УДК 664.231 : 547.458.613

А. Ш. Закирова, А. В. Канарский, З. А. Канарская

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ МОДИФИКАЦИЯ АМИЛОПЕКТИНА

Ключевые слова: амилопектин кукурузного крахмала, ферментативная модификация, биопленки, физико-механические свойства.

Показано влияние ферментативной обработки амилопектина кукурузного крахмала пуллуланазой на физико-механические свойства биопленок. Установлено, что ферментативная модификация амилопектина кукурузного крахмала позволяет увеличить механическую прочность биопленок и регулировать реологические свойства биоплененочных материалов.

Keywords: corn starch, amylopectin, enzymatic modification, biofilm, mechanical properties.

Shows the effect of the enzymatic treatment of corn starch amylopectin of pullulanase on the physico-mechanical properties of biofilms. Found that enzymatic modification of the amylopectin corn starch can increase the mechanical strength and handling biofilms rheological properties of materials bioplenonochnyh.

Актуальность. В настоящее время наблюдается тенденция получения упаковочных материалов для пищевых продуктов на основе только биополимеров, выделенных из растительного сырья [1, 2, 3]. Среди биополимеров возобновляемым ресурсом является крахмал, в состав которого входит амилопектин и амилоза [4, 5, 6, 7, 8].

Два главных компонентов крахмала - амилоза и амилопектин, содержат α-D-глюкозу, соединенные в линейные цепи α - 1,4 – D - глюкозидными связями с точками ответвления через α -1,6 – D - глюкозидные связи.

Молекулы амилозы, будучи линейными, легче выстраиваются в ряд, образуя больше водородных связей. Следовательно, требуется больше энергии для разрыва этих связей и желатинизации такого крахмала. Обычно, чем больше содержание амилозы, тем выше температура желатинизации крахмала. Амилоза вносит основной вклад в прочность гелей крахмала, тогда как от содержания амилопектина зависит вязкость крахмала. Таким образом, крахмал с высоким содержанием амилозы проявляет желирующие свойства, а крахмал, состоящий в основном из амилопектина, демонстрирует высокую вязкость.

Линейные молекулы амилозы в растворе располагаются одна вдоль другой, образуя множество водородных связей и давая прочные гели крахмала. Разветвлённые молекулы амилопектина неспособны выстраиваться подобным образом, водородные связи значительно слабее, поэтому гели крахмала, содержащие преимущественно амилопектин, гораздо менее прочны. С другой стороны, вязкость крахмала исключительно функция молекулярной массы молекул.

Амилопектин с разветвлённой структурой имеет больший размер молекул, чем амилоза. Следовательно, амилопектин вносит больший вклад в увеличение вязкости крахмала, чем амилоза. Кроме того, линейные молекулы амилозы склонны к образованию упорядоченных структур (рекристаллизация или ретроградация), при этом происходит уплотнение и расслоение первоначально однородного геля крахмала. Разветвлённые молекулы амилопектина образуют пространственные затруднения, препятствующие ретроградации крахмала. Более длинные молекулы амилозы придают крахмальным продуктам тягучую текстуру за счет их взаимодействия.

Молекулярная масса амилозы влияет также на эластичность геля крахмала. Более длинные молекулы имеют тенденцию крепче связываться и образуют более прочные хрупкие гели крахмала. Чем длиннее молекулы амилозы, тем сильнее склонность гелей крахмала к ретроградации. Этот эффект наблюдается и при удлинении боковых цепей в молекулах амилопектина [9, 10, 11, 12, 13, 14].

Известно, что амилоза используется для получения достаточно прочных пленочных материалов методом термопрессования. Амилопектин - разветвленный биополимер и биопленочные материалы на основе амилопектина уступают по физико-механическим свойствам материалам из амилозы.

В этой связи перспективны технологии, предусматривающие модификацию амилопектина с превращением его в линейные полимеры и последующее изготовление на их основе биопленочных материалов. В частности, для модификации амилопектина, возможно применение пуллуланазы, которая гидролизует α - 1,6 - связи в амилопектине с образованием линейных биополимеров [13].

Цель настоящей работы – изучение влияния ферментативной и тепловой обработки амилопектина кукурузного крахмала на физико-механические свойства биопленок.

Материалы и методы исследований

Характеристика используемых материалов. В исследованиях использовался амилопектин кукурузного крахмала и альгинат натрия, полученный из бурых водорослей. В качестве пластификатора применяли глицерин, концентрации - 85 %, молекулярной массы - 92,09 г/моль.

