ZORAN BEBIĆ[1]
JOVAN JAKOVLJEVIĆ[2]
LJUBICA DOKIĆ–BAUCAL[2]
[1]IHIS – Zemun
[2]Tehnološki fakultet, Novi Sad

NAUČNI RAD

665.333.4/.5:660.661

EKSTRAKCIJA ULJA KUKURUZNE KLICE NATKRITIČNIM UGLJENDIOKSIDOM (SC–CO_2): SASTAV I KVALITET ODMAŠĆENOG OSTATKA I PROTEINSKOG IZOLATA

Ispitivana je ekstrakcija ulja iz kukuruzne klice, dobijene iz industrijskog mokrog mlevenja kukuruza (skrobarska prerada), nadkritičnim ugljendioksidom. Rezultati pokazuju uspešno izdvajanje ulja ekstrakcijom nadkritičnim CO_2, pri čemu u tretiranom materijalu zaostaje mala količina triglicerida. Laboratorijske analize ukazuju da ekstrahovana kukuruzna klica sa natkritičnim CO_2 i proteinski izolat imaju veoma korisne hranljive i funkcionalne osobine (dobro balansirane esencijalne amino kiseline, prijatan miris, svetlo smeđu boju) i velike mogućnosti upotrebe u proizvodnji hrane kao dopuna proteinima.

Kukuruzno zrno sadrži relativno malu količinu ulja (4–5%), te se zato kukuruz i ne smatra sirovinom u proizvodnji ulja. U kukuruznom zrnu, ulje se nalazi najvećim delom u kukuruznoj klici (oko 85%). Suvi (mlinarski) postupak i mokri (skrobarski) postupak mlevenja kukuruza, izdvajaju klicu kao posebnu frakciju. Iz ovako izdvojene klice industrijski se proizvodi, prvo sirovo pa zatim i rafinisano kukuruzno ulje [1–3]. Ostali deo ulja kukuruznog zrna dispergovan je u endospermu i ljusci te se nakon prerade nalazi, sa malim sadržajima, u osnovnim proizvodima ili u većem procentu kod proizvoda koji se koriste kao stočna hrana [4].

Ulje iz kukuruzne klice obično se izdvaja kombinacijom kontinualnog ceđenja na presama visokog pritiska i potom ekstrakcijom pogače sa organskim rastvračima. Ceđenje na presama može da izdvoji nešto više od polovine sadržaja ulja, a ostatak se iz pogače izdvaja ekstrakcijom sa heksanom, kao uobičajenim rastvračem. Rastvrač se iz ulja i pogače odstranjuje otparavanjem, kondenzuje i ponovo upotrebljava. Ulje dobijeno presovanjem i ekstrakcijom meša se i dobija ukupno sirovo kukuruzno ulje. Ukupno iskorišćenje ulja kukuruzne klice je oko 95% [5–7].

Tradicionalni rastvrač za ekstrakciju je heksan koji ima nekoliko ozbiljnih nedostataka. Pored visoke cene koštanja, heksan je veoma zapaljiv i eksplozivan. Kao derivat nafte, heksan sadrži tragove frakcija sa visokom tačkom ključanja koje mogu zaostati u ulju i sačmi. Takve primese potencijalno imaju visok zdravstveni rizik. Ugljendioksid je s druge strane netoksičan, nezapaljiv, neeksplozivan, jeftin i lako se izdvaja iz ulja i sačme. Upotreba natkritičnog ugljendioksida za frakciono izdvajanje organskih materijala u poslednjih 20 godina izaziva posebnu pažnju u području prehrambenih tehnologija. Primena natkritičnog–CO_2 za ekstrakciju ulja bila je istraživana u soji, suncokretu i repici [8,9] da bi se nastavilo sa ispitivanjima ekstrakcije ulja kukuruzne klice iz suve i mokre prerade [10–12]. U cilju dobijanja svetlijeg i ulja boljeg kvaliteta, kao i zbog korišćenja ostatka proteinskog brašna, koji će imati veliku stabilnost u dužem periodu čuvanja, kao potencijalnih biljnih proteina za ljudsku ishranu, istraživana je ekstrakcija ulja iz kukuruzne klice ovom novom metodom [13,14].

