Влияние композиций амилолитических ферментов на процесс низкотемпературной биоконверсии нативного крахмала

Николай Д. Лукин¹ vniik@arrisp.ru
Александр А. Папахин¹
Зинаида М. Бородин¹
Валентина А. Гулакова¹

¹ ВНИИ крахмалопродуктов, ул. Некрасова, 11, п. Красково, Московская обл. 140051, Россия

Реферат. Целью данной работы было исследование действия глюкоамилазы в процессе биоконверсии нативного крахмала в композиции с амилолитическими ферментами, оказывающими положительное влияние при биоконверсии предварительно клейстеризованного крахмала. Установлено, что при использовании в качестве катализатора процесса композиции глюкоамилазы с термостабильной бактериальной α -амилазой, в отличие от клейстеризованного крахмала, не наблюдается положительного эффекта. Выявлено позитивное влияние на процесс композиции глюкоамилазы (*Asp. niger*) с пуллулазой (*Bac. licheniformis*) при дозировке последней 0,4–0,5 ед. ASPU/г СВ крахмала. В ходе исследований установлено, что оптимальная величина pH реакционной среды для композиции ферментов так же, как и для глюкоамилазы при действии на нативный крахмал, находится в пределах 3,0–3,5, в отличие от 4,0–4,5 для клейстеризованного крахмала. Результаты исследований показали, что снижение оптимума pH для действия глюкоамилазы в процессе биоконверсии нативного крахмала до 3,3–3,5 может быть обусловлено синергетическим действием HCl и глюкоамилазы. Пуллулаза (*Bac. licheniformis*) при самостоятельном действии на нативный крахмал сохраняет оптимум pH (4,2) для клейстеризованного крахмала, при снижении pH частично инактивируется. При дозировке 10 ед. ASPU/г СВ крахмала в заданных условиях пуллулаза расщепляет не более 1% СВ крахмала с образованием глюкозы (~45%), мальтозы (~13%), мальтотриозы (~12%) и ВМС (~30%), что свидетельствует о способности испытуемой пуллулазы, помимо α -1,6-гликозидных связей, расщеплять в крахмале и α -1,4 связи. На основании полученных данных установлено, что использование композиции глюкоамилазы с α -амилазой и/или пуллулазой для низкотемпературной биоконверсии нативного крахмала неэффективно, в отличие от клейстеризованного крахмала.

Ключевые слова: низкотемпературная биоконверсия, нативный крахмал, синергетическое действие, композиция амилолитических ферментов, глюкоамилаза

Influence of amylolytic enzymes compositions on the process of low temperature bioconversion of native starch

Nikolai D. Lukin¹ vniik@arrisp.ru
Aleksandr A. Papakhin¹
Zinaida M. Borodina¹
Valentina A. Gulakova¹

¹ All-Russian Research Institute for Starch Products, Nekrasov str., 11, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia

Summary. The aim of this work was to study the action of glucoamylase in the process of bioconversion of native starch in combination with amylolytic enzymes, that have a positive effect on the bioconversion of the pre-gelatinized starch. It was found that the use a composition of thermostable bacterial glucoamylase with α -amylase as catalyst, in contrast to the gelatinized starch, a positive effect is not observed. It was revealed a positive impact of composition the glucoamylase (*Asp. niger*) and pullulanase (*Bac. licheniformis*) with the dose of 0.4–0.5 units of ASPU/g DS of starch on the process. The studies revealed that the optimum pH of the reaction medium for the enzyme composition as well as of for glucoamylase at the action on native starch is in the range of 3.0–3.5, in contrast to the 4.0 to 4.5 for gelatinized starch. The results showed that the optimum pH decrease for the action of glucoamylase in the process of bioconversion of native starch to 3.3 and 3.5 may be due to the synergistic action of glucoamylase and HCl. Pullulanase (*Bac. licheniformis*) retains the optimum pH (4.2) for gelatinized starch at independent action on native starch is partially inactivated while lowering pH. At a dose of 10 ASPU/g DS of starch under specified conditions pullulanase cleaves not more than 1% DS of starch at forming glucose (~45%), maltose (~13%), maltotriose (~12%) and HMS (~30%). That indicates to the ability of the test pullulanase in addition to the α -1,6-glycosidic linkages to break down starch and α -1,4 links. On the basis of the obtained data it is revealed that the use of the glucoamylase composition with α -amylase and/or pullulanase for low-temperature bioconversion of native starch, unlike gelatinized is ineffective.

