ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СУХИХ ВЕЩЕСТВ В ИСХОДНОМ СУСЛЕ НА ДИНАМИКУ НАКОПЛЕНИЯ ПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ

И. М. Грачева, Ю. А. Атрушкевич, В. Н. Романенко

Обмен веществ у дрожжей при брожении за последнее десятилетие был предметом многочисленных исследований, и отдельные стороны его изучены с исчерпывающей полнотой [1—8].

Более подробно этот вопрос разбирался в предыдущей статье. В свете этих литературных данных становится ясным химизм отдельных реакций и условия превращения различных веществ, путем синтеза и распада веществ дрожжей, порядок накопления и превращения в среде главных, промежуточных и побочных продуктов сбраживания углеводов.

Цель настоящей работы — выяснить прямое или косвенное влияние углеводов на образование конечных продуктов брожения, а именно: как концентрация сухих веществ в исходном сусле сказывается на накоплении летучих альдегидов, высших спиртов, аминного азота и биомассы. Кроме того, ставился вопрос о влиянии дрожжевой массы в процессе дображивания на изменение побочных продуктов пива и о накоплении продуктов автолиза, связанного с деструктивными процессами во время дображивания при низких температурах. Эти вопросы имеют определенное значение при решении вопросов непрерывных и ускоренных процессов брожения.

Для исследования брали 13%-нее солодовое охмеленное сусло одного затора и доводили плотность его в одном случае до 11 % водой, в другом — добавляли сахарозу до плотности среды 20%. На каждый опыт брали по 250 *мл* сусла в бутылках емкостью 400 *мл.* Сусло стерилизовали, охлаждали и засевали чистой культурой дрожжей Saccharomyces carlsbergensis из расчета производственного засева дрожжей, а именно: 0,13—0,14 *г* сухих дрожжей на 250 *мл* сусла.

Каждый из вариантов сусла сбраживали в 18—20 параллельных пробах и определяли динамику накопления продуктов брожения. Для этого ежедневно снимали по одной пробе из каждого варианта, пробы центрифугировали, биомассу фиксировали спиртом и высушивали до постоянного веса. В фугате определяли этиловый спирт, летучие альдегиды, высшие спирты и аминный азот по общепринятым методам. Длительность брожения для 11%-ного сусла была принята 9 суток, для 13%-ного сусла — 11 суток, для 20%-ного сусла — 15 суток. Брожение велось в холодильнике при температуре 8—7°.

По окончании главного брожения из каждого варианта составляли по 4 параллельные пробы на выдержку при низких температурах (4— 5°), при этом по 2 пробы ставили непосредственно с осевшими после брожения дрожжами, а 2 другие пробы оставляли после предварительного двукратного фугования без осадочных дрожжей.

По истечении срока выдержки и дображивания (25 дней с начала постановки опыта) пробы снимали и подвергали вышеописанной обработке и анализам.

Для получения чистой культуры посевных дрожжей нами были сделаны последовательные пересевы. Сначала чистую культуру Saccharomyces carlsbergensis 11 высевали на косой сусло-агар, через сутки инкубации при 30° в каждую пробирку (было поставлено 3 параллельных засева) наливали по 10 *мл* стерильного сусла и брожение проводили в течение 10—12 часов при температуре 20°. Бродящее сусло полностью задавали в колбы с 250 *мл* уже охмеленного 13%-ного сусла и ставили на сбраживание на 36 часов при 20°, затем все 250 ж/г задавали в 750 *мл* охмеленного сусла и ставили на брожение при 8—9° на двое суток.

Полученную в большом количестве чистую культуру дрожжей фуговали с соблюдением максимально возможной стерильности, добавляли воду и дрожжи в виде дрожжевой суспензии (разведение 1 :20) в точной дозировке задавали в каждую пробу.

В начале брожения через каждые 8—10 часов все пробы взвешивали и учитывали интенсивность брожения по выделившейся углекислоте.

