

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

БЛІЩ РОКСОЛАНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 663.122:663.53.531:577.154

**ІНТЕНСИФІКАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ
ВИРОБНИЦТВА СПИРТУ АКТИВАЦІЄЮ ГІДРОЛІТИЧНИХ
ФЕРМЕНТІВ**

Спеціальність 05.18.07 – технологія продуктів бродіння

**АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук**

Київ – 2003

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному університеті “Львівська політехніка”

Міністерства освіти і науки України

Наукові керівники: доктор технічних наук, професор

Мокрий Євген Миколайович

Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології органічних продуктів, зав. кафедри
професор, академік УТА

доктор технічних наук, професор

Маринченко Віктор Опанасович,

Національний університет харчових технологій,
кафедра біотехнології продуктів бродіння екстрактів та
напоїв, професор, член-кор. АТНУ

Офіційні опоненти: доктор технічних наук,

Левандовський Леонід Вікторович,

Національний університет харчових технологій,
завідувач кафедри біохімії та екології, старший
науковий співробітник, академік УТА

кандидат технічних наук,

Бойко Петро Миколайович

Державний концерн “Укрспирт”,
начальник відділу технічної політики

Провідна установа: Інститут харчової хімії і технології НАН України,
(м. Київ)

Захист відбудеться „__” _____ 2003 р. о ___ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26. 058.04 Національного університету харчових технологій за адресою: 01033, м. Київ-33, вул. Володимирська, 68, корп.А, аудиторія А-311.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного університету харчових технологій за адресою: 01033, м. Київ-33, вул. Володимирська, 68.

Автореферат розісланий „__” _____ 2003р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради, к.т.н.

О.В. Кобилінська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Актуальність теми. Основне завдання, що стоїть перед спиртовою промисловістю, – зниження собівартості та покращення якості продукції. В зв'язку з цим наукові дослідження спрямовані на інтенсифікацію процесів виробництва спирту на всіх його стадіях.

Одним із ефективних засобів інтенсифікації процесів оцукрювання і зброджування крохмалевмісної сировини у виробництві спирту є заміна зернового солоду ферментними препаратами (ФП) мікробного походження, що також сприяє підвищенню рівня використання сухих речовин сусла.

Активність і стійкість – найважливіші показники якості ферментного препарату, які характеризують його здатність зберігати свої властивості протягом певного часу і більш повно оцукрювати розварену масу в процесі виробництва спирту. Зменшити собівартість спирту, отриманого з використанням ферментних препаратів, можна шляхом зниження їх витрати. Умовою зменшення витрати ферментів є підвищення їх питомої активності та стабільності.

Тому актуальним є дослідження способів підвищення активності та стабільності ферментів ФП, що сприятиме зменшенню їх витрати і дозволить знизити собівартість продукції та підвищити її конкурентоспроможність.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Дослідження проводилися у відповідності з Державною програмою “Етанол”, яка виконується за дорученням Президента України № 1-14/385 від 05.05.1999р., за дорученням прем'єр-міністра України № 9677/2 від 07.05.1999 р., тематикою науково-дослідних робіт проблемної науково-дослідної лабораторії Національного університету харчових технологій (НУХТ) “Розробка наукових основ енерго- та ресурсозберігаючої технології і обладнання для виробництва спирту з некондиційної вуглеводовмісної сировини та відходів сільського господарства і харчової промисловості”, що виконувалася згідно з наказом Міністерства освіти України № 37 від 19 березня 1998 р.

Особистий внесок дисертанта у виконання вказаних програм полягав у плануванні та проведенні експериментів, підготовці звітів та відпрацюванні технологічних режимів у виробничих умовах.

Мета і завдання досліджень. Мета досліджень полягала в інтенсифікації технологічних процесів одержання спирту на основі розробки способів активації гідролітичних ферментів та збереження їх стабільності.

- Вибір мети дослідження обумовив необхідність вирішення таких завдань:
- дослідити закономірності фізичних та фізико-хімічних способів активування гідролітичних ферментів;
 - встановити оптимальні умови активації ферментів ФП;

- дослідити вплив активованих ФП на процес зброджування сусла та порівняти його з ефективністю використання неактивованих препаратів;
- розробити оптимальні умови оцукрювання крохмалевмісної сировини для покращення техніко-економічних показників процесу одержання бражки;
- провести апробацію способів підвищення активності ФП у виробничих умовах та визначити економічну ефективність використання активованих ферментних препаратів.

Об'єкт дослідження – гідролітичні ферментні препарати, сусло і бражка спиртового виробництва.

Предмет дослідження – активація ферментів ферментних препаратів, їх вплив на оцукрювання крохмалевмісної сировини і зброджування сусла.

Методи дослідження – фізико-хімічні, біохімічні методи визначення активностей ФП, якості вихідної сировини, проміжних і готового продуктів; хроматографічні методи дослідження продуктів бродіння; методи планування експерименту і математичної обробки експериментальних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Встановлено вплив фізичних та фізико-хімічних активаторів на активність ферментних препаратів спиртового виробництва різного ступеня чистоти. Розроблено способи активації ФП іонами металів та ультразвуковими коливаннями для інтенсифікації процесів оцукрювання та зброджування крохмалевмісної сировини.

Одержано нові експериментальні дані зі стабільності водного розчину ФП Сан Супер 240L та в умовах оцукрювання крохмалевмісної сировини. Виявлено суттєве зниження активності ферментів даного препарату при температурі 57°C, та експериментально і теоретично доведено необхідність його внесення безпосередньо у бродильний апарат.

Одержано нові експериментальні дані з термостабільності водного розчину ФП Термамил 120L. Виявлено суттєве зниження активності ферментів даного препарату при температурі 90°C із збільшенням тривалості обробки, що дозволило дати рекомендації щодо оптимальних умов його застосування.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами наукових досліджень встановлено оптимальні умови активації фізичними та фізико-хімічними чинниками ФП, що використовуються в спиртовій промисловості.

Використання активованих ферментних препаратів на стадії гідроферментативної обробки сировини і зброджування сусла дозволяє зменшити їх витрату на 15-20%, що підтверджено промисловими випробуваннями.

На основі результатів досліджень рекомендовано проведення гідроферментативної обробки сировини з використанням ФП Термамил 120L при оптимальній температурі для збереження активності його ферментів, а

також доцільність внесення глюкоамілазного ферментного препарату безпосередньо в бродильний апарат.

