

О.М. Майданець

О.В. Грабовська, канд. техн. наук

Н.І. Штангеєва, доктор техн. наук

В.О. Мірошник, канд. техн. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ КІНЕТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО РОЗРІДЖУВАННЯ КРОХМАЛЮ

Встановлено кінетичні закономірності ферментативного розріджування кукурудзяного та картопляного крохмалю в залежності від технологічних умов проведення процесу.

Гідроліз крохмалю із застосуванням ферментів – найбільш перспективний напрям удосконалення технології виробництва крохмалепродуктів, що доводять роботи багатьох вітчизняних і закордонних науковців [3, 5, 6, 9, 10]. Основною відмінністю гідролізу крохмалю з використанням ферментів від гідролізу в присутності мінеральних кислот є проведення цього процесу в дві стадії: розріджування крохмалю та його зцукрювання, які здійснюються за допомогою різних ферментів. Вивченням особливостей ферментативного гідролізу крохмалю займалось ряд вчених [4, 10], якими встановлено, що розріджування крохмальної суспензії α -амілазою може здійснюватись як в одну, так і в декілька стадій. Одностадійним способом можна розріджувати картопляний крохмаль. При використанні кукурудзяного, пшеничного та рисового крохмалів виникають проблеми з фільтруванням сиропів, які зумовлені як прогресуючою ретроградацією, так і наявністю неклейстеризованих зерен крохмалю. Ці відмінності пояснюються різною будовою бульбових та зернових крохмалів, та наявністю в складі останніх

зв'язаних ліпідів. Як відомо з літературних джерел [3, 4, 5, 6, 9], проведення ферментативного розріджування у дві стадії, з проміжним термообробленням дає можливість уникнути цих труднощів.

Кінетику ферментативного гідролізу крохмалю вивчали російські вчені Ладур Т.О., Жеребцов Н.А., Руадзе І.Д. та ін. [4, 5, 6]. Проте вони користувались порошкоподібними ферментними препаратами, які вироблялись ще за радянських часів і містили ряд домішок. На сьогодні існує велика кількість ферментних препаратів другого покоління, які відрізняються чистотою та високою термостабільністю. Крім того, в літературних джерелах не міститься як ґрунтового аналізу кінетичних закономірностей ферментативного розріджування крохмалю, так і пояснення деяких, не типових для хімічних реакцій, моментів, таких як факт, що збільшення дозування каталізатора не завжди призводить до підвищення швидкості реакції.

Ферменти є каталізаторами білкової природи. У якості каталізаторів ферменти знижують вільну енергію активації реакцій, які вони каталізують. Так як і для деяких інших каталізаторів, для них характерний “ефект насиченості”, який полягає у тому, що за достатньо високої концентрації реагуючих речовин швидкість реакції стає незалежною від подальшого підвищення їх концентрацій [1]. Проте ферменти відрізняються від більшості інших каталізаторів тим, що залежність їх активності від рН і температури має характер, типовий для білків. Ферменти мають ще дві властивості, безперечно пов'язані з їх білковою природою – надзвичайно висока активність і дуже чітко виражена субстратна специфічність. Тобто, ферменти приєднуються тільки до певного виду субстрату, а точніше до певних функціональних груп субстрату.

Окрім специфічності по відношенню до певних груп субстрату, фермент має просторову специфічність, тобто для здійснення каталізу він має бути певним чином орієнтований відносно субстрату, що підтверджують всі кристалографічні дані [2]. Просторова специфічність ферменту впливає на всі кінетичні константи.

Метою нашої роботи було дослідження кінетики ферментативного розріджування кукурудзяного і картопляного крохмалів та встановлення впливу на швидкість гідролізу різних технологічних факторів, таких як: концентрація крохмальної суспензії, дозування ферменту та в'язкість крохмальних гідролізатів.

