

УДК 663:53

**БІОСИНТЕЗ ЕТИЛОВОГО СПИРТУ РІЗНИМИ РАСАМИ ДРІЖДЖІВ В
УМОВАХ ПІДВИЩЕНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ СУСЛА**

М. П. СИЧЕВСЬКИЙ, доктор економічних наук, професор, член-
кореспондент НААН України

E-mail: dir@ipr.net.ua

С. Т. ОЛІЙНІЧУК, доктор технічних наук, старший науковий співробітник

E-mail: dir.ipr@ukr.net

К. О. ДАНІЛОВА, кандидат технічних наук, старший науковий співробітник

Інститут продовольчих ресурсів НААН

E-mail: dankoek@mail.ru

***Анотація.** Сучасні напрями розвитку технології спирту вимагають підвищення концентрації сухих речовин сусла та вмісту спирту в бражці як одного із способів економії енергоресурсів та зменшення собівартості готової продукції. За таких умов необхідні високопродуктивні раси дріжджів із підвищеною осмофільністю, спиртолерантністю та бродильною активністю. Метою роботи було дослідити продуктивність дріжджів української селекції в порівнянні з комерційними сухими дріжджами при зброджуванні сусла підвищеної концентрації. Здійснено порівняльну характеристику комерційних штамів дріжджів, що використовуються на підприємствах спиртової галузі України та експериментального штаму дріжджів ДС-02-Е. Встановлено, що експериментальний штаму накопичує спирт на 0,66 дал/т сировини більше, має набуті осмофільні властивості і зброджує цукри з високою швидкістю навіть за меншої величини засіву. Визначено оптимальну кількість засівних дріжджів під час зброджування сусла підвищеної концентрації. Доведено, що найбільш швидкий і економічний метаболізм вуглеводів досягається у разі збільшення об'єму засівних дріжджів пропорційно підвищенню концентрації сусла.*

***Ключові слова:** спирт, штаму, дріжджі, підвищена концентрація, зброджування*

Сучасні напрями розвитку технології спирту вимагають підвищення концентрації сухих речовин сусла та вмісту спирту в бражці, як одного із способів економії енергоресурсів та зменшення собівартості готової продукції. За таких умов необхідні високопродуктивні раси дріжджів із підвищеною осмофільністю, спиртолерантністю та бродильною активністю [1, 4].

В наукових установах України селекціоновані штами дріжджів ДТ-05-М, ДО-11, ДС-02-Е, які мають високу продуктивність, осмофільність і спиртоутворюючу здатність до 14,0-14,5 % об, але на підприємствах галузі в більшості використовуються сухі дріжджі різних іноземних виробників [4].

Мета дослідження – вивчення продуктивності дріжджів української селекції в порівнянні з комерційними сухими дріжджами під час зброджування суслу підвищеної концентрації.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктами досліджень були осмофільні дріжджі сахароміцети штам ДС-01-Е, селекціоновані на базі Інституту продовольчих ресурсів НААН України і комерційні сухі дріжджі TEGAYEAST і TERMOSAK, сусло, приготоване із кукурудзяного помелу, процеси ферментативного гідролізу крохмалю, виробничі дріжджі та спиртове бродіння.

В роботі використовували загальноприйняті в спиртовій промисловості методи досліджень [2, 3]. Умовну крохмалистість зерна визначали поляриметрично, технологічні режими культивування дріжджів здійснювали методом бродильної проби. Вміст спирту в бражних дистилятах визначали ареометрично, вміст незброджених вуглеводів – колориметрично з антроновим реактивом, реакцію середовища – потенціометрично.

