

Биокатализ крахмала кукурузы термостабильной α -амилазой в двухшнековом экструдере

Шариков Антон Юрьевич

ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д. 4Б

E-mail: anton.sharikov@gmail.com

Иванов Виктор Витальевич

ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д. 4Б

E-mail: ivanov.v.v@li.ru

Амелякина Мария Валентиновна

ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д. 4Б

E-mail: masha.am@mail.ru

Середа Анна Сергеевна

ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д. 4Б

E-mail: as.sereda@gmail.com

Поливановская Дарья Викторовна

ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Адрес: 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д. 4Б

E-mail: dashpol@mail.ru

Традиционные технические решения в области ферментативного гидролиза крахмала и крахмалсодержащего сырья предполагают многостадийную водно-ферментативную обработку субстрата, включая стадии разваривания, разжижения, декстринизации, упаривания и сушки, в случае производства готовой продукции в порошкообразном виде. В качестве альтернативы такого многоэтапного процесса предлагается использование экструзионной техники, которая помимо использования в производстве продуктов питания, ингредиентов и кормов находит применение в качестве химических реакторов, заменяя традиционные емкостные реакторы периодического действия. Проведено исследование влияния гидротермомеханических режимных параметров, влагосодержания и дозировки термостабильного амилолитического фермента на процесс экструзии крахмала и степень его гидролиза в камере двухшнекового экструдера. Установлено, что температурный диапазон 112–122 °С является оптимальным для осуществления процесса биокатализа. Максимальное значение декстрозного эквивалента 13,6 достигнуто при влагосодержании 36% и дозировке α -амилазы 6 ед.АС/ г крахмала. Показано, что декстрозный эквивалент при экструзии крахмала с данным количеством фермента даже при влажности 20% составляет 12,6. Остаточная амилолитическая активность экструдатов варьируется в диапазоне от 0,2 до 0,55 ед. АС в зависимости от начальной подачи фермента в камеру экструдера, что свидетельствует о неполной инактивации α -амилазы в процессе экструзии даже при температурных режимах, превышающих оптимум действия α -амилазы. Установлено, что в отличие от экструдирования крахмала без фермента увеличение влагосодержания при внесении α -амилазы способствует росту растворимости и снижению влагоудерживающей способности экструдатов. Результаты исследования показали возможность проведения непрерывной биокаталитической реакции гидролиза крахмала непосредственно в камере экструдера, что позволяет получать гидролизаты с низкой влажностью в одну стадию, исключая этапы водно-тепловой обработки низкоконцентрированных крахмальных сред, их упаривание и последующую распылительную сушку.

Ключевые слова: крахмал, экструзия, гидролиз, фермент, амилаза, высокие концентрации, декстрозный эквивалент

Введение

Гидролиз крахмала с использованием ферментных препаратов, кислот или их комбинации в сочетании с различными технологическими режимами водно-тепловой обработки или применением специальных процессов позволяет получать широкий ряд продуктов для пищевой, фармацевтической и других отраслей с различной степенью деполимеризации и функциональными свойствами (Папахин и др., 2020; Chronakis, 1998). Один из видов таких продуктов – мальтодекстрины имеют большое распределение молекулярной массы и состоят в основном из смеси D-глюкозы, мальтозы, олигосахаридов и полисахаридов. Технологические свойства, высокая растворимость, нейтральные органолептические характеристики определили высокую востребованность мальтодекстринов в производстве пищевой продукции и ингредиентов. Мальтодекстрины используются в качестве модификаторов и стабилизаторов текстуры, желеобразующих агентов, инертных наполнителей, регуляторов сладости, заменителей жира, носителей вкусоароматических веществ, в том числе в качестве матрицы для инкапсуляции (Takeiti et al., 2010). В соответствии с ГОСТ 34274-2017 «Мальтодекстрины. Технические условия»¹, разработанным ВНИИ крахмалопродуктов, массовая доля редуцирующих веществ в мальтодекстринах может достигать 25% сухих веществ. Общепринятой характеристикой степени гидролиза крахмала является декстрозный эквивалент, который является показателем общей восстанавливающей способности всех присутствующих сахаров по отношению к глюкозе, равной 100 и выраженной в пересчете на сухой вес.

Процесс водно-ферментативной обработки крахмала в технологии мальтодекстринов включает этапы клейстеризации, разжижения термостабильной α -амилазой, декстринизации, упаривания и распылительной сушки (Ананских & Шлеина, 2017; Ананских & Шлеина, 2018; Vaks et al., 2008), характеризующиеся длительностью и многоступенчатыми температурными режимами. Содержание сухих веществ в гидролизатах составляет 30-35%.

Консенсусной при рассмотрении вопросов оптимизации процессов ферментативной обработки субстратов растительного происхождения является позиция, что увеличение содержания сухих веществ в гидролизатах является эффективным техническим решением для снижения себе-

стоимости производства (Kristensen et al., 2009; Modenbach & Nokes, 2013), так как обеспечивает повышение производительности предприятия с одновременным сокращением энергозатрат для нагрева и охлаждения гидролизуемых сред, а также объемов сточных вод (Jørgensen et al., 2007).