Нами було проведено серію дослідів по розріджуванню кукурудзяного та картопляного крохмалів у термостаті використовуючи крохмальні суспензії концентраціями 25, 30, 35, 40 % сухих речовин, із застосуванням термостабільної α -амілази Termamyl SC (Novo Nordisk) дозованої у кількості від 1 до 5 одиниць активності на грам сухих речовин крохмалю (од. ак./г). Гідроліз проводили протягом 1 години, за температури і рН оптимальних для дії термостабільної α -амілази, тобто за максимальної температури термостату (98-100 °C) і рН 6-6,5. Протягом гідролізу відбирали проби і визначали величину глюкозного еквіваленту за йодометричним методом Вільштеттера і Шудля. За отриманими даними побудовано криві, що характеризують кінетику розріджування кукурудзяного і картопляного крохмалів, які наведені на рис.1 і 2.

На рис.1 зображені криві гідролізу кукурудзяного крохмалю, з яких видно, що при дозуванні ферменту 1 і 2 од.ак./г гідроліз в усіх випадках відбувається однаково повільно, не досягаючи навіть 20 % глюкозного еквіваленту. За 3 од.ак./г спостерігається інтенсифікація процесу, а при 4 од.ак./г досягається максимальна величина глюкозного еквіваленту для всіх концентрацій, особливо для 25 і 30 %. Збільшення дозування до 5 од.ак./г вже не веде до збільшення глюкозного еквіваленту, а навпаки призводить до деякого інгібування процесу. У крохмальних суспензіях з масовою часткою сухих речовин 35 і 40 % навіть при збільшенні дозування ферменту глюкозний еквівалент гідролізату не перевищує 20 % і кінетичні криві на графіках нижче за ті, що відповідають меншим концентраціям.

