

УДК 577.152.3 (045)

ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ АМІЛОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ СОЛОДУ ЗЛАКОВИХ КУЛЬТУР

Л.О. КОСОГОЛОВА¹, П.П. ЛОШИЦЬКИЙ², С.В. ТУРБОВСЬКА¹,
Н.В. САМЧУК¹

¹Національний авіаційний університет, м. Київ

²Національний технічний університет України

“Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського”

В статті визначено вплив температури та активної кислотності при температурі 74 °С на амілолітичну активність ферментів пшеничного та ячмінного солодів. Оптимальна температура оцукрювання становила 76 °С, а рівень рН – 6,8. Встановлено вплив електромагнітного випромінювання радіочастотного діапазону: кілометрових (низькочастотних (НЧ)) та міліметрових (крайне високочастотних (КВЧ)) хвиль на активність амілолітичних ферментів ячмінного солоду. Запропоновано для збільшення амілолітичної активності ферментів ячмінного солоду використовувати крайне високочастотне опромінення, час експозиції – 5 хвилин.

Ключові слова: пшеничний солод, ячмінний солод, амілолітичні ферменти, температура, активна кислотність, низькочастотні хвилі, крайне високочастотні хвилі.

Вступ. Амілолітичні ферменти визначаються широким практичним використанням у багатьох галузях промисловості. Вони застосовуються в харчовій, фармацевтичній, легкій, паперовій промисловості та у виробництві миючих засобів. Амілази становлять приблизно 30% від світової продукції ферментів [1]. Особливо амілолітичні ферменти відіграють велику роль в

технології бродильних виробництв. Їхнім джерелом служить пророщене зерно ячменю, пшениці, вівса, проса та жита [2].

Солод є не тільки джерелом отримання екстрактивних речовин, але і джерелом ферментів, в тому числі амілолітичних [3]. Технологія виробництва солоду поділяється на наступні процеси: підготовку зерна, його замочування, пророщування, сушіння солоду та відокремлення паростків [4].

Пророщування зерна є найголовнішим процесом при виробництві солоду. Важливою задачею у процесі солодовирощування є активація та утворення амілолітичних ферментів. Амілази ячменю та солоду складаються з трьох типів: α -, β -, γ -амілаза, що різняться механізмом свого впливу на крохмаль.

Основним процесом при переробці крохмалевмісної сировини в бродильних виробництвах є гідроліз крохмалю амілолітичними ферментами солоду при затиранні. Вуглеводна частина крохмалю складається з таких полісахаридів: амілоза і амілопектин. Ферментативний гідроліз крохмалю проводиться амілолітичними ферментами [5]. Всі три амілази розщеплюють 1,4-глюкозидні зв'язки, але специфічність у всіх різна [6].

α -амілаза гідролізує α -1,4-зв'язки всередині молекули амілози і амілопектину. Механізм дії ферменту багатоланцюговий, невпорядкований, в результаті утворюються продукти неповного гідролізу крохмалю – α -декстрини, тому α -амілазу називають декстринууючим ферментом. При тривалій дії α -амілази на амілозу фермент майже повністю перетворює її в мальтозу і невелику кількість глюкози. Дія α -амілази на амілопектин призводить до утворення мальтози і низькомолекулярних декстринів з 5-8 глюкозними залишками. Дія α -амілази сповільнюється і зупиняється, коли гідроліз доходить до місць розгалуження макромолекул амілопектину, через 1,6-глюкозидні зв'язки, які фермент не може розщепити [7].

β -амілаза гідролізує α -1,4-зв'язки з нередукуючих кінців молекул амілози і амілопектину з утворенням мальтози. Мальтоза виділяється в β -формі, так що в точці гідролізу має місце оптична інверсія. β -амілаза не розщеплює α -1,6-глюкозидні зв'язки. При спільній дії α - і β -амілаз на крохмаль 95%

перетворюється в мальтозу і 5 % – в низькомолекулярні граничні декстрини, що містять α -1,6-глюкозидні зв'язки [7].

По-іншому розщеплює крохмаль γ -амілаза або глюкоамілаза. Вона діє з нередукованого кінця, але відділяє тільки частинки глюкози, розриваючи таким чином послідовно 1,4-зв'язки ланцюгів крохмалю [6].

