

Научная статья/ Research Article

УДК 663.18

DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-272-278

Елена Николаевна Соколова<sup>1✉</sup>, Анжелика Андреевна Павлова<sup>2</sup>, Елена Михайловна Серба<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологий и безопасности пищи, Москва, Россия

<sup>1,2</sup>elenaniksokolova@inbox.ru

<sup>3</sup>serbae@mail.ru

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОКАТАЛИЗА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ НА ОСНОВЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЗЕРНОВОГО СЫРЬЯ

*Цель работы – разработка приемов эффективной биотехнологической трансформации зерновых видов сырья для получения новых пищевых ингредиентов. Исследован химический состав различных видов зернового сырья по основным полимерам, а также количественному содержанию фитиновой кислоты. Проведены исследования по подбору различных ферментных систем для гидролиза зернового сырья с целью последующего использования ферментолизата в качестве функционального ингредиента в пищевых продуктах. В процессе работы исследовали пять различных вариантов ферментативной обработки, содержащие ферменты: протеазы, альфа- и глюкоамилазы, липазы и фитазы для биоконверсии различных видов зерна. Установлено, что максимальную степень гидролиза обеспечивает использование комплекса, проявляющего протеолитическую, целлюлолитическую, фитолитическую и липазную гидролитические способности. В процессе ферментативной обработки выявлено максимальное увеличение низкомолекулярных продуктов гидролиза сырья: аминокислот – на 20–40 %, редуцирующих веществ – на 40–60 % и снижение фитиновых веществ – на 20–45 % при воздействии ферментной системы (вариант 5). Использование данного ферментного комплекса позволит увеличить пищевую и биологическую ценность ингредиентов, снизить антипитательные свойства за счет снижения фитиновой кислоты и увеличения доступности микроэлементов для усвоения организмом. На основании экспериментальных данных разработана блок-схема получения ингредиентов с улучшенными свойствами. Получаемые на основе представленной технологии ингредиенты могут быть использованы в приготовлении пищевых продуктов функционального и профилактического назначения.*

**Ключевые слова:** ферментоллизат, аминокислоты, фитин, ферменты, зерновое сырье, ингредиенты

**Для цитирования:** Соколова Е.Н., Павлова А.А., Серба Е.М. Использование биокатализа для получения пищевых ингредиентов на основе различных видов зернового сырья // Вестник КрасГАУ. 2022. № 12. С. 272–278. DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-22-278.

**Благодарности:** исследование финансировалось за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00100.

Elena Nikolaevna Sokolova<sup>1✉</sup>, Angelica Andreevna Pavlova<sup>2</sup>, Elena Mikhailovna Serba<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>All-Russian Research Institute of Food Biotechnology – branch of the Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

<sup>1,2</sup>elenaniksokolova@inbox.ru

<sup>3</sup>serbae@mail.ru

## USING BIOCATALYSIS FOR FOOD INGREDIENTS PRODUCTION BASED ON VARIOUS TYPES OF GRAIN RAW MATERIALS

*The purpose of the work is to develop methods for the effective biotechnological transformation of grain types of raw materials to obtain new food ingredients. The chemical composition of various types of grain raw materials for the main polymers, as well as the quantitative content of phytic acid, was studied. Studies have been carried out on the selection of various enzyme systems for the hydrolysis of grain raw materials, taking into account the use of the enzyme lysate as a functional response in food products. In the course of the work, five different variants of enzymatic treatment were investigated, containing enzymes: proteases, alpha- and glucoamylases, lipases and phytases for the bioconversion of various types of grain. It has been established that the maximum degree of hydrolysis is ensured by the use of a complex that exhibits proteolytic, cellulolytic, phytolytic and lipase hydrolytic abilities. In the process of enzymatic treatment, a maximum increase in low-molecular products of hydrolysis of raw materials was revealed: amino acids – by 20–40 %, reducing substances – by 40–60 % and a decrease in phytic substances – by 20–45 % when exposed to the enzyme system (option 5). The use of this enzyme complex will increase the nutritional and biological value of ingredients, reduce anti-nutritional properties by reducing phytic acid and increasing the availability of trace elements for absorption by the body. Based on the experimental data, a block diagram for obtaining ingredients with improved properties has been developed. The ingredients obtained on the basis of the presented technology can be used in the preparation of food products for functional and preventive purposes.*

**Keywords:** fermentolysate, amino acids, phytin, enzymes, grain raw materials, ingredients

**For citation:** Sokolova E.N., Pavlova A.A., Serba E.M. Using biocatalysis for food ingredients production based on various types of grain raw materials // Bulliten KrasSAU. 2022;(12): 272–278. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-272-278.

