



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108398356 A

(43)申请公布日 2018.08.14

(21)申请号 201810160767.9

(22)申请日 2018.02.27

(71)申请人 江南大学

地址 214122 江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道1800号

(72)发明人 张晖 朱玲 齐希光 吴港城
王立 钱海峰 李言

(74)专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权代理有限公司 23211

代理人 张勇

(51)Int.Cl.

G01N 11/00(2006.01)

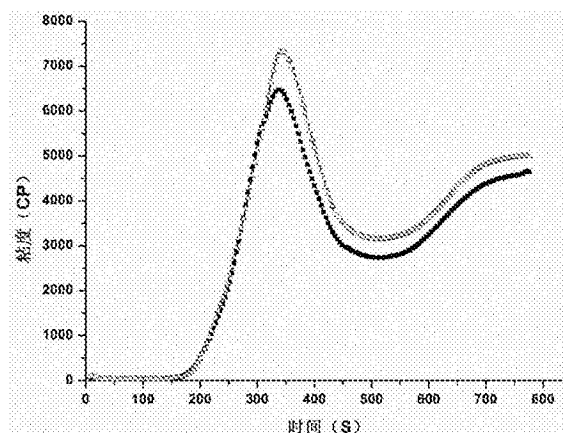
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的方法

(57)摘要

本发明公开了一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的方法,涉及谷物品质评价及测定方法技术领域。其主要包含以下步骤:(1)前处理;(2)水分含量测定及样品称量;(3)快速粘度分析仪温度程序设定;(4)空白样品及酶抑制剂添加样品测定特性粘度;(5)根据所得对比特征谱图判定酶活力;(6)通过不同温度下酶活力的差异来判定谷物内酶的最适温度。本发明提供了一种新颖的谷物中所含酶活力及酶适温度的测定方法,其具有操作简便,快速准确,重复性好,成本低,节约时间的特点,有利于提高谷物品质分析的效率,有利于提高品质测定的可操作性,避免人力及物力的浪费,为谷物加工、储藏及应用提供理论指导。



1. 一种快速测定谷物内酶活力及酶适温度的方法,其特征在于,所述方法以灭酶前后谷物的加热糊化时粘度落差程度,即峰值粘度下降的相对值作为表征酶活力和酶适温度的参数,参数越大,酶活力越高;所述酶活力是指谷物中对各组分的粘度有降低作用的酶的总称;所述酶适温度是指谷物中引起粘度降低程度最大的温度;所述各组分包括淀粉、蛋白质、脂肪、多糖中的至少一种,尤其是淀粉。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:(1)测定谷物样品的水分含量,换算样品干基;(2)测定灭酶前后谷物样品在30~100℃下对应的粘度增长值;(3)通过寻找粘度变化过程中峰值粘度变化程度计算酶的活力,(4)通过不同温度段峰值粘度变化程度计算出酶适温度。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,包含以下具体步骤:

(1) 前处理:将谷物样品进行磨粉处理,过60-150目筛;

(2) 测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品3-5g;

(3) 设定酶活力测定程序及最适温度测定程序

(4) 称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪中测定粘度特征谱图;

(5) 根据RVA特征谱图可以得到峰值粘度、崩解值、最终粘度、回生值、峰值时间、成糊温度及面积;其中,可通过测试样相对于对照样的峰值粘度增长值来计算酶活力,即 $(P_{\text{测试}} - P_{\text{对照}}) \times 100 / P_{\text{对照}}$,其中P表示峰值粘度;

(6) 根据RVA特征谱图中的面积来计算酶的最适温度,即特征曲线所形成面积的增长最大值所对应的温度为最适温度。

4. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,酶活力测定程序如下任一所示:

程序1:60℃保温1min,12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min;

程序2:60℃保温5min,12℃/min速度上升至95℃保持5min,随后同样的速率下降至50℃保温3min,搅拌速度保持在160r/min。

5. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,最适温度测定程序为:30-90℃保温5min,随后以12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min。

6. 根据权利要求1~3任一所述的方法,其特征在于,所述谷物包括:大米、小麦、玉米、荞麦、燕麦或藜麦,或大米、小麦、玉米、荞麦、燕麦或藜麦的淀粉提取物。

7. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,所述步骤(2)中淀粉提取物的样品重量为3-4g,全谷物粉样品重量为4-5g,同批对比样品需称取相同质量或干基的样品作为对照。

8. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,步骤(4)中所述酶抑制剂包括:含碳-磷键的化合物、含有机基团的磷酸衍生物、硝酸银、硫酸铜、氯化铜、硫酸铁中的一种或几种的混合复合物。

9. 根据权利要求3或8所述的方法,其特征在于,所述酶抑制剂的浓度为0.01-2mM。

10. 权利要求1~9任一所述方法在谷物品质控制、储藏、育种、发酵及品种、产地的判定方面的应用。

一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的方法,属于品质评价及测定方法技术领域。

背景技术

[0002] 我国粮食资源丰富,品种繁多,尤其大米、小麦是我国主要粮食作物,也是我国流通量和消费量最多的粮种,其产量和品质直接与农业生产和人们生活水平息息相关。随着人们对食品质量的要求越来越高,不同谷物的品质也普遍受到人们的关注。

[0003] 谷物内在酶的活力是其品质控制及应用的重要指标。不同品种、产地的谷物酶活存在差异,进而会导致不同品种及产地谷物的应用性质。通过酶活力的测定可以了解以及判断谷物的发芽损伤程度,以小麦为例,发芽损伤高的小麦食用品质差,反之,品质佳。同时,谷物在运输过程中必定要经过一定时间的储藏,而储藏过程中由于受储藏条件的影响不可避免地要发生缓慢的新陈代谢,发生的生物化学反应主要是在各种酶的作用下进行的,谷物中酶活性减弱或丧失就会陈化,从而造成品质变劣。有研究表明,稻谷的 α -淀粉酶活性与其非还原糖含量、发芽率、黏度、脂肪酸值等均呈现出指数关系。因此,在谷物储藏过程中测定其新陈度的变化时也把 α -淀粉酶作为其一个重要参考指标。

[0004] 目前,关于酶活性的测定方法有很多种,其方法的原理也各不相同,主要有碘比色法和降落数法,其中碘比色法变异程度较高,误差大,且耗时较长,相比而言,降落数法精度高,变异系数小,因而被广泛应用于小麦品质的控制,但其方法大多都是以小麦为原料测定 α -淀粉酶的活性,尤其是高温淀粉酶的活性,而谷物中的酶是混合物,不同的酶对谷物的品质均有影响,而很少有针对广泛的谷物总酶活性的测定。

发明内容

[0005] 针对现有技术存在的上述问题,本发明申请人提供了一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的简易方法。本发明以快速粘度分析仪(Rapid Visco Analyser,RVA)为分析手段,该仪器最初主要是用来测定酶活性以判定小麦芽损伤,后期广泛应用于淀粉及其衍生物粘度特性的研究,它不仅与降落数值仪的测试结果有良好的可比性,而且与谷物在不同体系中的应用也有很好的相关性。仪器操作简单,测定过程短,样品用量少,最主要是可实现温度多段式精准控制,为其在酶活测定及酶适温度预测方面奠定了良好的基础。

[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 本发明的第一个目的是提供一种快速测定谷物内酶活力及酶适温度的方法,所述方法以灭酶前后谷物的加热糊化时粘度落差程度,即峰值粘度下降的相对值作为表征酶活力和酶适温度的参数,参数越大,酶活越高;所述酶活力是指谷物中对各组分的粘度有降低作用的酶的总称;所述酶适温度是指谷物中引起粘度降低程度最大的温度;所述各组分包括淀粉、蛋白质、脂肪、多糖中的至少一种,尤其是淀粉。

[0008] 在本发明的一种实施方式中,所述对各组分的粘度有降低作用的酶包括淀粉酶、

果胶酶、纤维素酶、蛋白酶、脂肪酶中的至少一种。

[0009] 在本发明的一种实施方式中,所述酶活力是指谷物在储藏过程中粘度下降程度的总称;所述酶适温度是指储藏过程中发挥作用导致粘度下降程度最大的温度。

[0010] 在本发明的一种实施方式中,所述酶活力是指大麦转变至麦芽状态时导致大麦粘度下降的酶的总称;所述酶适温度是指大麦发芽成麦芽粘度下降最为明显的温度。

[0011] 在本发明的一种实施方式中,所述酶活力是指米浸泡至用于制备米粉状态导致米粉粘度降低的酶的总称;所述酶适温度是指米浸泡过程中酶发挥降解作用程度最大的温度。