Keywords: low temperature bioconversion, native starch, synergistic effect, composition of amylolytic enzymes, glucoamylase

Введение

В настоящее время глубокая переработка крахмалсодержащего сырья и крахмала с получением продуктов высокого качества в широком ассортименте, конкурентоспособных и удовлетворяющих потребностям современного рынка, является одной из важнейших задач развития крахмалопаточной промышленности России.

Для цитирования

Лукин Н. Д., Папахин А. А., Бородин З. М., Гулакова В. А. Влияние композиций амилолитических ферментов на процесс низкотемпературной биоконверсии нативного крахмала // Вестник ВГУИТ. 2016. № 4. С. 238–244. doi:10.20914/2310-1202-2016-4-238-244

Одним из актуальных направлений, ориентированных на разработку технологий переработки крахмала, способствующих расширению ассортимента крахмалопродуктов, востребованных в РФ, и их импортозамещению, является разработка новых эффективных методов модификации свойств нативного крахмала амилолитическими ферментами в процессе низкотемпературной биоконверсии в условиях, близких к промышленным.

For citation

Lukin N. D., Papakhin A. A., Borodina Z. M., Gulakova V. A. Influence of amylolytic enzymes compositions on the low temperature bioconversion process of native starch. *Vestnik VSUET* [Proceedings of VSUET]. 2016. no. 4. pp. 238–244. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2016-4-238-244

Во ВНИИ крахмалопродуктов проведены исследования действия амилаолитических ферментов на нативный крахмал в гетерогенной водной среде при температуре ниже начальной точки его клейстеризации и концентрациях сухих веществ крахмала в субстрате, близких к промышленным [1, 2]. Установлено, что при действии глюкоамилазы на нативный крахмал наибольшую атакуемость проявляют зерновые крахмалы, в частности кукурузный крахмал, наименьшую – картофельный. При этом в реакционной среде образуются следующие продукты: глюкозный сироп высокой доброкачественности с глюкозным эквивалентом ГЭ 98,5–99,0% и оставшийся негидролизованным крахмал с поврежденными гранулами, физико-химические и структурные свойства которого довольно существенно отличаются от нативного крахмала и позволяют считать его ферментативно модифицированным пористым крахмалом.

Поскольку активность глюкоамилазы в процессе биоконверсии крахмала зависит от свойств субстрата, скорость реакции может быть повышена за счет предварительного механического воздействия на нативный крахмал [3, 4]. Процесс биоконверсии крахмала также можно интенсифицировать путем создания композиций основного фермента-катализатора с сопутствующими амилазами, обладающих синергетическим эффектом при совместном действии [5–7].

Цель работы – исследование действия глюкоамилазы в композиции с другими амилаолитическими ферментами в процессе низкотемпературной биоконверсии нативного крахмала в гетерогенной среде.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований являлись: испытуемые ферментные препараты, исходный нативный крахмал и продукт его гидролиза – жидкая фракция (первичный фильтрат + промоя). Катализаторами процесса биоконверсии в составе композиций были выбраны коммерческие препараты амилаолитических ферментов: очищенной глюкоамилазы Optidex L-400 (производитель – *Asp. niger*), пуллулазы Optimax L-1000 (производитель – *Bac. licheniformis*), комплексный препарат глюкоамилазы и пуллулазы Optimax 7525 HP и препарат термостабильной α -амилазы Spezyme XTRA (производитель – *Bac. licheniformis*), предоставленные компанией Du Pont (США), как обладающие близкими оптимальными условиями действия на крахмал в процессе биоконверсии. Амилаолитические активности испытуемых ферментных препаратов определяли методами, изложенными

в ГОСТ 54330–2011, пуллулазную активность устанавливали по данным фирмы производителя. Количество и углеводный состав растворимых сухих веществ (СВ) крахмала определяли жидкостной хроматографией на анализаторе углеводов с рефрактометрическим датчиком фирмы Bischoff, модель 8120 и рефрактометре ИРФ-454Б2М. Результаты процесса биоконверсии оценивали путем определения степени растворения (СРК) и степени гидролиза крахмала (СГК) по разработанной во ВНИИ крахмалопродуктов методике [8].