Матеріали і методи досліджень. Для дослідження готували сусло з кукурудзи з вмістом зброджуваних цукрів 21 г/100см³. Наважку помелу кукурудзи 83 г переносили в колбу Ерленмеєра об'ємом 500 см³, змішували з водою у співвідношенні 1:2, додавали розріджуючий ферментний препарат «AMYLEX 4Т» з розрахунку 1,5 од. активності на 1 г крохмалю, витримували впродовж трьох годин за температури 90 °С. Розріджену (декстринізовану) масу охолоджували до температури 30 °С, вносили протеолітичний ферментний препарат «ALPHALASE AFP» і оцукрюючий препарат «DIAZYME SSF» із розрахунку 6,0 од. активності на 1 г крохмалю і засівали добовою культурою дріжджів, яку вирощували за такою ж схемою. Помел кукурудзи змішували з водою, додавали джерело α -амілази з розрахунку 0,3 од. активності на г

крохмалю, витримували 1 год за температури 90 °С, вносили 0,2 од. активності на г крохмалю розріджуючого ферментного препарату і витримували 2 год. Після цього масу охолоджували до 60 °С, вносили глюкоамілазу в кількості 6,0 од. активності на г крохмалю, проводили оцукрювання впродовж години і охолоджували до 30 °С. В оцукрене сусло додавали джерело протеази, сечовину та ортофосфорну кислоту і засівали чистою культурою дріжджів ДС-02-Е та сухими дріжджами в кількості 0,3 г/250 см³.

Результати досліджень та їх обговорення. Періодичний процес культивування дріжджів і бродіння відбувається за нестационарним режимом, у зв'язку з цим всі компоненти середовища та біомаса дріжджів змінюється у часі. Тому дріжджі спочатку перебувають в умовах надлишку живильних речовин, концентрація яких поступово зменшується, а концентрація продуктів метаболізму збільшується. Оскільки окремі клітини дріжджів по-різному реагують на такі зміни складу середовища, то якість отриманої біомаси буде відрізнятися від вихідного штаму дріжджів, погіршуючи продуктивність за утворенням спирту та швидкістю споживання цукрів. Тому, на першому етапі було досліджено вплив тривалості бродіння сусла підвищеної концентрації з використанням сухих дріжджів. Результати зброджування наведені в таблиці 1.

Аналізуючи вуглеводний склад бражки можна зробити висновок, що під час зброджування сусла підвищеної концентрації сухими дріжджами на 72 год не досягаються нормативні показники за вмістом спирту і незброджених вуглеводів, тим часом основні втрати припадають на спирторозчинні цукри.

1. Вплив тривалості бродіння і раси дріжджів на показники бражки

Показник	Штам дріжджів			
	TEGAEST		TERMOSAK	
Тривалість бродіння, год	72	84	72	84
Виділилось CO ₂ , г	22,14	22,0	22,36	22,40
pH бражки	4,09	4,09	4,16	4,16
Титрована кислотність, град	0,97	0,97	0,89	0,89
Вміст спирту, % об.	11,00	11,10	11,10	11,20
Незброджені вуглеводи, г/100 см ³ :				
загальні	0,65	0,39	0,61	0,47
водорозчинні	0,58	0,33	0,52	0,40
нерозчинений крохмаль	0,07	0,06	0,08	0,06
спирторозчинні	0,22	0,22	0,17	0,16
декстрини	0,36	0,11	0,35	0,24
Істинні сухі речовини, %	3,25	3,20	3,10	3,10
Гліцерин, г/100см ³	1,09		1,04	
Вихід спирту, дал/т сировини	39,3	39,6	39,6	40,0

При збільшенні тривалості бродіння зменшується вміст незброджених вуглеводів, та підвищується вихід спирту незалежно від раси дріжджів. Але за рівних умов дріжджі TERMOSAK дають більший вихід спирту в порівнянні з дріжджами TEGAEST. Особливістю досліджених дріжджів є підвищений синтез гліцерину, утворення якого обумовлено підвищенням концентрації суслу та осмотичного тиску на дріжджову клітину, що є стресом для дріжджів від якого клітина захищається біологічним відгуком через утворення гліцерину та збільшенням тривалості гліцерино-піровиноградного бродіння[6]. Це свідчить про те, що дріжджі «TEGAEST» та «TERMOSAK» не мають достатніх осмофільних властивостей і не можуть ефективно зброджувати сусло підвищеної концентрації з накопиченням спирту в межах 11,0 і вище % об. так як при цьому не забезпечується нормативний вихід спирту. Для підтвердження такого висновку в табл. 3 наведено дані зброджування концентрованого суслу дріжджами «TERMOSAK» і осмофільним штамом дріжджів з колекції ІПР ДС-02-Е (таблиця 2.)

