

微波辅助酶促月桂酸淀粉酯的合成

王艳¹, 辛嘉英^{1,2*}, 石佳¹, 夏春谷²

(1. 哈尔滨商业大学 省高校食品科学与工程重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150076;

2. 中国科学院兰州化学物理研究所 羰基合成与选择氧化国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 以天然玉米淀粉和月桂酸为原料, 脂肪酶 Novozym 435 为催化剂, 研究了微波辐照下月桂酸淀粉酯的酶促合成. 通过对淀粉进行预处理活化来提高淀粉的酯化反应活性, 并主要考察了微波功率、月桂酸用量、脂肪酶 Novozym 435 用量及反应时间等参数对酶促月桂酸淀粉酯合成的影响. 采用气相色谱法进行取代度的测定, 并以取代度为考察指标, 确定了最佳的反应条件. 结果表明, 淀粉的最佳预处理方法为 NaOH/尿素混合溶液法, 经该法处理后淀粉的酯化反应活性大大提高; 微波辐照技术的应用大大缩短了反应时间, 并提高了月桂酸淀粉酯的取代度. 适宜的工艺条件为: 微波功率为 240 W, 月桂酸用量为 30%, 酶加入量为 7%, 反应时间 26 min.

关键词: 淀粉预处理; 微波辐照; 脂肪酶; 月桂酸淀粉酯

中图分类号: O643.32

文献标志码: A

酶催化淀粉酯的合成是近些年新兴起的一种淀粉改性手段. 脂肪酶在催化酯化反应中表现出的优良特性, 使其成为淀粉酯化改性的热门酶类. 相对于化学法来说, 酶催化法可以在底物含量较低, 较温和的条件下进行, 而且体系内无需加入酸试剂, 从而淀粉不会发生降解, 用酶法可以生产出传统方法无法实现的一些新产品^[1]. 而且用酶法合成的淀粉酯可以应用在食品和生物医药以及一些新兴领域^[2]. “无溶剂体系酶催化反应”即在不含溶剂的条件下将反应底物简单混合进行酶催化反应(底物以固体或熔化形式存在). 无溶剂体系中酶直接作用于底物, 提高了底物和产物浓度以及反应选择性, 纯化过程简便、步骤少^[3], 不用或少用有机溶剂而大大降低了对环境的污染和有机溶剂的回收成本, 为反应提供了与传统溶剂不同的分子环境, 使反应的选择性、底物转化率得到提高^[4]. 微波是频率在 300 MHz-300 GHz 范围的电磁波. 微波辐射代替常规加热方法进行反应, 具有加热速度快、节能、省时、简化操作程序、减少有机溶剂使用、提高反应速率、体系易控制等优点. 微波作为一种新型能源, 广泛应用在化学反应、化学分析和环境保护等领域^[5].

本实验意在将微波辐照技术应用到淀粉的酶促

酯化改性领域, 从而缩短酯化时间并提高酯化淀粉的取代度. 通过对淀粉进行有效地预处理提高了淀粉的酯化反应活性, 研究了微波辅助下脂肪酶 Novozym435 催化月桂酸淀粉酯的合成. 用气相色谱法进行取代度的测定, 并以取代度为考察指标获得最佳的酯化反应条件, 从而实现低取代度天然月桂酸淀粉酯的快速合成.

1 实验部分

1.1 实验材料及仪器

固定化南极假丝酵母脂肪酶 Novozym 435 (L4777), 10,000 U/g, 丹麦 Novozymes A/S 公司; 月桂酸 (AR) 苏州畅通化学有限公司; 玉米淀粉 (AR) 苏州畅通化学有限公司; 油酸淀粉酯 (DS = 0.05, GR) 国药集团化学试剂有限公司; 月桂酸淀粉酯 (DS=0.05, GR) 国药集团化学试剂有限公司; 3 Å 分子筛 (AR) 大连催化剂厂; 二甲基亚砷 (CP) 购于天津市嘉兴化工有限公司; 糖化酶, 100 000 U/g, 苏州畅通化学有限公司; α-淀粉酶, 3 700 U/g, 苏州畅通化学有限公司. 油浴, 天津市欧诺仪器仪表有限公司; MM721NG1-PW 微波炉, 美的; SCIENTZ-II D 超声波细胞破碎仪, SCIENTZ; DHG-9203A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海-恒科学仪器有

收稿日期: 2013-12-09; 修回日期: 2014-01-04.

基金项目: 黑龙江省杰出青年基金(jc201106); 国家自然科学基金(21073050); 黑龙江省教育厅科技创新团队计划(2010td04).

作者简介: 王艳(1984-), 女, 博士, 讲师. 生物催化.

* 通讯联系人, E-mail: xinjiaying@yahoo.com.cn.

