

Научная статья
УДК 663.533
doi: 10.55196/2411-3492-2023-4-42-158-165

Определение оптимальных значений реакции среды при осахаривании крахмалистых заторов культурой *Aspergillus oryzae*

Ольга Константиновна Цагоева^{✉1}, Мадина Борисовна Хоконова²,
Валерий Андреевич Волков³

Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В. М. Кокова, проспект
Ленина, 1в, Нальчик, Россия, 360030

^{✉1}tsagoeva123@yandex.ru

²dinakbgsha77@mail.ru, [https:// orcid.org/0000-0003-2791-311X](https://orcid.org/0000-0003-2791-311X)

³kapa0210@yandex.ru

Аннотация. Данная работа посвящена выявлению оптимальных значений реакции среды при осахаривании крахмалистых заторов культурой *Aspergillus oryzae*. При повышении температуры от 30° до 50°С оптимальные зоны рН амилолитической (АС) практически не изменяются, а осахаривающей (ОС) и декстринолитической (ДС) сдвигаются в щелочную сторону. Оптимальные значения всех трех показателей достигались при следующих условиях: температура 30°С, рН 4,7; температура 50°С, рН 5,0. В начальный момент снижение рН с 6,5 до 5,0 существенно не сказывается на активности α -амилазы. Через 72 ч при рН 5,0 АС уменьшается до 58% от ее максимального значения, а при рН 4,5 до 14%. При рН 4,5 наступает довольно резкая инактивация α -амилазы. Присутствие в ферментативном комплексе препарата ферментов, расщепляющих гемицеллюлозы, клетчатку, пентозаны, способствует переходу в раствор некоторого количества веществ, не сбраживаемых дрожжами и повышающих отброд в зрелых бражках. Приведенные данные указывают, что оптимум стабильности лежит в более щелочной зоне, чем оптимум активности. Поэтому оптимальные значения рН при различной продолжительности воздействия ферментов должны выбираться, исходя из целесообразного сочетания их активности и стабильности. В осахаривателе, где затор подвергается кратковременному воздействию ферментов, целесообразно максимально использовать активность α -амилазы и поддерживать рН затора в пределах 5,0-5,1 при температуре 50-55°С. Установлено, что условия осахаривания пшеничных заторов солодом и ферментным препаратом зависят от плотности бражки. Начальная плотность бражки при осахаривании ферментным препаратом и солодом составляет соответственно 8,2 против 10,8. При использовании *Aspergillus oryzae* и повышении температуры от 30° до 50°С оптимальные зоны рН АС практически не изменяются, а ОС и ДС сдвигаются в щелочную сторону. Оптимальные значения всех трех показателей достигались при следующих условиях: температура 30°С, рН 4,7; температура 50°С, рН 5,0.

Ключевые слова: спиртовое производство, *Aspergillus oryzae*, осахаривание, реакция среды, температура, активность ферментов

Для цитирования. Цагоева О. К., Хоконова М. Б., Волков В. А. Определение оптимальных значений реакции среды при осахаривании крахмалистых заторов культурой *Aspergillus oryzae* // Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В. М. Кокова. 2023. № 4(42). С. 158–165. doi: 10.55196/2411-3492-2023-4-42-158-165

Original article

Identification of optimal values of the medium reaction during saccharification of starchy mashes with *Aspergillus oryzae* culture

Olga K. Tsagoeva^{✉1}, Madina B. Khokonova², Valery A. Volkov³

Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov, 1v Lenin Avenue, Nalchik, Russia, 360030

