

УДК 663.15

**ДОСЛІДЖЕННЯ ДИНАМІКИ ОЦУКРЮВАННЯ КРОХМАЛЕВМІСНОЇ СИРОВИНИ
ФЕРМЕНТНИМ ПРЕПАРАТОМ ГЛЮКОАМІЛАЗИ
В ПРОЦЕСІ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГІДРОЛІЗУ**

Данілова К. О., к.т.н., с.н.с.,

заст. завідувача відділу технології продуктів бродіння

<https://orcid.org/0000-0001-6204-9975>

Олійнічук С. Т., д.т.н., с.н.с.,

завідувач відділу технології продуктів бродіння

<https://orcid.org/0000-0002-2885-6754>

Заварзіна О. С., провідний фахівець

відділу технології продуктів бродіння

<https://orcid.org/0000-0003-3241-8463>

Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна

<https://doi.org/10.31073/foodresources2022-19-08>

Предмет дослідження. Закономірності процесу оцукрювання проміжних продуктів гідролізу крохмалю – декстринів. Зброджування крохмалевмісної сировини у виробництві етилового спирту лімітується швидкістю ферментативного гідролізу декстринів, від чого залежить вихід етилового спирту з 1 тонни сировини. Глюкоамілаза відповідає за процес утворення цукрів із крохмалю зерна і безпосередньо впливає на інтенсифікацію дріжджогенерування та бродіння. **Мета.** Дослідити динаміку оцукрення ферментного препарату глюкоамілази під час ферментативного гідролізу крохмалевмісної сировини на прикладі кукурудзи. Об'єкт дослідження – стадія оцукрювання в процесі ферментативного гідролізу крохмалю зерна кукурудзи. **Методи.** У роботі використано загальноприйняті в спиртовій промисловості методи досліджень, активність глюкоамілази визначали поляриметричним методом. Динаміку гідролізу крохмалю за кількістю утворених цукрів визначали методом високоефективної рідинної хроматографії ВЕРХ. **Результати.** Результати показали, що споживання крохмалю та кінетика отримання глюкози найефективніші упродовж першої години оцукрювання, коли кількість гідролізованого крохмалю становить 75% від введенного крохмалю. Збільшення тривалості до двох годин забезпечує гідроліз крохмалю на 97,2%, тоді як упродовж третьої і четвертої години кількість утворених моно- і дицукрів збільшується всього на 0,35 і 0,7 г/100 см³, що складає тільки 2,7% гідролізованого крохмалю. В першу годину оцукрювання крохмалю глюкоамілазою зростає вміст мальтози до 4,84 г/100 см³, а вміст глюкози до 15,2 г/100 см³. У подальшому перебігу оцукрювання кількість глюкози поступово зменшується, а кількість мальтози плавно збільшується. Визначено, що оптимальною дозою глюкоамілази є 8 од. активності / г крохмалю, за якої процес оцукрювання крохмалевмісної сировини відбувається найбільш повно. Для визначення впливу дозування ферментного препарату на вихід етилового спирту оцукрене сусло зброджували в періодичному процесі сухими дріжджами Termosacc. Вихід спирту з тонни сировини на суслі з дозуванням ферментів альфа-амілази в кількості 1,5 од./г крохмалю та глюкоамілази в кількості 8 од./г, був на 2,8-3 дал вищим, ніж за інших концентраціях ферментних препаратів. Зброджування сусла методом одночасного оцукрювання і бродіння характеризувалося кращими показниками, концентрація спирту була на 0,05% об. вищою, вміст незброджених, водорозчинних і спирторозчинних вуглеводів та декстринів також був нижчим, що свідчить про повноту зброджування сусла. **Сфера застосування результатів.** Результати досліджень будуть використані для розробки ефективної схеми гідролізу біополімерів сусла ферментами амілазного комплексу на стадії ферментативного гідролізу крохмалю сировини.

Ключові слова: кукурудза, крохмаль, гідроліз, ферментний препарат, глюкоамілаза, оцукрювання, ферментативна активність, зброджування, цукри

RESEARCH OF SACCHARIFICATION DYNAMICS OF ENZYME PREPARATION GLUCOAMYLASE IN THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF STARCH-CONTAINING RAW MATERIALS

Kateryna Danilova, Ph.D., Engineering, Senior Researcher,
Deputy Head of Fermentation Products Technology Department
<https://orcid.org/0000-0001-6204-9975>

Serhii Oliynichuk, D-r of Sc., Engineering, Senior Researcher,
Head of Fermentation Products Technology Department
<https://orcid.org/0000-0002-2885-6754>

