

# 全酶法制备超高麦芽糖浆工艺

叶红玲, 杜先锋\*

(安徽农业大学茶与食品科技学院, 安徽 合肥 230036)

**摘要:** 以碎米为原料, 采用全酶法制备超高麦芽糖浆。以麦芽糖含量为指标, 采用正交试验对耐高温  $\alpha$ -淀粉酶、大麦  $\beta$ -淀粉酶、普鲁兰酶的添加量和糖化结束 DE 值 4 个因素进行研究, 确定最佳工艺为 3 种酶的添加量分别为 0.20、0.50、1.05kg/t 原料, 糖化结束 DE 值控制在 48% 左右。选用高效阴离子交换色谱法分析的麦芽糖浆中各糖组分含量, 以峰面积外标法得出样品中麦芽糖含量为 70.7%, 符合超高麦芽糖标准。

**关键词:** 超高麦芽糖; 正交试验; 高效阴离子交换色谱

## Optimizing Holoenzymatic Preparation of Extremely High Maltose Syrup

YE Hong-ling, DU Xian-feng\*

(College of Tea and Food Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**Abstract:** Extremely high maltose syrup was enzymatically produced from broken rice. In the production of extremely high maltose syrup, thermal-stable  $\alpha$ -amylase, barley-derived  $\beta$ -amylase and pullulanase were used. Orthogonal array design was employed to study the process conditions including amounts of these three enzymes and post-saccharification DE value, and the results showed that the optimal levels of amounts of thermal-stable  $\alpha$ -amylase, barley-derived  $\beta$ -amylase and pullulanase and post-saccharification DE value were 0.20, 0.50 kg/t and 1.05 kg/t material and around 48%, respectively. Meanwhile, the sugar composition of the prepared product was analyzed by high performance anion-exchange chromatography (HPAC).

**Key words:** extremely high maltose syrup; orthogonal array design; high performance anion-exchange chromatography  
中图分类号: TS244 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2010)20-0015-05

麦芽糖浆中麦芽糖含量高, 葡萄糖含量低, 外观无色透明, 具有甜度低, 熬糖温度高, 吸湿性低, 抗结晶好等显著特点, 是糖果工业更新换代的产品。且糖浆黏性大, 增稠性强, 可用于各种果蔬浓缩饮料中。此外, 麦芽糖还具有特殊的保健、疗效等有益功能, 适用于婴幼儿、老年人食品及运动员饮料中。

根据麦芽糖含量高低, 麦芽糖浆可分为普通麦芽糖浆、高麦芽糖浆和超高麦芽糖浆。麦芽糖含量在 60% 以下的麦芽糖浆为普通麦芽糖浆, 麦芽糖含量在 60%~70% 之间称为高麦芽糖浆, 麦芽糖含量 70% 以上称为超高麦芽糖浆<sup>[1]</sup>。

在我国, 超高麦芽糖浆的开发和应用越来越受到重视, 特别是在糖果行业备受青睐, 它是我国糖果和乳制品工业升级换代的理想糖浆。一些发达国家正朝着用超高麦芽糖浆代替葡萄糖浆以及部分砂糖的方向发展<sup>[2]</sup>。本研究采用全酶法结合喷射液化技术, 使大米淀粉液化

完全, 严格控制液化和糖化结束 DE 值, 最后采用高效阴离子交换色谱法对制备的糖浆进行定性和定量分析。本实验方法能大幅提高超高麦芽糖的产率, 而且在品种、质量、含量上都有新突破。此外, 本研究利用碎米作为原料, 解决了碎米的综合利用问题, 具有较好的社会效益和经济效益。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

碎米(粳米) 市购; 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶、大麦  $\beta$ -淀粉酶、普鲁兰酶(酶活力分别为 20037.43、105563U/mL 和 31005.24U/mL) 丹麦 NOVO 公司; 葡萄糖、麦芽糖、麦芽三糖标准品(色谱级) 美国 Sigma 公司。

### 1.2 仪器与设备

ICS-3000 离子色谱仪(配有脉冲安培检测器、CarboPac PA100 2mm 分析柱和保护柱) 美国戴安公

收稿日期: 2010-02-24

基金项目: 科技部农业科技成果转化资金项目(2007GB2C300138)

