

С. Р. Мельник, Д. С. Макаренко, Ю. Р. Мельник
Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології органічних продуктів
stepan.r.melnyk@lpnu.ua

РОЗРІДЖЕННЯ ЖИТНЬОГО ЗАМІСУ З ВИКОРИСТАННЯМ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ SHEARZYME 500L

<https://doi.org/10.23939/ctas2024.01.171>

Наведено результати дослідження закономірностей розрідження житнього замісу з використанням ферментного препарату Shearzyme 500L. Встановлено, що незалежно від ступеня подрібнення жита на стадії термоферментативної обробки замісу з використанням ФП Amylex 4T у присутності ФП Shearzyme 500L у розрідженій масі зменшується вміст високомолекулярних декстринів та цукрів і збільшується вміст низькомолекулярних декстринів. Під дією ФП Shearzyme 500L також зростає загальний вміст розчинених сухих речовин у розрідженій масі та зменшується її кінематична в'язкість.

Ключові слова: жито; розрідження; ферментний препарат; ксиланаза; Shearzyme 500L; спирт.

Вступ

Сучасні харчові технології сьогодні важко уявити без застосування ферментів і ферментних препаратів (ФП) [1]. Зокрема використання ФП Celluclast 1.5L і Shearzyme 500L для попередньої обробки (руйнування) клітин мікроводоростей *P. palmata* забезпечує одержання 8,39 г розчинного в лугах білка на 100 г сухої маси водоростей [2]. Автори також відзначають незначну протеолітичну активність ФП Shearzyme 500L у слабкокислому і нейтральному середовищі (рН 5 і 7). Застосування ксиланази Shearzyme 500L для гідролізу багасового ксилану з отриманням ксилоолігосахариду за концентрації субстрату 3 г/100 см³, рН 5,0, температури 60 °С і дозування ФП 50 од./г за 24 год забезпечує ступінь гідролізу ксилану приблизно 63,1 %, а вміст ксилоолігосахариду в гідролізатах – до 81,5 %, зокрема 54,8 % ксилобіози та 26,7 % ксилотріози [3]. Вказують, що за допомогою ФП Shearzyme 500L ксилотріозу можна гідролізувати до ксилобіози та ксилози, але ксилобіозу неможливо гідролізувати до ксилози. Автори допускають, що побічний продукт гідролізу – ксилоза може пригнічувати активність ксиланази Shearzyme 500L і знижувати швидкість гідролізу ксилану жому. Використання препарату ксиланази Shearzyme 500L разом із Spezyme GA

300W, що містить як глюкоамілазу, так і лізофосфоліпазу, забезпечує найкращі фізико-хімічні властивості гідролізатів пшеничного крохмалю, тобто їх колір, прозорість, швидкість фільтрації та найвищий ступінь оцукрювання [4].

У технологіях бродильних виробництв поряд із амілолітичними ферментами, які гідролізують зброджувані вуглеводи, доволі широко застосовують також препарати ксиланази і целюлази, що діють на некрохмальні полісахариди рослинної сировини.

Дослідження впливу протеолізу та цитолізу на гідроліз крохмалю під час затирання у виробництві пива із застосуванням поряд із ФП Shearzyme 500L деяких цитолітичних ферментів (β -глюканази ячменю від Megazyme і Ultraflo Max від Novozymes) та протеолітичного ФП Neutrase 0,8L (Novozymes) показало їх дію на рівні ферментів, що розкладають крохмаль [5]. Вплив вказаних ферментних препаратів виявляється в досягненні вищого вмісту цукру в суслі порівняно з контролем. Це свідчить про те, що білки і некрохмалисті полісахариди обмежують засвоюваність крохмалю під час затирання. Необхідно зазначити, що всі досліджені ФП не виявляють явної активності ензимів, які розкладають крохмаль.