^{✉1}tsagoeva123@yandex.ru

²dinakbgsha77@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2791-311X>

³kapa0210@yandex.ru

Abstract. This work is devoted to identifying the optimal values of the medium reaction during the saccharification of starchy mashes with the *Aspergillus oryzae* culture. With an increase of temperature from 30° to 50°C, the optimal pH zones of the amylolytic (AC) practically do not change, while the saccharifying (OS) and dextrinolytic (DS) zones shift to the alkaline side. The optimal values of all three indicators were achieved under the following conditions: temperature 30°C, pH 4,7; temperature 50°C, pH 5,0. At the initial moment, a decrease in pH from 6,5 to 5,0 does not significantly affect the activity of α -amylase. After 72 hours at pH 5,0, AC decreases to 58% of its maximum value, and at pH 4,5 to 14%. At pH 4,5, a rather sharp inactivation of α -amylase occurs. The presence in the enzymatic complex of the preparation of enzymes that break down hemicelluloses, fiber, pentosans, promotes the transition into solution of a certain amount of substances that are not fermentable by yeast and increase waste in mature mash. The data presented indicate that the stability optimum lies in a more alkaline zone than the activity optimum. Therefore, the optimal pH values for different durations of exposure to enzymes should be selected based on the appropriate combination of their activity and stability. In a saccharifier where the mash is briefly exposed to enzymes, it is advisable to make maximum use of α -amylase activity and maintain the pH of the mash in the range of 5,0-5,1 at a temperature of 50-55°C. It has been established that the conditions for saccharification of wheat mash with malt and an enzyme preparation depend on the density of the mash. The initial density of the mash during saccharification with an enzyme preparation and malt is 8,2 versus 10,8, respectively. When using *Aspergillus oryzae* and increasing the temperature from 30° to 50°C, the optimal pH zones of the AC practically do not change, and the SA and DC shift to the alkaline side. Optimal values of all three indicators were achieved under the following conditions: temperature 30°C, pH 4,7; temperature 50°C, pH 5,0.

Keywords: alcohol production, *Aspergillus oryzae*, saccharification, medium reaction, temperature, enzyme activity

For citation. Tsagoeva O.K., Khokonova M.B., Volkov V.A. Identification of optimal values of the medium reaction during saccharification of starchy mashes with *Aspergillus oryzae* culture. *Izvestiya of the Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov*. 2023;4(42):158–165. (In Russ.).
doi: 10.55196/2411-3492-2023-4-42-158-165

Введение. В условиях спиртового производства осахаривание крахмала протекает при различных температурах: в осахаривателе при 57-59°C и в бродильных чанах при 30°C. Продолжительность этих стадий технологического процесса также различна. Наряду с температурой и концентрацией среды важным фактором, влияющим на ход ферментативного гидролиза крахмала, является активная плотность среды. Амилолитические ферменты грибов проявляют свое действие в определенном интервале pH, оптимальное значение которого зависит от влияния pH на скорость реакции и стабильность фермента [1]. Оптимум стабильности характеризуется интервалом pH, при котором фермент наиболее длительно сохраняется в активном состоянии. Оптимум активности соответствует тому значению pH, который отвечает максимальной скорости ферментативного процесса в определенный отрезок времени [2].

Оптимальные значения активности и стабильности не всегда совпадают между собой.

По данным литературы оптимальные значения активной кислотности для амилазы *Aspergillus oryzae* соответствуют pH 4,5-5,5. Известна большая кислотоустойчивость амилолитических ферментов грибов по сравнению с амилазой солода.

Целью работы являлось выявление оптимальных значений реакции среды при осахаривании крахмалистых заторов культурой *Aspergillus oryzae*.

Материалы, методы и объекты исследования. Исследования проводились в 2017-2022 гг. в условиях ООО «Премиум» (КБР, Зольский район, с.п. Сармаково) и на кафедре «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции» Кабардино-Балкарского ГАУ.

Объектами исследований служили плесневые грибы *Aspergillus oryzae*, осахаренная масса, бражка и этиловый спирт. В качестве осахаривающего фермента использовали сан-супер.

С целью максимального использования активности амилолитических ферментов при

осахаривании и сохранении стабильности их действия в процессе брожения задавали ферментный препарат в две стадии: в осахариватель и бродильный чан.

