

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-457-462>



Поступила 26.05.2023

Поступила после рецензирования 16.10.2023

Принята в печать 24.10.2023

© Витол И. С., Мелешкина Е. П., Крикунова Л. Н., 2023

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

КОМПОЗИЦИИ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ МОДИФИКАЦИИ ПОЛИКОМПОНЕНТНЫХ ОТРУБЕЙ

Витол И. С.^{1*}, Мелешкина Е. П.¹, Крикунова Л. Н.²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки, Москва, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: АННОТАЦИЯ

пшеница, чечевица, лен, отруби, мультэнзимные композиции, биокатализ

Микробные ферментные препараты (ФП) целлюлолитического, протеолитического, фитазного действия и их композиции при действии на зерновые отруби позволяют с помощью направленного биокатализа получать достаточно широкий спектр продуктов гидролиза белков, некрахмальных полисахаридов и фитина. Использование ФП и мультэнзимных композиций (МЭК) является по своей сути современным инструментарием интенсификации биохимических процессов, лежащих в основе той или иной пищевой технологии. Наряду с этим ФП позволяют модифицировать продукты переработки растительного сырья, в частности зерновых, бобовых и масличных культур (глубокая переработка), и получать ценные кормовые и пищевые ингредиенты. Разработаны и научно обоснованы две мультэнзимные композиции на основе отечественных и зарубежных ФП. Определены оптимальные условия для проведения ферментативных реакций при использовании в качестве субстрата пшенично-чечевично-льняных отрубей. Показана высокая эффективность разработанных МЭК: доля РВ в исследуемых гидролизатах увеличивалась по сравнению с массовой долей автолизатов пшеничных и трехкомпонентных отрубей в 2,8 и 2,3 раза (МЭК-1) и в 3,5 и 2,7 раза (МЭК-2) соответственно. Содержание растворимого белка возросло в 4,7 и 3,0 раза (МЭК-1) и в 6,4 и 4,2 раза (МЭК-2). Доля растворимого фосфора увеличивалась в среднем в 3,0–3,5 раза при использовании МЭК-1 и МЭК-2. Методом гель-хроматографии было установлено, что фракция, содержащая низкомолекулярные пептиды и свободные аминокислоты (М.м. <1000 Да) в гидролизатах, полученных с использованием МЭК, в 3–4 раза превосходит аналогичную фракцию в гидролизатах под действием собственных эндогенных ферментов (автолиз). При этом, по результатам ВЭЖХ, концентрация наиболее ценных аминокислот с точки зрения азотного питания дрожжей (аспарагиновой кислоты, аргинина) в опытных гидролизатах трехкомпонентных отрубей повышалась в среднем в 2,5–3,0 раза; концентрация валина — в 5 раз; гистидина и изолейцина — в 2,0–2,5 раза.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2022–0006 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук при поддержке гранта форме субсидии № 075–15–2022–035 от 22.02.2022.

Received 26.05.2023

Accepted in revised 16.10.2023

Accepted for publication 24.10.2023

© Vitol I. S., Meleshkina E. P., Krikunova L. N., 2023

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

COMPOSITIONS OF ENZYME PREPARATIONS FOR TARGETED MODIFICATION OF MULTICOMPONENT BRAN

Irina S. Vitol^{1*}, Elena P. Meleshkina¹, Lyudmila N. Krikunova²

¹All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing, Moscow, Russia

²All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

wheat, lentil, flax, bran, multienzyme preparations, biocatalysis

ABSTRACT

Microbial enzyme preparations (EPs) of the cellulolytic, proteolytic and phytase action, as well as their compositions, allow obtaining quite a wide spectrum of products of hydrolysis of proteins, non-starch polysaccharides and phytin by means of targeted biocatalysis upon action on grain bran. The use of EPs and multienzyme compositions (MECs) is inherently a modern tool for intensification of biochemical processes underlying one or another food technology. At the same time, EPs allow modifying products of processing plant raw materials, in particular cereal, leguminous and oil-bearing crops (deep processing) and obtain valuable feed and food ingredients. Two multienzyme compositions based on domestic and foreign EPs have been developed and scientifically substantiated. Optimal conditions have been determined for conducting enzymatic reactions when using wheat-lentil-flax bran as a substrate. High effectiveness of the developed MECs has been shown: the proportion of reducing substances (RS) in the hydrolysates under study increased compared to the mass fraction of the autolysates of wheat and three-component bran by 2.8 and 2.3 times (MEC-1) and by 3.5 and 2.7 times (MEC-2), respectively. The content of soluble protein increased by 4.7 and 3.0 times (MEC-1) and by 6.4 and 4.2 times (MEC-2). The proportion of soluble phosphorus increased on average by 3.0–3.5 times when using MEC-1 and MEC-2. It has been found by gel-electrophoresis that the fractions containing low-molecular-weight peptides and free amino acids (MW <1000 Da) in the hydrolysates obtained using MECs exceeded by 3–4 times the corresponding fraction in the hydrolysates obtained under the action of endogenous enzymes (autolysis). With that, according to the HPLC results, the concentration of amino acids that are most valuable in terms of nitrogenous nutrition of yeasts (aspartic acid, arginine) increased on average by 2.5–3.0 times, the concentration of valine by 5 times, histidine and isoleucine by 2.0–2.5 times in the experimental hydrolysates of three-component bran.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2022–0006 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS; with the support of a grant in the form of a subsidy No. 075–15–2022–035 dated 22.02.2022.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Крикунова Л. Н. (2023). Композиции ферментных препаратов для направленной модификации поликомпонентных отрубей. *Пищевые системы*, 6(4), 457–462. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-457-462>

FOR CITATION: Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Krikunova L. N. (2023). Compositions of enzyme preparations for targeted modification of multicomponent bran. *Food Systems*, 6(4), 457–462. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-4-457-462>

1. Введение

Использование ферментных препаратов (ФП) для решения различных технологических задач в пищевой промышленности в настоящее время является достаточно распространенным приемом [1,2,3]. Целью применения ФП в производстве продуктов питания, как известно, является интенсификация биохимических процессов, лежащих в основе той или иной пищевой технологии, а также увеличение выхода продукта, улучшение его качественных характеристик, например, при получении концентрированного зернового суслу для спиртового производства [4], активации дрожжей с целью интенсификации спиртового брожения и увеличении выхода конечного продукта [5,6].