2. Вплив тривалості бродіння і раси дріжджів на показники бражки

Показник	Штам дріжджів	
	ДС-02-Е	TERMOSAK
Тривалість бродіння, год	84	84
Виділилось CO ₂ , г	25,31	24,76
pH бражки	5,16	4,50
Титрована кислотність, град	0,65	0,83
Вміст спирту, % об.	12,20	12,00
Незброджені вуглеводи, г/100 см ³ :		
загальні	0,36	0,32
водорозчинні	0,34	0,26
нерозчинений крохмаль	0,02	0,05
спирторозчинні	0,17	0,13
декстрини	0,15	0,12
Істинні сухі речовини, %	3,40	3,50
Гліцерин, г/100см ³	0,70	0,89
Вихід спирту, дал/т сировини	40,66	40,00

Наведені дані свідчать, що за близьких значень незброджених цукрів, сухі дріжджі синтезують менше спирту, зменшуючи його вихід на 0,5-0,66 дал із тони сировини. Це обумовлено більшим накопиченням гліцерину на 27-28 %, що абсолютно корелює із вмістом спирту в бражці та втратами цукрів на його утворення.

Незважаючи на переваги досліджуваного штаму дріжджів перед комерційними, тривалість бродіння 84 год може бути забезпечена не на всіх підприємствах галузі, а тому наступні наші дослідження були спрямовані на пошук заходів, що дозволять скоротити тривалість бродіння до регламентованих 72 год.

Швидкість зброджування цукрів має лінійну залежність від кількості біомаси дріжджів і їх фізіологічного стану. В періодичному процесі бродіння, коли весь процес від початку до кінця здійснюється в одному апараті, має місце інгібування клітин надлишком живильного субстрату, що суттєво впливає на кінетику його споживання дріжджами, утворення спирту та його вихід [5]. З підвищенням концентрації сусла процес інгібування клітин посилюється, швидкість росту дріжджів зменшується, а тривалість бродіння збільшується.

Крім того, під час переробки крохмалевмісної сировини швидкість зброджування цукрів лімітується швидкістю до оцукрювання декстринів, яка, в свою чергу, обумовлена швидкістю споживання цукрів на початковій стадії процесу.

Виходячи з таких міркувань, необхідно було дослідити вплив кількості засівних дріжджів на показники дозрілої бражки під час зброджування сусла підвищеної концентрації. Для моделювання виробничого процесу культивування дріжджів здійснювали в окремій стадії на суслі з кукурудзи, оцукреному і збагаченому протеолітичним ферментом.

Добову культуру дріжджів вносили в основне сусло в кількості 10, 15, 20 % до його об'єму і зброджували впродовж 72 год. Результати бродіння наведено в таблиці 3.

3. Вплив кількості засівних дріжджів на показники бражки

Показник	Кількість дріжджів, %		
	10	15	20
pH зрілої бражки	4,45	4,48	4,57
Σ CO ₂ , г	26,58	25,78	24,79
Вміст спирту, % об.	14,05	14,10	14,00
Загальний вміст незброджених цукрів, г/100 см ³	0,45	0,46	0,52
Вміст водорозчинних цукрів, г/100 см ³	0,40	0,39	0,47
Вміст нерозчиненого крохмалю, г/100 см ³	0,04	0,06	0,04
Вміст спирторозчинних цукрів, г/100 см ³	0,15	0,17	0,16
Вміст декстринів, г/100 см ³	0,23	0,19	0,27
Вихід спирту, дал/т сировини	40,6	40,7	40,5

З наведених даних видно, що збільшення кількості засівних дріжджів з 10 до 15 % до об'єму сусла, що зброджується, підвищило вміст спирту в бражці з 14,05 до 14,1 % об. або на 0,35 % відносних, а за подальшого збільшення кількості дріжджів до 20 % вміст спирту зменшився і був навіть нижчим від цього показника за використання дріжджів у кількості 10 %.

