

Katarzyna KOTARSKA, Aleksandra ŻAKOWICZ, Bogusław CZUPRYŃSKI

e-mail: kotarska@spg-ibprs.pl

Samodzielna Pracownia Gorzelnicza w Bydgoszczy, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Warszawa

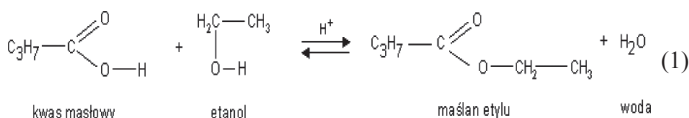
Ocena zawartości produktów ubocznych weryfikujących jakość spirytusu surowego

Wprowadzenie

Podczas fermentacji alkoholowej obok alkoholu etylowego powstaje szereg innych związków, które nadają spirytusom charakterystyczny smak i zapach, bardziej lub mniej intensywny, w zależności od stężenia w jakim występują. Celem badań jest stwierdzenie, jak za powstawanie lotnych produktów zanieczyszczających spirytus surowy i wpływających na pogorszenie jego jakości odpowiadają m. in.: zła jakość użytego surowca (porażonego przez mikroorganizmy patogenne), nieprawidłowe warunki fermentacji i odpędu (kłopoty z utrzymaniem czystości w kadziach fermentacyjnych i na liniach przesyłowych).

Spirytusy są od wielu lat weryfikowane przez *Polmosy* pod względem zawartości aldehydów, a w ostatnim czasie również pod względem zawartości maślanu etylu. Z tego względu dla gorzelni duże znaczenie ma ograniczenie powstawania tych związków.

Maślan etylu należy do grupy estrów powstających z połączenia kwasu i alkoholu w reakcji estryfikacji [1]:



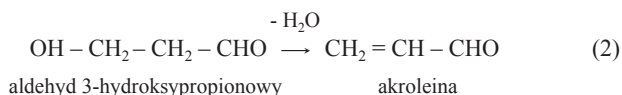
Estry są pochodnymi kwasów karboksylowych, w których atom wodoru z grupy karboksylowej został podstawiony grupą alkilową lub arylową. Mają one zapach owoców, kwiatów czy mydła i dlatego najczęściej znajdują zastosowanie w przemyśle kosmetycznym.

Obok związków, które tworzą się podczas fermentacji i destylacji spirytusu surowego, występują również takie związki, za których powstawanie odpowiedzialne są mikroorganizmy. Należy do nich m.in. akroleina, charakteryzująca się bardzo intensywnym i nieprzyjemnym smakiem i zapachem.

Akroleina (aldehid akrylowy, alilowy czy 2-propenal) jest najprostszym aldehydem nienasyconym o wzorze: $\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CHO}$. Należy do związków karbonylowych, które są pierwszym etapem utleniania alkoholi lub ostatnią formą pośrednią podczas redukcji kwasów do alkoholi. Akroleina należy do substancji toksycznych o właściwościach kancerogennych, jej obecność ma duży wpływ na pogorszenie smaku i zapachu. Już przy ilości powyżej $0,5 \text{ mg/dm}^3$ – nasila się uczucie pieczenia, smak staje się ostry, szczypiący i piekąco-gorzki. Ze względu na niską temperaturę wrzenia ($52,69^\circ\text{C}$) w całości przechodzi do spirytusu podczas destylacji [2].

Występowanie akroleiny jest związane z tworzeniem się w fermentujących zacierach aldehydu 3-hydroksypropionowego (3HPA), który uznano za prekursora chemicznego aldehydu akrylowego. Produkować go mogą zarówno bakterie przetrwalnikowe, należące głównie do gatunku *Clostridium* (bytujące w glebie, pochodzące z mikroflory w zanieczyszczonych surowcach), jak również heterofermentatywne bakterie kwasu mlekowego lub enterobakterie, może on też powstawać w wyniku rozpadu gliceryny.

