

Е. В. Перушкина, Е. Е. Кузьмина, С. А. Александровский,
В. Б. Жукова

ПРОДУКТЫ БИОКОНВЕРСИИ КРАХМАЛА ЗЕРНОВОГО СЫРЬЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ СОЛОДА И ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА

Ключевые слова: биоконверсия, ферментативный гидролиз, кукуруза, мальтозный сироп, глюкозно-мальтозный сироп.

Исследован процесс ферментативного гидролиза зерна кукурузы с целью получения сиропов с различным углеводным составом. Получен мальтозосодержащий продукт при использовании ферментного препарата, состоящего из глюкоамилазы, ксиланазы, β -глюканазы, целлюлазы и α -амилазы, при температуре 60 °C pH 6,5.

Keywords: bioconversion, enzymatic hydrolysis, corn, maltose syrup, glucose-maltose syrup.

The process of enzymatic hydrolysis of corn was studied to produce the syrups with various carbohydrate compositions. The maltose product was obtained by using an enzymatic drug consisting of glucoamylase, xylanase, β -glucanase, cellulase and α -amylase at 60 °C pH 6.5.

Введение

Ассортимент продуктов биоконверсии крахмалосодержащего сырья неизменно расширяется в связи с увеличением спроса на них при производстве безалкогольных напитков, соков, высококачественных хлебобулочных и кондитерских изделий. При переработке зернового сырья возможно получение различных видов крахмала, декстринов, крахмальной крупы Саго, сахаристых крахмалопродуктов, нескольких разновидностей патоки, глюкозы, глюкозно-фруктозного сиропа, кристаллической фруктозы, мальтодекстрина, мальтина, уваренного глюкозного сиропа, зернового сиропа [1]. Известны научные разработки по ферментации ржи с созданием кормовых продуктов пребиотического действия [2].

Технологии получения большинства сахаристых продуктов основаны на измельчении зернового сырья и последующем гидролизе крахмала, включающем его разжижение и осахаривание.

Необходимо отметить, что крупность помола зернопродуктов оказывает влияние на продолжительность протекания стадий высокотемпературной и ферментативной обработки сырья. Существуют различные способы измельчения зернового сырья, как на различном оборудовании, так и в различных фазовых состояниях (мокрый и сухой помол) [3].

Проведение гидролиза крахмала специфично для каждой технологии сахаросодержащего продукта. Осуществление деструкции полисахаридов возможно кислотным и кислотнo-ферментативным способами [4], а также биоконверсией крахмала, подразумевающей применение амилолитических ферментных препаратов на стадии его разжижения и осахаривания. Последующее фильтрование гидролизата приводит к отделению веществ некрахмалистой природы, в результате готовый продукт получается в виде сиропа.

Традиционным источником ферментов для процессов биоконверсии растительного сырья является ячменный солод. Из большого числа ферментов солода для технологий получения сахаристых продуктов особое значение имеют амилолитические и протеолитические, а также ферменты, расщепляю-

щие некрахмалистые полисахариды зерна и фосфорные соединения. Кроме того, широко применяются ферментные препараты в замещение части соложенного сырья или для его полной замены. Например, ферментные препараты амилоризин ПХ и П10Х, цитороземин ПХ и П10Х, амилосубтилин Г10Х, Г20Х и мультиэнзимная композиция рекомендуются для переработки 40-50% ячменя при одновременном использовании солода [5].

Цель настоящего исследования состояла в анализе углеводного состава продуктов биоконверсии полисахаридов кукурузной муки ферментами ячменного солода и ферментным препаратом ГлюкоЛюкс-А.

Экспериментальная часть

Для получения сахаросодержащих сиропов в лабораторных условиях использовали зерно кукурузы влажностью 14%, соответствующее требованиям ГОСТ 13634-90, ячмень для производства солода по ГОСТ 5060-86 влажностью 15%. В качестве дополнительного источника ферментов в процессе гидролиза растительного сырья применяли комплексный ферментный препарат грибного происхождения ГлюкоЛюкс-А (ООО ПО «Сиббиофарм»), представляющий собой суспензию темно-коричневого цвета (таблица 1). Диапазон действия препарата: pH – 3,0-8,5, температура – 30-70 °C, оптимальные условия pH – 4,4-5,5, температура – 55-60 °C [6].

