

Научная статья/Research Article

УДК 663.2

DOI: 10.36718/1819-4036-2024-8-172-178

Рухсара Магомедовна Мартазанова^{1✉}, Айна Гаруновна Акталиева²,

Али Хасмагоматович Саламов³

^{1,2,3}Ингушский государственный университет, Магас, Республика Ингушетия, Россия

¹r.martazanova@inbox.ru

²baga@inbox.ru

³a.salamov2015@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И СОСТАВА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СИСТЕМ, НЕОБХОДИМЫХ ДЛЯ ГИДРОЛИЗА БИОПОЛИМЕРОВ ПЛОДОВО-ЯГОДНОГО СЫРЬЯ

Цель исследования – скрининг активных мультиэнзимных систем, гидролизующих полимеры растительного сырья. Современные технологии производства вина ориентированы на сохранение свежих, фруктовых ароматов. Для этого обработка винограда, включая его сбор, проводится при как можно более низкой температуре. Теплое сусло значительно активнее взаимодействует с кислородом воздуха, окисляясь и теряя свежесть. Приведенные в статье данные исследуемого плодово-ягодного сырья свидетельствуют о том, что наряду с ферментами пектолитического комплекса должны применяться также ферменты целлюлолитического, гемицеллюлазного и протеолитического действия. В качестве объекта исследования были использованы Пектофоетидин П10Х (*Asp. Foetidus*), Мацеробациллин (*Bacillus circulans*), Пектинекс I (*Asp. niger*), Фруктоцим А (*Asp. niger*) как ферменты, воздействующие на пектиновые вещества в различных ферментных комплексах. Для улучшения качества соков и экстрактов использован метод ферментативной обработки, а также применение различных физико-химических методов позволил снизить риск образования помутнений и значительно увеличить выход продукции. Рассматривая соотношение ферментных активностей в ферментных препаратах пектолитического действия, можно отметить высокое содержание пектинэстеразы в препарате Фруктоцим А, полигалактуроназы – Пектофоетидин П10х и Пектинекс I. Установлено, что наиболее результативными из тестируемых пектолитических ФП оказались препараты, в составе пектолитического комплекса которых преобладает фермент пектинэстеразного действия и отмечается содержание высокоактивного полигалактуроназного целлюлазного комплекса ферментов (Фруктоцим А, Пектинекс). Наименее эффективным оказался препарат с наиболее низким содержанием пектинэстеразы (Пектофоетидин). Исследования по применению ФП с направленными целлюлолитической, ксиланолитической, β -глюканазной и протеолитической активностями показали, что лучшие результаты по выходу сока обеспечивал вариант, где гидролиз сырья осуществляли препаратом с преобладающей β -глюканазной и ксиланазной активностью.

Ключевые слова: биотехнология, ферменты, полуфабрикаты, пектолитический комплекс

Для цитирования: Мартазанова Р.М., Акталиева А.Г., Саламов А.Х. Исследование ферментативной активности и состава ферментативных систем, необходимых для гидролиза биополимеров плодово-ягодного сырья // Вестник КрасГАУ. 2024. № 8. С. 172–178. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-8-172-178.

Rukhsara Magomedovna Martazanova^{1✉}, Aina Garunovna Aktalieva²,

Ali Khasmagometovich Salamov³

1,2,3Ingush State University, Magas, Republic of Ingushetia, Russia

¹r.martazanova@inbox.ru

²baga@inbox.ru

³a.salamov2015@mail.ru

STUDY OF ENZYMATIC ACTIVITY AND ENZYMATIC SYSTEMS COMPOSITION REQUIRED FOR BIOPOLYMERS HYDROLYSIS OF FRUIT AND BERRY RAW MATERIALS

