

НОВЫЙ ВИД ОСАХАРИВАЮЩЕГО СРЕДСТВА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ПИЩЕВОГО ЭТИЛОВОГО СПИРТА

Е.А. Цед, С.В. Волкова, А.А. Миронцева, Л.М. Королева,
Е.Н. Писаренко, Л.М. Кучерявый

Изучена ферментативная активность мицелиальной жидкости гриба *Pleurotus ostreatus* в зависимости от среды культивирования и осуществлен подбор оптимальных параметров внесения ее в зерновой замес. Показано, что наиболее целесообразно использовать мицелиальную жидкость, образующуюся при культивировании гриба на сусле 8 °Б на стадии разжижения зернового замеса.

Введение

В современном спиртовом производстве применяется широкий спектр осахаривающих средств, значительное место среди которых занимают ферментные препараты, имеющие высокую стоимость, что отражается на увеличении себестоимости этилового спирта. В связи с этим представляет интерес изыскивать новые виды осахаривающих средств для удешевления стоимости конечного продукта с сохранением технологических параметров процесса получения этилового спирта на высоком уровне.

Целью настоящей работы являлось изучение возможности использования мицелиальной жидкости гриба *Pleurotus ostreatus* в спиртовом производстве в качестве осахаривающего средства при получении спиртового сусла.

Результаты исследований и их обсуждение

Мицелиальная жидкость представляет собой культуральную жидкость, образующуюся в ходе выращивания высшего базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* (вешенка устричная, или обыкновенная). *Pleurotus ostreatus* является широко используемым в производстве съедобным грибом, обладающим рядом ценных свойств и уникальным составом.

К преимуществам грибов рода *Pleurotus* относят высокую скорость роста мицелия, значительную резистентность по отношению к посторонней микрофлоре и способность утилизировать различные растительные отходы сельского хозяйства и промышленности. Кроме того, вешенка обладает лекарственными свойствами из-за наличия витаминов, антибактериальных и антиоксидантных веществ. *Pleurotus ostreatus* является высокотехнологичным биообъектом, т.е. возможно выращивание его плодовых тел как в искусственных условиях, так и поверхностным и глубинным способом выращивания вегетативного мицелия гриба. Немногие из всех известных грибов могут характеризоваться такой великолепной адаптируемостью, высокой активностью и продуктивностью, как эта разновидность базидиомицетов.

Из числа известных способов культивирования грибов *Pleurotus ostreatus* для получения из них биологически активных веществ в настоящее время наиболее прогрессивной технологией является промышленное культивирование посевного мицелия в глубинной культуре. Такая технология культивирования посевного мицелия обусловлена, прежде всего, его выращиванием в строго контролируемых, искусственно созданных условиях при наличии недорогих стерильно подготовленных питательных сред [1].

Глубинное культивирование на жидких питательных средах позволяет достичь быстрого роста биомассы, глубинный мицелий по содержанию многих биологически активных веществ не уступает мицелию плодовых тел. Глубинное культивирование осуществляется на питательных средах различного состава с использованием источников углерода, азота, фосфора и др., благодаря чему в мицелиальной жидкости накапливаются макро- и микроэлементы и целый спектр биологически активных веществ. Кроме того, в мицелиальной жидкости гриба *Pleurotus ostreatus*, выращенных глубинным способом, обнаружена активность ряда ферментов [2].

Для спиртового производства наибольший интерес представляют гидролитические ферменты, субстратом для действия которых является крахмал, высвобождающийся при разрушении клеток зернового сырья вследствие водно-тепловой обработки. В первой части нашей работы представляло интерес провести определение амилолитической (АС) и осахаривающей (ОС) активности мицелиальной жидкости, образующейся при развитии гриба *Pleurotus ostreatus* методом глубинного культивирования на различных средах. Были исследованы следующие образцы мицелиальной жидкости:

- мицелиальная жидкость № 1 – *Pleurotus ostreatus*-35, выращенный на крахмал-пептонной среде;
- мицелиальная жидкость № 2 – *Pleurotus ostreatus*-35, выращенный на сусле 8 °Б;
- мицелиальная жидкость № 3 – *Pleurotus ostreatus*-247, выращенный на крахмал-пептонной среде;
- мицелиальная жидкость № 4 – *Pleurotus ostreatus*-35, выращенный на глюкозо-пептонной среде;
- мицелиальная жидкость № 5 – *Pleurotus ostreatus*-247, выращенный на глюкозо-пептонной среде;
- мицелиальная жидкость № 6 – *Pleurotus ostreatus*-247, выращенный на сусле 8 °Б.

Полученные экспериментальные данные ферментативной активности культуральных жидкостей сравнивали с ферментативной активностью ячменного солода, традиционно используемого в спиртовом производстве в качестве осахаривающего средства. Результаты исследований приведены на рисунке 1 и 2.

