

ПЕРАПРАЦОЎКА І ЗАХАВАННЕ СЕЛЬСКАГАСПАДАРЧАЙ ВЫТВОРЧАСЦІ

УДК 663.5:663.1

З. В. ВАСИЛЕНКО, Е. А. ЦЕД, С. В. ВОЛКОВА

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ДРОЖЖЕЙ В СПИРТОВОМ ПРОИЗВОДСТВЕ*Могилевский государственный университет продовольствия, Могилев, Беларусь,
e-mail: tsedelena@inbox.ru*

В статье показана целесообразность и эффективность использования в спиртовом производстве новых видов и рас дрожжей, в частности, дрожжей, выделенных из биокультуры рисового гриба. Изучаемые дрожжи характеризуются высокими технологическими свойствами и повышенным спиртонакоплением в сочетании с низким образованием побочных примесей этанола, отвечающих за его качество.

Ключевые слова: спиртовое производство, рисовый гриб, дрожжи.

Z. V. VASILENKO, E. A. TSED, S. V. VOLKOVA

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFICIENCY OF USING DIFFERENT TYPES OF YEAST IN ALCOHOL PRODUCTION*Mogilev State University of Food Technologies, Mogilev, Belarus,
e-mail: tsedelena@inbox.ru*

The paper shows the feasibility and efficiency of using new species and races of yeast in alcohol production and the yeast isolated from bioculture of rice fungus in particular. The yeast under study is characterized by favorable technological properties and high alcohol accumulation as well as low formation of ethanol extraneous admixtures responsible for its quality.

Keywords: alcohol production, rice fungus, yeast.

Введение. Одним из важнейших направлений развития современной спиртовой отрасли является интенсификация процессов спиртового брожения в сусле, что позволяет без каких-либо дополнительных материальных затрат и модернизаций производственных линий существенно повысить эффективность спиртового производства. Это достигается за счет применения новых высокоактивных рас дрожжей, от жизнедеятельности и бродильной активности которых напрямую зависит как выход целевого продукта – этанола, так и формирование заданных показателей его качества [1].

В спиртовом производстве используют различные виды дрожжей – р. *Saccharomyces cerevisiae*, р. *Saccharomyces diastaticus*, р. *Schizosaccharomyces pombe-80*, из которых промышленное применение нашли дрожжи, относящиеся к р. *Saccharomyces cerevisiae*, в частности расы XII, М, К-81, 15, Г-660, У-717, Я, В, К-69, Г-112, Г-67, Г-105 и др. [1–4].

Наиболее распространенной в спиртовой промышленности расой дрожжей является XII. Эти дрожжи были отселекционированы из прессованных хлебопекарных дрожжей. Клетки дрожжей этой расы имеют округлую или овальную форму с размерами (5,0–6,2) × (5–8) мкм. Дрожжи являются факультативными анаэробами, размножаются почкованием. Это пылевидные дрожжи, хорошо распределяются в среде и выдерживают концентрацию спирта до 12–13 об%,

осмотически неустойчивые. Применение для сбраживания спиртового суслу данных дрожжей обеспечивает достаточную скорость брожения и устойчивый выход спирта.

Однако новые направления в развитии технологии производства пищевого этилового спирта требуют решения таких важных задач, как повышение концентрации перерабатываемого суслу, проведение брожения при повышенных температурах и повышенной крепости спирта в зрелой бражке, уменьшение количества летучих примесей, обеспечение дальнейшего сокращения себестоимости спирта за счет экономии сырья, топлива и электроэнергии. В связи с этим необходим поиск новых рас дрожжей, обладающих повышенной осмофильностью, термотолерантностью и бродильной активностью, использование которых обеспечит минимальное количество побочных метаболитов при сбраживании спиртового суслу, в особенности оказывающих существенное влияние на формирование вкуса и аромата спирта [2–4].

В настоящее время существуют разные методы получения новых рас микроорганизмов, например, межвидовая гибридизация, мутагенез, адаптация и др. Однако создаваемые с помощью таких способов новые расы дрожжей могут проявлять неустойчивость приобретенных признаков. В частности, это касается термотолерантных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* расы К-81, полученной из промышленной культуры *Saccharomyces cerevisiae* расы 12 путем многоступенчатой адаптации к повышенной температуре; дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* У-660, полученных методом межвидовой гибридизации *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces pombe*, проявлявшей высокую декстринолитическую активность. Эти дрожжи быстро утрачивали свои положительные свойства, и потому в промышленности применялись недолго.

