

**ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ ЗЕРНОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ ПРИ ПОМОЩИ  
ГИДРОЛАЗ *S. CEREVISIAE***

**ГИДРОЛАЗАЛАР *S. CEREVISIAE* КӨМЕГІМЕН ДӘНДІ ДАҚЫЛДАР ӨНЕРКӘСІБІ  
ҚАЛДЫҚТАРЫН ҚАЙТА ӨНДЕУ**

**PROCESSING OF WASTES OF GRAIN-GROWING INDUSTRY AT HELP  
OF HYDROLASE OF *S. CEREVISIAE***

*С.П. РЕШТА, Е.И. ДАНИЛОВА, М.Ж. КИЗАТОВА*

*S.P. RESHTA, O.I. DANYLOVA, M.ZH. KIZATOVA*

E-mail: georg-st@mail.ru

(Одесская национальная академия пищевых технологий,  
Алматынский технологический университет)

(Odessa National Academy of Food Technologies, Almaty Technological University)

*Намечены направления усовершенствования технологии комплексной переработки отходов зерновой промышленности с помощью комплекса гидролаз дрожжей *S. cerevisiae*, которые позволят в более полной мере использовать широкий спектр растительного сырья. Полученные данные можно использовать для улучшения технологии послеуборочной обработки зерновых культур во время лущения зерна, поскольку ферментные комплексы *S. cerevisiae* способны к разрыхлению оболочек зернового сырья, а невысокая температура обработки позволяет сохранить все ее биологически активные компоненты. Проведена оценка антиоксидантных свойств олигомеров растительного сырья, полученных при помощи комплекса гидролаз *S. cerevisiae*.*

*Өсімдік шикізатын кең ауқымда пайдалануға мүмкіндік беретін, *S. cerevisiae* ашытқы гидролазы кешенінің көмегімен дәнді дақылдар өнеркәсібінің қалдықтарын кешенді өңдеу технологиясын жетілдіру бағыты көрсетілген. Алынған мәліметтерді дәнді дақылдарды егуде топырақты жыртыу мерзімінде мәдени дақылдарды жинаудан кейінгі өңдеу технологиясын жақсарту үшін пайдалануға болады, яғни *S. cerevisiae* ферменттік кешені дәнді дақылдар шикізатының қабығын жұмсартуға қабілетті, ал төменгі температурада өңдеу оның барлық биологиялық компоненттерін сақтауға мүмкіндік береді. *S. cerevisiae* гидролаз кешенінің көмегімен алынған, өсімдіктік шикізатты олигомерлерге антиоксидантты қасиетін бағалау жүргізілді.*

*Outlined the directions of the improvement of integrated grain industry waste recycling technology with the help of hydrolase *S. cerevisiae* yeast complex, which will allow better use a wide range of plant materials. The obtained data can be used to improve post-harvest technology of crops during the shelling of grain, because enzyme complexes *S. cerevisiae* able to loosening skins of grain raw, and a low treatment temperature allows to keep all its biologically active components. An assessment of the antioxidant properties of oligomers plant material, obtained through a complex hydrolases *S. cerevisiae*, has been made.*

