

Сучасні способи активації процесів розмноження та ферментації пивоварних дріжджів

У зв'язку з тим, що управління метаболізмом дріжджових клітин у технології пивоваріння дозволяє впливати та фізіолого-біохімічну і відповідно бродильну активність дріжджів, важливим є дослідження та розроблення способів підвищення біохімічної енергії клітин на лабораторній та виробничій стадіях розведення дріжджів.

Вплив на метаболізм дріжджів на клітинному та субклітинному рівнях здійснюється шляхом регулювання синтезу і каталітичної активності ферментів. Відомо, що кількість різних ферментів та їх активність у дріжджових клітинах залежать від умов культивування мікроорганізмів і перш за все від складу поживного середовища. Є данні, що змінити інтенсивність синтезу ферментів та їх активність можливо за допомогою збагачення середовища для вирощування дріжджів поживними добавками.

Відомі, наприклад, способи активації дріжджів шляхом внесення у сусло водних витяжок чи екстрактів солодових паростків або внесення у сусло препарату, отриманого шляхом озолення осаду пива [1]. Однак, недоліком цих способів є те, що вони не дозволяють суттєво інтенсифікувати накопичення біомаси чистої культури та не вирішують питання покращення фізіологічного стану і підвищення здатності до розмноження виробничих дріжджів, ослаблених у ході технологічного процесу. Сучасним запатентованим способом, який частково вирішує ці питання є спосіб, який полягає у наступному. У сусло одночасно із чистою культурою дріжджів вносять 0,1...0,5% препарату, який отримують шляхом руйнування клітинних стінок дріжджів та цитоплазматичних мембран плазмолизом з послідовним відділенням клітинного соку та зважених часток і додаванням до соку 96%-го етанолу в якості стабілізатора при співвідношенні 1:1. Цей спосіб дозволяє скоротити процес накопичення біомаси чистої культури дріжджів, підвищити приріст біомаси у 2...3 рази, прискорити

разброджування сусла на початку бродіння, скоротити процес головного бродіння на 2 доби, підвищити флокуляційну здатність дріжджів, підвищити їх стійкість до автолізу, фізіологічну здатність дріжджів та зберегти їх фізіологічні властивості протягом наступних трьох - чотирьох генерацій [2].

Досліджено та доведено також ефективність способу культивування дріжджів на поживному середовищі, в яке внесено добавку, основу якої складає гідролізат (автолізат) пивних дріжджів, що містить 3,5% амінного азоту, 7...8% вуглеводів, 2...3% нуклеїнових компонентів (нуклеотиди, нуклеозиди, нуклеїнові основи), а також ергостерин, вітаміни групи В, у тому числі ті, що мають стимулюючу дію на дріжджі, зокрема, біотин, параамінобензойну кислоту та інші. Для підвищення біологічної цінності гідролізату пропонується збагачувати його розчинами солей магнію, марганцю, кальцію, цинку та діамонійфосфатом. При цьому особливо важливим компонентом гідролізату є саме комплексні сполуки вищезгаданих металів з азотвуглецевовмісними лігандами. Комплексні сполуки формуються в результаті взаємодії іонів металів з субстанціями різного ступеню гідролізу, які виділяються з протопластів дріжджів. Комплексні сполуки збільшують надходження у клітину іонів металів, джерел азоту, вуглецю та фосфору у порівнянні з їх транспортом у клітину поодиноці [3].

Відомо, що у дріжджах є не менше ніж 50 індукованих ферментів, синтез яких багаторазово збільшується в залежності від субстрату, який вноситься у поживне середовище. Збагачення сусла, наприклад, вищезгаданим гідролізатом індукуює синтез внутрішньоклітинних ферментів, сприяє виробленню клітиною необхідних механізмів, що забезпечують процес дисиміляції субстрату і це, в свою чергу, впливає на фізіологічний стан дріжджів: підвищується їх продуктивність на 33...34 %, покращуються біотехнологічні властивості – стійкість, бродильна активність, електрофізичні параметри, що визначають їх флокуляційну здатність. Так, середня швидкість росту дріжджів становить 0,225 г/год, в той час як у контролі вона складає 0,163 г/год; мальтазна та зимазна активності