Основними факторами, що впливають на швидкість ферментативних реакцій, є: температура, рН, концентрація речовин в субстраті і ферментів. β -амілаза ячмінного та пшеничного солодів має низьку термостійкість, при нагріванні до 70 °С вона руйнується; теплова інактивація даного ферменту при 70 °С, майже повністю завершується за кілька хвилин. α -амілаза ячмінного солоду має більш високу термостійкість і руйнується при температурі близько 80 °С. Кожен фермент має оптимальне рН, при якому він найбільш активний, але дрібнопри більш високих або більш низьких значеннях рН активність ферменту знижується. Швидкість ферментативної реакції зі збільшенням концентрації ферменту збільшується, але до певної межі. До утворення 75–80 % теоретичної кількості мальтози реакція оцукрювання протікає швидко, а потім різко сповільнюється. Зі збільшенням концентрації екстрактивних речовин в субстраті ферментативний гідроліз крохмалю сповільнюється. Це пояснюється тим, що зі збільшенням концентрації речовин збільшується в'язкість затору, внаслідок чого ускладнюється процес дифузії між субстратом і ферментом [7].

Відомі способи отримання суслу із зернопродуктів з використанням енергій електромагнітного випромінювання, що діє на швидкість ферментативних реакцій [8]. Перевагами дії електромагнітних хвиль на водні середовища є їх екологічна чистота та простота використання, а основне – можливість безконтактно діяти на перебіг хімічних, біохімічних і ферментативних процесів. Проте дія може бути як стимулююча, так і інгібуюча. Отже, залежно від дози або самого впливового фізичного фактора процеси в біологічних середовищах можна пригнічувати або стимулювати [9].

Розроблення ефективних способів збільшення активності амілолітичних ферментів під час гідролізу полі- та олігосахаридів у водних середовищах є

перспективним завданням у напрямку інтенсифікації технологічних процесів [10]. Тому метою роботи було дослідити вплив фізичних факторів на активність амілолітичних ферментів солоду зернових культур.

Матеріали та методи досліджень. Процес затирання полягає в тому, що температуру затору піднімають до оптимальних температур для дії тих чи інших ферментів, потім витримують паузу [11].

Першим етапом процесу затирання є змішування подрібненого солоду з водою, підігрітою до температури 40 °С. При цьому відбувається розчинення екстрактивних речовин солоду, які здатні переходити у розчин без участі ферментів. Гідромодуль також впливає на екстрактивність речовин та дію ферментів, тому використовували гідромодуль 1:4.

Використовували настійний спосіб затирання. Спочатку проводили затирання при температурі 45 °С для розрідження затору під впливом цитолітичних та інших ферментів при постійному перемішуванні на водяній бані протягом 30 хвилин. Потім температуру затору підвищили до 52 °С та витримували 30 хвилин. Температура 50–52 °С – білкова пауза, оптимальна для дії пептидаз [12]. β -амілаза оптимально діє при 60–65 °С [13]. Зразки витримували на водяній бані при 63 °С протягом 40 хвилин. 70–75 °С – температура оцукрювання, яка підтримується дією α -амілази.

Для визначення впливу температури на амілолітичні ферменти шеничного солоду, досліджувані затори для оцукрювання витримували на водяній бані протягом 30 хвилин при температурах від 70 °С до 76 °С і за йодною пробою визначали оцукрюючу активність.

Для визначення впливу активної кислотності від 6,1 до 6,8 на активність амілолітичних ферментів пшеничного солоду досліджувані затори витримували на водяній бані протягом 30 хвилин при температурі 74 °С і за йодною пробою визначали оцукрюючу активність.

Для визначення впливу низькочастотних та крайнє високочастотних хвиль в якості об'єкту дослідження використовували затор після білкової паузи. Зразки піддавалися дії електромагнітних випромінювань за допомогою антен

випромінювання НЧ та КВЧ. Обробку заторів проводили при 5, 10, 15, 25, 30 хвилин. Контрольний зразок не опромінювався. Після обробки температуру затору підвищили до 63 °С і при постійному перемішуванні витримували 30 хвилин. Для повного оцукрювання затору, його нагріли до 72 °С. Закінчення оцукрювання фіксували за реакцією з йодом, відібравши 5 проб протягом 30 хвилин.

Під час гідролізу крохмалю під дією амілаз визначено оцукрюючу активність. Використовували йодометричний метод визначення. Оцукрюючу активність визначали в умовах гідролізу розчинного крохмалю в межах 25 % глікозидних зв'язків, що відповідає гідролізу приблизно 50 % крохмалю до мальтози чи суміші мальтози з глюкозою. За одиницю оцукрюючої активності приймають таку кількість ферменту, яка у визначених умовах за 1 хв при 30 °С каталізує розщеплення до відновлюючих цукрів 1 мікроеквівалент глікозидних зв'язків [14].

