酶法制备低热量淀粉及其衍生物的研究进展

陈园荟[1]， 纪杭燕[1]， 邱 超[1]， 龙 杰[1]， 陈 龙[*1,2]， 金征宇[1,2]
（1. 江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；2. 江南大学 食品科学与技术国家重点实验室，江苏 无锡 214122）

摘要： 近年来，随着慢性病患病人数逐年增加，患病人群趋于年轻化，越来越多的人意识到健康饮食是一种预防和辅助治疗慢性病的有效手段。低热量淀粉及其衍生物因具有降低血糖血脂、改善肠道环境、促进微量元素吸收、抗消化性等功能，在食品、医药等行业的应用越来越广泛。目前，酶法制备低热量淀粉及其衍生物已经成为一种安全、绿色、健康、高效的方法。作者概述了酶法制备低热量淀粉及其衍生物的关键酶、关键技术、功能应用等，为未来制备工艺的优化以及产品的应用提供参考。

关键词： 酶法制备；低热量淀粉；环糊精；抗性糊精
中图分类号：TS 23 **文章编号：**1673-1689(2022)11-0031-09 **DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.11.004

Research Progress on Enzymatic Preparation of Low Calorie Starch and Its Derivatives

CHEN Yuanhui[1]， *JI Hangyan*[1]， *QIU Chao*[1]， *LONG Jie*[1]， *CHEN Long*[*1,2]， *JIN Zhengyu*[1,2]
（1. School of Food Science and Technology，Jiangnan University，Wuxi 214122，China；2. State Key Laboratory of Food Science and Technology，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract： In recent years, more and more people realize that healthy diet is an effective mean to prevent and treat chronic diseases since the number of patients with chronic diseases increases year by year with the population tending to be younger. Low-calorie starch and its derivatives have been used more and more widely in food, medicine and other industries because of their functions of reducing blood glucose and lipids, improving intestinal environment, promoting absorption of trace elements and anti-digestion. At present, enzymatic preparation of low calorie starch and its derivatives has become a safe, green, healthy and efficient method. In this paper, the key enzymes, key technologies and functional applications of enzymatic preparation of low calorie starch and its derivatives were summarized, providing a reference for the optimization of preparation technology and the application of products in the future.

Keywords: enzymatic preparation, low calorie starch, cyclodextrin, resistance dextrin

收稿日期： 2022-03-14
基金项目： 国家自然科学基金青年基金项目(32101990)；江苏省基础研究计划(自然科学基金)青年基金项目(BK20200617)。
* **通信作者：** 陈 龙(1988—)，男，博士，副研究员，硕士研究生导师，主要从事淀粉科学方面的研究。E-mail：longchen@jiangnan.edu.cn

淀粉是人类各种饮食中碳水化合物的主要来源,在饮食结构中占据了重要地位[1]。淀粉包含直链淀粉和支链淀粉,两者在淀粉颗粒中的分布、含量、晶型结构等影响淀粉对消化酶的敏感性及消化速率[2]。淀粉可在胃肠道中被酶、微生物等消化水解产生葡萄糖,经吸收后转化成血糖及能量供人体利用。淀粉的消化特性与人体健康密切相关,其消化速度也与人体许多慢性疾病有关[3],摄入过多的淀粉类食物会导致血糖异常升高,影响血糖的平稳,进而影响机体的代谢平衡,导致肥胖、糖尿病等一系列慢性疾病。此外,高血糖生成指数(GI)、升糖负荷(GL)碳水化合物饮食可能会使多种肿瘤的发病率提高[4]。

目前,慢性病、恶性肿瘤的患病人数越来越多,患病群体趋于年轻化,其治疗手段除药物治疗外,合理的饮食调控也是有效的预防和辅助治疗手段[5]。低热量淀粉及其衍生物在食品中的应用能够有效防止餐后血糖的急剧升高,同时具有饱腹感,对慢性病的预防和治疗有很大促进作用[6]。

低热量淀粉及其衍生物因具有不易被消化酶作用的结构而具有慢消化性、抗消化性,从而降低了餐后血糖水平和能量摄入量,包含慢消化淀粉、抗性淀粉、环糊精、抗性糊精等。目前,制备低热量淀粉及其衍生物的主要方法有物理方法、化学方法、酶法等[7]。与前两者相比,酶法制备低热量淀粉及其衍生物具有不可替代的优势,如反应专一性强、副产物少、少用或不用化学试剂、安全无毒、环境友好、绿色清洁等。

作者综述了酶法制备低热量淀粉及其衍生物的关键酶、关键技术及功能应用,有助于低热量淀粉及其衍生物的开发和利用,为后续研究提供参考及思路。

1 低热量淀粉的酶法制备

低热量淀粉主要为慢消化淀粉(SDS)和抗性淀粉(RS)。慢消化淀粉指在实验室模拟体外消化条件(pH 5.2,温度 37 ℃),在猪胰 α-淀粉酶、糖化酶、转化酶等多种酶作用下,酶解 20~120 min 时得到的淀粉营养片段[8]。食用慢消化淀粉后不会造成血糖的急剧升高,有助于维持血糖稳定。抗性淀粉是一种兼具有可溶性纤维与不可溶性膳食纤维特性的淀粉,在人体内无法被消化,且比普通膳食纤维具有更高的生理活性[9]。抗性淀粉不能被小肠消化吸收,但可以在进入大肠后作为肠道菌群的发酵底物,可定量表示为在体外消化实验中,酶作用 120 min 仍未被水解的淀粉[10]。低热量淀粉的酶法制备有助于获得安全、健康的淀粉基食品。

