

# ЗБРОДЖУВАННЯ ВИСОКОКОНЦЕНТРОВАНОГО СУСЛА

## з крохмалевмісної сировини

**А. УКРАЇНЕЦЬ, П. ШИЯН,**  
 доктори технічних наук  
**Т. МУДРАК, Р. КИРИЛЕНКО,**  
 кандидати технічних наук  
**Г. ЄРМАКОВА,**  
 науковий співробітник  
 Національний університет харчових технологій  
**В. СОСНИЦЬКИЙ,**  
 кандидат технічних наук  
**І. БОРОВИК,**  
 інженер  
 Державний концерн "Укрспирт"



НАУКА

**А**ЛЯ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ оптимальних умов збродження сусла з підвищеною концентрацією СР необхідна селекція високопродуктивних осмофільних рас спиртових дріжджів, толерантних до основного продукту їх життєдіяльності — етанолу, які зберігають високу біосинтетичну активність при підвищених температурах бродіння.

У НУХТі проведено роботи щодо селекції осмофільних та термотолерантних штамів дріжджів методом цілеспрямованого відбору через монокультуру (метод автоселекції). У результаті одержали новий осмофільний і термотолерантний штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* ДТ-05М, який зберігає біосинтетичні властивості при вмісті СР до 30%, концентрації спирту — 14–15% та температурі бродіння 34–37°C.

З використанням селекціонованого штаму досліджували культивування засівних дріжджів на суслі підвищеної концентрації СР. Для цього використовували сусло з кукурудзи концентрацією 20, 22, 26, 30% СР, із жита — 20, 22, 23, 26% та пшениці — 20, 22, 25, 27 % СР. Замість розріджували концентрованими ферментними препаратами (ФП) Термаміл SC з розрахунку 0,35 од. АС/г крохмалю. Оцукрювали розріджений заміс ФП Сан-Супер 240L із розрахунку 7,5 од. ГлС/г крохмалю. Сусло для культивування дріжджів готували за методикою, прийнятою у спиртовій галузі. Як джерело азотного живлення для дріжджів використовували карбамід, який задавали в сусло із розрахунку 0,06 та 0,08 %. Культиву-

Перспективний напрямок підвищення конкурентоспроможності спиртового виробництва — розробка й впровадження інноваційних енерго- та ресурсозберігаючих технологій переробки зерна в спирт, кормові продукти та біоетанол. Один із шляхів розв'язання цієї проблеми — широке впровадження енергозберігаючої технології спиртової бражки за низькотемпературної водно-теплової і термоферментативної обробки зернових замісів з підвищеною концентрацією сухих речовин (СР).

вали засівні дріжджі при температурі 27–30°C.

З наведених даних (рис. 1) видно, що селекціонований штам дріжджів ДТ-05М за визначених умов накопичує від 200 до 480 млн./мл дріжджових клітин залежно від сировини, концентрації СР сусла та кількості азотного живлення, внесеного в сусло. З підвищенням його концентрації до 0,08% кількість дріжджових клітин зростала на 19–44 % залежно від виду сировини та концентрації СР сусла. Культивування дріжджів тривало 16–20 год. Розміри дріжджових клітин перебували в межах 4,5–5,2 мкм залежно від умов їх культивування.

У процесі культивування в дріжджових клітинах при концентрації сусла 26 та 27% СР відповідно з жита та пшениці спостерігалася зернистість клітин, що може бути спричинено високою густиною сусла. З підвищенням концентрації карбаміду (до 0,08%) зернистості клітин не спостерігали, що може свідчити про забезпечення дріжджової популяції легкоасимільованим азотом, який підвищує їх стійкість в умовах високої густини сусла.

Таким чином, збільшення концентрації азотного

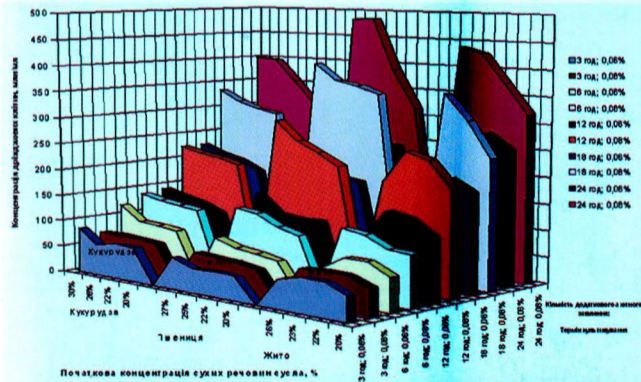


Рис. 1. Динаміка біосинтезу дріжджової біомаси залежно від умов культивування.

