

KATARZYNA SAMBORSKA, DOROTA WITROWA-RAJCHERT

OCENA PROCESU SUSZENIA ROZPYŁOWEGO HANDLOWEGO, PŁYNNEGO PREPARATU α -AMYLAZY

Streszczenie

Zaprezentowano wyniki doświadczeń mających na celu określenie wpływu temperatury wlotowej i wylotowej powietrza na przebieg suszenia rozpyłowego i stopień inaktywacji α -amylazy w czasie procesu. Względna aktywność enzymu suszonego w stosunku do enzymu płynnego była wyższa po zastosowaniu wyższej temperatury suszenia i zwiększeniu szybkości odparowania. Wzrost temperatury powietrza powodował skrócenie czasu suszenia, zmniejszenie zawartości wody w suszu oraz zwiększenie strat ciepła w czasie procesu.

Słowa kluczowe: suszenie rozpyłowe, α -amylaza, warunki suszenia, aktywność enzymu

Wstęp

Przetwórstwo żywności jest jednym z największych odbiorców preparatów enzymatycznych wśród wszystkich gałęzi przemysłu. Ich stosowanie ułatwia i przyspiesza zachodzenie korzystnych zmian w surowcach, zwiększając wydajność gotowych produktów, a przez to zmniejszając koszty produkcji. Preparaty te muszą charakteryzować się wysoką jakością aby mogły właściwie spełniać swoje funkcje w procesie produkcyjnym. O jakości preparatów enzymatycznych decyduje ich aktywność oraz zdolność do spełniania określonej funkcji biologicznej [9]. Równie istotną cechą wpływającą na ich przydatność jest trwałość, która jest ściśle związana z formą preparatu.

Materiały w postaci suchej sproszkowanej lub unieruchomione na nośnikach odznaczają się wieloma zaletami. Przede wszystkim, dzięki usunięciu znacznej ilości wody, uzyskuje się zwiększoną aktywność jednostkową i wysoką trwałość. Nie wystę-

puje też problem transportowania i przechowywania dużych ilości preparatów płynnych, przez co koszty tych operacji ulegają zmniejszeniu. Stosowanie tej formy preparatów sprzyja także utrzymaniu higieny produkcji oraz ułatwia jej automatyzację i mechanizację. Dlatego w wielu ośrodkach badawczych na całym świecie prowadzone są prace, mające na celu opracowanie takich technologii suszenia enzymów, które zapewnią otrzymanie preparatów o wysokiej aktywności i trwałości.

Jedną z metod suszenia, pozwalającą na otrzymanie preparatów enzymatycznych o wysokiej jakości, jest suszenie rozpyłowe. Mimo istnienia wielu publikacji na temat wpływu zastosowania tej metody na zachowanie aktywności enzymów po suszeniu, dokładny mechanizm inaktywacji wielu enzymów w czasie suszenia rozpyłowego oraz wpływ zmiennych parametrów suszenia na proces inaktywacji nie został do końca wyjaśniony [4, 5, 6].

Celem prowadzonych badań było określenie wpływu temperatury powietrza na przebieg suszenia rozpyłowego oraz zmianę aktywności otrzymanych suszonych preparatów α -amylazy.

Materiał i metody badań

Jako materiał badawczy stosowano α -amylazę pochodzenia pleśniowego Funagmyl 800L, produkowaną przez firmę Novozymes A/S. Początkowa aktywność płynnego enzymu wynosiła 800 FAU/g. 1 FAU jest to ilość enzymu, która katalizuje hydrolytyczny rozkład 5,26 g s.s. skrobi w czasie jednej godziny działania w warunkach standardowych (temperatura 37°C, pH 4,7)

Jako nośnik, na którym suszono enzym, zastosowano maltodekstrynę niskoscukrzoną. Suszeniu poddawano roztwory maltodekstryny o zawartości wody 3,48 kg H₂O/kg s.s., zawierające enzym (958 mg/kg maltodekstryny) i CaCl₂ (100 ppm).