Отмечается, что повышение концентрации субстрата при ферментализации растительных субстратов имеет ряд технологических недостатков. Увеличение концентрации продуктов гидролиза ингибирует скорость биокаталитических реакций, ухудшается реология жидких сред (Kristensen et al., 2009; Modenbach & Nokes, 2013). По мере увеличения содержания сухих веществ факторы, которыми можно было пренебречь в низкоконтентированных системах, приобретают большее значение. Проблемой становится недостаточное количество свободной воды, что сказывается на эффективности массопереноса ферментов, промежуточных и конечных продуктов гидролиза, а также резком росте вязкости, увеличивающей напряжение сдвига и, соответственно, потребляемую мощность для перемешивания (Felby et al., 2008; Hodge et al., 2009). При производстве готовой продукции с низким содержанием влаги, такие затраты могут быть оправданы за счет экономии на стадии сушки, так как из гидролизата требуется удалить меньшее количество воды. В качестве альтернативы типовым схемам разваривания возможно использование экструзии как стадии предподготовки крахмала к дальнейшей биоконверсии (Baks et al., 2008; Степанов и др., 2002; Шариков и др., 2020). Такой способ на первой стадии предполагает желатинизацию крахмала гидротермомеханическим экструзионным способом, а затем его водно-ферментативную обработку, которую можно осуществлять уже при более высоком содержании сухих веществ (до 60%) за счет того, что пик вязкости процесса клейстеризации уже пройден. Для технологии производства низковлажных или сухих гидролизатов более прогрессивным техническим решением является использование экструдеров или шнековых реакторов, предназначенных для работы с сухими компонентами. Осуществление биокаталитических реакций с низким уровнем добавления воды обеспечивает исключение из технологии стадии нагрева больших объемов воды при разваривании сырья, охлаждения сред до температуры осахаривания, упаривания гидролизатов и их сушки. Естественным лимитирующим фактором может выступать несовпадение температурного диапазона экструзии крахмала, составляющего 140-180 °C (Butrim et al., 2009; Moscicki, 2011), и температурного оптимума действия большинства тер-

¹ ГОСТ 34274-2017. (2017). *Мальтодекстрины. Технические условия*. М.: Стандартинформ.

мостабильных амилаз, находящегося в диапазоне 90-95 °С. Тем не менее, ряд исследований показали возможность успешного использования двухшнекового экструдера для гидролиза крахмалсодержащих и некрахмалистых полисахаридов в условиях низкого содержания воды в реакционной среде (Шарилов и др., 2019). Учитывая перспективы реализации процессов ферментативного гидролиза крахмала, исключая стадии стандартной водно-тепловой обработки, представляет интерес развитие исследований совмещенных экструзионных и биокаталитических процессов.

Целью данного исследования стало изучение влияния режимных параметров экструдирования, влагосодержания и дозировки термостабильного амилолитического фермента на процесс экструзии крахмала и осуществление его гидролиза непосредственного в камере двухшнекового экструдера.

Материалы и методы исследования

Материалы

Объектом исследования являлся кукурузный крахмал, проэкструдированный с внесением в камеру экструдера термостабильной альфа-амилазы. В работе использовали крахмал кукурузный по ГОСТ 32159-2013².

В качестве биокатализатора использовали препарат термостабильной бактериальной α -амилазы Неозим АА 180 активностью 1900 ед. АС/см³, полученной глубинным культивированием *Bacillus licheniformis*.

Оборудование

Экструзионную обработку крахмала проводили с использованием двухшнекового экструдера Werner&Pleiderer Continua-37 с диаметром шнеков 37 мм и соотношением длины к диаметру 27:1, представленного на Рисунке 1.

Для конвективной сушки образцов использовали сушильный шкаф LOIP LF-240/300, для сублимационной - лиофильную сушилку Lyolab 3000.

Процедура исследования

Скорость вращения шнеков в первой серии опытов составляла 200 об/мин, затем была снижена до 150 об/мин. Термические режимы экструдиро-

вания в данной модели экструдера являются политропными, то есть формируются за счет работы теплообменного контура нагревательных масляных станций и тепловой энергии, образованной в результате диссипации механической энергии сил трения в процессе экструдирования. Поэтому в эксперименте базовая температура экструзии соответствовала заданию нагревательной станции, но в процессе изменялась под воздействием режимных параметров гидротермомеханической обработки.

Влагосодержание крахмала при экструдировании поддерживалось в диапазоне 20-36%. В работе использовали две формирующие фильеры с двумя отверстиями круглого профиля каждая. В первой серии опытов использовались фильеры с двумя отверстиями $\varnothing 3$ мм при температуре экструзии 167-168 °С. Во второй серии для перевода работы экструдера в режим температур ближе к 110-120 °С было изменено задание для нагревающих станций, установлена новая фильера с двумя отверстиями $\varnothing 8$ мм, снижена скорость вращения шнеков до 150 об/мин для соответствующего снижения сил трения в камере установки. Это позволило в эксперименте обеспечить температуру экструзии в диапазоне 112-130 °С. Ферментный препарат (ФП) в камеру экструдера подавали перистальтическим насосом LOIP LS-301 в дозировках 2, 4 и 6 ед. АС/г крахмала.



Рисунок 1. Экспериментальная установка на основе экструдера Werner&Pleiderer Continua 37

При отборе проэкструдированных образцов, соответствующих каждой комбинации управляющих факторов – дозировки ферментного препарата и влагосодержания, часть пробы высушивалась при температуре 150 °С для инактивации фермента и последующего определения технологических

² ГОСТ 32159-2013. (2019). Крахмал кукурузный. Общие технические условия. М.: Стандартинформ.