[0012] 在本发明的一种实施方式中,所述酶活力是指小麦加工至小麦制品过程中引起小麦粉粘度下降的酶的总称;所述酶适温度是指小麦粉内酶降解小麦粉粘度程度最大所需的温度。

[0013] 在本发明的一种实施方式中,所述方法包括如下步骤:(1)测定谷物样品的水分含量,换算样品干基;(2)以步骤(1)获得的水分含量为基准,测定灭酶前后谷物样品在30~100℃下对应的粘度增长值;(3)通过寻找粘度变化过程中峰值粘度变化程度计算酶的活力,(4)通过不同温度段峰值粘度变化程度计算出酶适温度。

[0014] 在本发明的一种实施方式中,所述方法包含以下具体步骤:

[0015] (1)前处理:将谷物样品进行磨粉处理,过100目筛;

[0016] (2)测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品3-5g;

[0017] (3)设定酶活力测定程序及最佳温度测定程序

[0018] (4)称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪(RVA)中测定粘度特征谱图;

[0019] (5)根据RVA特征谱图,参考AACC22-08标准中所述方法计算得到峰值粘度、崩解值、最终粘度、回生值、峰值时间、成糊温度及面积;其中,可通过测试样相对于对照样的峰值粘度增长值来计算酶活力,即 $(P_{\text{测试}} - P_{\text{对照}}) \times 100 / P_{\text{对照}}$,其中P表示峰值粘度;

[0020] (6)根据RVA特征谱图中的面积来计算酶的最适温度,即特征曲线所形成面积的增长最大值所对应的温度为最适温度。

[0021] 在本发明的一种实施方式中,测定酶活力的程序如下任一所示:

[0022] 程序1:60℃保温1min,12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min;

[0023] 程序2:60℃保温5min,12℃/min速度上升至95℃保持5min,随后同样的速率下降至50℃保温3min,搅拌速度保持在160r/min;

[0024] 其中,程序1适用于淀粉提取物中酶活力的测定;程序2适用于全谷物粉中酶活力的测定。

[0025] 在本发明的一种实施方式中,测定最适温度的程序为:分别设定不同的保温时间,30-90℃保温5min,随后以12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min。

[0026] 在本发明的一种实施方式中,所述步骤(1)中谷物种类包括:大米、小麦、玉米、荞麦、燕麦、藜麦及大米、小麦、玉米、荞麦、燕麦、藜麦的淀粉提取物。

[0027] 在本发明的一种实施方式中,所述步骤(2)中淀粉提取物的样品重量称取为3-4g,

而全谷物粉样品重量控制在4-5g,同批对比样品需称取相同质量(干基)的样品作为对照。

[0028] 在本发明的一种实施方式中,步骤(4)中所述酶抑制剂包括但不限于:含碳-磷键的化合物、含有机基团的磷酸衍生物、硝酸银、硫酸铜、氯化铜、硫酸铁中的一种或几种的混合复配物。

[0029] 在本发明的一种实施方式中,步骤(4)中所述酶抑制剂的浓度控制在0.01-2mM。

[0030] 本发明还提供所述方法在谷物品质控制、储藏、育种、发酵及品种、产地的判定方面的应用。

[0031] 本发明有益的技术效果在于:本发明提供了一种新颖的谷物中所含酶活力及酶适温度的测定方法,在研究谷物糊化特性的同时可测定谷物内酶的活性及酶适温度,相对于化学比色法,其具有操作简便,快速准确,重复性好,误差小,成本低,节约时间的特点。与降落数值仪相比,本方法可以测定谷物中总酶的酶活,且可以通过不同温度的对比了解酶的最适温度,对谷物的品质有了更进一步了解,有利于提高谷物品质分析的效率,有利于提高品质测定的可操作性,避免人力及物力的浪费,为谷物加工、储藏及应用提供理论指导。

附图说明

[0032] 图1为实施例1所测定的大米淀粉酶活性测定;

[0033] 图2为实施例2所测定的大米粉最适酶活温度;

