

JOANNA LE THANH, KRYSZYNA PROCHASKA, GRAŻYNA LEWANDOWICZ

## **HYDROLIZA ENZYMATYCZNA SKROBI UTLENIONEJ W BIOREAKTORZE MEMBRANOWYM**

### **Streszczenie**

Skrobie utlenione E 1404 są najczęściej stosowanymi spożywczymi skrobiami modyfikowanymi, jednak brak doniesień literaturowych na temat podatności tych skrobi na amyloлизę, a właściwości funkcjonalne produktów hydrolizy enzymatycznej skrobi utlenionych są nieznane.

Celem pracy było zbadanie możliwości zastosowania bioreaktora membranowego do hydrolizy enzymatycznej skrobi utlenionej oraz ocena aktywności powierzchniowej otrzymanych produktów. Proces hydrolizy prowadzono w bioreaktorze membranowym z ceramicznym modułem ultrafiltracyjnym o konfiguracji rurowej. Przebadano procesy jedno- i dwuetapowy, w których zastosowano różne enzymy amylolyczne. W celu oceny właściwości adsorpcyjnych przeprowadzono badania napięcia powierzchniowego, stosując metodę oderwania pierścienia du Noüy'a. Stwierdzono, że skrobia utleniona ulega hydrolizie w enzymatycznym bioreaktorze membranowym, przy czym w celu uzyskania efektywnego przebiegu procesu nie jest konieczne stosowanie wstępnego upłynniania  $\alpha$ -amylazą. W jednoetapowym procesie hydrolizy enzymatycznej uzyskuje się produkty o relatywnie niskim stopniu scukrzenia DE. W przypadku procesu dwuetapowego optymalny stopień upłynnienia  $\alpha$ -amylazą bakteryjną w pierwszym etapie hydrolizy determinuje efektywność całego procesu. Zjawisko foulingu nie wywiera istotnego wpływu na wydajność separacji otrzymanych maltodekstryn. Produkty hydrolizy enzymatycznej skrobi utlenionej, jak również wyjściowy surowiec, wykazują aktywność powierzchniową i powodują obniżenie napięcia powierzchniowego na granicy faz woda/powietrze.

**Słowa kluczowe:** hydroliza enzymatyczna, bioreaktor membranowy, skrobia utleniona, aktywność powierzchniowa

### **Wprowadzenie**

Zastosowanie enzymatycznego bioreaktora membranowego do hydrolizy skrobi staje się coraz bardziej popularne ze względu na możliwość zwiększenia wydajności

---

*Mgr inż. J. Le Thanh, dr hab. inż. Grażyna Lewandowicz, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Żywieniu, Akademia Rolnicza im A. Cieszkowskiego, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań, prof. dr hab. inż. Krystyna Prochaska, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska, Pl. M. Skłodowskiej-Curie, 60-965 Poznań*

procesu, skrócenia czasu reakcji, obniżenia kosztów związanych ze zużyciem enzymów, jak również stabilizacji właściwości otrzymywanych produktów. Szczególnie zalecane jest stosowanie bioreaktorów membranowych do otrzymywania produktów niskocząsteczkowych, takich jak: glukoza, maltoza, syropy skrobiowe lub maltodekstryny [8–10].

Skrobie modyfikowane należą do najbardziej wielofunkcyjnych dodatków stosowanych obecnie w przemyśle spożywczym. Jako odnawialny, łatwo dostępny i relatywnie tani surowiec są szeroko stosowane głównie do zagęszczania i stabilizacji wielu produktów spożywczych. Głównym celem modyfikacji skrobi jest m.in. zwiększenie jej stabilności reologicznej w warunkach wysokiej i niskiej temperatury oraz niskich wartości pH [2]. Utlenianie skrobi naturalnej za pomocą chloranu (I) sodu ma największe znaczenie praktyczne [13, 14]. Skrobie modyfikowane chemicznie są stosowane prawie wyłącznie jako substancje wysokocząsteczkowe. Jedynym wyjątkiem są produkty hydrolizy enzymatycznej soli sodowej oktenylobursztynianu skrobiowego (E 1450) zalecane do stosowania jako substancja o charakterze emulgującym [7]. Podatność skrobi modyfikowanych chemicznie na hydrolizę za pomocą enzymów amylolitycznych jest zagadnieniem, które było przedmiotem bardzo niewielu opracowań. Wykazano, że fosforany skrobiowe charakteryzują się obniżoną podatnością na amyloлизę, a stopień inhibicji wzrasta ze wzrostem zawartości grup fosforanowych [9]. Z drugiej strony wysoko podstawione octany skrobiowe, tworzące wytrzymałe, również w środowisku wodnym, filmy ulegają efektywnie hydrolizie  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylazami [4]. Zastosowanie enzymatycznego bioreaktora membranowego do hydrolizy skrobi modyfikowanych chemicznie mogłoby przyczynić się do poszerzenia gamy funkcjonalnych dodatków do żywności, jednak wymaga wiedzy na temat efektywności tego procesu, jak również właściwości tak otrzymanych produktów.

Celem pracy było określenie możliwości zastosowania bioreaktora membranowego do hydrolizy enzymatycznej handlowej skrobi utlenionej „Lubox” oraz ocena aktywności powierzchniowej otrzymanych produktów.

