

УДК 663.53.531

АКТИВАЦІЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ AMYLEX 4T

Паляниця Л.Я., Березовська Н.І., Косів Р.Б., Паньків Н.О.
Національний університет «Львівська політехніка»

У роботі досліджено вплив електрохімічно активованої води на амілолітичну активність ферментного препарату Amylex 4T. Встановлено, що використання католіту та суміші католіт+аноліт (1:1) як для приготування субстрату, так і для приготування розчину ферменту веде до підвищення амілолітичної активності ферментного препарату Amylex 4T у порівнянні з контролем.

Ключові слова: амілолітична активність, активація, ферментний препарат, католіт, аноліт.

Постановка проблеми. Ферментні препарати (ФП), основним компонентом яких є α -амілази, широко використовують у різних галузях промисловості: харчовій – у виробництві спирту та пива [1, 2], для одержання гідролізатів крохмалю різного вуглеводного складу [3], текстильній [4], хімічній [5], а також для вирішення екологічних проблем [6]. α -Амілази здійснюють неупорядковане розщеплення α -1-4-глікозидних зв'язків крохмалю та інших полісахаридів з утворенням декстринів, олігосахаридів, мальтози і глюкози в α -аномерній конфігурації [7].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Останніми роками все частіше в біотехнологічних процесах використовують термостабільні α -амілази [6], які є лідерами серед інших ферментів, що одержують у промислових умовах. Вони мають ряд переваг: зберігають активність при високих температурах, чим унеможливають розвиток мезофільної мікрофлори, володіють широкою специфічністю, пришвидшують перебіг реакцій завдяки термофільії, відповідно, скорочують тривалість процесу і зменшують собівартість продукції. Ці особливості є важливими на стадії гідроферментативного оброблення зернової сировини у виробництві спирту та пива.

Продуцентами термостабільних α -амілаз є багато мікроорганізмів, проте промислового значення набули бактерії роду *Bacillus* (*Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*) [6-8]. Ферментні препарати, крім α -амілази можуть містити й інші ферменти, тому їхній склад може змінюватися залежно від вибраного продуцента. А це, в свою чергу, впливатиме на активність ФП, оскільки, вони можуть проявляти синергічну дію.

Відомо, що активність ферменту залежить від багатьох чинників, тому ряд досліджень присвячено пошуку способів її підвищення. Вивчено вплив похідних германію на активність α -амілази і встановлено, що вони здатні підвищувати її у 3 рази [9]. Запропоновано також внесення у субстрат солей кальцію, що забезпечує збереження активності під час ферментативного гідролізу крохмалевмісної си-

ровини [10]. Досліджено вплив технологічних умов (температури, рН, солей металів) на активність амілолітичних та протеолітичних ферментів [11].

Ціла низка робіт присвячено використанню фізичних методів для активації ферментів. Так, з метою інтенсифікації процесу гідролізу складових сировини у спиртовому виробництві субстрат обробляти ультразвуковими коливаннями, що дозволило скоротити тривалість процесу та зменшити витрату ферментних препаратів [12]. Застосування дії постійного магнітного поля напруженістю 80 кА/м при тривалості 10-20 хвилин підвищує амілолітичну активність ферментних препаратів на 10,4-14,6% [13].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. Ферментні препарати володіють характерними оптимумами дії, що визначаються насамперед температурою та рН середовища. Оптимальні умови дії ферментів – це ті, за яких вони проявляють максимальну активність. Відповідно, для ефективного ведення технологічного процесу з використанням ферментних препаратів необхідно корегувати режими, склад субстрату, або ж вибирати відповідно до особливостей технології фермент з високою активністю. Тому пошук шляхів її підвищення залишається актуальним.

Мета статті. Метою роботи було вивчення впливу електрохімічно активованої води, зокрема католіту, аноліту, суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1 та водопровідної води, на амілолітичну активність концентрованого ферментного препарату Amylex 4T.

Виклад основного матеріалу. Об'єктом дослідження був концентрований ферментний препарат Amylex 4T (фірми Danisco), характеристика якого представлена у таблиці 1. Він використовується у спиртовому виробництві на стадії гідроферментативного оброблення зернових замісів з метою розріджування крохмалю.

