

Оригинальная статья / Original article

УДК 577.151:663.531

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392>



## Подбор мультиэнзимной композиции и условий подготовки концентрированного зернового сусла

© Е.М. Серба, Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко, Н.И. Игнатова,  
М.Э. Медриш, А.А. Павлова, Е.Н. Соколова

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии –  
филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,  
Москва, Российская Федерация

**Резюме:** В целях создания ресурсосберегающих биотехнологий глубокой переработки зернового сырья актуальным является поиск эффективного способа получения концентрированного зернового сусла для спиртового производства. Чтобы обеспечить качественные показатели биохимического состава и реологических свойств концентрированного сусла, необходим подбор оптимальных ферментных систем и условий глубокой конверсии высокомолекулярных полимеров зерна. Проведенными ранее исследованиями доказана эффективность применения карбогидраз для обработки зернового сырья. Однако практически отсутствуют данные, касающиеся изучения каталитического действия фитазы, в том числе в комплексе с другими гидролитическими ферментами, на степень гидролиза полимеров зернового сырья при приготовлении концентрированного сусла. В настоящей работе показано влияние протеаз и фитаз в составе мультиэнзимной композиции, а также условий ферментативной обработки сырья, на реологические и биохимические показатели концентрированного зернового сусла. В качестве объектов исследования были пшеница, рожь и кукуруза. Установлено, что синергизм совместного действия исследованных гидролаз, в том числе фитолитических и протеолитических ферментов, способствовал повышению степени конверсии полимеров данного зернового сырья и увеличению концентрации растворимых сухих веществ сусла в 1,5 раза. Использование в составе мультиэнзимного комплекса протеаз и фитаз позволило увеличить в сусле концентрацию: глюкозы – в 1,2–1,3 раза; аминокислот – в 1,5–2,2 раза; ионов фосфора – в 1,4–4,3 раза. При этом в опытных вариантах сусла содержание аминокислот в свободной форме увеличилось более чем в 4 раза. Показано, что подготовка зернового сырья при температуре 80–90 °С в течение 6 ч и продолжительности осахаривания в течение 1–2 ч с использованием полного комплекса ферментов, содержащего  $\alpha$ -амилазу, глюкоамилазу, ксиланазу, протеазу и фитазу, позволяет получить концентрированное зерновое сусло с содержанием сухих веществ более 30%. При этом отмечено существенное снижение вязкости (особенно ржаного сусла – в 1,3–1,9 раза). Результаты исследований подтвердили важную роль ферментов, проявляющих субстратную специфичность по отношению к белковым и фитиновым полимерам зернового сырья.

**Ключевые слова:** протеазы, фитазы, зерновое сусло, углеводы, фосфаты, аминокислоты, мультиэнзимная композиция

**Благодарности:** Исследования проведены за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук.

**Для цитирования:** Серба Е.М., Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Медриш М.Э., Павлова А.А., Соколова Е.Н. Подбор мультиэнзимной композиции и условий подготовки концентрированного зернового сусла. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11. N 3. С. 384–392. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392>

## Selecting multi-enzyme composition and preparation conditions for strong wort

Elena M. Serba, Luybov V. Rimareva, Marina B. Overchenko, Nadezda I. Ignatova,  
Marina E. Medrish, Anzhelika A. Pavlova, Elena N. Sokolova

Russian Research Institute of Food Biotechnology,  
Federal Research Center of Nutrition and Biotechnologies,  
Moscow, Russian Federation

**Abstract:** Development of sustainable biotechnologies for deep processing of grain raw materials requires effective mechanisms of obtaining strong wort for alcohol production. To provide qualitative characteristics of biochemical composition and rheological properties of strong wort, it is necessary to select optimal enzyme systems and conditions for deep conversion of high-molecular weight polymers of the grain. Previous research has proven the efficiency of carbohydrases for processing grain raw materials. However, there is little evidence on the catalytic effect of phytase, including in combination with other hydrolytic enzymes, on the degree of hydrolysis of polymers in grain raw materials when preparing strong wort. This paper demonstrates the effect of proteases and phytases in a multi-enzyme composition, as well as the conditions of enzymatic processing of raw materials, on the rheological and biochemical parameters of strong wort. Wheat, rye and corn were investigated. The synergism of the combined effect of studied hydrolases, including phytolytic and proteolytic enzymes, contributed to an increase in polymer conversion in this grain raw material and the concentration of soluble dry substances of the wort by 1.5 times. Using the proteases and phytases in the multi-enzyme composition allowed the concentration of the following components in the wort to be increased: glucose – by 1.2–1.3 times; amine nitrogen – by 1.5–2.2 times; phosphorus ions – by 1.4–4.3 times. Additionally, in the wort samples, the content of amino acids in the free form increased by over 4 times. It is shown that the pretreatment of grain raw materials at a temperature of 80–90°C for 6 hours and saccharification for 1–2 hours using a complete complex of enzymes containing  $\alpha$ -amylase, glucoamylase, xylanase, protease and phytase, allows a strong wort with a dry matter content of over 30% to be obtained. Moreover, a significant decrease in viscosity was noted (particularly for rye wort – by 1.3–1.9 times). Our results confirm the essential role of enzymes exhibiting substrate specificity to protein and phytic polymers in grain raw materials.

