

Биотехнология, бионанотехнология и технология сахаристых продуктов

УДК 637.52:576.852.24

Доцент А.Н. Яковлев,

(Воронеж. гос. ун-т инж. технол.) кафедра технологии бродильных производств
и виноделия, тел. (473) 255-37-32

ст. преподаватель С.Ф. Яковлева, профессор О.С. Корнеева,

студент Т.С. Ковалева

(Воронеж. гос. ун-т инж. технол.) кафедра микробиологии и биохимии,
тел. (473) 255-55-57

Применение мультиэнзимного комплекса при получении этилового спирта из проблемного сырья

Исследовано влияние комплексного ферментного препарата Брюзайм BGX на величину вязкости ржаного замеса. Показана динамика накопления массовой доли сухих и редуцирующих веществ в замесе, а также возможность снижения дозировки глюкоамилазы при использовании мультиэнзимного комплекса на стадии водно-тепловой обработки. Установлено, что применение мультиэнзимного комплекса на стадии водно-тепловой обработки позволяет увеличить содержание глюкозы в сусле на 34,7 % по сравнению с контролем, что повышает выход спирта на 1,4 дал /т условного крахмала, сокращает продолжительность брожения до 50 – 52 ч и уменьшает общее содержание примесей в зрелой бражке на 10 %.

Influence of the complex enzyme preparation of Bruzaim BGX on viscosity of a rye batter was probed. Dynamics of accumulation of a weight fraction of dry and reducing materials in a batter, and also possibility of decrease in a dosage glucoamilase is shown at using of multienzymic complex at a stage of water-thermal processing. It was set that multienzymic complex application on stages of water-thermal processing allows to increase the glucose maintenance in a wort by 34,7 % in comparison with the control that raises an alcohol yield on 1,4 dal/tonn conditional starch, reduces duration of fermentation till 50-52 h and reduces the general screenings content in a fermented wash by 10 %.

Ключевые слова: мультиэнзимный комплекс, ржаной замес, водно-тепловая обработка, процесс осахаривания, спиртовое брожение.

Одним из перспективных направлений спиртового производства является максимальное использование всех высокомолекулярных полимеров зернового сырья за счет применения мультиэнзимных комплексов с целью увеличения выхода спирта, а также совершенствование технологии переработки проблемного сырья с целью расширения сырьевой базы [4,5].

Рожь является проблемным сырьем для спиртового производства. Ржаные замесы и сусло имеют высокую вязкость из-за высокого содержания во ржи гемицеллюлоз. Переработка концентрированных ржаных замесов невозможна без применения ферментных препаратов, расщепляющих гемицеллюлозную фракцию зерна ржи.

Одним из перспективных направлений в совершенствовании технологии спирта из проблемного сырья является применение более совершенных схем водно-тепловой обработки сырья с использованием высокоэффективных ферментных препаратов, действующих на некрахмалистые полисахариды с целью сокращения расхода амилолитических ферментов, теплоэнергоресурсов, увеличения производительности технологического оборудования и выхода спирта. В связи с этой актуальной проблемой был проведен ряд исследований, целью которых являлось усовершенствование технологии получения этанола из ржи на основе применения мультиэнзимного комплекса на стадии водно-тепловой подготовки сырья.

В качестве сырья для проведения исследований использовали рожь, крахмалистостью 53 %, влажностью 14,5 %, помол со степенью измельчения 75 - 76 и 95 - 96 %. При водно-тепловой и ферментативной обработке замеса в качестве источника термолабильной α -амилазы использовали ферментный препарат Ликвамил 1200С, источника протеаз - протеолитический ферментный препарат GC-106. Для расщепления некрахмалистых полисахаридов использовали комплексный препарат Брюзайм BGX, содержащий ксиланазу и β -глюканазу.

Водно-тепловую обработку замеса проводили в три этапа: при температуре 50 – 55 °С выдерживали в течение 20 мин, затем нагревали до температуры 60 – 65 °С и выдерживали при этой температуре 40 мин, далее нагревали до температуры 70 – 75 °С и выдерживали 60 мин [6].

