

УДК 664

Е. В. Никитина, Л. З. Габдукаева, Р. А. Губайдуллин

ВЛИЯНИЕ ОБРАБОТКИ АЛЬФА- ИЛИ БЕТА АМИЛАЗАМИ НА ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КАРТОФЕЛЬНОГО КРАХМАЛА

Ключевые слова: ферментированный крахмал, физико-химические свойства, световая микроскопия.

Картофельный крахмал после ферментации альфа или бета амилазой в течение 8 часов приобрел новые свойства. Ферментированные крахмалы имеют меньшую вязкость, но большую эмульгирующую активность, а также превосходили нативный крахмал по количеству амилозы. α -Амилазный и β -амилазный образцы, обработанные в течение 8 часов, имеют четко выраженные границы их гранул, крахмальные зерна крупные большинство из них имеет правильную форму в отличие от нативного крахмала.

Keywords: fermented starch, physical and chemical properties, light microscopy.

The potato starch acquired new properties after α - or β -amylases fermentation for 8 hours. The fermented starches have a lower viscosity, but more emulsifying activity, and were superior to the amylose concentration of native starch. α -Amylase and β -amylase treated samples within 8 hours have distinct boundaries of granules, large starch granules, the majority of which has a regular shape in contrast to native starch.

Введение

Народнохозяйственное значение крахмалопаточной промышленности определяется весьма разнообразным и постоянно расширяющимся спектром использования крахмала и продуктов на его основе. В настоящее время крахмалопродукты широко востребованы в различных отраслях промышленности - от кондитерского производства до нефтебурения. С появлением новых видов крахмалов области их применения постоянно расширяются, и потребность в них стабильно растёт.

Лёгкая изменяемость свойств крахмала при его обработке позволяет получить сотни разнообразных по структуре, составу и свойствам видов модифицированного крахмала, успешно используемых как в производстве продуктов питания, так и в непищевых отраслях.

Ферментативная модификация крахмала в промышленных масштабах в основном базируется на использовании крахмал-гидролизующих ферментов например, амилаза, пуллулаза и глюкоамилазы [1].

После нагревания крахмала для растворения его в воде, он гидролизуетсся с использованием кислоты или ферменты до мальтодекстринов, мальтозы, и глюкозы. Ферменты гидролизуют - 1,4- или-1, 6 - гликозидной связи в амилозе и амилопектине, при этом первыми разрываются гликозидные связи, с использованием молекулы воды в качестве акцептора. Во-вторых, относительно малоизученных группы ферментов активны в отношении крахмалов, которые изменяют крахмала с помощью реакции трансферазы. Эти ферменты также сначала разорвают гликозидные связи, но вместо воды они используют другой олигосахарид как акцептор и формируют новые гликозидные связи. Эта новая связь может быть либо внутримолекулярные, реакции катализируется ферментом циклодекстрин гликозилтрансферазы, или межмолекулярных, например, катализируемых амиломальтаза или глюкан-разветвляющего фермента [2].

В последнее время растёт интерес к модификации крахмалов с помощью ферментов различного происхождения: бактериального [3, 4] и микромицетного [5, 6]. Направленный ферментативный частичный гидролиз нативных крахмалов может позволить получать безопасный и дешёвый модифицированный крахмал. Для получения крахмала с заданными свойствами необходим тщательный отбор ферментов с необходимой активностью и изучение характера влияния ферментов на изменение технологически значимых параметров.

Целью нашего исследования было охарактеризовать характер влияния коммерческих альфа- и бета-амилаз на картофельный крахмал в зависимости от времени воздействия.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования выступали картофельные крахмалы: нативный (ГОСТ Р 52791-2007), и ферментативно модифицированные. Крахмалы, полученные под действием α -амилазы, были названы α -8 и α -12 (время ферментации 8 и 12 ч), крахмалы, модифицированные β -амилазой, названы β -8 и β -12 (время ферментации 8 и 12 ч).

