

**Исследование процесса сбраживания высококонцентрированного
сусла из экструдированной пшеницы с использованием
протеолитического ферментного препарата
Дистицим Протацид Экстра**

М. А. НАЧЕТОВА, Н. В. БАРАКОВА, Е. В. СЛОЖЕНИКИН
nachetova@gmail.com

*Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет ИТМО
Институт холода и биотехнологий
191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9*

При переходе на переработку высококонцентрированного сусла в спиртовом производстве на стадии сбраживания наблюдается значительное увеличение потерь с несброженными углеводами и увеличение времени сбраживания. Проведено изучение влияния протеолитического ферментного препарата на параметры сбраживания высококонцентрированного сусла из экструдированной пшеницы.

Ключевые слова: спирт, эффективность производства, брожение, экструзия.

**Research of extruded wheat very high gravity wort fermentation
process with the use of enzymatic agent Distizym Protacid Extra**

M. A. NACHETOVA, N. V. BARAKOVA, E. V. SLOGENIKIN

*National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics
Institute of Refrigeration and Biotechnologies
191002, St. Petersburg, Lomonosov str., 9*

When fermenting very highgravity wort in ethanol production, significant increase of loss with unfermented carbohydrates and increase in fermentation time are observed. Influence of proteolytic enzymatic agent on fermentation characteristics were studied.

Keywords: ethanol, production efficiency, fermentation, extrusion.

Переработка сусла высокой концентрации является эффективным способом интенсификации спиртового производства, однако при этом на стадии сбраживания сусла наблюдается значительное увеличение потерь с несброженными углеводами и увеличение времени сбраживания [1].

Скорость роста и бродильная активность дрожжей зависят, прежде всего, от качественного и количественного состава углеводов среды и наличия в сусле азотистого питания [2]. Наличие легко ассимилируемого аминного азота в сусле имеет первостепенное значение для интенсификации спиртового брожения, особенно на первом этапе, когда скорость процесса лимитируется количеством дрожжей и их состоянием.

При наличии определенного сочетания аминокислот в среде, они хорошо усваиваются спиртовыми дрожжами. Таким образом, одним из способов интенсификации процесса сбраживания высококонцентрированного сусла является увеличение содержания α -аминного азота.

Использование ферментных препаратов протеолитического действия для гидролиза растительных белков сусла способствует накоплению в среде свободных аминокислот, что приводит к интенсификации процесса размножения дрожжей. Применяемые в спиртовой промышленности амилолитические ферментные препараты практически не содержат протеаз. Их применение способствует интенсивному гидролизу крахмала, но не обеспечивает дрожжи в полной мере азотистым питанием, которое необходимо для роста дрожжевых клеток. Использование ферментных препаратов протеолитического действия для гидролиза растительных белков сусла способствует накоплению в среде свободных аминокислот, что приводит к интенсификации процесса размножения дрожжей.

Целью данного исследования было изучение влияния протеолитического ферментного препарата на параметры сбраживания 22 % -ого сусла, полученного из экструдированной пшеницы. В качестве источника протеазы использовали ферментный препарат, полученный из культуральной жидкости *Aspergillus niger*, Дистицим Протацид Экстра фирмы «Эрбсле». Основная активность препарата обусловлена действием кислой грибной пептидазы, разрушающей белки до аминокислот.

В табл. 1 приведена характеристика используемого ферментного препарата по данным фирмы-изготовителя.

Таблица 1

Характеристика ферментного препарата

Название препарата	Основной фермент	Активность, ед/мл	Действие	Диапазон температур, °С	Оптимальная температура, °С	Диапазон рН
Дистицим Протацид Экстра	Протеаза кислая	350	гидролиз белка	15-70	50-58	2,0-6,0

Исследования по применению ферментных препаратов протеолитического действия на стадии приготовления замеса показали низкую перспективность данного приема, так как он приводит к прямым потерям сахара и свободных аминокислот вследствие реакции меланоидинообразования, протекающих на последующей стадии гидроферментативной обработки сырья [3].

В целях интенсификации процесса производства спирта, увеличения плотности дрожжевой популяции, высокой бродильной активности, увеличения аминокислотного пула интересным представляется вариант применения протеолитического ферментного препарата на стадии доосахаривания. При этом данная стадия протеолиза является промежуточной с дальнейшим её протеканием на стадии сбраживания.

Водно-тепловую обработку замесов из экструдированной пшеницы проводили по механико-ферментативной схеме при температуре 60 °С в течение 3 ч. Для получения высококонцентрированного сусла применяли

ферментные препараты целлюлолитического (Дистицим XL), разжижающего (Дистицим БА-Т Специал), осаживающего (Дистицим АГ) действия. Ферментный препарат протеолитического действия Дистицим Протацид Экстра вводили на стадии осаживания с различной дозой внесения. Показатели осаживанного суслу представлены в таблице 2.

Эффективность действия протеолитического ферментного препарата оценивали по количеству α -аминного азота.

