

Влияние способа перемешивания бродящей среды на накопление биомассы и выход спирта

Ольга Владимировна Зайцева¹, мл. науч. сотр. лаборатории тихих вин, helgum88@gmail.com, тел.: +79781295698; Надежда Васильевна Баракова², канд. техн. наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии продуктов из растительного сырья, n.barakova@mail.ru

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», 298600, Россия, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, 31;

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 197101, г. Санкт-Петербург, Кронверкский проспект, д.49

В статье представлены результаты сравнительных исследований динамики физиологического состояния дрожжевой биомассы и накопления спирта при сбраживании ячменного суслу (с массовой долей сухих веществ 21-22%) с использованием препарата АД DistilaMax GW при различных способах перемешивания бродящей среды. Показано, что использование пневматического способа перемешивания способствует большему накоплению биомассы жизнеспособных клеток, по сравнению с механическим перемешиванием на 5%, при реализации брожения без перемешивания – на 7,1%. В отношении выхода спирта, как механический, так и пневматический способы перемешивания бродящей среды, эффективнее на 9% относительно осуществления процесса брожения без перемешивания. Учитывая, что стоимость оборудования для пневматического перемешивания дешевле, чем для механического, результаты исследований дают основания предполагать экономические преимущества получения спирта из зернового сырья, при использовании пневматического способа перемешивания бродящей среды.

Ключевые слова: спирт; ячменное сусло; перемешивание механическое и пневматическое.

Введение. Известно, что переработка сырья растительного происхождения с целью получения продуктов повышенной энергетической ценности имеет огромное значение для многих отраслей промышленности России. Одним из таких продуктов является этиловый спирт (этанол) – основное сырье для производства целого ряда готовых изделий, продуктов или используется как альтернативный, экологически чистый, источник энергии (биоэтанол).

Как цитировать эту статью:

Зайцева О.В., Баракова Н.В. Влияние способа перемешивания бродящей среды на накопление биомассы и выход спирта // «Магарач». Виноградарство и виноделие, 2019; 21(1). С. 61-64

How to cite this article:

Zaitseva O.V., Barakova N.V. The impact of fermenting medium mixing technique on biomass accumulation and alcohol output. Magarach. Viticulture and Winemaking, 2019; 21(1). pp. 61-64

УДК 633.549

Поступила 06.08.2018

Принята к публикации 11.02.2019

©Авторы, 2019

ORIGINAL ARTICLE

The impact of fermenting medium mixing technique on biomass accumulation and alcohol output

Olga Vladimirovna Zaitseva¹, Nadezhda Vasilevna Barakova²

¹Federal State Budget Scientific Institution All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of RAS, 31 Kirova Str., 298600 Yalta, Republic of Crimea, Russia

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education St. Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, 197101, St. Petersburg, Kronversky prospect, 49

The study compared the dynamics of yeast biomass physiological state and alcohol accumulation during barley wort fermentation (with dry solids weight ratio at 21-22%) using the ADY DistilaMax GW preparation and various fermenting medium mixing methods. The paper summarizes the study findings. It has been demonstrated that pneumatic mixing method ensures a 5% increase in the accumulation of viable cells biomass as compared to mechanical mixing method, and a 7.1% increase when no mixing was performed during fermentation. As to the alcohol output, both mechanical and pneumatic fermenting medium mixing methods demonstrated a 9% increase in the effectiveness when fermentation was conducted without mixing. Considering the fact that pneumatic mixing equipment is cheaper than the mechanical one, the research findings suggest economic advantages of grain alcohol production using pneumatic method for mixing of the fermenting medium.

Key words: alcohol; barley wort fermentation; mechanical and pneumatic mixing.

Основным потребителем пищевого этилового спирта является ликеро-водочная промышленность и именно она до сегодняшнего дня определяет основной спрос на этот продукт. Однако в последние годы наметились тенденции на поиск альтернативных источников получения энергии, которые в будущем смогут заменить углеводороды. Одним из таких источников является биотопливо, под которым понимается этиловый спирт и биогаз.