### **Materiał i metody badań**

Materiał badawczy stanowiła handlowa skrobia utleniona „Lubox” (E 1404), zawierająca 0,5% grup karboksylowych, produkowana przez Wielkopolskie Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemiaczanego S.A. w Luboniu.

W procesie hydrolizy stosowano następujące preparaty enzymatyczne firmy Novo Nordisk (Dania):

- BAN 480L (bakteryjna  $\alpha$ -amylaza produkowana przez wyselekcjonowane szczepy *Bacillus amyloliquefaciens*),

- Promozyme<sup>®</sup> D (pululanaza produkowana przez wyselekcjonowane szczepy *Bacillus acidopullulyticus*),
- Dextrozyme<sup>™</sup> E (zbalansowana mieszanina glukoamylazy produkowanej przez genetycznie modyfikowane szczepy *Aspergillus niger* i pululanazy produkowanej przez genetycznie modyfikowane szczepy *Bacillus*).

Przebadano przebieg hydrolizy enzymatycznej skrobi utlenionej w dwóch typach procesów – jednoetapowym, przebiegającym tylko w reaktorze membranowym oraz dwuetapowym, w którym proces membranowy poprzedzony był wstępnym upłynnianiem  $\alpha$ -amylazą. Do badań zastosowano bioreaktor membranowy z zewnętrznym modułem ultrafiltracyjnym zawierającym trójkanałową membranę ceramiczną (punkt odcięcia cut-off:  $3 \cdot 10^3$  Da) o konfiguracji rurowej (Tami Industries, France), powierzchni  $0,01 \text{ m}^2$  i długości  $0,3 \text{ m}$ .

#### *Procedura I – proces jednoetapowy*

Przygotowywano 1500 ml 20% zawiesiny skrobiowej o pH = 6,5 i poddawano kleikowaniu w łaźni wodnej, w temp.  $80^\circ\text{C}$ , a następnie sterylizowano w autoklawie w temp.  $126^\circ\text{C}$  w ciągu 11 min. Tak przygotowany kleik rozcieńczano do stężenia 5%, a następnie dodawano preparatu enzymatycznego Dextrozyme<sup>™</sup> E lub Promozyme<sup>®</sup> D w ilości  $0,3 \text{ ml/kg}$  skrobi. Hydrolizę prowadzono w bioreaktorze membranowym przez 3 godz. w stałej temp.  $60^\circ\text{C}$ , przy różnych ciśnieniach transmembranowych  $0,1$ ;  $0,2$  i  $0,3 \text{ MPa}$ , które zmieniano co 1 godz. Zbierano frakcję filtratu co 30 min, podczas gdy retentat był zawracany. W każdej z pobranych partii filtratu oznaczano zawartość suchej substancji oraz wartość równoważnika glukozy DE. Po zakończonym procesie hydrolizy zebraną frakcję permeatu suszono za pomocą suszarki rozpyłowej Mobile Miner<sup>™</sup> 2000 (Niro A/S), a uzyskany produkt poddawano oznaczeniu napięcia powierzchniowego w układzie woda/powietrze.

#### *Procedura II – proces dwuetapowy*

Przygotowywano 1500 ml 20% zawiesiny skrobiowej o pH = 6,5 i poddawano kleikowaniu w łaźni wodnej, w temp.  $80^\circ\text{C}$ , a następnie sterylizowano w autoklawie w temp.  $126^\circ\text{C}$  w ciągu 11 min. Do tak przygotowanego roztworu dodawano odpowiednią ilość preparatu enzymatycznego BAN 480L, stosując różne ilości enzymu w stosunku do suchej masy Luboxu, ( $0,5 \text{ ml/kg}$  lub  $5 \text{ ml/kg}$  skrobi) i prowadzono hydrolizę okresową w temp.  $60$ – $65^\circ\text{C}$ , w ciągu 10 min. Po zakończonej hydrolizie wstępnej, w celu dezaktywacji enzymu, kleik zakwaszono do pH = 3,0 i sterylizowano w temp.  $126^\circ\text{C}$  w ciągu 11 min. Kleik po zobojętnieniu do pH optymalnego dla enzymu stosowanego w II etapie hydrolizy i rozcieńczeniu do stężenia 5%

umieszczano w bioreaktorze membranowym, w którym prowadzono drugi etap hydrolizy w identyczny sposób jak w procedurze I.

Wartość równoważnika glukozowego DE oraz zawartość suchej substancji w hydrolizatach oznaczano zgodnie z PN-78/A-74701 [5].

Napięcie powierzchniowe oznaczano metodą odrywania pierścienia du Noüy'a. Użyto w tym celu tensjometr K12 firmy Krüss (Niemcy). Badania prowadzono w temp. 21°C. Badane roztwory wodne o stężeniu od 10<sup>-3</sup> do 1% przygotowano drogą kolejnych rozcieńczeń. Eksperymentalnie uzyskane izotermy napięcia powierzchniowego  $\gamma = f(c)$  aproksymowano równaniem Szyszkowskiego [1]:

$$\gamma_i = \gamma_0 \left[ 1 - B_{Sz} \ln \left( \frac{c}{A_{Sz}} + 1 \right) \right] \quad (1)$$

gdzie:  $\gamma_i$  – napięcie powierzchniowe,  $\gamma_0$  – napięcie powierzchniowe w układzie woda/powietrze niezawierającym hydrolizatu,  $c$  – stężenie hydrolizatu,  $R$  – stała gazowa,  $T$  – temperatura,  $A_{Sz}$ ,  $B_{Sz}$  – współczynniki Szyszkowskiego.