Cilj našeg istraživanja bila je ekstrakcija kukuruzne klice iz procesa mokrog mlevenja sa natkritičnim CO_2 i ispitivanje sastava i kvaliteta proteinskog ostatka nakon ekstrakcije.

MATERIJAL I METODE

Materijal: Ispitivanja su izvedena sa kukuruznim klicama dobijenim u industrijskom procesu mokrog (skrobarskog) mlevenja čiji je sastav prikazan u tabeli 1.

Tabela 1. Sastav kukuruzne klice
Table 1. Composition of corn germ

Vlaga %	2,34
Ulja % na suvu materiju	51,70
Proteini % na suvu materiju	16,30
Skrob% na suvu materiju	6,14
Celuloza% na suvu materiju	5,52
Slobodne masne kiseline, %	3,33
Jodni broj	115
Nasipna težina g/dm^3	390

Kukuruzne klice su pre ekstakcije sa SC–CO_2 propuštene kroz mlin sa valjcima da bi se povećala površina i promenila njihova struktura. Ispitivanja su izvedena sa komercijalnim ugljendioksidom (čistoće > 99,6).

Metode: Hemijski sastav kukuruzne klice određivan je standardnim analitičkim metodama [15, 16], a amino kiseline su određivane na automatskom aminoanalizatoru tipa Backman–Unihrom [17]. Aktivnost pe-

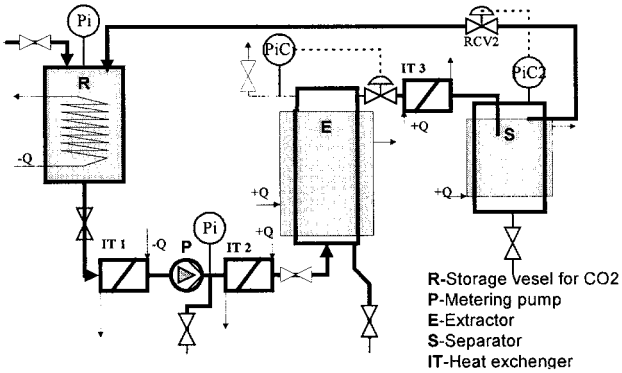
Adresa autora: J. Jakovljević, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Bulevar Cara Lazara 1/A, 21000 Novi Sad
Rad primljen: Juli 27, 1999
Rad prihvaćen: April 3, 2000

roksidaze za kukuruznu klicu određena je prema standardnoj metodi [2,10].

Izolati proteina iz odmašćene kukuruzne klice dobijeni su vodeno–alkalnom ekstrakcijom [18]: sačma dobijena nakon ekstrakcije samelje se na laboratorijskom mlinu i proseje na situ otvora 1mm, a proteini iz sačme ekstrahuju se vodom (podešen pH na oko 8,7 sa natrijum hidroksidom). Izdvojeni proteini talože se podešavanjem pH na 4,7, a dobijeni talog ispere se vodom (pH=7) radi smanjenja soli. Izolat se tada osuši zamrzavanjem i čuva do ispitivanja. Prinos se izračunava iz odnosa mase polaznog materijala i dobijenog izolata.

Aparatura: šematski prikaz uređaja za ekstrakciju sa natkritičnim–CO_2 prikazan je na slici 1. Aparatura se sastoji iz rezervoara za ugljendioksid, R, opremljenog sa izmenjivačem toplote kroz koji protiče rashladno sredstvo da bi se održao ugljendioksid u tečnom stanju, membranske visoko pritisne dozir pumpe, P, koja ima mogućnost podešavanja pritiska i protoka CO_2, ekstraktora E, separatora S i izmenjivača toplote sa automatskom indikacijom i kontrolom piritska.

