

Е. В. Никитина, С. В. Захарова, Ф. К. Алимова,
Ю. А. Морозова

ИЗУЧЕНИЕ КУКУРУЗНОГО КРАХМАЛА ФЕРМЕНТИРОВАННОГО АМИЛАЗОЙ BACILLUS LICHINEMORMIS

Ключевые слова: ферментированный кукурузный крахмал, физико-химическая резистентность.

Был проведен сравнительный анализ модифицированных кукурузных крахмалов (ферментированные амилазой Bacillus licheniformis в течение от одного до четырех часов) с нативным по устойчивости к минеральным кислотам, повышенной температуре и показателям вязкости. По сравнению с нативным биомодифицированный крахмал, прошедший уже одночасовую обработку амилазным препаратом Bacillus licheniformis, имеет меньшую вязкость, при этом наблюдается снижение устойчивости к физико-химическим факторам.

Keywords: fermented corn starch, physical and chemical resistance.

A comparative analysis of modified corn starch (fermented Bacillus licheniformis amylase within one to four hours) with the native of resistance to mineral acids, high temperatures and viscosities was carried out. One-hour-fermented of amylase Bacillus licheniformis corn starch has a lower viscosity compared to the native starch, while a decrease in resistance to physical and chemical factors.

Введение

В современной пищевой промышленности используется ряд функциональных пищевых добавок, в том числе и модифицированные крахмалы, обладающих высокой влагоудерживающей способностью и придающих конечному продукту желаемую текстуру и консистенцию. Каждая из пищевых добавок обладает определенными преимуществами и недостатками, знание которых позволяет достигать максимального результата при использовании этих добавок в конкретных технологических условиях [1, 2].

Крахмал является стратегическим сырьем, превосходящим по своему промышленному значению нефть. Он широко используется в пищевой промышленности, входя в состав более семи тысяч продуктов, в целлюлозно-бумажной, нефтеперерабатывающей, текстильной, сталелитейной, фармацевтической и ряда других отраслей. Следует отметить, что сферы применения крахмалов постоянно расширяются. Так, например, на основе крахмалов можно получать кровезаменители, которые индифферентны к группе крови человека. Последние достижения по использованию крахмалопродуктов – это получение на их основе биоразлагаемых полимеров [3].

Первое место по объемам производимого крахмала принадлежит кукурузному крахмалу, который занимает около 74% всего рынка крахмалов [4]. Наряду с крахмалом из обычной кукурузы, существует амилопектиновый крахмал восковидной кукурузы, который отличается высокой устойчивостью своего вязкого клейстера в условиях низких и высоких температур, при завышенной кислотности и механических воздействиях, при замораживании-оттаивании и может широко использоваться вместо дорогого картофельного крахмала в самых различных модификациях в пищевой и фармацевтической промышленности [5,6]. Кроме кукурузного крахмала на рынке присутствуют тапиоковый (маниоковый), картофельный и пшеничный крахмалы, на долю каждого из них приходится 3–5% [7]. В Юго-Восточной Азии также выпускается

незначительное количество рисового крахмала, который занимает менее 1% рынка крахмала. Ржаной, сорговый, ячменный и гороховый крахмалы на рынке отсутствуют. Это обусловлено многими причинами: агрономическими, техническими, экономическими и даже политическими [8].

Для увеличения ассортимента крахмалопродуктов, в частности модифицированных крахмалов и сахаристых продуктов проведены исследования по изучению действия известных на рынке РФ препаратов амилолитических ферментов (альфа-амилазы, бета-амилазы и глюкоамилазы) на нативный кукурузный крахмал в водной среде при температуре ниже начальной точки клейстеризации крахмала. В опытах варьировали дозировку препаратов и продолжительность инкубации смеси суспензии крахмала концентрацией 35 % сухих веществ (СВ) с ферментами в термостатируемом резервуаре с постоянным перемешиванием при температуре 50°С оптимальной для каждого препарата величине рН суспензии. Действие ферментов характеризовали содержанием растворимых СВ, в том числе углеводов, в субстрате и изучением вида зёрен крахмала на световом электронном микроскопе. Динамика накопления растворимых СВ и углеводов в процессе ферментативного гидролиза нативного кукурузного крахмала была аналогичной. Следовательно, оба показателя можно использовать для контроля степени гидролиза. Бактериальная альфа-амилаза из *Bacillus subtilis* (препарат ВВАН480L) при недостаточной высокой температуре опыта для этого препарата (50 °С) практически не растворяет цельные зёрна крахмала, но может действовать на повреждённые зёрна; солодовая бета-амилаза в композиции с грибной альфа-амилазой (*Spezyme DBA*) оказывает заметное действие на нативный крахмал при значительных дозировках (2,0 % к СВ и выше); глюкоамилаза (производитель - *Aspergillus niger*) в композиции с грибной альфа-амилазой (производитель - *Asp. oryzae*) гидролизует нативный кукурузный крахмал с наибольшей

активностью при экономически приемлемых дозировках (от 0,1 до 0,5% к СВ крахмала) [9].