На основе всех взвешиваний по каждому варианту сусла были получены средние значения по CO_2 в течение всего брожения (табл. 1).

Таблица 1. Интенсивность брожения по выделившейся CO_2

11%-ное сусло		13%-ное сусло		20%-ное сусло	
длительность брожения в часах	количество CO_2 в г на 250 *мл* жидкости	длительность брожения в часах	количество CO_2 в *г* на 250 *мл* жидкости	длительность брожения в часах	количество CO_2 в г на 250 *мл* жидкости
0	0	0	0	0	0
6	0	10	0	8	0,08
16	0	18	0	14	0,20
24	0,10	24	0,01	24	0,36
40	0,40	34	0,03	32	0,58
48	0,68	42	0,10	38	0,78
54	0,91	48	0,27	56	1,22
64	1,61	58	0,85	104	3,01
72	2,14	66	1,30	128	4,30
78	2,40	72	1,55	152	5,98
96	3,46	90	2,52	176	7,33
120	3,99	120	3,26	200	8,21
168	5,40	168	5,10	224	8,94
192	5,82	192	5,74	296	10,46
216	6,10	216	6,46	326	11,27
—	—	240	7,70	344	11,50
—	—	264	8,25	368	11,60
—	—	—	—	392	11,80

Ежедневно определяли изменения в биомассе дрожжей. Данные о нарастании ее в процессе брожения представлены в таб. 2.

Из данных табл. 2 видно, что нарастание биомассы дрожжей происходит наиболее интенсивно в первые 3—4 суток брожения; в дальнейшем оно идет медленнее и совсем замедляется к концу брожения.

Наиболее наглядно этот процесс можно представить графически (рис. 1). Характер накопления биомассы дрожжей в основном однотипен, и концентрация углеводов в среде существенно не влияет на динамику нарастания дрожжевой массы, однако общее количество дрожжей в каждом варианте несколько варьирует в зависимости от плотности среды.