[0034] 图3为实施例2所测定最适酶活温度与其他温度对比,在不同浸泡温度下大米硬度的变化;

[0035] 图4为实施例3所测定的玉米粉酶活性测定;

[0036] 图5为实施例4所测定的小麦粉酶活性测定;

[0037] 图6为实施例5所测定的大麦萌发前后酶活性测定。

具体实施方式

[0038] 实施例1

[0039] 一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的简易方法,其特征在于所述方法包含以下具体步骤:

[0040] (1) 大米前处理:提取大米淀粉,淀粉含量95%,过100目筛。

[0041] (2) 测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品3g。

[0042] (3) 具体程序如下:60℃保温1min,12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min。

[0043] (4) 称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪(RVA)中测定粘度特征谱图。

[0044] (5) 根据RVA特征谱图,参考AACC22-08标准中所述方法计算峰值粘度、崩解值、最终粘度、回生值、峰值时间、成糊温度及面积。其中,可通过测试样相对于对照样的峰值粘度增长值来计算酶活力,即 $(P_{\text{测试}} - P_{\text{对照}}) \times 100 / P_{\text{对照}}$,其中P表示峰值粘度。

[0045] 结果如图1所示,灭酶后大米淀粉的峰值粘度显著升高,即大米淀粉中存在较高的酶活性,峰值粘度由6500cp,升高至7579cp,计算所得酶活力为16,6。

[0046] 实施例2

[0047] 一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的简易方法,其特征在于所述方法包含以下具体步骤:

[0048] (1) 前处理:将大米样品进行磨粉处理,过100目筛。

[0049] (2) 测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品4g。

[0050] (3) 具体程序如下:分别设定不同的保温时间,30-90℃保温5min,随后以12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min。

[0051] (4) 称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪(RVA)中测定粘度特征谱图。

[0052] (5) 根据RVA特征谱图中的粘度下降程度来计算酶的最适温度,即粘度下降趋势最为明显的温度(特征曲线所形成面积的增长最大值)所对应的温度为最适温度。

[0053] 结果如图2所示,不同温度保温下,峰值粘度灭酶前后差异不同,由图可知大米粉中酶的最适温度在60~70℃。

[0054] 采用日本Okabe学者提出并在国际上广泛应用的大米硬度测定法(三点测定法,TA.XT-Plus,P/36探头)测定大米硬度随着浸泡温度、时间的变化,由图3可知,在酶作用最适温度下,大米的硬度下降最为明显(由30499g下降至11210g),而在较低的温度下,如30℃下,下降并不显著(32174g至25524g),由此可见,由本发明所提出的最适温度测定方法,可应用于指导大米的加工控制。

[0055] 实施例3

[0056] 一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的简易方法,其特征在于所述方法包含以下具体步骤:

[0057] (1) 前处理:将玉米样品进行磨粉处理,过100目筛。

[0058] (2) 测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品5g。

[0059] (3) 具体程序如下:

[0060] 60℃保温5min,12℃/min速度上升至95℃保持5min,随后同样的速率下降至50℃保温3min,搅拌速度保持在160r/min。

[0061] (4) 称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪(RVA)中测定粘度特征谱图。

[0062] (5) 根据RVA特征谱图,参考AACC22-08标准中所述方法计算得到峰值粘度、崩解值、最终粘度、回生值、峰值时间、成糊温度及面积。其中,可通过测试样相对于对照样的峰值粘度增长值来计算酶活力,即 $(P_{\text{测试}} - P_{\text{对照}}) \times 100 / P_{\text{对照}}$,其中P表示峰值粘度。

[0063] 结果如图4所示,灭酶后玉米粉的峰值粘度亦显著升高,即玉米粉中存在较高的酶活性,灭酶后粘度由1450cp升高至1679cp,计算所得酶活力为15.8。

[0064] 实施例4

[0065] 一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的简易方法,其特征在于所述方法包含以下具体步骤:

[0066] (1) 前处理:取小麦样品进行磨粉处理,过100目筛。

[0067] (2) 测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品5g。

[0068] (3) 具体程序如下:60℃保温1min,12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同

样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min。

[0069] (4) 称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪(RVA)中测定粘度特征谱图。

