

*С.Т. Олійничук, д-р. т. н.,  
зав. відділом технології продуктів бродіння  
Т.І. Лисак, наук. співроб.,  
О.О. Коваль, пров. інженер,  
Інститут продовольчих ресурсів НААН*

### **ЗБРОДЖУВАННЯ СУСЛА ПІДВИЩЕНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ З КРОХМАЛЕВМІСНОЇ СИРОВИНИ**

*Проблема збільшення рентабельності виробництва спирту харчового і технічного призначення вирішується шляхом створення раціональних технологічних режимів переробки сировини, економії енергоресурсів та зменшення собівартості. Метою роботи було мінімізувати вплив надлишку субстрату на дріжджі, підвищити їх фізіологічну активність та скоротити тривалість періодичного процесу бродіння. Стаття містить результати досліджень та аналізу факторів, що впливають на перебіг періодичного процесу збродження крохмалевмісної сировини. Встановлено можливість збільшення швидкості споживання цукру дріжджами та скорочення тривалості бродіння шляхом зменшення швидкості розбавлення середовища в процесі заповнення бродильних апаратів. Доведено, що швидкість споживання цукру дріжджами і утворення спирту з проміжних продуктів бродіння не співпадають у часі. Витримування дозрілої бражки впродовж 4-6 годин після досягнення нормативних показників незброженого цукру сприяє закінченню біохімічного утворення спирту і збільшує його вихід.*

***Ключові слова:** крохмалевмісна сировина, біоетанол, *Saccharomyces cerevisiae*, ферменти амілолітичної дії, бродіння.*

*S.T. Oliynichuk, Doctor of Technical Sciences  
Head of the fermentation products technology Department  
T.I. Lysak, research fellow  
O.O. Koval, senior engineer  
The Institute of Food Resources of NAAS*

### **THE FERMENTATION OF VERY HIGH GRAVITY (VHG) WORT FROM STARCH CONTAINING RAW MATERIALS**

*The problem of profitability increase in food and technical ethanol production is solved by creating of rational technological modes of raw materials processing, energy savings and cost reduction. The aim of investigations was to minimize the influence of substrate excess on yeasts, to increase their physiological activity and reduce batch fermentation process duration. The factors affecting the course of a batch process of starch raw materials fermentation are analyzed in this article. The possibility of increasing sugar consumption rate by yeasts and reducing of fermentation durability through medium dilution rate during the filling of fermentators is established. It was proved that the rate of sugar consumption by yeasts and ethanol generation from fermentation intermediates don't coincide in time. The seasoning of mature wort during 4-6 hours after obtaining normative parameters of unfermented sugars contributes to completion of ethanol biochemical generation and increases its yield.*

***Key words:** starch containing raw materials, bioethanol, *Saccharomyces cerevisiae*, amylolytic enzymes, fermentation*

*С.Т. Олійничук, д-р. техн. наук,  
Т.И. Лысак, науч. сотрудник,  
О.А. Коваль, вед. инженер,*  
Институт продовольственных ресурсов НААН

### СБРАЖИВАНИЕ СУСЛА ПОВЫШЕННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИЗ КРАХМАЛОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

*Проблема увеличения рентабельности производства спирта пищевого и технического назначения решается путем создания рациональных технологических режимов переработки сырья, экономии энергоресурсов и уменьшения себестоимости. Целью работы было минимизировать влияние излишка субстрата на дрожжи, повысить их физиологическую активность и сократить продолжительность периодического процесса брожения. В статье содержатся результаты исследований и анализа факторов, влияющих на ход периодического процесса брожения крахмалосодержащего сырья. Установлена возможность увеличения скорости потребления сахара дрожжами и сокращения продолжительности брожения путем уменьшения скорости разбавления среды в процессе заполнения бродильных аппаратов. доказано, что скорость потребления сахара дрожжами и образования спирта из промежуточных продуктов брожения не совпадают по времени. Выдерживание зрелой бражки в течение 4-6 часов после достижения нормативных показателей несброженного сахара способствует окончанию биохимического образования спирта и увеличивает его выход.*

**Ключевые слова:** крахмалосодержащее сырье, биоэтанол, *Saccharomyces cerevisiae*, ферменты амилолитического действия, брожение.