Экспериментальные исследования проводились по ранее разработанной схеме, включающей следующие стадии:

- приготовление водной суспензии крахмала с концентрацией СВ = 32%, доведение pH до требуемого значения, установка колб на платформу термошейкера-инкубатора IKA KS 4000i (Германия);

- нагрев суспензии до 52 °С, внесение необходимых доз испытуемых ферментов, инкубирование приготовленной реакционной смеси при T = 52 °С и постоянном перемешивании при 140 об/мин в течение 0–72 ч с периодическим отбором проб;

- разделение проб реакционной смеси путем вакуум-фильтрования на жидкую фракцию – фильтрат и твердую – осадок с последующей промывкой осадка дистиллированной водой при гидромодуле 1:4;

- смешивание фильтрата с промывными водами осадка;

- высушивание осадка при температуре 25–50 °С до воздушно сухого состояния.

Во всех опытах в процессе биоконверсии количественно определяли распределение сухих веществ исходного крахмала на указанные фракции.

Результаты процесса биоконверсии оценивали путем определения степени растворения (СРК) и степени гидролиза крахмала (СГК) согласно методике, разработанной в ВНИИК [7], по формулам:

$$СРК = W_{PCB} / (W_{np} \times СВ_{pc}) \quad (1)$$

где: W_{PCB} – масса СВ в водорастворимой фракции пробы, г; W_{np} – масса пробы, взятая на разделение, г; $СВ_{pc}$ – массовая доля СВ в реакционной смеси опыта, %.

$$СГК = (СРК \times ГЭ) / 100 \quad (2)$$

где: СРК – степень растворения крахмала, %; ГЭ – массовая доля редуцирующих веществ в пересчете на глюкозу в водорастворимой фракции, % – глюкозный эквивалент

в настоящей работе согласно ГОСТ Р 52060–2003 «Патока крахмальная. Приложение Д» рассчитывали по данным углеводного состава, определенного методом ВЭЖХ, по формуле:

$$\Gamma\Xi = m_{PB} = 1,000m_{gl} + 0,580m_{mal} + 0,395m_{mtr} + 0,180m_{vc} \quad (3)$$

где: m_{gl} , m_{mal} , m_{mtr} , m_{vc} – массовая доля сахаров: глюкозы, мальтозы, мальтотриозы, высших сахаров в пересчете на сухое вещество, %; 1,000; 0,580; 0,395; 0,180 – усредненное значение коэффициентов для пересчета массовой доли сахаров на глюкозу.

Количество и углеводный состав растворимых сухих веществ (СВ) крахмала определяли методом ВЭЖХ на анализаторе углеводов с рефрактометрическим датчиком фирмы Bischoff, модель 8120, и рефрактометре марки ATR фирмы Schmidt (Германия).

Для определения показателей величины рН, сухого вещества и др. использовали методы техно-химического контроля производства крахмала и крахмалопродуктов.

Все результаты представлены как среднее не менее трех повторностей экспериментов с обеспечением достоверной вероятности не менее 95%.

Обсуждение результатов исследований

Первый этап исследований посвящен изучению влияния величины рН реакционной среды на действие глюкоамилазы Optidex L-400 (продуцент – *Asp. niger*) в процессе биоконверсии при оптимальных параметрах температуры (52 °С) и концентрации суспензии нативного кукурузного крахмала (32%). Опыты проводили по разработанной схеме [2], для доведения рН суспензии крахмала использовали два варианта:

1 – доведение рН суспензии в пределах 3,0–5,5 осуществляли 16%-ным раствором HCl, 2 – использовали растворы ацетатных буферов с рН 3,0–5,5.