**Keywords:** proteases, phytases, grain wort, carbohydrates, phosphates, amino acids, multienzyme composition

**Acknowledgments:** The study was supported by the Fundamental Scientific Research Program for the State Academies of Sciences.

**For citation:** Serba EM, Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI, Medrish ME, Pavlova AA, Sokolova EN. Selecting multi-enzyme composition and preparation conditions for strong wort. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(3):384–392. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-384-392>

## ВВЕДЕНИЕ

Создание ресурсосберегающих биотехнологий производства спирта предусматривает прежде всего разработку эффективных способов подготовки зернового сырья для получения концентрированного сусла [1–4].

В настоящее время для получения этилового спирта по традиционной технологии используют зерновые среды, содержащие 18–22% растворимых сухих веществ. В результате их сбраживания образуется большое количество отхода производства – зерновой барды, которое более чем в 10 раз превышает объем целевого продукта – этанола. С целью снижения образования отходов необходимо повысить концентрацию перерабатываемого зернового сусла [1, 5, 6]. Проблема при этом заключается в том, что для приготовления качественного концентрированного сусла необходимо подобрать мультиэнзимную композицию и разработать условия ее биокаталитического действия, обеспечивающие глубокий гидролиз всех полимеров зернового сырья до ассимилируемых дрожжами углеводов и аминокислот. В работах ряда исследователей показана возможность повышения концентрации сухих веществ зернового сусла с использованием комплекса ферментов, катализирующих гидролиз крахмала, некрахмальных полисахаридов и белка. Однако при достижении концентрации сухих веществ сусла больше 25–28% существенно повышалась вязкость и снижались его качественные показатели, что негативно сказывалось на процессе

спиртового брожения [1, 5–9]. По-видимому, авторы не учитывали содержащиеся в зерне фитиновую кислоту или ее соли, являющиеся основным источником фосфора, которые представляют собой хелатные металлоорганические соединения, связывающие не только ионы минеральных веществ, но и образующие устойчивые углеводные и протеин-фитатные комплексы, что может негативно сказываться на обеспеченности дрожжей минеральным питанием [10–13]. По данным исследователей, применение фитолитических ферментов способствует распаду фитиновых соединений, высвобождению фосфора и других микроэлементов, что должно приводить к повышению качества зернового сусла, активизации жизнедеятельности спиртовых дрожжей [14–18]. Однако практически отсутствуют данные, касающиеся исследований каталитического действия фитазы, в том числе в комплексе с другими гидролитическими ферментами, на полимеры зернового сырья при приготовлении концентрированного сусла. Недостаточно изучено влияние условий ферментативной обработки зерна на биохимический состав и реологические свойства концентрированного сусла, содержащего более 30% сухих веществ.

Цель настоящих исследований состояла в подборе мультиэнзимной композиции, содержащей ферменты фитолитического действия, а также условий ферментативной обработки сырья на качество концентрированного зернового сусла.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов для исследовательской работы были выбраны пшеница, рожь и кукуруза как наиболее широко применяемые в спиртовом производстве зерновые культуры. В целях декстринизации и осахаривания крахмала были рассмотрены ферментные препараты (ФП) – источники  $\alpha$ -амилазы и глюкоамилазы; для гидролиза ксиланов и гемицеллюлозы – ксиланазы; для конверсии белковых веществ – протеазы; для деструкции фитиновых веществ – фитазы [1, 5, 6].

Переработку зернового сырья осуществляли по ферментативно-гидролитической схеме при температуре 60–90 °С и гидромодуле 1:1,8 [1, 6–8]. В зависимости от поставленных задач и стадии приготовления сусла варьировали составом ферментов. В контрольных вариантах сусла мультиэнзимная композиция включала следующие ферментные препараты: ФП-1 – как источник бактериальной термостабильной  $\alpha$ -амилазы; ФП-2 – источник ксиланазы; ФП-3 – грибной  $\alpha$ -амилазы; ФП-4 – глюкоамилазы. В опытных вариантах наряду с ферментами амилолитического, глюкоамилазного и ксиланазного действия для протеолиза белков дополнительно вводили препарат ФП-5 как источник кислой протеазы, а для гидролиза фитиновых веществ – ФП-6, содержащий фитазу.

Ферментативную активность ФП определяли стандартными методами:

- амилолитическую (АС) и глюкоамилазную (ГлС) – по ГОСТ Р 54430-2011;
- протеолитическую (ПС) – по ГОСТ Р 53974-2010;
- ксиланолитическую (КС) – по ГОСТ Р 55302-2012;
- фитолитическую (ФС) – по ГОСТ 31487-2012.

Состав основных полимеров зерна, содержание растворимых сухих (РСВ) и редуцирующих (РВ) веществ зернового сусла определяли в соответствии с инструкцией технохимического контроля спиртового производства<sup>1</sup>; концентрацию аминного азота ( $\text{NH}_2^+$ ) – медным способом<sup>2</sup>; содержание глюкозы и мальтозы – методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC-20 (Япония) [19];

концентрацию ионов фосфора – методом капиллярного электрофореза с применением системы серии PrinCE-560 (Нидерланды), оснащенной кондуктометрическим детектором [20]. Динамическую вязкость зернового сусла определяли на синусоидальном вибрационном вискозиметре SV-10 (A&D Company Limited, Япония) с программным обеспечением Win-CT Viscosity методом вибрационной вискозиметрии [21]. Концентрацию аминокислот в зерновом сусле исследовали на аминокислотном анализаторе Knauer Eurochrom 2000 с последующим детектированием компонентов спектрофотометрическим детектором Smartline UV Detector 2500 (Германия) [5].