Економічна ефективність використання активованих ФП для спиртового заводу потужністю 3000 дал на добу складає 354200 грн. на рік.

Особистий внесок дисертанта. Автор особисто проводив дослідження процесів активації та стабілізації ферментів ферментних препаратів, одержав наукові результати щодо використання активованих ферментів на стадії оцукрювання крохмалевмісної сировини. Брав участь в одержанні активованих ФП у виробничих умовах та їх використанні у спиртовому виробництві, обробці експериментальних результатів, написанні наукових робіт і оформленні патентів. Аналіз та узагальнення результатів дослідження проведено спільно з науковим керівником д.т.н., проф. Маринченком В.О.

Апробація роботи. Основні результати наукових досліджень обговорено протягом 1999...2002 р. на наукових, науково-практичних конференціях, а саме: 67 науковій конференції студентів, аспірантів і молодих вчених (Київ, УДУХТ, 2001), VII Міжнародній науково-технічній конференції “Пріоритетні напрямки впровадження в харчову промисловість сучасних технологій, обладнання і нових видів продуктів оздоровчого та спеціального призначення” (Київ, УДУХТ, 2001), Міжнародній науковій конференції молодих вчених, аспірантів і студентів “Сучасні методи створення нових технологій та обладнання в харчовій промисловості”, (Київ, НУХТ, 2002).

Публікації. Основний зміст роботи викладений у семи наукових публікаціях, з них в чотирьох статтях, затверджених ВАК України та трьох тезах доповідей.

Об’єм та структура роботи. Дисертація складається зі вступу, шести розділів, висновків та додатків. Дисертація викладена на 125 сторінках друкованого тексту, містить 23 таблиці і 39 рисунків. Список цитованої літератури складає 137 найменувань.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Вступ. Обґрунтована актуальність теми, сформульовані мета та завдання досліджень, визначено наукову новизну та практичну цінність роботи.

Перший розділ “Науково-технічні аспекти вдосконалення процесів спиртового виробництва” присвячений огляду джерел літератури. Проаналізовано основні напрямки інтенсифікації процесів оцукрювання та бродіння. Показано, що одним з ефективних способів інтенсифікації технології виробництва спирту з крохмалевмісної сировини є використання ферментних препаратів вітчизняного та закордонного виробництва. Однак вартість цих ФП складає значну частку в собівартості спирту. З цієї точки зору доцільним є підвищення питомої активності та стабільності ферментних препаратів, які

використовуються у виробництві, що сприятиме більш економічному їх використанню.

Проведений огляд способів підвищення активності та стабільності ферментів ФП під впливом фізичних та фізико-хімічних чинників. Виявлено, що їх вплив на активність ферментних препаратів різного походження різний і не однозначний. Отже, необхідно дослідити вплив чинників різної природи (температури, ультразвуку та іонів металів) на зміну активності ферментів ферментних препаратів, а також проаналізувати вплив технологічних параметрів виробництва на активність та стабільність ферментних препаратів. На основі аналізу джерел літератури сформульовано мету та основні завдання досліджень.

Другий розділ “Об’єкти та методи досліджень і аналізів” містить характеристику об’єктів та методів досліджень, опис лабораторних і виробничих установок, опис методів аналізів та умов проведення досліджень.

Об’єктами досліджень були гідролітичні ферментні препарати: Амілоглюкаваморін Гх-466 (Вузлівський спиртзавод), Сан Супер 240L, Термамил 120L (фірма “НОВОЗИМ”, Данія), сусло і бражка спиртового виробництва. Активність ферментів досліджуваних ферментних препаратів визначали згідно з ГОСТ 20264.4-89.

Теплову обробку і активацію ферментних препаратів у присутності солей кальцію, цинку, магнію, кобальту вели з додаванням розчинів цих солей у воді в різних концентраціях до водних розчинів ФП. Кавітаційну обробку розчинів ФП в лабораторних умовах здійснювали в диспергаторі УЗДН-2Т з магнітострикційним експоненційним випромінювачем, а у виробничих умовах – на ротаційно-пульсаційному апараті (РПА).

Результати оцукрювання з використанням активованих ферментних препаратів оцінювали за показниками зброджування сусла. Для приготування сусла помел зерна пшениці, який на 90-95% проходив крізь сито з отворами діаметром 1 мм змішували з водою у масовому співвідношенні 1:3,5 до отримання однорідної маси. В приготовану масу вносили термостабільну α -амілазу – ФП Термамил 120L, перемішували і нагрівали до температури 90-93°C і здійснювали розчинення крохмалю протягом 3 год. Після декстринізації масу охолоджували до температури 57°C, вносили ФП Сан Супер 240L і оцукрювали протягом 30 хв. Оцукрену масу охолоджували до температури 30°C та вносили засівні дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* раси XII. Сусло зброджували за методом “бродильної проби”.

У суслі вміст амінного азоту визначали методом Попа і Стівенсона. Аналіз бражки здійснювали згідно з традиційними методиками, визначення летких домішок спирту в бражному дистиляті – хроматографічно.

Статистичну обробку результатів досліджень, побудову графіків і діаграм виконано з використанням програмного забезпечення MS Excel 9.0.

Третій розділ “Закономірності активації ферментів ферментних препаратів фізичними способами” присвячений дослідженню впливу фізичних чинників, зокрема теплової обробки та ультразвуку (УЗ), на активність вищевказаних ФП.

Встановлено, що температура обробки суттєво впливає на амілолітичну (АЗд) та глюкоамілазну (ГЛА) активність перерахованих вище ферментних препаратів. Оптимальними умовами, при яких досягається підвищення амілолітичної активності неочищеного ФП Амілоглюкаваморін Гх-466 на 18% є температура 30°C, тривалість 60-75 хв.

Показано, що термоактивація ферментних препаратів відбувається незалежно від ступеня їх очищення та концентрування, проте є специфічною. Підвищення активності концентрованого ФП Сан Супер 240L проходить за коротший проміжок часу (20-40 хв) (рис.1,2) порівняно з ФП Амілоглюкаваморін Гх-466 (60-75 хв) при температурі 30°C.