Вибір ФП був зумовлений його високою каталітичною активністю, термостійкістю і тим, що не потребує внесення кальцію, відповідно, дозволяє уникнути утворення накипу та відкладень на об-

Таблиця 1

Характеристика ферментного препарату Amylex 4T

Назва	Опис	Амілолітична активність при 30°C, од./см ³	Оптимальні умови	
			рН	Температура, °C
Amylex 4T	Ферментний препарат термостабільної α -амілази, одержаний з <i>Bacillus licheniformis</i>	1000±50	5,7ч6,0	70ч80

Таблиця 2

Значення рН та окисно-відновного потенціалу різних вод

Показник	Вода				
	Католіт	Аноліт	Католіт+аноліт (1:1)	Водопровідна	Дистильована
рН	10,31÷10,7	2,93ч3,33	6,1ч7,41	6,9ч7,24	7,47
ОВП, мВ	(-218,8)÷(-239,9)	181,6ч203,6	(-41,5)÷(+21,5)	(-25,6)÷(-42,4)	-53,5

ладнанні. Тому для його активації запропоновано електрохімічно активовану воду, яка володіє рядом фізико-хімічних та біологічних властивостей [14].

Дослідження амілолітичної активності проводили згідно СОУ 15.9-37-241:2005.

Електрохімічно активовану воду одержували в електролізері Ековод ЕАВ-3К шляхом електролізу водопровідної води. У катодній камері отримували католіт, у анодній – аноліт, їх суміш отримували шляхом змішування католіту та аноліту у співвідношенні 1:1.

Для дослідження використовували католіт, аноліт, суміш католіт+аноліт у співвідношенні 1:1 та водопровідну воду, значення рН та окисно-відновного потенціалу яких наведені у таблиці 2.

На першому етапі досліджень вивчали вплив субстрату на активність ферментного препарату Amylex 4T. Для цього готували зразки субстратів (крохмалю) на основі електрохімічно активованої води (аноліт, католіт, суміш католіту та аноліту у співвідношенні 1:1), водопровідної та дистильованої води. Ферментний препарат розводили дистильованою водою та вносили у вищезазначені субстрати. Контролем у цих варіантах слугував зразок, де і субстрат, і розчин ФП готували на дистильованій воді.

Значення рН приготуєних субстратів наведені на рис. 1.

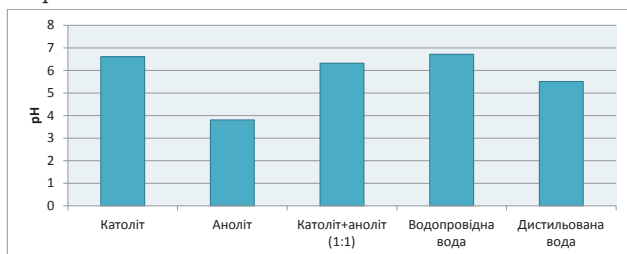


Рис. 1. Значення рН субстратів, приготуєних на основі католіту, аноліту, суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1, водопровідної води та дистильованої води

При використанні католіту для приготуєння субстрату спостерігали максимальну амілолітичну активність ферментного препарату Amylex 4T (рис. 2). Також вищою у порівнянні з контролем була активність ФП у суміші католіт+аноліт, проте в аноліті та водопровідній воді вона знизилася на 23,8% та 21,2% у порівнянні з контролем (рис. 2).

Таким чином, використання католіту та суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1 для приготуєння розчинів крохмалю сприяє підвищенню амілолітичної активності ферментного препарату Amylex 4T. Оскільки цей препарат має промислове застосування у спиртовій та інших галузях, то його активація за вищезазначених умов може сприяти покращенню біоконверсії крохмалевмісної сировини до готової продукції.

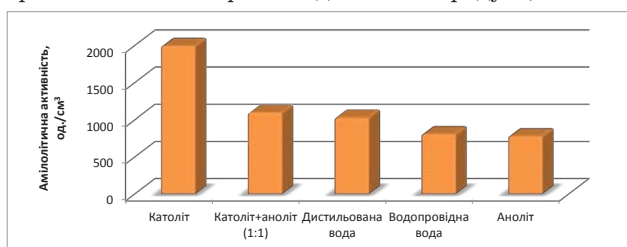


Рис. 2. Амілолітична активність ФП Amylex 4T, де субстрат приготуєний на основі католіту, суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1, дистильованої води (контроль), водопровідної води та аноліту

Наступний етап досліджень переслідував мету вивчення прямого впливу зразків води на фермент-

ний препарат. У цьому варіанті експериментальних робіт розчини Amylex 4T готували на основі католіту, аноліту, суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1 та водопровідної води, значення рН яких наведено на рис. 3.