Осахаривание разваренной массы, полученной при оптимальном режиме водно-тепловой обработки, проводили ферментным препаратом глюкоамилазы Глюкозим Л - 400 С+ из расчета 6,0 ед. ГЛС на 1 г крахмала. В качестве контроля использовали разваренную массу, полученную с использованием только ферментного препарата Ликвамил 1200 С с дозировкой 1,0 ед. АС на 1 г крахмала. Осахаривание проводили при температурах 50-65 °С и pH 4,0-5,5 в течение 120 мин pH разваренной массы регулировали путем внесения в нее серной кислоты.

В процессе осахаривания изучали динамику накопления глюкозы в сусле глюкооксидажным методом в зависимости от температуры, pH и дозировки глюкоамилазы. Каждые 30 мин отбирали пробы для определения глюкозы [3].

Полученное сусло сбраживали дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* XII расы в течение 3 сут при температуре 28...30 °С. По окончании срока брожения в полученной бражке определяли объемную долю спирта и рассчитывали его выход, а также определяли содержание растворимых несброженных углеводов и нерастворенного крахмала.

Вязкость ржаных замесов обусловлена крахмалом, гемицеллюлозами и белками, которые в ходе водно-тепловой обработки набухают, при этом образуется комплекс, затрудняющий доступ ферментов к крахмальным гранулам, что приводит к снижению степени ферментативного гидролиза его до сбраживаемых сахаров. Изучали эффективность воздействия ферментов, действующих на некрахмалистые полисахариды, на вязкость замеса.

Максимальное значение вязкости соответствует контрольному образцу (без ферментов) и составляет около 20 Па·с ($t = 65$ °С). Ферментный препарат Ликвамил 1200С значительно снижает вязкость замеса на 56 и 72 % при дозировке фермента 0,5 и 1,0 ед. АС/г крахмала. При применении ферментного препарата Брюзайм BGX вязкость замеса снижается на 40 %, что связано с гидролизом ксилана и β -глюкана до низкомолекулярных фракций, повышающих подвижность замесов.

Реологические свойства замеса так же зависят от количества белка. При нагреве замеса белки набухают и наряду с крахмалом повышают вязкость. Ферментный препарат протеазы GC-106 позволяет снизить вязкость ржаного замеса по сравнению с контролем на 17,5 % (рис. 1). Снижение вязкости обусловлено гидролизом белков протеазой до пептидов и небольшого количества аминокислот.

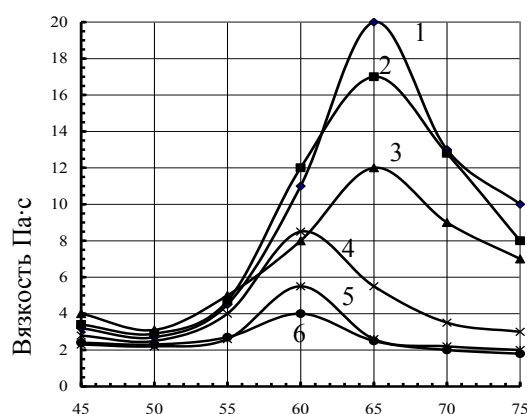


Рис. 1. Влияние температуры на вязкость ржаных замесов: 1 - контроль; 2 - GC-106 (0,2 ед. ПС/г крахмала); 3 - Брюзайм BGX (0,1 см³/кг крахмала); 4 - Ликвамил (0,5 ед. АС/г крахмала); 5 - Ликвамил (1,0 ед. АС/г крахмала); 6 - Ликвамил (0,5 ед. АС/г крахмала), Брюзайм BGX (0,02 единицы β -ГКС/г крахмала), GC-106 (0,2 ед. ПС/г крахмала)

Совместное действие мультиэнзимного комплекса снижает вязкость ржаного замеса на 78 % по сравнению с контролем, кроме того, применение ферментного препарата Брюзайм BGX и GC-106 позволяет уменьшить расход α -амилазы в 2 – 2,5 раза. Наблюдается плавное увеличение вязкости, отсутствуют резкие скачки. Это позволяет нагревать замес до высокой температуры и выдерживать его в течение времени, которое необходимо по технологическому режиму, перерабатывать высококонцентрированные замесы,

снижать расход теплоэнергоресурсов, увеличить производительность спиртового завода.