Różniczkując równanie (1) względem stężenia i wprowadzając wyrażenie  $d\gamma/dc$  do izotermy Gibbsa [1]:

$$\Gamma = - \frac{c}{RT} \frac{d\gamma}{dc} \quad (2)$$

otrzymano zależność nadmiaru powierzchniowego  $\Gamma_{SZ}^i$  jako funkcję stężenia:

$$\Gamma_{SZ}^i = \frac{\gamma_0 B_{Sz}}{RT} \frac{c_i}{(c_i + A_{Sz})} \quad (3)$$

Zastosowanie izotermy Szyszkowskiego, jako równania aproksymującego pozwoliło bezpośrednio oszacować wartość swobodnej energii adsorpcji  $\Delta G_{ads}$ :

$$\Delta G_{ads} = -RT \ln A_{Sz} \quad (4)$$

oraz wartość stężenia powierzchniowego hydrolizatu na nasyconej granicy faz  $\Gamma_\infty$ :

$$\Gamma_\infty = \frac{\gamma_0 B}{RT} \quad (5)$$

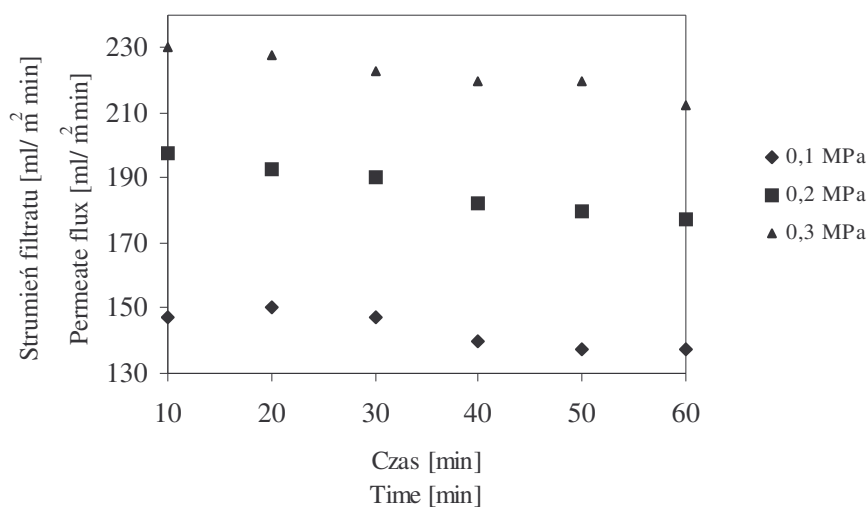
Na podstawie wyliczonych wartości stężenia powierzchniowego  $\Gamma_\infty$ , określono  $A_{min}$  – statyczną wielkość powierzchni zajmowaną przez pojedynczą cząsteczkę (w przeliczeniu na jednostkę anhydroglukozy) w warstwie monomolekularnej na granicy faz:

$$A_{min} = \frac{1}{\Gamma_\infty N_A} \quad (6)$$

gdzie:  $N_A$  – liczba Avogadro,  $N_A = 6,023 \cdot 10^{23}$ .