作者简介: 叶红玲(1981—), 女, 硕士研究生, 研究方向为淀粉及淀粉糖。E-mail: yhl200283@yahoo.cn

\* 通信作者: 杜先锋(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为淀粉及淀粉糖。E-mail: dxf@ahau.edu.cn

司; 低压喷射液化器、配料罐、糖化罐 安徽乐健集团。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 麦芽糖浆制备工艺<sup>[3]</sup>

碎米→淘洗→碱液浸泡→磨浆→调浆→液化→液化结束灭酶→压渣→糖化→糖化结束灭酶→去渣→脱色→离子交换→初蒸→二次脱色→终浓缩→成品

#### 1.3.2 操作要点

##### 1.3.2.1 浸泡、磨浆、调浆

碎米原料经清杂后采用热碱液浸泡, 浸泡条件为 pH9~11、浸泡温度 45~50℃、浸泡时间 2~3h。偏碱性条件浸泡可以去除碎米中大部分可溶性蛋白质, 使粗淀粉中蛋白质降至 3.5% 左右, 有利于液化进行以及后续操作<sup>[4]</sup>。同时大米淀粉经稀碱处理后有较低的 X-衍射结晶, 结构疏松, 易于糊化, 从而易被淀粉酶水解。调浆时一定要遵循先调 pH 值后加酶制剂的原则。首先调节淀粉浆的浓度在 14~14.5°Be, 其次调节淀粉浆的 pH 值, 边搅拌边调至 pH5.7~5.9, 最后加入耐高温  $\alpha$ -淀粉酶, 为了保持酶的活性, 加入 0.3~0.5kg/t 原料 CaCl<sub>2</sub>。

##### 1.3.2.2 液化

喷射液化设备预热充分后, 喷射液化温度 110~115℃, 保压 5min, 闪蒸冷却至 98℃, 进入层流柱 40~60min, 二次喷射液化温度为 130~140℃, 控制液化结束 DE 值<sup>[5]</sup>。DE 值表示淀粉或转化淀粉按葡萄糖计算时的总还原糖值。液化 DE 值高, 表示淀粉转化为糊精较多, 糖化后糖化液组成中葡萄糖和麦芽三糖较多, 而麦芽糖较少。如果 DE 值过低, 则糖液黏度太高而难于操作, 给过滤、离子交换带来困难, 影响质量和产率, 造成经济损失<sup>[6]</sup>。研究发现麦芽糖产率与液化液 DE 值具有较好的线性关系<sup>[7]</sup>, 随着液化程度加深麦芽糖产率降低, 见图 1。

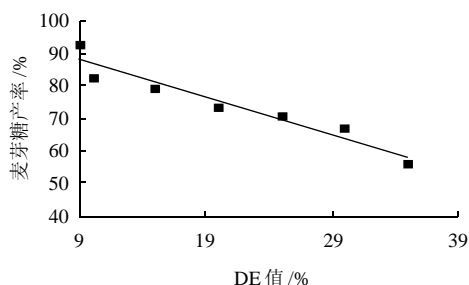


图1 液化 DE 值与麦芽糖产率关系图

Fig.1 Relationship between post-liquefaction DE value and maltose yield

但是, DE 值太小时液化液的黏度又会增大。液化不够充分, 不利于后续操作。综合考虑, 确定液化液 DE 值为 10% 左右。

#### 1.3.2.3 糖化

糖化温度 60℃, 进料全程搅拌, 糖化罐进料 10%~15% 起, 添加总量 30%~40% 的大麦  $\beta$ -淀粉酶和普鲁兰酶, 再陆续加入剩余量的大麦  $\beta$ -淀粉酶和普鲁兰酶。糖化开始为了避免酸败、pH 值下降, 可以加入 0.2~0.5kg 硫代硫酸钠/t 糖浆<sup>[8]</sup>。糖化 48h, 糖化过程中, 每 2h 测一次 pH 值, 保证 pH 值在 5.0 以上(最佳 pH 值范围 5.1~5.5), 必要时滴加冷的 15%~20% NaOH 溶液。糖化结束, 升温至 75~80℃ 灭酶。

#### 1.3.2.4 脱色、二次压滤

糖化后糖液随着管道进入脱色罐, 罐中有活性炭, 保持罐温 80℃ 左右, 糖液通入后, 在不断搅拌的情况下, 活性炭吸附糖液所含的色素以及部分无机盐, 随后活性炭随同糖液一并进入板框压滤机, 经过压滤除去活性炭。

