

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ-АССОЦИАНТОВ РИСОВОГО ГРИБА В СПИРТОВОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

Е.А. Цед

Изучены технологические свойства новых для спиртового производства дрожжей-ассоциантов *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* CD, выделенных из рисового гриба. Показана возможность и целесообразность их использования для получения пищевого этанола.

Введение

Производство пищевого этилового спирта представляет собой классическую биотехнологию, основанную на процессах спиртового брожения. Оно происходит в результате жизнедеятельности дрожжей, от бродильной активности которых напрямую зависит не только выход целевого продукта – этанола, но и формирование заданных показателей его качества.

Одним из современных направлений развития спиртового производства является проведение сбраживания спиртового сусла при повышенных температурах, поскольку известно, что именно температура оказывает существенное влияние на ускорение процесса спиртового брожения, связанное с активизацией метаболизма дрожжевых клеток. Одним из наиболее доступных методов получения новых продуктивных рас микроорганизмов, которому в отечественной промышленности не уделялось должного внимания, является выделение активных популяций из природных источников, что позволит создавать современные прогрессивные технологические решения интенсификации процессов брожения. В связи с этим изыскание новых физиологически активных рас дрожжей, обладающих высокими технологическими свойствами, является весьма актуальным и значимым.

Одним из природных комплексных источников микроорганизмов является биокультура, известная под названием рисовый гриб. Он представляет собой сложную ассоциацию микроорганизмов различных таксономических групп – дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi*, *Pichia membranifaciens* Hansen, молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Leuconostocmes enteroides* subsp. *dextranicum* и уксуснокислых бактерий *Acetobacter acetii* [1].

Ранее нами было установлено [1], что дрожжи *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* CD как ассоцианты биокультуры рисового гриба способны сбраживать целый спектр углеводов – глюкозу, сахарозу, мальтозу, раффинозу, входящих в состав спиртового сусла, что дает основание предполагать возможность их использования в спиртовом производстве.

Целью настоящей работы явилось изучение главных технологических свойств новых, ранее не применявшихся для получения этилового спирта дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi*, применительно к условиям спиртового производства.

Результаты исследований и их обсуждение

Исследования проводили в лабораторных и производственных условиях. Объектом исследования служили дрожжи-ассоцианты *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD, для которых определились следующие технологические свойства – оптимальная температура развития, осмофильность, режимы хранения в лабораторных условиях.

Материалом исследований являлось ржаное сусло с концентрацией сухих веществ 16 %, которое получали по низкотемпературным режимам механико-ферментативной схемы [2]: гидромодуль 1:3,5, первый подогрев замеса с внесением амилолитического ферментного препарата (Термамил) происходил до температуры 52 °С – 55 °С и выдержкой при ней в течение 20 мин; второй – до температуры 60 °С и выдержкой при ней в течение 30 мин; третий – до температуры 70 °С с выдержкой в течение 120 мин, четвертый – до температуры 90 °С с выдержкой в течение 40 мин. Затем замес охлаж-

дали до температуры 56 °С, вносили ферментный препарат глюкоамилазного спектра действия (Глюкаваморин) и проводили осахаривание в течение 30 мин, контролируя при этом полноту осахаривания по йодной пробе.

Для определения режимов хранения дрожжей-ассоциантов *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi CD в лабораторных условиях использовали классическую стандартную питательную сусло-агаровую среду с содержанием сухих веществ 8 % и значением рН – 5,6–6,0 [3].

Микробиологические показатели в дрожжах определяли общепринятыми в пищевых производствах методами [3]: общую концентрацию дрожжевых клеток с помощью камеры Горяева; содержание мертвых клеток в дрожжах – по окраске метиленовой синью; жизнеспособность дрожжей – по разности между общим количеством клеток и содержанием количеством в них мертвых особей.

Оценку физико-химических показателей зрелой бражки проводили согласно Инструкции по теххимическому и микробиологическому контролю спиртового производства [4]; концентрацию этилового спирта и состав летучих компонентов зрелой бражки определяли хроматографическим методом с использованием газового хроматографа с пламенно-ионизационным детектором [5].

Для определения температурных оптимумов роста дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishirasы CD в подготовленное по вышеуказанным режимам спиртовое сусло вносили чистую культуру исследуемых дрожжей и термостатировали в диапазоне температур от 20 до 45 °С в течение суток, по истечении которых определяли общее количество дрожжевых клеток. На рисунке 1 показана зависимость концентрации клеток расы CD от температуры культивирования их на спиртовом сусле.