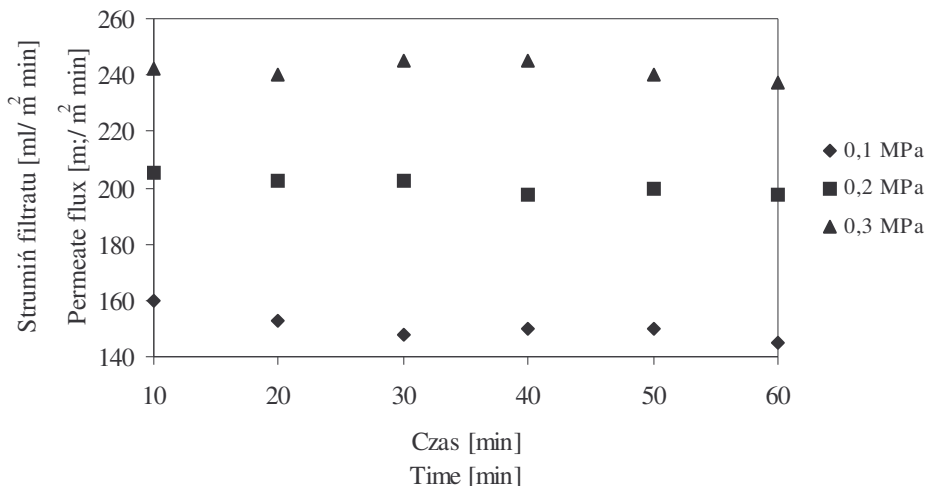
## Wyniki i dyskusja

Zastosowanie reaktorów membranowych w procesach hydrolizy enzymatycznej skrobi przyczynia się do znacznego zwiększenia efektywności tych procesów, jednak ograniczone jest w zasadzie do etapu scukrzania, ze względu na zbyt wysoką lepkość kleików skrobiowych niepoddanych wstępnemu upłynnieniu i możliwy fouling membran [8, 10, 11]. Badany preparat skrobi utlenionej Lubox charakteryzuje się relatywnie wysokim stopniem utlenienia (zawartość grup karboksylowych wynosi 0,5%), czemu towarzyszy silnie zmniejszona lepkość kleików [12]. Powyższe właściwości fizykochemiczne kleików skrobi Lubox umożliwiły przeprowadzenie jednoetapowej hydrolizy w bioreaktorze membranowym, wyposażonym w moduł UF z membraną o cut-off  $3 \cdot 10^3$  Da. Analiza danych przedstawionych na rys. 1. i 2. dowiodła, że w obu przypadkach hydrolizy jednoetapowej, niezależnie od wartości ciśnienia transmembranowego, nastąpiło częściowe blokowanie membrany produktami hydrolizy. Zmniejszenie strumienia filtratu w czasie procesu było większe, gdy hydrolizę prowadzono z udziałem preparatu Dextrozyme<sup>TM</sup> E niż Promozyme<sup>®</sup> D.



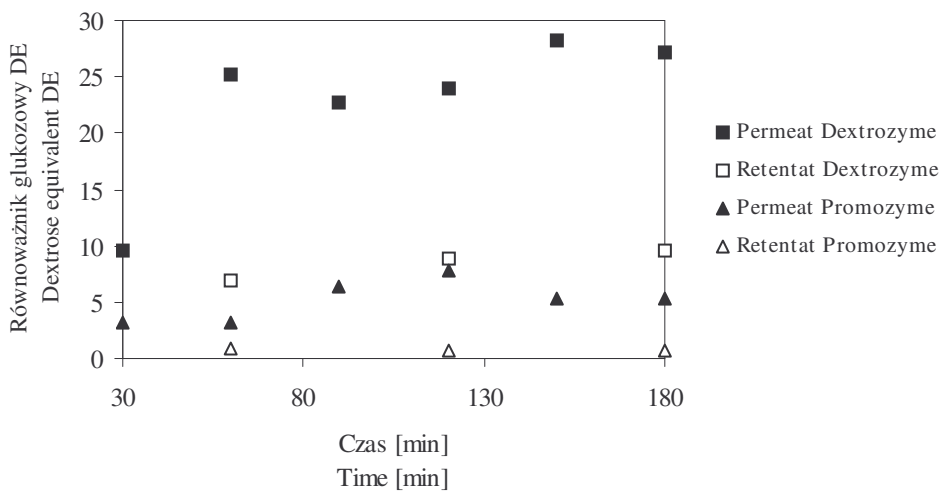
Rys. 1. Zmiana strumienia filtratu w czasie procesu jednoetapowej hydrolizy Luboxu za pomocą preparatu enzymatycznego Dextrozyme<sup>TM</sup> E.

Fig. 1. Permeate flux changes during the one-step hydrolysis of Lubox with the Dextrozyme<sup>TM</sup> E enzyme preparation.



Rys. 2. Zmiana strumienia filtratu w procesie jednoetapowej hydrolizy Luboxu za pomocą preparatu enzymatycznego Promozyme<sup>®</sup> D.

Fig. 2. Permeate flux changes during the one-step hydrolysis of Lubox with the Promozyme<sup>®</sup> D enzyme preparation.

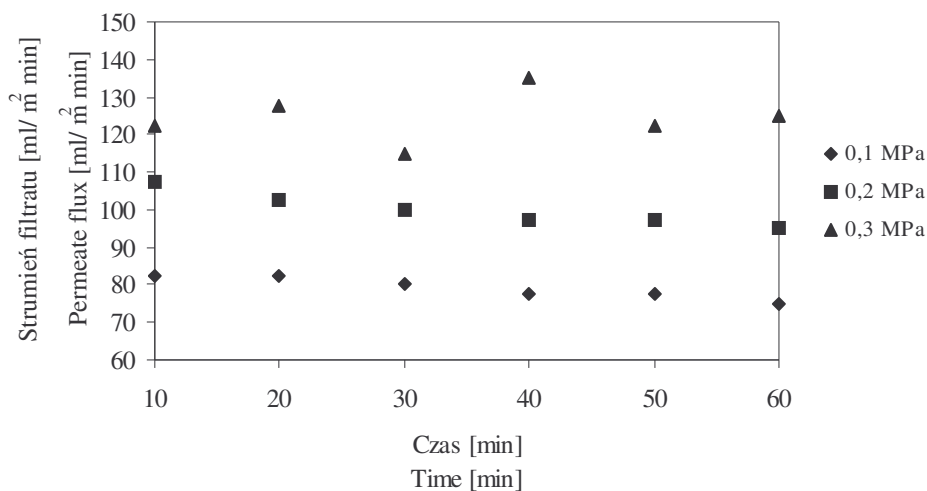


Rys. 3. Zmiana stopnia scukrzenia produktów w toku jednoetapowej hydrolizy Luboxu preparatami enzymatycznymi: Dextrozyme<sup>™</sup> E, oraz Promozyme<sup>®</sup> D.

