

УДК 664.764:664.162.036.1-044.3

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНВЕРСИИ КОМПЛЕКСОМ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ БИОПОЛИМЕРОВ ПШЕНИЧНЫХ ОТРУБЕЙ*

© *Н.А. Погорелова***, *Н.А. Сарницкая*, *Д.С. Нардин*

*Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина,
Институтская пл., 1, Омск, 644008, Россия, na.pogorelova@omgau.org*

Введение. Важной стороной проведения обработки и предобработки целлюлозного сырья (в том числе отрубей) является получение в конечном продукте высокого содержания редуцирующих веществ. Экспериментально подобранные параметры процесса и оптимизация условий предобработки растительного сырья с целью увеличения количества биологически ценных веществ позволит снизить себестоимость конечного продукта. В данной работе биоконверсию полимеров пшеничных отрубей осуществляли гидролитическими ферментными препаратами (ФП).

Объекты и методы исследования. Оценку степени биотрансформации растительных полимеров проводили на измельченных пшеничных отрубях ФП и их комплексами методами химического анализа и ВЭЖ хроматографии.

Результаты и их обсуждение. Исходное сырье (пшеничные отруби) характеризовалось низким содержанием лигнина (7.55%) и высоким – пентозанов (17.9%). Наибольшее количество редуцирующих веществ гидролизатов определено для ФП АмилоЛюкс АТС – 0.23 г/г сырья и его комплексов АмилоЛюкс АТС и ЦелоЛюкс А – 0.29 г/г сырья. Включение в комплекс энзимов ФП протеолитического действия увеличивает количество аминного азота (39.5 мг/г сырья). Определено большее количество манноз (56.0 мг/г отрубей), но меньшее – пентоз (4.1 мг/г отрубей) гидролизатов ферментативно обработанных пшеничных отрубей в сравнении с химической обработкой серной кислотой.

Выводы. Определены оптимальные параметры ферментативной предварительной обработки пшеничных отрубей для их конверсии в целевые продукты биосинтеза, что является перспективным направлением исследований и практического использования их в производстве манноз, биотоплива, химических веществ и пищевых добавок.

Ключевые слова: пшеничные отруби, ферментативный гидролиз, углеводсодержащее сырье, гидролитические ферменты, биоконверсия, хроматография.

Для цитирования: Погорелова Н.А., Сарницкая Н.А., Нардин Д.С. Эффективность конверсии комплексом гидролитических ферментов биополимеров пшеничных отрубей // Химия растительного сырья. 2024. №2. С. 340–354. DOI: 10.14258/jcprm.20240213107.

Введение

Пшеница – это наиболее генерируемая и ценная сельскохозяйственная культура в мире. Согласно данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций (ФАО), мировой уровень производства пшеницы в 2022 году составил около 781 млн т, а пшеничных отрубей – 15% (117.2 млн т) от объема пшеницы при ее переработке. Пшеничные отруби являются многокомпонентным растительным сырьем. Основные полисахаридные фракции пшеничных отрубей, крахмал, целлюлоза и гемицеллюлозы могут подвергаться химическому, ферментативному [1] и/или микробному превращению с образованием гексоз и пентоз [2]. Поэтому целесообразны исследования потенциала применения пшеничных отрубей как вторичного растительного сырья в производстве продуктов с добавленной стоимостью [3, 4], таких как полигалактуроназа, этанол, молочная кислота и инулиназа путем биосинтеза [5].

Эффективной конверсии растительной биомассы препятствуют структурные особенности и химическая устойчивость к дегидратации и к деградации полимеров углеводной и белковой природы. Низкая способность к трансформации лигнинцеллюлозной фракции определена кристаллической структурой и степенью полимеризации крахмала и целлюлозы, а также количеством гемицеллюлозы и лигнина растительного сырья [6].

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20240213107s

** Автор, с которым следует вести переписку.

Перед ферментацией предварительная обработка является одним из наиболее значимых этапов в производстве продуктов с добавленной стоимостью из растительного лигнинсодержащего сырья. Многие методы предварительной обработки, такие как физические, химические, физико-химические, биологические и их комбинации, применяются для превращения целлюлозы и гемицеллюлозы в целлобиозу и моносахариды (в основном глюкозу, ксилозу и арабинозу) [7, 8].

Среди методов химической предварительной обработки кислотный гидролиз неорганическими кислотами является распространенным. Трансформация растительного сырья разбавленной серной кислотой является одной из наиболее изученных технологий предварительной обработки, также есть результаты использования и других неорганических кислот: HCl , H_3PO_4 и HNO_3 в процессах трансформации растительных полимеров [9]. Такая обработка приводит к деполимеризации и физико-химической модификации лигноцеллюлозных компонентов, что, в свою очередь, определяет экологическую и экономическую целесообразность коммерческого производства продуктов на биологической основе [10, 11].

Физические методы предварительной обработки растительного сырья имеют ряд следующих преимуществ: простая технология, низкая стоимость и экологичность [12]. Однако в результате физического воздействия происходит уменьшение размера частиц растительного сырья, а не их трансформация в растворимые продукты [13, 14]. Методы биологической предварительной обработки такими ферментами, как целлюлаза и ксиланаза, определяют степень распада основных компонентов клеточной стенки растений. Гидролиз биополимеров лигнина, целлюлозы и гемицеллюлозы в процессе биоконверсии приводит к изменению химического состава, увеличению растворимых веществ с более низкой молекулярной массой [15]. Ферментативный гидролиз имеет ряд преимуществ в сравнении с химической обработкой: его можно проводить в «мягких» условиях и с низкой экологической нагрузкой [16], кроме того, применение ферментных препаратов разного типа действия дает возможность контролируемого процесса трансформации биополимеров и получение гидролизатов заданного химического состава.

Гидролизаты растительного сырья, полученные в оптимальных условиях конверсии природных полимеров, могут быть использованы в дальнейшем биотехнологическом производстве продуктов с добавленной стоимостью, таких как биотопливо, органические кислоты, ферменты и т.д. Пентозы и гексозы гидролизатов являются определяющими для более эффективного преобразования углеводов в этанол (биотопливо второго поколения) дрожжами *Scheffersomyces stipitis*, *Candida shehatae* и *Pachysolen tannophilus* [5]. Установлено, что *S. stipitis* – одни из наиболее перспективных дрожжей для промышленного производства этанола, преобразуют пентозы с более низкой скоростью, чем гексозы [5]. Методом микробиологического синтеза с помощью бактерий *Lactobacillus casei* производят молочную кислоту, используемую не только в косметической и фармацевтической промышленности, но и для производства перспективных биоразлагаемых полимерных материалов – полилактида. Биоконверсия крахмал- и целлюлозосодержащего растительного сырья с получением молочной кислоты имеет преимущества по сравнению с химическим синтезом благодаря дешевым субстратам и низкому энергопотреблению. Поэтому пшеничные отруби являются недорогим и альтернативным перспективным ресурсом базального сахара для производства молочной кислоты. Аналогично и для других продуктов микробиологического синтеза, экономическая эффективность производства которых определяется качественным и количественным составом гидролизатов растительных полимеров, связанного с условиями предварительной обработки гидролитическими ферментными препаратами.

В последнее время исследования направлены на моделирование экспериментальных данных процесса биоконверсии с целью расширения сырьевой базы промышленной и пищевой биотехнологии, выполняемых с различными типами ферментов в условиях подбора оптимальных технологических режимов [13, 17, 18].

Актуальность экспериментальных исследований комплексами ферментных препаратов разного типа действия обусловлена сложным химическим составом растительного сырья. Различные полисахариды клеточной стенки затрудняют доступ к субстрату, а иногда и полностью ингибируют фермент. Обработка измельченного растительного сырья, жмыхов комбинацией ферментов целлюлазы, пектиназы и танназы значительно повышает количество растворимых веществ, в том числе и фенолов и проантоцианидинов гидролизатов в сравнении с использованием каждого фермента в отдельности [19–23]. Данные исследований биотрансформации крахмалсодержащего вторичного растительного сырья композицией ферментов, состоящей из α -глюкоамилазы, пуллулазы и смеси β -карбогидраз, свидетельствуют о большей эффективности

трансформации нерастворимого крахмала в сбраживаемые сахара [24, 25]. Увеличению растворимости растительных белков в 1.5 раза способствовало включение ферментов протеолитического действия при обработке коммерческой α -амилазой семян киноа [26].

Однако мало сведений в отношении эффективности предварительной обработки пшеничных отрубей комплексами ферментных препаратов разного типа действия, моделирования качественного и количественного состава композиций с целью получения растительных гидролизатов заданных характеристик.

