

Ю.Р. Мельник, С.Р. Мельник, Г.Я. Магорівська*
 Національний університет "Львівська політехніка",
 кафедра технології органічних продуктів,
 *Львівський інститут економіки і туризму,
 кафедра харчових технологій та ресторанної справи

ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕРМОСТАБІЛЬНОСТІ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ HYTEMPHASE 2XL

© Мельник Ю.Р., Мельник С.Р., Магорівська Г.Я., 2012

Розглянуто термостабільність ферментного препарату Hytemphase 2XL. Вивчено вплив температури, концентрації ферментного препарату і захисної дії середовища на амілолітичну активність досліджуваного ферментного препарату. Розраховано константи інактивації ферментного препарату та визначено активаційні параметри процесу інактивації ферментного препарату.

Ключові слова: фермент, ферментний препарат, інактивація ферментного препарату.

The article is sacred to the thermostability of enzymic preparation of Hytemphase 2XL. Influence of temperature, concentration of enzymic preparation and protective operating of environment on amylolytic activity of the investigated enzymic preparation is studied. The constants of inactivation of enzymic preparation are expected and the activating parameters of process of inactivation of enzymic preparation are certain.

Key words: enzyme, enzymic preparation, inactivation of enzymic preparation.

Постановка проблеми та її зв'язок із важливими науковими завданнями

Концентровані ферментні препарати знаходять все ширше застосування у різних галузях харчової промисловості, особливо для виробництва спирту та пива. Застосування ферментних препаратів дає змогу не лише збільшити вихід екстрактивних речовин, але й збільшити частку несолодженої сировини. Найважливішими характеристиками ферментних препаратів є стійкість та активність, які характеризують його здатність зберігати свої властивості протягом тривалого часу роботи. Тому дослідження термостабільності допомагає прогнозувати поведінку ферментних препаратів в умовах виробництва.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Сьогодні у пивоварінні переважно застосовуються ферментні препарати закордонного виробництва. Їх функції у виробництві пива полягають у додатковому розщепленні крохмалю солоду, інших некрохмалистих вуглеводів, білків тощо [1,2]. Дослідження активності цих ферментних препаратів є актуальним, оскільки дасть змогу чіткіше встановити оптимальні умови їх застосування та оптимальне дозування.

Метою роботи є встановлення за результатами дослідження термостабільності ферментного препарату Hytemphase 2XL оптимальних температурних умов застосування досліджуваного ферментного препарату в процесі приготування пивного сусла.

Експериментальна частина

Було досліджено вплив витримування при підвищених температурах на активність ферментного препарату та залежність активності ферментного препарату від його концентрації в розчині при витримуванні при підвищених температурах. З метою вивчення впливу температури витримування на ферментативну активність і стабільність ферментного препарату Hytemphase

готували 1%-й розчин (розбавлення 1:100) ферментного препарату і вносили його у круглодонну тригорлу колбу зі зворотним холодильником і термометром. Колбу витримували у термостаті за постійної температури – 60°C, 80°C, 85°C і 90°C протягом певного інтервалу часу. Аналогічно досліджено вплив концентрації ферментного препарату (розбавлення 1:100, 1:500 і 1:1000). Проби відбирали через кожні 10 чи 15 хвилин і визначали амілолітичну активність фотоелектроколориметричним методом згідно з [3].

Обговорення результатів

Відомо, що активність і стабільність ферментних препаратів значною мірою залежать від температур, за яких їх використовують. Досліджено зміну амілолітичної активності ферментного препарату Нутемфазе за температур 60°C, 80°C, 85°C і 90°C. Як і слід було очікувати, при зниженні температури витримування ферментного препарату його активність в часі знижувалась повільніше, а при 60°C вона практично залишається постійною (рис. 1). Важливою особливістю цього ФП є те, що його початкова амілолітична здатність зростає із збільшенням температури витримки (рис. 2).

Як видно з гістограми, найнижча початкова амілолітична здатність ФП становить 423 од/см³ за температури 60°C. Із зростанням температури спостерігається рівномірне підвищення АЗд Нутемфазе: при 80°C вона становить 713 од/см³, при 85°C – 835 од/см³ і при 90°C – 987 од/см³.

Подібна залежність початкової активності від температури досліджуваного ФП може свідчити про його доволі високу термостабільність і, відповідно, можливість використання при підвищених температурах, особливо якщо буде спостерігатися додаткова захисна дія середовища.