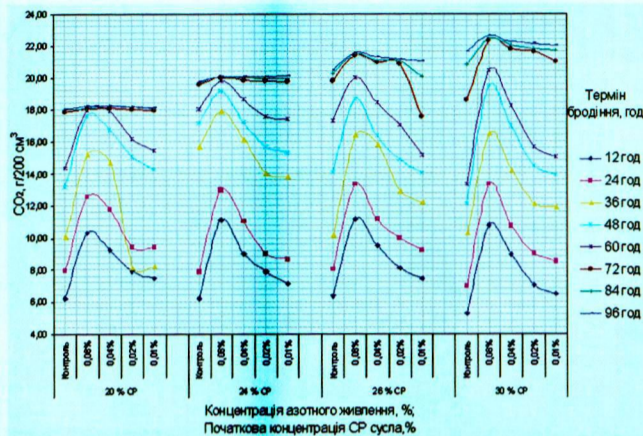


Рис. 2. Динаміка зброджування суслу з підвищеною концентрацією сухих речовин.

живлення в процесі культивування дріжджів на суслі з високою концентрацією СР дає змогу підвищити осмотичну стійкість і біосинтетичні властивості дріжджів, тобто виконати функції осмопротектора.

Висока продуктивність селекціонованого штаму інтенсифікує процес зброджування суслу з підвищеною концентрацією СР.

З підвищенням концентрації СР суслу зростає вплив азотного живлення не тільки на процес дріжджогенерування, а й на процес бродіння, адже обмін речовин у дріжджовій клітині прямо залежить від його кількості в субстраті. З підвищенням концентрації СР зернового суслу збільшується вміст зброджуваних вуглеводів, зростає потреба дріжджів у легкоасимільованому азоті.

**У НУХТі проведено роботи щодо селекції осмофільних та термотолерантних штамів дріжджів методом цілеспрямованого відбору через монокультуру**

Збагачення суслу аміним азотом методом гідролізу білків сировини комплексом протеолітичних ферментних препаратів лише частково забезпечує підвищення бродильної активності дріжджів, їх осмофільності й толерантності до спирту.

У зв'язку з цим було досліджено вплив азотного живлення на інтенсифікацію процесу зброджування суслу підвищеної концентрації. Для досліджень використовували сусло з кукурудзи, в яке вносили 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 % карбаміду. Зброджування відбувалось у дві стадії — спочатку при температурі 34–35°C протягом 1–1,5 доби та з подальшим доброджуванням при 30–32°C. Контролем були зразки суслу без карбаміду. Дисперсність помелу зерна кукурудзи становила 95–100% проходу крізь сито з ді-