Oksana Zavarzina, Senior Specialist
of Fermentation Products Technology Department
<https://orcid.org/0000-0003-3241-8463>
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

<https://doi.org/10.31073/foodresources2022-19-08>

Subject of research. Regularities of the saccharification process of intermediate products of starch hydrolysis – dextrins. Fermentation of starch-containing raw material in the alcohol production is limited by rapidity of enzymohydrolysis dextrins, on what the ethanol productivity depends from 1 tons of raw material. Glucoamylase is responsible for the process of sugar formation from grain starch and directly affects the intensification of yeast generation and fermentation. **Purpose.** Research of saccharification dynamics of enzyme preparation glucoamylase in the enzymatic hydrolysis process of starch-containing raw material on the example of corn. The object of study is the saccharification stage in the process of enzymatic hydrolysis of corn starch. **Methods.** Generally accepted in the alcohol industry were used, the activity of glucoamylase was determined by polarimetry method. The dynamics of starch hydrolysis according to the amount of sugars formed was determined by the method of high performance liquid chromatography (HPLC). **Results.** Showed, that the consumption of starch and the kinetics of obtaining glucose are most effective during the first hour of saccharification, where the amount of hydrolyzed starch is 75% of the introduced starch. Increasing the duration to two hours ensures starch hydrolysis by 97.2%, and during the third and fourth hours, the amount of formed mono- and disugars increases by only 0.35 and 0.7 g/100 cm³, which is only 2.7% of hydrolyzed starch. In the first hour of starch saccharification with glucoamylase, the maltose content increases to 4.84 g/100 cm³, and the glucose content to 15.2 g/100 cm³. In the further course of saccharification, the amount of glucose gradually decreases, and the amount of maltose gradually increases. It was determined that the optimal dose of glucoamylase is 8 units. activity / g of starch, at which the process of saccharification occurs most completely. To determine the effect of the dosage of the enzyme preparation on the ethanol yield, the sugared mash was fermented in a periodic process with Termosacc dry yeast. The ethanol yield per ton of raw materials on mash with the dosage of α -amylase enzymes for 1,5 units/g of starch and glucoamylase in the amount of 8 units/g was higher of 2.8-3 dal than with other concentrations of enzyme preparations. Fermentation of mash by the method of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) was characterized by better indicators, the ethanol concentration was 0.05% vol. higher, the content of unfermented, water-soluble and alcohol-soluble carbohydrates and dextrin's was also lower, which indicates the complete fermentation of the mash. **Scope of research results.** Develop an effective scheme for the hydrolysis of mash biopolymers by enzymes of the amylase complex at the enzymohydrolysis stage of raw materials starch.

Key words: corn, starch, hydrolysis, enzyme preparation, glucoamylase, saccharification, enzyme activity, fermentation, sugars

Постановка проблеми. Збродження крохмалевмісної сировини у виробництві етилового спирту лімітується швидкістю ферментативного гідролізу декстринів, від чого залежить вихід етилового спирту з 1 тонни сировини.

Амілоза й амілопектин, з яких складається молекула крохмалю, гідролізуються різними типами амілолітичних ферментних препаратів – альфа-амілазою і глюкоамілазою. В роботі [1] нами досліджувалася динаміка активності ферментного препарату α -амілази в процесі розрідження крохмалевмісної сировини на прикладі кукурудзи. Глюкоамілаза

відповідає за процес утворення цукрів з крохмалю зерна і безпосередньо впливає на інтенсифікацію дріжджогенерування та бродіння. В роботі [2] наведено результати досліджень впливу ферментного комплексу, що складається з трьох ферментних препаратів Alfaferm 350L, Glucozyme A 400S, Protoferm FP. Оскільки оцукрення є одним з основних показників, що безпосередньо впливає на вихід етилового спирту, то під час експерименту змінювали концентрацію глюкоамілазного препарату Glucozyme A 400S, тоді як концентрація інших ферментних препаратів (α -амілази і протеази) була незмінною. Встановлено, що при використанні ферментного комплексу, що складається з 3,5 мл Alfaferm 350L, 3,48 мл Glucozyme A 400S та 0,19 мл Protoferm FP скорочується тривалість бродіння на 10-12 годин та утворюється бражка з концентрацією спирту 11,7 % об.