В настоящее время этиловый спирт получают двумя способами: химическим путем и микробиологическим. Наиболее экономичным является последний путь. В его основе лежит переработка сахаросодержащего и крахмалосодержащего сырья с помощью дрожжей. Одним из факторов повышения эффективности процесса брожения является перемешивание биомассы [1]. Связано это с тем, что в ходе брожения цитоплазматическая мембрана дрожжевой клетки, пропускает питательные вещества, растворенные в воде бродящей среды, в клетку и препятствует их возвращению в среду. Перемешивание бродящей среды обеспечивает постоянный приток питательных веществ.

Анализ существующих машинно-аппаратурных схем производства спирта позволил сделать вывод о том, что в большинстве случаев бродящую смесь перемешивают с помощью механических мешалок. Есть мнение, что механическое перемешивание благотворно влияет на процесс брожения, при этом важен режим перемешива-

ния [2]. Однако остается открытым вопрос, будет ли эффективным перемешивание для нормального тургора клетки, ведь неизбежен механический стресс, который возникает в результате действия больших касательных напряжений во время перемешивания дрожжей, перекачивания их из одной емкости в другую с помощью насосов [3].

Кроме того, механическое перемешивание требует дополнительного оборудования, и как следствие, увеличивает конечную стоимость продукта.

Мы предположили, что с позиции влияния на метаболизм дрожжей и количества единиц оборудования пневматическое перемешивание может оказаться более простым и эффективным, а значит – и более экономичным. Из этого вытекает цель исследования.

Цель нашего экспериментального исследования – сравнительный анализ влияния способа перемешивания бродящей среды на физиологическое состояние дрожжевой биомассы и выход спирта.

Объекты и методы исследования

Для проведения эксперимента в качестве сахаросодержащей среды использовали ячменное сусло с массовой долей сухих веществ 21-22%. Для приготовления сусла, выбирали ячмень со степенью измельчения 1 мм [4], который заливали водой в соотношении 1:2,5. В смесь, нагретую до 50°C, вносили расчетное количество ферментных препаратов: α -амилазы с дозой внесения 2,5 ед АС/1 г крахмала и ксиланазы – в количестве 1 ед КС/1 г. Использовали ферментные препараты фирм производителей Erbslöh и Novozymes [5]. Приготовление зерновых замесов, производилось при температуре 50°C, с постоянным перемешиванием в течение 30 мин. с последующим повышением температуры до 70°C, в течение 4 ч.

Для проведения процесса спиртового брожения, использовали препараты активных сухих дрожжи (АСД) DistilaMax GW фирмы Lallemand Biofuels & Distilled Spirits. АСД DistilaMax, относятся к роду *Saccharomyces cerevisiae*. Брожение проводили в термостате марки ТС-1/80 СПУ, при температуре 30°C, в течение 72 ч. Непосредственно, перед брожением, вносили глюкоамилазу (ГАС/г), в количестве 7 ед. ГАС/г крахмала (метод SSF), содержащуюся в ферментном препарате Дистицим АГ фирмы Erbslöh. Метод SSF, подразумевает совместное внесение дрожжей и ферментного препарата амилолитического действия перед брожением в результате чего происходят одновременные стадии осахаривания и ферментации ячменного сусла.

Брожение ячменного сусла проходило при следующих способах перемешивания бродящей среды: 1 – без перемешивания; 2 – с механическим перемешиванием; 3 – с пневматическим перемешиванием.

Используемые для механического перемешивания мешалки представляли собой лопасти плоской формы, закрепленные на валу и приводимые во вращение непосредственно от электродвигателя. Перемешивание осуществляли каждые сутки, в течение 1 ч со скоростью вращения мешалки $V = 5$ об/с, и подводимой мощностью $N = 2,4$ Вт.

Пневматическое перемешивание осуществляли

путем пропускания через бродящую среду углекислого газа. По замкнутому контуру выделявшаяся при брожении углекислота нагнеталась в герметичный резервуар и подавалась при помощи аквариумного компрессора обратно в емкость с бродящей средой. Время перемешивания составляло 1 ч, подводимая мощность $N = 2,4$ Вт.