Хіміко-технологічні показники зрілих бражок при зброджуванні суслу

Таблиця 1

| Вміст карбаміду в суслі, % | Вміст СР, % | CO <sub>2</sub> | рН   | Вміст незброджуваних вуглеводів, г/100см <sup>3</sup> |          |                         |                 | Вміст спирту, об % | Накопичення дріжджів, млн./мл | % мертвих клітин |           |
|----------------------------|-------------|-----------------|------|---|----------|-------------------------|-----------------|--------------------|-------------------------------|------------------|-----------|
|                            |             |                 |      | розчинні  | загальні | нерозчинний крохмаль, % | спирто-розчинні |                    |                               |                  | декстрини |
| Контроль                   | 20          | 18,30           | 4,80 | 0,28  | 0,375    | 0,095                   | 0,1             | 10,090             | 10,8                          | 160              | 18        |
| 0,08                       |             | 18,34           | 4,95 | 0,166   | 0,274    | 0,100                   | 0,022           | 10,050             | 10,90                         | 154              | 10        |
| 0,04                       |             | 18,20           | 4,90 | 0,221   | 0,320    | 0,091                   | 0,040           | 10,058             | 10,88                         | 159              | 12        |
| 0,02                       |             | 18,27           | 4,90 | 0,234   | 0,338    | 0,093                   | 0,050           | 10,070             | 10,85                         | 148              | 14        |
| 0,01                       |             | 18,20           | 4,85 | 0,277   | 0,385    | 0,097                   | 0,090           | 10,120             | 10,78                         | 145              | 16        |
| Контроль                   | 24,0        | 19,63           | 4,80 | 0,319   | 0,442    | 0,120                   | 0,127           | 11,122             | 11,85                         | 149              | 20        |
| 0,08                       |             | 19,99           | 5,00 | 0,244   | 0,380    | 0,095                   | 0,098           | 11,130             | 12,00                         | 147              | 9         |
| 0,04                       |             | 19,96           | 4,95 | 0,287   | 0,410    | 0,100                   | 0,146           | 11,189             | 11,96                         | 164              | 12        |
| 0,02                       |             | 19,85           | 4,90 | 0,315   | 0,430    | 0,100                   | 0,131           | 11,195             | 11,90                         | 159              | 14        |
| 0,01                       |             | 19,70           | 4,81 | 0,318   | 0,415    | 0,110                   | 0,141           | 11,200             | 11,84                         | 163              | 16        |
| Контроль                   | 26,0        | 20,43           | 4,90 | 0,580   | 0,693    | 0,101                   | 0,200           | 13,340             | 13,70                         | 160              | 26        |
| 0,08                       |             | 21,45           | 5,00 | 0,340   | 0,450    | 0,099                   | 0,146           | 13,220             | 13,90                         | 153              | 26        |
| 0,04                       |             | 21,29           | 4,98 | 0,400   | 0,522    | 0,105                   | 0,151           | 13,245             | 13,85                         | 171              | 27        |
| 0,02                       |             | 21,10           | 4,90 | 0,450   | 0,564    | 0,108                   | 0,163           | 13,254             | 13,81                         | 185              | 28        |
| 0,01                       |             | 20,89           | 4,90 | 0,490   | 0,600    | 0,106                   | 0,165           | 13,258             | 13,71                         | 200              | 29        |
| Контроль                   | 30          | 20,90           | 4,81 | 0,625   | 0,910    | 0,220                   | 0,270           | 14,350             | 14,78                         | 181              | 30        |
| 0,08                       |             | 22,87           | 5,00 | 0,425   | 0,564    | 0,125                   | 0,150           | 14,270             | 15,00                         | 150              | 26        |
| 0,04                       |             | 22,20           | 4,98 | 0,525   | 0,702    | 0,160                   | 0,200           | 14,320             | 14,95                         | 195              | 28        |
| 0,02                       |             | 21,75           | 4,95 | 0,618   | 0,812    | 0,170                   | 0,220           | 14,340             | 14,85                         | 198              | 29        |
| 0,01                       |             | 21,36           | 4,91 | 0,612   | 0,890    | 0,190                   | 0,220           | 14,350             | 14,75                         | 202              | 29        |

метром отворів 1 мм. Дріжджі задавали з розрахунку 20 млн./мл сусла. Динаміку процесу зброджування сусла контролювали ваговим методом за зміною загальної маси дослідних зразків.

**Експериментальні дані свідчать, що динаміка зброджування сусла в зразках з карбамідом значно зростає** (рис. 2). Залежно від його концентрації, особливо в перші 1,5–2 доби, кількість виділеного діоксиду вуглецю збільшується порівняно з контрольними зразками в 1,2–2,2 раза.

Додаткове внесення азотного живлення в сусло сприяє не тільки підвищенню бродильної активності дріжджової популяції, а й збільшенню концентрації спирту в бражках. За відсутності в субстраті легкоасимільованого азоту дріжджові клітини здатні самі синтезувати амінокислоти з вуглецевого скелету зброджуваних вуглеводів. Тому збагачення сусла легкоасимільованим азотом сприяє зниженню витрат цукрів на біосинтез біомаси, а мономерні вуглеводи витрачаються на утворення цільового продукту — етилового спирту.

Згідно з експериментальними даними, продуктивність дріжджів щодо синтезу етанолу зростає на 1,04–1,50% порівняно із зразками без додання живлення. Концентрація незброджених вуглеводів, декстринів та спирторозчинних вуглеводів, що визначалася в дозрілих бражках з доданням азотного живлення, була значно нижчою порівняно з контрольними зразками (табл. 1).