У виробництві спирту все більше застосовують комплексні ферментні препарати, які гідролізують не лише крохмаль і його похідні, але й інші некрохмалисті компоненти рослинної сировини. Зокрема додавання до амілолітичних ферментів ФП Cellusine D4-L та Fungasine L покращує реологічні властивості суслу з пшениці, підвищує ступінь використання крохмалю та вихід спирту з тонни умовного крохмалю [6]. У роботі [7] показано, що застосування суміші ФП Promalt, Bioglucanase ME1250L, Hitempase 2XL, Promalt 4TR і Termamyl 120L дає змогу перетворювати на біоетанол зіпсовані зерна сорго. Використання ФП ксиланази Filtrase BRX сумісно з препаратом бактеріальної α -амілази Amylex 4T істотно зменшує кінематичну в'язкість розрідженої маси із ячменю, вівса і пшениці за співвідношення зерно : вода – 1 : (3–10) і меншою мірою впливає на зміну вмісту сухих речовин. Встановлено, що застосування ФП Filtrase BRX дає змогу зменшити витрату електроенергії в одному апараті термоферментативної обробки під час розрідження замісу з вівса на 29,8 %, а замісу з ячменю – на 12,1 % [8]. Термоферментативна обробка замісу з жита ендо-1,4- β -ксиланазою (Shearzyme 500L) та целюлазою (Cellustar) у поєднанні з β -глюкозидазою (Novozyme) зумовлює зниження в'язкості розрідженої маси на 97–99 % порівняно з контрольними зразками заторів [9]. Сусло, оброблене ФП Shearzyme 500L, містить більше редкувальних цукрів і характеризується порівняно високим ступенем гідролізу крохмалю. Також покращується динаміка бродіння та зростає вихід спирту. ФП Shearzyme 500L не впливає істотно на концентрацію побічних продуктів у спирті-сирці.

Незважаючи на досягнуті результати досліджень, сьогодення спонукає до пошуків оптимальних шляхів удосконалення технології виробництва спиртового суслу з метою підвищення продуктивності та ефективності технології. Відомості, отримані під час досліджень та практичного використання ФП Shearzyme 500L, наочно підтверджують його значний потенціал щодо удосконалення технологічних процесів виробництва спирту. Очевидно, що вплив Shearzyme 500L на біохімічний процес перетворення некрохмалистих полісахаридів зернової сировини виявляється в підвищенні ефективності водно-теплової обробки замісу з культур, схильних до утворення розрі-

дженої маси із високою в'язкістю. Водночас відомостей про застосування ФП Shearzyme 500L для вдосконалення технологічних процесів виробництва спирту із зернової сировини, схильної утворювати розріджену масу з високою в'язкістю (жита, зокрема), недостатньо.

Тому метою дослідження було встановити закономірності впливу ферментного препарату ксиланази Shearzyme 500L на розрідження житнього замісу під дією ферментного препарату бактеріальної α -амілази Amylex 4T.

Матеріали та методи досліджень

У дослідженнях використовували:

- жито вологістю (10,1 \pm 0,1) % і крохмалистістю (54,9 \pm 0,6) %;
- ферментний препарат Amylex 4T (Danisco); термостабільна бактеріальна α -амілаза, продукована *Bacillus licheniformis*; ФП, за даними виробника, швидко знижує в'язкість субстратів із високим вмістом сухих речовин і придатний для розрідження желатинізованого крохмалю за високої температури; рекомендоване дозування – 0,01–0,05 кг/т зерна у виробництві спирту [10]. α -Амілази (3.2.1.1) – це ферменти, які каталізують гідроліз внутрішніх α -1,4-глікозидних зв'язків у крохмалі [12]. У виробництві спирту їх застосовують для розрідження зернових замісів;
- ферментний препарат Shearzyme 500L (Novozyme); ендо-1,4- β -ксиланаза, продукована *Aspergillus oryzae* [11]; ФП, за даними виробника, забезпечує швидке зниження в'язкості субстрату, підвищення чистоти крохмалю завдяки повнішому його екстрагуванню з пшениці та ефективному видаленню пентозанів і білків; рекомендоване дозування – 0,02–0,05 кг/т крохмалю. Ендо- β -1,4-ксиланази (3.2.1.8) належать до глікозилгідролаз і гідролізують ксилановий каркас до олігомерів різних розмірів, які називають ксилолігосахаридами – розчинних вуглеводів, ступінь полімеризації яких зазвичай становить від 2 до 10. Їх склад залежить від джерела ендоксиланази, використовуваних допоміжних ферментів і походження ксилану [13];
- воду водопровідну згідно із ДСТУ 7525:2014 Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості.