Результаты исследования. Влияние pH на активность амилолитических ферментов

гриба *Aspergillus oryzae* при температуре 30 показано на рисунке 1.

При 50°C максимальная активность достигается при следующих значениях pH: АС – 4,0-5,5; ОС – 4,5-5,95 и ДС – 4,3-5,8 (рис. 2).

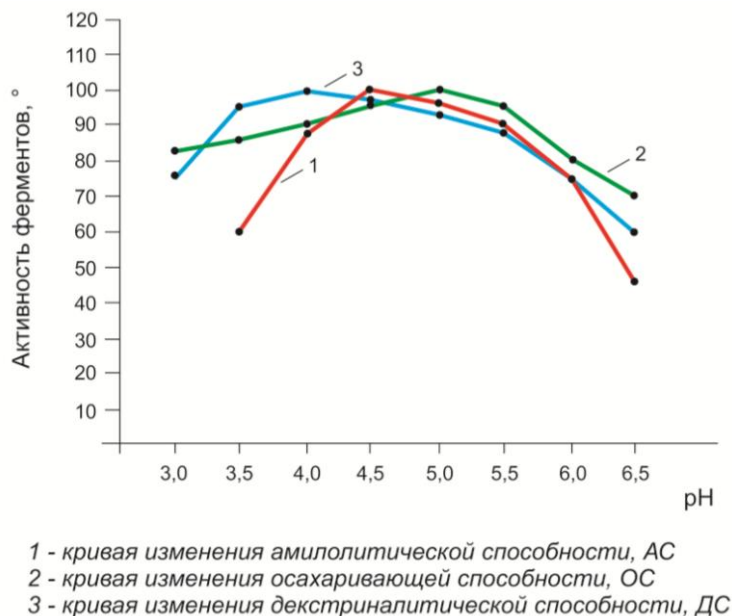


Рисунок 1. Влияние pH на активность амилолитических ферментов гриба *Aspergillus oryzae* при температуре 30°C:

Figure 1. Influence of pH on the activity of amylolytic enzymes of the fungus *Aspergillus oryzae* at a temperature of 30°C:

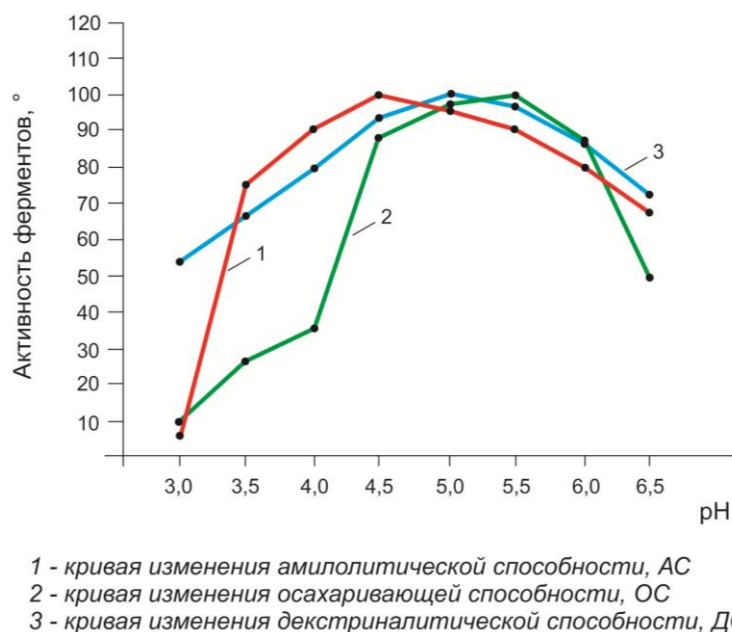


Рисунок 2. Влияние pH на активность амилолитических ферментов *Aspergillus oryzae* при температуре 50°C

Figure 2. Influence of pH on the activity of amylolytic enzymes of *Aspergillus oryzae* at a temperature of 50°C

Из анализа рисунков 1 и 2 следует, что при повышении температуры от 30° до 50°C оптимальные зоны pH АС практически не изменяются, а ОС и ДС сдвигаются в щелочную сторону. Оптимальные значения всех трех показателей (АС, ОС и ДС) достигались

при следующих условиях: температура 30°C, pH 4,7; температура 50°C, pH 5,0.

