

УДК 663.531

КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗЕРНОВЫХ ЗАТОРОВ, ОСАХАРЕННЫХ ФЕРМЕНТАМИ ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ И СОЛОДА

М.Б. Хоконова, О.К. Цагоева

Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова, Нальчик, Россия

Ферменты плесневых грибов и бактерий в ближайшее время находят широкое применение на спиртовых заводах, перерабатывающих крахмалистое сырье [4].

По характеру технологического процесса спиртовое производство является биохимическим, так как основано на действии ферментов солода, катализирующих гидролиз крахмала с образованием простых сахаров, которые посредством дрожжей превращаются в этиловый спирт. Ранее считалось, что ферментами являются дрожжи, вызывающие брожение [2].

Осахаривание крахмала экстрактами из проросшего зерна можно считать началом сознательного применения ферментов.

В связи с этим целью данной работы являлось изучение качественных показателей полученных заторов с использованием различных ферментов и солода в спиртовом производстве.

По мере повышения температуры реакционная способность ферментов сначала увеличивается, а затем, пройдя определенный уровень, начинает быстро снижаться [3].

Температурный оптимум ферментов амилолитического комплекса приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Оптимальные условия жизнедеятельности ферментов

| Ферменты | Оптимальные | |
|--|-------------|-----------------|
| | pH | температура, °C |
| Амилаза | 4,5–5,5 | 50 |
| Мальтоза | 4,5–4,7 | 58–62 |
| Декстриназа | 4,5–6,5 | 58–62 |
| Суммарное действие по степени осахаривания | 4,7–5,1 | 58–61 |

По полученным данным видно, что мальтоза и декстриназа относительно наиболее стабильны.

В процессе осахаривания крахмалистого сырья ферментами гриба гидролиз крахмала не заканчивается в осахаривателе, а проходит в основном во время брожения. Поэтому полнота осахаривания крахмала в осахаривателе для последующего сбраживания и выхода спирта не имеет принципиального значения.

В таблице 2 приведена активность ферментов в культурах плесневых грибов рода *Aspergillus*.

Таблица 2 – Активность ферментов в культурах плесневых грибов рода *Aspergillus* при поверхностном методе выращивания

| Виды грибов | Состав среды | Активность ферментов сухой среды | | |
|--|------------------------------------|----------------------------------|---------------|------------|
| | | амилазная | декстриназная | мальтазная |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | Пшеничные отруби | 37,1 | 240 | 22 |
| | Барда-дробина | 5,1 | 120 | 3,4 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | | 45 | 240 | 26 |
| <i>Aspergillus niger</i> | Пшеничные отруби | 1,2 | 300 | 78 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> И-475 | | 124 | 665 | - |
| <i>Aspergillus awamori</i> | | 16 | 400 | 57 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> (средние данные) | Картофельная мезга, отруби, ростки | 26 | 283 | - |
| <i>Aspergillus oryzae</i> К.С. | Пшеничные отруби | 44 | 250 | - |
| <i>Aspergillus awamori</i> | | 11 | 625 | 103 |
| <i>Aspergillus oryzae</i> 153 | | 43 | 326 | 33 |

Оптимальная (50 °C) температура осахаривания крахмалистых заторов ферментами гриба обеспечивает длительное сохранение активности амилазы и декстриназы. Дополнительная проверка показала, что повышение температуры осахаривания до 58 и даже 62 °C не ухудшает ни одного показателя брожения, но с точки зрения стерильности заторов эти температуры неравнозначны. Низкие температуры (от 50 до 55 °C) способствуют развитию инфекций и слабо влияют на процесс клейстеризации нерастворимого крахмала сырья; выше 58 °C – могут вызвать инактивацию ферментов. Поэтому принята температура осахаривания 57–58 °C, длительность брожения при этом составляет около 62 час.

Следует применять культуру с такой активностью ферментов, которая могла бы обеспечить гидролиз крахмала основного затора на 70–80 %. Некоторые авторы считают, что в производстве необходимо получить амилазу, обеспечивающую превращение не ниже 20 % растворимого крахмала в продукты гидролиза [6]. Практически установлено, что на 1 г зерна достаточно прибавлять 50 кг культуры с активностью 20 ед./г АС, а на 1 г крахмала вносится 2000 ед./кг АС и 10 ед./кг ДС, которые обеспечивают полное осахаривание крахмала сырья. Однако в производственных условиях расход поверхностной культуры фактически составлял около 7 %, по весу зерна. В зависимости от активности расход грибной культуры может колебаться в определенных пределах [1].

