

Е. В. Никитина, Р. А. Губайдуллин

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ КАРТОФЕЛЬНЫХ КРАХМАЛОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ МУЛЬТИФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Ключевые слова: картофельный ферментированный крахмал, амилаза Bacillus licheniformis, амилосубтилин, резистентность.

Ферментированные картофельные крахмалы, полученные с помощью амилолитических препаратов амилосубтилина (амило) и Bacillus licheniformis (BL), в зависимости от времени модификации обладают различными свойствами. Большую резистентность к действию кислот проявили крахмалы, обработанные амилосубтилином в течении 4 ч, а обработанные амилазой Bacillus licheniformis – 8 ч. Ферментированные крахмалы BL оказались более устойчивыми, чем амило к температурам 80 и 100°С. Крахмалы полученные с помощью амилазы Bacillus licheniformis были более энзиморезистентны по сравнению с нативным и амило.

Keywords: potato fermented starches, Bacillus licheniformis amylase, amilosubtilin, resistance.

The fermented potato starches obtained by amylolytic preparations Amilosubtilin (amylo), and Bacillus licheniformis (BL), depending on modification time have different properties. Greater resistance to acids shown Amilosubtilin starches treated for 4 h, treated with amylase of Bacillus licheniformis - 8 h. The fermented BL starch were more resistant than amylo starches to temperatures of 80 and 100 °C. Starches obtained by Bacillus licheniformis amylase were more enzymesistance compared with native and amylo starches.

Введение

В качестве источника для получения модифицированных крахмалов используют картофельный крахмал, кроме того, применяются кукурузный, пшеничный, рисовый, тапиоковый и некоторые другие виды растительных крахмалов, которые в процессе получения модифицированных крахмалов проходят обработку физическими, химическими или энзиматическими способами. По изменениям, происходящим в нативных крахмалах, можно выделить пять основных модификаций: набухание, деполимеризация, окисление, стабилизация (без поперечного сшивания полимерных цепей), образование поперечно-сшитых крахмалов [1].

Для того чтобы получать продукты с заранее заданными свойствами, крахмалы подвергают различным химическим и физическим воздействиям (модификации). При этом молекулы крахмала могут либо не подвергаться воздействию с изменением морфологической структуры, либо претерпевают значительные химические изменения.

Но в любом случае модифицированные крахмалы сохраняют внешний вид, а также способность набухать и образовывать клейстер со свойствами гидрофильных зелей. Нативные и модифицированные крахмалы широко используются в пищевой промышленности для придания продукту необходимой вязкости и структуры [2; 3; 4; 5]. Они также могут влиять на ряд важнейших параметров конечного продукта, таких как выход, вкус, текстура, сроки хранения и др. [6].

Многочисленное промышленное и пищевое применение нативных крахмалов ограничены, из-за его тенденции к ретроградации и подверженности синерезису [7]. Кроме того, их нативная форма, гели или пасты из крахмалов хлебных злаков подобно восковому кукурузному крахмалу (с 99 % амилпектина) [8], имеют тенденцию к разрушению

при длительном нагревании, сильном перемешивании или в кислых условиях.

Однако, модифицированные крахмалы неидентичные по своему биологическому действию, особенно на растущий организм. В связи с этим Объединенный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам рекомендует по мере возможности исключать применение модифицированных крахмалов в качестве пищевой добавки в продуктах детского питания [9]. Однако если применение модифицированного крахмала все же становится необходимым, следует проявлять осторожность в выборе типа крахмала и его концентрации.

В связи с этим актуальным является получение крахмала с помощью безопасных ферментных препаратов, у которых были бы изменены свойства.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования выступали пшеничный крахмалы: нативный (ГОСТ Р 53501-2009) и ферментированные комплексным препаратом амилосубтилином и амилазой Bacillus licheniformis. Ферментацию проводили в течение от 4 до 8 часов, в зависимости от продолжительности ферментации биомодифицированные крахмалы были названы: амилосубт-4, амилосубт-6, амилосубт-8, а также В1-4, В1-6, В1-8, время ферментации 4,6 8 часов, соответственно.