Для дослідження впливу ФП Shearzyme 500L на закономірності розрідження житнього

замісу ферментним препаратом Amylex 4T зерно розмелювали і просіювали крізь сито з діаметром отворів 0,8 мм. Окремо збирали фракцію, розміри частинок якої менші за вказаний вище діаметр (тонкий помел), і фракцію з розміром частинок 0,8–1,5 мм (грубий помел). В обох фракціях визначали крохмалистість і вологість, які практично не відрізнялися і становили для тонкого і грубого помелу 54,3 і 55,5 % та 10,0 і 10,2 %, відповідно. Із ФП Amylex 4T та Shearzyme 500L готували робочі розчини доведенням 1 см³ кожного препарату в мірних колбах до об'єму 100 см³. Конічні термостійкі широкогорлі колби об'ємом 250 см³ зважували, відтак вносили необхідну кількість водопровідної води з температурою 58–60 °С, знову зважували, оснащували механічною мішалкою,

вносили, інтенсивно перемішуючи, необхідну кількість розмеленого зерна (грубого або тонкого помелу), перемішували, додавали 1 см³ робочого розчину ФП Amylex 4T і 0,5 см³ робочого розчину ФП Shearzyme 500L (в контрольні колби). Кожну колбу з'єднували зі зворотним холодильником та витримували на водяній бані за перемішування і температури 58–60 °С протягом 30 хв. Відтак температуру середовища підвищували до 88–90 °С і витримували масу впродовж 1,5 год. Надалі розріджену масу швидко охолоджували до 58–60 °С, додавали в контрольні колби ще по 0,3 см³ ФП Shearzyme 500L і ще 30 хв витримували за цієї температури колби з розрідженою масою.

Вихідні дані процесу одержання розрідженої маси наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Вихідні дані для одержання розрідженої маси з житнього замісу із використанням ФП Amylex 4T

Показник	Варіант досліджень			
	грубий помел		тонкий помел	
	1	2	1	2
Маса води, г	49,27	49,26	58,94	59,15
Маса зерна, г	9,99	9,95	9,90	10,00
ФП Amylex T4, см ³	1,0	1,0	1,0	1,0
ФП Shearzyme 500L, см ³	0,5(+0,3)	0	0,5(+0,3)	0
Маса замісу і ФП, г	61,06	59,52	70,64	70,15
Вміст сухих речовин у замісі, %	14,8	14,8	14,0	14,3
Вміст зброджуваних речовин, %	9,1	9,1	8,5	8,6

Примітка. 1 – з додаванням ФП Shearzyme 500L; 2 – без ФП Shearzyme 500L.

Після завершення часу обробки розріджену масу фільтрували крізь марлю, складену в шість – вісім разів. У фільтраті визначали вміст сухих речовин, високомолекулярних і низькомолекулярних спирторозчинних декстринів та цукрів.

