

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Том XIII

(ОТДЕЛЬНЫЙ ОТТИСК)

3

МОСКВА - 1977

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА
ФРУКТАВАМОРИН Г10х НА ПРОЦЕСС СБРАЖИВАНИЯ
МЕЛАССНОГО СУСЛА**

*А. М. КУЦ, В. Ф. СУХОДОЛ, Н. Н. ПОЧИКАЕВА,
П. М. МАЛЬЦЕВ, В. Л. ЯРОВЕНКО, Ю. З. СЕРОВА,
Г. М. ДОБРОЛИНСКАЯ*

Исследовали влияние препарата Фруктаваморин ПОх на процесс сбраживания мелассного сусла, накопление спирта, биомассы, вторичных и побочных продуктов брожения. Установлено, что применение препарата Фруктаваморин ПОх повышает выход спирта на 2—5 л из 1 т условного крахмала. Методом бумажной хроматографии показано, что это происходит за счет более полного выбраживания сахаров мелассы. При применении препарата Фруктаваморин ПОх в зрелых бражках наблюдалось повышенное содержание дрожжевых клеток, высших спиртов, альдегидов и сложных эфиров по сравнению с обычными условиями брожения.

В сбраживаемых сахарах свеклосахарной мелассы, поступающей на спиртовые заводы, содержится от 0,50 до 3,00% рафинозы [1, 2]. Спиртовые дрожжи рас В и Я сбраживают рафинозу на одну треть, а две трети ее, представляющие дисахарид мелибиозу, остаются неиспользованными [3]. Гибридные дрожжи, полученные в Институте общей генетики АН СССР для нужд спиртовой промышленности, полнее сбраживают рафинозу [4, 5], но степень сбраживания сахарозы у них ниже, чем у дрожжей расы В [6]. Вместе с тем при полном сбраживании рафинозы каждый ее процент, содержащийся в мелассе, дал бы повышение выхода спирта на 1,46% [6].

Во Всесоюзном научно-исследовательском институте продуктов брожения из глубинной культуры *Aspergillus awamori* 16 получен комплексный ферментный препарат, названный Фруктаваморин Г10х, содержащий ферменты α -галактозидазу и (3-фруктофуранозидазу [7].

Цель настоящей работы — исследовать влияние этого препарата на процесс сбраживания мелассного сусла, накопление спирта, биомассы, вторичных и побочных продуктов брожения при использовании дрожжей расы В и гибридных дрожжей Г-75 и Г-112.

Для сбраживания использовали мелассу, состав которой характеризовался следующими данными (вес.%): сухие вещества — 78,2; общая сумма сбраживаемых веществ — 48,24, в том числе рафинозы—1,32 и инвертного сахара — 0,63; общий азот—1,75; аминный азот — 0,27; фосфор в пересчете на P_2O_5 —0,03; сернистый ангидрид — 0,011; зола в пересчете на сульфатную—10,45; летучие кислоты в пересчете на уксусную — 0,92; pH — 6,7; кислотность — 0,2°; инфицированность мелассы (по нарастанию кислотности при самоброжении за 24 часа) —0,2°. Из мелассы готовили сусло концентрацией 22% СВ, которое сбраживали по схеме однопоточного производства. В качестве дополнительного питания для дрожжей в сусло вводили ортофосфорную кислоту в количестве 0,06% к весу мелассы.

При изучении потребления галактозы применяли синтетическую среду Ридер [8], которая содержала в зависимости от поставленной задачи 2% галактозы, 2% галактозы и 4% фруктозы, 2% галактозы и 11% сахарозы.

Брожение проводили в течение 72 час., помещая 200 мл жидкости в колбы Эрленмейера объемом 300 мл, закрытые сернокислотными затворами, без аэрирования при температуре 30° и pH среды 5,1.

В качестве возбудителей брожения использовали гибридные дрожжи Г-75 и Г-112 и дрожжи расы В, которые вносили в сусло в количестве 50 млн. дрожжевых клеток на 1 мл среды.

Засевные дрожжи получали разведением чистой культуры в стерильных условиях при температуре 30° и pH среды 5,2 по схеме: пробирка с чистой культурой дрожжей на солодовом сусле-агаре→солодовое сусло концентрацией 10% СВ в пробирке→мелассное сусло концентрацией 12% СВ в колбе объемом 100 мл→мелассное сусло концентрацией 14% СВ в колбе объемом 500 мл→мелассное сусло концентрацией 16% СВ в колбе объемом 3000 мл. Продолжительность каждой стадии 24 час. Отделение биомассы от культуральной среды проводили центрифугированием при $n=3000$ об/мин в течение 5 мин. Отцентрифугированные дрожжи дважды промывали стерильной водой.

При сбраживании мелассного сусла применяли препарат Фруктаваморин 10х с активностью 4500 ед. активности (β -фруктофуракозидазы на 1 г препарата. Препарат вносили из расчета 100 ед. активности (β -фруктофуранозидазы на каждый грамм сахарозы одновременно с дрожжами. За процессом брожения сусла наблюдали по убыли углекислого газа весовым методом. Скорость брожения определяли методом графического дифференцирования [9]. Повторность опытов трехкратная.