Ферментный препарат пуллуланаза OPTIMAX L-1000 (Genencor International, США) продуцент щелочной протеазы – *Bacillus licheniformis;* активность 1000 ASPU/g; внешний вид – жидкость; цвет – светло-коричневый; pH – 4,0 – 4,5 [15].

Биопленки изготовляли из амилопектина, обработанного двумя способами: тепловым и ферментативным.

Тепловая обработка амилопектина. Суспензию амилопектина концентрацией СВ 5 % клейстеризовали и выдерживали в термостате в течение 30 мин. при температуре 90 °С и 120 °С. Затем вносили альгинат натрия и глицерин в количестве 0,6 г на 1 г СВ. Гомогенизацию суспензии проводили на механической мешалки в течение 30 мин. После гомогенизации проводили деаэрацию смеси компонентов в течение 1 часа.

Ферментативная обработка амилопектина. Суспензию амилопектина концентрацией СВ 5 % клейстеризовали и выдерживали в термостате в течение 30 мин. при температуре 90 °С.

Затем раствор амилопектина охлаждали до температуры 60 °С и корректировали pH до 4,0 - 4,5. Количество фермента 5,9 мкл на 1 г крахмала. После добавления фермента, выдерживали в термостате при 60 °С в течение 2 часов при перемешивании. Затем добавляли альгинат натрия и глицерин в количестве 0,6 г на 1г СВ и гомогенизировали суспензию перемешиванием в течение получаса. После гомогенизации проводили деаэрацию смеси компонентов в течение 1 часа.

Формование биопленок. Из смеси компонентов формовали биопленки методом полива на пластинах из органического стекла размером 14 × 14 см. Биопленки сушили конвективно при температуре окружающей среды 22 - 25 °С.

Физико-механические испытания биопленок.. Прочностные характеристики биополимерных пленок определяли по ГОСТ [15] на лабораторном испытательном комплексе, включающем разрывную машину ТС 101 – 0,5 (г. Иваново) и ПЭВМ. Определение деформационных свойств материалов проводили по методикам, разработанным на кафедре технологии ЦБП САФУ, с получением индикаторной диаграммы «нагрузка – удлинение» и графики зависимости «напряжение-деформация». Математическую обработку результатов проводили по методике [16].

Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов показывает, что на физико-механические свойства биопленок влияет способ обработки амилопектина кукурузного крахмала и их состав. В общем случае введение в состав биопленок содержащих амилопектин кукурузного крахмала, обработанного тепловым способом, линейного полимера альгината натрия способствует увеличению значений всех показателей, характеризующих физико-механические свойства биопленок (таблица 1 и 2).

Таблица 1 – Физико-механические свойства биопленок на основе амилопектина кукурузного крахмала, обработанного при 90 ºС

Биополимеры	Содержание биополимеров, %				
Амилопектин	80	60	50	40	100
Альгинат натрия	20	40	50	60	-
Свойства биопленок					
Толщина, мкм	102	95	95	89	101
Масса, г/м^2	146,2	142,0	140,2	133,1	146,1
Разрушающее усилие, Н	3,51	9,91	13,02	14,54	7,52
Прочность при растяжении, МПа	2	7	9	11	5
Удлинение при разрушении, мм	11,4	17,69	16,95	16,43	13,67
Модуль упругости, МПа	79,4	26,88	138,7	-	358,2
Работа разрушения, мДж	33,62	151,65	170,57	197,51	77,85
Жесткость при изгибе мН·см	0,10	0,11	0,12	0,18	0,10
Нулевая разрывная длина, м	1063	1956	2396	2942	835

Таблица 2 - Состав и характеристика биопленок на основе амилопектина кукурузного крахмала, обработанного при 120 ºС

Биополимеры	Содержание биополимеров, %				
Амилопектин	80	60	50	40	100
Альгинат натрия	20	40	50	60	-
Свойства биопленок					
Толщина, мкм	118	117	108	102	116
Масса, г/м^2	160	158	152	144	152
Разрушающее усилие, Н	3,00	4,12	5,80	13,73	6,19
Прочность при растяжении, МПа	2	2	4	9	4
Удлинение при разрушении, мм	9,74	7,54	12,66	10,26	7,46
Модуль упругости, МПа	60,8	143,4	74,4	444,4	100,5
Работа разрушения, мДж	18,55	29,92	47,66	109,33	39,2
Жесткость при изгибе мН·см	0,11	0,23	0,41	1,09	0,24
Нулевая разрывная длина, м	739	861	1087	2097	924

Однако, повышение температуры обработки амилопектина кукурузного крахмала с 90 ºС до 120 ºС приводит к снижению прочностных характеристик биопленок. Такие показатели, как разрушающее усилие и прочность при растяжении снижаются. Также снижаются показатели удлинение при разрушении и работа, прилагаемая для разрушения биопленок, о чем можно судить по диаграммам напряжение-деформация на рисунках 1 и 2.