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных не менее чем в 3-х повторностях осуществляли методом однофакторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием Тьюки при  $p < 0,05$  с использованием программы Statistica 6.0.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведены сравнительные исследования состава основных полимеров, содержащихся в исходном пшеничном, кукурузном и ржаном сырье, используемом для приготовления сусла (табл. 1). Результаты исследований подтвердили полученные ранее данные, что рожь отличалась наиболее высоким содержанием гемицеллюлоз, кукуруза – крахмала и фитатов, количество которых практически в 2 раза превосходило показатели пшеничного и ржаного зерна [15, 16, 22].

Исследовано влияние мультиэнзимных композиций, содержащих ферменты с различной субстратной специфичностью, и длительности процесса на степень гидролиза полисахаридов, белковых и фитиновых веществ и образование в концентрированном сусле растворимых углеводов (РВ), в том числе мальтозы и глюкозы, аминного азота и фосфатов. Алгоритм получения концентрированного зернового сусла с использованием исследуемых ФП представлен на рис. 1.

Таблица 1. Состав основных полимеров зернового сырья

Table 1. Composition of the main polymers of grain raw materials

Зерновое сырье	Состав полимеров, %			
	Крахмал	Гемицеллюлозы	Белки	Фитаты
Пшеница	59,5±2,9	4,3±0,2	12,5±0,5	1,2±0,03
Кукуруза	65,4±3,2	3,0±0,1	10,3±0,4	2,2±0,09
Рожь	57,1±2,8	10,8±0,4	11,9±0,5	1,1±0,05

Значения представлены в виде средних  $\pm$  стандартное отклонение.

<sup>1</sup>Фирсов Н.Н. Микробиология: словарь терминов. М.: Дрофа, 2006. 256 с.

<sup>2</sup>Гребенщикова А.В. Подбор условий культивирования для бактерий рода *Bacillus* // Труды молодых ученых Алтайского государственного университета: материалы VII региональной молодежной конференции «Мой выбор – наука», XLVII научной конференции студентов, магистрантов, аспирантов и учащихся лицейных классов. Вып. 17. Барнаул: Изд-во Алтайского университета, 2020. С. 3–5.

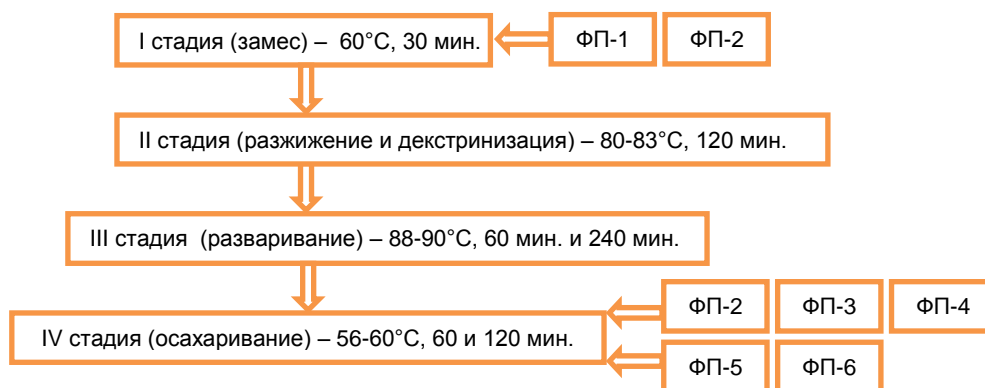


Рис. 1. Алгоритм ферментативно-гидролитического приготовления концентрированного зернового сусла (30% РСВ)

Fig. 1. Algorithm of enzymatic-hydrolytic preparation of concentrated grain wort (30% RSV)

Расход ФП осуществляли в соответствии с подобранными ранее дозировками [5, 7, 18]. Во всех вариантах приготовления сусла I-ая и II-ая стадии ферментативно-гидролитической обработки зернового сырья не различались (см. рис. 1). На I-й стадии с целью получения водно-мучного замеса (гидромодуль 1:1,8) вводили ФП-1 для разжижения и декстринизации крахмала в дозировке 0,9 ед. АС/г крахмала, и ФП-2 – в дозировке 0,3–0,7 ед. КС/г сырья (табл. 2). При дозировании ФП-2 учитывали, что наиболее высокое содержание некрахмальных полисахаридов отмечено в ржаном сырье (см. табл. 1).

Остальные ферментные препараты (ФП-3 – грибная  $\alpha$ -амилаза, ФП-4 – глюкоамилаза, ФП-5 – протеаза, ФП-6 – фитаза) использовали на IV-й стадии (см. рис. 1, табл. 2). В контрольных вариантах в составе мультиэнзимных комплексов отсутствовали ферменты протеолитического и фитолитического действия. III-ая и IV-ая стадии приготовления сусла различались продолжительностью инкубации (табл. 3).

