

Е. В. Никитина, С. В. Захарова, Ф. К. Алимова

## ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ АМИЛАЗОЙ *BACILLUS LICHINEMORMIS* НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУКУРУЗНОГО КРАХМАЛА

*Ключевые слова:* ферментированный кукурузный крахмал, морфология, физико-химические свойства.

*Проведен сравнительный анализ ферментированных кукурузных крахмалов (обработаны амилазой *Bacillus licheniformis* в течение от 1 до 4 часов) с нативным по морфологическим свойствам. Полученные результаты исследования кукурузных крахмалов показали, что ферментная обработка приводит уменьшению размеров крахмальных гранул, уменьшению количества амилозы, однако, с увеличением времени ферментации возрастает эмульгирующая активность кукурузных крахмалов.*

*Keywords:* fermented corn starch, morphology, physicochemical properties.

*A comparative analysis of morphological properties of fermented corn starches (*Bacillus licheniformis* amylase treated for 1 to 4 hours) with a native was carried out. The research results of corn starches showed that the enzyme treatment leads to reduction in the size of starch granules, reducing the amount of amylose, however, emulsifying activity of corn starch increases with the increase of the fermentation time.*

### Введение

Крахмал является основным компонентом хранения в растениях и служит ценным материалом для пищевой и непищевой промышленности.

Благодаря своей уникальной структуре, зерновые, псевдо-злаки, бобовые, корнеплоды и клубни сырья являются источником для получения крахмала. Наиболее важным его источником служит кукуруза. В Соединенных Штатах производится более чем 60% крахмала мире, и кукуруза - основной промышленный материал для получения крахмала. Во всем мире доля крахмала из кукурузы составляет около 83%, далее следуют пшеница (7%), картофель (6%) и тапиока (4%) [1]. В последнее время в Европе наблюдается рост использования пшеницы в качестве сырья для производства крахмала. Причиной этого является то, что ее выращиванию благоприятствуют климатические условия, и она доступна при относительно низкой цене [2].

В 15 странах Европейского союза, где общее производство крахмала составляет около  $8,0 \times 10^6$  тонн в год, крахмал из пшеницы производится в размере  $2,8 \times 10^6$  тонн. Почти 53% от общего производства крахмала используется в пищевой промышленности (конфеты - 18%, безалкогольные напитки - 11%, другие продукты питания - 24%). Из непродовольственного сектора (общая доля 46%), 28% используется для производства бумаги, картона и гофрокартона, а также 13% использовали для ферментации.

Разнообразие сырья, используемого для получения крахмала приводит к большому разнообразию крахмалов, которые отличаются по размерам частиц, морфологии и физико-химическим свойствам. Форма зерен крахмала - самая разная: круглая, овальная, линзообразная, многогранная. Круглая и овальная формы зерен присущи крахмалам корнеклубнеплодов, гороха, мягкой пшеницы, мучнистых сортов кукурузы. Многогранную и неправильную форму зерен имеют крахмалы твердой пшеницы, восковидной и кремнистой кукурузы, риса, ячменя [3]. Это связано с условиями образования и развития зерен: они формируются в белковой матрице при низкой влажности и сдавливаются во время созревания зерна [4].

По размерам отдельных гранул, крахмалы могут быть сгруппированы в четыре класса: большие - свыше 25 мкм, средние - от 10 до 25 мкм, небольшие - от 5 до 10 мкм, и очень малые - менее 5 мкм. Гранулы картофельного крахмала относятся к первому классу, то есть большие, а зерна крахмала овса, гречихи, риса и просо представляют класс мелких крахмалов [5]. Крахмал из очень мелких гранул получают из амаранта, таро, лебеды. Следует отметить, что для крахмалов ржи, пшеницы и ячменя характерно бимодальное распределение зерен по размерам, выраженное наличием двух фракций - крупнозернистой и мелкозернистой. Такое распределение зерен оказывает влияние не только на технологические процессы их извлечения, но и на структуру, содержание амилозы, термодинамические и реологические характеристики крахмала [6].