Кроме того, возникает много вопросов и по безопасности новых штаммов микроорганизмов, получаемых методом геномной инженерии, основанной на переносе участков ДНК от одних микроорганизмов в хромосомный аппарат других. Они касаются возможности получения патогенных микроорганизмов, риском заражения окружающей среды генетически модифицированными микроорганизмами, непредсказуемостью влияния продуктов, полученных с использованием генетически модифицированных микробов на организм человека и т. д. [5].

Наиболее безопасным и доступным методом получения новых рас микроорганизмов, которому в отечественной промышленности не уделялось должного внимания, является выделение активных популяций из природных источников, что позволяет изыскать продуктивные высокоэффективные источники брожения без применения дорогостоящих и трудоемких методов. В связи с этим научно-исследовательские работы по выделению из природных объектов перспективных рас спиртовых дрожжей и определение возможности их применения в спиртовом производстве являются весьма актуальными и значимыми.

Цель работы – сравнительный анализ технологических свойств традиционных и новых, выделенных из разных природных источников, видов и рас дрожжей, определение эффективности их применения при сбраживании спиртового суслу.

Материалы и методы исследований. Объектами исследований являлись выделенные и изученные в Могилевском государственном университете продовольствия и не применявшиеся ранее в спиртовом производстве два вида дрожжей – р. *Saccharomyces cerevisiae*, раса КМ-94 и р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi*, раса СД.

Дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы КМ-94 были выделены из ржаного солода. Клетки круглые, овальные, эллипсоидные (3,0–6,4) × (3,0–8,0) мкм, одиночные или в парах. Цвет колонии беловато-бежевый. Дрожжи являются факультативными анаэробами, размножаются почкованием. Сбраживают глюкозу, галактозу, мальтозу, сахарозу, раффинозу (1/3); не сбраживают лактозу; ассимилируют: глюкозу, галактозу, мальтозу, сахарозу, раффинозу, молочную кислоту [5, 6].

Дрожжи р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы СД были выделены из зооглейной биокультуры, известной под названием рисовый гриб [7, 8]. Клетки дрожжей р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы СД – круглые, слегка овальные, изредка цилиндрические (2,0–7,0) × (3,0–8,0) мкм; вегетативное размножение – мультиполярным почкованием; конъюгация клеток предшествует образованию асков, содержащих 1–4 круглых гладких аскоспоры. Штрих-культура дрожжей белая, образует псевдомицелий. Данный вид дрожжей сбраживает

глюкозу, сахарозу, мальтозу, раффинозу. Галактозу и лактозу не сбраживает. Ассимилирует глюкозу, галактозу, L-сорбозу, сахарозу, мальтозу, целлобиозу, трегалозу, раффинозу, мелецитозу, инулин, этанол, маннит, сорбит, α -метил-D-глюкозид, салицин, молочную и янтарную кислоты.

В качестве контроля служили классические спиртовые дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы XII.

Материалом исследований являлось ржаное сусло с концентрацией сухих веществ от 16 до 22 %, которое получали по низкотемпературным режимам механико-ферментативной схемы [1, 2]. Микробиологические показатели в дрожжах определяли общепринятыми в пищевых производствах методами [9, 10]: 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 [10]; концентрацию этилового спирта и состав летучих компонентов зрелой бражки определяли хроматографическим методом с использованием газового хроматографа с пламенно-ионизационным детектором [11].

Результаты исследований и их обсуждение. На первом этапе работы были проведены исследования по определению термотолерантных свойств изучаемых рас дрожжей. Для этого в подготовленное по вышеуказанным режимам спиртовое сусло вносили чистые культуры исследуемых дрожжей и проводили их термостатирование в диапазоне температур 20–45 °С в течение суток, по истечении которых определяли общее количество дрожжевых клеток. На рис. 1 показана зависимость концентрации дрожжевых клеток изучаемых видов и рас дрожжей от температуры их культивирования.