В настоящее время интерес исследователей к ФП лежит еще в одной плоскости, а именно в использовании ФП как инструментария для глубокой переработки растительного сырья, в частности зерновых, бобовых и масличных культур и получения ингредиентов, которые позволяют увеличить биологическую ценность продуктов, предназначенных для кормовых и пищевых целей [7,8,9]. Ферментативный способ модификации предпочтительнее физико-химической модификации, поскольку его преимуществами являются мягкие режимы проведения реакций, возможность регулирования степени гидролиза, определенная направленность и сохранение биологической ценности [10,11,12]. В результате модификации биополимеров (белков, некрахмальных полисахаридов) с использованием ферментных препаратов с различной специфичностью действия могут быть получены продукты, обладающие определенными свойствами [11,12,13].

Во ВНИИ зерна и продуктов его переработки активно изучается возможность использования ФП целлюлолитического и протеолитического действия, а также их композиций для ферментативной модификации биополимеров побочных (вторичных) продуктов мукомольного и крупяного производства (зерновых отрубей, продуктов шелушения, обрушения, шлифования) [11,14]. Цель — получение гидролизатов и структурно-модифицированных отрубей, обладающих определенными свойствами, что в итоге позволит использовать их не только в качестве обогатителей для повышения пищевой и биологической ценности продуктов питания, но и для придания им новых функциональных и функционально-технологических свойств. Это позволит создавать новые виды продуктов на зерновой основе для массового потребления, а также специализированные виды продуктов для лечебно-профилактического питания [15,16,17].

Еще одним аспектом применения ферментативных гидролизатов зерновых отрубей, является их использование для обеспечения сбалансированного азотистого и фосфорного питания дрожжей рода *Saccharomyces* в технологиях брожения. Ферментативный гидролиз белков и фитина позволяет обеспечить переход в растворимые формы фосфора и белковых веществ (в том числе и свободных аминокислот), что в конечном счете положительно сказывается на их усвоении дрожжами [18,19,20]. В этом случае наряду с указанными выше ферментными препаратами необходимо применять препараты фитазы [4,21], расщепляющие фитин (инозитолгексафосфорная кислота), который содержится в периферийной части зерновки и переходит в отруби при переработке зерна на мукомольных предприятиях.

Таким образом, микробные ферментные препараты были и остаются важным биотехнологическим инструментарием совершенствования пищевых технологий, способных воздействовать на биохимические и микробиологические процессы, лежащие в основе подавляющего большинства пищевых технологий [1,2,23].

Цель исследования — разработка композиций микробных ферментных препаратов отечественного и зарубежного производства для направленной модификации поликомпонентных отрубей.

2. Материалы и методы

Объектом исследования служили отечественные и импортные ферментные препараты (ФП) с различной специфичностью действия (Таблица 1). В качестве природного субстрата использовали поликомпонентные отруби, полученные путем совместного лабораторного помола трехкомпонентной зерновой смеси, состоящей из 85% зерна пшеницы, 10% семян чечевицы и 5% семян льна.

Эффективность действия ферментного препарата целлюлолитического действия оценивали по накоплению редуцирующих веществ, ферментных препаратов протеолитического действия — по накоплению растворимого белка, а эффективность ферментного препарата фитазы оценивали по накоплению ионов PO_4^{3-} , образовавшихся в результате реакции гидролиза фитина. Определение содержания ионов PO_4^{3-} проводили колориметрическим методом при длине вол-

ны 670 нм на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия) с использованием градуировочной кривой (ГОСТ 31487–2012¹).

Таблица 1. Характеристика ФП на стандартных субстратах
Table 1. Characterization of EPs on standard substrates

Ферментный препарат	Производитель	Стандартная активность	Оптимальный pH	Оптимальная температура, °С
целлюлолитический ферментный препарат				
«Агроксил Премиум»	ОАО «Агрофермент», Россия	3000 ед. КМЦА 4000 ед. КсА 2500 ед. β-КсА	5,0	50
фитаза				
«Агрофит»	ОАО «Агрофермент», Россия	5000 ед. ФА	5,0	40
протеолитические ферментные препараты				
«Пенициллопепсин» + «Оризин» 1:1	ОАО «Агрофермент», Россия	сериновая протеиназа 6500 ед. ПС кислая протеиназа 300 ед. ПС	10,5	40
			4,7	30
«Нейтраз 0,8L»	«Новозаймс», Дания	800 ед. ПС	5,5–7,5	45–55

Основные кинетические параметры ферментативных реакций с использованием ФП разной специфичности при их действии на отруби определяли при следующих условиях: начальную скорость ферментативной реакции — графическим методом. Начальная скорость ферментативной реакции (V_0) — это скорость в начальный момент времени, когда реакция идет по 0-порядку, то есть наблюдается прямая пропорциональная зависимость между временем действия фермента и продуктами реакции. V_0 является мерой количества фермента. На практике для ее определения экспериментально строят кривую хода ферментативной реакции во времени (для этого через определенные интервалы времени из инкубационной смеси отбирают пробы, в которых выявляют продукты реакции) и рассчитывают время, соответствующее прямолинейному участку на графике (реакция 0-порядка). Температурные оптимальные действия ферментных препаратов изучали в диапазоне от 20 до 70 °С, оптимальный pH — от 3,0 до 8,5 с использованием 0,1 М цитратно-фосфатного и фосфатного буферов. Для выявления оптимальной дозировки ФП применяли диапазон конечных концентраций в инкубационной смеси от 0,25 до 1,25 ед./г отрубей, насыщающую концентрацию субстрата — в диапазоне от 20 до 120 мг/мл.