По окончании IV-й стадии получены образцы опытных и контрольных вариантов зернового сусла, содержащего 29,8–32,8% растворимых сухих веществ, что в 1,5 раза превышало кон-

центрацию сусла, приготовленного по классической технологии и содержащего 18–22% РСВ [2, 3]. Образцы сусла различались степенью конверсии полимеров в зависимости от длительности III-й и IV-й стадий ферментативно-гидролитической обработки сырья, а также от состава использованных ферментов (см. рис. 1, табл. 3).

Установлено, что длительная температурно-гидролитическая подготовка зернового замеса в течение 4-х ч (III-я стадия) и использование мультиэнзимной композиции, содержащей в своем составе наряду с амилазами и ксиланазами ферменты, катализирующие гидролиз белковых и фитиновых веществ, способствовало повышению содержания в сусле не только растворимых сухих и редуцирующих веществ, аминного азота, но и ассимилируемых дрожжами глюкозы и мальтозы, аминокислот в свободной форме и фосфатов (рис. 2, см. табл. 3). При увеличении длительности ферментативно-гидролитической обработки зернового замеса наблюдалось заметное снижение вязкости, особенно в ржаном сусле – в 1,4 раза (см. табл. 3), что, по-видимому, связано с более высоким содержанием в сырье гемицеллюлоз [17].

Таблица 2. Характеристика и расход ферментных препаратов для биокаталитической конверсии полимеров пшеничного, кукурузного и ржаного сусла

Table 2. Characteristics and consumption of enzymes for biocatalytic conversion of wheat, corn and rye wort polymers

Шифр ферментного препарата, основной фермент	*Активность фермента, ед./см <sup>3</sup>	Расход фермента	Пшеница	Кукуруза	Рожь
			Дозировка фермента		
ФП-1 (Amylex, «Genencor», США), термостабильная $\alpha$ -амилаза	1980+70	ед. АС/г крахмала	0,9	0,9	0,9
ФП-2 (Tegazyme, «Genencor», США), ксиланаза	3600+150	ед. КС/г сырья	0,5	0,3	0,7
ФП-3 (Амилоризин, ВНИИПБТ, РФ), грибная $\alpha$ -амилаза	2500+100	ед. АС/г крахмала	0,9	0,9	0,9
ФП-4 (Diazyme X5, «Genencor», США), глюкоамилаза	8000+350	ед. ГЛС/г крахмала	15,0	15,0	15,0
ФП-5 (Протооризин, ВНИИПБТ, РФ), протеаза	640+30	ед. ПС/г сырья	0,4	0,4	0,4
ФП-6 (Phytaflow, Novozymes, Дания), фитаза	30000+1100	ед. ФС/г сырья	2,0	2,0	2,0

\*Значения представлены в виде средних  $\pm$  стандартное отклонение.

Таблица 3. Физико-химическая характеристика пшеничного, кукурузного и ржаного сусла

Table 3. Physical and chemical characteristics of wheat, corn and rye wort

Вариант	Длительность стадии, ч		Вязкость, мПа·с	РСВ, %	Содержание углеводов, %			Аминный азот, мг%	Ионы фосфора, мг/дм <sup>3</sup>
	III ст.	IV ст.			РВ	глюкоза	мальтоза		
Пшеница									
Опыт	1	1	31,2+1,5	29,8+1,4	24,3+1,2	14,0+0,7	9,4+0,5	78,4+3,9	1739,0+87,0
	1	2	29,0+1,4	30,5+1,5	25,1+1,3	15,1+0,8	9,0+0,4	84,7+4,1	2262,1+113,1
	4	1	30,0+1,5	31,5+1,6	26,2+1,3	16,9+0,7	8,4+0,3	86,4+4,3	2395,5+119,8
	4	2	28,5+1,4	32,3+1,7	28,1+1,4	18,9+0,9	8,0+0,3	92,5+4,5	2840,0+142,0
Контроль	4	2	35,4+1,8	31,4+1,5	25,0+1,2	15,7+0,6	8,1+0,3	41,8+4,0	987,2+49,4
Кукуруза									
Опыт	1	1	38,4+1,9	30,4+1,5	25,8+1,3	15,0+0,7	8,4+0,3	57,2+2,8	964,2+48,2
	1	2	35,0+1,8	31,0+1,5	26,9+1,4	16,3+0,8	7,8+0,4	64,7+3,1	1230,2+61,5
	4	1	34,0+1,7	31,9+1,7	27,8+1,3	16,9+0,8	7,7+0,3	69,6+3,8	1389,4+69,5
	4	2	30,0+1,5	32,8+1,6	30,1+1,5	19,7+0,9	7,4+0,2	72,4+4,2	1401,7+70,2
Контроль	4	2	40,4+2,0	31,2+1,4	27,0+1,4	16,4+0,8	8,2+0,4	38,2+1,9	324,2+16,2
Рожь									
Опыт	1	1	233,5+11,7	30,0+1,5	23,0+1,1	7,3+0,4	13,8+0,7	80,6+4,0	1497,0+74,9
	1	2	183,0+9,4	30,4+1,5	23,9+1,2	8,5+0,5	13,4+0,6	86,2+4,3	1581,6+79,1
	4	1	220,1+11,2	30,6+1,5	23,2+1,0	9,7+0,5	12,4+0,6	88,1+4,4	1590,1+79,2
	4	2	168,0+8,6	30,9+1,5	25,1+1,4	11,5+0,6	12,0+0,5	95,9+4,9	1653,0+76,3
Контроль	4	2	310,9+15,2	30,2+1,4	23,8+1,2	9,1+0,5	12,3+0,6	43,2+4,1	1084,7+55,1

Значения представлены в виде средних ± стандартное отклонение.

