[19]中华人民共和国专利局

[11] 公开号 CN 1080817A

[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 93106406.6

[51]Int.Cl[5]

[43]公开日 1994 年 1 月 19 日

A23L 1/015

[22]申请日 93.5.29

[30]优先权

[32]92.5.29 [33]US[31]891,224

[71]申请人 美国玉米产品公司

地址 美国康涅狄格州

[72]发明人 艾伦·赫奇斯 谢文俊

罗伯特·安默瑞尔

[74]专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 刘国平

说明书页数: 附图页数:

[54]发明名称 去除残余的环糊精的方法

[57]摘要

本发明涉及一种用 CGT 酶和淀粉酶处理含残余环糊精的体系，如食品体系的方法，该方法在温度为 40—80℃，pH 值为 4—6 的条件下进行 1—48 小时，以水解残余的环糊精。该方法特别适用于食品体系，如蛋，奶，肉，果汁，咖啡和茶，也适合用于淀粉水解产物和蛋白质水解产物。在所述的体系已经过下述方法处理即用环糊精去除不需要的组分，或从系统中分离出环糊精，由此造成残余的环糊精留在体系中。

权 利 要 求 书

1、一种从体系中去除残余环糊精的方法，该方法包括：

在pH值为4－6，温度为40－80℃的条件下，用环糊精糖基转移酶和一种淀粉酶同时处理含有残余环精糊和水的体系1－48小时，以水解残余的环精糊。

2、如权利要求1所述的方法，其中所述的淀粉酶选自α－淀粉酶，β－淀粉酶和葡糖淀粉酶。

3、如权利要求1或2所述的方法，其中所述的体系是一个选自蛋，奶，肉，板油，猪油，果汁，咖啡和茶的食品体系。

4、如权利要求1或2所述的方法，其中所述的体系为一淀粉水解产物或一蛋白质水解产物。

5、如权利要求1或2所述的方法，其中在用环精糊糖基转移酶和淀粉酶处理所述的体系之前，在pH为4－6，温度为40－80℃的条件下，用脱支酶处理所述的体系1－48小时。

6、如权利要求1或2所述的方法，其中用脱支酶与环糊精糖基转移酶和淀粉酶同时处理所述的体系。

7、如权利要求1或2所述的方法，其中所述的淀粉酶为细菌α－淀粉酶，真菌α－淀粉酶或葡糖淀粉酶。

8、如权利要求1或2所述的方法，其中用脱支酶与环糊精糖基转移酶和淀粉酶同时处理所述的体系，所述的淀粉酶为葡糖淀粉酶。

说　　明　　书

去除残余的环糊精的方法

本发明涉及环糊精，更具体地说涉及一种从一体系中去除残余的环精糊的方法。本发明的方法特别适用于食品体系。

近年来，环精糊已被用于去除有害的物质，例如从鸡蛋或黄油中去除胆固醇；从茶和咖啡中去除咖啡因；从蛋白质的水解产物中去除苯丙氨酸；以及从果汁中去除酚化合物、色素和苦味组分。一般来说，这种去除方法需要将环精糊与一食品体系混合，以使不需要的物质与环糊精形成一复合物，然后从食品体系中去除所述的复合物。

使用环精糊从食品体系中去除有害物质所带来的问题之一是当从体系中分离所述的复合物时，并非所有的环糊精都能从体系中被去除。已知所述的复合过程为一平衡反应，其中向体系中加入过量的环糊精促使平衡向复合方向移动。这不可避免地造成当从体系中去除所述的复合物时，有一定量的环糊精处在未复合状态。

另一种在去除复合物后遗留下来的未复合或残留的环糊精源是未除去的复合物。在某些食品体系中，如咖啡，复合物是作为沉淀从溶液中被去除的。可溶性的或易悬浮的复合物常常是无法从系统中去除的。在另一些情况下，如黄油，通过用水洗黄油将复合物去除。在这些情况下，并非所有的复合物都能被洗去。在洗涤或沉淀两种情况下，残余的复合物经历一平衡反应，其中客

体（guest）和环糊精在复合和未复合状态间移动。

已有人建议残余的环糊精可以通过以下方法从食品体系中去除，即用一种α－淀粉酶保温处理食品体系，所述的α－淀粉酶是从下述一组微生物中得到的，所述的微生物有黑曲霉，米曲霉，多粘芽孢杆菌，凝结芽孢杆菌，黄杆菌属，或家猪胰淀粉酶。详见US4，980，180。

由用于水解环糊精的某些α－淀粉酶所带来的一个问题是这些酶不能水解所有的环糊精。特别是已经发现α－淀粉酶不能水解支链环糊精和所有的α－环糊精。因此需要一种能从食品体系中完全去除所有的残余环糊精的方法。

