

УДК 577.15:663.5 © 2009

Тетяна Сергіївна Глускіна

Леонід Вікторович Левандовський, доктор технічних наук

Тетяна Омелянівна Мудрак, кандидат технічних наук

Національний університет харчових технологій, м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГІДРОЛІЗУ БІОПОЛІМЕРІВ ЖИТА У СПИРТОВОМУ ВИРОБНИЦТВІ

Одержано експериментальні дані щодо біотрансформації складових зерна жита в технології спирту шляхом застосування ферментних препаратів (ФП) з β -глюканазною та протеазною активностями разом із ФП амілазної дії. У цих умовах спостерігалось зменшення в'язкості сусла, збагачення його продуктами гідролізу білка, що обумовлює посилення спиртоутворюючої активності дріжджів та збільшення питомого виходу спирту. Ці результати є передумовою для переробки більш концентрованого зернового сусла, що матиме економічну та екологічну доцільність у спиртовому виробництві.

Татьяна Сергеевна Глускина

Леонид Викторович Левандовский, доктор технических наук

Татьяна Емельяновна Мудрак, кандидат технических наук

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА БИОПОЛИМЕРОВ РЖИ В СПИРТОВОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

Получены экспериментальные данные по биотрансформации составляющих ржи в технологи спирта путём использования ферментных препаратов (ФП) с β -глюканазной и протеазной активностями совместно с ФП амилолитического действия. В этих условиях наблюдались уменьшение вязкости сусла, обогащение его продуктами гидролиза белка, что обуславливает усиление спиртообразующей активности дрожжей и увеличение удельного выхода спирта. Эти результаты являются предпосылкой для переработки более концентрированного зернового

сусла, которая будет иметь экономическую и экологическую целесообразность в спиртовом производстве.

Tetyana Gluskina

Leonid Levandovskiy

Tetyana Mudrak

RYE'S POLYMERS FERMENTATIVE GYDROLYSIS RESEARCH IN ALCOHOL PRODUCTION

[Findings about](#) rye's constituents [biotransformation](#) in alcohol production by using [enzyme preparation](#) (FP) with β -[glucan](#)- and [proteolytic activities](#) in combination with amylolytic FP. In the circumstances [wort's viscosity reduction](#) and his enrichment from hydrolyzate, [which](#) produce yeast's [activity](#) and alcohol's [specific yield increase](#). These results are preconditions for treatment of more [concentrated grain](#)'s [wort](#), which provides economical and ecological suitability in alcohol findings .

Актуальними та перспективними напрямками енерго- та ресурсозбереження у технології спирту із крохмалевмісної сировини є розварювання зернового замісу при відносно низьких температурах (не вище 100°C) за допомогою концентрованих ферментних препаратів (ФП) різного спектру дії та переробка сусла з підвищеною концентрацією сухих речовин [1, 8, 10]. Суттєвими економічними та екологічними перевагами цих заходів є скорочення витрат теплоти, збільшення ступеня раціонального використання складових зерна, зменшення витрат артезіанської та технічної води і зменшення питомого виходу післяспиртової барди за рахунок підвищення у ній вмісту сухих речовин [2].

Відомо, що ефективність технологічних процесів вирощування дріжджів і спиртового бродіння залежать від вуглеводного та азотистого складу сусла, а також його реологічних властивостей, які, у свою чергу, визначаються не лише ступенем деструкції крохмалю, але й ступенем гідролізу білкових речовин та некрохмалистих полісахаридів зерна [3, 4, 7].

Зерно жита має свої особливості та складності при переробці у спирт у порівнянні з пшеницею або кукурудзою. З одного боку житнє сусло є більш повноцінним за білковим та амінокислотним складом. Разом із цим наявність більшої кількості оболонки та алейронового шару, що містять геміцелюлозу, гумі-речовини та β -глюкани, зумовлює підвищену в'язкість замісу і складність його ефективного перемішування та транспортування по технологічній лінії [1, 9].

