

УДК 663.12

Доцент Г.П. Шуваева, профессор О.С. Корнеева,
доцент О.Ю. Мальцева, доцент Т.В. Свиридова

(Воронеж. гос. ун-т. инж. технол.) кафедра биохимии и биотехнологии. тел. (473)2555557
E-mail: gpschuvaeva@mail.ru

Assistant Professor G.P. Shuvaeva, professor O.S.Korneeva,
assistant Professor O.Iu. Maltseva, assistant Professor T.V. Sviridova,
(Voronezh State University of Engineering Technologies) Department of biochemistry and
biotechnology. phone (473) 2555557
E-mail: gpschuvaeva@mail.ru

Получение, свойства и применение инулиназы *Saccharomyces cerevisiae* ВГШ-2

Production, properties and application of *Saccharomyces cerevisiae* VGSh-2 inulinase

Реферат. В работе представлены экспериментальные данные по кислотной и термической инактивации высокоочищенной инулиназы (2,1-β-D-фруктанфруктано-гидролаза, КФ 3.2.17) дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* расы ВГШ-2. Продукт получен методом индуцированного мутагенеза и депонирован в музей чистых культур кафедры биохимии и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий» (ВГУИТ). Клетки исходной культуры (*S. cerevisiae* p. XII) ступенчато подвергались действию ультрафиолетового излучения (УФЛ) и УФЛ в комплексе с химическим мутагеном (этиленимином). Культуру выращивали методом жидкофазного глубинного культивирования на несменяемой питательной среде. Экспериментально подобраны условия выделения инулиназы разной степени очистки. Выявлены зависимости активности фермента от действия физико-химических факторов (рН и температуры), определены численные значения основных кинетических констант: K_m и V_{max} . Методом инфракрасной-спектроскопии изучена структура молекулы фермента: определены тип и относительное количество элементов вторичной структуры фермента, установлены группы активного центра энзима, связывающие субстрат. Проведена сравнительная оценка отдельных ферментных препаратов по степени гидролиза инулина, содержащегося в топинамбуре, и сравнительная оценка рас дрожжей *S. cerevisiae* ВГШ-2 и *S. cerevisiae* XI по способности к последующему его сбраживанию. Установлены оптимальные условия ферментативного гидролиза полисахарида (инулина). Проведены исследования по сбраживанию крахмалсодержащего сырья дрожжами рас *S.cerevisiae* ВГШ-2 и *S.cerevisiae* XI. Установлено, что использование культуры *S. cerevisiae* ВГШ-2 для сбраживания зернового сула и экстракта из топинамбура позволяет увеличить выход этанола по сравнению с контрольной расой, улучшить качественные показатели продукта, а так же прогнозировать перспективу её внедрения в пищевой промышленности для получения этанола из зернового и инулинсодержащего сырья.

Summary. Experimental data on an acid and thermal inactivation of a high refined inulinase (2,1-β-D- fructanfructanohydrolase, KF 3.2.17), produced by the race of *Saccharomyces cerevisiae* VGSh-2 yeast are presented. The strain of *S. cerevisiae* VGSh-2 was produced by the method of the induced mutagenesis and deposited to the collection of pure cultures of the chair of biochemistry and biotechnology of Voronezh state university of engineering technologies. The cells of source culture (*S. cerevisiae* XII) were affected step-by-step by the ultra-violet radiation (UFR) and UFR in a complex with a chemical mutagen (etilenimine). The culture was grown up by the method of liquid-phase deep cultivation on a constant nutrient medium. Refining conditions for inulinase are sorted out. Activity of enzyme dependence on physical and chemical factors (pH and temperature) is obtained and numerical values of the main kinetic constants – K_m and V_{max} are determined. The structure of enzyme molecule is studied by an infrared-spectroscopy method: the type and relative quantity of elements of secondary structure of protein are defined. Substrate binding groups of the active center of an inulinase are found. The comparative analysis of the ability to hydrolysis of inulin in several enzyme preparations from Jerusalem artichoke and to the subsequent their fermentation by the VGSh-2 and XI *S. cerevisiae* yeasts is carried out. Optimum conditions of enzyme hydrolysis of inulin are selected. Research of the fermentation process of starch-containing raw materials by yeasts of VGSh-2 and XI races is done. It is established that the using of VGSh-2 *S. cerevisiae* yeast for a grain wort and the Jerusalem artichoke fermentation, allows to increase an extraction of ethyl alcohol comparing to control race, to improve its quality characteristics, and also allows to predict the using of new race in the food industry for production ethanol from grain raw materials and a fermentation of inulin containing raw materials.