Общее содержание белка определяли по методу Кьельдаля ($N \times 6,25$), количество растворимого белка — по методу Лоури, содержание редуцирующих веществ (восстанавливающих сахаров) — по методу Бертрана [24], зольность — сжиганием муки с последующим расчетом массы несгораемого остатка (ГОСТ 27494–2016²). Влажность определяли по ГОСТ 9404–88³. Выявление массовой доли фосфора в образцах отрубей проводили в соответствии с ГОСТ 30615–99⁴. Метод заключается в сухой минерализации пробы, растворении золь, проведении цветной реакции с молибден-ванадиевым реактивом и измерении интенсивности желтого окрашивания раствора при длине волны 440 нм в кюветках с рабочей длиной 10 мм на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Разделение продуктов протеолиза проводили методом гель-хроматографии [24] на колонке (2,3×35) с TSK-gel Тоуорpearl HW-55F (ToSoh bioSep, Япония). Параметры колонки: свободный объем — 44 мл (по выходу декстрана синего с молекулярной массой около 2 млн Да); общий объем — 140 мл (по выходу тирозина). На колонку наносили 5 мл исследуемого раствора. Элюцию проводили дистиллированной водой. Объем собираемых фракций — 4 мл. Регистрцию оптической плотности элюата во фракциях осуществляли при длине волны 280 нм на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

¹ ГОСТ 31487–2012 «Ферментные препараты. Методы определения ферментативной активности фитазы». М.: Стандартинформ, 2012. — 12 с.

² ГОСТ 27494–2016 «Мука и отруби. Методы определения зольности». М.: Стандартинформ, 2019. — 15 с.

³ ГОСТ 9404–88 «Мука и отруби. Метод определения влажности». М.: Стандартинформ, 2007. — 4 с.

⁴ ГОСТ 30615–99 «Сырье и продукты пищевые. Метод определения фосфора». Минск: 2019. — 6 с.

Разделение аминокислот проводили с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе Agilent Technologies 1200 Series (Agilent, США) с хроматографической колонкой Luna 5u C18(2) 150×4,6 мм 5 μ (Phenomenex, США) с предколонкой в соответствии с ГОСТ 34230–2017⁵. Применяли следующие рабочие параметры жидкостного хроматографа: скорость потока элюента (ацетонитрил/ацетатный буферный раствор) — 1,0 см³/мин; градиент, %: 0–28 мин — 10/90; 29–40 мин — 28/72; 41–50 мин — 25/75; 51–55 мин — 50/50; 56–60 мин — 90/10; 61–63 мин — 10/90.

Для обработки результатов исследований, в ходе которой из 3–5 измерений для каждого образца определяли средние значения величин, среднеквадратичное отклонение и доверительный интервал, использовались методы математической статистики с применением программного обеспечения Microsoft Excel (версия Excel 19.0, выпуск 2018 г., Microsoft, США) [25].

3. Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследований были изучены основные кинетические характеристики используемых ФП при действии на трехкомпонентные отруби. На Рисунках 1 и 2 в качестве примера представлены данные по влиянию температуры и pH на активность ФП разной специфичности действия.

Обобщенные данные по кинетике ферментативных реакций (начальная скорость реакции (V_0), оптимальная температура и pH, оптимальное количество ФП) с использованием исследуемых ферментных препаратов отражены в Таблице 2.

Таблица 2. Сводная таблица основных кинетических параметров при действии на трехкомпонентные отруби (пшенично-чечевично-льняные)

Table 2. Summary table of the main kinetic parameters upon action on three-component bran (wheat-lentil-flax)

Показатель	«Агроксил Премиум»	«Агрофит»	«Пенициллопепсин + Оризин»	«Нейтраза 0,8L»
V_0 , мин	30	30	30	30
Оптимум T, °C	40–50	40	40	40–50
Оптимум pH	4,5–5,0	5,0	5,0	5,0–6,0
Оптимальная дозировка ФП	1,2 ед. ЦА/г отрубей	0,5 ед. ФА/г отрубей	0,8 ед. ПС/г отрубей	0,5 ед. ПС/г отрубей

На втором этапе исследований была изучена эффективность ФП при действии на биополимеры трехкомпонентных (пшенично-чечевично-льняные) отрубей (Рисунок 3).

На заключительном этапе исследования были разработаны две мультэнзимные композиции, включающие ферментные препараты целлюлолитического, протеолитического действия и фитазы: МЭК-1 («Агроксил Премиум» + «Агрофит» + «Пенициллопепсин + Оризин»); МЭК-2 («Агроксил Премиум» + «Агрофит» + «Нейтраза 0,8L»).