Представление об устойчивости амилолитических ферментов *Aspergillus oryzae* при различных значениях pH дает характер кривых, приведенных на рисунках 3, 4, 5.

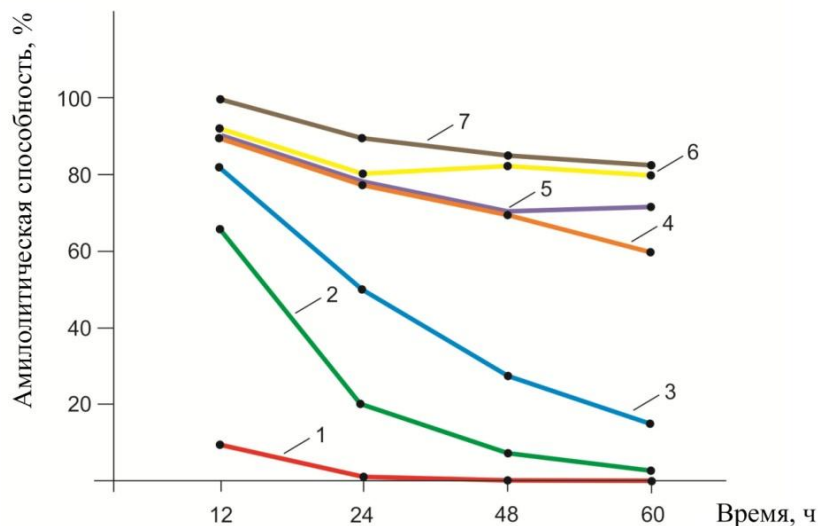


Рисунок 3. Влияние pH среды на устойчивость амилолитической способности гриба *Aspergillus oryzae*:

1 – pH 3,5; 2 – pH 4,0; 3 – pH 4,5; 4 – pH 5,0; 5 – pH 5,5; 6 – pH 6,0; 7 – pH 6,5

Figure 3. The influence of pH on the stability of the amylolytic ability of the fungus *Aspergillus oryzae*:

1 – pH 3,5; 2 – pH 4,0; 3 – pH 4,5; 4 – pH 5,0; 5 – pH 5,5; 6 – pH 6,0; 7 – pH 6,5

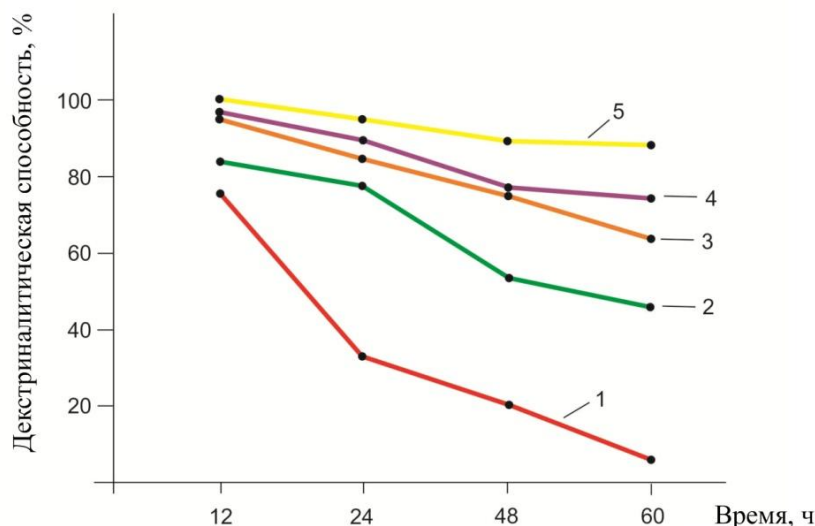


Рисунок 4. Влияние pH среды на устойчивость декстринолитической способности гриба *Aspergillus oryzae*:

1 – pH 3,0; 2 – pH 3,5; 3 – pH 4,0; 4 – pH 4,5; 5 – pH 5-6,5

Figure 4. The influence of pH on the stability of dextrinolytic abilities of the fungus *Aspergillus oryzae*:

1 – pH 3,0; 2 – pH 3,5; 3 – pH 4,0; 4 – pH 4,5; 5 – pH 5-6,5

Из рисунка 3 видно, что в начальный момент снижение pH с 6,5 до 5,0 существенно не сказывается на активности α -амилазы (АС=90%). Через 72 ч при pH 5,0 АС уменьшается до 58% от ее максимального значения, а при pH 4,5 до 14% [3–5]. Таким образом, при pH 4,5 наступает довольно резкая инактивация α -амилазы.

Декстриназа *Aspergillus oryzae* отличается большей кислотоустойчивостью [6–8]. Оптимальной зоной стабильности декстриназы можно считать pH 6,5–4,5, значительное ее инактивирование наступает при pH 4,0 и ниже (рис. 4).

Устойчивость осажаривающей способности хорошо сохраняется в интервале

pH 6,5–5,0. Инактивирование ее наступает при pH 4,5 (рис. 5).

Приведенные данные указывают на то, что оптимум стабильности лежит в более щелочной зоне, чем оптимум активности. Поэтому оптимальные значения pH при различной продолжительности воздействия ферментов должны выбираться, исходя из целесообразного сочетания их активности и стабильности. В осажаривателе, где затор подвергается кратковременному воздействию ферментов, целесообразно максимально использовать активность α -амилазы и поддерживать pH затора в пределах 5,0–5,1 при температуре 50–55°C [9].

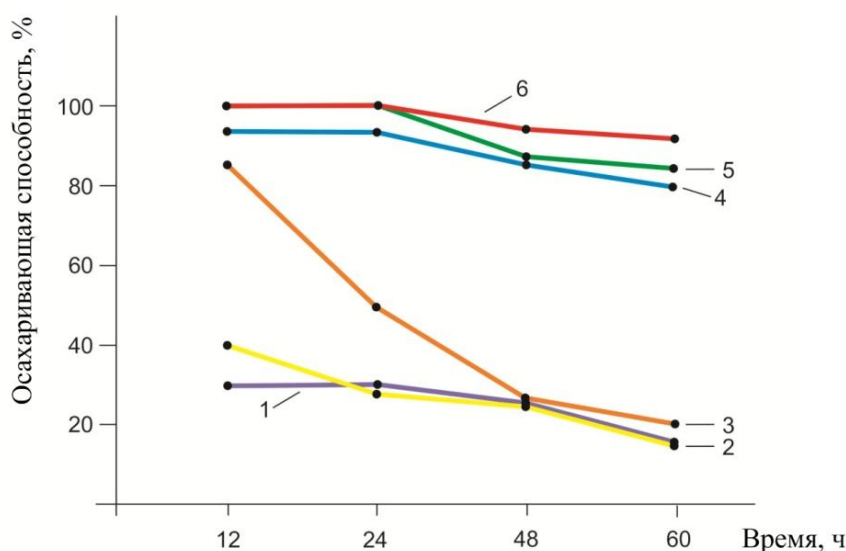


Рисунок 5. Влияние pH среды на устойчивость осажаривающей способности гриба *Aspergillus oryzae*:

1 – pH 3,0; 2 – pH 3,5; 3 – pH 4,0–4,5; 4 – pH 5,0; 5 – pH 5,5; 6 – pH 6–6,5;

Figure 5. The influence of pH on the stability of the saccharifying ability of the fungus *Aspergillus oryzae*:

1 – pH 3,0; 2 – pH 3,5; 3 – pH 4,0–4,5; 4 – pH 5,0; 5 – pH 5,5; 6 – pH 6–6,5;

В процессе брожения при медленном осажаривании конечных декстринов первостепенное значение приобретает действие декстриназы, активность которой необходимо сохранить до конца брожения [10]. Оптимум стабильности ДС при 30°C лежит в пределах pH 6,5–4,5, а активности – pH 3,5–4,7. Если учесть, что другие функции амилазы *Aspergillus oryzae* АС и ОС длительно сохраняются при pH 6,5–0,5, то оптимум pH при

брожении можно считать 5,0–4,7. Последнее также подтверждает целесообразность задачи ферментного препарата в два приема: в осажаривателе первой ступени, где происходит разжижение и частичное осажаривание крахмала, и в бродильный чан.

В первые двенадцать часов интенсивность брожения в чанах, осажаренных солодом (рис. 6), такая же, как и в чанах, осажаренных ферментным препаратом.

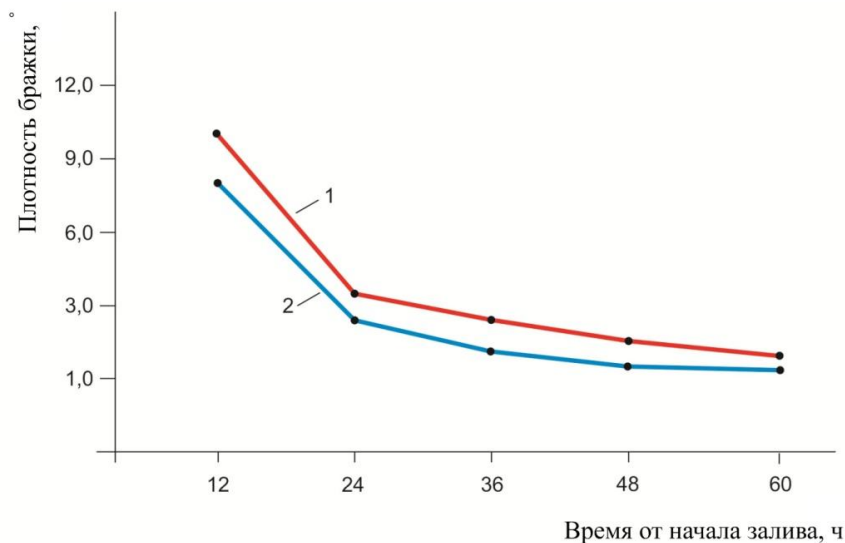


Рисунок 6. Интенсивность брожения пшеничных заторов при осахаривании солодом и ферментным препаратом:

1 – осахаривание солодом; 2 – осахаривание ферментным препаратом

Figure 6. Intensity of fermentation of wheat mash when saccharification with malt and enzyme preparation:

1 – saccharification with malt; 2 – saccharification with an enzyme preparation

В последующие часы, т. е. на 48, 52, 60-м часу брожения отброды в контрольных бро- дильных чанах несколько ниже, чем в чанах, осахаренных ферментным препаратом.

В свою очередь осахаривающая способ- ность бражки, осахаренной ферментным препаратом, характеризуется значительно лучшими показателями (рис. 7).