**Acknowledgments:** the study has been funded by the Russian Science Foundation grant № 22-16-00100.

**Введение.** Агропромышленный комплекс России на данный момент времени имеет перспективы переработки сельскохозяйственной продукции до 100 млн т. Эффективность перехода переработки сырья на инновационные технологии ресурсосбережения, сохранение и создание новых производств, экологическая составляющая – главные конкурентоспособные позиции России в современных пищевых технологиях. Биотехнологические процессы позволяют интенсифицировать технологические процессы, увеличивать выход готовой продукции и разрабатывать новые виды функциональных пищевых ингредиентов [1].

Зерновое сырье – один из возможных экономически перспективных видов сырья, высокомолекулярные полимеры которого имеют многокомпонентный состав, определяющий биотехнологические условия их переработки [2–4].

Практически во всех видах зерна присутствуют фитиновая кислота и ее соли фитаты [5–7]. Фитат является основной формой хранения фосфора во многих растительных тканях, особенно в отрубях и семенах. Он может образовать

комплексы с металлами или белками и, следовательно, снижать их биодоступность в желудочно-кишечном тракте [8–10].

Белки злаковых имеют ряд недостатков, а именно: невысокую степень усвояемости, неполноценный аминокислотный скор, низкую степень перевариваемости, токсические компоненты и антипитательные факторы. Фитаты, как компонент, относятся к этому числу.

Для снижения их токсических и антипитательных свойств и увеличения количества биологически активных веществ и пищевой ценности существуют различные методы обработки зернового сырья (проращивание, вымачивание и ферментативная обработка) [11–13].

**Цель исследования** – разработка приемов эффективной биокаталитической трансформации зернового сырья для получения новых пищевых ингредиентов заданного состава.

**Задачи:** получить новые пищевые ингредиенты с увеличенным содержанием биологически активных веществ (аминокислот, углеводов) и сниженным содержанием фитина – как антипитательного компонента в ингредиентах.

**Материалы и методы.** В качестве объектов исследования были выбраны три вида зернового сырья: кукуруза, пшеница и рожь. Уровень протеолитической активности исследовали по степени гидролиза гемоглобина [14], амилолитической и глюкоамилазной – по степени гидролиза крахмала [15], ксиланазной – по степени гидролиза ксилана [16], целлюлазной – по степени гидролиза карбоксиметилцеллюлозы [17], фитолитическую – по степени гидролиза фити-

на, липолитическую – по степени гидролиза оливкового масла. Содержание редуцирующих углеводов [18], концентрацию фитата – спектрофотометрическим методом [19]. Состав и концентрацию свободных аминокислот определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «AZURA» (Германия) [20].

**Результаты и их обсуждение.** На первом этапе исследовали состав основных полимеров зерна, представленный в таблице.

**Химический состав зернового сырья, %**

Показатель	Пшеница	Рожь	Кукуруза
Вода	14,0 $\pm$ 0,6	14,0 $\pm$ 0,7	14,0 $\pm$ 0,6
Белок	12,0 $\pm$ 0,5	10,0 $\pm$ 0,6	10,3 $\pm$ 0,5
Жир	2,0 $\pm$ 0,1	2,2 $\pm$ 0,1	5,0 $\pm$ 0,2
Крахмал	58,9 $\pm$ 2,8	55,2 $\pm$ 2,6	60,0 $\pm$ 3,0
Пищевые волокна	10,5 $\pm$ 0,5	16,2 $\pm$ 0,8	9,5 $\pm$ 0,5
Фитиновая кислота	0,8 $\pm$ 0,05	1,1 $\pm$ 0,07	1,2 $\pm$ 0,1