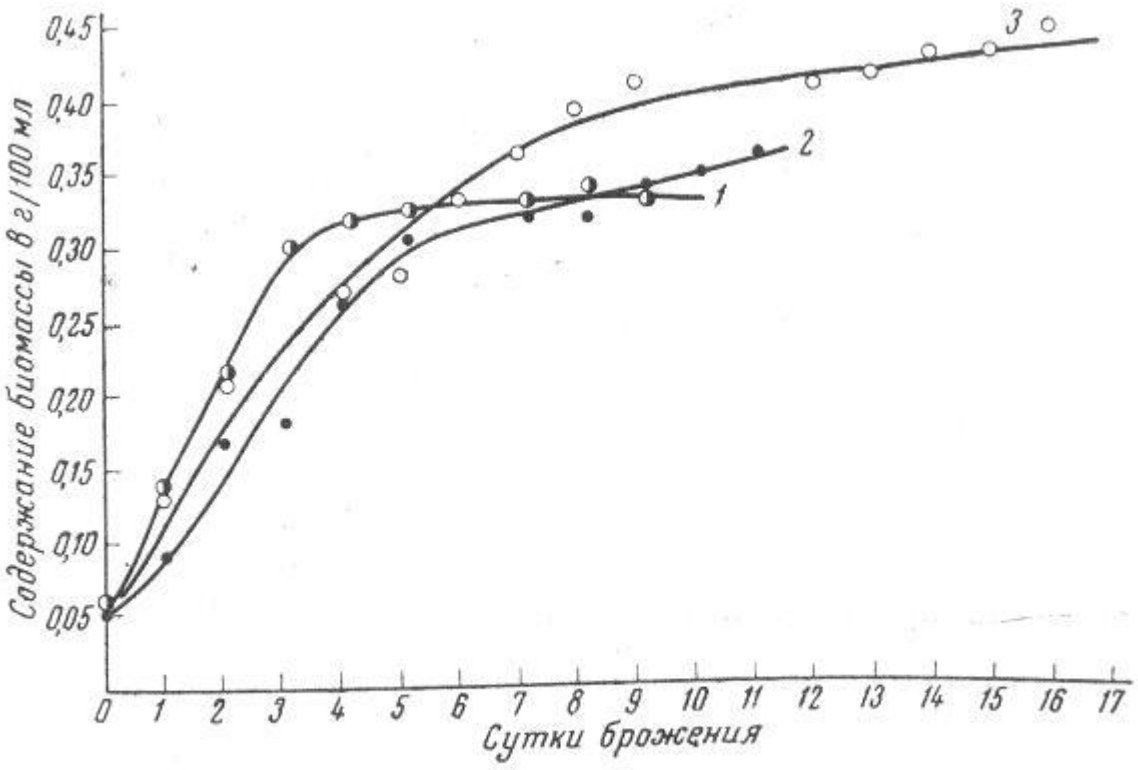

Рис. 1. Динамика накопления биомассы дрожжей:
1—11%-ное сусло; 2—13%-ное сусло; *3*—20%-ное сусло.

Чем выше плотность сбраживаемой среды, тем больше дрожжевой массы накапливается в процессе брожения. Так, если мы примем содержание биомассы в 11%-ном сусле в конце брожения за 100%, то в 13%-ном сусле накапливается приблизительно 110,5%, а в 20%-ном сусле — уже 136,6%.

Таблица 2 Динамика нарастания биомассы в процессе брожения

Длительность брожения в сутках	Количество сухих дрожжей в г на 250 *мл* сбраживаемой среды		
	11%-ное сусло	13%-ное сусло	20%-ное сусло
0	0,1420	0,1346	0,1345
1	0,3300	0,2316	0,3320
2	0,5385	0,4185	0,5195
3	0,7556	0,4650	—
4	0,7944	0,6679	0,6843

5	0,8058	0,7738	0,6994
6	—	—	0,8393
7	0,8253	0,8107	0,9105
8	0,8584	0,8203	1,0061
9	0,8318	0,8616	1,0473
10	—	0,8890	—
И	—	0,9190	—
12	—	—	1,0393
13	—	—	1,0562
14	—	—	1,0929
15	—	—	1,0958
16	—	—	1,1364

Одновременно с определением биомассы проводили определение сивушного масла в среде. Полученные данные представлены на рис.2. Анализируя эти графики, можно увидеть прямую зависимость между количеством образовавшегося сивушного масла, дрожжевой массой и длительностью брожения.

Чем больше биомасса дрожжей и продолжительность брожения, тем больше сивушного масла накапливается в среде.

Так, при 9-суточном брожении 11%-ного сусла содержание сивушного масла достигает 0,0100 *г* на 100 *мл* сбраживаемой среды, при 11-суточном брожении 13%-ного сусла содержание высших спиртов составляет 0,0117 г/100 *мл,* а для сусла плотностью 20% оно возрастает до 0,0150 г/100 *мл* сбраживаемой среды.

