

## **ІННОВАЦІЙНА ТЕХНОЛОГІЯ ЗБРОДЖУВАННЯ ВИСОКОКОНЦЕНТРОВАНОГО СУСЛА ІЗ ЗЕРНОВОЇ СИРОВИНИ**

**Ковальчук С. С., Мудрак Т. О.**

### **ВСТУП**

Одним з основних завдань спиртової галузі для входження України до Європейської спільноти є забезпечення конкурентоспроможності вітчизняної продукції. Нові напрями розвитку технології спирту вимагають підвищення концентрацій сухих речовин сусла; проведення бродіння за підвищених температур та концентрацій спирту в бражці; забезпечення зменшення собівартості спирту за рахунок економії сировини та енергоресурсів. У таких умовах необхідні високопродуктивні раси дріжджів із підвищеною осмофільністю, термотолерантністю та бродильною активністю.

Однак у застосуванні технології збродження сусла високих концентрацій виникає ряд проблем, пов'язаних із підвищенням в'язкості замісів, неповним гідролізом складників сировини. Розроблення інноваційних технологій приготування і збродження висококонцентрованого зернового сусла з використанням нових фізіологічно активних рас спиртових дріжджів сприяє збільшенню ефективності переробки сільськогосподарської сировини на спирт, зниженню утворення відходів виробництва – післяспиртової барди.

Дослідження, пов'язані з пошуком нових штамів – продуцентів етилового спирту, та розробка технології висококонцентрованих бражок із зернової сировини є актуальним питанням для спиртової галузі.

Підвищення температури збродження та осмотичного тиску середовища веде до створення екстремальних умов для життєдіяльності дріжджів. Для збродження сусла високих концентрацій велике значення має фізіолого-біохімічна активність дріжджів. Одним із питань є вплив макро- та мікроелементів на дріжджові клітини для збродження сусла високих концентрацій, що вивчено недостатньо.

# **1. Селекція нової термотолерантної, кислотостійкої раси *S. cerevisiae* ДО-16 для зброджування сусла високих концентрацій та визначення раціональних умов її культивування**

## **1.1. Селекція осмофільного штаму спиртових дріжджів для зброджування сусла високих концентрацій**

У процесі досліджень новий штам дріжджів був виділений з осаду після зброджування виноградного сусла, отриманого шляхом перероблення винограду без додавання чистої культури дріжджів, який адаптували до висококонцентрованого зернового сусла шляхом багатократного пересіву на стерильне сусло за поступового підвищення його концентрації.

Виділення чистої культури проводили таким чином: з осаду дріжджів, отриманого під час зброджування виноградного сусла, відбирали 1 г біомаси, яку розводили стерильною водою в співвідношенні 1:50 і висівали на сусло – агар у стерильні чашки Петрі. Чашки з посівним матеріалом інкубували в термостаті за температури 30°C протягом 72 год. Отримані колонії дріжджів переглядали під мікроскопом і повторно висівали в пробірки зі стерильним пивним сусликом. Культивували за температури 30°C протягом 24 год. Культуральну рідину (зброжене середовище) повторно висівали на сусло – агар у стерильні чашки Петрі. Отримані колонії дріжджів переглядали під мікроскопом, висівали на стерильне сусло із крохмалевмісної сировини концентрацією 18% СР і культивували за температури 30°C тривалістю 72 год. Для адаптації дріжджів для зброджування сусла високої концентрації культивування виробничих дріжджів проводили шляхом поступового підвищення концентрації сухих речовин сусла до 24, 26, 28, 30, 32% СР. Виділену чисту культуру дріжджів визначили та ідентифікували як *S. cerevisiae* ДО-16<sup>1</sup>. Селекціоновану расу депоновано в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

---

<sup>1</sup> Осмофільний, кислотостійкий штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* ІМВ У-5099 для мікробіологічного синтезу етилового спирту з крохмалевмісної сировини: пат. 181941. Україна: С12N1/18(2006.01) С12R 1/865(2006.01). № а 2018 04649; заявл. 27.04.18 р.; опубл. 25.03.19 р., Бюл. № 6. 5 с.

## 1.2. Визначення оптимальних концентрацій сухих речовин за біоконверсії сусла осмофільними расами дріжджів

Дріжджі, які використовують у виробництві спирту, повинні відповідати таким вимогам: швидко і повністю зброджувати вуглеводи сусла; бути стійкими до підвищеної температури і високих концентрацій СР сусла та продуктів метаболізму дріжджів<sup>2</sup>.

Для досліджень у процесі приготування сусла використовували зерно кукурудзи крохмалистістю  $69,0 \pm 0,1\%$ . Дисперсність помелу становила 100-відсотковий прохід крізь сито з діаметром отворів 1 мм.

Сусло готували з концентрацією СР – 17, 20, 26, 28, 32%.

На першому етапі роботи були проведені дослідження з визначення оптимальної концентрації сусла під час збродження селекціонованим штамом дріжджів *S. cerevisiae* ДО-16 (табл. 1).

Із наведених даних таблиці 1 видно, що під час збродження сусла концентрацією 17, 20, 26% СР основні показники зрілих бражок були на рівні регламентованих. З підвищенням концентрації сусла до 28 та 32% СР показники зростають. Вміст незброджених вуглеводів підвищувався з 0,469 до 0,780 г/100 см<sup>3</sup>, а нерозчиненого крохмалю – з 0,10 до 0,15 г/100 см<sup>3</sup> бражки відповідно. Концентрація спирту збільшилась з 13,45 до 16,55% об. За концентрації 28% СР втрати з незбродженими вуглеводами не перевищують 2,85% по відношенню до введених на початку процесу бродіння і не зменшують нормативного виходу спирту з одиниці сировини. Більш істотне збільшення кількості незброджених вуглеводів та втрат у виході спирту спостерігається за концентрації 32% СР.

Для проведення порівняльної характеристики досліджень були підібрані також відомі раси дріжджів, здатні зброджувати сусло із крохмалевмісної сировини за підвищених концентрацій сухих речовин. Ефективність використання осмофільних дріжджів під час збродження крохмалевмісної сировини вивчали в порівнянні з дріжджами рас *S. cerevisiae* XII, К-81, ДО-11.

Під час збродження використовували зерно кукурудзи крохмалистістю 69% та концентраціями сусла 17, 20, 26, 28, 32% СР.

---

<sup>2</sup> Римарева Л.В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей. М: ДеЛи принт; 2010. 251 с.; Селекція та скрінінг рас спиртових дріжджів при збродженні висококонцентрованого сусла з крохмалевмісної сировини / Т.О. Мудрак та ін. *Наукові праці НУХТ*. 2018 Квіт; 24(2): 216–224.

Таблиця 1

**Вплив концентрації СР сусла з кукурудзи на показники дозрілої бражки за використання дріжджів *S. cerevisiae* ДО-16**

Показники	Концентрація сухих речовин сусла, %				
	17±0,2	20±0,2	26±0,2	28±0,2	32±0,2
Величина рН, од.	4,8±0,02	4,95±0,02	4,95±0,02	5,0±0,02	4,98±0,02
Кислотність, град	0,44±0,02	0,5±0,02	0,5±0,02	0,5±0,02	0,49±0,02
Концентрація спирту, % об.	8,9±0,03	10,65±0,03	13,45±0,03	14,91±0,03	16,55±0,03
СО <sub>2</sub> , г/200 см <sup>3</sup>	13,75±0,1	16,45±0,1	20,26±0,1	22,25±0,1	24,96±0,1
Вміст незброджених вуглеводів, г/100 см <sup>3</sup>	0,120±0,02	0,229±0,02	0,469±0,02	0,590±0,02	0,780±0,02
Вміст нерозчиненого крохмалю, г/100см <sup>3</sup>	0,08±0,01	0,09±0,01	0,10±0,01	0,12±0,01	0,15±0,01
Концентрація дріжджів, млн/см <sup>3</sup>	175±17	224±22	298±29	313±31	320±32
Частка мертвих клітин, %	2,8	9,6	18,4	19,4	20,8
Вихід спирту з 1 т умовного крохмалю, дал	66,60	66,61	66,60	66,58	66,10

Наведені в таблиці 2 експериментальні дані свідчать, що всі досліджені раси за концентрації сусла 17...20% СР синтезують спирт до його вмісту 8,0...8,05 та 10,43...10,45% об. відповідно. З підвищенням концентрації сусла до 26% СР кількість спирту, синтезованого расами дріжджів *S. cerevisiae* К-81 та ДО-11, збільшувалась. За концентрації сусла СР 28% та 32% селекціонований осмофільний штам дріжджів *S. cerevisiae* ДО-16 забезпечує найкращу здатність зброджувати сусло високої концентрації і при цьому накопичує до 14,40...16,18% об. спирту. Під час збродження сусла концентрацією СР 28...32% расами XII та К-81 вміст незброджених вуглеводів значно перевищував регламентовані показники.

На наступному етапі було досліджено динаміку синтезу різних груп органічних сполук, а саме: вищих спиртів, альдегідів, складних естерів у процесі збродження сусла з фіксованою початковою концентрацією СР 28%. Залежність концентрації летких органічних сполук у бражних дистилатах пов'язана з регуляторними функціями дріжджових клітин, які значною мірою залежать від раси спиртових дріжджів та технологічних параметрів приготування і збродження сусла.

Технологічні показники бражки за використання різних рас дріжджів

№	Раса дріжджів <i>S. cerevisiae</i>	Концентрація суцїа СР, %	Показники дорзїної бражки				
			рН, одиниць	Кислотність, град	Конц. етанолю, % об	Вміст незбрл. вуглеводів, г/100 см <sup>3</sup>	Вміст нерозч. крожмало, г/100 см <sup>3</sup>
1	XII	17±0,2	4,80±0,02	0,49±0,02	8,00±0,03	0,15±0,02	0,08±0,01
		20±0,2	4,75±0,02	0,49±0,02	10,43±0,03	0,34±0,02	0,10±0,01
		26±0,2	4,75±0,02	0,49±0,02	12,80±0,03	0,99±0,02	0,12±0,01
		<b>28±0,2</b>	4,95±0,02	0,49±0,02	<b>12,40±0,03</b>	<b>2,90±0,02</b>	<b>0,25±0,01</b>
		<b>32±0,2</b>	4,95±0,02	0,48±0,02	<b>12,86±0,03</b>	<b>3,65±0,02</b>	<b>0,42±0,01</b>
2	K-81	17±0,2	4,75±0,02	0,49±0,02	8,03±0,03	0,14±0,02	0,08±0,01
		20±0,2	4,80±0,02	0,50±0,02	10,45±0,03	0,32±0,02	0,09±0,01
		26±0,2	4,90±0,02	0,50±0,02	13,10±0,03	0,59±0,02	0,12±0,01
		<b>28±0,2</b>	4,90±0,02	0,50±0,02	<b>13,55±0,03</b>	<b>1,02±0,02</b>	<b>0,15±0,01</b>
		<b>32±0,2</b>	4,70±0,02	0,49±0,02	<b>14,18±0,03</b>	<b>2,34±0,02</b>	<b>0,18±0,01</b>
3	D-11	17±0,2	5,00±0,02	0,49±0,02	8,05±0,03	0,14±0,02	0,08±0,01
		20±0,2	4,95±0,02	0,48±0,02	10,45±0,03	0,32±0,02	0,09±0,01
		26±0,2	4,60±0,02	0,48±0,02	13,10±0,03	0,37±0,02	0,12±0,01
		<b>28±0,2</b>	5,10±0,02	0,48±0,02	<b>14,20±0,03</b>	<b>0,48±0,02</b>	<b>0,16±0,01</b>
		<b>32±0,2</b>	5,50±0,02	0,49±0,02	<b>15,50±0,03</b>	<b>0,87±0,02</b>	<b>0,16±0,01</b>
4	D-16	17±0,2	4,75±0,02	0,49±0,02	8,05±0,03	0,12±0,02	0,08±0,01
		20±0,2	4,95±0,02	0,48±0,02	10,45±0,03	0,32±0,02	0,09±0,01
		26±0,2	4,90±0,02	0,49±0,02	13,50±0,03	0,39±0,02	0,10±0,01
		<b>28±0,2</b>	4,90±0,02	0,50±0,02	<b>14,40±0,03</b>	<b>0,43±0,02</b>	<b>0,12±0,01</b>
		<b>32±0,2</b>	4,75±0,02	0,50±0,02	<b>16,18±0,03</b>	<b>0,69±0,02</b>	<b>0,15±0,01</b>