1.1 低热量淀粉的主要制备方法

目前,酶法制备低热量淀粉一般采用 α-淀粉酶、淀粉分支酶、淀粉脱支酶等。

α-淀粉酶又称 1,4-α-D-葡聚糖水解酶(EC 3.2.1.1),能够水解淀粉、糖原或多糖的内部 α-1,4 糖苷键[11]。淀粉分支酶(EC 2.4.1.18)是一种糖基转移酶,能够水解淀粉的 α-1,4 糖苷键,然后将供体链以 α-1,6 糖苷键的形式连接到受体链上,通过提高淀粉分子的分支度来对淀粉进行改性[12]。淀粉脱支酶可切开支链淀粉分支点处的 α-1,6 糖苷键[13]。根据作用方式的不同,可将脱支酶分为直接脱支酶和间接脱支酶两大类。在淀粉的加工过程中多采用直接脱支酶,即普鲁兰酶和异淀粉酶[14],普鲁兰酶与异淀粉酶的作用底物不同。异淀粉酶仅作用于支链淀粉分子的分支点,且要求含有 α-1,6 糖苷键的糖链上含有 3 个以上的葡萄糖单元;普鲁兰酶可以作用在 α-1,4 糖苷键和 α-1,6 糖苷键,通过 α-1,6 糖苷键连接的两个糖链均至少含有两个 α-1,4 糖苷键连接的葡萄糖单元[15]。

酶法制备低热量淀粉受底物浓度、酶的用量、温度、pH、反应时间等影响。通过对制备的工艺条件进行优化,可有效提升低热量淀粉的产量。但是单一酶法对淀粉的改性程度有限,产品得率不高,因此在实际应用中,常采用多酶复配方法或与物理改性手段联用进行制备,使不同方法发挥协同作用,优势互补,以改善淀粉基食品的品质。如利用糖基转移酶与 α-淀粉酶协作降低支链长度并增加支链密度,进而增加结晶度来降低消化性[16]。值得注意的是,采用多酶复配方法时,应充分考虑不同酶的添加顺序对低热量淀粉品质及产量的影响。欧阳梦云等[17]研究了普鲁兰酶和异淀粉酶的添加顺序对抗性淀粉形成的影响,表明先添加普鲁兰酶后添加异淀粉酶可更好促进 RS3 的形成。当酶法改性与物理方法改性联用时,如微波-酶法中微波的作用条件也是重要的优化对象。

表 1 为酶法改性制备低热量淀粉的工艺条件及得率。由表 1 可知，酶法制备低热量淀粉的产量不仅受工艺条件的影响，而且与原淀粉的来源、结构等密切相关，如抗性淀粉的得率与原料中直链淀粉含量成正比[34]。Li 等研究了直链淀粉含量对面包质构和消化性的影响，发现直链淀粉含量对面包的体外消化率有重要影响[34]。这可能是因为直链淀粉含量高的淀粉不易于溶胀和糊化，使淀粉颗粒的完整性以及致密结构的保留程度较高，从而不利于酶的作用。Utsumi 等通过抑制分支酶的活性，发现马铃薯淀粉中表观直链淀粉的含量随着抗性淀粉含量的提高而提高，但并非直链淀粉含量越高抗性淀粉的得率就越高[35]。刘树兴等研究了直链淀粉含量对小麦 RS3 得率的影响，发现当直链淀粉的含量为 85%时，抗性淀粉的得率最大，之后随着直链淀粉含量的增大，RS3 的得率反而下降[36]。因此，酶法制备低热量的淀粉不仅可以通过优化工艺条件提升得率，也可以选易生成抗性淀粉的原料作为酶法制备的底物。

值得注意的是，酶法制备低热量淀粉虽然提升了淀粉抗消化性，但其他特性会受到影响，如冻融稳定性、凝沉稳定性、透明度下降[37]，从而影响其在食品加工中的实际应用。

1.2 低热量淀粉的功能及应用

酶法制备低热量淀粉主要通过改变淀粉的结构影响其性质，进而获得理想的功能及应用。目前，低热量淀粉尤其是抗性淀粉在食品加工行业获得了极大的关注，甚至在医药行业也备受青睐。

表 1 酶法制备低热量淀粉的工艺条件及得率

Table 1 Preparation technology and yield of low calorie starch by enzymatic method