限公司; GC7890F 气象色谱仪, 上海天美科学仪器有限公司。

1.2 油浴无溶剂体系酶促月桂酸淀粉酯的合成

无溶剂体系中, 酯化反应在 25 mL 具塞三角瓶中进行, 底物包括月桂酸和预处理玉米淀粉(平均粒径小于 0.1 μm), 月桂酸作为酰基供体, 预处理淀粉与月桂酸的质量比为 1 : 5。底物完全混溶后, 加入 5% 的 Novozym 435 脂肪酶, 65 $^{\circ}\text{C}$ 恒温反应, 定时取样分析。反应结束后, 向反应体系中加入 10 mL、95% 的乙醇使月桂酸淀粉酯沉淀析出。沉淀产物中未反应的月桂酸通过无水乙醇反复洗涤除去, 75 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重。烘干后用 0.180 mm 的筛网将固定化脂肪酶筛除后, 密封保存^[6]。

1.3 微波辅助酶促月桂酸淀粉酯的合成

将一定量的月桂酸分散在 30 mL 的乙醇溶液(体积分数 80%)中, 再缓慢加入一定量的 NaOH/尿素混合溶液法处理的淀粉(干基)混合于乳状液中, 加入一定量的脂肪酶 Novozym 435 作为催化剂, 在 3 000 r/min 的转速下充分搅拌 1 min, 得到混合均匀的液体置于微波反应器中进行反应, 采用间歇加热方式(加热 30 s 间隔 3 min, 总时间为 5 min)并快速搅拌。反应结束后, 用体积分数为 80% 的乙醇反复洗涤、抽滤除去未反应的月桂酸, 将产物月桂酸淀粉酯放置于鼓风干燥箱中(105 $^{\circ}\text{C}$, 2 h)烘干至恒重, 将烘干后的月桂酸淀粉酯冷却、粉碎、过筛、保存, 存放于密闭样品袋中。

1.4 NaOH/尿素混合溶液法处理淀粉

将一定量质量比为 2 的氢氧化钠和尿素加入到去离子水中配制成浓度为 9% 的氢氧化钠/尿素混合溶液, 置于冰箱中冷却至 -10 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 在快速搅拌下慢慢加入 5% 的干基玉米淀粉, 继续搅拌直至得到透明、均相的淀粉糊, 滴加稀盐酸至中性, 慢慢滴加无水乙醇使淀粉沉淀析出, 95% 乙醇溶液洗涤数次直至无氯离子, 再用无水乙醇洗涤以脱去水分, 50 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥后备用^[7]。

1.5 酶法处理淀粉

称取 100.00 g 干基玉米淀粉置于 500 mL 反应瓶中, 加入 pH 值 4.6 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲溶液 200 mL 调浆后于 45 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中预热 10 min。精确称取一定量的糖化酶和 α -淀粉酶(质量比为 3 : 1), 用缓冲溶液配制成体积分数为 2% 的酶液, 将配制好的酶液全部加入到淀粉悬浮液中并准确计时。搅拌反应 24 h 后加入 5 mL 质量浓度为

40 g/L 的氢氧化钠终止反应, 将悬浮液在 3 000 r/min 的转速下离心 5 min。去除上清液, 向下层沉淀物中加入同体积的蒸馏水洗涤并离心, 如此重复 3 次, 将所得沉淀物即为淀粉置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥箱中烘干至恒重, 用粉碎机粉碎, 即得酶处理淀粉样品。

1.6 超声波法处理淀粉

取 10.00 g 原淀粉于 50 mL 烧杯中, 加入 40 mL 乙醇搅拌均匀制备成淀粉乳, 置于超声波下处理(常温), 在一定功率下, 每次作用时间 6 s, 间隔 9 s, 总时间为 15 min。超声处理后用蒸馏水洗涤淀粉, 抽滤, 于 50 $^{\circ}\text{C}$ 下真空干燥至恒重, 制得超声波处理淀粉^[8]。

1.7 取代度的测定

采用气相色谱法进行产物取代度的测定, 首先对产物进行甲酯化获得月桂酸甲酯, 通过气相色谱扫描, 以油酸甲酯为内标物测定月桂酸甲酯的含量从而换算出月桂酸的量。已知月桂酸的用量便可计算出月桂酸淀粉酯的取代度^[9]。

1.7.1 产物甲酯化 取月桂酸淀粉酯 30 mg 加入到 0.5 mL 二甲基亚砜中进行溶解, 然后加入 1 mL 0.07 mol/L 的甲醇钠溶液进行混合。混合物在 50 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌回流 60 min, 冷却。然后加入 1 mL 去离子水和 1 mL 正庚烷振荡 1 min, 静置沉淀, 上层有机相即为月桂酸甲酯。