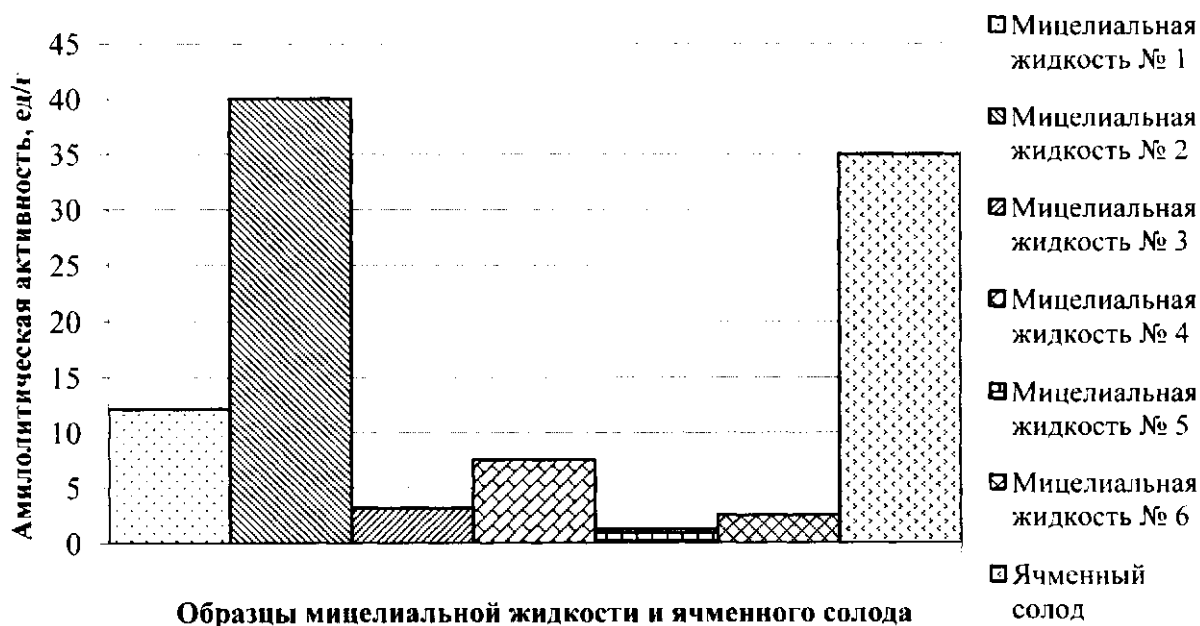


Рисунок 1 – Амилолитическая активность ячменного солода и образцов мицелиальной жидкости в зависимости от вида среды их культивирования

Из представленных экспериментальных данных видно, что наибольшую амилолитическую активность (рисунок 1) имел образец под номером 2 – *Pleurotus ostreatus*-35 (сусло 8 °Б), наименьшую – образец под номером 5 – *Pleurotus ostreatus*-247 (глюкозо-пептонная среда). Наибольшую осахаривающую активность (рисунок 2) имел образец мицелиальной жидкости под номером 2 – *Pleurotus ostreatus*-35 (сусло 8 °Б), наименьшее значение осахаривающей активности наблюдали у образца под номером 1 – *Pleurotus ostreatus*-35 (крахмал-пептонная среда). При сравнении амилолитических активностей мицелиальной жидкости № 2 и ячменного солода было выявлено, что значение амилолитической активности мицелиальной жидкости № 2 превосходило значение амилолитической активности ячменного солода на 14,5 %. По осахаривающей активности отмечали превосходство образца мицелиальной жидкости № 2 над ячменным солодом в 2 раза.