Термостатування розчину концентрованого ФП Сан Супер 240L при температурі 50°C приводить до поступової втрати активності α -амілази, що не відбувається при термостатуванні неочищеного ФП Амілоглюкаваморін Гх-466 в цих же умовах. Це може бути пов'язано з тим, що в складі ФП Амілоглюкаваморін Гх-466 присутні речовини (білки, крохмаль, целюлоза, геміцелюлоза), які стабілізують ферменти. Відзначено суттєве зниження активності ФП Сан Супер 240L та Амілоглюкаваморін Гх-466 при температурі 57°C і 60°C відповідно, що пояснюється інактивацією ферментів.

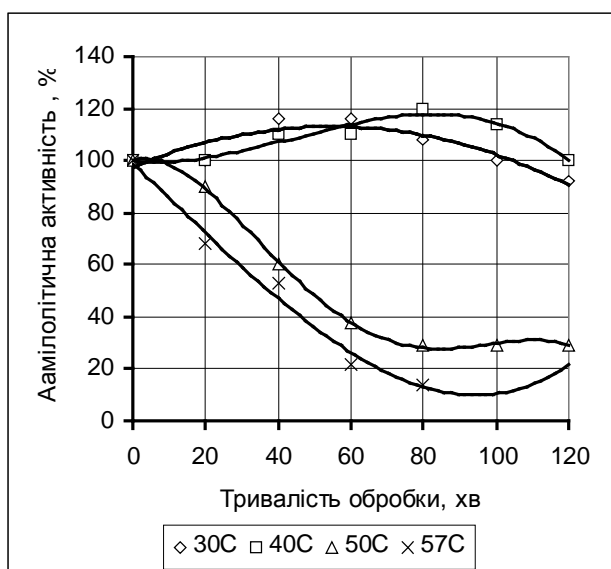


Рис.1. Вплив температури на відносну АЗд ФП Сан Супер 240L. Розбавлення 1:100

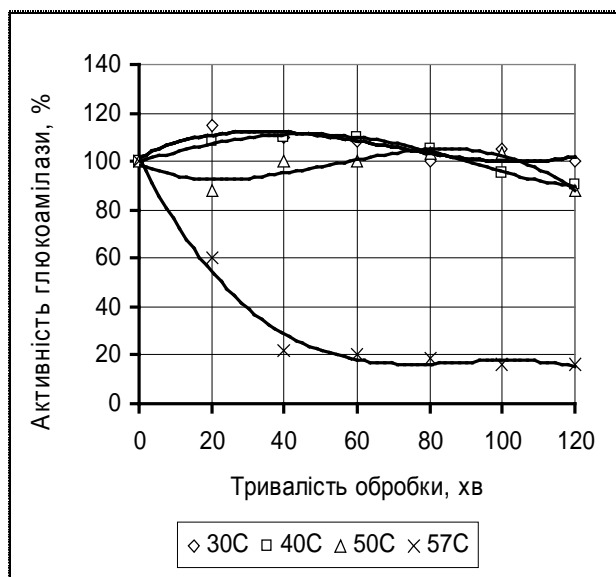


Рис.2. Вплив температури на відносну ГЛА ФП Сан Супер 240L. Розбавлення 1:100

Підвищення активності ферментів протягом певного часу при постійній температурі пояснюють існуванням декількох перехідних конформацій ферменту, які характеризуються різною активністю та звільненням активного центру молекули ферменту в умовах теплової обробки від різних біополімерів (крохмалю, целюлози, білків тощо).

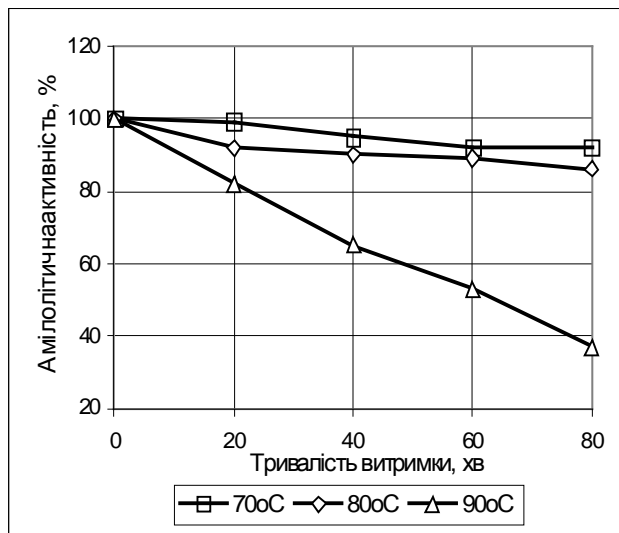


Рис.3. Зміна відносної АЗд ФП Термамил 120L залежно від температури і тривалості термостатування. Розбавлення 1:10

Обробка розчину (1:10) бактеріального препарату Термамил 120L протягом 80 хв в інтервалі температур 30-60°C не впливає на його активність.

На основі дослідження кінетики термічної інактивації (рис.3) та розрахунку констант інактивації виявлено суттєве зниження активності ферментів даного препарату при 90°C із збільшенням тривалості обробки, що дозволяє рекомендувати проводити гідроферментативну обробку замість при температурі приблизно 80°C. У цьому випадку активність α-амілази протягом усього технологічного циклу практично не втрачається.

Проведені дослідження впливу ультразвуку (УЗ) на активність вищеперелічених концентрованих ФП (КФП) показали, що ефективність дії кавітації на активність КФП залежить від інтенсивності УЗ (I , Вт/см³), тривалості обробки (τ , хв), концентрації оброблюваного розчину ФП (C , М).

Максимальне підвищення активності ферментів препарату Термамил 120L в умовах незмінної температури оброблюваного середовища 20°C спостерігали при інтенсивності УЗ хвиль 0,9 і 2,2 Вт/см³ та тривалості обробки 2 хв (рис.4)

З метою порівняння досліджено вплив УЗ інтенсивністю 0,9 Вт/см³ на активність ФП Термамил 120L з одночасним підвищенням температури, тобто в умовах відсутності відведення тепла, що вноситься в систему в результаті УЗ коливань. Встановлено, що така обробка α-амілази ФП Термамил 120L суттєво не впливає на ефект активації препарату порівняно з його УЗ обробкою при постійній температурі.