Таблица 1 – Ферментный состав препарата ГлюкоЛюкс-А [11]

Наименование Фермента	Активность фермента, ед./г(см ³)
Глюкоамилаза	5000±500
Ксиланаза	не менее 1500
β -глюканаза	до 100
Целлюлаза	до 400
α -амилаза	до 150

Подготовка растительного сырья для экспериментальных исследований заключалась в размоле кукурузы на молотковой дробилке, просеивании на ситах и отборе фракции кукурузной муки, прошедшей сито № 0,25. Ячменный солод получали последовательным замачиванием ячменя воздушно-водяным способом и проращиванием в лабораторном термостате в течение 10 суток при температуре 16-18 °С и влажности 75-90 %. Перед использованием «зелёный» ячменный солод подвергали дроблению и смешению с водой в соотношении 1:3 [7,8], получая таким образом солодовую суспензию.

Получение сахаросодержащего продукта заключалось в том, что кукурузную муку и первую порцию солодовой суспензии (20% к массе муки) добавляли в теплую воду температурой 50 °С в соотношении 1:3 и проводили гидролиз при температуре 70-72 °С в течение 120 минут, затем нагревали заторную массу до 98 °С и выдерживали 20 минут [9]. После осуществляли осахаривание заторной массы ферментами ячменного солода. Для этого при температуре 60 °С вносили вторую порцию солодовой суспензии (35% к массе муки) при гидромодуле 1:3, pH 6,5-7,0 и при периодическом перемешивании. Продолжительность стадии осахаривания составила около 10 часов.

Также осуществляли осахаривание заторной массы с добавлением к солоду комплексного ферментного препарата ГлюкоЛюкс-А в количестве 0,4% к массе зерна при тех же условиях проведения процесса.

В течение эксперимента анализировали углеводный состав гидролизатов (содержание глюкозы, мальтозы и декстринов) методом Зихерта и Блейера, уточненным В. А. Смирновым [10]. Предварительно проводили осаждение белков в образцах с целью получения сахаросодержащего сиропа, объем пробы которого составлял 25 см³. Степень осахаривания крахмала в заторе определяли с помощью йодной пробы [11].

Результаты и их обсуждение

Кукуруза является основным сырьем в производстве сахаристых крахмалопродуктов, вследствие высокого содержания в ней крахмала (67-76%), вследствие чего она была выбрана объектом исследования. Процесс осахаривания крахмала является главным и определяющим в технологии получения различных видов сахаросодержащих продуктов, в том числе сиропов с различным углеводным составом.

Процесс осахаривание полисахаридов зерна ферментами ячменного солода проводили после предварительного его разжижения при условиях, указанных выше. Строгое соблюдение температуры осахаривания на уровне 60-62°С необходимо для поддержания активности фермента β-амилазы, содержащегося в солодовой суспензии, и играющего первостепенную роль в расщеплении разжиженного крахмального клейстера и декстринов до мальтозы.

Процесс гидролиза проводили при значении pH близком к нейтральному (6,5-7,0). Для поддер-

жания необходимого значения pH в процессе осахаривания использовали 5% раствор NaHCO₃.

Пробы на анализ отбирались через определенные промежутки времени. Полученные результаты химического анализа содержания сахаров в сухих веществах сиропа после осаждения белковых компонентов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Образование углеводов в процессе биоконверсии полисахаридов зернового сырья с применением ячменного солода

Содержание углеводов в сухом веществе сиропа, %	Продолжительность осахаривания полисахаридов, ч			
	0	2	4	10
pH	7,0±0,3	6,5±0,3	6,5±0,3	6,5±0,3
Глюкоза	~0	~0	~0	3,9
Мальтоза	30,3	35,1	45,4	84,4

В начальной фазе проведения эксперимента на стадии разжижения ферменты ячменного солода подготавливают молекулу крахмала к процессу ее расщепления. Высокое начальное значение концентрации мальтозы в образце объясняют повышенным её содержанием в ячменном солоде [5] и тем, что при предварительной высокотемпературной обработке водно-мучной смеси в процессе расщепления крахмала α-амилазой солода образуются низкомолекулярные декстрины и некоторое количество мальтозы [12]. Содержание глюкозы было минимальным, таким образом, в составе гидролизата на момент начала процесса осахаривания присутствовали полисахариды, олигосахариды и небольшое количество дисахаридов.

