欧诺仪器

仪表有限公司产品;振荡器,旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂产品;循环水式多用真空泵:郑州长城科工贸有限公司产品;傅里叶变换红外光谱仪:德国布鲁克仪器公司产品;离心机:长沙湘仪离心机仪器有限公司产品;pH计:上海精密科学仪器有限公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 叔丁醇中酶催化合成硬脂酸麦芽糊精酯
在平底烧瓶中,加入一定量叔丁醇,1~3 g 麦芽糊精,2~4 g 脂肪酶,0.4~0.6 g Novozym435 固定化脂肪酶,3Å分子筛。于恒温水浴锅中,在60~70℃条件下,磁力搅拌反应48~72 h。反应完成后取出反应液抽滤,取滤液旋蒸后在剩余物中加入无水乙醇,取上清液旋蒸,将乙醇除去后在剩余液中倒入正己烷,离心,取沉淀干燥即得产物。

1.2.2 正交实验 选用脂肪酶与糊精质量比,酶添加量,反应时间,反应温度为考察因素,以DS值作为考察指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平列于表1。

表1 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表Table 1 $L_9(3^4)$ Factors and levels of orthogonal test

试验水平	硬脂酸与 麦芽糊精 质量比 A	酶添加量 B/%	反应时间 C/h	反应温度 D/℃
1	2	5	48	60
2	3	6	60	65
3	4	7	72	70

1.2.3 取代度的测定 称取2.0 g产物置于碘量瓶中,加入50 mL蒸馏水,20 mL 0.25 mol/L的标准NaOH溶液,置于振荡器中,在110 r/min的转速下振荡2 h后,加入两滴酚酞指示剂,用0.1 mol/L的标准HCl溶液滴定至粉红色刚好消失,记录耗用盐酸的体积数 V_1 。同时进行空白试验记录空白耗用盐酸的体积数 V_0 。并根据下面的公式计算硬脂酸糊精酯的取代度(DS)。

$$\text{DS} = \frac{162\omega}{1000m - 266\omega} = \frac{162c(V_0 - V_1)}{1000m - 266c(V_0 - V_1)} \times 100\%$$

式中:DS为取代度,定义为每个D-吡喃葡萄糖残基中的羟基被取代的平均数目; ω 为硬脂酰基质量分数,%;162为葡萄糖酐(AGU)单元的摩尔质量,g/mol;266为硬脂酰基 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}$ 的相对分子质量; c 为标准HCl的摩尔浓度,mol/L; m 为原料

干样品的质量, g; V_0 为滴定空白液用去的标准盐酸的体积, mL; V_1 为滴定样品用去的标准盐酸的体积, mL。

1.2.4 乳化性的测定 将取代度均为 0.015 的麦芽糖硬脂酸酯, 淀粉硬脂酸酯(糊化后), 麦芽糊精硬脂酸酯样品用蒸馏水配成质量分数分别为 0.2%、0.4%、0.6%、0.8% 和 1% 的溶液。取其中的 10 mL 糖酯溶液和 5 mL 大豆油加入到 30 mL 离心管中, 用高速均质分散器 10 000 r/min 均质 1 min。均质结束后将乳状液静置 1 h 后 3 000 r/min 离心 5 min, 记录试管中乳化层的高度(h_1 , mm)和乳状液的总高度(h_2 , mm)。糖酯溶液的乳化性采用以下方程计算^[13]。取 5 次平行测量的平均值。

$$\text{乳化性}(\%) = \frac{h_1}{h_2} \times 100\%;$$

式中: h_1 为乳化层的高度, mm; h_2 为乳状液的总高度, mm。

1.2.5 糖酯乳状液的显微镜观察 将 5 mL 油与 10 mL 质量分数 1% 的酯样品调配成混和液, 以 5 mL 油与 10 mL 的蒸馏水作空白。然后用均质分散器 10 000 r/min 均质 1 min。分别将乳状液均匀地涂布于洁净的载玻片上, 盖上盖玻片, 用显微镜于 $\times 100$ 物镜下观察。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验研究

2.1.1 脂肪酸与糊精质量比对产品取代度的影响 在平底烧瓶中, 加入叔丁醇, 一定量的麦芽糊精, 硬脂酸与麦芽糊精的质量比分别为 0.25、0.5、1、2、3、4、5、6。其他条件为 0.7 g Novozym435 固定化脂肪酶, 3 Å 分子筛。于恒温水浴锅中, 在 65 °C 条件下, 磁力搅拌反应 60 h。由图 3 可得, DS 值随着脂肪酸与糊精质量比的增大而增大, 在比值为 4 的时候达到最大值。比例过高或过低均会导致其 DS 值的下降。

