

文章编号:1003-8701(2013)06-0082-04

枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶修饰 对玉米粉成分的影响

王景会,李姝睿,李 达,周宏璐*

(吉林省农业科学院,长春 130033)

摘 要:本文采用枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶对玉米粉进行了修饰改性研究,并对比分析了修饰前后玉米粉中主要成分的变化,试验结果表明,玉米粉经过修饰后,其粗脂肪、可溶固形物、粗灰分等相对含量都有增加,而真蛋白的含量明显减少,总氨基酸含量比对照玉米粉增加了 26.46%。玉米粉中总淀粉和支链淀粉含量下降明显,而直链淀粉的相对含量略有增加。

关键词:玉米粉;枯草芽孢杆菌;生物修饰

中图分类号:TS201.3

文献标识码:A

Effect of *Bacillus subtilis* JAASB4 Extracellular Enzyme Modification on Corn Flour Components

ZHOU Hong-lu, LI Shu-rui, LI Da, WANG Jing-hui*

(*Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China*)

Abstract: In this study, composition changes of corn flour were measured pre and post the modification of biological enzyme. After modified by enzyme, the crude fat, soluble solids, crude ash of corn meal increased, while the true protein content of corn meal decreased significantly. The total amino acid content increased by 26.46%, and the total starch and amylopectin starch content decreased significantly, meanwhile, relative amylose content increased.

Keywords: Corn flour; *Bacillus subtilis*; Biological modification

玉米粉的改性方法主要可以分为三类,即物理改性法、生物改性法及化学改性法,化学法由于自身的安全性等问题,在食品中应用十分有限。而其他两种方法较为常用,主要包括挤压膨化法、超高压法、微波法及酶法等。玉米的生物改性即利用微生物的发酵作用或生物酶的催化修饰对玉米分子结构进行局部修饰,使玉米分子链得到适当调整和嫁接,使玉米粉的性质发生改变,从而使玉米粉的食用品质得到改善。无论哪种方法,都是主要作用于玉米粉中的蛋白质和淀粉。淀粉及蛋白质是玉米粉的主要成分,其中蛋白质含量、淀粉颗粒

中直链淀粉与支链淀粉的数量及比例等都对玉米粉的食用品质及加工品质有重要影响^[1-2],本文主要研究枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶修饰改性前后玉米粉中淀粉、直链淀粉、支链淀粉、真蛋白、氨基酸及粗脂肪的变化,以便进一步探讨枯草芽孢杆菌 JAASB4 对玉米粉修饰改性的作用机理。

1 材料与方 法

1.1 试验仪器

HZQ-X100 全温振荡培养箱,上海一恒科技有限公司; Evolution RC 高速冷冻离心机,美国 Thermo Stovall 公司; WYT-32 型手持式糖度计,泉州光学仪器厂; Varian Cary 300 紫外可见分光光度计, Australia PTY.LTD; JJ200 电子天平,美国双杰。DHC-9023A 电热鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司。S-433D 型全自动氨基酸分析仪,

收稿日期:2013-05-08

基金项目:吉林省自然科学基金项目(201215196)

作者简介:王景会(1976-),女,副研究员,博士,从事农产品加工研究。

通讯作者:周宏璐,男,研究员, E-mail: dczyxb@126.com

德国 Sykam 公司。

1.2 试验材料

玉米粉 :普通黄色凹齿玉米粉 ,吉林省农业科学院农产品加工研究所提供。

枯草芽孢杆菌 JAASB4 (*Bacillus subtilis* JAASB4) : 吉林省农业科学院食品生物技术试验室分离鉴定并保存。

1.3 试验方法

1.3.1 枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶对玉米粉的修饰改性

在 LB 液体培养基中加入 10% 的玉米粉 (W/V), 然后接入枯草芽孢杆菌 JAASB4 种子液 , 37℃ ,200 r/min 振荡培养 36h 取出 ,4℃ ,8 000 r/min 离心 10 min ,去上清 ,沉淀于 45℃ 下烘干粉碎 ,过 100 目筛待用。