The aim of the study is to screen active multienzyme systems that hydrolyze polymers of plant materials. Modern wine production technologies are focused on preserving fresh, fruity aromas. For this purpose, grape processing, including its harvesting, is carried out at the lowest possible temperature. Warm must interacts with atmospheric oxygen much more actively, oxidizing and losing freshness. The data on the studied fruit and berry raw materials presented in the paper indicate that along with the enzymes of the pectolytic complex, enzymes of cellulolytic, hemicellulase and proteolytic action should also be used. Pectofetidin P10X (Asp. Foetidus), Macerobacillin (Bacillus circulans), Pectinex I (Asp. niger), Fructocyme A (Asp. niger) were used as the object of the study as enzymes affecting pectin substances in various enzyme complexes. To improve the quality of juices and extracts, the method of enzymatic processing was used, and the use of various physical and chemical methods made it possible to reduce the risk of cloudiness and significantly increase the yield of products. Considering the ratio of enzyme activities in enzyme preparations of pectolytic action, it is possible to note the high content of pectinesterase in the preparation Fruktozyme A, polygalacturonase – Pectofetidin P10x and Pectinex I. It was established that the most effective of the tested pectolytic EPs were preparations in the pectolytic complex of which the enzyme of pectinesterase action predominates and the content of highly active polygalacturonase cellulase enzyme complex (Fruktozyme A, Pectinex) is noted. The least effective was the preparation with the lowest content of pectinesterase (Pectofetidin). Studies on the use of FP with targeted cellulolytic, xylanolytic, β -glucanase and proteolytic activities showed that the best results in terms of juice yield were provided by the variant where the hydrolysis of the raw material was carried out by a preparation with predominant β -glucanase and xylanase activity.

Keywords: biotechnology, enzymes, semi-finished products, pectolytic complex

For citation: Martazanova R.M., Aktalieva A.G., Salamov A.Kh. Study of enzymatic activity and enzymatic systems composition required for biopolymers hydrolysis of fruit and berry raw materials // Bulliten KrasSAU. 2024;(8): 172–178 (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2024-8-172-178.

Введение. Повышение рентабельности производства и создание высококачественной и конкурентоспособной винодельческой продукции в настоящее время является одним из важных аспектов развития виноделия. Разработка современных биотехнологических способов переработки плодово-ягодного сырья, обеспечивающих интенсификацию процессов получения сока, повышение выхода и качества готовой продукции, является актуальным и перспективным направлением.

Для получения высокого качества суслу и плодовых соков важная роль принадлежит обработке сырья ферментами [1].

С целью повышения эффективности воздействия ферментативных систем на процесс их

приготовления проведен анализ физико-химических показателей используемого сырья (табл. 1).

Важным показателем плодово-ягодного сырья является содержание в них коллоидов: пектиновых и белковых полимеров. Так как переход этих веществ в полуфабрикаты и затем в напитки определяет их фильтруемость и стабильность при хранении.

Для получения высокого качества виноматериалов в виде плодовых соков важная роль принадлежит обработке сырья ферментами. Приведенные в статье данные исследуемого плодово-ягодного сырья свидетельствуют о том, что наряду с ферментами пектолитического комплекса должны применяться также фермен-

ты целлюлолитического, гемицеллюлазного и протеолитического действия [2].

Традиционно используемое сырье содержит такие высокомолекулярные компоненты, как протопектин, полисахариды, белковые вещества, которые приводят к повышению вязкости и создают трудности в обеспечении оптимального выхода и качества соков и экстрактов. Их ферментативная обработка, а также применение различных физико-химических методов позволит снизить риск образования помутнений и значительно увеличить выход продукции.

Цель исследования – скрининг активных мультиэнзимных систем, гидролизующих биополимеры плодово-ягодного сырья.

Объекты, методы, результаты исследования и их обсуждение. Для устранения нега-

тивных факторов, снижающих качество готовой продукции, также проведен скрининг эффективных ферментативных систем пектолитического, амилолитического, протеолитического и целлюлолитического действия, осуществляющих гидролиз полимеров растительного сырья [3].

Анализ некоторых ферментных препаратов (ФП) показывает наличие широкого спектра мультиэнзимных комплексов, необходимых для обработки высокомолекулярных полимеров плодово-ягодного сырья.

В таблице 1 представлен состав ферментов, входящих в комплекс пектиназ, в том числе: пектинэстераза (ПЭС), эндо-полигалактуроназа (ПГС), пектатлиаза (ПЛС).

