

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА СБРАЖИВАНИЯ РЖАНОГО СУСЛА, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЗЕРНОВОЙ И МИКРОБНОЙ ФИТАЗ

А.Ю. Жульков, аспирант, И.С. Витол, доцент, Г.П. Карпиленко, профессор
кафедра Биохимии и зерноведения

ГОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»

e-mail: VitollS@yandex.ru

Научно обоснована целесообразность дифференцированного способа переработки зерна ржи, позволяющего проводить глубокий гидролиз фитина сырья под действием эндогенной и микробной фитаз. Разработанный способ переработки зерна ржи обеспечивает увеличение выхода этанола в бражке и снижение содержания вредных летучих примесей.

Ключевые слова: ржаное сусло, сбраживание, этанол, фитаза, дрожжи, летучие примеси

Изучение свойств зерновой фитазы ржи [1] показало, что гидролиз фитина сырья оказывает позитивное влияние на процесс водно-тепловой и ферментативной обработки сырья и может положительно сказаться на дальнейших стадиях производства этанола, в частности, процессе сбраживания. Известно, что последний зависит от целого ряда факторов. К ним относятся:

- состав осахаренного сусла, его концентрация, степень гидролиза крахмала сырья, количественный и качественный состав продуктов деструкции белков, некрахмалистых полисахаридов, присутствие активаторов и ингибиторов ферментов и др.;
- используемые расы спиртовых дрожжей, определяющие особенности метаболизма дрожжевых клеток при сбраживании

углеводов и накопление вторичных побочных продуктов брожения;

- продолжительность сбраживания и температура проведения процесса.

В выполненных исследованиях состав осахаренного сусла зависел от варианта его получения (табл. 1). Классический способ переработки зерна предусматривал его измельчение, получение помола, приготовление замеса и его последующую водно-тепловую и ферментативную обработку; дифференцированный способ осуществлялся в соответствии со схемой, представленной на рис. 1. Для сбраживания применяли спиртовые дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* расы XII, а также сухие спиртовые дрожжи «Angel» (Китай) и «Фермиол» (США). Последние относятся к термотолерантным и работают при температуре 33-35°C.

Таблица 1. Технологические особенности вариантов получения осахаренного сусла.

Вариант	Способ переработки зерна	Продолжительность стадии предобработки шелухи, ч	Норма внесения микробной фитазы, ед. FTU/г зерна
Вариант I	Классический	-	-
Вариант II	Дифференцированный	10	-
Вариант III	Дифференцированный	2	0.2

Результаты влияния состава осахаренного сусла на процесс сбраживания при использовании дрожжей расы XII представлены на рис. 2. Установлено, что получение сусла из ржи по дифференцированной схеме переработки зерна с использованием фитаз, по сравнению с классической схемой, интенсифицирует процесс сбраживания. Длительность брожения сокращается в среднем на 12-18 ч. Существенных отличий в динамике выделения CO₂ между опытными образцами не выявлено.

Аналогичные эксперименты были проведе-

ны с использованием сухих дрожжей «Angel» и «Фермиол». Выявлено, что динамика выделения CO₂ при сбраживании сусла, полученного с использованием зерновых и микробных фитаз, сухими дрожжами имеет тот же характер, что и при сбраживании дрожжами расы XII.

Для получения более наглядной зависимости влияния расы дрожжей на интенсивность сбраживания сусла был рассчитан часовой прирост CO₂ на 100 г сусла. На рис. 3 приведены данные по сбраживанию контрольных образцов сусла.