Ключевые слова: ферментные препараты, протеолитическая активность, инулин, инулиназа, *Saccharomyces cerevisiae*

Keywords: nutrient medium, hydrolysis, producer, fermental preparations, inulin, inulinase, *Saccharomyces cerevisiae*.

© Шуваева Г.П., Корнеева О.С.,
Мальцева О.Ю., Свиридова Т.В., 2014

Дрожжи *S. cerevisiae* широко используются в различных отраслях пищевой промышленности.

Новый штамм *S. cerevisiae* ВГШ-2 получен методом индуцированного мутагенеза и депонирован в музей чистых культур кафедры биохимии и биотехнологии ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий» ВГУИТ [1]. Клетки исходной культуры (*S. cerevisiae* р. XII) ступенчато подвергались действию ультрафиолетового излучения (УФЛ) и УФЛ в комплексе с химическим мутагеном (этиленмином).

Дрожжи *S. cerevisiae* ВГШ-2 нацело сбраживают мальтозу, глюкозу, сахарозу, частично – галактозу. Не сбраживают лактозу, арабинозу, рамнозу, целлобиозу, трегалозу, мелибиозу, рибозу, рибит, D-маннит. Ассимилируют инулин; характерно максимальное потребление сахарозы. Незначительно ассимилируют галактозу.

Из источников азота потребляют аспарагиновую кислоту, метионин, глутаминовую кислоту, аргинин, лейцин, валин, треонин; не способны употреблять триптофан, гистидин, пролин, фенилаланин.

Хорошо растут на различных питательных средах. На глюкозно-пептонном дрожжевом агаре рост по штриху обильный, консистенция пастообразная, цвет штриха белый, слегка кремоватого оттенка. Клетки крупные, яйцевидные. На сусло-агаре рост также обильный, колонии белого, слегка кремового цвета, консистенция плотная, с гладкой поверхностью, рост равномерный, клетки крупные, овальные.

На синтетической среде с 0,5 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 4 % глюкозы, 0,5 % дрожжевого экстракта, 0,1 % KH_2PO_4 ; 0,05 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,01 % $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,01 % NaCl рост умеренный, клетки крупные, слегка округлые.

На питательной среде с использованием экстракта топинамбура генеративная активность культуры возрастает (накопление биомассы увеличивается на 35 – 50 %).

Температурный интервал роста 10- 40 °С, с оптимумом 34°С, интервал рН 3,5 – 5,0 с оптимумом 4,2. Время выращивания 24 - 36 ч.

S. cerevisiae ВГШ-2 проявляет высокую ферментативную активность: мальтазная 7,8 ед/г; зимазная – 42,0 ед/г, содержание трегалозы 16,0 %, активность β -фруктофуранозидазы в 2,5–3,0 раза больше по сравнению с активностью исходного штамма; синтезирует инулиназу, что позволяет использовать данную расу дрожжей для сбраживания различного вида сырья, как сахаро- и крахмалсодержащего, так и инулинсодержащего [1].

Способность расы ВГШ-2 синтезировать инулиназу выгодно отличает её от других рас этого вида и позволяет прогнозировать использование в бродильных производствах при переработке инулинсодержащего сырья.

Фермент инулиназа (2,1- β -D-фруктанфруктано-гидролаза, КФ 3.2.17) в течение ряда последних лет привлекает пристальное внимание как энзимологов, так и биотехнологов.

Наиболее актуальными являются такие вопросы исследований как расшифровка структуры фермента, влияние различных физико-химических факторов на конформацию этой структуры и связанных с ней механизмов активации и инактивации фермента; идентификация функциональных групп каталитического центра, расшифровка механизма катализа. Решение этих вопросов внесёт большой практический вклад в рациональное использование ферментных препаратов разной степени очистки в интенсификацию биотехнологических процессов.