Результаты показали, что оптимальным значением рН для действия очищенной глюкоамилазы на нативный крахмал и в том, и в другом случае является величина рН 3,0–3,5, однако более эффективная динамика процесса наблюдается при доведении рН раствором HCl, обладающей каталитическими свойствами. Очевидно, что при одновременном действии глюкоамилазы и HCl в процессе биоконверсии повышение степени гидролиза объясняется синергетическим действием двух катализаторов до определенного рН субстрата (3,0–3,5). Дальнейшее снижение рН вызывает снижение активности глюкоамилазы.

Далее исследовали действие глюкоамилазы на нативный крахмал в композиции с бактериальной альфа-амилазой Spezyme XTRA (продуцент – *Bac. licheniformis*). Условия опытов: концентрация СВ в суспензии крахмала 32%, температура 52 °С, продолжительность биоконверсии 24 ч, величина рН субстрата 4,2 – оптимум для глюкоамилазы Optidex L-400 при действии на клейстеризованный крахмал и 3,3 – оптимум рН при биоконверсии нативного крахмала. Полученные результаты, представленные в таблице 1, показали, что при действии глюкоамилазы на нативный кукурузный крахмал в композиции с бактериальной альфа-амилазой наблюдается незначительное снижение степени растворения и гидролиза крахмала при увеличении дозировки альфа-амилазы по сравнению с контрольным опытом как при рН субстрата 4,2, так и при рН 3,3, что может быть следствием взаимного конкурентного ингибирования испытываемых ферментов.

Таблица 1

Результаты действия очищенной глюкоамилазы на нативный крахмал в присутствии бактериальной альфа-амилазы

Table 1

The effect of the purified glucoamylase on native starch in the presence of bacterial alpha-amylase

№	рН субстрата Substrate pH	Дозировка ферментов, ед./г СВ Dosage of enzymes, DS unit/g		СВ фильтрата Filtrate DS	СРК, % DSS	ГЭ, % DE	СГК, % DHS
		ГлС GIS	АС AS				
1	4,2	12	0,3	13,5	34,1	99,4	33,9
2	4,2	12	0,6	13,2	33,9	99,3	33,7
3	4,2	12	0,9	13,1	33,7	99,3	33,5
4	3,3	12	0,3	15,3	41,0	99,3	40,7
5	3,3	12	0,6	15,0	39,5	99,3	39,2
6	3,3	12	0,9	15,0	39,4	99,3	39,1
7	3,3	12	-	16,0	42,2	99,3	41,9

Следующая серия опытов проведена с целью изучения действия глюкоамилазы в композиции с пуллулазой в оптимальных условиях ($C = 32\%$, $T = 52\text{ }^{\circ}\text{C}$) и величине pH субстрата 4,2 и 3,3 ед. в течение 24 ч. В опытах использовали препараты глюкоамилазы Optidex L-400 и пуллулазы Optimax L1000 компании Du Pont (США). Дозировка

глюкоамилазы составляла 12 ед. ГлС/г СВ, активность пуллулазы варьировали в пределах 0,4–1,2 ед. ASPU/г СВ. Данные, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о влиянии дозировки пуллулазы на совместное действие ее с глюкоамилазой на нативный крахмал в процессе низкотемпературной биоконверсии.

Таблица 2

Влияние дозы пуллулазы (*Bac. licheniformis*) на процесс биоконверсии нативного крахмала в присутствии очищенной глюкоамилазы

Table 2

The influence of pullulanase (*Bac. licheniformis*) dose on the bioconversion process of native starch in the presence of purified glucoamylase

№ п/п	Дозировка ферментов Dosage of enzymes		СВ фильт- рата,% Filtrate DS,%	СРК, % DSS	ГЭ, % DE	СГК, % DHS
	Глюкоамилаза, ед. ГлС/г СВ крахмала Glucoamylase, unit GlS/g of starch DS	Пуллулаза, ед. ASPU/г СВ крахмала Pullulanaza, unit of ASPU/g of starch DS				
pH субстрата – 4,2 Substrate pH – 4,2						
1	12	0,4	13,9	35,6	99,2	35,3
2	12	0,8	13,6	34,0	99,2	33,7
3	12	1,2	13,0	32,3	99,2	32,0
4	12	-	13,9	33,7	99,3	33,5
pH субстрата – 3,3 Substrate pH – 3,3						
5	12	0,4	16,8	41,7	99,2	41,4
6	12	0,8	16,4	40,8	99,2	40,5
7	12	1,2	15,6	38,9	99,2	38,6
8	12	-	16,0	38,5	99,2	38,2