На сьогодні існує два способи отримання етилового спирту – шляхом попереднього гідролізу крохмалю сусла з наступним зброджуванням (SHF – separate hydrolysis and fermentation) та одночасного оцукрення і бродіння, коли глюкоамілазу додають одночасно з дріжджами в бродильний апарат (SSF – simultaneous saccharification and fermentation). У роботі [3] досліджували вплив попереднього гідролізу нативного житнього крохмалю на вихід етилового спирту, що отримували шляхом одночасного оцукрення і бродіння житньої бражки з високим вмістом сухої речовини 25% і 28% масс. Бродіння проводили три доби за температур $35 \pm 1^\circ\text{C}$ із використанням сухих дріжджів Ethanol Red. Попередній гідроліз крохмалю не призвів до значного збільшення початкової кількості цукрів; ефективність бродіння і вихід спирту знаходилися на рівні зі зброджуванням сусла без попереднього гідролізу [3].

Кукурудза слугує основною сировиною у виробництві біоетанолу та етилового спирту. Досліджувалися різні сорти кукурудзи, що відрізнялися крохмалистістю, типом гібридного сорту і зерна. Процес бродіння досліджували методами SHF та SSF. Метод SSF виявився найефективнішим для виробництва біоетанолу, незалежно від сорту кукурудзи. Хроматографічний аналіз спирту-сирцю показав, що для метода SSF характерні більш низькі рівні побічних продуктів бродіння, ніж для SHF [4].

У роботі [5] досліджували вплив різних змінних, а саме: кількість амілолітичних ферментних препаратів, різні дози дріжджів, температура бродіння, окремий процес оцукрення і бродіння (SHF), одночасне оцукрення і бродіння (SSF), на вихід етилового спирту. Максимальний вихід спирту був 56% за температури бродіння 40°C та додаванні 3 г α -амілази і 8 г дріжджів за методом SSF. У роботі [6] досліджували вплив попередньої обробки крохмалевмісної сировини (відходів від виробництва житньо-пшеничного хліба) різними способами, а саме: ферментативний попередній гідроліз, мікрохвильове опромінення, ультразвукова обробка на вихід етилового спирту. Динаміка бродіння була однаковою. Результати показали, що попередня обробка сировини збільшила вихід етанолу на 3-8% [6]. Таким чином, вихід готової продукції – етилового спирту залежить від повноти гідролізу крохмалю сусла під впливом амілазного ферментного комплексу та методу, за яким відбувається оцукрення і зброджування.

Мета. Дослідити динаміку оцукрювання ферментного препарату глюкоамілази під час ферментативного гідролізу крохмалевмісної сировини на прикладі кукурудзи. Об'єкт дослідження – стадія оцукрення в процесі ферментативного гідролізу крохмалю зерна кукурудзи. Предмет дослідження – закономірності процесу оцукрювання крохмалевмісної сировини ферментним препаратом глюкоамілази та зброджування сусла різними методами.

Матеріали і методи. В роботі використовували загальноприйняті в спиртовій промисловості методи досліджень [7, 8, 9, 10]. Для визначення умовної крохмалистості зерна використовували поляриметричний метод (метод Еверса) [10].

Вміст вологи зерна – вологоміром РМ, вміст вологи помелу шляхом висушування [12], ступінь подрібнення – на лабораторному млині шляхом просіювання через сито з діаметром вічок 1 мм. Активність глюкоамілази визначали поляриметричним методом

[11]. Динаміку гідролізу крохмалю за кількістю утворених цукрів – методом високоефективної рідинної хроматографії ВЕРХ на хроматографі Shimadzu Lab Solutions. Показник рН – потенціометрично [7, 8]. Вміст етилового спирту в зрілій бражці – ареометрично [12]. Вміст незброджених вуглеводів та нерозчиненого крохмалю у напівпродуктах та дозрілій бражці – фотоколориметричним методом з антроновим реактивом [13].

Для проведення досліджень використовували традиційну для спиртової галузі сировину – подрібнене зерно кукурудзи, яке характеризується наступними показниками (табл. 1).

Таблиця 1

Показники якості кукурудзи

№ з/п	Показник	Значення
1	Вміст сухих речовин, %	86,0
2	Вміст вологи, %	14,0
3	Вміст крохмалю, % до СР	65,0
4	Вміст сторонніх домішок, %	3,2
5	Сума моно-і дицукрів, % до СР	2,6
6	Доброякісність, або співвідношення вмісту крохмалю до вмісту СР, %	75,6

Як свідчать дані – кукурудза має крохмалистість 65%, а також містить до 2,6% зброджуваних цукрів, серед яких наявні зокрема рафіноза, мальтоза, цукроза, глюкоза і фруктоза.