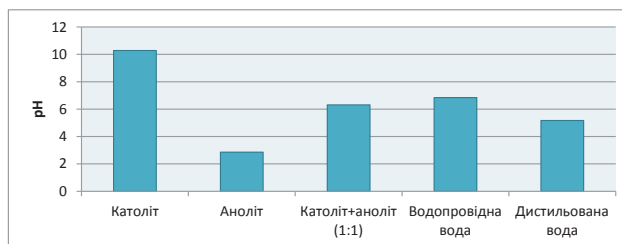


Рис. 3. Значення рН розчинів ФП Amylex 4T, приготуєних на основі католіту, аноліту, суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1, водопровідної води та дистильованої води

Варто зазначити, що для всіх зразків розчинів ферменту субстрат готували на основі дистильованої води. Для контрольного зразка субстрат та розчин Amylex 4T готували на дистильованій воді.

Як видно з рис. 4, при використанні католіту для приготуєння розчину ферментного препарату Amylex 4T його амілолітична активність була максимальною і вищою у порівнянні з контролем у 2,2 рази, не зважаючи на те, що рН розчину виходила за межі оптимальних значень. Суміш католіт+аноліт сприяла підвищенню амілолітичної активності ФП у порівнянні з контролем на 58,47%.

У зразку, де фермент приготуєний на основі водопровідної води амілолітична активність знизилася на 20,70%, а при використанні аноліту для приготуєння розчину ФП він інактивуєся (рис. 4), що зумовлено низьким значенням рН (рис. 3).

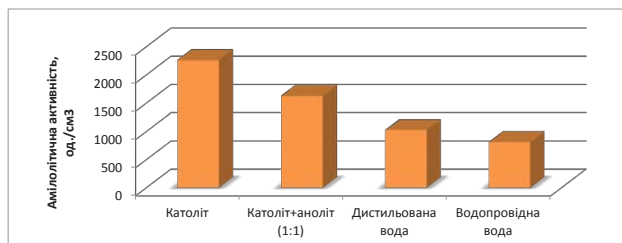


Рис. 4. Амілолітична активність Amylex 4T, де фермент приготуєний на основі: католіту, суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1, водопровідної води, дистильованої води (контроль)

Активність ферментного препарату, розведеного на католіті та суміші католіт+аноліт, є на 26,3% та 52,47% вищою у порівнянні з результатами, одержаними при приготуєнні субстрату на цих самих водах.

Висновки і пропозиції. У результаті проведених досліджень вивчено вплив католіту, аноліту, суміші католіт+аноліт у співвідношенні 1:1 та водопровідної води на амілолітичну активність ферментного препарату Amylex 4T. Згідно отриманих результатів доцільно використовувати католіт та суміш католіт+аноліт (1:1) як для приготуєння субстрату, так і розчину ферментного препарату Amylex 4T, оскільки це веде до підвищення його амілолітичної активності. Одержані результати можуть бути використані у технологіях, що передбачають біоконверсію крохмалевмісної сировини за участю амілаз. Варто продовжити дослідження у напрямку використання електроактивованої води у процесах ферментативного гідролізу полісахаридів, оскільки потребує детальнішого вивчення механізм впливу її на активність та стабільність амілаз.