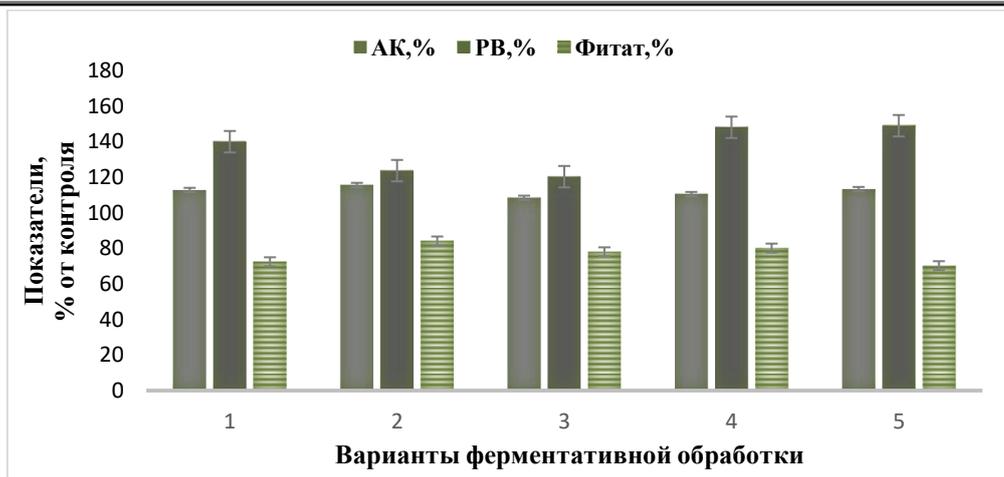
Далее проводили ферментативный гидролиз зернового сырья различными ферментными системами (ФС), проявляющими амилолитическую, протеолитическую, фитазную и липазную гидролитические способности.

Для ферментативной обработки сырья использовали ФС, различающиеся по составу ферментов: вариант 1 – протеаза (ПС); вариант 2 – протеаза+амилаза (ПС+АС); вариант 3 – протеаза+амилаза+целлюлаза (ПС+ЦС+АС); вариант 4 – целлюлаза+протеаза+амилаза+фитаза (ЦС+ПС+АС+ФС); вариант 5 – целлюлаза+протеаза+амилаза+фитаза+липаза (ЦС+ПС+АС+ФС+ЛС). Дозировки биокатализаторов в каждой партии были следующими: амилаза – 1,5 ед.АС/г сырья, целлюлаза – 1,0 ед. ЦС/г сырья; протеаза – 0,5 ед. ПС/ г сырья; фитаза – 5,0 ед. ФС/г сырья, липаза – 0,5 ед. ЛС/г сырья. Соотношение субстрат:вода составляло 1:3, время и температура ферментативно-гидролитической обработки – 4 ч и 50 °С соответственно. По окончании гидролиза в ферментолизатах определяли биохимические показатели: редуцирующие углеводы, аминокислотный состав, содержание фитатов и пищевых волокон. Ре-

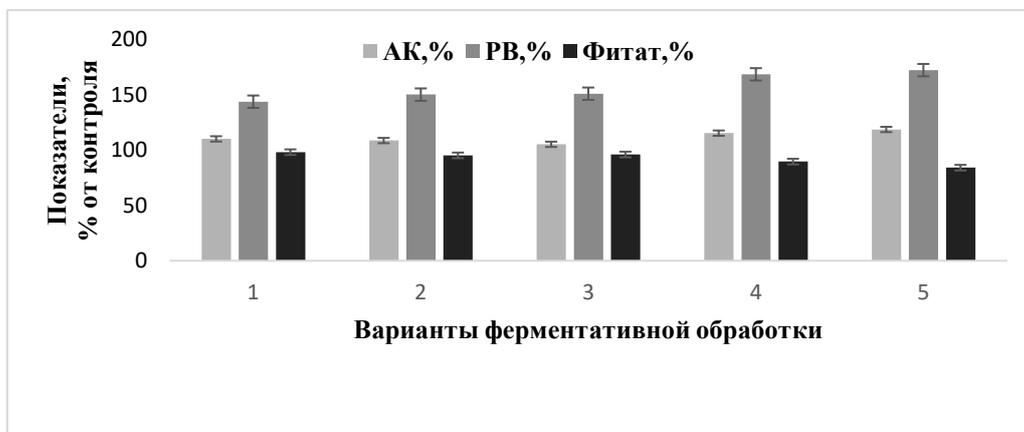
зультаты биокаталитической конверсии полимеров сырья представлены на рисунке 1.