Fig. 3. Changes in the degree of saccharification during the one-step hydrolysis of Lubox with the Dextrozyme<sup>™</sup> E, and Promozyme<sup>®</sup> D enzyme preparations.

Zastosowanie różnych preparatów enzymatycznych w jednoetapowej hydrolizie skrobi utlenionej Lubox prowadziło do uzyskania produktów znacznie różniących się wielkością masy cząsteczkowej (rys. 3). W przypadku preparatu enzymatycznego Dextrozyme™ E, będącego mieszaniną glukoamylazy i pululanazy, już po dwóch godzinach hydrolizy odpowiednie wartości DE filtratu były około trzykrotnie większe niż w przypadku samej pululanazy, czyli preparatu Promozyme® D. Biorąc jednak pod uwagę niską aktywność amylolytyczną pululanazy w porównaniu z enzymami innych grup [3] należy uznać, iż w opisywanym eksperymencie skrobia utleniona Lubox efektywnie uległa hydrolizie nie tylko glukoamylazą, ale również pululanazą.

W kolejnym etapie badań podjęto próbę zmniejszenia zjawiska foulingu poprzez przeprowadzenie hydrolizy dwuetapowej ze występnym upłynnieniem  $\alpha$ -amylazą. W celu ustalenia dawki preparatu enzymatycznego w pierwszym etapie hydrolizy przeprowadzono dwie serie badań z użyciem preparatu enzymatycznego BAN 480L, w ilości 0,5 ml/kg i 5 ml/kg preparatu skrobiowego. Jak wynika z danych przedstawionych na rys. 4. i 5., pomimo wstępnego upłynnienia Luboxu w pierwszym etapie hydrolizy nie stwierdzono znacznej poprawy zdolności separacyjnej modułu ultrafiltracyjnego.

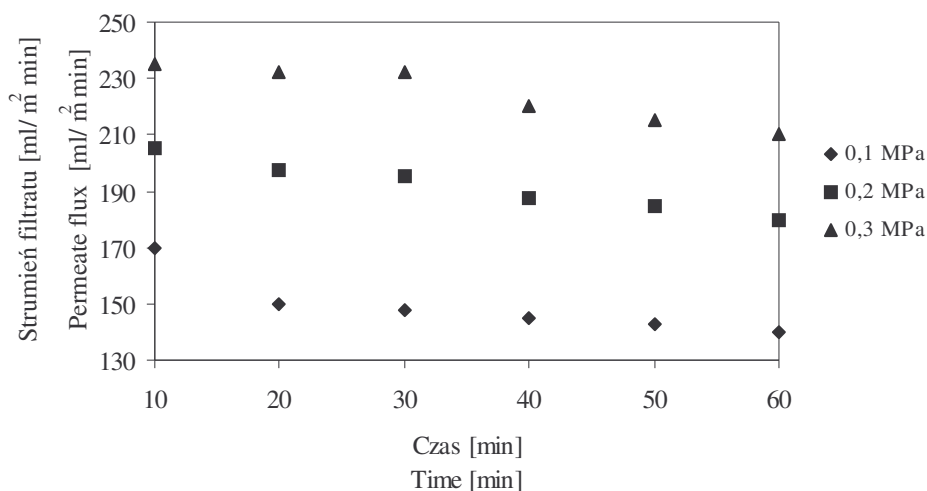


Rys. 4. Zmiana strumienia filtratu w czasie drugiego etapu hydrolizy preparatem Dextrozyme™ E poprzedzonego hydrolizą wstępną przy użyciu preparatu BAN 480L w ilości 5ml/kg.

Fig. 4. Permeate flux changes during the second step of hydrolysis of Lubox with the Dextrozyme™ E enzyme preparation preceded by the initial hydrolysis with a 5 ml/kg preparation BAN 480L.

Wprawdzie po jednej godz. prowadzenia procesu nastąpiło zmniejszenie strumienia filtratu jedynie o około 10%, jednak bezwzględne wartości były niższe niż

w procesie jednoetapowym, szczególnie w przypadku zastosowania dużej ilości  $\alpha$ -amylazy na etapie wstępnego upłynniania. Wskazywałoby to na fakt, że za fouling membrany były odpowiedzialne raczej enzymy stosowane w hydrolizie, a nie frakcja sacharydowa.



Rys. 5. Zmiana strumienia filtratu w czasie drugiego etapu hydrolizy preparatem Dextrozyme<sup>TM</sup> E poprzedzonego hydrolizą wstępną przy użyciu preparatu BAN 480L w ilości 0,5ml/kg.