1.7.2 气相色谱分析 取月桂酸甲酯 0.5 mL, 加入 50 μL , 1 g/L 内标物油酸甲酯进行气相色谱分析。由内标法得出月桂酸甲酯的质量, 换算成月桂酸的物质的量, 根据 Amol C. Kshirsagar 等的方法改进得如下公式计算取代度:

$$DS = n \times M_1 / (M_0 - n \times M_2 + n \times M_{H_2O})$$

式中: n -为月桂酸淀粉酯中月桂酸的物质的量/mol;

M_0 -为样品的质量/g;

M_1 -为葡萄糖残基相对分子质量/162;

M_2 -月桂酸的摩尔质量/200.32。

色谱条件: 色谱柱: DM-FFAP 石英毛细管柱, 30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μm ; 柱温 220 $^{\circ}\text{C}$, 汽化室温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 检测器温度: 260 $^{\circ}\text{C}$; 载气: 高纯氮; 柱流速: 2.0 mL/min; 尾吹流速: 40 mL/min; 氢气流速: 35 mL/min; 空气流速: 350 mL/min; 分流比 50 : 1; 进样量 1 μL 。

1.8 反应初速度的测定

反应初速度，采用测定月桂酸减少量的方法来测定. 反应进行到 4 h 取样测定(此时月桂酸的转化率<5%)，以单位时间(h)内/单位质量(mg)酶催化酯化反应消耗月桂酸的摩尔数(mmol)作为反应初速度，其单位为 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot (\text{mg})^{-1}$.

1.9 酯化反应工艺条件的优化

在单因素试验基础上，对微波功率(A)、月桂酸用量(B)、脂肪酶 Novozym 435 的添加量(C)和反应时间(D)4 个因素取 3 水平，安排 $L_9(3^4)$ 正交试验(表 1)，以取代度作为评价指标.

表 1 酯化反应实验因素水平表
Table 1 Orthogonal factor level table of esterification

Level	Factors			
	A microwave power /W	B amount of lauric acid/%	C amount of Novozym 435/%	D time/min
1	200	30	5	24
2	220	35	6	26
3	240	40	7	28

2 结果与讨论

2.1 淀粉预处理对酯化反应的影响

玉米淀粉经处理后对脂肪酶 Novozym 435 的催化活性产生了很大的影响，不同的处理方法对酶催化活性的影响不同，如表 2 所示.

从表 2，可以看出玉米淀粉经 NaOH/尿素混合溶液法、酶处理法和超声波处理法处理后，脂肪酶的催化反应初速度和酯化产物的取代度都得到明显的提高. 但 NaOH/尿素混合溶液法的处理效果明显优于其它两种方法，这主要是由于酶法和超声法只略微改变了淀粉颗粒的表面形态，如图 1(B)所示酶法处理后使淀粉颗粒表面出现了明显的孔洞，但没有改变颗粒大小. 而经 NaOH/尿素混合溶液法处

理后淀粉的粒径大大降低至接近纳米级别而且颗粒形貌发生了明显的改变(如图 1(C)). 淀粉颗粒粒径的变小大大增加了其与月桂酸和脂肪酶的接触机率从而提高酶促反应速率和产物取代度. 又如图 2 所示，经 NaOH/尿素混合溶液法处理后淀粉不仅粒径变小，它的晶型也由 A 型变为 V_H 型，结晶度由 24.821% 降低到 10.323%，结晶度的降低使其无定形区增多，从而使淀粉的活性羟基充分暴露，大大提高了酶促反应初速度和产物的取代度. 使得酶催化反应初速度由 $0.2331 \times 10^{-4} \text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ 提高到 $0.0211 \text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ ，产物取代度也由 0.5321×10^{-3} 增加到 0.0105. 因此，在后续试验中所用的淀粉均为采用 NaOH/尿素混合溶液法处理后的玉米淀粉，以下简称为预处理淀粉.

表 2 预处理方法对月桂酸淀粉酯取代度和酶促反应初速度的影响
Table 2 The effect of pretreatment method on the DS of lauric acid starch ester and the initial rate of enzymatic reaction

Pretreatment methods	Degree of substitution (DS)	Initial rate of enzymatic reaction/ $(\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$
Native starch	$0.5321 \times 10^{-3} \pm 0.004 \times 10^{-3c}$	$0.2331 \times 10^{-4} \pm 0.006 \times 10^{-3c}$
NaOH/urea	0.0105 ± 0.009^a	0.0211 ± 0.011^a
enzyme	0.0035 ± 0.012^a	0.0122 ± 0.002^b
ultrasonic wave	0.0026 ± 0.023^b	0.0083 ± 0.003^d

Reaction conditions: weight ratio of pretreatment starch to lauric acid is 1 : 5, catalyzed by 5% Novozym 435 lipase at 65 ℃, 180 r/min for 24 h or 4 h. The data in the table is expressed as the mean±standard deviation ($n=3$), data within a column with different small letters indicate significant difference ($p<0.005$), the same small letters mean no significant difference ($p>0.005$).