В процессе ферментативной обработки выявлено, что при воздействии ферментов амилолитического и протеолитического действия происходит гидролиз белковых и полисахаридных полимеров зерна до низкомолекулярных продуктов, тем самым облегчая доступность к субстрату других минорных ферментов. Выявлено максимальное увеличение аминокислот – на 20–40 %, редуцирующих веществ – на 40–60 % и снижение фитиновых веществ – на 20–45 % при воздействии ферментной системы (вариант 5).

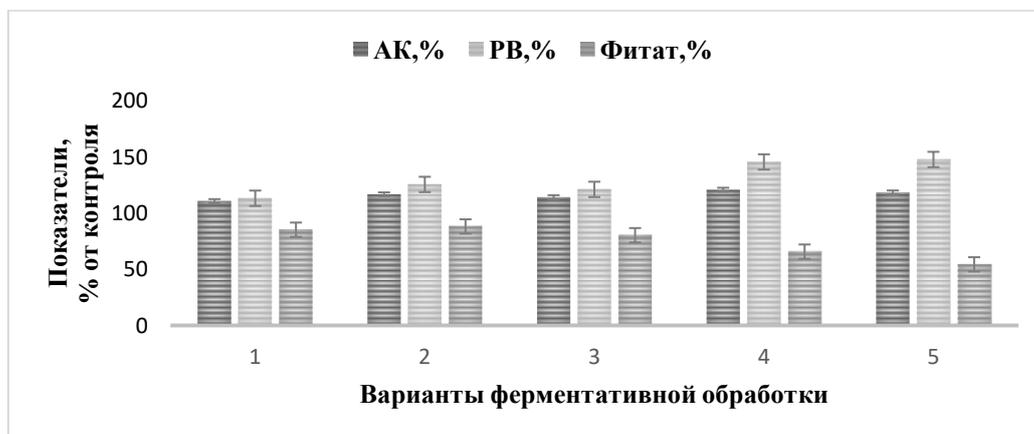
Таким образом, мультиэнзимная композиция, включающая в себя помимо амилолитических и целлюлитических еще фитолитические и липолитические ферменты, способствует распаду фитиновых и жировых соединений, высвобождению фосфора и других микроэлементов. Выявлено увеличение показателей содержания в ферментолизатах зерна ценных нутриентов и биологически активных веществ в растворимой биодоступной форме, а также снижение антипитательных веществ, концентрация которых изменялась в зависимости от субстратной специфичности используемой ферментной системы.



а – пшеница



б – рожь



в – кукуруза

Рис. 1. Влияние ферментативной обработки на содержание БАВ



Рис. 2. Блок-схема получения ингредиентов на основе зернового сырья

**Заключение.** В процессе ферментативной обработки выявлено максимальное увеличение низкомолекулярных продуктов гидролиза сырья: аминокислот – на 20–40 %, редуцирующих веществ – на 40–60 и снижение фитиновых веществ – на 20–45 % при воздействии ферментной системы (вариант 5). Использование данного ферментного комплекса позволит увеличить пищевую и биологическую ценность ингредиентов, снизить антипитательные свойства за счет снижения фитиновой кислоты и увеличения доступности микроэлементов для усвоения организмом. Разработана блок-схема получения пищевых ингредиентов заданного состава.