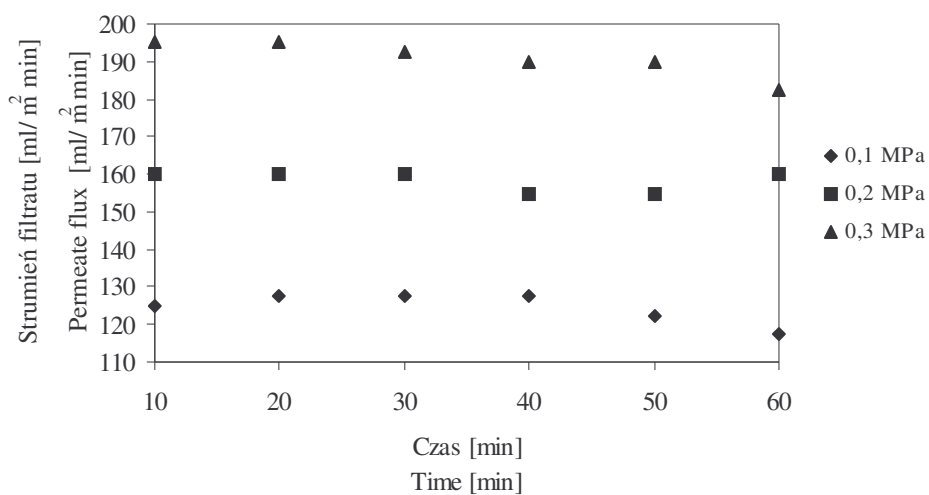
Fig. 5. Permeate flux changes during the second step of hydrolysis of Lubox with the Dextrozyme<sup>TM</sup> E enzyme preparation preceded by the initial hydrolysis with a 5 ml/kg preparation BAN 480L.

Zastosowanie w drugim etapie hydrolizy preparatu enzymatycznego Promozyme<sup>®</sup> D w miejsce Dextrozyme<sup>TM</sup> E spowodowało nieco silniejsze blokowanie membrany ultrafiltracyjnej (rys. 6). Efekt ten może być związany zarówno z różnymi właściwościami stosowanych białek enzymatycznych, jak i z różnicami w składzie produktów hydrolizy.

Zmiana ilości enzymu, zastosowanego w pierwszym etapie hydrolizy, w bardzo silny sposób rzutowała na stopień scukrzenia produktów drugiego etapu hydrolizy (rys. 7). Zastosowanie dużej ilości preparatu enzymatycznego BAN 480L w pierwszym etapie hydrolizy prowadziło do stałego wzrostu zawartości cukrów redukujących zarówno we frakcji permeatu, jak i retentatu. Powyższa obserwacja wskazuje na fakt, że szybkość hydrolizy była zbyt duża w stosunku do zdolności separacyjnej zastosowanej membrany ultrafiltracyjnej. W przypadku zastosowania mniejszej ilości  $\alpha$ -amylazy na etapie hydrolizy wstępnej stopień scukrzenia zależy od rodzaju enzymu użytego w procesie membranowym. Podobnie jak w procesie jednoetapowym, produkty hydrolizy w przypadku zastosowania preparatu enzymatycznego

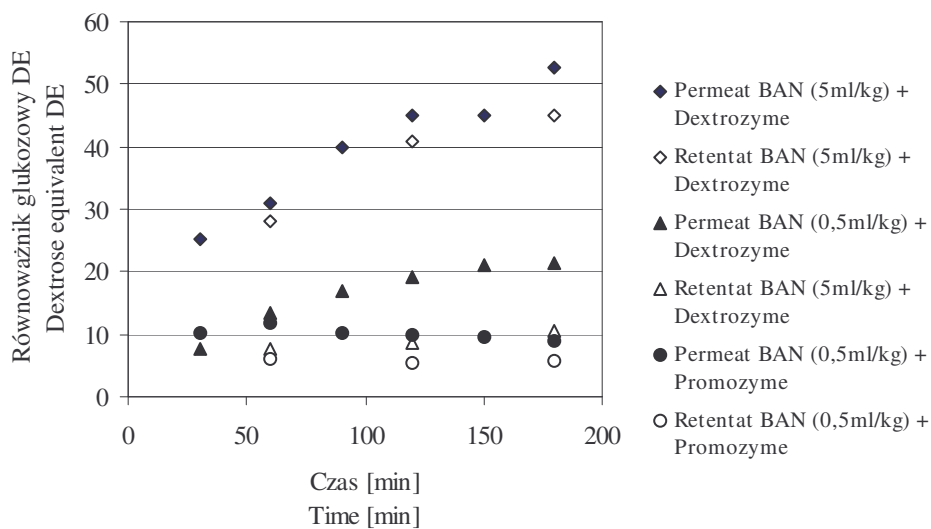


Dextrozyme™ E miały wyższy stopień scukrzenia niż przy zastosowaniu preparatu Promozyme® D.



Rys. 6. Zmiana strumienia filtratu w czasie drugiego etapu hydrolizy preparatem Promozyme® D poprzedzonego hydrolizą wstępną przy użyciu preparatu BAN 480L w ilości 0,5 ml/kg.