У процесі зброджування сусла при заданих температурних режимах, з підвищенням вмісту азотного живлення (від 0,01 до 0,08 %) при концентрації СР 20%, у суслі спостерігалася тенденція до зниження біосинтезу дріжджових клітин, а з підвищенням концентрації СР сусла — навпаки, їх біосинтез збільшувався, за винятком зразків, де вміст карбаміду становив 0,08%. Це може бути пов'язано з бродильною активністю дріжджів за цих умов. Найбільший синтез дріжджових клітин спостерігався при концентрації сусла 30% СР і становив 200 млн./мл.

**З підвищенням бродильної активності дріжджів зростає концентрація метаболітів — діоксиду вуглецю та спирту, що пригнічує брунькування дріжджів, тобто затримує процес їх розмноження.** Із збільшенням концентрації сусла до 26–30 % СР у дріжджових клітинах спостерігалися певні зміни — клітини ставали більш зернистими, зростав вміст мертвих клітин на 24–29,5 % залежно від концентрації сусла (табл. 1).

Селекціонований штам дріжджів ДТ-05М зброджує сусло концентрацією СР 20–24% з нормативними технологічними показниками зрілої бражки за 72 години. При додатковому внесенні карбаміду в сусло бродіння тривало 55–60 годин. З підвищенням концентрації сусла до 26–30% СР регламентована тривалість бродіння (72 години) спостерігалася при вмісті азотного живлення в суслі 0,04–0,08% відповідно.

Процес бродіння тісно пов'язаний з біосинтезом у зрілих бражках вторинних і побічних продуктів. Син-

*Концентрація органічних домішок спирту в зрілих бражках залежно від початкової концентрації сухих речовин кукурудзяного сусла*

Таблиця 2

| Компоненти бражних дистилатів, мг/дм <sup>3</sup> | Концентрація СР, % |         |         |         |
|---|--------------------|---------|---------|---------|
|   | 18                 | 20      | 26      | 30      |
| Ацетальдегід                                      | 158,08             | 158,80  | 150,87  | 149,10  |
| Метилацетат                                       | 3,37               | 2,17    | 1,93    | 1,87    |
| Етилацетат  | 52,50              | 36,30   | 22,40   | 0,68    |
| Сума складних естерів                             | 55,90              | 39,22   | 21,63   | 10,85   |
| н-бутанол   | 13,48              | 13,72   | 13,53   | 19,17   |
| н-пропанол  | 511,62             | 512,98  | 513,54  | 850,00  |
| Ізобутиловий спирт                                | 1843,96            | 1760,65 | 997,33  | 434,12  |
| Ізоаміловий спирт                                 | 2023,80            | 1659,58 | 1737,80 | 916,82  |
| Сума сивушних спиртів                             | 4486,89            | 4498,16 | 3910,23 | 3240,14 |
| Кислоти   | 84,76              | 48,26   | 37,63   | 33,44   |
| Метиловий спирт, об. %                            | 0,002              | 0,002   | 0,002   | 0,002   |