Таблиця 3

**Вміст летких домішок спирту в бражних дистилятах  
у разі зброджування сусла різними расами дріжджів**

№ з.п.	Раса дріжджів <i>S. cerevisiae</i>	Концентрація, мг/дм <sup>3</sup>										
		Ацетальдегід, мг/дм <sup>3</sup>	естери, мг/дм <sup>3</sup>				метанол, % об.	сивушні спирти, мг/дм <sup>3</sup>				
			метилацетат	етилацетат	ізоамілацетат	сума по групі		н-пропанол	ізобутанол	н-бутанол	ізоаміловий спирт	сума по групі
1	ПХ	47,8	1,15	2,02	8,77	11,90	0,0048	83,11	41,26	9,07	130,1	263,54
2	К-81	48,6	0,93	2,15	6,54	9,62	0,0050	104,50	36,29	7,97	105,9	254,66
3	ДО-11	40,8	1,36	2,12	1,32	4,80	0,0045	75,06	40,44	1,01	146,3	262,81
4	ДО-16	29,6	1,09	1,87	1,05	4,01	0,0044	71,06	36,31	8,56	119,2	235,13

За результатами отриманих експериментальних даних із вмісту летких органічних домішок у бражних дистилятах встановлено, що концентрація альдегідів у разі зброджування сусла класичною расою XII становила 47,8 мг/дм<sup>3</sup>, у раси *S. cerevisiae* ДО-16 концентрація цієї групи домішок знижувалася в 1,6 рази, а у раси *S. cerevisiae* ДО-11 знижувалась майже у 1,2 рази порівняно з расою XII (таблиця 1.3). При цьому концентрація вищих спиртів у разі зброджування сусла расою XII становила 263,54 мг/дм<sup>3</sup>, К-81 – 254,66 мг/дм<sup>3</sup>, ДО-11 – 262,81 мг/дм<sup>3</sup>, ДО-16 – 235,13 мг/дм<sup>3</sup>. У динаміці синтезу складних естерів спостерігалася аналогічна тенденція.

Виділена раса дріжджів здатна ефективно зброджувати сусло концентрацією СР 28% і вище. Результати лабораторних досліджень процесу зброджування крохмалевмісної сировини новим осмофільним штамом дають підстави рекомендувати його для застосування на підприємствах спиртової галузі під час зброджування сусла високих концентрацій.

### 1.3. Дослідження впливу технологічних параметрів культивування на морфолого-цитологічні особливості селекціонованої осмофільної раси дріжджів

Для зброджування сусла високих концентрацій велике значення має фізіолого-біохімічна активність дріжджів. Використання нових рас дріжджів та корегування біохімічного складу поживного середовища дозволяють значно покращити показники спиртового бродіння. Для зброджування сусла високої концентрації необхідною умовою є підвищення фізіологічної активності дріжджів та їх

кількості залежно від вмісту СР у суслі та температури зброджування<sup>3</sup>. Підвищення температури зброджування та осмотичного тиску середовища призводить до створення екстремальних умов для життєдіяльності дріжджів. Це може викликати зниження регенеративної та бродильної активності дріжджів, що у свою чергу спричиняє нестабільну роботу бродильного відділення. Перспективним напрямом наукових досліджень є пошук шляхів підтримання стабільності процесів вирощування виробничих дріжджів та підвищення їхньої бродильної активності. Тому в роботі були проведені дослідження, спрямовані на інтенсифікацію процесу вирощування виробничих дріжджів під час зброджування сусла високих концентрацій.

### **1.3.1. Визначення впливу температури на біосинтегічні властивості дріжджів**

Для визначення стійкості досліджуваних рас до високих температур та концентрації сусла було проведено дослідження з культивування дріжджів за температури 30, 32, 35, 38°C. Досліджували раси спиртових дріжджів *S. cerevisiae* ДО–16, ДО–11, К–81, XII. Культивування проводили за концентрації СР сусла 20 та 28%.

Встановлено, що найвища концентрація дріжджових клітин синтезувалась за температури 32...35°C. З підвищенням концентрації СР сусла підвищувалась концентрація дріжджових клітин, незалежно від раси. Так за концентрації сусла 28% СР та температури культивування 32°C раса *S. cerevisiae* ДО–16 синтезувала в 1,2 рази більше дріжджових клітин порівняно з расою ДО–11 та в 2,3...3,16 рази більше порівняно з *S. cerevisiae* К–81 та XII расами (табл. 4). За температури 38°C у всіх досліджуваних расах концентрація дріжджових клітин знижувалась у порівнянні з температурою 32...35°C. У порівнянні з іншими расами *S. cerevisiae* ДО–16 здатна витримувати високу температуру (до 38 °C) та синтезувати найвищу кількість дріжджових клітин, незалежно від температури зброджування у процесі культивування дріжджів (табл. 4). Отже, селекціонована раса *S. cerevisiae* ДО–16 має термотолерантні властивості, що дає можливість зброджувати сусло за температури 35°C і вище.

---

<sup>3</sup> Римарева Л.В., Оверченко М.Б. Активная раса дрожжей с термотолерантными и осмофильными свойствами для спиртового производства. *Ликероводочное производство и виноделие*. 2000. № 6. С. 8–10.

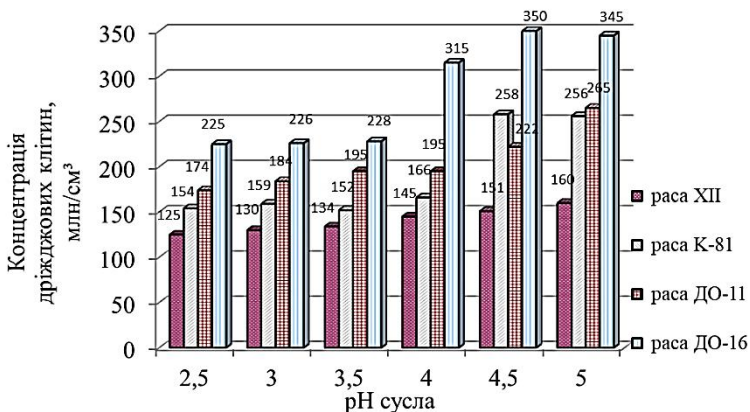
**Вплив температури на біосинтез дріжджових клітин**

№ з.п.	Раси дріжджів <i>Sacch. cerevisiae</i>	Концентрація СР сусла, %							
		20				28			
		Температура, °С				Температура, °С			
		30	32	35	38	30	32	35	38
		Кількість дріжджових клітин, млн/см <sup>3</sup>							
1	ХП	134	95	89	45	115	131	109	45
2	К-81	150	158	157	48	160	177	149	68
3	ДО-11	212	215	148	75	320	321	218	78
4	ДО-16	250	290	285	95	405	415	380	115

### 1.3.2. Дослідження впливу рН на процес культивування селекціонованої раси дріжджів

У результаті зброджування висококонцентрованого сусла відбувається не лише синтез основних та побічних продуктів бродиння, але й органічних кислот. Сьогодні для технології приготування замісу застосовують фільтрат барди, використання якого також зумовлює підвищення кислотності сусла. При цьому важливо, щоб дріжджі були здатні витримувати не тільки високу концентрацію сусла, а й кислотність. Були проведені дослідження щодо впливу рН сусла на синтез дріжджових клітин різними расами спиртових дріжджів (рис 3.1). Сусло підкислювали до рН 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 та 5,0 сірчаною кислотою (х. ч.). Встановлено, що за значень рН 2,5; 3,0; 3,5 та 4,0 у раси *S. cerevisiae* ДО–16 концентрація дріжджових клітин була вищою в 2,5; 1,8; 1,5 та 1,4 рази відповідно, порівнюючи з досліджуваними расами (рис. 1), що підтверджує кислотостійкість селекціонованої раси спиртових дріжджів *S. cerevisiae* ДО–16. Отже, культивування дріжджів за низьких значень рН забезпечить не тільки необхідну стерильність субстрату, але й високий вміст дріжджових клітин, що становить 220...320 млн/см<sup>3</sup>.





**Рис. 1. Вплив рН суслу на синтез клітин різними расами спиртових дріжджів**

### 1.3.3. Дослідження впливу амінного та аміачного азоту на процес культивування спиртових дріжджових клітин

Обмін речовин дріжджів знаходиться у прямій залежності від кількості азотного живлення<sup>4</sup>. За підвищення концентрації СР зернового суслу зростає потреба дріжджів у легкоасимільованому амінному азоті. У зв'язку з цим нами вивчався вплив додаткових джерел азотного живлення під час культивування спиртових дріжджів.

Повноцінне азотне живлення є важливим фактором регулювання процесів розмноження спиртових дріжджів і їхньої фізіологічної активності. У процесі розмноження дріжджів роль азотного живлення зростає, потреба в ньому залежить від фази їхнього росту. В експоненціальній фазі росту вміст вільних внутрішньоклітинних амінокислот у дріжджових клітинах вищий у два рази, ніж у засівних дріжджах<sup>5</sup>.

Були проведені дослідження впливу азотного живлення на синтез дріжджових клітин. Джерелом азотного живлення є амінокислоти, які асимілюються дріжджами із субстрату шляхом

<sup>4</sup> Рациональный выбор расы спиртовых дрожжей / Римарева Л.В. и др. *Производство спирта и ликероводочных изделий*. 2001. № 2. С. 19–21.

<sup>5</sup> Элементный состав клеток штамма *Saccharomyces cerevisiae* Y – 503, культивируемого на различных питательных средах / Халилова Э.А. и др. *Производство спирта и ликероводочных изделий*. 2011. № 4. С. 19–21.

прямої асиміляції. Тому забезпечення субстрату даним джерелом азотного живлення є одним зі шляхів інтенсифікації процесу культивування дріжджів та зброджування сусла.

Найбільш перспективною сировиною для виробництва спирту в Україні є кукурудза. Врожайність цієї культури вища порівняно з іншими зерновими культурами.

Проведені дослідження щодо визначення кількості амінного азоту в суслі з кукурудзи різної концентрації. Як видно із табл. 5, сусло з кукурудзи незалежно від його концентрації СР має відносно низький вміст амінного азоту.

