

*Цель проводимых исследований — изучение влияния направленного применения протеазы на качественный и количественный состав токсичных микропримесей этилового спирта в отгонах бражки зернового сусла.*

*Для оценки влияния стадии внесения протеолитического ферментного препарата на процесс накопления побочных продуктов спиртового брожения были поставлены образцы без протеазы, образцы с протеазой, внесенной на стадии дрожжегенерации и на стадии сбраживания.*

*Применение кислой протеазы на стадии дрожжегенерации в месте с интенсификацией процесса сбраживания концентрированного сусла способствовало направленному синтезу этанол с более низким уровнем образования побочных продуктов брожения. Накопление побочных продуктов было снижено для дрожжей Фермиол на 20,9 %, для дрожжей расы 985-Т — на 14,4 % в сравнение с контрольными образцами без протеазы.*

## ВЛИЯНИЕ НАПРАВЛЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТЕАЗЫ НА КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ПОБОЧНЫХ ПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ ЗЕРНОВОГО СУСЛА

*Т. М. Тананайко, кандидат технических наук, доцент, начальник отдела технологий ликероводочной, винодельческой и пивобезалкогольной продукции РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию»,  
А. А. Пушкар, младший научный сотрудник отдела технологий ликероводочной, винодельческой и пивобезалкогольной продукции РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию»*

Эффективность биохимического процесса спиртового брожения при переработке сусла повышенных концентраций определяется как качеством ферментативного гидролиза сусла, так и физиологическим состоянием дрожжевых клеток. Высокая метаболитическая активность дрожжей во многом определяется составом сбраживаемой среды, которая должна содержать достаточное количество сбраживаемых углеводов, ассимилируемых азотистых и минеральных веществ.

Проведенные исследования по применению кислой протеазы на стадии дрожжегенерации дали возможность максимально эффективно задействовать белковые полимеры зернового сырья и нарастить высокую концентрацию засевных дрожжей. Поддержание культуры спиртовых дрожжей в активном состоянии с высокой плотностью дрожжевой популяции позволило ускорить процессы разбраживания и главного брожения сусла, и, как следствие, интенсифицировать процесс сбраживания спиртового производства [1, 2].

Вместе с этим, перспективными и актуальными представляются исследования влияния направленного применения протеазы на уровень накопления токсичных микропримесей этилового спирта при интенсифицированном процессе спиртового брожения.

Цель работы — изучение влияния направленного применения протеазы на качественный и количественный состав токсичных микропримесей этилового спирта в отгонах бражки зернового сусла.

Объектами исследования служила рожь (урожая 2009 года), как наиболее перерабатываемая зерновая культура в спиртовом производстве республики, протеолитический ферментный препарат «Alphalase FP2» производства компании DANISCO A/S (Дания) (подразделение «GENENCOR INTERNATIONAL B. V.»), дрожжи расы 985-Т и сухие дрожжи Фермиол.

Определение влияния направленного применения протеолитического ферментного препарата на состояние биомассы дрожжей в процессе дрожжегенерации, на уровень накопления

этилового спирта и его токсичных микропримесей в процессе сбраживания проводили методом постановки бродильных проб.

Контроль за состоянием дрожжей осуществляли по количеству дрожжевых клеток в 1 мл суслу (подсчет осуществляли в камере Горяева), по количеству мертвых и почкующихся клеток.

Определение концентрации спирта в зрелой бражке проводили дистилляционным способом. Относительную плотность растворов этилового спирта устанавливали пикнометрическим методом [3].

Полученные дистилляты бражки использовали при определении побочных продуктов брожения методом газовой хроматографии по ГОСТу Р 52363- 2005.

Подготовку образца осахаренного суслу проводили на лабораторном ферментере ЛР-1 согласно регламентируемым технологическим режимам механико-ферментативной обработки сырья, приведенным на рис. 1.