[0070] (5) 根据RVA特征谱图可以得到峰值粘度、崩解值、最终粘度、回生值、峰值时间、成糊温度及面积。其中,可通过测试样相对于对照样的峰值粘度增长值来计算酶活力,即 $(P_{\text{测试}}-P_{\text{对照}}) \times 100 / P_{\text{对照}}$,其中P表示峰值粘度。

[0071] 结果如图5所示,灭酶后小麦粉的峰值粘度亦显著升高,即小麦粉中存在较高的酶活性,灭酶后粘度由2616cp升高至3158cp,计算所得酶活力为20.7。

[0072] 实施例5

[0073] 一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的简易方法,其特征在于所述方法包含以下具体步骤:

[0074] (1) 前处理:将发芽前后大麦样品进行磨粉处理,过100目筛。

[0075] (2) 测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品4g。

[0076] (3) 60℃保温5min,12℃/min速度上升至95℃保持5min,随后同样的速率下降至50℃保温3min,搅拌速度保持在160r/min。

[0077] (4) 称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪(RVA)中测定粘度特征谱图。

[0078] (5) 根据RVA特征谱图,参考AACC22-08标准中所述方法计算得到峰值粘度、崩解值、最终粘度、回生值、峰值时间、成糊温度及面积。其中,可通过测试样相对于对照样的峰值粘度增长值来计算酶活力,即 $(P_{\text{测试}}-P_{\text{对照}}) \times 100 / P_{\text{对照}}$,其中P表示峰值粘度。

[0079] 结果如图6所示,发芽前后大麦的粘度变化,粘度由2140cp降低至1603cp,计算所得酶活力为33.4。

[0080] 实施例6

[0081] 一种快速判定谷物内酶活力及预测酶适温度的简易方法,其特征在于所述方法包含以下具体步骤:

[0082] (1) 前处理:收集遇雨季发芽的小麦粉1种,正常成熟的小麦粉2种,小麦粉为高筋粉(蛋白含量在12%以上);

[0083] (2) 测定样品的水分含量,在以14%为水分基础上,称取干基样品5g。

[0084] (3) 具体程序如下:60℃保温1min,12℃/min速度上升至95℃保持2.5min,随后同样的速率下降至50℃保温1.4min,搅拌速度保持在160r/min。

[0085] (4) 称取25g去离子水与样品混合均匀,作为对照样。同时,称取25g酶抑制剂溶液与粉混合,作为测定样。将样品放置于快速粘度分析测定仪(RVA)中测定粘度特征谱图。

[0086] (5) 根据RVA特征谱图,参考AACC22-08标准中所述方法计算得到峰值粘度、崩解值、最终粘度、回生值、峰值时间、成糊温度及面积。其中,可通过测试样相对于对照样的峰值粘度增长值来计算酶活力,即 $(P_{\text{测试}}-P_{\text{对照}}) \times 100 / P_{\text{对照}}$,其中P表示峰值粘度。

[0087] (6) 根据GB/T 10361-2008所述方法测定所用3种面粉的降落数值,根据本发明所述方法测定粘度酶活,同时,应用三种面粉在相同操作环境和操作步骤下制作成软式面包,根据GB/T20981-2007所述方法测定面包的体积,面包配方如下:100%面粉,酵母2%,糖10%,盐1%,油6%,水57%。

[0088] 采用降落数值仪对小麦粉的降落数值进行检测,检测步骤为:

[0089] (1) 测定面粉的水分含量,并以15%水分含量7g试样量为校正,根据所测定水分含量称取样品;

[0090] (2) 打开降落数值测定仪,加热水浴,直至沸腾;

[0091] (3) 将称好面粉试样移入干燥、洁净粘度管中,用自动加液器加入25ml水,振匀;

[0092] (4) 将粘度管放入沸水浴中,开启搅拌,仪器自动完成测试,记录电子计时器上显示的时间即为降落数值。

[0093] 表1为实施例所测定降落数值、粘度酶活及面包比容值对比表,降落数值与面或酶活力成反比,即酶活越高,降落数值越低,而粘度酶活与实际酶活力成正比。由表可知,本发明所测定酶活力趋势与降落数值所测定趋势完全一致。一般认为面包比容在4.8左右,面包品质较佳(≤ 7),面包过大,过小均不佳。由表可知,酶活力与比容密切相关,可以通过测定合适的酶活(降落数 250 ± 9.2 ,粘度酶活 20.6 ± 0.2)来预测面包的比容,进而指导面包粉的生产加工,同时可以看出,由本发明所测定的酶活误差限下降了10倍。