处理方法	工艺条件	得率	文献
普鲁兰酶	淀粉乳质量浓度 0.1 g/mL，加酶量 120 U/g，作用时间 2 h，pH 5.0	RS 43.22%	[18]
普鲁兰酶	淀粉乳质量浓度 100 g/L，加酶量 12.8 PUN/g，时间 1 h，4 ℃储藏 2 d	SDS 40.59%	[19]
普鲁兰酶	淀粉乳质量浓度 8 g/dL，加酶量 180 ASPU/g，反应温度 55 ℃，反应时间 12 h，pH 5.0	RS 13.16%	[20]
普鲁兰酶	加酶量 120 U/g，反应温度 60 ℃，时间 2 h，pH 5.0	SDS+RS 74.6%	[21]
α-1,4-葡聚糖分支酶	淀粉乳质量浓度 20 g/dL，加酶量 150 mg/kg，反应时间 10 h，温度 40 ℃，pH 7.0	SDS 39.28%	[22]
双酶法	耐高温 α-淀粉酶添加量 3 NU/g，作用时间 30 min，普鲁兰酶添加量 4 NPNU/g，作用时间 10 h，温度 55 ℃	RS 10.45%±0.03%	[23]
双酶法	淀粉乳浓度 15 g/dL，α-淀粉酶添加量 7 U/g，异淀粉酶添加量 7 U/g，酶解温度 70 ℃，pH 5.0，时间 6 h	RS 53.8%	[24]
转葡糖苷酶协同 β-淀粉酶	淀粉乳浓度 15 g/dL，β-淀粉酶添加质量分数 0.032%，转葡糖苷酶添加质量分数 0.192%，酶解时间 8 h，pH 5.2，冷藏回生 5 d（两种酶同时加入）	SDS 32.53%	[25]
预糊化-酶法	淀粉乳浓度 10 g/dL，普鲁兰酶添加质量分数 150 U/g，作用时间 7 h，pH 6.0，温度 100 ℃，预糊化与酶解同时进行	RS 40.5±0.7%	[26]
冻融处理-酶法	淀粉乳质量分数 6%，冻融处理：-20 ℃、3 h，重新加热 50 ℃、30 min，再-20 ℃冷冻 3 h，重复 0~10 次；普鲁兰酶加酶量 1 000 U/mL、反应温度 60 ℃，pH 5.0，时间 100 min	SDS、RS 的总含量随着冻融次数的增加而增加	[27]
酶-压热法	淮山药淀粉乳 10 g/dL，普鲁兰酶添加量 180 U/g，pH 5.5，时间 5 min，109 ℃压热处理 5 min，冷却后在 4 ℃老化 18 h	RS 20.7±0.26%	[28]
微波-酶法	淀粉乳浓度 24 g/dL，微波功率 750 W、时间 110 s，α-淀粉酶添加量 610 U/g，作用时间 54 min，普鲁兰酶添加量 25 U/g，作用时间 7 h	RS 35.83%	[29]
微波-酶法	银杏淀粉乳浓度 15 g/dL，微波功率 750 W、时间 90 s，异淀粉酶 20 U/g，反应温度 50 ℃，反应时间 3 h，pH 5.8	RS 25.3%	[30]
微波-酶法	淀粉乳浓度 30 g/dL，微波功率 800 W、加热 100 s，耐高温 α-淀粉酶添加量 3 U/g，酶解时间 30 min，普鲁兰酶添加量 8 U/g，酶解时间 4.5 h	SDS 15.08%	[31]
酶法-超声波处理	淀粉乳浓度 17.3 g/dL，异淀粉酶添加量 5×10^3 U/g，反应时间 14.09 h，超声处理 40 min，温度 46 ℃	RS 21.33%	[32]

1)调节血糖　慢消化淀粉的摄入可使人体摄食后血糖增加缓慢，温和作用于血糖调节系统，避免胰岛素分泌产生较大波动，从而避免或减弱高胰岛素血症、胰岛素抵抗等代谢综合征[8,38]。抗性淀粉不能被人体小肠吸收，可明显降低空腹血糖和餐后血糖，增加胰岛素的感受性，改善胰岛素抵抗，起到控制和干预糖尿病病情的作用[10,39]。低热量淀粉因为吸收代谢慢，又能增强饱腹感等，能够有效降低膳食中能量的摄入，调节血糖代谢水平。杨帆等在饮食中用等热量高抗性淀粉代替普通米饭，发现在试验期内受试者的血糖逐日下降[40]。

2)降低血脂　目前，降低血脂的常用药对人体健康存在潜在威胁，如加重肝脏代谢负担、心律失常、胆结石等，因此无副作用的降脂方案更具发展潜能和优势。高静等选取了 80 例代谢综合征患者，将其随机分为两组，分别采用高抗性淀粉大米和普通市售大米作为主食[41]。一年后，食用高抗性淀粉大米的患者，其血糖、血脂水平得到有效降低，高密度脂蛋白水平得到提高，肥胖情况也得到改善。

低热量淀粉对血糖、血脂的调节，也为通过饮食途径解决肥胖问题提供了更多可能，其主要通过减少能量摄入、增加饱腹感、促进脂肪分解等达到对体重控制的目的。

3)改善肠道菌群　肠道微生物能影响人体健康和疾病的发展。抗性淀粉无法在小肠中直接消化吸收，但可以经肠道微生物发酵。目前，肠道菌群相关代谢产物被认为是人体的第九大系统[42]，其产物中的短链脂肪酸是重要的代谢调节物质，它们通过抑制或杀死肠道内的有害病菌、促进有益细菌的生长和繁殖，来调节肠道菌群。这些短链脂肪酸也具有抗炎作用，能降低结肠炎的发生率[39,43]。此外，酸性的环境也有利于 Ca、Mn、Fe 等元素以无机盐的形式被肠道吸收[44]。肠道微生物及其代谢物又能够协同促进 RS 发挥缓解代谢综合征、抗肥胖的功能[45]。

4)提升加工食品的品质　随着慢性病的患者逐渐年轻化，健康饮食成为一种趋势，在日常饮食中提高膳食纤维的摄入量可以有效预防并辅助治疗慢性病。作为一种具有生物活性的物质，低热量淀粉尤其是抗性淀粉，因其糖苷键的定位、物理或化学因素不能被消化酶水解而表现出膳食纤维的特性[46]。此外，随着对低热量淀粉功效研究的逐步深入，发现其在食品加工中的应用越来越广泛，不仅具有功能食品特性，而且对改善食品品质具有重要意义。抗性淀粉应用在油炸食品中，可以增加食品的脆性；抗性淀粉是一类益生元，将其添加在发酵乳中，可以发挥益生作用，促进乳酸菌等的生长，且其本身作为糖类大分子，可以改善发酵乳的品质[47]。慢消化淀粉因其消化缓慢的特性，可用于功能性缓释食品的开发，如长跑运动员的碳水化合物补充剂。

5)营养素的包埋与缓释　慢消化淀粉可被小肠完全消化吸收，但是消化过程比较缓慢。抗性淀粉在小肠中几乎不被消化，具有物理屏障的功能。因此，慢消化淀粉及抗性淀粉可作为营养因子靶向控释载体材料，用于生物活性物质或敏感物质的保存与缓释。比如，抗性淀粉作为一种多聚物，分子间或分子内的连接形成网状结构，可用于肠道菌群的包裹与输送，将其转运至结肠。该益生菌输送体系已应用在食品行业中，能够有效提高产品中活菌数。抗性淀粉也可用于敏感物质的控释及其稳定性的改善[48]。

