

LUCYNA SŁOMIŃSKA, AGATA KULIK

## SKUTECZNOŚĆ DZIAŁANIA NOWYCH ENZYMATYCZNYCH PREPARATÓW POZYSKIWANYCH ZE ZMODYFIKOWANYCH ORGANIZMÓW

### Streszczenie

W pracy przebadano skuteczność działania preparatów glukoamylazy (AMG 300L, AMG E), mieszaniny glukoamylazy i pullulanazy (Dextrozyme 225/75L, Dextrozyme E) oraz pullulanazy (Promozyme 200L) w procesie scukrzania hydrolizatu skrobiowego (maltodekstryny) oraz upłynnionej skrobi (pszennej i tapiokowej). Badania prowadzono przy ustalonych parametrach tj. stężeniu substratu, temperaturze, pH i dawce preparatu.

Preparaty uzyskane z genetycznie zmodyfikowanych mikroorganizmów charakteryzowały się większą efektywnością hydrolizy. Zastąpienie preparatu AMG 300L preparatem Dextrozyme E stosowanym w tej samej dawce pozwalało uzyskać hydrolizaty o wyższym DE o 16-32% lub uzyskać podobny stopień scukrzania w skróconym do 24 h czasie hydrolizy.

**Słowa kluczowe:** skrobia, enzymy, scukrzanie, równoważnik glukozowy.

### Wprowadzenie

Hydrolityczny rozkład skrobi prowadzi się stosując katalizator, którego rolę może spełniać zarówno kwas (hydroliza kwasowa), jak i enzym (hydroliza enzymatyczna). Hydroliza enzymatyczna zapewnia: specyficzność działania, łagodne warunki reakcji (temperatura, pH, ciśnienie) oraz wyższą wydajność procesu w porównaniu z hydrolizą kwasową [4, 5, 15, 24].

W przemysłowym procesie enzymatycznej hydrolizy skrobi wyróżniane są dwa etapy technologiczne: upłynnianie i scukrzanie.

Upłynnianie prowadzone jest przy zastosowaniu enzymu upłynniającego –  $\alpha$ -amylazy bakteryjnej (EC 3.2.1.1.), rozkładającej wiązania  $\alpha$ -1,4-glikozydowe. Dzia-

ła ona na wiązania umieszczone wewnątrz łańcucha skrobiowego, ma zdolność omijania wiązań  $\alpha$ -1,6-glikozydowych w amylopektynie. Amylozę rozkłada tworząc liniowe maltosacharydy, które następnie są rozkładane do mieszaniny maltozy z małą ilością glukozy i/lub maltotriozy w zależności od stężenia enzymu i substratu. Natomiast wynikiem działania  $\alpha$ -amylazy na amylopektynę jest mieszanina maltozy z małą ilością maltotriozy i/lub glukozy oraz  $\alpha$ -dekstryn [14, 17, 20].

$\alpha$ -amylazy można sklasyfikować w dwóch grupach: termostabilnych i termolabilnych  $\alpha$ -amylaz [4-glukanohydrolaza alfa 1,4 glukanu (EC 3.2.1.1)].

Wyróżnia się 2 typy termostabilnej  $\alpha$ -amylazy, które mają znaczenie przemysłowe:  $\alpha$ -amylaza uzyskana z hodowli *Bacillus amyloliquefaciens* oraz  $\alpha$ -amylaza wytwarzana przez *Bacillus licheniformis*. Amylaza wytwarzana przez *B. licheniformis* jest częściej stosowana w praktyce ze względu na większą odporność na temperaturę w obecności jonów wapnia [8, 23, 25, 30].

W wyniku upłynniania skrobi  $\alpha$ -amylazą następuje: skleikowanie skrobi w stopniu umożliwiającym szybkie działanie enzymu, redukcja wysokiej lepkości skleikowanego mlecza skrobiowego, degradacja cząsteczki skrobi do krótkich łańcuchów, które nie ulegają retrogradacji w czasie ochładzania [1, 2, 3, 16].