Густина фільтрату визначали портативним електронним густиноміром Mettler Toledo 30330857 Densito з U-подібними осцилювальними трубками. Її перераховували на відносну густину розчину, за якою встановлювали вміст розчинних сухих речовин у фільтраті. Фільтрат об'ємом 5 см³ вносили в мірну колбу на 50 см³, доводили до мітки 96 % ректифікованим етиловим спиртом і відділяли утворений осад фільтруванням. У фільтраті методом Вільштеттера – Шудля визначали вміст розчинених у спирті цукрів у перерахунку на глюкозу. Осад на фільтрі висушували, зважували і розраховували вміст високомоле-

кулярних, нерозчинних в етиловому спирті, декстринів. Вміст низькомолекулярних спирторозчинних декстринів розраховували за різницею між вмістом розчинених сухих речовин і загальним вмістом високомолекулярних декстринів і цукрів.

Кінематичну в'язкість фільтрату розрідженої маси розраховували за часом його витікання через капіляр діаметром 0,98 мм віскозиметра ВПЖ-2.

Вологість жита встановлювали основним (стандартним), а його крохмалистість – поляриметричним методом.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати дослідження впливу ФП Shearzyme 500L на показники процесу одержання розрідженої маси із житнього замісу із використан-

ням зерна різного помелу за наявності ФП Amylex 4T наведено в табл. 2 і для наочності на рис. 1 і 2.

Очевидно, що використання ферментного препарату ксиланази позначається на закономірностях і показниках розрідження замісу з жита

як грубого, так і тонкого помелу. Насамперед, треба зазначити, що під дією ксиланази в розрідженій масі збільшується вміст розчинених речовин, який перевищує вміст зброджуваних речовин.

Таблиця 2

Показники розрідженої маси з житнього замісу (ФП бактеріальної α -амілази Amylex 4T)

Показник	Варіант досліджень			
	грубий помел		тонкий помел	
	1	2	1	2
Вміст зброджуваних речовин, %	9,1	9,1	8,5	8,6
Вміст розчинених сухих речовин, %	12,6	11,8	10,7	10,5
Відносна густина фільтрату	1,051	1,047	1,045	1,044
Вміст цукрів у розрідженій масі, %	7,0	7,0	6,0	6,9
Частка цукрів від розчинних СР, %	55,8	59,3	55,8	65,5
Вміст спирторозчинних декстринів у розрідженій масі, %	2,2	1,2	2,4	0,8
Частка спирторозчинних декстринів від розчинних СР, %	17,6	10,3	22,7	7,6
Вміст високомолекулярних декстринів у розрідженій масі, %	3,5	3,8	2,4	3,0
Частка високомолекулярних декстринів від розчинних СР, %	28,0	32,1	22,7	28,3
Кінематична в'язкість, мм ² /с	4,6	4,7	2,7	6,8

Примітка. 1 – з додаванням ФП Shearzyme 500L; 2 – без ФП Shearzyme 500L.

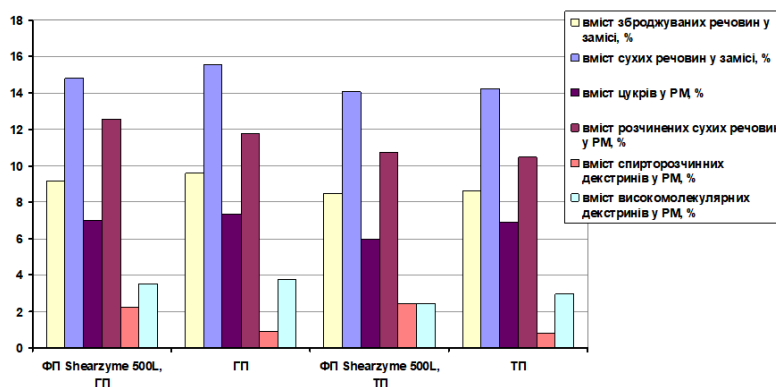


Рис. 1. Залежність вмісту компонентів розрідженої маси від умов розрідження: ГП – грубий помел, ТП – тонкий помел

