

**УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ЗБРОДЖУВАННЯ СУСЛА
ВИСОКОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗ КРОХМАЛЕВМІСНОЇ СИРОВИНИ
ПРИ ВИКОРИСТАННІ ЦИТРАТІВ МЕТАЛІВ**

***Т. О. Мудрак, кандидат технічних наук
ORCID 0000-0003-3842-3183***

***А. М. Куц, кандидат технічних наук
ORCID 0000-0002-0207-7613***

***Р. Г. Кириленко, кандидат технічних наук
ORCID 0000-0003-3263-1950***

***С. С. Ковальчук, аспірант
ORCID 0000-0002-5344-1243***

***Х. І. Пакуляк, магістрант
ORCID 0000-0001-9086-8281***

Національний університет харчових технологій

***В. П. Василів, кандидат технічних наук
ORCID 0000-0002-2109-0522***

***Національний університет біоресурсів і
природокористування України***

e-mail: vasiliv-vp@ukr.net

Анотація. Розробка комплексної безвідходної технології переробки зернової сировини в етиловий спирт з метою зменшення собівартості цільового продукту є актуальною проблемою сьогодення. При зброджуванні сусла високих концентрацій велике значення має фізіолого-біохімічна активність дріжджів. Фізіологічний стан дріжджів визначається складом сусла, яке повинно містити достатню кількість зброджуваних цукрів, азотних та мінеральних речовин.

Метою роботи було дослідження впливу цитратів металів на культивування дріжджів та їх використання при біоконверсії вуглеводів сусла високої концентрації із крохмалевмісної сировини з подальшим визначенням якісного та кількісного складу легкої частини зрілої бражки.

Досліджено, що використання мінерального живлення для культивування дріжджів дозволило накопичувати необхідну кількість клітин, скоротити тривалість дріжджогенерування до 18–20 год та одержувати дріжджові клітини з високою фізіолого-біохімічною активністю. В зразках, отриманих з використанням

дріжджів культивованих з цитратами металів, хіміко-технологічні показники зрілих бражок були кращими порівняно з контролем. Вміст спирту в бражках зростав на 1–3 % відповідно до внесеного цитрату металу. При дослідженні синтезу летких домішок в бражних дистилятах також спостерігався позитивний вплив цитратів металів при їх використанні на стадії культивування дріжджів. Дослідження проводили в лабораторних умовах та на спиртових заводах при виробництві спирту з крохмалевмісної сировини.

Ключові слова: *високонцентроване сусло, сухі речовини, цитрати металів, зброджування*

Постановка проблеми. Розроблення комплексної безвідходної технології переробки зернової сировини в етиловий спирт з метою зниження його собівартості, зумовлює необхідність зброджування сусла високих концентрацій при підвищених температурах. Підвищення осмотичного тиску в субстраті та температури зброджування веде до створення екстремальних умов для життєдіяльності дріжджів, що може привести до зниження їх бродильної активності, а це сприятиме нестабільності в роботі бродильного відділення.

При зброджування сусла високих концентрацій велике значення має фізіолого-біохімічна активність дріжджів. Потреба в макро– та мікроелементах збільшується в декілька разів у зв'язку з перебуванням культури в стресових умовах [1, С. 72–77; 2, С. 349–353]. Їх фізіологічний стан впливає на біоконверсію сусла і якісний склад летких домішок бражки. Фізіологічний стан дріжджів визначається складом сусла, яке повинно містити достатню кількість зброджуваних цукрів, азотних та мінеральних речовини.

При виробництві етилового спирту є можливість змінювати хімічний склад середовища культивування дріжджів шляхом внесення композицій біогенних металів як джерел додаткового живлення для дріжджів.

Аналіз останніх досліджень. Застосування солей неорганічних кислот у преміксах для збагачення їх мінеральними речовинами біологічно мало ефективно у зв'язку з низькою біодоступністю та засвоюваністю. Відомо, що органічні кислоти, в тому числі лимонна, здатні утворювати з біогенними металами розчинні солі з високою біодоступністю. За допомогою аквананотехнології отримано розчини цитратів [3, С. 14–18]. Цитрати мікроелементів нині використовуються у технологічних процесах виробництва харчових продуктів в якості стабілізаторів та регуляторів кислотності. Цитрати макро- і мікроелементів є безпечними для здоров'я і дозволені в харчових продуктах.