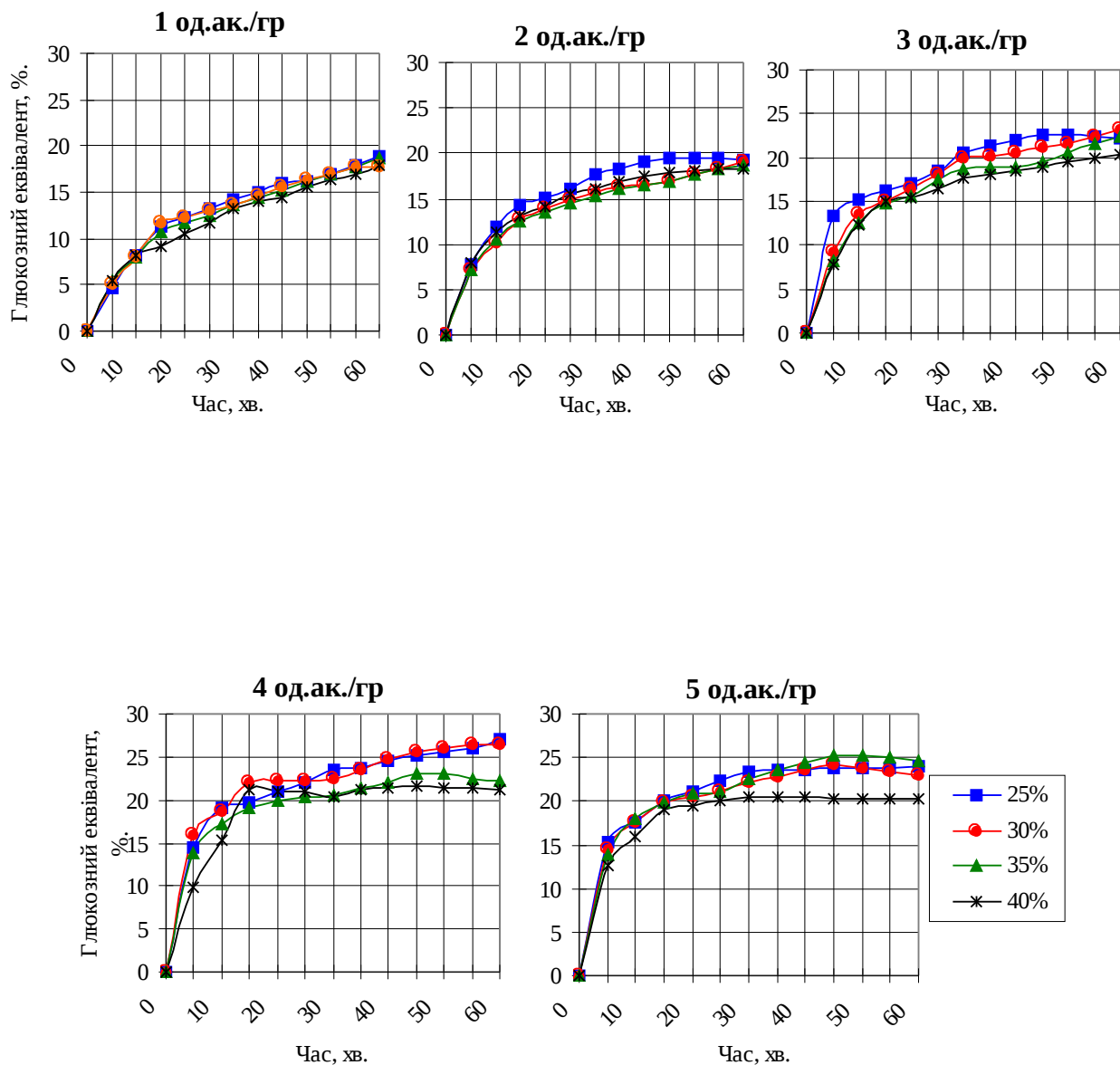


Рис.1. Кінетика ферментативного розріджування кукурудзяного крохмалю в залежності від концентрації субстрату та дозування ферменту.

При роботі з картопляним крохмалем, як видно з рис.2, спостерігається зовсім інша залежність. Вже при 2 од.ак./г інтенсивно відбувається розріджування 25 %-ї суспензії, а при 3 од.ак./г і суспензій більших концентрацій. Підвищення дозування до 4 і 5 од.ак/г не сприяє покращенню процесу.

Така різниця у поведінці кукурудзяного і картопляного крохмалів пояснюється більш високою температурою клейстеризації кукурудзяного

крохмалю, яка обумовлена наявністю амілозо-ліпідного комплексу у гранулах кукурудзяного крохмалю, який відсутній у картопляному.