При дозировке пуллулазы 0,4 ед. ASPU/г СВ крахмала степень гидролиза превышает СГК контрольного опыта (без пуллулазы) на 3,2%, что можно объяснить синергетическим действием композиции амилаз на нативный крахмал также, как на клейстеризованный [6, 7]. Однако увеличение дозировки пуллулазы при заданных условиях приводит к снижению степени гидролиза. Исследования также показали, что для испытуемой композиции ферментов, так же как и для глюкоамилазы, оптимум pH находится в пределах 3,3–3,5.

Анализ данных по концентрации и углеводному составу растворимых СВ, полученных при биоконверсии крахмала в присутствии композиции глюкоамилазы с пуллулазой в сравнении с таковыми, полученными ранее, при использовании одной глюкоамилазы в аналогичных условиях, показал, что эти показатели имеют практически равноценную зависимость от pH субстрата: содержание СВ фильтрата равномерно увеличивается в пределах

pH 4,5→3,3 и снижается при pH 3,0, вероятно, вследствие частичной инактивации глюкоамилазы. На основании анализа сделан вывод о необходимости изучения действия пуллулазы и используемой для доведения pH субстрата HCl на нативный крахмал в процессе его низкотемпературной биоконверсии в заданных условиях.

Влияние HCl на процесс биоконверсии нативного кукурузного крахмала при концентрации СВ в суспензии 32% и температуре инкубации 52 °C в течение 24 ч оценивали путем определения степени растворения крахмала (СРК), углеводного состава растворенных СВ и соответственно степени гидролиза (СГК), при варьировании pH исходной суспензии (pH – 6,4) в пределах 4,5–3,0 с интервалом 0,3 ед.

Результаты опытов, приведенные в таблице 3, показали, что снижение величины pH суспензии путем добавления раствора HCl до 3,6 и ниже вызывает некоторое повышение растворимости крахмала.

Таблица 3

Влияние pH суспензии на степень растворения и гидролиза кукурузного крахмала
(инкубирование при 52 °С в течение 24 ч)

Table 3

The influence of the suspension pH on the degree of solubility and hydrolysis of corn starch
(incubation at 52 °C for 24 h)

№ оп	СВ крах- мала, г DS of starch, g	pH суспен- зии suspension pH	Раство-ри- мые СВ, г Soluble DS, g	СРК, % DSS	ГЭ, % DE	СГК, % DHS	Углеводный состав PCB, % Carbohydrate composition SDS, %	
							Глюкоза glucose	ВМС HMS
1	23,76	6,4	0,04	0,15	0,00	0,00	0,0	0,0
2	48,11	4,5	0,08	0,17	0,18	0,03	0,0	100,0
3	48,13	4,2	0,08	0,17	0,18	0,03	0,0	100,0
4	48,13	3,9	0,08	0,17	0,18	0,03	0,0	100,0
5	48,17	3,6	0,09	0,18	0,18	0,03	0,0	100,0
6	48,20	3,3	0,09	0,20	0,23	0,05	5,26	94,74
7	48,00	3,0	0,13	0,27	0,26	0,07	6,82	93,18

Анализ углеводного состава растворимых СВ (PCB) показал, что в раствор переходят высокомолекулярные сахараиды и только при pH 3,3 появляются следовые количества глюкозы, что указывает на частичное расщепление гранул.

Оптимальные условия действия испытуемой пуллулазы (препарат Optimax L 1000, производитель – *Bac. licheniformis*) на клейстеризованный крахмал по данным производителя находятся на уровне pH 4,0–4,5, также как и глюкоамилазы Optidex L-400. Поскольку установлено, что оптимум действия испытуемой глюкоамилазы на нативный крахмал находится в пределах pH 3,0–3,5, опыты по изучению действия пуллулазы на нативный крахмал в процессе низкотемпературной биоконверсии проводили при варьировании pH 32% -ной суспензии в пре-

делах 4,5→3,3 с интервалом 0,3 ед. при температуре 52 °С и продолжительности инкубации 24 ч. Дозировка пуллулазы составляла 10 ед. ASPU/г СВ крахмала. Действие пуллулазы также оценивали по степени растворения крахмала, углеводному составу растворенных СВ и степени гидролиза.