### Додаткове внесення азотного жи-

влення в сусло сприяє не тільки

підвищенню бродильної активності

дріжджової популяції, а й

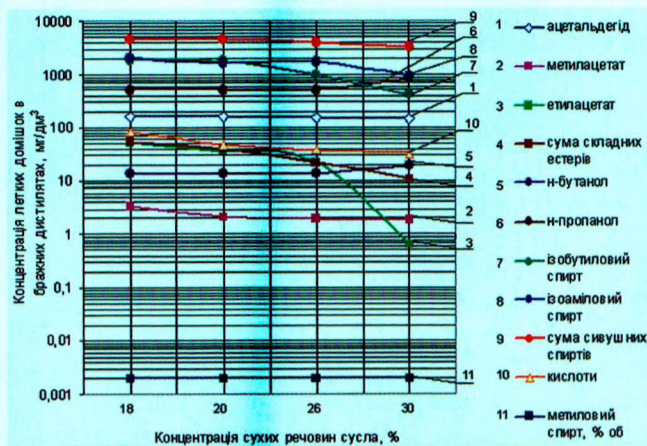
збільшенню концентрації спирту

в бражках

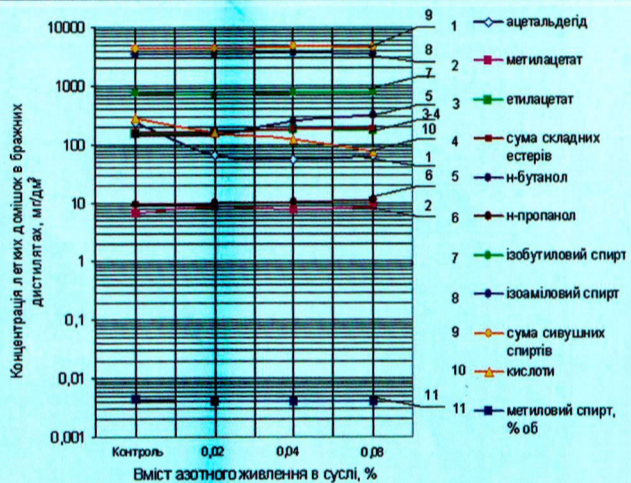
*Концентрація органічних домішок спирту в зрілих бражках залежно від концентрації карбаміду в кукурудзяному суслі (СР — 24%)*

Таблиця 3

| Компоненти бражних дистилатів, мг/дм <sup>3</sup> | Вміст карбаміду в суслі, % |         |         |         |
|---|----------------------------|---------|---------|---------|
|   | контроль                   | 0,02    | 0,04    | 0,08    |
| Ацетальдегід                                      | 244,05                     | 65,90   | 55,57   | 61,96   |
| Метилацетат                                       | 6,63                       | 8,40    | 7,60    | 8,44    |
| Етилацетат  | 155,62                     | 157,63  | 181,05  | 178,38  |
| Сума складних естерів                             | 162,45                     | 166,03  | 184,66  | 186,82  |
| н-пропанол  | 145,78                     | 149,90  | 246,17  | 310,35  |
| н-бутанол   | 9,48                       | 9,68    | 10,20   | 11,21   |
| Ізобутиловий спирт                                | 754,23                     | 682,80  | 756,40  | 746,58  |
| Ізоаміловий спирт                                 | 3386,89                    | 3426,57 | 3585,65 | 3452,06 |
| Сума сивушних спиртів                             | 4319,24                    | 4315,13 | 4629,78 | 4540,92 |
| Кислоти   | 282,64                     | 158,08  | 121,38  | 77,27   |
| Метиловий спирт, об. %                            | 0,004                      | 0,004   | 0,004   | 0,004   |



**Рис. 3. Біосинтез летких органічних домішок спирту в зрілих бражках залежно від початкової концентрації сухих речовин у суслі.**



**Рис. 4. Біосинтез летких органічних домішок спирту в зрілих бражках залежно від концентрації азотного живлення в суслі (CP-24%).**

тез цих компонентів безпосередньо залежить від умов зброджування сусла.

Досліджували також вплив концентрації CP сусла та азотного живлення на синтез органічних сполук в дозрілих бражках. Концентрацію летких органічних домішок у бражних дистилатах визначали на газорідинному хроматографі (табл. 2, 3).

Вміст ацетальдегіду в бражних дистилатах при всіх досліджуваних концентраціях CP сусла практично не змінювався (рис. 3). При внесенні карбаміду в сусло від 0,02 до 0,08% цей показник знижувався в 3,7–4,5 раза (рис. 4).

**Концентрація складних естерів у бражних дистилатах з підвищенням CP у суслі від 18 до 30% зменшується в 2,5–5 разів.** Кількість азотного живлення в межах 0,01–0,08% практично не впливає на біосинтез складних естерів.

Азотне живлення й концентрація CP сусла не впливає на біосинтез метилового спирту. Концентрація органічних кислот у бражних дистилатах з підвищенням CP в суслі від 20 до 30% зменшувалася в 1,8–2,5 раза. При внесенні карбаміду в сусло від 0,02 до 0,08% їх концентрація знижувалась в 1,8–3,6 раза.

**При аналізі вищих спиртів встановлено, що загальний їх вміст із зростанням концентрації CP сусла знижується в середньому в 1,2–1,4 раза.** Але концентрація n-пропанолу з підвищенням вмісту CP у суслі від 20 до 30% зростає в 1,5 раза. Концентрація n-бутанолу підвищується на 8–10%, а ізобутилового та ізоамілового спиртів зменшується в 2–4 та в 1,2–2 рази відповідно.

Додання азотного живлення істотно не впливає на сумарну концентрацію вищих спиртів.

Таким чином, застосування осмофільних термотолерантних дріжджів та додання азотного живлення на стадії бродиння дає змогу зброджувати висококонцентроване сусло з вмістом сухих речовин до 30% й отримувати спиртові бражки з концентрацією спирту 13–15% об.