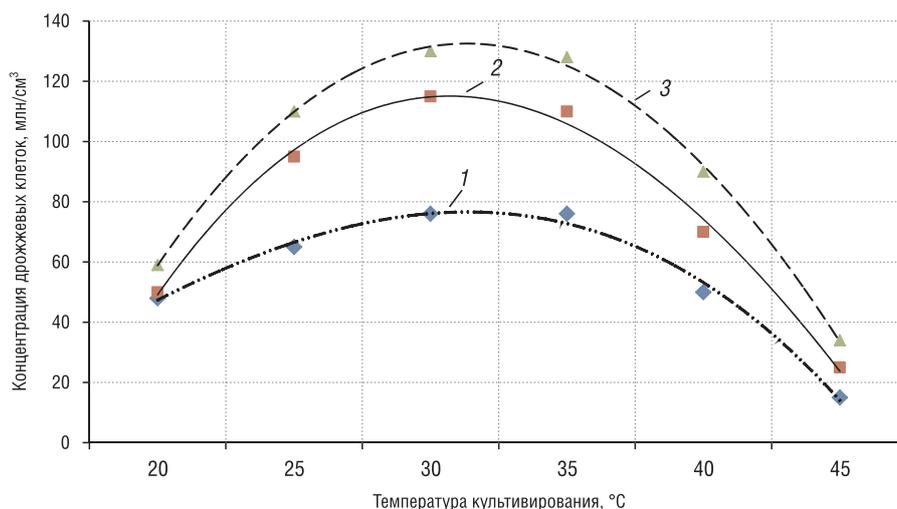


Рис. 1. Зависимость концентрации дрожжевых клеток от вида дрожжей и температуры культивирования: 1 – *Saccharomyces cerevisiae* расы XII; 2 – *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94; 3 – *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi расы CD

Как следует из данных рис. 1, температура культивирования влияет на накопление дрожжевых клеток всех исследуемых рас дрожжей, причем наибольшая их концентрация (110–130 млн/см³) отмечалась в диапазоне температур 30–35 °С. Наиболее ярко выраженные термотолерантные свойства проявляли дрожжи, относящиеся к р. *Zygosaccharomyces* расы CD, концентрация клеток которых при повышенных температурах находилась на уровне 128–130 млн/см³. Несколько ниже количество клеток (на 12 %) было у дрожжей р. *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94, однако уровень их также достаточно высок.

Известно, что оптимальные температуры роста и брожения у дрожжевых клеток не всегда совпадают [1, 2]. Учитывая это, необходимо было исследовать влияние температуры культивирования на процесс спиртонакопления у исследуемых рас дрожжей.

Для этого разводки чистых культур дрожжей вносили в стерильное спиртовое сусло концентрацией 18 % в количестве 10 % от объема сусла и выдерживали в диапазоне температур от 20 до 40 °С в течение 3 сут, по истечении которых определяли концентрацию образовавшегося этилового спирта (рис. 2).

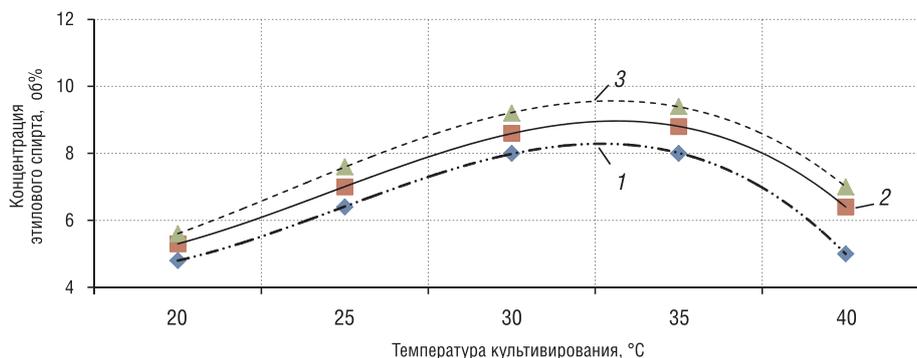


Рис. 2. Зависимость накопления этилового спирта в зрелой бражке от температуры при культивировании дрожжей изучаемых рас дрожжей KM-94, CD и XII: 1 – *Saccharomyces cerevisiae* расы XII; 2 – *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94; 3 – *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD

Как свидетельствуют полученные данные, бродильная активность исследуемых рас дрожжей существенно зависела от температуры культивирования дрожжевых клеток. Максимальное накопление этанола в концентрации 9,4 об% наблюдалось в образце зрелой бражки, ферментируемой дрожжами р. *Zygosaccharomyces* расы CD при температуре 35 °С, что подтверждает термотолерантные свойства изучаемых дрожжей. Дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94 также проявляли термотолерантные свойства, поскольку наибольшее накопление этилового спирта в зрелой бражке наблюдалось при температуре 35 °С и составляло 8,8 об%. Классические дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы XII выдерживают повышение температуры до 35 °С, однако увеличения содержания этанола при этом не наблюдалось, что, вероятно, связано с особенностями ферментативных систем у клеток данной расы.