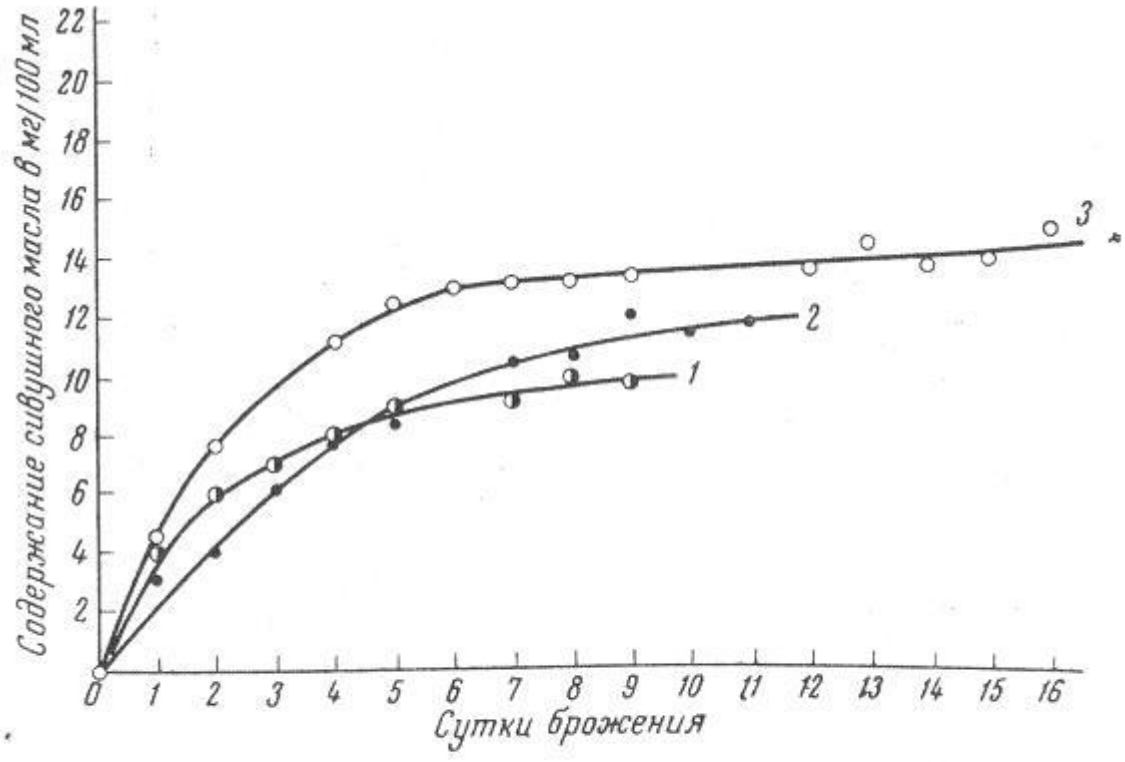

Рис. 2. Динамика накопления сивушного масла:
1—11%-ное сусло; *2*—13%-ное сусло; *3*—20%-ное сусло.

Дальнейшая выдержка на дрожжах без заметного накопления этилового спирта дала дополнительно значительное накопление сивушного масла, что хорошо согласуется с данными и выводами предыдущей статьи. Результаты опытов» приведены в табл. 3.

Таблица 3. Влияние дрожжевой массы на накопление продуктов обмена в среде при выдержке в течение 25 дней при выдержке в течение 25 дней

Показатели в *мг/100 мл*	выдержка в течение 25 дней при выдержке в течение 25 дней					
	11 %-ное сусло		13 %-ное сусло		20 %-ное сусло	
	на дрожжах	после снятия дрожжей	на дрожжах	после снятия дрожжей	на дрожжах	
Сивушное масло	10,00	11.20	11,00	13,60	14,25	17,75
Летучие альдегиды	1,20	1,18	1,42	1,69	2,50	2,83
Аминный азот	13,30	13,70	13,10	14,10	14,10	15,00

Как видно из данных табл. 3, дображивание на дрожжах приводило к значительному увеличению сивушного масла в среде, независимо от начальной плотности среды, степени выброда и длительности главного брожения. Во всех трех случаях содержание сивушного масла возрастало приблизительно на 12,0—12,4%.

Содержание летучих альдегидов практически не менялось (11%-ное сусло) или несколько повышалось при выдержке на дрожжах (13- и 20%-ное сусло).