Scukrzanie to hydroliza upłynnionej skrobi do produktów o różnym stopniu depolimeryzacji i zróżnicowanej gamie kompozycji węglowodanowej w zależności od doboru rodzaju enzymu czy zestawu enzymatycznego. Scukrzanie prowadzone jest przy zastosowaniu egzogennych enzymów scukrzających glukogennych (EC 3.2.1.3) lub maltogennych (EC 3.2.1.2). Enzymy te mają zdolność rozszczepiania wiązań  $\alpha$ -1,4-glikozydowych w amylozie, amylopektynie i oligosacharydach. Hydrolizują one również wiązania  $\alpha$ -1,6-glikozydowe w izopanozie, panozie i rozgałęzionych polisacharydach, jednak z niewielką szybkością [24]. Katalizują one hydrolizę wiązań  $\alpha$ -glikozydowych przez kolejne odszczepianie niskomolekularnych produktów, takich jak glukoza czy maltoza, przy czym działanie ich zaczyna się od nieredukującego końca łańcucha skrobiowego. W przeciwieństwie do endoamylaz, wynikiem ich działania jest powolny spadek lepkości kleików skrobiowych i brak zdolności barwienia z jodem [11, 19].

Enzymami pomocnymi w procesie scukrzania upłynnionej skrobi są enzymy rozkładające rozgałęzienia – pullulanaza (EC 3.2.1.41) czy izoamylaza (EC 3.2.1.68)

Pullulanaza wymaga do swego działania substratu posiadającego jedynie dwie cząsteczki glukozy z każdej strony wiązania  $\alpha$ -1,6-glikozydowego, natomiast izomaltoza co najmniej trzy.

Najmniejszą jednostką podatną na działanie pullulanazy (substrat minimalny) jest liniowy czterocukier  $6^2$  alfa-maltozyl maltozy, natomiast jednostką atakowaną przez izomaltozę jest  $6^3$  alfa-maltotriozył maltotetraozy. Końcowymi produktami hydrolizy

minimalnego substratu są: w przypadku działania pullulanazy – maltoza, a w przypadku hydrolizy izomaltozą – maltotrioza i maltotetraoza [12, 13, 29].

Wprowadzenie enzymów działających na rozgałęzienia w procesie scukrzania przyczynia się do zwiększenia wydajności procesu – procentowego udziału głównego produktu [4, 7, 9, 10, 18, 26, 27]. Końcowym produktem hydrolizy skrobi jest glukoza.

Jednym z czynników wpływających na wydajność procesu scukrzania jest dawka enzymu. Powinna być ona optymalna, gdyż zbyt wysoka dawka glukoamylazy w procesie scukrzania skrobi do glukozy, z uwagi na długi czas kontaktu enzymu z substratem, powoduje wytworzenie produktów ubocznych takich jak maltuloza [6, 21]. Produkty uboczne obniżają wydajność procesu. Są one bowiem odporne na dalszą ich hydrolizę [13, 28]. Opracowując parametry procesu scukrzania należy dokonać wyboru preparatu enzymatycznego charakteryzującego się największą efektywnością działania.

Celem badań było porównanie efektywności działania enzymów, które pozyskiwano z drobnoustrojów metodami tradycyjnymi lub z organizmów GMO, na upłynioną skrobię o podobnym równoważniku glukozowym.

## Material i metody badań

### Substraty

Jako substratów użyto: skrobi tapiokowej (Birkamidon, Tajlandia), skrobi pszennej (Zakłady Przemysłu Ziemniaczanego, Niechlów), maltodekstryny niskoscukrzanej (Szczecińskie Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemniaczanego, Łobez) o 8,4 DE – mieszanina liniowych i rozgałęzionych oligosacharydów uzyskanych ze skrobi ziemniaczanej.