[0094] 表1降落数值仪与本发明所用方法对面包比容的影响对比。

[0095]		降落数值	粘度酶活	比容
	面粉 1	67 ± 3.1	37.3 ± 0.1	3.51 ± 0.04
	面粉 2	250 ± 9.2	20.6 ± 0.2	4.87 ± 0.14
	面粉 3	379 ± 10.8	5.1 ± 0.2	4.13 ± 0.12

[0096] 虽然本发明已以较佳实施例公开如上,但其并非用以限定本发明,任何熟悉此技术的人,在不脱离本发明的精神和范围内,都可做各种的改动与修饰,因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

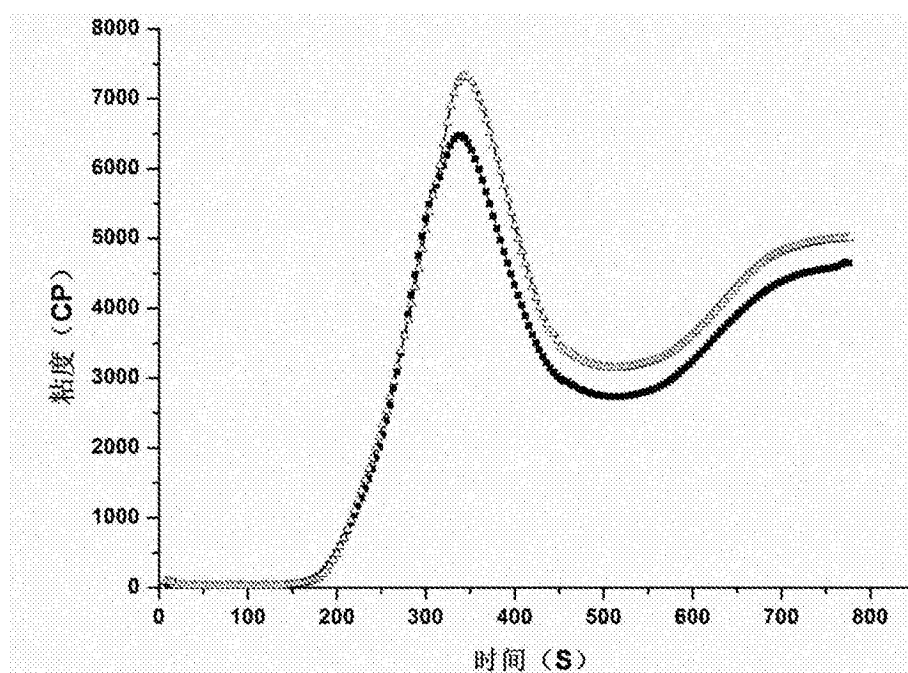


图1

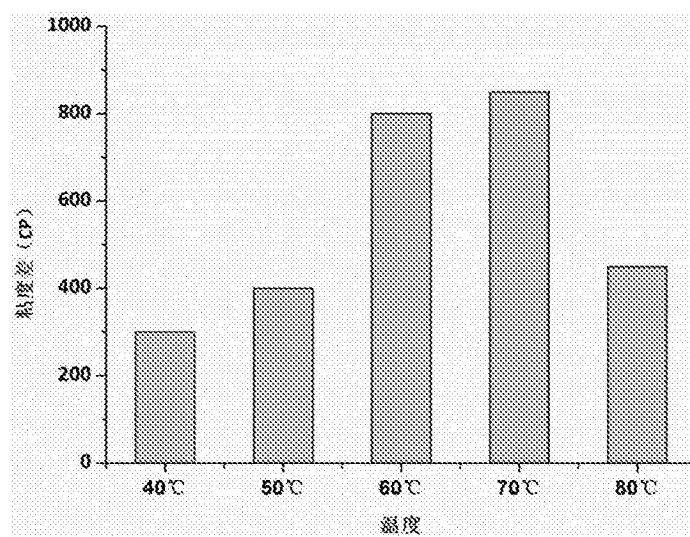