Suszenie prowadzono w laboratoryjnej suszarce rozpyłowej Anhydro, przy czterech poziomach temperatury powietrza wlotowego: 160, 180, 200 oraz 220°C. Prędkość podawania surowca do rozpylacza była jednakowa we wszystkich doświadczeniach i wynosiła 1,26 cm³/s. W czasie suszenia dokonywano następujących pomiarów: temperatury i wilgotności powietrza wylotowego, wlotowego i otaczającego oraz czasu suszenia określonej ilości roztworu.

Analiza otrzymanych preparatów enzymatycznych

W otrzymanych suszach oznaczano:

- zawartość suchej substancji. Oznaczenie polegało na wysuszeniu próbek do stałej masy w temp. 105°C. Zawartość wody obliczano z różnicy masy przed i po odparowaniu;

- aktywność α -amylazy. Zastosowano metodę będącą połączeniem metody Sandstešta, Kneena, Blisha (SKB) [1] i metody przekazanej przez firmę Novozymes. Zasada metody polegała na pomiarze ilości rozłożonej skrobi na podstawie zmiany intensywności zabarwienia mieszaniny reakcyjnej z jodem, po 15 min działania enzymu w pH 4,7 i temp. 37°C, w obecności jonów wapnia. Próbkę suszonego enzymu do oznaczenia aktywności rozpuszczano w wodzie destylowanej o temp. 37°C. Rozpuszczanie następowało bez strat.

Przed rozpoczęciem suszenia rozpyłowego wyznaczono krzywą wzorcową aktywności enzymu na podstawie oznaczeń kilku roztworów enzymu płynnego o znanym stężeniu i aktywności.

Aktywność enzymu po suszeniu obliczano z równania krzywej wzorcowej o następującej postaci: $y = -356 \ln x - 410,54$ i wyrażano jako aktywność względną w stosunku do enzymu płynnego.

Zmiany aktywności enzymu (A) w zależności od temperatury suszenia opisano za pomocą równania Arrheniusa [2, 4, 8]:

$$A = A_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right)$$

- gdzie: A_0, A – aktywność enzymu przed i po procesie suszenia [FAU/g],
 E_a – energia aktywacji reakcji inaktywacji [kJ/mol],
 R – stała gazowa, 8,318 J/mol K,
 T – temperatura suszenia [K].

Bilans masowy i cieplny procesu suszenia

Na podstawie wykonanych pomiarów zmian wilgotności i temperatury powietrza wlotowego, wylotowego i otaczającego oraz zmian zawartości wody w suszonym materiale obliczano [7]:

- ilość usuniętej wody w czasie suszenia W [kg wody/s],
- zużycie powietrza L [kg powietrza suchego/s],
- właściwe zużycie powietrza l [kg powietrza suchego/kg odparowanej wody],
- ciepło dostarczone do suszarki Q_d [kW],
- ciepło wykorzystane na proces odparowania Q_w [kW],
- właściwe zużycie ciepła q [kJ/kg odparowanej wody],
- straty ciepła Q_{str} [kW].

Metody statystyczne

W celu określenia istotności wpływu temperatury suszenia rozpyłowego na średnią aktywność suszonego enzymu dokonano weryfikacji hipotezy o równości średnich

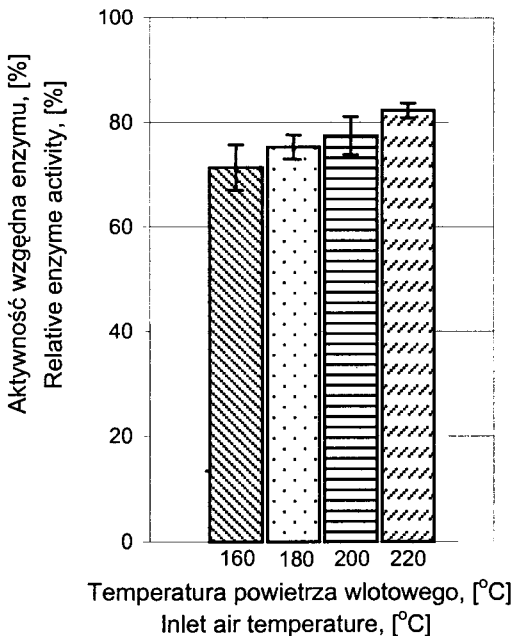
za pomocą analizy wariancji. W każdym z czterech zastosowanych poziomów temperatury powietrza wlotowego wykonano po trzy powtórzenia doświadczenia, które stanowiły podstawę do obliczenia średnich aktywności enzymu. Aby ściśle określić, które średnie różnią się między sobą istotnie, wykonano analizę porównań wielokrotnych za pomocą testu Studenta Newman-Kelusa [3].