2.1.2 酶添加量对产品取代度的影响的影响 在平底烧瓶中, 加入一定量叔丁醇, 3 g 麦芽糊精, 12 g 脂肪酸, 3 Å 分子筛, Novozym435 固定化脂肪酶的添加量分别为 3、4、5、6、7、8 g/L。于恒温水浴锅中, 在 65 °C 条件下, 磁力搅拌反应 60 h。如图 4 所示, DS 值随着酶的添加量的增大而增大, 在添加量为 7 g/L 的时候基本达到最大值, 继续增大加酶量, 对其基本影响不大, 说明此时反应已经达到了平衡。

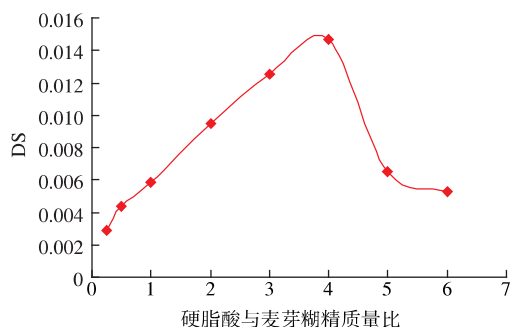


图 3 脂肪酸与糊精质量比对产品取代度的影响的影响

Fig. 3 Effect of molar ratio of acid/dextrin on DS

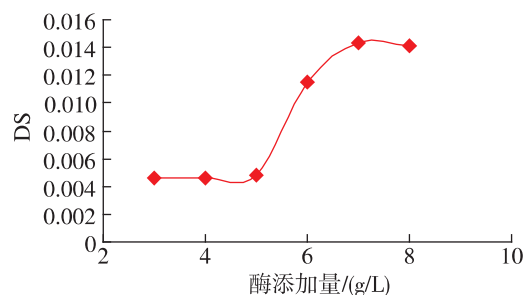


图 4 酶添加量对产品取代度的影响的影响

Fig. 4 Effect of enzyme concentration on DS

2.1.3 反应时间对产品取代度的影响的影响 在平底烧瓶中, 加入一定量叔丁醇, 3 g 麦芽糊精, 12 g 脂肪酸, 0.7 g Novozym435 固定化脂肪酶, 3 Å 分子筛。于恒温水浴锅中, 在 65 °C 条件下, 磁力搅拌反应时间分别为 12、24、48、60、72、90 h。由图 5 可知, DS 值随着酶的反应时间的增大而增大, 反应初始时, 由于底物在有机溶剂中溶解度较低, 导致底物不能迅速与酶作用结合, 使得反应速率较低。随着反应的进行, 分子筛吸收了反应生成的水, 破坏了反应平衡, 从而使得此时反应正向进行, 在反应时间为 60 h 时基本趋于平稳, 继续延长反应时间, 对其基本影响不大。

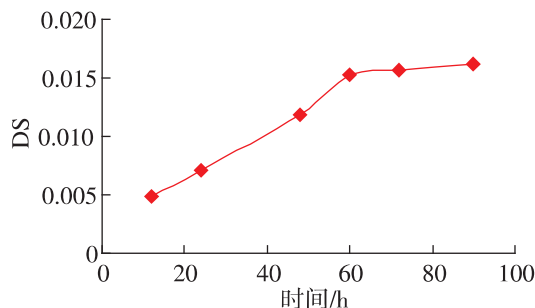


图 5 反应时间对产品取代度的影响

Fig. 5 Effect of reaction time on DS

2.1.4 反应温度对产品取代度的影响的影响 在 250 mL 平底烧瓶中,加入 100 mL 叔丁醇,3 g 麦芽糊精,12 g 脂肪酸,0.7 g Novozym435 固定化脂肪酶,3Å分子筛。于恒温水浴锅中,分别在 50、55、60、65、70、75 °C条件下,磁力搅拌反应 60 h。由图 6 可知,由于溶剂的沸点及对底物溶解性以及脂肪酶的活性的影响。体系温度低于 60 °C时,产品 DS 值随着温度的升高而提高,温度升高有利于溶剂对溶质的溶解,反应底物的相互扩散结合以及酶活性的激发;在 60~70 °C时,DS 值可达到最高,继续提高反应温度,温度过高,酶则会变性失活,失去催化能力 DS 值会降低。