**Ключевые слова:** отходы зерновой промышленности, биотехнологическая переработка, *Saccharomyces cerevisiae*.

**Негізгі сөздер:** дәнді дақыл өнеркәсібінің қалдықтары, биотехнологиялық қайта өңдеу, *Saccharomyces cerevisiae*.

**Keywords:** wastes of grain-growing industry, biotechnological processing, *Saccharomyces cerevisiae*.

## **Введение**

Ученые, занимающиеся переработкой зерна и вопросами рационального питания, говорят о высокой биологической и пищевой ценности всех частей зерна и о недостаточном внимании людей к своему здоровью в тех случаях, когда исключаются из рациона питания так называемые побочные продукты мукомольных производств, содержащие ряд ценных компонентов [1-3], поэтому возникает необходимость пересмотреть действующую концепцию зернопереработки для более полного, комплексного использования всей сырьевой базы. Биотехнологическая переработка сырья предусматривает использование комплексных ферментных препаратов, содержащих гидролазы, способные превращать в олигомеры углеводы, белковые вещества и другие компоненты. Активный гидролитический комплекс присутствует в дрожжах *S. cerevisiae*. Более того, клеточные стенки дрожжей имеют в своем составе маннанолигосахариды, которые в желудочно-кишечном тракте эффективно связывают и абсорбируют различные патогенные микроорганизмы, включая *E. coli*, *Clostridium*, *Vibrio*, *Salmonella* и др., таким образом, снижается возможность возникновения инфекции, они являются эффективными сорбентами микотоксинов [4,5]. Дрожжевая биомасса – полноценный источник белковых веществ, витаминов, полисахаридов и микроэлементов, что позволяет рассматривать микроорганизмы как перспективные субстраты для получения биологически активных добавок, но питательная ценность дрожжевой биомассы ограничена низкой доступностью внутриклеточных биополимеров для действия пищеварительных ферментов и высоким содержанием нуклеиновых кислот. Для полноценного усвоения, как белковых веществ, так и комплекса полисахаридов, необходимо разрушить клеточные стенки дрожжей и перевести высокомолекулярные полимеры, содержащиеся в них, в растворимые легкоусвояемые соединения [4, 6, 7]. При этом возможно получение биологически активных веществ [8], однако необходимо не забывать и о необходимости денуклеинизации образцов. Деструкция дрожжевой клетки может быть осуществлена с помощью ферментативного катализа [9], при этом возможно получить ряд биологически активных добавок (БАД) комплексного действия. Известен ряд способов переработки растительного сырья [10-13], в т.ч. и зерновых

отходов, на кормовые белковые добавки. Термообработка и ферментативный гидролиз зерновых культур проводится при  $t = 65 \dots 90 \text{ }^\circ\text{C}$  с последующим выращиванием дрожжей. Но в большинстве публикаций отсутствует количественная оценка эффективности процессов, которая затрудняет выбор оптимальных вариантов. Авторами [10, 13] была исследована эффективность процесса ферментативного гидролиза зернового сырья различными ферментными препаратами: амилосубтилином, глюкавамоорином, целловиридином. Установлено, что перед ферментативным гидролизом зерновое сырье необходимо подвергнуть предварительной термообработке: соотношение твердой и жидкой фазы 1:5, гидролиз при температуре 80 - 100  $^\circ\text{C}$  на протяжении 1 часа. Оптимальные условия последующего ферментативного гидролиза зернового сырья с ферментными препаратами амилосубтилином, глюкавамоорином, целловиридином (температура 58...60 С, рН 5,0...6,0; время обработки 1,5 часа) обеспечивают высокую степень конверсии полисахаридов отрубей – 84 % и степень осахаривания 34...38 % [13].

Целью исследований является усовершенствование биотехнологии комплексной переработки отходов зерновой промышленности с помощью комплекса гидролаз дрожжей *S. cerevisiae*.

### **Объекты и методы исследования**

Культивирование дрожжей *S. cerevisiae* осуществляли на питательной среде, содержащей мелассу как источник сахаров, минеральные соли, при наличии источника селена – раствора селенистой кислоты или селенита натрия либо другой соли селена. Как источник сахаров дополнительно использовали гидролизат растительного сырья. Культивирование проводили при наличии твердого носителя – остатка после гидролиза углеводсодержащего сырья. Для получения гидролизатов были использованы отходы мукомольного и крупяного производства (отруби, пленки, мучка), которые обрабатывали сульфатной, хлороводородной, фосфорной, этановой кислотами с массовой долей кислоты 0,5...5 %. Содержание сахаров в гидролизате контролировали и замещали от 5 до 80 % мелассы на гидролизат.