Równanie krzywej wzorcowej aktywności enzymu oraz równanie prostej na wykresie Arrheniusa dopasowywano za pomocą regresji prostej. Jako kryterium doboru stosowano maksymalną wartość współczynnika determinacji R^2 [10].

Wyniki i dyskusja

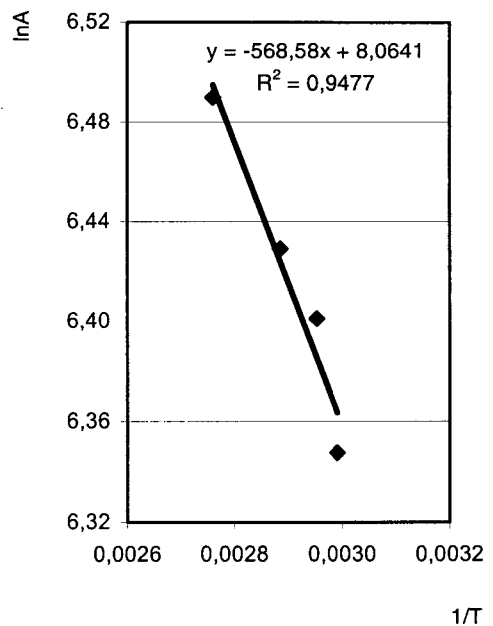
Aktywność suszonej α -amylazy

Na rys. 1. przedstawiono zmiany aktywności względnej enzymu suszonego w zależności od zastosowanej temperatury powietrza suszącego. Zaobserwowano wzrost aktywności suszonej α -amylazy wraz ze wzrostem temperatury suszenia. Średnia względna aktywność enzymu suszonego w temperaturze powietrza wlotowego 160, 180, 200 i 220°C wynosiła odpowiednio: 71, 75, 77 i 82%.



Rys. 1. Zależność względnej aktywności α -amylazy od temperatury jej suszenia.

Fig. 1. Relative activity of α -amylase dried at different inlet air temperatures.



Rys. 2. Wykres Arrheniusa aktywności suszonej α -amylazy w zależności od temperatury suszenia.

Fig. 2. Arrhenius plot for the activity of α -amylase dried at different outlet air temperatures.

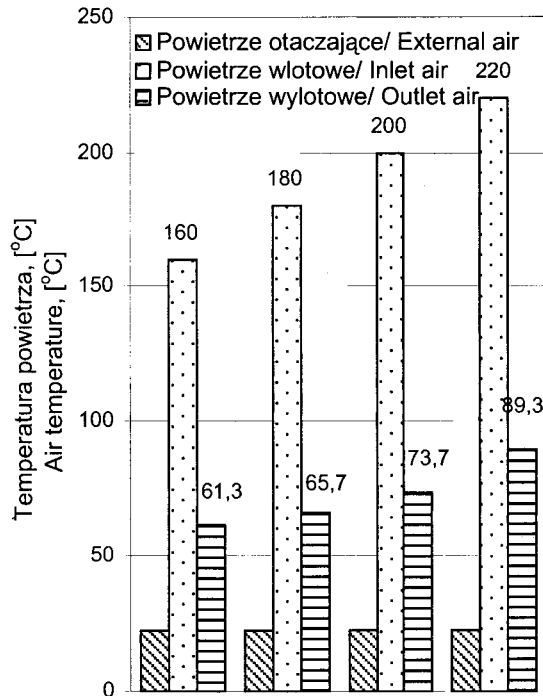
Ta sama zależność została przedstawiona na rys. 2. Liniowy przebieg zależności $\ln A = f(1/T)$ pozwala na opisanie jej równaniem Arrheniusa. Po wyznaczeniu równania prostej na wykresie za pomocą regresji prostej obliczono współczynniki równania Arrheniusa, które przyjęło ostatecznie następującą postać:

$$A = 3,18 \cdot 10^3 \exp\left(\frac{-4,73 \cdot 10^3}{RT}\right)$$

Kinetyka inaktywacji termicznej α -amylazy odznaczała się energią aktywacji równą 4,73 kJ/mol. Jest to wartość znacznie mniejsza od energii aktywacji charakterystycznej dla reakcji rozpadu wiązań obecnych w białkach, co może świadczyć o tym, że zmniejszenie aktywności enzymu nie jest spowodowane procesem degradacji białka. Może to wynikać z ochronnego działania maltodekstryny lub niskocząsteczkowych cukrów zawartych w nośniku.

Otrzymane wyniki wzrastającej aktywności α -amylazy przy wzrastającej temperaturze suszenia były wynikiem jej charakterystycznych właściwości. Meerdink i van't Riet [4, 5] stwierdzili, że α -amylaza charakteryzuje się zwiększaniem odporności na podwyższoną temperaturę przy zmniejszającej się zawartości wody w układzie. W związku z tym do jej suszenia korzystne są metody, w których możliwe jest bardzo szybkie odparowanie wody, ponieważ uzyskuje się wtedy szybki wzrost odporności enzymu na podwyższoną temperaturę. Rezultat taki można osiągnąć dzięki zastosowaniu suszenia rozpyłowego, w którym następuje szybkie odparowanie wody zwiększające odporność α -amylazy na wysoką temperaturę, a czas suszenia nie przekracza kilku sekund. Im wyższa temperatura powietrza wlotowego, czyli im szybsze odparowanie wody i przejście przez zakres średnich zawartości wody, w którym α -amylaza jest mało odporna na wysoką temperaturę, tym mniejsza degradacja enzymu. Dodatkowo suszone cząstki są utrzymywane w stosunkowo niskiej temperaturze dzięki pobieraniu ciepła parowania przez szybko parującą wodę ze zwiększonej powierzchni cząstek. W przypadku suszenia rozpyłowego średnio przyjmuje się, że temperatura suszonego materiału osiąga co najwyżej temperaturę powietrza wylotowego. Zmiany temperatury powietrza suszącego w czasie suszenia przedstawiono na rys. 3.

Jednak nie wszystkie enzymy charakteryzują się zwiększoną aktywnością wraz ze zwiększaniem temperatury suszenia. Przykładowo Okelo i wsp. [6], susząc rozpyłowo oksydazę polifenolową stwierdzili zależność odwrotną. Aktywność tego enzymu wynosiła 86,5%, gdy temp. powietrza wylotowego była równa 80°C, a wzrost temp. do 100°C spowodował obniżenie aktywności do 18,8%.



Rys. 3. Zmiany temperatury powietrza w czasie suszenia rozpyłowego α -amylazy.
Fig. 3. Changes of air temperature during spray-drying of α -amylase.

Bilans masowy i cieplny procesu suszenia

W tab. 1. przedstawiono zmiany wybranych parametrów w zależności od zastosowanej temperatury suszenia. Wraz ze wzrostem temperatury zwiększała się intensywność odparowania i ilość odparowanej wody w jednostce czasu (W). W rezultacie susze otrzymane po suszeniu w wyższej temperaturze charakteryzowały się mniejszą zawartością wody (X). Usuwana woda była odbierana przez powietrze suszące, które nawilżało się w czasie trwania procesu. Wraz ze wzrostem intensywności odparowania powietrze nawilżało się coraz większą ilością odparowanej wody, w rezultacie jego końcowa wilgotność zwiększała się wraz ze wzrostem temperatury powietrza wlotowego.

Na rys. 4. przedstawiono zmiany entalpii powietrza suszącego w czasie przeprowadzonych doświadczeń. We wszystkich przypadkach entalpia powietrza wylotowego była mniejsza od entalpii powietrza po podgrzaniu. Świadczy to o nieadiabaticznym przebiegu procesu odparowania, czyli o występowaniu strat ciepła. Ponieważ różnica między entalpią powietrza wlotowego i wylotowego, która jest miarą wielkości strat ciepła, zwiększała się wraz ze wzrostem temperatury powietrza wlotowego, to procesy

przeprowadzone przy wyższych temperaturach powietrza wlotowego charakteryzowały się większymi stratami ciepła.

