

LUCYNA SŁOMIŃSKA^{1,2}**ROMAN ZIELONKA**¹**LESZEK JAROSŁAWSKI**¹**MAREK BUSZKA**¹¹ Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych, Poznań² Uniwersytet Zielonogórski, Wydział Nauk Biologicznych, Zielona Góra

Hydroliza nieskleikowanej skrobi ziemniaczanej preparatami enzymów amylolitycznych

Hydrolysis of non-gelatinized potato starch by using amylolytic enzymes

Prowadzono badania celem określenia wpływu upłynniających i scukrzających preparatów enzymatycznych na wydajność procesu hydrolizy skrobi ziemniaczanej w temperaturze poniżej jej temperatury kleikowania. Hydrolizę skrobi prowadzono w wodnej zawieszynie o różnych stężeniach, tj. 5, 10, 20 i 30%, na którą działało preparatami enzymatycznymi (Liquozyme Supra — enzym upłynniający oraz Maltogenase 4000 L i AMG 300 L — enzymy scukrzające) użytymi pojedynczo lub w kombinacjach podczas 24 h, w temperaturach 30, 35, 40 i 45°C. W próbach określano wydajność procesu hydrolizy skrobi przez oznaczenie masy i stężenia hydrolizatu, cukrów redukujących oraz obliczenie wskaźnika uzysku. Badania wykazały, że podwyższenie temperatury reakcji z 30 do 45°C, podczas hydrolizy prowadzonej z zastosowaniem preparatu Liquozyme Supra, powoduje prawie sześciokrotne zwiększenie wskaźnika uzysku składników rozpuszczalnych, tj. od 2,9 do 17,1%. Ten najwyższy wskaźnik uzysku otrzymano, stosując zawiesinę skrobi o stężeniu 20%. Uwzględniając wszystkie zastosowane kombinacje enzymów, najwyższy wynik uzysku osiągnięto podczas hydrolizy prowadzonej w kombinacji preparatów Liquozyme Supra + AMG 300 L — 20,6%. Przedstawiona metoda niskotemperaturowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej, wykorzystująca handlowe preparaty enzymów amylolitycznych w typowych dawkach przemysłowych, może być z powodzeniem stosowana do otrzymywania różnych rodzajów hydrolizatów skrobiowych o składzie cukrów charakterystycznym dla użytych rodzajów enzymów.

Słowa kluczowe: enzymy amylolityczne, hydroliza, skrobia ziemniaczana nieskleikowana

Study on the determination of the effect of liquefying and saccharifying enzyme preparations on the efficiency of the hydrolysis of potato starch at a temperature below the gelatinization temperature. Hydrolysis of starch was carried out using different concentrations of an aqueous suspension of starch, i.e. 5, 10, 20 and 30%, subjected to the enzyme preparations (Liquozyme Supra — liquefying enzyme or Maltogenase 4000 L and AMG 300 L — saccharifying enzymes) that were used individually or in combination during the 24 h of reaction at temperatures of 30, 35, 40 and 45°C. Mass and concentration of the extract, reducing sugars content and yield indicator of hydrolysate were determined in the samples. Studies have shown that raising the reaction temperature from 30 to 45°C during hydrolysis carried out with use of Liquozyme Supra caused almost six-fold increase in the yield indicator of soluble

component, i.e. from 2.9 to 17.1%. The highest yields were obtained using a suspension of starch at a concentration of 20%. Taking into account all used combinations of enzymes the highest yield indicator was obtained during the hydrolysis carried out in combination of preparations Liquozyme Supra + AMG 300 L — 20.6%. The presented method of low-temperature hydrolysis of starch, using commercial preparations of amylolytic enzymes in typical industrial dosages can be successfully applied to obtain of various types of starch hydrolysates with sugar compositions typical for the applied enzymes.

Key words: amylolytic enzymes, hydrolysis, non-gelatinized potato starch

WSTĘP

Konwencjonalna hydroliza skrobi polega na upłynnieniu i scukrzeniu wstępnie skleikowanej skrobi w wysokiej temperaturze. Proces kleikowania skrobi jest wysoce energetyczny, co wpływa na koszt produktu gotowego. Zmniejszenie zużycia energii i redukcję kosztu produkcji można uzyskać stosując nowe technologie, polegające na bezpośrednim działaniu enzymami amylolitycznymi na surowe ziarna skrobiowe w temperaturze poniżej jej temperatury kleikowania. Literatura opisuje badania enzymatycznej, niskotemperaturowej hydrolizy skrobi surowej, prowadzonej przy zastosowaniu różnych preparatów enzymatycznych lub enzymów uzyskanych laboratoryjnie. Vikso-Nielsen i in. (2006) prowadzili hydrolizę skrobi pszennej w temperaturze 60°C mieszaniną enzymów: alfa-amylazy (*Anoxybacillus contaminans*) i glukoamylazy (*Aspergillus niger*). Shariff i in. (2009) stosowali enzymatyczną hydrolizę skrobi tapiokowej i ziemniaczanej mieszaniną alfa-amylazy (*Aspergillus kawachii*) i glukoamylazy (*Aspergillus niger*) w temperaturze 35°C. Kim i in. (2008) prowadzili hydrolizę różnych skrobi (kukurydzianej, ziemniaczanej, ryżowej), stosując następujące enzymy: alfa-amylazę (*Bacillus subtilis*), glukoamylazę (*Aspergillus niger*) i beta-amylazę (ze słodkich ziemniaków) w temperaturach 37, 25 i 40°C. Puspasari i in. (2011) skrobię różnego pochodzenia botanicznego (kukurydza, kasawa, sago, ziemniak, ryż) poddawali hydrolizie w temperaturze 50°C przy zastosowaniu alfa-amylazy (*Bacillus aquimaris* MKSC 6.2). Liakopoulou-Kyriakides i in. (2001) prowadzili hydrolizę skrobi kukurydzianej w temperaturach 40, 50 i 60°C, stosując bakteryjną alfa-amylazę (*B. licheniformis*) i pleśniową glukoamylazę (*Rhizopus*). Vidal i in. (2009) prowadzili hydrolizę skrobi kukurydzianej w temperaturze 60°C, wykorzystując handlowy preparat enzymatyczny GSHE (mieszanina alfa-amylazy i glukoamylazy f-mj Novozyme, Franklinton, NC, USA). Tawil i in. (2012) hydrolizowali skrobię kukurydzianą w temperaturze 61°C, stosując alfa-amylazę (*Anoxybacillus flavothermus*). Liakopoulou-Kyriakides i in. (2001) prowadzili hydrolizę skrobi kukurydzianej w temperaturach 40, 50 i 60°C, stosując alfa-amylazę (*B. licheniformis*) i pleśniową glukoamylazę (*Rhizopus*). Sirakarya i in. (2000) działali na skrobię naturalną, uzyskaną z różnych roślin, enzymami alfa-amylazą (*Bacillus amyloliquefaciens*) i beta-amylazą (*Bacillus cereus*) w temperaturze 45°C. O'Brien i Wang (2008) działali alfa-amylazą (*Bacillus amyloliquefaciens*) i glukoamylazą (*Aspergillus niger*) w temperaturze 50°C. Sarian i in. (2012) działali na skrobie różnego pochodzenia botanicznego (pszenna, tapiokowa, ziemniaczana), stosując enzym wyizolowany ze szczepu *Microbacterium aurum* B8.A w temperaturze 37°C.

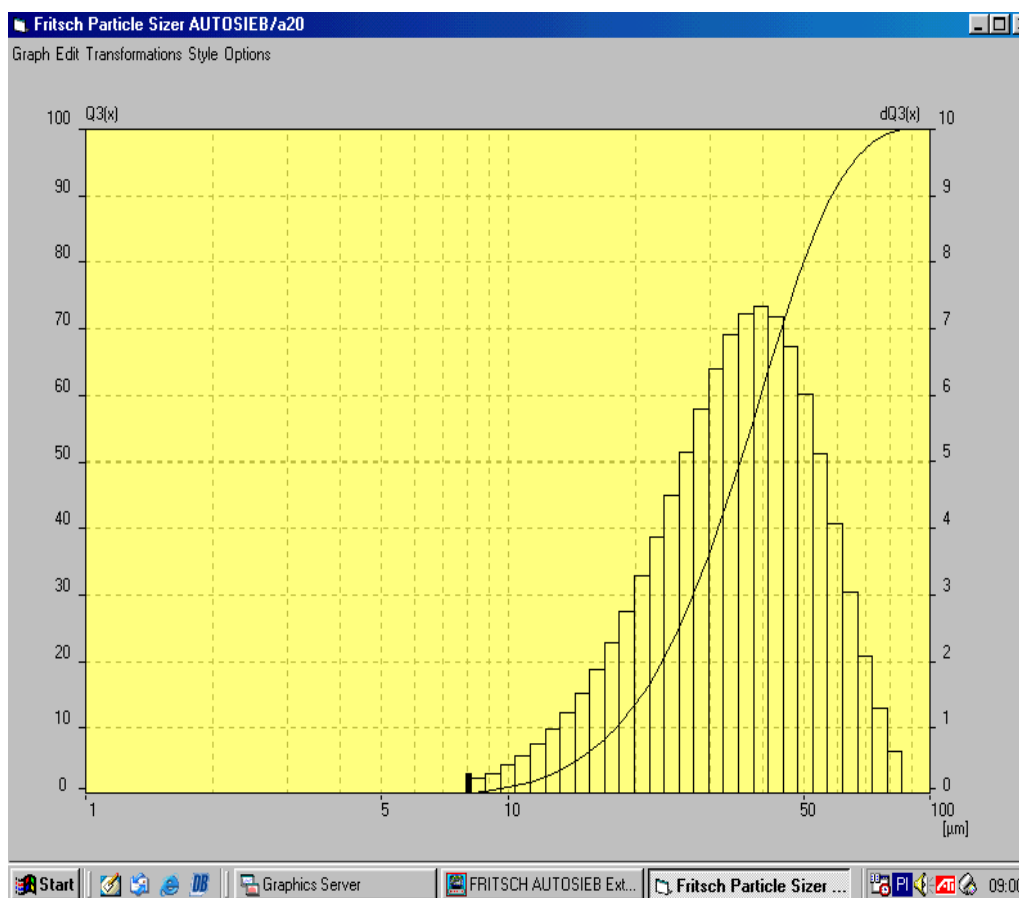
Niżej opisane badania dotyczyły enzymatycznej hydrolizy skrobi ziemniaczanej w formie wodnej zawiesiny przy zastosowaniu powszechnie dostępnych w handlu preparatów enzymów amylolitycznych.

Celem pracy było określenie wpływu upłynniających i scukrzających preparatów enzymatycznych na wydajność procesu hydrolizy skrobi ziemniaczanej, w temperaturze poniżej temperatury kleikowania.

MATERIAŁ I METODY

Surowiec

Jako surowiec stosowano skrobię ziemniaczaną o granulacji podanej na rysunku 1., wyprodukowaną przez Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego w Niechlowie.



Rys.1. Granulacja skrobi ziemniaczanej (fotosedymentograf Analysette 20 — f-ma Fritsch)
Fig. 1. Particle size of potato starch (Fritsch photo-sedimentograph, model Analysette 20)

Preparaty enzymatyczne

W pracy stosowano następujące preparaty enzymatyczne f-my Novozymes:

- enzym upłynniający — alfa-amylaza (Liquozyme Supra) w dawce 62 KNU/g s.s. skrobi,
- enzym maltogenny — alfa-amylaza maltogenna (Maltogenase 4000 L) w dawce 2400 MANU/g s.s. skrobi,
- enzym glukogenny —glukoamylaza (AMG 300 L) w dawce 180 AGU/g s.s. skrobi.

Hydroliza

Enzymatyczną hydrolizę skrobi ziemniaczanej w formie wodnej zawiesiny o pH 5,3 i różnych stężeniach (5, 10, 20 i 30% s.s.), w warunkach laboratoryjnych, prowadzono stosując enzymy pojedynczo lub w kombinacjach, w temperaturach 30, 35, 40 i 45°C przez okres 24 h. Reakcję kończono, stosując kwasową inaktywację enzymu, a następnie uzupełniano próbkę do masy początkowej przez dodatek wody destylowanej. Próbkę przetrzymywano w kolbce w temperaturze pokojowej (20°C) przez 10 minut, a następnie wytrząsano przez 1 minutę i rozdzielano pod próżnią na lejku Büchnera. Na sączku oddzielano składniki rozpuszczalne (*hydrolizat I*) od nierozpuszczalnych (*osad I*). W *hydrolizacie I* oznaczano masę L_1 (g) oraz stężenie suchej substancji M_1 (%), następnie *osad I* ekstrahowano dziewięciokrotnie — w stosunku do osadu — ilością wody destylowanej (20°C) i ponownie rozdzielano na lejku Büchnera, gdzie oddzielano kolejne składniki rozpuszczalne (*hydrolizat II*) od nierozpuszczalnych (*osad II*). Z kolei, w *hydrolizacie II* oznaczano masę L_2 (g) oraz stężenie suchej substancji M_2 (%). Określano wydajność procesu niskotemperaturowej hydrolizy skrobi poprzez oznaczenie masy (g) i stężenia hydrolizatu (%) wg PN-78/A-74701, cukrów redukujących (%) wg PN-78/A-74701 oraz obliczenie wskaźnika uzysku (%). Wskaźnik uzysku, dla danej masy próby (125 g), obliczano wg wzoru (Zielonka i in. 2010) :

$$w_u = \frac{M_1 L_1 + 0,1(125 - L_1) M_2 L_2}{S} [\%],$$

na podstawie rozpuszczalnej części hydrolizatu, po oddzieleniu nierozpuszczalnej części „pozostałej” skrobi.

gdzie: w_u — wskaźnik uzysku (%),

L_1, L_2 — masa hydrolizatu (g),

M_1, M_2 — stężenie suchej substancji hydrolizatu (%),

125 — masa próby (g),

0,1 — mnożnik (wynikający z rozcieńczenia),

S — masa suchej substancji skrobi (g),

Uzyskane wyniki stanowią średnią z trzech powtórzeń.