Таблиця 5

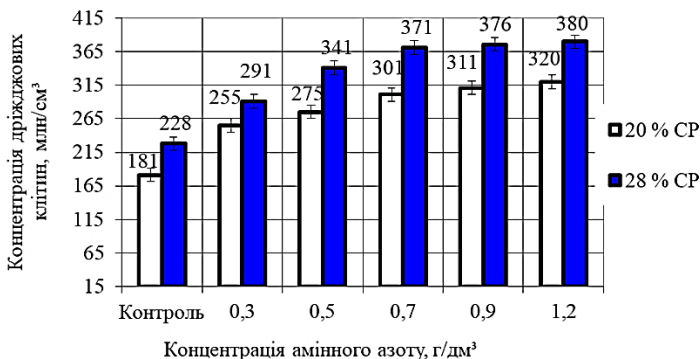
**Вміст амінного азоту в суслі з кукурудзи**

№	Концентрація СР сусла, %	Вміст амінного азоту, мг/100 см <sup>3</sup>	Вміст амінного азоту, г/дм <sup>3</sup>
1	20,0±0,2	8,40	0,08
2	25,0±0,2	14,00	0,14
3	27,0±0,2	16,24	0,16
4	28,0±0,2	18,06	0,18
5	30,0±0,2	19,88	0,19
6	31,5±0,2	21,80	0,21

Концентрацію амінного азоту коригували шляхом внесення в сусло амінокислоти – гліцину. У дріжджове сусло вносили гліцин до концентрації амінного азоту 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 та 1,2 г/дм<sup>3</sup> і засівні дріжджі в кількості 15 млн/см<sup>3</sup>. Для культивування використовували расу дріжджів *S. cerevisiae* ДО-16. Дослідження проводили на суслі з кукурудзи концентрацією 20% та 28% СР. Сусло підкислювали сірчаною кислотою до рН 5,0, як фосфорне живлення використовували ортофосфорну кислоту згідно з нормативними витратами. Контролем слугував зразок дріжджового сусла з додаванням азотного живлення як сечовини згідно з нормативними витратами<sup>6</sup>. Тривалість культивування дріжджів становила 24 години. Встановлено (рис. 2), що в процесі культивування дріжджів із підвищенням концентрації амінного азоту в суслі зростає не тільки питома швидкість розмноження

<sup>6</sup> Технологічний регламент перегонки бражки з вуглеводмісної сировини та ректифікація спирту на енерго- та ресурсозберігаючих брагоректифікаційних установках ТР 00032744–1116–2003. Київ, 2003. 132 с.

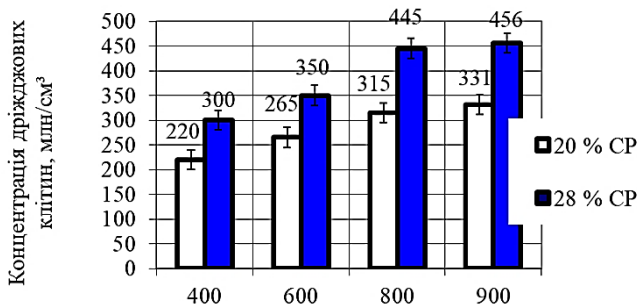
дріжджових клітин у 1,4...1,5 рази, але й загальна кількість на 40...50% порівняно з контролем, залежно від концентрації СР сусла. Однак підвищення концентрації амінного азоту більше 0,7 г/дм<sup>3</sup> не призводило до суттєвого підвищення приросту клітин.



**Рис. 2. Вплив концентрації амінного азоту на динаміку синтезу дріжджових клітин у процесі культивування**

Для забезпечення дріжджів азотним живленням у процесі культивування використовують сечовину з розрахунку 400...600 г/м<sup>3</sup>.

Аналізуючи отримані дані, було вирішено провести порівняльні дослідження з визначення оптимальної концентрації сечовини (як аміачного азоту), яку вносили в сусло в кількості 400, 600, 800 та 900 г/м<sup>3</sup>, за концентрації СР сусла 20 та 28%. Встановлено (рис. 3), що з підвищенням концентрації азотного живлення в субстраті концентрація дріжджових клітин зростала на 40...60% і становила 260...430 млн/см<sup>3</sup> залежно від вмісту сухих речовин у суслі. Додавання сечовини в субстрат вище 800 г/м<sup>3</sup> сприяло незначному підвищенню синтезу дріжджових клітин. За результатами отриманих даних встановлено, що внесення сечовини як азотного живлення 800 г/м<sup>3</sup>, незалежно від його концентрації, є більш доцільним.



Концентрація аміачного азоту в суслі, г/м³

**Рис. 3. Вплив концентрації аміачного азоту на динаміку синтезу дріжджових клітин у процесі культивування**

### 1.3.4. Вплив металів у нано- та іонній формі на процес культивування дріжджів

Одним зі способів корегування метаболізму в дріжджовій клітині є кореляція складу зброджуваного субстрату шляхом внесення макро- та мікроелементів.

Роль мікроелементів у життєдіяльності мікроорганізмів надзвичайно важлива<sup>7,8</sup>. Особливістю мікроелементів є здатність вступати в сполуки з органічними речовинами, такими як білки, пептиди, амінокислоти, органічні кислоти, цукри, вітаміни. Особлива роль належить зв'язкам металів з ферментами і вітамінами. Присутність певних мікроелементів у складі цих комплексів підвищує біологічну активність мікроорганізмів. Практично всі мікроелементи є активаторами ферментів і одночасно складовою частиною молекул.

Одним із перспективних напрямів інновацій у харчовій промисловості є застосування нанотехнологій. Особливо це

<sup>7</sup> Effect of nitrogen and mineral composition of the high-concentrated wort made from starch-containing raw materials on the cultivation of yeast / P. Shiyan *et al.* *Eastern-European journal of enterprise technologies.* 2017 Nov; 6(11). P. 72–77. doi:10.15587/1729–4061.2017.117357.

<sup>8</sup> Investigation of the influence of nanoparticles of metals on fermentation of wort of high concentrations / S. Kovalchuk *et al.* *Eureka: Life Sciences.* 2017 Dec; 6(12).P. 51–56. doi: 10.21303/2504–5695.2017.00512.

важливо під час зброджування висококонцентрованого сусла із крохмалевмісної сировини. Наночастинки мають унікальні характеристики, які зумовлені малими розмірами, хімічними властивостями, розчинністю та ступенем агломерації<sup>9,10</sup>.

Одним зі шляхів інтенсифікації процесу культивування дріжджів є використання препаратів на основі наночастинок – водних дисперсій біогенних препаратів. Для проведення досліджень використовували сусло з кукурудзи концентрацією 28% СР. Засівні дріжджі вносили з розрахунку 20 млн/см<sup>3</sup>. Концентрація металів у наноформі – 2 мкг/см<sup>3</sup>, 10 мкг/см<sup>3</sup>, 20 мкг/см<sup>3</sup>. Сусло для культивування дріжджів готували згідно з вимогами технологічного регламенту. Потреба в мікроелементах може збільшуватись у декілька разів через те, що клітина знаходиться в стресових умовах, наприклад за підвищеної температури та осмотичного тиску. Аналіз отриманих даних показав (рис. 4), що в разі використання наночастинок Zn, Mg, Fe, Mn та Cu за концентрації 2 мкг/см<sup>3</sup> синтезувалась найбільша кількість дріжджової біомаси і становила 190...420 млн/см<sup>3</sup>. У разі підвищення концентрації цих компонентів до 10 та 20 мкг/см<sup>3</sup> відбувалося зниження концентрації клітин під час культивування виробничих дріжджів.

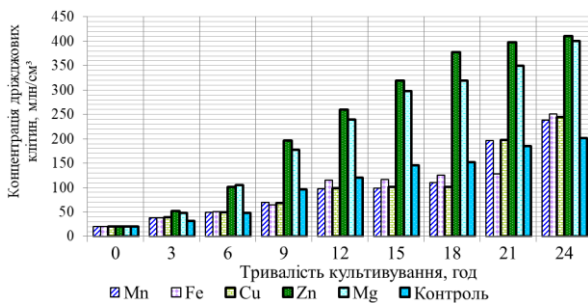
Найбільша кількість дріжджових клітин спостерігалась у разі використання наночастинок металів Zn та Mg за концентрації 2 мкг/см<sup>3</sup> і становила 380 та 420 млн/см<sup>3</sup> відповідно.

Надалі було проведено дослідження з одночасного використання металів Zn та Mg. Культивування дріжджів проводили на суслі концентрацією 28% СР (рис. 5). Одночасне використання вищезазначених металів у наноформі дозволило отримувати високу концентрацію дріжджових клітин, яка становила від 370 до 480 млн/см<sup>3</sup>. Подальші дослідження були спрямовані на визначення впливу іонів Zn<sup>2+</sup> та Mg<sup>2+</sup> на інтенсифікацію процесу культивування виробничих дріжджів. Як джерело вказаних металів використовували солі ZnSO<sub>4</sub> та MgSO<sub>4</sub> у кількості 40, 50 та 60 г/м<sup>3</sup> сусла (рис. 6) за концентрації сусла 28% СР.

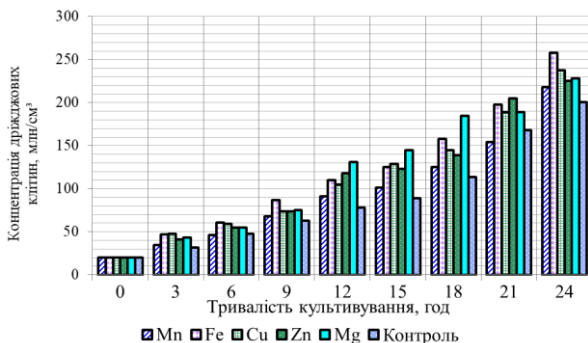
---

<sup>9</sup> Меледина Т.В., Давыденко С.Г. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм. Санкт-Петербург: Университет ИТМО; 2015. 88 с.

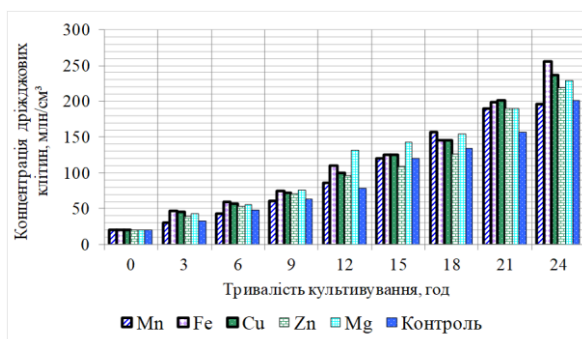
<sup>10</sup> Bhupinder S.S. Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnol Sci.* 2014; 7. P. 31–53.



*a*



*б*

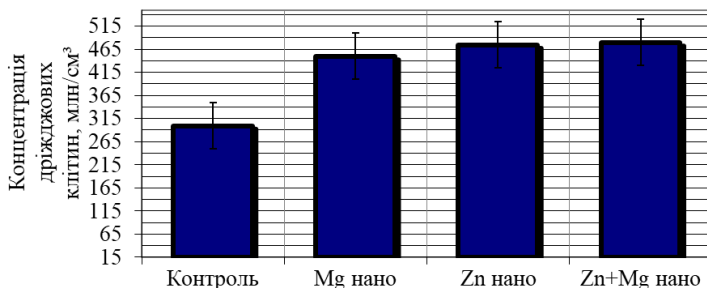


*в*

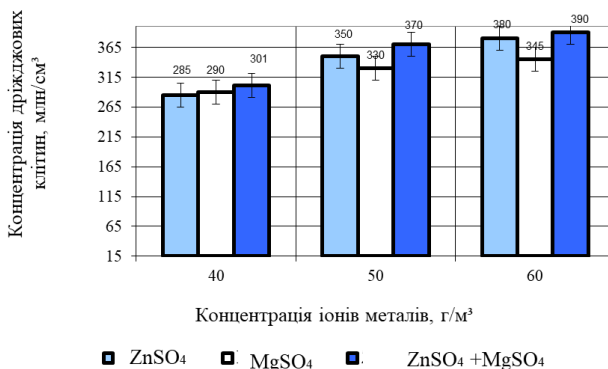
**Рис. 4. Вплив концентрації металів у наночастинках на накопичення дріжджових клітин (концентрація наночастинок металів: *a* – 2 мкг/см<sup>3</sup>; *б* – 10 мкг/см<sup>3</sup>; *в* – 20 мкг/см<sup>3</sup>)**

Встановлено, що в разі внесення  $50 \text{ г/м}^3$  іонів металів  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  на стадії культивування дріжджів підвищувалась концентрація клітин до 320 та 370 млн/см<sup>3</sup>.