### Enzymy

Do badań zastosowano następujące preparaty enzymatyczne produkowane przez firmę Novo Industri A/S:

- Termamyl Supra – mieszaninę wyjątkowo termostabilnych  $\alpha$ -amylaz (4-glukanohydrolaza- $\alpha$ -1,4-glukanu) produkowanych przez genetycznie zmodyfikowane szczepy z rodzaju *Bacillus*. Aktywność Termamylu Supra wynosi 120 KNU/g. 1 KNU to ilość enzymu, która rozkłada 5,26 g skrobi w ciągu 1 h w warunkach standardowych: substrat – skrobia rozpuszczalna, zawartość wapnia – 0,0043 M, czas reakcji – 7-20 min, temp. 37°C, pH 5,6.
- AMG 300L i AMG E – glukoamylaza ( $\alpha$ -1,4-D glukohydrolaza glukuanu) uzyskiwana z niemodyfikowanych i zmodyfikowanych genetycznie szczepów *Aspergillus niger*. Aktywność AMG wynosi 300 AGU/ml. 1 AGU to ilość enzymu rozkła-

dająca 1  $\mu\text{mol}$  maltozy w ciągu 1 min w warunkach: substrat – maltoza, temp. 25°C, pH 4,3, czas reakcji – 30 min.

- Promozyme 200L – pullulanaza (pullulan 6-glukanohydrolazy) pozyskiwana z *Bacillus acidopullulyticus*. Hydrolizuje wiązania  $\alpha$ -1,6 glikozydowe. Aktywność enzymu wynosi 200 PUN/g. 1 PUN to ilość enzymu hydrolizująca pullulan i uwalniająca 1  $\mu\text{mol}$  glukozy w ciągu 1 min. w warunkach: substrat – 0,2% pullulan, temp. 40°C, pH 5,0, czas reakcji – 30 min.
- Dextrozyme 225/75L i Dextrozyme E – mieszanina glukoamylazy i pullulanazy produkowana z niemodyfikowanych i zmodyfikowanych genetycznie szczepów *Aspergillus niger* i *Bacillus acidopullulyticus*. Enzymy zawarte w preparacie hydrolizują wiązania  $\alpha$ -1,4 i  $\alpha$ -1,6 glikozydowe.

### Uptynnianie

Zawiesinę 35% skrobi pszennej lub tapiokowej doprowadzano do pH 6,5 (20% zawiesina węglanu wapnia) i zadawano preparatem Termamyl Supra w dawce 0,06 lub 0,08%. Hydrolizę prowadzono w temp. 90°C przez 1 h.

### Scukrzanie

Roztwór maltodekstryny 35% (8,4 DE) lub upłynnionej skrobi pszennej (8,7 DE) czy tapiokowej (8,5 DE) zakwaszono kwasem cytrynowym (10% roztwór kwasu) do pH optymalnego dla działania enzymów scukrzających (4,3–4,5). Stosowano następujące preparaty enzymatycznych: AMG 300L, AMG E, Dextrozyme 225/75L, Dextrozyme E w dawkach odpowiednio: 0,1, 0,15 i 0,17 %, a także kombinacje preparatów: AMG 300L + Promozyme 200L i AMG E + Promozyme 200L w dawkach odpowiednio: 0,13 i 0,4 %. Hydrolizę prowadzono w temp. 60°C przez 72 h.

W hydrolizatach oznaczano: zawartość cukrów redukujących i równoważnik glukozy zmodyfikowaną metodą Schoorla-Rogenboga [22], wskaźnik przezroczystości (ekstynkcja roztworu mierzona przy długości fali 720 nm w kuwecie 5 ml) i zdolność absorpcji jodu (ekstynkcja roztworu określana w kuwecie 4 ml przy długości fali 500 nm po 30 min reakcji z odczynnikiem jodowym w temp. 25°C).

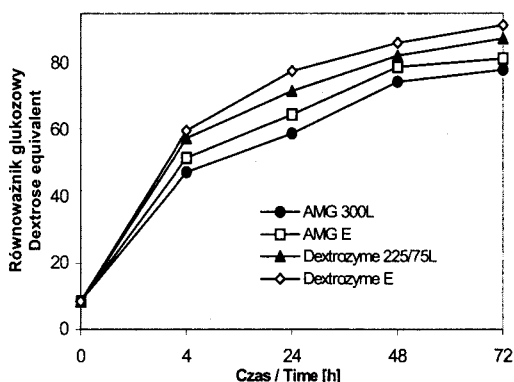
Analizę statystyczną wyników prowadzono w oparciu o test t dotyczący prób zależnych na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

### Działanie preparatów scukrzających na maltodekstrynę

Wpływ traktowania roztworu maltodekstryny preparatami scukrzającymi AMG 300L i AMG E, a także Dextrozyme 225/75L i Dextrozyme E przedstawiono na rys. 1.