Зерна кукурузного крахмала, выделенные из роговидной части эндоспермы кукурузы имеют форму многогранника, из мучнистой - круглую. Товарный кукурузный крахмал в среднем имеет зерна величиной от 5 до 25 мкм, с большим круглым глазком на поверхности. В данной работе изучено влияние на физико-химические и морфологические свойства кукурузного крахмала частичной ферментации под действие амилазы *Bacillus licheniformis*.

### Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования выступали кукурузный крахмалы: нативный (ГОСТ Р 51985-2002) и ферментированные амилазой *Bacillus licheniformis*. Ферментацию проводили в течение от 1 до 4 часов, в зависимости от продолжительности ферментации биомодифицированные крахмалы были названы: В1-1, В1-2, В1-3 и В1-4, время ферментации 1, 2, 3 и 4 часа, соответственно.

Модификацию осуществляли в дистиллированной воде при pH=7,5. Концентрация крахмала в реакционной смеси 30 г/100 мл. Активность используемой амилазы в реакционной смеси была 8,3 У/г крахмала (для этого добавляли 1 мл к. ж. *Bacillus licheniformis*/100 мл реакционной смеси). Реакцию гидролиза останавливали путем добавления кон-

центрированной серной кислоты до pH=2. Затем крахмал отделяли от жидкости фильтрованием и высушивали при 40 °С.

Для дальнейших исследований готовили клейстеры крахмалов в концентрации 1% с предварительным завариванием и выдерживанием при 90 °С,

*Определение вязкости крахмалов.* В коническую колбу отобрали 20 мл дистиллированной воды, в части воды (5 мл) развели крахмал массой 0,2 г, а затем оставшиеся 15 мл довели до кипения. Разведенный крахмал осторожно влили в кипяток. После чего смесь остужается до комнатной температуры. Отбрали 5 мл каждого образца крахмального клейстера и измерили массу на аналитических весах, затем на вискозиметре измеряли время истечения крахмального клейстера. Расчет производили по общепринятой формуле.

*Исследование эмульгирующей активности крахмалов.* Для определения эмульгирующей активности крахмальных клейстеров смешивали 0,5 мл подсолнечного масла, 1,5мл исследуемого образца 1% крахмального клейстера и встряхивали на шейкере 2 минуты. После этого брали 0,25 мл перемешенной эмульсии и смешивали 2,75мл раствором 0,1% SDS и измеряли при 500 нм.

*Исследование морфологии крахмальных гранул в зависимости от времени обработки .*

Для микроскопирования использовали предварительно выдержанные при 90 °С в течение 5 мин 5% растворы крахмалов, которые окрашивали раствором Люголя (I<sub>2</sub>/KI раствор; 1:2 w/w). Немедленно просматривали под световым микроскопом Axio Imager в комплексе с видео камерой. Использовали увеличение в 400 раз.

### Результаты исследований и обсуждение

В результате ферментной обработки показатель вязкости крахмальных клейстеров уменьшился. Тем самым, наибольшее снижение вязкости наблюдали уже после одночасовой экспозиции крахмального раствора с ферментом. Дальнейшее увеличение времени обработки крахмальных зерен кукурузы приводило к снижению этого показателя, но уже с меньшей скоростью.

Исследование влияния ферментной обработки на количество амилозы выявило, что одночасовая экспозиция с амилазой привела к увеличению процентного количества амилозы по сравнению с нативным. Дальнейшее увеличение времени обработки приводило к резкому снижению количества амилозы, её содержание после двух часов обработки находилось на уровне 2-5 %.

В нативных кукурузных крахмалах, получаемых промышленным способом, соотношение амилозы и амилопектина составляет в среднем 1:3, т.е. содержание амилозы находится на уровне 10-28%. Если же оно превышает 30%, то крахмал считается высокоамилозным, так как на его реологические характеристики существенное влияние начинают оказывать свойства амилозы.