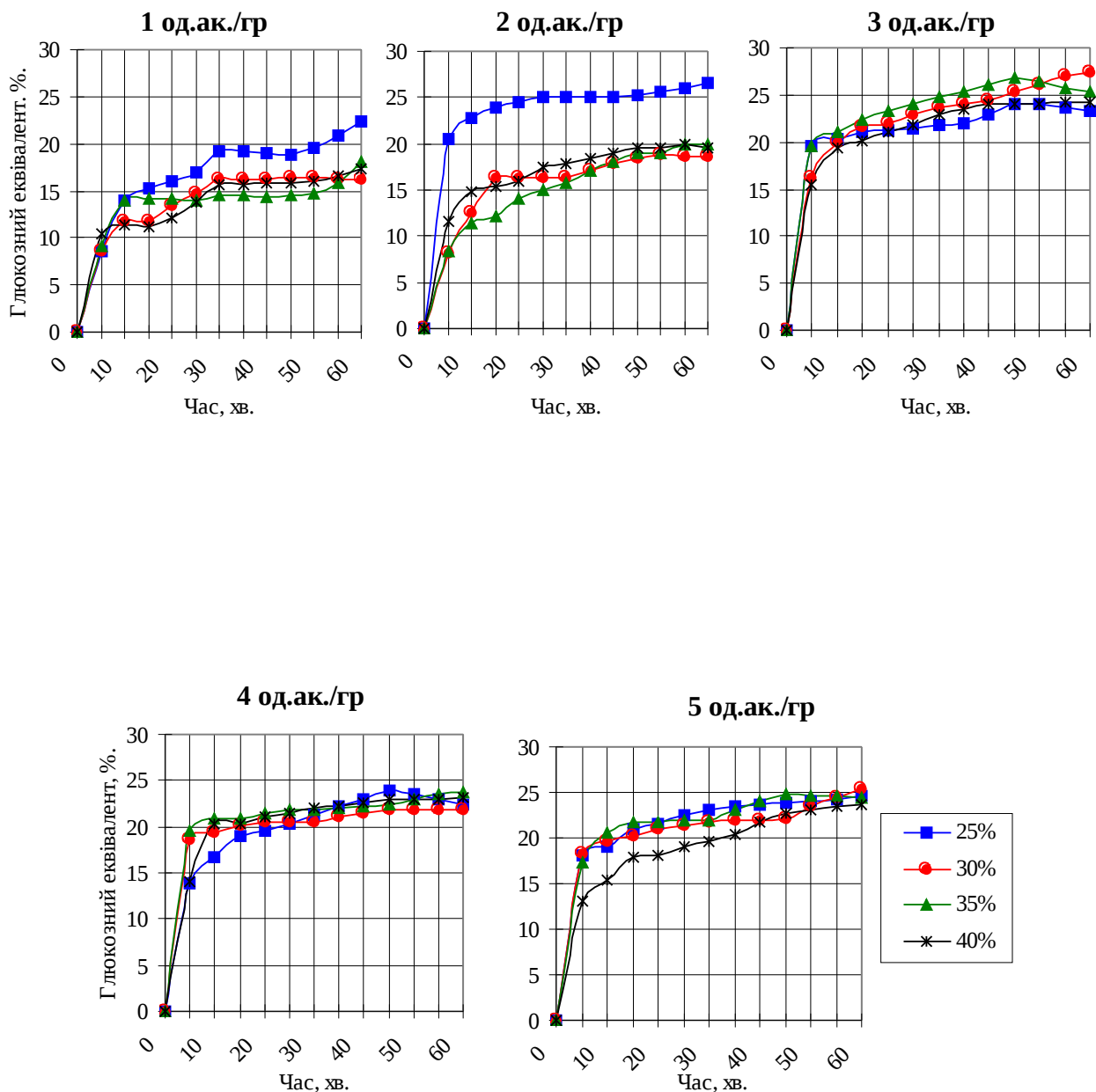


Рис.2. Кінетика ферментативного розріджування картопляного крохмалю в залежності від концентрації субстрату та дозування ферменту.

Це підтверджує наступна серія дослідів по гідролізу картопляного і кукурудзяного крохмалів, що була проведена за тих самих умов, що і попередні, але із застосуванням приладу Реотест 2, за допомогою якого спостерігали за в'язкістю гідролізатів в процесі клейстеризації і розріджування

суспензій. Використовуючи дослідні дані, були побудовані криві зміни в'язкості суспензії за різних умов гідролізу. З технологічної точки зору в'язкість гідролікатів не повинна перебільшувати припустиму в'язкість, за якої не відбувається налипання клейстеру на стінках обладнання та у трубопроводах, що становить 2000 мПа·с.