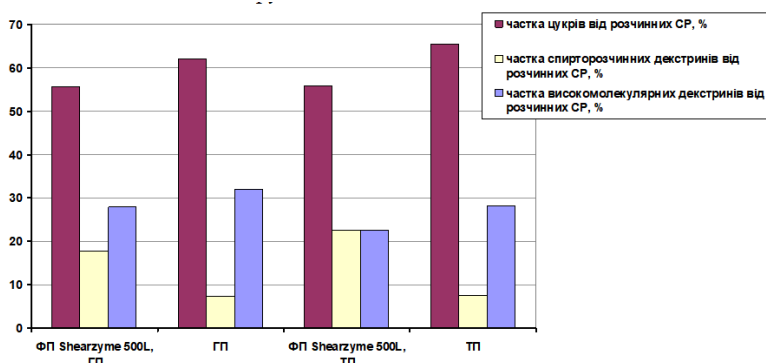


Рис. 2. Залежність частки розчинених компонентів розрідженої маси від умов розрідження: ГП – грубий помел, ТП – тонкий помел

Після перероблення замісу із грубого помелу з додаванням ФП Shearzyme 500L в розрідженій масі вміст розчинених сухих речовин збільшується з 11,8 до 12,6 %. Відповідно, дещо вищою є й відносна густина фільтрату. Водночас вміст декстринів, нерозчинних в етиловому ректифікованому спирті, в розрідженій масі у разі застосування ФП Shearzyme 500L є меншим і становить 3,5 % від її кількості або 28,0 % від загального вмісту сухих розчинених речовин. Відповідні показники без застосування під час розрідження замісу з грубого помелу ферментного препарату ксиланази становлять 3,8 і 32,1 %. ФП Shearzyme 500L практично не впливає на вміст цукрів (~7,0 %) у розрідженій масі з жита грубого помелу, хоча частка їх від вмісту розчинених сухих речовин у розрідженій масі дещо менша і становить 55,8 %, проти 59,3 % без використання ФП ксиланази. Водночас під дією ФП Shearzyme 500L у розрідженій масі збільшується вміст спирторозчинних низькомолекулярних декстринів з 1,2 до 2,2 %, що становить 10,3 і 17,6 % від вмісту розчинених сухих речовин, відповідно.

Кінематична в'язкість розрідженої маси у разі використання ФП Shearzyme 500L змінюється незначно і становить 4,6 проти 4,7 мм²/с без його застосування.

На вміст розчинених сухих речовин у розрідженій масі та її густину після розрідження замісу з тонкого помелу додавання ФП Shearzyme 500L практично не впливає. Вміст розчинених сухих речовин становить 10,7 %, тоді як за відсутності препарату ксиланази він досягає 10,5 %. Вміст високомолекулярних декстринів, нерозчинних в етиловому ректифікованому спирті, в розрідженій масі, одержаній із замісу з тонкого помелу зерна, у разі застосування ФП Shearzyme 500L, як і під час перероблення замісу із жита грубого помелу, є меншим і становить у розрідженій масі 2,4 % від її кількості або 22,7 % від загального вмісту розчинених сухих речовин. Відповідні показники без застосування під час розрідження замісу з грубого помелу ферментного препарату ксиланази становлять 3,5 і 28,0 %, відповідно. Без додавання ферментного препарату ксиланази ці показники для розрідженої маси тонкого помелу жита досягли 3,0 і 28,3 %, відповідно. Як і у разі перероблення замісу з грубого помелу, у випадку застосування ферментного препарату Shearzyme 500L спостерігаються ана-

логічні зміни вмісту цукрів і вмісту низькомолекулярних спирторозчинних декстринів. Зокрема в розрідженій масі під дією ксиланази зменшується вміст цукрів з 6,9 до 6,0 %, що становить відповідно 65,5 і 55,8 % від вмісту розчинених сухих речовин, та збільшується вміст низькомолекулярних спирторозчинних декстринів з 0,8 до 2,4 %, що відповідає 7,6 та 22,7 % від вмісту розчинених сухих речовин у розрідженій масі.