图2

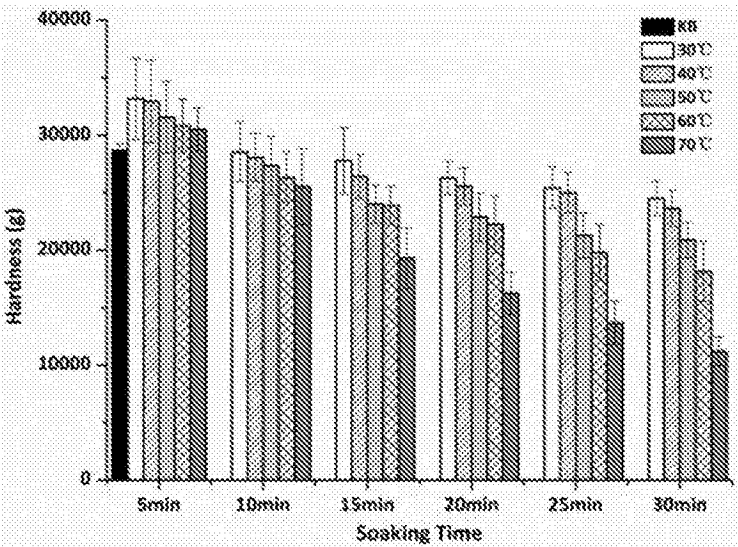


图3

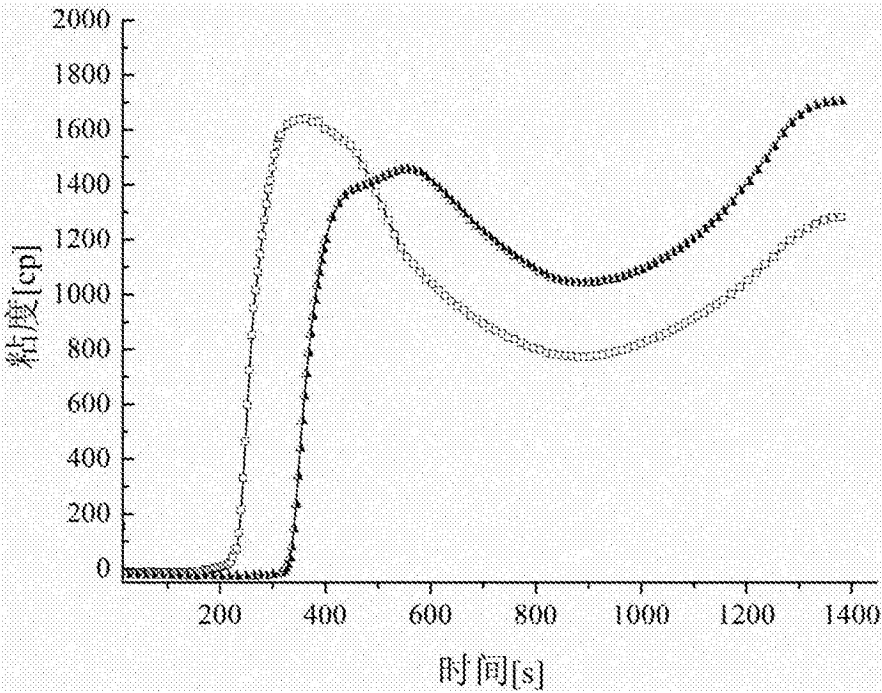


图4

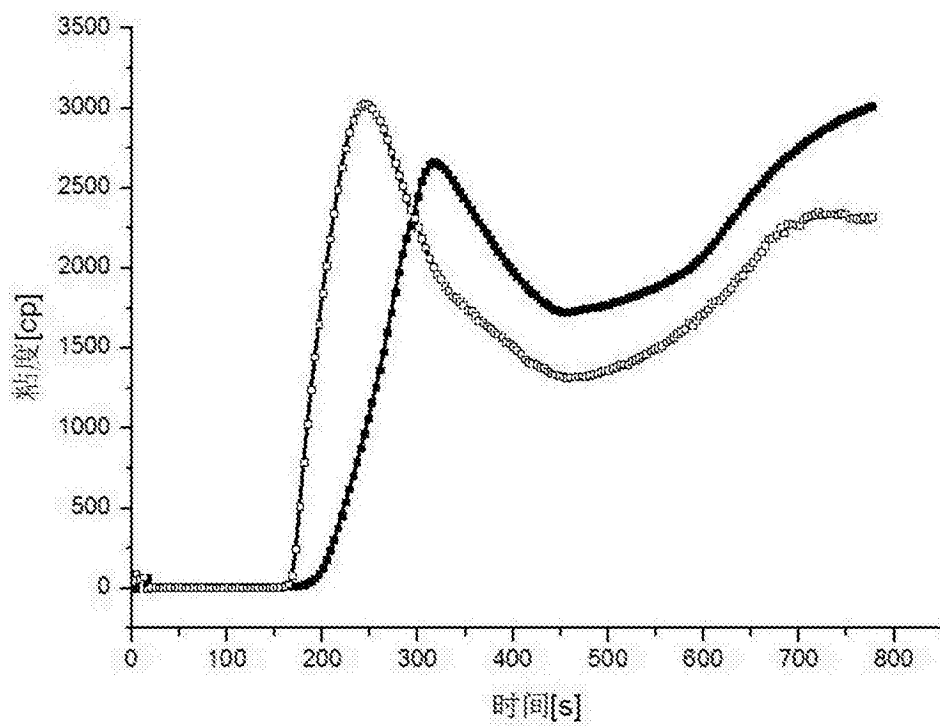


图5

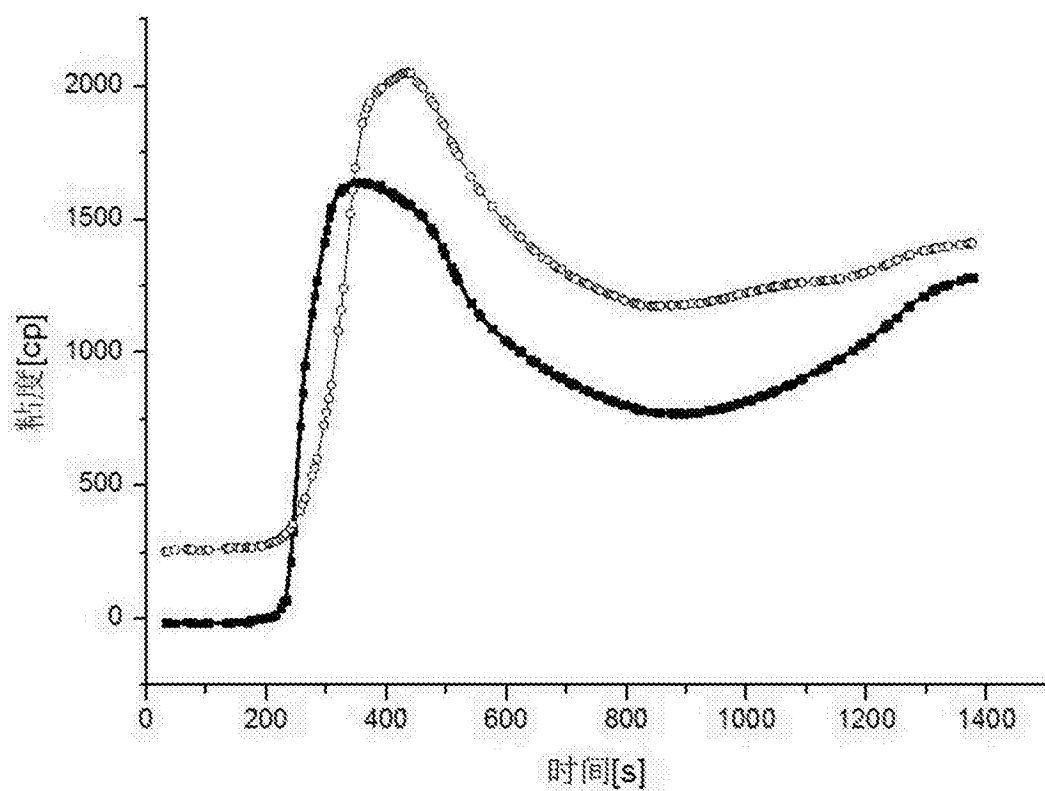


图6