становлять 48 та 59 хв відповідно (у контролі – 72 та 90 хв); ступінь зброджування суслу становить 78,9% проти 76% у контролі, підвищується вміст алкоголю (3,7% проти 3,5%), зростає кількість виділеного CO₂ (0,42% проти 0,37%), покращується прозорість пива, зростає висота піни (6,0 см проти 4,5 см) та піностійкість (5,0 хв. проти 4,0).

Поживні середовища, збагачені біологічно активними добавками, безумовно є тим позивним фактором, який дозволяє покращити фізіологічний стан культур дріжджів та підвищити їх бродильну активність.

Певний інтерес для каталізації фізіологічних процесів у дріжджах викликає використання кріогенно подрібненого препарату синьо-зеленої водорості Спіруліни платенсіс, який вноситься на стадії головного бродіння у сусло в кількості 10 мг% [4]. До хімічного складу Спіруліни входять усі незамінні амінокислоти, пігменти – хлорофіл і фікоціанін, вітаміни групи В, багато мікро- та мікроелементів. Всі ці компоненти дозволяють стабілізувати технологічні властивості дріжджів в умовах виробництва і підвищити їх бродильну активність.

Про великий енергетичний потенціал водорості Спіруліни свідчить здатність її клітин накопичувати високомолекулярні жирні кислоти.

Серед мінеральних речовин, які містяться в органічній формі, велику роль відіграють залізо і йод.

Висушена Спіруліна містить багато ферментів, особливо гідролітичних. Вона також абсолютно нетоксична. Мембранна оболонка Спіруліни складається з поліцукру – муреїну і легко розкладається.

Застосування препарату Спіруліни платенсіс дозволяє підвищити видимий ступінь зброджування сусла на 8...10 % та скоротити процес головного бродіння на 15...17%.

У науковій літературі є багато відомостей про покращення фізіологічного стану дріжджів шляхом впливу та посівний матеріал різних фізичних факторів: температури, тиску, обробці у магнітному полі, НВЧ-хвилями, лазером, ультрафіолетовими променями, ультразвуком [5].

Виявлено також позитивний вплив на життєздатність та бродильну активність пивоварних дріжджів електронно-іонної обробки (ЕІО). Ця обробка здійснюється у потоці на момент задачі дріжджів у бродильний апарат. Товщина шару дріжджів, що обробляються, повинна бути 5 мм, напруженість електричного поля коронного розряду – від 1 до 4 кВ/см, а час експозиції – 25 с. Така обробка дозволяє скоротити кількість нежиттєздатних клітин на 26...40 % та пришвидшити процес зброджування сусла в середньому на 2 доби (38%).

Активація дріжджів – актуальна задача для сучасного пивоваріння. Особливого значення вирішення цієї задачі набуває у зв'язку із впровадження на багатьох пивоварних підприємствах технології зброджування сусла з високою концентрацією (до 20% СР) – високогустинне пивоваріння.

Технологія високогустинного пивоваріння має безумовні переваги: обладнання використовується ефективно, тобто одна варка дає більше пива. Це означає у першу чергу економію енергетичних витрат на виробництво одиниці продукції, величина якої залежить від коефіцієнта розведення. Для реалізації вищезазначених переваг необхідно дотримуватись на виробництві ряду умов.

По-перше, відділення подрібнення повинно мати підвищену потужність для того, щоб переробити більшу кількість зернопродуктів при тій же кількості варок. Крім того, необхідно приділяти максимальну увагу якості помелу для того, щоб отримати прозоре сусло.

По-друге, варильне відділення повинно бути здатним виробляти сусло з підвищеним вмістом сухих речовин при постійному ритмі варок і з максимально можливим виходом продукту.

У фільтраційному апараті підвищується опір шару дробини, причому число та об'єм промивних вод, що використовується для вилуджування дробини, збільшується.