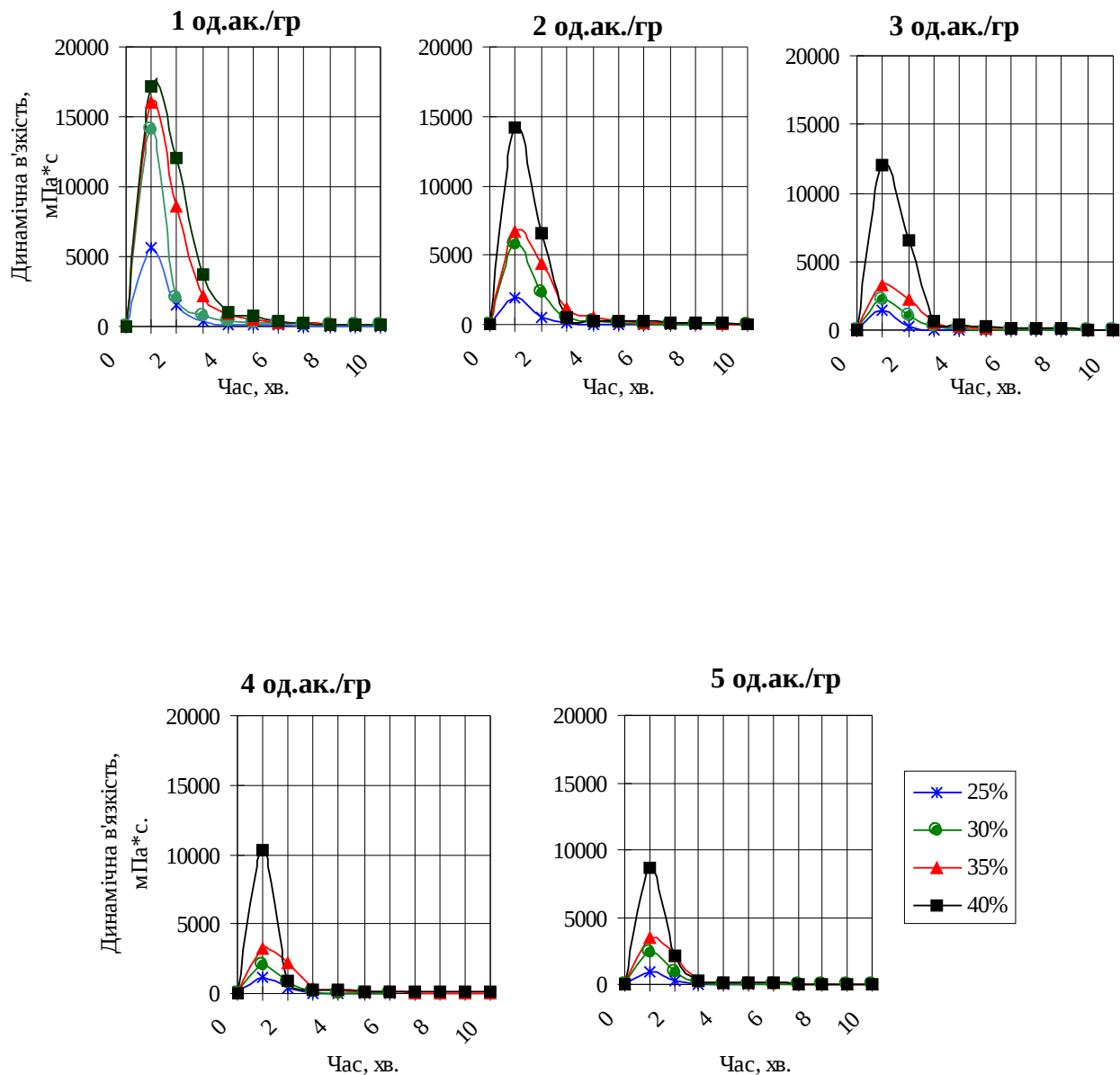


Рис.3. Зміна в'язкості кукурудзяного крохмалю при гідролізі з різним дозуванням ферменту.

Криві в'язкості кукурудзяного крохмалю приведені на рис.3 показують, що у разі гідролізу крохмалю за 1 од.ак./г в'язкість гідролікатів перевищує

допустиму в 3, 7 і навіть в 9 разів. При збільшенні дозування ферменту межі припустимої в'язкості сягає лише суспензія концентрацією 25 % і за 3-4 од.ак./г – суспензія концентрацією 30 %. За концентрації суспензії 40 %, в'язкість при розріджуванні крохмальної суспензії зростає вище припустимої за різних дозувань ферменту і є не технологічною.

З кривих зміни в'язкості картопляного крохмалю бачимо зовсім іншу картину. Концентрація крохмальної суспензії 40 % також не технологічна, проте концентрація 25 % починаючи з дозування ферменту 1 од.ак./г, 30 % – з 2 од.ак./г, а 35 % – з 3 од.ак./г повністю задовільняють технологічним вимогам щодо в'язкості суспензії при розріджуванні.