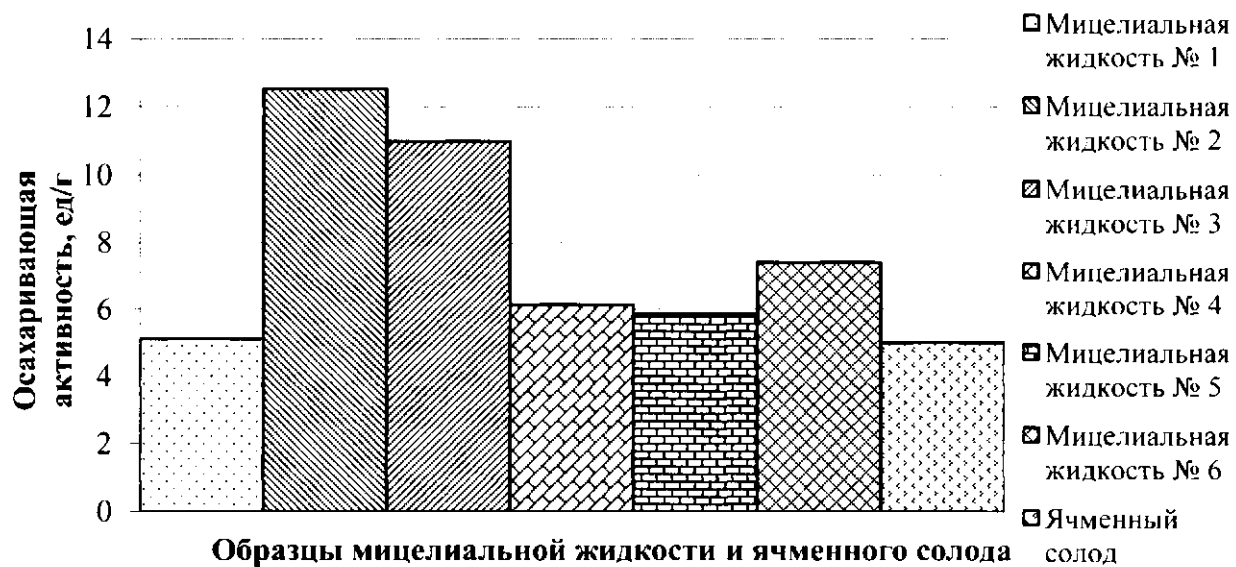


Рисунок 2 – Осахаривающая активность ячменного солода и образцов мицелиальной жидкости в зависимости от вида среды их культивирования

Экспериментальные данные показывают, что мицелиальные жидкости гриба *Pleurotus ostreatus*, полученные при развитии мицелия гриба на различных средах, характеризуются значительной ферментативной способностью. Для дальнейших исследований был выбран образец мицелиальной жидкости № 2 – *Pleurotus ostreatus*-35 (сусло 8 °Б), поскольку он обладал наибольшими амилолитической и осахаривающей активностями.

На следующем этапе исследований представляло интерес исследовать физико-химические процессы на стадиях водно-тепловой обработки замеса и осахаривания спиртового суслу при использовании в качестве осахаривающего материала мицелиальной жидкости, полученной при развитии гриба *Pleurotus ostreatus*.

При приготовлении исследуемых образцов на стадиях водно-тепловой обработки и осахаривания использовали мицелиальную жидкость исходя из нормы внесения ее в замес 2–3 ед/г условного крахмала на стадии разжижения и 6–7 ед/г условного крахмала на стадии осахаривания, причем производилась как полная замена традиционных ферментных препаратов, так и частичная их замена.

В качестве контроля были приготовлены образцы суслу, у которых на стадиях разваривания и осахаривания замеса использовались ферментные препараты. Для этого готовили образцы суслу, которые получали из зерна тритикале по механико-ферментативному способу: температура разваривания – 90 °С, время выдержки – 100 мин. Затвор охлаждали до температуры 56 °С и проводили осахаривание в течение 30 мин.

В результате были получены следующие образцы суслу:

- образец № 1 – тритикале + ферментный препарат Термамил СЦ на стадии разжижения + ферментный препарат Глюканол 60 на стадии осахаривания (контрольный образец);
- образец № 2 – тритикале + мицелиальная жидкость на стадии разжижения + мицелиальная жидкость на стадии осахаривания;
- образец № 3 – тритикале + ферментный препарат Термамил СЦ на стадии разжижения + мицелиальная жидкость на стадии осахаривания;
- образец № 4 – тритикале + мицелиальная жидкость на стадии разжижения + ферментный препарат Глюканол 60 на стадии осахаривания.

После каждой температурной выдержки отбирали пробы, в которых определяли физико-химические показатели – содержание сухих веществ, растворимых и редуцирующих углеводов, титруемую кислотность, аминный азот и содержание общих углеводов.

Полученные результаты представлены на рисунках 3–5.