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: BI-1, BI-2, BI-3 и BI-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 концентрированной 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 отобраны 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. Отобраны 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 устойчивости крахмалов к кислотному гидролизу. Для определения устойчивости к кислотному гидролизу использовали 10 мл 1% крахмального клейстера с добавлением 1 мл концентрированной серной кислоты. Смесь инкубировали при 37°С, отбирали пробы на для определения содержания глюкозы в течение 1 ч.

Исследование термостабильности крахмалов. Для определения термостабильности крахмальных клейстеров (1% растворы) их подвергали обработке при 80, 100 и 150 °С в течении 30 мин. По окончании 30 мин растворы анализировали содержание глюкозы.

Во всех случаях определение количества выделенной глюкозы проводили антроновым методом [10].

Результаты исследований и обсуждение

В результате ферментной обработки показатель вязкости крахмальных клейстеров уменьшился (рис. 1). Причем, наибольшее снижение вязкости наблюдали уже после одночасовой экспозиции крахмального раствора с ферментом. Увеличение времени обработки приводило к дальнейшему снижению этого показателя, но с меньшей скоростью.

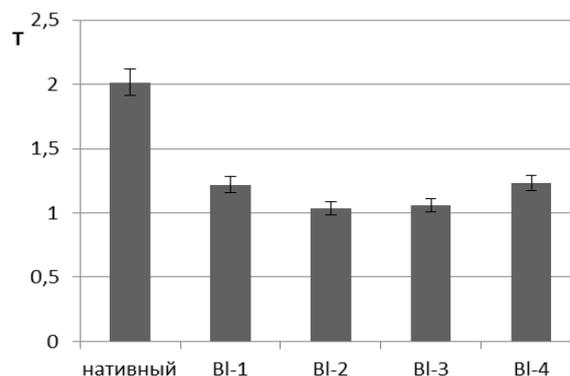


Рис. 1 – Влияние на вязкость времени ферментации кукурузных крахмалов амилазой

После получения ферментно-обработанных крахмалов была изучена их устойчивость к физико-химическим факторам.

Исследования устойчивости кукурузных крахмалов к действию минеральных кислот показало большую резистентность крахмалов, прошедших обработку 2-3 часа. С увеличением времени ферментной обработки до 4 ч устойчивость крахмалов снижалась, то есть накапливалось наибольшее количество глюкозы (рис.2). В всех случаях нативный кукурузный крахмал более устойчив к действию серной кислоты, чем ферментированные крахмалы. Видимо, этот эффект объясняется высокой степенью гидролиза крахмального зерна под действием ферментации с амилазой *B. licheniformis*.

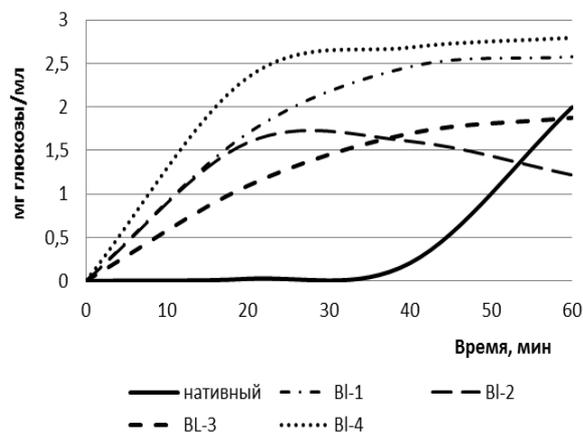


Рис. 2 – Устойчивость ферментированных кукурузных крахмалов к действию кислоты

Во многих технологических процессах большое значение имеет поведение крахмала в процессе нагревания. В связи с этим была проведена проверка терморезистентности кукурузных крахмалов. Наименьшая устойчивость к нагреванию при 80 °С, была выявлена у образцов крахмальных клейстеров прошедших двух-часовую ферментную обработку (рис. 3), остальные крахмалы были устойчивы к этому температурному воздействию. Обработка при 100 °С повлекла за собой наибольшее выделение глюкозы из крахмалов BI-2, что может свидетельствовать о высокой степени набухания крах-

мальных гранул именно при этой температуре и разрыве связей с выделением моносахаридов. Что касается остальных образцов, то выделение глюкозы при 100 °С было значительно больше, чем при 80 °С, что говорит о активных процессах разрушения связей между моносахаридами при более высокой температуре.