Використання наноцитратів есенціальних біметалів у поживних середовищах для дріжджів відкриває перспективу модифікувати макро– та мікроелементний склад дріжджової клітини. Корегування складу поживного середовища для дріжджів дозволяє створити сприятливі умови для перебігу метаболічних реакцій в клітині. Стимулююча дія окремих мікроелементів залежить від повноцінності поживного середовища, наявності в ній необхідних мікроелементів, вітамінів та інших біологічно активних речовин [4, С. 40–44]. Мінеральні речовини є каталізаторами біохімічних реакцій, які відбуваються під час життєдіяльності дріжджів. Так, магній є стабілізатором структури рибосом та необхідним компонентом мітохондрій. Роль магнію в мітохондріях пов'язана з його здатністю активувати майже всі ферменти, що потребують наявності двовалентних катіонів. Магній активує процеси зброджування сусла високих концентрацій, дію практично всіх ферментів клітини, енергетичний обмін, а також, як і цинк, не може бути замінений іншими іонами [5, С. 19–45]. Марганець, цинк і мідь сприяють вуглеводному, фосфорному і білковому обміну при культивуванні дріжджів. Зміна концентрації мінеральних елементів, істотно впливає на метаболізм мікроорганізмів [6, С. 19–21; 7, С. 1208–1213]. Марганець виступає в ролі неспецифічного активатора металоферментних комплексів, впливає на утворення вітамінів, а також, як і магній, необхідний для синтезу білку і деяких незамінних амінокислот [8, С. 48–50].

Метою було дослідження впливу цитратів металів на культивування дріжджів та їх використання при біоконверсії вуглеводів сусла високої концентрації із крохмалевмісної сировини з подальшим визначенням якісного та кількісного складу леткої частини зрілої бражки.

Матеріали і методи досліджень. Для досліджень використовували кукурудзу з крохмалистістю 69,5 %, яку подрібнювали до отримання помелів з дисперсністю 100 % проходу крізь сито з отворами діаметром 1 мм.

Крохмалистість вихідного зерна визначали за методом Еверса [9, С. 103], а його вологість – за методом висушування до постійної маси [9, С. 61].

Гранулометричний склад помелу зерна знаходили розсіюванням на металевих та капронових ситах [9, С. 142]. Для визначення концентрації сухих речовин сусла і зрілої бражки застосовували цукромір та рефрактометр [9, С. 144, 148].

Приготування сусла проводили за низькотемпературною схемою розварювання при температурі 85–92 °С з використанням концентрованих ферментних препаратів α -амілази з експозицією 3 год. Розріджену масу охолоджували до температури 50–55°С і

оцукрювали глюкоамілазою протягом 0,5 год. При зброджуванні сусла використовували дріжджі раси *Saccharomyces cerevisiae* ДО–16. Для приготування дріжджів сусло підкисляли сірчаною кислотою до кислотності 0,5–0,6 град. Культивування дріжджів проводили за температури 30–32 °С, а зброджування – за температури 30–35 °С. Для розріджування та оцукрення замісів використовували ферментні препарати фірми «Danisco» (Бельгія): в якості α -амілази – Амілекс 4Т, глюкоамілази – Діазім ТГА.

Культивування дріжджів і зброджування проводили на суслі з концентрацією 28 %. На стадії дріжджогенерування застосовували цитрати цинку, магнію, марганцю, міді, заліза, молібдену при кількості 70 мкг/дм³.

Засівні дріжджі вносили в кількості 15 млн кл./см³ сусла при дріжджогенеруванні та 20 млн кл./см³ сусла при зброджуванні.

В лабораторних умовах сусло зброджували за методом «бродильної проби» в конічних колбах з сірчаноокислотними затворами у термостаті. Динаміку виділення діюкиду вуглецю контролювали ваговим методом. В зрілій бражці рН визначали електрометричним методом, вміст етанолу в зрілій бражці – пікнометричним методом, незброджені та спирторозчинні вуглеводи, нерозчинений крохмаль та декстрини – фотоелектроколориметричним методом з антроновим реактивом [9, С. 151–155].