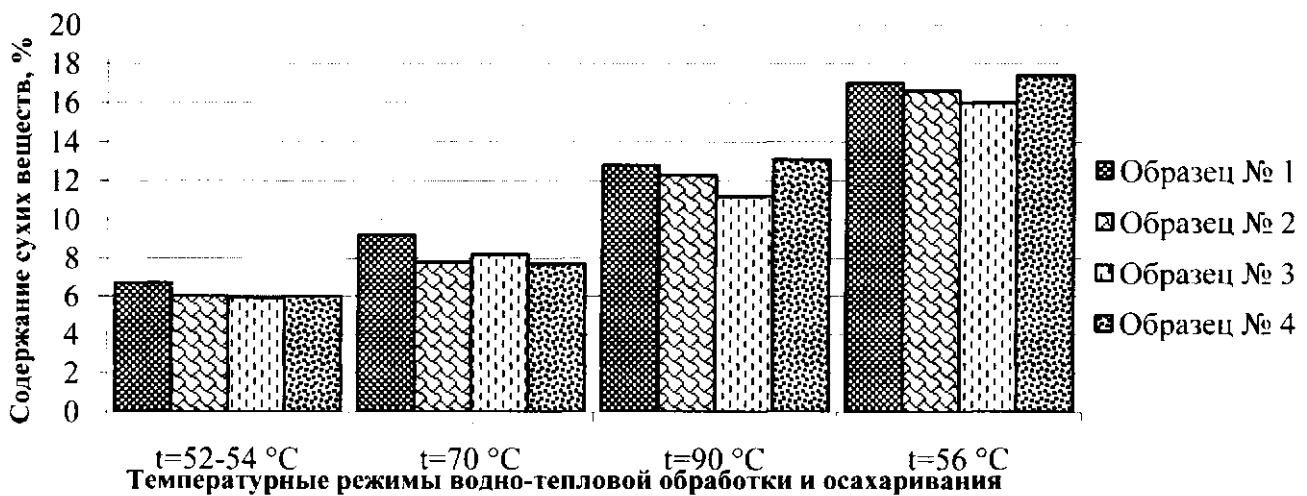


Рисунок 3 – Содержание сухих веществ в образцах сула, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осахаривающего средств

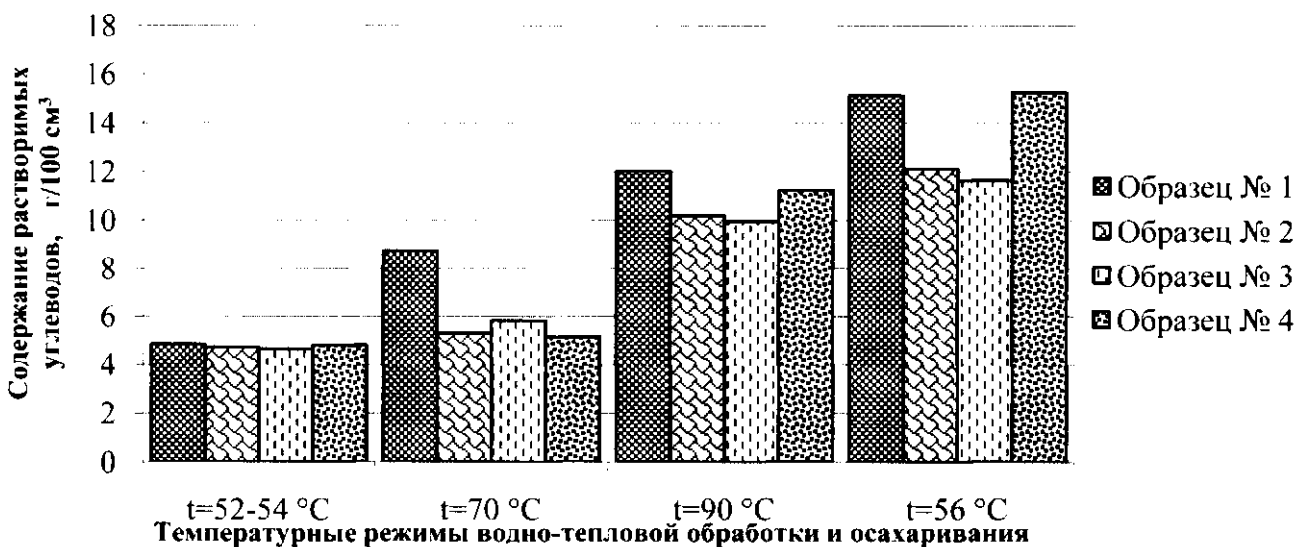


Рисунок 4 – Содержание растворимых углеводов в образцах сула, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осахаривающего средств