Цель данного исследования – оптимизировать условия предварительной обработки пшеничных отрубей, оценить степень эффективности трансформации полисахаридов растительного сырья (пшеничных отрубей) методом ферментативного гидролиза. Установить взаимосвязь накопления технологически ценных углеводов от механизма действия и количества индивидуальных ферментных препаратов. Оценить синергетическое действие на биополимеры пшеничных отрубей комплексов ферментов амилолитического, целлюлолитического, ксиланазного, пектолитического и протеолитического действия.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись нативные пшеничные отруби производства ООО «МельКом» по ГОСТ 7169-17. Отруби пшеничные. Технические условия, ГОСТ 27558-87 Мука и отруби. Определение цвета, запаха, вкуса и хруста и ГОСТ 27668-88 Мука и отруби. Предобработка пшеничных отрубей предполагала их измельчение на дисковой коллоидной мельнице DLFU (производитель BUNLER, Германия), для получения фракций пшеничных отрубей 200 мкм и 600 мкм использовали определенные виды сит рассеивателя фирмы FRITZSCH, Германия.

Все экспериментальные исследования процесса биоконверсии вторичного сырья осуществляли ферментными препаратами (ФП) гидролитического действия: АмилоЛюкс АТС, АмилоЛюкс А, Биоферм, Протеаза кислая, ЦеллоЛюкс А и ЦеллоЛюкс F (ООО ПО «Сиббиофарм», Новосибирск); в условиях, рекомендованных производителем.

В данном экспериментальном разделе использовали следующие технологические параметры процесса ферментативного гидролиза пшеничных отрубей (рис. 1): гидромодуль – 1 : 8, 1 : 9, 1 : 10 (условия определены в рамках выполнения договора НИР); температура – 37 и 50 °С; количество ФП – 0.1–2.0%; продолжительность обработки – 1–24 ч.

Образцы полученных гидролизатов исследовали по отработанным методикам: количество легкогидролизуемых углеводов (крахмала) – ГОСТ 26176-91 Корма, комбикорм. Методы определения растворимых и легкогидролизуемых углеводов; массовая доля влаги – ГОСТ 9404-88 Мука и отруби. Методы определения влажности; массовая доля клетчатки – ГОСТ 31675-2012 Корма. Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации; массовая доля сырого протеина – ГОСТ 13496.4-93 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина; количество редуцирующих сахаров (РВ) – ГОСТ 53973-2010 Ферментативные препараты для пищевой промышленности. Методы определения бета-глюканазной активности.

Количество аминного азота определяли по методу Попа – Стивенса (Государственная фармакопея РФХIII: ОФС.1.2.3.0022.15. Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования). Сущность данной методики заключается во взаимодействии аминокислот в щелочном растворе с ионами двухвалентной меди и последующим обратным йодометрическим титрованием.

Для определения содержания кислотонерастворимого лигнина и пентозанов использовали классические методики для целлюлозосодержащего сырья [27].

Состав моно- и дисахаридов гидролизатов определяли методом ВЭЖ хроматографии: исследуемые образцы и калибровочные точки анализировали на ВЭЖХ-хроматографе «Миллихром А-02». Сорбент хроматографической колонки Prontosil-C18. Температура анализа – 40 °С. Давление в колонке – 3–7 МПа. Детектор фотометрический. Длины волн – 220, 310, 350, 400 нм. Режим анализа – градиентный (растворитель Б – от 20 до 22% за 3000 мкл). Расход элюента – 250 мкл/мин. Объем пробы – 2 мкл.

Оценка воспроизводимости экспериментов при реализации процессов высокотемпературного гидролиза проведена по трем повторностям. Обработку полученных результатов исследования проводили с помощью программы STATISTICA 6.0, которая включает в себя широкий набор основных статистик в понятном русифицированном интерфейсе со всеми преимуществами.

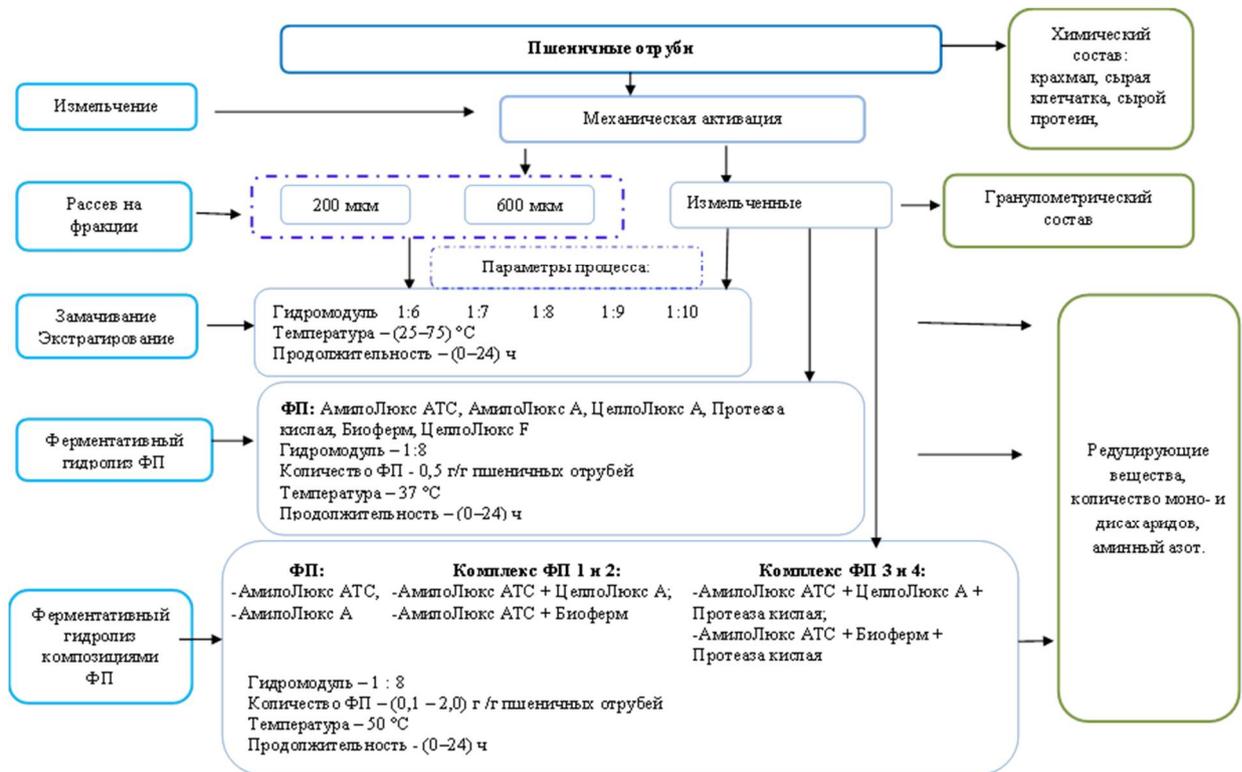


Рис. 1. Схема исследования конверсии пшеничных отрубей ферментными препаратами

Результаты и их обсуждение

Анализ качественных показателей пшеничных отрубей при механической обработке

Химический состав и характеристика растительного сырья определяют стратегию выбора технологического процесса предварительной обработки. В ходе экспериментальных исследований установлено, что пшеничные отруби, отобранные для проведения ферментативной обработки, обладают характеристиками, представленными в таблице 1.

Установлено высокое содержание пентозанов и низкое количество лигнина нативных пшеничных отрубей в сравнении с образцами другого растительного сырья – соломы пшеницы, кукурузы, древесины хвойных и лиственных растений [28]. Полученные экспериментальные результаты коррелируют с данными, представленными в научной литературе, отечественных и зарубежных авторов [28, 29].

Гидролиз целлюлозы и крахмала растительного сырья ферментными препаратами затрудняют сопутствующие им биополимеры: лигнин, гемицеллюлозы, пектины, а также кристалличность целлюлозы. Поэтому для увеличения реакционной способности сырья используют механический способ предварительной обработки [30], направленный на уменьшение степени кристалличности целлюлозы физическим воздействием.

Таблица 1. Характеристика пшеничных отрубей

Наименование показателя	Значение показателя
Сухие вещества, %	90.82±0.12
Зольность*, %	5.98±0.28
Сырая клетчатка, %	8.5±1.3
Сырой протеин, %	14.70±0.46
Лигнин*, %	7.55±0.39
Пентозаны*, %	17.90±0.01
Крахмал, %	17.8±2.8
С _{Сu} , мг/кг	46.2
С _{Se} , мг/кг	0.16

* – в пересчете на сухой материал.