Вміст летких домішок в бражних дистиллятах визначали на газовому хроматографі Кристал 2000М.

Результати досліджень. На першому етапі роботи було проведено дослідження впливу цитратів металів на культивування дріжджів. Встановлено, що використання цитратів металів позитивно впливає на накопичення дріжджових клітин. Застосування мінерального живлення для культивування дріжджів дозволило накопичити необхідну кількість клітин, скоротити тривалість дріжджегенерування до 18–20 год та одержати дріжджові клітини з високою фізіолого-біохімічною активністю. Так, внесення цитрату цинку та магнію як біологічних стимуляторів підвищило регенеративну здатність дріжджової популяції в 1,9–1,8 рази відповідно порівняно з контрольним зразком (рис. 1).

Таким чином, застосування цитратів металів дозволяє інтенсифікувати процес культивування дріжджів. Але, відповідно до попередніх наших досліджень, додавання мінерального живлення в наноформі на стадії дріжджогенерування рекомендується проводити циклічно: 3 цикли з металами і стільки ж — без металів [10, с. 51–56].

На наступному етапі роботи проводили зброджування сусла з використанням дріжджових клітин, які культивували на субстраті з цитратами металів. Як показали результати досліджень (табл. 1), в

зразках із додаванням мінерального живлення при культивуванні дріжджів, хіміко-технологічні показники бражки були кращими порівняно з контролем.

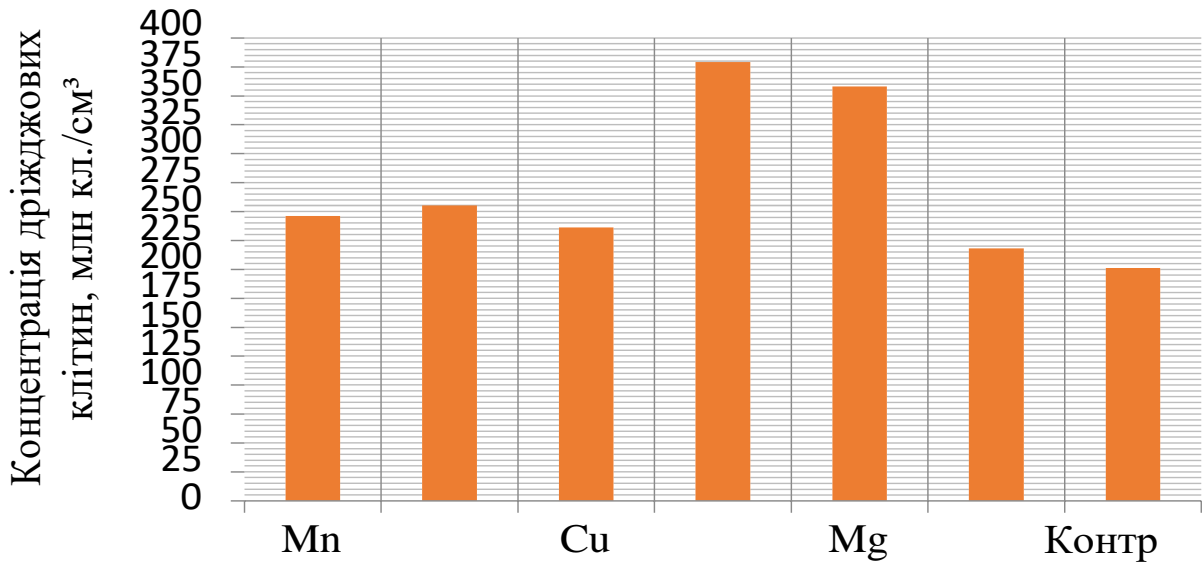


Рис. 1. Вплив цитратів металів на культивування дріжджів.

1. Хіміко-технологічні показники зрілої бражки залежно від якісного складу цитратів металів внесених на стадії дріжджогенерування.