Wyniki wskazują, że najwyższe DE uzyskano po 72 h hydrolizy przy zastosowaniu mieszaniny enzymów glukoamylazy i pullulanazy, występujących w preparatach: Dextrozyme E (91,5 DE) i Dextrozyme 225/75L (87,5 DE). Przy użyciu glukoamylaz scukrzających zawartych w preparatach: AMG E i AMG 300L osiągnięto niższe wartości równoważnika glukozowego o 9,5–10 jednostek.



Rys.1 Wpływ rodzaju preparatu enzymatycznego na stopień scukrzenia skrobi. Warunki procesu: substrat: maltodekstryna, stężenie substratu: 35%, pH : 4,3–4,5, dawka preparatu: 0,1%.

Fig. 1. Influence of kind of enzymatic preparation on degree of starch saccharification. Process conditions: substrate: maltodextrine, concentration of substrate: 35%, pH: 4.3-4.5, enzyme dosage: 0.1%.

W badaniach stwierdzono, że we wszystkich rodzajach zastosowanych preparatów enzymatycznych najwyższy przyrost DE tj. o 39,0–51,5 DE występował w początkowej fazie procesu (po 4 h). Po 24 h przyrost DE w stosunku do wielkości DE po 4 h wahał się w zależności od zastosowanego preparatu od 12 do 17 DE. Po 48 h przyrost DE (w stosunku do DE po 4 h) przyjmował wartości 24,4-27,2, natomiast po 72 h przyrost DE wynosił 30-34 jednostki. Równoważnik glukozowy po 24 h hydrolizie, przy zastosowaniu do hydrolizy preparatu Dextrozyme E, był równy DE uzyskanemu po 72 h procesie prowadzonym pod wpływem preparatu enzymatycznego AMG 300L. Możliwe jest więc skrócenie czasu trwania hydrolizy z 72 h do 24 h przez zastąpienie działania AMG 300L efektywniejszym preparatem -Dextrozyme E.

Analiza statystyczna wyników (tab. 1) wykazała statystycznie istotne różnice między preparatami AMG 300L i Dextrozyme 225/75L.

Zwiększenie dawki preparatów do 0,15% pozwoliło uzyskać wyższe wartości DE (rys. 2). Po 72 h działaniu na substrat preparatami w dawce 0,15% otrzymano od 7 do 11 jednostek większe wartości DE niż w przypadku hydrolizy z udziałem 0,1% preparatów.

Tabela 1

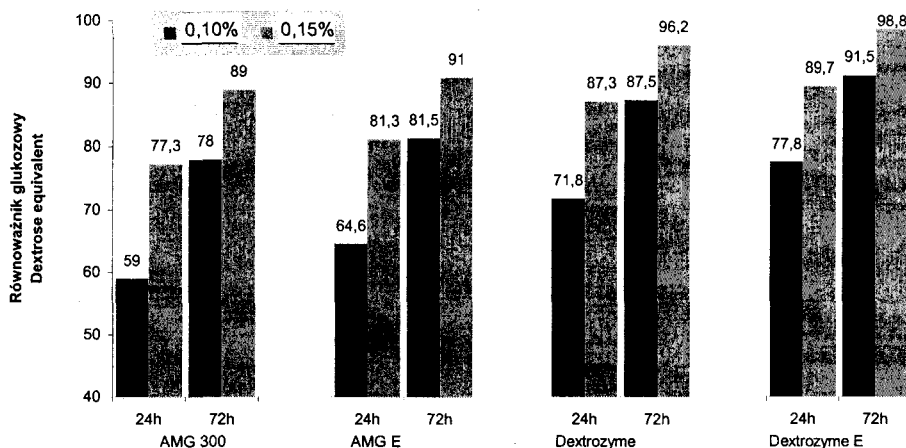
Wyniki analizy statystycznej różnych preparatów enzymatycznych.

Test t dla prób zależnych ( $\alpha = 0,05$ ).

Statistical analysis for various enzymatic preparations.

T-test for dependent samples dialog ( $\alpha = 0.05$ ).

Źródło zmienności Variable	Obliczona wartość statystyki Statistic value t	Poziom prawdopodobieństwa Probability P
AMG 300L / AMG E	8,0000	0,0791
AMG 300L / Dextrozyme 225/75L	10,8750	0,0583
AMG 300L / Dextrozyme E	14,8824	0,0427
AMG E / Dextrozyme 225/75L	3,6154	0,1717
AMG E / Dextrozyme E	6,4074	0,0985
Dextrozyme 225/75L / Dextrozyme E	79,0000	0,0080



Rys. 2. Wpływ dawki preparatu enzymatycznego na stopień scukrzenia skrobi.

Fig. 2. Influence of enzymatic preparation dosage on starch saccharification.

Porównując wartości DE uzyskane w wyniku zastosowania 0,1% i 0,15% badanych preparatów można zauważyć możliwość skrócenia czasu trwania hydrolizy do 24 h przez użycie większej dawki biokatalizatorów. Wartości DE po 24 h hydrolizie z wyższą dawką preparatu są bowiem porównywalne z wartościami DE uzyskanymi po 72 h procesie z zastosowaniem niższej dawki preparatu.

W tab. 2. przedstawiono wyniki analizy statystycznej. Wykazała ona brak statystycznie istotnych różnic jedynie między niższą dawką preparatu po 72 h i wyższą dawką (0,15%) po 24 h działania enzymu.

Tabela 2

Wyniki analizy statystycznej różnych dawek preparatów enzymatycznych.

Test t dla prób zależnych ( $\alpha = 0,05$ ).

Statistical analysis for different enzymatic preparation dosages.

T-test for dependent samples dialog ( $\alpha = 0.05$ ).

Źródło zmienności Variable	Obliczona wartość statystyki Statistic value t	Poziom prawdopodobieństwa Probability P
0,10% 24 h / 0,10% 72 h	14,7160	0,0007
0,10% 24 h / 0,15% 24 h	11,4693	0,0014
0,10% 24 h / 0,15% 72 h	13,5217	0,0009
0,10% 72 h / 0,15% 24 h	1,9220	0,1503
0,10% 72 h / 0,15% 72 h	11,8070	0,0013
0,15% 24 h / 0,15% 72 h	15,3988	0,0006

Korzystny wpływ zastosowania działania enzymu rozkładającego wiązania  $\alpha$ -1,6 można zauważyć także porównując działanie preparatu glukoamylazy – AMG 300L i AMG E – z działaniem kombinacji tych enzymów z preparatem pullulanazy – Promozyme 200L (tab. 3). Najwyższe wartości DE (99,1) są wynikiem jednoczesnego działania preparatów AMG E i Promozyme 200L. Wartości DE hydrolizatów otrzymanych wskutek 72 h działania glukoamylaz (AMG 300L, AMG E) są porównywalne z wartościami DE hydrolizatów uzyskanych po 48 h reakcji z zastosowaniem mieszaniny glukoamylazy i pullulanazy (AMG 300L + Promozyme 200L, AMG E + Promozyme 200L). Proces dwuenzymatycznego scukrzania maltodekstryny daje więc możliwość zredukowania czasu reakcji o 24 h. Wyniki te zgodne są z danymi literaturowymi, wskazującymi na korzystny wpływ równoczesnego działania glukoamylazy i pullulanazy [18, 27].

Na podstawie uzyskanych wyników wskaźnika przezroczystości i zdolności absorpcji jodu (tab. 3) stwierdzono, że hydrolizaty z zastosowaniem kombinacji enzymów charakteryzowały się lepszą przepuszczalnością światła i niższą wartością absorpcji jodu, co wiąże się z ich wyższym stopniem depolimeryzacji.

#### *Działanie preparatami scukrzającymi na skrobię natywną*

Wyniki procesu scukrzania upłynnionej (Termamyl Supra) skrobi tapiokowej (8,5 DE) i pszennej (8,7 DE) przedstawiono w tab. 4. Dowodzą one, że zdolność redukcji na hydrolizatu skrobiowego zależy od rodzaju użytego enzymu, a także od budowy i składu chemicznego ziaren skrobi różnego pochodzenia zgodnie z danymi literaturowymi [19, 21]. Różnice wielkości DE po 72 h działaniu preparatów AMG 300L i

AMG E oraz Dextrozyme 225/75L i Dextrozyme E są podobne (2-3 DE). Wartości DE hydrolizatów ze skrobi tapiokowej i pszennej przy zastosowaniu tego samego preparatu różnią się średnio o 4,6 jednostki.