При вивченні впливу концентрації розчину ФП на ефект УЗ активації при інтенсивності 0,9 Вт/см³, встановлено, що при більшому розбавленні препарат активується швидше (рис.5). Це узгоджується з даними, що ефективність дії УЗ

залежить від в'язкості оброблюваного розчину. Однак активність менш розбавленого препарату була вища протягом усього часу обробки, що є наслідком зменшення ефективності дії кавітації при вищій концентрації оброблюваного розчину. Методом математичного планування експерименту оптимізовано умови активації розчину ФП Термаміл 120L, при яких досягається максимальна активність ферментів даного препарату: тривалість обробки УЗ коливаннями – 1 хв, розбавлення ФП у співвідношенні 1:50.

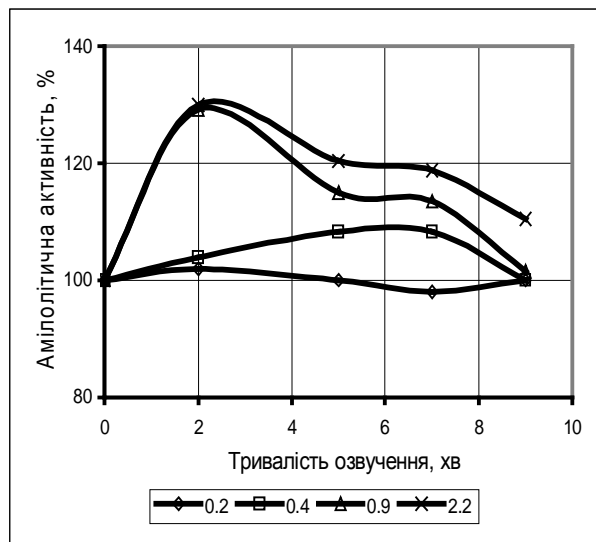


Рис. 4. Зміна відносної АЗд ФП Термаміл 120L залежно від інтенсивності ультразвуку та тривалості озвучення. Розбавлення 1:10. Температура 20°C

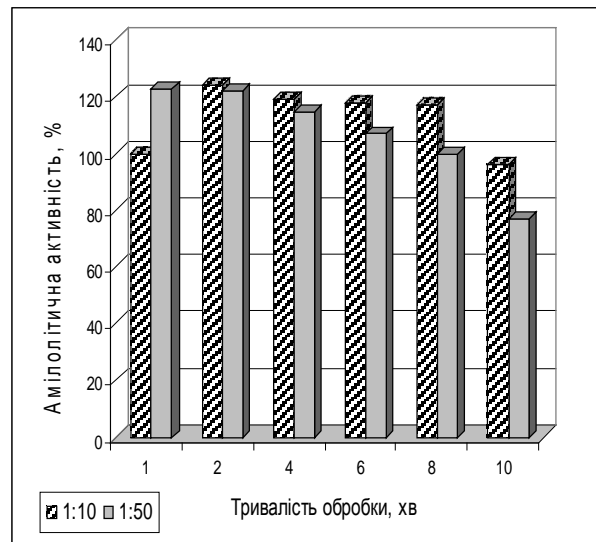


Рис. 5. Залежність відносної АЗд ФП Термаміл 120L від дії УЗ інтенсивністю 0,9 Вт/см³ при його розбавленні у співвідношенні 1:50 і 1:10

Встановлено, що кавітаційна обробка розчину комплексного ФП Сан Супер 240L при частоті коливань 22 кГц, їх інтенсивності 0,9 Вт/см³ та постійній температурі 20°C супроводжується підвищенням амілолітичної та глюкоамілазної активності на 25-27% після 5 хв обробки розчину.

Ефект дії УЗ обробки на активність ферментів можна пояснити руйнуванням ковалентних і адсорбційних зв'язків між ними і речовинами, які блокують активний центр молекули ферменту.

Результати зброджування сусла, отриманого з використанням активованого ультразвуковими коливаннями ФП Сан Супер 240L, підтвердили дані з його активації ультразвуком. При використанні активованого ферментного препарату в кількості 100% міцність дистилату бражки була на 0,5% вищою, а в кількості 80% – знаходилася на рівні з контролем.

Використання активованого УЗ ФП не погіршувало технологічні показники дозрілої бражки.

При аналізі результатів досліджень термостабільності розчину ФП Сан Супер 240L встановлено, що при температурі 57°C, яка є оптимальною при виробничому проведенні процесу оцукрювання, та із збільшенням тривалості витримки активність ферментів препарату знижується (рис.1, 2). Проведені дослідження зміни активності глюкоамілази в умовах оцукрювання. Встановлено, що оцукрювання розвареної маси ферментним препаратом Сан Супер 240L при температурі 57°C, тривалості оцукрювання 40 хв та концентрації сухих речовин 17% веде до втрати глюкоамілазної активності препарату на 30%.

Для підтвердження результатів дослідження термостабільності ФП Сан Супер 240L проведено дослідження впливу температури оцукрювання на перебіг процесу спиртового бродіння та на показники дозрілої бражки в таких умовах, коли в розріджений заміс ФП вносили при температурах 57°C та при 30°C відповідно.

За умови використання ФП при температурі 30°C кількість етанолу в бражці збільшується від початку до завершення процесу бродіння порівняно з внесенням препарату при температурі 57°C, що добре корелює з вмістом незброджених цукрів (рис.6,7). Внесення ФП при температурі 30°C веде до покращення технологічних показників дозрілої бражки порівняно з оцукрюванням при температурі 57°C (табл.1).