Таблица 4

Динамика накопления продуктов обмена веществ в период главного брожения (все показатели даны на 100 *мл* сбраживаемой среды)

Длительность брожения в сутках	11%-ное сусло					13%-ное сусло					20%-ное сусло				
	этиловый спирт в г	биомасса в г	сивушное масло в мг	альдегиды в мг	аминный азот в мг	этиловый спирт в г	биомасса в г	сивушное масло в мг	альдегиды в мг	аминный азот в мг	этиловый спирт в г	биомасса в г	сивушное масло в мг	альдегиды в мг	аминный азот в мг
0	0	0,057	0	Следы	21,0	0	0,054	0	Следы	21,4	0	0,054	0	Следы	21,4
1	0,11	0,132	4,0	0,67	15,1	0,05	0,093	3,1	0,47	17,8	0,11	0,133	4,5	1,87	17,8
2	1,12	0,215	6,0	1,40	10,5	0,59	0,167	4,0	1,30	15,0	1,02	0,208	7,7	2,67	8,8
3	1,56	0,302	7,0	1,91	11,2	1,53	0,186	6,2	2,67	9,8	—	—	—	—	—
4	2,05	0,318	7,7	1,58	12,3	1,94	0,267	8,0	2,54	10,1	2,16	0,274	11,2	4,00	7,4
5	2,33	0,322	9,0	1,51	11,8	2,33	0,310	8,5	2,34	10,5	2,50	0,280	12,5	4,70	8,8
6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,06	0,336	13,0	1,25	9,2
7	2,72	0,330	9,2	1,47	12,9	2,61	0,324	10,5	1,87	9,7	3,47	0,364	13,2	3,67	9,8
8	3,00	0,343	10,0	1,40	12,7	3,00	0,328	10,8	1,80	10,2	3,70	0,402	13,3	3,42	10,9
9	2,89	0,333	9,8	1,20	13,3	3,21	0,345	12,2	1,83	10,5	3,99	0,419	13,5	3,60	12,2
10	—	—	—	—	—	3,41	0,356	11,5	1,63	11,2	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—	3,58	0,368	11,7	1,27	12,7	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,02	0,416	13,5	3,34	12,7
13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4,96	0,422	14,7	3,20	11,9
14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,09	0,437	13,7	2,87	12,9
15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,09	0,438	14,0	2,71	13,7
16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,02	0,454	15,0	2,60	14,7

Количество аминного азота незначительно возрастало, возможно, за счет некоторой деградации белка дрожжей в результате самопереваривания голодающих дрожжей при недостатке углеводов. Процесс дображивания в опытах после снятия с дрожжей практически не вызывал резких сдвигов в динамике накопления анализируемых побочных продуктов брожения (табл. 3 и 4).

Суммарные данные по динамике накопления сивушного масла, этилового спирта, альдегидов, биомассы дрожжей и аминного азота в процессе брожения в зависимости от плотности сбраживаемого сусла приведены в табл. 4.

Эти данные позволяют составить некоторое представление о ходе брожения в среде с различным содержанием углеводов. Изменения в содержании летучих альдегидов согласуются с образованием этилового спирта. В первый период брожения во всех трех случаях наблюдается резкий рост альдегидов, достигающий максимума для 11%- и 13%-ного сусла на третьи сутки, а для 20%-ного сусла, процесс сбраживания которого несколько затянулся, — на пятые сутки По мере сбраживания основной массы углеводов уменьшается и содержание альдегидов в среде. Остаточных альдегидов в среде будет тем больше, чем выше плотность сбраживаемого сусла. Так, конечное содержание альдегидов в среде для 11%-ного сусла было 1,20 *мг,* для 13%-ного сусла — 1,27 *мг,* а для 20%-ного сусла — 2,60 *мг.* При увеличении плотности среды до 20% конечное содержание альдегидов возрастает почти в 2,2 раза.

Аминный азот во всех трех вариантах содержался первоначально в сусле почти в одинаковых количествах: 21,0—21,4 лгг/100 *мл* среды.

В ходе брожения содержание аминного азота падало: так, для 11%-ного сусла на вторые сутки оно достигло 10,5 *мг,* для 13%-ного сусла на третьи сутки оно упало до 9,8 *мг,* а для 20%-ного сусла на пятые сутки — до 7,4 *мг* «а 100 *мл.*

Это объясняется процессом синтеза основной дрожжевой массы.

