

ZBYSZKO LUBIEWSKI, JOANNA LE THANH, LIDIA STENDERA,
GRAŻYNA LEWANDOWICZ

HYDROLIZA ENZYMATYCZNA, W RECYRKULACYJNYM REAKTORZE MEMBRANOWYM, SOLI SODOWEJ OKTENYLOBURSZTYNIANU SKROBIOWEGO

Streszczenie

Preparaty soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego E 1450 zyskują coraz większe zastosowanie w przemyśle dzięki zdolności emulgowania produktów spożywczych. Najczęściej są stosowane w postaci niskolepkich produktów hydrolizy. Jednak tradycyjny dwuetapowy proces enzymatyczny jest czasochłonny i mało efektywny. Zasadnym wydaje się więc poszukiwanie alternatywnych metod prowadzenia hydrolizy, np. z wykorzystaniem reaktora membranowego.

Celem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania recyrkulacyjnego reaktora membranowego, z modułem ultrafiltracyjnym, do hydrolizy enzymatycznej soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego.

W badaniach użyto dwóch otrzymanych laboratoryjnie produktów soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego, zawierającego 0,5 i 2,5% grup oktenylobursztynowych oraz wykorzystywano dwa preparaty enzymatyczne produkowane przez firmę Novozymes, BAN 480 L i FUNGAMYL 800 L. Hydrolizę prowadzono w recyrkulacyjnym reaktorze membranowym z ceramicznym modułem ultrafiltracyjnym. W otrzymanych próbach oznaczano zawartość suchej substancji, stopień scukrzenia (DE), lepkość, badano widmo w podczerwieni otrzymanych substancji, zawartość poszczególnych sacharydów oraz wyznaczono parametry hydrodynamiczne układu. Stwierdzono, że zastosowanie reaktora membranowego umożliwia efektywną hydrolizę soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego, przy czym użycie preparatu enzymatycznego BAN 480 L pozwala na uzyskanie wyższej wydajności reaktora, w porównaniu z reakcją prowadzoną z preparatem FUNGAMYL 800 L, co przejawia się wyższą zawartością suchej masy we frakcjach permeatów oraz wyższymi wartościami strumienia permeatu. Hydrodynamiczne właściwości układu reaktora membranowego są uwarunkowane przede wszystkim właściwościami reologicznymi frakcji retentatu. Frakcje permeatu i retentatu różnią się zawartością grup oktenylobursztynowych, co spowodowane jest zatrzymywaniem przez zastosowaną membranę ultrafiltracyjną cząsteczek podstawionych grupami modyfikującymi.

Słowa kluczowe: skrobia, reaktor membranowy, hydroliza enzymatyczna, sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego

Mgr inż. Z. Lubiewski, mgr inż. J. Le Thanh, L. Stendera, dr hab. inż. G. Lewandowicz, prof. AR, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

Wprowadzenie

Skrobie modyfikowane chemicznie znajdują szerokie zastosowanie zarówno w przemyśle spożywczym, jak i poza nim, przede wszystkim wskutek obecności w swojej strukturze różnych grup funkcyjnych, dzięki którym wykazują m.in. zdolność do emulgowania i stabilizacji produktów spożywczych [3, 14]. Szczególne znaczenie wśród tej grupy dodatków ma preparat E 1450 – sól sodowa oktenylobursztynianu skrobiowego – nowoczesny środek rekomendowany głównie jako emulgator, np. zastępujący jaja w produktach bezcholesterolowych [2, 13, 15]. Technologicznie jednak produkt ten ma znaczenie nie jako tworząca lepkie roztwory substancja wielkocząsteczkowa, ale w postaci niskolepkich, rozpuszczalnych na zimno produktów jej hydrolizy. Tradycyjny proces hydrolizy enzymatycznej skrobi zachodzi dwuetapowo w wielkopojemnościowych reaktorach okresowych [9]. Podczas pierwszego etapu skrobia zostaje rozpuszczona w wodzie oraz częściowo zhydrolizowana do maltodekstryn za pomocą α -amylazy. W drugim etapie enzymy scukrzające rozkładają rozpuszczoną skrobię do oligosacharydów o niskiej masie cząsteczkowej, głównie maltozy i glukozy. Proces ten ma jednak wiele wad, z których najpoważniejszymi są: niska efektywność reakcji, jej czasochłonność oraz wysoki koszt enzymów, które nie są odzyskiwane, przez co ich zużycie jest bardzo duże. Zasadnym wydaje się więc poszukiwanie alternatywy umożliwiającej obniżenie kosztów oraz prowadzenie reakcji w sposób ciągły. Hydroliza w recyrkulacyjnym reaktorze membranowym umożliwia wyeliminowanie większości wyżej wymienionych problemów, choć do tej pory badacze skupiali się głównie na zastosowaniu tego typu reaktora do otrzymywania produktów niskocząsteczkowych takich, jak glukoza, maltoza oraz syropy wysokoscukrzane [8, 17, 18]. W przypadku hydrolizy enzymatycznej skrobi modyfikowanych, recyrkulacyjny reaktor membranowy próbowano zastosować jedynie do skrobi utlenionych i acetylowanych [4-7]. Metoda ta wydaje się być obiecująca również w przypadku innych skrobi modyfikowanych chemicznie.