Створення умов для ефективного гідролізу білкових речовин та некрохмалистих полісахаридів є шляхом до покращання результатів виробництва спирту із жита. Це можливо при використанні мультиензимних композицій ферментів, що розщеплюють білкові речовини та некрохмалисті полісахариди [9]. Так, у результаті дії протеаз відбувається вивільнення амінокислот, які асимілюються дріжджами, що сприяє зниженню витрат глюкози на конструктивний обмін дріжджової клітини [6, 9]. Застосування β -глюканази дозволяє розщепити частину β -глюканів з утворенням зброджуваних вуглеводів – резерву підвищення виходу спирту.

Тому пошук засобів інтенсифікації гідролізу білкових речовин та некрохмалистих полісахаридів при переробці жита у спирт є актуальною проблемою технології.

Мета досліджень – підбір комплексу ФП фірми „Kerry Food Ingredients” різного спектру дії для ефективної біоконверсії складових зерна, оптимізація технологічних режимів їх використання у виробництві спирту з жита в умовах його низькотемпературної теплоферментативної обробки.

Методи і матеріали дослідження. Об'єктом дослідження були ФП фірми „Kerry Food Ingredients” а саме:

Біоглюканаза ГС – цитолітичний ФП, який характеризується β -глюканазною, целюлазною, геміцелюлазною та іншими активностями і продукується культурами мікроорганізмів *Trichoderma reesei* і *Penicillium emersonii*;

Біоглюканаза Б10Л – висококонцентрований β -глюканазний ФП, який продукується штамом бактерій *Bacillus subtilis*;

Промальт ЦН – комплексний β -глюканазний ФП з додатковими α -амілазною та протеазною активностями, його продуцентами є *Penicillium emersonii* та *Bacillus subtilis*.

Як розріджуючий та оцукрюючий застосовували ФП компанії „Novozymes”, відповідно, Термаміл СЦ (містить термостабільну α -амілазу) та САН Екстра Л (містить глюкоамілазу).

Об'єктами дослідження були також середовища спиртової технології: зерновий заміс, сусло спиртового виробництва, виробничі дріжджі та дозріла бражка.

Зерно жита з крохмалистістю 55 % подрібнювали з одержанням помелу, що характеризувався 90-95 % - ним проходом крізь сито з діаметром отворів 1 мм. З метою декстринізації та оцукрювання крохмалю заміс піддавали низькотемпературній теплоферментативній обробці. Оцукрене сусло зброджували дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* раси ДТ-05 при температурі 32-35°C протягом 72 год. з одержанням дозрілої бражки.

Для аналізу об'єктів досліджень використовували традиційні хіміко-технологічні методи контролю спиртового виробництва [5]. У зерні жита визначали вологість та крохмалистість; у суслі – динамічну в'язкість при 20°C (за допомогою ротаційного віскозиметру Reytest-2); при бродінні сусла визначали кількість двоокису вуглецю, що виділявся із бражки – як критерій оцінки інтенсивності зброджування сусла; у дозрілій бражці – вміст спирту, незброджених і спирторозчинних цукрів, рН середовища та величину накопичення дріжджів.

Для проведення досліджень основні та додаткові ФП задавали за рекомендаціями виробника із розрахунку (дм³/т крохмалю): Термаміл СЦ – 0,4; САН Екстра Л – 0,9; Біоглюканаза ГС – 0,15 та 0,2 (варіант 4 і 2 табл. 1, відповідно); Біоглюканаза Б10Л – 0,05 та 0,08 (варіант 4 і 3 табл. 1, відповідно); Промальт СН – 0,2 (варіант 5 згідно табл. 1).

Результати досліджень. Дослідження проведено у два етапи: на першому – визначали оптимальні дози вищеназваних ФП для зброджування сусла із жита з концентрацією СР 17,3 % (вважається на рівні традиційних технологій), а на другому – сусла підвищеної концентрації (19,2 та 21,1%).