Для разжижения, декстринизации и осахаривания суслу по низкотемпературной схеме механико-ферментативной обработки сырья использовались ферментные препараты бактериального и грибного происхождения: на стадии приготовления замеса вносили «Амилекс 3Т» в дозировке 0,4 ед. АС/г условного крахмала и «Вискоферм» – 0,2 дм<sup>3</sup>/т сухих веществ зерна, на стадии осахаривания – «Диазим Х4» – 7,4 ед. ГЛС/г условного крахмала.

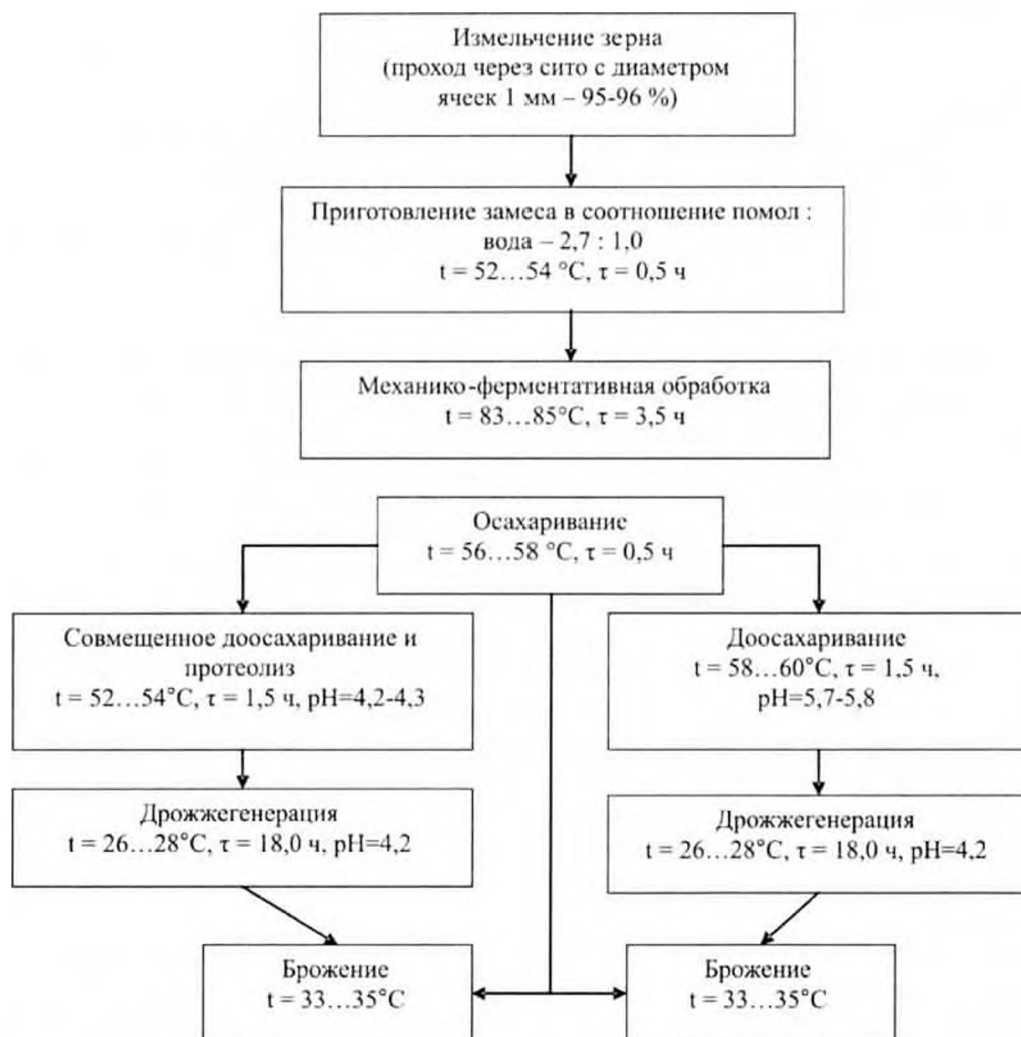


Рис. 1. Экспериментальная схема приготовления дрожжевого и осахаренного суслу

На основании проведенной работы по оптимизации процесса дрожжегенерации подготовку опытных образцов дрожжевого суслу осуществляли путем совмещенного протеолиза и доосахаривания при температуре 52-54°C и активной кислотности 4,2-4,3, при этом расход кислой протеазы составлял 0,2 ед. ПС/г условного крахмала, глюкоамилазы — 3,0 ед. ГЛС/г условного крахмала.