Celem pracy było zbadanie możliwości wykorzystania recyrkulacyjnego reaktora membranowego, z modułem ultrafiltracyjnym do hydrolizy enzymatycznej soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły laboratoryjnie otrzymane preparaty soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego E 1450, zawierające 0,5% (E 1450 0,5%) i 2,5% (E 1450 2,5%) grup oktenylobursztynowych dostarczone przez Centralne Laboratorium Przemysłu Ziemniaczanego w Poznaniu oraz naturalna skrobia ziemniaczana produkowana przez Wielkopolskie Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego S.A. w Luboniu. Zawartość grup oktenylobursztynowych oznaczano zgodnie z zaleceniami Połączonego Komitetu Ekspertów FAO/WHO (JECFA – Joint Expert Committee

FAO/WHO on Food Additives) [1]. Metoda polega na miareczkowaniu alkacymetrycznym pólustru powstałego po zakwaszeniu preparatu kwasem solnym i odmyciu do zaniku chlorków.

W badaniach zastosowano dwa preparaty enzymatyczne oferowane przez firmę Novozymes (Dania):

- BAN 480L - α -amylaza pochodzenia bakteryjnego, z wyselekcjonowanych szczepów *Bacillus amyloliquefaciens*,
- FUNGAMYL 800L - α -amylaza grzybowa wyizolowana z *Aspergillus oryzae*.

Hydrolizę prowadzono w recyrkulacyjnym reaktorze membranowym składającym się ze zbiornika reakcyjnego BioFlo III 5L (New Brunswick Scientific Co., Inc. USA), pompy wirnikowej (Johnson, USA) oraz 6-kanalowej ceramicznej membrany rurowej o długości 1,2 m i średnicy zewnętrznej 25 mm (Tami Industries, Francja). Łączna powierzchnia membrany wynosiła 0,2 m², a punkt odcięcia cut-off 50·10³Da. Przygotowywano 7000 ml 5% zawiesiny skrobiowej o pH 6,5 i kleikowano w łaźni wodnej w temp. 90°C przy ciągłym mieszaniu. Następnie sterylizowano w autoklawie w temp. 121°C przez 20 min. Do tak przygotowanego kleiku dodawano preparat enzymatyczny BAN 480 L lub FUNGAMYL 800 L odpowiednio w ilości 0,3 ml/kg s.m. skrobi oraz 0,2 ml/kg s.m. skrobi. Hydrolizę prowadzono w ciągu 2 h w stałej temp. 60°C i przy stałym ciśnieniu transmembranowym 0,15 MPa. Układ reakcyjny uzupełniano w pierwszej godzinie trwania hydrolizy kleikiem, następnie w drugiej godzinie wodą. W toku eksperymentu mierzono objętościowy strumień permeatu w interwałach jednonominutowych. Z frakcji permeatu pobierano próbę do analiz co 20 min. Frakcję retentatu zwracano do reaktora, pobierając z niego próby co 30 min. W otrzymanych próbach oznaczano zawartość suchej substancji, stopień scukrzenia oraz badano ich właściwości reologiczne. Zawartość suchej substancji oznaczano metodą suszarkową, przyjmując jako wynik końcowy średnią arytmetyczną wyników dwóch oznaczeń nie różniących się więcej niż o 0,2% [11]. Stopień scukrzenia (DE) oznaczano zmodyfikowaną metodą School-Rogenboga [12]. Metoda oznaczania stopnia scukrzenia polega na jodometrycznym oznaczeniu nadmiaru miedzi, która nie przereagowała z cukrami w reakcji redukującej; niezredukowaną ilość miedzi ustala się z równoważnej ilości jodu wydzielonego z jodku potasowego, który odmiareczkuje się tiosiarczanem sodowym. Za wynik oznaczenia przyjmuje się średnią arytmetyczną wyników dwóch oznaczeń nieróżniących się więcej niż o 0,2 ml roztworu tiosiarczanu sodowego użytego do miareczkowania [12]. Właściwości reologiczne obu frakcji badano za pomocą aparatu RheoStress I. Pomiarów lepkości dokonywano w temp. 60°C, w trybie aparatu CS, z użyciem sensora DG 43 Ti; wartości lepkości podano w odniesieniu do prędkości ścinania 300 [1/s].

Frakcje permeatów oraz retentatów zbierano i suszono za pomocą suszarki rozpyłowej Mobile MinerTM 2000 (Niro A/S) i kierowano do dalszych badań.

Widma w podczerwieni wykonywano w fazie stałej za pomocą spektrofotometru FT-IR Bruker IFS 113 w następujących warunkach: pastylka KBR (200 mg/1,5 g), rozdzielczość 2 cm^{-1} . Badania prowadzono w zakresie liczb falowych ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$).