Нами изучалась структура инулиназ, синтезируемых продуцентами различных таксономических групп, исходя из предположения, что ферменты должны обладать сходным механизмом действия, как следствие общей структуры их активных центров, и специфичностью.

Сведений о физико-химических свойствах инулиназ из различных источников: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Sporidiobolus* вполне достаточно. Было показано, что ферменты, полипептидные последовательности которых при наложении их друг на друга практически совмещались, обладали различной субстратной специфичностью. Различие в специфичности обусловлено небольшими изменениями в строении «кармана», связывающего боковую цепь аминокислоты.

Ряд исследователей считают [2, 3], что общим для большинства ферментов является способность субстрата связываться с их активным центром двумя или большим числом точек. Подобные многоточечные комплексы способствует тому, что полипептидные цепи белка-фермента, особенно боковые группы аминокислотных остатков, не зафиксированы слишком жестко и подвижны. Многоточечный характер фермент-субстратного взаимодействия в сочетании с повышенной микровязкостью активного центра приводит к практически полной диффузной неподвижности молекул субстрата и уменьшению энтропии. Молекула субстрата переходит из водного окружения в окружение, созданное аминокислотными остатками, оказываясь в поле сильных электрических взаимо-

действий между реагентами, вносящими существенный вклад в энергетику ферментативного катализа. В комплексообразовании участвуют, как правило, функциональные группы белка, которые не принимают участия в последующей химической модификации молекул субстрата. Конформационное изменение пространственной структуры фермента происходит без изменения первичной структуры.

Выдвинуто предположение, что инулиназа действует по механизму одиночной цепи, начинающейся с концевого звена молекулы субстрата [3].

В предыдущих исследованиях нами изучались некоторые свойства энзима [4-7], однако, с точки зрения промышленного использования фермента в бродильных производствах, инулиназа *Saccharomyces cerevisiae* ВГШ-2 изучена недостаточно.

Объектом исследования служили селекционированные на кафедре микробиологии и биохимии ГОУВПО ВГТА дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* ВГШ-2. Чистую культуру дрожжей поддерживали на агаризованном пивном неохмеленном сусле. Дрожжи культивировали жидкофазным способом на несменяемой питательной среде в колбах емкостью 500 см³ на шейкер-культиваторе Infors, частота вращения 120 об/мин, уровень аэрации 1,4 г О₂/дм³; температура 32-34°C; рН 4,8; объем питательной среды 100 см³; время культивирования 24 ч.

По окончании выращивания биомассу отделяли центрифугированием, промывали водой и отпрессовывали до влажности 75%.

Активность инулиназы определяли резорциновым методом по реакции Селиванова, используя инулин (Spofa, Прага).

При определении активности инулиназы учитывали содержание редуцирующих веществ, освобождающихся в процессе гидролиза субстрата под действием фермента. Редуцирующие сахара определяли двумя методами: Сомоджи-Нельсона и Бертрана.

За единицу инулиназной активности принималось количество фермента, которое катализирует образование 2 мМ редуцирующих веществ за 1 мин в стандартных условиях.

В ходе очистки инулиназы применяли Сефадекс Д-25 (для освобождения фермента от низкомолекулярных примесей и разделения с близкими по размеру белковыми молекулами). При заполнении колонки [(1,5 x 25) см] наблюдались 3 зоны: слой осевого геля, слой форсирующегося геля, зона чистого растворителя. Раствор фермента (3 x 10⁻⁴ М) в объеме 3 см³ в ацетатном буфере (рН 4,5) наносили на поверхность геля. По мере впитывания раствора, поверхность

геля дважды промывали равными объемами элюента, после чего вели элюирование. Скорость элюции составила 1 см³ за 5 мин. В качестве элюирующей среды использовали 0,1 М ацетатный буфер (рН 4,5). Содержание белка во фракциях определяли методом Лоури.

