



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 75632

(13) C2

(51) МПК (2006)
C12N 9/26МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ЕКСТРАКЦІЇ В-АМІЛАЗИ

1

2

(21) 2003087452

(22) 30.01.2002

(24) 15.05.2006

(86) PCT/FI02/00070, 30.01.2002

(31) 20010221

(32) 06.02.2001

(33) FI

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Кеккі Пекка, FI

(73) ДАНИСКО ШУГАР ОЙ, FI

(56) US A 4675296, 23.06.1987

US A 3492203, 27.01.1970

US A 4914029, 03.04.1990

(57) 1. Спосіб екстракції β-амілази з зерна, який відрізняється тим, що зерно екстрагують в присутності целюлази, ферментативного препарату, який має щонайменше активність целюлази, гемі-целюлази і β-глюканази, у водному середовищі, щоб отримати екстракт, що містить β-амілазу, з наступним відділенням вказаної β-амілази від вказаного середовища.

2. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що β-амілазу екстрагують з ячменю, пшениці чи жита.

3. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що β-амілазу екстрагують з ячменю, очищеного від плівки.

4. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що β-амілазу екстрагують з зерна злаків, яке було попередньо оброблене способом, вибраним із групи: очищення від плівки і/або розмелу.

5. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що β-амілазу екстрагують з зерна злаків, яке було попередньо оброблене способом, вибраним із групи: полірування або дроблення.

6. Спосіб за будь-яким з пп.1-5, який відрізняється тим, що екстракцію проводять у відновлювальних умовах.

7. Спосіб за п.6, який відрізняється тим, що вка-

зані відновлювальні умови адаптовано таким чином, щоб забезпечити відновлювальну активність, яка здатна вивільнити β-амілазу, зв'язану зі структурним протеїном зерна.

8. Спосіб за п.6, який відрізняється тим, що вказані відновлювальні умови забезпечуються водою, що містить SO₂.

9. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що обдертий ячмінь екстрагують водою, що містить SO₂, у співвідношенні від 5:8 до 2:3 (обдертий ячмінь:вода, що містить SO₂).

10. Спосіб за будь-яким з пп.1-9, який відрізняється тим, що екстракцію проводять при температурі від 25 до 33°C, а переважно від 29 до 31°C.

11. Спосіб за будь-яким з пп.1-10, який відрізняється тим, що тривалість екстракції становить від 48 до 66 годин, а переважно від 55 до 62 годин.

12. Спосіб за будь-яким з пп.1-11, який відрізняється тим, що целюлаза являє собою целюлазу з плісені.

13. Спосіб за будь-яким з пп.1-12, який відрізняється тим, що використовують целюлазу з плісені Trichoderma.

14. Спосіб за будь-яким з пп.1-13, який відрізняється тим, що целюлаза являє собою целюлазу з мікроорганізмів, вибраних з родів Humicola, Fusarium, Myceliophthora, aspergillus, Penicillium і Trichoderma.

15. Спосіб за будь-яким з пп.1-2, який відрізняється тим, що β-амілазу екстрагують з меленого зерна.

16. Спосіб за п.1, який відрізняється тим, що відділену β-амілазу піддають обробці, вибраній з групи: очищення і/або концентрування.

17. Застосування целюлази, ферментативного препарату, який має щонайменше активність целюлази, геміцелюлази і β-глюканази, в екстракції β-амілази із зерна.

Даний винахід стосується ферментативної технології. Більш точно, цей винахід стосується способу екстракції β-амілази із злаків та застосування ферменту в цій екстракції.

β-амілаза - це фермент, що розкладає крох-

маль шляхом гідролізу альфа-1,4 зв'язків. Він знаходиться, наприклад, в бактеріях і рослинах та розкладає крохмаль, головним чином, до мальтози на невідновлювальному кінці ланцюжка крохмалю. β-амілазою багате, наприклад, зерно, де вона пе-

(13) C2

(11) 75632

(19) UA

ретворює живильний запас зерен, а сама крохмаль, на цукор, коли це необхідно. В зернах крохмаль запасається головним чином у вигляді амілози і амілопектину, β -амілаза перетворює всю амілозу на мальтозу, в той час як тільки 60% амілопектину перетворюється на мальтозу, решта ж - на декстрин.

