

# $\alpha$ -淀粉酶的特性及其在淀粉粘合剂中的应用

## Study on The Applicational Properties of The $\alpha$ -Amylase

卫文娴                  梁兴泉\*                  杨连生  
Wei Wenxian          Liang Xingquan        Yang Liansheng

(华南理工大学轻化工研究所 广州 510641)

(Res. Inst. of Light Ind. & Chem. Eng., South China Univ. of Tech., Guangzhou, 510641)

**摘要** 对来自枯草杆菌的商品 T-淀粉酶水解淀粉的活力与温度、pH 值的关系以及 T-淀粉酶对温度和化学药品如乙二胺四乙酸二钠以及苯酚的耐受程度等进行了研究。结果发现,用 T-淀粉酶水解淀粉的最佳反应温度为 90°C,反应的最佳 pH 值为 6.0~ 6.2;反应完成后,用乙二胺四乙酸二钠在 100°C 以上结束反应最为有效,它可以将残余酶活力降至最低,从而抑制粘合剂在贮存过程中的粘度降低。

**关键词** T-淀粉酶 淀粉 粘合剂

**Abstract** The applicational properties of the T- $\alpha$ -amylase in starch adhesive was studied. The relations between the activity of the T- $\alpha$ -amylase and the reaction temperature, the pH and some chemicals were investigated. The result showed that the optimum temperature was 90°C and the optimum pH value was 6.0~ 6.2 for producing starch adhesive used in corrugated paper board. In the end of the reaction, adding some EDTA above 100°C is helpful to stop the reaction and to avoid the loss of the viscosity of the adhesive in store.

**Key words** T- $\alpha$ -amylase, starch, adhesive

中图法分类号 Q 556.2; TQ 432.2

淀粉粘合剂是目前纸箱行业用于替代水玻璃的用量较大的粘合剂之一<sup>[1]</sup>。但是,淀粉粘合剂的固体含量较低,使纸板干燥时间延长,从而导致生产效率降低<sup>[2,3]</sup>;生产条件控制不好,还会引起淀粉粘合剂在储存期失效<sup>[4]</sup>。为了增大淀粉粘合剂的固体含量,最为简单的办法是用 T-淀粉酶将淀粉长链分子水解为短链分子,使淀粉的粘度控制在一定的范围以适应纸箱行业的需要。T-淀粉酶是一种重要的水解淀粉类酶制剂,它作用于淀粉时,以无规则的方式切开淀粉分子内部的 T-1,4糖苷键而使淀粉生成糊精、低聚糖等,产物的末端葡萄糖残基 C1 碳原子为 T 构型,故称为 T-淀粉酶。是我国产量较大的酶制剂之一,广泛用于食品、酿造、制药和纺织等行业。目前,用于纸箱行业的 T-淀粉酶尚不多,这主要是因为 T-淀粉酶的特性对淀粉粘合剂的生产 and 贮存的质量影响很大。为此,我们对来自枯草杆菌的商品 T-淀粉酶的特性进行了一系列的考察和研究,以期得到可供淀粉粘合剂的生产 and 贮存过程参考的数据。

## 1 实验材料和方法

### 1.1 试剂和溶液

可溶性淀粉,碘,碘化钾,磷酸氢二钠,柠檬酸,盐酸,乙二胺四乙酸二钠(EDTA),苯酚,以上均为分析纯试剂;T-淀粉酶(广西桂平糖厂生产,工业品)

### 1.2 仪器

721 分光光度计、恒温水浴锅、秒表

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 酶溶液的制备

吸取酶溶液 1.00 mL (或固体酶 1 g) 于容量瓶中溶解并稀释至刻度。稀释倍数以稀释酶液的活力为 60 U/mL~ 100 U/mL 为宜。一个酶活力单位定义为:在测定条件下,每分钟分解 1 $\mu$ mol 糖苷键的酶量<sup>[5]</sup>。

#### 1.3.2 测定

准确吸取 20 mL 质量分数为 2% 可溶性淀粉溶液,置于 50 mL 比色管中,加入 5 mL pH 值 6.0 缓冲溶液,摇匀,于 70°C 水浴预热 5 min,然后准确加入 1 mL 稀释酶液,立即计时并摇匀。于 70°C 水浴保温酶解 5 min,立即取出 1 mL 反应液,置于含 0.5

mL 0.1 mol/L 盐酸溶液中中止反应。然后加入 5 mL 碘液, 摇匀。以稀碘液为空白, 用 1 cm 比色皿在 660 nm 波长下测定吸光度  $A$ 。

### 1.4 计算

酶活力由线性回归方程式 (1) 计算得到

$$c = (48.96 - 59.38 \lg A) \cdot n \quad (1)$$

式中:  $c$ ——酶活力, U/mL;

$A$ ——吸光度;