Для анализа инулиназы методом инфракрасной спектроскопии (ИКС) в качестве носителя была выбрана таблетка из КВг. Измерения производили с помощью многофункционального ИК-спектрофотометра SPECORD M-80 (Германия).

При исследовании бродильной активности дрожжей продуцент культивировали на средах различного состава: зерновом сусле и экстракте топинамбура.

Инокулят получали в анаэробных условиях путем последовательных пересевов с увеличением объема среды: крахмалистое сусло и экстракт топинамбура с концентрацией сухих веществ, соответственно, не менее 18 % и 12-14%. На первой стадии культивирования использовали солодовое сусло с концентрацией сухих веществ (СВ) 8-10%; на второй – 10-12% или смесь солодового суслу и экстракта из топинамбура в соотношении 1:1; на третьей – 12-15% или соотношение солодового суслу и экстракта из топинамбура 1:2.

Подготовку топинамбура к сбраживанию осуществляли следующим образом: измельченные клубни смешивали с водой (гидромодуль 2 : 1), подвергали тепловой обработке при температурах 93-95 °С в течение 40 минут [8]. Для осахаривания использовали ферментный препарат Fructozyme, который вносили в количестве 2 ФЕ на 1 г условного инулина. Гидролиз проводили при естественном значении рН среды самого топинамбура и температуре 55 °С. Параллельно осуществляли сбраживание топинамбура без предварительной тепловой обработки. Для сравнения в работе проводились эксперименты по сбраживанию зернового суслу, прошедшего традиционную для отрасли обработку, т.е. измельчение, разваривание, осахаривание, гидромодуль 1:3.

Концентрация сухих веществ суслу составляла 16 %, сбраживаемых углеводов – 14,5 г/100 см³, начальная рН 5,2. Дрожжи вносили в количестве 10 % к объему сбраживаемых проб. Сусло сбраживали при температуре 34 °С – для расы ВГШ – 2, и 30 °С для XII расы в качестве контроля.

Бражку опытных проб исследовали по общепринятым показателям качества [9], а также по определению содержания этанола и летучих примесей методом хроматографического анализа на колонке НР FFAP 50 m 0,32 mm. Ход брожения контролировали по газовой выделению.

В зрелой бражке определяли активную кислотность потенциметрически, титруемую кислотность выражали в см³ NaOH с массовой долей 1 моль/дм³ на 20 см³ бражки, содержание растворимых несброженных углеводов и нерастворенного инулина – фотоэлектрокалориметрическим антроновым методом [9].

При получении высокоочищенной инулиназы руководствовались общими рекомендациями по очистке ферментных препаратов [4-6].

Ранее [4] было установлено, что для получения технического препарата инулиназы можно использовать этанол, изопропиловый спирт и ацетон, но более мягко с сохранением активности воздействует этанол, что положительно в аспекте использования фермента в пищевой биотехнологии. В наших исследованиях использовали этанол и ацетон.

Биомассу из культуральной жидкости осаждали центрифугированием при 8000 об/мин в течение 15 мин. Извлечение фермента осуществляли путем дезинтегрирования клеток с помощью ультразвукового дезинтегратора УЗДН-2Т при мощности 500 Вт и частоте 22 кГц в течение 2 мин в ледяной бане. Гомогенат использовали для получения водной вытяжки (с массовой долей 10%) путем настаивания в течение 20 мин при (20 ± 2) °С и центрифугированием при 8000 об/мин в течение 10 мин.

Надосадочную жидкость (Supernatant) охлаждали до 2–4 °С и смешивали с растворителем. Характеристика препаратов, полученных осаждением различными растворителями, представлена в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Характеристика препаратов инулиназы *S. cerevisiae* ВГШ-2, полученных с использованием различных растворителей