Przekształcenie 3HPA w akroleinę zachodzi podczas destylacji zacieru odfermentowanego pod wpływem nieenzymatycznego, termicznego oddzielenia cząsteczki wody [3]:



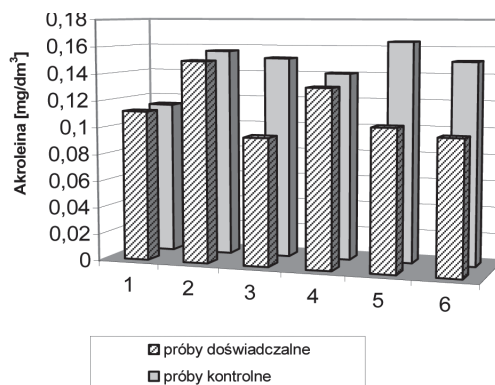
Alkohol metylowy (metanol, karbinol) CH_3OH , praktycznie nie ma wpływu na cechy sensoryczne spirytusu. Enzym (metylesteraza pektyn) zawarty w surowcu roślinnym lub pochodzący z preparatów enzymatycznych powoduje hydrolizę pektyn do metanolu i kwasu pektowego.

Innymi produktami ubocznymi tworzącymi się podczas produkcji spirytusu są tzw. *fuzle* (alkohole wyższe). Mogą one powstawać z aminokwasów w wyniku odszczepiania z nich amoniaku przez drożdże, które wykorzystują go do syntezy własnego białka. Stwierdzono, że ilość powstających alkoholi wyższych jest mniejsza, jeżeli nastawy zostały wzbogacone w nieorganiczne pożywki azotowe.

Wyniki badań

W *Samodzielnej Pracowni Gorzelniczej IBPRS* w Bydgoszczy przeprowadzono badania spirytusów surowych (destylatów rolniczych), uzyskanych z fermentacji zacierów ziemniaczanych i zbożowych z surowców dobrej i złej jakości [4].

W destylatach alkoholowych pochodzących z zacierów żytnich z surowca o złej jakości stwierdzono obecność akroleiny na poziomie $(0,095-0,164) \text{ mg/dm}^3$ (Rys. 1).



Rys. 1. Zawartość akroleiny w surowym spirytusie z żyta złej jakości

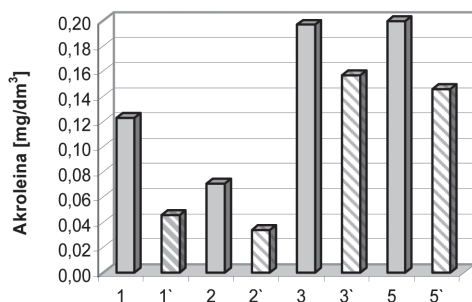
Poziom wyczuwania śladów dla akroleiny jest bardzo niski: w zapachu – $0,01 \text{ mg/dm}^3$, a w smaku – $0,05 \text{ mg/dm}^3$, czyli uzyskane w badaniach ilości tego związku przekraczają wyżej wymienione wartości kilkukrotnie (smak) lub kilkunastokrotnie (zapach).

W trzech wariantach (3, 5 i 6) zaobserwowano wpływ modyfikacji technologii produkcji spirytusu na obniżenie zawartości akroleiny odpowiednio o: 37, 36 i 34% w stosunku do prób kontrolnych (Rys. 1). Kwasowość podłoża hodowlanych dla drożdży (tzw. *przycierków*) regulowano do dwóch poziomów *pH* w zależności od ich przeznaczenia, a mianowicie do *pH* = 3,4 – w hodowlach stosowanych w kontrolnych próbach fermentacyjnych oraz do *pH* = 2,5 – w hodowlach stosowanych w badanych próbach fermentacyjnych. Zmiana standardowych zasad ukwaszania zacierów i podłoża hodowlanych dla drożdży zapobiega przekształcaniu w formy wegetatywne przetrwalników bakterii, odpowiedzialnych za powstawanie akroleiny.