Із подрібненої кукурудзи з дисперсністю 100% проходу через сито з діаметром отворів 1 мм готували сусло із вмістом сухих речовин і крохмалю 26 та 18,2 г відповідно, змішуючи її з водою у

співвідношенні 1 : (2,3-2,5). Гідроліз крохмалю здійснювали комерційними ферментними препаратами альфа-амілази (Tegamil BLHL) годин та глюкоамілази (Tegamil GA 490) виробництва Peli Bio-Chem Technology (Shanghai) Co за різним дозуванням на 1 г крохмалю. Під час оцукрювання за температури 53-55°C упродовж чотирьох годин та під час зброджування визначали вміст утворених цукрів. Сусло зброджували методом бродильної проби дріжджами з колекції Інституту продовольчих ресурсів раси ДС-02-Е та комерційними сухими дріжджами Еноферм С2.

Результати досліджень. Динаміку утворення моно-і дицукрів на стадії розчинення крохмалю альфа-амілазою наведено в роботі [1]. На цьому етапі нами досліджувався процес оцукрення крохмалю глюкоамілазою з початковою активністю 5018 од/см³, що додавали до попередньо розрідженого альфа-амілазою сусла за нормами, прийнятими в спиртовому виробництві, а саме: альфа-амілази – 2 одиниці активності на 1 г крохмалю, глюкоамілази – 6 одиниць активності на 1 г крохмалю. Динаміка накопичення продуктів гідролізу крохмалю залежно від тривалості процесу виявилася наступною (табл. 2).

Таблиця 2

Динаміка утворення моно-і дицукрів в процесі оцукрювання сусла

Тривалість оцукрювання, год	Вміст цукрів, г/100 см ³				Сума моно-і дицукрів, г/100 см ³	Гідролізований крохмаль до введення, %
	мальто-декстрини	мальтоза	глюкоза	фруктоза		
1	0,94±0,045	3,93±0,15	6,73±0,3	0,12±0,006	11,72±0,65	75,4
2	0,68±0,03	4,20±0,2	12,71±0,63	0,11±0,006	17,7±0,85	97,2
3	0,12±0,006	6,23±0,3	11,8±0,6	0,10±0,006	18,25±0,85	99,17
4	0,09±0,002	6,43±0,31	11,6±0,6	0,09±0,006	18,21±0,85	100

Порівнюючи показники гідролізу кукурудзяного крохмалю, доходимо висновку, що споживання крохмалю та кінетика отримання глюкози найефективніші упродовж першої години оцукрювання, коли кількість гідролізованого крохмалю становить 75% від

введеного крохмалю. Збільшення тривалості до двох годин забезпечує гідроліз крохмалю на 97,2%, тоді як впродовж третьої і четвертої години кількість утворених моно- та дицукрів збільшується всього на 0,35 і 0,7 г/100 см³, що забезпечує гідроліз 99,2 і 100% до введеного крохмалю, відповідно. Отриманий результат надає основу для детальної оптимізації оцукрювання крохмалю в безперервному процесі для його розвитку в промисловому масштабі.

Наступним етапом досліджень стало визначення швидкості реакції гідролізу крохмалю залежно від витрати оцукрюючого ферментного препарату глюкоамілази.

Оцукрення проводили упродовж чотирьох годин за температури 53-55°C із ферментним препаратом глюкоамілазою з початковою активністю 5018 од/см³, що додавали до попередньо розрідженого сусла альфа-амілазою з дозуванням 1,5 од. активності/г крохмалю в кількості 6; 7; 8; 9 од/г крохмалю. Динаміку накопичення продуктів гідролізу крохмалю залежно від введеного ферментного препарату глюкоамілази виявлено (табл. 3).