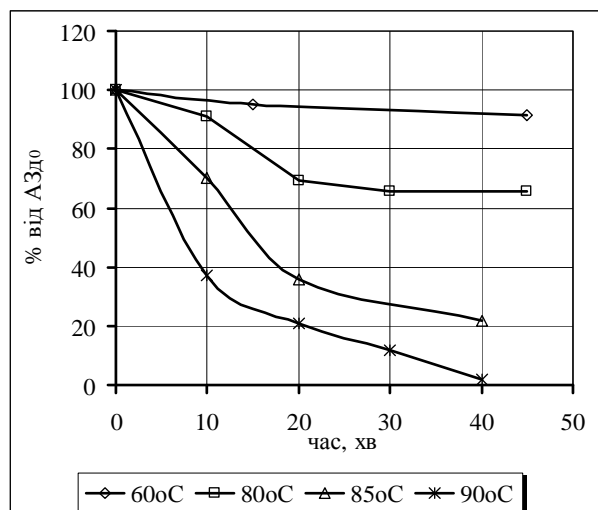


Рис. 1. Залежність відносної активності ферментного препарату Нутемфазе 2XL від тривалості його витримування при різних температурах. Початкове розбавлення – 1:100, діапазон температур 60–90°C

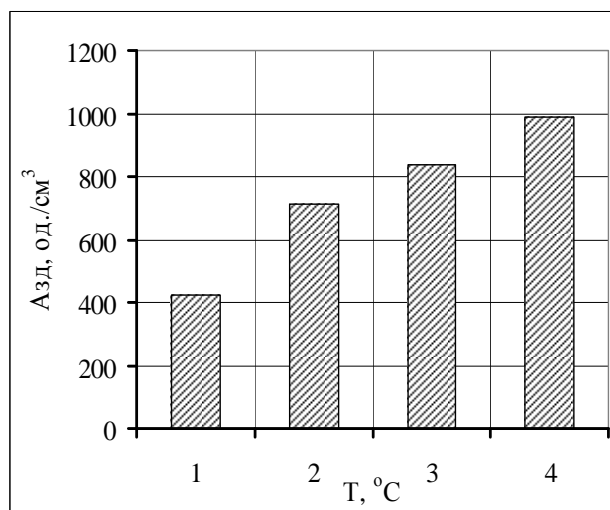


Рис. 2. Залежність початкової активності ферментного препарату Нутемфазе 2XL від температури витримування. Початкове розбавлення – 1:100, температури: 1 – 60°C; 2 – 80°C; 3 – 85°C; 4 – 90°C

Враховуючи отримані результати, які свідчать про достатньо високу термостабільність досліджуваного ФП, доцільно було визначити вплив на його амілолітичну здатність і стабільність захисної дії середовища. Оскільки поряд із цільовими ферментами у ФП Нутемфазе містяться сторонні речовини білкової і небілкової природи, то змінюючи початкове розбавлення ФП, можна опосередковано визначити вплив захисної дії середовища, роль якого будуть відігравати саме ці сторонні речовини.

Для дослідження цього чинника впливу визначали активність Нутемфазе при 80°C при трьох різних концентраціях ФП у розчині (рис. 3.). Встановлено, що із збільшенням розбавлення поряд із деяким збільшенням швидкості інактивації ферментного препарату спостерігається вплив розбавлення на початкову активність ферментного препарату (рис. 4).

Отже, чим менша концентрація ФП в розчині, тим амілолітична здатність нижча навіть при однаковій температурі. Тобто, можна вважати, що спостерігається вплив захисного середовища, роль якого виконують баластні речовини, що містяться у досліджуваному ФП. Із збільшенням його концентрації зростає також вміст речовин, які виконують захисну функцію.

Для визначення кінетичних параметрів реакції інактивації ФП Нутемphase 2XL вважали, що реакція інактивації даного ФП у початковий період часу – це реакція першого порядку.

Враховуючи, що амілолітична здатність ФП пропорційна до концентрації активних центрів у ФП, а отже, і концентрації цього ФП, для визначення констант швидкості отримані в результаті досліджень дані лінеаризували в координатах $\ln(A_{3d}) = f(\tau)$ (рис. 5).

Як видно з цього графіка, найшвидше інактивація ФП відбувається при 90°C, а при 60°C інактивація Нутемphase не відбувається взагалі – графік залежності набуває вигляду прямої лінії, яка паралельна осі часу.