Результаты проведенных опытов (таблица 4) показали, что в данных условиях процесса биоконверсии нативного кукурузного крахмала действие пуллулазы при столь высокой дозировке (10 ед. ASPU/г СВ крахмала) вызывает растворение не более 1,0% СВ при оптимальном для фермента pH среды (4,2) при действии на клейстеризованный крахмал. При снижении pH степень растворения снижается очевидно в связи с частичной инактивацией фермента.

Таблица 4

Влияние pH суспензии на степень растворимости и гидролиза кукурузного крахмала
при действии пуллулазы

Table 4

The influence of the suspension pH on the degree of solubility and hydrolysis of corn starch
under the action of pullulanase

№ оп.	СВ крах- мала, г DS of starch, g	pH суспен- зии suspension pH	Растворимые СВ, г Soluble DS, g	СРК, % DSS, %	Углеводный состав PCB, % Carbohydrate composition RSV, %				ГЭ, % DE, %	СГК, % DHS, %
					Г G	М M	МТ MT	ВМС HMS		
1	48,0	4,5	0,43	0,92	44,80	13,50	12,00	29,70	62,43	0,57
2	48,0	4,2	0,45	0,94	44,81	13,60	11,87	29,72	62,76	0,59
3	48,0	3,9	0,43	0,90	44,83	13,25	12,40	29,52	62,68	0,56
4	48,0	3,6	0,38	0,80	45,28	13,40	12,02	29,30	63,16	0,50
5	46,5	3,3	0,34	0,74	45,30	12,40	12,00	29,30	62,50	0,46

Результаты анализа углеводного состава растворенных СВ крахмала позволяют предположить, что испытуемая пуллулаза (*Bac. Licheniformis*) наряду с α -1,6 – Д-гликозидными связями гидролизует и α -1,4 – Д-связи, на что указывает образование значительных количеств глюкозы (таблица 4) и относится к амилопуллулазам-пуллулазам II типа, гидролизующим наряду с α -1,6 – связями в пуллулане и разветвленных субстратах, α -1,4 – связи в полисахаридах, отличных от пуллулана (крахмал, амилопектин) [9–11].

Полученные данные и анализ большого числа публикаций работ отечественных и зарубежных исследователей посвященных проблеме получения, изучения свойств и применения пуллулазы, свидетельствуют о важности проведения дальнейших исследований в направлении использования пуллулазы в крахмалопаточной промышленности.

Заключение

Установлено, что при использовании в качестве катализатора процесса низкотемпературной биоконверсии нативного кукурузного крахмала композиции глюкоамилазы с термостабильной бактериальной альфа-амилазой, в отличие от клейстеризованного крахмала, не наблюдается позитивного эффекта. Данный факт обусловлен как несовместимостью оптимальных условий действия указанных ферментов, так и структурными свойствами нативного крахмала.

Проведенные исследования показали позитивное влияние на процесс биоконверсии нативного крахмала, аналогично действию на клейстеризованный крахмал, композиции

глюкоамилазы (*Asp. Niger*) с пуллулазой (*Bac. Licheniformis*) при дозировке последней 0,4 ед. ASPU/г СВ крахмала.

Выявлено, что оптимальная величина pH реакционной среды для композиции ферментов так же, как и для глюкоамилазы при действии на нативный крахмал, находится в пределах 3,0–3,5, в отличие от 4,0–4,5 для клейстеризованного крахмала. Снижение оптимума pH для действия глюкоамилазы в процессе биоконверсии нативного крахмала может быть обусловлено синергетическим действием HCl и глюкоамилазы.