свойств, другая часть замораживалась при температуре – 55 °С, и далее высушивалась на лиофильной сушилке для определения остаточной ферментативной активности в образцах.

Методы и инструменты

Каталитическую активность ферментного препарата α -амилазы и ее остаточную активность в экстрактах оценивали по определению количества прогидролизованного крахмала до декстринов различной молекулярной массы при температуре 30 °С, pH 6,0 в течение 10 минут в соответствии с ГОСТ Р 54330-2011 «Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения амилолитической активности»³.

Определение влажности в крахмале и экстрактах проводили термографическим методом с использованием анализатора влажности ML-50 (A&D, Япония).

Степень гидролиза крахмала оценивали по декстрозному эквиваленту (ДЭ), значение которого определяли в соответствии с ГОСТ Р 50549-93 «Продукты гидролиза крахмала. Определение восстанавливающей способности и эквивалента глюкозы. Метод постоянного титра Лейна и Эйнона»⁴.

Растворимость и влагоудерживающую способность (ВУС) экстрактов определяли методом растворения экстракта в избыточном количестве воды с последующим центрифугированием при 3000×g, определением массы осадка и содержания растворимых сухих веществ в фугате (Stojceska et al., 2010).

Анализ данных

Удельный расход электроэнергии рассчитывали по формуле (Ainsworth et al., 2007):

$$SME = n / (n_{\max} \times Kg) \times N \times M, \quad (1)$$

где: SME – удельный расход энергии на экструдирование, кВт*час/кг сырья; N – мощность двигателя экструдера, кВт; M – момент на валу редуктора; n и n_{\max} – скорость вращения шнеков установленная и максимальная, соответственно, об/мин; Kg – производительность по сырью, кг/ час.

Исследования проводились в трех повторностях. Достоверность различий средних проводили методами факторного дисперсионного анализа и апостериорного анализа по критерию Тьюки при $p < 0,05$ с использованием пакета программ Statistica 6.0.

Результаты исследования

На первом этапе проведения экспериментальных работ экструдирование проводилось через фильеру с двумя отверстиями $\varnothing 3$ мм и скоростью вращения шнеков 200 об/мин. Режимные показатели процесса экструзии представлены в Таблице 1. Поскольку система нагрева камеры экструдера предполагает работу в политропном режиме, т.е. без возможности интенсивного охлаждения камеры, то относительно низкое суммарное выходное сечение отверстий фильеры обеспечивало высокое сопротивление материала, его трение, что влияло на повышение температуры процесса, которая колебалась в интервале 167-168 °С вне зависимости от влагосодержания и подачи фермента.

Анализ ДЭ показал отсутствие прироста редуцирующих сахаров в образцах, что стало, видимо, результатом инактивации α -амилазы при такой высокой температуре.

Замена формующей матрицы и снижение скорости вращения шнеков позволили снизить

Таблица 1

Режимные параметры экструдирования через матрицу с отверстиями $2 \times \varnothing 3$ мм

| Влагосодержание | Дозировка α -амилазы | Скорость вращения шнеков | Температура | Крутящий момент | Удельный расход электроэнергии |
|-----------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------|--------------------|-----------------------------------|
| % | ед. АС/ г крахмала | об/мин | °С | % | кВт*час/кг |
| 20 | 0 | 200 | 167 | 40 | 0,126 |
| 20 | 4 | 200 | 168 | 38 | 0,120 |
| 30 | 4 | 200 | 168 | 29 | 0,092 |

³ ГОСТ Р 54330-2011. (2018). Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения амилолитической активности. М.: Стандартинформ.

⁴ ГОСТ Р 50549-93. (1993). Продукты гидролиза крахмала. Определение восстанавливающей способности и эквивалента глюкозы. Метод постоянного титра Лейна и Эйнона. М.: Госстандарт России.

Таблица 2

Режимные параметры экструдирования через матрицу с отверстиями $2 \times \varnothing 8$ мм

| Влагосодержание | Дозировка α -амилазы | Скорость вращения шнеков | Температура | Момент | Удельный расход электроэнергии |
|-----------------|-----------------------------|--------------------------|-------------|--------|--------------------------------|
| % | ед. АС/ г СВ | об/мин | °С | % | кВт*час/кг |
| 20 | 0 | 150 | 120 | 63 | 0,149 |
| 20 | 2 | 150 | 130 | 62 | 0,147 |
| 28 | 2 | 150 | 126 | 45 | 0,107 |
| 36 | 2 | 150 | 120 | 22 | 0,052 |
| 20 | 4 | 150 | 118 | 64 | 0,152 |
| 28 | 4 | 150 | 118 | 42 | 0,100 |
| 36 | 4 | 150 | 112 | 22 | 0,052 |
| 20 | 6 | 150 | 122 | 62 | 0,147 |
| 28 | 6 | 150 | 118 | 38 | 0,090 |
| 36 | 6 | 150 | 116 | 16 | 0,038 |

температуру экструзии до диапазона 112-130 °С. Режимные параметры данной экспериментальной сессии представлены в Таблице 2. Тенденции изменения режимных параметров при подаче в камеру установки термостабильной α -амилазы соответствовали описываемым в научной литературе данным. На всех уровнях дозировки ФП увеличение влагосодержания вызывало снижение температуры экструдирования, также значимо снижалось значение момента сдвига, определяющего энергетические затраты на процесс. Поэтому если при влажности 20% удельный расход электроэнергии находился в диапазоне 0,147-0,152 кВт*час/кг, при 28% наблюдалось снижение до 0,90-0,107 кВт*час/кг. При этом увеличение дозировки ФП обеспечивало дополнительное уменьшение энергозатрат. Экструзия крахмала при влагосодержании 36% показала удельные энергозатраты 0,38-0,52 кВт*час/кг.