Через определенные промежутки времени в исследуемых образцах определяли спирт, количество дрожжевых клеток, несброженный сахар, вторичные и побочные продукты брожения. Для этого бражку подвергали перегонке при нормальных условиях и в дистилляте определяли концентрацию спирта пикнометрически, а содержание кислот, сложных эфиров, альдегидов и высших спиртов — по методикам, принятым в спиртовой промышленности [10]. Количество дрожжевых клеток в бражке определяли подсчетом в камере Горяева. По данным, относящимся к экспоненциальной фазе роста, рассчитывали удельную скорость роста дрожжей по формуле [11]:

$$\mu = (\ln X_1 - \ln X_0) / (\tau_1 - \tau_0) \text{ час}^{-1},$$

где X_1 и X_0 — содержание дрожжевых клеток в бражке соответственно в конце (τ_1) и начале (τ_0) экспоненциальной фазы роста, млн/мл.

Несброженный сахар в бражке определяли по методу Бертрана в пересчете на инвертный сахар [10], химико-колориметрическим методом с применением резорцина [10] и методом количественной бумажной хроматографии по методике, предложенной В. Г. Коваль, Т. А. Королук и В. Ф. Суходол, с использованием бумаги марки С Ленинградского завода [12]. В связи с тем что в исследуемых образцах содержалось различное количество сахаров, объем пробы, наносимый на хроматографическую бумагу, был различным и колебался от 0,02 мл для исходного сусле до 0,35 мл для зрелой бражки. Разделение сахаров производили в герметических стеклянных камерах с применением растворителя *н-пропанол : этилацетат : вода = 7 : 1 : 2* при восходящем потоке в течение 3 суток. В конце каждой суток хроматограммы вынимали из камер и подсушивали 2—3 часа.

Учитывая то, что в выбранной системе растворителя /?. мелибиозы и 1-кестозы +неокестозы очень близки [13], проявление хроматограмм проводили различными проявителями, специфически взаимодействующими с функциональными группами сахаров. Проявление альдоз осуществляли с помощью 5%-ного спиртового раствора о-толуидина с салициловой кислотой, а кетоз — 0,2%-ным раствором нафторезорцина [14]. Идентификацию сахаров бражки проводили по способу «свидетелей» путем сравнения отдельных компонентов испытуемого раствора и растворов химически чистых сахаров.

При количественном определении сахаров методика анализа сводилась к хроматографированию пробы, извлечению сахара из хроматограммы и определению его количества. Для этого стартовую линию хроматограммы условно делили на три части. В центральную часть листа наносили полосой анализируемый раствор, а на боковые — сахара «свидетели» и анализируемый раствор. После разгонки высушенную хроматограмму разрезали в продольном направлении на три части. Боковые полосы проявляли разными проявителями (одну — о-толуидином, вторую — нафторезорцином) и прикладывали справа и слева к непроявленной части хроматограммы. Установив зоны расположения отдельных сахаров, очерчивали их карандашом и вырезали. Вырезанные полоски бумаги измельчали, помещали в пробирки, заливали 5 мл воды и выдерживали при 80°. Продолжительность элюирования для моносахаридов составляла 30 мин., а для олигосахаридов — 20 мин. По окончании элюирования растворы, содержащие олигосахариды, гидролизовали 1 н. раствором соляной кислоты. После охлаждения гидролизат нейтрализовали 1 н. раствором едкого натра. Все элюаты дополняли водой до 10 мл. Количество сахаров в элюатах находили по методу Хагендорна-Иенсена и последующим использованием переводных коэффициентов, предложенных Архиповичем [15].

Вследствие того, что R_f 1-кестозы и неокестозы в выбранной системе растворителя одинаковы [13], их разделение не происходило. Поэтому в опытах приводятся данные по их суммарному содержанию в мелассе и

бражках.

Так как-резорцин не взаимодействует с альдозами [16], содержание несброженной галактозы при сбраживании синтетических сред определяли по разнице между общим содержанием несброженного сахара, определенным по методу Бертрана, и сахаром, найденным по химикоколориметрическому методу.

Анализ мелассы проводили по методикам, принятым в спиртовой промышленности [10].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлена скорость и динамика сбраживания меласно- го сусли дрожжами расы В. Аналогичные результаты получены и при использовании гибридов Г-75 и Г-112, Из рис. 1 следует, что сбраживание меласного сусли при введении препарата Фруктаваморин Г10х (ФП) происходило значительно быстрее и сахара выбраживались более полно по сравнению с контролем, что подтверждается более высоким количеством выделенного углекислого газа. Введение ФП значительно сокращало лаг-фазу и время дображивания по сравнению с контролем. Интенсивное сбраживание меласного сусли при использовании ФП начиналось через 4 часа после внесения дрожжей, а без добавки ФП наблюдалось только с 8 час. Главное брожение в опытных бражках проходило за 24 час. и к 40 час. брожение практически заканчивалось против 60 час. в контрольных бражках. Это объясняется благоприятным действием ФП на размножение дрожжей. Так, в конце экспоненциальной фазы роста в бражках с ФП дрожжевых клеток было в 1,27— 1,40 раза больше по сравнению с контрольными бражками (табл. 1). Введение ФП увеличивало удельную скорость роста для црожжей расы