现已发现可以通过以下方法去除所有的残余环糊精，即在水存在的条件下，用至少两种不同酶的混合物处理含有残余环糊精的体系，其中所述的酶中的一种为环糊精糖基转移酶（CGT酶），另一种酶是淀粉酶。在本发明的优选实施方案中，也可以用脱支酶处理含残余环糊精的体系，以便从残留的支链环糊精中除去支链。支链环糊精比非支链环糊精的抵抗本发明CGT酶/淀粉酶混合物的水解能力要大。因此，用脱支酶从支链环糊精中除去支链，能使环糊精更易于用CGT酶和淀粉酶水解。脱支酶的加入优选于CGT酶/淀粉酶，因为某些淀粉酶如葡糖淀粉酶和真菌α－淀粉酶会作用于支链自身，使支链分解为抗脱支酶的葡糖基残端（stub）。

用至少两种酶处理所说体系的步骤为：在pH值为约4－6及约40～80℃的温度下向体系中加入两种酶；在所述的温度及pH值条件下将该体系保持约1至48小时。如果处理前体系的pH值不是在4－6的适宜的范围内，则既可用酸也可用碱调节该体系。所使用的酶及所处理的体系决定了处理条件。此外，优选将温度调节到使系统中的酶的活性达到最佳化。

利用常规的设备并在水存在的条件下对体系进行处理。优选将酶作为一种单独组分加到食品体系中并混合进该体系中。优选使用常规的设备，在搅拌下进行处理。另外，可将一种或多种酶固定化，并且让固定化酶流过所述的食品体系。

虽然本发明的准确机理尚不清楚，姑且认为是CGT酶导致环糊精开环并形成淀粉酶能进攻水解的糊精。已知CGT酶具有使淀粉及淀粉水解产物成为环糊精的能力。已知淀粉酶可以水解葡糖酐单体间的α－D－（1－4）键，而脱支酶可以水解葡糖酐单体间的α－D－（1－6）键。某些淀粉酶，如来自米曲霉，黑曲霉和Rhizopus nivens中的葡糖淀粉酶已知可以催化1－4和1－6键的水解。

本发明特别适合于已经过去除胆固醇步骤的食品体系，如鸡蛋或乳品，其中β－环糊精加入到体系中与胆固醇复合。在这样的食品体系中，采用本发明的方法在分离出复合的环糊精/胆固醇之后去除残留环糊精。本发明不仅能用于处理环糊精和支链环糊精，也可用于处

理具有低取代度的改性环糊精。

还发现本发明的方法可用于从麦芽糖糊精中除去残余环糊精，所述的麦芽糖糊精是环糊精形成过程中的一种副产物。

适合的环糊精糖基转移酶的来源包括：软化芽孢杆菌，巨大芽孢杆菌，环状芽孢杆菌，和嗜热脂肪芽孢杆菌。用嗜热脂肪芽孢杆菌已获得良好的结果。

适合的淀粉酶包括：α－淀粉酶，β－淀粉酶和葡糖淀粉酶。优选的淀粉酶是葡糖淀粉酶。适合的α－淀粉酶来源包括：地衣型芽孢杆菌，枯草杆菌，黑曲霉和米曲霉。适合的β－淀粉酶是从大麦麦芽，大豆和小麦中获得的。适合的葡糖淀粉酶是从黑曲霉，米曲霉，半根霉和Rhizopus nivens中获得的。优选的葡糖淀粉酶是黑曲霉和米曲霉。

适合的脱支酶是支链淀粉酶，异淀粉酶和任何其它仅能水解淀粉的α－D－（1－6）糖苷键的内酶（endo-enzymes）。优选用支链淀粉酶作为脱支酶。

向食品体系中加入的、用于去除残余环糊精的CGT酶和淀粉酶的量实际上依赖于存在于体系中的残余环糊精的量。优选采用约0.005%－0.05%（重量）的CGT酶，和约0.005%－0.05%（重量）的淀粉酶。所使用的脱支酶的量优选为约0.001%－0.05%（重量）。这些重量百分数以酶的重量比残留环糊精的重量计。

为了去除残余环糊精，CGT酶和淀粉酶必须同时存在于体系中。只要这两种酶都存在于体系中并具有活性，则在不同时间加入这两种酶也是可以的。优选将两者同时加入体系中。

优选在加入CGT酶和淀粉酶之前，向体系中加入脱支酶。然而，脱支酶也可与CGT酶和淀粉酶同时加入。本领域技术人员都清楚，多数商购的环糊精源含有少部分的支链环糊精。

如果需要的话，处理后，通过调节pH值或加热可使酶失活。所述二种使酶失活的方法均可采用常规设备以常规方式进行。

本发明的这些和其它目的可以通过下述实施例得到更进一步的理解。

实施例1

本实施例举例说明了本发明所用的各种淀粉酶，并且将本发明与使用单一酶，酸或两种酶的情况进行了比较，其中所述的两种酶没有一种是CGT酶。

用高性能液相色谱对环糊精进行检测。环糊精的检测极限为50ppm。不同的酶及所进行的每套试验的试验条件列于下表1。每个体系中含有20%的15DE淀粉水解产物和2%的残余环糊精。将淀粉水解产物的pH值调节到如表1所示的数值，并向溶液中加入0.01%（w/w）的CGT酶和0.005%（w/w）的淀粉酶，但试验编号为10和16的试验除外，在这

两个试验中分别使用了0.0075%（w/w）的淀粉酶和0.0025%的脱支酶。将混合物于表1中所示的温度下，在恒速搅拌条件下保温处理。加入足够的酸以获得列于表1中的试验1的pH值，而其它的则以常规的方式针对每个试验调节pH值。

表 1

试验	催化剂	条件 pH	温度 ℃	时间 (小时)
1	盐酸	1.7	125	2/3
2	CGT酶	5.0	80	24
3	BAA, bs	6.0	80	24
4	BAA, bl	6.0	80	24
5	FAA, an	4.8	50	24
6	FAA, ao	4.8	50	24
7	GA, an	4.8	50	24
8	GA, ao	4.8	50	24
9	M酶	6.0	60	24
10	P酶/GA, an	4.8	50	24
11	CGT酶/BAA, bl	5.5	80	24
12	CGT酶/FAA, an	4.8	50	24
13	CGT酶/FAA, ao	4.8	50	24
14	CGT酶/GA, an	4.8	50	24
15	CGT酶/GA, ao	4.8	50	24
16	CGT酶/P酶/GA, an	4.8	50	24

表1中的酶及其来源的缩写含义如下：

CGT酶＝来自嗜热脂肪芽孢杆菌的环糊精糖基转移酶。

BAA，bs＝来自枯草杆菌的细菌α－淀粉酶。

BAA，bl＝来自地衣型芽孢杆菌的细菌α－淀粉酶。

FAA，an＝来自黑曲霉的真菌α－淀粉酶。

FAA，ao＝来自米曲霉的真菌α－淀粉酶。

GA，an＝来自黑曲霉的葡糖淀粉酶。

GA，ao＝来自米曲霉的葡糖淀粉酶。

M酶＝从枯草杆菌中获得的生麦α－淀粉酶的一种形式，由Novo Enzyme Process Division，Denmark销售，名称为MALTOGENASE。

P酶＝来自sp.芽孢杆菌的支链淀粉酶。

对每一种淀粉水解产物进行处理后，用高性能液相色谱检测溶液中存留的环糊精的量。从这些试验中可以看出在试验1－10后环糊精仍被遗留下来。特别值得注意的是在试验5，6和10后α－环糊精仍存在。在试验11－16后未检测出环糊精。

实施例2

本实施例举例说明了本发明如何从脱咖啡因的咖啡中去除残余环糊精。

将10g β－环糊精加到100毫升咖啡溶液中，

于60℃处理1小时后，接着将溶液冷却至室温，并从溶液中过滤咖啡因和环糊精的复合物。接着，将滤液，即脱咖啡因的咖啡溶液的pH值调节到5，并通过高性能液相色谱检测到滤液中含有3．3%（重量）的β－环糊精。高性能液相色谱检测环糊精的检测极限为50ppm。然后，按实施例1所述的方式，用列于下表2的酶处理所述的滤液。

表 2

试验	催化剂	条件 pH	温度 ℃	时间（小时）
1	CGT酶/BAA，bl	5.5	80	24
2	CGT酶/FAA，an	5.0	50	24
3	CGT酶/FAA，ao	5.0	50	24
4	CGT酶/M酶	5.0	50	24
5	CGT酶/P酶/GA，an	5.0	50	24

在每次试验后，值得注意的是未检测到环糊精。

实施例3

本实施例举例说明了本发明在药物体系中的应用。

将氢化可的松用微生物法转化为去氢氢化可的松是利用氢化可的松的β－环糊精复合物加溶氢化可的松，并且加快反应速度。从溶液中去除去氢氢化可的松的复

合物。为了制备适合于注射用的制品，将未复合的和离析的去氢氢化可的松悬浮于水中，并用CGT酶和淀粉酶的混合物处理之，以去除任何微量的β－环糊精。

实施例4

本实施例举例说明了本发明在一工业系统，清洁用溶液中的应用。

用β－环糊精提供一种浓缩的对二甲苯，以生产专门的洗涤溶剂。环糊精不能被全部除去，残余部分遗留在被清洁的构件上。少量的残余物干扰了构件的使用。

将对二甲苯溶剂于含CGT酶和淀粉酶的混合物的水中搅拌，以水解残留的环糊精。水解产物对对二甲苯没有亲合力，并留在水相中。酶处理过的对二甲苯用于洗涤后没有在构件上留下干扰性的残留物。

应该理解的是本发明的权利要求意味着覆盖了本发明优选实施方案的所有变化和改进，所选择的优选实施方案只用于解释本发明，而并不背离本发明的宗旨和范围。