Ponadto, posługując się mikroskopem elektronowym (SEM) określono zmiany morfologii ziarenek skrobi poddanych działaniu enzymu alfa-amylazy (45°C, 24 h, 20% skrobi w zawieszynie). Skład węglowodanowy uzyskanych hydrolizatów określano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy zastosowaniu kolumny f-my Bio-Rad - Aminex HPX-42A o wymiarach 300×7,8 mm oraz detektora refraktometrycznego, stosując wodę jako eluat (0,6 ml/min., 85°C).

Badanie mikroskopowe

Wysuszone ziarenka skrobiowe nakładano na dwustronną naklejkę węglową przymocowaną do stolika SEM, następnie próbę napyłano złotem w napyłarce jonowej (napięcie 250 V, czas napyłania 240 s). Tak przygotowane próby obserwowano w elektro-nowym mikroskopie skaningowym ZEISS EVO 40 XVP przy napięciu 16 kV.

WYNIKI

Wyniki działania preparatu alfa-amylazy Liquozyme Supra na skrobię ziemniaczaną w formie wodnej zawiesiny o stężeniu 20% s.s., przy stosowaniu temperatur hydrolyzy — 30, 35, 40 i 45°C przez okres 24 h, przedstawia tabela 1. Zwiększenie temperatury hydrolyzy z 30 do 45°C powoduje ponad siedmiokrotne zwiększenie ekstraktu (od 0,4 do 2,92%), niemal siedmiokrotnie zwiększenie zawartości cukrów redukujących (od 0,07 do 0,47%) oraz prawie sześciokrotne zwiększenie wskaźnika uzysku (od 2,9 do 17,9%). Wpływ działania alfa-amylazy Liquozyme Supra na skrobię porównano z procesem jej termostatowania w formie wodnej zawiesiny (bez udziału enzymu). Wyniki wskazują na to, że stosowanie enzymu w temperaturze 45°C wpływa na prawie trzydziestokrotny wzrost ilości uzyskanego ekstraktu oraz blisko dziewiętnastokrotny wzrost wskaźnika uzysku w stosunku do skrobi termostatowanej w tej temperaturze. Wpływ termostatowania na wzrost zawartości ekstraktu i wskaźnika uzysku jest nieznaczny.

Tabela 1

Wpływ temperatury na wydajność procesu niskotemperaturowej hydrolyzy skrobi ziemniaczanej
Effect of temperature on the performance of low-temperature process of starch hydrolysis

Parametr Parameter	Temperatura (°C) Temperature (°C)			
	30	35	40	45
Termostatowanie (bez enzymu) Termostating procedure (without enzyme)				
Ekstrakt (%s.s.) Extract (%d.s.)	0,08	0,08	0,08	0,10
Wskaźnik uzysku (%) Yield indicator (%)	0,72	0,73	0,73	0,91
Hydrolizowanie (z enzymem) Hydrolysis procedure (with enzyme)				
Ekstrakt (%s.s.) Extract (%d.s.)	0,4	0,5	1,13	2,92
Cukry redukujące (%) Reducing sugars (%)	0,07	0,10	0,20	0,47
Wskaźnik uzysku (%) Yield indicator (%)	2,9	3,4	9,6	17,1

Parametry procesu :

substrat – zawiesina skrobi ziemniaczanej (20% s.s.)

pH — 5,3, czas — 24 h

dawka enzymu Liquozyme Supra — 62 KNU/g s.s. skrobi

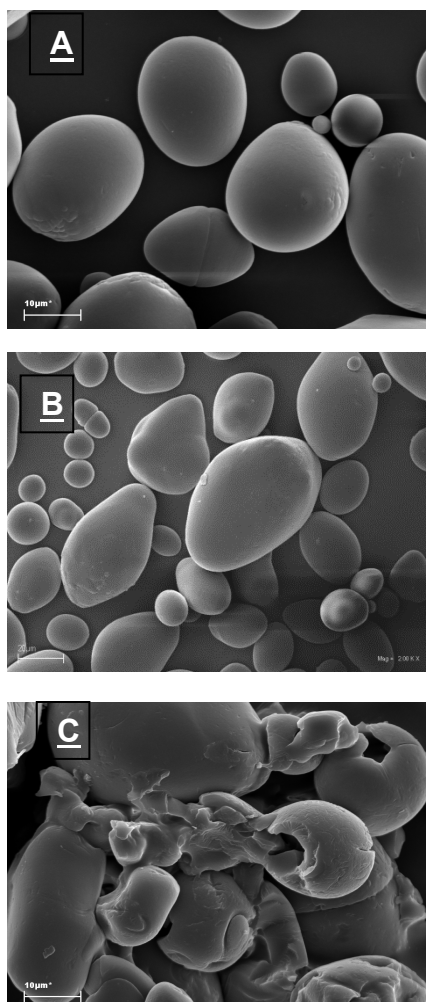
Process parameters :

substrate - suspension of potato starch (20% d.s.)