Отбор проб биомассы дрожжей для анализа осуществляли каждые 24 ч в течение 3 суток культивирования. Количество клеток дрожжей определяли путем их подсчета в камере Горяева, под микроскопом Zeiss Axio Lab.A1 с увеличением 640 \times [6]. Разведение образцов сусла осуществляли с таким расчетом, чтобы в поле зрения микроскопа количество дрожжевых клеток составляло от 10 до 40 штук. Определение количества мертвых клеток осуществляли путем их подкрашивания метиленовым синим. Определение объемной доли этилового спирта в бродящей среде осуществляли по ГОСТ 32095.

Статистическую оценку экспериментальных данных проводили с использованием пакета анализа для непараметрических данных программы Statistica 17.0. Исследования проводили в 7 повторностях для каждого варианта перемешивания бродящей среды.

Результаты и обсуждение

Исследование динамики дрожжевой биомассы в бродящей среде показало, что, независимо от способа перемешивания, основной прирост биомассы приходился на первые сутки брожения. Это совпадает с ранее полученными результатами [7] и свидетельствует о том, что по окончании 24 ч культивирования, развитие дрожжей переходит в стационарную фазу. В наблюдаемый момент наибольшее количество живых клеток фиксировалось в варианте с пневматическим перемешиванием – в среднем 937 млн кл/см³ (рис. 1). Среднее количе-

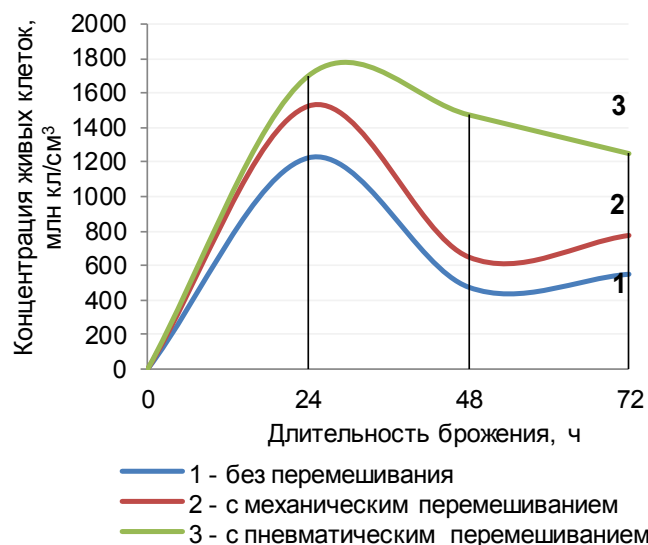


Рис. 1. Изменение концентрации живых клеток в процессе брожения

Figure 1. Variation in the concentration of live cells during fermentation process: 1 – without mixing; 2 – with mechanical mixing; 3 – with pneumatic mixing

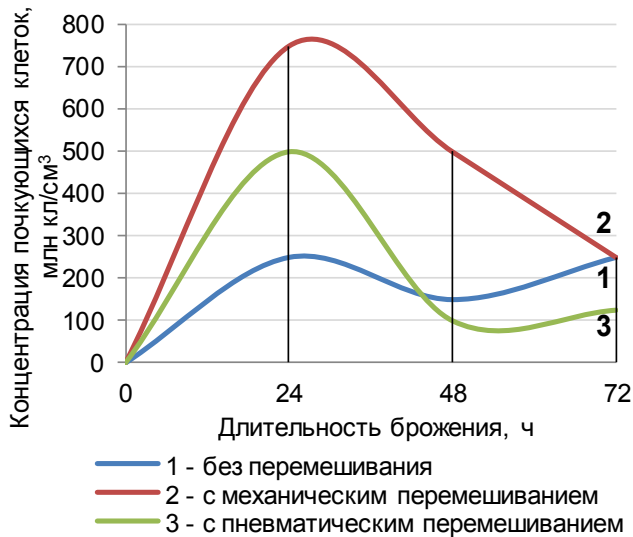


Рис. 2. Изменение концентрации почкующихся клеток в процессе брожения

Figure 2. Variation in the concentration of budding cells during fermentation process

ство клеток в варианте с механическим перемешиванием было 895 млн кл/см³, что на 5% меньше, а в варианте без перемешивания – наименьшим, и составляло, в среднем, 865 млн кл/см³. При дальнейшем культивировании концентрация живых клеток в бродящей среде уменьшалась во всех вариантах опыта, однако разница в их количестве в вариантах без перемешивания и с механическим перемешиванием сохранялась, а при пневматическом перемешивании – увеличивалась. Такую же динамику процесса можно проследить на протяжении последующих 48 ч брожения.