Список літератури:

1. Шиян, П.Л. Інноваційні технології спиртової промисловості. Теорія і практика: [моногр.] / П. Л. Шиян, В. В. Сошницький, С. Т. Олійнічук. – К.: ВД «Асканія». – 2009. – 424 с.
2. Кунце, В. Технологія солода і пива : [моногр.] / В.Кунце, Г. Мит // Пер. с нем. – СПб.: Профессия. – 2001. – 912 с.
3. Фурсова, Т.И. Использование ферментных препаратов для получения гидролизатов крахмала различного состава / Т.И. Фурсова, О.С. Корнеева, С.В. Востриков // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2008. – № 3. – С. 18-21.
4. Цурикова, Н.В. Получение активного штамма *Bacillus licheniformis* – продуцента термостабильной α -амилазы / Н.В.Цурикова, Л.И.Нефедова, Е.В.Костилова и др. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – 38. – № 5. – С. 502-506.
5. Terashima, M. Modification of α -mylases functions by protein engineering / M.Terashima, S.Katoh // Ann.N.Y.Acad. Sci. – 1996. – 799. – P. 65-69.
6. Naki, G.D. Developments in industrially thermostable enzymes: a review / G.D. Naki, C.D. Rakshit // Biores. Technol. – 2003. – 89. – P.17-34.
7. Кубрак, О.І. Скринінг штамів *Bacillus* sp. – продуцентів термостабільної α -амілази / О.І. Кубрак, В.І.Луцак // Мікробіологічний журнал. – 2007. – Т. 69. – № 5. – С. 26-34.
8. Авдіук, К.В. Оптимізація умов культивування *Bacillus subtilis* 147 – продуцента α -амілази / К.В. Авдіук, Л.Д.Варбанець // Мікробіологічний журнал. – 2008. – Т. 70. – № 1. – С. 10-16.
9. Варбанець, Л.Д. Властивості α -амілази *Aspergillus* sp. 55 / Л.Д. Варбанець, К.В. Авдіук, Н.В. Борзова та ін. // Мікробіологічний журнал. – 2009. – Т. 71. – № 3. – С. 3-10.
10. Шиян, П.Л. Стабілізація амілолітичної активності ферментних препаратів під час термоферментативного оброблення зернових замісів / П.Л. Шиян, Д.О. Ткаченко, Л.В. Ткаченко // Обладнання та технології харчових виробництв: тематичний збірник наукових праць ДонНУЕТ. – 2012. – Вип. 28. – 77-81 с.
11. Колпак, С.В., Скропишева О.В., Гнідець В.П. Дослідження впливу технологічних умов на активність ферментів / С.В. Колпак, О.В. Скропишева, В.П. Гнідець // Східно-Європейський журнал передових технологій – 2012. – Вип. 2. – № 6(56). – С. 47-50.
12. Карпутіна, М. Фізичні методи обробки сировини / М. Карпутіна, В. Маринченко, В. Носенко // Харчова і переробна промисловість, 2006. – № 6. – С. 24-25.
13. Зубченко, В.С. Вплив магнітного поля на активність ферментних препаратів/ В.С. Зубченко, З.М. Романова, Л.В. Ткаченко, Л.В. Маринченко // Харчова промисловість. – 2005. – Вип. 4. – С. 129-130.
14. Голохваст, К.С. Перспективы использования электрохимической активации растворов /К.С. Голохваст, Д.С. Рыжков, В.В. Чайка, А.Н. Гульков // Вода: химия и экология. – 2011. – № 2. – С. 23-30.

Паляниця Л.Я., Березовская Н.И., Косив Р.В., Паньків Н.О.

Национальный университет «Львовская политехника»

АКТИВАЦІЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА AMYLEX 4T

Анотація

В работе исследовано влияние электрохимически активированной воды на амилолитическую активность ферментного препарата Amylex 4T. Установлено, что использование католита и смеси католит + анолит (1:1) как для приготовления субстрата, так и для приготовления раствора фермента ведет к повышению амилолитической активности ферментного препарата Amylex 4T по сравнению с контролем.

Ключевые слова: амилолитическая активность, активация, ферментный препарат, католит, анолит.

Palianytsia L.Ia., Berezovska N.I., Kosiv R.V., Pankiv N.O.

National University «Lviv Polytechnic»

ACTIVATION OF ENZYME PREPARATION AMYLEX 4T

Summary

In this paper the effect of electrochemically activated water on amylolytic enzyme activity Amylex 4T was investigated. It was established that the use of catholyte and mixture of anolyte+catholyte (1:1) as for substrate preparation and as for enzyme solution preparation leads to increased amylolytic activity Amylex 4T enzyme compared to control.

Keywords: amylase activity, activation, enzyme, catholyte, anolyte.