1.3　低热量淀粉的未来发展方向

SDS、RS 显然已经成为研究热点，但目前的研究存在一些局限性。主要包括 3 点：首先，制备技术不完善，原淀粉、酶、工艺参数等直接影响 SDS 和 RS 的品质、功能性质以及加工适用性。筛选天然含有较高 SDS、RS 含量或有利于 SDS、RS 生成的淀粉作为原料，能够降低成本、提高产量。优选特定来源、结构的酶处理淀粉底物，专一性、特异性生成目标产物，并对工艺条件进行优化，有助于提升目标产物的得率和品质。其次，SDS、RS 的功能研究多处于效能评价阶段，缺乏其作用规律与机制的研究，且目前其生理效应评价多采用体外测定方法，缺乏体内测定。最后，相应产品的开发滞后，大多数技术停留在实验室阶段，SDS、RS 在复杂食品体系中的加工稳定性问题(如热稳定性)以及与其他食物组分的构效关系等，还有待进一步研究。未来 SDS、RS 的酶法制备以及应用应以问题为导向，针对目前存在的不足进行改善，如改进制备技术、明确作用机理、加快产品开发。

2　低热量糊精的酶法制备

低热量淀粉的衍生物主要为糊精，包含环糊精、抗性糊精等。环糊精是由 α-1,4 糖苷键连接形成的外亲水内疏水的环状低聚糖，包含 α-环糊精、β-环糊精以及 γ-环糊精，分别由 6 个、7 个或 8 个葡萄糖单元组成[49]。因其特殊的环形结构和性质，其

对消化酶的耐受性强,具有难消化的特点。其中,α-环糊精空腔孔径最小,具有化学性质稳定、溶解度高、无毒、难消化等优势,是一种新型的膳食纤维[50],但由于其孔径较小,只适合包合小分子基团,应用范围受限;β-环糊精的孔径适中,价格低廉,但其疏水区域有限且溶解性相对较低,限制了其应用;γ-环糊精疏水孔径大,且其溶解性和安全性都高于α-环糊精和β-环糊精,但合成成本较高,不适合于工业上大规模生产,应用受到限制[51-52]。抗性糊精是一种低黏度水溶性膳食纤维[53],因其不会被消化系统消化吸收,可作为一种低热量成分。抗性糊精的热量只有 4.19 J/g[54],在英国和日本等国家,抗性糊精是一种不限制摄取量的安全物质,我国卫生部也规定抗性糊精可作为普通食品成分在各类食品中不限量添加[55]。

2.1 低热量环糊精的主要制备方法

1)环糊精的制备 环糊精葡萄糖基转移酶(CGTase)是酶法制备环糊精的关键酶,通过催化淀粉及其衍生物发生环化反应(分子内转糖基化反应)得到环糊精[56]。CGTase 是一类多功能酶,环化反应是其特征反应,通过切割 α-1,4 糖苷键形成中间复合物,然后催化分子内转糖苷反应形成环糊精。根据 CGTase 在制备环糊精中所获得的主产物比例可将其分为 α-CGTase、β-CGTase、γ-CGTase[57]。但是,催化活性低、特异性差等限制了 CGTase 的大规模工业化应用。此外,CGTase 只能作用于 α-1,4 糖苷键,但淀粉中含有 CGTase 不能水解的 α-1,6 糖苷键,制约了环糊精的转化率和得率,因此在酶法制备环糊精的过程中,常常采用淀粉脱支酶与 CGTase 复配的方法提升底物的利用率和目标产物的产量。其催化过程分为两步,第一步为利用淀粉脱支酶水解 α-1,6 糖苷键,第二步用 CGTase 催化环化反应生成环糊精。

表 2 为酶法制备环糊精的工艺条件、转化率及得率。由表 2 可知,酶法制备环糊精的温度、pH、时间、加酶量等影响淀粉底物的转化率和目标环糊精得率。除此之外,络合剂、下游分离纯化技术等也是影响转化周期、淀粉底物转化率和环糊精得率的关键因素。

在酶法制备环糊精的过程中,存在产物抑制效应,阻碍反应继续进行,主要原因是环糊精产物与淀粉底物竞争 CGTase 酶的活性位点。通过选择合适的有机溶剂作为络合剂,与环糊精产物结合形成复合物,能够解除产物抑制效应,提高产量。比如醇类能与环糊精形成包合物沉淀,促进反应进行,提高 α-环糊精的转化率[64]。刘玉青等以 α-CGTase 为催化剂用于马铃薯淀粉制备 α-环糊精,并在反应体系中加入乙醇、异丙醇、正丁醇、正癸醇等有机溶剂[65]。结果表明,在反应体系中加入正癸醇时,α-环糊精的转化率最高,且易分离提取。卢滋研究了一系列

表 2 酶法制备环糊精的工艺条件、转化率及得率

Table 2 Technological conditions, conversion rate and yield of cyclodextrin prepared by enzymatic method