Підвищення концентрації іонів металів до  $60 \text{ г/м}^3$  суттєво не впливало на накопичення біомаси дріжджів.



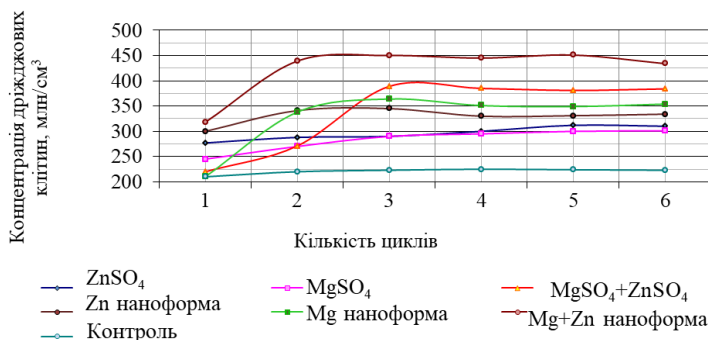
**Рис. 5. Вплив Zn та Mg у наноформі на динаміку синтезу дріжджових клітин у процесі культивування**



**Рис. 6. Вплив іонів металів  $\text{Zn}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$  на синтез дріжджових клітин у процесі культивування**

Встановлено, що в разі внесення  $50 \text{ г/м}^3$  іонів металів  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  на стадії культивування дріжджів підвищувалась концентрація клітин до 320 та 370 млн/см<sup>3</sup>. Підвищення концентрації іонів металів до  $60 \text{ г/м}^3$  суттєво не впливало на накопичення біомаси дріжджів.

Аналіз отриманих даних показав доцільність використання металів Zn та Mg як у нано-, так і іонній формах. Досліджено застосування цих металів на стадії культивування дріжджів за багаторазового використання в батареї дріжджанок при відборі 10% готових виробничих дріжджів з попередньої до наступної дріжджанки, тобто по циклах. Один цикл – це тривалість процесу культивування в разі одержання виробничих дріжджів у одній дріжджанці. За контроль вибрано зразок дріжджового сула без додавання мінерального живлення. Встановлено, що за додавання мінерального живлення в кожному циклі підвищується синтез дріжджових клітин до другого та третього циклів, залежно від форми внесених металів. Зі збільшенням кількості циклів вирощування виробничих дріжджів концентрація дріжджових клітин зменшувалась від 5 до 28%. Запропоновано додавати мінеральне живлення лише до 3-го циклу, щоб стабілізувати роботу дріжджебродильного відділення. Доведено доцільність застосування мінерального живлення в наноформі. За концентрації металів у наноформі 2 мкг/м<sup>3</sup> сула синтезувалась найбільша кількість дріжджової біомаси і становила 190... 420 млн/см<sup>3</sup>, а в разі внесення 50 г/м<sup>3</sup> іонів металів Zn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> на стадії культивування дріжджів концентрація дріжджових клітин становила 320...370 млн/см<sup>3</sup> (рис. 7).



**Рис. 7. Вплив багаторазового використання мінерального живлення для дріжджів**

Додавання металів у нано- та іонній формах на стадії культивування дріжджів потрібно проводити циклічно у співвідношенні: 3 цикли з мінеральним живленням і стільки ж – без використання мінерального живлення.



## **2. Підбір оптимальних композицій ферментних препаратів для гідролізу біополімерів зерна та зброджування суслу високих концентрацій**

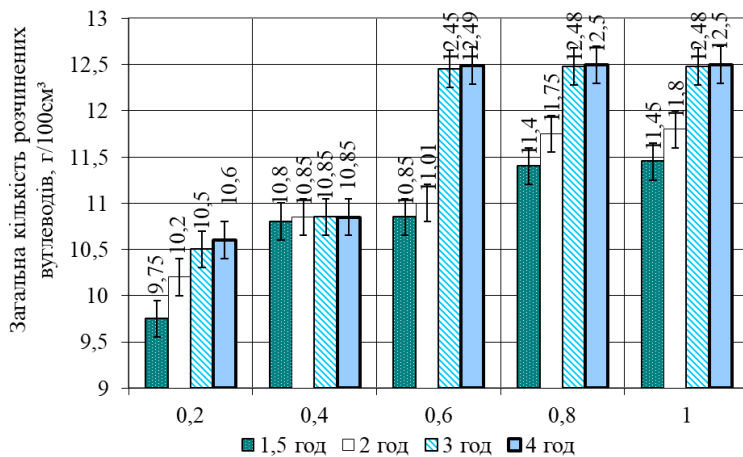
### **2.1. Дослідження впливу концентрації $\alpha$ -амілази на біокаталіз зернового замісу**

Оскільки ефективність та інтенсивність процесу зброджування, а також концентрація спирту в бражці в значній мірі залежить від вмісту вуглеводів у суслі, отже, дослідження були спрямовані на визначення оптимальної концентрації амілолітичних ферментних препаратів, яка забезпечувала би високий ступінь гідролізу крохмалю сировини до зброджуваних цукрів під час зброджування висококонцентрованого суслу.

Досліджено вплив концентрації сухих речовин суслу на витрату ФП  $\alpha$ -амілази та тривалість процесу розріджування замісу. Для досліджень використовували ФП Amylex 4Т як джерело  $\alpha$ -амілази, за дозування 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 та 1,0 од. АЗ/г крохмалю, і заміси готували концентрацією 20, 25, 28, 30 % СР із кукурудзи. Ступінь дисперсності помелів зерна відповідала 100% проходу крізь сито з діаметром отворів 1 мм. Крохмалистість кукурудзи становила 69,0%, температура розріджування сировини – 85...90°C.

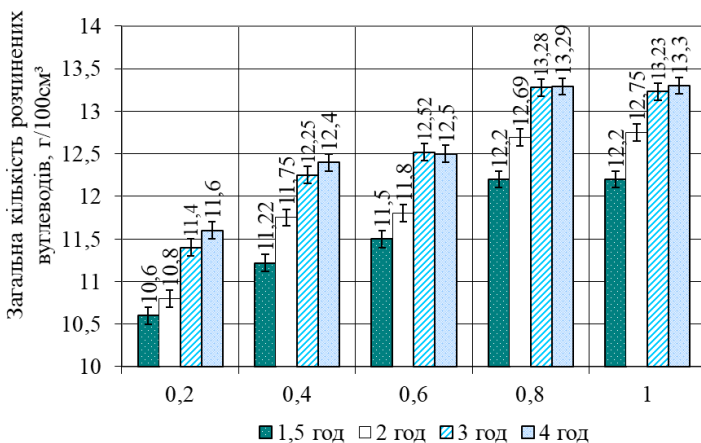
Як видно з рис. 8 (*a-z*), на ступінь гідролізу крохмалю сировини, незалежно від концентрації СР замісів, впливає тривалість розріджування. Так, за експозиції розріджування 1,5 год. вміст розчинених вуглеводів становив 11,4; 11,78; 12,8; 13,0 г/100 см<sup>3</sup> залежно від концентрації СР замісу. З підвищенням експозиції розріджування до 3-х год. цей показник зростає на 9,0; 9,42; 16,5; 22,3% відповідно до концентрації СР замісу, а за подальшого подовження до 4 год. він практично не змінюється. Таким чином, оптимальна тривалість термоферментативної обробки становила 3 год. незалежно від концентрації СР суслу.

Як видно з рис. 8 (*a-z*), з підвищенням дозування  $\alpha$ -амілази від 0,2 до 1,0 од. АЗ/г крохмалю, незалежно від концентрації СР суслу, вміст розчинених вуглеводів поступово зростає. Аналіз даних показав, що оптимальним дозуванням  $\alpha$ -амілази для замісів 25...30% СР – 0,8 од. АЗ/г крохмалю, а для 20% – 0,4 од. АЗ/г крохмалю.



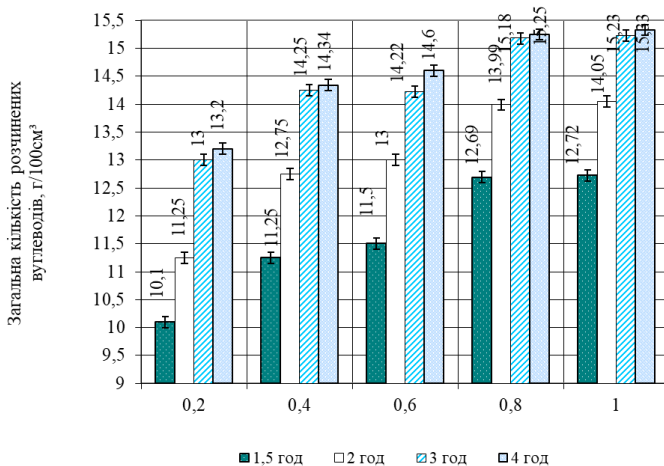
**Концентрация α-амилазы, од АЗ/г крохмалю**

a)



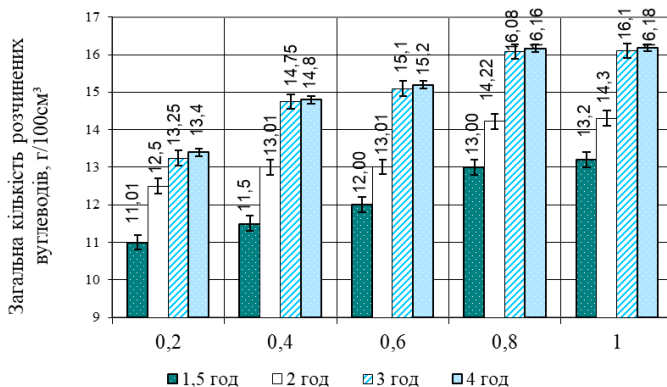
**Концентрация α-амилазы, од АЗ/г крохмалю**

b)



### Концентрація α-амілази, од АЗ/г крохмалю

б)



### Концентрація α-амілази, од АЗ/г крохмалю

з)

**Рис. 8. Вплив концентрації α-амілази на показники гідролізу крохмалю кукурудзи: а – концентрація СР 20%, б – концентрація СР 25%, в – концентрація СР 28%, з – концентрація СР 30%**

Були проведені дослідження щодо зброджування сусла з кукурудзи концентрацією 20, 25, 28, 30% СР (табл. 6). У дослідженнях для оцукрювання розрідженого замісу використовували ФП глюкоамілази з розрахунку 7,5 од. ГлЗ/г крохмалю. Оцукрювання проводили за температури 50...55°C, експозицією 0,5 год. Значення, отримані під час зброджування сусла, підтвердили запропоновані попередньо дозування ФП, які вказані вище. Про це свідчать дані, як щодо вмісту нерозчиненого крохмалю та водорозчинних вуглеводів, так і щодо синтезу спирту в бражках.