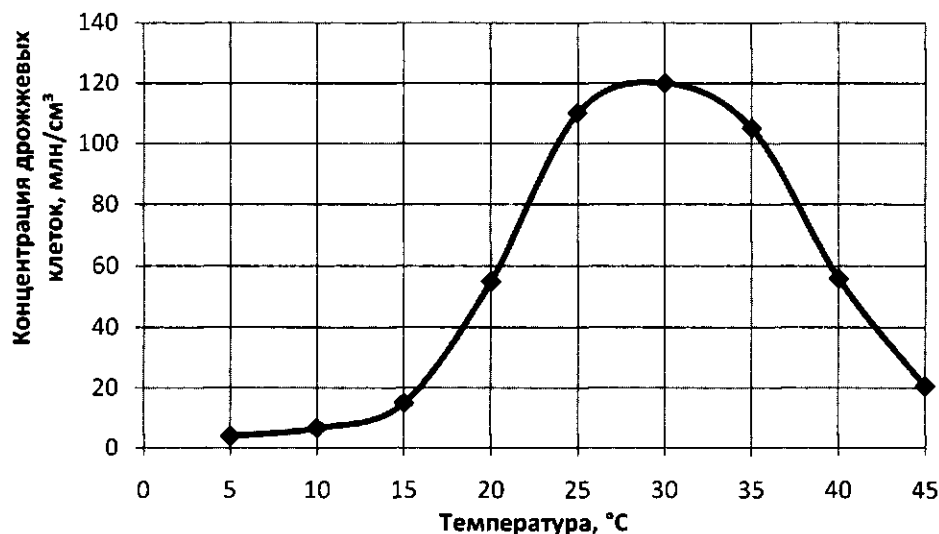


Рисунок 1 – Влияние температуры на концентрацию дрожжевых клеток расы CD при их культивировании на спиртовом сусле

Как видно из рисунка 1, температура культивирования влияет на накопление дрожжевых клеток расы CD, причем наибольшая их концентрация 110–120 млн/см³ отмечалась в диапазоне температур 25 °С – 30 °С.

Известно, что оптимальные температуры роста и брожения у дрожжевых клеток не всегда совпадают [6]. Учитывая это, необходимо было исследовать оптимальную температуру брожения новых дрожжей расы CD. Для этого их вносили в стерильное спиртовое сусло и выдерживали в диапазоне температур от 20 °С до 40 °С в течение трех суток, по истечении которых определяли концентрацию образовавшегося этилового спирта (рисунок 2).

Как видно из рисунка 2, максимальное накопление этанола в концентрации 8,0 %об. наблюдалось при температуре 35 °С, что свидетельствует о присущих изучаемым дрожжам расы CD термотолерантных свойств. Таким образом, оптимальной температурой роста дрож-

жей расы CD на спиртовом сусле является температура 25 °С – 30 °С, оптимальной температурой брожения – 30 °С – 35 °С.

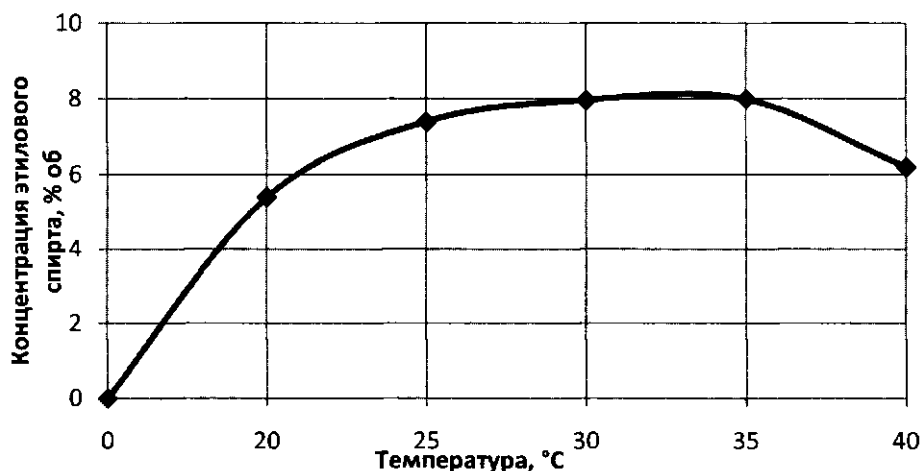
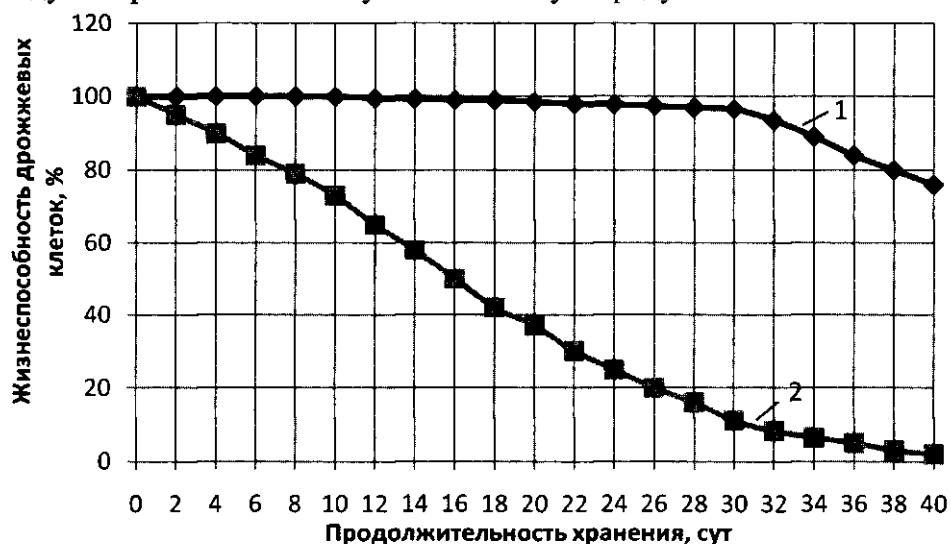