Влияние препарата Фруктаваморин Г10х на сбраживание сахаров мелассы и накопление спирта

Дрожжи	Введено препарата, ед/г сахарозы	Продолжительность брожения, час.	Содержание сахаров в бражке, г/100 мл									Сумма сахаров по методу, г/100 мл		Спирт, об. %	Количество клеток, млн/мл	Сумма летучих примесей, мг/л
			рафиноза	Мелибиоза	1-кестоза-неоке-	сахароза	галактоза	глюкоза	фруктоза	ксилоза	ангидрид фруктозы	хроматографическому	колориметриче			
Исходное сусло		4	0,54	0,28	0,43	14,15	—	0,10	0,10	0,11	0,08	15,40	14,82	0,987	50,0	256,5
		8				Не определялось		2,67	8,16	0,10	0,04	11,98	13,11	2,957		495,8
		12	0,14	0,28	0,35	определялось		0,10	0,39	0,09	0,04	1,30	10,87	5,556	65,3	
		24		0,28		0,23			0,13	0,09	0,04	0,79	6,04	8,554	82,1	662,2
		48	0,09	0,28	0,18	Не			0,09		0,04	0,66	0,92	9,184	95,0	
		72	0,09		0,12	Не							0,66	9,553	83,5	624,7
В	100	4	0,15	0,18	0,28	Не определялось	0,12	2,51	6,22	0,11	0,11	9,65	12,71	1,037	60,4	334,8
		8				определялось	0,15		0,23	0,09	0,10	0,98	9,05	3,539	93,8	631,7
		12	0,12	0,09	0,18	0,09	0,16		0,12	0,08	0,06	0,60	5,41	5,980	113,8	781,6
		24	0,06	0,06	0,05	Не			0,08	0,08	0,05	0,45	0,69	9,363	126,3	
Г-75		4	0,12	0,10	0,30	Не определялось	0,12	1,85	8,33	0,03	0,04	11,38	12,42	1,718	56,6	338,3
		8				определялось	0,10		0,47	0,03	0,04	1,28	10,53	3,261	70,1	659,9
		12	0,10	0,09	0,13	0,45	0,10		0,11	0,03	0,04	0,58	5,82	5,620	86,3	
		24	0,08	0,09	0,11	Не	0,09		0,04	0,03	0,04	0,26	0,83	8,668	115,4	815,7
Г-75	100	4	—	0,30	0,21	Не определялось	0,10	2,51	5,29	0,03	0,10	8,50	12,26	2,074	68,0	412,9
		8				определялось	0,08		0,25	0,03	0,04	0,84	7,84	5,084	112,5	756,7
		12		0,27	0,13	0,06	0,08		0,18	0,03	0,03	0,49	2,96	7,100		921,6
		24		0,10	0,06	Не			0,02	0,03	0,03	0,21	0,71	9,139	162,0	832,3
Г-112		4	0,15	0,22	0,16	Не определялось	0,12	2,61	6,86	0,03	0,04	10,28	12,58	1,841	60,5	368,6
		8				определялось		0,21	0,21	0,03	0,04	0,97	8,05	3,987	72,4	716,8
		12	0,08	0,11	0,10	0,21							5,84	5,756	93,8	857,8

гибрид-
В от 0,031 до 0,037 час⁻¹, для гибрида Г-75 от 0,036 до 0,043 час⁻¹ и для гибрида Г-112 от 0,037 до 0,046 час⁻¹. Приведенные данные показывают, что гибридные дрожжи в условиях опыта имели более высокую генеративную активность по сравнению с дрожжами расы В. В условиях

Как следует из данных, приведенных в табл. 1, сахара в сусле представляли собой рафинозу, 1-кестозу + + неокестозу, сахарозу, глюкозу, фруктозу и неидентифицированным сахаром (возможно, ангидридом фруктозы [75]). Процесс брожения начинался с гидролиза сахарозы на глюкозу и фруктозу, который в основном заканчивался в первые часы брожения. К 8 час. брожения р-фруктофуранозидаза дрожжей расы В и гибрида Г-112 расщепила сахарозу на 98,5%, а гибрида Г-75 — на 96,5%. В дальнейшем дрожжи расы В и гибрида Г-75 сбродили сахарозу полностью, а гибрид Г-112 — на 99,57%. Введение ФП значительно 73%,

ускоряло процесс гидролиза сахарозы, особенно при использовании соответствующих дрожжей расы В и гибрида Г-75. В этих условиях гибрид Г-112 полностью сбродил сахарозу. Образовавшиеся в результате гидролиза глюкоза и фруктоза включались в цикл спиртового брожения, причем в первую очередь потреблялась глюкоза, которая полностью сбраживалась за 24 час. Сбраживание фруктозы происходило несколько медленнее. Независимо от расы применяемых дрожжей и условий брожения среди составов несбраженного сахара обнаружена фруктоза. для

Потреблению рафинозы также предшествовал ее гидролиз дрожжевой (β-фруктофуранозидазой. Дрожжи расы В, у которых отсутствует фермент α-галактозидаза, в течение первых 24 час. расщепили рафинозу 77,8% и на фруктозу и мелибиозу. Фруктоза в дальнейшем сбраживалась, а мелибиоза оставалась неиспользованной. Степень сбраживания рафинозы Г-112 — 80%, дрожжами расы В составила 30%, что соответствует теоретическим расчетам. При этом около 20% рафинозы осталось в негидролизованном состоянии и 50% в виде мелибиозы.