Содержание растворителя		Общий белок, мг/100 мл	Активность инулиназы		% выхода	Степень очистки
объемные соотношения	%		Общ. ед/см ³	Удельная ед/мг белка		
Этанол						
1:1,5	57,6	213,5	672,3	3,15	81,5	1,7
1:2,0	64,0	198,4	684,1	3,50	83,0	1,9
1:2,5	68,5	157,2	735,6	4,68	89,2	2,5
1:3,0	72,0	130,9	520,1	3,45	63,1	1,8
Исх. выт-ка	0	439,8	824,5	1,87	100	0
Ацетон						
1:1,5	57,6	280,3	451,3	1,61	61,1	1,1
1:2,0	64,0	251,4	579,4	1,76	78,5	1,2
1:2,5	68,5	234,5	448,4	1,91	60,7	1,3
1:3,0	72,0	197,6	380,3	2,32	51,5	1,5
Исх. выт-ка	0	496,1	738,5	1,51	100	0

Оба растворителя осаждают фермент монотонно с последовательным увеличением их концентрации в растворе, увеличивая выход энзима. Однако наиболее полное (89,2 %) осаждение инулиназы наблюдается при действии этанола с концентрацией в смеси 68,5 %, удельная активность при этом возрастает в 2,5 раза. Изучение зависимости каталитической активности инулиназы от температуры и pH показали (рисунки 1, 2), что фермент достаточно термостабилен: при 60 °С сохраняется 20 % активности от исходной её величины. Температурный оптимум находится в пределах 43-46 °С. Кривая pH-активности имеет характерную для многих ферментов колоколообразную форму с максимумом 4,5-4,7. Кривая несимметрична: в области pH 3,0 - 4,5 она имеет пологий подъем, а в щелочной зоне - крутой спад. Возможно, это связано с изменением функциональных групп активного центра в результате протеолиза и, как следствие, с изменением его структуры в целом. Интересно отметить, что оптимальное значение pH сохраняется при всех концентрациях субстрата.

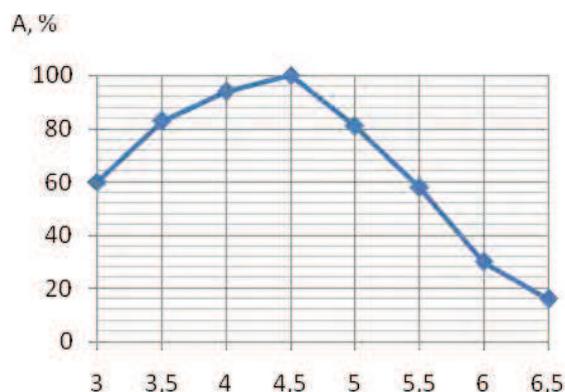


Рисунок 1. Изменение каталитической активности инулиназы *S. cerevisiae* ВГШ-2 в зависимости от pH

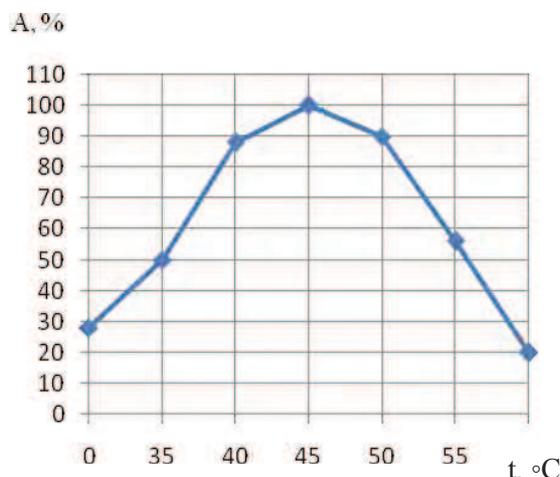


Рисунок 2. Изменение активности инулиназы *S. cerevisiae* ВГШ-2 в зависимости от температуры

По методу двойных обратных величин (Лайнуивера-Берка) были рассчитаны основные кинетические константы гидролиза инулина спиртоосаждённым препаратом «инулоцеревицином Г10Х»: K_m и V_{max} (таблица 2).

