

В промышленной биотехнологии крупный сегмент занимают производства, основанные на спиртовом брожении. Типичный пример это пивоварение. Сам процесс спиртового брожения осуществляется в водной среде и от качества воды зависит как эффективность биотехнологических процессов, так и качество товарной продукции. Состав воды влияет на органолептические, физико-химические, микробиологические и химические свойства пива. Кроме того, она должна соответствовать ряду специфических для пивоваренной промышленности технологических требований, соблюдение которых оказывает положительное влияние на процесс производства пива. Как показал анализ источников водоснабжения, для вод Уральского региона характерно повышенное содержание катионов железа, марганца, цинка и меди. Целью данной работы является изучение влияния данных катионов на биохимические процессы брожения в производстве пива. Исследовали влияние концентрации катионов на кинетические характеристики роста дрожжей, потребления субстрата и биосинтеза продукта метаболизма (этилового спирта) в процессе ферментации. В качестве продуцента использовали чешские дрожжи низового брожения *Saccharomyces cerevisiae* W-95, применяемые на пивоваренных заводах, в т.ч. малой мощности. Данные дрожжи характеризуются средней бродильной активностью и хорошим хлопьеобразованием. Семенные дрожжи использовали 4...6 генерации. Эксперименты проводили на модифицированной синтетической среде Уикергема с добавлением 0,5 % дрожжевого автолизата. В качестве единственного источника углерода и энергии использовали глюкозу. Ферментация проводилась периодическим способом в течение 7 суток при температуре 8...100С, которая является оптимальной для используемого штамма, при начальной концентрации дрожжей 10 млн. клеток/см<sup>3</sup>. Контролем являлась среда Уикергема без дополнительного введения источников исследуемых катионов. В процессе ферментации контролировали физиологические показатели дрожжей, содержание мертвых и почкующихся клеток, содержание в клетках гликогена. Содержание сахара и этилового спирта определяли химическими и физико-химическими методами анализа, принятыми в бродильной промышленности. Исследования показали, что в случае присутствия в среде ионов железа в концентрации 0,15 мг/ дм<sup>3</sup> и более процесс размножения дрожжей замедляется, уменьшаются размеры, снижается доля почкующихся клеток, возрастает количество мертвых дрожжей. С увеличением концентрации катионов железа в среде наблюдается снижение скорости потребления субстрата и биосинтеза этанола, что свидетельствуют о снижении бродильной активности дрожжей в результате их дегенерации под воздействием повышенной концентрации катионов железа. На рисунках 1 и 2 представлены зависимости влияния катионов марганца на процесс спиртового брожения. Рис. 1 - Изменение скорости потребления субстрата в присутствии катионов марганца Из графиков видно, что наибольшая скорость потребления

сахара наблюдается при концентрации катионов марганца 0,25 мг/дм<sup>3</sup>, в то время как скорость биосинтеза этанола в этом случае ниже на 11%, чем при концентрации 0,1мг/дм<sup>3</sup>, что свидетельствует о повышении затрат сахара на процессы размножения и дыхания дрожжей. При концентрации марганца 1,0 мг/дм<sup>3</sup> процесс ферментации заметно замедляется. Рис. 2 - Изменение скорости биосинтеза этанола в присутствии катионов марганца

Образование этанола в течение первых трех суток в диапазоне концентраций марганца 0,1...0,25 мг/дм<sup>3</sup> протекает одинаково, затем повышенное содержание марганца оказывает негативное влияние. Дальнейшее повышение концентрации катионов марганца ухудшает процесс биосинтеза этанола еще в большей степени. При 0,5 и 1,0 мг/дм<sup>3</sup> скорость биосинтеза этанола относительно контроля снижается на 11 и 30 % соответственно. Оценивая влияние катионов цинка на процесс ферментации, следует отметить, что в его присутствии при всех исследуемых концентрациях наблюдается ускорение роста клеток, что обусловлено повышением интенсивности углеводного, белкового и фосфолипидного обменов. Из данных рисунка 3 видно, что уменьшение концентрации катионов цинка в среде до 0,1 мг/дм<sup>3</sup> позволяет сократить продолжительность брожения на одни сутки по сравнению с 0,5 мг/дм<sup>3</sup>. При содержании цинка 1,0 и 5,0 мг/дм<sup>3</sup> выход этанола снижается на 4,3 и 8 г/дм<sup>3</sup>. Рис. 3 - Динамика биосинтеза этанола в присутствии катионов цинка