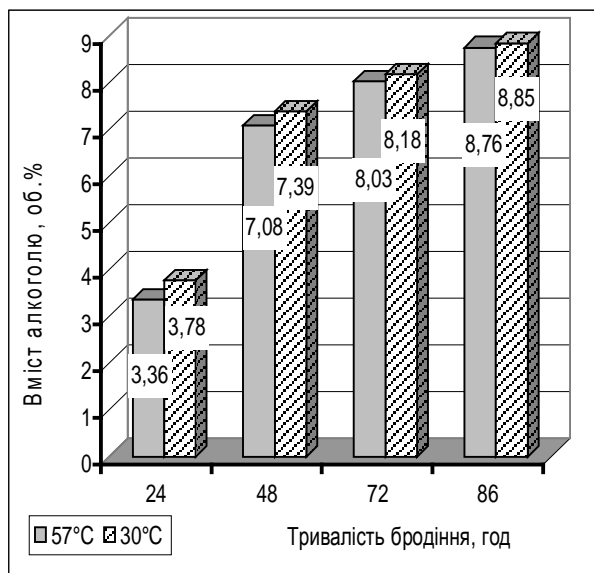


Рис.6. Залежність вмісту етанолу в дозрілій бражці від температури оцукрювання

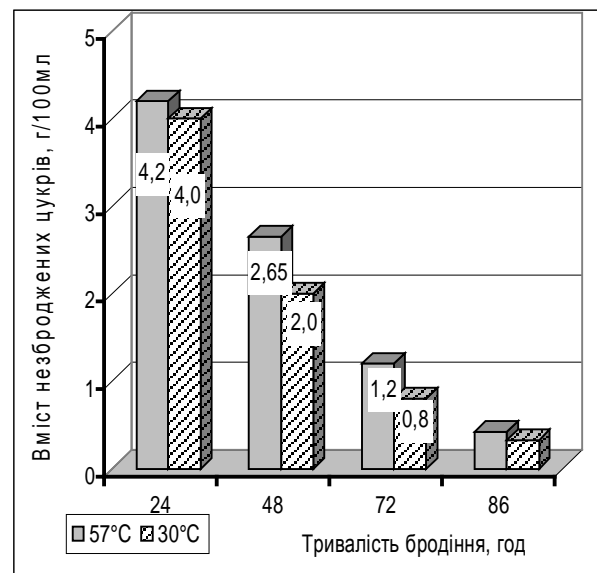


Рис. 7. Вплив температури оцукрювання на вміст незброджених цукрів

Показники якості дозрілої бражки

Температура °С	Загальні вуглеводи, г/100 см ³	Нерозчинний крохмаль, г/100см ³	Незброджені цукри, г/100 см ³	Вміст спирту, об. %
57	0,488	0,06	0,425	8,76
30	0,355	0,04	0,325	8,85

Таким чином, внесення цього препарату безпосередньо в бродильний апарат створить необхідні умови для збереження активності амілолітичних ферментів та підвищення виходу спирту. Це дозволить також спростити технологічну схему процесу одержання спирту, згідно з якою розріджений заміс охолоджують до температури складки і подають на оцукрювання і зброджування одночасно з ФП Сан Супер 240L і дріжджами у бродильний апарат.

Четвертий розділ “Фізико-хімічна активація ферментів ферментних препаратів” містить результати досліджень закономірностей активації ферментів ФП іонами металів в умовах теплової обробки. Для активації використовували солі кальцію, магнію, цинку, кобальту оскільки відомо, що ці іони металів викликають активацію амілолітичних та протеолітичних ферментів.

Показано, що вплив іонів металів на активність ферментів перелічених вище ФП залежить від самих іонів металу, їх концентрації, тривалості обробки, температури та природи ферменту.

Встановлено, що існує певна концентрація вищеназваних металів, при якій спостерігається максимальна активація ферментів ФП. Відхилення концентрації від оптимальної веде до зменшення каталітичної активності ферменту до рівня контрольного і нижче.

Таблиця 2

Оптимальні концентрації іонів металів для активації ФП
Амілоглюкаваморін Гх-466. Температура 30°С. Тривалість 60-75 хв.

Амілоглюкаваморін Гх 466	Концентрація іонів, М			
	Ca ²⁺	Zn ²⁺	Mg ²⁺	Co ²⁺
	7,5*10 ⁻⁵ – 1*10 ⁻⁴	1*10 ⁻⁵ – 1*10 ⁻⁴	1*10 ⁻² – 1*10 ⁻⁴	1*10 ⁻³

Характерною особливістю дослідження впливу іонів металів кальцію, цинку, магнію, кобальту в інтервалі концентрацій 1*10⁻²-1*10⁻⁵М на АЗд ФП Амілоглюкаваморін Гх-466 при температурі 30°С є зниження активності на

початку обробки та підвищення активності на 15-50% (залежно від природи солі) через 60-75 хв. В табл. 2 наведені оптимальні концентрації іонів металів для активації даного ФП.

Поряд з цим, внесення іонів кальцію, цинку та магнію в інтервалі концентрацій $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ М в умовах теплової обробки, вже при змішуванні з розчином ФП Сан Супер 240L підвищує амілолітичну та глюкоамілазну активності на 16-36% і дозволяє підтримувати їх вищий, порівняно з тепловою обробкою, рівень практично протягом всього часу (2 год), що можна пояснити різним ступенем очистки досліджуваних ФП.

На основі дослідження кінетики інактивації ферментів даного ФП при 57°C та розрахунку констант інактивації показано стабілізуючу дію іонів металів (табл. 3). Очевидно, що іони кальцію в оптимальній концентрації відіграють роль стабілізатора молекули ферменту. Це дає підстави рекомендувати внесення іонів кальцію та цинку в концентраціях $1 \cdot 10^{-3}$ М та $1 \cdot 10^{-4}$ М, відповідно, на стадії оцукрювання при температурі 57°C , що дозволить зменшити інактивацію глюкоамілази і повністю стабілізувати α -амілазу. Крім того, тривалість оцукрювання в таких умовах повинна бути не більше 20 хв для збереження активності ферментів, оскільки відомо, що процес оцукрювання при використанні грибнової культури триває в бродильному апараті.

Механізм дії іонів металів на активність ферментів пов'язують з приєднанням їх до алостеричної ділянки молекули, внаслідок чого змінюється третинна структура білкової молекули ферменту.

Таблиця 3

Вплив температури 57°C та іонів металів
на активність ферментів ФП Сан Супер 240L

Амілолітична активність, %					Глюкоамілазна активність, %			
Концентрація іонів, М								
Час, хв	57°C	Ca^{2+}	Zn^{2+}	Mg^{2+}	57°C	Ca^{2+}	Zn^{2+}	Mg^{2+}
		0,001	0,001	0,0001		0,001	0,001	0,0001
0	100	110	115	110	100	124	115	100
20	70	110	100	70	59	80	93	33
40	59	110	81	40	21	33	48	35
60	20	109	38	30	20	25	24	24
80	20	104	15	30	18	25	24	22

Оскільки на процес активації ферментів ФП Сан Супер 240L впливають декілька факторів, для визначення їх сумісного впливу на амілолітичну та глюкоамілазну активність препаратів і оптимального режиму активації

проведено математичне планування трифакторного експерименту. Встановлено, що оптимальними умовами активації ферментів даного препарату є: тривалість – 20 хв, концентрація іонів кальцію чи цинку – $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ і $1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, відповідно, температура 30°C .