Минимальное значение энергозатрат соответствовало дозировке α -амилазы 6 ед. АС/ г крахмала. Проведенный двухфакторный дисперсионный анализ показал, что изменение обоих факторов значимо влияет на удельный расход электроэнергии, но в заданном факторном пространстве варьирования влагосодержанием 20-36% и дозировкой ФП 2-6 ед.АС / г, большее влияние оказывает изменение подачи воды, т.е. увеличение ее количества в реакторной системе.

На Рисунке 2 представлены зависимости влагоудерживающей способности и растворимости образцов модифицированного крахмала при варьировании управляющими факторами. Анализ

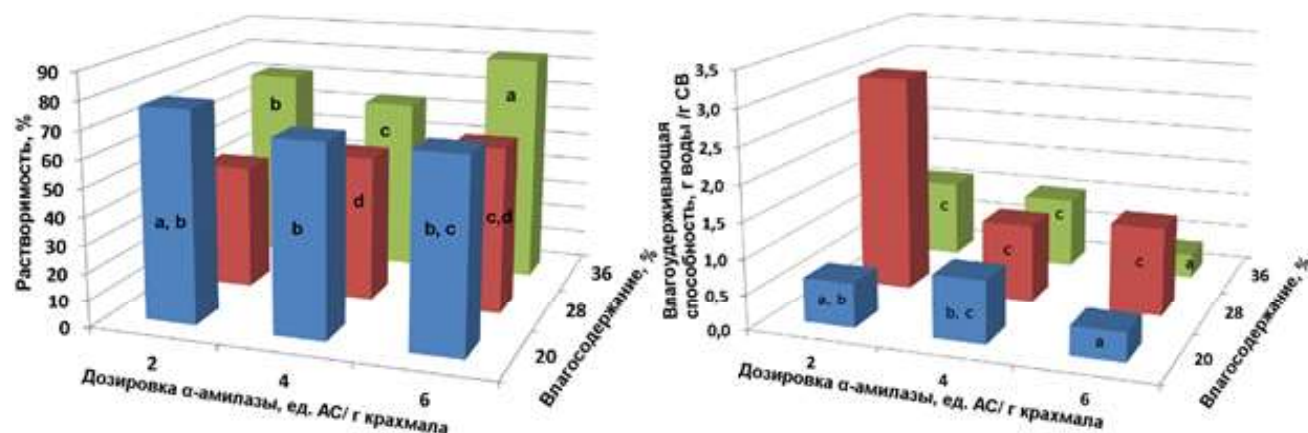


Рисунок 2. Влияние дозировки α -амилазы и влагосодержания в камере экструдера на ВУС (а) и растворимость (б)*

*различие значений, отмеченных одинаковыми буквенными символами для каждой диаграммы, статистически незначимо при $p < 0,05$

данных показывает наличие тесной корреляционной связи ($-0,75$) между обоими показателями. При этом среднему уровню влагосодержания соответствует самые низкие показатели растворимости и высокие ВУС. Это можно объяснить тем, что при низком влагосодержании 20% экструзия обеспечивает высокую степень клейстеризации крахмала, косвенным показателем которой в отношении экструдированного крахмала является высокая растворимость, значение различных образцов которой для этого уровня фактора вне зависимости от дозировки ФП принадлежало к одной генеральной совокупности.

С увеличением подачи воды воздействие сил трения на сырье снижается, ухудшается клейстеризация крахмала с соответствующим снижением растворимости и повышением ВУС. При этом повышение дозировки ФП увеличивает растворимость и уменьшает ВУС. Самые высокие значения растворимости отмечены для минимального 20% влагосодержания в диапазоне 75-83%, а максимальное значение ВУС 3,2 г воды/ г СВ соответствует 28% влажности и 2 ед. АС.

На Рисунке 3 представлены данные по значениям ДЭ, соответствующие различным комбинациям управляющих факторов процесса. Результаты показали, что снижение температуры экструзии и скорости вращения шнеков обеспечили условия для ферментативного гидролиза крахмала в камере экструдера в условиях низкого влагосодержания.

Установлено, что значимыми являются оба фактора, но влияние изменения дозировки ФП оказывает большее влияние на образование редуцирующих сахаров. При дозировке 6 ед. АС/ г крахмала различие значений ДЭ образцов, проэкструдированных при разном влагосодержании, статистически не достоверно. При данной дозировке уровень ДЭ находится в диапазоне 12,6 – 13,6. При дозировке α -амилазы 2 и 4 ед. АС/ г крахмала фактор влагосодержания также становится значимым, его увеличение значимо повышает ДЭ экструдатов. Увеличение влажности с 20 до 36% увеличило ДЭ с 2,6 до 7,8 для дозировки 2 ед. АС, и с 10 до 13,5 для дозировки 4 ед. АС, соответственно. Т.е. при более высоком влагосодержании нет необходимости увеличивать дозировку ФП для достижения аналогичной степени гидролиза крахмала.

