

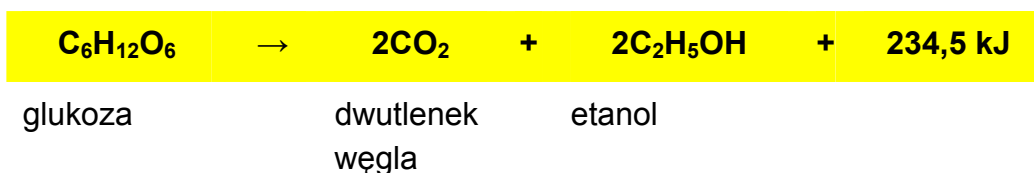
OCENA MELASU JAKO SUROWCA DO PRODUKCJI ETANOLU I DROŹDŹY

1. Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest oznaczenie wybranych cech i składników melasu, porównanie ich z normą i ocena przydatności danej próby melasu do produkcji etanolu i drożdży piekarskich.

2. Ogólne wiadomości o procesie fermentacji alkoholowej

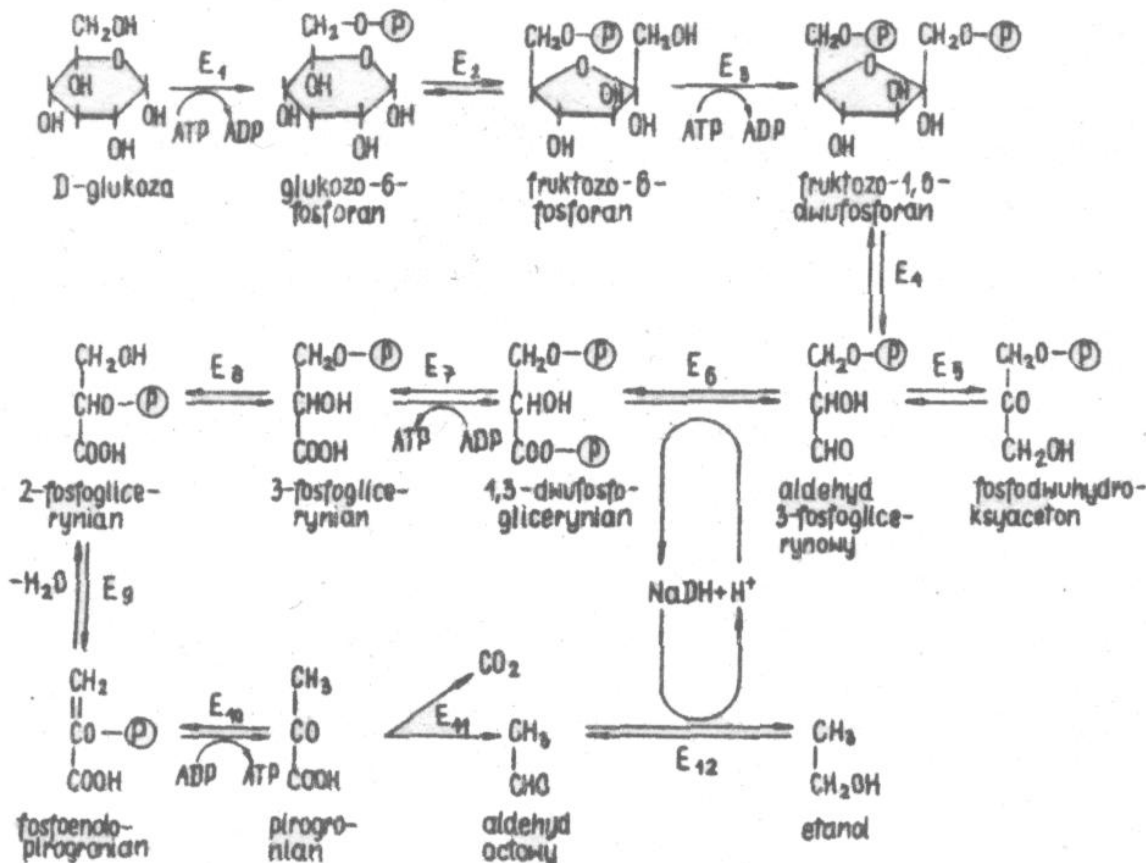
Fermentacja alkoholowa jest jednym z najważniejszych procesów biochemicznych wykorzystywanych przez człowieka. Nowoczesna definicja fermentacji stwierdza, że jest to proces beztlenowego enzymatycznego odwodorowania substratu z wytworzeniem energii. Jednocześnie następuje rozkład bogatych w energię substancji organicznych /węglowodanów/ do związków uboższych energetycznie:



Biologiczne znaczenie fermentacji alkoholowej polega na tworzeniu wysokoenergetycznych wiązań fosforanowych. Przenośnikiem energii w tej reakcji jest system adanozynofosforanów:



Rozkład glukozy na drodze fermentacji alkoholowej jest procesem wielostopniowym, w którym uczestniczą liczne enzymy. Szlak tych przemian nazywany Jest EMP /skrót pochodzi od nazwisk badaczy mechanizmu fermentacji alkoholowej - Embdena, Meyerhofa i Parnasa/. Schemat tych przemian przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Proces rozkładu glukozy na drodze fermentacji alkoholowej: E₁ - heksokinaza, E₂ - izomeraza glukozofosforanowa, E₃ - fosfofruktokinaza, E₄ - aldolaza, E₅ - izomeraza fosfortiozy, E₆ - dehydrogenaza triozofosforanowa, E₇ - kinaza fosfoglicerynianowa, E₈ - fosfomutaza glicerynianowa, E₉ - hydrolaza fosfopirogronianowa, E₁₀ - kinaza fosfoenolpirogonianowa, E₁₁ - dakarboxylaza pirogonianowa, E₁₂ - dehydrogenaza alkoholowa, P - nieorganiczny fosforan

W szlaku przemian można wyróżnić trzy główne etapy:

- aktywacja heksoz przez fosforylację
- rozszczepienie aktywnej heksozy na dwie triozy, przekształcenie aldehydu 3-fosfoglicerynowego do pirogonianu,
- rozszczepienie pirogonianu do dwutlenku węgla i alkoholu etylowego.

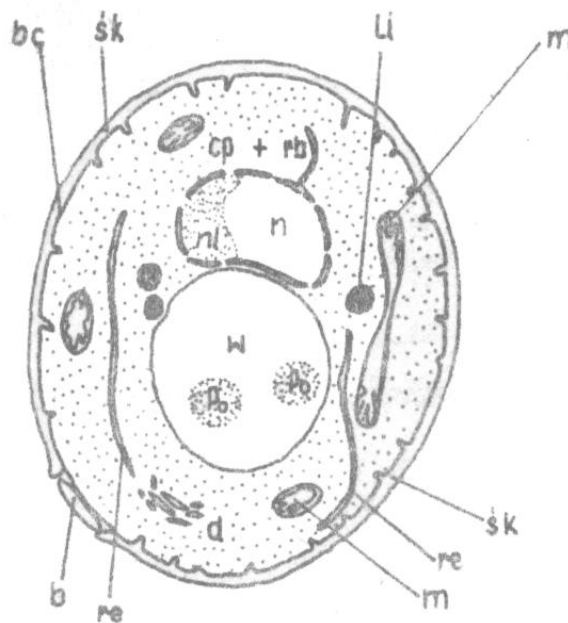
Fermentacja alkoholowa jest wykorzystywana przy produkcji wina, piwa i alkoholu etylowego. Maksymalne ilości etanolu, jakie można otrzymać z różnych węglowodanów /wyliczone na podstawie równań stechiometrycznych/ wynoszą:

- ze 100 kg glukozy lub fruktozy - 64,39 l 100° etanolu**
- ze 100 kg sacharozy lab maltozy - 67,76 l 100° etanolu**
- ze 100 kg skrobi - 71,54 l 100° etanolu**

W praktyce maksymalna wydajność etanolu nie przekracza 92-94% wydajności teoretycznej, spowodowane jest to tym, że:

- drobnoustroje prowadzące proces zużywają część węglowodanów na budowę nowych komórek,
- niewielka ilość cukru nie ulega fermentacji,
- część węglowodanów ulega przekształcaniu na produkty uboczne fermentacji alkoholowej /glicerol, alkohole wyższe, aldehydy, estry, kwasy/.

Do otrzymywania napojów zawierających etanol, jak i do jego przemysłowej produkcji używa się drożdży. Są to drobnoustroje należące do klasy workowców /Ascomycetes/ i do rodzaju drożdży właściwych /Saccharomycetaceae/. Schematyczną budowę komórki drożdży przedstawiono na rys. 2.

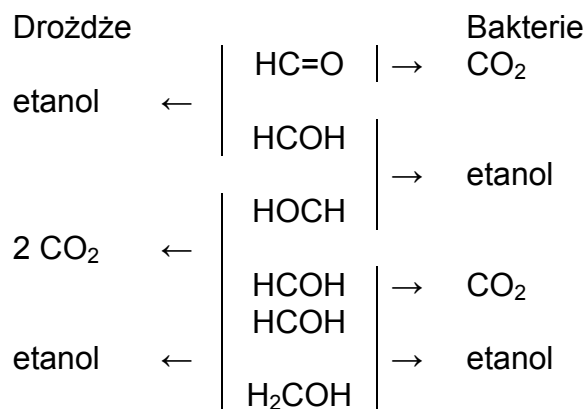


Rys. 2. Przekrój poprzeczny komórki drożdży: b - blizna po pączkowaniu, bc - błona cytoplazmatyczna, cp - cytoplazma, d - diktiosom, re - retikulum endoplazmatyczne, li - krople lipidów, ma - mitochondria, n - jądro, nl - jąderko, po - polifosforany, rb - rybosomy, w - wodniczki, šk - ściana komórkowa