β -амілаза є ферментом промислового масштабу, який використовується, наприклад, в харчовій промисловості для отримання мальтози. Продукти, що містять велику кількість мальтози, застосовуються, наприклад, в кондитерській та харчовій промисловості, β -амілазу було виділено як з бактерій, так і з рослин. Наприклад, її було отримано з бактерій *Bacillus* [US 4 970 158 і JP 60 126 080] та з термостійких бактерій *Clostridium* [US 4 647 538]. Крім мальтози, β -амілази, отримані з бактерій, використовуються у виробництві в значних кількостях мальтозирозі, в той час як β -амілази рослинного походження йдуть на виробництво відносно більшої кількості мальтози і, відповідно, вони є більш придатними для процесів, метою яких є отримання можливо більшої кількості солодошів та/або продуктів, здатних викликати бродіння. До того ж, великомасштабне виробництво β -амілази з бактерій є важкою задачею. Та β -амілаза, що використовується промисловістю, має рослинне походження. В якості джерела цього ферменту звичайно використовують злаки, зокрема пшеницю і ячмінь, але також і соєві боби.

Під час росту рослин β -амілаза утворюється в зернах, де й запасається. Зерно складається з зародку та ендосперми, що містить крохмаль, тобто серцевини, між якими знаходиться скутелум. Ендосперм оточує алеїроновий шар, а все зерно оточене шаром перикарпу, шаром тести та власне плівкою (лузгою). Пшениця не має власне плівки, натомість перикарп і теста утворюють тверду зовнішню оболонку, β -амілаза накопичується головним чином в ендоспермі та скутелумі. В найбільших кількостях β -амілазу знаходять в самих зовнішніх частинах ендосперму, безпосередньо під алеїроновим шаром.

β -амілаза з ячменю вивчалась досить ретельно. Ця β -амілаза та її виробництво описані, наприклад, в таких публікаціях: [D.E. Briggs, Barley, Chapman & Hall, London, 1978; Cook, Barley and Malt, Academic Press, London, 1962; J.R.A. Pollock, Brewing Science, Academic Press, London, 1979]. Назвою цього ферменту в систематиці є 1,4-альфа-D-глюкан мальтогідролаза [EC 3.2.1.2]. В минулому, β -амілазу зернових відділяли, спочатку розтираючи або перемелюючи зерна, а потім екстрагуючи β -амілазу водою або буферним розчином. Очищення ферменту з екстракту такого виду є, природно, нелегкою і трудомісткою справою, оскільки, крім ферменту, про який йдеться, екстракт містить кілька інших розчинних компонентів зерна. Робилися спроби поліпшити відокремлення β -амілази від розчину, що його містить, наприклад шляхом адсорбції ферменту полімером в присутності сульфату амонію [US 5 294 341]. Відомі експерименти по вивільненню β -амілази з глютену за допомогою протеази [JP 63 079 590].

β -амілазу також отримували з рідких відходів виробництва пшеничного крохмалю шляхом дода-

вання альгінату натрію і відокремлення коагульованого ферменту (JP 60 027 383) або за рахунок утворення кальцій фосфатного гелю, який адсорбує фермент і від якого його потім відділяють [JP 63 248 389]. Рідкі відходи виробництва крохмалю не є добрим джерелом β -амілази, оскільки вони є дуже розведеними і містять у великих кількостях інші компоненти, що утруднює очищення і концентрування, в результаті чого вихід є низьким.