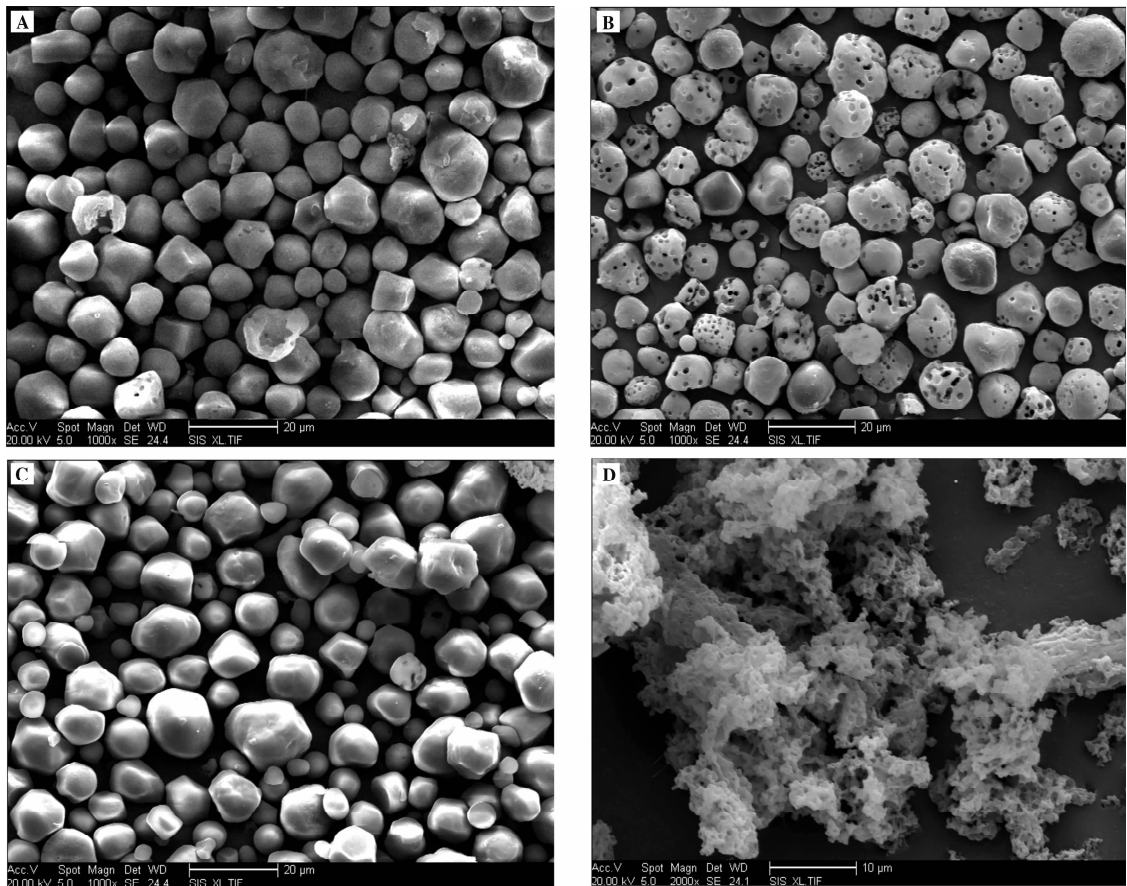


图 1 原淀粉(A)、酶处理淀粉(B)、超声波处理淀粉(C)和 氢氧化钠-尿素混合溶液处理淀粉(D)的扫描电镜图
Fig.1 SEM images of native starch (A) and treatment starch by enzyme (B) , by ultrasonic wave (C) or by NaOH-Urea (D)

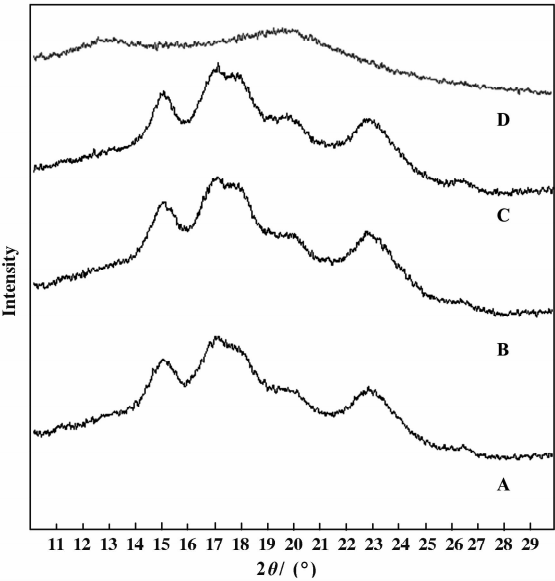


图 2 原淀粉(A)、酶处理淀粉(B)、超声波处理淀粉(C)和 氢氧化钠-尿素混合溶液处理淀粉(D)的 X-射线衍射图
Fig.2 XRD patterns of native starch (A) and treatment starch by ultrasonic wave (B) ,by enzyme(C) or by NaOH-Urea (D)