Анализ остаточной ферментативной активности термостабильной α -амилазы в экструдатах с целью определения возможности дальнейшей постэкструзионной выдержки в оптимальных для действия ФП условиях определяли в образцах с влажностью 28 и 36%. Установлено, что активность амилазы в образцах, проэкструдированных с дозировкой 2 ед. АС/г крахмала находилась в диапазоне 0,2-0,3 ед. АС, для 4 ед. – 0,33-0,44; для 6 ед. – 0,5-0,55, соответственно. Таким образом, установлено, что экструдирование при температуре 112-126 °С не вызывает полной инактивации ФП и возможна дальнейшая выдержка экструдатов для более глубокого гидролиза крахмала.

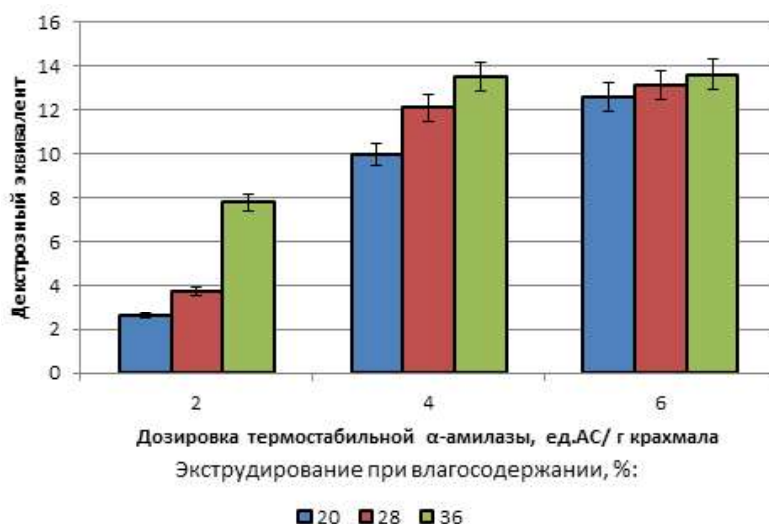


Рисунок 3. Влияние дозировки α -амилазы и влагосодержания в камере экструдера на значение декстрозного эквивалента*

*различие значений, отмеченных одинаковыми буквенными символами для каждой диаграммы, статистически незначимо при $p < 0,05$

Обсуждение

Ранее проведенные исследования по использованию экструдеров в качестве биокаталитических реакторов для гидролиза различных видов растительного сырья (Myat & Ryu, 2013; Govindasamy et al., 1997a; Govindasamy et al., 1997b; Santala et al., 2013; Solihin et al., 2007) показали высокий потенциал такого технического решения.

Результаты экспериментальной работы в общих тенденциях коррелируют с данными, полученными другими исследователями: увеличение влагосодержания в камере экструдера и дозировки ФП обеспечивает повышение ДЭ, растворимости, остаточной α -амилазной активности и снижает влагоудерживающую способность (Govindasamy et al., 1997a; Govindasamy et al., 1997b; Solihin et al., 2007). При экструдировании крахмала саго (Govindasamy et al., 1997a) в диапазоне температур 70-130 °C; влагосодержании 28,5-50,5% и скорости вращения шнеков 70-190 об/мин были достигнуты значения ДЭ 0,3-10,4, что несколько ниже результатов настоящего исследования. Авторы отмечают роль ферментативного гидролиза в оценке общепринятых тенденций изменения технологических свойств экструдатов, в отличие от стандартного процесса экструдирования крахмала без фермента при добавлении ФП с ростом влагосодержания значение растворимости также повышается, что связано с более глубокой степенью гидролиза крахмала. В нашем случае, максимальная растворимость также отмечена для максимальных значений дозировки ФП и влагосодержания и составляет 83%. Максимальная растворимость прогидролизированных экструдатов саго составила 60% при влагосодержании в процессе экструзии 50,5%, а влагоудерживающая способность варьировалась в более широком диапазоне 1,9 – 7,4 г воды /г экструдата. В отличие от экструзии крахмало саго, где максимальный ДЭ был получен при 90 °C, в нашем исследовании рабочий диапазон температур, в котором были получены высокие значения ДЭ, составил 112-122 °C. Необходимо отметить, что в большинстве исследований по проблеме экструдирования крахмалсодержащего сырья совместно с биокатализатором используется термостабильная α -амилаза Termamyl 120L. В данном исследовании использовалась термостабильная α -амилаза Неозим АА 180, которая также обеспечила высокую степень гидролиза в достаточно жестких условиях термопластической экструзии.

Вопрос количества воды при ферментативном гидролизе сельскохозяйственного сырья определяет энергоемкость и экономику производства.

Повышение концентрации сухих веществ в гидролизатах лимитируются либо реологией среды, либо низкой степенью конверсии биополимеров в продукты гидролиза, вследствие слабого массопереноса. При экструзии крахмала с α -амилазой проблема реологии заключается не в высокой вязкости среды, затрудняющей перемешивание, как в случае принятых промышленностью технологий с использованием верхнеприводных мешалок стандартных реакторов или выдерживателей на первых стадиях обработки, а скорее наоборот – резкое снижение вязкости расплава крахмала в экструдере вследствие действия ФП при наличии в сборке шнековых органов элементов, затрудняющих продвижение материала, например серия реверсивных и месильных элементов, что может привести к разрыву сплошной среды в камере, образованию пробки и аварийному останову оборудования. Поэтому важно отсутствие большого количества таких элементов в конструктивной сборке шнековых органов экструдера. Наличием сплошной среды при экструдировании, воздействием давления и сдвиговых деформаций при продавливании материала через отверстия фильтры авторы исследования процесса гидролиза ксиланазой пшеничных отрубей (Santala, Nordlund, & Poutanen, 2013) объясняют усиленную диффузию ферментного препарата в субстрат и, как следствие более эффективный гидролиз, при экструдировании даже при низких температурах, соответствующих оптимуму действия термолабильных ФП.