И лишь после того как сформировалась основная биомасса дрожжей, проявилась некоторая тенденция к. увеличению в бродящей среде аминного азота, возникающего уже за счет некоторой деградации тех же дрожжей (см. табл. 3 и 4)

На рисунке 3, 4 и 5 изображены кривые изменения пяти наиболее характерных компонентов сбраживаемой среды в период главного брожения, соответственно для 11-, 13-, 20 %-ного сусла. Из кривых 1, 3 и 4 каждого рисунка ясно видно, что с самого начала имеет место резкий прирост сивушного масла, что оно является производным процесса синтеза дрожжевой массы. Основное количество высших спиртов нарастает одновременно с ростом дрожжей, и как только этот рост начинает тормозиться, кривая синтеза высших спиртов также снижается.

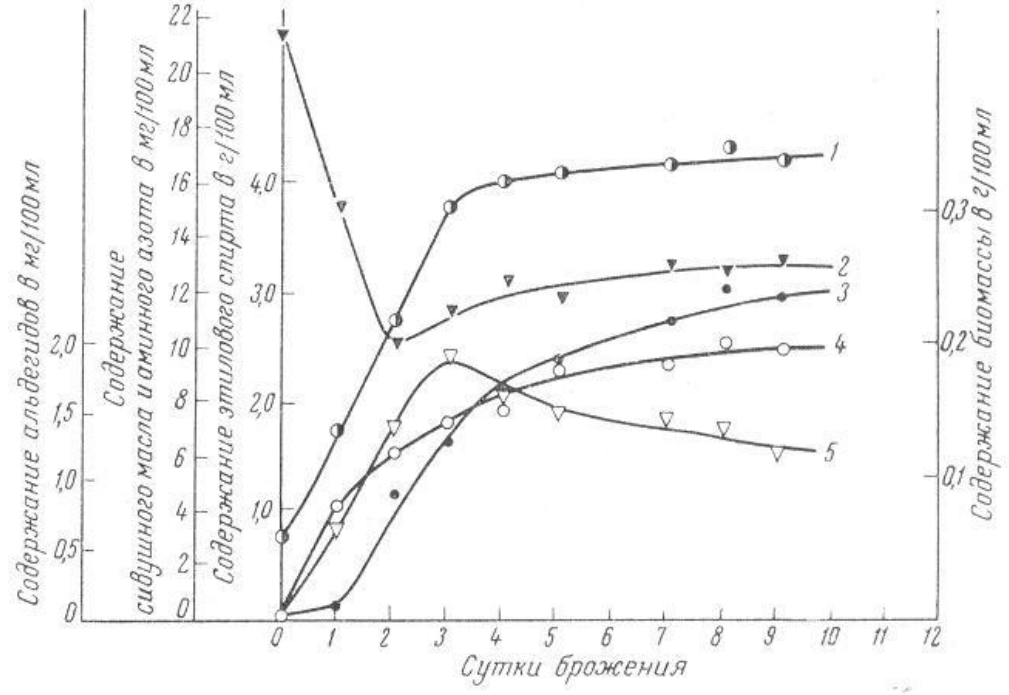

Рис. 3. Динамика накопления продуктов брожения (11%-ное сусло):
1—нарастание биомассы; *2*—аминный азот; *3*—этиловый спирт; *4*—сивушное масло; *5*—летучие альдегиды.

