

WOJCIECH KRZYŻANIAK, TOMASZ JANKOWSKI, WŁODZIMIERZ GRAJEK

**OPTYMALIZACJA PARAMETRÓW HYDROLIZY
ENZYMATYCZNEJ SKROBI ZIEMNIACZANEJ POŁĄCZONEJ
Z PROCESEM EKSTRUZJI**

Streszczenie

Celem pracy była optymalizacja parametrów hydrolizy enzymatycznej skrobi ziemniaczanej połączonej z procesem ekstruzji.

Do hydrolizy użyto następujących preparatów enzymatycznych: α -amylazy bakteryjnej Termamyl S, Ban 480L oraz α -amylazy grzybowej Fungamyl 800L. Początkowo wykonano doświadczenia mające na celu dobranie parametrów pracy ekstrudera zapewniających dostateczne skleikowanie skrobi. Regulowano temperaturę w poszczególnych sekcjach ekstrudera oraz obroty elementów roboczych. Stwierdzono, że dopiero temperatura powyżej 100°C zapewniała dostateczne skleikowanie skrobi. Sprawdzone, czy w zastosowanych warunkach ekstruzji enzymy zachowują swoją hydrolityczną aktywność. Stwierdzono wzrost wielkości współczynnika DE wraz ze wzrostem dawki enzymu dodawanego do skrobi. Do dalszych ekstruzji wybrano enzymy o największej termoodporności czyli Termamyl S oraz Ban 480 L. Określono wpływ szybkości obrotów ślimaków, w zakresie 40–60 obr./min, oraz wilgotności początkowej skrobi, od 32 do 40%, na równoważnik glukozowy (DE) i ciśnienie osmotyczne badanych preparatów. Określono także skład chemiczny tych preparatów. Badania wykazały, że zastosowane warunki ekstruzji były wystarczające do częściowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej i do uzyskania produktów o niskim stopniu scukrzenia.

Słowa kluczowe: ekstruzja, skrobia ziemniaczana, hydroliza enzymatyczna, α -amylaza.

Wstęp

Ekstruzja jest rodzajem ciśnieniowego ekspandowania produktu. Polega na gwałtownym powiększeniu objętości cząstki na skutek jej szybkiego podgrzania do temperatury niezbędnej do zamiany wody w parę [8].

Prowadzi to do zwiększenia ciśnienia wewnątrz cząstki, a następnie do jej rozerwania i rozděcia na skutek braku możliwości swobodnego odparowania. Jest to również proces termoplastycznego wyłaczania surowca poddanego wcześniej obróbce mechanicznej [17].

Główną część roboczą ekstrudera stanowi komora ciśnieniowo-termiczna z ruchomym wałem, zwanym potocznie ślimakiem. Ze względu na ich liczbę ekstrudery dzieli się na jedno lub dwuślimakowe. W nowoczesnych maszynach proces ekstruzji oraz jego parametry są sterowane komputerowo [5, 21].

W czasie ekstruzji nawilżonej skrobi dochodzi do jej skleikowania i częściowej hydrolizy [12, 26]. Zaletą tego procesu jest krótkie działanie temperatury i możliwość dokładnego regulowania jego parametrów [18]. Ekstruzja wpływa na wzrost rozpuszczalności skrobi w temperaturze otoczenia pod warunkiem poddania jej działaniu sił ścinających w temp. powyżej 110°C. Wraz ze wzrostem temp. ekstruzji w zakresie od 90 do 210°C maleje także gęstość produktu i zwiększa się zdolność wiązania wody przez zmodyfikowaną skrobię [18]. W wyniku ochłodzenia płynna skrobia traci ciepło wraz z uchodzącą parą wodną. Materiał staje się twardszy, mniej plastyczny i traci swoją elastyczność na skutek tworzenia się żelu skrobiowego. Powstaje niejednorodna, porowata struktura o wytrzymałości zależnej od szybkości ochładzania produktu [12]. Właściwości ekstrudatu zależą również od składu chemicznego surowca skrobiowego, głównie proporcji między amylozą i amylopektyną oraz od zawartości lipidów [1, 16, 23].

Enzymy amylolityczne działają wyłącznie na skrobię skleikowaną [24]. W zawiesinach wodnych skrobi hydroliza enzymatyczna zachodzi już w temp. ok. 60–80°C, jednak przebiega ona z niewielką szybkością ze względu na niepełne upłynnienie skrobi, które wymaga ogrzania do temp. powyżej 100°C, najlepiej 140°C [22]. Badania nad enzymami amylolitycznymi, mającymi zastosowanie w przemysłowym przetwórstwie skrobi, są obecnie nastawione zarówno na poszukiwanie naturalnych źródeł termoodpornych enzymów, jak i na modyfikacje już znanych amylaz poprzez ukierunkowane mutacje lub też chemiczne modyfikacje tych białek [3, 20]. W literaturze wykazano możliwość obróbki hydrotermicznej skrobi z jednoczesnym działaniem enzymów, co umożliwiło otrzymanie produktów o ograniczonym zakresie hydrolizy, charakteryzujących się niskim równoważnikiem glukozowym DE [4, 7, 10, 15, 25]. Osiągane to jest dzięki krótkiemu działaniu obu czynników. Parametrami ekstrudera umożliwiającymi regulację stopnia hydrolizy skrobi są: obroty elementu roboczego regulujące czas hydrolizy oraz temperatura w poszczególnych sekcjach [5, 9]. Dodatkowo, duży wpływ na proces ma zawartość wody w surowcu przeznaczonym do ekstruzji oraz termoodporność i ilość użytego enzymu [11]. Wykorzystanie ekstruzji jako metody przygotowania skrobi do hydrolizy może umożliwić uzyskanie maltodekstryn odznaczających się nowymi właściwościami reologicznymi i teksturotwórczymi [23].

Celem pracy była optymalizacja parametrów hydrolizy enzymatycznej skrobi ziemniaczanej podczas procesu ekstruzji.

Materiał i metody badań

Skrobia ziemniaczana

Substratem użytym do ekstruzji była skrobia ziemniaczana Superior wyprodukowana w Zakładach Przemysłu Ziemniaczanego w Luboniu o zawartości suchej masy 89,8%.

Enzymy

Do badań zastosowano następujące preparaty enzymatyczne produkowane przez Novozymes, Dania:

- Termamyl Supra – mieszanina wyjątkowo stabilnych bakteryjnych α -amylaz (4-glukanohydrolaza- α -1,4-glukanu) produkowanych przez genetycznie zmodyfikowane szczepy z rodzaju *Bacillus*. Aktywność tego preparatu enzymatycznego wynosi 120 KNU/g, a optymalna temp. działania 105°C;
- Ban 480 – α -amylaza bakteryjna (α -1,4-D glukohydrolaza glukanu) produkowana przez *Bacillus amyloliquefaciens*. Aktywność tego preparatu enzymatycznego wynosi 480 KNU/g, a optymalna temp. działania 85°C;
- Fungamyl 800L α -amylaza grzybowa (α -1,4-D glukohydrolaza glukanu) produkowana przez *Aspergillus oryzae*. Aktywność tego preparatu enzymatycznego wynosi 800 FNU/g, a temp. działania 65°C.

Ekstruzja

Ekstruzję skrobi połączoną z jednoczesną hydrolizą enzymatyczną prowadzono w ekstruderze dwuślimakowym ZSK 25 WLE firmy Krupp Werner & Pfleiderer GmbH. Po uwzględnieniu suchej masy, materiał nawilżano wodą destylowaną do odpowiedniej wilgotności i mieszano w mieszarce laboratoryjnej w celu ujednoczenia materiału. Do wody wprowadzano odmierzoną dawkę preparatu enzymatycznego. Nawilżoną skrobię z preparatem enzymatycznym ekstrudowano w warunkach przedstawionych w tab. 1. Produkt powstały w procesie ekstruzji suszono w temp. 60°C przez 24 godz., w suszarce z obiegiem powietrza, a następnie mielono do postaci proszku.

Oznaczanie DE

Równoważnik glukozowy DE oznaczano metodą jodometryczną według PN-78/A-74701.

Oznaczanie cukrów metodą HPLC

Zawartość cukrów w hydrolizatach oznaczano za pomocą chromatografii cieczowej (HPLC). Wykonano analizę ilościową obecności cukrów wyższych i cukrów zawierających od jednego do ośmiu monomerów. Parametry oznaczenia: kolumna

Aminex HPX-42A o wymiarach 300 × 7,8 mm oraz detektor refraktometryczny IR. Prędkość elucji: 0,6 ml wody/min w temp. 70°C. Na kolumnę jednorazowo наносono 20 µl odpowiednio rozcieńczonej próby, uprzednio przefiltrowanej przez sączi z porami wielkości 0,45 µm (Millex HA) w celu usunięcia ewentualnych zanieczyszczeń.

Tabela 1

Warianty procesu ekstruzji.
Variants of the extrusion process.

Warianty procesu Variants of the process	Temperatura Temperature [°C]				Szybkość ślimaków [obr./min] Screw speed [rpm]
	Sekcja 1 Section 1	Sekcja 2 Section 2	Sekcja 3 Section 3	Głowica Die	
Wariant I Variant I	24	110	110	120	85
Wariant II Variant II	24	70	70	50	80

Oznaczanie rozpuszczalności ogólnej

Do kolby stożkowej o poj. 250 ml wsypywano 10 g szklanych perełek, dodawano 100 ml wody destylowanej o temp. 40°C oraz 6,4 g produktu. Tak przygotowaną próbę intensywnie mieszano przez 30 min w łaźni wodnej o temp. 60°C. Następnie 50 ml próby wirowano przez 10 min przy obrotach 210 × g. Po odwirowaniu pobierano 5 ml supernatantu i przenoszono do wyważonego naczynka wagowego ze spiralnie zwiniętym paskiem bibuły. Tak przygotowaną próbę suszono do stałej masy w temp. 100°C. Rozpuszczalność ogólną obliczono z równania:

$$R = \frac{(m_3 - m_1)(a + \rho V) \cdot 100}{(m_2 - m_1)(100 - w) \cdot a} \cdot 100 \quad [\%]$$

gdzie: m_1 – masa naczynka z bibułą [g],

m_2 – masa naczynka z bibułą i roztworem [g],

m_3 – masa naczynka z bibułą i roztworem po wysuszeniu [g],

a – naważka proszku [g],

V – objętość wody, w której rozpuszczono proszek [cm³],

w – wilgotność badanego proszku [%],

ρ – gęstość wody [g/cm³].

Ciśnienie osmotyczne

Oznaczania ciśnienia osmotycznego dokonywano za pomocą osmometru Marcel OS 3000, według zaleceń producenta. Pomiar polega na przechłodzeniu 100 µl próby do temp. -10°C, wzbudzeniu jej krystalizacji oraz rejestracji i analizie przebiegu

temperatury w czasie krystalizacji. Osmolalność roztworu wyrażona w mOsm/kg H₂O jest miarą ciśnienia osmotycznego.