Выводы

В результате проведенных исследований установлено, что при экструдировании кукурузного крахмала совместно с термостабильной α -амилазой возможно получение экструдатов с декстрозным эквивалентом до 13,6. В исследованном факторном пространстве максимальным значениям ДЭ соответствовали высокие дозировки ФП 4-6 ед. АС/ г крахмала и влагосодержание в камере экструдера 28 и 36%. Установлено, что даже после максимально жесткого для ферментативной обработки режима экструзии при влажности 20% в экструдатах сохраняется остаточная ферментативная активность, что оставляет перспективы для дальнейшей инкубации экструдатов в температурном оптимуме действия амилазы для увеличения степени гидролиза крахмала. Показана инверсия тенденции снижения растворимости экструдатов с ростом влагосодержания в камере экструдера за счет усиления гидролитического действия ФП при увеличении количества воды в реакционной системе. Полученные результа-

ты показывают перспективность разработки одностадийных технологий гидролиза крахмала на основе совмещения процесса экструзии и биоактивации крахмала, разжижения амилолитическими ферментами, охлаждения, выпаривания и сушки.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» (тема № 0529-2019-0066).

Литература

- Ананских, В. В., & Шлеина, Л. Д. (2017). О возможности получения мальтодекстринов из кукурузной муки. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 11, 9-13.
- Ананских, В. В., & Шлеина, Л. Д. (2018). Мальтодекстрины из крахмалосодержащего сырья, их качество и использование в отраслях пищевой промышленности. *Кондитерское и хлебопекарное производство*, 7-8, 50-52.
- Папахин, А. А., Лукин, Н. Д., Ананских, В. В., & Бородина, З. М. (2020). О современных направлениях технологии гидролиза крахмала. *Достижения науки и техники АПК*, 34(12), 84-89. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-11214>
- Степанов, В. И., Римарева, Л. В., & Иванов, В. В. (2002). Экструзионный метод переработки крахмалосодержащего сырья в биотехнологическом производстве. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 8, 48-49.
- Шарилов, А. Ю., Иванов, В. В., & Амелякина, М. В. (2020). Влияние перемешивания на эффективность ферментативного гидролиза высококонцентрированных сред экструдированного крахмала кукурузы. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 82(3), 96-103.
- Шарилов, А. Ю., Степанов, В. И., & Иванов, В. В. (2019). Термопластическая экструзия в процессах пищевой биотехнологии. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 9(3), 447-460. <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-3-447-460>
- Ainsworth, P., Ibanoglu, S., Plunkett, A., Ibanoglu, E., & Stojceska V. (2007). Effect of brewers spent grain addition and screw speed on the selected physical and nutritional properties of an extruded snack. *Journal of Food Engineering*, 81(4), 702-709. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.004>
- Baks, T., Kappen, F. H. J., Janssen, A. E. M., & Boom, R. M. (2008). Towards an optimal process for gelatinisation and hydrolysis of highly concentrated starch-water mixtures with alpha-amylase from *Licheniformis* B. *Journal of Cereal Science*, 47(2), 214-225. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.03.011>
- Butrim, S. M., Litvyak, V. V., & Moskva, V. V. (2009). A study of physicochemical properties of extruded starches of varied biological origin. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 82, 1195-1199. <https://doi.org/10.1134/S1070427209070076>
- Chronakis, I. S. (1998). On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(7), 599-637. <https://doi.org/10.1080/10408699891274327>
- Felby, C., Thygesen, L. G., Kristensen, J. B., Jorgensen, H., & Elder, T. (2008). Cellulose-water interactions during enzymatic hydrolysis as studied by time domain NMR. *Cellulose*, 15(5), 703-710. <https://doi.org/10.1007/s10570-008-9222-8>
- Govindasamy, S., Campanella, O. H., & Oates, C. G. (1997a). Enzymatic hydrolysis of sago starch in a twin-screw extruder. *Journal of Food Engineering*, 32(4), 403-426. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(97\)00017-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(97)00017-4)
- Govindasamy, S., Campanella, O. H., & Oates, C. G. (1997b). The single screw extruder as a bioreactor for sago starch hydrolysis. *Food Chemistry*, 60(1), 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00100-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00100-8)
- Hodge, D. B., Karim, M. N., Schell, D. J., & McMillan, J. D. (2009). Model-based fed-batch for high-solids enzymatic cellulose hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 152, Article 88. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8217-0>
- Jørgensen, H., Vibe-Pedersen, J., Larsen, J., & Felby, C. (2007). Liquefaction of lignocellulose at high-solids concentrations. *Biotechnology and Applied Microbiology*, 96(5), 862-870. <https://doi.org/10.1002/bit.21115>
- Kristensen, J. B., Felby, C., & Jørgensen, H. (2009). Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Biotechnology for Biofuels*, 2, Article 11. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-2-11>
- Modenbach, A. A., & Nokes, S. E. (2013). Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings – A review. *Biomass and Bioenergy*, 56, 526-544. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.05.031>
- Mohagheghi, A., Tucker, M., Grohmann, K., & Wyman, C. (1992). High solids simultaneous saccharification and fermentation of pretreated wheat straw to ethanol. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 33(2), 67-81. <https://doi.org/10.1007/BF02950778>