Tabela 1

Bilans masowy procesu suszenia rozpyłowego α -amylazy.
Comparison of selected experimental results.

Parametr Parameter	Temperatura powietrza wlotowego, [°C] Inlet air temperature, [°C]			
	160	180	200	220
X_0 , [kg H ₂ O/kg s.s.]	3,48	3,48	3,48	3,48
X_k , [kg H ₂ O/kg s.s.]	0,121	0,122	0,095	0,069
Y_0 , [kg H ₂ O/kg p.s.]	0,0052	0,0052	0,0052	0,0052
Y_k , [kg H ₂ O/kg p.s.]	0,0235	0,0257	0,0261	0,0262
W, [kg H ₂ O/h]	3,60	3,64	3,68	3,74
L, [kg p.s./s]	0,054	0,049	0,049	0,049
l, [kg p.s./kg H ₂ O]	54,4	48,8	47,8	47,5

Objaśnienia:

X_0 , X_k - początkowa i końcowa zawartość wody w materiale/ initial and final water content in material, [kg H₂O/kg dry basis]

Y_0 , Y_k - początkowa i końcowa zawartość wody w powietrzu suszącym/ initial and final air humidity, [kg H₂O/kg dry air]

W - ilość odparowanej wody/ amount of evaporated water

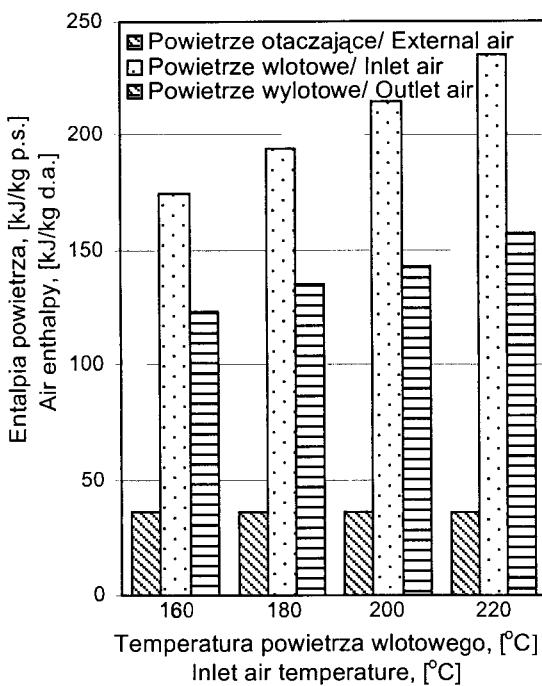
L - zużycie powietrza suszącego/ dry air consumption, [kg dry air/s]

l - właściwe zużycie powietrza suszącego/ dry air consumption on kg of evaporated water, [kg dry air/kg H₂O]

Obliczone na podstawie zmian entalpii i zużycia powietrza suchego wielkości ciepła dostarczonego do suszarki i wykorzystanego na proces suszenia przedstawiono na rys. 5. Różnica między ciepłem dostarczonym i wykorzystanym stanowiła straty ciepła.