方法	CGTase 来源	工艺条件	转化率及的得率	参考文献
单酶法	嗜热脂肪芽孢杆菌发酵	马铃薯淀粉质量浓度 15 g/dL,β-CGTase 添加量 13 U/g,反应温度 50 ℃,pH 6.0,反应时间 18 h	转化率最高为 73.8%,β-环糊精得率 98.7%	[58]
单酶法	海洋芽孢杆菌 Y112 发酵	马铃薯淀粉浓度 5 g/dL,α-CGTase 添加量 200 U/g,温度 30 ℃,pH 8.4,反应时间 6 h	α-环糊精转化率均值为 28.67%,比优化前产率提高 2.48 倍	[59]
双酶法	嗜碱芽孢杆菌(CGTase)、栖热水生菌(4-α-GTase)	淀粉底物质量分数 5%,4-α-GTase 添加量 4 U/g,反应 24 h,温度 70 ℃,转速 800 r/min;CGTase 添加量 8 U/g,反应时间 30 h,温度 50 ℃,pH 8.5	γ-环糊精得率 12.83%,比对照组提高了 76.7%	[60]
双酶法	先加异淀粉酶,后加 α-CGTase	淀粉底物浓度 15 g/dL,液化 10 min,温度 40 ℃,pH 5.5,异淀粉酶添加量 144 U/g,α-CGTase 添加量 15 U/g,正癸醇体积分数 5%,转化周期 18 h	环糊精总转化率 90.5%,α-环糊精占 96.3%	[61]
双酶复配	异淀粉酶、α-CGTase	淀粉底物质量浓度 15 g/dL,α-CGTase 添加量 10 U/g,异淀粉酶添加量 48 U/g,反应温度 30 ℃,pH 5.6,反应时间 24 h	环糊精总产量 84.6%,比单独使用 α-CGTase 的产量高 31.2%	[62]
双酶复配	异淀粉酶、γ-CGTase	淀粉底物质量浓度 15 g/dL,γ-CGTase 添加量 12.5 U/g,异淀粉酶添加量 40 U/g,pH 7.0,温度 50 ℃,反应时间 10 h	γ-环糊精的产量 72.5%,比单独使用 γ-CGTase 的产量提高 22.1%	[63]

醇类对 α-环糊精酶法制备的影响,发现一元直链醇对 α-环糊精合成的促进效果远高于同碳原子数的一元支链醇和二元醇,并且利用混合醇为络合剂可进一步降低环糊精制备的生产成本[66]。因此,选择合适的络合剂是酶法制备环糊精的关键一步。

此外,由于 CGTase 特异性差,在制备环糊精时,其产物中含有不同比例的 α-环糊精、β-环糊精、γ-环糊精或其他杂质,为了获得目标环糊精,需要借助柱分离系统等对所得产物进行分离纯化。合适的络合剂也有利于产物的分离纯化。

2)抗性糊精的制备　制备抗性糊精的主要方法有高温酸解化学法和酶法[61],但高温酸解化学法主要为工业制备方法,存在原料利用率低、能源消耗大、产生糠醛类有害物质等缺点。酶法制备抗性糊精作为一种高效、安全、绿色的替代方法,得以广泛应用。抗性糊精因含有不易被消化酶作用的 α-1,3 糖苷键和 α-1,2 糖苷键而具有抗消化性,但天然淀粉中不含或极少含上述两种糖苷键。因此,在抗性糊精的酶法制备过程中,能够产生特异糖苷键的转葡糖苷酶是关键。比如,4,3-α-葡萄糖基转移酶能够催化淀粉生成不易被消化酶水解的 α-1,3 糖苷键[67]。

表 3　酶法制备抗性糊精的工艺条件及得率

Table 3　Technological conditions and yield of preparation of resistant dextrin by enzymatic method

酶或方法	工艺条件	得率	参考文献
α-淀粉酶、转苷酶	玉米淀粉置于烘箱中加热酸化制得焦糊精样品,以焦糊精为底物(10 g 焦糊精加入 3 倍体积的水),α-淀粉酶添加量 0.4%,作用温度 94 ℃;转苷酶添加质量分数 0.3%、作用温度 56 ℃	82.56%	[68]
微波-酶解	淀粉质量浓度 20 g/dL,微波功率 60 W,时间 6 min;α-淀粉酶 40 U/g,β-淀粉酶 20 U/g、转苷酶 35 U/g,作用温度 75 ℃,反应时间 20 min,pH 5.5	40.3%	[69]
淀粉分支酶	焦糊精质量浓度 2 g/dL,加酶量 3 000 U/g,反应温度 60 ℃,pH 6.5,反应时间 12 h	50%,较焦糊精原料中抗性成分提高 7%	[70]

表 3 为酶法制备抗性糊精的工艺条件与得率。由表 3 可知,由淀粉制备焦糊精,再由焦糊精制备抗性糊精,其抗性成分的含量明显增多,这为未来抗性糊精的制备提供了新思路。选择合适的淀粉底物也能有效提高抗性糊精的产量。朱洁分别以蜡质玉米淀粉、普通玉米淀粉、高直链玉米淀粉为原料制备抗性糊精,发现高直链淀粉产品制备的抗性糊精含量最高[71]。由于支链淀粉与直链淀粉相比有更多的还原端且再生缓慢,因此以支链淀粉为底物时环糊精的产量更高[59]。

2.2　低热量糊精的功能及应用

1)微胶囊　环糊精的疏水空洞内可嵌入各种疏水性有机化合物,从而形成稳定的包合物,起到保护或者缓释的作用。环糊精的包合性应用在食品工业中可以提取功效成分[72-73]、脱除苦味涩味[74]、保鲜[75];应用在医药行业,可以提升药物的溶解度[76-78]、稳定性[79]和中药成分的提取率[80],并降低毒副作用;抗性糊精不能被消化酶水解,但可在大肠被肠道微生物利用,因此可用做营养素的传递与输送体系,利用分子包埋和微胶囊技术,在膳食中补充人体所需的营养素。

2)新型膳食纤维　α-环糊精和抗性糊精均具有膳食纤维的功能特性。多摄入膳食纤维能够有效降低血糖和血脂,辅助预防或治疗慢性疾病。比如,抗性糊精能形成凝胶来阻止糖类在体内的扩散,并抑制小肠对糖类的消化吸收,改善末梢组织对胰岛素的感受性,使胰岛素的感受性降低,从而抑制血糖和胰岛素的升高[81]。