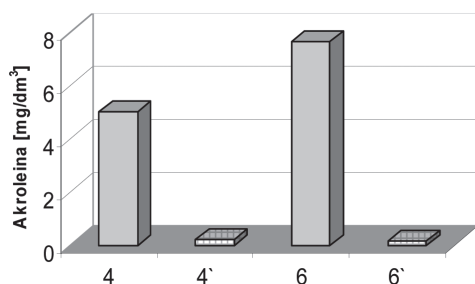
Natomiast w badanych destylatach ziemniaczanych, w próbach kontrolnych: 1, 2, 3 i 5 (Rys. 2), stwierdzono obecność akroleiny na poziomie $0,071 \pm 0,200 \text{ mg/dm}^3$. Biorąc pod uwagę poziom wyczuwania zapachu i smaku akroleiny można stwierdzić, że oznaczone w próbach

kontrolnych zawartości akroleiny przekraczają te stężenia wielokrotnie: smak czterokrotnie, a zapach nawet dwudziestokrotnie.

W spirytusach ziemniaczanych, w próbach 4 i 6 (kontrolnych) charakteryzujących się dużą koncentracją akroleiny (odpowiednio: 5,00 mg/dm³ i 7,64 mg/dm³), w wyniku modyfikacji związanej z ukwaszeniem środowiska hodowli drożdży – otrzymano o 95,4 i 97,9% mniej akroleiny tj. 4': 0,228 mg/dm³ i 6': 0,160 mg/dm³, (Rys. 3). W pozostałych próbach ilość ta uległa zmniejszeniu o (0,3÷62,6)%, w stosunku do prób kontrolnych, (Rys. 2).

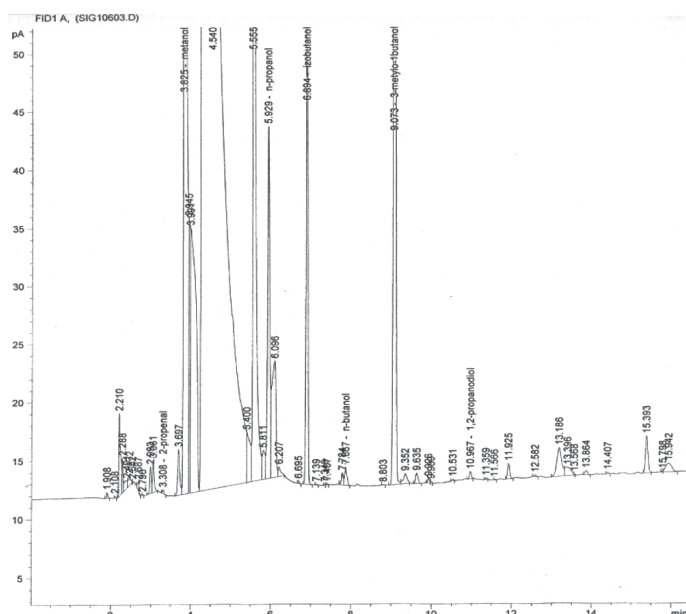


Rys. 2. Zawartość akroleiny w destylatach ziemniaczanych: 1, 2, 3 – próby kontrolne; 1', 2', 3' – próby doświadczalne



Rys. 3. Zawartość akroleiny w destylatach ziemniaczanych: 4, 6 – próby kontrolne; 4', 6' – próby doświadczalne

Na chromatogramie (Rys. 4) został przedstawiony wpływ modyfikacji technologii procesu na obniżenie zawartości akroleiny, a także pozostałych zanieczyszczeń.



Rys. 4. Przykładowy chromatogram przedstawiający wpływ modyfikacji produkcji spirytusu na ilość powstającego 2-propanalu w destylatach ziemniaczanych (czas retencji 3,308, stężenie 0,147 mg/100 cm³A₁₀₀)

W *Samodzielnej Pracowni Gorzelniczej IBPRS* w Bydgoszczy przeprowadzono również badania określające wpływ różnych dodatków związków azotowych, stosowanych do prób poddanych fermentacji, na ilość zanieczyszczeń w spirytusie surowym [5].

Jednym z najważniejszych efektów jakie osiągnięto w tych badaniach był wpływ dodatku azotu w formie amonowej do zacieru żytniego. Spowodował on zmniejszenie ilości alkoholi wyższych z poziomu 6,488 g/dm³ (próba kontrolna) do wartości 3,243 g/dm³ – w przypadku zastosowania wody amoniakalnej, do 3,759 g/dm³ – w przypadku siarczanu amonu oraz do 3,140 g/dm³ – przy zastosowaniu fosforanu dwuamonowego.