В процессе водно-тепловой обработки определяли массовую долю сухих веществ в замесе [3]. Накопление сухих веществ идет постепенно в течение всего анализируемого процесса и достигает максимального значения к концу водно-тепловой подготовки (табл. 1).

Таблица 1

Массовая доля сухих веществ в замесе на стадии водно-тепловой подготовки в зависимости от ее продолжительности

Продолжительность водно-тепловой подготовки, мин	Массовая доля сухих веществ, %		
	Ликва-мил (0,5 ед АС/г крахмала)	Ликва-мил (0,5 ед АС/г крахмала), Брюзайм (0,02 единиц β – ГкС/г крахмала)	Ликва-мил (0,5 ед АС/г крахмала), Брюзайм (0,02 единиц β – ГкС/г крахмала), GC-106 (0,2 ед ПС/г крахмала)
0	3,0	5,0	4,0
20	6,0	9,0	5,0
60	12,0	13,0	13,2
120	14,0	15,6	15,7
180	14,3	15,9	16,2
240	14,4	16,0	16,2
0	3,0	5,0	4,0

Из табл. 1 видно, что продолжительность процесса гидроферментативной обработки замеса можно ограничить 2-3 ч, после чего растворение сухих веществ мало заметно.

В зависимости от продолжительности ферментативной обработки массовая доля сухих веществ, переходящих в растворимое состояние, значительно увеличивается.

Внесение на стадии водно-тепловой обработки ферментов дополнительного действия приводит к увеличению массовой доли сухих веществ. С повышением концентрации сусла увеличивается производительность технологических аппаратов. Кроме того, это способствует снижению расхода основных ферментов на стадиях приготовления сусла.

В производстве этилового спирта стадия осахаривания является одной из основных. От качества проведения данного процесса зависит качество и выход конечного продукта, количество производственных потерь. В основе осахаривания лежит гидролиз крахмала разваренной

массы под действием ферментов осахаривающих средств [2].

Осахаривание разваренной массы проводили ферментным препаратом глюкоамилазы Глюкозим Л - 400 С+ из расчета 6,0 ед ГлС на 1 г крахмала. В качестве контроля использовали разваренную массу, полученную с использованием только ферментного препарата Ликва-мил 1200С с дозировкой 1,0 ед. АС на 1 г крахмала.

В процессе осахаривания изучали динамику накопления глюкозы в сусле глюкооксидным методом в зависимости от температуры, pH и дозировки глюкоамилазы [3]. Температура оказывает существенное влияние на процесс осахаривания. С повышением температуры увеличивается реакционная способность молекул субстрата. Максимальное накопление глюкозы наблюдается при температуре 60 °С и pH 4,5.

С увеличением дозировки глюкоамилазы возрастает концентрация фермента, а следовательно, и скорость гидролиза крахмала (рис. 2).

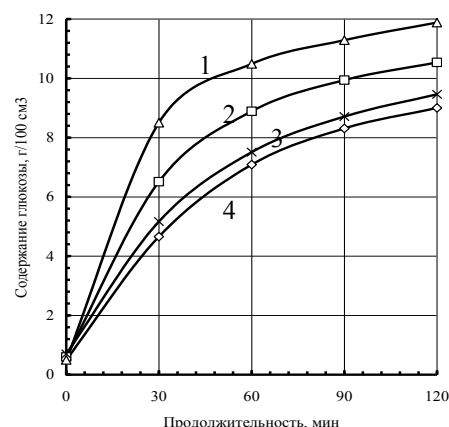


Рис. 2. Динамика накопления глюкозы в процессе осахаривания в зависимости от дозировки глюкоамилазы при температуре 60 °С и pH 4,5, ед ГлС на 1 г крахмала: 1 – 6,0; 2 – 5,0; 3 – контроль; 4 – 4,0.