1.3.2 可溶性固形物含量的测定

用数字式糖度计可直接测定 ,读数以%表示。

1.3.3 粗脂肪含量的测定

采用索氏抽提法^[3]。准确称取玉米粉样品 1.5 g ,放入抽提器内。将抽提器与已恒重的干燥抽提瓶连接于冷凝器上 , 冷凝器中加入 50 mL 石油醚 ,接通冷凝水 ,调温至 85℃ 左右开始蒸馏 ,将虹吸次数控制在 20 次 /h 左右。蒸馏 5~9 h ,期间可取少量抽提器内液体滴于滤纸上 ,如果干燥后无油迹即可以认为蒸馏结束。回收石油醚 ,至抽提瓶内仅残余 1~2 mL 液体时停止 ,在 105℃ 烘箱中准确烘干 1 h 后称重。依据下列公式计算 :

$$\text{粗脂肪}(\%) = G/W \times 100$$

其中 ,G:石油醚抽出物重量(g) ,W :干基样品重量(g)。

1.3.4 灰分的测定

准确称取 2.000 0 g 玉米粉样品均匀放入已知恒重的坩埚内 ,再将坩埚置于马福炉中 ,在 550℃ 灼烧 3~6 h ,至恒重 ,此时玉米粉变成白色或灰白色。依据下列公式计算。

$$\text{灰分}(\%) = (m_2 - m_1) / [m \times (1 - \text{水分}\%)] \times 100$$

其中:m₂ 为灰化后坩埚和残渣质量 (g) ,m₁ 为空坩埚质量(g) ,m 为样品质量(g)。

1.3.5 真蛋白含量的测定

为了防止可能来源于发酵液或玉米蛋白水解产生的氨基酸等含氮物对测量结果的影响 ,在玉米粉的水溶液中加入过量的硫酸铜 ,在碱性条件下 ,纯蛋白被氢氧化铜沉淀 ,用水洗去水溶性含氮物 ,沉淀部分烘干后参照 GB/T14771-93 凯氏定氮法测定^[4]。

1.3.6 玉米粉中氨基酸的测定

采用 GB/T 18246-2000 的方法进行测定。

1.3.7 淀粉、直链淀粉、支链淀粉含量的测定

采用金玉红等的方法^[5] ,准确称取玉米粉样品 0.100 0 g ,加入 0.5 mol/L KOH 10 mL ,将上述烧杯置于 60℃ 水浴中保温 10 min ,并充分搅拌 ,然后用蒸馏水定容至 50 mL ,摇匀 ,静置 20 min。取 2.5 mL 上清 ,加入蒸馏水 30 mL ,用 0.1 mol/L HCl 将溶液 pH 调至 3.5 ,然后加入 0.5 mL 碘试剂 ,最后用蒸馏水定容至 50 mL ,静置 30 min ,分别测定其吸光值。

1.3.8 可溶性糖的测定

采用蒽酮法测定^[6]。

1.3.9 还原糖的测定

采用 3,5- 二硝基水杨酸法测定^[7]。

1.3.10 糊精的测定

准确称取玉米粉样品 0.5 g ,加入 5 mL 蒸馏水 ,搅拌均匀。50℃ 恒温水浴中保温 20 min ,确保还原糖充分浸出 ,4℃ ,5 000 r/min 离心 10 min ,取 1 mL 上清液 ,缓慢加入 8 mL 95% 的乙醇 ,室温放置 16 h 以上促使糊精沉淀。4℃ ,5 000 r/min 离心 8 min ,弃上清 ,沉淀加入蒸馏水 10mL 并搅拌均匀 ,然后加入 1 mL 浓盐酸 ,121℃ 高压蒸煮 30 min ,促使糊精基本上都水解为葡萄糖。冷却至室温后 ,用 20% 氢氧化钠溶液中和 ,定容至 15 mL ,然后依照上述还原糖的测定方法测定葡萄糖含量。