Ферментированные крахмалы получали с применением ферментов коммерческого производства α -амилазу (type II-A: из *Bacillus* sp) и β -амилазу (получена из ячменя), ферменты кристаллизованы и лиофильно высушены. Механизм действия α -амилазы: гидролизует внутренние α -1,4-гликозидные связи крахмала, в среде накапливается глюкоза, в меньшей степени мальтоза и декстрины. Механизм действия β -амилазы: гидролизует внешние 1,4-гликозидные связи крахмала, в среде накапливается мальтоза, в меньшей степени глюкоза и декстрины.

Модификацию осуществляли в дистиллированной воде при pH=7,5 в течение 8 или 12 часов.

Концентрация крахмала в реакционной смеси 30 г/100 мл, концентрация ферментов коммерческих α - и β -амилаз 0,02 мг%/г крахмала.

Реакцию гидролиза останавливали путем добавления концентрированной серной кислоты до pH=2. Затем крахмал отделяли от жидкости фильтрованием и высушивали при 40 °С. Полученные крахмалы применяли для исследований.

Для микроскопирования использовали предварительно выдержанные при 60 °С в течение 10 мин 5% растворы крахмалов, которые окрашивали раствором Люголя (I2/KI раствор; 1:2 w/w). Немедленно просматривали под световым микроскопом в поляризованном свете Axio Imager в комплекте с видео камерой. Для просмотра использовали увеличение в 400 раз.

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. Отобрали 5 мл каждого образца крахмального клейстера и измерили массу на аналитических весах, затем на вискозиметре замеряли время истечения крахмального клейстера. Расчет производили по общепринятой формуле

Определение эмульгирующей активности. Для определения эмульгирующей активности смешивали 0,5 мл подсолнечного масла, 1,5 мл исследуемого образца 1% крахмального клейстера и встряхивали на шейкере 2 минуты. После этого берут 0,5 мл перемешанной эмульсии со дна и смешивают с 4,5 раствором 0,1% SDS (додецил сульфат натрия), проводят измерением при 500 нм [7].

Определение количества амилозы. Реактивы: А – КJ – 20 г и 2 г J2 растворяют в 100 мл дистиллированной воды (сначала растворяют в минимальном количестве этилового спирта). В – 10 мл раствора А разводят водой до 100 мл в мерной колбе.

Для определения содержания амилозы 20 мг крахмала смешивают с 10 мл 0,5 Н КОН (28,055 г/л) в мерной колбе и перемешивают на магнитной мешалке 5 мин, затем доводят до 100 мл дистиллированной водой. От этого объема отбирают 10 мл и смешивают с 5 мл 1Н HCl (8,17 мл концентрированной HCl доведенный до 100 мл) и 0,5 мл йодного раствора В и доводят дистиллированной водой до 50 мл. В течение 5 минут измеряют при 625 нм.

Расчет процентного количества амилозы вычисляем по формуле:

$$Y = 85,24 \times X - 13,19,$$

где X – это величина поглощения при 625 нм [8].

Результаты исследований и обсуждение

С целью выявления картофельного крахмала наиболее перспективного для применения по своим физико-химическим свойствам в мясной отрасли, в том числе для производства мясных рубленых изделий, был проведен сравнительный анализ крахмалов полученных в лабораторных условиях после биологической модификации разными ферментами.

Известно, что вязкость возрастает экспоненциально с увеличением длины цепи, и наоборот (табл.

1). Так наибольшей вязкостью обладают нативный крахмал – 28 единиц. В случае биомодифицированных крахмалов наблюдали зависимость, по мере гидролиза гидроколлоида происходило уменьшение вязкости крахмального клейстера (табл. 1), причем применение α -амилазы приводило к более медленному снижению вязкости. Таким образом, биологическая модификация может приводить к снижению температуры желирования, пастообразования и биодоступности в результате уменьшения крахмальных зерен.