pH — 5.3, time 24 h

enzyme dosage Liquozyme Supra — 62 KNU/ g d.s. starch

Wpływ alfa-amylazy na morfologię ziarna skrobi przedstawiają zdjęcia mikroskopowe (rys. 2). Zauważalna jest różnica między skrobią naturalną „A”, termostatowaną „B” a poddaną działaniu enzymu przy zachowaniu tych samych parametrów (45°C, 24 h, 20% skrobi w zawieszynie). Powierzchnia ziarna skrobi, poddanej działaniu alfa-amylazy, jest naruszona, widoczne są znaczne ubytki ziarna. Podobne wyniki uzyskiwali inni badacze (Brien i Wang, 2008; Shariff i in., 2009; Puspasari i in., 2011).



Rys. 2. Fotografie mikroskopowe (SEM) skrobi naturalnej (A), termostatowanej (B) i skrobi poddanej działaniu alfa-amylazy (C) w temperaturze 45°C

Fig. 2. Microscopic photography of native starch (A), starch treated after thermostating procedure (B), starch treated with alpha-amylase (C) at temperature 45°C

Wpływ stężenia skrobi na wydajność procesu niskotemperaturowej hydrolizy skrobi przedstawia tabela 2. Badania prowadzono w wybranej temperaturze — 45°C, tj.

w najwyższej możliwej temperaturze poniżej kleikowania, a nawet pęcznienia ziarenek skrobi ziemniaczanej (Nowotny, 1972), stosując różne koncentracje skrobi (5,10, 20 i 30% s.s.) z dodatkiem enzymu, jak i bez jego dodatku (tylko termostatowanie). Wzrost stężenia skrobi z 5 do 30% s.s. wpływa na ok. pięciokrotny wzrost suchej substancji ekstraktu zarówno w próbach bez dodatku enzymu, jak i z dodatkiem enzymu. Tendencję wzrostową, w miarę wzrostu stężenia skrobi w zawiesinie wodnej, można zauważyć także w odniesieniu do zawartości cukrów redukujących w próbach poddanych działaniu alfa-amylazy. Wskaźniki uzysku w próbach o stężeniu skrobi od 5 do 30% s.s. są zbliżone (od 15,7 do 17,1), jednak najwyższą wartość uzyskano w przypadku hydrolizy skrobi prowadzonej w stężeniu 20%.

Tabela 2

Wpływ stężenia skrobi na wydajność procesu niskotemperaturowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej
Effect of starch concentration on the performance of low-temperature process of starch hydrolysis

Parametr Parameter		Stężenie skrobi (%) Starch concentration (%)			
		5	10	20	30
Termostatowanie (bez enzymu) Termostating procedure (without enzyme)					
Ekstrakt Extract	(%s.s.) (%d.s.)	0,03	0,05	0,1	0,14
Wskaźnik uzysku Yield indicator	(%)	0,3	0,5	0,9	1,1
Hydrolizowanie (z enzymem) Hydrolysis procedure (with enzyme)					
Ekstrakt Extract	(%s.s.) (%d.s.)	0,78	1,68	2,92	4,14
Cukry redukujące Reducing sugars	(%)	0,1	0,25	0,47	1,03
Wskaźnik uzysku Yield indicator	(%)	15,7	14,3	17,1	15,4

Parametry procesu:

substrat — zawiesina skrobi ziemniaczanej

pH — 5,3, czas — 24 h, temperatura — 45°C

dawka enzymu Liquozyme Supra — 62 KNU/g s.s. skrobi

Process parameters:

substrate - suspension of potato starch

pH — 5.3, time — 24 h, temperature — 45°C

enzyme dosage Liquozyme Supra — 62 KNU/ g d.s. starch

Dalsze badania kontynuowano przy stosowaniu stężenia skrobi 20% s.s., w temperaturze reakcji 45°C, przy użyciu różnych enzymów stosowanych pojedynczo lub w kombinacjach. Tabela 3 przedstawia wpływ rodzaju preparatu enzymatycznego na wydajność procesu niskotemperaturowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej. Zastosowanie pojedynczych enzymów jest nieco mniej efektywne niż stosowanie ich w kombinacji.