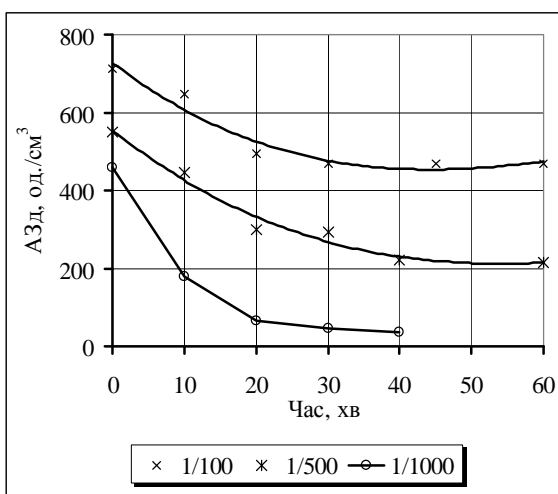


Рис. 3. Залежність амілолітичної активності ферментного препарату Нутемphase від його концентрації в розчині. Температура витримування – 80°C

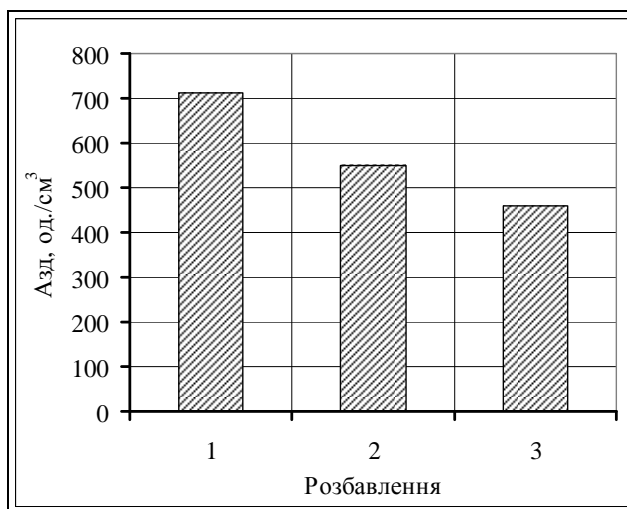


Рис. 4. Залежність початкової активності ферментного препарату Нутемphase від розбавлення. Розбавлення: 1 – 1/100; 2 – 1/500; 3 – 1/1000. Температура витримування – 80°C

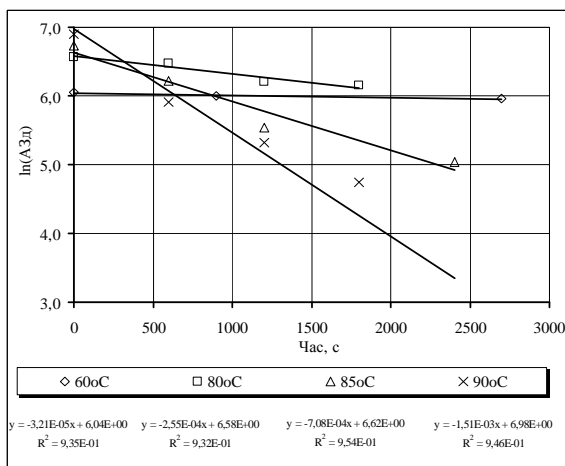


Рис. 5. Визначення константи швидкості реакції інактивації ФП Нутемphase. Початкове розбавлення – 1:100. Діапазон температур: 60-90°C.

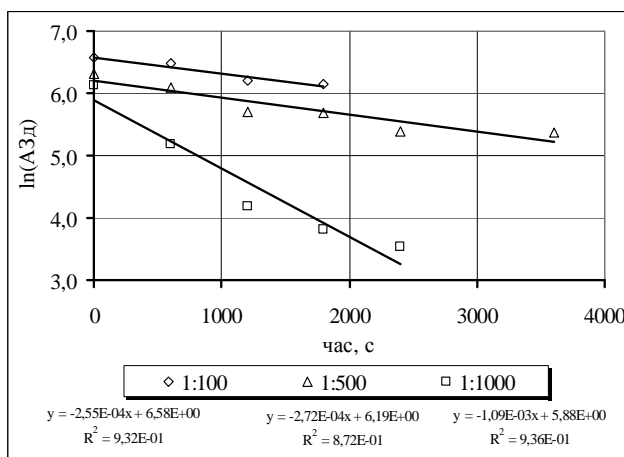


Рис. 6. Визначення константи швидкості реакції інактивації ФП Нутемphase. Температура – 80°C. Діапазон розбавлень: 1/100-1/1000.