Состав среды играет важную роль в защите многих ферментов от инактивации, вызываемой температурой. Например, установлено, что причиной инактивации при нагревании солодовых вытяжек является коагуляция белка. Если в среде находятся сахара или пептон, то они препятствуют коагуляции и этим защищают амилазу от инактивации [5]. Но даже в течение часа и при температуре 55 °C степень осахаривания крахмала не превышает 51 % и может изменяться от концентрации вносимых ферментов. В таблице 3 дана характеристика затора, осахаренного глубинной культурой *Aspergillus niger* S-4 в течение 5 минут при 55 °C.

Таблица 3 – Характеристика затора, осахаренного глубинной культурой *Aspergillus niger*

| Объем грибной культуры, % | pH | Концентрация сухих веществ, % | Мальтозы, г / 100 мл | Редуцирующих веществ, г / 100 мл | % осахаривания |
|---------------------------|-----|-------------------------------|----------------------|----------------------------------|----------------|
| 5 | 5,9 | 15,0 | 5,02 | 12,88 | 41 |
| 10 | 5,9 | 14,6 | 5,48 | 12,57 | 46 |
| 15 | 5,8 | 14,0 | 6,60 | 12,26 | 61 |

Дальнейший процесс гидролиза происходит при брожении. Следовательно, продолжительность осахаривания не влияет на конечные результаты брожения. Оптимальные условия при осахаривании заторов, необходимы не столько для обеспечения наибольшего количества продуктов гидролиза крахмала в осахаривателе, сколько для сохранения максимальной активности ферментов.

Повышение температуры от 30 до 65 °С в момент внесения в разваренную массу глубинной культуры гриба повышает скорость и улучшает показатели брожения, причем длительность контакта ферментов с субстратом должна быть минимальной. Наилучшие результаты получены при температуре 60–65 °С (табл. 4).

Таблица 4 – Качественные показатели брожения в различных температурных пределах

| Показатели брожения | Температура, °С | | | | | | |
|--------------------------------|-----------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| | 30 | 50 | 55 | 60 | 65 | 70 | 75 |
| Отброд, град | 1,3 | 1,3 | 1,3 | 1,3 | 1,3 | 1,3 | 1,4 |
| Кислотность, град. | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| pH | 5,1 | 5,1 | 5,1 | 5,1 | 5,1 | 5,1 | 5,0 |
| PВ до гидролиза, г / 100 мл | 0,63 | 0,63 | 0,57 | 0,40 | 0,53 | 0,54 | 0,43 |
| PВ после гидролиза, г / 100 мл | 1,66 | 1,53 | 1,63 | 1,61 | 1,56 | 1,60 | 1,60 |
| Пентозы, % | 1,22 | 1,12 | 1,25 | 1,19 | 1,18 | 1,18 | 1,03 |
| PВ без пентоз, г / 100 мл | 0,44 | 0,41 | 0,38 | 0,42 | 0,38 | 0,42 | 0,57 |
| Остаточный крахмал, г / 100 мл | 0,05 | 0,03 | 0,06 | 0,03 | 0,03 | 0,18 | 0,18 |
| СО ₂ , г | 11,0 | 11,12 | 11,0 | 11,17 | 11,22 | 10,76 | 10,50 |

Активность глубинной культуры составляла по амилазе 25 ед./100 мл, декстриназе 1650 ед./100 мл, мальтозе 215 ед./100 мл, расход культуры – 5 % к объему разваренной массы.

После разваривания сырья следует охладить массу до нужной температуры и сразу же внести небольшое количество (около 5 %, от потребного) глубинной культуры для разжижения. Остальная, наибольшая часть культуры подается в трубчатый осахариватель второй ступени, в котором масса находится 3–5 мин. при 65 °С; расход глубинной культуры 15 %, к объему бражки.

Такой режим осахаривания обеспечил хорошие технологические показатели (табл. 5); выход спирта составил 102 % к нормативному.

Таблица 5 – Качественные показатели разваренной и осахаренной массы с использованием ферментов

| Разваренная масса, % | | Длительность брожения, час. | Отброд, % | | Кислотность, град. | | PВ, г / 100 мл | | | Остаточный крахмал | Спирт, % об. |
|----------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------|-------------|--------------------|----------|----------------|-----------------|-------------------|--------------------|--------------|
| концентрация, % | осахаривающая способность, мл | | плановый | фактический | начальная | конечная | до гидролиза | после гидролиза | за вычетом пентоз | | |
| 15,4 | 3,2 | 48 | 1,4 | 1,7 | 0,35 | 0,4 | 0,90 | 1,51 | 0,46 | 0,09 | 9,2 |
| 15,4 | 3,2 | 60 | 1,4 | 1,5 | 0,35 | 0,4 | 0,96 | 1,41 | 0,36 | 0,07 | 9,3 |
| 15,4 | 3,2 | 70 | 1,4 | 1,5 | 0,35 | 0,4 | 0,92 | 1,38 | 0,33 | 0,06 | 9,4 |

В производственных и даже лабораторных условиях активность грибной культуры колеблется в заметных пределах вследствие физиологического состояния и активности самой посевной культуры.

Состав питательной среды также не постоянен. Возникают затруднения в установлении оптимальной дозировки глубинной культуры для осахаривания сырья. Кроме того, даже увеличенный расход малоактивной культуры часто не обеспечивает хороших показателей брожения. Такое «несоответствие» сохраняется и при расходе различных культур, дозировки которых выровнены по единицам активности (табл. 6).

Таблица 6 – Норма расхода и показатели качества различных ферментных препаратов

| Ферменты | Кол-во культуры, % к объему | Активность фермента, ед. | Сухое вещ-во бражки, % по сахарометру | pH | Кислотность, ° Д | PВ, г / 100 мл | PВ без пентоз, г / 100 мл | Остаточный крахмал, г / 100 мл | Выделилось CO ₂ , г |
|-------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------------------|-----|------------------|----------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Амилаза | | 15 | | | | | | | |
| Декстриназа | 5 | 1680 | 1,3 | 5,2 | 0,3 | 1,51 | 0,33 | 0,03 | 11,2 |
| Мальтаза | | 350 | | | | | | | |
| Амилаза | | 37 | | | | | | | |
| Декстриназа | 10 | 1205 | 1,1 | 5,1 | 0,3 | 1,46 | 0,24 | 0,00 | 11,3 |
| Мальтаза | | 240 | | | | | | | |
| Амилаза | | 14 | | | | | | | |
| Декстриназа | 20 | 475 | 2,5 | 5,1 | 0,3 | 2,48 | 1,34 | 0,23 | 9,4 |
| Мальтаза | | 83 | | | | | | | |

Если вести осахаривание той же культурой, но с активностью по амилазе 37, декстриназе 1205 и мальтазе 240 ед./100 мл в количестве 10, 15 и 20 %, то во всех трех вариантах опыта в зрелой бражке отсутствует остаточный крахмал; содержание редуцирующих веществ без пентоз по мере повышения расхода культуры соответственно снижается, а при расходе 20 % культуры редуцирующие сахара в бражке вообще отсутствуют. При указанных нормах расхода глубинной культуры гриба осахаривание проходит полно, но за 72 часа, не все сахара успевают сбродить. Осахаривание заторов при внесении 8 % глубинной культуры гриба *Aspergillus usarii* 45 с активностью по амилазе 56, декстриназе 2680 и мальтазе 720 ед./100 мл обеспечивает брожение по показателям (табл. 7).

Таблица 7 – Осахаривание заторов различными ферментными препаратами

| Штамм гриба | Процент грибной культуры для осахаривания | Выделилось CO ₂ , за | | Содержание спирта за | | Кол-во несброженных углеводов, г / 100 мл | | |
|---------------------------------|---|---------------------------------|---------|----------------------|---------|---|--------------------|---------|
| | | 65 час. | 72 час. | 65 час. | 72 час. | до гидролиза | после гидролиза за | |
| | | | | | | 72 час. | 65 час. | 72 час. |
| <i>Aspergillus usarii</i> 45 | | 15,5 | 15,7 | 15,4 | 15,7 | 0,62 | 1,2 | 1,1 |
| <i>Aspergillus batatae</i> 3859 | 4 | 14,5 | 14,8 | 14,6 | 15,0 | 0,64 | 2,0 | 1,4 |
| <i>Aspergillus niger</i> S-4 | | 14,2 | 14,9 | 13,4 | 14,3 | 0,71 | 2,2 | 1,8 |
| <i>Aspergillus usarii</i> 45 | | 15,9 | 16,1 | 15,8 | 16,0 | 0,53 | 1,0 | 1,0 |
| <i>Aspergillus batatae</i> 3859 | 8 | 15,0 | 15,5 | 14,8 | 15,5 | 0,62 | 1,8 | 1,2 |
| <i>Aspergillus niger</i> S-4 | | 14,5 | 14,7 | 14,8 | 15,3 | 0,62 | 1,9 | 1,1 |
| <i>Aspergillus usarii</i> 45 | | 15,6 | 16,4 | 16,4 | 16,5 | 0,53 | 0,9 | 0,8 |
| <i>Aspergillus batatae</i> 3859 | 12 | 14,9 | 15,5 | 15,5 | 15,8 | 0,58 | 1,4 | 1,1 |
| <i>Aspergillus niger</i> S-4 | | 14,4 | 15,1 | 14,8 | 15,5 | 0,60 | 1,4 | 1,2 |