Podczas hydrolizy pojedynczymi enzymami otrzymano najwyższy wskaźnik uzysku przy zastosowaniu alfa-amylazy (Liquozyme Supra). Wynik ten był o kilkanaście punktów procentowych wyższy, tj. prawie czterokrotnie wyższy niż w przypadku zastosowania amylazy maltogennej (Maltogenase 4000 L) i prawie sześciokrotnie wyższy niż w

przypadku zastosowania glukoamylazy (AMG 300 L). Hydroliza skrobi pod wpływem kombinacji enzymów: alfa-amylaza + amylaza maltogenna lub alfa-amylaza + glukoamylaza — prowadziła do uzyskania nieco wyższego wskaźnika uzysku (o kilka punktów procentowych) niż w przypadku stosowania jedynie alfa-amylazy.

Tabela 3

Wpływ rodzaju preparatu enzymatycznego na wydajność procesu niskotemperaturowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej
Influence of the type of enzyme preparation on performance of low-temperature process of starch hydrolysis

Preparat enzymatyczny Enzyme preparation	Ekstrakt Extract (%)	Cukry redukujące Reducing sugar (%)	Wskaźnik uzysku Yield indicator (%)
Liquozyme Supra	2,92	0,75	17,1
Maltogenase4000L	1,10	0,50	4,3
AMG 300 L	0,61	0,53	2,8
Liquozyme Supra + Maltogenase 4000 L	3,55	1,67	18,2
Liquozyme Supra + AMG 300 L	3,28	3,26	20,6

Parametry procesu :

substrat — zawiesina skrobi ziemniaczanej (20% s.s.)

pH — 5,3, czas — 24 h, temperatura — 45°C

dawka enzymu: Liquozyme Supra — 62 KNU/g s.s. skrobi

Maltogenase 4000 L — 2400 MANU/g s.s. skrobi

AMG 300 L — 180 AGU/g s.s. skrobi

Process parameters :

substrate - a suspension of potato starch (20% d.s.)

pH — 5.3, time — 24 h, temperature — 45°C

enzyme dosage : Liquozyme Supra — 62 KNU / g d.s. starch

Maltogenase 4000 L — 2400 MANU / g d.s. starch

AMG 300 L — 180 AGU / g d.s. starch

Skład węglowodanowy uzyskanych hydrolizatów skrobi ziemniaczanej, przedstawia tabela 4. Skład ten jest typowy i charakterystyczny dla stosowanych rodzajów enzymów.

Tabela 4

Skład węglowodanowy uzyskanych hydrolizatów
Carbohydrate composition of the obtained hydrolysates

Preparat enzymatyczny Enzyme preparation	Węglowodany — Carbohydrates						
	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄	G ₅	G ₆	G _n
Liquozyme Supra	8,2	16,5	16,4	4,5	36,9	6,2	11,3
Maltogenase4000L	4,4	78,2			1,9		15,6
AMG300L	100						
Liquozyme Supra + Maltogenase 4000 L	14,0	63,0	1,7	1,5	2,7	2,4	14,7
Liquozyme Supra + AMG300L	100						

Parametry procesu:

substrat — zawiesina skrobi ziemniaczanej (20% s.s.)

pH — 5,3, czas — 24 h, temperatura — 45°C

dawka enzymu: Liquozyme Supra — 62 KNU/g s.s. skrobi

Maltogenase 4000 L — 2400 MANU/g s.s. skrobi

AMG 300 L — 180 AGU/g s.s. skrobi

Process parameters:

substrate — a suspension of potato starch (20% d.s.)

pH — 5.3, time — 24 h, temperature — 45°C

enzyme dosage: Liquozyme Supra — 62 KNU / g d.s. starch

Maltogenase 4000 L — 2400 MANU / g d.s. starch

AMG 300 L — 180 AGU / g d.s. starch

DYSKUSJA

Literatura wskazuje na możliwość rozkładu hydrolitycznego skrobi w wyniku działania enzymów amylolitycznych w temperaturze poniżej temperatury kleikowania.

Shariff i in. (2009) sugerują, że łagodna obróbka cieplna skrobi (tapioka) pozwala na spęcznienie i otworzenie małych porów lub szczelin na powierzchni ziarenek, które ułatwiają dostęp enzymu do ich wnętrza. Utrzymywanie skrobi w temperaturze 60°C przez 30 min. powoduje częściowo nieodwracalne rozszerzenie części amorficznej ziarenek skrobi, czego wynikiem jest łatwiejszy dostęp enzymu do skrobi. Występujące w tym czasie lekkie spęcznienie ziarenek wywołuje powiększenie naturalnie obecnych otworów i wewnętrznych ubytków w ziarnach skrobi, które pozwalają łatwiej przenikać enzymom do wnętrza. Taki mechanizm rozkładu hydrolitycznego skrobi poniżej temperatury kleikowania potwierdzają również badania Juszcak i in. (2003). Badania Haska i Ohta (1992) wykazują, że działanie enzymu na skrobię (sago) poniżej temperatury kleikowania jest korzystniejsze w niższych wartościach pH. Wielu autorów stwierdza, że szybkość amylolizy skrobi naturalnej jest odwrotnie proporcjonalna do wielkości ziarenek skrobi (Franco i in., 1992; Guraya i in., 2001; Kong i in., 2003).