Влияние катионов меди на биосинтез этанола представлено на рисунке 4, из которого видно, что при концентрации более 0,5 мг/дм<sup>3</sup> процесс спиртового брожения ухудшается по всем показателям. При концентрации 2 мг/дм<sup>3</sup> ионы меди вызывают гибель клеток, скорость образования этанола снижается более чем в 4 раза. Рис. 4 - Изменение скорости биосинтеза этанола в присутствии катионов меди

В таблице 1 представлены данные, характеризующие влияние исследуемых катионов на кинетические характеристики процесса ферментации глюкозы дрожжами W-95.

Таблица 1 - Влияние концентрации катионов на кинетические и технологические характеристики процесса ферментации

Концентрация катиона, мг/дм <sup>3</sup>	Максимальная удельная скорость	Действительная степень сбраживания, %	Экономический коэффициент роста дрожжей, ч <sup>-1</sup>	биосинтеза этанола, г/(г·ч)	потребления сахара, г/(г·ч)
Железо Fe <sup>3+</sup>	0,05	0,0162	0,081	0,152	52,31
	50,86	0,15	0,0148	0,070	0,136
	46,60	50,77	1,00	0,0140	0,064
	0,132	42,70	50,00	5,00	0,0134
	0,060	0,108	36,10	48,60	Марганец Mn <sup>2+</sup>
	0,10	0,0162	0,081	0,152	52,31
	50,86	0,25	0,0140	0,074	0,161
	49,33	50,70	0,50	0,0138	0,072
	0,130	45,41	50,35	1,00	0,0138
	0,057	0,102	39,60	44,60	Медь Cu <sup>2+</sup>
	0,01	0,0162	0,081	0,152	52,30
	50,86	0,50	0,0152	0,079	0,157
	50,47	49,84	1,00	0,0147	0,065
	0,134	43,50	48,25	2,00	0,0119
	0,024	0,069	13,08	27,20	Цинк Zn <sup>2+</sup>
	0,10	0,0162	0,081	0,152	52,30
	50,86	0,50	0,0163	0,073	0,150
	49,31	50,80	1,00	0,0151	0,067
	0,131	45,90	50,26	5,00	0,0149
	0,063	0,110	42,30	48,20	

Как видно из таблицы, максимальная скорость роста дрожжей наблюдается в случае присутствия в питательной среде катионов

цинка ( $C=0,5$  мг/дм<sup>3</sup>) и составляет 0,0163 ч<sup>-1</sup>. Максимальная удельная скорость потребления сахара 0,161 г/(г·ч) проявляется в присутствии катионов марганца концентрацией 0,25 мг/дм<sup>3</sup>. Наилучшие результаты биосинтеза этанола наблюдаются при минимальных концентрациях исследуемых катионов: регламентируемая концентрация этилового спирта 3 % об. достигнута в процессе пятисуточной ферментации. В таблице 2 приведены фактические и рекомендованные концентрации исследуемых катионов в воде для пивоварения.

Таблица 2 - Химический состав воды для пивоварения

Компонент	Значение показателя, мг/дм <sup>3</sup>	Исходная вода	Рекомендовано по результатам исследований
Железо	18,5	не более 0,1	0,1
Марганец	0,17	не более 0,1	0,1
Цинк	3	не более 0,5	0,5
Медь	0,8	не более 0,5	0,5

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что для обеспечения эффективного использования субстрата с целью получения этанола дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* W-95 необходимо корректировать состав питательной среды по содержанию катионов железа, марганца, цинка и меди, оптимальные значения которых могут быть достигнуты за счет обработки исходной воды модифицированными древесными углями [1, 2].