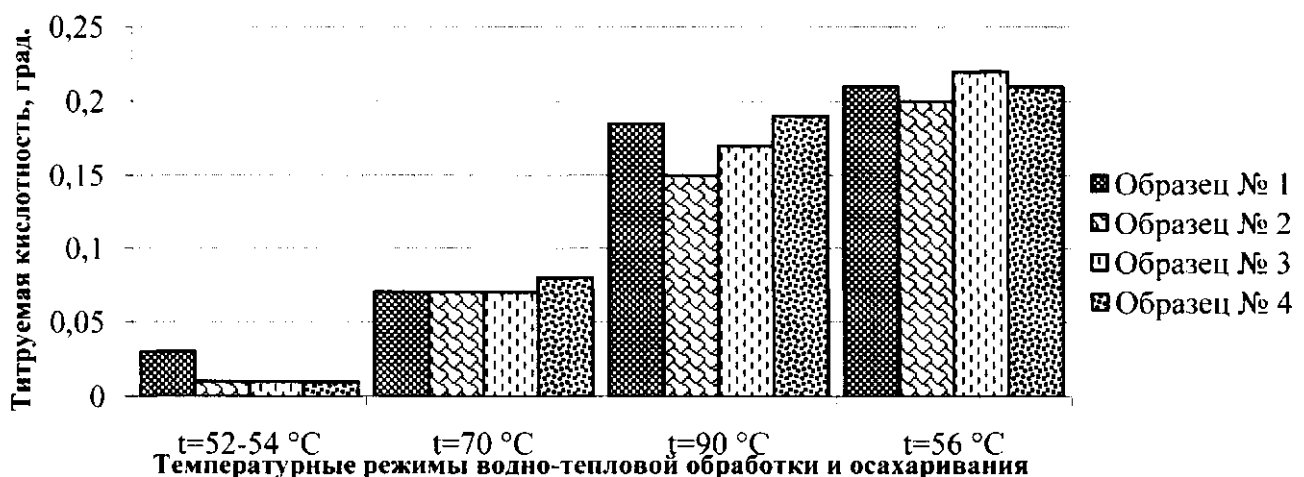


Рисунок 5 – Значение титруемой кислотности в образцах сула, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осахаривающего средств

Анализ опытных данных показывает, что физико-химические показатели сусла в значительной степени зависят от стадий получения сусла, а также от вида и стадий внесения осаживающего материала. Так, наибольшее содержание сухих веществ (рисунок 3), общих и растворимых углеводов (рисунок 4) наблюдали в контрольном образце сусла № 1 и в образце сусла № 4. Кроме того, образец сусла № 4 характеризовался наибольшим содержанием редуцирующих сахаров – 11,25 г/100см³. Самое высокое содержание аминного азота отмечалось в образце сусла № 2 – 8,68 мг/100см³, самое низкое содержание аминного азота отмечали в контрольном образце № 1 – 5,1 мг/100см³. Кислотность всех образцов сусла находилась в пределах 0,11–0,25 град (рисунок 5). Таким образом, образец сусла № 4, полученный из тритикале с использованием на стадии разжижения мицелиальной жидкости и на стадии осаживания ферментного препарата Глюканол 60 был отмечен высокими технологическими показателями, что дает возможность заменить разжижающие ферментные препараты мицелиальной жидкостью и получить сусло с показателями качества лучше, чем в контрольном образце сусла, полученном при традиционном использовании в качестве разжижающего средства ферментного препарата Термамил СЦ.

На следующем этапе работы были изучены физико-химические показатели качества зрелых бражек, полученных из исследуемых образцов сусла. Для этого осаживаемые образцы сусла охлаждали до температуры «складки» и вносили разводку чистой культуры дрожжей расы 12 в количестве 10 % от объема сусла. Брожение проводили в течение 72 часов при температуре 30 °С. По истечении трех суток брожения в зрелой бражке определяли следующие показатели: содержание видимых и действительных сухих веществ, крепость бражки, кислотность, содержание растворимых и общих углеводов, аминный азот, а также микробиологические показатели – общее количество дрожжей и наличие в них мертвых клеток. Результаты исследований представлены на рисунках 6–10.

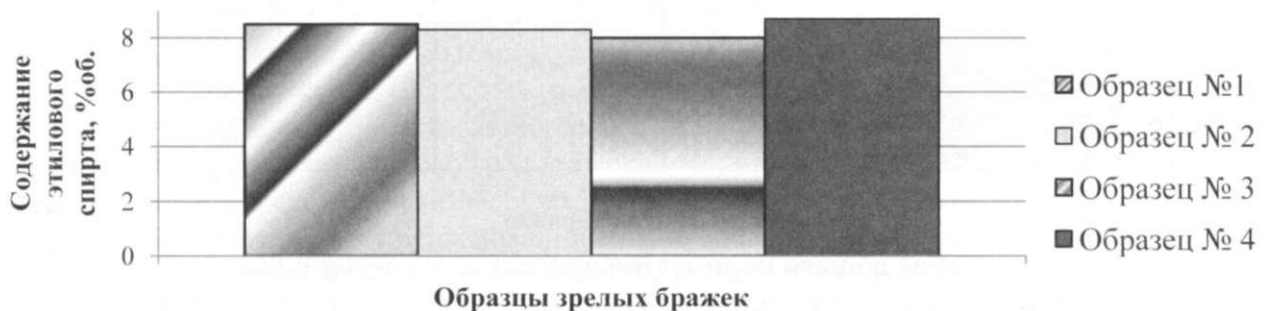


Рисунок 6 – Содержание этилового спирта в образцах зрелых бражек, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осаживающего средств

