

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 % амилопектина) [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 BI-4, BI-6, BI-8, время ферментации 4,6 8 часов, соответственно. Модификацию осуществляли в дистиллированной воде при

pH=7,5 при 40 оС. 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 У/г крахмала). Реакцию гидролиза останавливали путем добавления концентрированной серной кислоты до pH=2. Затем крахмал отделяли от жидкости фильтрованием и высушивали при 40 оС. Для дальнейших исследований готовили клейстеры крахмалов в концентрации 1% с предварительным завариванием и выдерживанием при 90 оС, 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 37оС, 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 оС в течении 30 мин. По окончании 30 мин растворы анализировали содержание глюкозы. Исследования устойчивости к ферментному гидролизу проводили с помощью альфа-амилазы (type II-A: из *Bacillus* sp), фермент кристаллизованн 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 амилолитического ряда проводили в клейстерных растворах исследуемых крахмалов с добавлением ферментов в концентрации 0,1 мг%/г крахмала. Инкубировали смеси при 37 0С 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 *B. licheniformis*, легче всего поддается кислотному гидролизу крахмал ферментативированный 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 амило к температурам 80 и 100°C. Рис. 2 – Влияние высокой температуры на количество выделяемой из крахмалов глюкозы. После обработки при 150°C меньше выделилось глюкозы у крахмалов амило, 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 амилосубтилином 8 часов, полисахарид потерял свою повышенную резистентность, количество глюкозы было на уровне нативного крахмала. Наилучшими свойствами сопротивляться ферментному гидролизу обладали крахмалы, обработанные амилазой *Bacillus 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.