Różnicowa kalorymetria skaningowa

Badania charakterystyki kleikowania skrobi w ekstrudowanych preparatach wykonano przy użyciu kalorymetru skaningowego Perkin-Elmer DSC 7 (Perkin-Elmer Co., Connecticut, USA). Próbki sproszkowanego ekstrudatu o masie ok. 5 mg umieszczano w aluminiowych naczynkach kalorymetrycznych o pojemności 20 µl, dokładnie ważono, dodawano dwukrotnie większą masę wody od masy preparatu, zamykano hermetycznie i pozostawiano na 1 godz. w celu nawilżenia. Następnie próbki ogrzewano w kalorymetrze w zakresie temp. 20–100°C z szybkością wzrostu temperatury 10 K/min. Jako wzorzec odniesienia stosowano puste, identyczne naczynko kalorymetryczne. Z termogramów kleikowania skrobi wyznaczano temperaturę pikową T_p oraz entalpię przemiany ΔH (J/g) odniesioną do suchej masy próbki. Dodatkowo, w celu porównawczej oceny stopnia skleikowania skrobi w ekstrudatach wykonano analizę kleikowania natywnej skrobi ziemniaczanej.

Analiza statystyczna

Wykonano dwuczynnikową analizę wariancji na poziomie istotności $\alpha = 0,05$, aby wykazać istotność wpływu wilgotności skrobi i obrotów ślimaków ekstrudera na DE oraz ciśnienie osmotyczne ekstrudatów. Posłużono się w tym celu programem Statistica 6.0. Wszystkie eksperymenty wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Skrobia ziemniaczana jest najczęściej hydrolizowana w reaktorach do maltodekstryn za pomocą dwustopniowej hydrolizy enzymatycznej, trwającej około 73 godz., z koniecznością dwukrotnej regulacji temp. z około 95–140°C do 60–95°C oraz zmiany pH z 6,5 do 4 [2]. Drugą powszechnie stosowaną metodą hydrolizy skrobi ziemniaczanej jest hydroliza kwasowa trwająca około 60 min, wymagająca dwukrotnej regulacji temperatury procesu [2]. Alternatywą przedstawionych metod może być ekstruzja skrobi połączona z hydrolizą enzymatyczną.

Pierwszy etap doświadczeń miał na celu dobór warunków procesu, które należy zastosować w procesie hydrolizy enzymatycznej prowadzonej w ekstruderze. Ze względu na krótki czas przebywania surowca skrobiowego w ekstruderze, wynoszący od 30 do 60 s i konieczność przeprowadzenia w tym czasie skleikowania skrobi oraz jej hydrolizy, użyte enzymy powinny charakteryzować się odpowiednią odpornością termiczną i wysoką aktywnością w temperaturze procesu. Enzymy inaktywowano termicznie przez podwyższenie temperatury w głowicy ekstrudera.

Warunki termiczne procesu dobrano tak, aby nie powodowały utraty aktywności enzymu w sekcjach roboczych ekstrudera. Zastosowano dwa warianty procesu ekstruzji (tab.1). Pierwszy w wyższej temperaturze dla enzymów Termamyl S i Ban

480 L oraz drugi dla enzymu Fungamyl 800L, o mniejszej termoodporności. We wszystkich doświadczeniach wilgotność skrobi wynosiła 35%.

Na podstawie badań DSC (tab. 2) preparatów skrobi ekstrudowanej bez enzymów stwierdzono, że jedynie ekstruzja w wyższej temperaturze umożliwiła pełne skleikowanie skrobi. Świadczy o tym brak przemiany kleikowania na termogramach DSC.

Tabela 2

Temperatura pików przemiany DSC, entalpia, oraz stopień skleikowania skrobi natywnej i skrobi ekstrudowanej.

DSC peak transition temperature, enthalpy, and degree of gelatinisation of the native starch and extruded starch.

Próba Sample	Temperatura pików przemiany Peak transition temperature [°C]	Entalpia kleikowania Gelatinisation enthalpy ΔH [J/g s/s]	Skleikowanie skrobi Starch gelatinisation [%]
Skrobia natywna Native starch	67,0	12,0	0
Ekstrudowana w. I Extruded v. I	brak przemiany no transition	0	100
Ekstrudowana w. II Extruded v. II	67,0	9,3	22,3

W procesie ekstruzji w niższej temperaturze wykazano, że skleikowało zaledwie około 22% skrobi pomimo dłuższego czasu ekstruzji (tab. 2). Powyższe obserwacje potwierdzają decydującą rolę wody w przebiegu zjawisk kleikowania skrobi. Temperaturowy zakres procesu kleikowania, a także charakter procesu jest inny, gdy skrobia jest nawilżona powyżej 70% i inny, gdy jej wilgotność jest mniejsza niż 35–40% [13]. W tym drugim zakresie wilgotności, odpowiadającym procesom ekstruzji, skrobia ulega przemianie interpretowanej jako topnienie krystalitów na zasadzie podobieństwa do stapiania syntetycznych krystalicznych polimerów, gdzie ilość rozpuszczalnika decyduje o ich temperaturze topnienia [6].