$n$ ——酶溶液的稀释倍数

## 2 结果与讨论

综上所述可见, 对于从枯草杆菌中所获得的 T-淀粉酶来说, 水解反应的最佳温度为 90°C, 最佳 pH 值为 6.0~6.2。钙离子有利于提高酶的活性<sup>[6]</sup>, 减少酶的用量, 但同时会增加反应后期灭酶的难度, 因此, 在淀粉粘合剂的生产过程中以少加或不加钙盐为好。苯酚能使酶蛋白变性失活, EDTA 能从 T-淀粉酶分子内夺取作为活性中心的钙离子使酶失活, 因此都有利于反应后期用以结束反应。相对而言, EDTA 的作用稍强一些, 但若同时考虑粘合剂在贮存过程的防腐问题, 则以苯酚与 EDTA 并用为好。

### 2.1 反应温度对酶活力的影响

在不同反应温度下测定酶水解淀粉的活力, 其结果如表 1 和图 1 所示

表 1 反应温度对酶活力的影响

Table 1 Effect of temperature on the activity of T- $\alpha$ -amylase

温度 Temperature (°C)	稀释倍数 Diluent multiple	吸光度 Absorbance $A$	酶活力 Activity of $\alpha$ -amylase (U/mL)	相对活力 Relative activity (%)
50	170	0.375	12623	64.2
60	190	0.279	15557	79.2
70	220	0.209	19653	100.0
80	260	0.201	23487	119.5
90	320	0.192	29286	149.0
100	290	0.231	25157	128.0

由表 1 和图 1 可见, 当反应温度为 90°C 时, 酶的活力最大。当反应温度超过 90°C 时, 淀粉酶的相对活性下降。因此, 酶法生产淀粉粘合剂时, 反应温度应控制在 90°C 左右为宜。这样既可以减少酶的用量、降低生产成本, 又可以减少贮存期残余酶活力所导致的粘合剂的粘度损失。

### 2.2 酶对化学药品及热的稳定性

将酶溶液分别置于不同温度下或在 100°C 下分别加入酶溶液总量 1% 的苯酚和 EDTA 保温, 不同时间取样按上述测定酶活力的方法测定其残余活力, 结

果如图 2 所示。

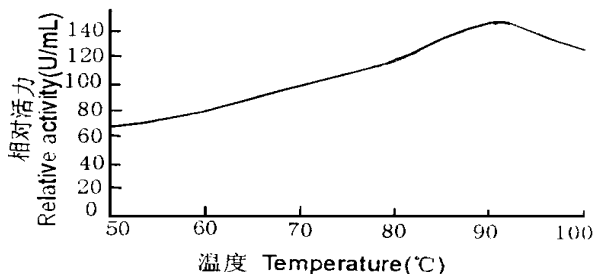


图 1 反应温度对酶活力的影响

Fig. 1 Effect of temperature on the activity of T- $\alpha$ -amylase

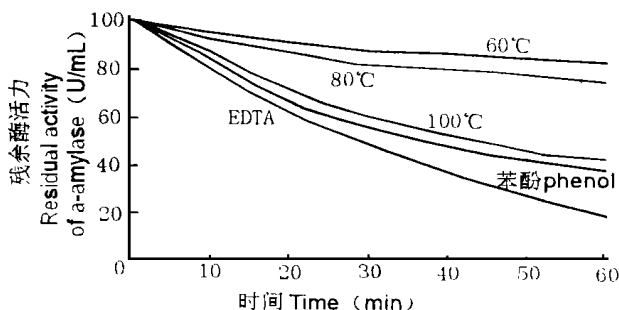


图 2 酶对化学药品及热的稳定性

Fig. 2 Thermal stability and chemical stability of the T- $\alpha$ -amylase

由图 2 可见, T-淀粉酶在 10 min 之内, 不同温度、不同化学药品对其活力影响的差别不太大, 这对粘合剂的生产是有利的, 因为用淀粉酶水解生产粘合剂的反应通常在数分钟内即可完成。在上述温度或化学环境中, 以 100°C 的 EDTA 溶液对 T-淀粉酶的活力影响最大, 它可以在 10 min 之内使 T-淀粉酶的活力损失约 20%, 20 min 之内使 T-淀粉酶的活力损失达 50% 以上。而在不含苯酚和 EDTA 的反应体系中, 100°C 时加热 10 min, T-淀粉酶的活力损失约为 15%, 80°C 时加热 10 min, T-淀粉酶的活力损失则只有 5% 左右。因此, 在实际生产过程中, 反应温度不宜控制过高, 而且反应初期不宜加入苯酚或 EDTA。苯酚和 EDTA 应在反应后期加入。苯酚和 EDTA 加入后即可升高反应温度, 除去反应后的残余酶活力以结束反应, 从而避免产品的粘度在贮存过程中遭受损失。考虑到成本及产品贮存过程的防腐问题, 从图 2 的结果来看, 我们认为, 将 EDTA 和苯酚混合使用较为合适。