Щоб отримати більш чистий сирий екстракт і уникнути труднощів наступної обробки, було запропоновано екстрагувати β -амілазу з зерна, частково чи повністю очищеного від плівки. Коли, наприклад, ячмінні зерна очищують у такий спосіб, що їх ендосперм не руйнується, то найбільш зовнішні шари такого ендосперму функціонують як свого роду фільтр, який запобігає доступу нерозчинних речовин до замкової води і обмежує доступ розчинних речовин. Краще проводити екстракцію в присутності речовини, що має відновлювальні властивості і здатна вивільнити β -амілазу від інших протеїнів зерна [FI 61 516 та US 4 675 296].

Тепер винайдено спосіб екстракції β -амілази із злаків, який скорочує тривалість екстракції і поліпшує вихід ферменту. Цей спосіб є простим у виконанні і особливо придатним для обробки зерна без плівки, а також забезпечує подальше очищення ферменту.

Спосіб екстракції β -амілази за даним винаходом характеризується екстракцією злаків у присутності целюлази у водному середовищі з отриманням екстракту, що містить β -амілазу. Даний винахід також стосується використання целюлази при екстракції β -амілази зі злаків.

Целюлаза використовується, наприклад, у виробництві крохмалю з меленого зерна для зменшення в'язкості крохмальної суспензії і відокремлення крохмалю від протеїну. Нами вперше було встановлено, що додавання целюлази до води при екстракції β -амілази поліпшує вихід β -амілази і дозволяє скоротити тривалість екстракції.

Фіг.1 показує вплив температури на вихід β -амілази як функцію часу.

Спосіб за даним винаходом призначений для екстракції різних злаків, що містять β -амілазу, наприклад для обробки пшениці, ячменю, жита, а також соєвих бобів. Краще використовувати його для екстракції β -амілази з пшениці й жита, а особливо з ячменю. Позбавлені зародків зерна не містять значних кількостей ферментів, крім β -амілази, так що β -амілазу варто екстрагувати саме з таких зерен. Цей фермент можна екстрагувати з зерна в плівці, але краще використовувати зерно без плівки, мелене, розтерте чи поліроване. Рекомендують очищати жито і ячмінь від плівки. Найкращі результати досягаються при екстракції очищеного від плівки ячменю.

Щоб запобігти переходу крохмалю з ендосперми зерна в екстракт, очищення від плівки слід здійснювати таким чином, щоб не пошкодити дійсно живе зерно. Однак і саме плівку слід видаляти так ретельно, як це тільки можливо. Це пов'язано з тією обставиною, що плівка зерна є настільки щільною, що перешкоджає проникненню β -амілази. Таким чином, ячмінь, очищений від плівки, означає ячмінь, з якого видалено саме плівку

зерна, але ендосперм залишений інтактним. На практиці це означає, що щонайбільше близько 20% ваги неочищеного зерна видаляється при його очищенні від плівки. Звичайно 10-20% вихідної кількості зерна видаляється як плівка. В цьому випадку найбільш зовнішні шари (перікарп, теста і алеїроновий шар) ендосперма функціонують як своєрідний ультрафільтр, який запобігає доступу нерозчинних речовин і суттєво також і розчинних речовин в екстракційну воду. Екстракт, отриманий із зерна, обробленого у такий спосіб, є відносно чистим, що полегшує його подальшу обробку, таку як очищення і концентрування ферменту. В подальшій обробці можуть використовуватись такі загальновідомі в цій галузі процеси, як фільтрація під тиском та ультрафільтрація.

Зерно екстрагують у водному середовищі, такому як вода, або, можливе, у буферному розчині. Під час екстракції величина рН звичайно становить від 6,0 до 6,5. Екстракцію краще проводити у відновлювальних умовах. Використовується така відновлювальна активність, щоб β -амілаза, зв'язана зі структурним протеїном зерна, вивільнилась. Відновлювальні умови створюють відомим по своїй суті способом, на практиці часто за допомогою SO_2 , наприклад шляхом додавання натрію метабісульфіту та/або натрію сульфіту. Співвідношення між очищенням від плівки зерном і водним середовищем переважно становить від 5:8 до 2:3 (вага/об'єм). Спосіб за даним винаходом є придатним для використання у промислових масштабах, де екстракцію проводять в сталевій вежі, куди завантажують, скажімо, 19 тонн очищеного від оболонки ячменю і 29 м³ води, що містить 0,5% натрію метабісульфіту і 0,5% натрію сульфіту.