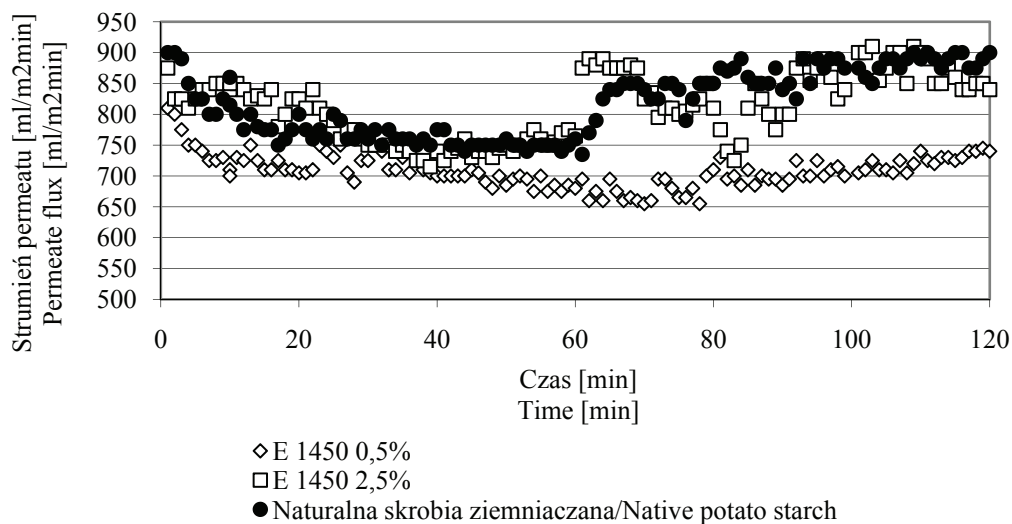
Skład cukrowy oznaczano metodą HPLC za pomocą aparatu Hewlett Packard 1050 wyposażonego w detektor refraktometryczny HP 1047A oraz kolumnę Aminex HPX 42A (Bio-Rad). Jako eluent stosowano wodę, przy przepływie $0,6\text{ ml/min}$. Oznaczenia prowadzono w trzech powtórzeniach, w temp. 30°C . Próby наносzono na kolumnę w ilości $30\text{ }\mu\text{l}$. Identyfikacji jakościowej i ilościowej dokonano metodą standardu zewnętrznego z wykorzystaniem powierzchni pików. Wynik podano jako średnią z trzech oznaczeń (wraz z odchyleniem standardowym).

Wyniki i dyskusja

Możliwość zastosowania recyrkulacyjnego reaktora membranowego w procesie hydrolizy enzymatycznej skrobi może wpłynąć na znaczne przyspieszenie tego procesu jednak ze względu na wysoką lepkość kleików skrobiowych istnieje duże ryzyko zapychania porów membrany (foulingu). W przypadku zastosowania preparatu enzymatycznego BAN 480 L (rys. 1) zjawisko foulingu praktycznie nie występowało, o czym świadczy stosunkowo stabilny przebieg krzywej wartości objętościowego strumienia permeatu wszystkich badanych typów skrobi. Jedynie w przypadku soli sodowej oktenylobursztianu skrobiowego, o 0,5% zawartości grup acetylowych, strumień permeatu w czasie trwania hydrolizy był mniejszy niż w przypadku pozostałych dwóch preparatów, jednak nie zaobserwowano zmniejszenia jego wartości w trakcie trwania eksperymentu. W przypadku reakcji z zastosowaniem enzymu FUNGAMYL 800 L obserwowano ciągłe, systematyczne zmniejszanie wartości objętościowego strumienia permeatu w trakcie trwania eksperymentu, co świadczy o zapychaniu porów membrany w toku procesu (rys. 2).

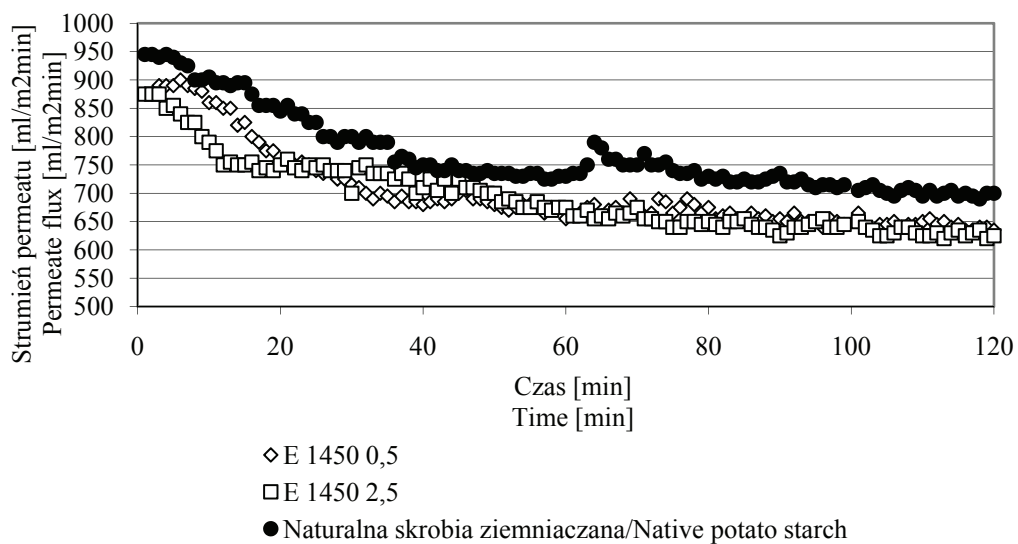
Zmiany objętościowego strumienia permeatu korelują z rezultatami uzyskanymi podczas pomiarów lepkości badanych próbek (rys. 3 i 4). Lepkość permeatów uzyskanych w toku obydwu hydroliz była mała i oscylowała wokół wartości $0,8\text{ mPa}\cdot\text{s}$. Zaobserwowano natomiast istotne różnice lepkości retentatów. W przypadku hydrolizy enzymatycznej z udziałem preparatu BAN 480 L wartość lepkości wszystkich badanych próbek permeatów i retentatów zawierała się w przedziale $0,75\text{--}0,85\text{ mPa}\cdot\text{s}$ (rys. 3). Tak niskie i zbliżone do siebie wartości świadczą o tym, że lepkość retentatu ustabilizowała się na minimalnym poziomie. Te dane wraz z wynikami dotyczącymi strumienia permeatu wskazują, że w przypadku preparatu BAN 480 L zjawisko foulingu praktycznie w badanym układzie eksperymentalnym nie występowało. Natomiast w przypadku reakcji, w której zastosowano preparat FUNGAMYL 800 L (rys. 4) zmierzona lepkość próbek retentatów była wyraźnie wyższa od lepkości permeatów, co wraz z wynikami objętościowego strumienia permeatu wskazuje, że podczas trwania proce-

su hydrolizy następowało istotne zapychanie porów membrany, co negatywnie wpływało na wydajność reakcji.