Т а б л и ц а 2

Основные кинетические константы реакции гидролиза инулина «инулоцеревицином Г10Х»

рН	Константы реакции гидролиза	
	$K_m, (x10^{-7})M$	$V_{max}, \text{мкмоль} \times \text{мг/мин}$
3,0	2,02±0,14	4,95±0,22
3,5	3,54±0,08	5,22±0,31
4,0	1,90±0,17	8,71±0,19
4,5	1,26±0,20	10,02±0,22
4,7	1,17±0,07	7,03±0,36
5,0	1,93±0,09	7,11±0,17
5,5	2,89±0,08	5,18±0,22
6,0	2,01±0,11	3,17±0,39

Построив графики зависимости $\lg V_{max}$ от рН; pK_m от рН; $\lg \frac{V_{max}}{K_m}$ от рН были получены

значения рК - константы ионизации групп активного центра (pK_{E1} и pK_{E2}), а также константы ионизации функциональных групп фермента, влияющих на его активность (pK_{ES1} , pK_{ES2} : $pK_{E1}=3,74$; $pK_{E2}=4,95$; $pK_{ES1}=3,95$; $pK_{ES2}=5,42$).

Полученные данные не противоречат литературным [7], что позволяет предполагать о наличии определённого сходства в составе активных центров ферментов, независимо от источника их выделения и происхождения продуцента.

Полученный ферментный препарат «инулоцеревицин Г10Х» использовали для осахаривания экстракта из топинамбура и в сравнении с применяемыми в отрасли отечественными ферментными препаратами – пектофоетидин П10х, экспериментальным – инулоаваморин П10х, ферментными препаратами Fructozyme и Viscozyme. На основании выполненных работ установлено, что наиболее эффективные ферментные препараты подвергают гидролизу экстракт топинамбура с массовой долей инулина 12 % при рН 5,5 и температуре 55 °С. Продолжительность гидролиза 40 минут.

Как видно из таблицы 3, наибольшую инулиназную активность имеет Fructozyme, вследствие чего для осахаривания суслу из топинамбура использовали именно этот ферментный препарат.

Результаты исследований по влиянию дозировки ферментного препарата на эффективность сбраживания экстракта топинамбура представлены в таблицах 4 и 5. Очевидно, что

наиболее рациональная дозировка ферментного препарата, с технологической и экономической точек зрения – 2 ФЕ/г инулина.

Т а б л и ц а 3

Характеристика ферментных препаратов, применяемых для осахаривания экстракта из топинамбура

Наименование ФП	Инулиназная активность, ед/см ³	Условия гидролиза		РВ, %
		рН	t, °С	
Ксилотриканофетидин П10Х	1400	4,7	55	–
Пектофоетидин П10Х	600	4,75	60	–
Инулиназа <i>K. marxianus</i>	9260	5,0	55	3,2
Инулиназа <i>A. awamori</i>	800	4,2	60	4,3
Инулиназа <i>S. cerevisiae</i> ВГШ-2	735,6	4,6	45	4,1
Fructozyme LTM	2360	5,5	55	4,5
Viscozyme	257	5,0	50	1,5

Анализ данных по изучению влияния продолжительности брожения на выход этилового спирта показал, что наибольший выход спирта наблюдался в опытных образцах, брожение которых протекало в течение 72 ч. Сокращение продолжительности брожения до 60 ч приводило к незначительному снижению выхода этанола (0,5-1,0 %), что позволило впоследствии ограничиться временем 60 ч.

Т а б л и ц а 4

Влияние дозировки ферментного препарата Fructozyme LTM на процесс брожения

Дозировка ФП (ФЕ/г субстрата)	Кислотность в конце брожения		Несброженные сахара, %	Нерастворенный инулин, %	Концентрация этанола, об. %
	титруемая	активная			
0,5	0,14	4,5	0,24	0,6	5,80
1,0	0,34	4,5	0,05	0,44	6,10
2,0	0,38	4,63	0,15	0,16	6,20
3,0	0,43	4,34	0,13	0,63	5,70
10	0,44	4,50	0,24	0	6,25
без фермента	0,26	4,85	0,24	0,75	4,25

Суслу из пшеницы сбраживали в течение 48 ч.

Была изучена способность дрожжей *S. cerevisiae* ВГШ-2 сбраживать среды различного состава. Как показали исследования, независимо

от состава среды культивирования засевных дрожжей, наибольший выход этанола наблюдается при сбраживании экстракта топинамбура. Максимальный выход продукта наблюдается при их выращивании на среде, содержащей экстракт из топинамбура, полученный с применением Fructozyme LTM при дозировке 2 ФЕ/г инулина с термообработкой (таблица 5).