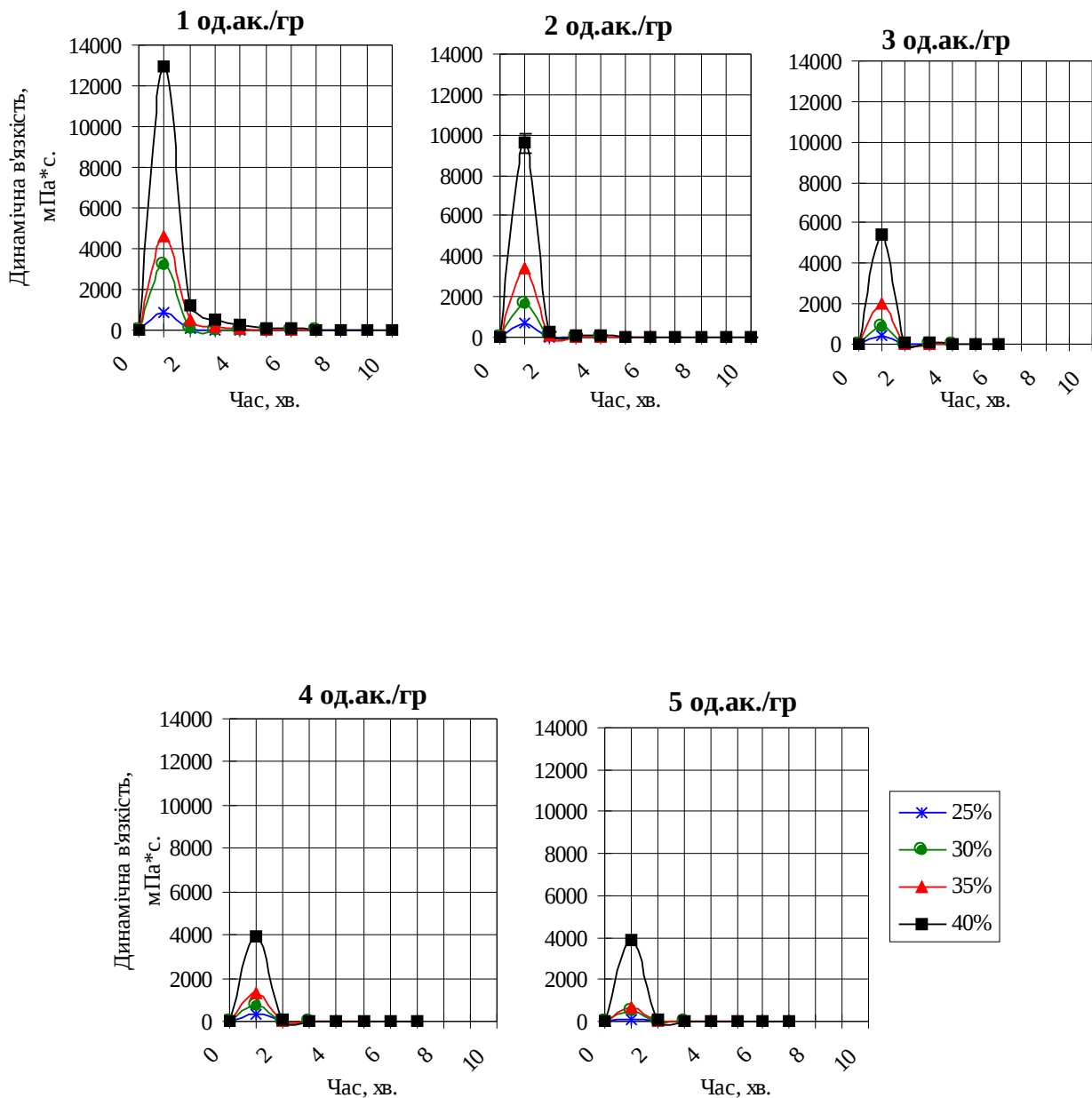


Рис.4. Зміна в'язкості картопляного крохмалю при гідролізі з різним дозуванням ферменту.

Результати всіх проведених дослідів опрацьовані у програмі MathCad. За методом Сімпсона і трапецій розраховано середню тривалість гідролізу у кожному досліді, відповідно до якого у Quick Basic проведена апроксимація функції і визначено середній глюкозний еквівалент та розраховано середню швидкість кожного гідролізу [3].

Відповідно до одержаних даних побудовані узагальнені графіки, на яких відображено зміну швидкості гідролізу та падіння фактору в'язкості суспензій кукурудзяного та картопляного крохмалю різних концентрацій при дозуванні ферменту від 1 до 5 од.ак./г. Фактор в'язкості – це умовна безрозмірна величина, яка визначається площиною піків в'язкості гідролізатів (рис. 3, 4). Графік залежності фактору в'язкості та швидкості гідролізу кукурудзяного крохмалю від дозування ферменту (рис.5) доводить, що найбільша швидкість гідролізу досягається при дозуванні α -амілази 4 од.ак./г, але в'язкість за цього дозування оптимальна лише для суспензій з масовою часткою сухих речовин 25 і 30 %.