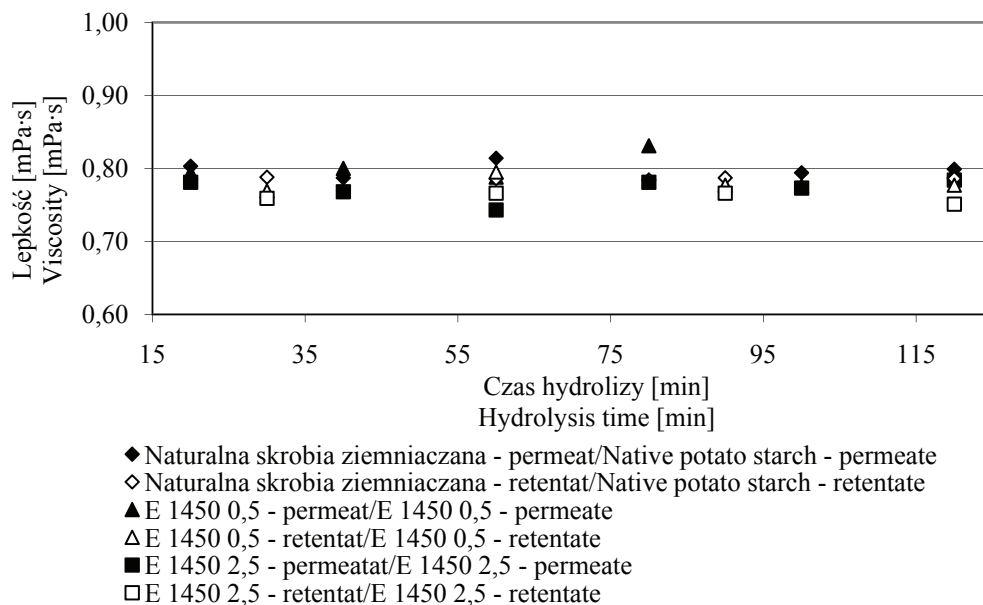
Rys. 1. Zmiana objętościowego strumienia permeatu w czasie procesu hydrolizy różnych typów skrobi preparatem enzymatycznym BAN 480 L.

Fig. 1 Filtrate flux variation during hydrolysis of various starch types with BAN 480 L enzyme.



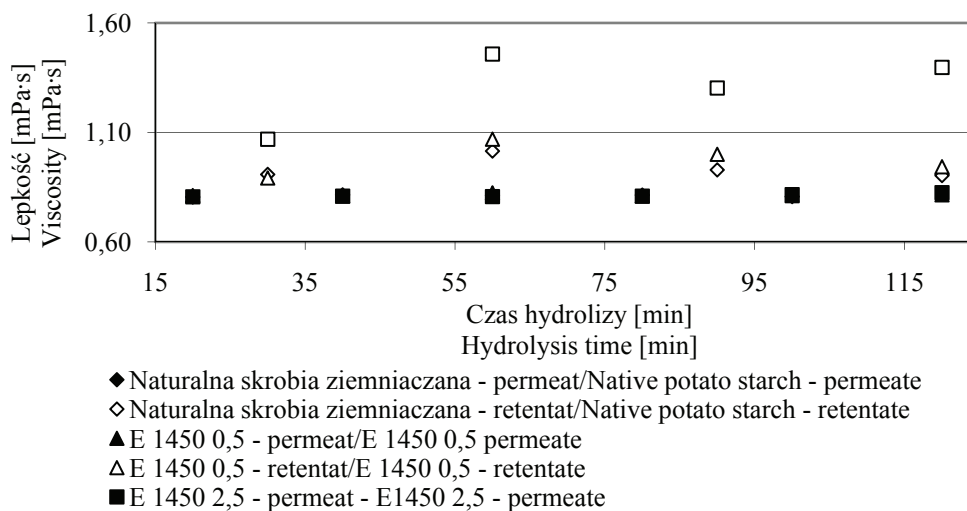
Rys. 2. Zmiana objętościowego strumienia permeatu w czasie procesu hydrolizy różnych typów skrobi preparatem enzymatycznym FUNGAMYL 800 L.

Fig. 2. Filtrate flux variation during hydrolysis of various starch types with FUNGAMYL 800 L enzyme.



Rys. 3. Zmiana lepkości frakcji permeatów i retentatów podczas hydrolizy preparatem enzymatycznym BAN 480 L.

Fig. 3. Variation of permeates and retentates viscosity during hydrolysis of various starch types with BAN 480 L enzyme.



Rys. 4. Zmiana lepkości frakcji permeatów i retentatów podczas hydrolizy preparatem enzymatycznym FUNGAMYL 800 L.

Fig. 4. Variation of permeates and retentates viscosity during hydrolysis of various starch types with FUNGAMYL 800 L enzyme.