Контрольные образцы дрожжевого суслу подготавливали по традиционной технологии с доосахариванием при температуре 58—60°C и активной кислотности 5,7—5,8, при этом расход глюкоамилазы был 5,0 ед. ГЛС/г условного крахмала.

Дополнительно как в контрольные, так и в опытные образцы вносили карбонид из расчета 0,6 г/дм<sup>3</sup>. Подготовленное дрожжевое суслу при необходимости подкисляли до pH = 4,2 внесением ортофосфорной и серной кислоты.

Образцы дрожжевого суслу охлаждали, засеивали дрожжами расы 985 Т и Фермиол из расчета их начального содержания в сусле 10 млн кл. /мл. Культивировали при температуре 26-28 °С в течение 18 часов.

Таблица 1

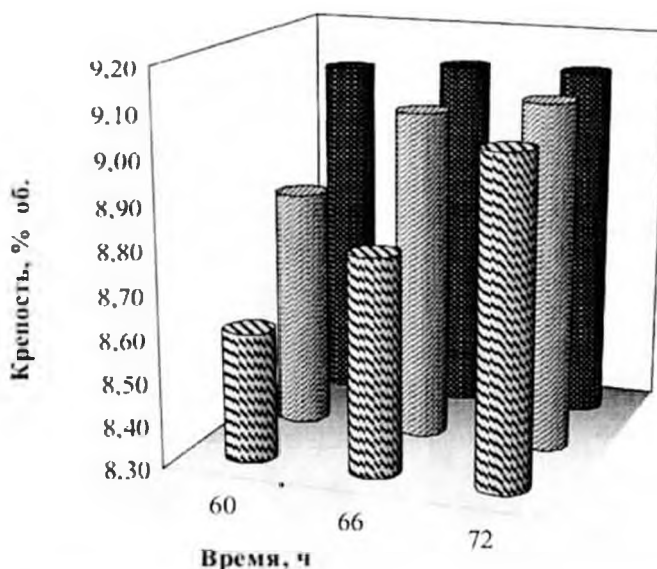
## Характеристика засевных дрожжей

Наименования показателя	Дрожжегенерация			
	традиционная		оптимизированная	
	985-Т	Фермиол	985-Т	Фермиол
Концентрация дрожжевых клеток, млн. кл./мл	112,0	108,0	163,0	158,0
Почкующихся клеток, %	18,0	15,0	20,0	19,0
Мертвых клеток, %	1,0	1,2	0,4	0,8
Внешний вид	клетки крупные, четкой округлой формы	клетки крупные, четкой округлой формы	клетки крупные, четкой округлой формы	клетки крупные, четкой округлой формы

Результаты по накоплению дрожжевой биомассы, количества почкующихся и мертвых клеток приведены в табл. 1.

В опытных образцах, где протеазу использовали на стадии дрожжегенерации, отмечено увеличение накопления биомассы для обеих рас дрожжей к 18 часам в 1,5 раза больше по сравнению с образцами без протеазы. Интенсивное развитие и размножение дрожжевых клеток подтверждает их хорошее физиологическое состояние и высокую бродильную активность.

Полученные данные свидетельствуют о высоком качестве посевного материала, полученного в оптимизированных условиях. При этом следует особо отметить низкое содержание мертвых



- Контроль
- ▨ Протеаза на брожение - 0,04 ед. ПС/г кр.
- Протеаза на дрожжегенерацию - 0,02 ед. ПС/г кр.