Це свідчить про те, що експериментальний штам дріжджів ДС – 02 – Е має набуті осмофільні властивості і зброджує цукри з високою швидкістю навіть за меншої величини засіву. Так, спирторозчинні цукри майже не

залежать від кількості засівних дріжджів, кількість яких у дозрілій бражці була в межах 0,39-0,47 г/100 см³.

З отриманих даних, можна зробити висновок, що збільшення кількості засівних дріжджів можливе лише в межах коефіцієнта підвищення концентрації сусла, тобто, щоб кількість введеного цукру на один грам біомаси була однаковою. За таких умов досягається найвищий 40,7 дал/т сировини вихід спирту.

Висновки

1. Доведено, що штам дріжджів з колекції ІПР ДС-02-Е відрізняється від комерційних сухих дріжджів більшою осмофільністю, забезпечує ефективне зброджування концентрованого сусла і здатний продукувати етанолу в бражці до 14,0 % об.

2. За однакової концентрації сусла і введеного крохмалю дріжджі ДС-02-Е дають більш високий у порівнянні із сухими дріжджами вихід етанолу на 0,66 дал з 1 т сировини.

3. Доведено, що найбільш швидкий і економічний метаболізм вуглеводів досягається за збільшення об'єму засівних дріжджів пропорційно підвищенню концентрації сусла.

Список літератури

1. Технологія спирту: Підручник / В. О. Маринченко, В. А. Домарецький, П. Л. Шиян [та ін.] – Вінниця: «Поділля-2000», 2003. – 496 с.

2. Рухлядева, А. П. Технохимический контроль спиртового производства / А. П. Рухлядева – М.: Пищевая промышленность, 1974. – 208с.

3. Технологічний регламент виробництва етилового спирту з крохмалевмісної сировини: ТРУ 18.8049-2000: затв. ДП «Укрспирт 2.10.2000 – К.: УкрНДспиртбіопрод, 2000. – 158 с.

4. Шиян П. Л. Інноваційні технології спиртової промисловості. Теорія і практика: Монографія / П. Л. Шиян, С. Т. Олійнічук. В. В. Сосницький. – К.: «Асканія», 2009. – 424 с.

5. Deyi, W. Substrate and product inhibition on yeast performance in ethanol fermentation / W. Deyi, W. Xinze, L. Yan // Energy and fuels. – 2015. – V. 1 – P. 1019-1027.

6. Oliynichuk S. T. The Dependence Of Glycerol Accumulation And Starch Hydrolyzates Fermentation From Wort Concentration / S. T. Oliynichuk, T. I. Lysak, L. V. Marynchenko // Biotechnologia Acta. – 2015. – V. 8, No 4. – P. 128-134.