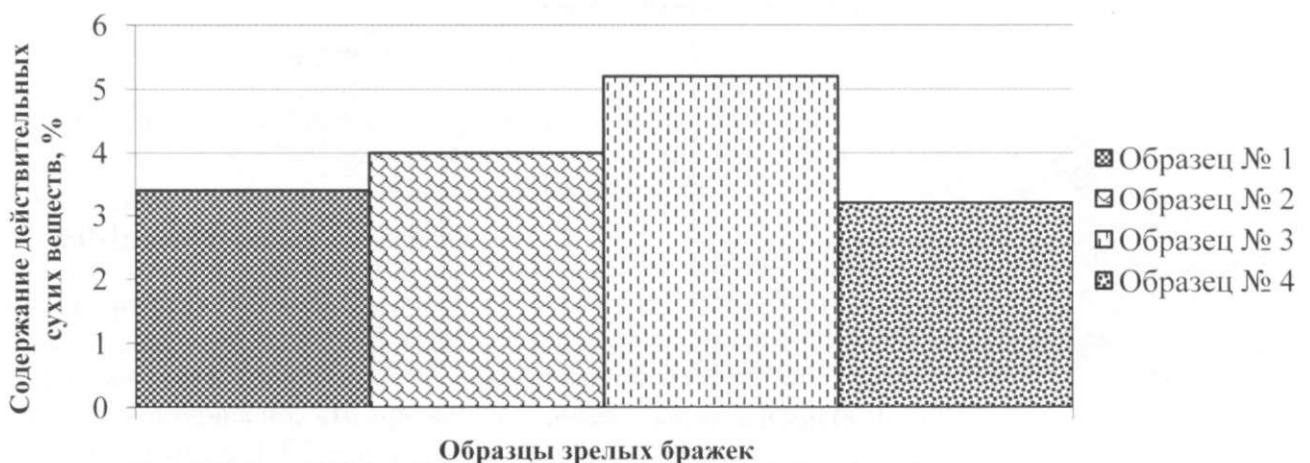


Рисунок 7 – Содержание действительных сухих веществ в образцах зрелых бражек, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осаживающего средств

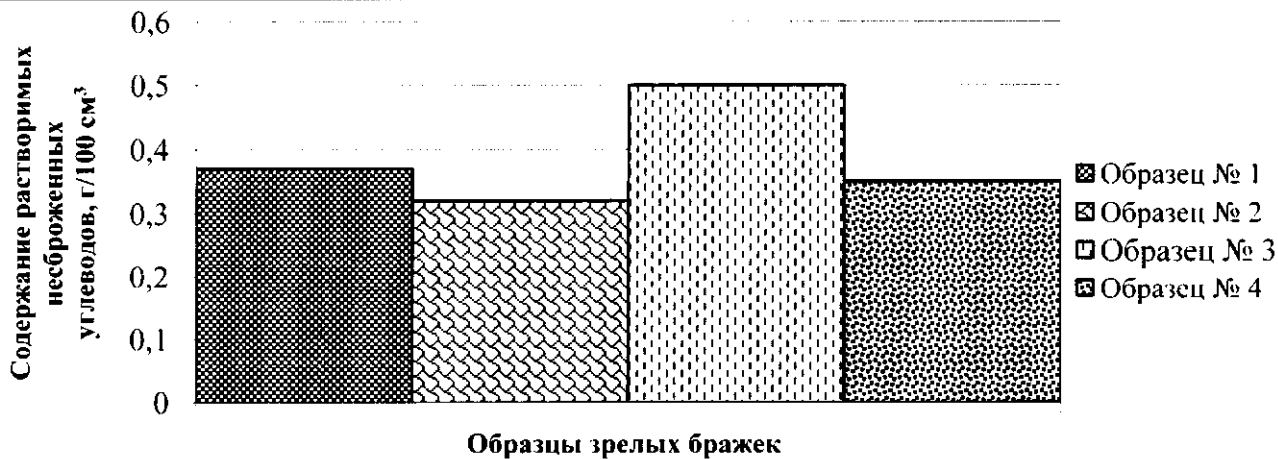


Рисунок 8 – Содержание растворимых несброженных углеводов в образцах зрелых бражек, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осахаривающего средств