Podobnego typu zależności można stwierdzić, analizując dane dotyczące zawartości suchej substancji we frakcjach permeatów i retentatów (tab. 1 i 2). Zawartość suchej masy we wszystkich retentatach (tab. 2) była w miarę stała i kształtowała się na poziomie około 5%. W przypadku frakcji permeatów uzyskanych w wyniku reakcji z zastosowaniem preparatu FUNGAMYL 800 L (tab. 2) zawartość suchej substancji ukształtowała się na poziomie około 2%, czyli na znacznie niższym poziomie niż w przypadku hydrolizy prowadzonej z udziałem enzymu BAN 480 L – około 3%. Wyniki te potwierdzają występowanie foulingu membrany przy zastosowaniu preparatu enzymatycznego FUNGAMYL 800 L.

Tabela 1

Zawartość suchej substancji [%] we frakcjach permeatów w toku hydrolizy skrobi.
Dry matter content [%] in permeate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
30	4,4	4,6	4,7	4,0	4,9	5,1
60	5,4	5,9	5,7	5,6	6,5	6,3
90	5,0	5,5	3,4	5,0	6,5	4,6
120	3,8	4,3	3,2	4,6	5,9	4,5

Tabela 2

Zawartość suchej substancji [%] we frakcjach retentatów w toku hydrolizy skrobi.
Dry matter content [%] in retentate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
30	19,1	18,6	22,9	23,7	20,3	21,1
60	17,8	15,9	20,0	17,4	16,2	20,1
90	19,4	16,4	24,2	21,6	17,1	26,8
120	23,6	19,4	18,3	22,4	19,0	26,4

Zastosowanie różnych preparatów enzymatycznych skutkowało również uzyskaniem produktów różniących się istotnie stopniem scukrzenia (tab. 3 i 4). Permeaty otrzymane na drodze hydrolizy przy użyciu enzymu FUNGAMYL 800 L cechowały

się wyższym poziomem DE w porównaniu z permeatami uzyskanymi podczas reakcji z zastosowaniem preparatu BAN 480 L. Właściwość ta została zaobserwowana w przypadku soli sodowych oktenylobursztynianu skrobiowego (niezależnie od stopnia podstawienia grupami funkcyjnymi) i nie była tak wyraźna w przypadku skrobi naturalnej. Natomiast stopień scukrzenia wszystkich zbadanych próbek retentatów, niezależnie od zastosowanego preparatu enzymatycznego kształtował się na stosunkowo stałym poziomie.

Tabela 3

Stopień scukrzenia [DE] frakcji retentatów w toku hydrolizy skrobi.

Variations of dextrose equivalent [DE] of retentate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
20	13,5	15,2	18,4	20,9	18,9	18,7
40	14,3	17,6	19,8	21,8	17,9	17,0
60	16,5	17,5	24,2	20,5	21,9	21,1
80	18,7	18,5	26,4	23,1	23,6	22,0
100	22,1	19,9	23,5	26,8	24,3	27,4
120	21,3	24,3	26,1	27,7	26,7	27,8

Tabela 4

Stopień scukrzenia [DE] frakcji permeatów w toku hydrolizy skrobi.

Variations of dextrose equivalent [DE] of permeate fractions during hydrolysis of starch.

Czas [min] Time [min]	BAN 480 L			FUNGAMYL 800 L		
	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch	OSA 0,5%	OSA 2,5%	Naturalna skrobia ziemniaczana Native potato starch
20	1,8	2,5	2,6	1,3	1,3	1,6
40	2,6	3,3	3,3	1,7	2,0	2,0
60	3,1	3,8	3,9	2,1	2,2	2,0
80	3,1	4,0	2,9	2,0	2,1	2,4
100	2,8	3,0	2,2	1,9	2,1	2,1
120	2,3	2,3	2,1	1,9	1,9	2,1

Analiza danych dotyczących wartości uzyskanych stopni scukrzenia (tab. 3 i 4) wykazała, że podstawienie skrobi grupami oktenylobursztynowymi nie wpływało istotnie na efektywność reakcji hydrolizy, aczkolwiek zaobserwowano tu pewne różnice związane z rodzajem zastosowanego enzymu. Dane literaturowe dotyczące podatności na hydrolizę enzymatyczną skrobi modyfikowanych chemicznie są nieliczne, a niekiedy nawet sprzeczne. Uważa się, że fosforany skrobiowe wykazują zmniejszoną podatność na hydrolizę α -amylazami, wskutek inhibicji enzymów przez grupy fosforanowe, przy czym stopień inhibicji jest związany wprost ze stopniem podstawienia skrobi [16]. Z drugiej strony wysoko podstawione octany skrobiowe, formujące termoplastyczne filmy ulegają degradacji mieszaniną α - oraz β -amylazy [10]. W odniesieniu do soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego postulowano, że może stanowić ona preparat skrobi wolno trawionej [19]. Dotychczasowe badania dotyczące hydrolizy skrobi modyfikowanych w reaktorze membranowym wskazują, że obecność grup karboksylowych nie wpływa negatywnie na efektywność hydrolizy [4-6]. Wyższa zawartość grup acetylowych powoduje jednak nieznaczne zmniejszenie stopnia scukrzenia hydrolizatów skrobi acetylowanej [7]. Uzyskane w toku opisywanego eksperymentu rezultaty wskazują, że w przypadku zastosowania preparatu enzymatycznego FUNGAMYL o pochodzeniu pleśniowym nie stwierdzono żadnego wpływu stopnia podstawienia grupami oktenylobursztynowymi na stopień scukrzenia. W przypadku zastosowania preparatu enzymatycznego BAN o pochodzeniu bakteryjnym wystąpiło niewielkie zmniejszenie stopnia scukrzenia permeatów związane z obecnością grup oktenylobursztynowych w makrocząsteczce skrobi, jednak nie wykazujące powiązania ze stopniem podstawienia.