3)提升食品品质　在乳品和肉制品中,抗性糊精可用做脂肪替代物,在口感和风味不被影响的前提下,尽可能减少脂肪的存在,制备低脂、低热产品,且抗性糊精的高持水性有利于减少产品的脱水收缩,保持水分和风味。抗性糊精也可用于烘焙食品中,改善食品的品质。李方华等以抗性糊精代替蔗糖制备低热量蛋糕,结果表明,添加抗性糊精后蛋糕的色泽、表面形态、水分含量等得到改善[82]。由于环糊精可以形成包合物,因此可以用于食品中香味物质的缓释,或者包埋功能成分,用于功能食品的开发。

4)促进矿物质的吸收　在食品中加入具有良好加工性能、稳定性的抗性糊精可以促进矿物质的吸收。在婴幼儿配方奶粉中加入抗性糊精可以改善婴儿体内双歧杆菌下降带来的营养素利用率降低的问题,促进钙、铁、锌等微量元素的吸收,提高营

养素利用率[54]。

2.3 低热量环糊精的未来发展方向

环糊精和抗性糊精在食品中尤其是饮料中应用广泛,但仍需更加高效、安全的生产和纯化方法,以获得工业化大规模生产高质量的环糊精和抗性糊精成分,扩大其应用范围。虽然已有研究报道环糊精和抗性糊精对人体健康有积极作用,但其具体作用机制尚未完全阐明,仍需进一步研究。此外,抗性糊精和环糊精的酶法制备过程中常常伴随着一些副产物或杂质的生成,对目标产物的最终得率和分离纯化带来消极影响,其根源是关键酶的催化特异性较差。为了解决这一问题,深入研究酶的来源、结构、生物发酵条件等对催化特异性的影响,实现对酶的优选和改造是关键,进而实现对酶法制备环糊精和抗性糊精的性能和产率的改善。

3 展 望

伴随着精细化饮食的发展,慢性病患病人群逐渐扩大,低热量饮食已经成为一种趋势。淀粉作为膳食中主要的热量来源,对淀粉进行酶法改性制备低热量淀粉及其衍生物符合安全、健康、绿色的发展需求。低热量淀粉及其衍生物因其特殊的功能正逐渐在食品、医药等领域应用。但是关键酶的筛选、制备工艺、产品得率、下游分离纯化、加工稳定性等仍存在一些不足。目前主要从原料、工艺等方面来实现制备过程的优化,缺乏对高活性、专一性关键酶的筛选,关键酶的生物发酵工艺尚未成熟。此外,酶法制备低热量淀粉及其衍生物的消化性以及生理功能特性研究多停留在体外模拟消化实验和动物实验阶段,相应产品的开发存在滞后问题,加工过程中低热量淀粉及其衍生物的稳定性也值得考虑。未来应以提升产物得率和品质为导向,加强酶法制备低热量淀粉及其衍生物的前端调控和全程控制,实现相关技术从实验室走向工业化大规模应用,推动特殊食品、功能食品、健康食品的开发与利用。

参考文献:

[1] 王谊,陈龙,程昊,等. 油炸高温处理对淀粉结构与性质的影响[J]. 中国粮油学报,2021,36(8):137-144.
[2] 任欣,张一,方圆,等. 影响淀粉消化的内外因素[J]. 中国食品学报,2021,21(12):283-292.
[3] 刘容,孙卫东,田雯. 淀粉的消化性及膳食纤维对其影响研究进展[J]. 食品研究与开发,2016,37(19):220-224.
[4] 储昭银,苏青. 碳水化合物与恶性肿瘤发生风险[J]. 上海医学,2021,44(4):286-292.
[5] 李兆钊,吴卫国,廖卢艳,等. 杂粮中辅助调节血糖功效成分研究进展[J]. 中国粮油学报,2020,35(7):195-202.
[6] 王笑颖,冯艺飞,战虎. 浅谈血糖生成指数研究现状[J]. 现代食品,2021(11):143-146.
[7] 陈严双. 天然淀粉改性机制及应用概述[J]. 化工设计通讯,2021,47(7):165-166.
[8] 孟丽维,朱慧静,王贺. 慢消化淀粉的制备与检测及其在食品中的应用进展[J]. 农产品加工,2019,19:77-80.
[9] 龚永强,刘静,余振宇,等. 抗性、慢消化淀粉的制备及其控血糖机理的研究进展[J]. 中国粮油学报,2022,37(1):1-16.
[10] 龙金利,张爱霞,生庆海. 抗性淀粉制备及降糖作用研究进展[J]. 河北农业科学,2021,25(2):93-98.
[11] 李文钊,臧传刚,李义,等. α- 淀粉酶的研究与应用进展[J]. 当代化工,2017,46(11):2292-2296,2299.
[12] 江海旻. 理性设计提高淀粉分支酶催化能力及其在麦芽糊精改性中的应用[D]. 无锡:江南大学,2021.
[13] 程琨. 新型淀粉脱支酶的发现、性质与应用研究[D]. 郑州:河南农业大学,2015.
[14] 徐兵,刘洁,刘亚伟. 普鲁兰酶脱支对淀粉结构及热稳定性的影响[J]. 食品科技,2020,45(7):255-261.
[15] XIA W,ZHANG K,SU L Q,et al. Microbial starch debranching enzymes:developments and applications[J]. **Biotechnology Advances**,2021,50:107786.
[16] KOROMPOKIS K,VERBEKE K,DELCOUR J A. Structural factors governing starch digestion and glycemic responses and how they can be modified by enzymatic approaches:a review and a guide[J]. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**,2021,20(6):5965-5991.
[17] 欧阳梦云,王燕,赵传文. RS-3 型籼米抗性淀粉制备方法对其结构和理化性质的影响[J]. 食品与机械,2017,33(8):14-18.
[18] 王玉娟,李晓磊,付婧超,等. 普鲁兰酶水解制备抗消化性和低回生性木薯淀粉的研究[J]. 粮食与油脂,2017,30(12):46-49.
[19] 叶蓉. 酶改性小麦淀粉的慢消化稳定性研究及其应用[D]. 无锡:江南大学,2019.
[20] 张振,张文峰,李丹丹. 普鲁兰酶法制备小米抗性淀粉的工艺优化[J]. 饲料研究,2016(19):44-46.