Для роста дрожжей использовали соли в таком соотношении компонентов, масс. %:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,46...0,55;
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,08...0,09;

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,011...0,19;
MgSO <sub>4</sub>	0,045...0,055;
NaCl	0,001...0,015;
CaCl <sub>2</sub>	0,006...0,0154

селеновая кислота или селенит натрия  
либо другие соли селена 0,00002...0,00015;  
твердый углеводсодержащий остаток  
8,0...15,0;

гидролизат углеводсодержащего растительного субстрата до 100%.

Дрожжевую биомассу подвергали тепловой обработке (термолизу) для облегчения проведения ферментализации, поскольку термолизованные клетки [9] дрожжевой суспензии поддаются ферментализации намного легче. Плазмолитиз клеток осуществляли в присутствии хлористого натрия (на протяжении 2 ч при 50° С) для проведения автолиза либо гетеролиза.

Общий химический и биополимерный состав сырья, полученных БАД, содержание влаги, эфирорастворимых веществ, свободных сахаров, золы определяли общепринятыми методами [14]. Азотистые вещества фракционировали методом последовательной экстракции навески водой, соевым буферным раствором и раствором гидроксида натрия. Общий азот, а также азот белков отдельных фракций и белкового концентрата определяли методом Кьельдаля. Белковый азот – после осаждения его основной солью серноокислой меди по Барнштейну. Количество небелкового азота рассчитывали по разности между содержанием общего и белкового азота [14]. Чистоту изучаемых полисахаридов и олигосахаридов проверяли по постоянству соотношения моносахаров в гидролизате после переосаждения. Гомогенность доказывали гель-фильтрацией на сефадексах G-100, G-150, G-200 и ДЭАЭ-целлюлозе [15].

Для определения биологической активности (БА) [16] препаратов использовали расчет по формуле: 
$$BA = \frac{(A_0^D - A_{120}^D) \cdot V \cdot K}{(A_0^K - A_{120}^K) \cdot m}$$

где: БА – биологическая активность, усл. ед;

$A_0^D$  – исходная оптическая плотность опытного образца;

$A_{120}^D$  – оптическая плотность опытного образца через 120 с;

$A_0^K$  – исходная оптическая плотность контрольного образца;

$A_{120}^K$  – оптическая плотность

контрольного образца через 120 с;

$V$  – объем исследуемых проб, 10 см<sup>3</sup>;

$K$  – коэффициент разведения пробы (1:10)

$m$  – масса (объем) исследуемого образца.

### Результаты и их обсуждение

При выращивании дрожжей на гидролизате в присутствии твердой фазы достигается активация роста дрожжевой биомассы, становится возможным получение БАД с высоким содержанием белка, углеводов, минеральных веществ, в частности селена, биологически активных веществ. Важным является то, что дрожжи начинают интенсивно производить гидролазы, которые необходимы для снабжения углеводами в процессе жизнедеятельности микроорганизмов. Активация выработки гидролаз объясняется необходимостью переработки микроорганизмами твердого остатка, имеющегося в культуральной среде. Твердый остаток, отделенный после культивирования, промывали раствором хлорида натрия для уменьшения количества нуклеиновых кислот в целевом продукте, который после сушки можно использовать в качестве БАД, в том числе, при приготовлении теста. При этом свежеприготовленный препарат содержит живые клетки дрожжей, поэтому в хлебобулочных изделиях количество вносимых дрожжей уменьшают наполовину. В том случае, если препарат предназначен для хранения, его высушивают для повышения стабильности и обеззараживания при температуре 120-140 °С, при этом дрожжевые клетки гибнут, после центрифугирования либо фильтрации и отделения твердой массы получают высокобелковые добавки, пример состава которых приведен в табл. 1.

В надосадочной жидкости остается значительное число ферментов, аминокислот, сахаров (олигосахаридов) и других полезных компонентов, которые также возможно использовать как БАД. В связи с этим были проведены дополнительные исследования, связанные с разрушением клеточных стенок дрожжей для получения БАД, которые включают не только белковую, углеводную, микроэлементную, витаминную составляющие, но и олигомеры углеводов, пептиды, аминокислоты и другие биологически активные вещества (БАВ).