Необхідно зазначити, що під час досліджень масове співвідношення між помелом жита грубого і тонкого помелу і водою відрізнялося і становило 1 : 5 і 1 : 6, відповідно, що й зумовило менший вміст розчинених сухих речовин і нерозчинних у спирті декстринів у розрідженій масі. Відповідно, це треба враховувати, оцінюючи кінематичну в'язкість розрідженої маси. Хоча треба зазначити, що застосування ФП Shearzyme 500L найбільше впливає саме на кінематичну в'язкість розрідженої маси із жита тонкого помелу. Зокрема, у разі використання ФП Shearzyme 500L вона зменшується до 2,7 мм²/с, а за його відсутності значення кінематичної в'язкості розрідженої маси, одержаної із замісу тонкого помелу, є в 2,5 рази вищим і становить 6,8 мм²/с, що свідчить про гідроліз ксиланазою речовин жита, які зумовлюють високу в'язкість середовища.

Отже, результати досліджень вказують на те, що незалежно від ступеня подрібнення у разі застосування ФП Shearzyme 500L на стадії термоферментативної обробки житнього замісу ФП бактеріальної α -амілази Amylex 4T у розрідженій масі зменшується вміст високомолекулярних декстринів та цукрів і зростає вміст низькомолекулярних декстринів. Вплив ФП Shearzyme 500L також виявляється в деякому збільшенні загального вмісту розчинених сухих речовин, насамперед під час термоферментативної обробки замісу грубого помелу, та зменшенні кінематичної в'язкості розрідженої маси, насамперед одержаної із замісу тонкого помелу. Зменшення в'язкості розрідженої маси з жита завдяки застосуванню ферментного препарату Shearzyme 500L є підставою для істотного зменшення витрат на її перемішування.

Висновки

Досліджено вплив ФП Shearzyme 500L на закономірності одержання розрідженої маси із замісу з жита грубого і тонкого помелу з використанням ФП Amylex 4T. Встановлено, що засто-

сування ФП Shearzyme 500L і ступінь розмелення зерна впливають на показники розрідженої маси із жита. Показано, що у разі застосування ФП Shearzyme 500L у розрідженій масі, одержаній із замісу грубого помелу, вміст розчинених сухих речовин збільшується з 11,8 до 12,6 %, а із замісу тонкого помелу з 10,5 до 10,7 %. Встановлено, що вміст цукрів і декстринів, нерозчинних у спирті етиловому ректифікованому, під дією ФП Shearzyme 500L зменшується, водночас істотно зростає вміст низькомолекулярних спирторозчинних декстринів. Під дією ФП Shearzyme 500L зменшується й кінематична в'язкість розрідженої маси, насамперед із замісу тонкого помелу. Дослідження підтверджують ефективність додаткового застосування ФП Shearzyme 500L для розрідження замісів із жита тонкого помелу.