Ziarenka skrobi posiadają stosunkowo sztywną strukturę, a dodatkowo kilka czynników, takich jak struktura krystaliczna, obecność pęknięć i porów, a także wielkość może przyczynić się do względnej oporności ziarenka na degradację enzymatyczną (Heitmman i in., 1997; Kong i in., 2003; Tester i in., 2004). Duże ziarenka skrobi mają mniejszą względną powierzchnię niż małe, co zmniejsza możliwość absorpcji enzymów, zmniejszając możliwość ulegania degradacji (Noda i in., 2005; MacGregor i Balance, 1980; Al.-Rabadi, 2009).

Degradacja ziarenka skrobi enzymami zależy od pochodzenia botanicznego skrobi. Ziarenka skrobi ziemniaczanej są znacznie trudniej degradowane enzymatycznie niż ziarenka skrobi pszennej czy tapiokowej (Sarian i in., 2012). Przyczyną jest ich struktura krystaliczna (typ B), duża zawartość wody, grubsze i większe pierścienie wzrostu (krystaliczno-amorficznych części), a także znaczna średnia długość łańcuchów amylopektyny (Gerard i in., 2001).

Jak wynika z literatury, badacze zajmują się podatnością różnych rodzajów skrobi na działanie enzymów amylolitycznych w temperaturze poniżej oraz w obrębie temperatury kleikowania. W badaniach tych, jak dotąd, nie uwzględniano wpływu enzymów na uzysk rozpuszczalnych produktów hydrolizy skrobi.

W przedstawionych badaniach przyjęto stały czas hydrolizy — 24 h, który jest wystarczający dla wszystkich rodzajów enzymów, chociaż w przypadku stosowania alfa-amylazy, szczególnie w produkcji maltodekstryn — jest nadmierny. Stosowane w praktyce przemysłowej czasy hydrolizy są różne w zależności od użytych rodzajów enzymów i ich kombinacji, a więc rodzaju hydrolizatu, jaki pragnie się uzyskać. Dlatego wykorzystanie wyników niniejszej pracy, dla danego przypadku hydrolizy (rodzaju zastosowanego enzymu lub ich kombinacji) wymaga przeprowadzenia optymalizacji czasu hydrolizy.

W badaniach maksymalny wskaźnik uzysku wyniósł 20,6%. Prezentowana metoda niskotemperaturowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej, charakteryzująca się wydajnością

procesu na poziomie ok. 20%, wykorzystująca handlowe preparaty enzymów amylolitycznych w typowych dawkach przemysłowych, nadaje się do otrzymywania różnych rodzajów hydrolizatów skrobiowych o składzie cukrów charakterystycznym dla stosowanych rodzajów enzymów. Pozostałe, częściowo przemienione ziarenka skrobi ziemniaczanej, które nie uległy hydrolizie, mogą być w niektórych przypadkach wykorzystane tak samo jak skrobia naturalna, chociaż wymaga to przeprowadzenia badań aplikacyjnych.

WNIOSKI

1. Istnieje możliwość wytwarzania hydrolizatów skrobiowych z wykorzystaniem działania powszechnie dostępnych handlowych preparatów enzymatycznych na nieskleikowaną skrobię ziemniaczaną.
2. Skład cukrowy uzyskanych hydrolizatów, w temperaturze poniżej temperatury kleikowania, kwalifikuje je do produkcji różnych rodzajów hydrolizatów o składzie cukrów charakterystycznym dla stosowanych enzymów.
3. Działanie enzymów na skrobię ziemniaczaną zmienia jej morfologię.
4. Przedstawiona metoda niskotemperaturowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej, wykorzystująca handlowe preparaty enzymatyczne w typowych dawkach przemysłowych, charakteryzuje się wydajnością procesu na poziomie ok. 20%.