Рис. 2. Уровень накопления этилового спирта для дрожжей Фермиол



Рис. 3. Уровень накопления этилового спирта для дрожжей расы 985-Т

вносили в осахаренное сусло в количестве 10 % от объема сбраживаемого сусла, при этом в образцы №3, №6 задавали «Альфалазу ГР2» из расчета 0,04 ед. ПС/г крахмала. Образцы №1, №4 (без протеазы) использовали как контрольные.

2) в образцах №2, №5 применяли засевные дрожжи, приготовленные в оптимизированных условиях, в количестве 10 % от объема сбраживаемого осахаренного сусла.

Процесс сбраживания осуществляли при температуре 33—35 °С.

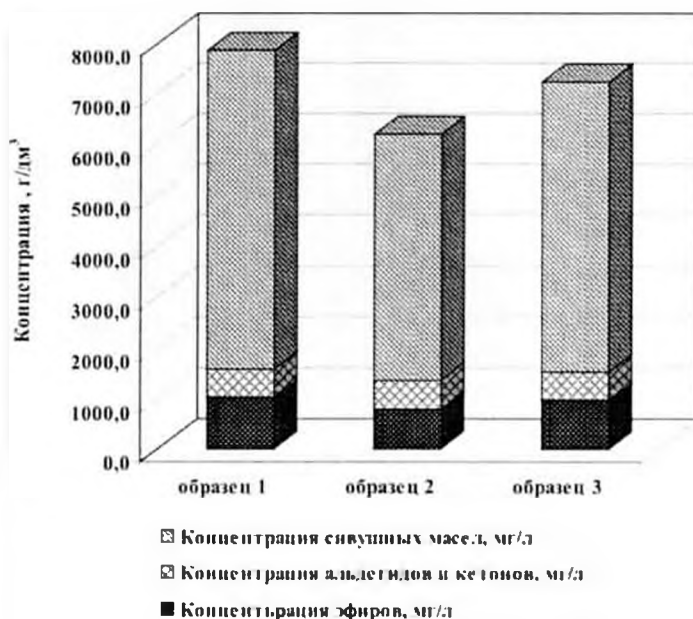


Рис. 4. Уровень накопления побочных продуктов брожения для дрожжей Фермиол

клеток в образцах с протеолизом дрожжевого сусла.

Для оценки влияния предложенного оптимизированного способа применения протеолитического ферментного препарата на процесс спиртового брожения, полученные засевные дрожжи использовали при сбраживании образцов концентрированного ржаного сусла с видимой концентрацией сухих веществ 19,6 %. Подготовку проб осахаренного сусла осуществляли согласно схеме, приведенной на рисунке 1. В образцах 1, 2, 3 использовались дрожжи Фермиол, в образцах 4, 5, 6 — дрожжи расы 985-Т.

При этом:

1) в образцах №№ 1, 3, 4, и 6 использовали дрожжи, приготовленные согласно регламентируемого способа. Засевные дрожжи

использовали дрожжи, приготовленные согласно регламентируемого способа. Засевные дрожжи использовали дрожжи, приготовленные согласно регламентируемого способа. Засевные дрожжи

Полученные данные подтвердили, что дрожжи рас 985-Т и Фермиол эффективно сбраживают концентрированное с нормативными технологическими показателями. Использование кислой протеазы на стадии дрожжегенерации в значительной степени интенсифицировало процесс спиртового брожения, при этом накопление этилового спирта заканчивался к 60 часам. В то время как в контрольных образцах №2, №4 и в образцах №3, №6 (с кислой протеазой, введенной на стадии брожения) накопление этилового спирта продолжалось до 72 часов (рис. 2, рис. 3).

Дрожжи рас 985-Т и Фермиол обладают, по видимому, некоторым различием в своих ферментативных системах, что подтверждают экспериментальные данные

по количеству побочных метаболитов (высших спиртов, альдегидов, эфиров), определяющих качество конечного продукта.

Результаты газохроматографического анализа токсичных микропримесей, образующихся в процессе сбраживания ржаного сула дрожжами рас 985-Т и Фермиол при температуре 33–35°C представлены на рис. 4 и 5.