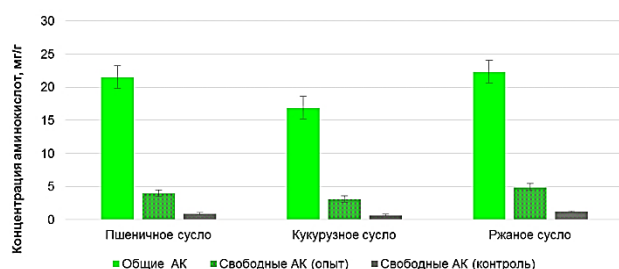


Рис. 2. Влияние механико-ферментативной обработки пшеничного, кукурузного и ржаного сусла на образование свободных аминокислот

Fig. 2. Effect of mechanical-enzymatic treatment of wheat, corn and rye wort on free amino acids formation

Более существенно на физико-химические характеристики концентрированного сусла влиял состав ферментного комплекса. Использование в составе мультиэнзимной композиции протеаз и фитаз позволило увеличить концентрацию глюкозы в 1,2–1,3 раза, аминного азота – в 1,5–2,2 раза, а ионов фосфора – в 1,4–4,3 раза. Полученное концентрированное сусло имело хорошие реологические свойства: вязкость пшеничного и кукурузного сусла снизилась в 1,2–1,3 раза, а ржаного – в 1,9 раза по сравнению с контрольными вариантами.

В опытных вариантах сусла отмечена также и более высокая степень гидролиза белка с образованием свободных аминокислот, ассимилируемых дрожжами, концентрация которых увеличилась более чем в 4 раза по сравнению с контролем (см. рис. 2).

Таким образом, подготовка зернового сырья при температуре 80–90 °С в течение 6 ч. (II-ая + III-я стадии) и продолжительности осахаривания в течение

1–2-х ч с использованием полного комплекса ферментов, содержащего ферменты амилолитического, ксиланолитического, протеолитического и фитазного действия, позволяет получить концентрированное зерновое сусло (более 30% PCB) с наиболее низкой вязкостью и высоким содержанием растворимых углеводов, свободных аминокислот и ионов фосфора.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований показано, что подобранный мультиэнзимный комплекс обеспечивает глубокий гидролиз высокомолекулярных полимеров зернового сырья: полисахаридов – с образованием моно- и дисахаров; белков – с накоплением аминного азота и свободных аминокислот; фитиновых веществ – с высвобождением фосфатов в биодоступной форме, и позволяет получить концентрированное сусло с содержанием PCB более 30%, что в 1,5 раза превышало концентрацию сусла, приготовленного по классической технологии и содержащего 18–22% PCB [2, 3, 17].

Установлено, что совместное действие исследованных гидролаз способствовало не только повышению степени конверсии полимеров зернового сырья, но и улучшению реологических свойств концентрированного сусла. Известно, что содержащиеся в зерне гемицеллюлозы оказывают негативное влияние на реологические свойства зернового сусла, что затрудняет атакуюемость крахмала амилолитическими ферментами, приводит к снижению качественных показателей сусла и замедлению процесса брожения [5]. В проведенных ранее исследованиях была доказана возможность существенного снижения вязкости сус-



ла в результате биокаталитической конверсии ксиланов [4, 5, 17]. Итоги данных исследований показали, что при подготовке концентрированного сусла дополнительное включение в состав комплекса фитазы и протеазы способствовало еще большему снижению вязкости пшеничного и кукурузного сусла – в 1,2–1,3 раза, ржаного – в 1,9 раза, что, по-видимому, связано с синергизмом действия ферментов [17].

Показано, что выбранные параметры ферментативно-гидролитической подготовки сырья и длительность процесса (температуре 80–90 °С в течение 6 ч и продолжительность осахаривания в течение 1–2-х ч с использованием полного

комплекса ферментов) позволили максимально повысить концентрацию растворимых сухих веществ и степень гидролиза полисахаридов, белков и фитина в концентрированном зерновом сусле.