Рисунок 2 – Влияние температуры на накопление этилового спирта при культивировании дрожжей расы CD в спиртовом сусле

Для определения параметров хранения изолированной из рисового гриба чистой культуры расы CD в лабораторных условиях на сусло-агаровой среде исследовали два температурных режима: первый – при температуре 4 °С – 6 °С (условия холодильника) и второй – при температуре 18 °С – 22 °С (комнатные условия). Жизнедеятельность изучаемой культуры проверяли в течение 40 сут по количеству жизнеспособных клеток. На рисунке 3 показано влияние режимов хранения на жизнеспособность дрожжей расы CD. Было установлено, что оптимальной продолжительностью хранения дрожжей расы CD является 30 суток при температуре 4 °С – 6 °С, так как после этого срока количество жизнеспособных клеток резко снижается и культуру следует пересевать на свежую питательную среду.



1 – первый режим хранения, 2 – второй режим хранения

Рисунок 3 – Влияние режимов хранения на жизнеспособность дрожжей расы CD

Одним из требований, предъявляемых к современным расам спиртовых дрожжей, является их способность переносить повышенные концентрации сухих веществ, от которых в значительной степени зависит крепость зрелой бражки [7]. В связи с этим необходимо было исследовать влияние концентрации сухих веществ в спиртовом сусле на развитие дрожжей расы CD и накопление ими этилового спирта.

Для этого чистую культуру исследуемых дрожжей вносили в спиртовое сусло с концентрацией сухих веществ сусле в диапазоне от 16 % до 22 % и выдерживали при определенной

нами оптимальной температуре брожения 35 °С в течение трех суток. По истечении срока ферментации в образцах определяли концентрацию образовавшегося этилового спирта. На рисунке 4 показано зависимость накопления этилового спирта дрожжами CD от содержания сухих веществ в сусле.

Как видно из рисунка 4, с увеличением сухих веществ в сусле до 20 % наблюдалось возрастание концентрации этанола до 10 %об. При дальнейшем увеличении (до 22 %) концентрации сухих веществ отмечалось некоторое снижение количества этилового спирта (9,80 – 9,89 %об.), однако эти значения превышали таковые при использовании сусла с концентрацией сухих веществ 16 %–18 %.



Рисунок 4 – Влияние содержания сухих веществ сусла на накопление дрожжами расы CD этилового спирта

Таким образом, полученные результаты показывают наличие у исследуемых дрожжей осмофильных свойств.

С целью определения эффективности процесса брожения, осуществляемого изучаемыми дрожжами *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi расы CD, их в количестве 10 % вносили в ржаное спиртовое сусло с концентрацией сухих веществ 18 % и осуществляли процесс брожения в течение трех суток при температуре 32 °С. По истечении указанного срока ферментации проводили оценку качества зрелой бражки по следующим показателям: концентрации этанола и несброженных углеводов, содержанию видимых и действительных сухих веществ, кислотности. В качестве контроля использовали классические спиртовые дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* расы 12 (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели качества зрелой бражки, полученной с использованием новых для спиртового производства дрожжей-ассоциантов