Гибридные дрожжи, имеющие фермент α-галактозидазу, полностью расщепили рафинозу и на 92% мелибиозу, что подтверждается появлением галактозы в сбраживаемой среде (табл. 1). Степень сбраживания рафинозы в значительной мере зависела от потребления галактозы

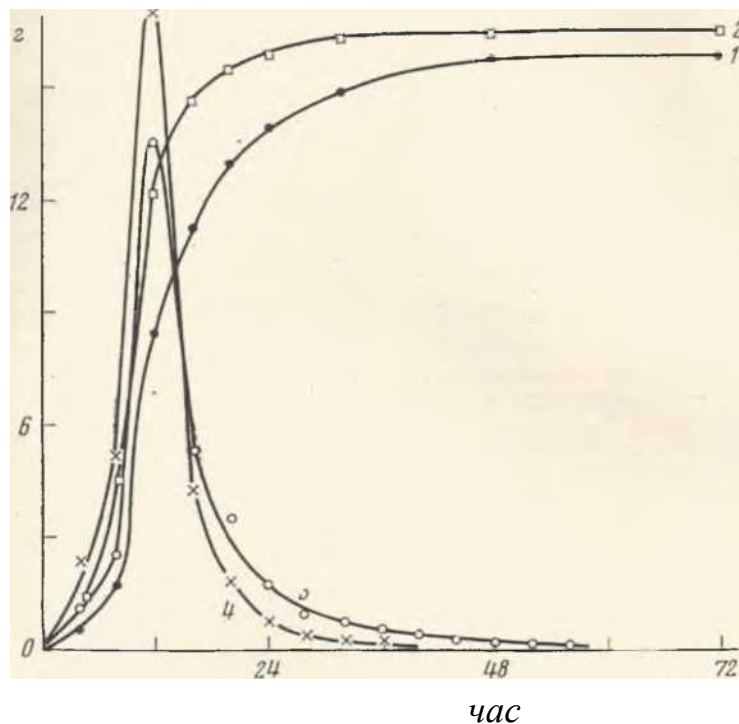


Рис. 1. Влияние ФП на процесс сбраживания мелассного сусла дрожжами расы В. Динамика (1) и скорость брожения (3) еласного сусла дрожжами расы В. Динамика (2) и скорость брожения (4) мелассного сусла дрожжами расы В с применением ФП

Введение ФП в сбраживаемую среду значительно повышало степень использования рафинозы дрожжами. Так, в опытах с дрожжами расы В в зрелой бражке рафиноза отсутствовала, а в продуктах ее гидролиза найдено около 10% мелибиозы и 30% галактозы по отношению к рафинозе, введенной с исходным суслом, что можно объяснить действием α -галактозидазы ФП. В случае использования гибридных дрожжей в зрелых бражках обнаружена только галактоза в количестве 15% для гибрида Г-75 и 10% для гибрида Г-112 по отношению к введенной рафинозе. Из приведенных данных видно, что именно галактоза, образующаяся в результате гидролиза рафинозы, является фактором, сдерживающим полное потребление рафинозы.

Для изучения способности исследуемых дрожжей потреблять галактозу сбраживали синтетическую среду, содержащую ее в качестве единственного источника углерода, а также в смеси с другими сахарами, содержащимися в мелассном сусле. Результаты опытов приведены в табл. 2. Приведенные данные показывают, что исследуемые дрожжи отличаются по способности сбраживать галактозу и их можно расположить в такой убывающий ряд: Г-112>Г-75>В. Введение фруктозы в среду практически не сказывалось на полноте выбраживания галактозы. Наличие же сахарозы в среде снижало степень потребления галактозы, так как в этом случае содержание несброженной галактозы для гибрида Г-75 повышалось до 10,5% по сравнению с 3,3% для среды, содержащей ее в качестве единственного источника углерода. Необходимо отметить, что сбраживание галактозы дрожжами расы В характеризовалось длительной лаг-фазой (до 24 час.), в то время как гибридные дрожжи

интенсивно бродили уже с начала опыта. Подобная картина наблюдалась Коноваловым, Косиковым с сотр. [18] при изучении сбраживания галактозы дрожжами расы Я и гибридами Г-67 и Г-73.