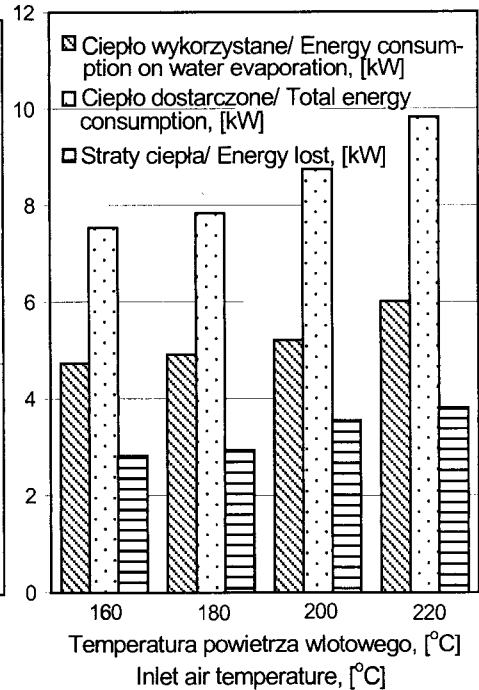
Wnioski

1. Suszenie rozpyłowe było odpowiednią metodą suszenia α -amylazy, pozwalającą na zachowanie wysokiej aktywności tego enzymu. Przykładowo, suszenie rozpyłowe płynnego preparatu α -amylazy w temperaturze powietrza wlotowego 220°C umożliwiło zachowanie ponad 80% aktywności tego enzymu.
2. Temperatura powietrza suszącego była głównym czynnikiem wpływającym na końcową aktywność enzymu.
3. Zależność między temperaturą suszenia a aktywnością enzymu może być opisana równaniem Arrheniusa.



Rys. 4. Zmiany entalpii powietrza w czasie suszenia rozpyłowego α -amylazy.

Fig. 4. Changes of air enthalpy during spray-drying of α -amylase.



Rys. 5. Zużycie i straty ciepła w czasie suszenia rozpyłowego α -amylazy.

Fig. 5. Energy lost and consumption during α -amylase spray-drying.

4. Wzrost temperatury suszenia i szybkości odparowania umożliwił zmniejszenie degradacji α -amylazy.
5. Wzrost temperatury powietrza powodował skrócenie czasu suszenia, zmniejszenie zawartości wody w suszu oraz zwiększenie strat ciepła w czasie procesu.

Literatura

- [1] Materiały do ćwiczeń z biochemii – pod red. M. Toczko. Wyd. SGGW, Warszawa 2001.
- [2] Matzinos P.D., Hall G.M.: Denaturation of lactate dehydrogenase during spray-drying of bovine plasma. *J. Food Sci.*, 1993, **58(5)**, 1025-1029.
- [3] Mądry W.: Doświadczalnictwo, doświadczenia czynnikiowe, wykłady i ćwiczenia. Fundacja Rozwój SGGW, Warszawa 2000.
- [4] Meerdink G., van't Riet K.: Inactivation of a thermostable α -amylase during drying, *J. Food Engng.*, 1991, **14**, 83-102.
- [5] Meerdink G., van't Riet K.: Prediction of product quality during spray drying. *Food and Bioproducts Processing*, 1995, **73** (part C), 165-170.

- [6] Okelo H.O., Brennan J.G., Lewis M.J., Gilmour S.: Optimization of the spray drying of the enzyme polyphenol oxidase by response surface methodology. In: *Drying '98* (Eds A.S. Mujumdar, C.B. Arkitidis, D. Marinos-Kouris, G.D. Saravacos). Ziti Editions, Thessaloniki 1998, pp.1713-1722.
- [7] Pawłow K.F., Romankow P.G., Noskov A.A.: *Przykłady i zadania z zakresu aparatury i inżynierii chemicznej*. WNT, Warszawa 1988.
- [8] Saraiva J., Oliveira J.C., Hendrickx M., Oliveira F.A.R., Tobback P.: Analysis of the inactivation kinetics of freeze-dried α -amylase from *Bacillus amyloliquefaciens* at different moisture contents. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1996, **29**, 260-266.
- [9] Strumiłło C., Markowski A., Adamiec J.: Selected aspects of drying of biotechnological products. *Drying'91* (eds. A.S.Mujumdar, J.Filkowa) Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1991, pp. 36-55.
- [10] Zieliński W.: *Analiza regresji*. Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa 1998.

EVALUATION OF SPRAY-DRYING PROCESS OF COMMERCIAL LIQUID α -AMYLASE

S u m m a r y

The aim of this work was to investigate the effect of inlet and outlet air temperature on the proceeding of spray drying and α -amylase inactivation. Relative enzyme activity after drying was higher when higher inlet and outlet air temperature were used. Increasing of inlet and outlet air temperature led to faster water evaporation, decreasing of final water content in dried material and to increasing of energy lost during process.

Key words: spray-drying, α -amylase, drying parameters, enzyme activity. ☒