Результати та їх обговорення. Оцукрюючу активність пшеничного солоду визначали при різних температурних режимах від 70 °С до 76 °С. Необхідно відзначити, що при 76 °С спостерігали повне оцукрювання крохмалю після 20 хвилин витримання, а при 70 °С оцукрювання крохмалю при такому режимі часу відбувалося тільки на 50 %. При температурі 74 °С максимальна оцукрююча активність спостерігається після 25 хвилин, а при температурі 70 °С повне оцукрювання крохмалю спостерігали тільки після 40 хвилин витримання (рис. 1).

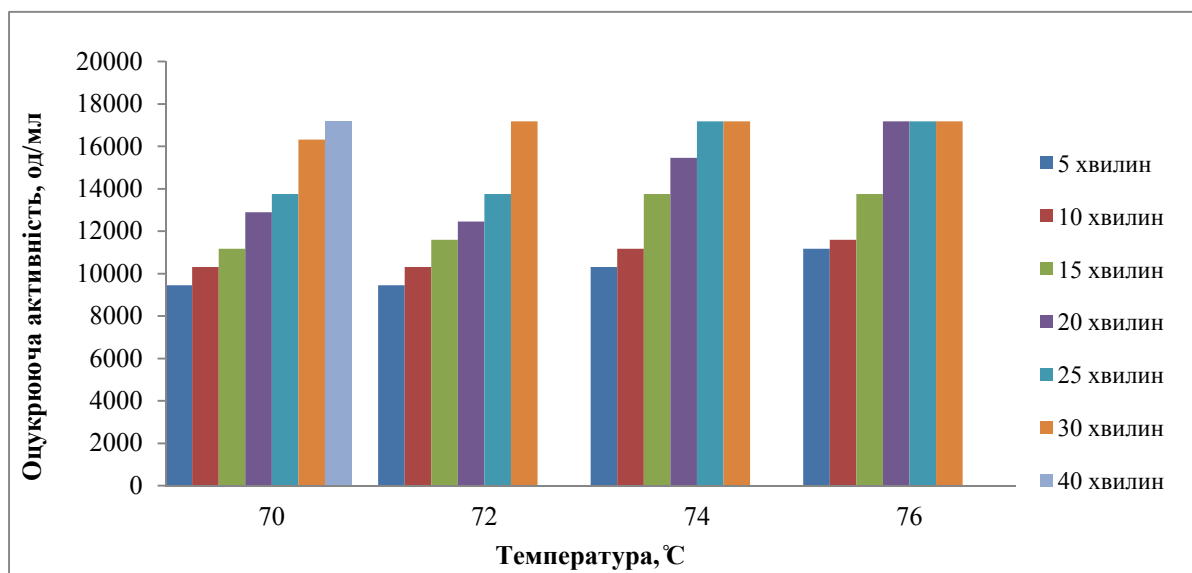


Рис. 1. Динаміка залежності оцукрюючої активності пшеничного солоду від температури

Оцукрювання пшеничного солоду проводили при температурі 74 °C і активної кислотності від 6,1 до 6,8. При рівні рН 6,1 максимальна оцукрююча активність амілолітичних ферментів пшеничного солоду спостерігається після 25 хвилин витримування, а при рН 6,8 максимальна оцукрююча активність спостерігається після 15 хвилин витримування (рис. 2).