#### 1.3.2.5 离子交换、浓缩

经脱色、压滤后的糖液进入离子交换处理系统, 收集糖液进入三效浓缩后得到终产品。贮存于 4℃ 下备用。

### 1.3.3 单因素试验<sup>[9]</sup>

#### 1.3.3.1 耐高温 $\alpha$ -淀粉酶添加量对麦芽糖含量的影响

调浆、调 pH 值后, 大麦  $\beta$ -淀粉酶、普鲁兰酶的添加量分别为 0.50、1.05kg/t 原料, 控制糖化结束 DE 值在 48% 左右, 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶的添加量分别为 0.10、0.15、0.20、0.25kg/t 原料进行液化、糖化。

#### 1.3.3.2 大麦 $\beta$ -淀粉酶添加量对麦芽糖含量的影响

调浆、调 pH 值后, 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶、普鲁兰酶的添加量分别为 0.20、1.05kg/t 原料, 控制糖化结束 DE 值在 48% 左右, 大麦  $\beta$ -淀粉酶的添加量分别为 0.40、0.45、0.50、0.55kg/t 原料进行液化、糖化。

#### 1.3.3.3 普鲁兰酶的添加量对麦芽糖含量的影响

调浆、调 pH 值后, 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶、大麦  $\beta$ -淀粉酶的添加量分别为 0.20、0.50kg/t 原料, 控制糖化结束 DE 值在 48% 左右, 普鲁兰酶的添加量分别为 1.00、1.05、1.10、1.15kg/t 原料进行液化、糖化。

#### 1.3.3.4 糖化结束 DE 值对麦芽糖含量的影响

调浆、调 pH 值后, 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶、大麦  $\beta$ -淀粉酶、普鲁兰酶的添加量分别为 0.20、0.50、1.10kg/t 原料, 控制糖化结束 DE 值分别为 46%、48%、50%、52% 进行液化、糖化。

### 1.3.4 正交试验设计

以单因素试验结果为依据, 选取耐高温  $\alpha$ -淀粉酶、大麦  $\beta$ -淀粉酶、普鲁兰酶的添加量和糖化结束 DE 值作为考察因素, 每个因素拟定 3 个水平, 进行 4 因素

3 水平正交试验, 正交设计及因素见表 1。

表 1 正交设计因素水平表

Table 1 Factors and levels in the orthogonal array design

水平	因素			
	A 耐高温 $\alpha$ -淀粉酶添加量/(kg/t 原料)	B 大麦 $\beta$ -淀粉酶添加量/(kg/t 原料)	C 普鲁兰酶添加量/(kg/t 原料)	D 糖化结束 DE 值/%
1	0.10	0.45	1.00	46
2	0.15	0.50	1.05	48
3	0.20	0.55	1.10	50

### 1.3.5 分析方法

液化结束测定方法: 碘量法; DE 值 /%=(还原糖含量 / 干物质含量)  $\times 100^{[10]}$ ; 还原糖含量: 采用直接滴定法进行测定<sup>[11]</sup>; 干物质(总固形物含量)使用阿贝折光仪; 麦芽糖含量测定方法: 高效阴离子交换色谱法。

### 1.3.6 色谱条件

ICS-3000 离子色谱仪检测制备的糖浆中各糖组分含量。色谱条件为: 色谱柱: CarboPac PA100(2mm 分析柱和保护柱); 淋洗液: 0.2mol/L 氢氧化钠-1mol/L 乙酸钠梯度洗脱; 进样量 25  $\mu$ L; 流速 0.250mL/min<sup>[12-13]</sup>。

#### 1.3.6.1 洗脱条件

设置梯度洗脱, 洗脱条件如表 2 所示<sup>[14]</sup>。

表 2 梯度洗脱条件

Table 2 Gradient elution conditions

时间 /min	流速 / (mL/min)	A/%	B/%
0	0.25	100	0
5	0.25	90	10
10	0.25	80	20
20	0.25	70	30
25	0.25	80	20
30	0.25	100	0

#### 1.3.6.2 标准溶液的配制<sup>[15]</sup>

标准储备液的配制: 分别称取色谱级葡萄糖、麦芽糖和麦芽三糖标准品 10.0mg, 用超纯水溶解后分别定容至 10mL, 配成质量浓度 1mg/mL 的储备液, 于棕色瓶中 4  $^{\circ}$ C 下储存。