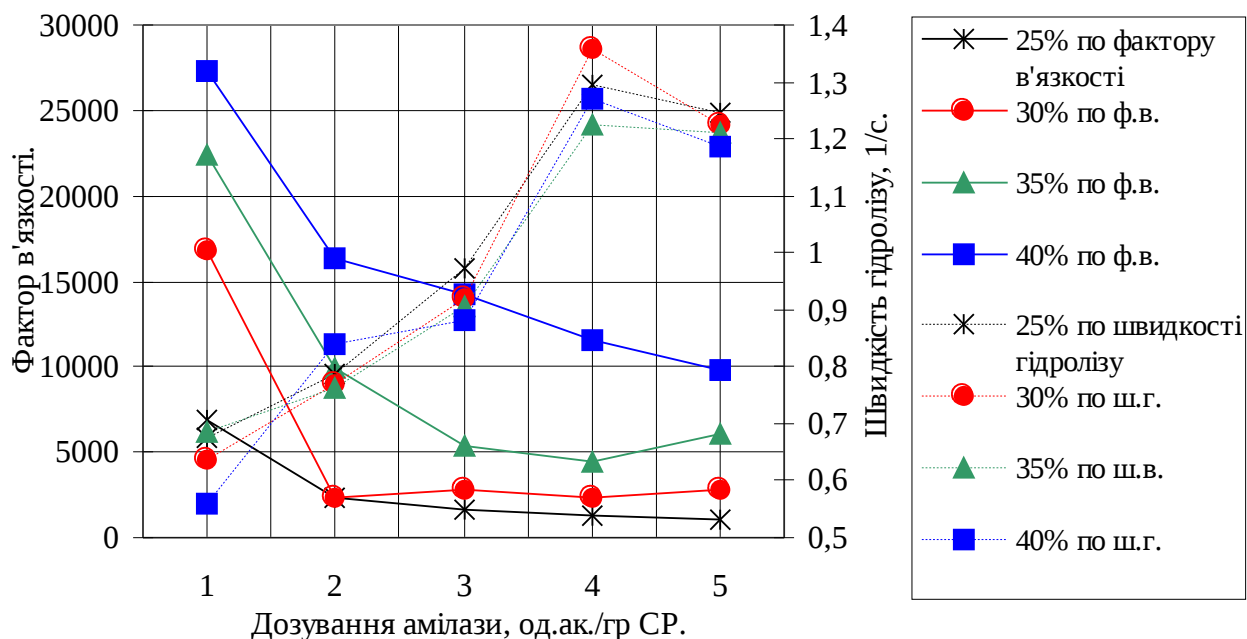


Рис.5. Залежність фактору в'язкості та швидкості розріджування кукурудзяного крохмалю від дозування ферменту.

При розріджуванні картопляного крохмалю, як видно з рис. 6, для суспензії концентрацією 25 % максимальна швидкість реакції гідролізу досягається при дозуванні ферменту 2 од.ак./г, а для суспензій інших концентрацій – 3 од.ак./г. За цих дозувань ферменту не перевищується і припустима в'язкість крохмальної суспензії відповідної концентрації при розріджуванні.

