

Л.Я. Паляниця, О.С. Гродзіцька, Н.І. Березовська, Р.Б. Косів, О.В. Швабюк
Національний університет "Львівська політехніка",

ПРОТЕОЛІТИЧНІ ФЕРМЕНТНІ ПРЕПАРАТИ У ВИРОБНИЦТВІ СПИРТУ З КРОХМАЛЕВМІСНОЇ СИРОВИНИ

© Паляниця Л.Я., Гродзіцька О.С., Березовська Н.І., Косів Р.Б., Швабюк О.В., 2008

Досліджено вплив протеолітичних ферментних препаратів на динаміку бродіння пшеничного сусла та склад бражок. Доведено, що використання ферментних препаратів Нейтраза та Протеаза GC-106 сприяє інтенсифікації бродіння та збільшенню виходу спирту з тонни умовного крохмалю.

The influence of proteases during the fermentation of wort from wheat and composition of ferment is investigated. It is proved that the use of enzymatic preparations Neytraza and Proteaza GC-106 promote to intensification of process of fermentation and increase exit of spirit from the ton of conventional starch.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. Застосування високоактивних за амілолітичним комплексом культур мікроорганізмів сприяє інтенсивному гідролізу крохмалю, але не забезпечує дріжджі в достатній кількості азотним живленням, яке необхідне для їхнього нормального розвитку та перебігу стабільного бродіння. Білковий комплекс становить 7–25 % від маси зерна і належить до цінних компонентів некрохмальної частини зерна. Під час водно-теплової обробки зерна залежно від технологічного режиму ведення процесу, кількості і складу окремих фракцій білків у розчинний стан переходить від 20 до 50 % азотистих речовин, що містяться в зерні. Отже, більша частина білкових речовин зерна не використовується у біоконверсії сировини до етанолу, а виводиться зі спиртовою бардою. Крім цього, реологічні властивості замісів значною мірою залежать від якісного складу білків, які локалізовані на поверхні крохмальних гранул, виконують екранувальну функцію, тим самим підвищуючи стійкість крохмалю до дії амілолітичних ферментів. Також під час нагрівання замісу білки набухають і поряд з крохмалем підвищують в'язкість водних розчинів.

Усунути ці недоліки можливо за рахунок використання додаткових ферментних препаратів протеолітичної дії для гідролізу білків сусла у комплексі з розріджувальними та оцукрювальними.

Так, авторами [3] встановлено, що при використанні протеаз, одержаних із культуральної рідини *Aspergillus oryzae*, Протоорізину та комплексного препарату Амілопротоорізину на 16-ту годину кількість дріжджових клітин у суслі була більшою, ніж в контролі. Також відзначено, що інтенсифікація бродіння проходила як на стадії головного бродіння, так і на стадії доброджування. Тому актуальним залишається завдання підбору ферментних препаратів, які гідролізують білкові речовини зернової сировини паралельно з розширенням досліджень з використання амілолітичних ферментів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У [1–5] вивчається вплив протеолітичних ферментних препаратів у технології одержання етанолу із зернової сировини. Результати досліджень вказують на важливу роль протеолітичного комплексу у спиртовому бродінні та дріжджогенеруванні. Дія протеаз на білкові речовини зернового сусла підвищує ефективність його гідролізу, збагачуючи середовище легкозасвоюваними амінокислотами та вуглеводами, що сприяє, в остаточному результаті, підвищенню фізіологічної активності дріжджових клітин, інтенсифікації бродіння та підвищенню виходу цільового продукту. Так, авторами [4] досліджено, що оптимальною дозою Нейтрази є 0,3 од. ПЗ/ г сировини, що дає змогу збільшити вихід спирту на 2,2 дал/т умовного крохмалю порівняно з контролем. Аналіз одержаних авторами результатів вказує на необхідність подальших досліджень, спрямованих на підвищення біоконверсії зернової сировини.

Постановка задачі. Робота продовжує цикл досліджень, що стосуються вивчення проблем ефективної переробки зернової сировини до етилового спирту.

Мета роботи. Дослідження впливу протеолітичних ферментних препаратів у складі мультиензимних композицій на показники сусла та склад бражок у виробництві спирту з пшениці.

Об'єктами досліджень були: ферментні препарати: Альфазин Т7-L, Глюкзин V5-L, Протеаза GC-106 та Нейтраза; пшениця (помел $\approx 100\%$ прохід через сито діаметром 1 мм, крохмалистість – 57,41 %; вологість – 14,0 %); спиртові товарні сушені дріжджі.

Аналіз показників одержаного сусла за участю вищеперерахованих ферментних препаратів та показників бражки виконували за стандартними методиками [6].