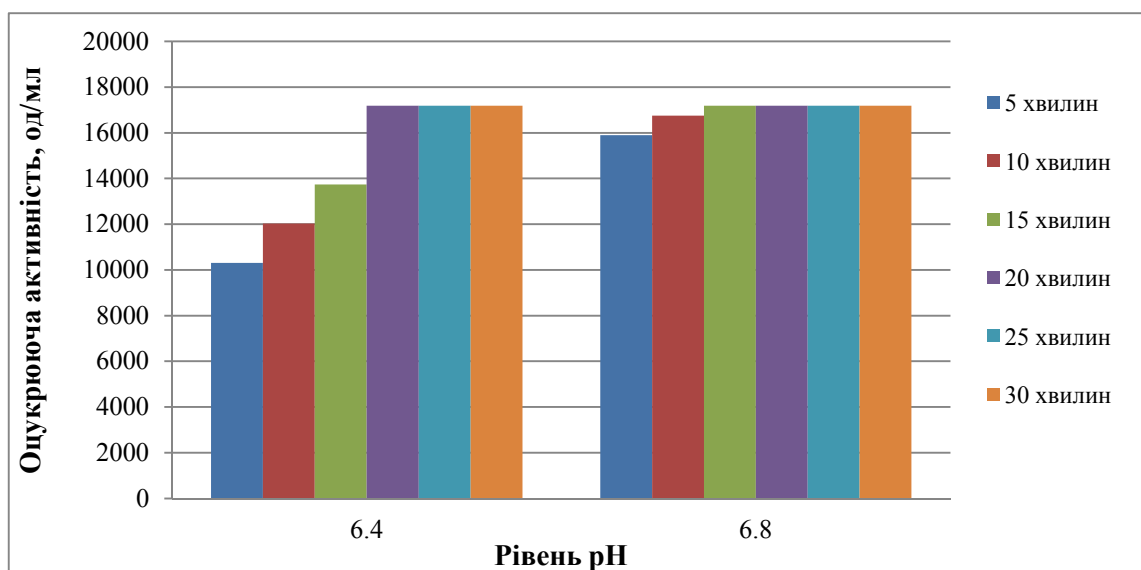


Рис. 2. Залежність оцукрюючої активності пшеничного солоду від рівня рН

Під дією НЧ-випромінювання відбувається підвищення амілолітичної активності амілаз ячмінного солоду (рис. 3). Випромінювання впливає на співвідношення активності α - і β -амілаз. Максимальна амілолітична активність спостерігається при опроміненні 15 хвилин. Більш тривала обробка кілометровими хвилями протягом 25-30 хвилин) знижує оцукрюючу активність амілаз. При опроміненні амілолітичних ферментів ячмінного солоду низькочастотними хвилями, амілолітична активність збільшується у 2 рази у порівнянні з контролем.

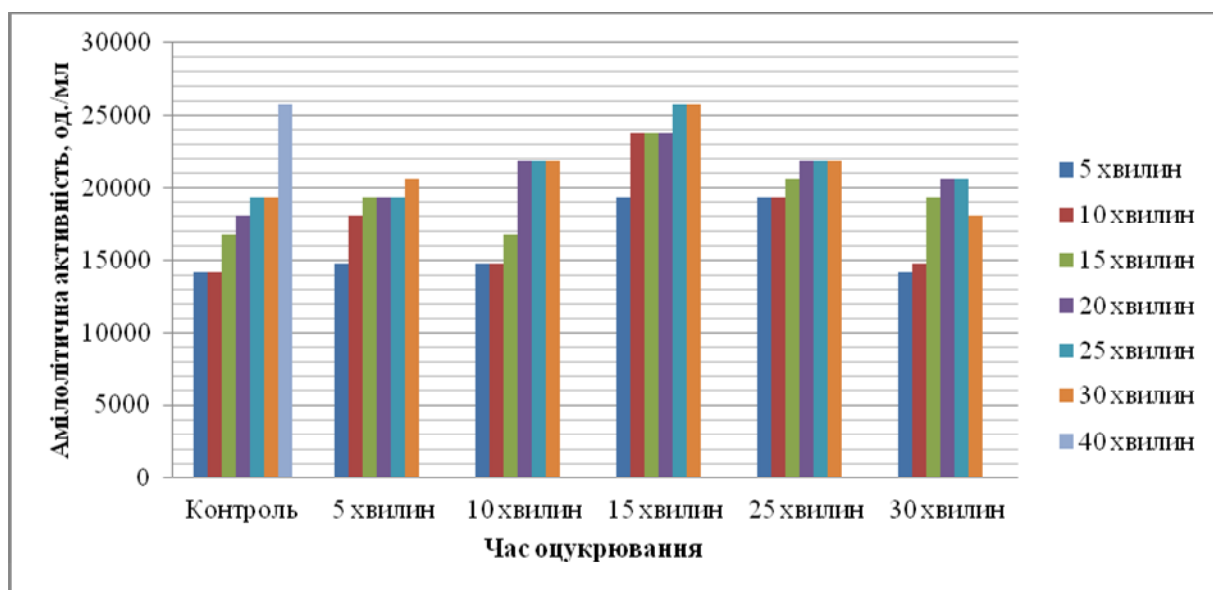


Рис. 3. Динаміка амілолітичної активності ферментів ячмінного солоду під впливом НЧ-випромінювання

Під дією КВЧ-випромінювання максимальна амілолітична активність спостерігається вже при 5 хвилин опромінення. Продовження обробки крайнє високочастотними хвилями сприяє зниженню оцукрюючої активності амілаз ячмінного солоду опромінення (рис. 4).