Отримані результати свідчать, що внесення висококонцентрованих ФП – Біоглюканаз ГЛ і Б10Л та Промальт ЦН у різних комбінаціях, покращує властивості сусла з 17% СР та результати його спиртового зброджування (табл. 1). Про це свідчить зниження в'язкості сусла у всіх дослідних варіантах до 1,5-2,0 проти 2,4

мПа·с у контролі, збільшення маси виділеного CO₂ протягом бродіння (відповідно до 13,14-13,34 проти 13,09 г/200 мл) та кількості дріжджових клітин (до 120-135 проти 107 млн/мл), зменшення залишкового вмісту нерозчиненого крохмалю (0,018-0,020 проти 0,027 г/см³) і, як наслідок, підвищення накопичення цільового продукту – спирту – в дозрілій бражці (до 8,00-8,08 проти 7,96 об.%).

Однак звертає на себе увагу той факт, що у вар. 3 та 4 (присутні ФП Біоглюканази), незважаючи на більший рівень накопичення спирту у дозрілій бражці, ніж у контролі, спостерігається і підвищена кількість загальних незброджених вуглеводів. Це певною мірою протирічить традиційним уявленням про взаємозв'язок між динамікою гідролізу вуглеводів зерна та утворенням спирту, оскільки такі уявлення склалися в умовах технології без використання β-глюканази.

На наш погляд, одержані результати можуть бути наслідком гідролізу пентозанів житнього замісу до пентоз, які не здатні зброджуватися спиртовими дріжджами в етанол, але за існуючою методикою визначаються разом із продуктами гідролізу крохмалю. Дане припущення може бути предметом більш глибокого дослідження вуглеводного складу сусла, одержаного з використанням ФП, що містять β-глюканазу.

Враховуючи дещо більшу ефективність Біоглюканази Б10Л у порівнянні з Біоглюканазою ГЛ та позитивний результат застосування Промальт ЦН за наведеними у табл.1 даними, для переробки сусла підвищеної концентрації СР використано ряд комбінацій ФП. Результати цих досліджень представлено у табл. 2.

Для кожної із концентрацій СР сусла (19,2 та 21,1 %) дослідження виконували у трьох варіантах:

- контроль без внесення додаткових ФП (вар. 1 та 4) ;
- з додатковим внесенням тільки β-глюканазних ФП (вар. 2 та 5);
- з додатковим внесенням β-глюканазних та протеазних ФП (вар. 3 та 6).

Дозування додаткових ФП було аналогічним попереднім дослідженням.

Одержані результати переконують у ефективності застосування композицій ФП для гідролізу складових житнього сусла. По-перше, має місце суттєве розрідження сусла у всіх дослідних варіантах у порівнянні із контролем: в'язкість зменшується у середньому на 34-35 %, що у виробничих умовах забезпечить покращання умов транспортування та збродження сусла. По-друге, під дією β-

глюканазних ФП (вар. 2, 3, 5 та 6) завдяки розрідженню сусла, а також, вірогідно, і частковому гідролізу клітковини до зброджуваних вуглеводів, зафіксовано підвищення кількості спирту у дозрілій бражці, що підтверджується збільшенням маси виділеного CO₂ при бродінні проти контрольних варіантів 1 та 4. По-третє, уведення у сусло окрім Біоглюканази Б10Л, ще й Промальту ЦН (містить протеазу та має β-глюканазну активність) забезпечило подальше покращання результатів процесу для сусла обох концентрацій СР за усіма показниками (вар. 3 та 6): зменшилася в'язкість сусла та кількість загальних незброджених вуглеводів і нерозчиненого крохмалю у дозрілій бражці; підвищилось накопичення спирту та його питомий вихід із сировини.

Ці результати підтверджують гіпотезу вчених [8] про посилення деструкції білково-вуглеводного комплексу жита протеолітичними ферментами, наслідком чого є вивільнення частини крохмалю з зазначеного комплексу з подальшим його гідролізом до зброджуваних вуглеводів та утворення з них додаткової кількості спирту.