Джерелом α -амілази під час ферментативного гідролізу пшениці вибрано ферментний препарат марки Альфазин Т7-L, глюкоамілази – препарат Глюкзин V5-L, протеаз – препарати Протеаза GC-106 та Нейтраза.

Розрідження здійснювали при температурі 85–90 °С протягом 120 хв, а оцукрювання замісу – при температурі 60 °С протягом 10 хв. Протеолітичні ферментні препарати вносили на стадії оцукрювання. Вплив Нейтрази (варіант 2) і Протеази GC-106 (варіант 3) на реологічні властивості сусла з пшениці, динаміку бродіння одержаного сусла, показники бражки та вихід спирту з тонни умовного крохмалю порівнювали з контролем (варіант 1), в якому використовували лише амілолітичні ферментні препарати.

Вплив протеолітичних ферментних препаратів на реологічні показники сусла з пшениці показано на рис. 1, з якого видно, що використання Нейтрази веде до незначного зниження в'язкості сусла. Це пов'язано з природою ферментного препарату. Ця бактеріальна протеаза зумовлює лише частково гідроліз білків.



Рис. 1. Вплив протеолітичних ферментних препаратів на в'язкість сусла з пшениці

Дія Протеази GC-106 є ефективнішою і дає змогу знизити в'язкість пшеничного сусла порівняно з контролем у два рази. Зниження в'язкості зумовлено протеолізом білків цим препаратом до низькомолекулярних фракцій, а саме до пептидів і амінокислот.

Ефективність використання запропонованих комбінацій ферментних препаратів у приготуванні сусла надалі перевіряли, зброджуючи його протягом 72 год.

Динаміка бродіння сусел, одержаних в присутності протеолітичних ферментних препаратів, подана на рис. 2. Як видно з одержаних кривих, до 20-ї години спостерігається незначне виділення CO_2 у всіх варіантах. Далі в експоненційному періоді при використанні протеаз інтенсивність нагромадження вуглекислого газу є вищою порівняно з контрольним варіантом. Це пояснюється тим, що за рахунок додаткового азотного живлення, утвореного протеолізом білкових сполук сусла, дріжджі швидше нагромаджують необхідну масу та залучаються у біотрансформацію цукрів до етилового спирту. Кількість виділеного вуглекислого газу у бражці зростає у зразках 2 і 3 порівняно з контролем на 4,5 % на 72-гу годину бродіння.

Аналіз динаміки бродіння (рис. 2) пшеничного сусла показав, що використання протеолітичних ферментних препаратів дає змогу скоротити тривалість зброджування на 22 години, тобто вести цей процес лише до 50-ї години. У промислових умовах бродіння триває під час періодичного процесу 72 години.



Рис. 2. Динаміка бродіння пшеничного сусла

Отже, динаміку бродіння визначає хімічний склад пшеничного сусла.

Ефективність дії композицій концентрованих ферментних препаратів на зернову сировину визначається не лише властивостями та якістю сусла, але й основними показниками бражки, одержаної на його основі.

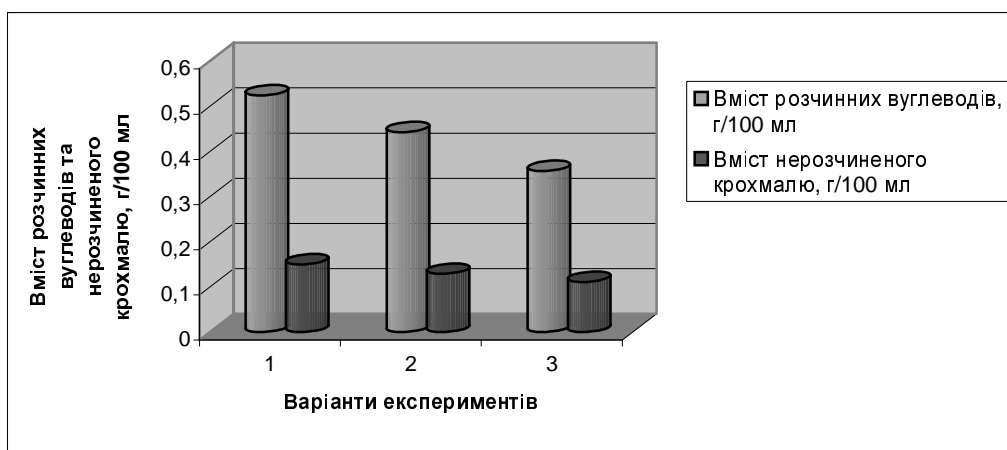


Рис. 3. Вплив протеолітичних ферментних препаратів на вміст розчинних вуглеводів та нерозчиненого крохмалю у бражці

У разі використання протеолітичних ферментних препаратів вміст розчинних вуглеводів та нерозчиненого крохмалю у бражці зменшується (рис. 3), оскільки під дією досліджуваних протеаз проходить гідроліз білків, які локалізовані на поверхні крохмальних гранул, та покращується доступ крохмалю до активних центрів амілолітичних ферментів, а також нагромаджується азотне живлення і дріжджі глибше виброджують цукри. Це підтверджується даними про збільшення кількості дріжджових клітин у бражці в 1,5 рази порівняно з контролем для обох протеаз.