2 结果与分析

修饰玉米粉的枯草芽孢杆菌 JAASB4 菌体及分泌的胞外酶成分 ,相对于被处理的玉米粉来说量非常少 ,因此其中的营养物质忽略不计。

2.1 枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶处理对玉米粉常规营养成分的影响

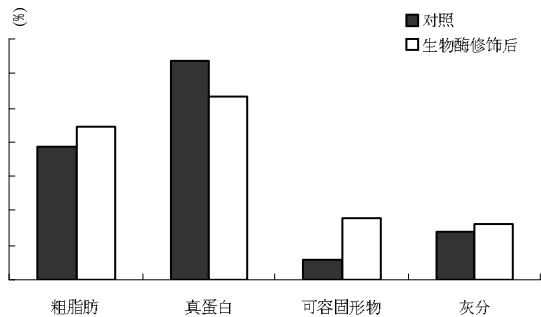


图 1 枯草芽孢杆菌 JAASB4 修饰前后玉米粉中常规营养成分的变化

经过枯草芽孢杆菌 JAASB4 的改性，玉米粉中的常规营养成分变化明显。从图 1 可以看出，与对照组相比，经过枯草芽孢杆菌 JAASB4 修饰的玉米粉的粗脂肪、可溶性固形物、粗灰分等相对含量都有增加，而真蛋白的含量明显减少，可能是由于菌体分泌的胞外酶的作用，使得玉米粉中大分子物质分解成一些可溶性的小分子物质，所以可溶性固形物含量明显增加。其中有些可能具有挥发性，导致样品质量减少，粗灰分相对含量略有增加。同时也说明枯草芽孢杆菌 JAASB4 分泌的胞外酶中，脂肪酶的作用较弱，分解的粗脂肪数量不足以抵消样品质量减少的量，所以样品质量减少粗脂肪含量略有增加。而蛋白酶是胞外酶主要成分之一^[8-9]，降解了玉米粉中的蛋白质，其真蛋白含量由 6.39% 下降到 5.33%，相对含量下降了 16.19%。这与徐忠等的研究报道相类似^[10]。蛋白酶的作用破坏了蛋白质与淀粉的络合结构，促进了淀粉纯化，从而有利于玉米粉品质的改善。

2.2 枯草芽孢杆菌 JAASB4 处理对玉米粉中淀粉及糖类的影响

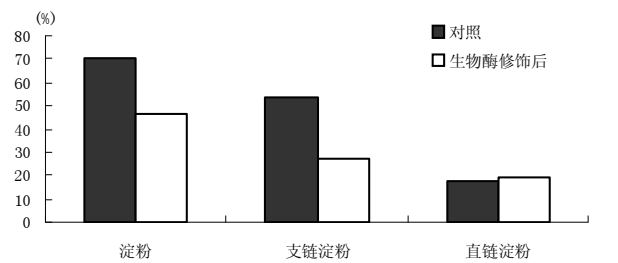


图 2 枯草芽孢杆菌 JAASB4 处理前后玉米粉中淀粉的变化

淀粉是人类碳水化合物的主要来源，是绿色植物将二氧化碳和水经光合作用合成的一类天然植物多糖，主要以颗粒形式存在。淀粉颗粒是由支链淀粉和直链淀粉两种高分子有序集合而成的，淀粉的组成即支链淀粉与直链淀粉的比例及直链淀粉的含量，对玉米粉的品质有很重要的影响^[11-12]，试验结果如图 2 所示，枯草芽孢杆菌 JAASB4 处理后玉米粉中淀粉和支链淀粉含量下降明显，分别由对照组的 70.72%、53.41% 下降到了酶修饰后的 46.82% 和 27.51%，降幅分别达到了 33.78% 和 48.49%。而枯草芽孢杆菌 JAASB4 发酵直链淀粉的相对含量略有增加，由对照组的 17.41% 上升到了酶修饰后的 19.31%，增幅达到了 10.91%，这可能是由于枯草芽孢杆菌 JAASB4 分泌的淀粉酶绝大部分是 α -淀粉酶，主要作用于支链淀粉，导致淀粉和支链淀粉的含量骤减，而直链淀粉变化