Таблица 1 - Значения эмульгирующей активности и вязкости ферментированных крахмалов в сравнении с нативным картофельным крахмалом

Вид крахмала	Вязкость, Т	Содержание амилозы, %	Эмульгирующая активность, 500 нм
Нативный	28,07	16,63	0,233
Ферментированные крахмалы			
α -амилазный-8	9,74	16,63	0,254
β -амилазный-8	7,96	19,24	0,323
α -амилазный - 12	1,785	0,61	0,208
β -амилазный-12	1,452	0,005	0,202

Одним из важных функциональных показателей, которые необходимо учитывать и улучшать в модифицированных крахмалах в целях использования в изделиях с высоким содержанием жира, является эмульгирующая активность. Для гидроколлоидов углеводного ряда не характерна высокая эмульгирующая активность. Однако даже незначительное увеличение способности образовывать эмульсии будет положительно сказываться на технологических свойствах крахмалов. Наибольшая эмульгирующая активность была обнаружена у β -амилазного-8 и α -амилазного-8 крахмалов, характеризующиеся меньшей вязкостью, чем нативный.

Физические свойства крахмалов напрямую зависят от содержания в них амилозы и амилопектина. Доля амилозной фракции после воздействия в течение 8 ч амилазами увеличивалась по сравнению с нативным, однако, увеличение времени обработки до 12 часов (α -амилазный-12, β -амилазный-12 крахмалы) привело к снижению доли амилозной фракции до менее 1 %.

Морфологические свойства крахмальных гранул определяют устойчивость крахмальных суспензий, адсорбционные свойства крахмала, интенсивности набухаемости в воде, клейстеризации и декстринизации.

α -Амилазный и β -амилазный образцы, обработанные в течение 8 часов, имеют четко выраженные границы их гранул, крахмальные зерна крупные большинство из них имеет правильную форму. В то время как нативный крахмал не имел такой яркой картины, края его гранул имеют аморфную структуру, да и размеры гранул значительно меньше (рис. 1).