Модификацию осуществляли в дистиллированной воде при pH=7,5 при 40 °С. 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, а амилосубтилина – 0,0067 г/г крахмала (0,201 г/100 мл реакционной смеси)

(расчетная амилазная активность амилосубтилина в этом случае составляла 8,3 U/г крахмала).

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, 5 мин.

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 обработки при 80, 100 и 150 °С в течении 30 мин. По окончании 30 мин растворы анализировали содержание глюкозы.

Исследования устойчивости к ферментному гидролизу проводили с помощью альфа-амилазы (типе П-А: из *Bacillus sp*), фермент кристаллизован и лиофильно высушен. Механизм действия альфа-амилазы: гидролизует внутренние альфа-1,4-гликозидные связи крахмала, в среде накапливается глюкоза, в меньшей степени мальтоза и декстрины. Определение устойчивости к ферменту амилотического ряда проводили в клейстерных растворах исследуемых крахмалов с добавлением ферментов в концентрации 0,1 мг%/г крахмала. Инкубировали смеси при 37 °С в течение 1 часа. В течение этого времени отбирали пробы для измерения глюкозы.

Во всех случая определение количества выделившейся глюкозы проводили антроновым методом [10].

Результаты исследований и обсуждение

О стабильности крахмалов к кислотному гидролизу судили по увеличению концентрации глюкозы в реакционной смеси под воздействием серной кислоты.

Картофельные крахмалы, обработанные амилосубтилином, по мере увеличения времени ферментации утрачивали устойчивость к серной кислоте, т.е. чем дольше идет обработка ферментами, тем выше концентрация глюкозы в растворе в тесте на кислоторезистентность (рис. 1). Этого нельзя сказать о крахмалах обработанных амилазой *V. licheniformis*, легче всего поддается кислотному гидролизу крахмал ферментативный в течение 4 часов, увеличение времени обработки повышало резистентность крахмалов.

Таким образом, сравнивая ферментированные образцы с нативным крахмалом, можно отметить, что наибольшей резистентностью обладали амилосубтилиновый-4 и BL-8 крахмалы, что может

быть связано со специфичностью действия этих ферментных препаратов.

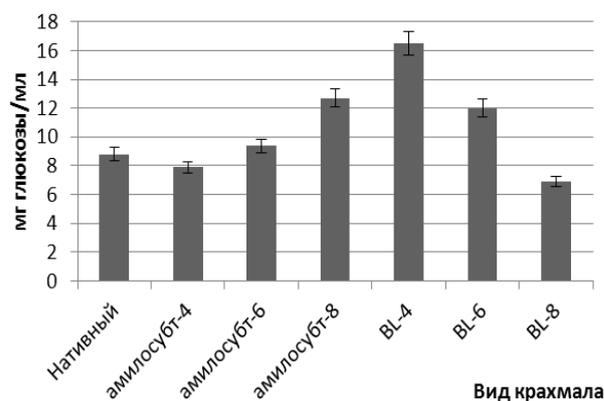


Рис. 1 – Количество накопившейся глюкозы в крахмальных клейстерах ферментированных картофельных крахмалов после кислотного гидролиза

Термостабильность крахмальных клейстеров измеряли по накоплению глюкозы как продукта разрушения полисахарида после термообработки при разных температурах. Крахмалы, обработанные мультиферментами, более устойчивы к термогидролизу по сравнению с нативным (рис.2). Кроме того, крахмалы BL оказались более устойчивыми, чем амилосубтило-4 к температурам 80 и 100°С.

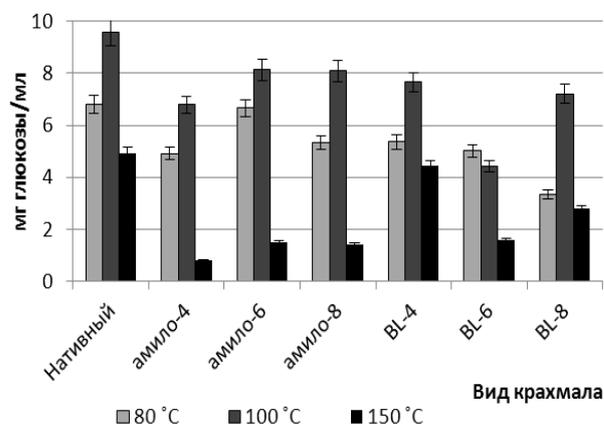


Рис. 2 – Влияние высокой температуры на количество выделяемой из крахмалов глюкозы

После обработки при 150°С меньше выделилось глюкозы у крахмалов амилосубтило-4, что может быть связано с отжигом крахмальных зерен в клейстере и их запеканием. Ферментативную устойчивость измеряли путем обработки крахмалов ферментом альфа-амилаза с последующим количественным анализом глюкозы.