При их разработке в качестве научного обоснования использовали следующие критерии:

- в состав МЭК должны входить ФП разной специфичности действия, имеющие близкие по значению оптимальные pH и температуры;
- ФП в составе МЭК должны иметь высокую эффективность действия на природный субстрат; в данном случае — активно гидролизовать соответствующие субстраты поликомпонентных отрубей (белки, некрахмальные полисахариды, фитин);
- возможность синергетического эффекта при действии ФП разной специфичности (в данном случае ФП целлюлолитического и протеолитического действия);
- учет автолитических процессов под действием собственных (эндогенных) ферментных систем, в первую очередь кислой протеиназы, а также фитазы зерна, которые сосредоточены в периферийных частях зерновки и переходят в отруби при переработке зерна [15,16].

Учитывая вышеизложенное, проведение ферментативных реакций осуществляли при оптимальных условиях согласно следующим вариантам:

Контроль 1: пшеничные отруби: вода (гидромодуль 1:10), гидролиз под действием собственных ферментов при pH 4,5 в течение 4-х часов при температуре 40 °C;

Контроль 1–1: пшенично-чечевично-льняные отруби: вода (гидромодуль 1:10), гидролиз под действием собственных

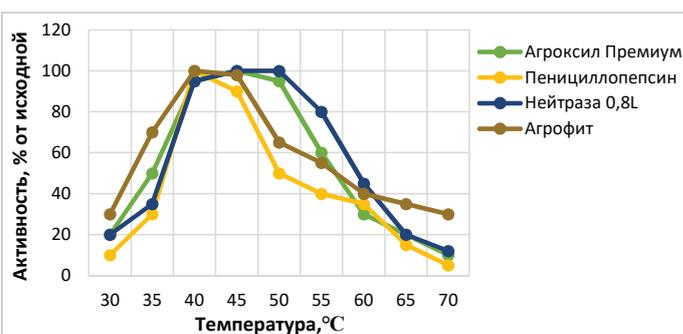


Рисунок 1. Влияние температуры на активность ферментных препаратов при действии на трехкомпонентные отруби

Figure 1. Effect of temperature on the activity of enzyme preparations upon action on three-component bran

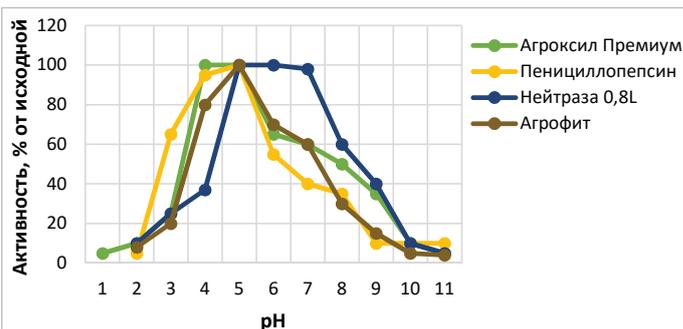


Рисунок 2. Влияние pH на активность ферментных препаратов при действии на трехкомпонентные отруби

Figure 2. Influence of pH on the activity of enzyme preparations upon action on three-component bran

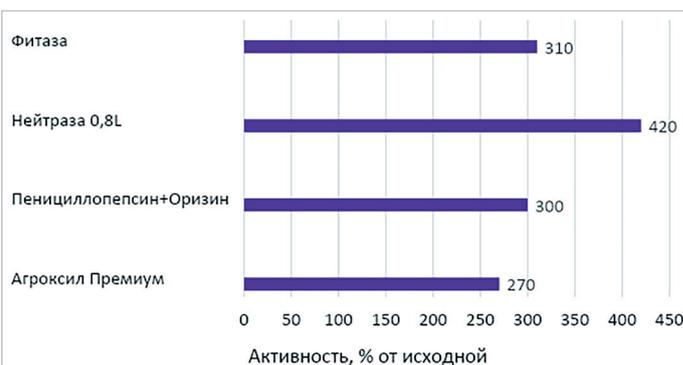


Рисунок 3. Эффективность ферментных препаратов при действии на пшенично-чечевично-льняные отруби

Figure 3. Effectiveness of enzyme preparations upon action on wheat-lentil-flax bran

ферментов при pH 4,5 в течение 4-х часов при температуре 40 °C;

Контроль 2: пшеничные отруби: вода (гидромодуль 1:10), гидролиз под действием собственных ферментов при pH 5,5 в течение 4-х часов при температуре 50 °C;

Контроль 2–1: пшенично-чечевично-льняные отруби: вода (гидромодуль 1:10), гидролиз под действием собственных ферментов при pH 5,5 в течение 4-х часов при температуре 50 °C;

Опыт 1: пшенично-чечевично-льняные отруби (гидромодуль 1:10) + МЭК-1, температура 40 °C, pH 4,5;

Опыт 2: пшенично-чечевично-льняные отруби (гидромодуль 1:10) + МЭК-2, температура 5 °C, pH 5,5.

Выбор pH обусловлен оптимальными значениями для действия собственных кислых протеиназ и фитаз, а также оптимальным действием исследуемых ферментных препаратов. Полученные данные представлены в Таблице 3.

Анализ представленных в Таблице 3 данных свидетельствует о высокой интенсивности гидролиза и об эффективности разработанных МЭК. Так, в исследуемых гидролизатах доля РВ возросла

⁵ ГОСТ 34230–2017 «Продукция соковая. Определение свободных аминокислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии». — М.: Стандартинформ, 2007. — 15 с.

в 2,8 и 2,3 раза (для МЭК-1) и в 3,5 и 2,7 раза (для МЭК-2) по сравнению с автолизатами пшеничных и трехкомпонентных отрубей соответственно. Доля растворимого белка увеличилась в 4,7 и 3,0 раза (МЭК-1) и в 6,4 и 4,2 раза (МЭК-2). Доля растворимого фосфора возрастает в среднем в 3,0–3,5 раза при использовании МЭК-1 и МЭК-2.