Далее в исследованиях использовали измельченные пшеничные отруби и фракции 600 и 200 мкм (условия определены в рамках выполнения договора НИР). По литературным данным, в зерне злаков и продуктах их переработки (отрубях) моносахариды и олигосахариды представлены глюкозой, сахарозой, фруктозой, раффинозой и в небольшом количестве определены три- и тетрасахариды [29]. Поэтому с целью определения реакционной способности пшеничных отрубей (процесса экстракции редуцирующих веществ) в зависимости от температуры (температурный интервал – от 25 до 75 °С с шагом 10 °С) установлено содержание редуцирующих веществ (РВ) механически обработанных пшеничных отрубей и фракций 600 мкм и 200 мкм. На рисунке 2 представлено изменение количества РВ пшеничных отрубей при $T=75\text{ °C}$ в зависимости от времени и применяемого гидромодуля. Определен рациональный температурный режим процесса экстрагирования и гидромодуль, обеспечивающий максимальный уровень РВ в экстракте пшеничных отрубей – количество редуцирующих веществ достигало (0.091–0.103) г/г измельченных пшеничных отрубей 5–6 ч, при температуре 65–75 °С и гидромодуле 1 : 8 (данные не приведены).

В связи с тем, что при механической обработке и рассеивании со средним размером частиц 600 и 200 мкм были получены фракции измельченных пшеничных отрубей, состоящие из разных анатомических частей зерновки, что возможно определило различие количества экстрактивных веществ.

Определено наибольшее количество редуцирующих веществ на каждом этапе экстрагирования для фракции пшеничных отрубей 200 мкм, что может свидетельствовать о большем количестве крахмальных зерен эндосперма в исследуемой фракции, в сравнении с измельченными отрубями и фракцией 600 мкм, основная часть которой представлена целлюлозой семенных оболочек и оболочек клеток аллейронового слоя (рис. 2). Нагревание пшеничных отрубей выше 80 °С при различных гидромодулях приводит к резкому снижению уровня редуцирующих веществ, что может быть связано с инактивацией нативных амилолитических ферментов отрубей и взаимодействием редуцирующих веществ с белковыми компонентами.

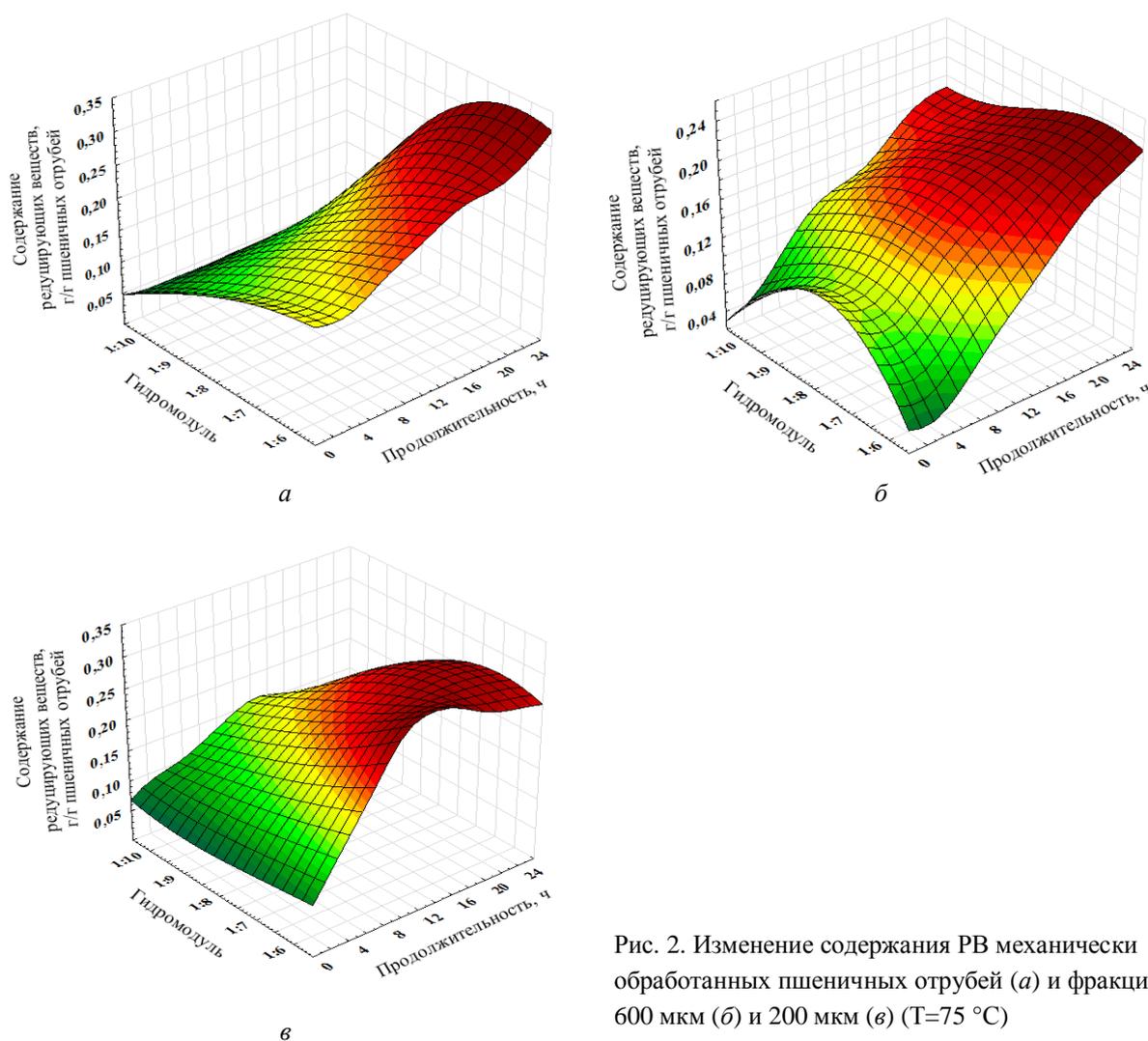


Рис. 2. Изменение содержания РВ механически обработанных пшеничных отрубей (а) и фракций 600 мкм (б) и 200 мкм (в) ($T=75\text{ °C}$)

Исследование процесса ферментативной обработки пшеничных отрубей. В дальнейших исследованиях энзиматического гидролиза полисахаридов измельченных пшеничных отрубей применяли ФП (ООО ПО «Сиббиофарм», Новосибирск) в условиях, рекомендованных производителем: ГлюкоЛюкс А, АмилоЛюкс АТС, АмилоЛюкс А, Биоферм, Протеаза кислая, ЦеллоЛюкс F; характеристика каталитического действия ферментных препаратов в отношении субстратов представлена в таблице 2.

Исследование глубины ферментативной конверсии пшеничных отрубей. Переработка растительного сырья осложнена его разнообразным химическим составом. Очевидно, что в комплексном лигноцеллюлозном сырье, к которому относятся пшеничные отруби, процессы кислотного или ферментативного разложения полимеров будут происходить неравномерно (табл. 2). Требуется проведение работ по определению количества структурообразующих компонентов сырья до обработки, а также контроль за выходом целевых веществ в процессе гидролиза.

Основными задачами экспериментальных исследований являлся подбор наиболее перспективных видов ферментных препаратов, а также их комплексов, для усиления глубины ферментативной конверсии пшеничных отрубей с получением определенного набора углеводов и других ценных веществ.

Замоченные в теплой воде пшеничные отруби увеличиваются в объеме в 2.5–3.5 раза за счет набухания полисахаридов и клеток алейронового слоя. Клеточная стенка препятствует чрезмерному набуханию и лизису клеток (рис. 3). В набухшие отруби вносили препараты целлюлазного действия. В результате происходит «расплавление» межклеточного вещества в алейроновом слое и вместо группы клеток наблюдаем единичные свободные клетки. Далее происходит расщепление целлюлозы из оболочек самих клеток, освобождается содержимое клеток и в экстракт выходит содержимое вакуолей и самой клетки (рис. 3).

В следующей серии исследований определяли степень биоконверсии пшеничных отрубей препаратами: АмилоЛюкс АТС, АмилоЛюкс А, ЦеллоЛюкс А, Протеаза кислая, Биоферм и ЦеллоЛюкс F по накоплению редуцирующих веществ. Количество вносимого в реакционную смесь ФП одинаково и составило 0.5% на массу углеводсодержащего сырья.

Наибольшая степень превращения нерастворимых полисахаридов пшеничных отрубей в растворимые сахара определено через 9 ч ферментации препаратом АмилоЛюкс АТС (0.215 г/г пшеничных отрубей). Это может свидетельствовать о большой ферментативной активности ФП и относительно высоком содержании в отрубях субстрата фермента – крахмала (табл. 1). Поэтому для определения оптимальных технологических параметров процесса гидролиза выбраны ферментные препараты с максимальной активностью в отношении гликозидных связей крахмала: АмилоЛюкс АТС и АмилоЛюкс А.