References

1. Marynchenko, V. O., Domaretskyi, V. A., Chyian, P. L. et al. (2003). *Tecnnologiya spirta [Alcohol technology]*. Vinnytsia, Ukraine: Podillia-2000, 496.
2. Rukhliadeva, A. P. (1974) *Technochimicheskiiy control spirta [Technical-chemical control of alcohol production]*. Moskow, Russia: Food technology, 208.
3. *Tekhnologicheskiiy reglament vyrobnytstva spyrtu z krokhmalevmisnoi syrovyny [Technological regulations of ethanol production from starch-containing raw materials]*. (2000), TRU 18.8049-2000, Kyiv, Ukraine.
4. Chyian, P. L., Oliynichuk, S. T., Sosnytskyi V. V. (2009) *Innovatsiini tekhnologii spyrtovoi promyslovosti. Teoriya i praktika [Innovative technologies alcohol industry. Theory and Practice]*. Kyiv, Ukraine: Askaniya, 424.
5. Wu Deyi, Wang Xinze, Lin Yan. (2015). Substrate and product inhibition on yeast performance in ethanol fermentation. *Energy and fuels*, 1019-1027.
6. Oliynichuk, S. T., Lysak, T. I., Marynchenko, L. V. (2015). The Dependence Of Glycerol Accumulation And Starch Hydrolyzates Fermentation From Wort Concentration. *Biotechnologia Acta*, V. 8, 4, 128-134.

БИОСИНТЕЗ ЭТИЛОВОГО СПИРТА РАЗНЫМИ РАСАМИ ДРОЖЖЕЙ В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ СУСЛА

Н. П. Сычевский, С. Т. Олийничук, Е. О. Данилова

Аннотация. Современные направления развития технологии спирта требуют повышения концентрации сухих веществ сусла и содержания спирта в бражке, как одного из способов экономии энергоресурсов и уменьшения себестоимости готовой продукции. При таких условиях необходимы высокопродуктивные расы дрожжей с повышенной осмофильностью, спиртопереносимостью и бродильной активностью. Цель работы – исследование продуктивности дрожжей украинской селекции по сравнению с коммерческими сухими дрожжами при сбраживании сусла повышенной концентрации. Проведена сравнительная характеристика коммерческих штаммов дрожжей, используемых на предприятиях спиртовой отрасли Украины и экспериментального штамма ДС-02-Е. Установлено, что экспериментальный штамм накапливает спирта на 0,66 дал/т сырья больше, характеризуется приобретенными осмофильными свойствами и сбраживает сахара с высокой скоростью даже при меньшей величине засева. Определено оптимальное количество засевных дрожжей при сбраживании сусла повышенной концентрации. Доказано, что наиболее быстрый и экономичный метаболизм углеводов достигается при увеличении объема засевных дрожжей пропорционально повышению концентрации сусла.

Ключевые слова: спирт, штамм, дрожжи, повышенная концентрация, сбраживание

ALCOHOL BIOSYNTHESIS BY DIFFERENT YEAST STRAINS IN CONDITIONS OF HIGH CONCENTRATION MASH

N. Sychevskiy, S. Oliynichuk, K. Danilova

Abstract. *The modern trends of the grows alcohol technologies require increasing the concentration of solids content in the mash and alcohol contents in brew as a way of saving energy and decrease cost price of finished produce. Under such conditions are required high-yield yeast strains with increased osmophilic, alcohol tolerance and fermentative activity. In Ukraine scientific institutions selected yeast strains DT-05-N, DO-11, DS-02-E, which have high productivity and osmophilic and alcohol generate ability to 14,0-14,5% vol, but the brunch enterprises in the main used dry yeast of different foreign manufacturers.*

The objects of research were osmophilic Saccharomyces yeast strain DS-01-E, which selected from Institute of food resources NAAS of Ukraine, commercial dry yeast TEGAYEAST and TERMOSAK, corn mash, yeast production and alcohol fermentation. Underway used in the standard research methods in alcohol industry.

Research productivity of the Ukrainian selection yeast as compared with commercial dry yeast during the fermentation of the increased concentration mash is intention. The comparative characteristic of commercial yeast strains, which are used in ethanol enterprises of Ukraine, and experimental yeast strain DS-02-E is done. It is established, that the experimental strain accumulates 0.66 dal/t of feedstock more alcohol. The optimal amount of seeding yeasts during high concentration mash fermentation is determined. The quickest and economical metabolism of carbohydrates is achieved by increasing the volume of seed yeast in proportion to the growth concentration mash is proved.

Key words: *ethanol, strain, yeast, high concentration, fermentation*