Серед двох протеолітичних ферментних препаратів застосування ферментного препарату Протеаза GC-106 веде до кращого виброджування сусла та відповідно більшого вмісту спирту у бражці (рис. 4) порівняно з Нейтразою.

Важливим показником ефективності перероблення зернової сировини є вихід спирту.

При додаванні Нейтрази вміст спирту у бражці збільшувався на 0,3 об. %, відповідно його вихід на одиницю сировини зростав на 3,54 % порівняно з контролем. При використанні Протеази GC-106 вміст спирту у бражці збільшувався на 0,58 об. %, а вихід спирту – на 4,86 %.

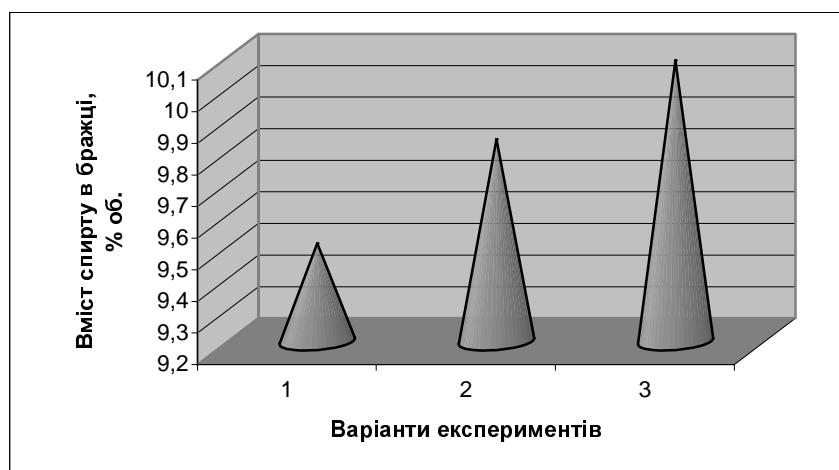


Рис. 4. Вплив протеолітичних ферментних препаратів на вміст спирту у бражі

Аналізуючи одержані результати, можна зробити висновок, що збільшення виходу спирту при зброджуванні сула, збагаченого продуктами протеолізу білків, зумовлюється підвищенням ступеня біоконверсії вуглеводів до етанолу.

Висновки. Встановлено, що використання протеолітичних ферментних препаратів Нейтрази та Протеази GC-106, як додаткових до Альфазину T7-L та Глюкзину V5-L, сприяє збагаченню сусел низькомолекулярними продуктами гідролізу білків, що приводить до інтенсифікації розмноження дріжджів. При цьому підвищується їхня бродильна активність. Досліджено, що протеолітичний ФП грибового походження Протеаза проявляє кращу ефективність дії на біоконверсію пшениці, ніж використання протеолітичного ФП бактеріального походження Нейтраза.

1. Римарева Л.В., Оверченко М.Б. Роль протеаз в спиртовом броженні // *Микробные биокатализаторы для перерабатывающих отраслей АПК: Сб. науч. тр.* – М., 2006. – С. 127–137.
2. Дячкина А.Б., Карпиленко Г.П., Моисеенко В.С. Роль белково-протеиназного комплекса в технологии получения этанола из зерна ржи // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* – 2005. – № 2. – С. 8–10.
3. Римарева Л.В., Оверченко М.Б. Использование протеолитического ферментного препарата из *Aspergillus oryzae* в спиртовом брожении // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* – 2005. – № 4. – С. 12–14.
4. Востриков С.В., Яковлев А.Н., Саутина Н.В., Бушин М.А. Биохимические характеристики процесса ферментативной обработки пшеничного сула // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* – 2004. – № 4. – С. 8–10.
5. Востриков С.В., Яковлев А.Н., Бушин М.А., Солонинов Д.А. Факторы, влияющие на вязкость пшеничных замесов // *Производство спирта и ликероводочных изделий.* – 2006. – № 1. – С. 32–33.
6. Фертман Г.И., Шойхет М.И. *Химико-технологический контроль спиртового и ликеро-водочного производства.* – М.: Пищевая промышленность, 1975. – 440 с.