Таблиця 6

**Технологічні показники зрілої бражки залежно від дозування α-амілолітичних ФП за різних концентрацій СР сусла**

№ з.п	Фактори впливу		Технологічні показники дозрілої бражки			
	Конц. сусла СР, %	А-амілаза, од. АЗ/г крохмалю	Σ CO <sub>2</sub> , г/200 см <sup>3</sup>	Вміст вуглеводів, г/100см <sup>3</sup> бражки		Концентрація етанолу, % об.
				Незброджені	Нерозчинений крохмаль	
1	20±0,2	0,2	14,50±0,1	0,480±0,02	0,120±0,01	9,80±0,03
2	20±0,2	0,4	15,70±0,1	0,360±0,02	0,120±0,01	10,55±0,03
3	20±0,2	0,6	16,02±0,1	0,250±0,02	0,100±0,01	10,66±0,03
4	20±0,2	0,8	16,05±0,1	0,230±0,02	0,085±0,01	10,67±0,03
5	20±0,2	1,0	16,08±0,1	0,210±0,02	0,081±0,01	10,67±0,03
6	25±0,2	0,2	18,40±0,1	0,450±0,02	0,100±0,01	12,28±0,03
7	25±0,2	0,4	18,60±0,1	0,380±0,02	0,090±0,01	12,40±0,03
8	25±0,2	0,6	18,77±0,1	0,260±0,02	0,085±0,01	12,48±0,03
9	25±0,2	0,8	18,82±0,1	0,240±0,02	0,080±0,01	12,52±0,03
10	25±0,2	1,0	18,83±0,1	0,241±0,02	0,080±0,01	12,52±0,03
11	28±0,2	0,2	19,89±0,1	0,44±0,02	0,500±0,02	0,120±0,01
12	28±0,2	0,4	20,20±0,1	0,43±0,02	0,360±0,02	0,099±0,01
13	28±0,2	0,6	20,23±0,1	0,43±0,02	0,320±0,02	0,095±0,01
14	28±0,2	0,8	20,30±0,1	0,43±0,02	0,310±0,02	0,094±0,01
15	28±0,2	1,0	20,30±0,1	0,43±0,02	0,311±0,02	0,095±0,01
16	30±0,2	0,2	23,05±0,1	0,43±0,02	0,750±0,02	0,250±0,01
18	30±0,2	0,4	23,11±0,1	0,43±0,02	0,600±0,02	0,220±0,01
19	30±0,2	0,6	23,19±0,1	0,43±0,02	0,580±0,02	0,160±0,01
20	30±0,2	0,8	23,32±0,1	0,43±0,02	0,570±0,02	0,150±0,01

Як видно з табл. 6, для концентрації СР сусла 20% за дозування ФП 0,4 од. АЗ/г крохмалю вміст спирту в бражці становив 10,66% об., подальше підвищення дозування ФП α-амілази не приводило до підвищення синтезу спирту. Проте для концентрації СР сусла 25% підвищення дозування від 0,6 до 0,8 од. АЗ/г

крохмалю сприяло підвищенню вмісту спирту в бражці на 1,5% відносних. Відповідно, вміст водорозчинних вуглеводів знижувався з 0,45 г/100 см<sup>3</sup> бражки до 0,24 г/100 см<sup>3</sup>. Для концентрацій 28...30% СР спостерігалась аналогічна тенденція. Отже, дозування  $\alpha$ -амілази 0,4 од. АЗ/г крохмалю є оптимальним для сусла концентрацією 20% СР, а для 25...30% СР доцільно дозувати з розрахунку 0,8 од. АЗ/г крохмалю.

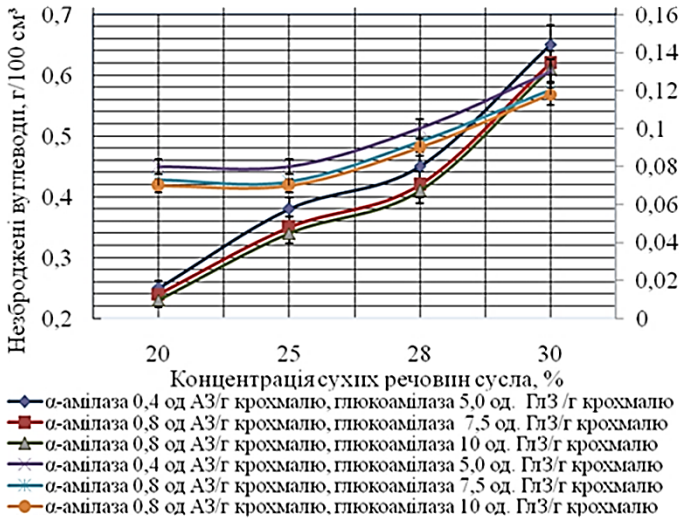
## **2.2. Дослідження впливу концентрації глюкоамілази на біоконверсію сусла високих концентрацій**

Для забезпечення якості біоконверсії сусла необхідною умовою є ступінь гідролізу складників розрідженого замісу до зброджуваних вуглеводів. Тому в роботі були проведені дослідження впливу концентрації ФП глюкоамілази на біоконверсію сусла високих концентрацій.

Як джерело  $\alpha$ -амілази використовували ФП Amylex 4Т, глюкоамілази –Diazum TGA. Ферментні препарати задавали по одиницях активності. Для досліджень використовували зерно кукурудзи крохмалистістю 69,0 $\pm$ 0,1%. Ступінь подрібнення сировини становив 100% проходу крізь сито з діаметром отворів 1 мм. Концентрація сухих речовин сусла становила 20, 25, 28 та 30%. Зброджування сусла проводили за температури 32...35°C.

Зброджували сусло осмофільним штамом дріжджів *S. cerevisiae* ДО-16. Засівні дріжджі задавали з розрахунку 20...40 млн/см<sup>3</sup> сусла залежно від концентрації сусла. Термоферментативну обробку крохмалевмісної сировини проводили за температури 80...90°C експозицією 3 год., оцукрювання розрідженого замісу – за температури 50...55°C експозицією 30 хв. Витрати термостабільної  $\alpha$ -амілази становили 0,4...0,8 од. АЗ/г крохмалю, глюкоамілази 5,0; 7,5 та 10 од. ГЛЗ/г крохмалю.

За концентрації сусла 20% СР отримали бражку з відмінними показниками незброджених вуглеводів (0,23...0,25 г/100 см<sup>3</sup> бражки) та нерозчиненого крохмалю (0,08...0,07 г/100 см<sup>3</sup> бражки) відносно кількості внесеної глюкоамілази (рис. 9). З підвищенням концентрації СР сусла ці показники зростали і за концентрації 28% СР вміст розчинених вуглеводів зріс майже у 2 рази, а концентрація спирту в бражках становила 13,29...13,36% об.

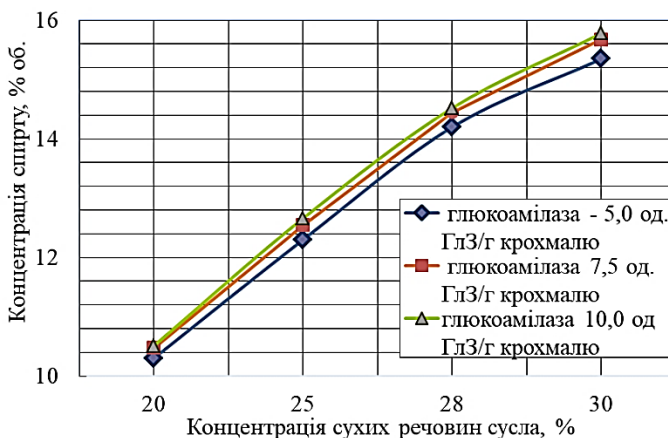


**Рис. 9. Залежність кількості нерозчиненого крохмалю та незброджених цукрів у бражці з кукурудзи від початкової концентрації СР сусле та ферментних препаратів**

За концентрації сухих речовин 30% незброжені вуглеводи в бражках підвищувались до 0,61...0,65 г/100 см<sup>3</sup> бражки, а нерозчинений крохмаль перевищував регламентовані показники на 10...20%.

Синтез спирту в зрілих бражках становив 15,75...15,78% об. (рис. 10). З підвищенням концентрації глюкоамілази до 10,0 од. ГлЗ/г крохмалю суттєвих змін технологічних показників зрілих бражок не спостерігалось.

Таким чином, встановлено, що для розріджування крохмалю сировини, залежно від концентрації СР сусле, витрати α-амілази для замісу концентрацією 20% СР становлять 0,4 од. АЗ/г крохмалю, для 25% СР і вище – 0,8 од. АЗ/г крохмалю, а витрати глюкоамілази, незалежно від концентрації СР сусле, становили 7,5 од. ГлЗ/г крохмалю.



**Рис. 10. Залежність концентрації спирту в бражі з кукурудзи від початкової концентрації СР сусла та ферментних препаратів**

### **2.3. Дослідження впливу комплексу ферментних препаратів на біоконверсію сусла**

Оскільки до складу крохмалевмісної сировини входить не тільки крохмаль як основний компонент, але й білок, геміцелюлози, гумі-речовини та целюлоза, то це необхідно враховувати, особливо в разі зброджування сусла високих концентрацій. Переробка сусла високої концентрації спричиняє зростання його в'язкості, тому для підвищення ступеню біокаталізу всіх складників зерна необхідно підібрати мультиензимні системи різного цільового призначення.

Некрохмальні полісахариди зернової сировини характеризуються високою в'язкістю, і набрякання крохмалю відбувається значно повільніше, що призводить до зниження ступеню його гідролізу амілолітичними ферментними препаратами. У разі використання целюлолітичних та протеолітичних ферментних препаратів покращуються і реологічні показники сусла. У зв'язку з цим були проведені дослідження з підбору композицій ферментних препаратів та їх концентрацій. Під час підбору ферментних систем досліджували їхній вплив на технологічні показники зрілих бражок за зброджування сусла.

Зброджували сусло з кукурудзи концентрацією 25...30% СР. Крохмалистість кукурудзи становила 69,0%, ступінь дисперсності помелу – 100% прохід крізь сито з діаметром отворів 1 мм.

У процесі експериментальних досліджень використовували целюлолітичний ферментний препарат Laminex 750, протеолітичний – Alphasal AFP. Під час проведення досліджень концентрація протеолітичного ферментного препарату Alphasal AFP становила 0,02; 0,03; 0,05 од. ПрЗ/г сировини, целюлолітичного Laminex 750 – 0,125; 0,25; 0,35 од. ЦЗ/г сировини.

Аналіз даних показав, що за концентрації СР сусла 25% з підвищенням концентрації целюлолітичного та протеолітичного ФП спостерігалось зниження незброджених вуглеводів та нерозчиненого крохмалю (рис. 11)<sup>11</sup>. За найвищої концентрації целюлолітичного ФП концентрація спирту в бражних дистилатах зростала на 0,80% відносних у порівнянні з контролем. У зразках, де вносили протеолітичний ФП, спостерігалось збільшення синтезу кількості дріжджових клітин, і за максимального дозування цього ФП 0,05 од. ПрЗ/г сировини їх вміст зріс майже на 6,5% порівняно з контролем. З підвищенням концентрації сусла до 30% СР спостерігалась аналогічна тенденція зміни технологічних показників зрілої бражки. Збродження висококонцентрованого сусла потребує збільшення кількості засівних дріжджів, що у свою чергу вимагає відповідної кількості азотного живлення для забезпечення інтенсивної фізіологічної активності дріжджів.

Гідроліз білку сировини за допомогою ферменту протеази до амінокислот дозволяє в значній мірі вирішити цю проблему. Крім того, білкові молекули адсорбуються на поверхні дріжджових клітин, ускладнюючи проникнення до них живильних речовин.

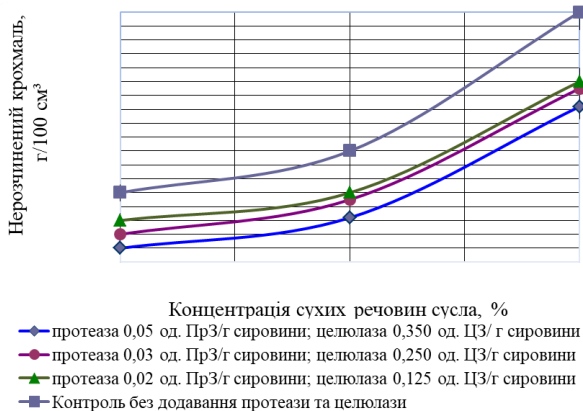
Додавання протеази в кількості 0,02 од. ПрЗ/г сировини (рис. 12) дозволяє уникнути наднормативних втрат незброджених вуглеводів у бражці під час переробки сусла з початковою концентрацією до 28% СР. Подальше збільшення витрат протеази є недоцільним.