Opis eksperimenta: Kukuruzna klica iz mokrog

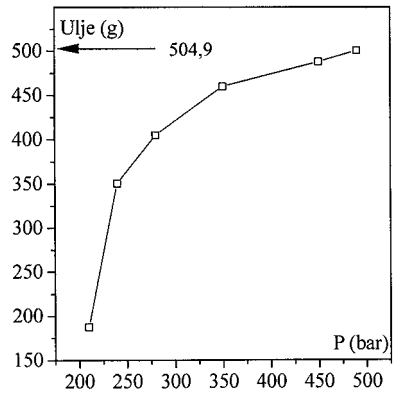


Slika 1. Ekstrakcioni aparat za nadkritičan–CO_2 [11]
Figure 1.Supercritical carbon dioxide extraction unit [11]

mlevenja sa vlagom od 2–2,5% pripremi se na mlinu sa valjcima. Masa pripremljenog uzorka od 1 kg, uneta je u ekstraktor (E) ukupne zapremine 4 litre. Ugljendioksid počinje da protiče i pomoću pumpe (P) se podesi protok i pritisak CO_2 u ekstaraktoru (E). Protok ugljendioksida može se podešavati između 15 i 20 dm^3/min. Izmenjivačem toplote (IT_2) obezbeđuje se potrebna temperatura na kojoj se izvodi ekstrakcija. Kada se postigne željeni pritisak u ekstraktoru (E) otvara se automatski ventil (V1) i ugljendioksid sa ekstrahovanim materijalom preko grejača (IT_3) dolazi do separatora (S), gde se usled smanjenja pritiska izdvoji CO_2 kao gas od ekstrahovanog ulja. Ugljendioksid se preko redukcionog ventila vodi do rezervoara (R). Ovaj zatvoren ciklus se ponavlja toliko dugo dok se ne postigne očekivani efekat ekstrakcije.

REZULTATI I DISKUSIJA

Ekstrakcija ulja kukuruzne klice pomoću natkritičnog CO_2 ispitivana je na pritiscima od 210 do 490 bara i temperaturama od 35 do 55°C. Dijagram na slici 2. pokazuje promenu prinosa ulja iz 1 kg uzorka pri ekstrakciji koja je trajala 6 časova na temperaturi od 50°C. Pri konstantnoj temperaturi sa porastom pritiska uvećava se prinos ulja iz kukuruzne klice.



Slika 2. SC–CO_2 ekstrakcija kukuruzne klice na 50°C
Figure 2. SC–CO_2 of extraction corn germ on 50°C

Tako je prinos ulja na pritisku od 210 bara iznosio 187,5 g dok je na 490 bara (maksimalno korištenom pritisku u ispitivanjima) bio 500,8 g. To je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora koji su ispitivali ekstrakciju sojinog ulja iz ispahuljane (flaking) soje i ekstrakciju ulja iz suvo isklicane kukuruzne klice [9,10]. Nakon ekstrakcije sa natkritičnim CO_2 na pritisku od 490 bara i temperaturi 50°C ostatak ulja u ekstrahovanoj klici iznosio je samo 0,9% računato na suvu materiju.

Rezultati ispitivanja sastava početnog materijala, kukuruzne klice iz mokre skrobarske prerade kukuruza i odmašćene ekstrahovane kukuruzne klice sa natkritičnim–CO_2 kao i industrijski dobijene sačme (presovane pa heksanom ekstrahovane kukuruzne klice) prikazani su u tabeli 2. Ekstrakcija ulja kukuruzne klice sa natkritičnim–CO_2 efikasnija je od ekstrakcije sa heksanom. U odmašćenoj klici sa ugljendioksidom sadržaj ulja je ispod jednog procenta dok je u sačmi kukuruzne klice nakon ekstrakcije sa heksanom sadržaj ulja između 2 i 3 procenta. Razlika se javlja i u preostaloj aktivnosti peroksidaze. U odmašćenoj klici sa natkritičnim–CO_2 aktivnost peroksidaze je veoma mala, (<1 U. aktivnosti/min./g klice). Zaostala peroksidazna aktivnost u sačmi nakon ekstrakcije sa heksanom iznosila je iznad 5. Peroksidaza kao termorezistentan enzim, teško se uklanja iz hrane sem pod oštrim uslovima "tostovanja" (prženja). Uslovi koji su primenjeni pri natkritičnoj – CO_2 ekstrakciji ulja kukuruzne klice očigledno denaturišu enzim peroksidazu mnogo efikasnije od uslova koji se koriste za ekstrakciju sa heksanom. Pri tome mehanizam deaktivacije enzima nije sasvim jasan. Po nekim autorima [11] obja-