Шляхом екстракції ячменю описаним вище способом можна отримати вихід, який відповідає приблизно 45-50% загального вмісту β -амілази в зерні, без відділення води, що залишається всередині зерна. В цьому випадку тривалість екстракції становить біля 72 годин. В разі ж додавання до екстракційної води целюлази можна екстрагувати цілих 65% загального вмісту β -амілази в зерні при скороченні тривалості екстракції приблизно до 60 годин.

Целюлоза - це лінійний полісахарид глюкози, в якому глюкозні одиниці з'єднані β -1,4-глюкозидними зв'язками. Її знаходять в стінках клітин рослин, де вона часто присутня разом з лігніном і геміцелюлозою. Ферменти, які приймають участь в реакціях розкладу целюлози, називають целюлазами. Целюлази використовуються в промислових масштабах, наприклад у виробництві крохмалю, обробці паперової маси, обробці текстилю, для розкладу β -глюкану при виготовленні пива, а також для покращання якості муки у хлібопекарній промисловості. В способі за цим винаходом целюлаза розриває поверхневі структури під плівкою живого зерна.

Целюлаза промислового виробництва походить з бактерій, таких як рід *Bacillus*, або з грибків, таких як дріжджі (наприклад, *Saccharomycetes*) або плісень. Великі кількості целюлаз отримували, зокрема, з плісених грибків. Плісені, які найчастіше використовуються для отримання целюлаз, належать до родів *Humicola*, *Fusarium*,

Myceliophthora, *Aspergillus*, *Penicillium* та *Trichoderma*. Деякі з продуктивних штамів були генетично модифіковані. В даному винаході переважно використовується целюлаза, отримана з плісених грибків, зокрема з *Trichoderma*.

Ферментативні препарати, що випускаються промисловістю, містять активність кількох ферментів, кількість і співвідношення яких можуть злегка варіювати від одного виробника до іншого. Для даного винаходу є суттєвим, щоб цей продукт мав щонайменше активність целюлази, геміцелюлази та β -глюканази. Іншими словами, в даному контексті термін целюлаза відноситься до ферментативного препарату, який здатний розкладати, щонайменше, целюлозу, геміцелюлозу і β -глюкан. Всі випробувані заявником препарати целюлази, що випускаються промисловістю (виробники Genencor International, Rohm Enzymer GmbH і Novo Nordisk), поліпшували вихід β -амілази. Активність целюлази, геміцелюлази і β -глюканази описана, наприклад, в Довіднику з практичної біотехнології (Novo, 1986).

Целюлази можна розділити, наприклад, на ендоцелюлази, екзоцелюлази, екзоцелобіогідролази та целобіази. Ендоцелюлази, а саме 1,4- β -D-глюкан глюканогідролази, випадковим чином розщеплюють зв'язки β -1,4 целюлози всередині молекули з утворенням полісахаридів. Екзоцелюлази, а саме 1,4- β -D-глюкан глюкогідролази, розщеплюють зв'язки β -1,4 в кінці молекули з вивільненням глюкози. Їхній вплив на целобіоз є повільним. Екзоцелобіогідролази, а саме 1,4- β -D-глюкан целобіогідролази, розщеплюють вище згадані зв'язки на невідновлювальному кінці молекули з утворенням целобіози, а целобіази, а саме β -D-глюкозид глюкогідролази, розщеплюють целобіозу на глюкозу. Гідролізація целюлози на глюкозу вимагає ендоглюканази (1,4- β -D-глюкан глюканогідролази, ЕС 3.2.1.4), яка розщеплює молекулу зсередини, а також заміщені субстрати, але не розкладає кристалізовану целюлозу, целобіогідролази (1,4- β -D-глюкан целобіогідролаза, ЕС 3.2.1.91), яка розщеплює кристалізовану целюлозу, та β -глюкозидази (β -D-глюкозид глюкогідролази, ЕС 3.2.1.21), яка розщеплює целобіозу і цело-олігосахариди на глюкозу.