[21] LI X L,WANG Y J,LEE B H,et al. Reducing digestibility and viscoelasticity of oat starch after hydrolysis by pullulanase from *Bacillus acidopullulyticus*[J]. **Food Hydrocolloids**,2018,75:88-94.
[22] YE X F,LIU W,MA S Y,et al. Expression and characterization of 1,4-alpha-glucan branching enzyme from *Microvirga* sp. MC18 and its application in the preparation of slowly digestible starch[J]. **Protein Expression and Purification**,2021,185:105898.
[23] 王六强,张新武,孔红建,等. 生马铃薯通过酶法脱支制备抗性淀粉[J]. 食品工业,2021,42(6):252-256.
[24] LI Y R,XU J J,ZHANG L,et al. Investigation of debranching pattern of a thermostable isoamylase and its application for the production of resistant starch[J]. **Carbohydrate Research**,2017,446:93-100.
[25] 王金斌,李文,张倩倩,等. 青稞慢消化淀粉酶法制备技术研究[J]. 核农学报,2016,30(11):2160-2170.
[26] PENG H,QIAN L M,FU Z J,et al. Using a novel hyperthermophilic amylopullulanase to simplify resistant starch preparation from rice starches[J]. **Journal of Functional Foods**,2021,80:104429.
[27] TU D K,OU Y J,ZHENG Y X,et al. Effects of freeze-thaw treatment and pullulanase debranching on the structural properties and digestibility of lotus seed starch-glycerin monostearin complexes[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2021,177:447-454.
[28] 谢三都,陈惠卿,谢小伟,等. 淮山药 RS3 抗性淀粉制备及其消化特性[J]. 农产品加工,2020(13):17-22.
[29] 董幸. 绿豆抗性淀粉的制备及其对小鼠肠道代谢的影响[D]. 长春:吉林农业大学,2020.
[30] 张伟,张焕新,张海涛,等. 银杏抗性淀粉的微波 - 酶法制备及性质研究[J]. 食品工业,2018,39(10):5-10.
[31] 张守花. 响应面法优化微波辅助酶解制备抗性淀粉工艺研究[J]. 食品研究与开发,2020,41(17):122-127.
[32] 张芸. 甘薯抗性淀粉的制备及理化特性分析与应用研究[D]. 武汉:华中农业大学,2013.
[33] LI C L,DHITAL S,GIDLEY M J. High-amylose wheat bread with reduced in vitro digestion rate and enhanced resistant starch content[J]. **Food Hydrocolloids**,2022,123:107181.
[34] 鲁守平,陈波,张晗菡,等. 高直链淀粉玉米的研究进展[J]. 山东农业科学,2019,51(6):169-174.
[35] UTSUMI Y,UTSUMI C,TANAKA M,et al. Suppressed expression of starch branching enzyme 1 and 2 increases resistant starch and amylose content and modifies amylopectin structure in cassava[J]. **Plant Molecular Biology**,2021,108:413-427.
[36] 刘树兴,杨麒,赵广蒙. 直链淀粉含量对小麦 RS-3 型抗性淀粉得率的影响[J]. 食品科技,2016,41(12):226-231.
[37] 李涛,童金华,宋洪波,等. 紫山药淀粉与其抗性淀粉理化性质的比较[J]. 包装与食品机械,2017,35(4):13-18,54.
[38] 张斌. 慢消化淀粉的制备、性质及其形成机理研究[D]. 广州:华南理工大学,2011.
[39] 胡珍珍,郝宗山,孟妍,等. 抗性淀粉的制备、功效及应用的研究进展[J]. 中国食物与营养,2021,27(1):30-35.
[40] 杨帆,朱佳妮,张伦,等. 高抗性淀粉主食对住院 2 型糖尿病患者血糖波动的影响[J]. 中国食物与营养,2019,25(6):75-78.
[41] 高静,金辉,封育瑾,等. 高抗性淀粉大米对代谢综合征患者代谢异常的治疗及对糖脂代谢的影响[J]. 中国预防医学杂志,2020,21(3):320-324.
[42] 熊晟均,尹世章,邓宛书,等. 肠道菌群相关代谢产物与心血管疾病的关系研究进展[J]. 中国实用内科杂志,2022,42(2):168-172.
[43] 刘霞,黄雅萍,卢旭,等. 抗性淀粉的结构性质与功能关系研究进展[J]. 食品与发酵工业,2020,46(18):279-286.
[44] 曾超,刘艺琳,肖崛方,等. RS3 型抗性淀粉的研究进展[J]. 食品工业科技,2020,41(7):338-344.
[45] 何书琪,童铭瑶,雷素珍,等. “抗性淀粉 - 肠道菌群 - 代谢产物”营养轴的研究进展[J]. 食品科学,2022,43(5):1-14.
[46] ARP C G,CORREA M J,FERRERO C. Resistant starches:a smart alternative for the development of functional bread and other starch-based foods[J]. **Food Hydrocolloids**,2021,121:106949.
[47] 王绍帆,黄欢,何君,等. 发酵乳中抗性淀粉的变化及对凝胶过程的影响[J]. 中国食品学报,2020,20(9):95-101.
[48] KRAITHONG S,WANG S K,JUNEJO S A,et al. Type 1 resistant starch:nutritional properties and industry applications[J]. **Food Hydrocolloids**,2022,125:107369.
[49] 张元超,黄立新,徐正康. 环糊精的改性和应用研究进展[J]. 现代食品科技,2008,24(9):947-951.
[50] 宿玲恰,吴敬. 淀粉基未来食品及其制备方法研究进展[J]. 食品与生物技术学报,2021,40(12):5-16.
[51] 肖姗姗,吉时蕾,蒋欣欣,等. 环糊精及其衍生物在药物制剂中的应用[J]. 聊城大学学报:自然科学版,2021,34(6):77-83,91.
[52] 柏玉香,吴浩. γ- 环糊精工业化生产的研究进展[J]. 食品与发酵工业,2021,47(22):279-287.
[53] 黄政,孙江文,徐勇,等. 抗性糊精的研究与应用进展[J]. 海南师范大学学报:自然科学版,2018,31(4):418-427.