2.2 月桂酸淀粉酯的结构

图 3 为 NaOH/尿素法预处理淀粉(a) 及其与月桂酸在微波辅助下酶催化反应合成的月桂酸淀粉酯(b) 的红外谱图(FT-IR). 红外谱图的特征峰归属: 氢键缔合的 O—H 伸缩振动在 3 426 ~ 3 648 cm^{-1} 附近、C—CH₂—C 的不对称伸缩振动在 2 931 cm^{-1} 附近和 D-吡喃葡萄糖带与羟基相连的 C—O 伸缩振动在 700 ~ 1 100 cm^{-1} 之间^[10]. 由图可以看出, 预处理玉米淀粉经月桂酸酯化改性后在 1 735 cm^{-1} 出现新的吸收峰, 这是羰基的特征吸收峰, 佐证了酯键的生成. 这说明, 在微波辅助下, 以乙醇为反应介质的微溶剂体系中, 脂肪酶 Novozym 435 可以催化预处理淀粉与月桂酸发生酯化反应生成月桂酸淀粉酯.

在用油浴进行加热反应时, 即使在最佳的反应条件下反应 24 h, 月桂酸淀粉酯的取代度仅为 0.0105(图 4). 而用微波辐射法进行加热反应时, 仅在 26 min 内月桂酸淀粉酯的取代度就可以达到

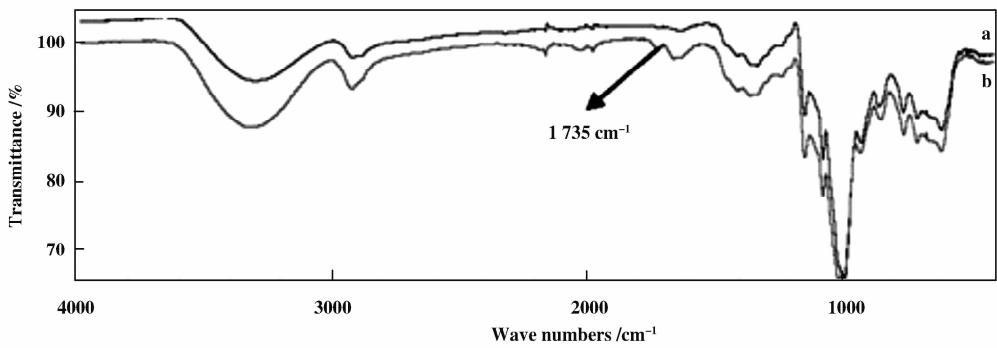


图 3 NaOH/尿素法预处理淀粉 (a) 和月桂酸淀粉酯的红外光谱图 (b)
Fig.3 FT-IR spectra of pre-treatment starch by NaOH/urea (a) and lauric acid starch ester (b)

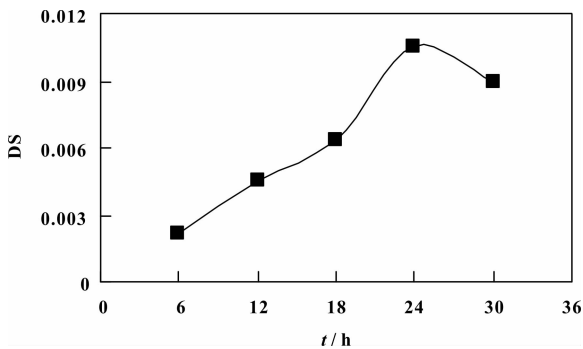


图 4 油浴加热式酶促月桂酸淀粉酯合成
Fig.4 Enzymatic synthesis of lauric acid starch ester by oil bath heating

Reaction conditions: weight ratio of pretreatment starch to lauric acid is 1 : 5 , catalyzed by 5% Novozym 435 lipase at 65℃ , 180 r/min

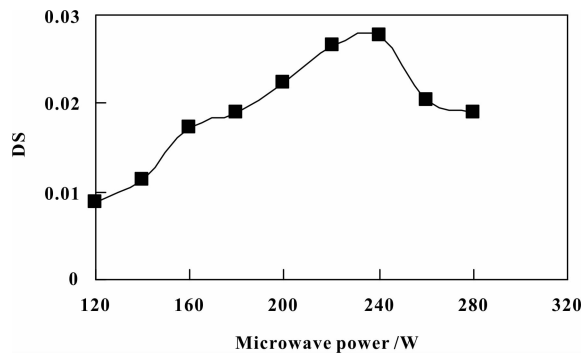


图 5 微波功率对月桂酸淀粉酯取代度的影响
Fig.5 Effect of microwave power on the DS of lauric acid starch ester

Reaction conditions: amount of lauric acid is 30% , reaction time is 26min , amount of enzyme is 5%