Таким образом, подобран состав мультиэнзимной композиции и условия ферментативно-гидролитической обработки зернового сырья, обеспечивающие получение качественного концентрированного сусла с хорошими реологическими свойствами и высоким содержанием растворимых сухих веществ, углеводов, свободных аминокислот и ионов фосфора.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Серба Е.М., Оверченко М.Б., Римарева Л.В. Биотехнологические основы микробной конверсии концентрированного зернового сусла в этанол: монография. М.: Библио-Глобус, 2017. 120 с. <https://doi.org/10.18334/9785950050169>
2. Зуева Н.В., Агафонов Г.В., Корчагина М.В., Долгов А.Н., Чусова А.Е. Выбор ферментных препаратов и температурно-временных режимов водно-тепловой и ферментативной обработки при разработке комплексной технологии переработки зернового сырья // Вестник ВГУИТ. 2019. Т. 81. N 1. С. 112–119. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-112-119>
3. Кривченко В.А., Туршатов М.В., Соловьев А.О., Абрамова И.М. Спиртовое производство – технологическая основа комплексной переработки зерна с получением пищевых продуктов // Пищевая промышленность. 2019. N 4. С. 53–54. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10027>
4. Родионова Н.А., Капельянец Л.В., Середницкий П.В., Килимник А.Ю. Гемиллюлозы зерна и ферменты, катализирующие их расщепление // Прикладная биохимия и микробиология. 1992. Т. 28. N 5. С. 645–664.
5. Серба Е.М., Абрамова И.М., Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Грунин Е.А. Влияние ферментных препаратов на технологические показатели зернового сусла и качество спирта // Пиво и напитки. 2018. N 1. С. 50–54. <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2018-00002>
6. Серба Е.М., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Белокопытова Е.Н., Римарева Л.В. Состав концентрированного зернового сусла, приготовленного из различных видов зернового сырья // Актуальные вопросы индустрии напитков. 2018. N 2. С. 166–170. <https://doi.org/10.21323/978-5-6041190-3-7-2018-2-166-170>
7. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Шелехова Н.В., Серба Е.М., Мартыненко Н.Н. [и др.]. Влияние ферментных комплексов на метаболизм спиртовых дрожжей и накопление ионов неорганической природы в концентрированном зерновом сусле // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2016. N 3. С. 28–31.
8. Зуева Н.В., Агафонов Г.В., Корчагина М.В., Долгов А.Н. Влияние ферментных препаратов на основные показатели продуктов при разработке технологии переработки концентрированного сусла на этанол // Вестник ВГУИТ. 2017. Т. 79. N 2. С. 191–197. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-2-191-197>
9. Guillaume A., Thorigné A., Carré Y., Vinh J., Levavasseur L. Contribution of proteases and cellulases produced by solid-state fermentation to the improvement of corn ethanol production // Bioresources and Bioprocessing volume. 2019. Vol. 6. Issue 7. <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0241-0>
10. Carli L.D., Schnitzler E., Ionashiro M., Szpoganicz B., Rosso N.D. Equilibrium, thermodynamic and spectroscopic studies to characterize phytic acid complexes with Mn (II) and Co (II) // Journal of the Brazilian Chemical Society. 2009. Vol. 20. Issue 80. P. 1515–1522. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000800019>
11. Benesova K., Belakova S., Mikulikova R., Svoboda Z. Survey of the analytical methods for the phytic acid determination // Kvasny Prumysl. 2013. Vol. 59. Issue 5. P. 127–133. <https://doi.org/10.1883/2/kp2013013>
12. Mikulski D., Klosowski G. Phytic acid concentration in selected raw materials and analysis of its hydrolysis rate with the use of microbial phytases during the mashing process // Journal of the Institute of Brewing. 2015. Vol. 121. Issue 2. P. 213–218. <https://doi.org/10.1002/jib.221>
13. Dost K., Tokul O. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography // Analytica Chimica Acta. 2006. Vol. 558. Issue 1-2. P. 22–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.11.035>
14. Greiner R., Konietzny U. Phytase for food application // Food Technology and Biotechnology. 2006. Vol. 44. Issue 2. P. 125–140.
15. Kruger J., Oelofse A., Taylor J., Taylor J.R.N. Potential for improvement in yeast nutrition in raw whole grain sorghum and maize lager brewing and bioethanol production through grain genetic modification and phytase treatment // Journal of the Institute

of Brewing. 2012. Vol. 118. Issue 1. P. 70–75. <https://doi.org/10.1002/jib.86>

16. Sapna, Singh B. Phytase production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation and its applicability in dephytinization of wheat bran // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2014. Vol. 173. Issue 7. P. 1885–1895. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0974-3>

17. Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Игнатова Н.И., Кривова А.Ю., Серба Е.М. Генерация спиртовых дрожжей на средах, приготовленных из зерновых культур с различным содержанием фитата // *Пищевая промышленность*. 2019. N 4. С. 83–85. <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10042>

18. Polyakov V.A., Serba E.M., Overchenko M.B., Ignatova N.I., Rimareva L.V. Effects of a complex phytase-containing enzyme preparation on the rye fermentation process // *Foods and Raw Materials*. 2019. Vol. 7. Issue 2. P. 221–228. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-221-228>

19. Поляков В.А., Абрамова И.М., Медриш М.Э.,

Гаврилова Д.А., Павленко С.В. Применение жидкостной хроматографии для исследования органических кислот и углеводов в сусле и бражке // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2017. N 9. С. 20–23.

20. Шелехова Н.В., Римарева Л.В. Исследование ионного состава полупродуктов спиртового производства с использованием методов капиллярного электрофореза // *Производство спирта и ликероводочных изделий*. 2012. N 3. С. 25–27.