Показано, що використання активованого ФП Сан Супер 240L вищевказаними іонами для оцукрювання розрідженого замісу також сприяло збільшенню вмісту амінного азоту (табл.4).

Таблиця 4

Вплив добавок іонів металів на протеолітичну активність
ФП Сан Супер 240L

Тривалість обробки, хв	Протеолітична активність од./см ³			
	Ca ²⁺ 0,001 M		Zn ²⁺ 0,0001 M	
	од./ см ³	%	од./ см ³	%
0	30,8	119,2	30,3	117,5
20	31,0	120,2	29,6	114,7

З метою дослідження впливу активованих ферментів ФП Сан Супер 240L порівняно збродження сусла в таких умовах: 1) з використанням на стадії оцукрювання неактивованого препарату (за 100% неактивованого препарату приймали його витрату в кількості 5,5 од. на 1 г умовного крохмалю); 2) активованого препарату в кількості 100%; 3) активованого в кількості 80% і 70% від кількості неактивованого (табл. 5).

Встановлено, що використання активованого ФП іонами кальцію, цинку або магнію в кількості 100% при оптимальних концентраціях дозволяє збільшити концентрацію спирту в дозрілій бражці на 1,0%, 0,7%, 0,4%, відповідно. Кількість нерозчинного крохмалю в цих умовах зменшується, що можна пояснити його додатковим гідролізом активованою грибовою α -амілазою ферментного препарату Сан Супер 240L. При зменшенні витрати ФП до 70% вміст спирту знизився. Відзначено збільшення кількості нерозчинного крохмалю.

З точки зору кінетики ферментативних реакцій та наведених результатів досліджень, можна зробити висновок, що при використанні для оцукрювання активованого ФП Сан Супер 240L з вищою активністю амілолітичних ферментів збільшується кількість одиниць активності на 1 г умовного крохмалю і, як наслідок, збільшується кількість ефективних фермент-субстратних комплексів, а отже й швидкість гідролізу крохмалю та декстринів, яка лімітує швидкість перебігу бродиння. Крім того, встановлено, що при використанні активованого ФП в кількості 100% збільшується кількість амінного азоту, який є азотним живленням для дріжджів. Це веде до зменшення

витрати цукрів на побудову клітин дріжджів, а отже, частково вихід спирту збільшується.

Таблиця 5

Показники якості дозрілої бражки

Кількість ФП, у % до контролю	Загальні вуглеводи, г/100 см ³	Розчинні вуглеводи, г/100 см ³	Нерозчинний крохмаль, г/100 см ³	Вміст спирту об. %
Zn²⁺(0,0001M)				
Контроль (неакт. ФП)	0,490	0,429	0,05	8,76
100 (актив.)	0,429	0,409	0,02	8,85
80	0,473	0,428	0,04	8,76
70	0,498	0,432	0,06	8,74
Ca²⁺(0,001M)				
Контроль	0,501	0,419	0,07	8,76
100	0,484	0,418	0,06	8,82
80	0,502	0,436	0,06	8,79
70	0,530	0,445	0,07	8,74
Mg²⁺(0,0001M)				
Контроль	0,498	0,435	0,05	8,76
100	0,455	0,420	0,03	8,80
80	0,480	0,427	0,05	8,76
70	0,508	0,422	0,077	8,70

Таким чином, використання активованого ФП дозволяє зменшити витрату ферменту на 20% без погіршення показників дозрілої бражки порівняно з контролем (табл.5).

Аналіз побічних продуктів бродіння в процесі зброджування сусла, отриманого з використанням активованого ФП в кількості 100% і 80% показав, що вміст ефірів, альдегідів та кислот суттєво не змінився порівняно з контролем. Вміст вищих спиртів підвищився незначно. Аналіз складу летких домішок дистилляту (n-пропанол, ізобутанол, метилацетат), одержаного з використанням активованого ФП іонами цинку дозволив встановити, що якість бражного дистилляту не погіршилася порівняно з контролем.

У п'ятому розділі “Виробничі випробування” наведені результати дослідження способів активації ферментного препарату Сан Супер 240L з використанням іонів металів та гідроакустичними коливаннями (Сторонибаський та Вузлиський спиртозаводи) у виробничих умовах.

Результати виробничих випробувань підтверджують лабораторні дослідження про те, що іони кальцію та цинку, додані до водного розчину ферментного препарату в оптимальних концентраціях, сприяють значному підвищенню активності наявних у ньому ферментів і підвищенню їх стабільності.

Використання ФП Сан Супер 240L активованого іонами вищевказаних металів дозволило знизити витрату ФП на 15% при оцукрюванні крохмалевмісної сировини без погіршення технологічних показників дозрілої бражки.

Дослідження впливу кавітації на активність ФП Сан Супер 240L в промислових умовах на гідроакустичному апараті типу РПА показали, що максимальне підвищення активності на 16-17% досягається при 50-ти циклах обробки розчину ФП (рис.8).