Исследование эмульгирующей активности крахмалов показало, что нативный крахмал по сравнению с ферментированными, обладал наименьшей способностью образовывать эмульсии. Увеличение вре-

мени ферментации крахмалов амилазой *B. licheniformis* до 4 часов привело к повышению способности образовывать эмульсии, что может быть связано со значительным уменьшением длины цепи крахмала.

**Таблица 1 – Влияние ферментной обработки амилазой *B. licheniformis* на свойства кукурузного крахмала**

Крахмал	Вязкость, Т	Количество амилозы, %	Эмульгирующая активность, Допт, 500 нм
Нативный	2,015	14,6±1,58	0,056±0,012
В1-1	1,232	15,5±2,89	0,203±0,025
В1-2	1,038	2,5±0,62	0,212±0,019
В1-3	1,058	4,2±1,01	0,189±0,036
В1-4	1,219	5,1±0,67	0,298±0,025

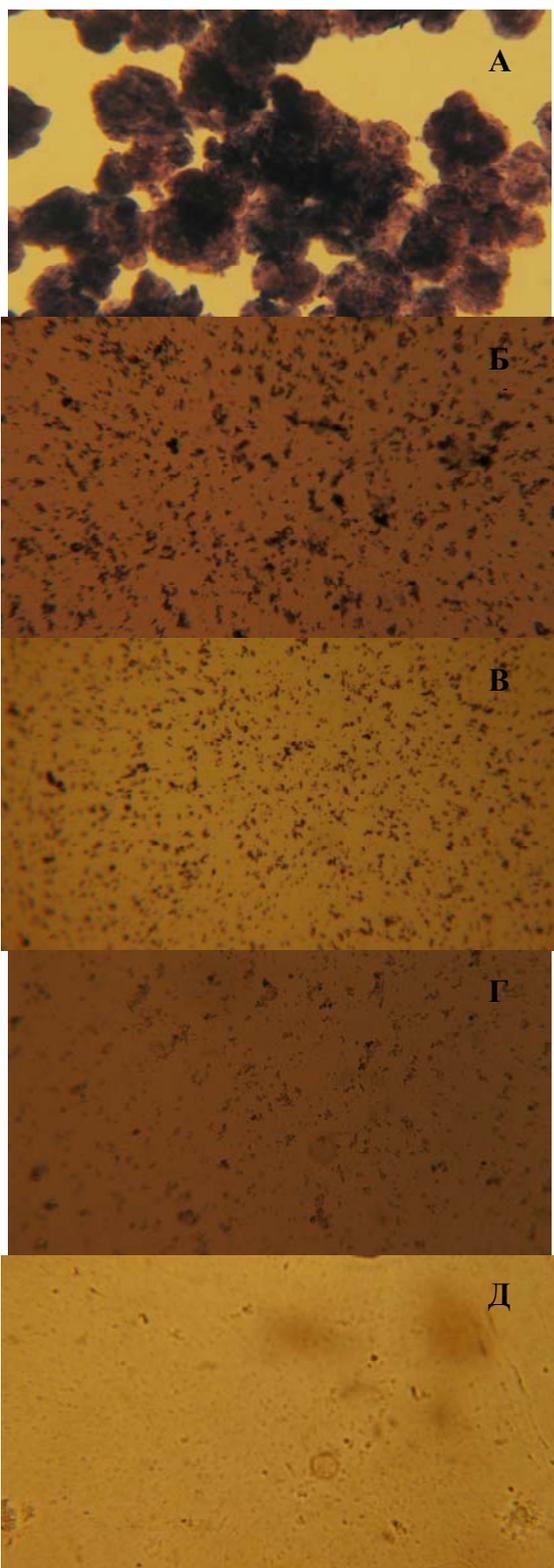
В процессе исследования морфологических свойств кукурузного нативного и ферментно-обработанных крахмалов были выявлены следующие закономерности.