Таблица 3. Эффективность МЭК при действии на пшенично-чечевично-льняные отруби

Table 3. Effectiveness of MECs upon action on wheat-lentil-flax bran

Образец	РВ, %	Белок по Лоури, мг/мл	PO ₄ ³⁻ , г/л или мг/мл
Контроль 1	0,18	0,070	0,017
Контроль 1–1	0,22	0,110	0,020
Опыт 1 (с МЭК-1)	0,50	0,330	0,060
Контроль 2	0,20	0,078	0,017
Контроль 2–1	0,26	0,120	0,020
Опыт 2 (с МЭК-2)	0,70	0,500	0,065

Для роста и развития дрожжей рода *Saccharomyces*, используемых в различных технологиях брожения, необходима сбалансированность биохимического состава сбраживаемой среды, доступность азотистого и фосфорного питания. Трехкомпонентные отруби, полученные при совместном размоле зерносмеси, состоящей из злаковых (зерно пшеницы 85%), бобовых (семена чечевицы 10%) и масличных (семена льна 5%) культур, сами по себе обладают уникальным биохимическим составом [15,16]. Ферментативные гидролизаты трехкомпонентных отрубей, полученные с использованием композиций ФП целлюлолитического, протеолитического и фитазного действия, как показали наши исследования, с этой точки зрения могут рассматриваться как активаторы брожения, по сути являясь альтернативой дорогостоящим импортным активаторам брожения на основе автолизатов осадочных дрожжей [19].

Методом гель-хроматографии установлено значительное (в 3–4 раза) повышение доли низкомолекулярных пептидов и аминокислот (М. м. <1000 Да), выходящих с общим объемом колонки (Рисунок 4, 5).

С целью уточнения, какие именно аминокислоты вносят наибольший вклад в увеличение концентрации свободных аминокислот, использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Известно, что дрожжевая клетка может ассимилировать аммиачный азот, большинство аминокислот, кроме пролина, а также ди- и трипептиды. При этом такие аминокислоты, как аспарагиновая кислота, аргинин, валин, гистидин, изолейцин, триптофан, условно относят к хорошо усваиваемым, а аминокислоты лейцин, метионин, тирозин, треонин, серин, лизин — к плохо усваиваемым.

Установлено, что использование разработанных мультэнзимных композиций (МЭК-1 и МЭК-2) приводило к повышению суммарной концентрации свободных аминокислот в опытных образцах гидролизатов в среднем в 2,5–3,0 раза по сравнению с гидролизатами, полученными под действием собственных ферментов сырья (Таблица 4).

При этом концентрация наиболее ценных аминокислот с точки зрения азотного питания дрожжей (аспарагиновой кислоты, аргинина) в опытных гидролизатах трехкомпонентных отрубей повышалась в среднем в 2,5–3,0 раза; количество валина в опытных образцах гидролизатов по сравнению с исходным возрастало

в 5 раз; гистидина и изолейцина — в 2,0–2,5 раза. Это преимущество трехкомпонентных отрубей перед однокомпонентными связано в первую очередь с тем, что изначально белки семян чечевицы и льна содержат значительно больше растворимых белков (альбуминов и глобулинов) [26,27,28], в которых количество указанных выше аминокислот относительно больше по сравнению с зерном пшеницы и ржи [19]. Полученные с использованием направленного биокатализа гидролизаты трехкомпонентных отрубей за счет высокой доли растворимого фосфора, растворимого низкомолекулярного белка и свободных аминокислот могут быть рекомендованы для интенсификации процессов в технологиях брожения.

Таблица 4. Концентрация свободных аминокислот в образцах гидролизатов трехкомпонентных отрубей

Table 4. Concentration of free amino acids in the samples of three-component bran hydrolysates

Образец	Концентрация свободных аминокислот, мг/мл	
	сумма	% от исходного
Пшеничные отруби	943,1	–
Контроль 1	1226,0	130,0
Контроль 1–1	1428,0	151,4
Опыт 1 (с МЭК-1)	3570,0	378,6
Контроль 2	1182,5	125,4
Контроль 2–1	1508,0	138,7
Опыт 2 (с МЭК-2)	3924,0	416,1

Необходимо отметить, что присутствие естественных питательных сред с широким составом аминокислот, к которым относятся гидролизаты зерновых отрубей, значительно повышает ферментативную активность дрожжевых клеток. В этом случае возможна прямая ассимиляция аминокислот дрожжами в процессе их размножения [29,30]. Уровень ассимилируемого азота в среде определяет скорость роста дрожжей, выход биомассы, скорость утилизации сахара и скорость брожения.

4. Выводы

Разработаны и научно обоснованы мультэнзимные композиции (МЭК-1 и МЭК-2) на основе ФП целлюлолитического, протеолитического и фитазного действия.

Исследованы кинетические характеристики ферментных препаратов, входящих в состав мультэнзимных композиций при действии на трехкомпонентные (пшенично-чечевично-льняные) отруби. Определены оптимальные условия для проведения ферментативных реакций: начальная скорость ферментативной реакции, оптимальные температуры и pH, оптимальные концентрации фермента и насыщающая концентрация субстрата.

Показана высокая эффективность разработанных МЭК: доля РВ в исследуемых гидролизатах увеличилась по сравнению с автолизатами пшеничных и трехкомпонентных отрубей в 2,8 и 2,3 раза (МЭК-1) и в 3,5 и 2,7 раза (МЭК-2) соответственно. Количество растворимого белка возросло в 4,7 и 3,0 раза (МЭК-1) и в 6,4 и 4,2 раза (МЭК-2). Доля растворимого фосфора увеличивается в среднем в 3,0–3,5 раза при использовании МЭК-1 и МЭК-2.