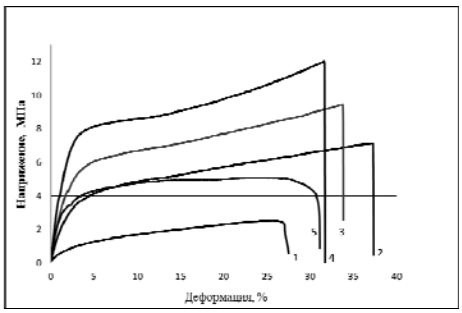

Рис. 1 - Диаграмма напряжение-деформация биопленок на основе амилопектина кукурузного крахмала, обработанного при 90 °С

В тоже время эти биопленки имеют выше значение показателя значения показателей модуль упругости и жесткости при изгибе, а также пониженные значения показателя нулевая разрывная длина. По значениям последних показателей и характеру разрушения биопленок, представленных на рисунках 1 и 3, можно сделать вывод о том, что повышение температуры обработки амилопектина кукурузного крахмала приводит к получению биопленок с различными по реологическими свойствами.

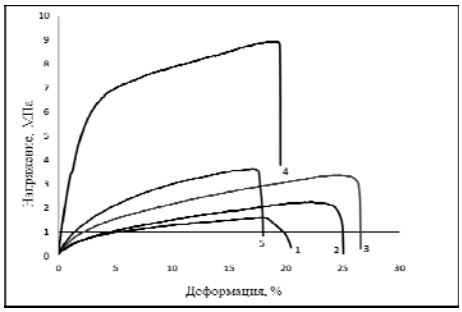

Рис. 2 - Диаграмма напряжение-деформация биопленок на основе амилопектина кукурузного крахмала, обработанного при 120 °С

Из таблицы 1 видно, толщина биопленок из чистого амилопектина 101 мкм. С добавлением в состав биопленки альгината натрия показатель толщины и масса биопленки уменьшаются. На рисунке 2 четко изображена разница между показателями прочности при разрыве биопленки из амилопектина и с добавлением альгината натрия. Прочность при разрыве биопленок увеличилась в 2 раза – 11 МПа.

Физико-механические свойства биопленок, в состав которых входит амилопектин кукурузного крахмала, обработанного ферментом пуллуланазой, представлены в таблице 3 и на рисунке 3.

По сравнению с тепловой обработкой амилопектина, обработка амилопектина кукурузного крахмала ферментным препаратом пуллуланазой способствует увеличению механической прочности биопленок. Показатели разрушающее усилие и прочность при разрыве возрастают. Биопленки имеют более низкое значение показателя жесткость при изгибе и достаточно высокое значение показателей модуля упругости и нулевая разрывная длина.

Таблица 3 - Состав и характеристика биопленок на основе амилопектина кукурузного крахмала, обработанного пулулланазой

Биополимеры	Содержание биополимеров, %			
Амилопектин	80	60	50	40
Альгинат натрия	20	40	50	60
Свойства биопленок				
Толщина, мкм	102	92	92	83
Масса, г/м^2	148	137	138	130
Разрушающее усилие, Н	9	15	13	14
Прочность при растяжении, МПа	6	11	10	15
Удлинение при разрушении, мм	25	10	15	10
Модуль упругости, МПа	75	404	216	770
Работа разрушения, мДж	150	146	126	101
Жесткость при изгибе мН·см	0,08	0,12	0,08	0,22
Нулевая разрывная длина, м	1149	2423	2103	2673

Следует отметить, что изменение показателя, отражающего работу при разрушении биопленок, имеет другую тенденцию. С увеличением содержания в пленках альгината натрия величины показателей работа разрушения и удлинение при разрушении снижается. Анализ диаграмм «напряжение – деформация» позволяет сделать вывод о том, что биопленки с высоким содержанием модифицированного ферментом амилопектина имеют несколько иные реологические свойства (рисунок 3).