W kolejnych badaniach sprawdzono, czy w wytypowanych warunkach ekstruzji (tab. 1) enzymy wykazują hydrolityczną aktywność. Zarówno w przypadku enzymów Termamyl S i Ban 480 L, zastosowanych w ekstruzji w wyższej temperaturze, jak i pozostałego enzymu użytego w niższej temperaturze, stwierdzono wzrost wartości liczbowej współczynnika DE wraz ze wzrostem dawki enzymu dodawanego do skrobi (tab. 3). Taka tendencja w przypadku skrobi nie w pełni skleikowanej przy zastosowanych parametrach ekstruzji może świadczyć, że doszło do częściowej

Tabela 3

Wskaźnik DE oraz rozpuszczalność preparatów skrobi otrzymanych w procesie ekstruzji z udziałem enzymów Termamyl S, Ban 480L oraz Fungamyl 800L.

Dextrose equivalent values and solubility of starch preparations extruded using enzymes Termamyl S, Ban 480L and Fungamyl 800L.

Enzym Enzyme	Dawka Dose [KNU]	DE	Rozpuszczalność Solubility [%]
Termamyl S	36	3	90,1
	72	5	90,3
	144	6	93,7
	288	9,7	94,5
	720	13	95
Ban 480 L	280,8	5	65,2
	561,6	7,8	73,8
	1123,2	9,9	80,6
Fungamyl 800 L	1840	8,9	43,5
	4600	9,7	48,6
	7360	12,4	52,6

hydrolizy. Jednakże otrzymane preparaty mogły cechować się słabą rozpuszczalnością.

Rozpuszczalność preparatów rosła wraz ze wzrostem ilości enzymu dodanego do skrobi i wynosiła w przypadku Termamylu S od 90,1 do 95%. Rozpuszczalność ekstrudatów wyprodukowanych z enzymem Ban 480 L wynosiła od 65,2 do 80,6% zaś z enzymem Fungamyl 800 L była najmniejsza (tab. 3). Otrzymane wyniki potwierdzają obserwacje poczynione w przypadku skrobi sago, gdzie w wyniku ekstruzji oraz zwiększającej się dawki enzymu rozpuszczalność wzrosła z 11% (skrobia natywne) do ponad 63% w przypadku ekstrudatów [7].

Oznaczono ciśnienie osmotyczne ekstrudatów w celu wstępnego stwierdzenia ewentualnych różnic w składzie cukrowym preparatów. Wraz ze wzrostem dawki enzymu stwierdzono wzrost wartości ciśnienia osmotycznego preparatu ekstrudowanego z enzymem Termamyl S. W zależności od dawki enzymu wartości te były następujące: 36 KNU – 1 mOsm/kg H₂O, 72 KNU – 2 mOsm/kg H₂O, 144 KNU – 7 mOsm/kg H₂O. Wzrost wielkości tego parametru może wskazywać na inny skład chemiczny produktów ekstruzji.

Po analizie wstępnych wyników, biorąc pod uwagę rozpuszczalność preparatów i aktywność hydrolityczną enzymów w procesie ekstruzji, do dalszych badań wybrano enzymy: Termamyl S oraz Ban 480 L. We wcześniejszych badaniach wykazano dużą stabilność enzymów należących do grupy Termamyl podczas ekstruzji w temp. powyżej 100°C [19]. Obydwa enzymy, cechujące się najwyższą termoodpornością, można było z powodzeniem stosować w wyższej temperaturze procesu ekstruzji, umożliwiającą skleikowanie skrobi. Govinddasamy i wsp. [7], w badaniach nad ekstruzją skrobi sago z termostabilnymi amylazami, wykazali, że w zależności od parametrów ekstruzji możliwe jest uzyskanie produktów o DE 0-10, podczas gdy w tych samych warunkach ekstruzji bez enzymu wartość liczbowa wskaźnika DE nie przekraczała 1,5.

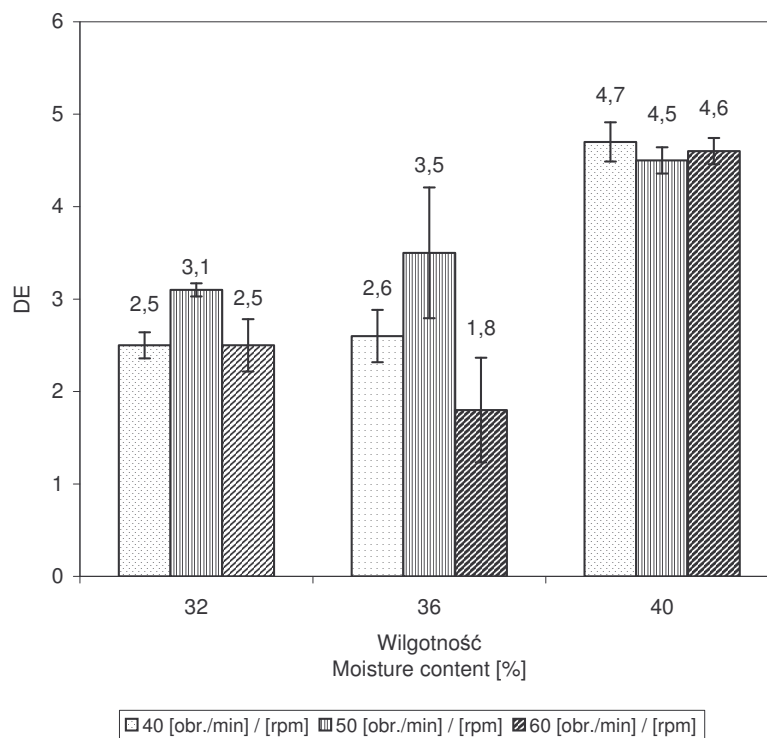
Wykorzystując właściwości hydrolityczne enzymów Termamyl S i Ban 480L w wysokiej temperaturze procesu, podjęto się zbadania wpływu wilgotności początkowej skrobi ziemniaczanej oraz czasu ekstruzji na DE oraz ciśnienie osmotyczne, zachowując jednakową temperaturę procesu i jednakową dawkę enzymów we wszystkich wariantach ekstruzji.