- Moscicki, L. (2011). *Extrusion-cooking techniques : applications, theory and sustainability*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH.
- Myat, L., & Ryu, G.-H. (2013). Extrusion with thermostable α -amylase injection as pretreatment method for ethanol production from corn starch. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 5(2), 47-53. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000099>
- Santala, O., Nordlund, E., & Poutanen, K.(2013). Use of an extruder for pre-mixing enhances xylanase action on wheat bran at low water content. *Bioresource Technology*, 149, 191-199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.029>
- Solihin, B. W., Kim, M. H., Im, B. S., Cha, J. Y., & Ryu, G. H. (2007). Effects of feed moisture content on enzymatic hydrolysis of corn starch in twin-screw extruder and saccharification of the dried extrudates. *Food Science and Biotechnology*, 16(3), 381-385.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & İbanoğlu, Ş. (2010) The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chemistry*, 121(1), 156-164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.024>
- Takeiti, C. Y., Kieckbusch, T. G., & Collares-Queiroz, F. P. (2010). Morphological and physicochemical characterization of commercial maltodextrins with different degrees of dextrose-equivalent. *International Journal of Food Properties*, 13(2), 411-425, <https://doi.org/10.1080/10942910802181024>

Biocatalysis of Corn Starch with Thermostable α -amylase in Twin-screw Extruder

Anton Yu. Sharikov

*VNIIPBT - branch of Federal State Budgetary Scientific Institution
«Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya Str., Moscow, 111033, Russian Federation
E-mail: anton.sharikov@gmail.com*

Viktor V. Ivanov

*VNIIPBT - branch of Federal State Budgetary Scientific Institution
«Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya Str., Moscow, 111033, Russian Federation
E-mail: ivanov.v.v@li.ru*

Maria V. Amelyakina

*VNIIPBT - branch of Federal State Budgetary Scientific Institution
«Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya Str., Moscow, 111033, Russian Federation
E-mail: masha.am@mail.ru*

Anna S. Sereda

*VNIIPBT - branch of Federal State Budgetary Scientific Institution
«Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya Str., Moscow, 111033, Russian Federation
E-mail: as.sereda@gmail.com*

Daria V. Polivanovskaya

*VNIIPBT - branch of Federal State Budgetary Scientific Institution
«Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety,
4B, Samokatnaya Str., Moscow, 111033, Russian Federation
E-mail: dashpol@mail.ru*

Traditional technical solutions in the field of enzymatic hydrolysis of starch and starch-containing raw materials involve multi-stage water-enzymatic treatment of the substrate including the stages of cooking, liquefaction, dextrinization, evaporation and drying. As an alternative to this multistage technology, the use of extruders is proposed, which, in addition to the production of food, ingredients and feed, can be used as chemical reactors, replacing traditional batch reactors. The study of the influence of operating extrusion parameters, moisture content and dosage of a thermostable amylolytic enzyme on the process of starch extrusion and the degree of its hydrolysis in the chamber of a twin-screw extruder was carried out. It was found that the temperature range 112-122 °C is optimal for the biocatalysis process. The maximum dextrose equivalent of 13.6 was achieved with a moisture content of 36% and a dosage of α -amylase of 6 amylolytic units per 1 g of starch. It has been shown that the dextrose equivalent during the extrusion of starch with a given amount of enzyme at a moisture content of 20% was 12.6. The residual amylolytic activity of the extrudates varied in the range from 0.2 to 0.55 units and depended on the initial enzyme dosage. It indicates incomplete inactivation of α -amylase during extrusion even at temperature conditions exceeding the α -amylase temperature optimum. It was found that, in contrast to the extrusion of starch without an enzyme, an increase in the moisture content upon the addition of α -amylase promotes an increase in solubility and a decrease in the water-holding capacity of extrudates. The results of the study showed the possibility of carrying out a continuous biocatalytic reaction of starch hydrolysis directly in the extruder chamber. It makes it possible to obtain hydrolysates with low moisture content in one stage, excluding the stages of water-heat treatment of low-concentrated starch media, their evaporation and subsequent spray drying.

Keywords: starch, extrusion, hydrolysis, enzyme, amylase, high concentrations, dextrose equivalent