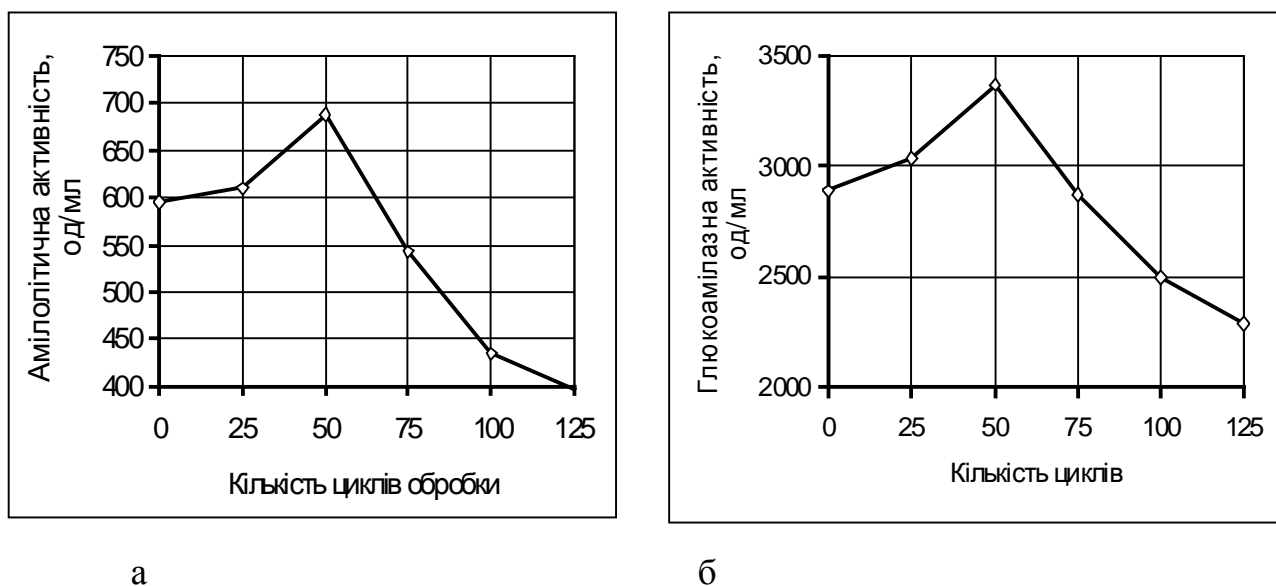


Рис.8. Залежність зміни амілолітичної (а) та глюкоамілазної (б) активності від кількості циклів обробки на апараті типу РПА

Із збільшенням кількості циклів обробки активність знижувалася нижче за початкове значення, що можна пояснити механохімічною деструкцією молекули ферменту.

Отже, використання кавітації є ефективним чинником підвищення активності ферментних препаратів спиртового виробництва.

За результатами проведених досліджень запропоновані способи активації ферментів ФП Сан Супер 240L, зокрема з використанням іонів металів та РПА.

У шостому розділі “Розрахунок економічної ефективності” розраховано економічний ефект впровадження у виробництво розробленого способу активації ферментів ФП Сан Супер 240L. Економічна ефективність становить 354200 грн. на рік для спиртового заводу потужністю 3000 тис. дал на добу.

ВИСНОВКИ

Згідно з отриманими результатами роботи можна зробити такі висновки:

1. Запропоновано ефективні способи інтенсифікації процесу виробництва спирту шляхом активації гідролітичних ферментів ферментних препаратів у присутності іонів металів та під дією кавітації, що дозволить підвищити вихід спирту на ~0,4-1% або знизити витрату оцукрюючого матеріалу на ~15-20% без погіршення технологічних показників дозрілої бражки.

2. Науково та експериментально обґрунтовано підвищення активності ферментів препаратів Термамил 120L, Сан Супер 240L і Амілоглюкаваморін Гх-466 під дією фізичних та фізико-хімічних чинників. Розроблено способи активації, що дозволяють підвищити активність ферментного препарату на 16-30%.

3. Методом математичного планування експерименту оптимізовано параметри активації гідролітичних ферментів концентрованих ферментних препаратів у присутності іонів металів це: температура – 30°C, тривалість обробки – 20 хв, концентрація іонів Ca^{2+} і Zn^{2+} – $1 \cdot 10^{-3}$ і $1 \cdot 10^{-4}$ М, відповідно. Доведено, що математична модель адекватно описує залежність активностей від вказаних факторів.

4. Встановлено підвищення активності протеолітичних ферментів ФП Сан Супер 240L, що дозволяє збільшити вміст амінного азоту в суслі на 11-14%.

5. Порівняно закономірності бродіння сусла з крохмалевмісної сировини, одержаного з використанням активованих і неактивованих ФП, склад дозрілої бражки та встановлено оптимальну витрату активованих ферментних препаратів.

6. Встановлено зниження активності ферментів водного розчину ФП Термамил 120L при 90°C та Сан Супер 240L в умовах оцукрювання при температурі 57°C та доведено доцільність внесення останнього у технологічному процесі безпосередньо у бродильний апарат.

7. Механоактивація ферментів ФП Сан Супер 240L у виробничих умовах, досліджена на Вузлівському спиртовому заводі, підтвердила підвищення їх активності на 16-17%.

8. Виробничі випробування на Сторонибабському спиртовому заводі підтвердили ефективність запропонованого способу активації ферментів ФП Сан Супер 240L у присутності іонів металів. Економічна ефективність впровадження у виробництво розробленої технології активації становить 354200 грн. на рік для спиртового заводу потужністю 3000 дал на добу.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Мельник С.Р., Мокрий Є.М. Дослідження термостабільності ферментного препарату Амілоглюкаваморін Гх-466 // Вісник Держ. ун-ту “Львівська політехніка”. Сер: Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2000.– №414.– С.152-154.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

2. Підвищення активності ферментних препаратів спиртового виробництва/ Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Колінська Д.Й., Мельник С.Р., Мокрий Є.М. // Вісник Національного ун-ту “Львівська політехніка”. Сер: Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2001.–№426. – С. 131-133.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

3. Вплив активації ферментного препарату на процес спиртового бродіння / Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Труш С.М., Мельник С.Р., Піх З.Г. // Вісник Національного ун-ту “Львівська політехніка”. Сер: Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2002.– №461.– С.198-200.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

4. Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Мельник С.Р., Маринченко В.О. Особливості оцукрювання крохмалевмісної сировини з використанням концентрованих ферментних препаратів / Харчова і переробна промисловість. – 2003. – №1. – С.18-19.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

5. Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Мельник С.Р., Маринченко В.О. Підвищення активності ферментних препаратів // Зб-к тез доповідей 67 наук. конференції молодих вчених, аспірантів, студентів. – К.: УДУХТ. – 2001.-С.26.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

6. Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Мельник С.Р., Маринченко В.О. Фізико - хімічна активація ферментних препаратів спиртового виробництва // Пріоритетні напрямки впровадження в харчову промисловість сучасних технологій, обладнання і нових видів продуктів оздоровчого та спеціального призначення: Наукові праці УДУХТ №10 (спецвипуск за матеріалами VII Міжнародної науково-технічної конференції).–К.: УДУХТ.– 2001. –Ч.І. – С.131.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

7. Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Маринченко В.О. Закономірності зброджування крохмалевмісної сировини у присутності активованого

ферментного препарату // Зб-к тез доповідей Міжнародної наукової конференції молодих вчених, аспіратів і студентів “Сучасні методи створення нових технологій та обладнання в харчовій промисловості”. – Ч.ІІ. – К.: НУХТ. – 2002. – С.129.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

Крім того:

1. Спосіб активації амілолітичних ферментів: Заявка на винахід №2002076239. Дата подання заявки 26.07.2002. МПК 7 С12N9/34 / Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Мельник С.Р., Піх З.Г., Маринченко В.О. / Висновок про видачу деклараційного патенту на винахід за результатами експертизи на локальну новизну.