Для обработки труднодоступного ферментами сырья с целью повышения удельной поверхности, набухаемости, частичной или полной деструкции сложных полимеров и их комплексов пшеничные отруби термостатировали при 37 °С, применяемый гидромодуль – 1 : 8. В ходе экспериментальных исследований ферментный препарат вносили в заранее подготовленные пшеничные отруби (набухшие в течение 1 ч) из расчета на их массу в количестве от 0.5 до 2.0% (рис. 4). Процесс ферментации проводили в течение 24 ч при температуре 50 ± 2 °С, рН=5.45, данные условия проведения экспериментальных исследований являются оптимальными и рекомендованными фирмой-производителем (Технологическая инструкция по применению ферментных препаратов ООО по «СИББИОФАРМ» в спиртовом производстве).

Увеличение концентрации фермента АмилоЛюкс АТС до 1% на массу пшеничных отрубей способствует накоплению РВ гидролизатов – до 0.23 г/г сырья. Уменьшение количества редуцирующих веществ после 22 ч ферментативного гидролиза, возможно, связано с развитием посторонней микрофлоры нестерилизованных пшеничных отрубей. Внесение большего количества ферментного препарата не оказывает значимого влияния на изменение содержания РВ или приводит даже к их снижению.

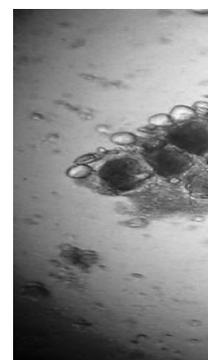
Дальнейшие экспериментальные исследования ферментативного гидролиза пшеничных отрубей осуществляли с использованием препарата АмилоЛюкс А при аналогичных условиях. Определено оптимальное внесение ферментного препарата в реакционную смесь, что составило 1% от массы сырья. Изменение содержания редуцирующих веществ в процессе гидролиза полисахаридов препаратом АмилоЛюкс А достигало максимального значения 0.18 г/г пшеничных отрубей через 7–8 ч, что определено и при биотрансформации ферментным препаратом АмилоЛюкс АТС.

Таблица 2. Характеристика ферментных препаратов

Ферментный препарат	Характеристика ферментного препарата										
ЦеллоЛюкс А	<p>Проявляет ксиланазную, целлюлазную и β-глюканазную активность, применяется для гидролиза некрахмальных полисахаридов зернового сырья и способствует также гидролизу β-глюканов и ксиланов сырья, улучшает реологические свойства, снижая вязкость.</p> <p>Активность:</p> <table> <tr> <td>Ксиланазная по ГОСТ Р 55302-2012, ед.КС/г, см³</td> <td>4500</td> </tr> <tr> <td>Целлюлазная по ГОСТ Р 55293-2012, ед.ЦС/г, см³</td> <td>1750</td> </tr> <tr> <td>β-глюканазная по ГОСТ Р 53973-2010, ед.β-ГКС/ см³</td> <td>2000</td> </tr> </table>	Ксиланазная по ГОСТ Р 55302-2012, ед.КС/г, см ³	4500	Целлюлазная по ГОСТ Р 55293-2012, ед.ЦС/г, см ³	1750	β -глюканазная по ГОСТ Р 53973-2010, ед. β -ГКС/ см ³	2000				
Ксиланазная по ГОСТ Р 55302-2012, ед.КС/г, см ³	4500										
Целлюлазная по ГОСТ Р 55293-2012, ед.ЦС/г, см ³	1750										
β -глюканазная по ГОСТ Р 53973-2010, ед. β -ГКС/ см ³	2000										
АмилоЛюкс А	<p>Гидролизует внутренние α-1,4-гликозидные связи крахмала (амилозы и амилопектина) и продуктов их последовательного расщепления, что приводит к быстрому снижению вязкости клейстеризованных растворов крахмала. Конечными продуктами действия альфа-амилазы на крахмал являются декстрины различной молекулярной массы и олигосахариды. Препарат содержит небольшое количество протеазы – 12 ед.ПС/см³.</p> <p>Амилолитическая активность по ГОСТ Р 54330-2011, ед.АС/г, см³</p> <table> <tr> <td>30°C</td> <td>2800</td> </tr> <tr> <td>60°C</td> <td>7600</td> </tr> </table>	30°C	2800	60°C	7600						
30°C	2800										
60°C	7600										
АмилоЛюкс АТС	<p>Препарат обладает высокой термостабильностью и способностью катализировать гидролиз α-1,4- гликозидные связи в амилозе и амилопектине крахмала при повышенных температурах; рекомендуется к использованию для разжижения и декстринизации крахмала. Действие препарата на крахмал характеризуется быстрым снижением вязкости раствора и молекулярной массы образующихся декстринов.</p> <p>Амилолитическая активность по ГОСТ Р 54330-2011, ед.АС/г, см³</p> <table> <tr> <td>30°C</td> <td>1600</td> </tr> <tr> <td>60°C</td> <td>13600</td> </tr> <tr> <td>70°C</td> <td>18000</td> </tr> <tr> <td>90°C</td> <td>17000</td> </tr> <tr> <td>97°C</td> <td>5000</td> </tr> </table>	30°C	1600	60°C	13600	70°C	18000	90°C	17000	97°C	5000
30°C	1600										
60°C	13600										
70°C	18000										
90°C	17000										
97°C	5000										
Протеаза кислая	<p>Действие препарата, обладающего протеолической активностью, в кислой зоне рН на белковые компоненты сырья позволяет: улучшить реологические показатели в результате гидролиза белка зерна; получать экстракты, обогащенные свободными аминокислотами, необходимые дрожжам. Обработка кислыми протеазами способствует повышению атакуемости крахмала зерна амилолитическими ферментами (α- амилазной и глюкоамилазной), что позволяет увеличить степень сбраживания сырья за счет более полного гидролиза крахмала.</p> <p>Протеолитическая активность по ГОСТ Р 53974-2010, ед.ПС см³</p> <table> <tr> <td></td> <td>600</td> </tr> </table>		600								
	600										
Биоферм	<p>Комплекс целлюлозолитических и пектолитических ферментов. Катализирует расщепление целлюлозы, которая составляет до 50–70% сухого вещества стерни и растительных остатков.</p>										
Целлолюкс F	<p>Ферментный препарат сбалансирован по ксиланазной, β-глюканазной и целлюлазной активностям. Данный вид ферментного комплекса обеспечивает ступенчатое расщепление целлюлозы, ксиланов, β-глюканов растительной клетки.</p>										



а



б

Рис. 3. Набухшие оболочки алейронового слоя пшеничных отрубей и вакуолей клеток (а) и их разъединение под действием целлюлазных ферментных препаратов (б). (Световой микроскоп, увеличение в 360 раз)

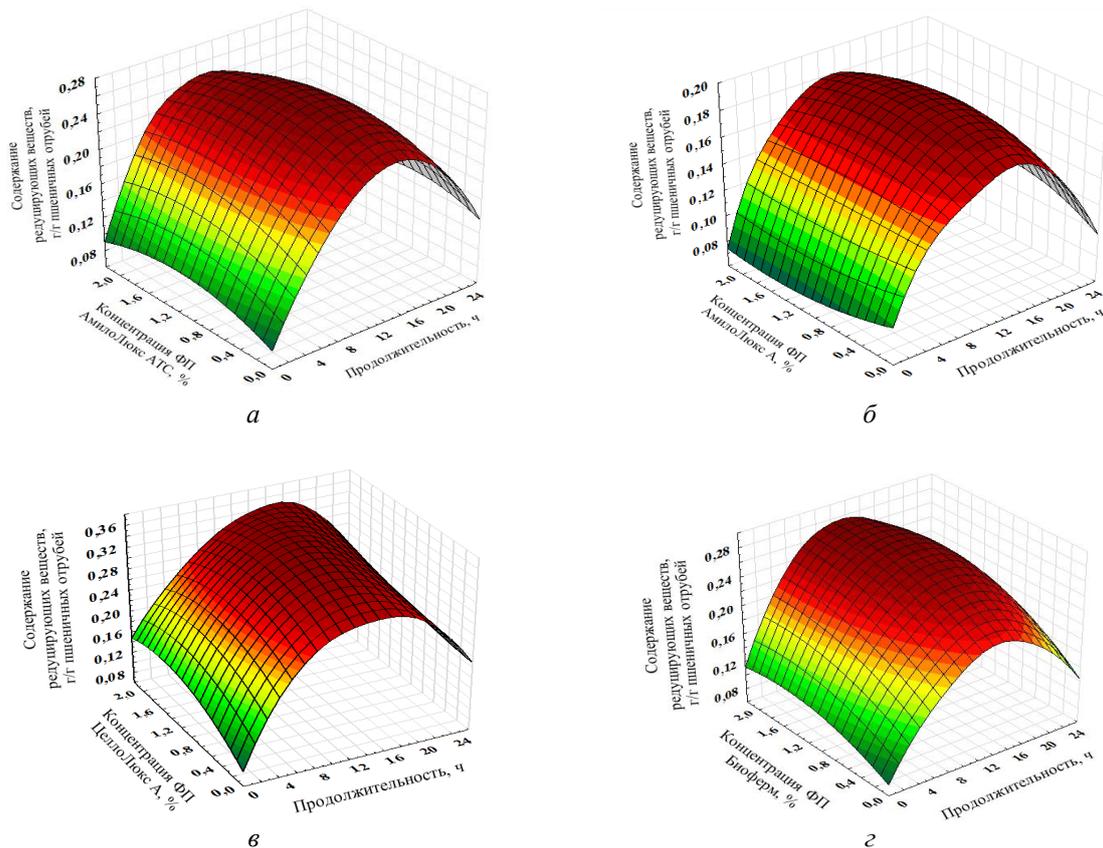


Рис. 4. Изменение концентрации РВ гидролизатов пшеничных отрубей при ферментации АмилоЛюкс АТС (а), АмилоЛюкс А (б) и комплексом АмилоЛюкс АТС 1% и ЦеллоЛюкс А (в) или Биоферм (г) в зависимости от количества ФП и продолжительности процесса