References

- Ananskikh, V. V., & Shleina, L. D. (2017). O vozmozhnosti polucheniya mal'todekstrinov iz kukuruznoi muki [On the possibility of obtaining maltodextrins from cornmeal]. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya* [Storage and processing of Farm Products], 11, 9-13.
- Ananskikh, V. V., & Shleina, L. D. (2018). Mal'todekstriny iz krakhmalosoderzhashchego syr'ya, ikh kachestvo i ispol'zovanie v otraslyakh pishchevoi promyshlennosti [Maltodextrins from starch-containing raw materials, their quality and use in the food industry]. *Konditerskoe i khlebopekarnoe proizvodstvo* [Confectionery and bakery production], 7-8, 50-52.
- Papakhin, A. A., Lukin, N. D., Ananskikh, V. V., & Borodina, Z. M. (2020). O sovremennykh napravleniyakh tekhnologii gidroliza krakhmala [About modern directions of starch hydrolysis technology]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* [Achievements of science and technology of the agro-industrial complex], 34(12), 84-89. <https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-11214>
- Sharikov, A. Yu., Ivanov, V. V., & Amelyakina, M. V. (2020). Vliyanie peremeshivaniya na effektivnost' fermentativnogo gidroliza vysokokontsentrirannykh sred ekstrudirovannogo krakhmala kukuruzy [Influence of mixing on the efficiency of enzymatic hydrolysis of highly concentrated media of extruded corn starch]. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii* [Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies], 82(3), 96-103.
- Sharikov, A. Yu., Stepanov, V. I., & Ivanov, V. V. (2019). Termoplasticheskaya ekstruziya v protsessakh pishchevoi biotekhnologii [Thermoplastic extrusion in food biotechnology processes]. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya* [Izvestiya vuzov. Applied Chemistry and Biotechnology], 9(3), 447-460. <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-3-447-460>
- Stepanov, V. I., Rimareva, L. V., & Ivanov, V. V. (2002). Ekstruzionnyi metod pererabotki krakhmalosoderzhashchego syr'ya v biotekhnologicheskoy proizvodstve [Extrusion method for processing starch-containing raw materials in biotechnological production]. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya* [Storage and processing of Farm Products], 8, 48-49.
- Ainsworth, P., Ibanoglu, S., Plunkett, A., Ibanoglu, E., & Stojceska V. (2007). Effect of brewers spent grain addition and screw speed on the selected physical and nutritional properties of an extruded snack. *Journal of Food Engineering*, 81(4), 702-709. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.004>
- Baks, T., Kappen, F. H. J., Janssen, A. E. M., & Boom, R. M. (2008). Towards an optimal process for gelatinisation and hydrolysis of highly concentrated starch-water mixtures with alpha-amylase from *Licheniformis* B. *Journal of Cereal Science*, 47(2), 214-225. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.03.011>
- Butrim, S. M., Litvyak, V. V., & Moskva, V. V. (2009). A study of physicochemical properties of extruded starches of varied biological origin. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 82, 1195-1199. <https://doi.org/10.1134/S1070427209070076>
- Chronakis, I. S. (1998). On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(7), 599-637. <https://doi.org/10.1080/10408699891274327>
- Felby, C., Thygesen, L. G., Kristensen, J. B., Jorgensen, H., & Elder, T. (2008). Cellulose-water interactions during enzymatic hydrolysis as studied by time domain NMR. *Cellulose*, 15(5), 703-710. <https://doi.org/10.1007/s10570-008-9222-8>
- Govindasamy, S., Campanella, O. H., & Oates, C. G. (1997a). Enzymatic hydrolysis of sago starch in a twin-screw extruder. *Journal of Food Engineering*, 32(4), 403-426. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(97\)00017-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(97)00017-4)
- Govindasamy, S., Campanella, O. H., & Oates, C. G. (1997b). The single screw extruder as a bioreactor for sago starch hydrolysis. *Food Chemistry*, 60(1), 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00100-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00100-8)
- Hodge, D. B., Karim, M. N., Schell, D. J., & McMillan, J. D. (2009). Model-based fed-batch for high-solids enzymatic cellulose hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 152, Article 88. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8217-0>
- Jorgensen, H., Vibe-Pedersen, J., Larsen, J., & Felby, C. (2007). Liquefaction of lignocellulose at high-solids concentrations. *Biotechnology and Applied Microbiology*, 96(5), 862-870. <https://doi.org/10.1002/bit.21115>
- Kristensen, J. B., Felby, C., & Jorgensen, H. (2009). Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Biotechnology for Biofuels*, 2, Article 11. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-2-11>
- Modenbach, A. A., & Nokes, S. E. (2013). Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings – A review. *Biomass and Bioenergy*, 56, 526-544. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.05.031>
- Mohagheghi, A., Tucker, M., Grohmann, K., & Wyman, C. (1992). High solids simultaneous saccharification and fermentation of pretreated wheat straw to ethanol. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 33(2), 67-81. <https://doi.org/10.1007/BF02950778>

- Moscicki, L. (2011). *Extrusion-cooking techniques : applications, theory and sustainability*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH.
- Myat, L., & Ryu, G.-H. (2013). Extrusion with thermostable α -amylase injection as pretreatment method for ethanol production from corn starch. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 5(2), 47-53. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000099>
- Santala, O., Nordlund, E., & Poutanen, K.(2013). Use of an extruder for pre-mixing enhances xylanase action on wheat bran at low water content. *Bioresource Technology*, 149, 191-199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.029>
- Solihin, B. W., Kim, M. H., Im, B. S., Cha, J. Y., & Ryu, G. H. (2007). Effects of feed moisture content on enzymatic hydrolysis of corn starch in twin-screw extruder and saccharification of the dried extrudates. *Food Science and Biotechnologie*, 16(3), 381-385.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & İbanoğlu, Ş. (2010) The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food Chemistry*, 121(1), 156-164. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.024>
- Takeiti, C. Y., Kieckbusch, T. G., & Collares-Queiroz, F. P. (2010). Morphological and physicochemical characterization of commercial maltodextrins with different degrees of dextrose-equivalent. *International Journal of Food Properties*, 13(2), 411-425, <https://doi.org/10.1080/10942910802181024>