Temperaturę w poszczególnych sekcjach ekstrudera ustalono na następujących poziomach: sekcja 1 – 20°C, sekcja 2 – 110°C, sekcja 3 – 110°C, głowica 140°C. Temperatura głowicy była dobrana tak, aby następowało zatrzymanie reakcji hydrolizy poprzez denaturację enzymu.

Obroty ślimaków ekstrudera w kolejnych doświadczeniach wynosiły 40, 50 i 60 obr./min, a wilgotność skrobi 32, 36 i 40%. W przypadku enzymu Termamyl S ilość dodanego preparatu odpowiadała 104,4 KNU, a enzymu Ban 480 L, ze względu na mniejszą termostabilność, 561,6 KNU.

Zmiany wielkości współczynnika DE w różnych wariantach procesu ekstruzji przedstawiono na rys. 1. i rys. 2. a ciśnienia osmotycznego na rys. 3. i rys. 4. Zróżnicowanie czasu hydrolizy przez zmianę obrotów elementu roboczego ekstrudera miało wpływ na wielkość wskaźnika DE uzyskanych preparatów. Znajduje to potwierdzenie w publikowanych badaniach, w których stwierdzono, że wskaźnik DE skrobi ekstrudowanej łącznie z enzymem zmniejszał się, gdy rosła szybkość obrotów ślimaków ekstrudera [7, 15].

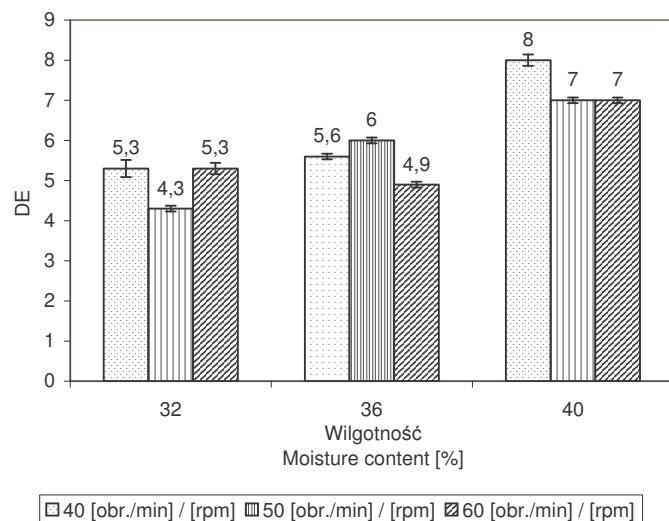
Znaczący wpływ na wielkość wskaźnika DE ekstrudatów miała wilgotność skrobi w czasie ekstruzji. Zarówno przy ekstruzji z enzymem Termamyl S jak i Ban 480 L stwierdzono najwyższe wartości DE uzyskanych preparatów przy wilgotności skrobi 40%. Jednocześnie, przy tych samych parametrach procesu, wskaźnik DE preparatu uzyskanego z enzymem Ban 480 L był wyższy od analogicznego uzyskanego z enzymem Termamyl S. Wskazuje to na zachowaną aktywność hydrolityczną tego enzymu w temperaturze ekstruzji. Uzyskane wyniki potwierdzają dane literaturowe wskazujące, że optymalnymi warunkami ekstruzji umożliwiającymi skuteczne zajście procesu hydrolizy enzymatycznej skrobi są: wysoka wilgotność początkowa surowca, mała prędkość ślimaków oraz duża dawka enzymu [4, 10].



Rys. 1. Wpływ wilgotności skrobi i szybkości obrotów ślimaków ekstrudera na wartość współczynnika DE preparatów ekstrudowanych z enzymem Termamyl S.

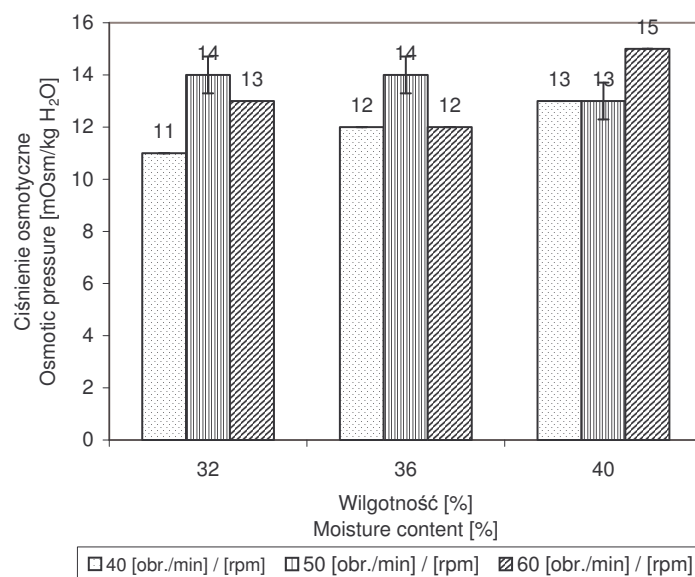
Fig. 1. The effect of moisture content in starch and of screw speed of the extruder on the dextrose equivalent of preparations obtained using an enzyme Termamyl S.