Момент завершения процесса гидролиза крахмала определялся по достижении желтого цвета йодной пробы. За время процесса количество мальтозы в гидролизате увеличилось в 3 раза, что связано с активностью фермента β-амилаза солодовой суспензии при выбранном температурном режиме (60 °С). β-амилаза обладает способностью гидролизовать клейстеризованный крахмал с образованием мальтозы, проявляя сродство в предпоследней α-1,4-связи с нередуцирующего конца линейного участка амилозы и амилопектина [4]. Образование небольшого количества глюкозы (3,9%) связано с недостаточной активностью ферментов, способствующих ее накоплению в растворе в выбранных температурных условиях. Так например фермент мальтаза, присутствующий в солодовой суспензии и способный расщепить молекулу мальтозы на две молекулы глюкозы, инактивируется при температуре 60 °С [13].

pH среды в течение ферментативного гидролиза незначительно снижается, что может быть связано с переводом в раствор фосфорной кислоты и других фосфорсодержащих соединений зерна [7].

Процесс осахаривания полисахаридов зерна ферментами ячменного солода и комплексного ферментного препарата ГлюкоЛюкс-А проходил при температурном режиме 60 °С, оптимальном одновременно для ферментов препарата ГлюкоЛюкс-А и β-амилазы ячменного солода. Следует отметить, что

суммарная концентрация моно- и дисахаридов в начальный момент процесса близка по значению с данными предыдущего эксперимента (табл. 2 и 3).

Как следует из результатов, приведенных в таблице 3, при добавлении препарата ГлюкоЛюкс-А биоконверсия крахмала растительного сырья протекает интенсивнее: увеличение концентрации глюкозы (9,4%) и мальтозы (37,6%) наблюдается после 2 ч осахаривания. Это обусловлено действием ферментов, входящих в состав комплексного препарата. Глюкоамилаза гидролизует α -1,4-, α -1,6- и α -1,3-гликозидные связи в молекулах крахмала, декстринов и олигосахаридов, начиная от нередуцирующего конца молекулы крахмала. Единственным продуктом гидролиза на всех стадиях является β -глюкоза [4]. Ксиланаза, β -глюканаза, целлюлаза способствуют разрушению некрахмалистых полисахаридов до глюкозы и мальтозы и полупродуктов, гидролизующихся α -амилазой и глюकोамилазой [6].

Таблица 3 - Образование углеводов в процессе биоконверсии полисахаридов зернового сырья с применением ячменного солода и ферментного препарата ГлюкоЛюкс-А

Содержание углеводов в сухом веществе сиропа, %	Продолжительность осахаривания полисахаридов, ч		
	0	2	4
pH	6,5 $\pm$ 0,3	6,5 $\pm$ 0,3	6,0 $\pm$ 0,3
Глюкоза	~0	9,4	16,8
Мальтоза	34,2	37,6	65,2

Оценивая углеводный состав сиропа на момент окончания процесса осахаривания крахмала, необходимо отметить увеличение концентрации глюкозы до 16,8%, образующейся при гидролизе крахмала и олигосахаридов ферментами α -амилаза и глюкоамилаза, а также гидролизе целлюлозы зерна ферментом целлюлаза.

При сравнительном анализе содержания продуктов гидролиза полисахаридов зернового сырья в сиропах установлено, что при использовании солодовой суспензии состав сахаров сиропа представлен преимущественно мальтозой около 85% (в пересчете на АСВ) при незначительном количестве глюкозы около 4% на АСВ. Полученный сироп может служить полупродуктом в производстве мальтозной патоки, в которой содержание глюкозы составляет 3-7% (ОСТ 10-228-98). Известно, что благодаря высокому содержанию мальтозы продукт не кристаллизуется в процессе хранения, он мало гигроскопичен, что важно для кондитерской промышленности, так как требует меньшего количества добавляемого сахара. Продукты, содержащие мальтозу, отвечают требованиям, предъявляемым к заменителям сахара при производстве продуктов детского питания, тогда как сахароза и глюкоза могут являться аллергенами [7].