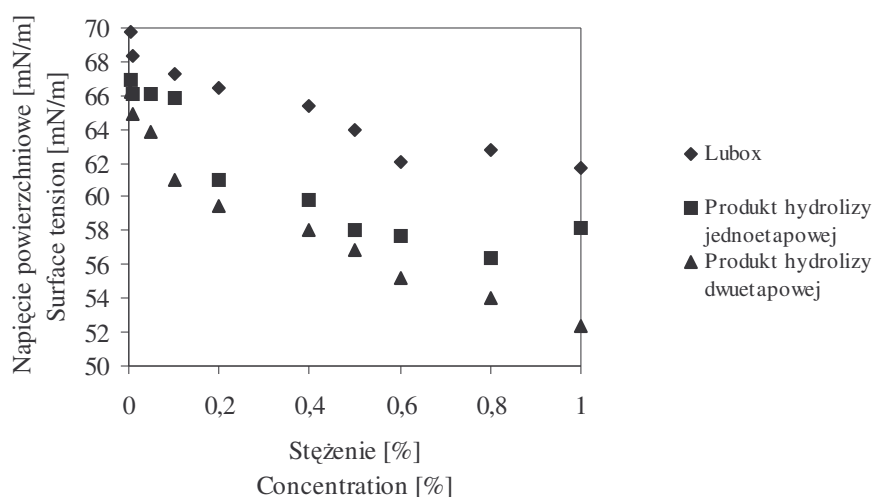
Fig. 6. Permeate flux changes during the second step of hydrolysis of Lubox with the Promozyme® D enzyme preparation preceded by the initial hydrolysis with a 5 ml/kg preparation BAN 480L.



Rys. 7. Zmiana stopnia scukrzenia produktów w toku dwuetapowej hydrolizy Luboxu w bioreaktorze membranowym.

Fig. 7. Changes in the degree of saccharification during the two-step hydrolysis of Lubox with the Dextrozyme™ E or Promozyme® D enzyme preparations.

Badania aktywności powierzchniowej na granicy faz woda-powietrze wodnych roztworów skrobi modyfikowanej Luboxem oraz wybranych produktów hydrolizy wykazały, że wszystkie analizowane produkty adsorbowały się na granicy faz woda/powietrze i obniżały napięcie powierzchniowe (rys. 8, tabela 1).



Rys. 8. Napięcie powierzchniowe jako funkcja stężenia objętościowego wodnych roztworów Luboxu oraz produktów jego hydrolizy.

Fig. 8. Surface tension as a function of volume concentration of water solutions of Lubox and of products of its hydrolysis.

Właściwości powierzchniowe zhydrolizowanych pochodnych skrobi utlenionych zależały od warunków prowadzenia hydrolizy (tab. 1). Produkty otrzymane w procesie dwuetapowym charakteryzowały się nieco większą tendencją do adsorpcji na granicy faz woda/powietrze. Natomiast pochodne zhydrolizowane w procesie jednoetapowym tworzyły zdecydowanie bardziej upakowaną warstwę adsorpcyjną. Wartość nadmiaru powierzchniowego na nasyconej granicy faz była równa  $1,367 \cdot 10^6 \text{ mol/m}^2$  podczas gdy  $\Gamma^\infty$  oszacowane w odniesieniu do pochodnych otrzymanych w procesie dwuetapowym było znacznie mniejsze i wynosiło  $0,88 \cdot 10^6 \text{ mol/m}^2$ . Znaczne różnice w oszacowanych wartościach nadmiaru powierzchniowego wskazywały na odmienną strukturę warstwy powierzchniowej powstającej w obu badanych układach. Obserwowane różnice właściwości adsorpcyjnych zhydrolizowanych pochodnych skrobi utlenionych wynikały najprawdopodobniej z różnego stopnia scukrzenia badanych preparatów. W procesie dwuetapowym produkty hydrolizy charakteryzowała znacznie większa zawartość cukrów zredukowanych, czyli pochodnych o mniejszej masie

cząsteczkowej. Hydrolizaty te wykazały większą mobilność z fazy objętościowej do granicy faz w układzie woda/powietrze. Z drugiej jednak strony, z racji na odmienną orientację na granicy faz tworzyły nasyconą warstwę adsorpcyjną o stosunkowo niskim stężeniu.

Tabela 1

Parametry adsorpcji produktów hydrolizy jednoetapowej i dwuetapowej.

Adsorption parameters of the products produced during the one-step and two-step hydrolysis.

Parametry adsorpcji Adsorption parameters	Jednostka Unit	Produkt hydrolizy jednoetapowej One-step hydrolysis product	Produkt hydrolizy dwuetapowej Two-step hydrolysis product
$A_{Sz}$	mol/dm <sup>3</sup>	$1,74 \cdot 10^{-3}$	$3,54 \cdot 10^{-4}$
$B_{Sz} \cdot 10^2$	–	4,64	3,00
$\Gamma^\infty \cdot 10^6$	mol/m <sup>2</sup>	1,37	0,88
$A_{min}$	nm <sup>2</sup>	1,21	1,88
$-\Delta G_{ads}$	kJ/mol	15,50	19,40

