

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА НАТИВНОГО КРАХМАЛА В ГЕТЕРОГЕННОЙ СРЕДЕ

Папахин А.А., аспирант; Лукин Н.Д., д-р техн. наук;
Бородина З.М., канд. техн. наук

ГНУ ВНИИ крахмалопродуктов Россельхозакадемии

Проведены исследования по изучению влияния условий реакционной среды на процесс гидролиза нативного крахмала в присутствии препарата глюкоамилазы Optidex L-400. На основании результатов исследований разработана технологическая схема получения ферментативно модифицированного крахмала и глюкозного концентрата.

Ключевые слова: нативный крахмал, глюкоамилаза, осадок, ферментативный гидролиз, растворимые вещества, глюкозный эквивалент, степень гидролиза, модифицированный крахмал.

Введение. Во ВНИИ крахмалопродуктов проводятся исследования по изучению действия препаратов амилаз нового поколения на нативный крахмал с целью разработки новых технологий, включающих процесс биоконверсии крахмала без предварительной клейстеризации, обеспечивающих расширение ассортимента крахмалопродуктов.

Экспериментальные исследования проводили по схеме, включающей следующие стадии:

- приготовление водной суспензии крахмала с различной концентрацией сухих веществ, доведение рН до необходимого значения, внесение расчетной дозы глюкоамилазы;
- инкубирование реакционной смеси на термостативном перемешивающем устройстве при температуре ниже начальной точки клейстеризации крахмала в течение 72-96ч с периодическим отбором проб;
- разделение проб реакционной смеси путем вакуум-фильтрования на фильтрат и осадок с последующей двух- или трехкратной промывкой осадка двойным количеством дистиллированной воды;
- смешивание фильтрата с промывными водами осадка;
- высушивание осадка при температуре 25-50 °С до воздушно-сухого состояния и измельчение на лабораторной мельнице ЛЗМ-1М;

Объектами исследований являлись: исходный нативный крахмал и продукты его гидролиза – жидкая фракция (первичный фильтрат + промоя) и твердая фракция – осадок – остаточный неклеястеризованный ферментативно модифицированный крахмал.

При проведении работ изучено влияние вида амилитических ферментов при действии на нативный крахмал: бактериальной альфа-амилазы, грибной альфа-амилазы, глюкоамилазы и солодовой бета-амилазы.

Установлено, что наибольшей активностью обладает глюкоамилаза. При инкубации в двухфазной системе крахмал-вода глюкоамилаза последовательно отщепляет молекулы глюкозы, в результате в жидкой фазе накапливаются растворимые сухие вещества, представленные на 98-99% глюкозой, что было установлено хроматографическим методом.

При этом в твердой фазе остаются нерастворимыми гранулы крахмала, сохраняющие форму, но имеющие поврежденную поверхность с образованием радиальных канавок и множественных углублений (пор), что было обнаружено при микроскопировании [1].

Проведено исследование процесса биоконверсии нативного крахмала различных видов с применением глюкоамилазы Optidex L-400 (Du Pont, США). Установлено, что при действии глюкоамилазы на крахмал в нативном состоянии в водной среде при температуре ниже начальной точки клейстеризации наибольшей атакуемостью обладают зерновые крахмалы (амилопектиновый, обычный кукурузный, пшеничный), наименьшей – картофельный [2].

Объекты и методы исследований. Целью настоящей работы было изучение влияния условий реакционной среды на процесс гидролиза нативного кукурузного крахмала под действием глюкоамилазы в двухфазной системе крахмал-вода.

Объектами исследований являлись продукты гидролиза крахмала – жидкая фракция (первичный фильтрат + промочи) и твердая фракция – осадок – остаточный неклеястеризованный ферментативно модифицированный крахмал.

Во всех опытах в процессе биоконверсии количественно определяли распределение сухих веществ исходного крахмала на фракции, полученные при разделении реакционной смеси.

Степень растворения сухих веществ и гидролиза нативного крахмала оценивали по содержанию растворимых сухих веществ в жидкой фракции и осадке, содержанию растворимых углеводов и редуцирующих веществ (ГЭ) в жидкой фракции и выражали в % к сухому веществу крахмала, поступившего на гидролиз.

При проведении исследований изучено влияние условий реакционной среды на действие испытуемой глюкоамилазы в процессе гидролиза нативного крахмала: величины рН, концентрации субстрата, дозировки фермента и продолжительности процесса.

Результаты исследований. Результаты серии опытов по изучению влияния величины рН среды в диапазоне 3,0-3,5 на кинетику действия очищенной глюкоамилазы Optidex L-400 на нативный крахмал при температуре 55 °С, концентрации СВ в суспензии 35 % и дозировке фермента 10 ед. ГлС/г СВ крахмала представлены на рис.1.