Таблиця 3

**Динаміка накопичення продуктів гідролізу крохмалю
залежно від введеного ферментного препарату глюкоамілази**

Витрати глюкоамілази, од/г крохм. /введено крохмалю,г	Трива- лість оцук- рення, год	Вміст цукрів, г/100 см ³			Утворено цукрів, г на об'єм 250 см ³	Кількість цукрів, %, до введеного крохмалю
		Мальтоза	Глюкоза	Сума моно- і дицукрів		
6 / 47,66	1	3,93±0,15	6,73±0,3	10,78±0,6	26,95±0,3	56,5±2,8
	2	4,20±0,2	12,71±0,63	17,01±0,75	42,52±0,3	89,2±4
	3	4,76±0,25	12,25±0,6	17,16±0,75	42,9±0,3	90±4
	4	4,92±0,15	12,19±0,6	17,22±0,85	43,05±2	90,3±4
7 / 47,66	1	4,13±0,15	8,31±0,5	12,58±0,15	31,45±1,6	66±3
	2	5,30±0,15	11,84±0,6	16,26±0,8	40,65±2	85,3±4
	3	5,41±0,15	11,52±0,6	17,03±0,8	42,58±2	89,3±4
	4	6,40±0,15	11,29±0,6	18,30±0,85	45,75±2,3	96±4,5
8 / 47,66	1	4,84±0,15	10,82±0,5	15,77±0,75	39,43±2	82,7±4
	2	5,68±0,15	12,61±0,65	17,43±0,85	43,58±2	91,4±4
	3	6,40±0,15	12,47±0,65	18,9±0,85	47,36±2,3	99,4±4,5
	4	6,29±0,15	12,35±0,65	19,04±0,9	47,61±2,3	99,9±4,5
9 / 47,66	1	3,46±0,15	15,22±0,75	16,77±0,8	41,93±2	88±4
	2	4,63±0,15	13,04±0,67	17,79±0,85	44,48±2,1	93,3±4
	3	4,41±0,15	13,6±0,68	18,02±0,85	45,14±2,3	95,1±4
	4	5,01±0,15	13,56±0,6	18,64±0,9	46,90±2,3	98,1±4

За наявними даними, зі збільшенням дози введеного ферментного препарату глюкоамілази процес гідролізу амілопектину перебігає інтенсивніше. Так, за дозою 6 од. активності утворюється на першу годину 26,95 г цукрів, або 56,5% від введеного крохмалю, тоді як у кінці процесу оцукрення в суслі накопичується тільки 90% цукрів до введеного крохмалю. За дозуванням ферментного препарату 7 одиниць активності на 1 г введеного крохмалю на четверту годину оцукрення кількість цукрів становить вже 96% до введеного крохмалю, а при дозі ферментного препарату 8 од. активності на першу годину утворюється 82,7% цукрів, на четверту годину відбувається повне оцукрення крохмалю з утворенням 47,61 г цукрів, або 99,9% до введеного крохмалю. При дозі глюкоамілази 9 од. активності процес оцукрення перебігає майже з тією ж інтенсивністю. Таким чином,

повне оцукрення сусла відбувається за дозою понад 8 од. активності на 1 г введеного крохмалю, тому підвищення дози ферментного препарату економічно недоцільне.

У першу годину оцукрювання крохмалю глюкоамілазою зростає вміст мальтози до 4,84 г/100 см³, вміст глюкози до 15,2 г/100 см³ (за дозування 8 од./г крохмалю). В подальшому перебігу оцукрювання кількість глюкози поступово зменшується, а кількість мальтози плавно збільшується, тобто процес утворення мальтози не закінчився після чотирьох годин оцукрювання, що узгоджується з даними літературних джерел про інгібуючу дію продуктів гідролізу, зокрема глюкози, на активність оцукрюючих ферментів у живих клітинах [14].

Отримані дані свідчать, що наявність в замісі суміші глюкози і мальтози може зменшувати активність глюкоамілази за рахунок утворення непродуктивних фермент-субстратних комплексів на стадії оцукрювання.

Таким чином, процес оцукрення кукурудзяного сусла найбільш повно відбувається за кількості введеного оцукрюючого ферментного препарату глюкоамілази 8 од. активності/г крохмалю протягом чотирьох годин за вибраних умов гідролізу (температури, гідромодуля тощо).

Вуглеводний склад оцукреного крохмалю, крім глюкози, характеризується вмістом інших цукрів (мальтодекстрини, мальтоза). Для визначення впливу дозування ферментного препарату на вихід етилового спирту оцукрене сусло зброджували в періодичному процесі сухими дріжджами Termosacc, що використовуються на підприємствах спиртової промисловості. При цьому сусло готувалося з помелу кукурудзи в суміші з водою в об'ємі 250 см³ із вмістом сухих речовин і крохмалю 31,57 і 22,1 г відповідно.

Для визначення динаміки процесу зброджування бродильні колби зважували кожні 12 год упродовж 3-х діб, а остаточний час бродіння зайняв 80 год (табл. 4).

Таблиця 4

Динаміка процесу зброджування

Кількість введених ферментів α -амілаза/глюкоамілаза, од. акт./г крохмалю	Кількість CO ₂ , г після зброджування протягом, год						
	12	24	36	48	60	72	80
2/6	12,4	15,1	23,2	24,6	27,8	28,15	28,3
3/9	10,5	13,5	22,6	24,2	26,3	27,1	27,3
4/8	10,6	13,9	23,1	24,8	27,1	27,4	27,6
5/9	11,0	14,5	23,4	24,5	26,8	27,5	28,0
0,5/8	11,9	12,8	22,1	23,4	25,1	25,9	26,7
1,0/8	12,7	13,1	22,6	23,8	24,9	26,1	27,2
1,5/8	13,2	15,6	23,7	25,7	26,9	27,8	28,9