[54] 张瑞芯,邱斌,白凤翎,等. 抗性糊精品质特征和健康功效的研究进展[J]. 中国食物与营养,2021,27(7):45-48.
[55] 潘旭琳,宋丽冉. 抗性糊精研究进展及应用现状[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2021,33(6):65-71.
[56] 李晓涵,郝建华,郭姣梅,等. 环糊精葡萄糖基转移酶高效异源表达研究进展[J]. 微生物学通报,2020,47(2):615-622.
[57] 王蕾. 环糊精葡萄糖基转移酶的产物特异性分子改造及发酵制备研究[D]. 无锡:江南大学,2018.
[58] 范博望,段绪果,吴敬. 重组 *Bacillus stearothermophilus* β-CGTase 在 β- 环糊精制备中的应用条件优化[J]. 食品与生物技术学报,2018,37(9):897-902.
[59] 陈晓彤,黄立萍,孙谧,等. 响应面分析法优化 α- 环糊精的酶转化工艺[J]. 渔业科学进展,2018,39(5):143-151.
[60] 李林林,张梦柯,金征宇,等. 双酶法催化玉米淀粉制备 γ-CD[J]. 食品与生物技术学报,2017,36(4):357-363.
[61] 冉红艳,段绪果,吴敬,等. 异淀粉酶在 α- 环糊精制备中的应用及条件优化[J]. 基因组学与应用生物学,2015,34(10):2210-2216.
[62] DUAN X G,CHEN S,CHEN J,et al. Enhancing the cyclodextrin production by synchronous utilization of isoamylase and alpha-CGTase[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2013,97(8):3467-3474.
[63] WANG L,WU D,CHEN J,et al. Enhanced production of gamma-cyclodextrin by optimization of reaction of gamma-cyclodextrin glycosyltransferase as well as synchronous use of isoamylase[J]. **Food Chemistry**,2013,141(3):3072-3076.
[64] 卢滋,李兆丰,顾正彪,等. 酶法制备 α- 环糊精反应体系中癸醇的分离[J]. 食品与发酵工业,2012,38(2):203-206.
[65] 刘玉青,孟小兵,张小芳,等. Box-Behnken 响应面法优化酶法制备 α- 环糊精及其分离纯化[J]. 食品研究与开发,2020,41(13):139-145.
[66] 卢滋. α- 环糊精酶法制备中醇类复合剂的选择及其机理分析[D]. 无锡:江南大学,2012.
[67] GANGOITI J,PIJNING T,DIJKHUIZEN L. Biotechnological potential of novel glycoside hydrolase family 70 enzymes synthesizing alpha-glucans from starch and sucrose[J]. **Biotechnology Advances**,2018,36(1):196-207.
[68] 徐慧,王珊珊,田延军,等. 响应面法优化抗性糊精制备工艺[J]. 中国酿造,2020,39(5):120-124.
[69] 徐佩琳,罗水忠,潘丽华,等. 山药抗性糊精的微波预处理 - 酶解制备及其性质研究[J]. 农产品加工,2018(9):1-5.
[70] 刘军,陈晟,吴敬,等. *Thermus thermophilus* 分支酶的重组表达及其在抗性糊精制备中的应用[J]. 食品工业科技,2017,38(24):79-83.
[71] 朱洁. 抗性糊精的工艺及特性研究[D]. 天津:天津科技大学,2010.
[72] 施德锋,乐治平,马从莲,等. 樟树花生根中提取白藜芦醇[J]. 南昌大学学报:工科版,2021,43(4):374-379.
[73] 王亚,范玲玲,马挺军. 超声辅助 β- 环糊精包合法提取紫苏籽油 α- 亚麻酸工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2021,36(12):78-83.
[74] 陈静,戴梓茹,郭德军,等. 沙田柚果酒脱苦工艺[J]. 食品工业,2021,42(11):65-70.
[75] 黎汉清,罗文翰,肖更生,等. 丁香精油微胶囊的制备及其对草莓保鲜效果的研究[J]. 食品与发酵工业,2021,47(21):191-196.
[76] 甘永江,张贝,张毅民,等. β- 环糊精衍生物对 5- 氟尿嘧啶包合和增溶研究[J]. 广州化工,2021,49(23):63-64,86.
[77] 赵宁,李伟泽,付丽娜,等. 阿司匹林羟丙基 -β- 环糊精包合物的制备[J]. 化工科技,2021,29(6):11-15.
[78] 宁宁. 难溶性药物增溶材料的研究进展[J]. 新材料产业,2014(6):46-49.
[79] 徐媛,王璐,冷艳,等. 藜蒿黄酮微胶囊工艺优化及释放动力学研究[J]. 食品工业科技,2022,43(9):185-193.
[80] 杨建文,任晓亮,戚爱棣. 环糊精及其衍生物在中药提取中的应用研究进展[J]. 药物评价研究,2015,38(2):208-213.
[81] 王六强,张新武,马飞飞,等. 抗性糊精的生产应用现状研究与展望[J]. 农产品加工,2020(11):75-77,80.
[82] 李方华,窦光朋,杜倩,等. 抗性糊精在低热量蛋糕中代替蔗糖的应用研究[J]. 中国食品添加剂,2020,31(1):124-127.