Групу ферментів, які розкладають геміцелюлозу, тобто полісахариди, які існують в природі і містять пентози, наприклад арабінани, галактани, манани і ксилани, називають геміцелюлазами. β -глюканази розщеплюють β -D-глюкани, тобто полімери глюкози, які можуть бути розгалуженими і містять як β -1,3, так і β -1,4 зв'язки, β -глюкан знаходиться, наприклад, в стінках клітин ендосперму в зернах. Ліхеназа - це ендо- β -глюканаза (1,3-1,4- β -D-глюкан-4-глюканогідролаза), яка розщеплює β -1,4 зв'язки β -глюкану, що має як β -1,3, так і β -1,4 зв'язки.

Ламінаріназа (1,3- β -D-глюкан-3-глюканогідролаза) розщеплює β -глюкан, який має тільки β -1,3 зв'язки, такі як β -1,3 зв'язки вуглеводів типу ламінаріну, а екзоглюканаза (1,3- β -D-глюкан-3-глюкогідролаза) розщеплює β -1,3 зв'язки β -1,3-глюканів з утворенням головним чином глюкози.

В екстракції β -амілази багатообіцяючих результатів було досягнуто при використанні таких препаратів целюлази, як Spezyme CE і GC 440,

виробництва фірми Genencor International. Другий з цих препаратів виробляється з генетично модифікованого штаму *Trichoderma longibrachiatum* і розщеплює целюлозу, геміцелюлозу та β-глюкан особливо ефективно. Його активність проявляється як вплив на карбоксиметил целюлозу (RBB-CMC), у випадку чого RBB-CMC активність становить щонайменше 1400МО/г. На додаток до активності целюлази, препарат GC 440 має активність β-глюканази, β-глюкозидози, β-ксилозидози, ксиланазу і ацетилестерази. Типова партія препарату GC 440 містить в середньому близько 7000-9000О/мл DNS-CMC, близько 6000-8000О/мл β-глюканази, близько 500-600nkat/ml β-ксилозидози, близько 1700-2000nkat/ml ацетилестерази, близько 700-1400О/мл RBB ксиланазу та близько 1900-2100О/мл DNS ксиланазу. Дуже добрих результатів було досягнуто при використанні целюлази виробництва Röhm Enzymer GmbH, яка продається під торговою маркою Roha-lase®Sep. Цей препарат виробляється зі штаму *Trichoderma reesei* і має в значній кількості активність β-1,4-ендоглюканази (щонайменше 4700 CU/g) та ксиланазу (щонайменше 3000 ХУН/г) і в меншій кількості активність целобіогідролази. Він також включає активність β-1,3-глюканази, тобто ламінариназу. При використанні цих ферментативних препаратів прийнятна кількість целюлази становить щонайменше 0,015%, а краще щонайменше 0,020%, наприклад від 0,018 до 0,040%, а особливо від 0,024 до 0,030% від ваги зерна.

β-амілазу можна екстрагувати в присутності целюлази при температурі 20-45°C. Краще, щоб температура підтримувалась в межах 25-32°C, наприклад 29-31°C. Тривалість екстракції може становити від 30 до 72 годин, звичайно щонайменше 48 годин, наприклад 48-66 годин, а зокрема 55-62 години. Прийнятна тривалість екстракції при 30°C становить біля 60 годин. Після закінчення екстракції зерно, крупу або муку відокремлюють від екстракційної води, наприклад за допомогою сита, а β-амілазу виділяють з екстракційної води, від якої її очищають та/або концентрують, якщо це бажано.