За наведеними даними найінтенсивнішим виявилось бродіння сусла з доданими ферментами альфа-амілази і глюкоамілази в кількості 2/6 одиниць активності на 1 г крохмалю та 1,5/8 одиниць активності/г крохмалю. На суслі, що оцукрювалося з іншими дозами доданих ферментів бродіння відбувалося з меншою інтенсивністю. Так, на 80 годину зброджування на суслі з ферментами 1,5/8 діоксиду вуглецю виділилося на 0,6 г більше, ніж на суслі з ферментами, що додавалися в кількості 2/6, як прийнято на виробництві в промислових умовах.

Отримані результати підтверджуються проведенням аналізом зрілої бражки, одержаної після зброджування сусла (табл. 5).

Таблиця 5

Хімічний склад зрілої бражки

Показник	Кількість ферментів, од. акт./г крохмалю альфа-амілаза / глюкоамілаза						
	2/6	3/7	4/8	5/9	0,5/8	1/8	1,5/8
CO ₂ , г	28,3	27,3	27,6	28,0	26,7	27,2	28,9
pH	4,22	4,21	4,21	4,19	4,2	4,2	4,19
Вміст спирту, % об.	13,4	13,15	13,2	13,5	13,1	13,15	13,7
Загальний вміст незбро- джених вуглеводів, г/100см ³	0,93	0,895	0,813	0,89	1,106	0,928	0,79
Водорозчинні вуглеводи, г/100см ³	0,80	0,726	0,711	0,753	0,724	0,793	0,63
Вміст декстринів, г/100см ³	0,2	0,102	0,105	0,115	0,167	0,147	0,11
Вміст спирторозчинних вуглеводів, г/100см ³	0,58	0,612	0,594	0,625	0,539	0,630	0,507
Вихід спирту, дал/т сировини	63,6	62,4	62,7	64,1	62,2	62,4	65,0

Одержані дані (табл. 5) свідчать, що сусло оцукрювалося ферментними препаратами в дозуванні 1,5/8 мало найбільший вміст спирту – 13,7% об., а вихід спирту становив 65 дал/т сировини. Відповідно найменшими виявилися показники загального вмісту незброджених цукрів та вмісту водорозчинних цукрів. Водночас сусло з дозуванням ферментного препарату 2/6, як прийнято в промисловій практиці на спиртових заводах, показало вміст спирту в бражці тільки 13,4% об., а вміст незброджених цукрів, водорозчинних та спирторозчинних вуглеводів був більшим. Таким чином, вихід спирту з тонни сировини на суслі з дозуванням ферментів альфа-амілази в кількості 1,5 од. активності/г крохмалю та глюкоамілази в кількості 8 од. активності/г крохмалю, відмічено на 2,8-3,0 дал вищим, ніж за іншими дозуваннями ферментних препаратів.

Процес бродіння кукурудзяного суслу з вмістом сухих речовин і крохмалю 31,57 і 22,1 г відповідно досліджували методом попереднього гідролізу суслу (SHF) та методом одночасного оцукрення і зброджування (SSF). Ферментні препарати задавалися в кількості 1,5 од/г альфа-амілази і 8 од/г глюкоамілази (табл. 6).

Таблиця 6

Хімічний склад зрілої бражки, одержаної різними методами

Показник	Зброджування методом SHF	Зброджування методом SSF
CO ₂ , г	28,9	29,1
pH	4,19	4,19
Вміст спирту, % об.	13,7	13,75
Загальний вміст незбро- джених вуглеводів, г/100см ³	0,79	0,72
Вміст водорозчинних вуглеводів, г/100см ³	0,63	0,58
Вміст декстринів, г/100см ³	0,11	0,09
Вміст спирторозчинних вуглеводів, г/100см ³	0,507	0,462

Як свідчать наведені дані, зброджування суслу методом одночасного оцукрення і бродіння (SSF) характеризувалося вищими показниками. Так вміст спирту зафіксовано на 0,05% об. вищим, вміст незброджених, водорозчинних і спирторозчинних вуглеводів та декстринів також був нижчим, що свідчить про повноту зброджування суслу. Ці дані корелюються з даними, одержаними в роботах [3, 4, 5].

Висновки.