Т а б л и ц а 5

Физико-химические показатели сбраживания экстракта топинамбура дрожжами *S. cerevisiae* ВГШ-2

Показатели	Дозировка Fructozyme LTM, ФЕ/г инулина			
	С термообработкой		Без термообработки	
	1	2	1	2
Несброженные сахара, г/100 см ³	0,04	0,05	0,07	0,06
Несброженный инулин, г/100 см ³	0,02	0	0,05	0,04
Нерастворенный инулин, г/100 см ³	0,21	0,15	0,18	0,16
Выход спирта, дал/т условного инулина	54,57	57,14	30,9	43,43

При разработке технологического режима производства спирта одним из важнейших показателей является качество готовой продукции. В связи с этим полученные пробы были исследованы на содержание микропримес-

ных соединений. Содержание побочных продуктов брожения определяли методом газовой хроматографии. Результаты газохроматографического анализа бражек из топинамбура и пшеницы представлены в таблица 6.

Как видно из таблицы 6, качественные составы примесей бражки в опытных образцах идентичны, однако количественное содержание побочных продуктов при этом заметно отличается.

В образцах, полученных с использованием расы дрожжей *S. cerevisiae* ВГШ-2, суммарное содержание примесных соединений на 8-10 % меньше, чем при использовании промышленного штамма *S. cerevisiae* XI.

В результате эксперимента установлено, что накопление этанола в зерновых пробах при сбраживании их *S. cerevisiae* ВГШ-2 на 7-11 % выше, чем при использовании контрольной промышленной расы (*S. cerevisiae* XI).

Таким образом, использование дрожжей *S. cerevisiae* ВГШ-2 для сбраживания зернового суслу и экстракта топинамбура позволяет увеличить выход этанола по сравнению с контрольной расой, улучшить его качественные показатели, а также прогнозировать перспективу её внедрения в пищевой промышленности для получения этанола из зернового и инулинсодержащего сырья.

Таблица 6

Содержание микропримесных соединений в спирте-сырце при различных условиях брожения

Наименование компонента	Группа примесей	Раса дрожжей				
		<i>S. cerevisiae</i> ВГШ-2			<i>S. cerevisiae</i> XI (с водно-тепловой обработкой)	
		Зерновое сусло с водно-тепловой обработкой	Экстракт топинамбура		Экстракт топинамбура	Зерновое сусло
с водно-тепловой обработкой	без водно-тепловой обработки					
Этиловый эфир, мг/л	эфир	-	-	-	17,451	-
Ацетальдегид, мг/л	альд.	3,21	25,475	263,92	550,81	1,6
Ацетон, мг/л	кетон	-	0,6594	0,774	-	-
Метилацетат, мл/л	сл. эф.	-	-	2,6309	-	-
Этилацетат, мг/л	сл. эф.	1,34	16,145	19,43	1,7195	2,90
Метанол, мг/л	% об.	-	0,0262	0,0255	0,0782	-
Пропанол-1, мг/л	сив.м.	7,42	259,48	72,842	325,78	6,08
Пропанол-2, мг/л	сив.м.	-	-	-	-	-
Изобутанол, мг/л	сив.м.	7,61	75,379	59,069	125,92	18,76
Бутанол, мг/л	сив.м.	-	2,2897	1,9056	3,8249	-
Изоамилол, мг/л	сив.м.	25,0	240,08	77,75	224,91	43,1
Гексанол, мг/л	сив.м.	-	0,3575	4,3099	7,9909	-
Сумма	сив.м.	40,0	577,5	215,88	688,42	67,94