Максимальному накоплению редуцирующих веществ в процессе ферментации препаратами АмилоЛюкс А и АмилоЛюкс АТС определена дозировка ФП 1% на массу отрубей. Препарат АмилоЛюкс АТС обладает большей ферментативной активностью в отношении полисахаридов пшеничных отрубей в сравнении с АмилоЛюкс А, о чем свидетельствует большее содержание редуцирующих веществ реакционной смеси на 16–26% в течение 9 ч процесса.

Пшеничные отруби состоят из различных анатомических частей зерна: плодовые и семенные оболочки, оболочки алейронового слоя, зародыш, крахмальные зерна. Семенные оболочки отрубей представлены в виде отдельно разорванных образований, в которых целлюлоза представлена похожими на клетки морфологическими структурами, она является основным структурным компонентом оболочки. Микрофибриллы растительной целлюлозы находятся в аморфном пластическом геле, в который входят группы полисахаридов – гемицеллюлозы, пектиновые вещества и лигнин. Поэтому актуально биоконверсию пшеничных отрубей осуществлять комплексами ферментных препаратов с целлюлазной, ксиланазной и β -глюконазной активностью.

По результатам исследований (данные не представлены) определена большая ферментативная активность препарата ЦеллоЛюкс А в сравнении с препаратом ЦеллоЛюкс F, что выражается в значительном накоплении редуцирующих веществ в процессе гидролиза растительного сырья. Дальнейший этап биоконверсии пшеничных отрубей осуществляли комплексом ферментных препаратов: АмилоЛюкс АТС (1% на массу пшеничных отрубей) и ЦеллоЛюкс А. В данном комплексе ферментных препаратов с целью определения оптимального соотношения компонентов количество ЦеллоЛюкс А варьировали 0.1–2.0% (рис. 4). Для определения оптимальных технологических параметров процесс ферментативного гидролиза пшеничных отрубей осуществляли в течение 24 ч, температуре 50 ± 2 °С, гидромодуле 1 : 8, pH=4.5. Данные условия проведения экспериментальных исследований являются оптимальными и рекомендованными производителем (Технологическая инструкция по применению ферментных препаратов ООО по «СИББИОФАРМ» в спиртовом производстве).

В ходе экспериментальных исследований ферментные препараты АмилоЛюкс АТС и ЦеллоЛюкс А вносили в заранее подготовленные пшеничные отруби (термостатирование: гидромодуль 1 : 8, t=1 ч,

$T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$) из расчета на их массу (рис. 4в). В результате полученных данных гидролиза полисахаридов пшеничных отрубей комплексом ферментных препаратов АмилоЛюкс АТС и ЦеллоЛюкс А определено максимальное накопление РВ (0.29 г/г пшеничных отрубей) через 8 ч процесса ферментации при количестве ФП ЦеллоЛюкс А 1.0% в составе комплекса, что больше на 18.4 и 48.5% при действии индивидуальных ферментов АмилоЛюкс АТС и ЦеллоЛюкс А соответственно. Уменьшение количества ЦеллоЛюкс А с 1.0 до 0.1% в данном комплексе ФП снижает количество образующихся редуцирующих веществ на 37.8%. После 22 ч ферментации наблюдается некоторое снижение количества РВ, что может быть связано с развитием посторонней микрофлоры на нестерилизованных пшеничных отрубях.

По литературным данным, в составе пшеничных отрубей содержание пектиновых веществ – от 2.5 до 3.5% [31], что может вызывать трудности ферментативного катализа гликозидных связей полисахаридов вторичного сырья при их набухании. Поэтому препарат Биоферм, обладающий кроме целлюлазной, ксиланазной еще и пектин-лиазной активностью, вошел в состав следующего исследуемого комплекса ФП для биотрансформации пшеничных отрубей (рис. 4г). Параметры ферментативной обработки аналогичны предыдущей серии исследований комплекса ферментных препаратов. Составленная композиция включала: АмилоЛюкс АТС 1% и Биоферм 0.1–2.0% на массу пшеничных отрубей.

В результате анализа полученных данных определено максимальное количество РВ через 8 ч процесса ферментации, которое составило 0.22 г/г пшеничных отрубей при внесении 1.5% препарата Биоферм на массу сырья, что больше на 23.4% в сравнении с комплексом ФП, где количество Биоферм 0.1% и в 2.54 раза больше в сравнении с контрольными значениями (без ФП). Дальнейшее увеличение дозировки препарата Биоферм в комплексе до 2.0% снижает концентрацию РВ в реакционной смеси. Наблюдается и некоторое снижение редуцирующих веществ (на 1.15%) после 5 ч ферментативного гидролиза при совместном действии АмилоЛюкс АТС и Биоферм в сравнении с индивидуальным ФП АмилоЛюкс АТС (рис. 4).

С целью увеличения степени биоконверсии пшеничных отрубей и получения технологически важных веществ определена необходимость включения в состав комплексов ФП 1 и 2: (АмилоЛюкс АТС 1%, ЦеллоЛюкс А 0.5%) и (АмилоЛюкс АТС 1%, Биоферм 0.5%) препарата Протеаза кислая в количестве 0.5%. Данный препарат улучшает реологические показатели реакционной смеси в результате гидролиза белков, что может способствовать повышению атакруемости крахмала α -амилазами и глюкоамилазами (рис. 5).

Для определения оптимальных технологических параметров процесс биоконверсии указанными выше композициями ферментных препаратов осуществляли в течение 24 ч, при температуре $50\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, гидромодуль 1 : 8, рН=4.5. Данные условия проведения научных исследований являются оптимальными и рекомендованными фирмой-производителем. Результаты экспериментальных исследований представлены на рисунке 5.

Включение в комплекс 1 и 2 препарата Протеаза кислая способствовало снижению содержания РВ в процессе биоконверсии вторичного сырья (рис. 5). Количество редуцирующих веществ в результате энзимного гидролиза полисахаридов растительного сырья комплексами ферментных препаратов 1 и 2 ((АмилоЛюкс АТС 1%, ЦеллоЛюкс А 0.5%) и (АмилоЛюкс АТС 1%, Биоферм 0.5%)), в состав которых входит Протеаза кислая в количестве 0.5%, выше комплекса 1 на 9–13% в сравнении с комплексом 2. Из анализа данных экспериментальных исследований определено, что включение препарата Протеаза кислая в композицию ферментов амилолитического, целлюлолитического и ксиланазного действия уменьшает количество редуцирующих веществ гидролизатов, образовавшихся в результате биоконверсии пшеничных отрубей.

В предыдущих наших исследованиях ферментативного гидролиза растительных биополимеров [32] определено снижение динамической вязкости и увеличение количества аминного азота при действии ФП Протеаза кислая, что может быть важно в технологическом процессе биоконверсии пшеничных отрубей и дальнейшем производстве ценных продуктов. А определение изменения качественного и количественного состава углеводов и растворимых белковых соединений на различных технологических этапах конверсии значимо для оценки экономической целесообразности дальнейшего производства не только кормов для животноводческой отрасли, но и получения кормового белка, биоэтанола и других биологически ценных веществ. Поэтому в следующей серии экспериментальных исследований хроматографическим методом определен качественный и количественный состав углеводов обработанных измельченных пшеничных отрубей комплексом ФП: АмилоЛюкс АТС (1%), Биоферм (0.5%), Протеаза кислая (0.5%).