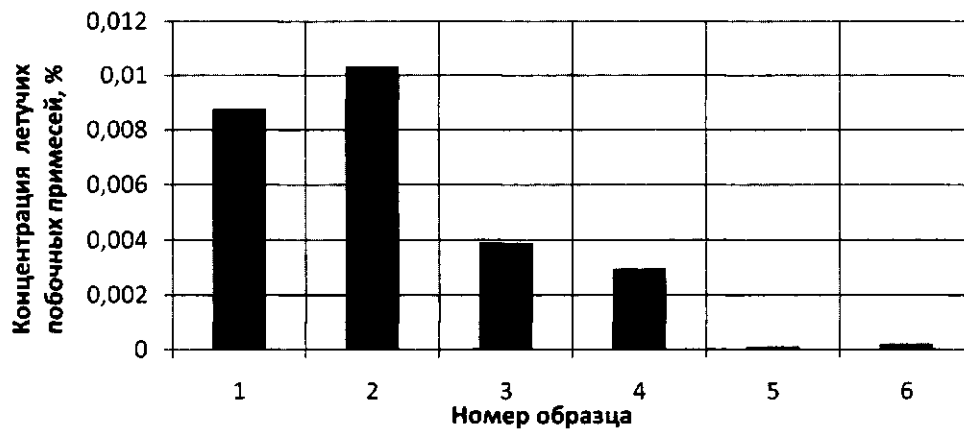
Наименование показателей	Дрожжи расы 12 (контроль)	Дрожжи расы CD
Этиловый спирт, % об	8,6±0,1	8,9±0,1
Видимые сухие вещества, %	1,7±0,1	1,4±0,1
Действительные сухие вещества, %	3,2±0,1	2,8±0,1
Содержание растворимых несброженных углеводов, г/100 см ³	0,39±0,01	0,35±0,01
Титруемая кислотность, град °	0,53±0,02	0,52±0,02

Как показывают результаты исследований, зрелая бражка, приготовленная на основе изучаемых дрожжей, по сравнению со зрелой бражкой, полученной с использованием дрожжей классической расы 12, отличалась более высокой крепостью (8,9 против 8,6 %об.), меньшим содержанием несброженных углеводов (0,35 против 0,39 г/100 см³), меньшей концентрацией

видимых и действительных сухих веществ (1,4 и 2,8 против 1,7 и 3,2 % соответственно).

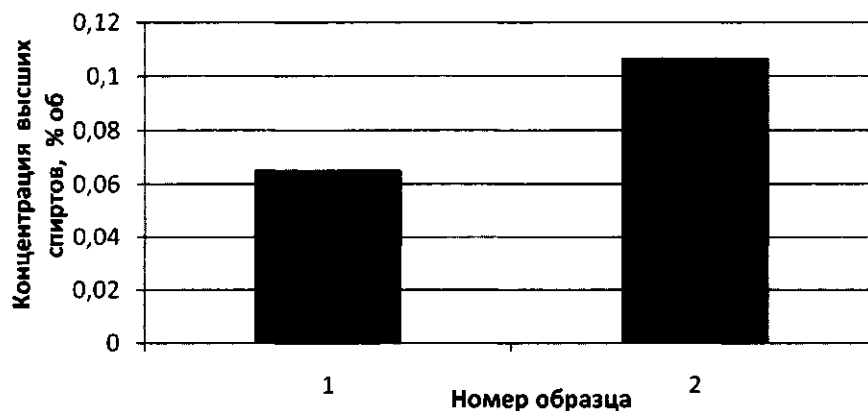
Высокие показатели качества зрелой бражки свидетельствует об эффективности процесса брожения спиртового сула, вызываемого выделенными из рисового гриба дрожжами-ассоциантами *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishipасы CD.

Нами был исследован фракционный состав летучих примесей дистиллятов бражек, приготовленных с использованием новых дрожжей, поскольку важно не только количественное содержание этилового спирта, но и его качественный состав, обусловленный наличием сопутствующих этанолу примесей. Фильтрат исследуемой зрелой бражки, полученный на основе дрожжей-ассоциантов *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi расы CD, подвергали дистилляции для получения водно-спиртового раствора, в котором хроматографическим методом определяли качественный и количественный состав сопутствующих этанолу побочных летучих примесей. Контролем служил фильтрат зрелой бражки с использованием классических дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* расы 12. На рисунках 5, 6 показано содержание летучих побочных примесей этанола в зрелых бражках в зависимости от применяемой расы дрожжей.