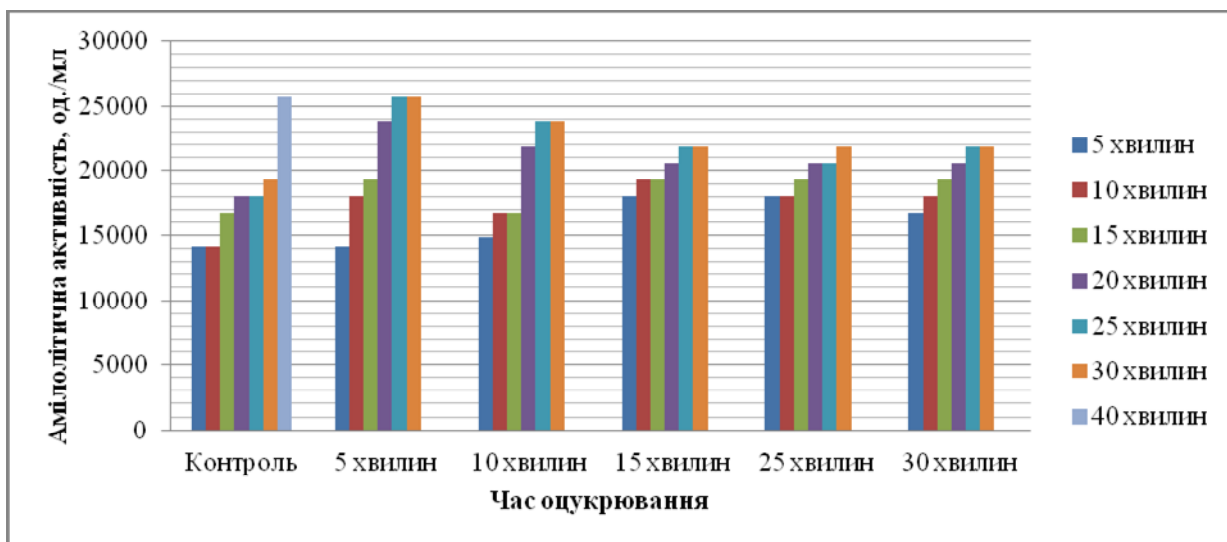


Рис. 4. Динаміка амілолітичної активності ферментів ячмінного солоду під впливом КВЧ-випромінювання

Максимальна оцукрююча активність амілолітичних ферментів ячмінного солоду спостерігається при 15 хвилин впливу НЧ-випромінювання, та при 5 хвилин впливу КВЧ-випромінювання.

ВИСНОВКИ

1. Підвищення температури впливає на активність амілолітичних ферментів пшеничного солоду, оптимальною температурою виявилася 76 °С, при якій активність амілолітичних ферментів збільшилася на 50 % у порівнянні з 70 °С.
2. Відомо, що активна кислотність впливає на активність амілолітичних ферментів, оптимальним рівнем рН виявився 6,8, при якій активність амілолітичних ферментів збільшується на 40 %.
3. Проведено опромінення амілолітичних ферментів ячмінного солоду низькочастотними (НЧ) хвилями, час експозиції складав від 5 до 30 хвилин. Визначено, що максимальна амілолітична активність ячмінного солоду спостерігається при опроміненні 15 хвилин і збільшується у 2 рази в порівнянні з неопроміненим зразком.

4. Проведено опромінення амілолітичних ферментів ячмінного солоду крайнє високочастотними (КВЧ) хвилями, час експозиції складав від 5 до 30 хвилин. Визначено, що максимальна амілолітична активність ячмінного солоду спостерігається при опроміненні 5 хвилин і збільшується у 2 рази в порівнянні з неопроміненим зразком.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Sivaramakrishtan S. Kesavan Madhavan Nampoothiri et al. α Amylases from microbial sources an overview on recent developoments / Sivaramakrishtan S., Gangadharan D. // Food Technol. Biothechnol. – 2006. – V. 44, N 2. – P. 173–184.
2. Мальцев П.М. Технология бродильных производств. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 560 с.
3. Попова Н.В. Современные подходы к возможности интенсификации процесса затирания пивного сусла. Патентный анализ / Н.В. Попова, И.Ю. Потороко // Вестник ЮУрГУ. Серия "Пищевые и биотехнологии". – 2018. – № 5 – С. 12.
4. Домарецький В.А. Технологія екстрактів, концентратів і напоїв із рослинної сировини / Домарецький В.А., Прибильський В.Л., Михайлов М.Г. / За редакцією В.А. Домарецького. – Вінниця: Нова Книга, 2005. – 408 с.
5. Фараджева, Е.Д. Общая технология бродильных производств / Е.Д. Фараджева, В.А. Федоров. – М.: Колос, 2002. – 408 с.
6. Цыперович А.С. Ферменты (основы химии и технологии) / А.С. Цыперович. – К.: Техника, 1971. – 358 с.
7. Технология бродильных производств: учебное пособие / О.А. Котик, Н.В. Королькова, А.А. Колобаева, Е.В. Панина. – Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, 2017. – 139 с.
8. Мельников, П.И. Электромагнитное облучение солода в процессе получения пивного сусла: дис.. канд. техн. наук: 05.18.12 / П.И. Мельников. – М., 2000. – 175 с.