Таблица 1

Состав ферментов, воздействующих на пектиновые вещества в различных ферментных комплексах

Препарат	Состав ферментного комплекса в препаратах (ферментативные активности), ед/г (ед/см ³)			
	ПкС	ПЭС	Эндо-ПГС	ПЛС
Пектофоетидин П10Х (Asp. Foetidus)	90,5	119	44,0	Следы
Мацеробациллин (Bacillus circulans)	0	0	следы	48400/5950
Пектинекс I (Asp. niger)	65,8	79,1	32,6	Следы
Фруктоцим А (Asp. niger)	24,8	500	22,2	Следы

Примечание: для жидких препаратов активность указана в единицах на 1 см³ препарата.

Рассматривая соотношение ферментных активностей в ферментных препаратах пектолитического действия, можно отметить высокое содержание пектинэстеразы в препарате «Фруктоцим А», полигалактуроназы – «Пектофоетидин П10х» и «Пектинекс». Анализируя наличие ферментов, воздействующих на полисахариды и белковые вещества, хотелось бы отметить, что присутствие α -амилазы и протеаз в пектолитических препаратах отмечается как следовые количества, ксиланазы – 0,3–0,7 ед. КС на 1 едПкС препарата; наиболее высокая целлюлолитическая активность в препарате «Фруктоцим А» (15,5 ед. ЦС на 1 едПкС препарата) [4].

В свою очередь, препараты, основная направленность действия которых – гидролиз целлюлозы, гемицеллюлозы, белковых и крахмалистых веществ, содержат низкие активности ферментов, воздействующих на пектиновые вещества, наиболее высокое содержание пектолитической активности наблюдается в КС- и ЦС-КС-комплексах.

Из вышесказанного следует, что исследуемые ферментные препараты имеют отличия в специфичности действия на растительные субстраты.

В результате проведенных исследований получены экспериментальные данные для дальнейшей работы с целью выявления меха-

низма действия ферментов на полимеры сырья и подбора комплексной ферментативной системы для оптимизации процессов мацерации и гидролиза наиболее широко применяемого плодово-ягодного сырья для повышения эффективности производства, качества и стабильности винодельческой продукции.

Также известно, что ФП могут использоваться как на стадии измельчения плодов, так и на стадии отстаивания сусла. В настоящих исследованиях ферментные препараты добавляли в предварительно измельченную мезгу, дозируя ферментные препараты по общей пектолитической активности [3, 5].

Смесь инкубировали в термостате, затем фильтровали и определяли выход сока, образующегося самотеком в течение 15 минут, в зависимости от испытуемого препарата. В фильтрате определяли необходимые органолептические и физико-химические показатели: концентрацию растворимых сухих веществ, вязкость сусла, содержание органических кислот, содержание общих фенольных веществ, редуцирующие сахара. Так как общая кислотность, отражающая суммарное содержание кислот, не может характеризовать сенсорное восприятие, в качестве показателя вкусового порога принимали концентрацию ионов водорода. При низком

значении рН фенольные соединения более устойчивы к окислению, а о-дифенолоксидаза имеет пониженную активность [6]. Следовательно, со снижением значения водородного показателя и увеличением кислотности среды затрудняется процесс окисления фенольных веществ и, как следствие, снижается вероятность образования помутнения фенольного характера.

С целью изучения воздействия ферментных препаратов непосредственно на яблочное сырье на первом этапе работы исследовали эффективность действия пектолитических препаратов. Были выбраны следующие пектиназные комплексы:

- «Фруктоцим А» – препарат с высокой пектинэстеразной (ПЭС) и целлюлолитической (ЦС) активностью;
- «Пектинекс» – источник полигалактуроназы (ПГС), пектинэстеразы (ПЭС) и целлюлазы (ЦС);
- «Пектофоетидин» – ФП отечественного производства – источник полигалактуроназы и пектинэстеразы.

Результаты эксперимента по влиянию различных пектолитических препаратов на выход (самотеком) яблочного сока представлены на рисунке 1 и в таблице 2.