Крахмал, обработанный амилосубтилином в течение 4 часов оказался самым неустойчивым, количество глюкозы в реакционной смеси было больше, чем в случае нативного крахмала уже через 30 мин (рис. 3). Увеличении времени модификации

крахмала до 6 часов приводило к повышению устойчивости, количество глюкозы было в 2 раза меньше чем в предыдущем случае. После обработки картофельного крахмала амилоsubтилином 8 часов, полисахарид потерял свою повышенную резистентность, количество глюкозы было на уровне нативного крахмала.

Наилучшими свойствами сопротивляться ферментному гидролизу обладали крахмалы, обработанные амилазой *Vacillus licheniformis*. В смеси с крахмалами BL-4, BL-6, BL-8 через 30 минут ферментации было наименьшее количество глюкозы, кроме того в случае крахмала BL-8 дальнейшая обработка не приводила к значительному повышению уровня глюкозы.

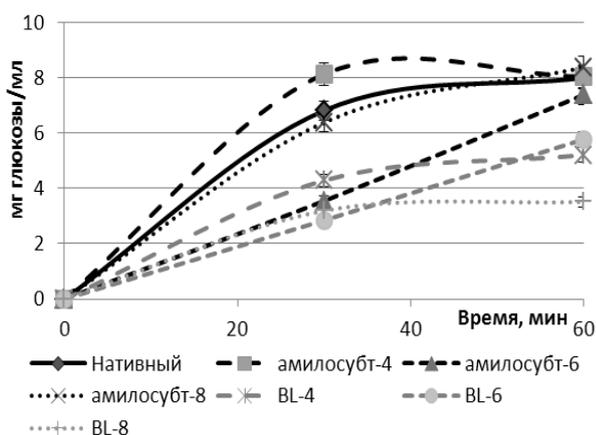


Рис. 3 – Влияние вида ферментированного картофельного крахмала на количество выделяющейся глюкозы при ферментативном гидролизе

Таким образом, по сравнению с картофельным нативным крахмалом, полисахарид, прошедший контролируемую ферментную модификацию заданное время и определенным ферментным препаратом, приобретает свойство энзиморезистентности, что можно рассматривать как перспективу применения таких крахмалов в диетическом и низкокалорийном питании, так как они обладают низким гликемическим индексом.

Литература

1. Bornet F. // Food Chemistry. – 1996. - V. 4. – P. 8-13.
2. Nabeshima E.H., M.V.E. Grossmann, // Carbohydrate Polymers, 2001, V.45, 347–353.
3. Rutenberg, M. M., D. Solarek, // In R.L. Whistler (Ed.), Starch chemistry and technology (2nd ed.). New York: Academic Press. 1984, P. 311–388.
4. Wattanachant, S., K. Muhammad, D.M. Hashim, R.A. Rahman // Food Chemistry – 2003. – V.80. – P.463–471.
5. Wurzburg O.B. // In O. B. Wurzburg (Ed.), Modified starches properties and uses. New York: CRC Press. – 1986. – P. 41–53.
6. Нечаев А.П. Пищевые добавки / А.П. Нечаев, А.А. Кочеткова, А.Н. Зайцев. – М.: Колос, Колос-Пресс, 2002. – 256 с.
7. Rosalina I., M. Bhattacharya // Carbohydrate Polymers, 2002, 48, 191–202.
8. Whistler R. L., BeMiller // In R.L. Whistler, N.J. BeMiller (Eds.), Carbohydrate chemistry for food scientists. Minnesota: Eagan Press. –1997 – P.1–150.
9. Донченко Л.В. Безопасность пищевой продукции / Л.В. Донченко, В.Д. Надькта. – М.: Пищепромиздат, – 2001. – 528 с.
10. Никитина Е.В., Габдукаева Л.З.. Вестник Казанского технологического университета, 19, 154-161 (2011).