### Список источников

1. Биотехнологические основы создания кормовых добавок с защитно-профилактическими свойствами / Г.С. Волкова [и др.]. М.: Первое экономическое издательство, 2020. 148 с.
2. Поляков В.А., Погоржельская Н.С. Инновационное развитие пищевой биотехнологии // Индустрия питания. 2017. № 4. С. 6–14.
3. Туршатов М.В., Поляков В.А., Леденев В.П. Технологические основы производства спирта с повышенными органолептическими показателями // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2008. № 2. С. 29–31.
4. Абрамова, И.М. Особенности переработки пшеничного сырья, обеспечивающие производство спирта с высокими показателями качества // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2012. № 1. С. 4–6.
5. Survey of the analytical methods for the phytic acid determination / K. Benešová [et al.] // Kvasny Prumysl. 2013. 59(5): 127–133. DOI: 10.18832/kp2013013.
6. Mikulski D., Kłosowski G. Phytic acid concentration in selected raw materials and analysis of its hydrolysis rate with the use of microbial phytases during the mashing process // Journal of the Institute of Brewing, 2015, 121(2): 213–218. DOI: 10.1002/jib.221.
7. Equilibrium, thermoanalytical and spectroscopic studies to characterize phytic acid complexes with Mn(II) and Co(II) / L. De Carli [et al.] // Journal of the Brazilian Chemical Society, 2009, 20(8): 1515–1522. DOI: 10.1590/S0103-50532009000800019.
8. Potential *in vitro* protective effect of quercetin, catechin, caffeic acid and phytic acid against ethanol-induced oxidative stress in SK-Hep-1 cells / K.-M. Lee [et al.] // Biomolecules and Therapeutics, 2012, 20(5): P. 492–498. DOI: 10.4062/biomolther.2012.20.5.492.
9. Greiner R., Konietzny U. Phytase for food application // Food Technology and Biotechnology, 2006, 44(2): P. 125–140.
10. Конверсия полимеров зерна пшеницы и кукурузы под влиянием фитолитических и протеолитических ферментов / Л.В. Римаева [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2021. Т. 56, № 2. С. 374–383.
11. Способы ферментативно-гидролитической подготовки зернового суслу для спиртового брожения / Е.М. Сербя [и др.] // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2020. № 5. С. 52–56.
12. Отечественная фитаза в комбикормах для кур-несушек / Т.Н. Ленкова [и др.] // Птица и птицепродукты. 2016. № 1. С. 37–40.
13. Кулова Ф.М. Влияние ферментного препарата фитаза в рационах с различным уровнем минералов на зоотехнические показатели телят // Известия Горского государственного аграрного университета. 2016. № 53 (1). С. 71–76.
14. Gbenyi D.I., Nkama I., Badau M.H. Modeling of residual polyphenols, phytic acid and protein digestibility of extruded sorghum-cowpea formulated foods // Food science and quality management. 2016. Vol. 48, P. 18–26.
15. ГОСТ 34430-2018. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения протеолитической активности. М., 2018.
16. ГОСТ 34440-2018. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения амилитической активности. М., 2018.
17. ГОСТ Р 55302-2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения ксиланазной активности. М., 2018.
18. ГОСТ Р 55293-2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения целлюлазной активности. М., 2018.
19. A phytic acid derived LiMn<sub>0.5</sub>Fe<sub>0.5</sub>PO<sub>4</sub>/Carbon composite of high energy density for lithium re-