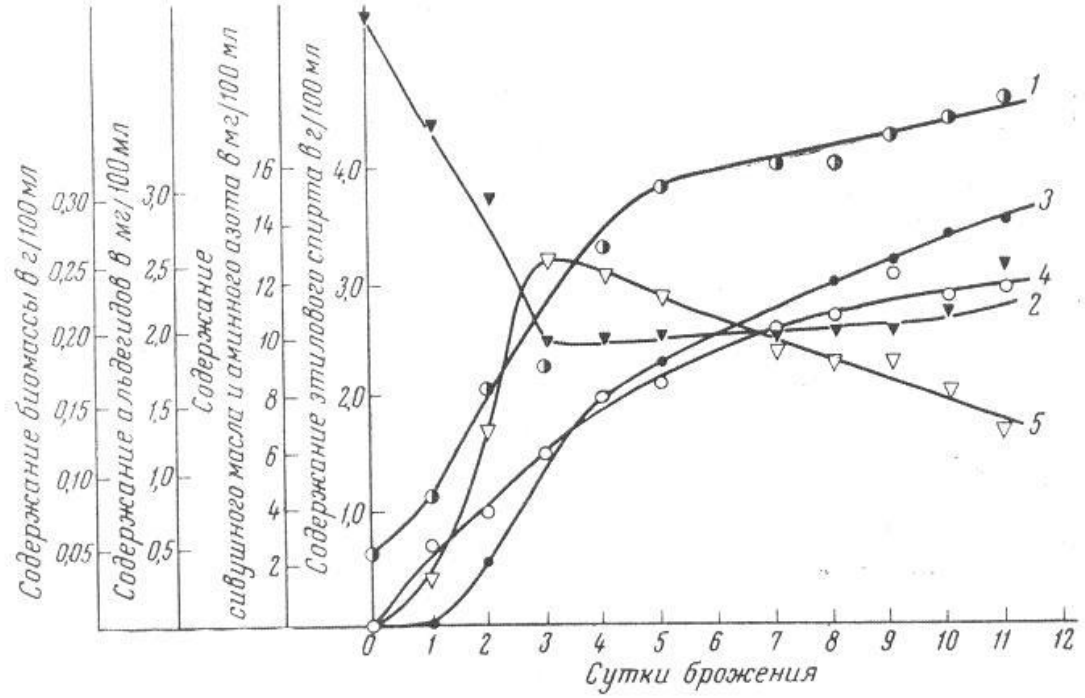

Рис. 4. Динамика накопления продуктов брожения (13%-ное сусло):
1—биомасса дрожжей; *2*--аминный азот; *3*—этиловый спирт; *4*—сивушное масло; *5*—летучие альдегиды.