Динамика гидролиза дрожжевой биомассы в процессе автолиза и ферментативного гидролиза представлена на рис. 1. Как видно из приведенных данных, сначала накопление

редуцирующих веществ идет медленно, потом количество их быстро растет. То же можно сказать о накоплении азотистых веществ. При увеличении длительности процесса ферментативного гидролиза высокомолекулярных полимеров клетки происходит накопление

аминного азота и фракционный состав гидролизатов дрожжевой биомассы становится сложнее. Быстрее и в большей степени протекает гидролиз после предыдущего термолиза биомассы дрожжей, наименьшая деструкция полимеров происходит при автолизе.

Таблица 1 – Состав БАД с селеном и дрожжами

Вид углеводсодержащего растительного субстрата	Белковые вещества	Нерастворимые углеводы	Количество нуклеиновых кислот	Содержание селена в БАД, полученных при культивировании, мг/г $\cdot 10^{-3}$	
				в обычных условиях	в присутствии источника селена
1. Пшеничные отруби	21,4 ± 0,3	66,5 ± 0,5	1,2 ± 0,4	3,0 ± 0,1	5,3 ± 0,1
2. Овсяные отруби	23,6 ± 0,3	62,1 ± 0,4	1,6 ± 0,4	3,8 ± 0,1	6,2 ± 0,1
3. Отруби тритикале	21,9 ± 0,3	64,3 ± 0,4	1,1 ± 0,5	3,3 ± 0,1	5,4 ± 0,1
4. Оболочки сои	19,9 ± 0,3	63,7 ± 0,5	1,3 ± 0,5	4,2 ± 0,2	7,2 ± 0,1
5. Мучка сои	21,8 ± 0,3	62,1 ± 0,5	1,6 ± 0,3	4,5 ± 0,1	7,9 ± 0,1
6. Оболочки гороха	18,5 ± 0,3	61,6 ± 0,4	1,3 ± 0,4	3,9 ± 0,2	6,6 ± 0,1
7. Мучка гороха	19,5 ± 0,3	64,8 ± 0,6	1,6 ± 0,4	4,1 ± 0,1	6,5 ± 0,1

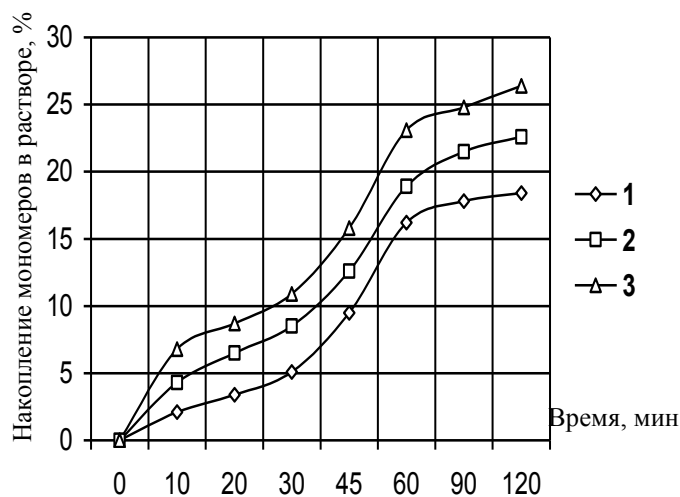


Рис. 1 – Динамика гидролиза дрожжевой биомассы в процессе автолиза и ферментативного гидролиза: 1 – автолиз; 2 – плазмолиз с ферментативным гидролизом; 3 – термолиз с ферментативным гидролизом

Необходимо отметить, что уже через 4 часа гидролиза высокомолекулярные биополимеры дрожжевой биомассы переходят в растворимое состояние и представляют собой

препарат, который отличается высоким содержанием аминокислот, пептидов, ферментов и может быть использован в качестве биологически активной добавки (рис. 2).