По-третє, при кип'ятіння сусла із хмелем повинно бути по можливості інтенсивним для забезпечення ефективної коагуляції білків та кращого утворення пластівців. Наприкінці кип'ятіння сусла із хмелем з метою підвищення вмісту екстрактивних речовин додають крохмальну мальтозну патоку. При цьому у суслі збільшується вміст цукрів, а кількість амінного азоту зменшується. Також знижується ефективність використання гірких речовин хмелю, так як їх доза при внесенні збільшується пропорційно концентрації сусла або коефіцієнту розведення. Внесення великих кількостей гірких речовин, особливо у формі гранул, призводить до появи великої кількості осаду, що у свою чергу означає великі втрати гірких речовин за рахунок утримання великої кількості сусла осадом.

По-четверте, зброджування сусла та дозрівання пива не повинно тривати більше, ніж за традиційною технологією, оскільки інакше не буде отриманий бажаний економічний ефект. А цього можливо досягти лише у випадку наявності оптимального складу сусла при дотриманні оптимальних умов аерації та наявності високоактивних життєздатних дріжджів.

За технологією високогустинного пивоваріння зброджування сусла ведеться, як правило у ЦКБА, з чим пов'язані надлишковий гідростатичний тиск на клітину та висока концентрація вуглекислого газу, етанолу та інших метаболітів у кінці головного бродіння, що може знизити кінцевий ступінь зброджування сусла.

Як вже зазначалось, однією з характеристик високогустинного сусла є дефіцит у ньому амінного азоту, що є результатом використання при його виготовленні цукрових сиропів.

Задача технолога – нівелювати негативний впливу вищезазначених факторів. Так, дефіцит амінного азоту можливо компенсувати або додатковим розщепленням нерозчинних високомолекулярних сполук солоду та несолоджених матеріалів протеолітичними ферментами, або додаванням легко засвоюваних дріжджами поживних речовин у сусло. Як правило, живлення для дріжджів вносять у сусловарильний котел за 15 хв до

закінчення варки з хмелем, що забезпечує стерилізацію та зводить до мінімуму хімічні зміни у суслі. В якості додаткового азотного живлення можуть бути використані, наприклад, карбонат амонію, гліцин, аспарагінова кислота тощо.

Оптимізувати склад суслу та підвищити активність дріжджів можливо також, наприклад, шляхом внесення у сусло дріжджового екстракту у кількості 1% від об'єму середовища, що зброджується.

Промислові дріжджі в умовах високогустинного пивоваріння піддаються впливу високих концентрацій спирту. При екстракті початкового суслу 20 % об'ємна частка етанолу складає не менше 9,4 %. Спирт, що утворюється, пригнічує як швидкість розмноження дріжджів, так і процес бродіння. Неінгібуючою для дріжджів є концентрація етанолу не більше 1,2% об. Вище цього значення питома швидкість росту дріжджів знижується лінійно до збільшення концентрації етанолу. Концентрація спирту в середовищі 2 % і більше призводить до зменшення виходу біомаси, а повністю ріст дріжджів припиняється при концентрації етанолу 8...9,5 % об.

Пригнічення етанолом здатності дріжджів до розмноження і ферментації дуже відрізняються між собою. Так, ферментація припиняється при більш високих концентраціях спирту – 19,5 % об. Вважається, що діоксин вуглецю, який виділяється при бродінні, при концентраціях спирту 9,5% об. та більше, утворюється лише для підтримання метаболізму дріжджів. Коли відбувається пригнічення процесу ферментації дріжджів під дією етанолу, важливим є не лише концентрація останнього, а і тривалість впливу спирту на клітини.

З другого боку задача пивоварів при застосуванні технології високогустинного пивоваріння полягає у необхідності змусити дріжджі працювати при високих концентраціях цукру. Із збільшенням його концентрації у середовищі пригнічується процес розмноження дріжджів, причому інгібуючою концентрацією цукру є 15 % мас. і більше.