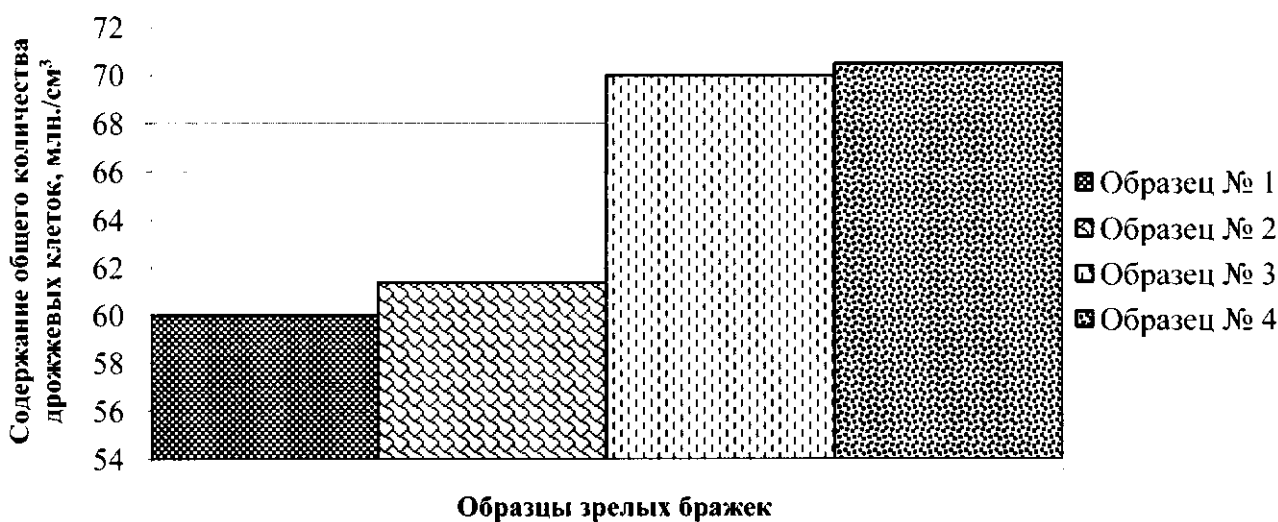


Рисунок 9 – Содержание общего количества дрожжевых клеток в образцах зрелых бражек, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осахаривающего средств

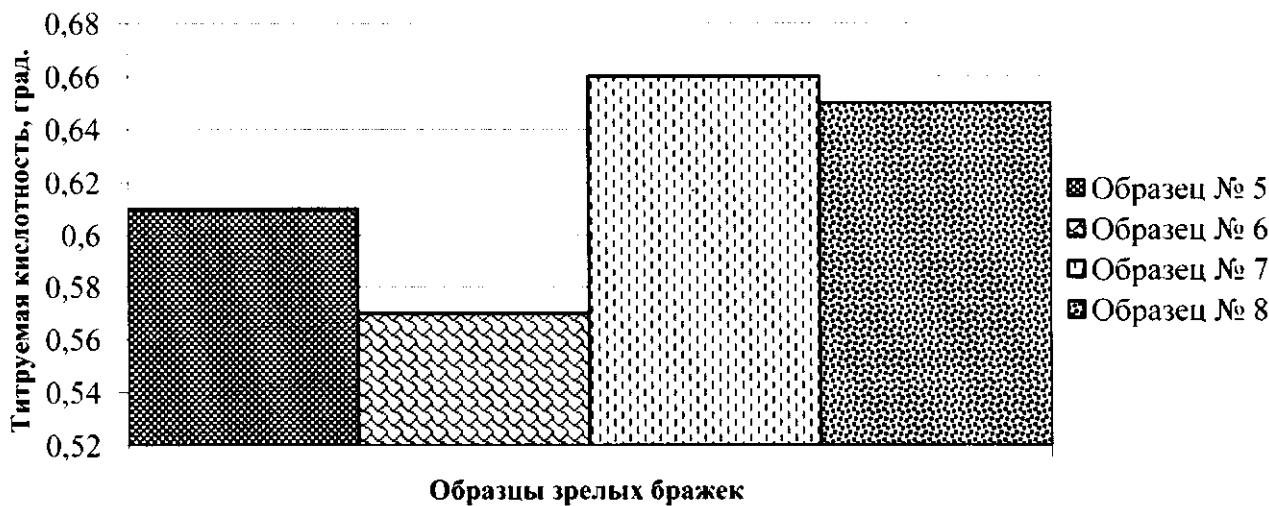


Рисунок 10 – Титруемая кислотность в образцах зрелых бражек, полученных из тритикале с использованием мицелиальной жидкости в качестве разжижающего и осахаривающего средств