Після екстракції зерно, екстраговане і відокремлене у такий спосіб, може бути використане, наприклад, для отримання крохмалю. Згідно з даним винаходом, β-амілазу екстрагують, і екстракт відокремлюють від зерна перед тим, як крохмаль фракціонують і відділяють від зерна. Якщо фермент екстрагують з цілого зерна, то екстраговане зерно спочатку розмелюють, після чого починають процес отримання крохмалю у спосіб, який сам по собі є відомим. Для цього змелене зерно перемішують у воді і фракціонують, використовуючи сита і відцентрову силу. Під час розмелу звичайно додають целюлазу разом з β-глюканазою, щоб зменшити в'язкість і відокремити крохмаль від протеїну.

Наступні приклади ілюструють винахід, не обмежуючи його описаними тут втіленнями.

Приклад 1

Кількісне визначення β-амілази

Перед визначенням загальної кількості β-амілази, отриманої з зерна, зерно позбавляють всякої плівки, змелюють в сухому стані на тонку

муку, 10г якої переносять в 100-мл лабораторну конічну пляшку. Додають 100мл 0,5% (вага/об'єм) розчину натрію сульфату і добре перемішують. Суміші дають постояти в пляшці впродовж 24 годин, час від часу струшуючи. Після цього суміш знову добре перемішують і фільтрують через тонкий фільтрувальний папір (MN 640W). Фільтрат розводять у співвідношенні 1:50 дистильованою водою, і визначають активність ферменту способом, описаним далі.

В принципі, β-амілазу визначали так, як описано в Харчовому хімічному кодексі IV, Загальний тест і апарат, 485.

В даному описі одиниця ДС (діастатичної сили) визначається, як кількість ферменту в 0,1мл 5% розведення зразка, яка продукує кількість відновлювальних цукрів, достатню для відновлення 5мл розчину Феглінга зі 100мл субстрату при 20°C за 1 годину. (Спосіб кількісного визначення не відповідає цій дефініції ДС.)

Активність ферменту визначали шляхом гідролізу крохмалю при 20°C, pH 4,6 впродовж 30 хвилин. Отримані відновлювальні цукри визначали шляхом титрування лужним феріціанідом. Для того, щоб отримати крохмальний субстрат, 20г (сухої речовини) крохмалю (Baker 1130) змішували з близько 50 мл води. Додавали близько 500мл киплячої води, і кип'ятили суміш точно 2 хвилини. До охолодженого крохмального розчину додавали 20мл ацетатного буферу (0,5M; pH4,6) і розводили дистильованою водою до 1 літра. 200мл крохмального субстрату при 20°C переносили піпеткою в 250-мл мірну колбу, додавали 10мл розведеного зразка ферменту і добре змішували. Зразок інкубували точно 30 хвилин у водяній бані при 20°C, і додавали 20мл 0,5N NaOH. Добре перемішували і розводили до 250мл. 10мл розведення ферменту і 20мл 0,5N NaOH переносили піпеткою в 250-мл мірну колбу, щоб слугувати 0-зразком. Добре перемішували, додавали 200мл крохмального субстрату і розводили до 250мл.

Реактив 0,05N феріціанід готували шляхом розчинення 16,5г калію феріціаніду ($K_3Fe(CN)_6$) і 22г натрію карбонату (Na_2CO_3) у воді і розведення до 1 літра. Розчин А-Р-З готували шляхом розчинення 70г калію хлориду (KCl) і 20г цинку сульфату ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) в 700мл дистильованої води, додаванням 200мл концентрованої оцтової кислоти і розведенням до 1 літра. Розчин калію йодиду готували шляхом розчинення 50г калію йодиду (KJ) в 100мл дистильованої води і додавання 2 крапель 50% гідроокису натрію (NaOH). 10мл феріціанідного реактиву і 5мл зразка переносили піпеткою в 250-мл мірну колбу. Добре змішували і нагрівали у ванні з киплячою водою точно 20 хвилин. Отриманий розчин охолоджували і додавали 25мл реактиву А-Р-З та 1мл розчину KJ. Суміш титрували 0,05N розчином натрію сульфату до зникнення синього забарвлення (темно-синє → біле).