При микроскопическом исследовании выявлено, что нативный крахмал представлял собой крупные гранулы, склеенные в конгломераты (рис. 1). В результате обработки крахмалов амилазой *Bacillus licheniformis* можно заметить деградацию зерен крахмала, вызванную действием амилолитического фермента. Уже после одночасовой ферментации значительно уменьшились размеры гранул, они представляли собой небольшие частицы, собранные в конгломераты от 2 до 10 частиц, равномерно распределенные по всей площади.

При увеличении времени ферментации от двух до четырех часов наблюдалось логичное снижение размеров крахмальных частиц. Кроме того, было замечено, что после двух часовой экспозиции уменьшилось количество частиц, собранных в группы. Трехчасовая обработка приводила к неравномерности распределения гранул крахмала, в том числе в конгломератах. Морфологические исследования четырехчасового крахмала (В1-4) свидетельствовали о прохождении глубокого гидролиза, о чем свидетельствуют полупрозрачные крахмальные зерна, и потеря у них способности окрашиваться раствором Люголя.

Полученные результаты исследований влияния обработки амилазой *Bacillus licheniformis* на морфологические свойства кукурузного крахмала показали, что с увеличением времени экспозиции крахмального раствора с ферментом происходит интенсивное разрушение крахмальных зерен, что связано с первоначальным интенсивным гидролизом в аморфной зоне, о чем свидетельствует повышение доли амилозы после одночасовой экспозиции.

Ранее нами было показано, что крахмал, прошедший одночасовую обработку амилазным препаратом *Bacillus licheniformis*, имеет меньшую вязкость, при этом наблюдается снижение устойчивости к физико-химическим факторам [7].



**Рис. 1 – Влияние на морфологию кукурузных крахмалов обработки амилазой *Bacillus licheniformis* (А-нативный, Б – VI-1, В - VI-2, Г - VI-3, Д - VI-4)**

Таким образом, полученные результаты по исследованию влияния обработки амилазой *Bacillus licheniformis* на морфологические свойства кукурузного крахмала показали, что изменения размеров зерен влияют на свойства кукурузного крахмала. С увеличением времени обработки крахмала понижалась его вязкость из-за деструкции гранул в результате действия фермента. Кратковременное воздействие фермента привело к незначительному увеличению содержания амилозы, что может быть связано с отщеплением от амилопектиновой фракции линейных фрагментов. Увеличение времени воздействия приводит к дальнейшему гидролизу как амилозной, так и амилопектиновой фракции, о чем свидетельствует значительное уменьшение размеров крахмальных зерен.

С понижением значений вязкости и процентного количества амилозы постепенно увеличивается эмульгирующая активность ферментированного кукурузного крахмала. Это объясняется повышением способности формировать мицеллы за счет образовавшихся в процессе частичного гидролиза короткоцепочечных фрагментов крахмала. Высокая эмульгирующая активность в совокупности с низкой вязкостью делает перспективным применением таких крахмалов в технологии продуктов на основе белково-жировых эмульсий, например кисломолочных напитков.

### Литература

1. Molenda M., Stasiak M., Fornal J., Błaszczak W., Ornowski A. // Polish J. Food and Nutrition sciences. 2, 161–168 (2006).
2. Stasiak M., Molenda M. // Acta Agrophysica., 4, 2, 557–564. (2004).
3. Juszczak L., Fortuna T., Krok F., // Starch – Stärke, 55, 1–7, (2003).
4. Walkowski A., Fornal J., Lewandowicz G., Sadowska J. // Pol. J. Food Nutr. Sci. 2, 11–22 (1997)
5. Knowlton T. M., Carson J. W., Klinzing G. E., Yang W.-C. // Chem. Engin. Progress. 90, 44–54 (1994)
6. [http://www.sergey-osetrov.narod.ru/Raw\\_material/Structure\\_characteristic\\_categorization\\_starch.htm](http://www.sergey-osetrov.narod.ru/Raw_material/Structure_characteristic_categorization_starch.htm)
7. Никитина Е.В., Захарова С.В., Алимова Ф.К., Морозова Ю.А. // Вестник Казанского технологического университета, 16, 5. 150-152. (2013).