Таблица 2

Сбраживание галактозы различными расами дрожжей

Расы дрожжей	Введено в среду, %			Спирт, об. %	Несброженный сахар, г/100 мл			
	галактоза	фруктоза	сахара		общий	галактоза	фруктоза	сахара
В	2	—	—	0,974	0,219	0,219	—	—
Г-75	2	—	—	1,052	0,066	0,066	—	—
Г-112	2	—	—	1,115	0,031	0,031	—	—
В	2	4	—	3,115	0,248	0,208	0,030	—
Г-75	2	4	—	3,332	0,098	0,068	0,030	—
Г-112	2	4	—	3,411	0,071	0,036	0,035	—
В	2	—	11	7,726	0,329	0,297	—	0,032
Г-75	2	—	11	7,854	0,245	0,210	—	0,035
Г-112	2	—	11	7,991	0,173	0,093	—	0,080

Полученные результаты позволяют высказать предположение о том, что гибридные дрожжи Г-75 и Г-112 обладают более активной α -галактокиназой, катализирующей реакцию фосфорилирования Д-галактозы с образованием Д-галактозо-1-фосфата по сравнению с дрожжами расы В. Кроме этого, по-видимому, содержащийся в дрожжах фермент гексозо-1-фосфатуридил-трансфераза [19], обеспечивающий превращение галактозо-1-фосфата в глюкозо-1-фосфат, для дрожжей расы В относится к индуцируемому ферменту, а для гибридов Г-75 и Г-112 — к конститутивному.

Около 3% от введенного сахара приходилось на долю трисахаридов 1-кестозы ($C_{18}H_{32}O_{16}$ 1 Φ -[3-фруктозилсахарозы [20, 21]) и неокестозы (6 Γ -[3-фруктозилсахарозы [20, 21]). Дрожжи расы В сбродили 1-кесто-зу + неокестозу на 80%, гибрид Г-75 — на 90% и гибрид Г-112 — на 85%. Введение ФП повышало степень сбраживания 1-кестозы + неокестозы для дрожжей расы В до 93% и гибрида Г-112 до 91%, что объясняется действием [3-фруктофуранозидазы ФП. Результаты опытов в основном согласуются с данными, полученными Т. А. Королук и В. Г. Коваль при изучении сбраживания 1-кестозы + неокестозы дрожжами расы Я и гибрида Г-75 [22].

При брожении в среде появилась ксилоза, содержание которой осталось практически неизменно, а содержание ангидрида фруктозы уменьшилось

приблизительно в 2 раза (табл. 1).

Сбраживание сахаров сусла шло очень неравномерно. Скорость сбраживания колебалась от 0,428—0,600 г/100 мл/час в начале брожения и 1,00—1,208 г/100 мл/час в период главного брожения до 0,01—0,002 г/100 мл/час в конце брожения. Введение ФП существенно сказывалось на интенсивности сбраживания сахаров сусла. В связи с тем что в этом случае лаг-фаза значительно короче, сбраживание сахаров происходило быстрее и более равномерно, особенно в период главного брожения по сравнению с контрольными брожениями. За 24 час дрожжи расы В сбродили 91,36%, гибрид Г-75 — 91,68% и гибрид Г-112 — 95,06% по отношению к введенному сахару. При введении ФП эти величины соответственно составили 93,63; 94,29; 95,39%. С увеличением продолжительности брожения до 72 час. степень сбраживания сахаров сусла дрожжами расы В составила 95,71%, гибридом Г-75 — до 98,31% и гибридом Г-112 — до 98,18%, а при введении ФП соответственно — до 97,08; 98,64; 98,80% (по хроматографическому методу). Эти данные говорят о том, что применение ФП при использовании дрожжей расы В. более существенно сказывается на полноте выбраживания сахаров сусла, чем при использовании гибридных дрожжей.

Большое значение для выявления потерь с несброженным сахаром имеет и метод определения их в зрелой бражке. При использовании химиколо-колориметрического метода потери с несброженным сахаром для гибридов Г-75 и Г-112 составили 1,60—1,65% к введенному сахару, что хорошо согласуется с результатами хроматографического анализа. Для дрожжей расы В эта величина составила 1,94%, что более чем в 2 раза, меньше по сравнению с количеством несброженного сахара, определенным хроматографическим методом. Это связано с тем, что резорцин не- взаимодействует с рафинозой и мелибиозой [14], которые составляют более половины несброженного сахара для дрожжей расы В (табл. 1).

Несброженный сахар в зрелой бражке, полученной при использовании дрожжей расы В, был представлен рафинозой, мелибиозой, 1-кестозой+неокестозой, фруктозой, ксилозой и ангидридом фруктозы. Около 70% от содержания несброженного сахара приходилось на долю рафинозы, мелибиозы, 1-кестозы + неокестозы. В бражках, полученных при использовании гибридных дрожжей Г-75 и Г-112, найдены мелибиоза, 1-кестоза + неокестоза, галактоза, фруктоза, ксилоза, ангидрид фруктозы, а также сахароза для гибрида Г-112.

Применение ФП сказалось не только на количественных изменениях несброженного сахара зрелых бражек, но также и на их качественном составе. Так, в этом случае для зрелой бражки, полученной при использовании дрожжей расы В, характерно отсутствие рафинозы и появление галактозы. В зрелых бражках, полученных при использовании гибрида Г-75, отсутствовала мелибиоза и сахароза для гибрида Г-112.