Для вирішення проблеми «етанольного» та «осмотичного» стресів використовують наступні технологічні прийоми: збільшують норму введення дріжджів з метою скорочення лаг-фази та для запобігання процесу припинення бродіння; домагаються збільшення концентрації засвоюваного азоту та розчинного кисню; підбирають раси дріжджів найбільш стійкі до цих видів стресу.

Інтенсифікувати процес отримання пива шляхом скорочення стадії доброджування можливо при використанні іммобілізованих пивних дріжджів. Це відбувається за рахунок збільшеної концентрації дріжджових клітин у молодому пиві. При цьому дріжджі зброджують субстрат більш тривалий час без суттєвого приросту біомаси, що призводить до скорочення витрат сировини на їх вирощування.

В ряді країн Європи в останні роки зріс інтерес до підвищення ефективності пивоваріння на стадії доброджування пива шляхом застосування іммобілізованих дріжджів. Так, наприклад, фінськими вченими доведена до виробничого застосування технологія іммобілізованих дріжджів, яка дозволяє скоротити процес дозрівання пива з 21 доби до 2 годин.

Іммобілізованими вважають такі клітини дріжджів, для яких штучно обмежена рухливість за рахунок їх адсорбції на будь-якому твердому матеріалі – носії. В якості носіїв можуть бути використані: модифікована целюлоза, полістерен, двоокис титану, силікагель, кізельгур великої фракції, керамзит, кераміка, пінопласт, пластмаса, активоване вугілля.

Адсорбція дріжджів на носіях здійснюється за рахунок ряду факторів, зокрема, завдяки електростатичним силам та наявності в оболонках клітин різних функціональних груп, що забезпечують гідрофільні та гідрофобні властивості поверхні клітини.

При застосуванні іммобілізованих систем зберігається та підтримується певна рівновага між зростаючими клітинами, клітинами що завершили свій ріст на носії та клітинами, які покинули носій. Останні вимиваються з реактора разом із середовищем, яке відводиться з нього. У зв'язку із цим

виключається необхідність видалення біомаси після кожного виробничого циклу. Знижуються витрати води та миючих засобів. При іммобілізації також спостерігається зміна проникненості стінок клітин, більш рівномірний розподіл поживних речовин по всьому об'єму реактора, що позитивно впливає на життєдіяльність мікроорганізмів.

Використання іммобілізованих клітин дріжджів дозволяє легко управляти біокаталізом та конструювати біореактори, зручні для проведення процесу доброджування пива безперервним способом.

Висновки. Таким чином, серед сучасних ефективних способів активації процесів розмноження та ферментації пивоварних дріжджів можна обрати такі, які пов'язані із використанням у поживному середовищі біологічно активних добавок, електронно-іонної обробки дріжджів, використання технології іммобілізації дріжджів, яка забезпечує скорочення стадії доброджування пива.

Література

1. Пат. 4840892 США, МКИ⁴ С 12 С 11/04.
2. Пат. 2151794 Російська Федерація. МКИ⁴ С 12 N 1/16, С 12 N 1/18, С 12 R 1:865. Способ активации дрожжей / Шабурова Л.Н., Ильяшенко Н.Г., Садова А.И., Гернет М.В., Хныкин А.М. – № 99101648/13; заявл. 29.01.1999; опубл. 27.06.2000.
3. Шишков Ю.И. Повышение биотехнологических свойств пивных дрожжей / Ю.И. Шишков, С.С. Айвазян // Пиво и напитки. – 2008. – № 3, С. 22 – 23.
4. Повышение жизнеспособности пивоваренных дрожжей с использованием Спирулины платенсис / М.Э. Бидихова, В.Л. Лаврова, А.М. Гарнет, А.Е. Груздева // Пиво и напитки. – 2002. – № 6, С. 10 – 11.
5. Осипова М.В. Интенсификация брожения пива посредством электронно-ионной обработки (ЭИО) пивных дрожжей / М.В. Осипова, Л.Ф. Глущенко // Пиво и напитки. – 2006. – № 5, С. 22 – 24.