- 1 – концентрация ацетальдегида в зрелой бражке, полученной с использованием дрожжей расы CD;
- 2 – концентрация ацетальдегида в зрелой бражке, полученной с использованием дрожжей расы 12;
- 3 – суммарная концентрация эфиров в зрелой бражке, полученной с использованием дрожжей расы CD;
- 4 – суммарная концентрация эфиров в зрелой бражке, полученной с использованием дрожжей расы 12;
- 5 – концентрация метанола в зрелой бражке, полученной с использованием дрожжей расы CD;
- 6 – концентрация метанола в зрелой бражке, полученной с использованием дрожжей расы 12.

Рисунок 5 – Содержание летучих побочных примесей этанола в зрелых бражках в зависимости от применяемой расы дрожжей



- 1 – дрожжи расы CD; 2 – дрожжи расы 12

Рисунок 6 – Содержание высших спиртов в зрелых бражках в зависимости от применяемой расы дрожжей

Анализ полученных данных показывает, что фракционный состав летучих побочных примесей этанола зрелой бражки, приготовленной с использованием новых дрожжей-ассоциантов, выгодно отличается от фракционного состава летучих примесей классической зрелой бражки. Он характеризуется более низким содержанием высших спиртов (на 63 %), на 18 % альдегидов, на 90 % метанола, ухудшающих органолептические показатели пищевого этанола, и более высоким (на 31 %) содержанием эфиров, которые в дальнейшем участвуют в образовании букета водочных изделий. Исходя из этого, использование дрожжей-ассоциантов рисового гриба в спиртовом производстве позволяет не только увеличить крепость бражки, но и улучшить ее качественный состав, что подтверждает целесообразность применения исследуемых дрожжей в спиртовом производстве.

Заключение

Получены новые данные о технологических свойствах дрожжей-ассоциантов *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi расы CD применительно к условиям спиртового производства: оптимальная температура роста – 25 °С – 30 °С, оптимальная температура брожения – 30 °С – 35 °С, условия и сроки хранения культуры в лабораторных условиях – 30 суток при температуре 4 °С – 6 °С на сусло-агаровой среде с концентрацией сухих веществ 8 %. Показано, что дрожжи-ассоцианты расы CD обладают способностью сбраживать высококонцентрированное спиртовое сусло (до 20 % сухих веществ), что отвечает требованиям, предъявляемым к современным расам спиртовых дрожжей. Установлено, что зрелая бражка, приготовленная с использованием изучаемых дрожжей-ассоциантов, характеризовалась высокими показателями качества – крепостью, содержанием видимых, действительных сухих веществ, несброженных растворимых углеводов. Показано, что при ферментации спиртового сусла дрожжами *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi расы CD отмечается пониженное образование побочных летучих примесей этанола, обуславливающих качество получаемого этилового спирта. Проведенные исследования показывают целесообразность использования в производстве пищевого этилового спирта дрожжей-ассоциантов *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi расы CD. Выделенные из рисового гриба дрожжи-ассоцианты *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishirasы CD внедрены на спиртовом заводе Мирский филиал ОАО «Гродненский ликеро-водочный завод».

Литература

- 1 Королева, Л.М. Идентификация микробного состава поликультуры рисового гриба как основы получения ферментированных безалкогольных напитков / Л.М. Королева, Е.А. Цед, Н.К. Коваленко, С.С. Нагорная // Пиво и напитки. – 2007. – № 2. – С. 40–42.
- 2 Технология спирта / под ред. В.Л. Яровенко. – М. : Колос, 2002. – 464 с.
- 3 Слюсаренко, Т.П. Лабораторный практикум по микробиологии пищевых производств / Т.П. Слюсаренко. – М. : Легкая и пищевая пром-сть, 1984. – 208 с.
- 4 Рухлядева, А.П. Инструкция по теххимическому и микробиологическому контролю спиртового производства / А.П. Рухлядева [и др.]. – М. : Пищевая промышленность, 1986. – 399 с.
- 5 Столяр, Б.В. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии / Б.В. Столяр, И.М. Савинов. – Л. : Химия. – 1978. – 288 с.
- 6 Римарева, Л.В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей / Л.В. Римарева. – М. : ДеЛи-принт, 2010. – 252 с.
- 7 Римарева, Л.В. Перспективы применения селекционных рас дрожжей с осмофильными свойствами для повышения рентабельности спиртового производства / Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко, Н.И. Игнатова, Е.В. Останина // Материалы 6-й Международной научно-практической конференции «Перспективные направления научно-технического развития спиртовой и ликероводочной отрасли пищевой промышленности». Под общ. ред. В.И. Ярмоша. – М. : Пищепромиздат, 2007. – С. 54–58.

Поступила в редакцию 20.12.2013