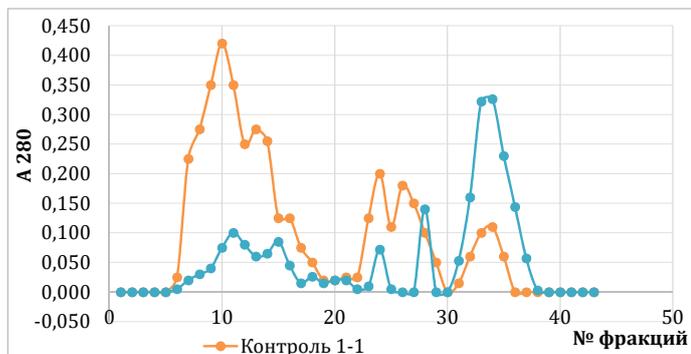


Рисунок 4. Фракционирование продуктов протеолиза методом гель-хроматографии трехкомпонентных отрубей с использованием МЭК-1

Figure 4. Fractionation of proteolysis products by gel chromatography of three-component bran with the use of MEC-1

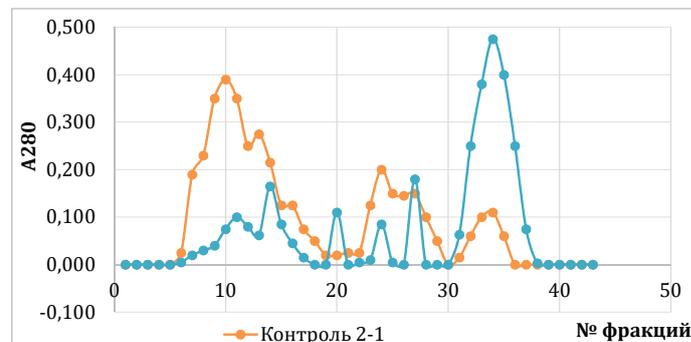


Рисунок 5. Фракционирование продуктов протеолиза методом гель-хроматографии трехкомпонентных отрубей с использованием МЭК-2

Figure 5. Fractionation of proteolysis products by gel chromatography of three-component bran with the use of MEC-2

Методом гель-хроматографии установлено значительное (в 3–4 раза) повышение доли низкомолекулярных пептидов и аминокислот (М. м. <1000 Да), выходящих с общим объемом колонки.

Концентрация наиболее ценных аминокислот с точки зрения азотного питания дрожжей, по результатам ВЭЖХ, аспарагиновой кислоты, аргинина в опытных гидролизатах трехкомпонентных отрубей повышалась в среднем в 2,5–3,0 раза; количество валина в опытных образцах гидролизатов по сравнению с исход-

ным возрастало в 5 раз; содержание гистидина и изолейцина — в 2,0–2,5 раза.