Критическое увеличение температуры обработки до 150 °С привело увеличению выделения глюкозы из крахмалов, прошедших одно- и трехчасовую обработку. Наибольшая устойчивость к воздействию высокой температуры наблюдалась в случае крахмалов, прошедших двух- и четырех часовую ферментацию амилазой. Степень устойчивости кукурузного крахмального зерна к воздействию высоких температур, видимо зависит от стадии частичного гидролиза полисахарида.

Таким образом, с увеличением температуры кукурузные ферментно-модифицированные крахмалы становятся неустойчивыми, что скорее обусловлено высокой степенью гидролиза, обусловленного действием высоко активной амилазой *B. licheniformis*.

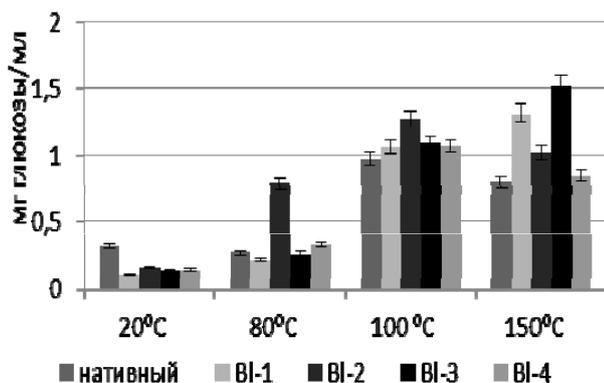


Рис. 3 – Увеличение количества глюкозы после термообработки крахмальных клейстеров

Полученные результаты исследования комплексной устойчивости модифицированных крахмалов к физико-химическим факторам показали, что по сравнению с нативным биомодифицированный крахмал, прошедший одночасовую обработку амилазным пре-

паратом *Bacillus licheniformis*, имеет меньшую вязкость, при этом наблюдается снижение устойчивости к физико-химическим факторам. В случае кукурузного крахмала уже модификации в течении 1 ч приводит к фатальным последствиям, тогда как в случае пшеничного крахмала только 2 часовая ферментация приводит к аналогичным последствиям [11]. Известно, что размер крахмального зерна кукурузы меньше размера зерен пшеницы, что может быть причиной более интенсивного разрушения крахмальных гранул за тот же период времени. Используемый фермент имеет высокую активность, поэтому будет целесообразно для получения крахмалов с измененными свойствами применять его в более низкой концентрации, что позволит лучше контролировать изменения крахмального зерна.

Литература

1. А.П. Нечаев, А.А. Кочеткова, А.Н. Зайцев. Пищевые добавки, Колос-ПрессМосква, 2002, 256 с.
2. СанПиН 2.3.2.1293-03. Гигиенические требования по применению пищевых добавок. М.: Минздрав России, 2003, 32 с.
3. Kawaljit Singh Sandhu, Narpinder Singh // Food Chemistry 101, 1499–1507 (2007)
4. W.-Y. Kuo, H.-M. Lai, Food Chemistry 69, 544–553 (2007)
5. Li, J. Y., & Yeh, A. I., J. of Texture Studies, 33, 341–366 (2002).
6. M. M. Karaoglu, H. G. Kotancilar, I. Çelik. Food Engineering, 53,162-169 (2001)
7. А. М. Попов, А. Н. Пирогов, Е. И. Шилов., Процессы и аппараты пищевых производств. 2, 172-178 (2011).
8. Z. Chen, H.A. Schols, A. G. J. Voragen. J. Food Science, 68, 1584–1589 (2003).
9. Аксёнов В.В. , Максименко А.В. , Фёдорова Е.А., Вестник Красноярского государственного аграрного университета 5, 217-220 (2011).
10. Е.В. Никитина, Л.З. Габдукаева. Вестник Казанского технологического университета, 19, 154-161 (2011).
11. Е. В. Никитина, З. В. Галимова, Н. Н. Абдуллина, Ф. К. Алимова, Ю. А. Морозова Вестник Казанского технологического университета, 2, 139-141 (2013).

© Е. В. Никитина – к.б.н., доц. каф. технологии пищевых производств КНИТУ, НОЦ «Фармацевтика» К(П)ФУ, ev-nikitina@inbox.ru; С. В. Захарова – студ. КНИТУ; Ф. К. Алимова – д.б.н., проф., зав. каф. биохимии К(П)ФУ; Ю. А. Морозова - магистр, мл. науч. сотр. каф. биохимии К(П)ФУ.