1. Досліджено динаміку утворення цукрів під час ферментативного гідролізу крохмалю залежно від кількості доданого оцукрюючого ферменту глюкоамілази. Встановлено, що з підвищенням кількості ферменту, який додається на стадії оцукрення, від 6 до 8 одиниць активності, повнота оцукрення збільшується від 90,3% до 99,9% від введеного крохмалю. При дозі глюкоамілази 9 од. активності процес оцукрення перебігає майже з тією ж інтенсивністю. Таким чином, повне оцукрення суслу відбувається за дозою понад 8 од. активності на 1 г введеного крохмалю, тому підвищення дози ферментного препарату економічно недоцільне.

2. Швидкість утворення глюкози під дією глюкоамілази зменшується у міру збільшення тривалості оцукрювання. За першу годину процесу утворюється 10,82 г/100 см³ глюкози, а за наступні три години кількість глюкози збільшується тільки на 1,8 г/100 см³.

3. Показники зрілої бражки, які одержано із суслу, що оцукрено ферментними препаратами в дозуванні 1,5/8 одиниць активності на 1 г крохмалю, були кращими, ніж у суслу з іншими концентраціями амілолітичних ферментів. Відповідно вихід етилового спирту виявився на 2,8-3,0 дал вищим.

4. Збільшення тривалості оцукрювання за методом зброджування SSF сприятиме повнішому гідролізу крохмалю до глюкози, проте швидкість її утворення буде надзвичайно малою.

5. Зброджування суслу методом одночасного оцукрення і бродіння (SSF) характеризувалося кращими показниками. Так вміст спирту зафіксовано на 0,05% об. вищим, вміст незброджених, водорозчинних і спирторозчинних вуглеводів та декстринів також відзначено нижчим, що свідчить про повноту зброджування суслу.

Бібліографія

1. Данілова К. О., Олійнічук С. Т., Заварзіна О. С., Кузнєцова І. В., Грушецький Р. І., Грінченко І. Г. Дослідження динаміки активності ферментного препарату α -amylase в процесі розрідження. *Продовольчі ресурси*, 2022. № 18. С. 61-69. <https://doi.org/10.31073/foodresources2022-18-06>.
2. Biragov N. F., Biragov S. R., Biragov D. A. Alcohol Production Technology: Possible Quality Improvements IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. № 463 (331) December 2018, номер статті 032083.
3. Strak-Graczyk E., Balcerek M. Effect of Pre-hydrolysis on Simultaneous Saccharification and Fermentation of Native Rye Starch. *Food and Bioprocess Technology*. 2020. № 13 (6). С. 923-937. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02434-9>.
4. Szambelan K., Nowak J., Szwengiel A., Jeleń H., Łukaszewski G. Separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods in bioethanol production and formation of volatile by-products from selected corn cultivars. *Industrial Crops and Products*. 2018. № 118. С. 355-361. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.059>.
5. Mahran R. I. M., Naim M. M., Yehia M. E. O., El-Batouti M., Elewa, M. M. Bioconversion of potatoes to bioethanol. *Revista de Chimie*. 2020. № 71 (10), С. 118-130. <https://doi.org/10.37358/RC.20.10.8356>.
6. Pietrzak W., Kawa-Rygielska J. Ethanol fermentation of waste bread using granular starch hydrolyzing enzyme: Effect of raw material pretreatment. *Fuel*, 2014. № 134. С. 250-256. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.05.081>.
7. Польшалина Г. В. Технохимический контроль спиртового и ликеро-водочного производств. М: Колос. 1999. 333 с.
8. Великая О. И., Суходол В. Ф. Лабораторный практикум по курсу общей технологии бродильных производств. М.: Легкая и пищевая промышленность. 1983. 307 с.
9. ДСТУ 4864:2007 Сировина крохмалевмісна для спиртового виробництва. Методи визначення вологості. Держспоживстандарт України. Київ, 2007. 14 с.
10. ГСТУ 46.045.2003 Зерно. Методи визначення умовної крохмалистості. Міністерство аграрної політики України. Київ, 2004. 23 с.
11. СОУ 15.9-37-241:2005 Препарати ферментні для спиртового виробництва. Методи визначення амілолітичної активності. Міністерство аграрної політики України. Київ, 2006. 26 с.

12. СОУ 15.9-37-242:2005 Сировина крохмалевмісна зброджена для виробництва етилового спирту. Методи визначання об'ємної частки етилового спирту. Міністерство аграрної політики України. Київ, 2006. 23 с.

13. СОУ 15.9-37-243:2005 Сировина крохмалевмісна зброджена для виробництва етилового спирту. Методи визначання незброджених вуглеводів. Міністерство аграрної політики України. Київ, 2006. 37 с.