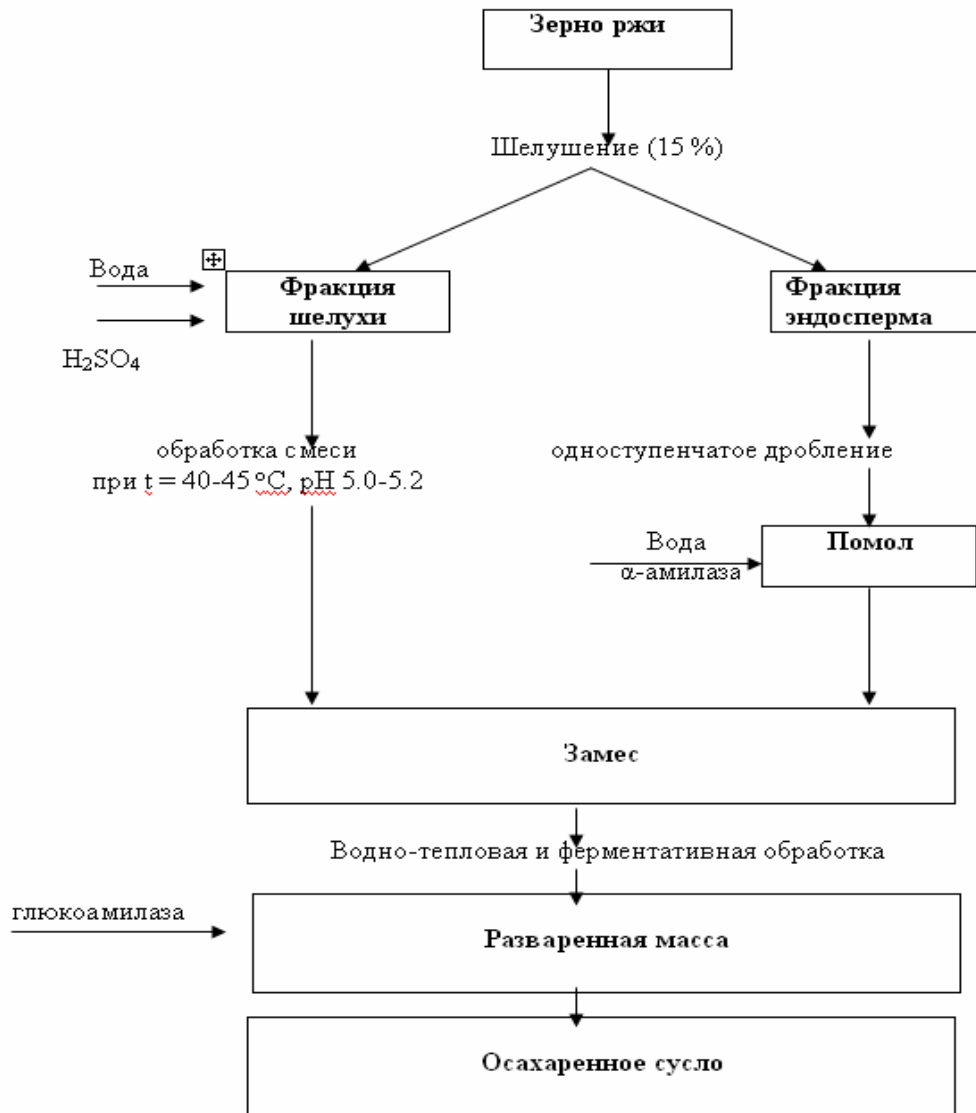


Рис. 1. Процессуальная схема получения ржаного сусла на основе дифференцированного способа переработки зерна.

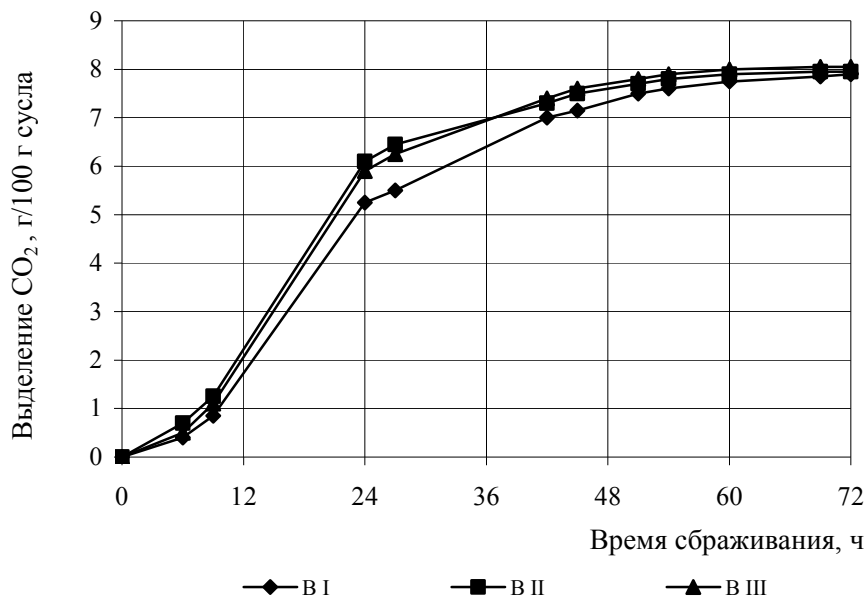


Рис. 2. Динамика выделения CO_2 при сбраживании ржаного сусла дрожжами расы XII.