W celu stwierdzenia, który z parametrów ekstruzji: obroty ślimaków czy wilgotność skrobi miał większy wpływ na badane właściwości ekstrudatów wykonano dwuczynnikową analizę wariancji na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. W przypadku produktu wytworzonego z udziałem enzymu Termamyl S stwierdzono istotny wpływ wilgotności skrobi na DE. Z kolei zarówno obroty, wilgotność skrobi, jak i kombinacja tych czynników istotnie wpływały na wielkość ciśnienia osmotycznego. W przypadku produktu z Ban 480 L zarówno wielkość równoważnika DE, jak i ciśnienie osmotyczne zależały bardziej od wilgotności początkowej skrobi niż od szybkości obrotów ślimaków ekstrudera.



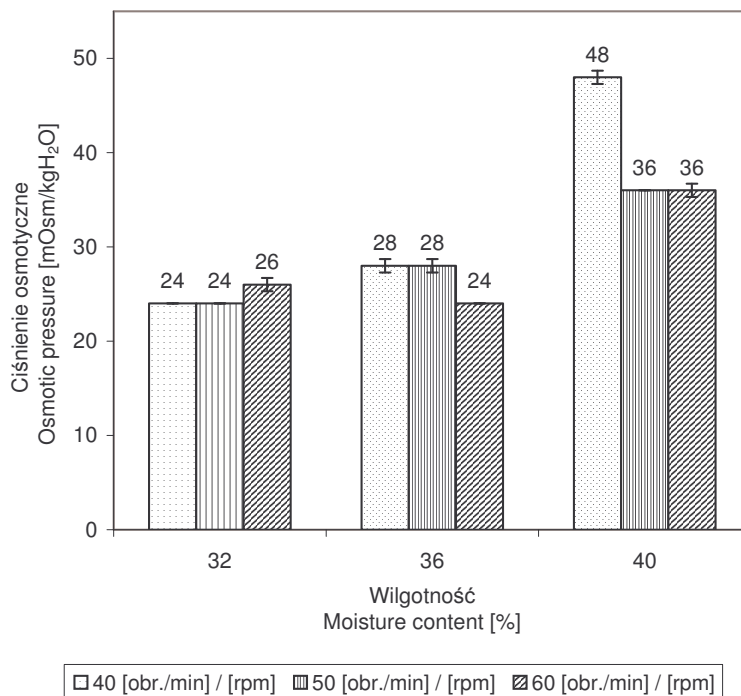
Rys. 2. Wpływ wilgotności skrobi i szybkości obrotów ślimaków ekstrudera na wielkość współczynnika DE preparatów ekstrudowanych z enzymem Ban 480 L.

Fig. 2. The effect of moisture content in starch and of screw speed of the extruder on the dextrose equivalent of preparations obtained with an enzyme Ban 480 L.



Rys. 3. Wpływ wilgotności skrobi i szybkości obrotów ślimaków ekstrudera na wartość ciśnienia osmotycznego preparatów ekstrudowanych z enzymem Termamyl S.

Fig. 3. The effect of moisture content in starch and of screw speed of the extruder on the osmotic pressure of preparates obtained with enzyme Termamyl S.



Rys. 4. Wpływ wilgotności skrobi i szybkości obrotów ślimaków ekstrudera na wartość ciśnienia osmotycznego preparatów ekstrudowanych z enzymem Ban 480 L.

Fig. 4. The effect of moisture content in starch and of screw speed of the extruder on the osmotic pressure of preparations obtained with an enzyme Ban 480 L.

W związku z różnicami w ciśnieniu osmotycznym pomiędzy wodnymi roztworami ekstrudatów wytworzonych z enzymem Termamyl S i Ban 480L wykonano analizę chromatograficzną mającą na celu ustalenie składu cukrowego produktów (tab. 4).

W przypadku ekstrudatów wytworzonych z enzymem Termamyl S stwierdzono, że największą grupę stanowiły cukry wyższe o DP > 8, a wśród cukrów niższych oligosacharydy o DP 5–8. Podobnie w przypadku ekstrudatów uzyskanych z enzymem Ban 480 L największą grupę stanowiły cukry wyższe, a następnie oligosacharydy o DP 5–7. Zawartość glukozy była niewielka i wynosiła od 0,09 do 0,86%, w zależności od warunków ekstruzji. Zawartość cukrów wyższych, średnio 92%, świadczy o większym stopniu hydrolizy skrobi niż w przypadku ekstrudatów z enzymem Termamyl S, w których zawartość oligosacharydów o DP > 8 wynosiła średnio 96%. Podobny skład cukrów obserwowano w przypadku ekstruzji z enzymami innych rodzajów skrobi [7, 15]. Można zatem stwierdzić, że zastosowane warunki ekstruzji były wystarczające do częściowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej do produktów o niskim stopniu scurzenia. Inny skład oligosacharydów obserwowano w preparacie skrobi sago hydrolizowanej enzymem Termamyl 120L. W tym przypadku stwierdzono najwięcej cukrów o DP2, DP3, i DP6, zaś zawartość cukrów wyższych

wynosiła około 20% przy DE 8. Wraz ze wzrostem wilgotności początkowej skrobi sago rosła także zawartość oligosacharydów o DP 2-6 [7]. Takiej jednoznacznej zależności nie zaobserwowano w przypadku skrobi ziemniaczanej ekstrudowanej z enzymem Termamyl S i Ban 480 L w bieżącej pracy. Jednakże stwierdzono, podobnie jak w przypadku ekstruzji skrobi sago z enzymem Termamyl 120 L [7], wzrost stopnia upłynnienia skrobi ziemniaczanej wraz ze wzrostem wilgotności początkowej substratu z 32 do 40%.