标准溶液的配制: 葡萄糖、麦芽糖和麦芽三糖标准储备液按 1:1:1(V/V)吸取一定量用超纯水稀释至 10000 倍, 混合均匀保存在 4  $^{\circ}$ C 下备用, 使用前用 0.45  $\mu$ m 滤膜过滤。

样品处理: 样品经 3000r/min 离心 10min 除去蛋白质, 取上清液稀释至一定浓度备用。使用前用 0.45  $\mu$ m 的滤膜过滤。

## 2 结果与分析

### 2.1 耐高温 $\alpha$ -淀粉酶添加量对麦芽糖含量的影响

图 2 中结果显示在一定范围内随着耐高温  $\alpha$ -淀粉酶添加量的增加, 样品中麦芽糖含量增加, 在添加量为 0.2kg/t 原料时, 麦芽糖含量最大, 继续增加耐高温  $\alpha$ -淀粉酶添加量, 麦芽糖含量反而降低。添加耐高温  $\alpha$ -淀粉酶进行液化, 一方面能增加有利于糖化酶水解的非还原末端, 有利于糖化制备麦芽糖; 另一方面增加了产生聚合度为奇数的低聚糖, 对制备超高麦芽糖浆不利。因此要提高麦芽糖含量, 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶添加量要控制在适当范围内。

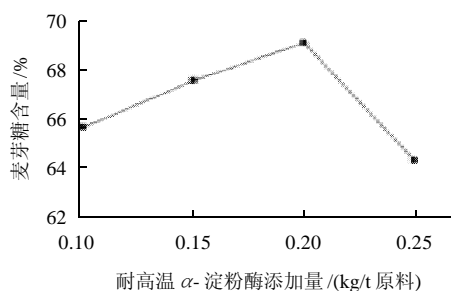


图 2 耐高温  $\alpha$ -淀粉酶添加量对麦芽糖含量的影响

Fig.2 Effect of thermal-stable  $\alpha$ -amylase amount on maltose content in prepared extremely high maltose syrup

### 2.2 大麦 $\beta$ -淀粉酶添加量对麦芽糖含量的影响

$\beta$ -淀粉酶可从淀粉分子非还原性末端依次间隔切开  $\alpha$ -1,4 糖苷键而生成麦芽糖。图 3 结果表明大麦  $\beta$ -淀粉酶添加量为 0.50kg/t 原料时, 样品中麦芽糖含量最高。继续增加大麦  $\beta$ -淀粉酶的添加量, 样品中麦芽糖含量反而降低, 单糖含量增加, 不利于制备高纯度的麦芽糖浆。

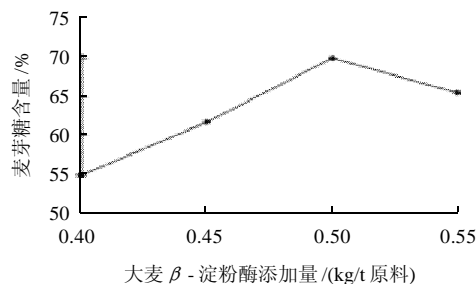


图 3 大麦  $\beta$ -淀粉酶添加量对麦芽糖含量的影响

Fig.3 Effect of barley-derived  $\beta$ -amylase amount on maltose content in prepared extremely high maltose syrup

### 2.3 普鲁兰酶的添加量对麦芽糖含量的影响

制备麦芽糖浆的淀粉原料中大多数含有 75%~85% 的支链淀粉, 一般支链淀粉含有 4%~5% 的  $\alpha$ -1,6 糖苷键<sup>[16]</sup>。支链淀粉经耐高温  $\alpha$ -淀粉酶水解成极限糊精、短链糊精和少量低聚糖,  $\beta$ -淀粉酶不能水解极限糊精。普鲁兰酶属脱支酶, 能分解支链淀粉中  $\alpha$ -1,6 糖苷键, 添加普鲁兰酶协助糖化, 提高了麦芽糖产量。