Ilość tworzących się alkoholi wyższych jest bardzo istotna przy produkcji bioetanolu, więc jej obniżenie o około 50% ma duże znaczenie.

Zastosowane dodatki miały również wpływ na obniżenie ilości estrów w spirytusie surowym, odpowiednio o: 28, 39 i 32%, w stosunku do próby kontrolnej, która zawierała 0,214% g/dm³ tych związków.

Dodanie do zacieru żytniego takich aminokwasów jak: treonina, metionina, arginina oraz walina spowodowało wytworzenie mniejszej ilości fuzli w otrzymanym spirytusie surowym odpowiednio o ok.: 35,4; 25,5; 20,8 i 47,3%, w stosunku do próby kontrolnej, w której ilość tych związków kształtowała się na znacznie wyższym poziomie, tj. 6,488 g/dm³. W wariantach tych odnotowano również mniejszą ilość estrów, odpowiednio o ok. 39, 43, 16 i 50% w stosunku do próby kontrolnej, w której ilość tych związków wynosiła 0,214 g/dm³.

Dodatek związków mineralnych i aminokwasów spowodował obniżenie ilości alkoholi wyższych z poziomu 6,488 g/dm³ (próba kontrolna) do wartości 2,134 g/dm³ – w wariantcie z dodatkiem: siarczanu amonu, fosforanu dwuamonowego i kwasu asparaginowego, do 2,626 g/dm³ – z dodatkiem: siarczanu amonu, fosforanu dwuamonowego i kwasu glutaminowego oraz do 2,698 g/dm³ – w wariantcie z siarczanem amonu, fosforanem dwuamonowym i tyrozyną.

Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż większe ilości akroleiny mogą powstawać w spirytusach pochodzących z fermentacji zacierów ziemniaczanych. Ma to zapewne związek z bezpośrednim kontaktem bulw ziemniaków z glebą, w której bytują mikroorganizmy odpowiedzialne za powstawanie akroleiny.

Modyfikacja procesu fermentacji, polegająca na znacznym obniżeniu *pH* środowiska hodowlanego drożdży i fermentującego, pozwoliła na ograniczenie powstawania akroleiny.

W wariantach 4' i 6' (Rys. 3), gdzie ilość akroleiny w wyniku modyfikacji procesu technologicznego zmniejszyła się o 95,4 i 97,9%, poziom fuzli obniżył się średnio o 60%. W pozostałych próbach zawartość tych zanieczyszczeń w porównaniu z próbami kontrolnymi zmniejszyła się średnio o (18–45)%.

Dodatek wody amoniakalnej do zacieru fermentującego przyczynia się do powstania, nawet o połowę mniejszej w stosunku do próby kontrolnej, ilości tworzących się fuzli w badanych spirytusach surowych.

Zastosowanie siarczanu i fosforanu amonu do zacieru żytniego spowodowało powstawanie znacznie mniejszych ilości alkoholi wyższych w uzyskanych spirytusach surowych, tj. o 2,7–3,3 g/dm³ w stosunku do próby kontrolnej, głównie poprzez ograniczenie syntezy izobutanolu.

Zastosowanie do zacieru żytniego wybranych aminokwasów wraz z formami amonowymi azotu (siarczan i fosforan amonu) spowodowało ograniczenie ilości tworzących się fuzli.

LITERATURA

- [1] R. T. Morrison, R. N. Boyd: Chemia Organiczna, PWN, Warszawa 1998.
- [2] U. Dziekońska, M. Balcerek: Przem. Ferm. i Owoc.-Warz., nr 6, (2010).
- [3] B. Czupryński: Postępy w biotechnologii procesu fermentacji alkoholowej, Bydgoszcz 2004.
- [4] M. Wolska, B. Czupryński, G. Kłosowski, K. Kotarska: Jubileuszowy Zjazd Naukowy PTCh i SITPCh, Łódź, 10–15 września 2000.
- [5] B. Czupryński: Aktualne problemy gorzelnictwa rolniczego, Bydgoszcz 2006.