References

1. Vikhrovab A. O., Yuz'kiv, S. L., Buchkevych, I. R., Kurka, M. S., Ludenets', V. I. (2022). Obhruntuvannya spektra zastosuvannya enzymiv u kharchovykh tekhnolohiyakh. *Khimiya, tekhnolohiya rechovyn ta yikh zastosuvannya*, 5(2), 118–135. <https://doi.org/10.23939/ctas2022.02.118>.
2. Harnedy, P. A., FitzGerald, R. J. (2013). Extraction of protein from the macroalga *Palmaria palmate*. *LWT – Food Sci. Technol.*, 5(1), 375–382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.023>.
3. Shi Guo-liang, Zhou Yu-heng, Zhang Hou-rui, Cai Ai-hua, Chen Hai-shan (2010). Enzymatic Hydrolysis Properties of Bagasse Xylan by Xylanase Shearzyme 500L. *Food Sci.*, 31(24), 102–106. <http://dx.doi.org/10.7506/spkx1002-6630-201024021>.
4. Nebesny, E., Rosicka, J., Tkaczyk, M. (2000) Optimisation of physical and chemical properties of wheat starch hydrolyzates. *Food Biotechnol.*, 9, 201–208.
5. Shumin Hu, Jianjun Dong, Wei Fan, Junhong Yu, Hua Yin, Shuli Huang, Jia Liu, Shuxia Huang, Xiaohua Zhang (2014). The influence of proteolytic and cytolytic enzymes on starch degradation during mashing. *J. Inst. Brew.*, 120(4), 379–384. <http://dx.doi.org/10.1002/jib.172>.
6. Palyanytsya, L. Ya., Hrodzits'ka, O. S., Berezovs'ka, N. I., Kosiv, R. B., Shvab'yuk O. V. (2007). Pererobka pshenytsi do spyrtu z vykorystanniam kompozytsiyi fermentnykh preparativ. *Visnyk Natsional'noho universytetu "L'vivs'ka politekhnika": Khimiya, tekhnolohiya rechovyn ta yikh zastosuvannya*, 590, 169–172.
7. Nasidi, M., Agu, R. C., Deeni, Y., Giginyu, I. B., Waker, G. (2015). Bioconversion of degraded husked sorghum grains to ethanol. *Bioethanol.*, 1(2), 1–11. <https://doi.org/10.1515/bioeth-2015-0001>.
8. Mel'nyk, S. R., Shevchuk, L. I., Mel'nyk, Yu. R., Boychuk, O. L. (2015). Oderzhannya rozridzhenoyi masy z riznykh zlakovykh z vykorystanniam fermentnoho preparatu Filtrase BRX. *Naukovyy visnyk NLTU Ukrainy. Zbirnyk naukovykh tekhnichnykh prats'*, 25.10, 207–212.
9. Balcerek, M., Pielech-Przybylska, K. (2009). Effect of supportive enzymes on chemical composition and viscosity of rye mashes obtained by the pressureless liberation of starch method and efficiency of their fermentation. *Eur. Food Res. Technol.*, 229, 141–151. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-009-1035-y>.
10. AMYLEX® – IFF Bioscience. Retrieved from <https://bioscience.iff.com/solutions/food-and-beverages/brewing-enzymes/products/amylex>.
11. Novozymes® part of Novonesis. Xylanase, liquid Shearzyme®. Retrieved from <https://www.novozymes.com/en/products/grain-starch/wheat-separation/shearzyme>.
12. de Souza, P. M., de Oliveira e Magalhães, P. (2010). Application of microbial α -amylase in industry – a review. *Braz. J. Microbiol.*, 41, 850–861. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400004>.
13. Miguez, N., Fernandez-Polo, D., Santos-Moriano, P., Rodriguez-Colinas, B., Poveda, A., Jimenez-Barbero, J., Ballesteros, A. O., Plou, F. J. (2022). Enzymatic bioconversion of beechwood xylan into the antioxidant 2'-O- α -(4-O-methyl-D-glucuronosyl)-xylobiose. *Biomass Conv. Bioref.* <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03240-3>.

S. R. Melnyk, D. S. Makarenko, Yu. R. Melnyk

Lviv Polytechnic National University,
Department of Organic Products Technology

LIQUEFACTION OF RYE MASH USING SHEARZYME 500L ENZYME PREPARATION

The regularities of rye wort liquefaction using the Shearzyme 500L enzyme preparation have been studied. It was established that regardless of the rye grinding degree at the stage of thermo-fermentative processing using Amylex 4T simultaneously with Shearzyme 500L, the content of high molecular dextrans and sugars in the wort decreases, and the content of low molecular dextrans increases. Shearzyme 500L also increases the content of dissolved substances in the wort and decreases the wort's kinematic viscosity.

Key words: rye; liquefaction; enzyme preparation; xylanase; Shearzyme 500L; ethyl alcohol.