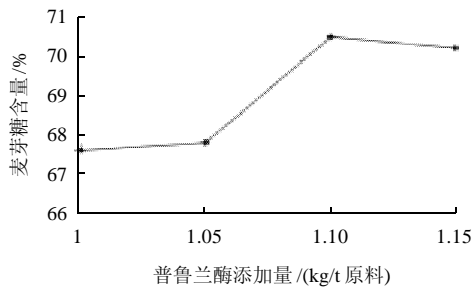


图4 普鲁兰酶添加量对麦芽糖含量的影响

Fig.4 Effect of barley-derived  $\beta$ -amylase amount on maltose content in prepared extremely high maltose syrup

#### 2.4 糖化结束 DE 值对麦芽糖含量的影响

图5结果表明糖化结束DE值在46%~48%时,随着DE值的增大,麦芽糖含量增高,在48%左右达到最高。糖化结束DE值超过50%,糖化液出现不同程度过度水解,样品中葡萄糖含量逐渐增加,麦芽糖含量明显下降。

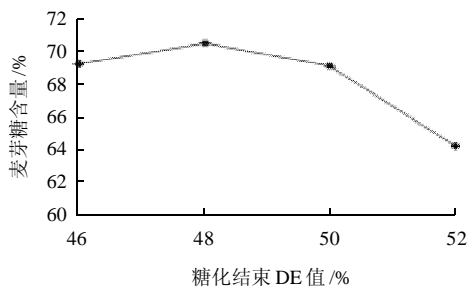


图5 糖化结束 DE 值对麦芽糖含量的影响

Fig.5 Effect of post-saccharification DE value on maltose content in prepared extremely high maltose syrup

#### 2.5 高麦芽糖浆制备工艺正交试验结果

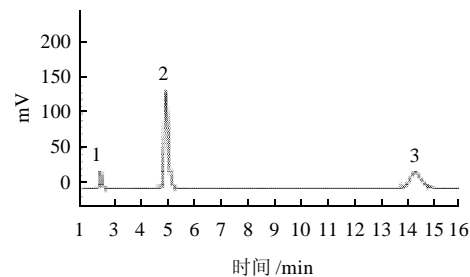
表3 高麦芽糖浆正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	麦芽糖含量/%
1	1	1	1	1	62.00
2	1	2	2	2	65.03
3	1	3	3	3	60.00
4	2	1	2	3	65.07
5	2	2	3	1	66.54
6	2	3	1	2	68.20
7	3	1	3	2	70.47
8	3	2	1	3	67.03
9	3	3	2	1	67.83
$K_1$	187.03	197.54	197.23	196.37	
$K_2$	199.81	198.60	197.93	203.70	
$K_3$	205.33	196.03	197.01	192.10	
$k_1$	62.34	65.92	65.74	65.46	
$k_2$	66.60	66.20	65.98	67.98	
$k_3$	68.52	65.34	65.75	64.03	
R	6.18	0.86	0.23	3.94	

表3 正交试验结果表明:最佳工艺条件为  $A_3B_2C_2D_2$ , 即耐高温  $\alpha$ -淀粉酶、大麦  $\beta$ -淀粉酶和普鲁兰酶的添加量分别为 0.20、0.50kg/t 原料和 1.05kg/t 原料、糖化结束 DE 值为 48%。由于最佳条件不包括在 1~9 号试验中,进行验证实验,按  $A_3B_2C_2D_2$  条件制备麦芽糖浆并选用高效阴离子交换色谱检测其中各组分含量。

#### 2.6 麦芽糖浆中各组分含量检测

以 0.2mol/L 氢氧化钠-1mol/L 乙酸钠为淋洗液梯度洗脱,进样量 25  $\mu$ L,流速 0.250mL/min。样品经 ICS-3000 离子色谱仪检测所得色谱图如图6所示,由图6可以看出,样品中以麦芽糖居多,含有少量的葡萄糖和麦芽三糖。以峰面积外标法计算得出样品中麦芽糖含量为 70.7%,葡萄糖含量为 1.3%,其余部分为麦芽低聚糖,制备的糖浆中麦芽糖含量符合超高麦芽糖标准。



1. 葡萄糖; 2. 麦芽糖; 3. 麦芽三糖。

图6 超高麦芽糖样品色谱图

Fig.6 HPLC chromatogram of the prepared extremely high maltose syrup under optimized conditions