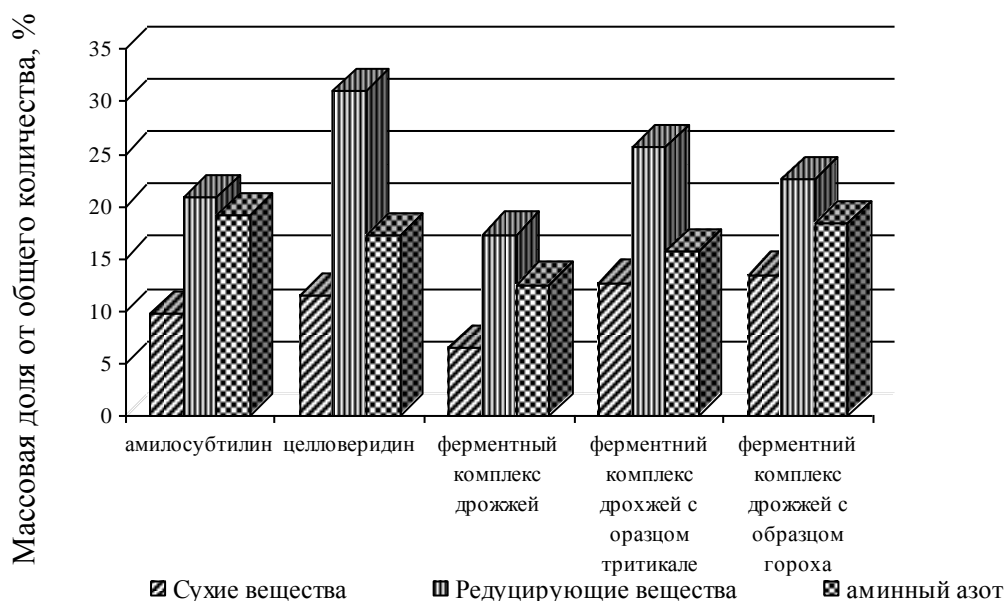


Рис. 2 – Влияние действия ферментных препаратов на накопление сухих веществ, аминного азота, редуцирующих веществ в образцах с добавлением твердого остатка отрубей тритикале и твердого остатка мучки гороха

Увеличение длительности ферментативного гидролиза до 36 часов позволяет увеличить часть пептидов с молекулярной массой 1500-5000, а часть низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот с молекулярной массой менее 1500 увеличивается в 2 раза (до 61 %) за счет гидролиза высокомолекулярных пептидов (рис. 3). Это дает возможность получить препарат с высоким

содержанием свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов. Таким образом, для обеспечения необходимой степени и глубины гидролиза биополимеров дрожжевых клеток достаточно варьировать длительностью процесса и дозированием ферментов. В итоге была разработана схема ферментализации микробной биомассы с получением препаратов разного функционального назначения.