При использовании мультиэнзимного комплекса наблюдается увеличение содержания глюкозы на 34,7 % по сравнению с контролем. Степень гидролиза крахмала увеличивается, потому что он становится более доступным для действия глюкоамилазы за счет растворения белковых и гемицеллюлозных оболочек. Из рис. 2 видно, что применение мультиэнзимного комплекса позволяет сократить расход глюкоамилазы до 4,0 ед ГлС на 1 г крахмала, вместо 6,0 ед ГлС на 1 г крахмала в контроле.

Процесс спиртового брожения является самым длительным, инерционным и наименее управляемым в технологической цепи производства спирта. Эффективность процесса спиртового брожения зависит, главным образом, от состава питательной среды, физиологических и технологических свойств, применяемых для этой цели дрожжей, способов сбраживания среды [6].

Характер брожения наглядно иллюстрирует рис. 3.

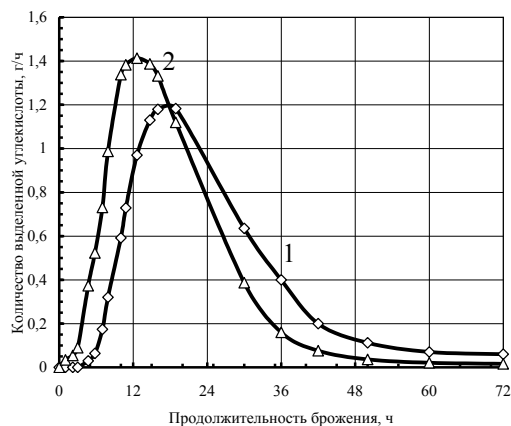


Рис. 3. Кинетика процесса сбраживания ржаного сусла: 1 – контроль; 2 – опыт

Как видно из рис. 1-3, при сбраживании сусла различаются три периода. Первый период – возбуждение – протекает несколько часов: контроль 6 – 8 ч; опыт 3 – 4 ч. В этот период идет размножение дрожжей, накопление их биомассы и медленно начинается превращение сахаров в спирт и углекислоту. Продолжительность возбуждения в опыте в 2 раза короче, чем в контроле, что связано с более сбалансированной питательной средой для дрожжей в опытных образцах сусла.

Второй период – главное брожение. В этот период происходит быстрое сбраживание сахаров и интенсивное накопление спирта. Сбраживается основная часть сахаров, содержащихся в сусле.

Период главного брожения в контрольных пробах продолжается 24 – 26 ч и при этом сбраживается до 90 % сахаров, содержащихся в сусле, а в контроле – 26 – 28 ч, при этом сбраживается всего 75 – 80 % сахаров, содержащихся в сусле.

Третий период – дображивание. В этот период происходит доосахаривание декстринов и крахмала ферментами, содержащимися в бражке до сбраживаемых сахаров и сбражива-

ние полученных сахаров в спирт и углекислоту. Продолжительность стадии зависит от активности ферментов и дрожжей.

Общая продолжительность брожения в контрольной пробе составила 68 – 70 ч, в опытной пробе 50 – 52 ч. Брожение в опытной пробе протекает более интенсивно. Это объясняется тем, что при использовании комплекса ферментов, содержащего протеолитический фермент, происходит гидролиз белкового комплекса зерна ржи до пептидов и аминокислот, в результате чего сусло обогащается дополнительным азотистым питанием [1]. В образце степень гидролиза крахмала выше, чем в контрольном, тем самым сокращается продолжительность стадии дображивания, а в целом и весь процесс брожения.

По окончании срока брожения в полученной бражке определяли объемную долю спирта и рассчитывали его выход, а также определяли содержание растворимых несброженных углеводов и нерастворенного крахмала. Полученные данные представлены в табл. 2 [3].