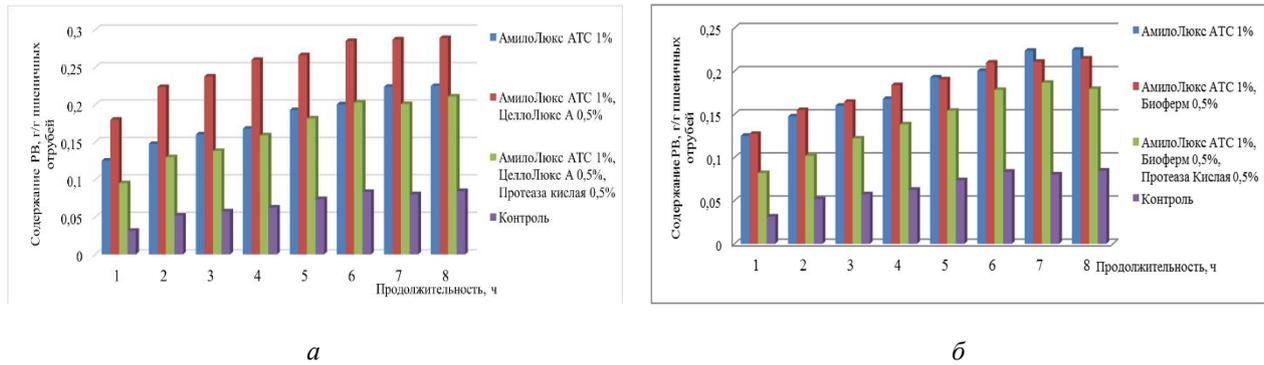


Рис. 5. Изменение содержания РВ в процессе биоконверсии пшеничных отрубей двух- и трехкомпонентными ферментными комплексами амилолитического и протеолитического действия с целлюлазами Целло Люкс А (а) и Биоферм (б)

ВЭЖХ-анализ моносахаридов нативных пшеничных отрубей показал (данные не приведены) наличие в экстрактах глюкозы, маннозы и незначительного количества пентоз, что характерно для моносахаридного состава отрубей. Результаты обработки хроматограмм в программе «Мультихром «ОАО «Амперсенд» представлены в таблице 3. При биотрансформации пшеничных отрубей увеличивается содержание: глюкозы – в 1.9 раза, составило 41.6 мг/г; пентоз (в пересчете на ксилозу) – в 2.5 раза, составило 4.0 мг/г и наибольшее изменение определено для манноз – в 14.0 раз, уровень манноз в гидролизованных отрубях – 56.0 мг/г. В гидролизатах обнаружены другие моносахариды неустановленной природы, предположительно, галактоза. В процессе гидролиза их содержание также возросло в 8.8 раз и составило 28.0 мг/г отрубей. Лактоза и другие дисахариды не обнаружены ни в одном образце гидролизатов. Установлено суммарное содержание моно- и дисахаридов, значимых для дальнейшей биоконверсии растительного сырья микроорганизмами при обработке комплексом ферментных препаратов 129.6 мг/г отрубей.

Сравнительный анализ результатов, данных биотрансформации и предыдущих экспериментальных исследований химического гидролиза пшеничных отрубей серной кислотой показал [9], что при конверсии полисахаридов пшеничных отрубей ферментными препаратами (Амилу Люкс АТС, Биоферм и Протеаза кислая) образуется большее количество манноз (в 2.8 раза), но меньшее – пентоз (в 15.6 раз) в сравнении с обработкой растительного сырья серной кислотой (табл. 3). Учитывая, что маннозы обладают пребиотической и антиоксидантной активностью, биотрансформация предложенным комплексом ФП увеличивает биологическую и пищевую ценность гидролизатов вторичного растительного сырья. Таким образом, наиболее перспективным и экологически безопасным способом получения маннозы и манноолигосахаридов является ферментативный гидролиз маннанов клеточных стенок пшеничных отрубей, что согласуется с литературными данными [33].

Определение аминного азота подтвердило рабочую гипотезу о том, что ферментативная обработка растительного сырья повышает содержание растворимых белковых соединений, так, количество аминного азота в гидролизатах составило 39.5 мг/г сырья, что больше в 2.2 и 2.1 раза в сравнении с контролем и химической обработкой. Таким образом, продукты ферментативной конверсии пшеничных отрубей с высоким содержанием как редуцирующих веществ, так и растворимых азотистых соединений (в том числе белков) могут быть энергетически более выгодны для дальнейшей биоконверсии с целью получения белковых продуктов.

Таблица 3. Содержание растворимых веществ экстрактов и гидролизатов пшеничных отрубей

Состав моносахаридов	Пшеничные отруби		
	Нативные	Гидролизованные H ₂ SO ₄	Гидролизованные комплексом ФП
Дисахариды, мг/г отрубей	нет	нет*	нет
Глюкоза, мг/г отрубей	22.4	43.2*	41.6
Манноза, мг/г отрубей	4.0	20.0*	56.0
Пентозы (в пересчете на ксилозу), мг/г отрубей	1.6	62.4*	4.0
Другие моносахариды, мг/г отрубей	3.2	0*	28.0
Аминный азот, мг/г отрубей	17.92	18.43	39.52

*Данные предыдущих исследований конверсии пшеничных отрубей серной кислотой [9].

Выводы

1. Определено высокое количество пентозанов 17.9% на а.с.в. и низкое количество лигнина 7.55% на а.с.в. пшеничных отрубей, что может способствовать процессу ферментативного гидролиза целлюлозы, в сравнении с другим растительным сырьем – соломы пшеницы, кукурузы, древесина хвойных и лиственных растений.

2. При определении реакционной способности пшеничных отрубей установлено, что при температуре выше 80 °С происходит снижение количества редуцирующих веществ в экстрактах, что может быть вызвано инактивацией нативных амилолитических ферментов и взаимодействием восстанавливающих углеводов с белковыми компонентами растительного сырья. Наибольший выход растворимых веществ в экстракт пшеничных отрубей установлен для гидромодуля 1 : 8, количество редуцирующих веществ составило 0.091–0.103 г/г пшеничных отрубей.

3. Наибольшая активность из исследуемых ФП (АмилоЛюкс АТС, АмилоЛюкс А, ЦеллоЛюкс А, Протеаза кислая, Биоферм и ЦеллоЛюкс F) в отношении образования редуцирующих веществ гидролизатов пшеничных отрубей определена для АмилоЛюкс АТС и АмилоЛюкс А.

4. Оптимальная концентрация исследуемых ферментных препаратов АмилоЛюкс АТС, АмилоЛюкс А составляет 1% из расчета на массу пшеничных отрубей (уровень РВ гидролизатов достигал (0.18–0.23) г/г сырья), более высокие концентрации препаратов не оказывают значимого влияния или вызывают даже снижение содержания редуцирующих веществ ферментативно обработанных пшеничных отрубей.

5. Энзимная обработка пшеничных отрубей комплексом АмилоЛюкс АТС и ЦеллоЛюкс А приводит к синергизму гидролитического действия на полисахариды сырья, что выражается максимальным содержанием редуцирующих веществ 0.29 г/г сырья. Меньшее количество РВ гидролизатов определено при использовании комплекса ферментов и с ксиланазной и пектин-лиазной активностями (АмилоЛюкс АТС и Биоферм) – 0.22 г/г сырья.

6. Определено, что включение препарата Протеаза кислая в композицию ферментов амилолитического, целлюлолитического и ксиланазного действия уменьшает количество редуцирующих веществ гидролизатов пшеничных отрубей до 0.19–0.21 г/г сырья, образовавшихся в результате биоконверсии.

7. Включение в комплекс АмилоЛюксАТС и Биоферерм, препарата Протеаза кислая способствует образованию растворимых белковых соединений, что подтверждается повышенным содержанием в гидролизатах аминного азота – 39.5 мг/г сырья. Установлено большее количество манноз (56.0 мг/г отрубей), но меньшее – пентоз (4.0 мг/г отрубей) гидролизатов ферментативно обработанных пшеничных отрубей в сравнении с химической обработкой. Ферментативная обработка пшеничных отрубей препаратом Протеаза кислая оказывает влияние на реологические свойства реакционной смеси при биоконверсии, снижая кинематическую вязкость, что может влиять на механизацию процесса.

8. Продукты ферментативной конверсии пшеничных отрубей с высоким содержанием как редуцирующих веществ, так и растворимых азотистых соединений (в том числе белков), могут быть энергетически более выгодны для дальнейшей биоконверсии с целью получения биоэтанола, белковых продуктов и др.