В сучасній технології виробництва етилового спирту з крохмалевмісної сировини біологічна трансформація крохмалу до глюкози здійснюється з використанням мікробних біокатализаторів, що дає змогу суттєво підвищити ефективність використання сировини. Проте найважливіша стадія технологічного процесу культивування дріжджів і зброджування суслу здійснюється періодичним способом, основними недоліками якого є недостатня швидкість ферментативного гідролізу декстринів і неоднорідність культури дріжджів. Для забезпечення достатньої кількості дріжджів з самого початку їх культивування подається така кількість живильного середовища, яка відповідає максимуму росту, можливого в даному об'ємі середовища. Таким чином, дріжджі спочатку перебувають в умовах надлишку живильних речовин, концентрація яких поступово зменшується, а концентрація продуктів метаболізму збільшується, що зумовлює стресовий стан клітин від осмотичного тиску на ранній стадії і від впливу етилового спирту на більш пізній стадії.

Оскільки окремі клітини дріжджів по-різному реагують на такі зміни в середовищі, то очевидно, що фізіологічні властивості і набута спадковість клітин в трансформаціях на ранніх стадіях культивування будуть іншими для клітин, вирощених в більш пізню стадію, за синтезом етилового спирту [1].

**Мета роботи.** Метою роботи було мінімізувати вплив надлишку субстрату на дріжджі, підвищити їх фізіологічну активність та скоротити тривалість бродіння.

**Матеріали і методи.** Об'єктами досліджень були дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* «TEGAYEAST» і «TERMOSAK», ферменти амилолітичної дії  $\alpha$ -амілази «TEGAMYL BLHL», глюкоамілази «TEGAMYL AGHL», сусло приготоване з кукурудзи, процеси термоферментативної обробки та зброджування суслу, зріла бражка.

Дослідження проводили в виробничих умовах ДП «Зарубинський біоетанольний завод».

Сировину, що надходила у виробництво, очищали від мінеральних і органічних домішок розміром від 2 до 3 см, зважували на електронних вагах, подрібнювали на молоткових дробарках, змішували з водою, кількість якої визначалась заданим гідромодулем. Разом з водою подавали розріджуючий фермент ( $\alpha$ -амілазу).

Отриману суміш направляли в апарат приготування замісу за температури від 40 до 50°C і витримували 30 хвилин. Розрідження крохмалю здійснювали в трьох апаратах ГДФО ємністю 50м<sup>3</sup> кожний, що забезпечує тривалість процесу впродовж трьох годин. Культивування дріжджів здійснювали в чотирьох дріжджогенераторах ємністю 25 м<sup>3</sup> кожний. Для бродіння сусла використовували 9 бродильних апаратів об'ємом 220 м<sup>3</sup> кожний.

Технологічні параметри отримання зрілої бражки відповідали чинній нормативній документації та сучасним науковим уявленням щодо перебігу біокаталізу крохмальної сировини в спирт [2].

Зрілу бражку (середовище після закінчення бродіння) аналізували за показниками: рН середовища – потенціометрично, концентрацію сухих речовин - ареометрично, концентрацію спирту у дистилатах бражки – скляним спиртоміром, вуглеводний склад бражки – колориметрично з антроновим реактивом, вміст гліцерину - дистиляційно – колориметрично за відомими методиками [3,4].

### **Результати та їх обговорення**

Спиртове бродіння крохмалевмісної сировини характеризується повільним ферментативним гідролізом декстринів, що обумовлює тривалий термін і відносно низьку продуктивність періодичного процесу. Ці недоліки посилюються в умовах зброджування сусла підвищеної концентрації. Біологічний процес в умовах періодичного бродіння відбувається в просторово замкнутому і постійному об'ємі культуральної рідини, склад якої поступово змінюється в часі. Концентрація живильних речовин зменшується і в певний момент досягає лімітуючої величини, а питома швидкість росту дріжджів поступово наближається до нуля, ріст припиняється і культура переходить в стаціонарну фазу. Продуктивність процесу залежить від величини засіву, початкової концентрації зброджуваних речовин і від ряду інших умов, в тому числі і від швидкості оцукрювання крохмалю ферментними препаратами. У стаціонарній фазі основна частина метаболічних перетворень припиняється, але деякі можуть продовжуватися, що властиво спиртовому бродінню сусла підвищеної концентрації з крохмалевмісної сировини. Зокрема, споживання субстрату залишається незмінним, а відновлення оцтового альдегіду в спирт продовжується. Цей висновок підтверджується даними, наведеними в табл.1.

З наведених даних видно, що при збільшенні тривалості бродіння від 72 до 84 годин вміст незброджених вуглеводів практично залишається незмінним і дорівнює 0,05г/100см<sup>3</sup>, кількість спирту в бражці збільшується на 0,9 % відносних або на 0,4 дал з тони сировини. Незалежно від тривалості бродіння, вміст гліцерину в бражці був досить високим – 1,12 г/100 см<sup>3</sup>, синтез якого обумовлений підвищенням концентрації сусла та осмотичного тиску на дріжджову клітину. Ці фактори спричиняють стресовий стан дріжджів, від якого клітина захищається біологічним відгуком шляхом утворення гліцерину та збільшення тривалості гліцерино-піровиноградного бродіння.

**Вплив тривалості бродіння на показники бражки**

Показник	Тривалість бродіння, год.	
	72	84
рН бражки	4,2	4,2
Титрована кислотність, град.	0,8	0,8
Видима концентрація сухих речовин, %	-1,0	-1,0
Дійсна концентрація сухих речовин, %	3,1	3,1
Вміст незброджених вуглеводів, г/100 см <sup>3</sup>		
загальні	0,53	0,48
водорозчинні	0,44	0,41
нерозчинений крохмаль	0,08	0,07
спирторозчинні	0,22	0,17
декстрини	0,20	0,19
Вміст спирту, %об.	11,1	11,2
Вміст гліцерину, г/100см <sup>3</sup>	1,12	1,12
Вихід спирту, дал/т умовного крохмалю	39,6	40,0

Враховуючи відомі засади теоретичної і практичної біотехнології стосовно негативного впливу надлишку субстрату на ріст і продуктивність дріжджів, а також результати власних попередніх досліджень [5-7], в умовах Зарубинського біоетанольного заводу проведено збродження сусла із кукурудзи зі зменшенням його подачі в бродильний апарат шляхом паралельного одночасного заповнення двох бродильних апаратів. Кількість сусла 25 м<sup>3</sup>/год розділили на дві рівні частини по 12,5 м<sup>3</sup>/год на один бродильний апарат.

Усереднені дані, що характеризують динаміку бродіння та показники дозрілої бражки, отримані з послідовним і паралельним заповненням бродильних апаратів за кожним способом наведено в табл.2.

Таблиця 2

**Динаміка збродження сусла за різних умов надходження сусла в бродильні апарати**

Показник	Почергове заповнення БА							Паралельне заповнення БА						
	Тривалість бродіння, год.													
	00	12	24	36	48	60	72	00	12	24	36	48	60	72
Концентрація сухих речовин, %	18,3	9,5	5,5	1,9	-0,2	-1,2	-1,2	18,1	7,3	2,2	-0,4	-1,2	-1,2	-1,2
Титрована кислотність, град.	0,17	-	-	-	-	-	0,42	0,14	-	-	-	-	-	0,9
Вміст спирту, %об.	0,0	5,0	7,3	9,4	10,0	10,3	10,5	0,0	7,3	9,5	10,6	10,7	10,7	10,7
Вміст незброджених цукрів, г/100см <sup>3</sup>	15,5	8,3	4,8	1,7	0,9	0,41	0,23	15,7	5,0	1,8	0,2	0,2	0,2	0,2
Нерозчинений крохмаль, г/100см <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-	0,06	-	-	-	-	0,02	0,02	0,02
Вміст гліцерину, г/100см <sup>3</sup>							1,17					0,82		

За однакової початкової концентрації сусла (18 % СР) швидкість споживання цукру дріжджами була вищою за одночасного заповнення двох бродильних апаратів. Концентрація сухих речовин уже на дванадцять годину була меншою на 28,5 % в порівнянні з почерговим заповненням. Така тенденція зберігалася впродовж всього періоду бродіння, і на 48 годину видима концентрація сухих речовин становила – 1,2 проти – 0,2 градуси за сахароміром та більше не змінювалася тобто тривалість бродіння була 48 годин проти 60

годин за почергового заповнення бродильних апаратів. Підвищення швидкості бродіння впродовж усього періоду сприяло більш повному дооцукрюванню декстринів і зростанню вмісту спирту у дозрілій бражці. Але і у цих дослідах підтверджена закономірність більш повільного утворення етилового спирту у порівнянні зі швидкістю споживання цукру.

Очевидно, що зменшення ступеню інгібування дріжджів надлишком субстрату обумовило зміну направленості їх метаболізму, зокрема зменшення утворення гліцерину та збільшення вмісту спирту на 0,2 % об. або його виходу на 1,9 %.

Згідно з класичними біохімічними уявленнями про спиртове бродіння [8], збільшення тривалості бродіння закономірно супроводжується певним підвищенням виходу спирту за рахунок більш повного відновлення оцтового альдегіду, як завершальної стадії хімічних перетворень цукрів в етиловий спирт.

#### **Висновки**

Результати наукових досліджень у виробничих умовах свідчать, що швидкість споживання цукрів дріжджами і утворення спирту з проміжних продуктів спиртового бродіння не співпадають у часі.

Збільшення тривалості бродіння від 4 до 6 годин після досягнення нормативних показників незброженого цукру сприяє закінченню біохімічного утворення спирту і збільшення його виходу.

Для зменшення інгібування дріжджів надлишком субстрату в періодичному процесі бродіння крохмалевмісної сировини доцільно зменшувати швидкість заповнення бродильних апаратів, наближаючи швидкість розбавлення середовища до швидкості росту дріжджів.

Показано, що зменшення швидкості заповнення бродильних апаратів у два рази скорочує термін бродіння на 30 % і збільшує вихід спирту на 19 %.

#### **Література**

1. Fakruddin M. D., Quayum A., Monzur M. A., Choudhury N., Analysis of Key Factors Affecting Ethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae* IFST-072011// *Biotechnology*.- 2012. – Vol. 11. - P. 248-252.
2. Шиян П.Л., Сосницький В.В., Олійнічук С.Т., Інноваційні технології спиртової промисловості. Теорія і практика / - К.: Видавничий дім "Асканія", 2009. - 424с.
3. В. А. Лосева, А. А. Ефремов, И. В. Квитко, Методы исследования свойств сырья и готовой продукции (теория и практика) : учебное пособие/ Федеральное агентство по образованию, ГОУ ВПО "Воронежская гос. технологическая акад.". - Воронеж : ВГТА, 2008. - 247 с.
4. Бойко Л.М. Физико - химические методы контроля бродильных производств. – Киев: Техника, 1986. – 192 с.
5. S. T. Oliynichuk Dependence of glycerol accumulation and starch hydrolyzates fermentation on wort concentration / S. T. Oliynichuk Т. I. Lysak, L. V. Marynchenko // *Biotechnol. acta*. - 2015. - №4. – с.128-134.
6. М. П. Сичевський, Біосинтез етилового спирту різними расами дріжджів в умовах підвищеної концентрації суслу / М. П. Сичевський, С. Т. Олійнічук, К.О.Данілова // Наукові доповіді НУБіП України. – 2016. - № 5(62) Режим доступу: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/7230/7009>
7. Типовий технологічний регламент одержання м'ясно-спиртової бражки і пресованих хлібопекарських дріжджів. №ТТР 000 32744 – 3508 – 2005. / Розроблено УкрНДІспиртбіопрод, 2005 р.
8. Маринченко В.О. та ін., Технологія спирту. / В.О.Маринченко, В.А.Домарецький, П.Л.Шиян, В.М.Швець, П.С. Циганков, І.Д. Жолнер. / Під ред. проф. В.О.Маринченка. – Вінниця: "Поділля-2000", 2003. –496 с.