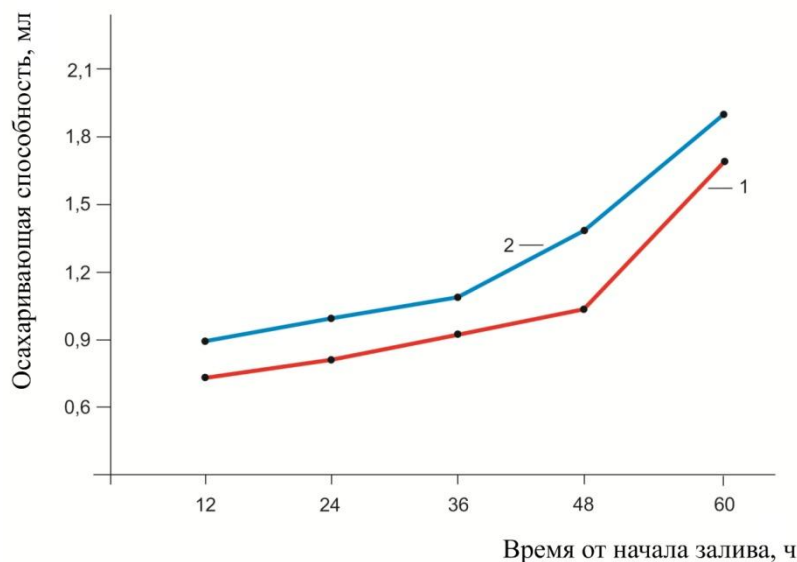


Рисунок 7. Изменение осахаривающей способности бражки в процессе брожения:

1 – осахаривание солодом; 2 – осахаривание ферментным препаратом

Figure 7. Change in the saccharifying ability of the mash during the process fermentation:

1 – saccharification with malt; 2 – saccharification with an enzyme preparation

Присутствие в ферментативном комплек- се препарата ферментов, расщепляющих ге- мицеллюлозы, клетчатку, пентозаны, спо- собствует переходу в раствор некоторого

количества веществ, не сбраживаемых дрожжами, следовательно, повышающих от- брод в зрелых бражках.

Выводы. Таким образом, условия осахаривания крахмалистых заторов солодом и ферментным препаратом зависят от плотности бражки. Начальная плотность бражки при осахаривании ферментным препаратом и солодом составляет соответственно 8,2 против 10,8. При использовании *Aspergillus*

oryzae и повышении температуры от 30° до 50°C оптимальные зоны pH АС практически не изменяются, а ОС и ДС сдвигаются в щелочную сторону. Оптимальные значения всех трех показателей (АС, ОС и ДС) достигались при следующих условиях: температура 30°C, pH 4,7; температура 50°C, pH 5,0.

Список литературы

1. Хоконова М. Б., Цагоева О. К. Качественные показатели зерновых заторов, осахаренных ферментами глубинной культуры солода // Актуальная биотехнология. 2019. № 3(30). С. 244–248. EDN: UHGQSJ
2. Хоконова М. Б., Цагоева О. К. Качественные показатели продуктов брожения в спиртовом производстве // Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В. М. Кокова. 2019. № 1(23). С. 56–59. EDN: CJYQIL
3. Римарева Л. В., Оверченко М. Б., Игнатова Н. И., Абрамова И. М. Теоретические и практические основы ферментативного катализа полимеров зернового сырья в спиртовом производстве // Производство спирта и ликероводочных изделий. 2008. № 3. С. 4–9. EDN: GWXYOZ
4. Ашапкин В. В. Контроль качества продукции физико-химическими методами: учеб. пособие для студ. вузов. Москва: ДеЛи принт, 2005. 124 с.
5. Технология спирта / ред. В. Л. Яровенко. 2-е изд., перераб. и доп. Москва: Колос, 1996. 464 с.
6. Ашхотов Э. Ю. Экономические и экологические проблемы выбора технологии переработки (утилизации) отходов производства биоэтанола: научное издание. Нальчик: Изд-во М. и В. Котляровых, 2009. 172 с.
7. Биохимия / под. ред. Северина Е. С. 5-е изд., испр. и доп. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 316 с.
8. Технология пищевых производств / под. ред. А. П. Нечаева. Москва: Колос, 2007. 189 с.
9. Фараджева Е. Д., Федоров В. А. Общая технология бродильных производств: учеб. пособие. Москва: Колос, 2002. 408 с.
10. Качмазов Г. С. Дрожжи бродильных производств: практическое руководство. Санкт-Петербург: Лань, 2012. 224 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://e.lanbook.com>