Цитрат металу	Сума CO ₂ , г/200 см ³	pH	Вміст незброджених вуглеводів, г/100 см ³					Вміст спирту, % об.	Концентрація дріжджових клітин, млн кл./см ³
			Загальні вуглеводи	Розчинні вуглеводи	Нерозчинений крохмаль	Декстрини	Спирторозчинні вуглеводи		
Fe ²⁺	26,02	4,00	0,41	0,34	0,06	0,22	0,090	13,90	220
Mn ²⁺	26,01	3,90	0,40	0,33	0,06	0,22	0,080	13,90	225
Mg ²⁺	28,02	3,89	0,34	0,29	0,04	0,25	0,009	14,00	228
Cu ⁺	26,40	4,00	0,45	0,32	0,11	0,18	0,087	13,85	218
Zn ²⁺	28,40	3,87	0,33	0,25	0,07	0,21	0,007	14,10	218
Mo ⁶⁺	26,05	3,99	0,39	0,30	0,08	0,22	0,050	13,90	216
Контроль	25,50	4,00	0,45	0,34	0,09	0,25	0,056	13,80	217

Вміст спирту в бражках зростав на 1–3 % відповідно до внесеного цитрату металу. Кращі показники концентрації спирту в

бражках спостерігались при застосування цитратів цинку та магнію. Ці дані корелюють із зменшенням вмісту незброжених вуглеводів у дослідних зразках. Так, вміст нерозчиненого крохмалю у дослідних зразках був у 1,1–2,2 рази меншим, ніж у контрольних. Показник за вмістом розчинених вуглеводів знижувався в 1,1–1,3 рази відповідно до виду внесеного цитрату, а вміст спирторозчинних вуглеводів – в 1,1–8 разів порівняно з контролем.

В подальшому визначали якісний і кількісний склад летких домішок в бражних дистилятах залежно від виду цитрату металу, внесеного на стадії дріжджогенерування. За даними табл. 2 склад летких домішок в бражних дистилятах коливався в широкому діапазоні.

Складні естери у спирті синтезуються внаслідок ферментативних процесів у дріжджовій клітині. У зразках з використанням цитратів заліза та міді кількість складних естерів в бражних дистилятах була найнижчою і складала 90,39 та 99,43 мг/дм³ відповідно. Вміст метанолу у всіх зразках бражних дистилятів був практично однаковим. Концентрація ацетальдегіду знижувалась при додаванні цитратів заліза, цинку, магнію, міді, молібдену порівняно з контрольним зразком в 1,3–2 рази, проте при додаванні цитрату марганцю його вміст зростав в 1,5 рази.

2. Вміст летких органічних домішок у зрілих бражках залежно від внесеного цитрату металу.

Цитрат металу	Вміст летких компонентів, мг/ дм ³								
	Альдегіди	Естери	Спирти, % об.	Сивушні спирти					
	Ацетальдегід	Етилацетат	Метанол	Н-пропанол	Ізобутанол	Ізопропанол	Н-бутанол	Ізоаміловий спирт	Сума по групі
Fe ²⁺	35,68	90,39	0,0036	496,57	187,98	5,83	5,637	744,26	1440,30
Mn ²⁺	26,94	125,19	0,0094	484,14	289,22	2,142	5,748	1042,35	1823,61
Ca ²⁺	85,05	121,19	0,0047	643,76	209,47	2,532	7,251	724,67	1587,69
Cu ⁺	36,65	99,43	0,0035	677,76	226,75	3,309	4,441	800,37	1712,64
Zn ²⁺	39,70	141,63	0,0039	661,98	208,99	2,875	4,760	689,47	1568,09
Mo ⁶⁺	36,11	112,68	0,0055	427,44	236,56	3,200	7,499	995,76	1670,47
Конт- роль	54,42	118,74	0,0033	587,72	210,59	2,406	5,933	817,23	1623,89

Вищі спирти – продукти, синтез яких відбувається на межі вуглеводного та азотного обміну дріжджів і утворюються шляхом

дезамінування та переамінуванням амінокислот з подальшим декарбоксилування кетокислот. Найнижча концентрація сивушних спиртів спостерігалась в зразках з використанням цитрату заліза і становила 1440,30 мг/дм³.

Висновки

Експериментально встановлено та теоретично обґрунтовано доцільність використання мінерального живлення при зброджуванні сусла високої концентрації. Використання цитратів металів як біологічно активного стимулятора для дріжджових клітин сприяє інтенсифікації зброджування сусла. Найкращі показники зрілої бражки спостерігались при застосуванні цитратів магнію та цинку. Суттєвих відмінностей у якісному і кількісному вмісті летких домішок бражних дистилатів у контрольному і дослідних зразках не встановлено.