Таблица 2

Соотношение ферментов пектолитического и целлюлазного действия в составе ферментного комплекса препаратов

Препарат	Общая пектолитическая активность	Пектин-эстеразная активность	Эндополигалактуроназная активность	Целлюлолитическая активность
Пектофоетидин	1	1,3	0,5	1,17
Пектинекс	1	1,2	0,5	2,6
Фруктоцим А	1	20,0	0,9	15,0

Установлено, что наиболее результативными из тестируемых пектолитических ФП оказались препараты, в составе пектолитического комплекса которых преобладает фермент пектинэстеразного действия и отмечается содержание высокоактивного полигалактуроназного целлюлазного комплекса ферментов («Фруктоцим А», «Пектинекс»). Наименее эффективным оказался препарат с наиболее низким содержанием пектинэстеразы («Пектофоетидин»). Так, при

дозировке 0,4 ед. ПкС/100 г мезги выход сока-самотека составил 30 и 32 см³ при использовании препаратов «Пектинекс» и «Фруктоцим А» соответственно. Использование для гидролиза яблочной массы «Пектофоетидина» при аналогичной дозировке (0,4 ед. ПкС/100 г сырья) привело к выходу сока до 22,0 см³, и только при увеличении дозировки до 1,4–2,0 ед. ПкС/100 г мезги выход сока-самотека достигал максимального значения и составил 30–32 см³ [4, 7].

Установленный эффект воздействия ферментативных систем на яблочное сырье можно объяснить также различным содержанием сопутствующих ферментов в препаратах. Так, например, при дозировке 1,0 ед. ПкС препарат «Фруктоцим А» содержит 20,0 ед. ПЭС активности, 0,9 ед. ПгС и 15,0 ед. ЦС. В то время как в составе «Пектофоеидина» на то же количество общей пектолитической активности (1,0 ед. ПкС) приходится меньше в 15 раз ПЭС (1,3 ед.), в 1,8 раза ПгС (0,5 ед.), в 12,8 раза ЦС (1,17 ед.) [8].

Так как плодородное сырье наряду с пектиновыми веществами содержит гемицеллюлозы, клетчатку, белок, крахмал, то, по-видимому, целесообразно дополнительно включать в состав

комплекса ферменты, расщепляющие эти вещества. В качестве источников ферментов использовали:

- Целловиридин (целлюлаза) – с преобладающей ЦС активностью;
- Ксибетенсил (ксилаза) – с преобладающей КС активностью;
- Брюзайм (глюканаза) – с преобладающей КС и β -ГКС активностью;
- Амилопротооризин (протеаза) – как источник ПС и АС активностей.

Результаты исследований представлены на рисунке 2 и в таблице 2.