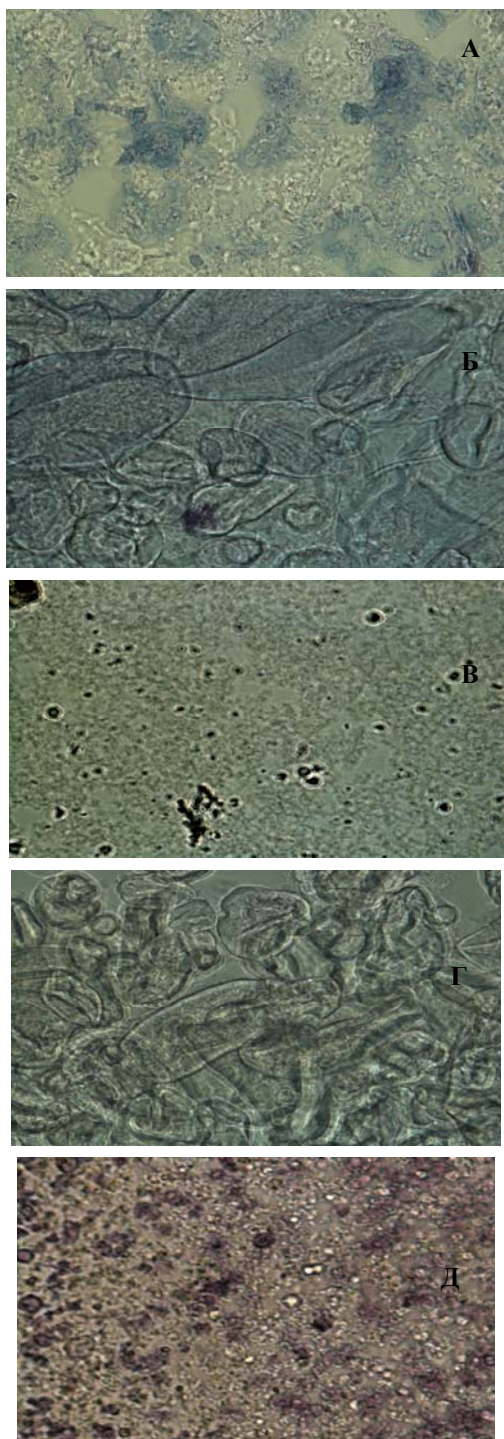


Рис. 1 - Морфологические свойства ферментированных крахмалов: А – нативный, Б – α -амилазный-8, В – α -амилазный-12, Г – β -амилазный-8, Д – β -амилазный-12 (увел. 400 раз)

Увеличение времени обработки крахмалов ферментами ведет к уменьшению размеров гранул и утрате четких границ. Стоит также отметить большую гетерогенность в размерах крахмальных зерен у β -амилазного-12 крахмала по сравнению с α -амилазным-8 крахмалом.

Таким образом, в исследованиях выявлена зависимость проявляемых крахмалами свойств от времени и типа фермента, применяемого для обработки картофельного крахмала.

Настоящими исследованиями показана разница в некоторых функционально-технологических, морфологических свойствах картофельных крахмалов, полученных с применением α -амилазы и β -амилазы, выявлена зависимость изменения исследуемых свойств в зависимости от времени обработки. Сравнение различных свойств экспериментальных ферментированных крахмалов с известными модифицированными образцами полисахарида, проведенные ранее [9, 10] показало, что по содержанию амилозы, эмульгирующей активности ферментированные картофельные крахмалы не уступают, а даже в ряде случаев и превосходят их.

При существующей гипотезе, согласно которой соотношение амилозы и амилопектина является доминантой в проявлении резистентности крахмала, ферментированные крахмалы с повышенным содержанием амилозы можно рассматривать как потенциальные резистентные крахмалы. Повышенное содержание амилозы в крахмале способствует увеличению содержания доли резистентной фракции [11].

Таким образом, показана перспективность применения ферментной обработки картофельного крахмала для получения полисахаридного продукта с необходимыми технологическими свойствами для определенной промышленности.

Литература

1. M. J. E. C. van der Maarel, B. A. van der Veen, J. C. M. Uitdehaag, H. Leemhuis, L. Dijkhuizen: *J. Biotechnol.* 94, 137–155, (2002).
2. M. J. E. C. van der Maarel, I. Capron, G.-J. W. Euverink, H. Th. Bos, T. Kaper, D. J. Binnema, P.A.M. Steeneken. *Starch*, 57, 465–472, (2005).
3. Ma Y., C. Cai, J. Wang, D.-W. Sun // *J. Food Engineering*. 73(3), 297–303 (2006).
4. Mohana B.H. B.H. Mohana, A. Gopala, N.G. Malleshia, R.N. Tharanathan *Carbohydrate Polymers* 59, 43–50 (2005).
5. Yadav, B.S., Sharma, A. Yadav, R.B. 3(1), 21–27 (2007).
6. Wong C.W., S.K.S. Muhammad, M.H. Dzulkifly, N. Saari, H.M. Ghazali *Food Chemistry*. 100, 774–780 (2007).
7. Kato A., K. Minaki, K. Kobayashi, *J. Agric. Chem*, 41, 540–543 (1993).
8. Williams PC, Kuzina FD and Hlynka I, A. *Cereal Chem* 47, 411–420 (1970).
9. Никитина Е.В., Габдукаева Л.З. *Вестник Казанского технологического университета*, Т.15 (11), С.228–230 (2012).
10. Никитина Е.В., Габдукаева Л.З., *Вестник Казанского технологического университета*, Т.15 (11), С.220–223 (2012).
11. Ferling R. C., Delcour J. A. *J. Cereal Sci.*, 22, 129 – 138 (1994)