2.3 微波功率对取代度的影响

0.0278. 这说明用微波辐射法可以有效提高月桂酸淀粉酯的取代度并大大缩短反应时间. 但是, 微波辐射的功率会对月桂酸淀粉酯的取代度产生明显的影响. 如图 5 所示, 当功率小于 240 W 时, 月桂酸淀粉酯的取代度随功率的增大而增大. 但是, 当功率高于 240 W 以后, 再增大功率反而使产物取代度下降. 这主要是由于, 当微波功率较低时, 反应体系升温速度较慢, 脂肪酶的催化活性较低, 功率的增大, 有利于底物的分散与分子碰撞, 使取代度增加. 但是, 功率过高, 致热效应加速酶分子基团的动能, 以至于超过氢键的键能, 导致氢键断裂, 酶分子的构象破坏, 酶活性降低. 同时反应液会发生爆沸影响冷凝回流效果, 不利于反应底物摩尔比的维持, 致使取代度降低. 因此, 最终将微波功率定为 240 W.

2.4 月桂酸的加入量对取代度的影响

在非水介质中酶催化为非均相反应, 固定化酶与水溶液中的分子酶相比存在更大的扩散限制. 因此, 底物的浓度会影响反应. 由图6结果可知, 当

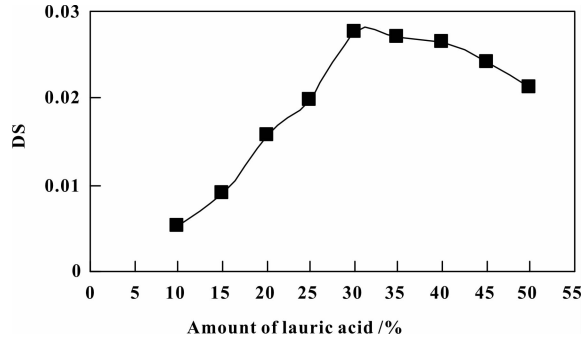


图 6 月桂酸用量对月桂酸淀粉酯取代度的影响
Fig.6 Effect of the amount of lauric acid on the DS of lauric acid starch ester

Reaction conditions: microwave power is 240 W , reaction time is 26 min , amount of enzyme is 5%

月桂酸的用量为淀粉用量的 30% ~ 40% 时, 取代度较大; 当用量低于 40% 时, 取代度明显下降. 本试验采用的是微溶剂体系, 其中月桂酸既是反应物, 又起到了溶剂的作用. 增加月桂酸用量可以提供过量酰基供体, 并降低体系的黏稠度, 有利于反应的进行. 但是过高的月桂酸用量减少了淀粉上的羟基与脂肪酶活性中心接触的机会. 因此, 在后续试验中月桂酸的用量均为 30%.

2.5 脂肪酶 Novozym 435 的用量对取代度的影响

当底物添加量一定时, 酶的用量是影响其催化底物发生酯化反应的一个重要因素. 由图 7 所示, 当脂肪酶 Novozym 435 的用量低于 5% 时, 产物取代度随着酶添加量的增加而增大. 但当酶的添加量在 5% ~ 7% 这个范围内时, 产物的取代度相对稳定, 没有明显的增加. 这说明, 在一定程度上增加酶的用量可以相对地缩短反应时间, 但不能使反应平衡发生改变. 若继续增加酶的用量, 则产物取代度反而出现下降趋势. 这可能是由于脂肪酶发生了团聚影响了底物与脂肪酶活性中心的接触. 因此, 在后续反应中酶的添加量均为 5%.

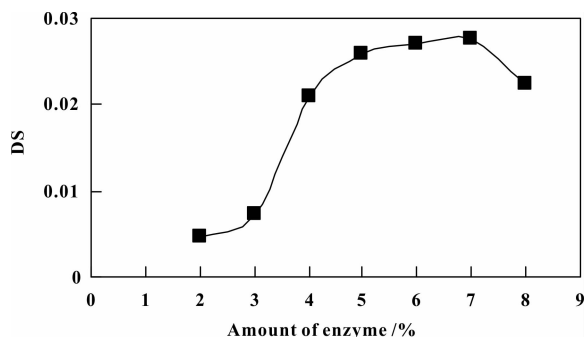


图 7 酶用量对月桂酸淀粉酯取代度的影响

Fig. 7 Effect of the amount of enzyme on the DS of lauric acid starch ester

Reaction conditions: microwave power is 240 W, reaction time is 26 min, amount of lauric acid is 30%

2.6 反应时间对取代度的影响

反应时间作为影响化学平衡的一个重要参数, 且微波反应时间的长短对脂肪酶 Novozym 435 的酶活性的激发和消弱也有重要的影响. 反应时间对月桂酸淀粉酯取代度的影响如图 8 所示. 月桂酸淀粉酯的取代度随着反应时间的增加出现了一段时间的平衡, 在 26 min 时达到极大值, 超过此时间范围后取代度开始降低. 微波对脂肪酶活性的影响是双面

性的, 在一定功率及辐射时间下, 高频电磁场能改变酶分子的表面构象, 导致活性部位裸露, 能与反应底物结合的更好, 相应的增加了酶活性. 但是过长时间的微波辐射会改变蛋白质的二级结构, 引起肽键的断裂. 所以, 最终将反应时间定为 26 min.