21. Шариков А.Ю., Иванов В.В., Амелякина М.В. Влияние перемешивания на эффективность ферментативного гидролиза высококонцентрированных сред экструдированного крахмала кукурузы // *Вестник ВГУИТ*. 2020. Т. 82. N 3. С. 96–103. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-3-96-103>

22. Абрамова И.М., Римарева Л.В., Туршатов М.В. Исходные требования к качеству зернового сырья, обеспечивающие высокие показатели эффективности производства спирта. М.: БиблиоГлобус, 2019. 114 с. <https://doi.org/10.18334/9785907063556>

## REFERENCES

1. Serba EM, Overchenko MB, Rimareva LV. *Biotechnological bases of microbial conversion of concentrated grain mash into ethanol*. Moscow: BiblioGlobus; 2017. 120 p. (In Russian) <https://doi.org/10.18334/9785950050169>

2. Zueva NV, Agafonov GV, Korchagina MV, Dolgov AN, Chusova AE. Selection of enzyme preparations and temperature-time regimes of water-heat and enzymatic treatment in the development of complex technology of processing of grain raw materials. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii = Proceedings of VSUET*. 2019;81(1):112–119. (In Russian) <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2019-1-112-119>

3. Krivchenko VA, Turshatov MV, Solov'yev AO, Abramova IM. Ethanol production is a technological basis of grain complex processing with foodstuff producing. *Pishchevaya promyshlennost' = Food Industry*. 2019;4:53–54. (In Russian) <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10027>

4. Rodionova NA, Kaprel'yants LV, Serednitskii PV, Kilimnik AYU. Hemicelluloses of grains and enzymes that catalyze their breakdown. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*. 1992;28(5):645–664. (In Russian)

5. Serba EM, Abramova IM, Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI, Grunin EA. Influence of enzymatic preparations on technological parameters of grain wort and quality of alcohol. *Pivo i napitki = Beer and beverages*. 2018;1:50–54. (In Russian) <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2018-00002>

6. Serba EM, Overchenko MB, Ignatova NI, Belokopytova EN, Rimareva LV. Composition of concentrated grain wort, prepared from various types of grain raw materials. 2018;2:166–170. (In Russian) <https://doi.org/10.21323/978-5-6041190-3-7-2018-2-166-170>

7. Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI,

Shelekhova NY, Serba YeM, Martynenko NN, et al. Influence of ferment complexes on metabolism of alcoholic yeast and accumulation of ions of nonorganic nature in concentrated grain wort. *Vestnik Rossiiskoi sel'skokhozyaistvennoi nauki = Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2016;3:28–31. (In Russian)

8. Zueva NV, Agafonov GV, Korchagina MV, Dolgov AN. Effect of enzyme preparations on the main parameters of products in the development of processing technology of concentrated wort on ethanol. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii = Proceedings of VSUET*. 2017;79(2):191–197. (In Russian) <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-2-191-197>

9. Guillaume A, Thorigné A, Carré Y, Vinh J, Levavasseur L. Contribution of proteases and cellulases produced by solid-state fermentation to the improvement of corn ethanol production. *Bioresources and Bioprocessing*. 2019;6(7):12 p. <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0241-0>

10. Carli LD, Schnitzler E, Ionashiro M, Szpoganicz B, Rosso ND. Equilibrium, thermoanalytical and spectroscopic studies to characterize phytic acid complexes with Mn (II) and Co (II). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2009;20(8):1515–1522. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000800019>

11. Benesova K, Belakova S, Mikulikova R, Svoboda Z. Survey of the analytical methods for the phytic acid determination. *Kvasny Prumysl*. 2013;59(5):127–133. (In Czech) <https://doi.org/10.18832/kp2013013>

12. Mikulski D, Klosowski G. Phytic acid concentration in selected raw materials and analysis of its hydrolysis rate with the use of microbial phytases during the mashing process. *Journal of the Institute of Brewing*. 2015;121(2):213–218. <https://doi.org/10.1002/jib.221>

13. Dost K, Tokul O. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high

performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*. 2006;558(1-2):22–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.11.035>

14. Greiner R, Konietzny U. Phytase for food application. *Food Technology and Biotechnology*. 2006;44(2):125–140.

15. Kruger J, Oelofse A, Taylor J, Taylor JRN. Potential for improvement in yeast nutrition in raw whole grain sorghum and maize lager brewing and bioethanol production through grain genetic modification and phytase treatment. *Journal of the Institute of Brewing*. 2012;118(1):70–75. <https://doi.org/10.1002/jib.86>

16. Sapna, Singh B. Phytase production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation and its applicability in dephytinization of wheat bran. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2014;173(7):1885–1895. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0974-3>

17. Rimareva LV, Overchenko MB, Ignatova NI, Krivova AYU, Serba EM. Generation of alcoholic yeast on media prepared from cereals with different phytate content. *Pishchevaya promyshlennost' = Food Industry*. 2019;4:83–85. (In Russian) <https://doi.org/10.24411/0235-2486-2019-10042>

18. Polyakov VA, Serba EM, Overchenko MB, Ignatova NI, Rimareva LV. Effects of a complex phytase-containing enzyme preparation on the rye

fermentation process. *Foods and Raw Materials*. 2019;7(2):221–228. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-221-228>

19. Polyakov VA, Abramova IM, Medrish ME, Gavrilova DA, Pavlenko SV. The use of liquid chromatography for the study of organic acids and carbohydrates in wort and brew. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya = Storage and processing of farm products*. 2017;9:20–23. (In Russian)

20. Shelekhova NV, Rimareva LV. Investigation of the ionic composition of intermediates in alcohol production using capillary electrophoresis methods. *Proizvodstvo spirta i likerovodochnykh izdelii*. 2012;3:25–27. (In Russian)

21. Sharikov AYU, Ivanov VV, Amelyakina MV. Effect of agitation on the efficiency of enzymatic hydrolysis of highly concentrated media of extruded corn starch. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologii = Proceedings of VSUET*. 2020;82(3):96–103. (In Russian) <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-3-96-103>