- chargeable batteries / Y. Meng [et al.] // Scientific Reports. 2019. № 9(1):6665. DOI: 10.1038/s41598-019-43140-7.
20. Шлейкин А.Г., Скворцова Н.Н., Бландов А.Н. Биохимия. Лабораторный практикум: учеб. пособие. Ч. 2. Белки. Ферменты. Витамины. СПб.: Университет ИТМО, 2015. 106 с.
- ### References
1. Biotechnologicheskie osnovy sozdaniya kormovyh dobavok s zaschitno-profilakticheskimi svojstvami / G.S. Volkova [i dr.]. M.: Pervoe `ekonomicheskoe izdatel'stvo, 2020. 148 s.
  2. Polyakov V.A., Pogorzhe'skaya N.S. Innovacionnoe razvitie pischevoj biotehnologii // Industriya pitaniya. 2017. № 4. S. 6–14.
  3. Turshatov M.V., Polyakov V.A., Ledenev V.P. Tehnologicheskie osnovy proizvodstva spirta s povyshennymi organolepticheskimi pokazatelyami // Proizvodstvo spirta i likerovodochnyh izdelij. 2008. № 2. S. 29–31.
  4. Abramova, I.M. Osobennosti pererabotki pshenichnogo syr'ya, obespechivayushchie proizvodstvo spirta s vysokimi pokazatelyami kachestva // Proizvodstvo spirta i likerovodochnyh izdelij. 2012. № 1. S. 4–6.
  5. Survey of the analytical methods for the phytic acid determination / K. Benešová [et al.] // Kvasny Prumysl. 2013. 59(5): 127-133. DOI: 10.18832/kp2013013.
  6. Mikulski D., Kłosowski G. Phytic acid concentration in selected raw materials and analysis of its hydrolysis rate with the use of microbial phytases during the mashing process // Journal of the Institute of Brewing, 2015, 121(2): 213-218. DOI: 10.1002/jib.221.
  7. Equilibrium, thermoanalytical and spectroscopic studies to characterize phytic acid complexes with Mn(II) and Co(II) / L. De Carli [et al.] // Journal of the Brazilian Chemical Society, 2009, 20(8): 1515-1522. DOI: 10.1590/S0103-50532009000800019.
  8. Potential *in vitro* protective effect of quercetin, catechin, caffeic acid and phytic acid against ethanol-induced oxidative stress in SK-Hep-1 cells / K.-M. Lee [et al.] // Biomolecules and Therapeutics, 2012, 20(5): P. 492–498. DOI: 10.4062/biomolther.2012.20.5.492.
  9. Greiner R., Konietzny U. Phytase for food application // Food Technology and Biotechnology, 2006, 44(2): P. 125–140.
  10. Konversiya polimerov zerna pshenicy i kuku-ruzy pod vliyaniem fitoliticheskikh i proteoliticheskikh fermentov / L.V. Rimareva [i dr.] // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. 2021. T. 56, № 2. S. 374–383.
  11. Sposoby fermentativno-gidroliticheskoy podgotovki zernovogo susla dlya spirtovogo brozheniya / E.M. Serba [i dr.] // Vestnik rossijskoj sel'skohozyajstvennoj nauki. 2020. № 5. S. 52–56.
  12. Otechestvennaya fitaza v kombikormah dlya kur-nesushek / T.N. Lenkova [i dr.] // Ptica i pticeprodukty. 2016. № 1. S. 37–40.
  13. Kulova F.M. Vliyanie fermentnogo preparata fitaza v racionah s razlichnym urovnem mineralov na zootehnicheskie pokazateli telyat // Izvestiya Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2016. № 53 (1). S. 71–76.
  14. Gbenyi D.I., Nkama I., Badau M.H. Modeling of residual polyphenols, phytic acid and protein digestibility of extruded sorghum-cowpea formulated foods // Food science and quality management. 2016. Vol. 48, P. 18–26.
  15. GOST 34430-2018. Fermentnye preparaty dlya pischevoj promyshlennosti. Metody opredeleniya proteoliticheskoy aktivnosti. M., 2018.
  16. GOST 34440-2018. Fermentnye preparaty dlya pischevoj promyshlennosti. Metody opredeleniya amiloliticheskoy aktivnosti. M., 2018.
  17. GOST R 55302-2012. Fermentnye preparaty dlya pischevoj promyshlennosti. Metody opredeleniya ksilanaznoj aktivnosti. M., 2018.
  18. GOST R 55293-2012. Fermentnye preparaty dlya pischevoj promyshlennosti. Metody opredeleniya cellyulaznoj aktivnosti. M., 2018.
  19. A phytic acid derived LiMn<sub>0.5</sub>Fe<sub>0.5</sub>PO<sub>4</sub>/Carbon composite of high energy density for lithium rechargeable batteries / Y. Meng [et al.] // Scientific Reports. 2019. № 9(1):6665. DOI: 10.1038/s41598-019-43140-7.
  20. Shlejkin A.G., Skvorcova N.N., Blandov A.N. Biokhimiya. Laboratornyj praktikum: ucheb. posobie. Ch. 2. Belki. Fermenty. Vitaminy. SPb.: Universitet ITMO, 2015. 106 s.

Информация об авторах:

**Елена Николаевна Соколова**<sup>1</sup>, ведущий научный сотрудник отдела биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и биологически активных добавок, кандидат биологических наук

**Ангелика Андреевна Павлова**<sup>2</sup>, инженер-технолог отдела биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и биологически активных добавок

**Елена Михайловна Серба**<sup>3</sup>, заместитель директора по научной работе, доктор биологических наук, доцент, член-корреспондент РАН

Information about the authors:

**Elena Nikolaevna Sokolova**<sup>1</sup>, Leading Researcher at the Department of Biotechnology of Enzymes, Yeasts, Organic Acids and Dietary Supplements, Candidate of Biological Sciences

**Angelica Andreevna Pavlova**<sup>2</sup>, Process Engineer at the Department of Biotechnology of Enzymes, Yeasts, Organic Acids and Dietary Supplements

**Elena Mikhailovna Serba**<sup>3</sup>, Deputy Director for Research, Doctor of Biology, Associate Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences

