

НАКОПЛЕНИЕ СПИРТА, ПРИМЕСЕЙ И БИОМАССЫ ПРИ СБРАЖИВАНИИ МЕЛАССЫ ГИБРИДНЫМИ ДРОЖЖАМИ

А. М. КУЦ, В. Ф. СУХОДОЛ, А. М. ШЕВЧЕНКО, П. М. МАЛЬЦЕВ

Киевский технологический институт пищевой промышленности

В производстве спирта из мелассы наряду с дрожжами рас В и Я применяют гибридные дрожжи [1, 2, 3], которые получены направленной селекцией путем скрещивания различных рас дрожжей [2, 4, 5]. Они обладают рядом технологических особенностей в сравнении с дрожжами рас В и Я. Наиболее изучен и широко распространен на спиртовых заводах гибрид 112 [1, 4].

Систематизированные данные о влиянии гибридных дрожжей на формирование состава бражек отсутствуют. Цель этой работы — изучить образование спирта, биомассы, вторичных и побочных продуктов брожения при сбраживании мелассной среды гибридными дрожжами 13, 26, 71, 93, 94, 112, 176, 202, 203, 279 в сравнении с дрожжами расы В.

Водные растворы мелассы объемом 250 мл и концентрацией 22% сухих веществ СВ сбраживали в колбах Эрленмейера периодически без аэрирования при следующих начальных условиях: рН 5,5, температура брожения 30°C, количество засевных дрожжей 50 млн/мл среды. В качестве дополнительного питания для дрожжей вводили карбамид и ортофосфорную кислоту (0,10 и 0,06% к массе мелассы). Активную кислотность питательного субстрата регулировали путем введения серной кислоты. Брожение контролировали по убыли углекислоты весовым методом и заканчивали за 70—72 ч.

В опытах применяли мелассу, состав которой характеризовался такими данными, % к массе мелассы: СВ — 82,2; общая сумма сбраживаемых

веществ — 48,24; рафиноза — 1,32; инвертный сахар — 0,63; общий азот — 1,75; аминный азот — 0,27; фосфор в пересчете на P_2O_5 — 0,03; сернистый ангидрид — 0,011; зола в пересчете на сульфатную — 10,45; доброкачественность — 58,0; летучие кислоты в пересчете на уксусную — 0,92; pH — 6,7; кислотность — 0,2°; инфицированность мелассы (по нарастанию кислотности при самоброжении за 24 ч) — 0,2°.

Технологические показатели бражек определяли по методикам [6—10]. Накопление биомассы в бражках контролировали колориметрическим [11] и весовым [12] методами. Генеративную активность дрожжей [13] оценивали по коэффициенту размножения, который определяли соотношением конечного числа клеток с начальным. Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики с использованием ЭЦВМ «Проминь-М» [14].

Для исключения влияния несхаров мелассы на результаты брожения вначале изучали образование спирта, вторичных и побочных продуктов брожения при сбраживании синтетической среды Уайта, модифицированной Раевым [15] и содержащей 10% сахарозы. Составы зрелых бражек представлены в табл. 1, а состав их дистиллятов — в табл. 2.

Содержание несброженного сахара в бражках позволило предположить, что гибридные дрожжи 13, 26, 93, 105, 112, 176, 202, 279 и дрожжи расы В сбраживают сахарозу практически в одинаковой степени. При этом дрожжи 13, 93, 112, 202, 279 накапливали в бражке равное количество спирта в сравнении с контролем. Применение гибридных дрожжей 71 и 94, наоборот, уменьшало содержание спирта на 5 и 2% соответственно, по-видимому, за счет неполного сбраживания сахарозы (табл. 1,2).

В бражках, полученных при использовании дрожжей расы В, содержалось наименьшее количество глицерина (0,28 г/100 мл). Применение гибридных дрожжей повышало его содержание до 0,31—0,46

г/100 мл среды. Наибольшее количество глицерина найдено при работе с дрожжами 26, 71, 105, что обусловило снижение содержания спирта в бражках.

Замечено, что гибридные дрожжи снижали активную кислотность питательного субстрата на большую величину, чем дрожжи расы В. Титруемая кислотность бражек и содержание кислот в их дистиллятах также превосходили контроль (табл. 1, 2). Кроме этого, наблюдалось различие в накоплении летучих примесей этилового спирта. Дрожжи расы В образовали высших спиртов на 15—30% больше, чем гибридные дрожжи, что вызвано, по-видимому, снижением их генеративной активности на синтетической среде [2, 4]. Установлено, что коэффициенты размножения гибридных дрожжей 13, 26, 71, 176, 202 ниже, чем дрожжей расы В. Только дрожжи 93 и 112 превосходили по этому показателю контроль (табл. 1).

Бражные дистилляты, полученные при использовании гибридных дрожжей, содержали альдегидов в 1,3—4,0 раза больше, чем контрольные пробы, а по содержанию сложных эфиров и ненасыщенных соединений они различались незначительно. Летучих азотистых веществ в контрольных бражках в 2—3 раза больше, чем в опытных, что можно объяснить различным потреблением азота среды дрожжами.

Сбраживание синтетических сред не может дать полного представления о характере накопления спирта, биомассы, вторичных и побочных продуктов брожения в условиях получения спирта из мелассы. Поэтому дальнейшие исследования проводились с мелассосодержащей средой. Составы мелассных зрелых бражек представлены в табл. 3, а состав их дистиллятов — в табл. 4.

Гибридные дрожжи 26, 71, 93, 94, 112, 203, 279, содержащие фермент α -галактозидазу и полностью сбраживающие рафинозу, если она является единственным углеводом в среде [2, 4], в условиях опытов накопили

спирта меньше, чем дрожжи расы В. Это, очевидно, обусловлено ослаблением ферментативной активности их зимазного комплекса, а также снижением степени выбраживания рафинозы в присутствии сахарозы [1, 15]. Статистическая же обработка результатов опытов показала, что по накоплению спирта дрожжи 26, 93, 279 практически не отличаются от дрожжей расы В. По спиртообразующей способности на изученной меласной среде дрожжи можно расположить в такой убывающий ряд: В > 279 > 26 > 93 > 112 > 202 > 203 > 71 > 176 > 13 > 94.

Таблица 1

Дрожжи	Несброженный сахар, г/100 мл	Количество клеток, млн/мл		рН		Титруемая кислотность, град		Гликолиз, г/100 мл	
		клеточное	животное	М ± m	E	М ± m	E	М ± m	E
В	0,13	50	62	4,00 ± 0,01	1,2	0,80 ± 0,03	2,0	0,28 ± 0,02	1,2
13	0,09	50	54	4,35 ± 0,00	0,0	0,85 ± 0,00	0,0	0,27 ± 0,01	2,1
26	0,10	50	56	4,55 ± 0,00	0,0	0,91 ± 0,01	0,3	0,40 ± 0,02	1,4
71	0,21	50	52	4,10 ± 0,00	0,0	0,95 ± 0,00	0,0	0,46 ± 0,03	2,5
93	0,10	50	65	4,55 ± 0,00	0,0	0,83 ± 0,00	0,0	0,32 ± 0,02	2,0
94	0,16	50	62	4,47 ± 0,01	0,8	0,86 ± 0,04	2,0	0,33 ± 0,04	4,3
105	0,08	50	63	4,47 ± 0,01	0,5	0,85 ± 0,06	2,8	0,36 ± 0,02	2,4
112	0,09	50	67	4,34 ± 0,01	1,1	0,86 ± 0,05	1,9	0,33 ± 0,02	2,7
176	0,09	50	58	4,56 ± 0,01	0,7	0,83 ± 0,01	0,4	0,31 ± 0,04	4,7
202	0,14	50	55	4,46 ± 0,01	0,5	0,94 ± 0,05	1,8	0,33 ± 0,02	1,7
279	0,12	50	63	4,55 ± 0,02	1,3	0,94 ± 0,06	2,4	0,31 ± 0,02	1,7

Примечание. М — средняя арифметическая величина; m — доверительный интервал средних арифметических величин; E — процент ошибки точности определения результатов.

Таблица 2

Дрожжи	Этанол		Ацетон		Вискоза спирта		Никотин		Сложные эфиры		Полное азотистое вещество	Нормализованная солейность
	М ± m	E	М ± m	E	М ± m	E	М ± m	E	М ± m	E		
	мг/г бражки											
В	5,74 ± 0,01	0,5	7,4 ± 0,8	1,7	105,0 ± 9,8	7,4	626 ± 15,5	1,1	45,8 ± 4,3	4,5	19,6	9,8
13	5,74 ± 0,01	0,9	8,5 ± 1,7	7,3	76,7 ± 4,6	9,7	827 ± 9,7	0,4	44,6 ± 9,1	7,3	6,8	9,1
26	5,71 ± 0,05	0,8	12,2 ± 1,4	4,1	86,0 ± 2,8	1,2	847 ± 7,5	0,3	54,0 ± 3,1	2,2	6,8	12,1
71	5,85 ± 0,01	0,7	14,2 ± 2,2	5,6	90,0 ± 3,2	1,3	1060 ± 41,4	1,4	66,3 ± 1,4	0,9	4,2	9,9
93	5,77 ± 0,01	0,1	33,4 ± 3,7	11,0	93,0 ± 9,9	4,7	994 ± 17,8	0,8	68,9 ± 5,6	3,0	5,2	10,5
94	5,67 ± 0,01	0,7	8,7 ± 1,5	8,3	78,3 ± 9,3	4,2	1004 ± 14,4	0,5	65,7 ± 3,1	1,7	4,8	10,8
105	5,65 ± 0,01	0,4	16,6 ± 4,1	7,4	76,8 ± 4,6	2,2	932 ± 47,4	1,8	41,6 ± 4,4	3,7	4,4	7,7
112	5,73 ± 0,01	0,1	9,6 ± 0,6	2,4	87,7 ± 4,0	1,6	960 ± 19,1	0,7	71,6 ± 8,4	4,3	6,3	9,9
176	5,70 ± 0,01	0,3	8,1 ± 1,1	4,9	84,3 ± 9,7	4,1	860 ± 19,1	1,9	61,0 ± 8,6	5,1	5,7	10,5
202	5,72 ± 0,02	0,5	26,0 ± 7,2	10,3	92,0 ± 5,6	2,2	1164 ± 19,2	0,6	56,3 ± 6,1	3,6	4,1	8,8
279	5,74 ± 0,02	0,9	8,3 ± 0,5	2,1	76,7 ± 9,8	5,7	1182 ± 5,8	0,1	48,1 ± 3,2	2,4	5,2	13,3

Примечание: Обозначения по табл. 1.

Таблица 3

№	Дрожжи	Несброженный сахар		Глицерин		Биомасса (75% влажность), г в бражке		рН		Титруемая кислотность, град	
		г/100 мл									
		М±m	Е	М±m	Е	М±m	Е	М±m	Е	М±m	Е
В	0,31±0,07	5,9	0,58±0,02	1,2	22,9±0,56	0,5	5,48±0,01	0,8	0,60±0,01	0,7	
26	0,30±0,08	10,2	0,65±0,01	1,8	27,3±0,70	0,9	5,46±0,00	0,0	0,98±0,01	0,1	
71	0,39±0,08	10,7	0,65±0,01	0,6	23,6±0,60	0,9	5,17±0,01	0,1	0,95±0,08	3,0	
93	0,31±0,04	5,1	0,63±0,03	2,0	28,6±0,10	0,9	5,20±0,00	0,0	0,90±0,01	0,1	
279	0,33±0,02	1,5	0,69±0,02	1,4	29,2±0,40	0,7	5,25±0,00	0,0	0,85±0,04	1,8	
В	0,31±0,06	5,2	0,60±0,10	6,0	24,2±0,56	0,7	5,30±0,02	0,7	0,63±0,01	0,6	
94	0,37±0,08	4,8	0,67±0,13	6,8	26,2±1,05	1,4	5,25±0,00	0,0	0,68±0,01	0,8	
112	0,37±0,06	0,7	0,65±0,12	6,4	31,3±0,78	0,8	5,15±0,05	0,9	0,78±0,02	0,6	
203	0,39±0,08	5,0	0,72±0,08	5,0	30,5±1,46	1,7	5,15±0,02	0,9	0,77±0,02	1,2	
В	0,23±0,03	4,8	0,51±0,02	1,8	21,8±0,83	1,4	5,48±0,01	0,5	0,62±0,05	1,6	
13	0,26±0,03	4,7	0,72±0,13	5,8	25,6±2,56	3,5	5,23±0,02	0,8	0,80±0,08	3,5	
176	0,23±0,02	2,5	0,63±0,06	3,5	28,1±2,68	5,1	5,24±0,00	0,0	0,88±0,02	0,8	
202	0,22±0,01	1,7	0,58±0,02	1,7	24,7±0,73	1,0	5,20±0,00	0,0	0,90±0,06	2,5	

Таблица 4

№	Дрожжи	Этанол		Ацетон		Высшие спирты		Кислоты		Сложные эфиры		Легучие летучие вещества	Нелетучие соединения
		об. %		мг в бражке									
		М±m	Е	М±m	Е	М±m	Е	М±m	Е	М±m	Е		
В	8,93±0,02	0,5	32,2±7,6	8,5	175,0±1,6	0,3	179,2±23,9	4,8	70,4±5,6	2,8	3,92	16,6	
26	8,88±0,05	1,7	46,0±8,3	0,6	179,0±6,4	1,3	526,6±41,4	3,4	50,9±9,3	8,9	0,95	18,3	
71	8,76±0,03	0,9	73,2±5,0	4,7	163,0±3,2	0,7	392,0±38,6	3,5	91,5±5,5	2,2	1,10	10,4	
93	8,89±0,03	1,2	72,0±3,2	1,2	159,0±2,8	4,7	448,0±55,0	4,4	96,2±8,1	6,8	0,85	14,4	
279	8,90±0,02	0,3	46,1±3,8	3,0	157,0±1,7	3,9	371,2±15,5	1,5	70,4±5,5	2,8	1,28	14,0	
В	8,81±0,03	1,2	35,5±6,3	6,3	194,0±3,4	5,3	194,0±26,0	6,3	78,6±8,6	4,0	5,94	17,5	
94	8,46±0,07	1,1	40,9±6,4	5,6	128,8±1,7	0,8	329,0±30,1	3,1	64,5±8,3	3,9	1,80	16,0	
112	8,78±0,05	1,0	29,2±5,4	6,6	174,0±6,1	6,6	376,7±11,1	1,0	63,3±4,9	2,1	2,42	18,5	
203	8,68±0,00	0,0	32,4±4,1	4,5	185,3±3,7	4,7	468,3±31,4	2,4	67,5±3,8	3,8	1,13	16,4	
В	8,89±0,04	0,2	26,0±2,8	3,8	221,0±4,9	0,8	224,0±12,6	2,0	62,3±9,8	6,8	4,48	17,4	
13	8,52±0,04	0,6	51,3±2,0	1,4	213,0±1,7	0,4	399,2±19,0	1,7	79,8±8,6	3,9	1,18	13,6	
176	8,62±0,03	0,5	60,8±9,7	5,6	250,0±3,9	0,4	346,4±19,7	2,6	70,8±8,1	3,8	0,98	16,8	
202	8,73±0,06	0,7	75,7±5,0	2,1	251,0±2,2	0,1	383,6±29,5	2,7	70,4±5,6	2,8	0,89	14,6	

примечание: Обозначены в табл. 3 и табл. 4 по табл. 1.

На меласной среде резко возросла генеративная активность гибридных дрожжей по сравнению с культивированием на синтетической. Коэффициенты размножения их составили 1,6—2,1 против 1,45 в контроле, что согласуется с повышенным содержанием биомассы в бражках, содержащих гибридные дрожжи. Наибольшее количество биомассы накопили дрожжи 26, 112, 203, 279, а наименьшее — гибриды 71 (табл. 3).

В контрольных меласных бражках содержалось меньше глицерина (0,5—0,6 г/100 мл), чем в опытных (0,6—0,72 г/100 мл). Наибольшее количество глицерина накопили дрожжи 13 и 203, наименьшее — гибриды 279.

Опыты на меласных средах подтвердили ацетогенный характер гибридных дрожжей. Титруемая кислотность бражек и содержание кислот в бражных дистиллятах, полученных при использовании названных дрожжей, всегда выше, а рН ниже, чем в контроле (табл. 3, 4). Эта особенность гибридов обусловлена, по-видимому, их более обширным

ферментным комплексом по сравнению с дрожжами расы В. Кроме этого, можно предположить, что гибридные дрожжи, среди родительских рас которых были хлебопекарные, имеют активные ферменты дыхательной системы.

В бражных дистиллятах, полученных при использовании гибридных дрожжей, содержание альдегидов возрастало в 1,1—2,0 раза и сложных эфиров на 15—25% по сравнению с контролем. Резкого различия в накоплении суммы высших спиртов и ненасыщенных соединений не установлено. При сбраживании мелассных сред и синтетической среды в дистиллятах контрольных бражек наблюдалось повышенное содержание летучих азотистых веществ по сравнению с опытными образцами.

По опытным данным был составлен баланс продуктов брожения и определен расход сахара на образование спирта, биомассы, вторичных и побочных продуктов брожения [6, 16], который в значительной степени зависел от расы применяемых дрожжей. Так, расход сахара на образование биомассы, вторичных и побочных продуктов брожения для дрожжей расы В составил 11,78—13,49%, а для гибридных дрожжей — 12,83—16,71%. Соответственно и выход спирта (процент к теоретическому) был различным: для дрожжей расы В 89,32—90,29%, а для гибридов 86,63—89,99%.

Вне зависимости от расы применяемых дрожжей на образование глицерина использовалось 35—40% от общего расхода сахара на вторичные и побочные продукты брожения.

В связи с тем, что исследуемые дрожжи отличались по генеративной активности, расход сахара на образование биомассы зависел от расы дрожжей и составил для дрожжей расы В 37,4—38,8%, для гибридов — 38,2—45,7% общего расхода сахара на вторичные и побочные продукты брожения.

Образование альдегидов, высших спиртов, кислот и сложных эфиров связано с незначительным расходом сахара (от 0,7 до 0,9% общего расхода сахара на вторичные и побочные продукты брожения).

ВЫВОДЫ

1. Гибридные дрожжи 13, 26, 71, 93, 94, 105, 112, 176, 202, 203, 279 накапливают в бражках суммарно больше биомассы и летучих примесей этилового спирта, чем дрожжи расы В, в том числе биомассы в 1,1 — 1,3 раза, кислот в 2—4 раза, альдегидов в 1,1—2,0 раз и сложных эфиров в 1,15— 1,25 раза, а летучих азотистых веществ в 2—3 раза меньше.

2. Повышенная кислотность бражек, обусловленная ацетогенным характером гибридных дрожжей, может способствовать новообразованиям в колоннах брагоректификационной установки и прежде всего — эфиров в бражной колонне.

3. Гибридные дрожжи 26, 93, 279 целесообразно проверить в производственных условиях для возможного использования при переработке мелассы по двухпродуктовой схеме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Раев З. А. и др. Тр. Укр. н.-и. ин-та спирт, пром-сти, вып. 15, 39, 1973.

2. Косяков К. В., Раевская О. Г. Тр. Ин-та генетики АН СССР, № 35, 47, 1965.

3. Коновалов С. А. Биохимия дрожжей. Пищепромиздат, М., 1962.

4. Раевская О. Г., Кос и ко в К. В. Микробиология, 38, вып. 4, 571, 1969.

5. Шевченко А. М. Исследование и отбор дрожжевых гибридов для производства хлебопекарных дрожжей. Автореф. канд. дис., Киев, 1973.

6. Рухлядьева А. П. Технохимический контроль спиртового производства. Изд. «Пищевая пром-сть», М., 1974.

7. К о в а л ь В. Г., К о р о л ю к Т. А., Б о й к о А. М., П е т е н к о Е. П. Тр. Укр. н.-и. ин-та спирт, пром-сти, вып. 14, 74, 1972.
8. К о з л о в а Д. А. Тр. Укр. н.-и. ин-та спирт, пром-сти, вып. 8, 124, 1963.
9. В и с н е в с к а я Г. Л., Е г о р о в А. С., С о к о л ь с к а я Е. В., В и н я р с к а я Ю. А. Тр. Укр. н.-и. ин-та спирт, пром-сти, вып. 11, 81, 1967.
10. С о к о л ь с к а я Е. В., В и с н е в с к а я Г. Л., Е г о р о в А. С. Тр. Укр. н.-и. ин-та спирт, пром-сти, вып. 12, 47, 1969.
11. В е ч е р А. С., Л е в и т м а н Х. Я., Г р а н щ и к о в а И. М. Изв. вузов СССР, Пищевая технология, № 2, 160, 1969.
12. Регламент производства этилового спирта из мелассы. Укр. н.-и. ин-т спирт, промсти, Киев, 1970.
13. С е м и х а т о в а Н. М., М а л ы г и н а М. В. Микробиология дрожжевого производства. Изд. «Пищевая пром-сть», М., 1970.
14. Б е л е н ь к и й М. Л. Элементы количественной оценки фармэкологического эффекта. Госмедиздат, Л., 1963.
15. Р а е в З. А., Б а з и л е в и ч К. К. Тр. Укр. н.-и. ин-та спирт, пром-сть. вып. 12, 1969.
16. Технологические расчеты бродильных производств. Изд. «Техника». Киев, 1974.