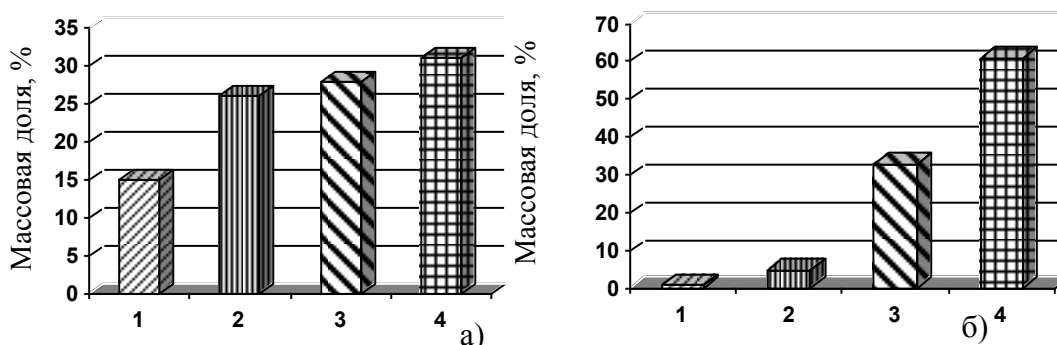


Рис. 3 - Фракционный состав ферментализатов дрожжевой биомассы после 18 ч (а) и 36 ч (б) гидролиза. Молекулярная масса (Да) : 1 - больше 10000; 2 - от 5000 до 10000; 3 - от 1500 до 5000; 4 - менее 1500

В процессе гидролиза параллельно наблюдается прохождение двух процессов:

гидролиз  $\beta$ -глюкана клеточной стенки с образованием олигомерных форм глюкоолиго-

сахаридов и их гидролиз с накоплением мономера глюкозы. Этот процесс достаточно эффективно идет на протяжении 5-6 часов в случае экстрактов - количество олигомерных форм глюкозы уменьшается за это время с 5,6-6,1% до 1,4-1,8%. Скорость процесса уменьшается при иммобилизации комплекса на твердом остатке - пищевых волокнах (ПВ) приблизительно на 21-25 %, но при увеличении времени деструкции до 24 часов количество олигомеров в растворе уменьшается до незначительных количеств - 0,6-0,8 %.

Таким образом, в результате автолиза возможно получение активированного препарата, содержащего частично гидролизованные

клеточные стенки, в составе которых преобладают  $\beta$ -глюканы, манноолигосахариды, присутствуют аминокислоты, низкомолекулярные пептиды, витамины.

На следующем этапе исследования определяли антиоксидантные свойства препарата для подтверждения возможности использовать его как БАД. Полученные в результате расчетов данные приведены в табл.2. Самыми эффективными антиоксидантами оказались препараты из мучки бобовых, немного меньше активность у препаратов из оболочек бобовых, далее – овсяные отруби, а у пшеничных отрубей и отрубей тритикале значения антиоксидантных свойств были близкими.

**Таблица 2 – Биологическая активность образцов препаратов**

Вид углеводсодержащего носителя	Биологическая активность, усл.ед
1. Пшеничные отруби	950
2. Овсяные отруби	1000
3. Отруби тритикале	940
4. Оболочки сои	1050
5. Мучка сои	1120
6. Оболочки гороха	1100
7. Мучка гороха	1150

Необходимо отметить, что сушка, хранение препарата, содержащего гидролитический комплекс ферментов, продукты деструкции дрожжей и растительного сырья – отходов зерноперерабатывающей промышленности, требуют особых условий, потому осуществлено получение препарата путем иммобилизации на ПВ, поскольку в этом случае стабильность комплексов выше.

Во время высушивания под действием температуры и влаги происходит частичный гидролиз компонентов препарата и ПВ с образованием моно-, ди-, олигосахаридов, которые повышают биологическую ценность добавки и в определенной степени уменьшается ферментативная активность иммобилизованных на ПВ комплексов (на 28...35%). Необходимо отметить, что благодаря иммобилизации на ПВ препарат получает стойкость и стабильность при хранении, поскольку гидролитическая активность комплекса практически не изменяется в течение 3 месяцев хранения. Результаты предварительных исследований позволяют считать целесообразным проведение определенного ряда операций, направленных на получение БАД с

полиферментной активностью.

Позитивное влияние, которое оказывают пищевые добавки на здоровье человека, их способность улучшить качество продуктов и напитков, ставит задачу дальнейшего изучения и совершенствования технологии получения новых препаратов до состояния технологической инновации, что представляется как экономически, так и социально целесообразным. Использование препаратов, имеющих антиоксидантные свойства в составе продуктов или как самостоятельные БАД позволит повысить потребительскую ценность продуктов благодаря гармонизации и усвояемости пищевых ингредиентов, что важно для всех видов продуктов и напитков, а также расширит ассортимент новых лечебно-профилактических продуктов на основе отходов зерновых производств.