Спільне використання протеази (0,03 од. ПрЗ/г сировини) та целюлази (0,25 од. ЦЗ/г сировини) (рис. 11) дозволяє знизити кількість нерозчиненого крохмалю в суслі концентрацією 28% СР до нормативного рівня. У разі подальшого збільшення концентрації СР сусла до 30% відбувається різке зростання нерозчиненого крохмалю в бражці у 2,0...2,5 рази більше нормативного. Це треба врахувати під час визначення питомих витрат сировини.

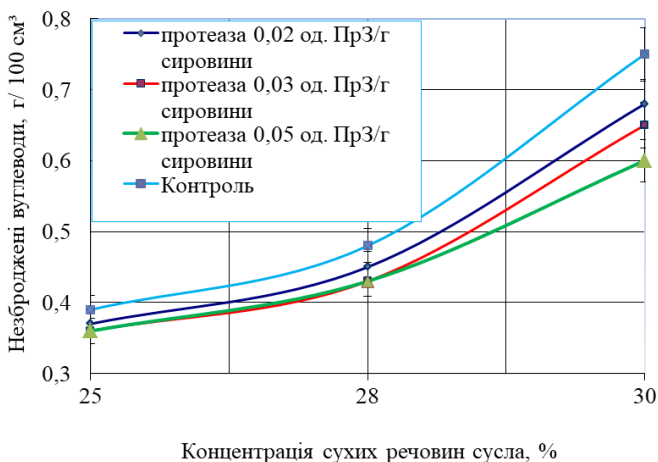
---

<sup>11</sup> Selection of the complex of enzyme preparation for the hydrolysis of the constituents of grain at the fermentation of the wort of high / T. Mudrak et al. *Food Science and Technology*. 2018 2; 12(2). P. 19–25. doi: 10.15673/ft.v12i2.931.





**Рис. 11. Залежність кількості нерозчиненого крохмалю від витрат протеази (од. Пр3/г сировини) та целюлази (од. Ц3/г сировини)**



**Рис. 12. Залежність кількості незброджених вуглеводів від витрат протеази (од. Пр3/г сировини)**

У зразках, де використовували комплексний ФП целюлази і протеази, спостерігалось не тільки підвищення синтезу спирту, але і зростання вмісту незброджених вуглеводів у бражках. Це пов'язано з тим, що за використання даного ФП відбувається гідроліз

некрохмальних полісахаридів, частина яких дріжджами не зброджується, але дає реакцію на антроновий реактив.

Використання целюлолітичного ФП Laminex 750 на стадії оцукрювання та зброджування сусла, в кількості 0,25...0,35 од. ЦЗ/г сировини сприяло підвищенню вмісту спирту в бражках на 0,3...1,4% відносних, залежно від концентрації СР сусла, в порівнянні з контролем та зниженню концентрації зброджуваних вуглеводів і нерозчиненого крохмалю на 14...23%. Встановлено, що використання комплексу ферментних препаратів – амілолітичного Amylex 4Т, оцукрюючого – Diazum TGA, протеолітичного (Alphalase AFP), цитолітичного (Laminex 750) у різних комбінаціях та пропорціях сприяло підвищенню накопичення цільового продукту – етанолу на 0,8...1,4% відносних залежно від концентрації СР сусла.

За результатами експериментальних досліджень рекомендовано використовувати дозування ФП: Amylex 4Т (джерело ферменту  $\alpha$ -амілази) – 0,4...0,8 од. АЗ/г крохмалю, Diazum TGA (джерело ферменту глюкоамілази) – 7,5 од. ГЛЗ/г крохмалю, Laminex 750 (джерело цитолітичного ферменту) – 0,35 од. ЦЗ/г сировини, Alphalase AFP (джерело протеолітичного ферменту) – 0,05 од. ПрЗ/г сировини.

### **3. Визначення оптимальних технологічних параметрів зброджування висококонцентрованого сусла**

#### **3.1. Визначення оптимального ступеню дисперсності помелу зерна під час зброджування сусла високих концентрацій**

Для забезпечення високого ступеню гідролізу біополімерів сировини в умовах термоферментативної обробки замісів і оцукрювання сусла в процесі зброджування, а також регламентованого виходу спирту з тонни умовного крохмалю, необхідною умовою є відповідний ступінь подрібнення зерна.

Для досліджень використовували помели кукурудзи дисперсністю 85% проходу крізь сито з отворами діаметром 1 мм, 100% проходу крізь сито з отворами діаметром 1 мм та 0,5 мм, за концентрації СР сусла 32%.

У процесі приготування сусла для розріджування крохмалю використовували ФП фірми «Danisco» – Amylex 4Т, із розрахунку 0,8 од. АЗ/г крохмалю. Оцукрювали розріджений заміс ФП Diazum TGA із розрахунку 7,5 од. ГЛЗ/г крохмалю.

Отримані результати (табл. 7) показують, що з підвищенням ступеня дисперсності помелу сировини до 100% проходу крізь сито з діаметром отворів 1 мм концентрація спирту в дозрілих бражках у порівнянні з контрольними зразками зростає на 1% відносних, а вміст зброджуваних вуглеводів знижувався на 15%.

Підвищення ступеня дисперсності помелу до 100% проходу крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм не дало відчутного покращення технологічних показників бражки. На основі отриманих даних можна зробити висновок, що під час перероблення висококонцентрованого суслу дисперсність помелу повинна бути однорідною і становити не менше 100% проходу крізь сито з діаметром отворів 1 мм.

Таблиця 7

**Технологічні показники бражки залежно від ступеня дисперсності зернової сировини**

№	Показники	85% прохід крізь сито з $d_{отв} = 1\text{мм}$	100% прохід крізь сито з $d_{отв} = 1\text{мм}$	100% прохід крізь сито з $d_{отв} = 0,5\text{мм}$
1	$\sum \text{CO}_2$ 200 $\text{см}^3$ бражки	23,50±0,1	23,84±0,1	24,00±0,1
2	Вміст незброджених вуглеводів, г/100 $\text{см}^3$ бражки	0,69±0,02	0,583±0,02	0,579±0,02
3	Вміст нерозчиненого крохмалю, г/100 $\text{см}^3$ бражки	0,142±0,01	0,107±0,01	0,105±0,01
4	Концентрація дріжджових клітин, млн/ $\text{см}^3$	195±19	210±21	215±21
5	Концентрація етанолу, % об.	15,6±0,03	15,91±0,03	15,92±0,03

**3.2. Вплив кількості виробничих дріжджів на процес зброджування суслу високих концентрацій**

Збільшення концентрації виробничих дріжджів є одним зі шляхів скорочення тривалості зброджування суслу. Особливо суттєвим це є для зброджування суслу високих концентрацій.

У спиртовому виробництві під час розріджування та оцукрювання суслу крохмаль гідролізується не повністю, і цей процес триває під час зброджування суслу. Дооцукрення декстринів

розпочинається після того, як збродено не менше 1/3 глюкози. Таким чином, чим швидше буде зброжена глюкоза, тим швидше наступить дооцукрення декстринів, що приведе до скорочення тривалості процесу зброджування. Отже, можна припустити, що збільшення об'єму виробничих дріжджів прискорить стадію головного бродиння, і за рахунок цього зменшиться загальна тривалість зброджування сусла.

Зброджували сусло з кукурудзи концентрацією сухих речовин 20 та 28%, дріжджі задавали з розрахунку 20, 40, 60 та 80 млн/см<sup>3</sup> сусла. Показники дозрілої бражки, одержаної з використанням різної кількості виробничих дріжджів, наведені в таблиці 8.

Слід зазначити, що в разі збільшення кількості виробничих дріжджів зменшилися втрати зі спирторозчинними вуглеводами, що свідчить про більш ефективне зброджування вуглеводів. Досліджено, що за досить близьких значеннях крохмалю та декстринів кількість спирторозчинних вуглеводів зменшилась з 0,16...0,26 до 0,12...0,185 г/100 см<sup>3</sup> дозрілої бражки залежно від концентрації СР сусла.

З даних таблиці 8 видно, що кількість синтезованого спирту збільшується зі збільшенням кількості виробничих дріжджів. Ймовірно, це пов'язано з меншою кількістю вуглеводів, що витрачається на синтез дріжджової біомаси. Найвища концентрація спирту в бражці досягається за концентрації сусла 28% і кількістю виробничих дріжджів 40 млн/см<sup>3</sup>.

За концентрації виробничих дріжджів 40 млн/см<sup>3</sup> тривалість бродиння скорочується на 4 год. за початкової концентрації СР сусла 28%. Підвищення концентрації виробничих дріжджів до 60 млн/см<sup>3</sup> сусла суттєво не впливало на підвищення концентрації спирту в бражці, тому подальше підвищення концентрації виробничих дріжджів є недоцільним.

У процесі спиртового бродиння поряд з етиловим спиртом утворюється ряд побічних продуктів, що зменшує його вихід.

На утворення 1 г гліцерину витрачається 1,39 г цукру, тому зменшення утворення гліцерину є суттєвим резервом підвищення виходу спирту. Найменша кількість гліцерину утворюється за концентрації дріжджових клітин 40...60 млн/см<sup>3</sup>.

Таблиця 8  
Вплив кількості виробничих дріжджів на технологічні показники дозрілої бражки з кукурудзи

№	Технологічні показники зрілої бражки	Концентрація засівних дріжджів, млн/см <sup>3</sup>											
		20			40			60			80		
		20%	28%	20%	28%	20%	28%	20%	28%	20%	28%	20%	28%
1	Кислотність, град	0,45±0,02	0,46±0,02	0,44±0,02	0,43±0,02	0,44±0,02	0,44±0,02	0,44±0,02	0,44±0,02	0,44±0,02	0,44±0,02	0,45±0,02	0,43±0,02
2	pH, од.	4,8±0,02	4,2±0,02	4,6±0,02	4,3±0,02	4,7±0,02	4,3±0,02	4,3±0,02	4,3±0,02	4,3±0,02	4,3±0,02	4,5±0,02	4,2±0,02
3	Концентрація етанолу, % об.	10,80±0,03	14,62±0,03	10,81±0,03	14,72±0,03	10,80±0,03	14,77±0,03	10,80±0,03	14,77±0,03	10,80±0,03	14,77±0,03	10,79±0,03	14,80±0,03
4	Вміст незроджених вуглеводів, г/100 см <sup>3</sup>	0,310±0,02	0,60±0,02	0,290±0,02	0,501±0,02	0,280±0,02	0,496±0,02	0,280±0,02	0,496±0,02	0,280±0,02	0,496±0,02	0,250±0,02	0,482±0,02
5	Вміст нерозчиненого крохмалю, г/100 см <sup>3</sup>	0,09±0,01	0,091±0,01	0,09±0,01	0,09±0,01	0,09±0,01	0,058±0,01	0,09±0,01	0,058±0,01	0,09±0,01	0,065±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01
6	Вміст спирторозчинних вуглеводів, г/100 см <sup>3</sup>	0,160±0,01	0,260±0,01	0,150±0,01	0,200±0,01	0,150±0,01	0,190±0,01	0,150±0,01	0,190±0,01	0,150±0,01	0,190±0,01	0,120±0,01	0,185±0,01
7	Вміст декстринів, г/100 см <sup>3</sup>	0,15±0,01	0,17±0,01	0,14±0,01	0,15±0,01	0,14±0,01	0,12±0,01	0,15±0,01	0,12±0,01	0,15±0,01	0,12±0,01	0,13±0,01	0,12±0,01
8	Вміст гліцерину, г/100 см <sup>3</sup>	0,57±0,02	0,65±0,02	0,55±0,02	0,63±0,02	0,55±0,02	0,62±0,02	0,55±0,02	0,62±0,02	0,55±0,02	0,62±0,02	0,54±0,02	0,61±0,02
9	Термін бродіння, год.	68	80	64	76	60	72	60	72	60	72	48	72

### 3.3. Дослідження впливу металів у наноформі як активаторів спиртового бродіння

Підвищення температури зброджування та осмотичного тиску середовища, а також концентрації етанолу в бражках сприяє створенню стресових умов для життєдіяльності дріжджів. Дріжджові клітини чутливі до складу середовища та потребують значно більше живильних речовин у стресових умовах. Велике значення у спиртовому виробництві має біохімічна активність дріжджів. Їхній фізіологічний стан впливає на швидкість протікання біохімічних та біотехнологічних процесів і склад побічних продуктів бродіння.