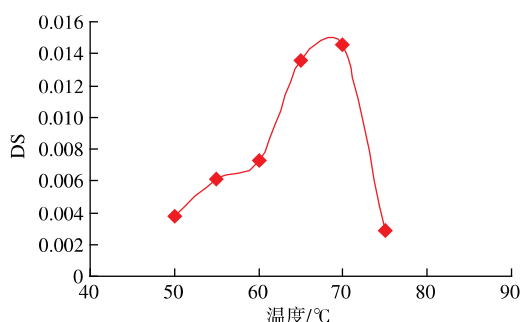


图 6 反应温度对产品取代度的影响

Fig. 6 Effect of reaction temperature on DS

2.2 麦芽糊精硬脂酸酯合成最佳工艺的筛选

在单因素的基础上,以脂肪酸与糊精的质量比,酶添加量,反应时间,反应温度 4 因素进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,不同处理重复 3 次,试验结果见表 2。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 2 Results of perpendicular experiment

试验号	A	B	C	D	DE 值
1	1	1	1	1	0.004 3
2	1	2	2	2	0.005 9
3	1	3	3	3	0.005 6
4	2	1	2	3	0.004 0
5	2	2	3	1	0.006 9
6	2	3	1	2	0.012 8
7	3	1	3	2	0.009 4
8	3	2	1	1	0.004 9
9	3	3	2	3	0.015 3
DS 值	K_1	0.005 2	0.005 9	0.007 3	0.008 8
	K_2	0.007 9	0.005 9	0.009 4	0.009 4
	K_3	0.009 9	0.011 2	0.007 3	0.004 8
	R	0.004 7	0.005 3	0.002 1	0.004 6

数据分析表明,各因素对 DS 值的影响顺序为 $B>A>D>C$,影响因素的显著程度大小为:酶添加量>酸糖质量比>反应温度>反应时间度。极差分析最优组合为 $A_3B_3C_2D_2$; 故对 $A_3B_3C_2D_2$ 与 $A_3B_3C_2D_3$ 两组合进行试验。

表 3 最优组合验证试验

Table 3 Validation test of optimal combination

试验组合	酸糖质量比	酶添加量/%	反应时间/h	反应温度/°C	DS 值
$A_3B_3C_2D_2$	4	7	60	65	0.154 2
$A_3B_3C_2D_3$	4	7	60	70	0.151 7

结果表明,两种组合产物均得到较高 DS 值的麦芽糊精硬脂酸酯,但组合 $A_3B_3C_2D_2$ 略优于 $A_3B_3C_2D_3$,麦芽糊精硬脂酸酯的最佳合成条件为:硬脂酸与糊精比为 4,酶添加量为 7 g/L,反应时间为 60 h,反应温度为 65 °C。

2.3 酯化产物结构表征

红外光谱分析是有机高分子物质分析的重要工具,利用有机化合物中官能团在中红外区的选择性吸收,可对有机物的结构,官能团进行分析测定,不同的物质含有特定的基团,因此可以对物质的结构进行定性判断。红外光谱分析采用 KBr 压片法,用红外光谱仪测定。

制备硬脂酸麦芽糊精酯,理论上硬脂酸通过引入羰基集团使糊精变性,利用红外光谱可以判断引入的集团是否与糊精上的羟基相连,麦芽糊精以及麦芽糊精硬脂酸酯红外光谱图如下。

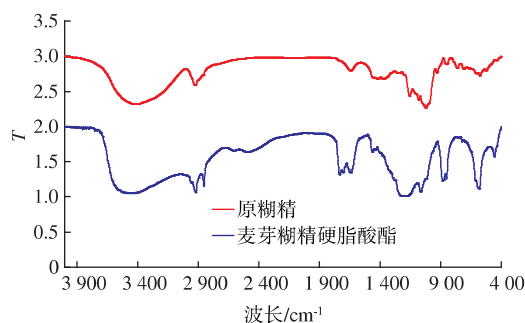


图 7 麦芽糊精以及麦芽糊精硬脂酸酯的 IR 色谱图

Fig. 7 Fourier-transform infrared spectra of dextrin and dextrin ester

由图 7 可知,1 731.88 cm^{-1} 处出现酯羰基^[14]的特征吸收峰,同时糊精酯中-OH 的吸收峰明显低于

原糊精,这是由于麦芽糊精中的一部分-OH被酯形成羰基,使-OH总体数量减少,同时在 $2\ 849.950\ \text{cm}^{-1}$ 处出现脂肪族的吸收峰也是其佐证^[15]。