Использование ферментного препарата ГлюкоЛюкс-А в дополнение к солодовой суспензии позволяет получить сироп, в котором содержание мальтозы достигает 65% при уровне глюкозы около

17% в пересчете на АСВ. Таким образом, сироп может служить основой для получения глюкозно-мальтозной патоки. Содержание глюкозы в таком продукте не должно превышать 38 %, это условие позволяет применять его в качестве заменителя сахарозы в виноделии, хлебопечении, консервировании, при производстве напитков и т.д. Необходимо отметить, что глюкозно-мальтозный сироп является энергетическим продуктом, высокое количество сбраживаемых сахаров позволяет широко применять его в пивоварении [14].

Известны литературные данные об использовании ферментных препаратов Глюкаваморин и Амилоризин [14] в процессе биоконверсии кукурузного крахмала с получением продукта, содержащего 35,8% глюкозы, 48,1% мальтозы, 11,3% мальтотриозы и 4,6% декстринов. В МГУПП разработаны условия комбинированного использования препаратов Амилосубтилина Г10Х, Глюкаваморина Г20Х и бактериальной β -амилазы при гидролизе крахмала зернового сорго для получения паточных сиропов различного углеводного состава и различного целевого назначения, в том числе сахарные сиропы с высоким содержанием глюкозы и мальтозы для получения десертных пищевых продуктов [15]. Отличительной особенностью созданных процессов является использование ферментных препаратов для биоконверсии крахмала. Настоящее исследование позволяет использовать исходный потенциал ферментов растений в составе ячменного солода с незначительным добавлением (0,4%) ферментного препарата, что приводит к сравнительно высокой концентрации мальтозы в готовом сиропе.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что при использовании в процессе осахаривания полисахаридов кукурузной муки и ячменного солода при температуре 60 °С гидромодуле 1:3, pH 6,5 солодовой суспензии (35% к массе муки) и комплексного ферментного препарата ГлюкоЛюкс-А (0,4% к массе зерна) возможно получение глюкозно-мальтозного сиропа с содержанием мальтозы 65% и глюкозы 17% в пересчете на АСВ.

Литература

1. ГОСТ Р 51953-2002.
2. И.А. Хусаинов, А.В. Канарский, З.А. Канарская, М.А. Поливанов. *Вестник Казанского технологического университета*, **3**, 174-179 (2011).
3. С.А. Александровский. *Вестник Казанского технологического университета*, **11**, 199-201 (2013).
4. Д.Ш. Ягофаров, А.В. Канарский, Ю.Д. Сидоров, С.В. Василенко. *Вестник Казанского технологического университета*, **15**, 210-214 (2012).
5. Г.И. Косминский *Технология солода, пива и безалкогольных напитков*. Дизайн ПРО, Минск, 2001. 352 с.
6. *Технологическая инструкция по применению ферментных препаратов в спиртопроизводстве: РБ 190239501.5.498-2006*. ООО ПО «Сиббиофарм», Бердск: 2008, 20 с.
7. Э.А. Обуховский. *Производство мальтозной патоки*, Пищевая промышленность, Москва, 1959. 342 с.
8. В.А. Бутковский, А.И. Мерко, Е.М. Мельников. *Технология зерноперерабатывающих производств*, Интерграфсервис, Москва, 1999. 472 с.

9. Т.А. Ямашев. Автореф. дисс. канд. техн. наук, Казанский гос. технологический ун-т, Казань, 2007, 20 с.

10. Н.Н. Трегубов, Е.Я. Жарова, А.И. Жушман. *Технология крахмала и крахмалпродуктов*, Легкая и пищевая промышленность, Москва, 1981. 250 с.

11. ГОСТ 5903-89.

12. А.Д. Тошев, А.А. Рушиц, *Хранение и переработка сельхозсырья*, **11**, 42-44 (2009).

13. Г.В. Польшалина, В.С. Чередниченко, Л.В. Римарева. *Определение активности ферментов*, ДеЛи принт, Москва, 2003. 352 с.

14. ГОСТ Р 52060-2003.

15. И.С. Иванова, Л.И. Войно, Л.А. Иванова. *Пищевая биотехнология*, КолосС, Москва, 2008. 472 с.

© **Е. В. Перушкина** – канд. техн. наук, доц. промышленной биотехнологии КНИТУ, elena.peroushkina@gmail.com; **Е. Е. Кузьмина** – студ. той же кафедры; **С. А. Александровский** – канд. техн. наук, доц. той же кафедры, alex-androvsky@rambler.ru; **В. Б. Жукова** – ст. препод. той же кафедры.