Дополнительная информация

В электронном приложении к статье (DOI: <http://www.doi.org/10.14258/jcprtm.20240213107s>) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование

Работа выполнена на базе кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии Омского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина в рамках договора НИИР с Министерством сельского хозяйства и природопользования Омской области.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Streimikyte P., Viskelis P., Viskelis J. Enzymes-assisted extraction of plants for sustainable and functional applications // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23 (4). 2359. DOI: 10.3390/ijms23042359.
2. Iqbal Sh., Tirpanalan-Staben Ö., Franke K. Modification of Dietary Fibers to Valorize the By-Products of Cereal, Fruit and Vegetable Industry – A Review on Treatment Methods // *Plants*. 2022. Vol. 11 (24). 3466. DOI: 10.3390/plants11243466.
3. Clifton-Brown J., Harfouche A., Casler M.D. et al. Breeding progress and preparedness for mass-scale deployment of perennial lignocellulosic biomass crops switchgrass, miscanthus, willow and poplar // *GCB Bioenergy*. 2019. Vol. 11 (1). Pp. 118–151. DOI: 10.1111/gcbb.12566.
4. Wang L., Tian Y., Chen Y., Chen J. Effects of acid treatment on the physicochemical and functional properties of wheat bran insoluble dietary fiber // *Cereal chemistry*. 2022. Vol. 99 (2). Pp. 343–354. DOI: 10.1002/cche.10494.
5. Glaser S.J., Al-Rudainy B., Hatti-Kaul R., Galbe M. Wheat bran fractionation: Effect of steam explosion and hydro-tropic extraction conditions on the recovery of sugars and lignin // *Industrial Crops and Products*. 2023. Vol. 195. 116405. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.116405.
6. Awasthi M.K., Tarafdar A., Gaur V.K. et al. Emerging trends of microbial technology for the production of oligosaccharides from biowaste and their potential application as prebiotic // *International Journal of Food Microbiology*. 2022. Vol. 368. 109610. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109610.
7. Germec M., Ozcan A., Turhan I. Bioconversion of wheat bran into high value-added products and modelling of fermentations // *Industrial Crops and Products*. 2019. Vol. 139 (1). 111565. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111565.
8. Погорелова Н.А., Гаврилова Н.Б., Рогачев Е.А., Щетинина Е.М. Определение эффективности способов конверсии пшеничных отрубей для использования их в технологии продуктов питания // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2020. №1. С. 48–57. DOI: 10.36107/spfp.2020.228.
9. Погорелова Н.А., Гаврилова Н.Б. Конверсия пшеничных отрубей в целевые продукты биосинтеза // *Техника и технология пищевых производств*. 2023. Т. 53, №1. С. 49–59. DOI: 10.21603/2074-9414-2023-1-2414.
10. Galbe M., Wallberg O. Pretreatment for biorefineries: a review of common methods for efficient utilisation of lignocellulosic materials // *Biotechnology for Biofuels*. 2019. Vol. 12 (1). Article 294. DOI: 10.1186/s13068-019-1634-1.
11. Weiss N.D., Felby C., Thygesen L.G. Enzymatic hydrolysis is limited by biomass-water interactions at high-solids: improved performance through substrate modifications // *Biotechnology for Biofuels*. 2019. Vol. 12. Article 3. DOI: 10.1186/s13068-018-1339-x.
12. Song L.-W., Qi J.-R., Liao J.-S., Yang X.-Q. Enzymatic and enzyme-physical modification of citrus fiber by xylanase and planetary ball milling treatment // *Food Hydrocolloids*. 2021. Vol. 121 (2-3). 107015. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2021.107015.
13. Ma M., Mu T. Effects of extraction methods and particle size distribution on the structural, physicochemical, and functional properties of dietary fiber from deoiled cumin // *Food Chemistry*. 2016. Vol. 194. Pp. 237–246. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.07.095.
14. GavriloVA K., Bychkov A., Bychkova E. et al. Mechanically activated hydrolysis of plant-derived proteins in food industry // *Foods and Raw Materials*. 2019. Vol. 7 (2). Pp. 255–263. DOI: 10.21603/2308-4057-2019-2-255-263.
15. Santala O., Kiran A., Sozer N., Poutanen K., Nordlund E. Enzymatic modification and particle size reduction of wheat bran improves the mechanical properties and structure of bran-enriched expanded extrudates // *Journal of Cereal Science*. 2014. Vol. 60 (2). Pp. 448–456. DOI: 10.1016/j.jcs.2014.04.003.
16. Xiao Q., Weng H.F., Ni H., Hong Q.L., Lin K.H., Xiao A.F. Physicochemical and gel properties of agar extracted by enzyme and enzyme-assisted methods // *Food Hydrocolloids*. 2019. Vol. 87. Pp. 530–540. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.08.041.
17. Chen H., Zhou X., Zhang J. Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from *Astragalus membranaceus* // *Carbohydrate Polymers*. 2014. Vol. 111. Pp. 567–575. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.033.
18. Zuorro A., Lavecchia R., González-Delgado Á.D., García-Martínez J.B., L'Abbate P. Optimization of enzyme-assisted extraction of flavonoids from corn husks // *Processes*. 2019. Vol. 7 (11). Article 804. DOI: 10.3390/pr7110804.
19. Yazdi A.P.G., Barzegar M., Sahari M.A., Gavligli H.A. Optimization of the enzyme-assisted aqueous extraction of phenolic compounds from pistachio green hull // *Food Science Nutrition*. 2018. Vol. 7 (1). Pp. 356–366. DOI: 10.1002/fsn3.900.
20. Domínguez-Rodríguez G., Marina M.L., Plaza M. Enzyme-assisted extraction of bioactive non-extractable polyphenols from sweet cherry (*Prunus avium* L.) pomace // *Food Chemistry*. 2021. Vol. 339. 128086. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128086.
21. Belmiro R.H., Oliveira L.D.C., Geraldi M.V., Junior M.R.M., Cristianini M. Modification of coffee coproducts by-products by dynamic high pressure, acetylation and hydrolysis by cellulase: A potential functional and sustainable food ingredient // *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2021. Vol. 68 (6). 102608. DOI: 10.1016/j.ifset.2021.102608.
22. Phirom-On K., Apiraksakorn J. Development of cellulose-based prebiotic fiber from banana peel by enzymatic hydrolysis // *Food Bioscience*. 2021. Vol. 41 (2). 101083. DOI: 10.1016/j.fbio.2021.101083.
23. Ninga K.A., Desobgo Z.S.C., De S., Nso E.J. Pectinase hydrolysis of guava pulp: effect on the physicochemical characteristics of its juice // *Heliyon*. 2021. Vol. 7 (10). e08141. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e08141.

24. Cole M.R., Eggleston G., Gaines D.K., Heckemeyer M. Development of an enzyme cocktail to bioconvert untapped starch in sweet sorghum processing by-products: Part I // *Industrial Crops and Products*. 2019. Vol. 133 (32). Pp. 142–150. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.03.012.
25. Klasson K.T., Cole M.R., Pancio B.T., Heckemeyer M. Development of an enzyme cocktail to bioconvert untapped starch in sweet sorghum processing by-products: Part II. Application and economic potential // *Industrial Crops and Products*. 2022. Vol. 176. 114370. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.114370.
26. Jeske S., Zannini E., Cronin M.F., Arendt E.K. Impact of protease and amylase treatment on proteins and the product quality of a quinoa-based milk substitute // *Food & Function*. 2018. Vol. 9. Pp. 3500–3508. DOI: 10.1039/C8FO00336J.
27. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М., 1991. 320 с.
28. Lomovsky O.I., Lomovskiy I.O., Orlov D.V. Mechanochemical solid acid/base reactions for obtaining biologically active preparations and extracting plant materials // *Green Chemistry Letters and Reviews*. 2017. Vol. 10 (4). Pp. 171–185. DOI: 10.1080/17518253.2017.1339832.
29. Barbosa F.C., Silvello M.A., Goldbeck R. Cellulase and oxidative enzymes: new approaches, challenges and perspectives on cellulose degradation for bioethanol production // *Biotechnology Letters*. 2020. Vol. 42 (6). Pp. 875–884. DOI: 10.1007/s10529-020-02875-4.
30. Bychkov A.L., Gavrilova K.V., Akimenko Z.A. et al. Fractionation and hydrolysis of proteins of plant raw materials obtaining functional nutrition products // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 3rd International Conference on New Material and Chemical Industry. 2019. Vol. 479. 012001. DOI: 10.1088/1757-899X/479/1/012001.
31. Sapirstein H.D., Wang M., Beta T. Effects of Debranning on the distribution of pentosans and relationships to phenolic content and antioxidant activity of wheat pearling fractions // *LWT – Food Science and Technology*. 2013. Vol. 50 (1). Pp. 336–342. DOI: 10.1016/J.LWT.2012.04.030.
32. Погорелова Н.А., Молибога Е.А., Сарницкая Н.А. Исследование процесса биоконверсии полимеров пшеничных отрубей ферментным препаратом протеолитического действия // *Вестник Омского государственного аграрного университета*. 2018. №4 (32). С. 31–35.
33. Радиф З.Х., Анохина Е.П., Корнеева О.С. Выбор ферментного препарата для получения маннозосодержащих гидролизатов с пребиотической активностью // *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2017. Т. 79, №3 (73). С. 159–163.

Поступила в редакцию 16 июня 2023 г.

После переработки 5 сентября 2023 г.

Принята к публикации 2 октября 2023 г.