Т а б л и ц а 2
Показатели зрелой бражки

Показатели	Контроль	Дозировка ферментных препаратов на тонну крахмала		
		GC-106, 0,2·10 ⁶ ед.	Брюзайм BGX, 0,06 дм ³	GC-106, 0,2·10 ⁶ ед.; Брюзайм BGX, 0,06 дм ³
Объемная доля спирта, % об	7,8	8,4	8,2	8,8
Содержание растворимых несброженных углеводов, г/100см ³	0,40	0,20	0,35	0,18
Содержание нерастворенного крахмала, %	0,12	0,09	0,10	0,08
Наращение титруемой кислотности, град	0,2	0,15	0,18	0,15
Выход спирта, дал/т усл. крахмала	65,6	66,3	66,1	66,7
Продолжительность	70,0	60,0	65,0	55,0

брожения, ч				
-------------	--	--	--	--

Из табл. 2 видно, что в опытном образце наблюдается увеличение выхода спирта по сравнению с контролем на 1,4 дал /т условного крахмала. Это объясняется тем, что при использовании комплекса ферментов уменьшается количество вторичных продуктов, наиболее полно сбрасываются углеводы сусла за счет более полного и глубокого гидролиза крахмала и высокой бродильной активности дрожжей.

Применение ферментных препаратов, действующих на некрахмалистые полисахариды, приводит к увеличению выхода спирта за счет гидролиза β -глюкана сырья до глюкозы.

В обычных условиях спиртового брожения из глюкозы под действием ферментативного комплекса дрожжей образуются побочные продукты: альдегиды, эфиры, высшие спирты, органические кислоты и другие соединения.

Содержание примесей определяли в отгонах зрелой бражки газохроматографическим методом (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

Содержание летучих примесей в зрелой бражке

Летучие примеси, % об.	Контроль	Опыт
Ацетальдегид	0,0035	0,0019
Этилацетат	0,0066	0,0031
Метанол	0,0085	0,0079
Пропанол	0,0061	0,0032
Изопропанол	0,0012	0,0011
Изобутанол	0,014	0,015
Изоамилол	0,032	0,034
Общее количество примесей	0,0719	0,0662

В опытном образце по сравнению с контролем снижается содержание ацетальдегида, этилацетата, метанола, пропанола и изопропанола, и несколько увеличивается содержание изобутанола и изоамилола. Общее количество примесей в опытном образце на 10 % меньше, чем в контроле, что в дальнейшем облегчает ректификацию и позволяет получить готовую продукцию более высокого качества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жеребцов, Н.А. Биохимия [Текст] / Н.А. Жеребцов, Т.Н. Попова, В.Г. Артюхов. – Воронеж: ВГУ, 2002. – 696 с.
2. Жеребцов, Н.А. Ферменты: их роль в технологии пищевых продуктов [Текст]: учебное пособие / Н.А. Жеребцов, О.С. Корнеева, Е.Д. Фараджева. – Воронеж: ВГУ, 1990. – 120 с.
3. Польшалина, Г.В. Технохимический контроль спиртового и ликеро-водочного производств [Текст] / Г.В. Польшалина. – М.: Колос, 1999. – 336 с.
4. Римарева, Л. В. Состояние и перспективы развития современных технологий в спиртовом производстве [Текст] / Л. В. Римарева // Производство спирта и ликеро-водочных изделий. - 2005. - № 2. - С. 4-6.
5. Римарева, Л.В., Мультиэнзимные системы в производстве спирта [Текст] / Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко, Н.И. Игнатова, А.Т. Кадиева // Производство спирта и ликеро-водочных изделий. -2004. -№ 3. -С. 22 – 24.
6. Яровенко, В. Л. Технология спирта [Текст] / В. Л. Яровенко, В. А. Маринченко, В. А. Смирнов [и др.]; под общ. ред. В.Л. Яровенко. – М.: Колос, 2002. – 464 с.