Пуллулаза (*Bac. Licheniformis*) при самостоятельном действии на нативный крахмал сохраняет оптимум pH (4,2) для клейстеризованного крахмала, при снижении pH частично инактивируется. При дозировке 10 ед. ASPU/г СВ крахмала в заданных условиях пуллулаза расщепляет не более 1% СВ крахмала с образованием глюкозы (~45%), мальтозы (~13%), мальтотриозы (~12%) и ВМС (~30%) независимо от величины pH и продолжительности процесса, что свидетельствует о способности испытуемой пуллулазы помимо α -1,6 – гликозидных связей расщеплять в крахмале и α -1,4 связи.

На основании полученных данных установлено, что использование композиции глюкоамилазы с α -амилазой и/или пуллулазой для низкотемпературной биоконверсии нативного крахмала, в отличие от клейстеризованного, неэффективно. Невосприимчивость нативного крахмала к действию испытуемых амилаз в условиях процесса очевидно обусловлена как структурными свойствами гранул крахмала, так и свойствами фермента в заданных условиях процесса.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Лукин Н.Д., Бородин З.М., Липидус Т.В., Маннова И.Г. и др. Исследование процесса биоконверсии нативного кукурузного крахмала с применением амилолитических ферментов // Достижения науки и техники АПК. 2011. №12. С. 74–76.
- 2 Лукин Н.Д., Бородин З.М., Папахин А.А., Шаталова О.В. Исследование действия амилолитических ферментов на нативный крахмал различных видов в гетерогенной среде // Достижения науки и техники АПК. 2013. №10. С. 62–64.
- 3 Tamaki S., Hisamatsu M., Teranishi K., Adachi T. et al. Structural change of maize starch granules by ball-mill treatment // Starch/Stärke. 1998. V. 50. № 8. P. 342–348.
- 4 Шульман М.С. Механическая клейстеризация крахмала. М.: Пищепромиздат, 1961. 149 с.
- 5 Uthumporn U., Zaidul I.S.M., Karim A.A. Hydrolysis of granular starch at subgelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes // Food and Bioproducts Processing. 2010. V. 88. P. 47–54.

- 6 Arasaratnam V., Balasubramaniam K. Synergistic action of α -amylase and glucoamylase on raw corn // Starch/Stärke. 1993. V. 45. № 6. P. 231–233.
- 7 Fujii M., Homma T., Taniguchi M. Synergism α -amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules // Biotechnol. Bioeng. 1988. V. 32. № 7. P. 910–915.
- 8 Папахин А.А., Бородин З.М., Лукин Н.Д., Гулакова В.А. и др. Методика оценки действия амилолитических ферментов на нативный крахмал // Хранение и переработка сельхозсырья. 2014. № 4. С. 14–17.
- 9 Hii S.L., Tan J.S., Ling T.C., Ariff A.B. Pullulanase: role in starch hydrolysis and potential industrial application // Enzyme research. 2012. V. 2012. P. 14.
- 10 Rou A., Messaoud E.B., Bejar S. Isolation and purification of an acidic pullulanase type II from newly isolated *Bacillus* sp. US149 // Enzyme and microbial technology. 2003. V. 33. № 5. P. 720–724.
- 11 Ara K., Saeki K., Igarashi K., Takaiwa M. et al. Purification and characterization of an alkaline amylopullulanase with both α -1,4 and α -1,6 hydrolytic activity from alkalophilic *Bacillus* sp. KSM-1378 // Biochimica et Biophysica Acta. 1995. V. 1243. № 3. P. 315–324.