Одержані в лабораторних умовах результати були підтверджені на спиртових заводах при виробництві спирту з крохмалевмісної сировини.

Список літератури

1. *Shiyan P., Mudrak T., Kyrylenko R., Kovalchuk S.* Effect of nitrogen and mineral composition of the high-concentrated wort made from starch-containing raw materials on the cultivation of yeast. *Eastern–European journal of enterprise technologies*. 2017. № 11. P. 72–77.
2. *Kosiv R., Kharandiuk T., Polyuzhyn L., Palianytsia L., Berezovska N.* Berezovska. Optimization of Main Fermentation of High-Gravity Wort. *Chemistry & Chemical Technology*. 2016. № 3. P. 349–353.
3. *Гуліч М. П., Харченко О. О., Ємченко Н. Л., Єрмоленко В. П., Моїсеєнко І. Є.* Цитрати магнію, отримані за аквананотехнологією: хімічна та біологічна характеристики. *Довкілля та здоров'я*. 2014. № 4. С. 14–18.
4. *Кошова В. М., Ягло В. С., Каплуненко В. Г., Огородник Ю. І.* Підвищення бродильної активності пивоварних дріжджів за допомогою наноаквахелату цинку. *Східно-європейський журнал передових технологій*. 2015. № 10. С. 40–44.
5. *Udeh H. O., Kgatla T. E.* Role of magnesium ions on yeast performance during very high gravity fermentation. *Journal of Brewing and Distilling*. 2013. № 4. С. 19–45.
6. *Халилова Э. А., Исламмагомедова Э. Ф., Котенко С. Ц., Магадова С. А.* Элементный состав клеток штамма *Saccharomyces cerevisiae* Y–503, культивируемого на различных питательных средах. *Производство спирта и ликероводочных изделий*. 2011. № 4. С. 19–21.
7. *Udeh H. O., Kgatla T. E., Jideani A. I.* Effect of mineral ion addition on yeast performance during very high gravity wort fermentation. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. 2014. № 8. P. 1208–1213.
8. *Исламмагомедова Э. А., Халилова Э. А., Котенко С. Ц., Магадова С. А.* Влияние условий культивирования на содержание минеральных веществ и некоторые биотехнологические свойства дрожжей Y–503. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2010. № 10. С. 48–50.

9. *Полигалина Г. В.* Технохимический контроль спиртового и ликероводочного производства. Москва. Колос. 1999. 334 с.
10. *Kovalchuk S., Shiyani P., Mudrak T., Kuts A., Kyrylenko R.* Investigation of influence of nanoparticles of metals on fermentation of wort of high concentrations. Eureka. Life Sciences. 2017. № 6. P. 51–56.

References

1. *Shiyani P.* (2017). Effect of nitrogen and mineral composition of the high-concentrated wort made from starch-containing raw materials on the cultivation of yeast. Eastern-European journal of enterprise technologies. № 11. 72–77.
2. *Kosiv, R.* (2016). Berezovska. Optimization of main fermentation of high-gravity wort. Chemistry & Chemical Technology. № 3. 349–353.
3. *Gulich, M. P.* (2014). Magnesium citrates, obtained by aquatic technology: chemical and biological characteristics Environment and health. № 4. 14–18.
4. *Koshova V. M., Yazhlo V. S., Kaplunenko V. G., Ogorodnik Y. I.* (2015). Improvement of fermentation activity of brewing yeast by zinc nanocarboxylic acid. East-European Journal of Advanced Technologies. № 10. 40–44.
5. *Udeh, H. O., Kgatla, T. E.* (2013). Role of magnesium ions on yeast performance during very high gravity fermentation. Journal of Brewing and Distilling. № 4. 19–45.
6. *Khalilova, E. F., Islammagomedova, E. F., Kotenko, S. Ts., Magadova, S. A.* (2011). Elemental composition of *Saccharomyces cerevisiae* Y-503 strains cultured on different nutrient media. Production of alcohol and alcoholic beverages. №4. 19–21.
7. *Udeh, H. O., Kgatla, T. E., Jideani, A. I.* (2014). Effect of mineral ion addition on yeast performance during very high gravity wort fermentation International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering. № 8. 1208–1213.
8. *Islammagomedova, E. F., Khalilova, E. F., Kotenko, S. Ts., Magadova, S. A.* (2010). Influence of cultivation conditions on the content of mineral substances and some biotechnological properties of the Y-503. Storage and processing of agricultural raw materials. № 10. 48–50.
9. *Poligalina, G. V.* (1999). Technochemical control of alcohol and distillery production. Moscow. Kolos. 334.
10. *Kovalchuk, S., Shiyani, P., Mudrak, T., Kuts, A., Kyrylenko, R.* (2017) Investigation of influence of nanoparticles of metals on fermentation of wort of high concentrations. Eureka. Life Sciences. № 6. 51–56.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СБРАЖИВАНИЯ СУСЛА ВЫСОКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ С КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЦИТРАТОВ МЕТАЛЛОВ

