

Введение В настоящее время в пищевой промышленности крахмал активно используется как пищевая добавка, обладающая немалым количеством свойств, с помощью которых можно улучшить качество продукта. Крахмал, из-за своих физико-химических свойств, в значительной степени влияет на текстуру пищевого продукта, его часто применяют как загуститель, стабилизатор, наполнитель и компонент, хорошо удерживающий влагу [1,2]. В промышленности используется крахмалы различного происхождения, в зависимости от цели их применения. Свойства крахмала главным образом зависят от физических и химических характеристик среднего размера гранул, процентное распределение различных размерных групп гранул, отношение амилоза/амилопектин и минеральное содержание [2,3]. Различные крахмалы отличаются морфологической структурой гранул, вследствие чего они обладают различными химическими и физическими свойствами. Морфологические свойства крахмала различного растительного происхождения варьируются в зависимости от генотипа. Изменения размеров и формы крахмальных зерен объясняются биологическим происхождением. Морфология крахмальных гранул зависит от биохимии хлоропластов, а также от физиологии растений [4,5]. Для промышленного производства крахмала большое значение имеет морфологические особенности крахмальных зерен перерабатываемого крахмалсодержащего сырья. Форма и размеры крахмальных зерен существенно влияют на выбор способа извлечения крахмала из растительного сырья. Для изучения морфологических свойств крахмала применяются такие методы как микроскопия, спектроскопия, дифференциальное сканирование калориметрии и т. д. [6,7]. С целью улучшения физико-химических свойств крахмалов и расширения спектров его промышленного применения, его подвергают частичной ферментации. О перспективности применения амилолитических ферментов в пищевой промышленности говорят многие авторы [Maarel 2002, You, M.S. Izydorczyk, 2007]. Амилазы делят на 2 типа: экзо- и эндоамилазы. Эндоамилазы гидролизуют внутренние связи крахмальных молекул, при этом образуются линейные и разветвленные полисахариды с различной длиной цепи. Экзоамилазы гидролизуют по невозстанавливающему конечному фрагменту цепи, в результате чего образуются короткие конечные продукты гидролиза. В результате ферментации изменяются физико-химические и морфологические свойства нативных крахмалов [11]. В связи с вышесказанным целью данной работы было охарактеризовать изменения ряда физико-химических свойств и морфологии крахмальных клейстеров в результате модификации амилолитическим ферментом бактериального происхождения. Материалы и методы исследования В качестве объекта исследования выступали пшеничный крахмалы: нативный (ГОСТ Р 53501-2009) и ферментированные амилазой *Bacillus licheniformis*. Ферментацию проводили в течение от 1 до 4 часов, в зависимости от продолжительности ферментации биомодифицированные крахмалы были

названы: VI-1, VI-2, VI-3 и VI-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°C. Для дальнейших исследований готовили клейстеры крахмалов в концентрации 1% с предварительным завариванием и выдерживанием при 90°C, 5 мин. 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 измеряли время истечения крахмального клейстера. Расчет производили по общепринятой формуле. Определение 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 (то есть в 10 раз). 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 НСl (8,17 мл концентрированной НСl 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: $Y = 85,24 * X - 13,19$, где X – это величина поглощения при 625 нм [15]. 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 [14]. Для микроскопирования использовали предварительно выдержанные при 60 оС в течение 10 мин 5% растворы крахмалов, которые окрашивали раствором Люголя (I₂/KI раствор; 1:2 w/w). Немедленно просматривали под световым микроскопом Axio Imager в комплекте с видео камерой. Для просмотра использовали увеличение в 400 раз. Результаты исследований и обсуждение Исследование физико-химических характеристик крахмальных клейстеров ферментированных полисахаридов выявило снижение их вязкости по сравнению с нативным (табл.1). Причем, наибольшее снижение вязкости наблюдалось уже после одночасовой экспозиции фермента с крахмальным раствором. Увеличение

времени обработки приводило к дальнейшему монотонному снижению этого показателя, но уже с меньшей скоростью. Эмульгирующая же активность у исследуемых образцов ферментированных крахмалов также снижалась, по сравнению с нативным. Однако у крахмалов, прошедших одно- и двухчасовую ферментную обработку, наблюдалось уменьшение эмульгирующей активности, а дальнейшая ферментная обработка приводила к существенному увеличению этого показателя (табл. 1). Наибольшее значение эмульгирующей активности среди ферментированных образцов выявлено у четырехчасового образца.

Таблица 1 - Влияние ферментной обработки на вязкость, эмульгирующую активность и количество амилозы пшеничных крахмалов

Вид крахмала	Вязкость, Т	Эмульгирующая активность, D, l=500 нм	Содержание амилозы, %
Нативный	2,846	0,266	9,48 ±1,13
VI-1	1,683	0,256	5,64±0,39
VI-2	1,591	0,233	4,78±0,41
VI-3	1,471	0,258	3,54±1,00
VI-4	1,339	0,252	4,02±0,37

Морфологические исследования ферментированных крахмалов представлены в микрофотографиях, где наглядно изображено существенное отличие в размерах и геометрии гранул (рис. 1).

Рис. 1 - Морфологические свойства нативного и ферментированных пшеничных крахмалов

В случае нативного крахмала выявлено сильное разбухание гранул крахмала. Гранулы же ферментированных крахмалов по мере увеличения продолжительности ферментации существенно уменьшались в размерах, образуя при этом слипание в конгломераты. Однако у образцов, прошедших трех- и четырехчасовую ферментную обработку, структуры гранул практически полностью разрушились, и наблюдались лишь отдельные мельчайшие частицы гранул. Микроскопические исследования выявили увеличение дисперсности гранул крахмала, с увеличением времени модификации. Гранулы изученных крахмалов были округлой, неправильной формы, с нарушенной структурой. Воздействие фермента на крахмал с морфологической точки зрения привело кроме уменьшения размера частицы гранул, еще и к снижению образования конгломератов между зёрнами. Выше нами показано, резкое снижение доли амилозы при одно- и двухчасовом действии фермента на крахмал, видимо, связано с особенностью действия фермента *Bacillus licheniformis*, которая состоит в его приоритетном расщеплении молекулы амилозы. Дальнейшая периодичность снижения и возрастания процентного содержания амилозы и амилопектина может быть связана с чередованием слоев аморфной и полукристаллической зон, соответственно последовательным их расщеплением [8,9]. В результате проведенных экспериментов следует отметить, что является перспективным применение крахмала, обработанного амилазой *B.licheniformis* в течении одного часа, в технологии продуктов, требующих создания и стабилизации водно-жиро-белковой эмульсии. В качестве таких продуктов можно рассматривать молочные, кисло-молочные напитки и средне- и маложирные соусы типа майонез. В свою очередь образец, прошедший четырехчасовую ферментную обработку может

применяться для создания наиболее стойких белково-жировых эмульсий.