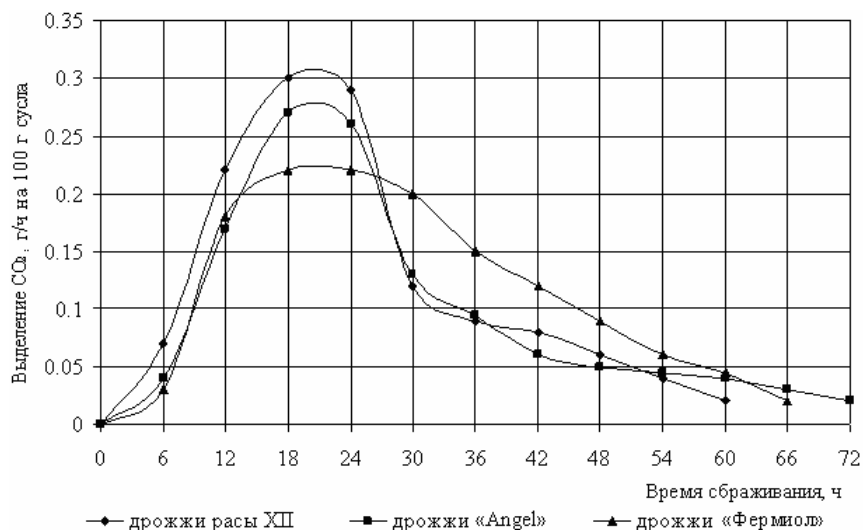


Рис. 3. Влияние расы дрожжей на интенсивность сбраживания ржаного сусла контрольного варианта (Вариант I).

При сбраживании опытных образцов сусла (например, полученных по Варианту III) данная зависимость меняется (рис. 4). Макси-

мальная интенсивность выделения CO_2 выявлена при сбраживании сусла дрожжами «Фермиол».

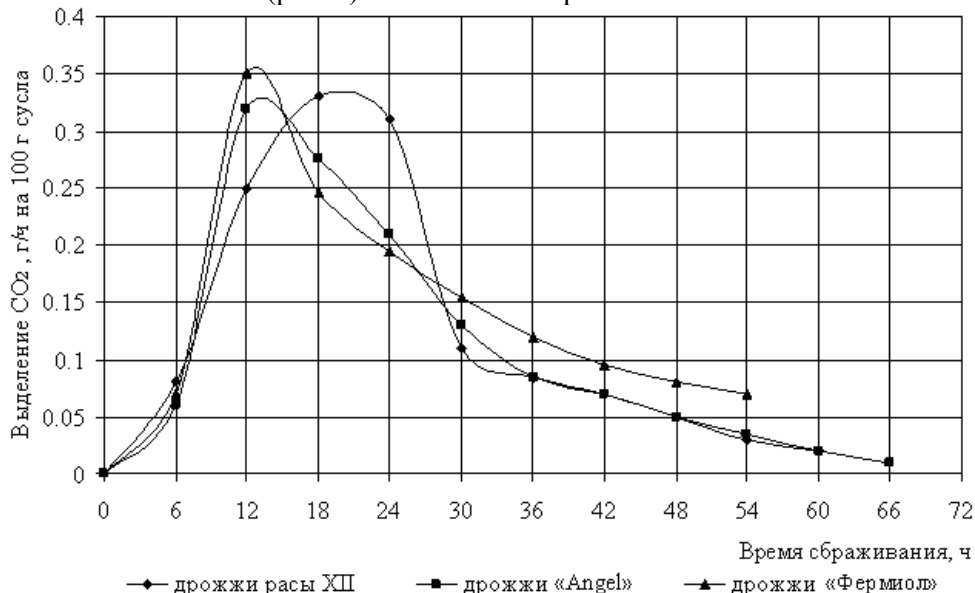


Рис. 4. Влияние расы дрожжей на интенсивность сбраживания ржаного сусла опытного варианта (Вариант III).

В целом за первые 12-18 ч исследуемые расы дрожжей по уменьшению интенсивности сбраживания можно расположить в следующий ряд:

«Фермиол» → «Angel» → Раса XII.

Таким образом, установлено, что гидролиз фитина ржи под действием эндогенной и микробной фитаз оказывает большее позитивное действие в случае сбраживания сусла (по показателю выделения CO_2) сухими спиртовыми дрожжами.