***Т. Е. Мудрак, А. М. Куц, Р. Г. Кириленко, С. С. Ковальчук,
Х. И. Пакуляк, В. П. Васылиев***

Аннотация. *Вопрос разработки комплексной безотходной технологии переработки зернового сырья в этиловый спирт с целью уменьшения себестоимости целевого продукта является актуальной проблемой. При сбраживании сусла высоких концентраций большое значение имеет физиолого-биохимическая активность дрожжей. Физиологическое состояние дрожжей определяется составом сусла, которое должно содержать*

достаточное количество сбраживаемых сахаров, азотных и минеральных веществ.

Целью работы было исследование влияния цитратов металлов на культивирование дрожжей и их использование при биоконверсии углеводов сусле высокой концентрации из крохмалсодержащего сырья с последующим определением качественного и количественного состава летучей части зрелой бражки.

Доказано, что использование минерального питания для культивирования дрожжей позволило накапливать необходимое количество клеток, сократить продолжительность их культивирования до 18–20 часов и получать дрожжевые клетки с высокой физиолого-биохимической активностью. В образцах, полученных с использованием дрожжей культивируемых с цитратами металлов, химико-технологические показатели зрелых бражек были лучше по сравнению с контролем. Содержание спирта в бражке увеличилось на 1–3 % согласно внесенному цитрату металла. При исследовании синтеза летучих примесей в бражных дистиллятах также наблюдалось положительное влияние цитратов металлов при их использовании на стадии культивирования дрожжей. Исследования проводились в лабораторных условиях и на спиртовых заводах при производстве спирта с крохмалсодержащего сырья.

Ключевые слова: високонцентрированное сусло, сухие вещества, цитраты металлов, брожение

IMPROVING TECHNOLOGY OF FERMENTATION HIGHLY CONCENTRATION OF STRAIGHT – CONTAINING MUST MATERIALS USING METAL CITRATES

T. O. Mudrak, A. M. Kuts, R. G. Kyrylenko, S. S. Kovalchuk, Kh. I. Pakulyak, V. P. Vasylyv

Abstract. Today, the issue of developing a comprehensive non-waste technology for the processing of grain raw materials into ethyl alcohol in order to reduce the cost of the target product — is relevant. In the fermentation of the wort of high concentrations, the physiological and biochemical activity of yeast is of great importance. The physiological state of yeast is determined by the composition of the wort, which must contain a sufficient amount of digestible sugars, nitrogen and mineral substances.

The aim of the work was to study the influence of metal citrates on the process of cultivating yeasts and their use in the bioconversion of high concentration carbohydrate carbohydrates from starchy raw materials, with subsequent determination of the qualitative and quantitative composition of the volatile part of the mature shoots.

It was investigated that the use of mineral nutrition for the cultivation of yeast allowed to accumulate the required number of cells, reduce the duration of yeast production to 18–20 h, and obtain yeast cells with high physiological and biochemical activity. In samples using yeast, cultivated with citrates of metals, the chemical and technological parameters of the brains were better than control. The content of alcohol in mussels grew by 1–3 % in accordance with the metal citrate added. In the study of the synthesis of volatile impurities in distillates, there was also a positive effect of metal citrates on their use at the stage of yeast cultivation. The investigations were carried out in the laboratory conditions of and alcohol plants in the production of alcohol from starch-containing raw materials.

Key words: *highly concentrated must, dry matter, metal citrates, fermentation*