Tabela 3

Porównanie wyników hydrolizy maltodekstryny glukoamylazą i równoczesnym działaniu glukoamylazy i pullulanazy.

Comparison of glucoamylase action and simultaneous action of glucoamylase and pullulanase on maltodextrine

Czas Time	AMG E (0,17%)			AMG E (0,13%) + Promozyme 200L (0,04%)		
	DE	P	J	DE	P	J
4 h	71,3	0,09	0,02	80,7	0,07	0,01
24 h	87,8	-	-	90,9	-	-
48 h	95,0	-	-	97,5	-	-
72 h	98,0	0,10	0,01	99,1	0,11	0,00

Czas Time	AMG 300 L (0,17%)			AMG 300L (0,13%) + Promozyme 200L (0,04%)		
	DE	PZ	PJ	DE	PZ	PJ
4 h	67,7	0,08	0,02	77,6	0,06	0,01
24 h	83,4	-	-	88,5	-	-
48 h	91,3	-	-	95,9	-	-
72 h	96,0	0,09	0,01	98,2	0,07	0,01

J – liczba absorpcji jodu / iodine absorbance value, P – wskaźnik przezroczystości / transmittance factor, DE – równoważnik glukozy / Dextrose equivalent.

Tabela 4

Wyniki hydrolizy skrobi pszennej i tapiokowej upłynnionej różnymi preparatami enzymatycznymi (dawka 0,1%).

Results of hydrolysis of wheat and tapioca starches liquefied by different enzymatic preparations (dosage 0.1%).

Czas Time	AMG 300L		AMG E		Dextrozyme 225/75L		Dextrozyme E	
	Skrobia pszenna Wheat starch	Skrobia tapiokowa Tapioca starch	Skrobia pszenna Wheat starch	Skrobia tapiokowa Tapioca starch	Skrobia pszenna Wheat starch	Skrobia tapiokowa Tapioca starch	Skrobia pszenna Wheat starch	Skrobia tapiokowa Tapioca starch
	DE							
4 h	38,6	35,7	43,0	39,5	48,5	44,0	51,6	47,8
24 h	51,0	47,0	57,0	52,6	62,7	53,0	67,9	56,8
48 h	63,1	56,3	68,6	62,8	73,6	64,6	78,0	69,0
72 h	71,5	67,0	74,0	69,1	82,0	77,4	85,4	81,0



Tabela 5

Wyniki analizy statystycznej różnych preparatów enzymatycznych i różnych rodzajów skrobi. Test t dla prób zależnych ( $\alpha = 0,05$ ).

Statistical analysis for various enzymatic preparations and different kind of starch. T-test for dependent samples dialog ( $\alpha = 0.05$ ).

A

Źródło zmienności Variable	Obliczona wartość statystyki Statistic value t	Poziom prawdopodobieństwa Probability P
Hydrolizat pszenny AMG 300L Hydrolizat tapiokowy AMG 300L	5,5415	0,0115
Hydrolizat pszenny AMG 300L Hydrolizat pszenny AMG E	5,9303	0,0095
Hydrolizat pszenny AMG 300L Hydrolizat tapiokowy AMG E	0,0570	0,9580
Hydrolizat tapiokowy AMG 300L Hydrolizat pszenny AMG E	7,3317	0,0052
Hydrolizat tapiokowy AMG 300L Hydrolizat tapiokowy AMG E	4,6048	0,0192
Hydrolizat pszenny AMG E Hydrolizat tapiokowy AMG E	9,6784	0,0023