Результаты исследования составят основу дальнейшего изучения возможности использования гидролизатов из зерновых отрубей для обогащения пищевых продуктов легко усваиваемыми компонентами, а также с целью их применения в технологиях брожения на стадии сбраживания в качестве альтернативного источника азотного и фосфорного питания дрожжей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Rimareva, L. V., Serba, E. M., Sokolova, E. N., Borshcheva, Yu. A., Ignatova, N. I. (2017). Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности. *Вопросы питания*, 86(5), 63–74. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00078>
- Tolkacheva, A. A., Cherenkov, D. A., Korneeva, O. S., Ponomarev, P. G. (2017). Ферменты промышленного назначения — обзор рынка ферментных препаратов и перспективы его развития. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 79(4), 197–203. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-4-197-203>
- Bilal, M., Iqbal, H. M. N. (2020). State-of-the-art strategies and applied perspectives of enzyme biocatalysis in the food sector — current status and future trends. *Critical Reviews. Food Science and Nutrition*, 60(12), 2052–2066. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1627284>
- Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Medrish, M. E., Pavlova, A. A. и др. (2021). Подбор мультиэнзимной композиции и условий подготовки концентрированного зернового сула. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 11(3), 384–392. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392>
- Rimareva, L. V., Serba, E. M., Overchenko, M. B., Shelekhova, N. V., Ignatova, N. I., Pavlova, A. A. (2022). Enzyme complexes for activating yeast generation and ethanol fermentation. *Foods and Raw Materials*, 10(1), 127–136. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-1-127-136>
- Zueva, N. V., Agafonov, G. V., Korchagina, M. V., Dolgov, A. N., Chusova, A. E. (2019). Выбор ферментных препаратов и температурно-временных режимов водно-тепловой и ферментативной обработки при разработке комплексной технологии переработки зернового сырья. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 81(1), 112–119. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-112-119>
- Sokolov, D. V., Bolshonov, B. A., Zhamsaranova, S. D., Lebedeva, S. N., Bazhenova, B. A. (2023). Ферментативный гидролиз соевого белка. *Техника и технология пищевых производств*, 53(1), 86–96. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2418>
- Verni, M., Rizzello, C. G., Coda, R. (2019). Fermentation biotechnology applied to cereal industry by-products: Nutritional and functional insights. *Frontiers in Nutrition*, 6, Article 42. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00042>
- Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Serba, E. M., Ignatova, N. I., Shelekhova, N. V. (2021). Конверсия полимеров зерна пшеницы и кукурузы под влиянием фитолитических и протеолитических ферментов. *Сельскохозяйственная биология*, 56(2), 374–383. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.374rus>
- Serba, E. M., Rimareva, L. V., Курбатова, Е. И., Волкова, Г. С., Поляков, В. А., Варламов, В. П. (2017). Исследование процесса ферментативного гидролиза биомассы дрожжей для создания пищевых ингредиентов с заданным фракционным составом белковых веществ. *Вопросы питания*, 86(2), 76–83.
- Погорелова, Н. А., Гаврилова, Н. Б., Рогачев, Е. А., Щетинина, Е. М. (2020). Определение эффективности способов конверсии пшеничных отрубей для использования их в технологии продуктов питания. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 1, 48–57. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.228>
- Choi, J. M., Han, S. S., Kim, H. S. (2015). Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology Advances*, 33(7), 1443–1454. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.014>
- Kapreljants, L., Zhurlova, O. (2017). Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. *International Food Research Journal*, 24(5), 1975–1979.
- Витол, И. С. (2023). Эффективность ферментных препаратов при получении гидролизатов из отрубей. *Пищевая промышленность*, 6, 48–50. <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.6.6.015>
- Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Панкратов, Г. Н. (2022). Отруби из комбизитной зерносмеси — как объект глубокой переработки. Часть 1. Белково-протеиназный комплекс. *Пищевые системы*, 5(4), 282–288. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-282-288>
- Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Панкратов, Г. Н. (2023). Отруби из комбизитной зерносмеси как объект глубокой переработки. Часть 2. Углеводно-амилазный и липидный комплексы. *Пищевые системы*, 6(1), 22–28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-22-28>
- Kapreljants, L., Zhurlova, O. (2017). Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. *International Food Research Journal*, 24(5), 1975–1979.
- Болтовский, В. С. (2021). Ферментативный гидролиз растительного сырья: состояние и перспективы. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*, 57(4), 502–512. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-502-512>
- Krikunova, L. N., Meleshkina, E. P., Vitol, I. S., Dubinina, E. V., Obodeeva, O. N. (2023). Grain bran hydrolysates in the production of fruit distillates. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 35–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-550>
- Polyakov, V. A., Serba, E. M., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Rimareva, L. V. (2019). The effect of a complex phytase-containing enzyme preparation on the process of rye wort fermentation. *Foods and Raw Materials*, 7(2), 221–228. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-221-228>
- Walker, G. M., Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4), Article 30. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
- Greiner, R., Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 125–140.
- Nadaroglu, H., Polat, M. S. (2022). Microbial extremozymes: Novel sources and industrial applications. Chapter in a book: *Microbial Extremozymes*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822945-3.00019-1>
- Нечаев, А. П., Траубенберг, С. Е., Кочеткова, А. А., Колпакова, В. В., Витол И. С., Кобелева И. Б. (2006). *Пищевая химия. Лабораторный практикум*. СПб: ГИОРД, 2006.
- Гребенникова, И. В. (2015). *Методы математической обработки экспериментальных данных*. Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2015.
- Типсина, Н. Н., Батура, Н. Г., Демидов, Е. Л., Белошапкин, М. С. (2020). Характеристика чечевицы и ее использование в пищевой промышленности. *Вестник КрасГАУ*, 11, 225–231. <http://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-11-225-231>
- Калашникова, С. В., Сысоева, М. Г., Курчаева, Е. Е. (2015). Эмульсионные продукты на основе белковой фракции бобов чечевицы. *Вестник Воронежского государственного аграрного университета*, 3(46), 141–147.
- Миневич, И. Э. (2019). Функциональная значимость семян льна и практика их использования в пищевых технологиях. *Health, Food and Biotechnology*, 1(2), 97–120. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s224>
- Саришвили, Н. Г., Рейтблат, Б. Б. (2000). *Микробиологические основы технологии шампанизации вина*. М.: Пищепромиздат, 2000.
- Панасюк, А. Л., Макаров, С. С. (2018). Влияние различных рас дрожжей на качественные показатели и антиоксидантную активность вин из черной смородины. *Техника и технология пищевых производств*, 48(1), 66–73. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-66-73>

REFERENCES

- Rimareva, L. V., Serba, E. M., Sokolova, E. N., Borshcheva, Yu. A., Ignatova, N. I. (2017). Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry. *Problems of Nutrition*, 86(5), 63–74. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00078> (In Russian)
- Tolkacheva, A. A., Cherenkov, D. A., Korneeva, O. S., Ponomarev, P. G. (2017). Enzymes of industrial purpose — review of the market of enzyme preparations and prospects for its development. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 79(4), 197–203. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-4-197-203> (In Russian)
- Bilal, M., Iqbal, H. M. N. (2020). State-of-the-art strategies and applied perspectives of enzyme biocatalysis in the food sector — current status and future trends. *Critical Reviews. Food Science and Nutrition*, 60(12), 2052–2066. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1627284>
- Serba, E. M., Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Medrish, M. E., Pavlova, A. A. et al. (2021). Selecting multi-enzyme composition and preparation conditions for strong wort. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 11(3), 384–392. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392> (In Russian)
- Rimareva, L. V., Serba, E. M., Overchenko, M. B., Shelekhova, N. V., Ignatova, N. I., Pavlova, A. A. (2022). Enzyme complexes for activating yeast generation and ethanol fermentation. *Foods and Raw Materials*, 10(1), 127–136. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2022-1-127-136>
- Zueva, N. V., Agafonov, G. V., Korchagina, M. V., Dolgov, A. N., Chusova, A. E. (2019). Selection of enzyme preparations and temperature-time regimes of water-heat and enzymatic treatment in the development of complex technology of processing of grain raw materials. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 81(1), 112–119. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-112-119> (In Russian)
- Sokolov, D. V., Bolshonov, B. A., Zhamsaranova, S. D., Lebedeva, S. N., Bazhenova, B. A. (2023). Enzymatic hydrolysis of soy protein. *Food Processing: Techniques and Technology*, 53(1), 86–96. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2023-1-2418> (In Russian)
- Verni, M., Rizzello, C. G., Coda, R. (2019). Fermentation biotechnology applied to cereal industry by-products: nutritional and functional insights. *Frontiers in Nutrition*, 6, Article 42. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00042>
- Rimareva, L. V., Overchenko, M. B., Serba, E. M., Ignatova, N. I., Shelekhova, N. V. (2021). Influence of phytolytic and proteolytic enzymes on conversion of