22. Abramova IM, Rimareva LV, Turshatov MV. *Initial requirements for the quality of grain raw materials, providing high efficiency of alcohol production*. Moscow: Biblio-Globus; 2019. 114 p. (In Russian) <https://doi.org/10.18334/9785907063556>

#### **СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

##### **Серба Елена Михайловна,**

д.б.н., член-корреспондент РАН, заместитель директора ВНИИПБТ – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 111033, Москва, Самокатная, 4б, Российская Федерация, e-mail: serbae@mail.ru

##### **Римарева Любовь Вячеславовна,**

д.т.н., академик РАН, главный научный сотрудник, ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 111033, Москва, Самокатная, 4б, Российская Федерация, e-mail: lrimareva@mail.ru

##### **Оверченко Марина Борисовна,**

к.т.н., ведущий научный сотрудник, ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 111033, Москва, Самокатная, 4б, Российская Федерация, e-mail: mb\_over@mail.ru

#### **INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

##### **Elena M. Serba,**

Dr. Sci. (Biology), Corresponding member of RAS; Deputy Director, Russian Research Institute of Food Biotechnology, Federal Research Center of Nutrition and Biotechnologies, 4b, Samokatnaya St., Moscow, 111033, Russian Federation, e-mail: serbae@mail.ru

##### **Luybov V. Rimareva,**

Dr. Sci. (Engineering), Academician of RAS, Chief Researcher, Russian Research Institute of Food Biotechnology, Federal Research Center of Nutrition and Biotechnologies, 4b, Samokatnaya St., Moscow, 111033, Russian Federation, e-mail: lrimareva@mail.ru

##### **Marina B. Overchenko,**

Cand. Sci. (Engineering), Leading Researcher, Russian Research Institute of Food Biotechnology, Federal Research Center of Nutrition and Biotechnologies, 4b, Samokatnaya St., Moscow, 111033,



**Игнатова Надежда Иосифовна,**  
научный сотрудник,  
ВНИИПБТ – филиал ФГБУН  
«ФИЦ питания и биотехнологии»,  
111033, Москва, Самокатная, 4б,  
Российская Федерация,  
e-mail: ignatova59@mail.ru

**Медриш Марина Эдуардовна,**  
к.т.н., заведующая испытательной  
лабораторией технологического контроля  
и арбитражных методов анализа,  
ВНИИПБТ – филиал ФГБУН  
«ФИЦ питания и биотехнологии»,  
111033, Москва, Самокатная, 4б,  
Российская Федерация,  
e-mail: medrishm@mail.ru

**Павлова Анжелика Андреевна,**  
инженер-технолог 1-й категории,  
ВНИИПБТ – филиал ФГБУН  
«ФИЦ питания и биотехнологии»,  
111033, Москва, Самокатная, 4б,  
Российская Федерация,  
e-mail: pavlovaanzhelika98@gmail.ru

**Соколова Елена Николаевна,**  
к.б.н., ведущий научный сотрудник,  
ВНИИПБТ – филиал ФГБУН  
«ФИЦ питания и биотехнологии»,  
111033, Москва, Самокатная, 4б,  
Российская Федерация,  
✉ e-mail: elenaniksokolova@inbox.ru

#### **Заявленный вклад авторов**

Все авторы сделали эквивалентный вклад  
в подготовку публикации.

#### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта  
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-  
тельный вариант рукописи.*

*Поступила в редакцию 04.03.2021.  
Одобрена после рецензирования 23.08.2021.  
Принята к публикации 30.08.2021.*

Russian Federation,  
e-mail: mb\_over@mail.ru

**Nadezda I. Ignatova,**  
Researcher,  
Russian Research Institute of Food  
Biotechnology,  
Federal Research Center of Nutrition  
and Biotechnologies,  
4b, Samokatnaya St., Moscow, 111033,  
Russian Federation,  
e-mail: ignatova59@mail.ru

**Marina E. Medrish,**  
Cand. Sci. (Engineering),  
Head of Testing Laboratory of Technological  
Control and Arbitration Analysis Methods,  
Russian Research Institute of Food  
Biotechnology,  
Federal Research Center of Nutrition  
and Biotechnologies,  
4b, Samokatnaya St., Moscow, 111033,  
Russian Federation,  
e-mail: medrishm@mail.ru

**Anzhelika A. Pavlova,**  
Engineer-technologist,  
Russian Research Institute of Food  
Biotechnology,  
Federal Research Center of Nutrition  
and Biotechnologies,  
4b, Samokatnaya St., Moscow, 111033,  
Russian Federation,  
e-mail: pavlovaanzhelika98@gmail.ru

**Elena N. Sokolova,**  
Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher,  
Russian Research Institute of Food  
Biotechnology,  
Federal Research Center of Nutrition  
and Biotechnologies,  
4b, Samokatnaya St., Moscow, 111033,  
Russian Federation,  
✉ e-mail: elenaniksokolova@inbox.ru

#### **Contribution of the authors**

The authors contributed equally to this article.

#### **Conflict interests**

The authors declare no conflict of interests re-  
garding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved  
by all the co-authors.*

*The article was submitted 04.03.2021.  
Approved after reviewing 23.08.2021.  
Accepted for publication 30.08.2021.*