### Wnioski

1. Skrobia utleniona Lubox zawierająca 0,5% grup karboksylowych ulega hydrolizie w enzymatycznym bioreaktorze membranowym, przy czym w celu uzyskania efektywnego przebiegu procesu nie jest konieczne stosowanie wstępnego upłynniania  $\alpha$ -amylazą.
2. W jednoetapowym procesie hydrolizy enzymatycznej uzyskuje się produkty o relatywnie niskiej wartości stopnia scukrzenia DE.
3. W przypadku procesu dwuetapowego optymalny stopień upłynnienia  $\alpha$ -amylazą bakteryjną w pierwszym etapie hydrolizy determinuje efektywność całego procesu; w przypadku zbyt zaawansowanej hydrolizy wstępnej w drugim etapie procesu w reaktorze membranowym efektywność filtracji jest zbyt mała w stosunku do szybkości zachodzącej hydrolizy.
4. W prowadzonych procesach z wykorzystaniem bioreaktora membranowego zjawisko foulingu nie wywiera istotnego wpływu na wydajność separacji otrzymanych produktów hydrolizy.
5. Wszystkie badane substancje, tj. zarówno modyfikowana chemicznie skrobia, jak i produkty jej hydrolizy, absorbują się na granicy faz woda/powietrze i obniżają napięcie powierzchniowe.
6. Zdolność obniżania napięcia powierzchniowego produktów hydrolizy jest wyższa niż wyjściowej skrobi modyfikowanej.

7. Lepsze właściwości adsorpcyjne mają skrobie zhydrolizowane w procesie dwuetapowym niż jednoetapowym.

*Pracę zrealizowano w ramach grantu KBN nr 2 P06T 052 27 oraz badań własnych nr 32-118/05 BW.*

### Literatura

- [1] Chattoraj D. K., Birdi K. S.: Adsorption and the Gibbs Surface Excess. Plenum Press. New York 1984.
- [2] Lewandowicz G., Wronkowska M., Sadowska J., Soral-Śmietana M., Błaszczak W., Walkowski A.: Influence of potato starch oxidation on texture and rheological behaviour of some sweet desserts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, 31-36.
- [3] Nebesny E.: Changes of carbohydrate composition during enzymatic hydrolysis of starches of various origin. *Starch-Stärke*, 1993, **45 (12)**, 426-429.
- [4] Parandosh S., Hudson S.M.: The acetylation and enzymatic degradation of starch films. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1993, **48**, 787-791.
- [5] PN-78/A-74701. Hydrolizaty skrobiowe. Metody badań.
- [6] Prochaska K.: Interfacial activity of metal ion extractant. Review, *Adv. Colloid Interface. Sci.*, 2002, **95**, 51-70.
- [7] Shogren R.A., Wiswanathan A., Felker F., Gross R.A.: Distribution of octenyl succinate groups in octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch. *Starch-Stärke*, 2000, **52**, 196-204.
- [8] Sims K.A., Cheryan M.: Continuous saccharification of corn starch in a membrane reactor. Part II: Membrane performance and reactor stability. *Starch-Stärke*, 1992, **44 (9)**, 345-348.
- [9] 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.
- [10] Słomińska L., Grajek W., Grześkowiak A., Goczałek M.: Enzymatic starch saccharification in an ultrafiltration membrane reactor. *Starch-Stärke*. 1998, **50 (9)**, 390-396.
- [11] Słomińska L., Szostek A., Grześkowiak A.: Studies on enzymatic continuous production of cyclodextrins in an ultrafiltration membrane bioreactor. *Carbohydr. Polym.*, 2002, **50**, 423-428.
- [12] Śmigielńska H., Lewandowicz G., Walkowski A.: Wpływ dodatku mikroelementów na właściwości użytkowe skrobi utlenionych. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, seria Scientia Alimentaria*, w druku.
- [13] Walkowski A., Lewandowicz G.: Skrobie modyfikowane - właściwości technologiczne i zakres stosowania. *Przem. Spoż.*, 2004, **58 (5)**, 49-51.
- [14] Walkowski A., Mączyński M., Lewandowicz G.: Tendencies in a development of food starch products market in Poland. In: *Starch: From Starch Containing Sources to Isolation of Starches and Their Applications* – red. Yuryev V.P., Tomasik P., Ruck H. Nova Science Publishers, Inc. New York 2004, pp. 29-38.

### S u m m a r y

Oxidised starches E 1404 are the most popular food modified starches, but in the literature available, there are no reports referring to enzyme susceptibility of these derivatives, neither are known functional properties of the oxidised products of enzymatic hydrolysis.

The objective of this research was to study possibilities of applying a membrane bioreactor in the process of enzymatic hydrolysis of oxidised starches, and to assess surface properties of the products obtained. The hydrolysis process was carried out in a membrane bioreactor equipped with an ultra-filtration module of a tubular configuration. Single-step and two-step hydrolysis processes were investigated; various amylolytic enzymes were used in the processes studied. For the purpose of assessing adsorptive properties, surface tension was investigated using a 'du Noüy' ring method. It was stated that the oxidised starches underwent hydrolysis in the enzymatic membrane bioreactor; furthermore, it was proved that it was not necessary to apply the initial liquefaction of starches with an  $\alpha$ -amylase to achieve an effective progress of the hydrolysis process. During the single-step hydrolysis the products obtained showed a relatively low degree of saccharification. As for the two- step hydrolysis, the complete process effectiveness depended on the optimal degree of liquefaction with an  $\alpha$ -amylase during the first stage of the hydrolysis. The phenomenon of fouling did not significantly impact the separation efficiency of maltodextrin produced. The oxidised products of hydrolysis, as well as the raw material showed surface activity, and caused the reduction in the surface tension at the water-air interface.

**Key words:** enzymatic hydrolysis, membrane bioreactor, oxidised starch, surface activity 