Использование последних по сравнению с введением процесса, предусматривающим этап получения засевных дрожжей из чистой культуры, имеет определенные преимущества [2], среди которых основными являются:

- возможность упрощения технологического процесса (отпадает необходимость иметь отделение дрожжерегенерации);
- исключение внесения с дрожжами посторонней микрофлоры (сухие дрожжи изготовлены и упакованы в стерильных условиях);
- повышение выхода этилового спирта.

Вместе с тем, в работе [3] указывается, что сухие спиртовые дрожжи более чувствительны по сравнению с традиционными к присутствию в сбраживаемой среде ингибиторов, так как важнейшей их особенностью является повышенная проницаемость мембран.

На завершающем этапе были получены образцы зрелой бражки, которые далее проанализированы на содержание этилового спирта

и действительного экстракта. Предварительно была выбрана продолжительность брожения сусла для опытного и контрольных вариантов с использованием дрожжей *Sac. cerevisiae* расы XII и сухих дрожжей «Angel» и «Фермиол». Она составила для контрольных вариантов – 72 ч, а для опытных – 66 ч, при сбраживании сусла при температуре 28-30°C; при сбраживании сусла при температуре 33-35°C

– соответственно 66 и 48 ч.

Данные по анализу зрелой бражки контрольного и опытных образцов, полученных с применением эндогенных и микробных фитаз, представлены в табл. 2. Установлено, что концентрация этилового спирта в дистилляте зависит от:

- расы используемых дрожжей;
- способа получения осажаренного сусла.

Таблица 2. Содержание этилового спирта и действительного экстракта в зрелой бражке.

№	Вариант получения сусла	Раса дрожжей	Продолжительность брожения, ч	Концентрация спирта, об.%	Массовая доля экстрактивных веществ, %
1	Вариант I	Чистая	72	6.92	3.03
2	Вариант II	культура расы XII*	66	7.23	4.16
3	Вариант III		66	7.19	3.95
4	Вариант I	Сухие дрожжи	72	7.10	2.90
5	Вариант II	«Angel»*	66	7.29	4.08
6	Вариант III		66	7.24	3.69
7	Вариант I	Сухие дрожжи	66	7.07	3.13
8	Вариант II	«Фермиол»**	48	7.30	4.22
9	Вариант III		48	7.26	3.80

* температура сбраживания 28-30 °C

** температура сбраживания 33-35 °C

Максимальный выход спирта обнаружен в пробах бражки, полученных с использованием сухих дрожжей. Так, для контрольного варианта крепость дистиллята при сбраживании сусла дрожжами «Angel» и «Фермиол» составила 7.10 и 7.07 об.%, против 6.92 об.% для образца, в котором использовали дрожжи расы XII (Вариант I). В опытных вариантах значения при использовании сухих дрожжей соответственно составляют 7.29 и 7.30 об.% (Вариант II) и 7.24 и 7.26 об.% (Вариант III). Причем можно отметить, что в случае продолжительного гидролиза фитина ржи под действием собственной фитазы (10 ч, Вариант II) накапливается больше этилового спирта, чем при более кратковременном (до 2 ч) гидролизе под действием эндогенной и микробной фитаз (Вариант III). Возможно, данный факт связан с более глубоким гидролизом гемицеллюлоз фракции шелухи под действием ферментного комплекса ржи и, как следствие, с улучшением технологичности получаемых сред (разваренной массы, осажаренного сусла) с позиции их вязкости. Кроме того он может быть следствием накопления повышенного количества аминокислот, что способствует снижению уровня потребления дрожжами сбраживаемых углеводов. Однако, с технологической точки зрения предпочтителен Вариант III получения сусла. Кроме того окончательный вывод можно сделать только после исследования зрелой бражки на

содержание вредных примесей.

Анализируя показатель массовой доли экстрактивных веществ в опытных образцах, можно отметить, что он возрастает по сравнению с контролем в среднем на 0.7-1.1%. Вероятнее всего это связано с дополнительным переходом в растворимое состояние продуктов гидролиза некрахмальных полисахаридов сырья. Известно [4], что основная масса гемицеллюлоз ржи состоит из пентоз, а последние не сбраживаются спиртовыми дрожжами. Повышенное значение массовой доли экстрактивных веществ в опытных образцах также подтверждает выдвинутое предположение.

Как показывают данные, представленные в табл. 2, раса используемых для сбраживания дрожжей не имеет четкого влияния на концентрацию растворимых веществ в бражке.