Tabela 2. Sastav kukuruzne klice i ekstrahovane kukuruzne klice sa natkritičnim–CO_2
Table 2. Composition of corn germ and extracted corn germ with SC–CO_2

Uzorak	Vlaga %	Ulje %	Proteini %	Skrob %	Celuloza %	P.A[a] U/min/g
Kukuruzna klica	2,34	51,7	16,31	6,14	5,52	7,37
Kukuruzna klica nakon ekstrakcije[b]	4,47	0,9	30,92	12,13	10,31	0,95
Kukuruzna klica nakon ekstrakcije[c]	5,96	2,3	26,36	14,34	9,86	5,64

[a]Aktivnost peroksidaze (U/min/g klice);
[b]Kukuruzna klica ekstrahovana sa natkritičnim–CO_2 na 490 bara, 50°C;
[c]Uzorak sačme iz industrijskog pogona

šnjenje se može povezati sa znatno manjim udelom lipida u ekstrahovanoj klici i u sastavu neekstrahovanih lipida. U odmašćenoj klici sa natkritičnim–CO_2 zaostaje manje vezanih lipida nego u sačmi koja je ekstrahovana sa heksanom [11, 19]. Jače izražen miris koji se javlja kao posledica oksidativnih procesa nakon dužeg čuvanja (dva do šest meseci) heksanom ekstrahovane klice isključuje svaku njenu mogućnost upotrebe u proizvodnji hrane. Pri čuvanju (dva do šest meseci) odmašćene kukuruzne klice sa natkritičnim–CO_2 na sobnoj temperaturi, nije se pojavila promena u intenzitetu mirisa ili ukusa. Nepostojanje karakterističnog neprijatnog mirisa užeglog ulja i gorkog ukusa u odmašćenoj klici sa natkritičnim–CO_2 u saglasnosti je sa konstatacijama drugih autora [8–10, 13] i povezuje se sa smanjenjem zaostale peroksidazne aktivnosti.

Hemijske analize odmašćene kukuruzne klice sa natkritičnim CO_2 kao i analize proteinskog izolata i njihov amino kiselinski sastav prikazan je u tabeli 3. U istoj tabeli, a u cilju poređenja, prikazan je sastav natrijum kazeinata prehrambenog kvaliteta i FAO/WHO–standardi za esencijalne amino–kiseline [20, 21].

Odmašćena kukuruzna klica sa natkritičnim–CO_2, a još više proteinski izolat istog materijala odgovaraju

Tabela 3. Hemijski i amino kiselinski sastav odmašćene kukuruzne klice i proteinskog izolata
Table 3. Chemical and amino acid composition of extracted corn germ and protein isolate

Sastav (%)	Ekst.kukuruzna klica nadkritičnim CO_2	Proteinski izolat klice	Natrijum kazeinat	FAO/WHO standard (1973)
Proteini	30,92	61,26	94	
Skrob	12,13	0,36	0	
Celuloza	10,31	0	0	
Pepeo	2,6	3,6	3,8	
Mast	0,9	0,1	1,2	
Amino kiseline	(g/100 g proteina)			
lizin	5,01	6,32	8,3	5,5
histidin	2,42	3,21	3,0	
arginin	6,36	9,54	3,8	
aspartinska kiselina	7,31	7,72	7,3	
treonin	2,65	3,83	4,8	4,0
serin	3,58	4,85	6,2	
glutaminska kiselina	10,81	13,32	22,5	
prolin	4,72	5,04	11,8	
glicin	5,52	5,55	2,0	
alanin	7,12	6,24	3,1	
valin	4,85	5,92	6,9	5,0
izoleucin	3,19	3,53	5,5	4,0
leucin	7,07	7,35	9,7	7,0
tirozin	3,11	3,36	5,9	6,0
fenilalanin	4,63	4,52	5,3	
metionin cistin	1,06	1,92	2,8	3,5

FAO/WHO standardima esencijalnih amino kiselina u pogledu sadržaja lizina, leucina, valina i aromatičnih aminokiselina (fenilalanin, tirozin), a sa preko 90% zadovoljavaju standarde u sadržaju treonina, izoleucina i S–aminokiselina (metionin, cistin) [20, 21]. Aminokiselinski sastav proteinskog izolata odmašćene kukuruzne klice zbog dobre izbalansiranosti sasvim se približio sastavu animalnih proteina, odnosno natrijum kazeinata.