За цим графіком, а саме за тангенсом кута нахилу побудованих прямих визначали константи швидкості реакції інактивації ФП при різних температурах (рис.5.) і різних розбавленнях (рис.6.).

Отримана залежність константи інактивації ФП *Nytemphase* від його концентрації в розчині може свідчити про вплив захисної дії середовища, роль якого, як вже було сказано вище, виконують сторонні речовини білкової і небілкової природи, що містяться у досліджуваному ФП. Отже, існує певна гранична концентрація сторонніх речовин, нижче якої ефективність їх дії різко зменшується: при зміні початкового розбавлення від 1:100 до 1:500 константа інактивації практично не змінюється, а при збільшенні початкового розбавлення до 1:1000 відбувається різке збільшення константи інактивації приблизно у 5 разів (рис. 6).

За отриманими значеннями констант швидкості при різних температурах і за рівнянням Арреніуса $k = k_0 \cdot e^{-E/RT}$ визначили енергію активації реакції інактивації ФП *E* і передекспоненційний множник k_0 . Для цього будували графік залежності $\ln(k) = f(1/T)$ (рис. 7).

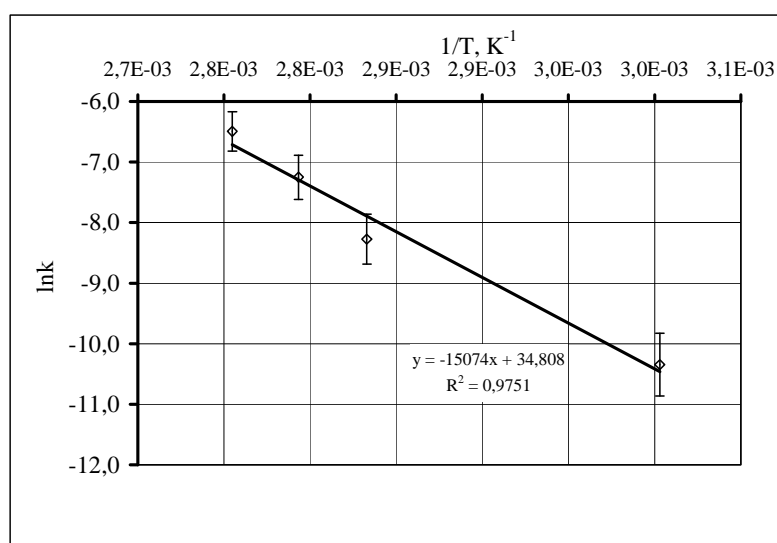


Рис. 7. Визначення енергії активації реакції інактивації ФП *Nytemphase*

Встановлено, що енергія активації реакції інактивації ФП *Nytemphase* дорівнює 125 кДж/моль, а $k_0 = 1,3 \cdot 10^{15} \text{ c}^{-1}$.

Висновки

Досліджуючи термостабільність ферментного препарату *Nytemphase*, було встановлено, що цей ферментний препарат є достатньо стійкий до витримування при підвищених температурах, крім того, швидкість його інактивації зменшується із збільшенням концентрації сторонніх речовин у розчині, які можуть чинити захисну дію.

У результаті досліджень було встановлено, що при витримуванні ФП *Nytemphase* при підвищеній температурі його початкова амілолітична здатність зростає, а при 60-80°C протягом понад 40 хв вона зменшується не більше, ніж на 10-35% від початкової. Присутність у ферментному розчині сторонніх речовин, які можуть відігравати захисну роль, зменшує константу швидкості інактивації ферменту, що так само дає змогу використовувати його при підвищених температурах.

На підставі отриманих результатів можна встановити оптимальні температурні умови для його використанні при приготуванні суслу у пивоварінні, а саме пропонується використовувати його при двовідварковому способі затирання, що дозволить збільшити вихід екстрактивних речовин.

1. Домарецький В.А. *Технологія солоду та пива: Підручник*. – К.: Фірма "ІНКОС", 2004. – 424 с.
2. Кунце В., Мит Г. *Технологія солоду і пива / Пер. с нем.* – СПб.: Профессия, 2001. – 912 с.
3. ГОСТ20264.4–89. *Препараты ферментные. Методы определения амилаолитической активности.*