B

Źródło zmienności Variable	Obliczona wartość statystyki Statistic value t	Poziom prawdopodobieństwa Probability P
Hydrolizat pszenny Dextrozyme 225/75L Hydrolizat tapiokowy Dextrozyme 225/75L	4,9887	0,0154
Hydrolizat pszenny Dextrozyme 225/75L Hydrolizat pszenny Dextrozyme E	8,3813	0,0035
Hydrolizat pszenny Dextrozyme 225/75L Hydrolizat tapiokowy Dextrozyme E	2,3479	0,1004
Hydrolizat tapiokowy Dextrozyme 225/75L Hydrolizat pszenny Dextrozyme E	5,8997	0,0097
Hydrolizat tapiokowy Dextrozyme 225/75L Hydrolizat tapiokowy Dextrozyme E	22,5167	0,0001
Hydrolizat pszenny Dextrozyme E Hydrolizat tapiokowy Dextrozyme E	3,9870	0,0282

W tab. 5. przedstawiono wyniki analizy statystycznej prób z zastosowaniem preparatów tego samego rodzaju (AMG 300L i AMG E oraz Dextrozyme 225/75L i Dextrozyme E). Wyniki wskazują, że różnice są statystycznie istotne. Nieistotne, że

statycznego punktu widzenia, są jedynie różnice występujące między hydrolizatem uzyskanym w wyniku działania preparatu pozyskiwanego z organizmów GMO i hydrolizatu tapiokowego wytworzonego w wyniku działania na skrobię preparatów pozyskiwanych z drobnoustrojów metodami tradycyjnymi.

## Wnioski

1. Dextrozyme E i AMG E – preparaty enzymatyczne pozyskiwane z organizmów GMO charakteryzują się wyższą zdolnością depolimeryzacji wstępnie upłynnionej skrobi w porównaniu z preparatami: Dextrozyme 225/75L i AMG 300L.
2. Zastąpienie preparatu AMG 300L preparatem Dextrozyme E w tej samej dawce pozwala uzyskać hydrolizaty o wyższym DE o 16-32% lub uzyskać podobny stopień scukrzenia w skróconym do 24 h czasie hydrolizy.
3. Zwiększenie dawki stosowanych preparatów z 0,1% do 0,15% umożliwia uzyskanie podobnego stopnia scukrzenia skrobi po 24 h hydrolizy.
4. Zastosowanie kombinacji preparatów (0,13% AMG E lub AMG 300L + 0,04% Promozyme 200L) stwarza możliwość skrócenie czasu hydrolizy skrobi do 48 h.

## Literatura

- [1] Allen G.W., Dawson H.G.: Technology and uses of debranching enzymes. *Food Technol.*, 1975, **5**, 70-80.
- [2] Aschengreen N.W.: Enzyme process in the production of sweeteners from starch. The Beijing Food Processing and Packaging Exhibition, Beijing 1981.
- [3] Bisgaard-Franzen H., Svendsen A., Norman B., Pedersen S., Kjaerulff S., Outrup H, Borchert T.V.: Development of industrially important alpha-amylases. *J. Appl. Glycosci.*, 1999, **2** (46), 206.
- [4] Bryjak J.: Enzymatyczna hydroliza skrobi do syropów maltodekstrynowych i skrobiowych. *Biotechnologia*, 1999, **1** (44), 180-199.
- [5] Chronakis J.S.: On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: a review. *Crit. Rev. Food Sci.*, 1998, **7** (38), 599-637.
- [6] Dias F.F., Panchal D.C.: Maltulose formation during saccharification of starch. *Starch/Stärke*, 1987, **2** (39), 64-66.
- [7] Farjon B., Targoński Z., Pielecki J.: Enzymy hydrolizujące wiązania  $\alpha$ -1,6-D-glukozydowe, ich właściwości i zastosowanie w biokonwersji skrobi. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1992, **3**, 19-20.
- [8] Galas E., Kalinowska H., Turkiewicz M.:  $\alpha$ -amylazy: struktura i mechanizm działania. *Biotechnologia*, 1996, **2** (33), 165-177.
- [9] Guzman-Maldonado H., Paredes-Lopez O.: Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1995, **5** (35), 373-403.
- [10] Hebeda R.E., Teague M.: Starch hydrolyzing enzymes. In: *Developments in Carbohydrate Chemistry*. Ed. R.J. Alexander, H.F Zobel, St.Paul, Minnesota, 1994.
- [11] James J.A., Byong H.L.: Glucoamylases: microbial sources, industrial applications and molecular biology – a review. *J. Food Biochem.*, 1997, **21**, 1-52.
- [12] Kączkowski J.: Starch and other polysaccharides – modification and application – a review. *Polish J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, 1, 3-12.
- [13] Koch R., Antranikian G.: Action of amylolytic and pullulytic enzymes from various anaerobic ther-