14. Chiu C.-W., Solarek D. Modification of Starches ed(s). San Diego Academic Press. 2009. Chapter 17, C. 629-655.

References

1. Danilova K., Oliynichuk S., Zavarzina O., Kuznietsova I., Grushetskyi R., Hrynenko I. (2022). Doslidzhennya dynamiky aktyvnosti fermentnogo preparatu α -amylase v protsessi rozridzhennya [Research of activity dynamics of enzyme preparation α -amylase in the dilution process] Prodovolchi resursy [Food Resources]. № 18. P. 61-69. <https://doi.org/10.31073/foodresources2022-18-06> [in Ukrainian].

2. Biragov N. F., Biragov S. R., Biragov D. A. (2018). Alcohol Production Technology: Possible Quality Improvements. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 463 (331) №032083.

3. Strąk-Graczyk, E., Balcerek, M. (2020). Effect of Pre-hydrolysis on Simultaneous Saccharification and Fermentation of Native Rye Starch. Food and Bioprocess Technology. № 13 (6). P. 923-937. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02434-9>.

4. Szambelan, K., Nowak, J., Szwengiel, A., Jeleń, H., Łukaszewski, G. (2018). Separate hydrolysis and fermentation and simultaneous saccharification and fermentation methods in bioethanol production and formation of volatile by-products from selected corn cultivars. Industrial Crops and Products. 118. P. 355-361. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.059>.

5. Mahran, R. I. M., Naim, M. M., Yehia, M. E. O., El-Batouti, M., Elewa, M. M. (2020). Bioconversion of potatoes to bioethanol. Revista de Chimie. 71 (10). P. 118-130. <https://doi.org/10.37358/RC.20.10.8356>.

6. Pietrzak, W., Kawa-Rygielska, J. (2014). Ethanol fermentation of waste bread using granular starch hydrolyzing enzyme: Effect of raw material pretreatment. Fuel, 134, P. 250-256. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.05.081>.

7. Polygalina G. V. (1999). Tehnohimicheskiy control spirtovogo i likero-vodochnogo proizvodstv [Technochemical control of alcohol and liquor production]. M: Kolos [Spica]. 333 s. [in russian].

8. Velikaya O. I., Suhodol V. F. (1983). Laboratornyi praktikum po kursu obshei tehnologii brodilnykh proizvodstv. Laboratory workshop on the course of general technology of the fermentation production]. M.: Legkaya i pischevaya promyshlennost [Light and food industry]. 307 p. [in russian].

9. DSTU 4864:2007 (2007). Syrovyna krohmalevmisna dlya spirtovogo vyrobnyctva. Metody vyznachennya vologosti. [Starch-containing material for alcohol production. Methods for determination of moisture]. Derzhspozhivstandart Ukrainy [State consumer standard of Ukraine]. Kyiv. 14 p. [in Ukrainian].

10. GSTU 46.045.2003 (2004). Zerno. Metody vyznachennya umovnoi krohmalyystosti [Grain. Methods for determination of conditional starchiness]. Ministerstvo agrarnoi polityky Ukrainy [Ministry of Agrarian Policy of Ukraine]. Kyiv, 23 p. [in Ukrainian].

11. SOU 15.9-37-241:2005 (2006). Preparaty fermentni dlya spirtovogo vyrobnyctva. Metody vyznachennya amilolitychnoi aktyvnosti. [Enzyme preparation for the alcohol production. Methods for determination of amylolytic activity]. Ministerstvo agrarnoi polityky Ukrainy [Ministry of Agrarian Policy of Ukraine]. Kyiv. 26 p. [in Ukrainian].

12. SOU 15.9-37-242:2005 (2006). Syrovyna krohmalevmisna zbrodzhena dlya vyrobnyctva etilovogo spirtu. Metody vyznachennya obemnoi tchastky etilovogo spirtu. [Starch-containing fermentation material for alcohol production. Methods for determination of volume fraction of ethanol]. Ministerstvo agrarnoi polityky Ukrainy [Ministry of Agrarian Policy of Ukraine]. Kyiv, 23 p. [in Ukrainian].

13. SOU 15.9-37-243:2005 (2006). Syrovyna krohmalevmisna zbrodzhena dlya vyrobnyctva etilovogo spirtu. Metody vyznachennya nezbrodzhennykh vuglevodiv. [Starch-containing fermentation material for alcohol production. Methods for determination of unfermented carbohydrates]. Ministerstvo agrarnoi polityky Ukrainy [Ministry of Agrarian Policy of Ukraine]. Kyiv. 37 p. [in Ukrainian].

14. Chiu, C.-W. and Solarek, D. (2009). Modification of Starches ed(s). San Diego Academic Press, Chapter 17, P. 629-655.