На тепер перспективним науковим напрямом є нанотехнології. Дослідження впливу наноматеріалів та їх застосування в харчовій промисловості є перспективним. Навіть невисокі концентрації наночастинок можуть значною мірою позитивно впливати на дріжджові клітини. Було проведено дослідження щодо впливу наночастинок металів Mg, Fe, Cu, Zn на процес зброджування сусла високих концентрацій із крохмалевмісної сировини.

Сусло готували з кукурудзи, ступінь дисперсності помелу кукурудзи становив 100% прохід крізь сито з отворами діаметром 1 мм, крохмалистість  $69 \pm 0,1\%$ . Концентрація сусла становила 28% СР. Початкова концентрація виробничих дріжджів – 40 млн/см<sup>3</sup>. Концентрація наночастинок металів становила 2 мкг/см<sup>3</sup>. Зброджували сусло осмофільним, термотолерантним штамом дріжджів *S. cerevisiae* ДО–16. Розчини наночастинок металів вносили на стадії розрідження замісу та зброджування сусла.

Як показали результати досліджень, у зразках з додаванням Mg у кількості 2 мкг/см<sup>3</sup>, незалежно від стадії його внесення, технологічні показники зрілої бражки були найкращі в порівнянні з контролем. Вміст спирту в бражках зростав на 1,2...1,5% відносних (табл. 9).

Встановлено, що за використання цинку та магнію концентрація спирту в бражках зростала на 1,2...1,5% відносних, а кількість дріжджових клітин була практично на рівні контролю.

Внесення розчинів наночастинок металів на стадії розріджування сприяло зменшенню вмісту нерозчиненого крохмалу в бражках на 10...35% у порівнянні з контролем. Однак незалежно від зони внесення наночастинок металів показники бражки були кращими в порівнянні з контрольним зразком.

Було проведено дослідження щодо синтезу летких органічних домішок у бражках залежно від зони внесення наночастинок металів (на стадії розріджування замісу та зброджування сусла). За даними табл. 10 встановлено, що в разі додавання наночастинок металів концентрація ацетальдегіду знижується в порівнянні з контрольним зразком. Найменша кількість ацетальдегіду накопичувалась за внесення розчину цинку і становила 125,2 мг/дм<sup>3</sup>. Така ж тенденція спостерігалась у синтезі складних естерів (табл. 10).

Аналіз синтезу сивушних спиртів у зразках з додаванням наночастинок показав, що кількість n-пропанолу в бражних дистилятах зростає на 53,4...80% залежно від виду наночастинок металу та зони їх внесення. А по сумі вищих спиртів їх концентрація була практично близькою до контролю. Лише в зразках, де наночастинки металів вносили на стадії розріджування, їх концентрація знижувалась на 17,5...18,0%. Вміст метанолу у всіх досліджуваних зразках був на рівні контрольного зразку.

Проведені дослідження з визначення концентрації летких органічних сполук у бражних дистилятах дозволяють зробити висновок, що їхній синтез залежить не тільки від виду наночастинок металів, а також від зони їх введення в технологічний процес.

Таблиця 9

## Вплив наночастинок металів на зброджування сусла високих концентрацій

№	Умови досліду		Технологічні показники зрілої бражки							Конц. дріжджових клітин, млн/см <sup>3</sup>
	Точка внесення наночастинок	Найменування металів	Σ CO <sub>2</sub> , г/200 см <sup>3</sup>	рН, од.	Вміст вуглеводів, г/100 см <sup>3</sup>			Спиртроз. вуглеводи	Конц. етанолу, % об.	
					Розчинені вуглеводи	Нерозчин. крохмаль	Декстрини			
1		Mg	20,24±0,1	4,58±0,02	0,46±0,02	0,04±0,01	0,17±0,01	0,25±0,01	13,46±0,03	221±21
2	Перед роздрідженням	Fe	20,03±0,1	4,55±0,02	0,58±0,02	0,08±0,01	0,28±0,01	0,30±0,01	13,32±0,03	214±21
3		Cu	20,14±0,1	4,60±0,02	0,52±0,02	0,09±0,01	0,24±0,01	0,28±0,01	13,38±0,03	218±21
4		Zn	20,17±0,1	4,53±0,02	0,49±0,02	0,05±0,01	0,23±0,01	0,26±0,01	13,40±0,03	219±21
5		Mg	20,24±0,1	4,53±0,02	0,50±0,02	0,09±0,01	0,24±0,01	0,26±0,01	13,41±0,03	225±22
6	Перед бродінням	Fe	20,09±0,1	4,52±0,02	0,58±0,02	0,10±0,01	0,26±0,01	0,32±0,01	13,31±0,03	218±21
7		Cu	20,02±0,1	4,54±0,02	0,63±0,02	0,10±0,01	0,34±0,01	0,29±0,01	13,30±0,03	220±22
8		Zn	20,11±0,1	4,54±0,02	0,55±0,02	0,09±0,01	0,28±0,01	0,27±0,01	13,39±0,03	232±23
9	Контроль		20,01±0,1	4,51±0,02	0,68±0,02	0,2±0,01	0,34±0,01	0,32±0,01	13,27±0,03	218±21



Таблиця 10

**Синтез легких органічних домішок у зрілих бражах залежно від місця введення та кількості наночастинок металів**

№	Склад легкої частини бражних дистилятів, мг/дм <sup>3</sup>	Контроль (без додавання наночастинок)	Місце введення наночастинок у технологічний процес											
			Розріджування					Зброджування						
			Mg	Cu	Fe	Zn	Mg	Cu	Fe	Zn	Mg	Zn		
1	Ацетальдегід	150,87	129,1	131,3	125,2	134,2	135,1	134,7	132,34					
2	Метилцетат	1,925	5,840	7,39	6,95	8,914	8,520	9,19	8,95					
3	Етилацетат	222,4	243,9	216,7	217,8	237,0	241,5	239,5	248,32					
4	Сума складних ефірів	224,63	249,74	224,09	224,75	245,91	250,02	268,69	257,27					
5	Н-бутанол	12,534	13,25	15,38	14,18	15,63	15,45	16,44	15,98					
6	Н-пропанол	513,542	820,3	910,1	859,0	944,0	928,14	910,5	912,13					
7	Ізобутиловий спирт	397,328	340,4	350,8	348,14	404,7	425,7	456,0	465,11					
8	Ізоаміловий спирт	1737,8	1209,0	916,82	1253,0	1397,0	1328,0	1563,0	1483,3					
9	Сума сивушних спиртів	2660,23	2364,0	2193,1	2474,3	2761,3	2697,3	2945,9	2876,5					
10	Кислоти	37,63	35,81	33,444	31,85	36,11	35,24	32,34	33,42					
11	Метиловий спирт, об.	0,002	0,0028	0,0029	0,003	0,0031	0,0031	0,0027	0,0028					

### 3.4. Дослідження впливу цитратів металів на зброджування сусла високих концентрацій

Проведено дослідження впливу цитратів металів, внесених на стадії культивування, на процес зброджування та склад летких домішок у зрілих бражках<sup>12</sup>.

У процесі досліджень використовували помели зерна кукурудзи з дисперсністю 100% прохід крізь сито з отворами діаметром 1 мм. Для досліджень у процесі приготування сусла використовували помел зерна кукурудзи крохмалистістю 69,0±0,1%.

У роботі культивування і зброджування проводили на суслі з концентрацією 28% СР. На стадії вирощування виробничих дріжджів застосовували цитрати цинку, магнію, марганцю, міді, заліза, молібдену в кількості 0,07 г/м<sup>3</sup>. Засівні дріжджі вносили в кількості 20 млн/см<sup>3</sup> сусла на стадії вирощування виробничих дріжджів та 40 млн/см<sup>3</sup> сусла під час зброджування. Сусло зброджували з використанням дріжджових клітин, які культивували на субстраті з цитратами металів. Як показали результати досліджень, у зразках із додаванням цитратів під час культивування дріжджів технологічні показники бражки були кращими в порівнянні з контролем. Концентрація спирту в бражках зростала на 1,0...2,0% відносних відповідно до внесеного цитрату металу. Кращі показники концентрації спирту в бражках спостерігались у разі застосування цитрату цинку та магнію, внесеного на стадії культивування виробничих дріжджів. Вміст нерозчиненого крохмалю знижувався в зразках, де застосовували цитрати металів, у 1,1...2,2 рази<sup>13</sup>.

Розчинені вуглеводи знижувались в 1,1...1,3 рази відповідно до виду внесеного цитрату, а вміст спирторозчинних вуглеводів зменшувався в 1,1...8 разів у порівнянні з контролем (табл. 11).

Надалі проводили дослідження складу летких домішок у зрілих бражках залежно від виду цитратів металів, які вносили на стадії

---

<sup>12</sup> Удосконалення технології зброджування сусла високої концентрації із крохмалевмісної сировини при використанні цитратів металів / Т.О. Мудрак та ін. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2018. № 282. С. 259–268.

<sup>13</sup> Інтенсифікація технології зброджування сусла високих концентрацій / Т.О. Мудрак та ін. *Научный взгляд в будущее. Одесса Sworld*. 2017. Лип. № 6.103:23–26.

виросування виробничих дріжджів. Склад летких домішок у бражних дистилятах коливається в широкому діапазоні (табл. 12).

Складні естери синтезуються в результаті ферментативних процесів у дріжджовій клітині. У зразках, де використовували цитрат заліза та міді, кількість складних естерів у бражних дистилятах була найнижчою і становила 90,39 мг/дм<sup>3</sup> та 99,43 мг/дм<sup>3</sup> відповідно.

Концентрація ацетальдегіду знижувалась у разі додавання цитратів заліза, цинку, магнію, міді, молібдену в порівнянні з контрольним зразком у 1,3...2 рази, проте в разі додавання цитрату марганцю цей показник зростав у 1,5 рази.

Найнижча концентрація сивушних спиртів спостерігалась у зразках з використанням цитрату заліза і становила 1440,30 мг/дм<sup>3</sup>. Вміст метанолу в усіх зразках бражних дистилятів був практично однаковим.

Отже, в разі використання цитратів цинку та магнію на стадії культивування дріжджів збільшується кількість у бражному дистиляті головних домішок спирту: ацетальдегіду, етилацетату, а сумарна концентрація сивушних спиртів зменшується у відношенні з іншими цитратами металів. Це потрібно врахувати, визначаючи оптимальні параметри роботи БРУ.

Використання цитратів металів як біологічно активного стимулятора для дріжджових клітин дозволило інтенсифікувати процес зброджування сусла. Найкращі показники дозрілої бражки були в разі застосування цитрату магнію та цинку. Під час дослідження впливу цитратів металів на склад летких домішок у бражному дистиляті встановлено позитивний вплив застосування цитратів для дріжджових клітин. Одержані результати в лабораторних умовах були підтверджені у виробничих умовах.