Pogorelova N.A.^{*}, *Sarnitskaya N.A.*, *Nardin D.S.* EFFICIENCY OF CONVERSION BY A COMPLEX OF HYDROLYTIC ENZYMES OF WHEAT BRAN BIOPOLYMERS

Omsk State Agrarian University named after. P.A. Stolypin, Institutskaya pl., 1, Omsk, 644008, Russia, na.pogorelova@omgau.org

Introduction. An important aspect of the processing and pre-processing of cellulose raw materials (including bran) is to obtain a high content of reducing substances in the final product. Experimentally selected process parameters and optimization of pre-processing conditions of plant raw materials, in order to increase the amount of biologically valuable substances, will reduce the cost of the final product. In this work, the bioconversion of wheat bran polymers was carried out with hydrolytic enzyme preparations (EP).

Study objects and methods. The degree of biotransformation of plant polymers was evaluated on crushed wheat bran with enzyme preparations and their complexes by chemical analysis and HPLC chromatography.

Results and discussion The feedstock (wheat bran) was characterized by a low content of lignin (7.55%) and high pentosans (17.9%). The largest amount of reducing substances of hydrolysates was determined for EP Amilolux ATS – 0.23 g/g of raw materials, and its complexes Amilolux ATS and Celolux A – 0.29 g/g of raw materials. The inclusion of proteolytic action in the EP complex increases the amount of amine nitrogen (39.5 mg/g), reduces kinematic viscosity. A greater amount of mannose (56.0 mg/g of bran), but less pentose (4.1 mg/g of bran) of hydrolysates of enzymatically processed wheat bran was determined in comparison with chemical treatment.

^{*} Corresponding author.

Conclusions. Optimal parameters of enzymatic pretreatment of wheat bran for their conversion into target products of biosynthesis – biologically valuable carbohydrates have been determined, which is a promising direction of research and their practical use in the production of mannose, biofuels, chemicals and food additive.

Keywords: wheat bran, enzymatic hydrolysis, carbohydrate-containing raw materials, hydrolytic enzymes, bioconversion, chromatography.

For citing: Pogorelova N.A., Sarnitskaya N.A., Nardin D.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 2, pp. 340–354. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240213107.

References

1. Streimikyte P., Viskelis P., Viskelis J. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23 (4), 2359. DOI: 10.3390/ijms23042359.
2. Iqbal Sh., Tirpanalan-Staben Ö., Franke K. *Plants*, 2022, vol. 11 (24), 3466. DOI: 10.3390/plants11243466.
3. Clifton-Brown J., Harfouche A., Casler M.D. et al. *GCB Bioenergy*, 2019, vol. 11 (1), pp. 118–151. DOI: 10.1111/gcbb.12566.
4. Wang L., Tian Y., Chen Y., Chen J. *Cereal chemistry*, 2022, vol. 99 (2), pp. 343–354. DOI: 10.1002/cche.10494.
5. Glaser S.J., Al-Rudainy B., Hatti-Kaul R., Galbe M. *Industrial Crops and Products*, 2023, vol. 195, 116405. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.116405.
6. Awasthi M.K., Tarafdar A., Gaur V.K. et al. *International Journal of Food Microbiology*, 2022, vol. 368, 109610. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109610.
7. Germec M., Ozcan A., Turhan I. *Industrial Crops and Products*, 2019, vol. 139 (1), 111565. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111565.
8. Pogorelova N.A., Gavrilova N.B., Rogachev Ye.A., Shchetinina Ye.M. *Khraneniye i pererabotka sel'khozsyrya*, 2020, no. 1, pp. 48–57. DOI: 10.36107/spfp.2020.228. (in Russ.).
9. Pogorelova N.A., Gavrilova N.B. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*, 2023, vol. 53, no. 1, pp. 49–59. DOI: 10.21603/2074-9414-2023-1-2414. (in Russ.).
10. Galbe M., Wallberg O. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, vol. 12 (1), article 294. DOI: 10.1186/s13068-019-1634-1.
11. Weiss N.D., Felby C., Thygesen L.G. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, vol. 12, article 3. DOI: 10.1186/s13068-018-1339-x.
12. Song L.-W., Qi J.-R., Liao J.-S., Yang X.-Q. *Food Hydrocolloids*, 2021, vol. 121 (2-3), 107015. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2021.107015.
13. Ma M., Mu T. *Food Chemistry*, 2016, vol. 194, pp. 237–246. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.07.095.
14. Gavrilova K., Bychkov A., Bychkova E. et al. *Foods and Raw Materials*, 2019, vol. 7 (2), pp. 255–263. DOI: 10.21603/2308-4057-2019-2-255-263.
15. Santala O., Kiran A., Sozer N., Poutanen K., Nordlund E. *Journal of Cereal Science*, 2014, vol. 60 (2), pp. 448–456. DOI: 10.1016/j.jcs.2014.04.003.
16. Xiao Q., Weng H.F., Ni H., Hong Q.L., Lin K.H., Xiao A.F. *Food Hydrocolloids*, 2019, vol. 87, pp. 530–540. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.08.041.
17. Chen H., Zhou X., Zhang J. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol. 111, pp. 567–575. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.033.
18. Zuorro A., Lavecchia R., González-Delgado Á.D., García-Martínez J.B., L'Abbate P. *Processes*, 2019, vol. 7 (11), article 804. DOI: 10.3390/pr7110804.
19. Yazdi A.P.G., Barzegar M., Sahari M.A., Gavlighi H.A. *Food Science Nutrition*, 2018, vol. 7 (1), pp. 356–366. DOI: 10.1002/fsn3.900.
20. Domínguez-Rodríguez G., Marina M.L., Plaza M. *Food Chemistry*, 2021, vol. 339, 128086. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128086.
21. Belmiro R.H., Oliveira L.D.C., Geraldi M.V., Junior M.R.M., Cristianini M. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2021, vol. 68 (6), 102608. DOI: 10.1016/j.ifset.2021.102608.
22. Phirom-On K., Apiraksakorn J. *Food Bioscience*, 2021, vol. 41 (2), 101083. DOI: 10.1016/j.fbio.2021.101083.
23. Ninga K.A., Desobgo Z.S.C., De S., Nso E.J. *Heliyon*, 2021, vol. 7 (10), e08141. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e08141.
24. Cole M.R., Eggleston G., Gaines D.K., Heckemeyer M. *Industrial Crops and Products*, 2019, vol. 133 (32), pp. 142–150. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.03.012.
25. Klasson K.T., Cole M.R., Pancio B.T., Heckemeyer M. *Industrial Crops and Products*, 2022, vol. 176, 114370. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.114370.
26. Jeske S., Zannini E., Cronin M.F., Arendt E.K. *Food & Function*, 2018, vol. 9, pp. 3500–3508. DOI: 10.1039/C8FO00336J.
27. Obolenskaya A.V., Yel'nitskaya Z.P., Leonovich A.A. *Laboratornyye raboty po khimii drevesiny i tsellyulozy*. [Laboratory work on the chemistry of wood and cellulose]. Moscow, 1991, 320 p. (in Russ.).
28. Lomovsky O.I., Lomovskiy I.O., Orlov D.V. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 2017, vol. 10 (4), pp. 171–185. DOI: 10.1080/17518253.2017.1339832.
29. Barbosa F.C., Silvello M.A., Goldbeck R. *Biotechnology Letters*, 2020, vol. 42 (6), pp. 875–884. DOI: 10.1007/s10529-020-02875-4.

30. Bychkov A.L., Gavrilova K.V., Akimenko Z.A. et al. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 3rd International Conference on New Material and Chemical Industry*, 2019, vol. 479, 012001. DOI: 10.1088/1757-899X/479/1/012001.
31. Sapirstein H.D., Wang M., Beta T. *LWT – Food Science and Technology*, 2013, vol. 50 (1), pp. 336–342. DOI: 10.1016/J.LWT.2012.04.030.
32. Pogorelova N.A., Moliboga Ye.A., Sarnitskaya N.A. *Vestnik Omskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2018, no. 4 (32), pp. 31–35. (in Russ.).
33. Radif Z.Kh., Anokhina Ye.P., Korneyeva O.S. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologiy*, 2017, vol. 79, no. 3 (73), pp. 159–163. (in Russ.).

Received June 16, 2023

Revised September 5, 2023

Accepted October 2, 2023

Сведения об авторах

Погорелова Наталья Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, na.pogorelova@omgau.org

Сарницкая Наталья Анатольевна – младший научный сотрудник, na.sarnitskaya1923@omgau.org

Нардин Дмитрий Сергеевич – кандидат экономических наук, начальник научно-исследовательского управления, ds.nardin@omgau.org

Information about authors

Pogorelova Natalya Anatolyevna – Candidate of Biological Sciences, senior researcher, na.pogorelova@omgau.org

Sarnitskaya Natalya Anatolyevna – junior researcher, na.sarnitskaya1923@omgau.org

Nardin Dmitry Sergeevich – Candidate of Economic Sciences, Head of the Research Department, ds.nardin@omgau.org