Klica iz kukuruznog zrna, tokom mokre, skrobarske, prerade kukuruza pretrpi promene u sastavu i strukturi. Tokom procesa močenja, u sumporastoj kiselini sa pH oko 4,5, temperature 49–51°C tokom 36–48 časova, ekstrahuje se u vodu od močenja veći deo rastvornih soli i šećera kao i jedan deo rastvornih jedinjenja koje sadrže azot iz kukuruzne klice. U klici je nakon močenja, izdvajanja, ispiranja i sušenja, u odnosu na polazni materijal, povećan sadržaj lipida i celuloze, a smanjen sadržaj jedinjenja koje sadrže azot, soli i šećere. Sa ovim jedinjenjima u vodu od močenja ekstrahuje se i deo, u kiseloj sredini rastvornih proteina. Ekstrakcija sa natkritičnim–CO_2 takve klice, ima kao rezultat povećan prinos ulja, a smanjen sadržaj proteina u ekstrahovanom delu (ostatku).

Prinos proteinskih izolata iz kukuruzne klice nakon ekstrakcije ulja sa natkritičnim–CO_2 iznosio je 48% ukupnih proteina. Prinos proteinskih izolata u istim uslovima iznosio je kod soje 80%, a kod kukuruzne klice suvo isklicane 73% [11]. Laboratorijska ispitivanja pokazuju da proteinski izolat kukuruzne klice odmašćene sa natkritičnim–CO_2 ima veoma dobre nutritivne i funkcionalne osobine: visok sadržaj rastvornih proteina, dobar odnos amino kiselina, prijatan miris, svetlo smeđu boju. Ovako dobijeni proteinski izolat, kao i izolati soje, ima sposobnost da stabiliše vodeno–uljne emulzije [19] što mu pruža mogućnost upotrebe u hrani kao zamena proteinima.

ZAKLJUČAK

Natkritičan ugljen dioksid zbog netoksičnosti, neeksplozivnosti, niske cene lake dostupnosti i izdvojivosti iz ekstrakcionog materijala predstavlja idealan fluid za ekstrakciju ulja iz kukuruzne klice. Na pritisku 490 bara i temperaturi 50°C iskorišćenje ulja iz klice je iznad 99%. Ugljendioksid se veoma lako i bez ostatka uklanja iz ulja (ekstrakta) i odmašćenog ostatka te njegovom primenom nema zdravstvenih i drugih rizika.

Mali sadržaj zaostalog ulja u odmašćenom ostatku (sačmi) i mala zaostala aktivnost enzima peroksidaze omogućava njeno čuvanje u dužem vremenskom periodu bez značajnije promene kvaliteta. Duže čuvanje sačme kod ekstrakcije sa heksanom dovodi do promene kvaliteta koje se manifestuje povećanjem intenziteta neprijatnih mirisa i gorkog ukusa. Povećana trajnost odmašćene kukuruzne klice tretirane sa natkritičnim–CO_2 (sačme) u kojoj nema ostataka rastvarača (u slučaju primene klasičnih sredstava za ekstrakciju na primer heksana to nije slučaj) prevodi kukuruznu klicu u visokovredni biljni protein zadovoljavajućeg prehrambenog kvaliteta.

Po amino kiselinskom sastavu odmašćena kukuruzna klica sa natkritičnim–CO_2, a naročito proteinski izolat, odgovara preporukama FAO/WHO standarda u pogledu sadržaja esencijalnih amino kiselina. Odmašćena kukuruzna klica po sastavu i amino kiselinskom sadržaju sasvim je bliska natrijum kazeinatu.

LITERATURA

[1] R.A. Reiner, C.M. Goding,: Corn oil in: Corn: Culture, Processing, Products, Ed. G.E. Inglett, The AVI Publishing Company, Wesport, Conecticat, 1970, 241–261.