Технологічні показники зрілої бражки залежно від якісного складу цитратів металів, внесених на стадії вирощування виробничих дріжджів

№	Цитрати металів	$\Sigma \text{CO}_2$ , г/200 см <sup>3</sup>	рН, од.	Вміст вуглеводів, г/100 см <sup>3</sup>					Концент. дріжджових клітин, млн/см <sup>3</sup>	
				Загальні	Розчинені	Нерозчин. крохмаль	Декстрини	Спирторозчинні		Концент-трація етанолу, % об.
1	Fe <sup>2+</sup>	20,92±0,1	4,00±0,02	0,41±0,02	0,34±0,02	0,06±0,01	0,22±0,01	0,090±0,01	13,90±0,03	220±22
2	Mn <sup>2+</sup>	20,91±0,1	3,90±0,02	0,40±0,02	0,33±0,02	0,06±0,01	0,22±0,01	0,080±0,01	13,90±0,03	225±22
3	Mg <sup>2+</sup>	21,12±0,1	3,89±0,02	0,34±0,02	0,29±0,02	0,04±0,01	0,25±0,01	0,009±0,01	14,00±0,03	228±22
4	Cu <sup>+</sup>	20,48±0,1	4,00±0,02	0,45±0,02	0,32±0,02	0,11±0,01	0,18±0,01	0,087±0,01	13,85±0,03	218±21
5	Zn <sup>2+</sup>	21,24±0,1	3,87±0,02	0,33±0,02	0,25±0,02	0,07±0,01	0,21±0,01	0,007±0,01	14,10±0,03	218±21
6	Mo <sup>6+</sup>	20,85±0,1	3,99±0,02	0,39±0,02	0,30±0,02	0,08±0,01	0,22±0,01	0,050±0,01	13,90±0,03	216±21
7	Контроль	20,77±0,1	4,00±0,02	0,45±0,02	0,34±0,02	0,09±0,01	0,25±0,01	0,056±0,01	13,80±0,03	217±21

Синтез летких органічних домішок у зрілих бражках  
залежно від внесення цитратів металів на стадії культивування дріжджів

№	Цитрати металів	Вміст летких компонентів, мг/дм <sup>3</sup>										
		ацетальдегід		естери	Метанол, % об.	сивушні спирти					ізоаміловий спирт	сума по групі
		етилацетат				н-пропанол	ізобутанол	ізопропанол	н-бутанол			
1	Fe <sup>2+</sup>	35,68	90,39	0,0036	496,57	187,98	5,830	5,637	744,26	1440,30		
2	Mn <sup>2+</sup>	26,94	125,19	0,0094	484,14	289,22	2,142	5,748	1042,35	1823,61		
3	Mg <sup>2+</sup>	85,05	121,19	0,0047	643,76	209,47	2,532	7,251	724,67	1587,69		
4	Cu <sup>+</sup>	36,65	99,43	0,0035	677,76	226,75	3,309	4,441	800,37	1712,64		
5	Zn <sup>2+</sup>	39,70	141,63	0,0039	661,98	208,99	2,875	4,760	689,47	1568,09		
6	Mo <sup>6+</sup>	36,11	112,68	0,0055	427,44	236,56	3,200	7,499	995,76	1670,47		
7	Контроль	54,42	118,74	0,0033	587,72	210,59	2,406	5,933	817,23	1623,89		

## ВИСНОВКИ

Встановлено, що селекціонована осмофільна і термотолерантна раса дріжджів *S. cerevisiae* ДО-16 перспективна для збродження висококонцентрованого сусла (до 32% СР) і здатна накопичувати в зрілих бражках до 16% об. спирту. Встановлено, що за значень рН 2,5; 3,0; 3,5 та 4,0 у раси *S. cerevisiae* ДО-16 концентрація клітин була у 2,5, 1,8, 1,5, 1,4 рази вищою порівняно з расами ДО-11, К-81 та XII.

Під час культивування дріжджів на суслі концентрацією 28% СР необхідною умовою є корегування азотного живлення додатковим внесенням гліцину, як амінного азоту, концентрацією 0,7 г/дм<sup>3</sup> сусла та аміачного азоту (сечовини) в кількості 800 г/м<sup>3</sup>, що дозволяє підвищити концентрацію дріжджових клітин до 280...430 млн/см<sup>3</sup> у процесі культивування дріжджів залежно від концентрації сусла та виду азотного живлення відповідно.

За додавання активаторів фізіологічної активності дріжджів у формі: сульфатів цинку та магнію в кількості по 25 г/м<sup>3</sup> на стадії культивування дріжджів кількість засівних дріжджів сягає 320...370 млн/см<sup>3</sup>; розчинів цинку та магнію в наноформі в кількості 2 мкг/см<sup>3</sup> кількість дріжджових клітин становить 480 млн/см<sup>3</sup>.

За додавання металів у нано- та іонній формах на стадії культивування дріжджів потрібно проводити циклічно у співвідношенні: 3 цикли з мінеральним живленням і стільки ж – без додавання мінерального живлення.

На основі експериментальних досліджень встановлено доцільність комплексу ФП для гідролізу складників зерна під час приготування сусла високих концентрацій СР. Рекомендовано застосовувати такі норми дозування ферментних препаратів із розрахунку:  $\alpha$ -амілази (Amylex 4T) – 0,4 од. АЗ/г крохмалю для концентрації сусла 18%, для 25...30% 0,8 од. АЗ/г крохмалю; глюкоамілази (Diazum TGA) – 7,5 од. ГЛЗ/г крохмалю незалежно від концентрації СР сусла; целюлолітичного ФП (Laminex 750) – 0,35 од. ЦЗ/г сировини, протеолітичного ФП (Alphalase AFP) – 0,05 од. ПрЗ/г сировини.

На стадії культивування дріжджів додавати целюлолітичного та протеолітичного ФП рекомендовано з розрахунку: целюлолітичного ФП – 0,35 од. ЦЗ/г сировини та протеолітичного ФП – 0,05 од. ПрЗ/г сировини. У разі застосування даного технологічного прийому кількість дріжджових клітин зростала на 60...70% порівняно з контрольними зразками залежно від концентрації СР сусла. Під час

збродження сусла високих концентрацій необхідною умовою є збільшення кількості засівних дріжджів за концентрації сусла 28% до 40 млн/см<sup>3</sup>, а за концентрації сусла 20% – 20 млн/см<sup>3</sup>.

Встановлено, що найбільш позитивний вплив на збродження високонцентрованого сусла мали наночастинки цинку та магнію. У разі їх використання концентрація спирту в бражках зростала на 1,2..1,5% відносних.

Використання цитратів металів, як біологічно активного стимулятора для дріжджових клітин, дозволило інтенсифікувати процес збродження сусла. Концентрація спирту в бражках зростала на 1,0...2,0% відносних відповідно до внесеного цитрату металу.

## АНОТАЦІЯ

Статтю присвячено розробленню інноваційної технології висококонцентрованих бражок із зернової сировини, що дозволяє підвищити концентрацію спирту в бражках, зменшити питомі витрати енергоносіїв та кількість екологічно шкідливих відходів виробництва, збільшити потужність підприємства. Селекціоновано расу дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* ДО-16 для збродження сусла концентрацією сухих речовин до 32% при рН 3,0...6,0. Проведено скринінг спиртових рас дріжджів *S. cerevisiae* ДО-16, ДО-11, К-81, XII. Розроблено раціональні технологічні параметри культивування виробничих дріжджів.

Під час перероблення висококонцентрованих зернових замісів збільшується кількість некрохмальних біополімерів геміцелюлози, целюлози, а також білку. Для ефективного гідролізу біополімерів зернового сусла з концентрацією 28...32% СР необхідно використовувати дозування ФП: амілолітичних:  $\alpha$ -амілазу (0,8 од. АЗ/г крохмалю) глікоамілазу (7,5 од. ГЛЗ/г крохмалю), целюлолітичного (0,35 од. ЦЗ/г сировини), протеолітичного ферменту (0,05 од. ПрЗ/г сировини), що інтенсифікує процес бродіння та збільшує концентрацію в зрілій бражці етанолу на 0,8...1,4% залежно від концентрації сусла.

Для забезпечення ефективного збродження висококонцентрованого сусла визначено раціональні технологічні параметри. Доведено доцільність використання цитратів металів як біологічно активного стимулятора для дріжджових клітин, що дозволяє інтенсифікувати процес збродження сусла.

Концентрація спирту в бражках зростала на 1,0...2,0% відповідно до внесеного цитрату металу.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Осмофільний, кислотостійкий штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* ІМВ У–5099 для мікробіологічного синтезу етилового спирту з крохмалевмісної сировини : пат. 181941. Україна : С12N1/18(2006.01) С12R 1/865(2006.01). № а 2018 04649 ; заявл. 27.04.18 ; опубл. 25.03.19, Бюл. № 6. 5 с.

2. Селекція та скрінінг рас спиртових дріжджів при зброджуванні висококонцентрованого сусла з крохмалевмісної сировини. *Наукові праці НУХТ* / Т.О. Мудрак та ін. 2018. Квіт. № 24 (2). С. 216–224. doi: 10.24263/2225–2924–2018–24–2–26

3. Римарева Л.В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей. Москва : ДеЛи принт, 2010. 251 с.

4. Римарева Л.В., Оверченко МБ. Активная раса дрожжей с термотолерантными и осмофильными свойствами для спиртового производства. *Ликероводочное производство и виноделие*. 2000. № 6. С. 8–10.

5. Рациональный выбор расы спиртовых дрожжей. *Производство спирта и ликероводочных изделий* / Л.В. Римарева и др. 2001. № 2. С. 19–21.

6. Элементный состав клеток штамма *Saccharomyces cerevisiae* У – 503, культивируемого на различных питательных средах. *Производство спирта и ликероводочных изделий* / Э.А. Халилова и др. 2011. № 4. С. 19–21.

7. Технологічний регламент перегонки бражки з вуглеводвмісної сировини та ректифікація спирту на енерго- та ресурсозберігаючих брагоректифікаційних установках ТР 00032744–1116–2003. Київ, 2003. 132 с.

8. Effect of nitrogen and mineral composition of the high – concentrated wort made from starch – containing raw materials on the cultivation of yeast. *Eastern–European journal of enterprise technologies* / P. Shiyan et al. 2017. Nov; 6 (11). P. 72–77. doi:10.15587/1729–4061.2017.117357

9. Investigation of the influence of nanoparticles of metals on fermentation of wort of high concentrations. *Eureka: Life Sciences* / S. Kovalchuk et al. 2017 Dec; 6(12). P. 51–56. doi: 10.21303/2504–5695.2017.00512



10. Меледина Т.В., Давыденко С.Г., Васильева Л.М. Физиологическое состояние дрожжей. Санкт-Петербург : НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. 48 с.

11. Bhupinder S.S. Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnol Sci.* 2014; 7. P. 31–53.

12. Selection of the complex of enzyme preparation for the hydrolysis of the constituents of grain at the fermentation of the wort of high. *Food Science and Technology* / Т. Mudrak et al. 2018. 2; 12(2). P. 19–25. doi: 10.15673/fst.v12i2.931

13. Удосконалення технології зброджування сусла високої концентрації із крохмалевмісної сировини при використанні цитратів металів. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України* / Т.О. Мудрак та ін. 2018. № 282. С. 259–268.

14. Інтенсифікація технології зброджування сусла високих концентрацій. *Научний взгляд в будуще. Одесса Sworld* / Т.О. Мудрак та ін. 2017. Лип; № 6. 103: 23–26.

**Information about authors:**

**Kovalchuk S. S.,**

Candidate of Engineering Sciences,  
Assistant at the Department of Hotel and Restaurant Business  
National University of Food Technologies  
68, Volodymyrska str., Kyiv, 01601, Ukraine

**Mudrak T. O.,**

Candidate of Engineering Sciences, Senior Researcher,  
Associate Professor at the Department of Biotechnology of Fermentation  
Products and Winemaking  
National University of Food Technologies  
68, Volodymyrska str., Kyiv, 01601, Ukraine