Powyższe obserwacje potwierdzają dane uzyskane metodą HPLC. Jak wynika z danych przedstawionych w tab. 5. skład cukrowy permeatu oraz retentatu był typowy dla hydrolizy α -amylazą. Niezależnie od stopnia podstawienia hydrolizowanego preparatu grupami oktenylobursztynowymi zaobserwowano w permeacie większy udział cukrów o niższej masie cząsteczkowej (glukoza, maltoza, DP=3) oraz mniejszy udział cukrów wyższych. Świadczy to o prawidłowej pracy membrany, zatrzymującej głównie frakcje o wyższej masie cząsteczkowej. Porównanie danych preparatów o różnym stopniu podstawienia wskazuje, że wyższa zawartość grup oktenylobursztynowych nie powoduje zwiększenia inhibicji α -amylazy.

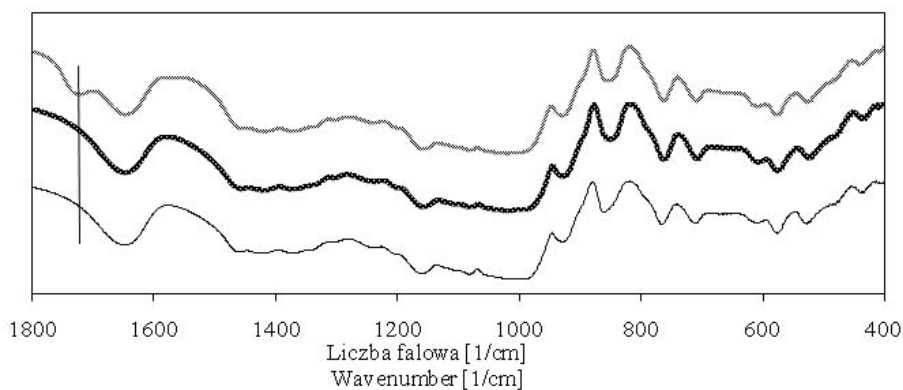
Dane uzyskane w poprzednich badaniach wykazywały, że właściwości funkcjonalne frakcji permeatów i retentatów hydrolizatów skrobi modyfikowanych chemicznie są zróżnicowane [4 - 7]. W celu wyjaśnienia obserwowanych wcześniej różnic podjęto badania strukturalne otrzymanych hydrolizatów soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego metodą spektroskopii w podczerwieni (IR). Metoda ta jest niezwykle

Tabela 5

Zawartość poszczególnych sacharydów w otrzymanych frakcjach permeatów oraz retentatów w toku hydrolizy z preparatem enzymatycznym BAN 480 L.

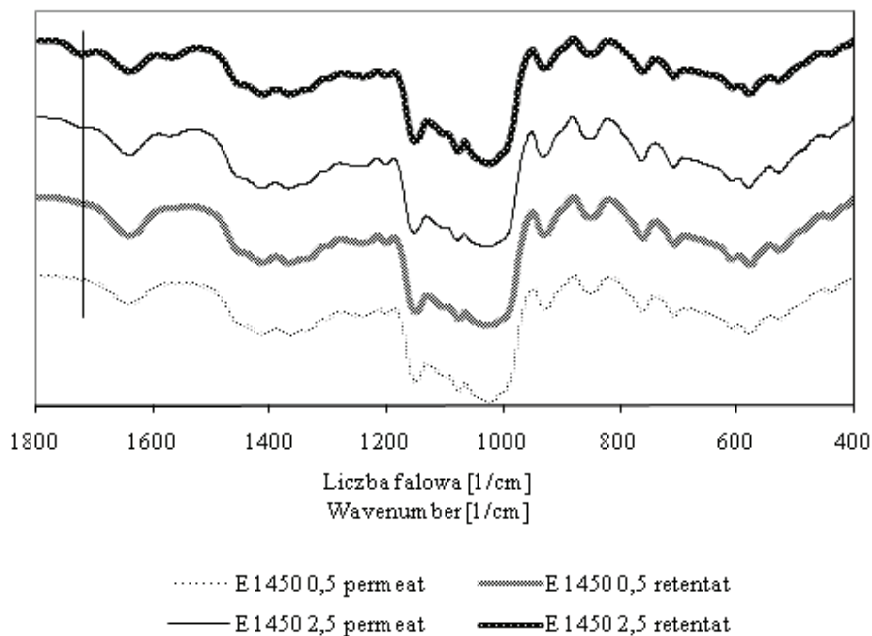
Individual saccharides content in the collected fractions of permeates and retentates obtained in hydrolysis process with BAN 480 L.

Rodzaj sacharydu Saccharide type	Zawartość poszczególnych sacharydów [%] Individual saccharides content [%]			
	E1450 0,5% permeat E1450 0,5% permeate	E1450 0,5% retentat E1450 0,5% retentate	E1450 2,5% permeat E1450 2,5% permeate	E1450 0,5% retentat E1450 0,5% retentate
Glukoza Glucose	0,89 ± 0,04	2,01 ± 0,06	2,39 ± 0,07	2,48 ± 0,08
Maltoza Maltose	8,61 ± 0,07	9,78 ± 0,09	13,7 ± 0,11	9,50 ± 0,10
DP=3	14,89 ± 0,12	11,83 ± 0,11	23,8 ± 0,33	8,86 ± 0,11
DP=4	8,23 ± 0,17	5,33 ± 0,15	9,99 ± 0,08	3,05 ± 0,13
DP=5	6,90 ± 0,06	9,89 ± 0,07	9,13 ± 0,09	9,51 ± 0,05
DP=6	22,27 ± 0,27	28,39 ± 0,17	15,8 ± 0,23	18,12 ± 0,26
Cukry wyższe Higher saccharides	38,08 ± 0,36	32,72 ± 25	25,33 ± 0,032	48,6 ± 0,59



Rys. 5. Widma w podczerwieni handlowych preparatów skrobiowych.