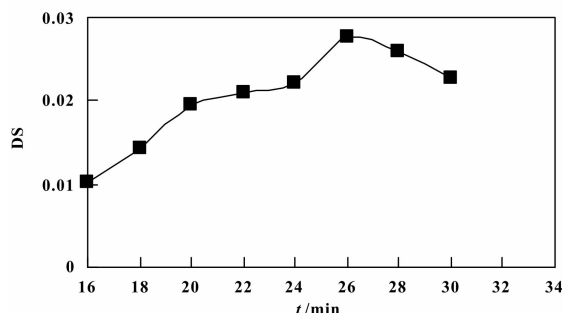


图 8 反应时间对月桂酸淀粉酯取代度的影响

Fig. 8 Effect of the time on the DS of lauric acid starch ester

Reaction conditions: microwave power is 240 W, amount of enzyme is 5%, amount of lauric acid is 30%

2.7 微波辅助月桂酸玉米淀粉酯酶促合成试验分析

本试验对微波功率、月桂酸用量、脂肪酶 Novozym 435 添加量和反应时间 4 因素取 3 水平安排 $L^9(3^4)$ 正交试验, 试验结果如表 3 所示.

在表 3 中月桂酸淀粉酯取代度的极差 R 值的变动在 0.0002 ~ 0.0043 间不等, 微波功率的影响最大, 其 R 值为 0.0043, 而月桂酸用量的影响最小, R 值为 0.0002. 图 9 形象直观地反映了微波功率、月桂酸用量、酶用量和反应时间对月桂酸淀粉酯取代度的影响. 从月桂酸淀粉酯的正交试验结构可以得到微波辐照酶促酯化反应的最佳工艺条件为: A_3 、 B_1 、 C_3 、 D_2 , 即微波功率为 240 W, 月桂酸用量为 30%, 酶加入量为 7%, 反应时间 26 min.

依据正交试验所得的最佳工艺条件: 微波功率为 240 W, 月桂酸用量为 30%, 酶加入量为 7%, 反应时间 26 min, 进行验证试验. 在这个条件下可以制得取代度为 0.0311 的月桂酸玉米淀粉酯.

经验证试验发现, 本实验直接分析的优化条件与计算得出的优化条件相一致. 因此, 最终确定微波辅助下, 微溶剂体系中脂肪酶 Novozym 435 催化氢氧化钠/尿素混合溶液法预处理的淀粉与月桂酸酯化反应合成月桂酸淀粉酯的最佳工艺条件为微波功率 240 W, 月桂酸用量 30%, 酶加入量 7%, 反应时间 26 min.

表 3 正交试验结果
Table 3 The orthogonal experiment results

Number	Experimental scheme				ndex DS
	A	B	C	D	
	microwave power / W	amount of lauric acid / %	amount of enzyme / %	time / min	
1	1(200)	1(30)	1(5)	1(24)	0.0266
2	1	2(35)	2(6)	2(26)	0.0268
3	1	3(40)	3(7)	3(28)	0.0270
4	2(220)	1	2	3	0.0272
5	2	2	3	1	0.0268
6	2	3	1	2	0.0268
7	3(240)	1	3	2	0.0278
8	3	2	1	3	0.0272
9	3	3	2	1	0.0266
K ₁	0.0804	0.0810	0.0806	0.0800	
K ₂	0.0748	0.0808	0.0806	0.0814	
K ₃	0.0816	0.0804	0.0816	0.0814	
k ₁	0.0268	0.0270	0.0267	0.0267	
k ₂	0.0249	0.0269	0.0267	0.0271	
k ₃	0.0292	0.0268	0.0292	0.0271	
R	0.0043	0.0002	0.0025	0.0004	
major factors			ACDB		
optimal combination			A ₃ B ₁ C ₃ D ₂		