Полученные данные показали, что оптимальная величина рН реакционной среды для действия испытуемого препарата глюкоамилазы на нативный крахмал при температуре ниже начальной точки клейстеризации составляет 3,0-3,5 ед., в то время как, по данным фирмы-производителя,

для действия указанного препарата на разжиженный крахмал, эта величина находится в пределах 4,0-4,5 ед.

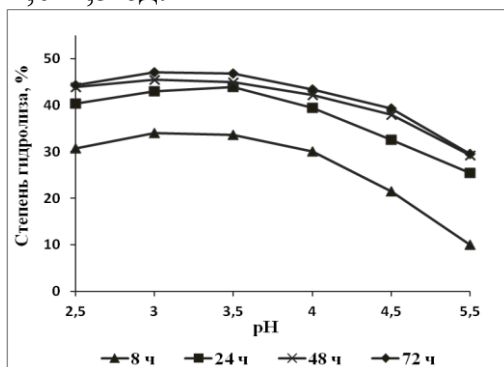


Рис. 1. Зависимость степени гидролиза от величины рН среды и продолжительности процесса

При проведении опытов по изучению влияния концентрации СВ суспензии на действие глюкоамилазы установлено, что оптимальная величина концентрации СВ находится в пределах 30-35 % - так же, как и для действия глюкоамилазы на предварительно клейстеризованный и разжиженный крахмал.

Установлено, что жидкая фракция реакционной смеси при дозировке фермента от 4,0 до 24 ед. ГлС/г СВ крахмала и продолжительности процесса от 1 до 72 ч имеет глюкозный эквивалент (ГЭ) в пределах 97,5-99,0 %. Причем наиболее высокие показатели ГЭ наблюдаются в начальный период инкубирования (до 8 ч).

Степень гидролиза нативного крахмала зависит от количества растворимых сухих веществ в жидкой фракции, т.е. от степени его растворения.

Полученные данные (рис. 2) показали, что скорость растворения и, следовательно, степень гидролиза крахмала значительно замедляются после 24 ч инкубирования и не достигает максимальной величины (~98 %), получаемой при осахаривании глюкоамилазой разжиженного крахмала по традиционной схеме в течение 48-72 ч при концентрации фермента 2-2,5 ед. ГлС/г СВ крахмала. Степень гидролиза нативного крахмала в проведенных опытах при концентрации фермента 24 ед ГлС/г СВ крахмала и продолжительности процесса 48 ч составила 48,7 % и с увеличением времени практически не изменялась.

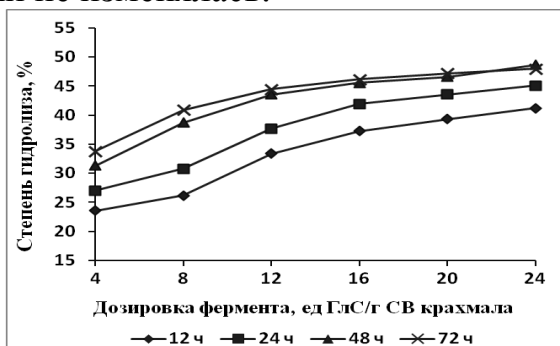


Рис. 2. Зависимость степени гидролиза нативного крахмала от дозировки фермента и продолжительности процесса

Эти результаты можно объяснить структурными свойствами неклестеризованного нативного крахмала, а также ингибированием действия глюкоамилазы продуктами реакции.

Установлено, что при действии глюкоамилазы на нативный крахмал в гетерогенной системе без предварительной клейстеризации продуктами реакции являются твердая фракция – ферментативно модифицированный крахмал и жидкая фракция – прозрачный, бесцветный глюкозный сироп с массовой долей глюкозы 96-98 %.

На рис.3 представлены микрофотографии образцов исходного и модифицированного крахмалов, на рис.4 - хроматограмма глюкозного сиропа.

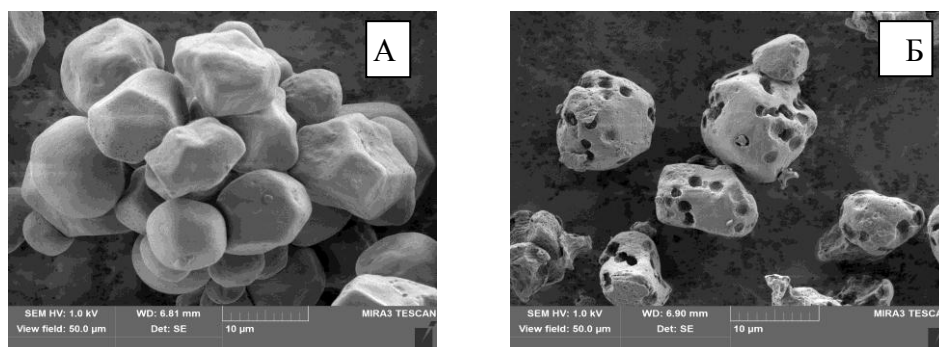


Рис. 3. Микрофотографии исходного (А) кукурузного крахмала и модифицированного (Б) путем биоконверсии в присутствии глюкоамилазы Optidex L-400 в течение 72 ч