Fig. 5. Infrared spectra of commercial starch preparations.



Rys. 6. Widma w podczerwieni produktów hydrolizy enzymatycznej soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego E 1450 w recykulacyjnym reaktorze membranowym.

Fig. 6. Infrared spectra of enzymatic hydrolysis products of sodium starch octenylsuccinate E1450 in continuous recycle membrane reactor.

użytecznym narzędziem badania zmian strukturalnych różnego typu związków organicznych, szczególnie w aspekcie tworzenia się (bądź zanikania) nowych grup funkcyjnych [20]. Przedstawione na rys. 5. widma w podczerwieni naturalnej skrobi ziemniaczanej oraz maltodekstryny niskoscukrzonowej nie wykazywały żadnych różnic zarówno w paśmie widm funkcyjnych ($3700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$), jak również w paśmie daktyloskopowym ($1300\text{--}700\text{ cm}^{-1}$). W przypadku handlowego preparatu soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450) zaobserwowano pasmo przy długości fali 1718 cm^{-1} odpowiadające drganiom rozciągającym grupy $\text{C}=\text{O}$. Pasma grup karbonylowych występujące w zakresie $1900\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$ odznacza się dużą intensywnością, co ułatwia jego rozpoznanie i dzięki temu nadaje mu dużą wartość diagnostyczną [20]. Umiarkowana intensywność pasma 1718 cm^{-1} , występująca na widmach doświadczalnych świadczy o niewysokim stopniu podstawienia badanego preparatu. Należy podkreślić, że zgodnie z zaleceniami połączonego Komitetu Ekspertów FAO/WHO maksymalny, dopuszczalny poziom zawartości grup oktenylobursztynowych wynosi 2,5% [1]. W przypadku produktów hydrolizy soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego otrzymanych w reaktorze membranowym (rys. 6) intensywność pasma 1718 cm^{-1} była znacznie niższa. Permeat otrzymany w toku hydrolizy E 1450 o zawartości 0,5% grup

modyfikujących nie wykazywał praktycznie absorpcji przy 1718 cm^{-1} , podczas gdy w przypadku retentatu obserwowano jedynie bardzo subtelne załamanie linii absorpcji. Podobnie znikome zmiany w widmie IR otrzymano w przypadku filtratu uzyskanego w toku hydrolizy E 1450 o zawartości 2,5% grup modyfikujących. Jedynie retentat uzyskany z hydrolizy soli sodowej oktenylobursztyninau skrobiowego o zawartości 2,5% grup modyfikujących wykazywał podobny poziom absorpcji przy 1718 cm^{-1} , jak handlowy preparat E 1450. Powyższe dane wskazują, że cząsteczki zawierające modyfikujące grupy oktenylobursztynowe są do pewnego stopnia zatrzymywane przez zastosowaną membranę ultrafiltracyjną. W paśmie daktyloskopowym nie zaobserwowano poważniejszych różnic pomiędzy widmami przedstawionym na rys. 5 i 6.

Wnioski

1. Hydrodynamiczne właściwości układu reaktora membranowego są uwarunkowane przede wszystkim właściwościami reologicznymi frakcji retentatu.
2. Zastosowanie preparatu BAN 480 L pozwala na uzyskanie stabilnych parametrów hydrodynamicznych układu i wyeliminowanie zjawiska foulingu. W przypadku preparatu FUNGAMYL 800 L występuje zmniejszenie strumienia permeatu związane z większą lepkością frakcji retentatu.
3. Zastosowanie preparatu BAN 480 L pozwala na uzyskanie wyższej wydajności reaktora, co manifestuje się wyższymi zawartościami suchej substancji we frakcji permeatu oraz wyższą wartością strumienia permeatu.
4. Zastosowanie preparatu FUNGAMYL 800 L powoduje otrzymanie produktu o wyższym stopniu scukrzenia.
5. Obecność grup oktenylobursztynowych nie powoduje inhibicji działania α -amylazy.
6. Frakcje permeatu i retentatu różnią się zawartością grup oktenylobursztynowych, co wywołane jest zatrzymywaniem przez zastosowaną membranę ultrafiltracyjną cząsteczek podstawionych grupami modyfikującymi.

Pracę zrealizowano w ramach grantu KBN nr 2 P06T 052 27. Autorzy dziękują Centralnemu Laboratorium Przemysłu Ziemniaczanego w Poznaniu za pomoc techniczną w wykonaniu niektórych badań. Była ona prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Anonim: Compendium of Food Additive Specifications. Addendum 5. 1997. FAO Food and Nutrition Paper - 52 Add. 5. www.fao.org/docrep/W6355E/w6355e0o.htm.
- [2] Bao J., Xing J., Philips D.L., Corke H.: Physical properties of octenyl succinic anhydride modified rice, wheat and potato starches. J. Agric. Food Chem., 2003, **51**, 2283-2287.