#### **Заключение**

Позитивное влияние, которое оказывают пищевые добавки на здоровье человека, их способность улучшить качество продуктов и напитков, предопределяет задачи для дальнейшего изучения и совершенствования

технологии получения новых препаратов и доведения технологии до состояния технологической инновации, что представляется как экономически, так и социально целесообразным. Использование препаратов, имеющих антиоксидантные свойства, в составе продуктов питания или в виде самостоятельных БАД позволит повысить потребительскую ценность рационов питания населения благодаря гармонизации и повышению усвояемости пищевых ингредиентов, что важно для всех видов продуктов и напитков, а также способствует расширению ассортимента новых лечебно-профилактических продуктов на основе отходов зерновых производств.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Halvorsen, B.L. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants / B.L. Halvorsen, K. Holte, M.C.W. Myhrstad et al. // J. Nutr. 2002. - Vol. 132. - № 3. - P. 461-471.
2. Хотимченко Ю.С., Хасина Э.И., Ковалев В.В. и др. Эффективность пищевых некрахмальных полисахаридов при экспериментальном токсическом гепатите. // Вопр. питания. - 2006. - Т. 69 - № 1-2. - С. 22-26.
3. Капрельянц Л.В., Юргачова К.Г. Функціональні продукти. - О.: Б.И., 2003. - 312 с.
4. Иванова И.С. Разработка технологии биологически активной добавки к пище в виде белково-углеводного концентрата из биомассы хлебопекарных дрожжей: автореф. дис... канд. техн. наук, - М., 2003. - 21 с.
5. Ахмадышин Р.А. Получение энтеросорбента микотоксинов из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: дисс. ... канд. техн. наук. - Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т биол. пром-сти. - Щёлково, 2008. - 163 с.
6. Доценко О.Н. Садова В.В. Функционально-технологические характеристики белкового продукта дрожжевой биомассы // Известия вузов. Пищевые технологии. - 2002. - №2. - С.25
7. Юскина О.Н. Разработка биотехнологического способа получения препарата белка из биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на основе направленного гидролиза клеточных стенок: дисс... канд. биол. наук.- Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности. - Кашинцево, 2008. - 190 с.
8. Сеницкая Н.С. Нуклеопротеиновые комплексы дрожжей: получение и характеристика: дисс. ... канд. биол. наук. - СПб, 2000. - 132 с.
9. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Серба Е.М. и др. Использование комплексного препарата Амилопротооризин КФПА для энзиматического гидролиза дрожжевой биомассы // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2002. - № 1. - С.39-41
10. Бутова С.Н. Биотехнологическая деградация отходов растительного сырья. - М.: Россельхозакадемия, 2004. - 320 с.
11. Сушкова В.И., А.В. Баранова Исследование оптимальных параметров процесса сернокислотного гидролиза некондиционного зерна // Химическая технология. - 2004. - №1. - С.23-27.
12. Сушкова В.И. Оптимизация режимов переработки водной пульпы отрубей на кормовую белковую добавку // Кормопроизводство - 2004. - № 2. - С.28-32
13. Сушкова В.И., Воробьева Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества. - Киров, 2007. - 204 с.
14. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И. и др. Методы биохимического исследования растений. - М.: Лесная пром-сть, 1976. - 272 с.
15. Экспериментальные методы в адсорбции и молекулярной хроматографии / Под ред. Ю.С.Никитина, Р.С.Петровой.- М.: Изд-во МГУ, 1990. - 318 с.
16. Патент 72552 Україна, МПК G01N 33/00 Спосіб визначення біологічної активності об'єктів природного походження [Текст] /Хоміч Г.П., Капрельянц Л.В., Осипова Л.А., Лозовська Т.С.; власник: ОНАХТ. - № u201200333; заявл. 11.01.12. Опубл.27.08.12, Бюл. № 16.