Таким образом, оптимальной температурой роста дрожжей р. *Zygosaccharomyces* расы CD и р. *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94 на спиртовом сусле является температура 25–30 °С, оптимальной температурой брожения – 30–35 °С.

Известно, что физиологическая активность дрожжей зависит от осмотического давления той среды, в которой развиваются микроорганизмы, что обуславливает затем последующую степень сбраживания углеводов [12]. Поэтому одним из важных требований, предъявляемых к современным расам спиртовых дрожжей, является их способность переносить повышенные концентрации сухих веществ, от которых в значительной степени зависит крепость получаемой зрелой бражки. В связи с этим необходимо было исследовать влияние концентрации сухих веществ спиртового сусла на развитие изучаемых дрожжей и накопление ими этилового спирта. Для этого чистую культуру исследуемых дрожжей вносили в спиртовое сусло с концентрацией сухих веществ сусла в диапазоне 16–24 % и выдерживали при определенной нами оптимальной температуре брожения 35 °С в течение 3 сут. По истечении срока ферментации в образцах зрелых бражек определяли концентрацию образовавшегося этилового спирта. На рис. 3 показана зависимость накопления этилового спирта исследуемыми дрожжами от содержания сухих веществ в сусле.

Как следует из данных рис. 3, осмофильные свойства в наибольшей степени проявляют дрожжи р. *Zygosaccharomyces* расы CD, в несколько меньшей степени высокое осмотическое давление среды выдерживают дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94 и не выдерживают высокую концентрацию сухих веществ в сусле дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы XII. Причем концентрация этанола в зрелой бражке, ферментируемой дрожжами р. *Zygosaccharomyces* расы CD, возрастала с увеличением содержания сухих веществ в сусле до 22 % (10,6–11 об%); при дальнейшем увеличении концентрации сухих веществ до 24 % уже отмечалось некоторое снижение

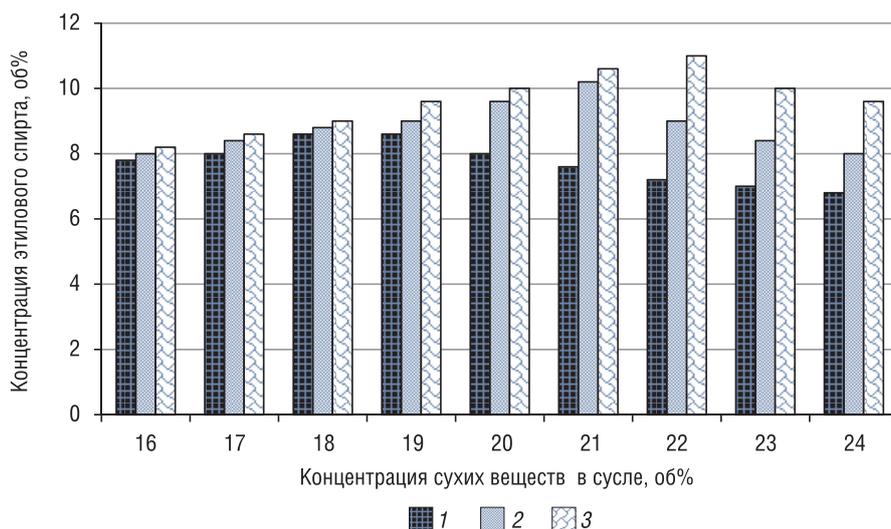


Рис. 3. Зависимость накопления этилового спирта исследуемыми дрожжами от концентрации сухих веществ спиртового сусла: 1 – *Saccharomyces cerevisiae* расы XII; 2 – *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94; 3 – *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD

количества этилового спирта (9,6–10 об%), однако эти значения превышали таковые при использовании сусла с концентрацией сухих веществ 16–18 %.

Дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94 выдерживают повышение концентрации сухих веществ до содержания 21 % (10,2 об%), после которой концентрация этанола в зрелой бражке начинает снижаться.

Пороговой концентрацией сухих веществ сусла у дрожжей р. *Saccharomyces cerevisiae* расы XII является 19 %, после которой уже наблюдается ингибирующее действие осмотического давления на метаболизм клетки.