Tabela 4

Zawartość cukrów w preparatach ekstrudowanych z enzymami Termamyl S i Ban 480 L.

The content of Oligosaccharide in extruded preparations obtained using enzymes Termamyl S and Ban 480 L.

Enzym Enzyme	Wilgotność Moisture content [%]	Obroty ślimaka [obr./min] Screw speed [rpm]	Zawartość cukrów Oligosaccharide content [%]								
			DP1	DP2	D23	DP4	DP5	DP6	DP7	DP8	DPn
Termamyl S	32	40	0	0,18	0,31	0,22	0,35	0,58	0,72	0,71	96,94
		50	0	0,11	0,26	0,19	0,32	0,55	0,7	0,7	97,17
		60	0	0,17	0,34	0,26	0,38	0,62	0,77	0,76	96,7
Termamyl S	36	40	0	0,17	0,33	0,25	0,43	0,66	0,8	0,78	96,58
		50	0	0,16	0,3	0,23	0,38	0,58	0,71	0,7	96,95
		60	0	0,14	0,28	0,21	0,39	0,58	0,71	0,69	97,01
Termamyl S	40	40	0	0,17	0,3	0,25	0,44	0,57	0,67	0,66	96,93
		50	0	0,01	0,28	0,24	0,4	0,5	0,57	0	97,98
		60	0	0,17	0,31	0,26	0,43	0,6	0,71	0,7	96,82
Ban 480 L	32	40	0,09	0,3	0,56	0,43	0,54	1,14	1,37	0	95,57
		50	0,86	0,42	0,71	0,53	0,55	1,39	1,87	0	93,68
		60	0,08	0,4	0,65	0,5	0,51	1,24	1,68	0	94,95
Ban 480 L	36	40	0,12	0,57	1,06	0,71	0,89	1,81	1,97	0	92,86
		50	0,12	0,48	0,96	0,66	0,84	1,79	1,94	0	93,21
		60	0,13	0,45	0,83	0,58	0,83	1,54	1,52	0	94,12
Ban 480 L	40	40	0,24	1,3	2,57	1,46	2,04	3,67	2,8	0	85,92
		50	0,2	0,97	1,82	1,05	1,53	2,81	2,17	0	89,46
		60	0,17	0,84	1,58	1,00	1,37	2,84	2,55	0	89,65

Wnioski

1. Prowadzenie procesu ekstruzji w temp. powyżej 100°C przy wilgotności skrobi 35% umożliwia pełne skleikowanie skrobi ziemniaczanej.
2. W temperaturze zastosowanej w procesie ekstruzji enzymy Termamyl S, Ban 480 L oraz Fungamyl 800L zachowują aktywność hydrolityczną, jednak

- produkty wytworzone z enzymem Fungamyl 800L cechują się bardzo niską rozpuszczalnością.
3. DE produktów wytworzonych z udziałem enzymu Termamyl S istotnie zależy od wilgotności skrobi ziemniaczanej. Ciśnienie osmotyczne roztworów tych produktów zależy zarówno od obrotów ślimaków ekstrudera, wilgotności początkowej skrobi, jak i kombinacji tych czynników.
 4. W produktach wytworzonych za pomocą enzymu Ban 480 L wielkość wyróżnika DE oraz ciśnienia osmotycznego zależą bardziej od wilgotności początkowej skrobi niż od szybkości obrotów ślimaków ekstrudera.
 5. W produktach wytworzonych z enzymem Termamyl S oraz Ban 480 L największą grupę cukrów stanowią cukry o DP > 8.
 6. Zastosowane warunki ekstruzji są wystarczające do częściowej hydrolizy skrobi ziemniaczanej do produktów o niskim stopniu scukrzenia.

Praca finansowana ze środków KBN jako projekt badawczy zamawiany PBZ-KBN/021/P06/99/13.