Активність β-амілази вираховували за формулою:

$$\text{Активність} = \frac{(V_0 - V_1) \times 23 \times K}{100} \text{ ДС/мл}$$

де: V_0 = Об'єм, спожитий на титрування 0-

зразка (мл)

V_1 = Об'єм, спожитий на титрування зразка (мл)

K = Коефіцієнт розведення

Приклад 2

Досліджувався вплив целюлази на тривалість екстракції β -амілази. β -амілазу екстрагували з ячменю без целюлази і з додаванням целюлази. 10кг ячменю, очищеного від плівки машинним способом, екстрагували в 15 літрах води, яка містила 0,5% натрію метабісульфіту і 0,5% натрію сульфату. В другому експерименті додавали ще й целюлазу GC440 фірми Genescog в кількості, яка відповідала 0,029% від ваги очищеного ячменю. Екстракцію проводили при 30°C. Активність зерна, яке використовувалось для екстракції, становила 155ДС/мл, що було визначено згідно з прикладом 1. Результати наведені в Таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

Екстракція без целюлази

Час, години	Активність β -амілази в ДС/мл екстракційного розчину
10	20
24	47
30	55
48	83
60	92
66	98
72	102
96	86

Таблиця 2

Екстракція з целюлазою

Час, години	Активність β -амілази в ДС/мл екстракційного розчину
10	23
24	55
30	70
48	92
60	104
66	104
72	100
96	90

Отримані результати показують, що додавання целюлази до екстракційної води скорочує тривалість екстракції β -амілази.

Приклад 3

Вивчався вплив целюлази на вихід екстракції. 10кг очищеного ячменю з активністю β -амілази 155ДС/г екстрагували в 15 літрах води, яка містила 0,5% натрію метабісульфіту і 0,5% натрію сульфату. Екстракцію проводили при 30°C без целюлази і в присутності целюлази.

Тривалість екстракції без целюлази становила 72 години. Загальна активність використаної кількості зерна складала 1550кДС. Було отримано 8175 мл екстракту з активністю 95ДС/мл після відділення екстракту пропусканням через сито. Загальна активність отриманого екстракту складала 776,6кДС/мл, а вихід екстракту становив 50,1%.

Подібну екстракцію було проведено в присутності целюлази - кількість доданого препарату GC440 становила 0,025% від ваги очищеного зерна. Тривалість екстракції складала 60 годин. Загальна активність використаної кількості зерна складала 1550кДС. Було отримано 9825мл екстракту з активністю 102ДС/мл після відділення екстракту пропусканням через сито. Загальна активність отриманого екстракту складала 1002,2кДС/мл, а вихід екстракту становив 64,7%.

Отримані результати показують, що додавання целюлази до екстракційної води значно збільшує вихід β -амілази.

Приклад 4

Вивчався вплив температури на екстракцію β -амілази. Очищений від плівки ячмінь екстрагували способом, описаним в попередніх прикладах, в присутності целюлази при різних температурах. Доза доданої целюлази GC440 становила 0,027% від ваги очищеного ячменю, а температура екстракції складала 20°C, 25°C, 30°C або 40°C. Результати наведені на Фіг.1. Найкращих результатів було досягнуто при 30°C.

Приклад 5

Вивчався вплив целюлази на вихід β -амілази з пшениці. 10кг меленої пшениці з активністю β -амілази 128ДС/г екстрагували в 15 літрах води, яка містила 0,5% натрію метабісульфіту і 0,5% натрію сульфату. Екстракцію проводили при 30°C без целюлази і в присутності целюлази.