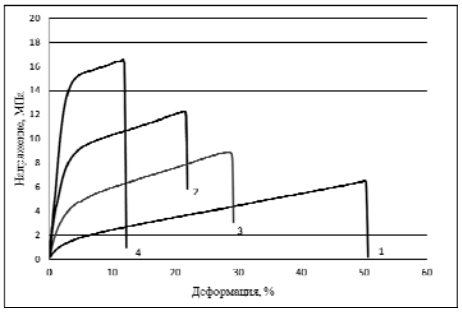

Рис. 3 - Диаграмма напряжение-деформация биопленок на основе амилопектина кукурузного крахмала, обработанного пулулланазой

Можно сказать, что обработка амилопектина кукурузного крахмала ферментным препаратом пуллуланаза позволяет получать биопленки с лучшими реологическими свойствами по сравнению с биопленками, в состав которых входит амилопектин кукурузного крахмала прошедший тепловую обработку.

Выводы

Полученные закономерности в изменении физико-механических свойств биопленок на основе амилопектина кукурузного крахмала, обработанного ферментным препаратом пуллуланазой, можно объяснить образованием из амилопектина линейных полимеров, которые способствуют улучшению механических и позволяют регулировать реологические свойства биопленоночных материалов.

Литература

1. Обзор рынка биопластиков: мировой опыт и перспективы российского рынка: отчет по маркетинговому исследованию, подготовлен компанией «Пульсар Венчур», 90с. (2011).
2. *В.А Фомин, В.В. Гузеев*. Пластические массы. №2. С. 42 - 48 (2001).
3. *М.С. Тесекеев, Л.М. Еремеева* Производство биополимеров как один из путей решения проблем экологии и АПК: Аналит. обзор. Алматы: НЦ НТИ, 200 с. (2009).
4. *Н.Р. Андреев* Основы производства нативных крахмалов. М.: Пищепромиздат, 289 с. (2001).
5. *Ягофаров Д.Ш., Канарский А.В., Сидоров Ю.Д.* Вестник Казанского технологического университета. Т.11. № 4. с. 193 - 201 (2011).
6. *Ягофаров Д.Ш., Закирова А.Ш., Канарский А.В., Сидоров Ю.Д.* Вестник Казанского технологического университета. Т.11. № 8. с. 193 - 198 (2011).
7. *Закирова А.Ш., Ягофаров Д.Ш., Канарский А.В., Сидоров Ю.Д.* Вестник Казанского технологического университета. Т.11. № 10. с. 195 - 199 (2011).
8. *А.Ш. Закирова, А.В. Канарский, Ю.Д. Сидоров,* Пищевая промышленность № 10. Москва, с. 18 - 19 (2012).
9. *M. Karlsson*, Starch in Processed Potatoes. Influence of the tuber structure, Thermal treatments an Amylose/Amylopectin ratio, doctoral thesis, Media – Tryck, Lund University, Lund, (2005).
10. *R. Hoover*, Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review// Carbohydrate polymers, 45, p.253 - 267. (2001).
11. *M.Yusuph, R. F.Tester, R. Ansell, C. E. Snape*, Composition and properties of starches extracted from tubers of different potato varieties grown under the same environmental conditions//Food Chem., 82, p.283 – 289. (2003).
12. *T. Noda, S. Takigawa, C. Matsuura-Endo, S. -J. Kim , N. Hashimoto, , H. Yamauchi, I. Hanashiro, Y. Takeda,* Physicochemical properties and amylopectin structures of large, small, and extremely small potato starch granules. Carbohydr. Polym., 60, p. 245–251. (2005).
13. *W. S. Ratnayake, D. S. Jackson,* A new insight into the gelatinization process of native starches// Carbohydr.Polym.,67,p.511–529. (2007).
14. *Y. Takeda, S.Shibahara, I.*Hanashiro, Examination of the structure of amylopectin molecules by fluorescent labeling// Carbohydr. Res., 338, p. 471–475. (2003).
15. Официальный сайт производителя и продажи энзимов //http://www.genencor.com
16. *В.И. Комаров, Я.В. Казаков.* Лесной вестник МГУЛ. №3 (12). С.52 - 62. (2000).

© **А. Ш. Закирова** – асп. каф. ПИМП, КНИТУ, aygulzakirova@mail.ru; **А. В. Канарский** – д-р техн. наук, профессор каф. пищевой биотехнологии КНИТУ, alb46@mail.ru; **З. А. Канарская** – канд. тех. наук, доц. той же кафедры, zosya_kanarskaya@mail.ru.