Komórka składa się z jądra i cytoplazmy. Otoczona jest błoną cytoplazmatyczną oraz ścianką komórkową, pełniącą funkcje mechaniczne. Istotnym składnikiem komórki są mitochondria, które prowadzą proces oddychania i zdobywania energii. Cytoplazma nie jest jednorodnym roztworem białek, występują w niej błony i rybosomy. Błona cytoplazmatyczna odgrywa zasadniczą rolę w procesach przemiany materii, kontroluje przenikanie substancji ze środowiska do komórki i z jej wnętrza do środowiska, którym jest zwykle roztwór wodny.

Gatunki *Saccharomyces* tworzą komórki o kształtach owalnych, rozmnażające się przez pączkowanie. Znanych jest ponad 40 gatunków fermentujących glukozę.

Również niektóre bakterie posiadają zdolność tworzenia etanolu z glukozy, nie korzystając jednak ze szlaku EMP, co powoduje nieco inny rozkład glukozy.



Rozważa się, obecnie możliwość wykorzystania bakterii *Zymomonas mobilis* do przemysłowej produkcji etanolu.

3. Charakterystyka składu chemicznego i własności fizycznych melasu

Podstawowym surowcem do produkcji etanolu w gorzelnii przemysłowej i drożdży piekarskich jest melas. Jego skład chemiczny jest dość zmienny, zależy zarówno od odmiany, warunków uprawy buraka cukrowego, przebiegu pogody i sposobu jego przerobu w cukrowni. Przy produkcji cukru otrzymuje się w stosunku do przerobionej ilości buraków 3,5 - 4,5% melasu. Od jakości melasu zależy wydajność spirytusu w gorzelnii i drożdży w drożdżowni. Od szeregu lat w Polsce i innych krajach obserwuje się pogarszanie jakości melasu jako surowca do wymienionych przemysłów. Związane jest to z intensyfikacją uprawy i przerobu buraka cukrowego. Średni skład melasu w porównaniu z wymaganiami stawianymi przez Polską Normę podano w tab. 1,

Tabela 1. Porównanie średniego składu chemicznego melasu z wymaganiami PN-76/R-64772

Składnik	Średnia zawartość	Wymagania PN	
		kl. I	kl. II
1. Sucha substancja	80%	nie mniej niż 75%	73%
2. Sacharoza	47 – 51%	nie mniej niż 46%	44%
3. Azot ogółem	1,7 – 2,0%	nie mniej niż 1,6%	-
4. Substancje redukujące	0,2 – 1,0%	nie więcej niż 1,0%	-
5. Kwasy lotne	0,69 – 2,52%	nie więcej niż 1,4%	-
6. Sole Ca i Mg	0,4 – 2,0%	nie więcej niż 1,2%	2,0%
7. pH	7,5 – 8,5	7,0 – 8,5	7,0 – 9,0
8. Współczynnik czystości	58 – 63%	nie więcej niż 65%	-
9. Kwasy organiczne	7,0 – 9,0%	nie normuje się	
10. Rafinoza	0,7 – 2,5%		
11. Koloidy	2,5 – 5,5%		
12. Popiół	7,5 – 11,5%		
w tym:			
K ₂ O	3,0 – 6,0%		
Na ₂ O	0,7 – 1,0%		
13. Karmel i melanoidy	1,5 – 1,8%		

Z punktu widzenia gorzelnictwa i drożdżownictwa szczególnie ważne są następujące

składniki:

- Sacharoza. Ilość jej waha się w granicach 47-51%, zdarzają się jednak próby melasu zawierające do 55% sacharozy.

- Inwert. W melasie tzw. normalnym zawartość tego składnika nie powinna przekraczać 0,5%. Wysoka jego zawartość w melasie świadczy o postępującym procesie inwersji sacharozy, w wyniku którego mogą powstawać związki szkodliwe dla drożdży.

- Składniki azotowe. Średnio ilość azotu ogólnego w melasie wynosi 1,8%. Azot wchodzi w skład takich związków, jak białka, aminokwasy, amidy, betaina, azotany i azotyny. Drożdże mogą wykorzystywać azot ze związków aminowych. W polskich melasach zawartość azotu aminowego wynosi 0,06 - 0,28%. Jest to ilość niewystarczająca dla drożdży, stąd też stosuje się dodatek soli amonowych do brzeczek fermentacyjnych.

