

黑曲霉糖化酶用于测定谷物淀粉含量

黄 慕 宝

(新疆石河子食品厂)

在测定谷物中淀粉含量时,我们用黑曲霉(*Aspergillus niger*)产生的淀粉-1,4-葡萄糖苷酶水解淀粉,水解时间较短,测定专一性强,结果稳定。现将方法介绍如下。

一、酶液的制备

1. 菌株:黑曲霉 330 菌株,由上海市工业微生物研究所提供。

2. 菌的培养:液体培养基成分是(%):黄玉米粉 5,豆饼粉 1.5, K_2HPO_4 0.05, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001, 自来水配制, pH5.0。在 500 毫升三角瓶中装 100 毫升培养基,1 公斤/厘米²灭菌 20 分钟。接种后于 31—33℃ 振荡培养 72 小时,抽滤除去菌丝。滤液的糖化酶活力约为 15 单位/毫升。

或用 1:1.1—1.2 的麸皮和水拌匀灭菌,接种后于 31—33℃ 培养 48 小时,用 6—7 倍 40℃ 温水浸提。酶液活力一般为 14—16 单位/毫升。

将上述酶提取液调至 pH5.0,接种面包酵母或啤酒酵母,30℃ 发酵 48—60 小时,除去酶提取液中的还原糖。再将此酶液用 1N HCl 调节 pH2.8—3.0,加入 1.2% 的酸性白土搅拌 1 小时,过滤,由此除去转移葡萄糖苷酶。

在经上述处理后的酶液加入甲苯 0.5 毫升,盛于棕色瓶中置冰箱中保存,半年内酶活力未明显下降。

二、淀粉的酶水解和含量测定

精确称量充分粉碎的 1.5—2.0 克谷物样品(如为块茎或块根则称 8—10 克),放在 200 毫

升三角瓶中,加入 30—40 毫升水,加热使淀粉糊化,再以 1 公斤/厘米²水蒸汽加压处理 20 分钟。冷至 60℃ 后,加入上述酶液 15 毫升,调节 pH 为 4.4,置 60℃ 水浴水解 2 小时,水解时摇动内容物 1—2 次。然后用 1% Na_2CO_3 溶液调节 pH 至 7.0 左右,用容量瓶定容至 500 毫升,再以 Lane-Eynon 法测定还原糖,由含糖量换算成淀粉含量。

三、方法的可靠性

(一) 对不同性质淀粉的水解情况

用豌豆淀粉(几乎 100% 是直链淀粉)、糯

表 1 酶解法与酸解法测定谷物淀粉含量的结果

样 品	淀粉含量(%)	
	酸解法	酶解法
可溶性淀粉	85.57	85.55
甘薯淀粉	87.62	87.54
玉米淀粉	86.42	86.34
糯米	76.40	76.21
稻米	74.49	74.31
小米	71.41	71.21
油粉(黄粉)	51.84	50.76
白高粱	65.28	64.26
玉米	67.70	64.49
马铃薯	17.03	16.51
小麦	68.14	62.19
大麦	60.02	51.27
绿豆	49.07	43.15
红小豆	52.62	46.78
蚕豆	50.19	44.25
豌豆	49.80	43.75
麸皮	45.26	19.18
玉米淀粉渣	50.94	19.43
黄豆	18.92	0.54
玉米蕊	28.72	0

米淀粉（几乎 100% 是支链淀粉）和玉米淀粉（含 70% 支链淀粉和 30% 直链淀粉）作底物，用上述酶液分别按上述方法水解，用纸层析法检查水解产物。发现豌豆淀粉完全水解成葡萄糖；糯米淀粉和玉米淀粉水解后，除葡萄糖外，还有微量的异麦芽糖。

由于水解产物中异麦芽糖含量在 1% 以下，而且在使用 Lane-Eynon 法定糖时，异麦芽糖也有一部分还原铜试剂的能力，因此，对淀粉含量的换算影响不大。

（二）对各种谷物淀粉含量的测定

用上述方法测定了多种谷物中淀粉含量，并与酸水解法的结果相比较，结果见表 1。由表 1 可见，含淀粉量高的谷物，用糖化酶水解淀粉与酸水解，所得结果相当一致。而测定麸皮等含淀粉少的样品，则用两种方法水解测定的结果相差甚大，这是因为酸水解使麸皮中的戊糖胶水解而变成还原糖。这更说明酶法测定淀粉的可靠性。