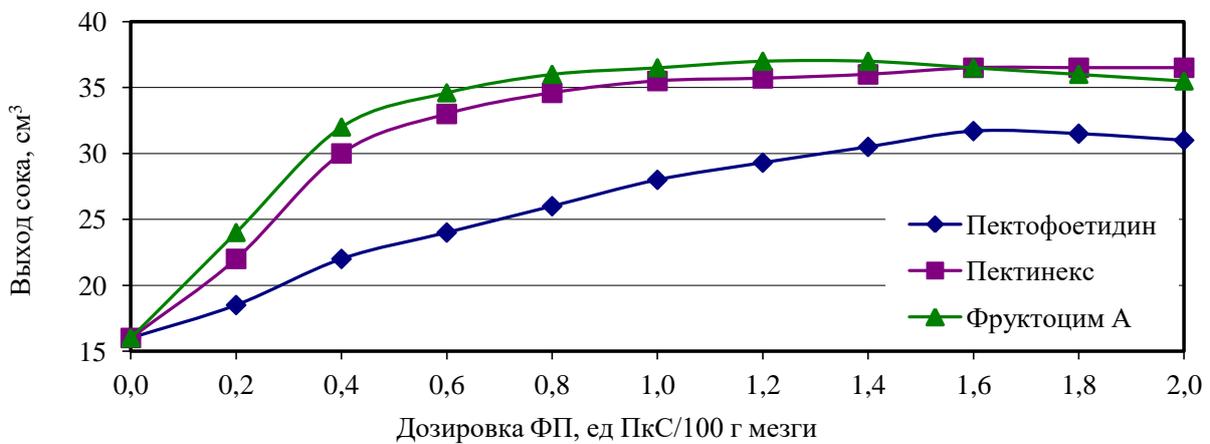


Рис. 1. Влияние ФП пектолитического действия на сокоотдачу яблочной мезги

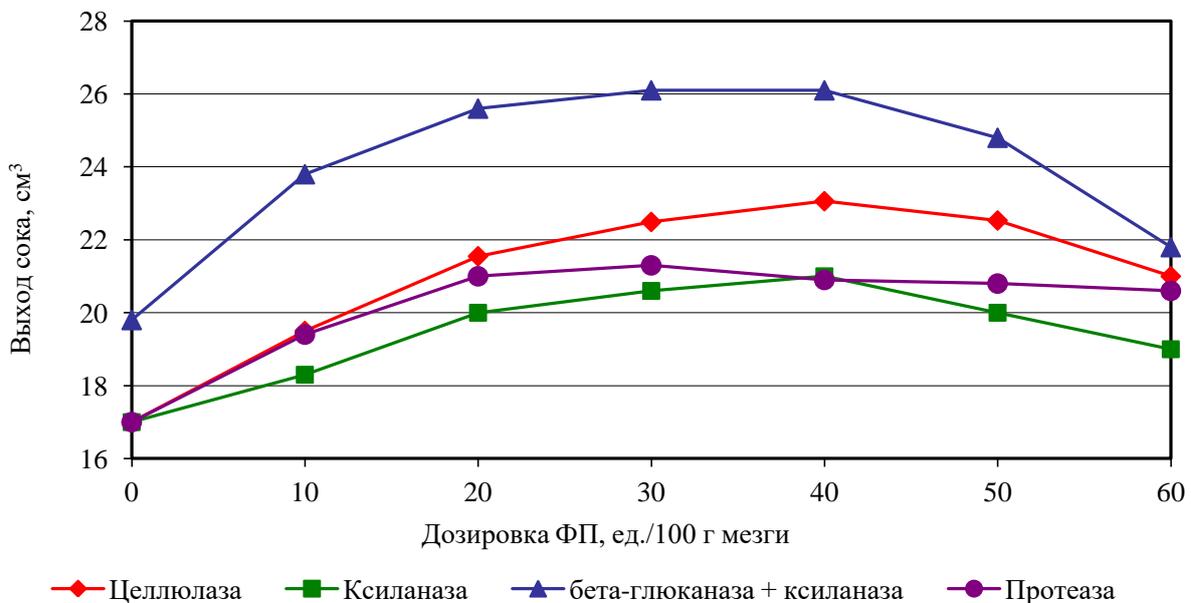


Рис. 2. Влияние ферментов целлюлолитического и гемицеллюлазного действия на сокоотдачу яблочной мезги

Заключение. Исследования по применению ФП с направленными целлюлолитической, ксиланолитической, β -глюканазной и протеолитической активностями показали, что лучшие результаты по выходу сока обеспечивал вариант, где гидролиз сырья осуществляли препаратом с преобладающей β -глюканазной и ксиланазной активностью [9]. Рациональная дозировка препарата составила 20 ед. β -ГКС на 100 г мезги и позволила увеличить выход сока-самотека с 17 см³ (контрольный образец) до 23,8 см³. Дальнейшее увеличение дозировки приводило к незначительному повышению выхода (до 26 см³ при дозировке 40 ед. ГКС на 100 г мезги). Применение целлюлаз позволило увеличить выход сока-самотека до 24,7 см³ при дозировке 50 ед. ЦС на 100 г мезги. Наименее эффективным оказалось действие ксиланолитических и протеолитических ферментов, при этом выход сока составлял в среднем 21 см³.