2. Спосіб одержання етилового спирту: Заявка на винахід №2002129583. Дата подання заявки 02.12.2002. МПК 7 С12N7/06 / Росолова Р.О. (Бліщ Р.О.), Лудин А.М., Мельник С.Р., Піх З.Г., Маринченко В.О., Серкез І.Р. / Висновок про видачу деклараційного патенту на винахід за результатами експертизи на локальну новизну.

АНОТАЦІЯ

Бліщ Р.О. Інтенсифікація технологічних процесів виробництва спирту активацією гідролітичних ферментів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.18.07 – технологія продуктів бродіння. – Національний університет харчових технологій Міністерства освіти і наук, Київ, 2003.

Дисертація присвячена розробці способів інтенсифікації технологічних процесів виробництва спирту активацією гідролітичних ферментів та забезпечення їх стабільності в умовах виробництва. Досліджено закономірності активації ферментів ФП різного походження іонами металів, ультразвуковими хвилями і гідроакустичними коливаннями.

Показано, що на ефект активації ферментів ФП іонами металів впливають різні фактори (іони металів, концентрація іонів, температура, тривалість обробки, а також ступінь очистки ФП). Ефект впливу ультразвуку залежить від інтенсивності УЗ, тривалості обробки и концентрації розчину ФП. Доведено можливість зниження витрати активованого ферментного препарату на стадії оцукрювання. Досліджено термостабільність водного розчину ФП Термамил 120L. Рекомендовано оптимальний температурний режим гідроферментативної обробки сировини для збереження активності ферментів. Досліджено стабільність водного розчину ФП Сан Супер 240L та цього ж ФП в умовах оцукрювання крохмалевмісної сировини. Експериментально та теоретично доведено необхідність внесення оцукрюючого ФП Сан Супер 240L

безпосередньо у бродильний апарат. Проведено промислову апробацію розроблених способів активації ферментів ферментних препаратів.

Ключові слова: активність, ферменти, термообробка, іони, кавітація, ультразвук, спирт.

АННОТАЦІЯ

Блищ Р.А. Интенсификация технологических процессов производства спирта активацией гидролитических ферментов. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07. – технология продуктов брожения. – Национальный университет пищевых технологий Министерства образования и науки Украины, Киев, 2003.

Диссертация посвящена разработке способов повышения активности и стабильности ферментных препаратов, используемых в спиртовой промышленности.

Изучено закономерности теплового воздействия на активность ферментных препаратов различного происхождения. Установлено, что тепловой прогрев водных растворов ферментных препаратов в определенных условиях обработки способствует повышению активности их ферментов. На основании экспериментальных исследований кинетики термической инактивации ФП Термамил 120L и расчетов констант инактивации предложено оптимальные условия проведения гидроферментативной обработки замесов с целью сохранения активности ферментов.

Исследовано влияние УЗ обработки на активность концентрированных ФП. Показано, что эффект влияния ультразвука зависит от интенсивности УЗ, времени обработки и концентрации раствора ФП. Проведено исследование влияния тепловой обработки в присутствии ионов металлов на активность ФП различной степени очистки. Показано, что на эффект активации ферментов ФП влияют различные факторы (ионы металлов, концентрация ионов, температура, время обработки, а также степень очистки ФП). Показано стабилизирующее действие ионов кальция, цинка в условиях тепловой обработки при температуре осахаривания 57°C. Методом математического планирования эксперимента создано математическую модель активации ФП Сан Супер 240L на основании которой проведено оптимизацию и установлены следующие условия активации: время обработки 20 мин, температура 30°C, концентрация ионов кальция или цинка соответственно $1 \cdot 10^{-3}$ М и $1 \cdot 10^{-4}$ М.

Экспериментально установлено, что использование активированного ФП Сан Супер 240L способствует более интенсивному гидролизу белков суслу и увеличению содержания аминного азота. Подтверждено, что использование ФП, активированного УЗ и тепловой обработкой в присутствии ионов металлов, способствует интенсификации процесса брожения и дает

возможность сократить расход ферментного препарата на осахаривание в производственном процессе. Установлено, что использование активированного ФП на стадии осахаривания практически не влияет на качественный состав вторичных продуктов брожения в бражных дистиллятах.

Исследовано изменение активности ФП Сан Супер 240L в условиях осахаривания. Установлено существенное снижение активности главоамилазы при температуре 57°C и времени осахаривания 40 мин. Показано, что внесение ФП Сан Супер 240L при температуре 30°C ведет к улучшению технологических показателей зрелой бражки и дает возможность повысить выход спирта на 1%. Предложено внесение этого препарата в бродильный аппарат, что способствует сохранению активности амилалитических ферментов и повышению выхода спирта.

Проведено изучение влияния гидроакустических колебаний на ФП Сан Супер 240L на роторно-пульсационном аппарате типа РПА. Установлено повышение активности ФП при определенном количестве циклов обработки.

Рассчитанный экономический эффект от использования активированных ФП составил 354200 грн/год для спиртового завода производительностью 3000 дал/сутки.

Ключевые слова: активность, ферменты, тепловая обработка, ионы, кавитация, ультразвук, спирт.

ANNOTATION

Blishch R.O. The intensification of alcohol production technological processes by gidrolitical enzyme activation. – Manuscript.

The thesis for Ph. D. Award (technical sciences) on speciality 05.18.07. – Technology of fermentation products. – Ukrainian State University of Food Technologies of the Ministry of Education and Science, Kiev, 2003.

This dissertation is devoted to the intensification of alcohol production technological processes by gidrolitical enzyme activation and stabilization. The influence of temperature, ultrasonic and of metals ions on activity of deferent enzyme preparations has been studied. On effect enzyme preparations activation by metals ions influence different factores (metals ions, ions concentration, temperature, processing durability, cleaning degree of enzyme preparations) has been shown. The activation effect in the field of ultrasonic waves depending on generator power, duration and suspension concentration has been studied.

The fermentation of sweet mash from starch contain row material has been carried using activity enzyme preparation on the stage of hydrolyses. The quality condition of alcohol brew has been investigated. Was determined the possibility of alcohol appearance increase and reduction of enzyme preparation expense.

Key words: activity, enzyme, temperature, ions, cavitations, ultrasonic, alcohol.