#### 2.7 超高麦芽糖浆其他指标检测

表4 超高麦芽糖浆各项指标检测结果

Table 4 Physico-chemical and sensory properties of the prepared extremely high maltose syrup under optimized conditions

序号	检测项目	检测方法	指标	检测结果	单项判定
1	外观	Q/TLJ03—2007	呈黏稠状透明液体,无肉眼可见杂质	符合技术要求	合格
2	色泽	Q/TLJ03—2007	白色或无色	无色	合格
3	滋味	Q/TLJ03—2007	舒润纯正、无异味	符合技术要求	合格
4	干物质(固形物)%	Q/TLJ03—2007	$\geq 75$	75	合格
5	pH	Q/TLJ03—2007	4.6~6.0	4.6	合格
6	DE 值	Q/TLJ03—2007	$\geq 42$	43	合格
7	麦芽糖含量(以干物质计)%	GB/T18932.22—2003	$\geq 70$	70.7	合格
8	葡萄糖含量(以干物质计)%	GB/T18932.22—2003	$\leq 2$	1.3	合格

从表4可以看出,制备的样品外观、色泽、滋味和糖分含量等各项指标都符合超高麦芽糖标准。

### 3 结论

本实验确立了全酶法制备超高麦芽糖浆的最佳工

艺, 耐高温  $\alpha$ - 淀粉酶、大麦  $\beta$ - 淀粉酶和普鲁兰酶的添加量分别为 0.20、0.50kg/t 原料和 1.05kg/t 原料, 在淀粉充分液化的前提下控制液化结束 DE 值在 10%, 此操作不仅有利于生产麦芽糖而且易于压滤, 控制糖化结束 DE 值在 48% 左右, 制备的糖浆中主要成分为麦芽糖, 含有少量的葡萄糖和麦芽三糖。本工艺有效提高了产品中麦芽糖的含量, 解决了麦芽糖产率低的问题, 终产品中麦芽糖含量高于 70%, 各项指标检测结果符合超高麦芽糖浆标准。

#### 参考文献:

- [1] 张力田. 淀粉糖[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 83-287.
- [2] MARSHALL W G, WORDSWORTH J I. Rice science and technology [M]. New York: Msree Dekker Inc, 1994: 237-259.
- [3] 刘汉文. 碎米直接生产高麦芽糖工艺研究[J]. 淀粉与淀粉糖, 1994 (4): 22-23.
- [4] 鲍元兴, 宁健飞. 高麦芽糖浆生产中连续喷射液化技术[J]. 食品工业, 1995(6): 20-22.
- [5] 姚艾东, 罗晓岚, 何健. 碎米制备高麦芽糖浆生产技术[J]. 食品科技, 2001(4): 41-42.
- [6] 凌吉春. 用碎米制备高麦芽糖醇[J]. 粮食与食品工业, 1998(1): 26-29.
- [7] 吴国杰, 周家华, 吴水清, 等. 麦芽糖产率与淀粉液化程度关系的研究[J]. 食品科技, 1999(5): 12-15.
- [8] KROHN B M, LINDSAY J A. Purification and characterization of a thermo stable alpha-glucosidase from a *Bacillus subtilis* high-temperature growth transformant[J]. Current-Microbiology, 1991, 22(4): 273-278.
- [9] 周家华, 罗发兴, 张力田. 超高麦芽糖浆的生产[J]. 食品与发酵工业, 1994(5): 39-43.
- [10] 尤新. 淀粉糖品生产与应用手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 93-94.
- [11] GB/T5009.7—2003 食品中还原糖的测定[S].
- [12] HANKO V P, ROHRER J S. Determination of carbohydrates, sugar alcohols, and glycols in cell cultures and fermentation broths using high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection[J]. Anal Biochem, 2000, 283(2): 192-199.
- [13] WHISTLER R L, BEMILLER J N. Methods in carbohydrate chemistry: Volume VIII[M]. NY: Academic Press, 1980: 13-19.
- [14] MORALES V, OLANO A, CORZO N. Ratio of maltose to maltose and furosine as quality parameters for infant formula[J]. Agric Food Chem, 2004, 52(22): 6732-6736.
- [15] GB/T21533—2008 蜂蜜中淀粉糖浆的测定 - 离子色谱法[S].
- [16] 二国二郎. 淀粉科学手册[M]. 王徽青, 译. 北京: 中国轻工业出版社, 1990: 31-44.