### 3.3 酶反应的最佳 pH 值

在不同的缓冲溶液中测定酶的活力, 其结果如图 3 所示。

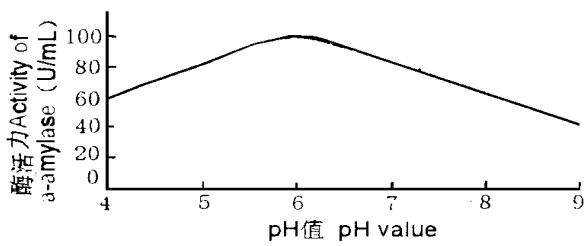


图 3 pH值对酶活力的影响

Fig. 3 Effect of pH value on the activity of  $\alpha$ -amylase

由图 3 可见,  $\alpha$ -淀粉酶在 pH 值 6.0 的环境中活力最大, 当 pH=9.0 时,  $\alpha$ -淀粉酶的活性只有 pH=6.0 时的 40%。在实际生产和贮存过程中可以利用  $\alpha$ -淀粉酶的这一特点, 亦即在生产过程中尽量使反应体系的 pH 值接近 6.0 这一最佳值以充分发挥酶的活力、减少  $\alpha$ -淀粉酶的用量, 而反应结束 (粘合剂的粘度达到要求) 后则可将体系的 pH 值调至 9.0 左

右, 并提高温度。配合 EDTA 及苯酚等添加物, 把残余的酶活力除掉, 以保证粘合剂具有良好的贮存性能

### 参考文献

- 冯 勇. 淀粉粘合剂改性试验报告. 淀粉与淀粉糖, 1996, 2: 17~ 19.
- 杨新科. 高强度快干变性淀粉粘合剂的研制. 化学与粘合, 1996, 3: 175~ 177.
- 申永泰. 淀粉基高速标签胶粘剂. 粘接, 1996, 17 (4): 22 ~ 23.
- 贾润礼. 热法淀粉胶储存失效研究. 粘接, 1996, 17 (2): 38~ 39.
- 周晓云. 酶技术. 北京: 石油工业出版社, 1985, 27~ 28.
- 熊振平等. 酶工程. 北京: 化学工业出版社, 1989, 292~ 294.

(责任编辑: 邓大玉)

(上接第 278 页 Continue from page 278)

表 5 不同处理的海甘蓝幼苗高度

Table 5 The height of seakale seedlings from different treatments

赤霉酸浓度 Concentration of gibberellic acid (%)	浸种时间 Soaking time (h)	播种后不同时间的幼苗高度* Height of seedlings in different time after sowing (mm)			
		10 d	15 d	20 d	25 d
对照 1 CK1 (风干种子 Dry seeds)	0	3.5	10.5	32.4	45.3
对照 2 CK2 (自来水浸种 Tap water soaking)	24	2.5	7.5	25.6	43.2
0.025	12	11.8	22.6	44.4	51.6
	18	12.2	22.2	46.5	62.1
	24	13.4	24.3	57.6	66.8
	30	11.4	24.8	66.3	71.3
0.050	12	13.2	28.2	47.8	68.8
	18	14.3	29.3	51.3	71.3
	24	15.5	32.5	67.3	86.6
	30	13.9	33.6	59.4	84.5
0.075	12	13.4	28.9	51.6	81.3
	18	15.3	33.8	51.8	88.3
	24	16.8	44.3	64.7	89.8
	30	14.6	31.5	66.9	94.5
0.100	12	7.2	27.3	49.9	86.4
	18	14.3	28.5	53.2	88.9
	24	15.1	29.6	58.3	91.5
	30	17.6	30.1	62.4	97.3

\* 幼苗高度为三个重复的平均值, 每个重复选择有代表性的 10 株幼苗进行测量. The height of seedlings is average of three repeats each of which contains ten seedlings.

(3) 幼苗叶片发育和伸展相对提早。据试验观测, 经赤霉酸处理的海甘蓝幼苗在播种后的第 10 天开始出现真叶, 比对照提前 3 天; 在试验结束时, 经赤霉酸处理的海甘蓝幼苗的平均叶数为 4 张/株, 比对照多 1.2 张。

### 3 结语

根据对海甘蓝种子的发芽率、幼苗成活率及幼苗高度等多项指标进行分析, 我们认为, 以 0.025% 赤霉酸溶液浸种 18h 处理海甘蓝种子的效果最好。针对海甘蓝幼苗对病菌敏感这种情况, 建议在用赤霉酸处理海甘蓝种子前, 先对种子进行消毒处理, 以提高海甘蓝幼苗的成活率。

#### 致谢

试验得到 Person 教授的指导及 Ouvrads 先生和 Theron 先生的协助, 在此一并致谢。

### 参考文献

- Evans D R. Attensive horticultural crops II: forcing crops. University of Bath, 1982.
- Scott G A M. Biological Flora of British isles. Journal of Ecology, 1976, 64 (3).
- Peron J Y. Nutritional composition of seakale (*Crambe maritima* L.). Sciences des Aliments, 1991, 11.
- Quinsac A et al. Glucosinolates in etiolated sprouts of seakale (*Crambe maritima* L.). Journal Sci Food Agri, 1994, 65: 201~ 207.
- 蓝福生, Peron J Y. 不同处理对海甘蓝种子发芽和幼苗生长的影响. 广西植物, 1995, 15 (3).
- Auge R et al. Germination conditions of bulbous-rooted chervil seeds (*Chaerophyllum bulbosm* L.). Acta Horticulturae, 1989, 242.

(责任编辑: 蒋汉明)