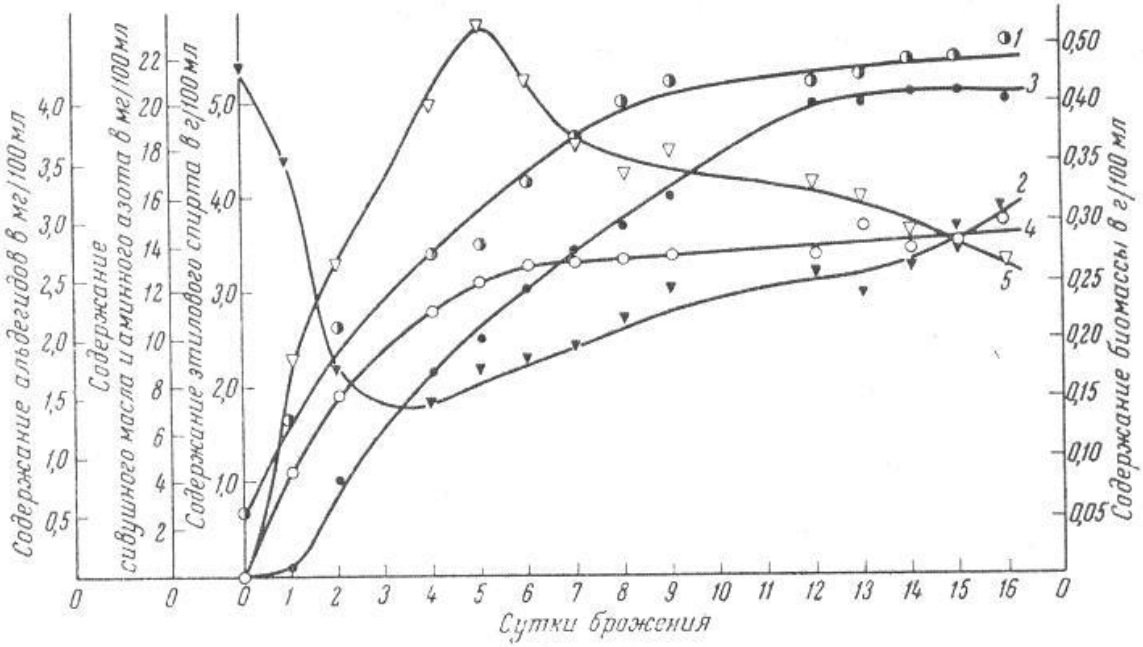

Рис. 5. Динамика накопления продуктов брожения (20%-ное сусло):
1—биомасса дрожжей; *2* — аминный азот; *3* — этиловый спирт; *4*—сивушное масло; *5*—летучие альдегиды.

С процессом нарастания содержания этилового спирта в среде динамика накопления высших спиртов не согласуется, что видно из сопоставления на каждом рисунке кривых *3 и 4*, особенно на первой стадии брожения.

Иными словами, нарастание содержания сивушного масла в бродящем субстрате синхронизируется с изменениями биомассы и длительностью брожения и почти не зависит от динамики нарастания в среде этилового спирта.

Выводы

1. Накопление биомассы в некоторой степени зависит от концентрации углеводов в среде; чем она больше, тем интенсивнее нарастает дрожжевая масса, и чем больше продолжительность брожения, тем больше накапливается биомассы.

2. Образование сивушного масла в среде находится в прямой зависимости от скорости нарастания дрожжевой массы, количества ее и длительности брожения.

Косвенно нарастание сивушных масел зависит и от плотности среды и, по-видимому, не зависит от образования этилового спирта. Возможно, в первые сутки образующаяся под действием ферментов пировиноградная кислота в силу каких-то условий не идет на синтез этилового спирта, а вступает в реакцию с аминокислотами, давая начало высшему спирту.

3. Длительная выдержка на дрожжах после окончания главного брожения влечет за собой значительные увеличения содержания сивушного масла в среде на 12—12,5%.

4. Содержание аминного азота резко падает одновременно с ростом биомассы дрожжей, а именно в течение 2—3 суток от начала брожения. В 11%-ном сусле аминный азот падает до 10,5 *мг* на 100 *мл* сбраживаемой среды, а в 20% -ном — до 7,4 *мг* и а 100 *мл.* В конце главного брожения наблюдается некоторое увеличение количества аминного азота за счет деструктивных процессов.

5. Содержание альдегидов несколько возрастает в первый момент брожения к постепенно снижается к концу главного брожения. Чем выше плотность среды, тем больше содержание альдегидов на первой стадии брожения и тем больше остаточных альдегидов в среде по окончании главного брожения.

6. Сравнительная стабильность обмена веществ в сформировавшейся биомассе дрожжей и независимость интенсивности обмена веществ от скорости и накопления этилового спирта в среде делает весьма реальным способ производства пива, основанный на быстром сбраживании среды при перемешивании, под небольшим вакуумом при температуре 20—18°, с немедленным удалением дрожжей, центрифугированием и заменой их ферментными препаратами, исключающими непропорционально высокое накопление продуктов обмена веществ дрожжей после главного брожения [9].

7. Данные, изложенные в этой и предыдущей статье, показывают возможность сохранения однотипного состава напитков брожения при использовании сред, значительно отличающихся по составу, а также возможность значительного повышения образования высших спиртов при употреблении очень большого количества дрожжей и при быстром брожении в спиртовой промышленности.