Анализ экспериментальных данных показал, что во всех исследуемых образцах суслу наблюдалось интенсивное протекание биологических и биохимических процессов, таких как развитие дрожжевых клеток и образование этилового спирта, диоксида углерода и других побочных продуктов брожения. Эти процессы сопровождались снижением концентрации сухих веществ, редуцирующих сахаров, растворимых углеводов, аминного азота. Было обнаружено, что интенсивность всех вышеперечисленных процессов при сбраживании суслу в значительной степени зависела как от вида осаживающего средства, так и от стадии его внесения. Так, в образцах зрелых бражек наблюдали следующие значения контролируемых показателей. Наибольшее количество этилового спирта (рисунок 6) накапливалось в образце зрелой бражки № 4 – 8,7 % об., несколько меньше этилового спирта содержалось в контрольном образце № 1 – 8,5 % об. Наименьшее количество этилового спирта в зрелой бражке образовалось в образце № 3 – 8,0 % об. Наиболее активное снижение видимых и действительных сухих веществ (рисунок 7) наблюдали в образцах зрелых бражек № 1 и № 4. Минимальное содержание общих углеводов и растворимых несброженных углеводов (рисунок 8) отмечали в образце зрелой бражки № 2 – 0,41 и 0,32 г/100 см³ соответственно. На третьи сутки брожения максимальное содержание общих углеводов и растворимых несброженных углеводов наблюдали в образце зрелой бражки № 3 – 0,73 и 0,5 г/100 см³ соответственно. Наибольшее количество аминного азота на третьи сутки брожения содержалось в образце зрелой бражки № 4 – 14,0 мг/100 см³, наименьшее – в образце зрелой бражки № 2 – 12,5 мг/100 см³, несколько большее количество аминного азота отмечали в контрольном образце зрелой бражки № 1 – 12,6 мг/100 см³.

Анализ количественного содержания дрожжевых клеток в бражках показал, что к концу брожения наибольшее содержание дрожжевых клеток (рисунок 9) отмечалось в образце зрелой бражки № 4 – 70,5 млн/см³. Минимальное содержание дрожжевых клеток было отмечено в образце зрелой бражки № 1 – 60,0 млн/см³. Наибольший процент мертвых клеток отмечали в образце зрелой бражки № 3 – 3,5 %, наименьший процент мертвых клеток наблюдали в образце зрелой бражки № 1 – 2,6 %. Наибольшее значение титруемой кислотности отмечали в образце зрелой бражки № 3 – 0,66 град кислотности, наименьшее значение кислотности наблюдали в образце зрелой бражки № 2, – 0,57 град кислотности (рисунок 10).

В результате проведенных исследований можно сделать вывод о том, что процесс накопления этилового спирта во всех образцах зрелых бражек проходил достаточно интенсивно с большим накоплением этилового спирта. Отдельно следует выделить образец зрелой бражки № 4, содержание этилового спирта в котором составило 8,7 % об., что на 2,35 % больше, чем в контрольном образце зрелой бражки № 1. Наименьшее количество этилового спирта содержалось в образце зрелой бражки № 3 (8,0 % об.).

Исследования, проведенные по определению эффективности использования мицелиальной жидкости в спиртовом производстве, показали, что наилучшими качественными показателями обладал образец зрелой бражки № 4, полученный из тритикале с внесением на стадии разжижения мицелиальной жидкости гриба, а на стадии осаживания – ферментного препарата Глюканол 60. Остальные образцы зрелых бражек имели равноценное значение всех качественных показателей и занимали промежуточное положение между максимальным и минимальным значениями.

В связи с тем, что мицелиальная жидкость является отходом промышленного культивирования мицелия *Pleurotus ostreatus* и обладает низкой себестоимостью, нами была рассчитана себестоимость пищевого этилового спирта из тритикале с использованием на стадии разжижения мицелиальной жидкости, а на стадии осаживания – ферментного препарата Глюканол 60. Установлено, что применение мицелиальной жидкости снижает себестоимость этилового спирта на 1,5 %– 2%, по сравнению с традиционной технологией, т.е. при использовании ферментных препаратов как на стадии разжижения, так и на стадии осаживания. В условиях промышленного производства спирта даже незначительное удешевление себестоимости готового продукта имеет немаловажное значение для победы в конкурентной борьбе

Заключение

Представлены новые экспериментальные данные об оптимальных технологических параметрах использования мицелиальной жидкости гриба *Pleurotus ostreatus* в качестве осаживающего средства при получении пищевого этилового спирта. Установлено, что наиболее целесообразно использовать мицелиальную жидкость, образующуюся при культивировании гриба на сусле 8 °Б на стадии разжижения зернового замеса, т.к. это способствует увеличению крепости зрелой бражки, сохранению качественных показателей зрелой бражки на высоком уровне и снижению себестоимости этилового спирта.

Литература

- 1 Герасименя, В.П. Инновационные биотехнологии промышленного культивирования грибов *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kunt, используемых в фармакологической практике для создания медицинских препаратов / В.П. Герасименя, С.В. Захаров, В.М. Брусникин, М.А. Клыков, Л.П. Семашева; под ред. В.П. Герасимени, В.Ю. Полякова. – М.: Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН, ООО «Инбиофарм», 2013. – 212 с.
- 2 Божков, А. И. Экскреторная активность гидролитических ферментов *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kunt в глубинной культуре / А.И. Божков, В.И. Облак // Биотехнология. – 2007. – N 1. – С. 41–46.

Поступила в редакцию 26.06.2014