9. Управління біологічними середовищами / З.М. Романова, В.С. Зубченко, М.В. Карпутіна, М.С. Романов. // Наукові праці НУХТ. – 2013. – № 16 – С. 48–54.

10. Активність амілолітичних ензимів / Паньків Н.О., Паляниця Л.Я., Березовська Н.І., Косів Р.Б. // Вісник Львівської комерційної академії. – 2014. – № 4 – С. 56–59.

11. Жеплінська М. М. Порівняльний аналіз способів затирання для приготування пивного сусла / М. М. Жеплінська, Ю. Г. Сухенко, І. Р. Лазарів. // Наукові праці SWorld. – 2016. – № 12 – С. 74–76.

12. Ермолаева Г.А. Технология и оборудование производства пива и безалкогольных напитков: Учеб. для нач. проф. образования / Г.А. Ермолаева, Р.А. Колчева. – М.: ИПРО, Изд. центр «Академия», 2000. – 416 с.

13. Нарцисс Людвиг Краткий курс пивоварения / Л. Нарцисс; при участии В. Бака; пер. с нем. А. А. Куреленкова. – СПб.: Профессия, 2007. — 640 с.

14. Мальцев П.М. Технология солода и пива: Учебник для вузов пищ. промышленности. – М.: Пищевая пром-сть, 1964. – 858 с.

EFFECT OF PHYSICAL FACTORS ON ACTIVITY AMILLOLITICAL ENZYMES OF SALADS OF GRAIN CULTURE

**L.O. KOSHOLOVA¹, P.P. LOSHITSKY², S.V. TURBOVSKA¹,
N.V. SAMCHUK¹**

¹National Aviation University, Kyiv

²National Technical University of Ukraine "Kyiv Polytechnic Institute named after Igor Sikorsky"

The article defines the influence of temperature and active acidity at a temperature of 74 °C on the amylolytic activity of wheat malt enzymes. The optimal saccharification temperature is 76 °C, and the pH is 6,8. The influence of electromagnetic radiation of the radio frequency range: kilometers (low frequency

(LF)) and millimeter (extreme high-frequency (EHF)) waves on the activity of amylolytic enzymes of barley malt has been established. It is proposed to use extreme high-frequency irradiation to increase the amylolytic activity of barley malt enzymes, the exposure time is 5 minutes.

Key words: wheat malt, barley malt, amylolytic enzymes, temperature, active acidity, low-frequency waves, extreme high-frequency waves.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ АМИЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СОЛОДА ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР

**Л.А. КОСОГОЛОВА¹, П.П. ЛОШИЦКИЙ², С.В. ТУРБОВСКАЯ¹,
Н.В. САМЧУК¹**

¹Национальный авиационный университет, г. Киев

²Национальный технический университет Украины «Киевский
политехнический институт имени Игоря Сикорского»

Установлено влияние температуры и активной кислотности при температуре 74 °С на амилолитическую активность ферментов пшеничного солода. Оптимальная температура осахаривания составляет 76 °С, а уровень рН – 6,8. Установлено влияние электромагнитного излучения радиочастотного диапазона: километровых (низкочастотных (НЧ)) и миллиметровых (крайне высокочастотных (КВЧ)) волн на активность амилолитических ферментов ячменного солода. Предложено для увеличения амилолитической активности ферментов ячменного солода использовать крайнее высокочастотное облучение, время экспозиции – 5 минут.

Ключевые слова: пшеничный солод, ячменный солод, амилолитические ферменты, температура, активная кислотность, низкочастотные волны, крайнее высокочастотные волны.