LITERATURA

- Al. Rabadi G. J. S., Gilbert R. G., Gidley M. J. 2009. Effect of particle size on kinetics of starch digestion in milled barley and sorghum grains by porcine alpha-amylase. *Journal of Cereal Science* 50: 198 — 204.
- Franco C. M. L., Preto S. J. R., Ciacco C. F. 1992. Factors that affect the enzymatic degradation of natural starch granules — effect of the size of the granules. *Starch/Stärke* 44: 422 — 426.
- Gerard C., Colonna P., Buléon A., Planchot V. 2001. Amylolysis of maize mutant starches. *Journal of Science and Food Agriculture* 81: 1281 — 1287.
- Guraya H.S., James C., Champagne E.T. 2001. Effect of cooling, and freezing on the digestibility of debranched rice starch and physical properties of the resulting material. *Starch/Stärke*, 53: 64 — 74
- Haska N., Ohta Y. 1992. Mechanism of hydrolysis of treated sago starch granules by starch digesting amylase from *Penicillium brunneum*. *Starch/Stärke* 44: 25 — 28.
- Heitmann T., Wenzig E., Mersmann A. 1997. Characterization of three different potato starches and kinetics of their enzymatic hydrolysis by an alpha -amylases. *Enzyme and Microbial Technology* 20: 259 — 267.
- Juszczak L., Fortuna T., Krok F. 2003. Non - contact atomic force microscopy of starch granules surface: Part I. Potato and tapioca starches. *Starch/Stärke* 55: 1 — 7.
- Kong B. W., Kim J. I., Kim M. J., Kim J. C. 2003. Porcine pancreatic α -amylase hydrolysis of native starch granules as function of granule surface area. *Biotechnol. Prog* 19:1162 — 1166.
- Kim J.C., Kong B.W., Kim M.J., Lee S.H. 2008. Amylolytic hydrolysis of native starch granules by granule surface area. *Journal of Food Science* 73, 9: 621 — 624.
- Liakopoulou — Kyriakides M., Karakatsanis A., Stamatoudes M., Psomas S. 2001. Synergistic hydrolysis of crude corn starch by α -amylases and glucoamylases of various origins. *Cereal Chemistry* 78, 5: 603 — 607.
- MacGregor A.W., Balance D. L. 1980. Hydrolysis of large and small starch granules from normal and waxy barley cultivars by alpha- amylase from barley malt. *Cereal Chemistry* 57: 397 — 402.

- Noda T., Takigawa S., Matsuura-Edo C., Kim S. J., Hashimoto N., Takeda Y. 2005. Physicochemical properties and amylopectin structures of large, small and extremely small potato starch granules. *Carbohydrate Polymers* 60: 245 — 252.
- Nowotny F. 1972. *Technologia Przetwórstwa Ziemniaczanego*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne. Warszawa.
- O'Brien S., Wang Y. J. 2008. Susceptibility of annealed starches to hydrolysis by α -amylase and glucoamylase. *Carbohydrate Polymers* 72: 597 — 607.
- Puspasari F., Nurachman Z., Noer A., S., Radjasa O.K., van der Maarel M. J. E. C., Dessy N. 2011. Characteristics of raw starch degrading α -amylase from *Bacillus aquimaris* MKSC 6.2 associated with soft coral *Simularia* sp. *Starch/Stärke* 63, 8: 461 — 467.
- Shariff Y. N., Karim A. A., Fazilah A., Zaidull S. M. 2009. Enzymatic hydrolysis of granular native and mildly heat — treated tapioca and sweet potato starches at sub- gelatinization temperature. *Food Hydrocolloids* 23: 434 — 440.
- Sarykaya E., Higasa T., Adachi M., Mikami B. 2000. Comparison of degradability abilities of α - and β - amylases on starch granules. *Process Biochemistry* 35: 711 — 715.
- Sarian F. D., van der Kaaij R. M., Kralj S., Wijbenga D. J., Binnema D. J., van der Maarel M. J. E. C., Dijkhuizen L. 2012. Enzymatic degradation of granular potato starch by *Microbacterium aurum* strain B8.A. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93: 645 — 654.
- Sarbatly R. 2007. The simultaneous enzymatic hydrolysis of tapioca starch for instant formation of glucose. *Journal of Applied Sciences* 7, 15: 2057 — 206.
- Tawil G., Vikso-Nielsen A., Rolland-Sabate A., Colonna P., Buleon A. 2012. Hydrolysis of concentrated raw starch: A new very efficient α -amylase from *Anoxybacillus flavothermus*. *Carbohydrate Polymers*. 87: 46 — 52.
- Tester R. F., Karkalas J., Qi X. 2004. Starch structure and digestibility enzyme — substrate relationship. *World's Poultry Science Journal* 60: 186 — 195.
- Vikso-Nielsen A., Andersen C., Hoff T., Petersen S. 2006. Development of new α -amylases for raw starch hydrolysis. *Biocatalysis and Biotransformation*. 24, 1/2: 121 — 127.
- Vidal Jr. B. C., Rausch K. D., Tumbleson M. E., Singh V. 2009. Kinetics of granular starch hydrolysis in corn dry grind process. *Starch/Stärke* 61: 448 — 456.
- Zielonka R., Jarosławski L., Słomińska L. 2010. Opracowanie i porównanie metod oznaczania wydajności hydrolizy skrobi. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 557: 423 — 433.