Учитывая, что в спиртовом производстве важна не только концентрация этилового спирта в зрелой бражке, но и количественный и качественный состав его летучих примесей, обуславливающих органолептические характеристики получаемого продукта, был проведен анализ фракционного состава летучих примесей дистиллятов зрелых бражек, приготовленных с использованием разных видов дрожжей. Установлено, что фракционный состав летучих побочных примесей этанола зрелой бражки, приготовленной с использованием новых дрожжей р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD, выгодно отличался от фракционного состава летучих примесей других образцов зрелой бражки: более низкой (на 63 %) концентрацией высших спиртов, альдегидов (на 18 %), метанола (на 90 %), ухудшающих органолептические показатели пищевого этанола и более высокой концентрацией (на 31 %) эфиров, участвующих в образовании букета водочных изделий. Таким образом, установлено, что использование дрожжей расы CD в спиртовом производстве позволяет не только увеличить крепость бражки на 40 % и тем самым повысить выход этилового спирта, но и улучшить его качественный состав, что подтверждает целесообразность применения исследуемых дрожжей в спиртовом производстве.

Заключение. Получены новые данные о технологических свойствах дрожжей р. *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94, дрожжей р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD по сравнению с традиционно применяемой в спиртовом производстве расой дрожжей р. *Saccharomyces cerevisiae* XII. Установлено, что исследуемые виды и расы дрожжей по сравнению с контрольной расой характеризуются термотолерантными и осмофильными свойствами, что является весьма перспективным с точки зрения использования их в спиртовом производстве. Показано, что наилучшими технологическими свойствами характеризуются дрожжи, выделенные из биокультуры рисового гриба и относящиеся к виду р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD.

Показано, что дрожжи р. *Saccharomyces cerevisiae* расы KM-94, выделенные из ржаного солода, также характеризуются высокими технологическими свойствами и являются перспективными с точки зрения применения их для сбраживания спиртового сусла.

Установлено, что дрожжи расы CD обладают способностью сбраживать высококонцентрированное спиртовое сусло (до 22 % сухих веществ), что отвечает требованиям, предъявляемым к современным расам спиртовых дрожжей. Показано, что при ферментации спиртового сусла дрожжами р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD отмечался пониженным образованием побочных летучих примесей этанола, обуславливающих качество получаемого этилового спирта. Проведенные исследования показывают целесообразность использования в производстве пищевого этилового спирта выделенных из биокультуры рисового гриба дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD.

Дрожжи р. *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD внедрены на спиртовом заводе Мирский филиал ОАО «Гродненский ликеро-водочный завод».

Список использованных источников

1. Технология и оборудование для производства спирта и ликероводочных изделий: в 2 ч. Ч. 1. Производство спирта / В. А. Шаршунов [и др.]. – Минск: Мисанта, 2013. – 783 с.
2. Римарева, Л. В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей. / Л. В. Римарева. – М.: ДеЛи принт, 2010. – 252 с.
3. Технология спирта / под ред. В. Л. Яровенко. – М.: Колос, 2002. – 464 с.
4. Лихтенберг, Л. А. Производство спирта из зерна / Л. А. Лихтенберг. – М.: Пищевая промышленность, 2006. – 324 с.
5. Бутова, С. Н. Теоретические основы биотехнологии / С. Н. Бутова, И. А. Типисеева, Г. И. Эль-Регистан; под общ. ред. И. М. Грачевой. – М.: Элевар, 2003. – 554 с.
6. Патент № 14872 Респ. Беларусь, МПК Заявка № а 20091340, МПК С 12Р 7/06 (2006.01) / Е. А. Цед, Миронцева А. А., Волкова С. В., Королева Л. М.; заявитель УО «Могилевский государственный университет продовольствия». – № а 20091340; заявл. 2009.09.17, опубл. 2010.04.30 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2011. – № 5. – С. 134
7. Цед, Е. А. Природные консорциумы микроорганизмов как потенциальные источники бродильных процессов / Е. А. Цед // Вест. МГУП. — 2012. – № 2 (13) – С. 93–100.
8. Цед, Е. А. Использование дрожжей-ассоциантов рисового гриба в спиртовом производстве / Е. А. Цед // Вест. МГУП. – 2013. – № 2 (14) – С. 45–50.
9. Слюсаренко, Т. П. Лабораторный практикум по микробиологии пищевых производств / Т. П. Слюсаренко. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1984. – 208 с.
10. Рухлядева, А. П. Инструкция по теххимическому и микробиологическому контролю спиртового производства / А. П. Рухлядева [и др.]. – М.: Пищевая пром-сть, 1986. – 399 с.
11. Столяр, Б. В. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии / Б. В. Столяр, И. М. Савинов. – Л.: Химия. – 1978. – 288 с.
12. Влияние углеводного состава высококонцентрированного ячменного сусла на бродильную активность спиртовых дрожжей / А. С. Устинова [и др.] // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2013. – № 3. – С. 39–41.

Поступила в редакцию 10.06.2016