2.4 乳化性的测定

糖酯类物质能与食品中的类脂、蛋白质和碳水化合物等相互作用,使其分散、均匀混合、流变性变好,从而改进和提高食品的质量。这与糖酯的乳化性有很大关系。

研究了不同质量分数对麦芽糊精硬脂酸酯、麦芽糖硬脂酸酯、淀粉硬脂酸酯乳化性的影响。图8表明,3种糖酯均具有乳化性,随着糖酯质量分数由0.2%升至1.0%的过程中,糖酯的质量分数越高,乳化程度越大。在相同浓度下,麦芽糊精硬脂酸酯的乳化性最佳,麦芽糖硬脂酸酯次之,淀粉硬脂酸酯最差。原因是随着疏水长碳链的引入,使原本亲水的糖具有了亲水和亲油的集团,具有双亲性质。

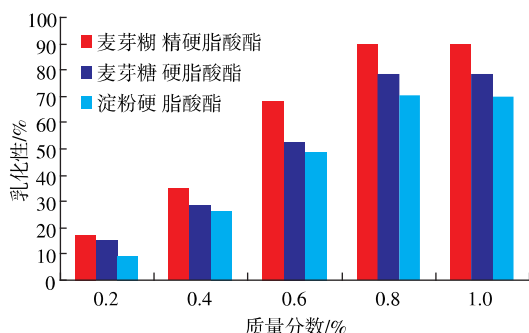
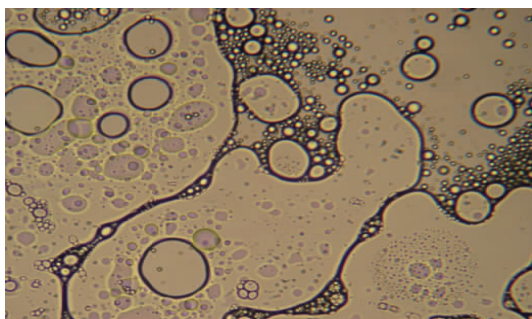


图8 麦芽糊精硬脂酸酯、麦芽糖硬脂酸酯、淀粉硬脂酸酯的乳化能力

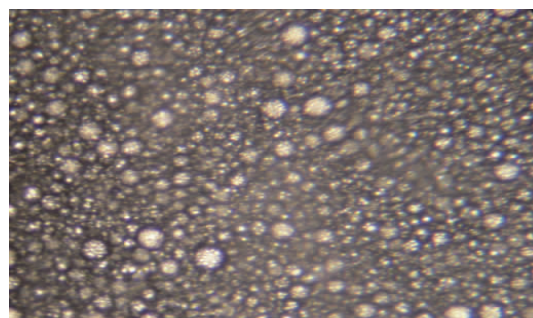
Fig. 8 Emulsifying capacity of dextrin ester, maltose ester and starch ester

2.5 糖酯乳状液的显微镜观察

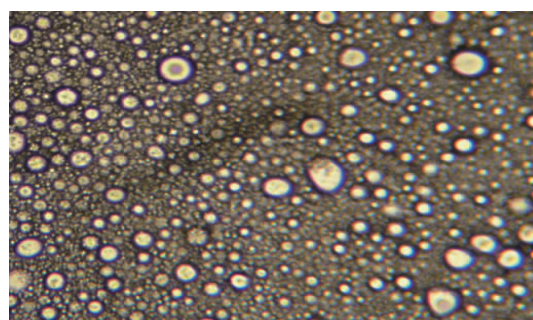
糖酯分子分别含有亲油基和亲水基,可阻止分散质的小液滴相互凝结,从而可使油水形成微乳化液。通过显微观察可以明显看出这一现象。



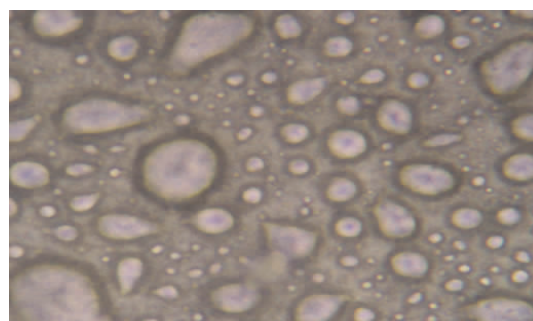
(a)



(b)



(c)



(d)

图9 麦芽糊精硬脂酸酯,麦芽糖硬脂酸酯,淀粉硬脂酸酯的显微镜观察图

Fig. 9 Microscope photographs of dextrin ester (b), maltose ester (c) and starch ester (d)