- Składniki mineralne. Ogólna ich ilość wyrażona jako popiół węglanowy waha się w granicach od 7,0 do 11,5%. W skład jego wchodzi wg ilości malejącej K_2CO_3 , Na_2CO_3 , $CaCO_3$ i in. Główne znaczenie w procesie fermentacyjnym mają fosfor i magnez. Ilość ich w melasie jest niewystarczająca do prawidłowego prowadzenia procesu, dlatego fosfor dodaje się do brzeczek w postaci superfosfatu. Melasy krajowe cechują się zwykle zbyt niską zawartością potasu w stosunku do wymagań drożdży. Wpływa to niekorzystnie na wydajność drożdży. Przy zawartości potasu w przeliczeniu na K_2O niższej od 2,2% osiąga się wydajność poniżej 75 g $D_{27}/100$ g melasu o zawartości sacharozy 50%, a przy zawartości 4,2% - 85 g $D_{27}/100$ g M_{50} . Zawartość potasu wyrażonego jako K_2O powinna wynosić co najmniej 3,5%. Istotna dla wzrostu drożdży jest również obecność jonów magnezu. W procesie klasycznym namnażania drożdży wystarczające uzupełnienie w te jony stanowi dawka wprowadzona z wodą wodociągową, jednak przy procesach prowadzonych w brzeczkach o wyższym stężeniu – konieczny jest dodatek magnezu.

- Związki biologicznie czynne. Część witamin znajdujących się w buraku cukrowym przechodzi przez wszystkie stadia produkcyjne w cukrowni i znajduje się w melasie - są to biotyna i kwas foliowy / 1/3 ilości występującej w buraku/ i witamina B_6 /1/4 ilości występującej w buraku/, kwas pantotenowy ulega częściowemu zniszczeniu, a witaminy B_1 , i B_2 ulegają całkowitemu zniszczeniu podczas przerobu. Najistotniejszymi związkami dla rozwoju drożdży są: mezoinozyt, kwas pantotenowy i biotyna. Mezoinozyt występuje w krajowych melasach w ilości od 72 do 340 mg/100g melasu, co całkowicie pokrywa zapotrzebowanie drożdży na ten składnik, natomiast zapotrzebowanie na kwas pantotenowy wynoszące 5 mg/100g melasu jest pokrywane w krajowych melasach najwyżej w 50%. Również zapotrzebowanie na biotynę wynoszące 29 mg/100 g melasu jest pokryte w ok. 25% gdy melasy są bogate w ten składnik. Tak więc, aby osiągnąć dobre wydajności drożdży należałoby uzupełniać zawartość tych dwu składników w brzeczkach hodowlanych.

- Azot przyswajalny w puli azotu ogólnego. Prace badawcze prowadzone od szeregu lat w Instytucie Przemysłu Fermentacyjnego wykazały, że w krajowych melasach bilans związków azotowych można przedstawić następująco:

$$\text{zaw. N ogółem \%} = 1\% + \text{zaw. N przyswajalnego \%}$$

Prace te również wskazały na ścisły związek dobrych wydajności biomasy drożdży liczonych jako g D₁₀₀/100 g sacharozy z zawartością azotu w melasie /tab. 2/.

Tabela 2

Zależność wydajności drożdży z cukru od zawartości azotu w melasie

Określenie jakości melasu	Wydajność g D ₁₀₀ /100 g sacharozy	Zawartość azotu /%/	
		ogółem	przyswajalnego
Wadliwa	poniżej 41	do 1,3	do 0,45
Średnia	od 41 do 46	1,3 - 1,7	0,45 - 0,75
Dobra	powyżej 46	powyżej 1,7	powyżej 0,75

Ujemny wpływ na wydajność spirytusu oraz wydajność i jakość drożdży może mieć, oprócz braku lub niedoboru pewnych składników – występowanie w melasie związków inhibitujących działalność drożdży. Do związków tych zalicza się azotyny, SO₂, kwasy lotne, koloidy, substancje barwne. Szkodliwy wpływ wywiera również mikroflora występująca w melasie, a zwłaszcza bakterie kwaszące I z rodzaju *Leuconostoc*, drożdże /*Candida*, *Schizosaccharomyces*/ i pleśnie /*Penicillium*, *Aspergillus* i *Mucor*/. Zaproponowano podział melasów na trzy klasy w zależności od stopnia zakażenia /tab. 3/. Wysoki stopień zakażenia melasu utrudnia proces technologiczny oraz obniża wydajność i jakość drożdży.

Tabela 3

Klasa jakości melasów w zależności od ilości komórek drobnoustrojów w 1 g melasu

Klasa jakości	Ilość komórek	Proces produkcji	Wydajności jakość drożdży
I	do 100 000	prosty	dobra
II	do 1 000 000	dodatkowe przygotowanie melasu	dobra
III	do 5 000 000	natychmiastowy przerób, silna dezynfekcja	zła