不大，所以相对含量略有增加，也可能是干物质减少所造成的浓缩效应。闵伟红等^[13]通过对乳酸菌发酵大米淀粉的研究发现，乳酸菌发酵后大米淀粉中的直链淀粉含量增加，支链淀粉被降解，与本研究的结果相类似。

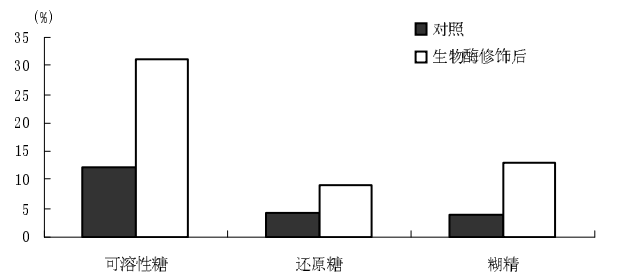


图 3 枯草芽孢杆菌 JAASB4 处理前后玉米粉中糖类的变化

枯草芽孢杆菌 JAASB4 通过发酵能够分泌一定数量的淀粉酶，从而将玉米粉中的淀粉分解成可溶性糖。由图 3 可知，随着淀粉的分解，枯草芽孢杆菌 JAASB4 修饰产物中可溶性糖含量由对照的 12.33% 上升到 31.02%，增幅达到 151.58%；还原糖含量由对照的 4.31% 上升到 9.22%，增幅达到 113.92%；糊精含量由对照的 4.01% 上升到 12.81%，增幅更是达到 219.45%。

2.3 枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶处理对玉米粉中氨基酸的影响

表 1 枯草芽孢杆菌 JAASB4 处理前后玉米粉中氨基酸的变化

氨基酸种类	对照组	生物酶修饰	提高(%)
谷氨酸	1.62	2.99	84.57
酪氨酸	0.16	0.24	50.00
赖氨酸 *	0.19	0.28	47.37
丙氨酸	0.48	0.65	35.42
缬氨酸 *	0.35	0.47	34.29
苯丙氨酸 *	0.39	0.47	20.51
异亮氨酸	0.29	0.33	13.79
组氨酸 *	0.24	0.26	8.33
蛋氨酸 *	0.14	0.15	7.14
苏氨酸 *	0.28	0.30	7.14
亮氨酸 *	0.99	1.05	6.06
脯氨酸	0.76	0.78	2.63
天冬氨酸	0.51	0.52	1.96
丝氨酸	0.35	0.35	-
甘氨酸	0.27	0.27	-
胱氨酸	0.15	0.15	-
精氨酸 *	0.35	0.25	-28.57
总氨基酸	7.52	9.51	26.46

注：“*” 必需氨基酸。

玉米粉经过枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶修饰后,试验结果如表 1 所示,总氨基酸含量比对照增加了 26.46%。其中,谷氨酸的含量增加比例最大,达到了 84.57%,其次是酪氨酸增加了 50%,赖氨酸增加了 47.37%,丙氨酸增加了 35.42%,缬氨酸增加了 34.29%,苯丙氨酸增加了 20.51%,异亮氨酸增加了 13.79%,而精氨酸下降了 28.57%。其余的氨基酸变化较小或基本上没有变化。在带有“*”的必需氨基酸中,仅有精氨酸的相对含量明显下降,其他 7 种都有所增加,赖氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸的相对含量增加都达到 20%以上。

枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶修饰玉米粉中真蛋白和 17 种氨基酸含量分别为 5.33%, 9.51%。可以发现真蛋白的含量都要比氨基酸含量少,这与闫亚婷^[14]及 FIELDS^[15]等人的研究报道相类似,可能是发酵产物中含有较多游离氨基酸和多肽造成的。