[2] H.W. Gardener, G.E. Inglett, W.L. Deatherage, W.F. Kwolek, R.A. Anderson: Food products from corn germ, J. Food Sci. **36** (1971) 640

[3] S.A. Watson,: Corn: Chemistry and Technology, American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, 1987.

[4] C.J. Weigel: Co–products, Symposium: Food products of the wet milling industry, C.R.A. Arlington, Virginia, 1986,41

[5] CORN OIL, Corn Refiners Association, Inc. Washington, D.C. 1986

[6] F.A. Norris: Extraction of fats and oil. In: Bailey's industrial oil and fat products, Ed. D. Swern, Interscience Publisher, New York, 1964.

[7] R.A. Reiners: Corn oil, in: Products of the corn refining industry in food, Corn Refiners Association, Inc., Washington D.C. 1978,18–23

[8] E. Stahl, E. Schuts, H.K. Mangold: Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide. J. Agric. Food Chem. **28** (1980) 1153

[9] J.P. Fridrich, G.R. List: Characterisation of soybean oil extracted by supercritical CO_2 and hexane. J. Agric. Food Chem. **30** (1982) 192

[10] D.D. Christianson, J.P. Fridrich, G.R. List, K. Warner, E.B. Bagley, A.C. Stringfellow, G.E. Inglett: Supercritical fluid extraction of dry–milled corn germ with carbon dioxide. J. Food Sci. **49** (1984) 229

[11] D.D. Christianson, J.P. Fridrich, E.B. Bagley, G.E. Inglett: Maize germ flours for food purposes by supercritical carbon dioxide extraction, in: Maize: Recent Progress in Chemistry and Technology, Academic Press New York, London 1982

[12] E. Ronyai et al. Supercritical fluid extraction of corn germ with carbon–dioxide–ethyl alcohol mixture, J. Supercritical fluids, **14** (1998) 75

[13] Y.V. Wu, J.P. Fridrich, K.W. Worner: Evaluation of corn distillers dried grains deffated with supercritical carbon dioxide, Cereal Chem. **67** (1990) 585

[14] Z. Bebić: Oil extraction by supercritical carbon dioxide, Maize'90, International Advanced Course Maize Breeding, Production, Processing and Marketing in Mediterranean Countries. Institut za kukuruz, Beograd, 1990 429–436.

[15] STANDARD ANALYTICAL METHODS Corn Refiners Association, Inc. Washington D.C. 1983

[16] AOAC: Official Method of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia 1975

[17] S. Moore, D.H. Specman, W.H. Stein: Chromatography of amino acid on sulfonated polistyrene resin, Anal. Chem. **30** (1958), 1185

[18] H.C. Nielsen, G.E. Inglett, J.S. Wall, G.L. Donaldson: New Corn Protein Isolate–Nutritive, Functional, Food Engineering, **14** (1973) 48

[19] J.E. Kalbrener, A.C. Eldrige, H.A. Moser, W.J. Wolf: Sensory evaluation of commercial soy flours, concentrats, and isolat, Cereal Chemist **48** (1971) 595

[20] FAO/WHO Energy and protein requirements, WHO Tech. Rep. Series No 522, FAO Rome, 1973

[21] FOOD POLICY AND FOOD SCIENCE SERVICE, Nutrition Division, FAO. Amino acid content of foods and biological date on proteins. FAO: Rome 1970

SUMMARY

SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION OF WET MILLED CORN GERM WITH CARBON DIOXIDE (SC–CO_2): COMPOSITION AND QUALITY OF DEFFATED RESIDUE AND PROTEIN ISOLATE

(Scientific paper)

Zoran Bebić[1], Jovan Jakovljević[2], Ljubica Dokić–Baucal[2]
[1]IHIS–Zemun; [2]Faculty of Technology, Novi Sad, Yugoslavia

Extraction technology based on supercritical fluids is evolving rapidly for industrial food processes. Supercritical fluid extraction offers the possibility of replacing processes using harmful solvents by non-toxic/non-explosive solvents (such as SC–CO_2). In this study the extraction of corn germ oil by supercritical carbon dioxide was investigated. The corn germ used originated from industrial corn wet milling (starch processing). The results showed excellent oil removal by extraction. A small amount of triglyceride remained (0.9%) in the extracted material (meal). The low amount of lipid present in the SC–CO_2 flour and a reduction in the residual peroxidase activity (less than 1 unit) can be correlated with the lower intensity of the flavor and bitter taste. Laboratory analyses showed that the SC–CO_2 extracted corn germ flour and protein isolate (recovery cca. 50%) had good nutritional and functional properties (balance of essential amino acids, mild flavor, light tan color) and potential uses in many foods as a protein supplementation.