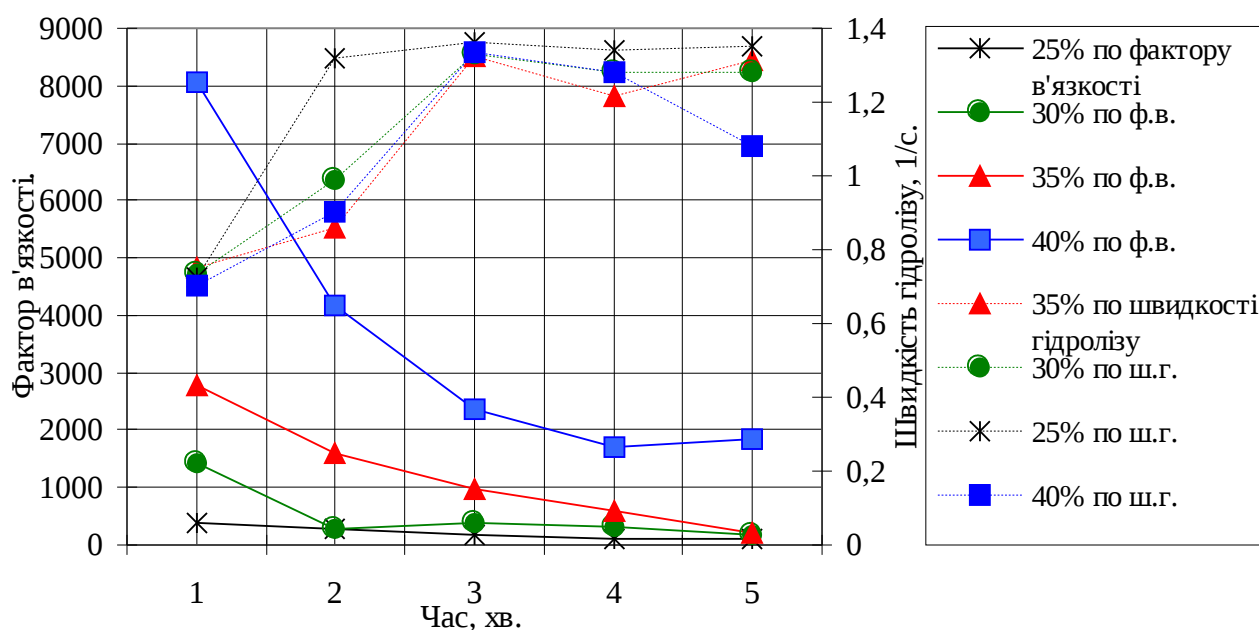


Рис.6. Залежність фактору в'язкості та швидкості розріджування картопляного крохмалю від дозування ферменту.

Висновок. В результаті проведених досліджень встановлено кінетичні закономірності, які дають змогу підібрати оптимальні умови ферментативного розріджування картопляного і кукурудзяного крохмалів, які б забезпечували максимальну швидкість процесу.

Література:

1. Дж.Уэстли. Ферментативный катализ. (перевод д.х.н. Яковлева В.А.)/ М.: Издательство «Мир», – 1972, – 270 с.
2. Дж. Уотсон. Молекулярная биология гена./ М.: Издательство «Мир», - 1978, – 720 с.
3. Гулюк Н.Г., Жушман А.И., Ладур Т.А., Штыркова Е.А. Крахмал и крахмалопродукты. – М.: Агропромиздат. - 1985. –238с.
4. Сопоставление кислотного и ферментативного способов гидролиза крахмала / Руадзе И.Д., Жеребцов Н.А.,Шуваева Т.П.// Матер.34 Отчет. науч. конф. Воронеж. гос. технолог. акад. за 1994 год, Воронеж, 8-13 дек., 1994.–Воронеж. - 1994. –С.135. –Рус.
5. Научные основы биоконверсии крахмала / Ладур Т.А.// Сахарная промышленность. –1980. - №10. – С.8.
6. Переваги ферментативної переробки крохмалю. Enzymatic processing of starch: present and potutial benefits / Bhat Mahalingeshwara K. // Int. Sugar J. – 1998. – 100, №1196. – С.372-376, 426-427.
7. Розенгарт В.И. Ферменты – двигатели жизни./ Л.: „Наука”, – 1983, – 158 с.
8. Садовнича Л.П., Хухрянский В.Г., Цыганенко А.Я. Биофизическая химия./ К.: «Вища школа», – 1986.
9. Технология крахмала и крахмалопродуктов / Под ред. Н.Н. Трегубова. – М.: “Лёгкая и пищевая промышленность”. – 1981.
10. Crabb W.D., Shetty J. and Singly E/ Starch liquefaction strategies to utilize improved alpha-amylase. - 1999. - №12.

Надійшла до редколегії 27.05.2004 р.