Количество почкующихся клеток было наибольшим в опытных образцах, которые перемешивались механическим способом. В среднем на протяжении всего процесса культивирования концентрация почкующихся клеток дрожжей в бродящей среде с пневматическим перемешиванием была на 20% меньше, чем в опыте с механическим перемешиванием, и на 10% меньше, чем в опыте без перемешивания (рис. 2).

В опытах без перемешивания количество мертвых клеток было наибольшим. В среднем на протяжении культивирования концентрация мертвых клеток дрожжей в бродящей среде с пневматическим перемешиванием была на 30% меньше, чем в опыте с механическим перемешиванием и на 45% меньше, чем в опыте без перемешивания (рис. 3).

Обобщая данные динамики дрожжевой биомассы при различных способах перемешивания бродящей среды, можно констатировать, что пневматический способ перемешивания имеет значимые преимущества в накоплении активных жизнеспособных клеток дрожжей, реализующих сбраживание сахаров в бродящей среде.

Анализ объемной доли этилового спирта в бродящей среде по окончании 72 ч культивирования показал, что ее значения в вариантах опыта с механическим или пневматическим перемешиванием, находились на одном уровне, и составляли в среднем 9,5% об (рис.4). Значения показателя в вариантах без переме-

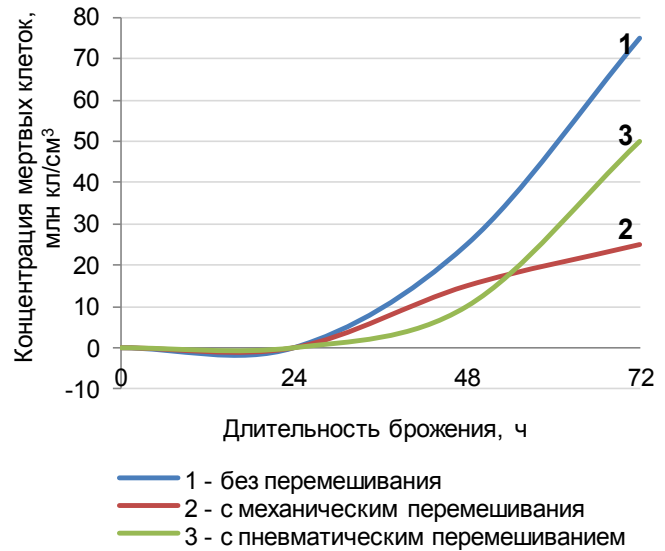


Рис. 3. Изменение концентрации мертвых клеток в процессе брожения

Figure 3. Variation in the concentration of dead cells during fermentation process

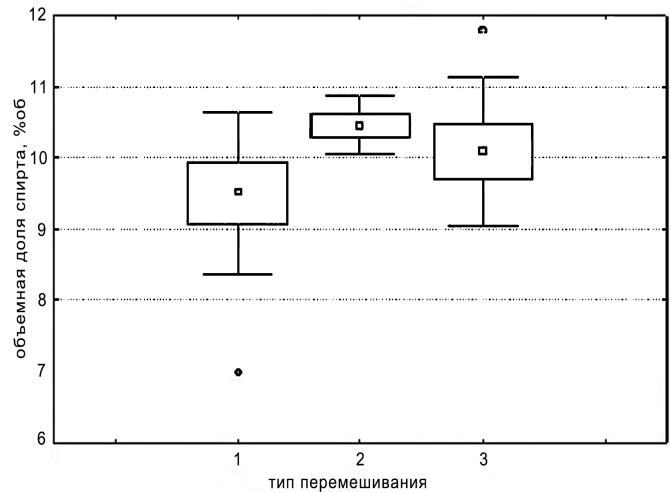


Рис. 4. Выход спирта при разных способах перемешивания бродящей среды: 1 – без перемешивания; 2 – с механическим перемешиванием; 3 – с пневматическим перемешиванием

Figure 4. Alcohol output under various fermenting medium mixing methods

шивания были на 10% меньше. Полученные результаты подтверждают интенсификацию процесса сбраживания сахаров бродящей среды при перемешивании в условиях опыта в 76% случаев. Учитывая, что стоимость оборудования для пневматического перемешивания дешевле, чем для механического, а разница в показателях выхода спирта отличаются в пределах погрешности, то логично сделать вывод о том, что более экономичным будет пневматическое перемешивание.