Key words: corn germ • supercritical fluid extraction • corn germ meal • protein isolate • amino acids •
Ključne reči: kukuruzna klica • nadkritična ekstrakcija • sačma kukuruzne klice • proteinski izolat • aminokiseline •

ISPRAVKA

U radu **"Hidrolizati kukuruznog skroba kao fermentacioni supstrati za proizvodnju etanola"**, autora Zorana J. Bebića, Jovana B. Jakovljevića i Josipa Barasa, koji je objavljen u broju 1, 54 (2000) str. 5-9, izostavljen je jedan deo iz liste referenci na koje se pozivaju autori. Ovom prilikom dopunjavamo ovaj spisak literature uz izvinjenje čitaocima i autorima zbog greške koja je nastala u pripremi časopisa za štampu.

NASTAVAK LITERATURE

[9] Slott, S., Madsen, G., Norman, B.: Aplication of a Heat Stable Bacterial Amylase in Starch Industry, in: "Enzyme Engineering" Vol. 2, E.K.Pye, L.B. Wingard, (Editor), Plenum Publishing Cor. New York, 1975.

[10] Berghmans, E., Aschengreen, H.N.: Starch Hydrolyzates: Improved Sweeteners Obtained by the Use of Enzymes, in: Carbohydrate Sweeteners in "Foods and Nutrition", P. Koivistoinen, L. Hyvonen (Editor), Academic Press, New York, 1980.

[11] Norman, E.B.: The Use of Debrenching Enzymes in Dextroze Syrup Production, in: "Maize: Recent Progress in Chemistry and Technology", G. Inglett, (Editor), Academic Press, New York, 1982.

[12] Koch, H., Roper, H.: New Industrial Products from Starch, Starch/Staerke **40** (1988) 121.

[13] Hollo, J., Hoschke, A.: Bioconversion of Starch, Polish Journal of Food and Nutrition Science **2/43** (1993) No. 1, 5.

[14] Novo Industri A/S: Termamyl, BAN, Promozym, Product Information, Bagsveard–Denmark, 1984.

[15] Bebić, Z., Jakovljević, J.: Multienzimska hidroliza kukuruznog skroba do visokog sadržaja maltoze, Hemijska industrija (Industrija šećera) **50** (1996) 1–2, 31.

[16] Reed, G., Peppler, J.H.: Biochemical Aspects of Yeast in "-Yeast Technology" The AVI Publishing Company, Wesport, Connecticut, 1973.

[17] Ciftci, T., Constantinides, A., Wang, A.: Modeling of Cell Viability and Specific Alcohol Productivity, Biohemical Engineering III, Vol 413, Annals of The New York Academy of Sciences, New York, 1983.

[18] Association of Official Analytical Chemist Official Methods of Analysis, 2nd ed., AOAC, Washington, DS,1970.

[19] Hewlett Packard: Anal. Methods, Techn. Infor., 1982.

[20] Jung, R., H. Pancoast: Handbook of Sugars, The AVI Pub. Comp. Wesport, 1973.

[21] Perkin Elmer: Analytical Methods, Perkin Elmer, Norvalk CT, 1980.

[22] Converti, A.: Modelling of Continuous Corn Starch Hydrolysate Fermentation in Immobilised Cell Reactor, Starch/Staerke, **46** (1994) 260.

[23] Becker, D., Weber, J.: Saccharin Row Materials in "die Hefen" Vol II, ed: Reiff, E. Verlag Hans Carl, Nurnberg, West Germany 1962.

[24] Kreipe, H.: Technolgy of Grain and Potato Distilleris., Verlag Hans Carl, Nurnberg, West Germany, 1963.