Крім того, одержаному ефекту сприяло, очевидно й те, що внаслідок розщеплення білків жита та накопичення амінокислот у суслі, створюються сприятливі умови для життєдіяльності дріжджів (їх кількість у бражці найбільша, ніж в інших варіантах, див. табл.1), що посилює їх спиртоутворюючу здатність.

Висновки. Таким чином, одержані експериментальні дані дозволяють поглибити сучасні уявлення про шляхи інтенсифікації біотехнології спирту із найскладнішої для переробки зернової культури – жита. Результати досліджень свідчать, що застосування ФП β-глюканазної та протеазної дії фірми „Kerry Food Ingredients” сприяє інтенсифікації розщеплення біополімерів жита. Це призводить до покращення реологічних властивостей сусла, збагачення його продуктами гідролізу білка з підвищенням фізіологічної активності спиртових дріжджів, що супроводжується збільшенням питомого виходу цільового продукту – спирту. Зменшення в'язкості сусла є передумовою до підвищення концентрації СР зернового замісу та сусла у виробничих умовах. Так, збільшення цього показника з 17,3 до 21,1% СР, можливість чого доведено нашими дослідженнями, забезпечує підвищення концентрації спирту у дозрілій бражці на 12%, скорочення витрат

теплоенергії для виділення спирту на 18-20%, зменшення питомого виходу після спиртової барди (відходу виробництва) на 20% та витрат на її утилізацію.

Наведені дані свідчать про економічну та екологічну доцільність застосування комплексу високоактивних ФП амілазної, β -глюканазної та протеазної дії у біотехнології спирту.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. *Громов С.И.* Перспективы низкотемпературной технологии переработки зерна на спиртзаводах // Ликёроводочное производство и виноделие. – 2008. – № 5. – С. 17-20.

2. *Громов С.И.* Технологические решения проблемы переработки сусла повышенной концентрации // Ликёроводочное производство и виноделие. – 2007. – № 10. – С. 18-20.

3. *Зуева Н.В., Востриков С.В.* Исследование процессов получения и сбраживания спиртового сусла с различным углеводным составом // Производство спирта и ликёроводочных изделий. – 2008. – № 3. – С. 10-13.

4. *Йенсер Э., Андерсен Э., Кадиева А.* Снижение вязкости при сбраживании сусла высоких концентраций // Ликёроводочное производство и виноделие. – 2008. – № 11. – С. 26-30.

5. *Полыгалина Г.В.* Технохимический контроль спиртового и ликероводочного производства. – М.: Колос, 1999. – 336 с.

6. *Сосницький В.В.* Розробка технології культивування виробничих дріжджів при переробці зерна в спирт з використанням концентрованих ферментних препаратів: Автореф. дис. канд. техн. наук: 05.18.07 / Укр. держ. ун-т харч. технол. – Київ, 2000. – 17с.

7. *Сумина Л.И., Крикунова Л.Н.* Влияние углеводного состава сусла на развитие спиртовых дрожжей // Производство спирта и ликёроводочных изделий. – 2009. – №3. – С. 10-11.

8. *Технологія спирту* // В.О.Маринченко, В.А.Домарецький, П.Л.Шиян та ін./ За ред. В.О.Маринченка. – Вінниця: «Поділля-2000», 2003. – 496 с.

9. *Шиян П.Л., Сосницький В.В., Олійнічук С.Т.* Інноваційні технології спиртової промисловості. Теорія і практика. – К.: Асканія, 2009. – 424 с.

10. Українець А., Шиян П., Мудрак Т., Кириленко Р., Єрмакова Г., Сосницький В., Боровик І. Зброджування висококонцентрованого сусла з крохмалевмісної сировини // Харчова та переробна промисловість. – 2009. – № 6. – С. 19-22.