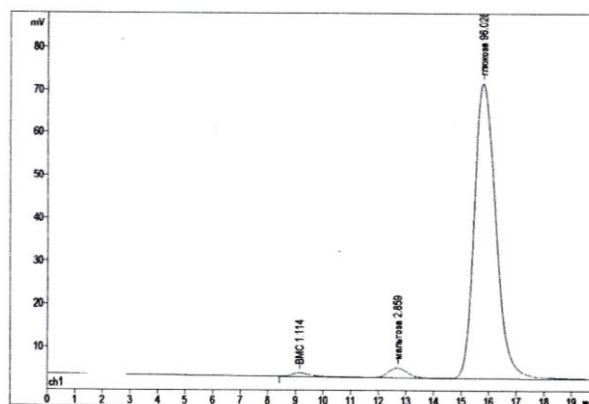


Рис. 4. Хроматограмма жидкой фракции гидролизата нативного кукурузного крахмала

Ферментативно модифицированный пористый крахмал обладает важным свойством – повышенной адсорбционной способностью и рекомендуется для использования в фармацевтической, пищевой, химической, парфюмерной и других отраслях промышленности [3,4]. Концентрированный высокоглюкозный сироп может использоваться для получения различных видов глюкозы, глюкозно-фруктозного сиропа, пищевых кислот и непосредственно как подсластитель в пищевых продуктах.

На основании результатов исследований разработана технологическая схема получения ферментативно модифицированного крахмала и глюкозного концентрата из зернового крахмала путем его гидролиза в гетерогенной среде в присутствии глюкоамилазы (рис. 5).

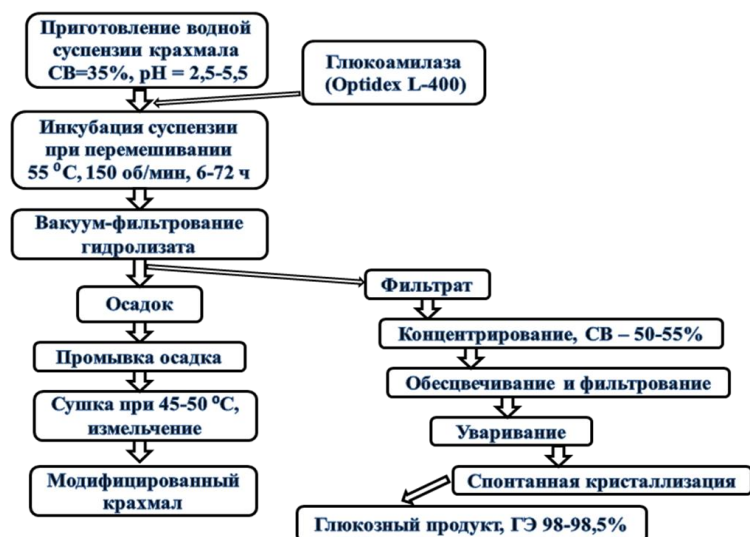


Рис. 5. Принципиальная технологическая схема получения ферментативно модифицированного крахмала и глюкозного концентрата

Выводы. Изучено влияние технологических параметров на действие очищенной глюкоамилазы в процессе гидролиза нативного крахмала при температуре ниже начальной точки его клейстеризации.

Установлено, что наибольшую активность глюкоамилаза проявляет при рН среды 3,0-3,5, концентрации СВ субстрата 30-35 %. Степень гидролиза нативного кукурузного крахмала при увеличении дозировки фермента от 4-х до 24-х ед. ГлС/г СВ и продолжительности процесса до 72 ч повышается, но не превышает порога 50 %, что можно объяснить структурными свойствами неклестеризованного нативного крахмала, а также ингибированием действия глюкоамилазы продуктами реакции.

Разработана технологическая схема получения ферментативно модифицированного крахмала и глюкозного концентрата из зернового крахмала путем его гидролиза в гетерогенной среде в присутствии глюкоамилазы.

Литература

1. Исследование процесса биоконверсии нативного кукурузного крахмала с применением различных амилолитических ферментов / Н.Д. Лукин, З.М. Бородина, Т.В. Лапидус и др. // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – №12. – С. 74-76.
2. Исследование действия амилолитических ферментов на нативный крахмал различных видов в гетерогенной среде / Н.Д. Лукин, З.М. Бородина, А.А. Папахин и др. // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – №10. – С. 62-64.
3. Whistler R.L. Microporous Granular Starch Matrix Compositions // U.S. Patent № 4985082. – 1991.
4. Yun Wu, Xianfeng Du at all. Preparation of microporous starch by glucoamilase and ultrasound // Starch/Stärke. – 2011. – Vol. 63. – P. 217-225.