Эффективность стадии сбраживания осажаренного сусла определяется не только накоплением конечного продукта – этилового спирта, но и количеством образующихся побочных продуктов, сопутствующих процессу сбраживания. Известно, что нет прямой корреляционной зависимости между выходом этанола и содержанием в бражке основных летучих компонентов. В идеале необходимо стремиться к получению максимального выхода этилового спирта и минимума суммы примесей. Последние, в основном, накапливаются в ходе спиртового брожения и явля-

ются продуктами метаболизма дрожжевых клеток. Содержание вредных летучих примесей в бражке, также как и содержание этилового спирта, зависит от ряда факторов, причем по данным некоторых исследователей [5–7] преобладающее значение имеет раса используемых дрожжей.

Поэтому были проанализированы образцы зрелой бражки (получение сусла по Варианту II) с целью выявления зависимости между содержанием примеси и расы дрожжей. Анализ дистиллята контрольных образцов бражки на содержание летучих примесей, проведенный методом газовой хроматографии, представленный в табл. 3, позволяет

Таблица 3. Сравнительный анализ содержания летучих примесей в опытных образцах бражки (получение сусла по Варианту II).

Летучие примеси, мг/дм ³ безводного спирта	Чистая культура раса XII*	Сухие дрожжи	
		«Angel»*	«Фермиол» **
Ацетальдегид	650.93	297.07	330.42
Этилацетат	77.65	155.80	120.71
Метанол (об.%)	0.0075	0.0060	0.0050
1-Пропанол	312.03	810.85	272.14
2-Пропанол	3.17	4.24	2.92
Изобутанол	1042.80	1495.61	944.73
1-Бутанол	5.54	9.90	7.74
Изоамилол	2970.67	5572.42	4150.00
Общее количество примесей	5062.79	8345.89	5828.66
% к общему количеству в контроле	83.1	92.9	88.25

* время сбраживания 66 ч, 28–30°C

** время сбраживания 48 ч, 33–35°C

В целом, переработка зерна ржи по дифференцированному способу, предусматривающему выделение фракции шелухи и гидролиз фитина сырья, являющегося ингибитором для ряда ферментов, под действием эндогенных и микробных фитаз, позволяет повышать выход этанола в бражке и снижать содержание вредных летучих примесей в ней.

Экспериментальная часть

В работе использовали зерно ржи, полученное на Мичуринском спиртовом заводе (Московская область); ферментный препарат фитазы «Кормофит» (Россия) с активностью 2500 фитазных ед. (FTU) /г (активность фитазы определяется как количество фермента, освобождающее 1 ммоль неорганического фосфора [PO₄³⁻] в минуту, из 1,4-ммолярного раствора фитата натрия при pH 5.0 и температуре 37°C). Помимо фитазы, продуцируемой грибной культурой *Penicillium canescens*, препарат содержит карбогидразы – ферменты, расщепляющие полисахариды, такие как целлюлоза, β-глюканы, ксиланы, гемицеллюлозы, декстрозы [8]. Препарат эндогенной фи-

сделать следующие выводы:

➤ Минимальное количество примесей содержат образцы бражки, полученные с применением дрожжей расы XII и «Фермиол». Сухие дрожжи «Angel» накапливают значительно больше примесей за счет фракции сивушных масел.

➤ Метаболизм дрожжей расы XII характеризуется накоплением в бражке ацетальдегида. Этой фракции накапливается примерно в 2.0–2.2 раза больше, чем при использовании сухих дрожжей.

➤ Основная доля примесей приходится на фракцию сивушных масел, причем в ней преобладает изоамилол.

тазы из зерна ржи получали по разработанной авторами схеме, которая включала: экстракцию дистиллированной водой в соотношении 1 : 10 при интенсивном перемешивании в течение 3 мин при 4000 об./мин, дальнейшем центрифугировании при 6000 об./мин, осаждение сульфатом аммония (с конечной концентрацией от 40 до 60% насыщения), гель-хроматографию на колонке с TSK-gel Toyopearl HW-55F [1].

Получение ржаного сусла (Варианты II и III) осуществляли по дифференцированному способу в соответствии со схемой, представленной на рис. 1. Принципиальное отличие данного способа от классического (Вариант I) заключается в выделении фракции шелухи и проведении полного гидролиза фитина сырья [9].