В результате сбраживания сахаров сусла в среде накапливался спирт. Потребление сахаров происходило быстрее, чем образование- спирта. По этой причине в конце брожения при незначительном снижении несброженного сахара наблюдалось относительно большое накопление спирта.

Гибриды Г-75 и Г-112 в первые 8—12 час. брожения опережали по скорости сбраживания сахаров и накоплению спирта дрожжи расы В, что объясняется их повышенной генеративной активностью. На протяжении этих часов гибриды имели более высокую удельную и абсолютную скорость роста, чем дрожжи расы В, что подтверждается повышенным содержанием дрожжевых клеток в их бражках. Затем скорости брожения выравнивались. Дображивание же более интенсивно осуществляли дрожжи расы В. По-видимому, гибриды Г-75 и Г-112 менее устойчивы к продуктам своего обмена по сравнению с дрожжами расы В. Замеченная тенденция сохранилась и при применении ФП.

Из данных табл. 1 видно, что введение ФП в сбраживаемую среду повышало крепость бражки на 0,024—0,090 об.%, что соответствует увеличению выхода спирта на 2—5 л из 1 г условного крахмала.

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что гибридные дрожжи Г-75 и Г-112 более полно потребляли сахара мелассы, чем дрожжи расы В. Однако вследствие повышенной генеративной активности, особенно гибрида Г-112, значительное количество сахара ими использовалось на построение биомассы, а также на образование вторичных и побочных продуктов брожения. Поэтому ожидаемое увеличение выхода спирта не наблюдалось. В условиях опытов гибрид Г-75 обладал более-высокой спиртообразующей способностью по сравнению с дрожжами расы В и гибридом Г-112. Одновременно с контролем за изменением концентрации спирта и сахара в среде мы наблюдали за изменением содержания альдегидов, высших спиртов, летучих кислот и сложных эфиров в процессе брожения.

Содержание альдегидов в бражках увеличивалось в течение первых 12 час. брожения, а затем резко снизилось. Это, очевидно, связано с превращением сахаров в цикле спиртового брожения до уксусного альдегида, который является ключевым продуктом [23] для образования спирта и вторичных продуктов брожения. Спустя 24 час. брожения количество альдегидов в бражках несколько повысилось, что могло быть вызвано окислением спирта. В зрелых бражках, полученных с приме-

мг/л

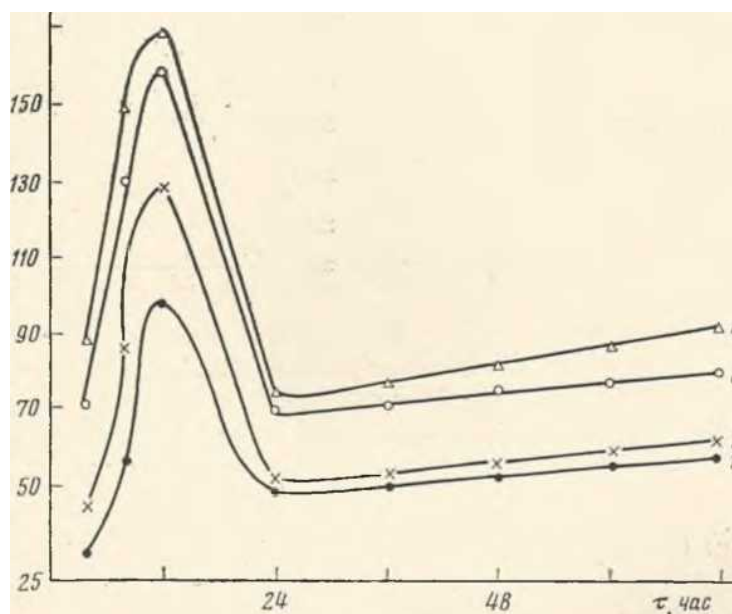


Рис. 2. Изменение содержания альдегидов при сбраживании мелассового сусла; 1—дрожжи расы В, 2 — дрожжи расы В + ФП, 3 — гибрид Г-112, 4— гибрид Г-112+ФП

нием ФП, содержалось альдегидов в среднем на 5—15% больше, чем в контрольных. В условиях опытов гибридные дрожжи Г-75 и Г-112 образовали альдегидов в среднем на 30% больше, чем дрожжи расы В (рис. 2).

Образование высших спиртов в основном завершилось в первые 24 часа брожения, затем их содержание в бражке росло незначительно по сравнению с начальным периодом брожения (рис. 3). При введении ФП в среду в зрелых бражках содержалось высших спиртов в 1,3—1,4 раза больше, чем в контрольных. Это, по-видимому, вызвано интенсификацией углеводного и аминокислотного обмена в дрожжевой клетке и размножения дрожжей, с которыми тесно связан процесс образования высших спиртов [24, 25]. В условиях опытов исследуемые дрожжи накопили примерно одинаковое количество высших спиртов.

Содержание летучих кислот резко возрастало в течение первых 12 час. брожения, но с увеличением продолжительности брожения их концентрация в бражках снижалась (рис. 4). Это может быть связано с использованием кислот на построение биомассы дрожжей [26], также на образование сложных эфиров [23]. При применении ФП в течение

первых 8 час. в опытных бражках содержалось кислот больше, чем в контрольных, однако в опытных зрелых бражках их было в среднем на 30% меньше, чем в контрольных. Результаты опытов подтвердили замеченную ранее закономерность о повышенной ацетогенной способности гибридных дрожжей по сравнению с дрожжами расы В [27].