图9中(a)、(b)、(c)、(d)分别为空白对照和麦芽糊精硬脂酸酯、麦芽糖硬脂酸酯和淀粉硬脂酸酯乳状液的显微镜观察图。未加酯的油水乳状液只可观察到大的油滴,表明在不加乳化剂的情况下,即使经过高速均质后,油水仍不能形成均一的状态。而加酯的油水乳状液分散成了均匀细小的液滴,加麦芽糖硬脂酸酯以及麦芽糊精硬脂酸酯的两组液滴更均匀些,其分散效果优于淀粉硬脂酸酯。

3 结 语

1) 考察了脂肪酸与糊精质量比、酶添加量、反应温度、反应时间对产物取代度的影响,得到麦芽糊精硬脂酸酯的较佳合成工艺条件: 酸糖质量比为

4:1, 酶添加量为 7 g/L, 反应温度 65 ℃, 反应时间 60 h。

2) 酯化物质量分数增加, 乳液稳定性增加。在相同质量分数下, 麦芽糊精硬脂酸酯的乳化性最佳, 麦芽糖硬脂酸酯次之, 淀粉硬脂酸酯最差。

参考文献:

- [1] Marchal L M, Beeftink H H, Tramper J. Towards a rational design of commercial maltodextrins [J]. **Food Science and Technology**, 1999, 10(11): 345-355.
- [2] Dokic L, Jakovljevic J, Dokic P. Relation between viscous characteristics and dextrose equivalent of maltodextrins [J]. **Starch**, 2004, 56(11): 520-525.
- [3] 张艳萍. 变性淀粉制造与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [4] 郑茂强. 木薯交联酯化麦芽糊精的制备、结构及性能研究[D]. 无锡: 江南大学, 2007.
- [5] Blecker C, Danthine S, Pétré M, et al. Enzymatically prepared N-alkyl esters of glucuronic acid: the effect of freeze-drying conditions and hydrophobic chain length on thermal behavior[J]. **Colloid and Interface Science**, 2008, 321(1): 154-158.
- [6] 张晓鸣, 周健, 刘巧瑜, 等. 有机相脂肪酶催化合成技术在食品及相关领域的应用[J]. **食品与生物技术学报**, 2006, 25(1): 120-126.
ZHANG Xiao-ming, ZHOU Jian, LIU Qiao-yu, et al. Application of lipase-catalyzed synthesis in organic solvent for food and related industry[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(1): 120-126. (in Chinese)
- [7] Kaewprapan K, Tuchinda P, Marie E, et al. Ph-imprinted Lipase catalyzed synthesis of dextran fatty acid ester [J]. **Journal of Mol Catalysis B: Enzymatic**, 2007, 47(3-4): 135-142.
- [8] 徐婉澜, 尹红, 陈志荣. 辛烯基琥珀酸糊精酯的制备与性能研究[J]. **中国食品学报**, 2007, 7(6): 64-70.
XU Wan-lan, YIN Hong, CHEN Zhi-rong. Research on the preparation and property of octenyl succinic dextrin ester[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2007, 7(6): 64-70. (in Chinese)
- [9] E Rotureau, E Marie, M Leonard, et al. From polymeric surfactants to colloidal systems (2): preparation of colloidal dispersions[J]. **Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering**, 2006, 288(1-3): 62-70.
- [10] Habulin M, Kabeder S, Knez L. Enzymatic synthesis of sugar fatty acid esters in organic solvent and in supercritical carbon dioxide and their antimicrobial activity[J]. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2008, 45(3): 338-345.
- [11] Ferrer M, Soliveri J, Plou F, et al. Synthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *thermomyces lanuginosus* and *candida antarctica*, and their antimicrobial properties[J]. **Enzyme and Microbial Technology**, 2005, 36(4): 391-398.
- [12] 胡飞, 孟繁世. 辛烯基琥珀酸淀粉酯的流变性质(I) [J]. **食品与生物技术学报**, 2005, 24(2): 27-29.
HU Fei, MENG Fan-shi. Rheological properties of starch octenyl succinate anhydride [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(2): 27-29. (in Chinese)
- [13] Soultani S, Ognier S, Engasser J M, et al. Comparative study of some surface active properties of fructose esters and commercial sucrose esters[J]. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2003, 227(1-3): 35-44.
- [14] 张晶. 酯化麦芽糊精的制备及其特性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2010.
- [15] 徐爱国. 硬脂酸玉米淀粉酯的制备、性质及应用[D]. 无锡: 江南大学, 2004.