Таблица 2

Показатели осаживанного суслу

№ образца	Доза внесения Дистицим Протацид Экстра, ед. ПС/г крахмала	СВ, %	Сру, г/100 см ³	α -аминный азот, мг/100 см ³
1	0	22,0	17,32	12,6
2	0,2	22,0	17,34	14,2
3	0,4	22,0	17,36	17,2
4	0,6	22,0	17,38	18,3

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что под воздействием протеолитических ферментных препаратов за счет глубокого протеолиза белков осаживанного суслу в образцах, в которые вводили Дистицим Протацид Экстра, происходит увеличение общего содержания аминокислот. При этом из данных, представленных в таблице 2 видно, что при увеличении дозы внесения протеолитического ферментного препарата, содержание α -аминного азота в сусле увеличивается.

Влияние концентрации α -аминного азота в осаживанном сусле на процесс размножения дрожжей оценивали по концентрации живых и почкующихся клеток, бродильную активность дрожжей – по количеству выделяющегося в ходе брожения углекислого газа; влияние концентрации α -аминного азота в осаживанном сусле на процесс сбраживания суслу оценивали по количеству несброженных углеводов и выходу спирта.

Сбраживание доосаживанного и протеонизированного суслу осуществляли дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* «Фермиол» производства «DSM Food Specialties Beverage Ingredients» с величиной засева 22 млн/мл

Влияние применения различных доз внесения протеолитического ферментного препарата Дистицим Протацид Экстра оценивали по скорости выделения CO₂, накоплению биомассы дрожжей, выходу спирта. Биохимические показатели спиртового брожения и зрелой бражки представлены в таблице 3.

Экспериментально полученные данные, представленные в таблице 3, подтверждают, что внесение протеолитического ферментного препарата значительно интенсифицирует процесс брожения: с увеличением дозы внесения протеолитического ферментного препарата увеличивается скорость выделения CO₂, накопления биомассы дрожжей, повышается выход спирта.

Показатели спиртового брожения

№	CO ₂ , г/100г сусла			Концентрация дрожжевых клеток, млн/мл						Концентрация спирта, %об.	Ср.у., г/100 см ³	Выход спирта, мл/100 г крахмала	Выход спирта к контрольному образцу, %
	18 ч	44 ч	72 ч	Общая			Почкующиеся						
				18 ч	44 ч	72 ч	18 ч	44 ч	72 ч				
1	2,56	5,61	7,12	98	142	103	10	15	0	13,0	1,43	78,1	100%
2	3,72	8,09	9,87	143	184	115	14	19	1	14,0	0,32	80,3	102,8
3	3,94	8,17	10,20	164	203	136	18	22	2	14,5	0,38	84,7	108,4
4	4,70	8,21	10,29	167	208	142	20	21	1	14,5	0,36	84,5	108,1

В сброживаемых образцах, которые были приготовлены с использованием протеолитического ферментного препарата, отмечено более высокое содержание почкующихся клеток.

Максимальный рост дрожжей и выход спирта обеспечивается при дозе внесения протеолитического ферментного препарата 0,4 ед. ПС/ г крахмала. Дальнейшее повышение концентрации протеолитического ферментного препарата не приводит к интенсификации спиртового брожения.

Одним из основных показателей зрелой бражки является количество несброженных углеводов. Согласно Типовому регламенту производства спирта из крахмалсодержащего сырья их содержание не должно превышать 0,5 г/100мл [4]. Из таблицы 3 видно, что внесение протеолитического ферментного препарата позволяет получать зрелую бражку с требуемыми технологическими показателями.

Таким образом, для обеспечения полного сброживания высококонцентрированного сусла из экструдированной пшеницы необходимо на стадии доосахаривания зернового сырья наряду с амилолитическими ферментными препаратами осахаривающего действия вводить ферментные препараты, содержащие кислую протеазу, что позволяет увеличить выход спирта до 14,5 %об. Оптимальная доза внесения протеолитического ферментного препарата Дистицим Протацид Экстра составляет 0,4 ед. ПС/г крахмала.

Список литературы

1. *Kolothumannil C. Thomas, W.M. Ingledew.* Fuel alcohol production: Effects of free amino nitrogen on fermentation of very-high-gravity wheat mashes // *Applied and environmental Microbiology.* 1990. Vol. 56. № 7. - pp. 2046-2050.
2. *Дячкина А.Б., Моисеенко В.С.* Опыт применения активаторов брожения в спиртовой отрасли // *Ликёро-водочное производство и виноделие.* 2005. № 7. С. 4-5.
3. *Тананейко Т.М., Пушкарь А.А.* Интенсификация спиртового брожения путем направленного протеолиза зернового сырья // *Ликероводочное производство и виноделие.* 2010. № 10. –С. 20-23.
4. Типовой регламент производства спирта из крахмалсодержащего сырья. – М.: Стройиздат, 1985.