Образование сложных эфиров происходило главным образом в течение первых 12 час. брожения. В этот период в бражке содержалось

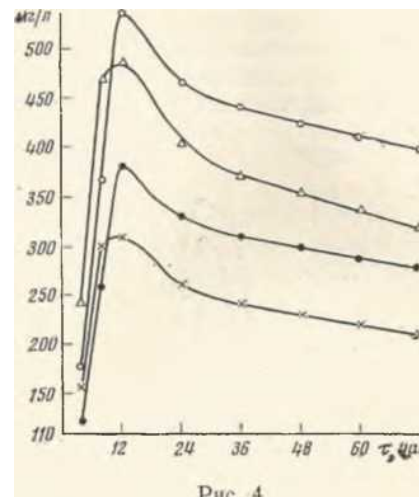
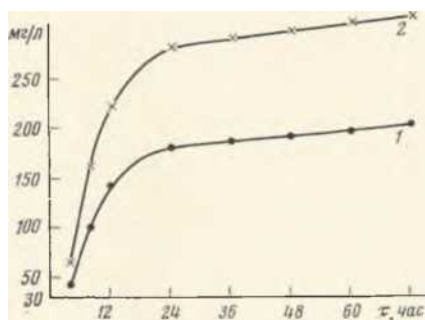


Рис. 4

Рис. 3. Изменение содержания высших спиртов при сбраживании мелассного сусла; 1—дрожжи расы В, 2—дрожжи расы В + ФП

Рис. 4. Изменение содержания летучих кислот при сбраживании мелассного сусла; 1 — дрожжи расы В, 2 — дрожжи расы В + ФП, 3—гибрид Г-112, 4—гибрид

Г-112+ФП

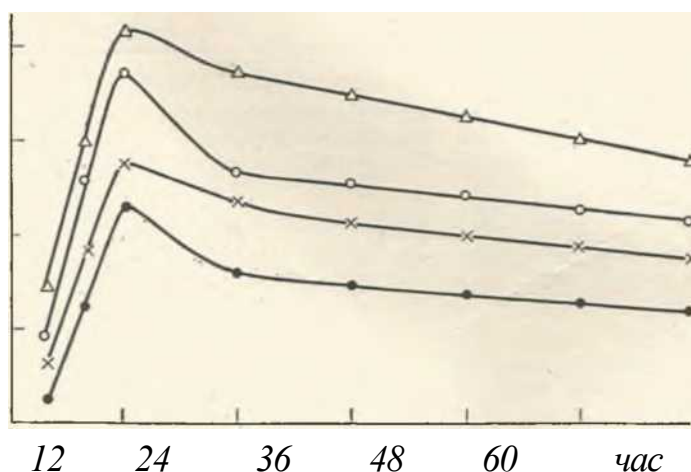


Рис. 5. Изменение содержания сложных эфиров при сбраживании мелассного сусла; 1—дрожжи расы В, 2 — дрожжи расы В + ФП, 3 — гибрид Г-112, 4 — гибрид Г-112 + ФП

значительное количество альдегидов, а также кислот и спирта, при взаимодействии которых образуются сложные эфиры [23]. В дальнейшем их

концентрация несколько снижалась. При введении ФП в среду содержание сложных эфиров возрастало в сравнении с контрольными в среднем на 20—25% (рис. 5). В условиях опытов гибридные дрожжи Г-75 и Г-112 образовали сложных эфиров на 25—30% больше, чем дрожжи расы В.

Закономерности в изменении содержания спирта, вторичных и побочных продуктов брожения во времени в основном согласуются с результатами, полученными при сбраживании синтетических [28] и ме- г.-ссных [29, 30] сред дрожжами расы В.

Как видно из приведенных данных (рис. 2—5), при введении ФП в сбраживаемую среду в опытных зрелых бражках содержалось высших спиртов, альдегидов и сложных эфиров больше, а кислот—меньше, чем в контрольных зрелых бражках. По абсолютному количеству вторичных продуктов брожения (табл. 1) опытные бражки также превосходили контрольные, что связано главным образом с повышенным содержанием дрожжевых клеток в них. Расчеты показали, что относительная концентрация вторичных и побочных продуктов брожения, отнесенная к 100 млн. дрожжевых клеток, в опытных зрелых бражках чем В контрольных.