References

1. Khokonova M.B., Tsagoeva O.K. Qualitative indicators of grain mashes saccharified with enzymes of deep malt culture. *Aktual'naya biotekhnologiya*. 2019;3(30):244–248. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2304-4691-2019-3-244-248>. EDN: UHGQSJ
2. Khokonova M.B., Tsagoeva O.K. Qualitative indicators of food products in alcohol manufacture. *Izvestiya of the Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov*. 2019;1 (23):56–59. (In Russ.). EDN: CJYQIL
3. Rimareva L.V., Overchenko M.B., Ignatova N.I., Abramova I.M. Theoretical and practical basis for fermentative catalysis of polymers of grain raw materials in spirit production. *Manufacture of alcohol and liqueur & vodka products*. 2008;(3):4–9. (In Russ.). EDN: GWXYOZ
4. Ashapkin V.V. [et al.]. *Kontrol' kachestva produktsii fiziko-khimicheskimi metodami: ucheb. posobiye dlya stud. vuzov* [Product quality control using physical and chemical methods: textbook. aid for students universities]. Moscow: DeLi print, 2005. 124 p. (In Russ.)
5. *Tekhnologiya spirta* [Alcohol technology]. Ed. V.L. Yarovenko. Moscow: Kolos, 1996. 464 p. (In Russ.)
6. Ashkhotov E.Yu. *Ekonomicheskiye i ekologicheskiye problemy vybora tekhnologii perera-botki (utilizatsii) otkhodov proizvodstva bioetanol: nauchnoye izdaniye* [Economic and environmental problems of choosing technology for processing (recycling) waste from bioethanol production: scientific publication]. Nalchik: Izd-vo M. i V. Kotlyarovykh, , 2009. 172 p. (In Russ.)
7. *Biokhimiya*. [Biochemistry]. Ed. E.S. Severin. Moscow: GEOTAR-Media, 2008. 316 p. (In Russ.)

8. *Tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*. [Technology of food production]. Ed. A.P. Nechaev. Moscow: Kolos, 2007. 189 p. (In Russ.)
9. Faradzheva E.D., Fedorov V.A. *Obshchaya tekhnologiya brodil'nykh proizvodstv: ucheb. posobiye* [General technology of fermentation production: textbook allowance]. Moscow: Kolos, 2002. 408 p. (In Russ.)
10. Kachmazov G.S. *Drozhzhi brodil'nykh proizvodstv: prakticheskoye rukovodstvo* [Fermentation yeast: a practical guide]. Saint Petersburg: Lan', 2012. 224 p. [Electronic resource]. Access mode: <http://e.lanbook.com> (In Russ.)

Сведения об авторах

Цагоева Ольга Константиновна – соискатель кафедры технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В. М. Кокова»

Хоконова Мадина Борисовна – доктор сельскохозяйственных наук, доцент, профессор кафедры технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В. М. Кокова», SPIN-код: 4098-3325, Scopus ID: 57203266828

Волков Валерий Андреевич – магистрант 2-го года обучения, направления подготовки Агрономия, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В. М. Кокова»

Information about the authors

Olga K. Tsagoeva – applicant for the Department of Technology of Production and Processing of Agricultural Products, Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov

Madina B. Khokonova – Doctor of Agricultural Sciences, associate professor, Professor of the department of technology production and processing of agricultural product, Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov, SPIN-code: 4098-3325, Scopus ID: 57203266828

Valery A. Volkov – master's student of the 2nd year of study, direction of training Agronomy, Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov

Авторский вклад. Авторы настоящего исследования непосредственно планировали, выполняли и анализировали данное исследование.

Author's contribution. The author of this study directly planned, executed and analyzed this study.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 15.11.2023;
одобрена после рецензирования 06.12.2023;
принята к публикации 14.12.2023.*

*The article was submitted 15.11.2023;
approved after reviewing 06.12.2023;
accepted for publication 14.12.2023.*