Тривалість екстракції без целюлази становила 72 години. Загальна активність використаної кількості пшениці складала 1280кДС. Було отримано 9175мл екстракту з активністю 55ДС/мл після відділення екстракту пропусканням через сито. Загальна активність отриманого екстракту складала 504,6кДС/мл, а вихід екстракту становив 39,4%.

Подібну екстракцію було проведено в присутності целюлази - кількість доданого препарату GC440 становила 0,036% від ваги несіяної пшеничної муки грубого помелу. Тривалість екстракції складала 60 годин. Загальна активність використаної кількості зерна складала 1280кДС. Було отримано 10080мл екстракту з активністю 72ДС/мл після відділення екстракту пропусканням через сито. Загальна активність отриманого екстракту складала 725,8кДС/мл, а вихід екстракту становив 56,7%.

Отримані результати показують, що додавання целюлази до екстракційної води значно збільшує вихід β -амілази.

Приклад 6

Вивчався вплив целюлази на вихід β -амілази з полірованої пшениці. Пшеницю полірували на машині для полірування рису шляхом руйнування поверхні зерна і видалення самої зовнішньої його частини. Таким чином, більша частина перикарду видалялась, а теста була частково порушеною. 10кг полірованої пшениці з активністю β -амілази 128ДС/г екстрагували в 15 літрах води, яка містила 0,5% натрію метабісульфіту і 0,5% натрію сульфату. Екстракцію проводили при 30°C без целюлази і в присутності целюлази.

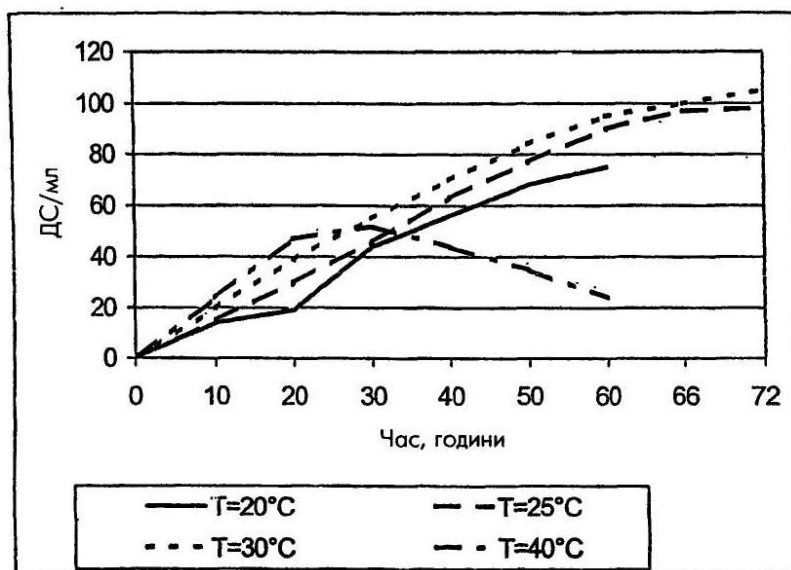
Тривалість екстракції без целюлази становила 72 години. Загальна активність використаної кількості пшениці складала 1280кДС. Було отримано 9780мл екстракту з активністю 15ДС/мл після від-

ділення екстракту пропусканням через сито. Загальна активність отриманого екстракту склала 146,7кДС/мл, а вихід екстракту становив 11,5%.

Подібну екстракцію було проведено в присутності целюлази - кількість доданого препарату GC440 становила 0,036% від ваги полірованої пшениці. Тривалість екстракції склала 60 годин. Загальна активність використаної кількості зерна

склала 1280кДС. Було отримано 9250мл екстракту з активністю 35ДС/мл після відділення екстракту пропусканням через сито. Загальна активність отриманого екстракту склала 323,8кДС/мл, а вихід екстракту становив 25,3%.

Отримані результати показують, що додавання целюлази до екстракційної води значно збільшує вихід β -амілази.



ФІГ. 1