Хорошие результаты получены при осахаривании за 72 часа и при расходе 4 % глубинной культуры.

Сопоставление результатов сбраживания зерновых заторов, осахаренных ферментами глубинной культуры и солода, показало преимущество ферментного комплекса микробного происхождения (табл. 8).

Таблица 8 – Показатели качества при сбраживании зерновых заторов, осахаренных ферментами глубинной культуры и солода

| Источники амилазы | Внесено сбраживаемых углеводов | Выделилось CO ₂ | Спирт | Сухие вещ-ва бражки, % по сахарометру | Сахар-глюкоза | | Остаточный крахмал |
|--|--------------------------------|----------------------------|-------|---------------------------------------|---------------|-----------------|--------------------|
| | | | | | без гидролиза | после гидролиза | |
| Культура <i>Aspergillus niger</i> (25 %) | 31,8 | 14,8 | 15,2 | 0,4 | 1,95 | 1,98 | 0,04 |
| Солод (ячменный и просяной) | 31,8 | 14,6 | 14,8 | 0,7 | 1,50 | 1,90 | 0,94 |

Все показатели брожения при использовании грибной культуры оказались относительно лучшими, чем с солодом. Ферменты грибной культуры практически полностью гидролизуют крахмал перерабатываемого сырья, в зрелой бражке его остается 0,08 %, к весу исходного сырья, а при использовании активной культуры он совершенно отсутствует. При сбраживании заторов, осахаренных солодом, содержание остаточного крахмала в зрелой бражке составляет уже 1,9 %, к весу перерабатываемого сырья.

Таким образом, микроорганизмы, как богатый источник различных ферментов, имеют огромное значение в деле совершенствования технологических процессов спиртового производства. Преимущества применения культур плесневых грибов взамен солода следующее: высвобождается кондиционное зерно, расходуемое на приготовление солода; потери крахмала, имеющие место при солодоращении, устраняются; длительность процесса выращивания гриба 42–65 час., вместо 8–10 суток для получения зеленого солода. Эффективность и целесообразность применения ферментов микробов нуждается в трех катализаторах: амилазе, мальтозе и декстриназе.

ЛИТЕРАТУРА

Балашов В.Е. Практикум по расчетам технологического оборудования предприятий бродильной промышленности [Текст]: учебник / В.Е. Балашов, И.Т. Кретов, С.Т. Антипов. – М.: Агропромиздат, 1988. – 118 с.

Качмазов Г.С. Дрожжи бродильных производств: практическое руководство / Г.С. Качмазов; – СПб.: Лань, 2012. – 224 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://e.lanbook.com>

Спиртовая, дрожжевая и ликероводочная промышленность [Текст]: Обзорная информация / В.П. Леденев и др. Выпуск 5. – М.: АгроНИИТЭИПП, 1992. – 40 с.

Хоконова М.Б. Анализ сырья для производства пищевого спирта [Текст]: Известия Кабардино-Балкарского ГАУ / М.Б. Хоконова, А.А. Портов. – Нальчик: КБГАУ, № 1 (19), 2018. С. 45–49.

Экономические и экологические проблемы выбора технологии переработки (утилизации) отходов производства биоэтанола [Текст]: научное издание / Э.Ю. Ашхотов [и др.]. – Нальчик: Издательство М. и В. Котляровых, 2009. – 172 с.

Яровенко В.Л. Технология спирта [Текст]: учебник / В.Л. Яровенко – М.: Легкая и пищевая промышленность, 2006. – 348 с.