Список источников

1. Пища // Большая советская энциклопедия. М.: Большая советская энциклопедия, 1955. Т. 33. С. 132.
2. *Thierry and Thomash, Mark R.* Historical Origins and Genetic Diversity of Wine Grapes (англ.) // *Trends in Genetics* (англ.) рус.: journal. Cell Press, 2006. Vol. 22, no. 9. P. 511–519. DOI:10.1016/j.tig.2006.07.008.
3. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia (англ.) / F. Vouillamoz José [et al.] // *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization: journal.* Cambridge University Press, 2006. Vol. 4, № 02. P. 144–158.
4. *McGovern P.E., Fleming S.J., Katz S.H.* The Origins and Ancient History of Wine. 1996. Overseas Publishers Association. 430 p.
5. History of Popularity of Wine &124; Wine Tasting (англ.), Tasting Wine – Everything you Need to Know About Wine. Архивировано 16 октября 2017 года. Дата обращения: 17 ноября 2018.
6. *Джеймс П., Торп Н.* Древние изобретения. Минск, 1997. 401 с.
7. *Ловчев В.М.* Египет: производство и потребление алкогольных изделий // *Вестник*

- Казанского технологического ун-та. 2013. № 2. С. 237–241.
8. *Ловчев В.М.* Проалкогольные и антиалкогольные традиции в европейской культуре: становление и современные социокультурные практики: дис. ... д-ра истор. наук. Казань, 2013.
9. *Giacosa I.G.* A Taste of Ancient Rome. University of Chicago Press, 1994. 191 p. ISBN 0-226-29032-8.

References

1. *Pischa // Bol'shaya sovetskaya `enciklopediya.* М.: Bol'shaya sovetskaya `enciklopediya, 1955. Т. 33. С. 132.
2. *Thierry and Thomash, Mark R.* Historical Origins and Genetic Diversity of Wine Grapes (англ.) // *Trends in Genetics* (англ.) rus.: journal. Cell Press, 2006. Vol. 22, no. 9. P. 511–519. DOI:10.1016/j.tig.2006.07.008.
3. Genetic characterization and relationships of traditional grape cultivars from Transcaucasia and Anatolia (англ.) / F. Vouillamoz José [et al.] // *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization: journal.* Cambridge University Press, 2006. Vol. 4, № 02. P. 144–158.
4. *McGovern P.E., Fleming S.J., Katz S.H.* The Origins and Ancient History of Wine. 1996. Overseas Publishers Association. 430 p.
5. History of Popularity of Wine &124; Wine Tasting (англ.), Tasting Wine - Everything you Need to Know About Wine. Архивировано 16 oktyabrya 2017 goda. Data obrascheniya: 17 noyabrya 2018.
6. *Dzhejms P., Torp N.* Drevnie izobreteniya. Minsk, 1997. 401 s.
7. *Lovchev V.M.* Egipet: proizvodstvo i potreblenie alkogol'nyh izdelij // *Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo un-ta.* 2013. № 2. С. 237–241.
8. *Lovchev V.M.* Proalkogol'nye i antialkogol'nye tradicii v evropejskoj kul'ture: stanovlenie i sovremennye sociokul'turnye praktiki: dis. ... d-ra istor. nauk. Kazan', 2013.
9. *Giacosa I.G.* A Taste of Ancient Rome. University of Chicago Press, 1994. 191 p. ISBN 0-226-29032-8.

Информация об авторах:

Рухсара Магомедовна Мартазанова¹, доцент кафедры химии, кандидат технических наук, доцент
Айна Гаруновна Акталиева², доцент кафедры химии, кандидат химических наук, доцент
Али Хасмагометович Саламов³, исполняющий обязанности заведующего кафедрой, профессор
кафедры химии, кандидат педагогических наук, доцент

Information about the authors:

Rukhsara Magomedovna Martazanova¹, Associate Professor at the Department of Chemistry, Candidate of Technical Sciences, Docent
Aina Garunovna Aktalieva², Associate Professor at the Department of Chemistry, Candidate of Chemical Sciences, Docent
Ali Khasmagometovich Salamov³, Acting Head of Department, Professor at the Department of Chemistry, Candidate of Pedagogical Sciences, Docent