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Пат. № 2147034, RU, 7 C12 N 1/16, C12 R 1:865. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* ВГШ-2 для бродильных производств / Шуваева Г.П., Гарманова Е.Л., Мальцева О.Ю. № 98121097/13; Заявл. 2000132175; Опубл. 27.03.2000, Бюлл. № 9.
- 2 Singh R. S., Singh R.P. Production of Fructooligosaccharides from Inulin by Endoinulinases and Their Prebiotic Potential // Food Technol. Biotechnol. 2010. vol.48. no 4. P. 435–450.
- 3 Корнеева О.С. Карбогидразы: препаративное получение, структура и механизм действия на олиго- и полисахариды. Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 2001. 184 с.
- 4 Шуваева Г.П., Рутковская Т.Р. Особенности инулиназ продуцентов различных таксономических групп // Сб. статей «Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов». Воронеж. 2008. № 19. С. 292-295.
- 5 Рутковская Т.Р., Шуваева Г.П., Корнеева О.С. Инулиназа дрожжей *S.cerevisiae* ВГШ-2. Препаративное получение и некоторые физико-химические свойства // Фундаментальные исследования. 2010. № 10. С. 17-25.
- 6 Шуваева Г.П., Рутковская Т.Р., Корнеева О.С. Исследование физико-химических свойств инулиназы дрожжей *S. cerevisiae* ВГШ-2 // Вопросы современной науки и практики. 2010. Вып.11. Т.31. № 10-12. С. 60-64
- 7 Шуваева Г.П., Рутковская Т.Р., Корнеева О.С. Исследование молекулярной структуры инулиназы *Saccharomyces cerevisiae* // Материалы 111 Межд. н-т конф. «Инновационные технологии и оборудование для пищевой пром-ти (приоритеты развития), Воронеж, 22-24 сентября. 2009. Т. 2. С. 30-32.
- 8 Вагабов М-З. В. и др. Интенсификация процесса гидролиза инулинсодержащего сырья с целью получения этанола // Хранение и переработка сельхозсырья. 2006. № 2. С. 43-45.
- 9 Фертман Г.И., Шойхет М.И. Химико-технологический контроль спиртового и ликеро-водочного производства. М.: Пищевая пром-сть, 1975. 440 с.

REFERENCES

- 1 Shuvaeva G. P., Garmanova E.L., Maltseva O. Iu. *Saccharomyces cerevisiae* VGSh-2 yeast for fermentative productions. Patent RF, no. 2147034, 2000. (In Russ.).
- 2 Singh R. S., Singh R.P. Production of Fructooligosaccharides from Inulin by Endoinulinases and Their Prebiotic Potential. Food Technol. Biotechnol, 2010, vol.48, no 4, pp. 435–450.
- 3 Korneeva O. S. Carbohydrases: preparative production, structure and the mechanism of action on oligo-and polysaccharides. Voronezh: Voronezh State University, 2001. 184 p. (In Russ.).
- 4 Shuvaeva G. P., Rutkovskaia T.R. The features of inulinase producers of various taxonomical groups. "Organization and Regulation of physiological and biochemical Processes". Voronezh, 2008, no. 10, pp. 292-295. (In Russ.).
- 5 Rutkovskaia T.R., Shuvaeva G. P., Korneeva O. S. Inulinases of *S.cerevisiae* VGSh-2 yeast. Preparative production and some physical and chemical properties. Basic researches, 2010, no. 10, pp. 17-25. (In Russ.).
- 6 Shuvaeva G. P., Rutkovskaia T.R., Korneeva O. S. Research of physical and chemical properties of an inulinase of VGSh-2 *S. cerevisiae* yeast. Questions of modern science and practice, 2010, issue 11, vol.31, no. 10-12, pp. 60-64. (In Russ.).
- 7 Shuvaeva G. P., Rutkovskaia T.R., Korneeva O. S. The study of molecular structure of an inulinase of *Saccharomyces cerevisiae*. Materials of international conf. "Innovative technologies and equipment for a food industry (development priorities), Voronezh, September 22-24. 2009, vol. 2, pp. 30-32. (In Russ.).
- 8 Vagabov M-Z. V. et al. An intensification of process of hydrolysis of inulin containing raw materials for ethanol production. Storage and processing of agricultural raw materials, 2006, no. 2, pp. 43-45. (In Russ.).
- 9 Fertman G. I., Shoykhet M. I. Chemical and technological control of alcohol and beverage production. Moscow, Food industry, 1975. 440 p. (In Russ.).