- [3] Garti N.: What can nature offer from an emulsifier point of view: trends and Progress? *Colloids and Surfaces. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 1999, **152**, 125-146.
- [4] Kędziora P., Le Thanh J., Lewandowicz G., Prochaska K.: An attempt to application of continuous recycle membrane reactor for the hydrolysis of oxidised starches. *J. Membr. Sci.*, 2006, **282**, 14-20.
- [5] Kędziora P., Prochaska K., Lewandowicz G.: Hydroliza enzymatyczna w bioreaktorze membranowym pochodnych skrobi ziemniaczanej modyfikowanej chemicznie. *Przem. Chem.*, 2006, **85/8-9**, 1280-1283.
- [6] Le Thanh J., Prochaska K., Lewandowicz G.: Hydroliza enzymatyczna skrobi utlenionej w bioreaktorze membranowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2005, **2 (43), Supl.**, 222 – 234.
- [7] Le Thanh J., Lewandowicz G., Prochaska K., Kędziora P., Ciupińska D., Golemska E.: Hydroliza enzymatyczna skrobi acetylowanych w bioreaktorze membranowym i ocena właściwości adsorpcyjnych otrzymanych produktów. W: Konieczny K., Bodzek M. (pod red.): *Monografie Komitetu Inżynierii Środowiska PAN vol. 36: Membrany i Procesy Membranowe w Ochronie Środowiska*. Gliwice 2006, s. 113-121.
- [8] Lopez-Ulibarri R., Hall G.M.: Saccharification of cassava flour starch in a hollow-fibre membrane reactor. *Enzyme Microb. Tech.* 1997, **21**, 398-404.
- [9] Paolucci-Jeanjen D., Belleville M.P., Rios G.M., Zakhia N.: The effect of enzyme concentration and space time on the performance of a continuous recycle membrane reactor for one step starch hydrolysis. *Biochem. Eng. J.*, 2000, **5**, 17-22.
- [10] Parandosh S., Hudson S.M.: The acetylation and enzymatic degradation of starch films, *J. Appl. Polym. Sci.*, 1993, **48**, 787-791.
- [11] PN-EN ISO 1666:2000. Skrobia. Oznaczanie wilgotności. Metoda suszarkowa.
- [12] PN-78/A-74701. Hydrolizaty skrobiowe (krochmalowe). Metody badań.
- [13] Prochaska K., Kędziora P., Le Thanh J., Lewandowicz G.: Surface properties of enzymatic hydrolysis products of octenylsuccinate derivatives. *Food Hydrocoll.*, 2007, **21**, 654-659.
- [14] Röper H.: Application of starch and its derivatives. *Carbohydr. Eur.*, 1996, **15**, 22-30.
- [15] Shogren R.A., Wiswanathan A., Feler F., Gross R.A.: Distribution of octenyl succinate groups in octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch. *Starch/Stärke*, 2000, **52**, 196-204.
- [16] Sitohy M.Z., Ramadan M.F.: Degradability of different phosphorylated starches and thermoplastic films prepared from corn starch phosphomonoesters. *Starch/Stärke*, 2001, **53**, 317-322.
- [17] Słomińska L., Grajek W., Grześkowiak A., Goczałek M.: Enzymatic starch saccharification In an ultrafiltration membrane reaktor. *Starch/Stärke*, 1998, **50 (9)**, 390-396.
- [18] Słomińska L., Grześkowiak A., Jarosławski L., Zielonka R.: Enzymatic hydrolysis of maltodextrin into maltose syrup In a continuous membrane reactor. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/51**, 19-22.
- [19] Wolf B.W., Bauer L.L., Fahey G.C. Jr.: Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: An attempt to discover a slowly digested starch. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4178-4183.
- [20] Zieliński W., Rajcy A.: *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*. WNT, Warszawa 2000.

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SODIUM STARCH OCTENYLSUCCINATE IN CONTINUOUS RECYCLE MEMBRANE REACTOR

Summary

Sodium starch octenylsuccinate preparations are attracting growing attention of food technologists as potential additives thanks to their emulsifying properties. Technologically, they can be applied as low

viscous hydrolysis products. Unfortunately, the traditional two-step enzymatic process is very time-consuming and inefficient. Thus, it seems reasonable to search for alternative methods of hydrolysis process e.g. using a membrane reactor. The aim of the paper was to study the possibility of the application of a continuous recycle membrane reactor with ultrafiltration module for the sodium starch octenylsuccinates enzymatic hydrolysis. Two laboratory preparations of sodium starch octenylsuccinate containing 0.5% and 2.5% of octenylsuccinate groups respectively, and two enzyme preparations produced by Novozymes, BAN 480 L and FUNGAMYL 800 L were used in the study. The hydrolyses were conducted in the continuous recycle membrane reactor with ceramic ultrafiltration module. Membrane performance and reactor stability, as well as dry matter content, dextrose equivalent (DE), individual saccharides content and viscosity of permeate and retentate fractions were determined. Infrared spectra of the obtained products were also detected. It was found that the application of the membrane reactor enables an efficient hydrolysis of sodium starch octenylsuccinate. The application of enzyme preparation BAN 480 L provides higher efficiency of the reactor, in terms of higher levels of dry matter content in permeate fractions and higher values of permeate flux, in comparison with FUNGAMYL 800 L. Membrane performance and reactor stability are determined primarily by the rheological properties of retentate fractions. Permeate and retentate fractions differ from each other in terms of octenylsuccinate groups content. It is caused by the retention of molecules which contain modifying groups by the ultrafiltration membrane.

Key words: starch, membrane reactor, enzymatic hydrolysis, sodium starch octenylsuccinate 