Как видно из приведенных рисунков, дрожжи 985-Т наиболее рационально ассимилировали углеводы среды, направленно синтезируя этанол с более низким уровнем образования побочных продуктов брожения. Особенно это сказалось на синтезе высших спиртов и эфиров.

Применение протеазы для обеих рас дрожжей способствовало снижению уровня накопления побочных метаболитов этилового спирта, при этом максимальный эффект был достигнут в образцах с протеазой, введенной на стадии дрожжегенерации. К 72 часам брожения накопление побочных продуктов в дистиллятах этилового спирта с использованием протеазы надрожжегенерации было снижено для дрожжей Фермиол на 20,9%, для дрожжей расы 985-Т — на 14,4% в сравнение с контрольными образцами без протеазы.

При этом суммарное количество примесей для образцов 2 и 5 составило соответственно 6217,1 мг/дм<sup>3</sup> и 5978,1 мг/дм<sup>3</sup>, в то время как для контрольных образцов №1, №4 соответственно 7241,8 мг/дм<sup>3</sup> и 6986,8 мг/дм<sup>3</sup>.

Введение протеазы на брожение также способствовало снижению синтеза побочных продуктов брожения, но в меньшем количестве в сравнении с внесением протеазы на дрожжегенерацию. Применение протеазы на стадии сбраживания позволило снизить уровень накопления токсичных микропримесей для дрожжей Фермиол только на 7,8%, для дрожжей расы 985-Т — на 6,9%.

Таким образом, применение кислой протеазы на стадии дрожжегенерации в месте с интенсификацией процесса сбраживания концентрированного сула способствует направленному синтезу этанол с более низким уровнем образования побочных продуктов брожения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Тананайко, Т. М. Результаты экспериментальных исследований по интенсификации производства спирта путем направленного использования эндогенных кислых протеаз / Т. М. Тананайко, А. А. Пушкар / / Пищевая промышленность: наука и технология. — 2009. — № 3(5). — С. 6–71.
2. Тананайко, Т. М. Направленный протеолиз дрожжевого сула как основа интенсивного способа производства спирта / Т. М. Тананайко, А. А. Пушкар / / Инновационные технологии в пищевой промышленности: Материалы VIII Международ. научн.-практ. конф., Минск, 8–9 октября 2009 г. / Науч. — практ. центр НАН Беларуси по продов., редкол.: З. В. Ловкис [и др.]. — Минск, 2009. — С. 150–159.
3. Рухляева, А. П. Технохимический контроль спиртового производства / А. П. Рухляева. — М.: Пищевая промышленность, 1974. — 355 с.

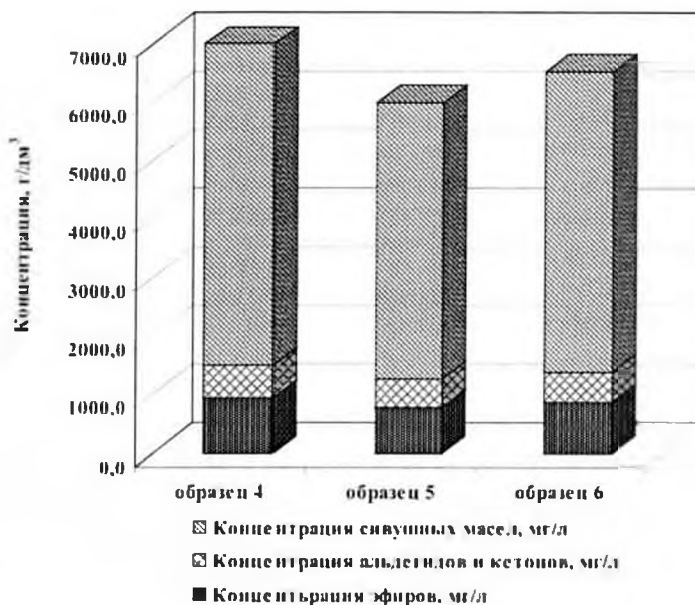


Рис. 5. Уровень накопления побочных продуктов брожения для дрожжей расы 985-Т