3 结 论

测定了枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶修饰前后玉米粉成分的变化,玉米粉经过酶修饰后,其粗脂肪、可溶性固形物、粗灰分等相对含量都有增加,而真蛋白的含量明显减少。玉米粉中淀粉和支链淀粉含量下降明显,降幅分别达到了 33.78%和 48.49%。而直链淀粉的相对含量略有增加,增幅达到了 10.91%。可溶性糖含量增幅达到了 151.58%,还原糖含量增幅达到了 113.92%,糊精含量增幅更是达到 219.45%。

枯草芽孢杆菌 JAASB4 处理的玉米粉中真蛋白的含量都要比氨基酸含量少,可能是发酵产物中含有较多游离氨基酸和多肽造成的。玉米粉经过枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外生物酶修饰后,总氨基酸含量比对照增加了 26.46%。其中,谷氨酸的含量增加比例最大,达到了 84.57%,其次是酪氨酸增加了 50%,赖氨酸增加了 47.37%,丙氨酸增加了 35.42%,缬氨酸增加了 34.29%,苯丙氨酸增加了 20.51%,异亮氨酸增加了 13.79%,而精氨酸下降了 28.57%。其余的氨基酸变化较小或基本上没有变化。在带有“*”的必需氨基酸中,仅有精氨酸的相对含量明显下降,其他 7 种都有所增加,

赖氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸的相对含量增加都达到 20%以上。

综上所述,枯草芽孢杆菌 JAASB4 胞外酶显著改变了玉米粉的成分组成,这些改变对于玉米粉及其制品食用品质及加工品质的影响还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] SERAP O, DAVID S J. Functionality Behavior of Raw and Extruded Corn Starch Mixtures[J]. Cereal Chemistry, 2005, 82(2): 223-227.
- [2] 杜双奎, 魏益民. 玉米品种籽粒品质性状研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(3): 57-62.
- [3] 张丽英. 饲料分析与饲料质量检测技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [4] 马文强, 冯 杰, 刘 欣. 微生物发酵豆粕营养特性研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(1): 121-124.
- [5] 金玉红, 张开利, 张兴春, 等. 双波长法测定小麦及小麦芽中直链, 支链淀粉含量 [J]. 中国粮油学报, 2009, 24(1): 137-140.
- [6] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [7] 赵 凯, 徐鹏举, 谷广辉. 3, 5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 534-536.
- [8] RAVICHANDRA POTUMARTHI, SUBHAKAR Ch, ANNA-PURNA JETTY. Alkaline protease production by submerged fermentation in stirred tank reactor using *Bacillus licheniformis* NCIM-2042: Effect of aeration and agitation regimes [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006(5): 56-65.
- [9] MARCUS SCHALLMEY, AJAY SINGH, OWEN P WARD. Developments in the use of *Bacillus* Species for Industrial Production [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2004, 50(1): 1-17.
- [10] 徐 忠, 张海华. 复合改性玉米粉的制备研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(11): 151-153.
- [11] SAHLSTROM S, BRATHEN E, LEA P, et al. Influence of starch granule size distribution on Bread characteristics [J]. J. Cereal Sci., 1998, 28(2): 157-164.
- [12] RICHARD F, WILLIAM R, ACQUISTUCCI R. Physicochemical and rheological characterization of sorghum starch [J]. J. Food Sci., 1992(57): 1024-1028.
- [13] 阎伟红. 乳酸菌发酵改善米粉食用品质机理的研究[D]. 中国农业大学, 2003.
- [14] 闫亚婷. 固态发酵玉米条件的优化及营养物质变化的比较研究[D]. 四川农业大学, 2010.
- [15] FIELDS M C Cl. Mixed culture fermentation to improve nutritional value of corn meal [J]. Food Prot, 2008, 15(11): 866-870.