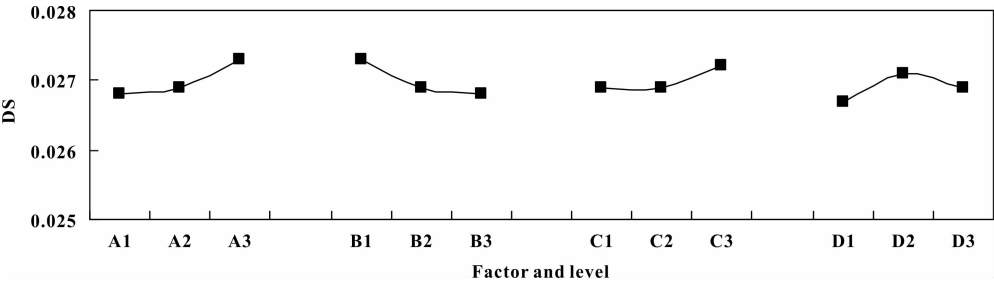


图 9 因素与指标关系趋势图
Fig.9 Factors and index trend chart

3 结论

我们首先选定一种淀粉的预处理方法(氢氧化钠/尿素的混合水溶液法)对玉米淀粉进行预处理,通过改变淀粉的颗粒粒径和晶体结构使淀粉的酯化反应活性大大提高. 以月桂酸和预处理淀粉为原料,脂肪酶 Novozym435 为催化剂,分别以油浴加热和微波辐照方式进行月桂酸淀粉酯的酶促合成. 由 FT-IR 图谱分析确定,淀粉基团中确实引入了月桂酸的羧基形成酯化物. 与油浴加热恒温反应相比,

微波辐照不仅可以提高产物取代度而且大大缩短了酯化反应时间. 在单因素实验的基础上, 通过正交实验获得微波辐照酶促酯化反应的最佳工艺条件, 仅在 26 min 内便可制得取代度为 0.0311 的月桂酸淀粉酯. 本研究为快速合成低取代度的天然长链脂肪酸淀粉酯开发出了一条新的途径.

参考文献:

- [1] Brain W P. The first hundred years corn refining in the United States[J]. *Starch*, 2001, **53**: 257-260.
- [2] Zhang Yan-ping (张燕萍). Modified starch manufacturing and application(变性淀粉制造与应用)[M]. Beijing: Chemical Industry Press (北京: 化学工业出版社), 2001. 2.
- [3] Dejan B, Dušan M, Slavica Š M. The effect of substrate polarity on the lipase-catalyzed synthesis of aroma esters in solvent-free systems[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2007, **45**(4): 97-101.
- [4] Takashi K, Shuj A, Ryuichi M. Lipase-catalyzed condensation of p-methoxy-phenethyl alcohol and carboxylic acids with different steric and electrical properties in acetonitrile[J]. *Biotechnology Letters*, 2003, **25**(1): 3-7.
- [5] Marcin L, Stanislaw K. Low power microwave-assisted

enzymatic esterification of starch [J]. *Starch/Stärke*, 2012, **64**: 188-97.

- [6] Jia Y X, Yan W, Tie L, *et al.* Biosynthesis of corn starch palmitate by lipase Novozym 435 [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, **13**: 7227-7234.
- [7] Jia Y X, Yan W, Tie L, *et al.* Influence of pretreatment on cold water solubility and esterification activity of starch [J]. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2012, **4**(5): 270-276.
- [8] Ji Guo-qiang (冀国强), Shao Xiu-zhi (邵秀芝), Wang Yu-ting (王玉婷). Application of ultrasound technology in the modification of starch (超声波技术在淀粉改性中应用) [J]. *Journal of Cereals & Oils* (粮食与油脂), 2010, **1**: 1-4.
- [9] Wang Yan (王艳), Xin Jia-ying (辛嘉英), Liu Tie (刘铁), *et al.* Lipase-catalyzed esterification of starch using oleic acid in solvent-free system (无溶剂体系酶催化油酸淀粉酯的合成) [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association* (中国粮油学报), 2012, **27**(11): 39-49.
- [10] Huang M F, Yu J G, Ma X F. Studies on the properties of montmorillonite-reinforced thermoplastic starch composites[J]. *Polymer*, 2004, **45**: 7017-7023.

Lipase-Catalyzed Esterification of Starch Using Lauric Acid under Microwave

WANG Yan¹, XIN Jia-ying^{1,2}, SHI Jia¹, XIA Chun-gu²

(1. Local Key Laboratory of Food Science and Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

2. State Key Laboratory of Oxo Synthesis & Selective Oxidation, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Lauric acid starch ester was synthesized by using immobilized lipase Novozym 435 as the biocatalyst under microwave. The esterification activity was been improved by pretreatment. Several factors, such as the microwave power, amount of lipase Novozym 435, amount of lauric acid and esterification time has been investigated. A novel GC-based method was used to measure the degree of substitution (DS) of lauric acid starch ester. DS as the research object was adopt to optimize the reaction conditions. According to the results of the single-factor experiments, the perpendicular experiments were designed to optimize the parameters of the reaction. The results showed that the optimum reaction conditions were as below: microwave power was 240 W, the amount of lauric acid was 30%, the amount of lipase was 7% and the reaction time was 26 min. A degree of substitution of 0.0311 was obtained. The structures of products were characterized by FT-IR spectra.

Key words: starch pretreatment; microwave irradiation; lipase; lauric acid starch ester