- mophiles on linear and branched glucose polymers. *Starch/Stärke*, 1990, **10** (42), 397-403.
- [14] Komaki T.: Review of future amylases and related enzymes. *J. Appl. Glucosci.* 1997, **3** (44), 420-424.
- [15] Kossmann J., Lloyd J.: Understanding and influencing starch. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 2000, **3** (19), 171-226.
- [16] Lumdubwong P.A., Sieb P.A.: Low- and medium – DE maltodextrins from waxy wheat starch: preparation and properties. *Starch/Stärke*, 2001, **53**, 605-615.
- [17] Manners D.J.: Some aspects of metabolism starch. *Cereal Food Worlds*, 1985, **10** (30), 722-727.
- [18] Norman B.E.: A novel debranching enzyme for application in glucose syrup industry. *Starch/Stärke*, 1982, **10** (34), 340-346.
- [19] Norman B.E., Hendriksen H.V.: Enzymatic preparation of glucose syrup from starch. Pat. WO 99/46399A1, 1999.
- [20] Ohdan K., Kuriki T., Kaneko H., Shimada J., Takada T., Fujimoto Z., Mizuno H., Okada S.: Characteristics of two forms of alpha-amylases and structural implication. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, **10** (65), 4652-4658.
- [21] Pilnik W., Voragen AG.: Use of enzymes in food processing. *Food Biotechnol.*, 1990, **4**, 19-25.
- [22] PN-78/A-74701 Hydrolizaty skrobiowe.
- [23] Ramesh M.V., Lonsane B.K.: End product profiles of starch hydrolysis by bacterial alpha-amylase at different temperature and pH values. *Biotechnol. Letters*, 1989, **9**, 649-652.
- [24] Schenck F.W.: Starch hydrolysates – an overview. *Int. Sugar Jnl.* 2002, **104**, 1238, 82-89.
- [25] Sietske de Boer A., Priest F., Diderichsen B.: On the industrial use of *Bacillus licheniformis*: a review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1994, **40**, 595-598.
- [26] Schwaradt E.: Production and use of enzymes degrading starch and some other polysaccharides. *Food Biotechnol.*, 1990, **4**, 337.
- [27] Słomińska L., Mączyński M.: Studies on application of pullulanase in starch saccharification process. *Starch/Stärke*, 1985, **11** (37), 386-390.
- [28] Straathof A.J.J.: Industrially applied bioconversions of carbohydrates. *Carbohydrates in Europe*, 1994, **5/10**, 5-8.
- [29] Svensson B., Bank-Jensen M.T.: Sauer J., Gottschalk T.E., Rodenburg K.W.: Studies on structure, function, and protein engineering of starch-degrading enzymes. *J. Appl. Glycosci.*, 1999, **1** (46), 49-63.
- [30] Synowiecki J., Grzybowska B.: Przydatność termostabilnych enzymów w doskonaleniu przetwórstwa skrobi. *Biotechnologia*, 2001, **2** (53), 26-35.

## EFFECTIVENESS OF NEW ENZYMATIC PREPARATIONS OBTAINED FROM MODIFIED ORGANISMS

### S u m m a r y

Efficiency of enzyme action on starch was tested. The following enzymatic preparations were used: AMG 300L and AMG E –glucoamylase, Dextrozyme 225/75L and Dextrozyme E –combination of glucoamylase and pullulanase, Promozyme 200L – pullulanase. Maltodextrine, wheat and tapioca starches were used as a substrate. The tested enzymatic preparations were applied for saccharification individually or in combination. Research was carried out at fixed parameters: temperature, pH, starch concentration and enzyme dosage. The research indicated that the enzymatic preparations obtained from genetically modified microorganisms characterised higher efficiency. Application in similar dosage of Dextrozyme E instead of AMG 300 makes possible to obtain hydrolysates with higher DE by 16-32% or to produce hydrolysates with similar DE within 24 h.

**Key words:** starch, enzymes, saccharification, dextrose equivalent. ☒