Сбраживание осуществляли с помощью спиртовых дрожжей *Sac. cerevisiae* расы XII, а также использовали сухие спиртовые дрожжи «Angel» (Китай) и «Фермиол» (США). Дрожжи *Sac. cerevisiae* расы XII вносили в осахаренное сусло в виде чистой культуры. Для этого на первом этапе полу-

чали определенную биомассу дрожжей путем засева исходной культуры с агаризированной пробирки на стерильное 12%-ое солодовое сусло. Полученная биомасса хранилась в течение 2-4 недель при температуре 5-7°C и являлась исходной для получения засевных дрожжей, которые готовили по следующей схеме:

- засев стерильного 12%-го солодового сусла 10%-ой дрожжевой биомассой, выращивание при температуре 28-30°C в течение 20-24 ч;
- отделение образовавшихся засевных дрожжей от оставшейся питательной среды путем центрифугирования при 3-4 тыс. об./мин в течение 5-10 мин;
- 2-х-кратная промывка засевных дрожжей водой путем смешивания их с водой и последующего центрифугирования;
- получение суспензии засевных дрожжей (добавление к ним определенного количества H₂O) и подсчет количества дрожжевых клеток в 1 см³ суспензии (метод подсчета дрожжевых клеток в камере Горяева).

Дрожжевую суспензию вносили в количестве 10 см³ на 1 см³ осахаренного сусла. Сухие дрожжи использовали в количестве 50 мг на 100 см³ сусла. Предварительно для восстановления их тургора, дрожжи смешивали с определенным количеством воды и выдерживали при температуре 28-30°C в течение 30 мин.

Процесс сбраживания контролировали по выделению CO₂, который определяли весовым способом [10].

Для определения концентрации спирта и массовой доли экстрактивных веществ в бражке использовали дистилляционный метод, предусматривающий отгонку спирта из бражки, и его определение пикнометрическим методом [10].

Определение содержания сивушного масла, метилового спирта, альдегидов, эфиров проводили в дистилляте газохроматографическим методом [11], согласно ГОСТ 30536-97. В работе использовали газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором, оснащенный капиллярной колонкой HP-FFAP (США).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Жульков, А. Ю. Роль зерновой фитазы при производстве и сбраживании ржаного сусла. Часть I. Исследование фитазного комплекса ржи / А. Ю. Жульков, И. С. Витол, Г. П. Карпиленко // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2009. – № 5. – С. 50–55.
2. Майоров, А. Ю. Сухие активные дрожжи в производстве спирта / А. Ю. Майоров, Р. А. Курамшин, Ш. Г. Еникеев // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2002. – № 2. – С. 22.
3. Мартыненко, Н. Н. Решение проблем реактивации сухих спиртовых дрожжей / Н. Н. Мартыненко, В. В. Верченков, Л. В. Римарева // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2007. – № 2. – С. 10–11.
4. Кретович, В. Л. Биохимия растений / В. Л. Кретович. – М.: Высшая школа, 1986. – 503 с.
5. Крикунова, Л. Н. Режимы и технологические параметры получения и сбраживания осахаренного сусла из ИК-обработанного зерна пшеницы. Часть II. Стадия сбраживания сусла / Л. Н. Крикунова, О. С. Стребкова, М. В. Гернет // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2008. – № 2. – С. 44–47.
6. Лихтенберг, Л. А. Влияние технологических приемов на качество спирта / Л. А. Лихтенберг // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2001. – № 2. – С. 28–29.
7. Римарева, Л. В. Перспективы совершенствования биотехнологических процессов в спиртовом производстве / Л. В. Римарева // Прогрессивные технологии и современное оборудование – составляющие успеха экономического развития предприятий спиртовой и ликероводочной промышленности: Докл. IV межд. научно-практич. конф. – Москва, 2003. – С. 12–29.
8. Применение комплексного ферментного препарата на основе фитазы при подготовке зерна пшеницы и ржи для производства зернового хлеба / Е. А. Кузнецова, А. П. Синицин, С. Я. Корякина, О. М. Пригарина // Известия ВУЗов. Пищевая технология. – 2006. – № 5. – С. 23–24.
9. Жульков, А. Ю. Роль зерновой фитазы при производстве и сбраживании ржаного сусла. Часть II. Способы и режимы получения сусла / А. Ю. Жульков, И. С. Витол, Г. П. Карпиленко // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2009. – № 6. – С. 48–50.
10. Польшалина, Г. В. Технохимический контроль спиртового и ликероводочного производства / Г. В. Польшалина. – М.: Колос, 1999. – 334 с.
11. ГОСТ 30536-97. Водка и спирт этиловый. Газохроматографический метод определения содержания токсичных микропримесей.