- wheat and corn grain polymers. *Agricultural Biology*, 56(2), 374–383. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.374rus> (In Russian)
10. Serba, E. M., Rimareva, L. V., Kurbatova, E. I., Volkova, G. S., Polyakov, V. A., Varlamov, V. P. (2017). The study of the process of enzymatic hydrolysis of yeast biomass to generate food ingredients with the specified fractional composition of protein substances. *Problems of Nutrition*, 86(2), 76–83. (In Russian)
 11. Pogorelova, N. A., Gavrilova, N. B., Rogachev, E. A., Shchetinina, E. M. (2020). Effectiveness of wheat bran conversion methods for use in food technology. *Storage and Processing of Farm Products*, 1, 48–57. <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.228> (In Russian)
 12. Choi, J. M., Han, S. S., Kim, H. S. (2015). Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology Advances*, 33(7), 1443–1454. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.014>
 13. Kapreliants, L., Zhurlova, O. (2017). Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. *International Food Research Journal*, 24(5), 1975–1979.
 14. Vitol, I. S. (2023). Efficiency of enzyme preparations in obtaining hydrolysates from bran. *Food Industry*, 6, 48–50. <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.6.6.015> (In Russian)
 15. Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N. (2022). Bran from composite grain mixture as an object of deep processing. Part 1. Protein-proteinase complex. *Food Systems*, 5(4), 282–288. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-282-288> (In Russian)
 16. Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N. (2023). Bran from composite grain mixture as an object of deep processing. Part 2. Carbohydrate-amylase and lipid complexes. *Food Systems*, 6(1), 22–28. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-1-22-28> (In Russian)
 17. Kapreliants, L., Zhurlova, O. (2017). Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. *International Food Research Journal*, 24(5), 1975–1979.
 18. Boltovsky, V. S. (2021). Enzymatic hydrolysis of plant raw materials: Status and prospects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Science Series*, 57(4), 502–512. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2021-57-4-502-512> (In Russian)
 19. Krikunova, L. N., Meleshkina, E. P., Vitol, I. S., Dubinina, E. V., Obodeeva, O. N. (2023). Grain bran hydrolysates in the production of fruit distillates. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 35–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-550>
 20. Polyakov, V. A., Serba, E. M., Overchenko, M. B., Ignatova, N. I., Rimareva, L. V. (2019). The effect of a complex phytase-containing enzyme preparation on the process of rye wort fermentation. *Foods and Raw Materials*, 7(2), 221–228. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-221-228>
 21. Walker, G. M., Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4), Article 30. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
 22. Greiner, R., Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 125–140.
 23. Nadaroglu, H., Polat, M. S. (2022). Microbial extremozymes: Novel sources and industrial applications. Chapter in a book: *Microbial Extremozymes*. Academic Press, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822945-3.00019-1>
 24. Nechaev, A. P., Traubenberg, S. E., Kochetkova, A. A., Kolpakova, V. V., Vitol, I. S., Kobleva, I. B. (2006). *Food chemistry. Laboratory practice*. St. Petersburg: GIORD, 2006. (In Russian)
 25. Grebennikova, I. V. (2015). *Methods of mathematical processing of experimental data*. Yekaterinburg: Ural University Press, 2015. (In Russian)
 26. Tipsina, N. N., Batura, N. G., Demidov, E. L., Beloshapkin, M. S. (2020). The characteristics of food lentils and its use in food industry. *The Bulletin of KrasGAU*, 11, 225–231. <http://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-11-225-231> (In Russian)
 27. Kalashnikova, S. V., Syssoeva, M. G., Kurchaeva, E. E. (2015). Emulsion products based on protein fractions of lentils. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*, 3(46), 141–147. (In Russian)
 28. Minevich, I. E. (2019). Functional significance of flax seeds and practice of their use in food technologies. *Health, Food and Biotechnology*, 1(2), 97–120. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s224> (In Russian)
 29. Sarishvili, N. G., Reitblat, B. B. (2000). *Microbiological bases of wine champagne technology*. Moscow: Food industry. 2000. (In Russian)
 30. Panasyuk, A. L., Makarov, S. S. (2018). Influence of different yeast races on quality parameters and antioxidant activity of wines produced from blackcurrant. *Food Processing: Techniques and Technology*, 48(1), 66–75. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-66-73> (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Витол Ирина Сергеевна — кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * автор для контактов</p>	<p>Irina S. Vitol, Candidate of Biological Sciences, Docent, Senior Researcher, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, Moscow, 127434, Russia Tel.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * corresponding author</p>
<p>Мелешкина Елена Павловна — доктор технических наук, директор, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-499-976-23-23 E-mail: mep5@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150</p>	<p>Elena P. Meleshkina, Doctor of Technical Sciences, Director, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, Moscow, 127434, Russia Tel.: +7-499-976-23-23 E-mail: mep5@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150</p>
<p>Крикунова Людмила Николаевна — доктор технических наук, профессор, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: +7-910-465-95-88 E-mail: oltiv@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7335-0453</p>	<p>Lyudmila N. Krikunova, Doctor of Technical Sciences, Professor, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo str., Moscow, 119021, Russia Tel.: +7-910-465-95-88 E-mail: oltiv@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7335-0453</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>