Literatura

- [1] Bhattacharaya M., Hanna M.A.: Effects of lipids on the properties of extruded products. *J. Food. Sci.*, 1988, **53**, 1230-1231.
- [2] Bryjak J.: Enzymatyczna hydroliza skrobi do syropów maltodekstrynowych skrobiowych. Część II. Procesy. *Biotechnologia*, 1999, **1(44)**, 201-225.
- [3] Chen H., Bakir U., Reilly P.J., Ford C.: Increased thermostability of Asn 182 Ala mutant *Aspergillus awamori* glucoamylase. *Biotechnol. Bioeng.*, 1994, **43**, 101-105.
- [4] Chouvel H., Chay P.B., Cheftel J.C.: Enzymatic hydrolysis of starch and cereal flours at intermediate moisture contents in a continuous extrusion-reactor. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 1983, **16**, 346-353.
- [5] Della Valle G., Boche Y., Colonna P., Vergnes B.: The extrusion behaviour of potato starch. *Carbohydr. Polym.*, 1995, **28**, 255-264.
- [6] Donovan J.W.: Phase transition in the starch-water system. *Biopolymers*, 1979, **18**, 263-275.
- [7] Govinddasamy S., Campanella H., Oates C.: Enzymatic hydrolysis of Sago starch in twin-screw extruder. *J. Food Engin.*, 1997, **32**, 403-426.
- [8] Grochowicz J., Zawisła K.: Wpływ różnych czynników i jakości surowca na przebieg procesu ekspandowania i fizyczne cechy ekspandatu. *Pasze Przem.*, 1997, **4**, 21-30.
- [9] Guha M., Zakiuddin A., Bhattacharya S.: Twin-screw extrusion of rice flour without a die: effect of barrel temperature and screw speed on extrusion and extrudate characteristics. *J. Food Engin.*, 1997, **32**, 251-267.
- [10] Hakulin S., Linko Y. Y., Linko P., Seiler K., Seibel W.: Enzymatic conversion of starch in twin-screw extruder. *Starch*, 1983, **35**, 411-414.
- [11] Hülya A.: High moisture food extrusion. *Inter. J. Food Sci. Technol.*, 1999, **34**, 195-207.
- [12] Jamroz J.: Zmiany struktury skrobi ziemniaczanej i mąki pszennej podczas ekstruzji. Rozprawa habilitacyjna. Wyd. AR w Lublinie 1993.
- [13] Jankowski T., Rha C.K.: Differential scanning calorimetry of wheat grain cooking process. *Starch*, 1986, **38**, 35-48.
- [14] Kudła E., Tomasik P.: The modification of starch by high pressure. Part I. *Starch*, 1992, **44**, 167-173.

- [15] Linko Y.Y, Vourien H., Olku J., Linko P.: The effect of HTST- extrusion on retention of cereal alpha-amylase activity and on enzymatic hydrolysis of barley starch. In: Food Process Engineering, Vol 2, Eds P. Linko., J. Lankari. Elsevier Appl. Sci. London, 1980, pp. 210-223.
- [16] Lovedeep K, Narpinder S, Navadeep S.S.: Some properties of potatoes and their starches. II Morphological, thermal and rheological properties of starches. Food Chem., 2002, **79**, 183-192.
- [17] Mościcki L.: Współczesne ekstrudery i ekspandery. Przegl. Zboż. Młyn., 1994, **6**, 9-11.
- [18] Obuchowski W., Michniewicz J.: Ekstruzja - możliwości oddziaływania na cechy produktu. Przegl. Zboż. Młyn., 1993, **11**, 5-11.
- [19] Roussel L., Vieille A., Billet I., Cheftel J.: Sequential heat gelatinisation and enzymatic hydrolysis of corn starch in an extrusion reactor: optimisation for a maximum dextrose. Lebensm. Wiss. u. Technol., 1991, **24**, 449-457.
- [20] Rudiger A., Jorgensen P.L., Antranikian G.: Isolation and characterization of a heat-stable pullulanase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus woesei* after cloning and expression of its gene in *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol., 1995, **61**, 567-575.
- [21] Senanayake S., Clarke B.: A simplified twin screw co-rotating food extruder: design, fabrication and testing. J. Food Engin., 1999, **40**, 129-137.
- [22] Słomińska L.: Scukrzanie skrobi wybranymi preparatami enzymatycznymi. Roczniki AR, Rozprawy Naukowe, Zeszyt 239, Poznań 1993.
- [23] Śmietana Z., Szpendowski J., Soral-Śmietana M., Świgoń J.: Skrobia ziemniaczana ekstruzyjnie modyfikowana. Przem. Spoż., 1993, **3**, 13-14.
- [24] Trzmiel T.: Właściwości enzymów i ich zastosowanie. Przem. Spoż., 1995, **9**, 338-341.
- [25] Vasanthan T., Yeung J., Hoover R.: Dextrinization of starch in barley flours with thermostable alpha-amylase by extrusion cooking. Starch, 2001, **53**, 616-622.
- [26] Willett J.L., Shogren R.L.: Processing and properties of extruded starch/polymer foams. Polymer, 2002, **43**, 5935-5947.

OPTIMIZATION OF THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF POTATO STARCH COMBINED WITH EXTRUSION

S u m m a r y

The objective of this paper was to optimize the process of simultaneous gelatinisation and liquefaction of potato starch with α -amylases in a co-rotating twin-screw extruder. Bacterial α -amylases, such as Termamyl S and Ban 480L, and fungal α -amylase Fungamyl 800L, were used. The first step was to determine the process parameters owing to which the gelatinisation of starch was possible. The temperature of the barrel sections and the screw speed of the extruder varied, and they were controlled, while the moisture content of starch was constant, and equal to 35% (w/w). It was stated that only a temperature higher than 100°C could produce a satisfactory gelatinisation of starch. It was also verified whether or not enzymes maintained their hydrolytic activity under the extrusion conditions. It was stated an increase in the dextrose equivalent (DE) ensuing parallel to the increasing doses of enzymes added to starch. For continuing extrusions, two enzymes: Termamyl S and Ban 480 L were selected since they showed the highest thermal resistance. The impact of the extruder's screw speed (40–60 rpm) and of the initial moisture content in starch (32–40%) on DE and on the osmotic pressure of products under investigations was investigated. Additionally, chemical composition of these preparations was determined. The research performed showed that the conditions applied to carry out extrusion processes were sufficient for a partial hydrolysis of potato starch to occur products and to obtain products with a low DE value.

Key words: extrusion, potato starch, enzymatic hydrolysis, α -amylase. ☒