REFERENCES

- 1 Lukin N.D., Borodina Z.M., Lapidus T.V., Mannova I.G. et al. Investigation of the process of bio-conversion of native corn starch with the use of amylolytic enzymes. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* [Advances of science and technology of agriculture]. 2011, no. 12, pp. 74–76. (in Russian)
- 2 Lukin, N.D., Borodina Z.M., Papahin A.A., Shatalova O.V. et al. Study of the action of amylolytic enzymes on native starches of various types in a heterogeneous environment. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* [Advances of science and technology of agriculture]. 2013, no. 10, pp. 62–64. (in Russian)
- 3 Tamaki S., Hisamatsu M., Teranishi K., Adachi T., Yamada T. Structural change of maize starch granules by ball-mill treatment. *Starch/Stärke*. 1998, vol. 50, no. 8, pp. 342–348.
- 4 Shul'man M.S. *Mehanicheskaya klejsterizatsiya krahmala* [Mechanical gelatinization of starch]. Moscow, Pishhepromizdat, 1961, 149 p.
- 5 Uthumporn U., Zaidul I.S. M., Karim A.A. Hydrolysis of granular starch at subgelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes. *Food and Bioproducts Processing*. 2010, vol. 88, pp. 47–54.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Николай Д. Лукин д.т.н., зам. директора по научной работе, ВНИИ крахмалопродуктов, ул. Некрасова, 11, п. Красково, Московская обл. 140051, Россия, vniik@arrisp.ru
Александр А. Папахин к.т.н., заведующий лабораторией, ВНИИ крахмалопродуктов, ул. Некрасова, 11, п. Красково, Московская обл. 140051, Россия
Зинаида М. Бородин к.т.н., вед. науч. сотр., ВНИИ крахмалопродуктов, ул. Некрасова, 11, п. Красково, Московская обл. 140051, Россия
Валентина А. Гулакова ст. науч. сотр., ВНИИ крахмалопродуктов, ул. Некрасова, 11, п. Красково, Московская обл. 140051, Россия

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Николай Д. Лукин консультация в ходе исследования
Александр А. Папахин написание рукописи, корректура ее до подачи в редакцию, проведение экспериментов, несет ответственность за плагиат
Зинаида М. Бородин обзор литературных источников по исследуемой проблеме, постановка и проведение экспериментов, обсуждение результатов
Валентина А. Гулакова проведение экспериментов, обсуждение полученных результатов

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 17.10.2016

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 10.11.2016

- 6 Arasaratnam V., Balasubramaniam K. Synergistic action of α -amylase and glucoamylase on raw corn. *Starch/Stärke*. 1993, vol. 45, no. 6, pp. 231–233.
- 7 Fujii M., Homma T., Taniguchi M. Synergism α -amylase and glucoamylase on hydrolysis of native starch granules. *Biotechnol. Bioeng.* 1988, vol. 32, no. 7, pp. 910–915.
- 8 Papakhin A.A., Borodina Z.M., Lukin N.D., Gulakova V.A. et al. Methods of evaluation of the action of amylolytic enzymes on native starches. *Khranenie i pererabotka sel'hozsyrya* [Storage and processing of agricultural products]. 2014, no. 4, pp. 14–17. (in Russian)
- 9 Hii S.L., Tan J.S., Ling T.C. Ariff A.B. Pullulanase: role in starch hydrolysis and potential industrial application. *Enzyme research*, 2012, vol. 2012, 14 p.
- 10 Rou A., Messaoud E.B., Bejar S. Isolation and purification of an acidic pullulanase type II from newly isolated *Bacillus* sp. US149. *Enzyme and microbial technology*. 2003, vol. 33, no. 5, pp. 720–724.
- 11 Ara K., Saeki K., Igarashi K., Takaiwa M., Uemura T., Hagihara H., Kawai S., Ito S. Purification and characterization of an alkaline amylopullulanase with both α -1,4 and α -1,6 hydrolytic activity from alkalophilic *Bacillus* sp. KSM-1378. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1995, vol. 1243, no. 3, pp. 315–324.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Nikolai D. Lukin doctor of technical sciences, deputy director, All-Russian Research Institute for Starch Products, Nekrasov str., 11, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia, vniik@arrisp.ru
Aleksandr A. Papakhin candidate of technical sciences, head of laboratory, All-Russian Research Institute for Starch Products, Nekrasov str., 11, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia
Zinaida M. Borodina candidate of technical sciences, leading researcher, All-Russian Research Institute for Starch Products, Nekrasov str., 11, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia
Valentina A. Gulakova senior researcher, All-Russian Research Institute for Starch Products, Nekrasov str., 11, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia

CONTRIBUTION

Nikolai D. Lukin consultation during the study
Aleksandr A. Papakhin writing of the manuscript, corrected it before submission to the editor, experiments, responsible for the plagiarism
Zinaida M. Borodina review of the literature on an investigated problem, setting up and conducting experiments, discussion the results
Valentina A. Gulakova conducted an experiment, discussion the obtained results

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 10.17.2016

ACCEPTED 11.10.2016