Киевский технологический институт пищевой
промышленности
Всесоюзный научно-исследовательский институт
продуктов брожения, Москва

Поступила
22.IX.1976

ЛИТЕРАТУРА

1. Раев З.А., Коваленко А. Д. 1972. *Технология переработки мелассы на спирт и другие продукты*, № 14. Киев, УкрНИИСП, 18.
2. Савчук М. Я., Григорьева А. И., Донченко Е. Ф. 1975. *Спиртовая промышленность*, № 5, 11. ЦИНТИпищепром, Экспресс-информация.
3. Сербина Н. И., Сокольская Е. В. 1955. Тр. Киевского филиала ВНИИСП, № 2, 97.
4. Косиков К. В., Раевская О. Г. 1965. Тр. Ин-та генетики АН СССР, № 35, 47.
5. Раевская О. Г., Косиков К. В. 1969. *Микробиология*, 38, № 4, 51.
6. Раев З. А., Коваленко А. Д., Коробкова Л. А., Садовникова Л. А., Беспалая М. К. 1973. *Переработка мелассы на спирт и другие продукты*. Тр. УкрНИИСП, 15, 46.
7. Серова Ю. З., Добролинская Г. М. 1976. *Прикл. биохим. и микробиол.*, 12, № 5, 709.
8. Мейсель М. Н. 1950. *Функциональная морфология дрожжевых организмов*. М., Изд-во АН СССР, 336.
9. Шевченко А. М., Волкова Г. А., Суходол В. Ф., Ройтер И. М. 1974. *Хлебопекарная и кондитерская промышленность*, № 10, 25.
10. Фертман Г. И., Шойхет М. И. 1975. *Химико-технологический контроль*

- спиртового и ликеро-водочного производства. М., «Пищевая пром-сть», 367.
11. Малек Н., Фенцл З. 1968. Непрерывное культивирование микроорганизмов. М., «Пищевая пром-сть», 70.
 12. Королюк Т. А., Коваль В. Г., Суходол В. Ф. 1976. Спиртовая и ликеро-водочная промышленность» 4, 18. ЦИНТИпищепром, Научно-реферативный сборник.
 13. Boarzuischky H., Mauch W. 1969. Zucerindustrie, 19, No. 420, 545.
 14. Хайнс И. М., Мацек К. 1962. Хроматография на бумаге. М., Изд-во иностр. лит. 851.
 15. Архипович Н. А. 1964. Химико-технологический контроль свеклосахарного производства. Киев, «Техніка», 99.
 16. Коваль В. Г., Королюк Т. А., Бойко Л. М., Петенко Б. П. 1972. Технология переработки мелассы на спирт и другие продукты. Киев, УкрНИИСП, № 14, 74.
 17. Гольдфарб Р. И., Коваль В. Г. 1958. Тр. Киевского филиала ВНИИСП, № 4, 185.
 18. Коноволов С. А., Косиков К. В., Раевская О. Г., Бородкина В. В. 1963. Пищевая промышленность (спиртовая, ликеро-водочная и ацетоно-бутиловая). М., ЦИНТИпищепром, № 6, 13.
 19. Howard M., Heinrich M. R. 1965. Arch. Biochem. and Biophys., 110, № 2, 395.
 20. Грачева И.М. 1975. **Технология ферментных препаратов. М., «Пищевая пром-сть», ?68.**
 21. Калинин Ф.Л., Лобов В. П., Жидков В. А. 1971. Справочник по биохимии. Киев, «Наукова думка», 478.
 22. Королюк Т. А., Коваль В. Г. 1976. Спиртовая и ликеро-водочная промышленность, № 2, 5. ЦИНТИпищепром, Научно-реферативный сборник.
 23. Родопуло А. К. 1975. Биохимия шампанского производства. М., «Пищевая пром-сть», 122.
 24. Грачева И. М. 1972. **Исследование процесса образования высших спиртов дрожжами.**
Докт. дис. МТИПП, М.
 25. Сисакян Н. М., Родопуло А. К., Егоров И. А. 1972. В сб.: Биохимические основы производства. М., «Наука», 29.
 26. Дурмишидзе С. В. 1962. Сообщения АН ГрузССР, 29, № 3, 293.
 27. Швец В. Н., Курило Л. Н., Слюсаренко Т. П. 1976. Ферментная и спиртовая промышленность, № 4, 17.
 28. Коваленко А. Д. 1971. Исследование и совершенствование процесса непрерывного сбраживания мелассы на спирт. Канд. дис. КТИПП, Киев.
 30. Савчук М. Я. 1971. Исследование влияния условий сбраживания мелассы на качество спирта. Канд. дис. КТИПП, Киев.

STUDY OF THE EFFECT OF THE PREPARATION FRUCTAWAMORIN GIOx ON THE FERMENTATION OF MOLASSES WORT

*A. M. KUTS, V. F. SUKHODOL, N. N. POCHIKAEVA,
P. M. MALTSEV, V. L. YAROVENKO, Yu. Z. SEROVA,
G. M. DOBROLINSKAYA*

*Kiev Technological Institute of Food Industry; All-Union Research Institute of
Fermentation Products, Moscow*

Experiments were carried out to study the effect of the preparation Fructawamorin GIOx on the fermentation of molasses wort and accumulation of alcohols, biomass, secondary and side fermentation products. The use of Fructawamorin GIOx increased the alcohol yield by 2 to 5 / per 1 ton of comparison starch. By paper chromatography this was shown to occur due to a more complete fermentation of molasses sugars. The use of Fructawamorin GIOx caused an increased content of yeast cells, higher alcohols, aldehydes and esters in fermented beer as compared with routine methods of fermentation.