Выводы

Таким образом, в ходе сравнительных исследований процесса сбраживания ячменного сула препаратом АСД рода *Saccharomyces cerevisiae*, при разных способах перемешивания бродящей среды, показано преимущество пневматического способа в аспекте накопления биомассы жизнеспособных клеток по сравнению с механическим перемешиванием, и при реализации брожения без перемешивания. В отношении выхода спирта как механический, так и пневматиче-

ский способы перемешивания бродающей среды эффективнее в среднем на 10%, относительно осуществления процесса брожения без перемешивания.

Источник финансирования

Не указан.

Financing source

Not specified.

Конфликт интересов

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы / References

1. Баракова Н.В., Тишин В.Б., Леонов А.В. Исследование влияния ферментных препаратов на вязкость высококонцентрированных замесов из ячменя при производстве этилового спирта // Производство спирта и ликероводочных изделий. – Москва: Пищевая промышленность, 2010. – Вып. №4. – С. 24-26.
Barakova N.V., Tishin V.B., Leonov A.V. *Issledovaniye vliyaniya fermentnykh preparatov na vyazkost' vysokokontsentrirrovannykh zamesov iz yachmenya pri proizvodstve etilovogo spirta* // *Proizvodstvo spirta y likerovodochnykh izdeliy*. – Moscow: *Pishevaya promysblennost'*, 2010. ed. №4. pp. 24-26. (in Russian)
2. A. I. Garcia, S. S. Pandiella, L. A. Garsia, M. Diaz Mechanism for mixing and homogenization in beer fermentation // *Bioprocess Engineering* 10 (1994) 179-184 (c) Springer-Verlag 1994.
3. Ковалевский К.А., Технология бродильных производств. – Киев: ИНКОС, 2004.
Kovalevskiy K.A., *Tekhnologoya brodilnykh proizvodstv*. Kyiv: *INKOS*, 2004.
4. Устинова А.С., Баракова Н.В., Тирская В.С. Пути интенсификации процесса сбраживания высококонцентрированного сусла. Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств», 2012.
Ustinova A.S., Barakova N.V., Tirskeya V.S. *Puti intensivatsii protsessa sbrazhivaniya vysokokontsentrirrovannogo susla*. *Nauchniy zhurnal NIU ITMO*. "Protsessy y apparaty pishevykh proizvodstv" series, 2012. (in Russian)
5. Кузнецова К.А., Баракова Н.В., Начетова М.А. Влияние времени дрожжегенерации на параметры сбраживания ячменного сусла повышенной концентрации. Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств», 2016. – № 2.
Kuznetsova K.A., Barakova N.V., Nachetova M.A. *Vliyaniye vremeni drozhebgenaratsii na parametry sbrazhivaniya yachmennogo susla povysbennoy kontsentratsii*. *Nauchniy zhurnal NIU ITMO*. "Protsessy y apparaty pishevykh proizvodstv" series, 2016. № 2 (in Russian)
6. Инструкция по технохимическому и микробиологическому контролю спиртового производства. – М.: ДеЛиПринт, 2007. – 480 с.
Instruktsiya po tekhnokhimicheskomu y mikrobiologicheskomu kontrolyu spirtovogo proizvodstva. M.: *DeLiprint*, 2007. 480 p. (in Russian)
7. Баракова Н.В. Разработка технологии этилового спирта при пониженных температурных режимах водотепловой и ферментативной обработке высококонцентрированных замесов из ячменя // Дис. канд. техн. наук: 05.18.07. – СПб: 2010. – 100 с.
Barakova N.V. *Razrabotka tekhnologii etilovogo spirta pri ponizhenykh temperaturnykh rezhimakh vodnoteplovo y fermentativnoy obrabotke vysokokontsentrirrovannykh zamesov iz yachmenya* // thesis cand. techn. sci.: 05.18.07. Saint-Petersburg: 2010. 100 p. (in Russian)