

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ
И ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
«ТЕХНОЛОГИЯ ФЕРМЕНТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ. ПИЩЕВАЯ
БИОТЕХНОЛОГИЯ»
(ЧАСТЬ 1)**

Ставрополь

2026

В методических указаниях для выполнения лабораторных и практических по дисциплине «Технология ферментационных процессов. Пищевая биотехнология» для студентов направления 19.03.01 Биотехнология приведены методы анализа ассимиляции различных углеводов культурами дрожжей, исследования влияния физико-химических факторов внешней среды на ростовые процессы микроорганизмов. Представлены способы лабораторного культивирования дрожжей и молочнокислых микроорганизмов, методики количественного учета биомассы микроорганизмов и определения целевых продуктов микробного синтеза и ферментативного катализа.

Методические указания соответствуют программе дисциплины «Технология ферментационных процессов. Пищевая биотехнология».

Составители: заведующий кафедрой прикладной биотехнологии,

д-р техн. наук, доцент Лодыгин А. Д.

доцент кафедры прикладной биотехнологии, канд. техн. наук

Абакумова Е.А.

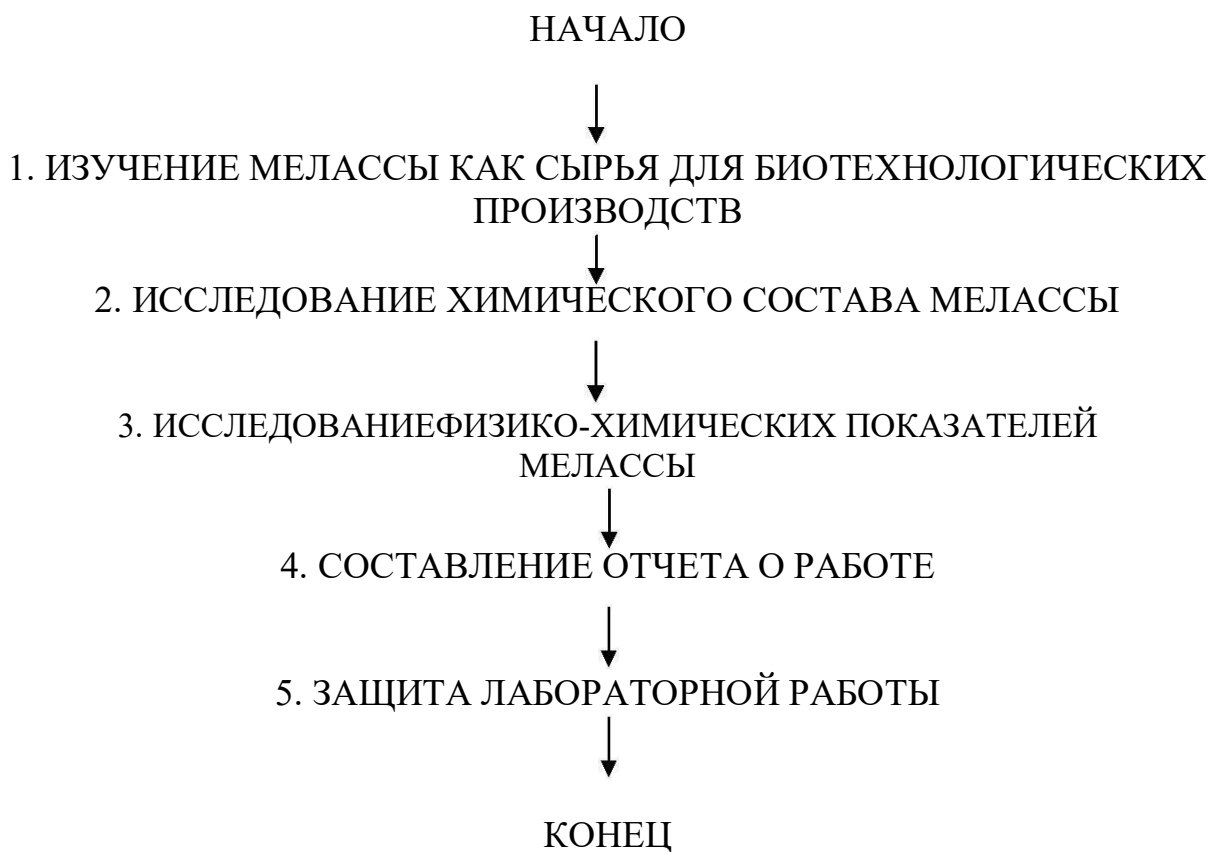
Рецензент – профессор, д-р техн. наук Рябцева С. А.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕЛАССЫ

Цель работы: рассмотреть характеристики молочной мелассы как сырья для биотехнологических производств, освоить экспериментальные методики определения химического состава и физико-химических свойств мелассы.

АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ



БЛОК 1. Меласса молочная – побочный продукт процесса производства лактозы, вырабатываемый из ультрафильтрационных пермеатов вторичного молочного сырья (обезжиренного молока, подсырной и творожной сыворотки) с использованием оборудования мембранных технологий, и его температурной обработки, с последующим проведением процесса сгущения и процесса кристаллизации с добавлением воды для промывки выделенных кристаллов лактозы.

Продукт предназначен для использования в молочной, хлебопекарной, кондитерской и других отраслях пищевой промышленности, а также в биотехнологической промышленности и в качестве кормовой добавки. Меласса молочная должна соответствовать требованиям СТО 00437062-013-2020 «Продукты переработки молока побочные. Меласса молочная».

По органолептическим показателям продукт должен соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1 – Органолептические показатели мелассы молочной

Наименование показателя	Характеристика мелассы жидкой
Внешний вид и консистенция	Прозрачная жидкость, не тягучая, допускается наличие осадка
Вкус и запах	Сладковато-солончатый, с легким молочным запахом
Цвет	От светло-желтого до темно-коричневого

По физико-химическим показателям продукт должен соответствовать нормам, указанным в таблице 2.

Таблица 2 – Физико-химические показатели мелассы молочной

Наименование показателя	Норма для мелассы жидкой
Массовая доля сухих веществ, %	11,0 -16,0
Массовая доля лактозы, %, не менее	8,0
Активная кислотность, pH, ед.	4,0 – 4,9
Массовая доля кальция, %, не менее	0,4
Зола, %, не менее	0,9

Допустимые уровни содержания потенциально опасных веществ в продукте должны соответствовать требованиям Технических регламентов: ТР ТС 021/2011, ТР ТС 033/2013, указанным в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели безопасности мелассы молочной

Наименование показателя	Допустимые уровни для жидкого продукта, мг/кг, не более
Токсичные элементы:	
свинец	0,1
мышьяк	0,05
кадмий	0,03
ртуть	0,005
Микотоксины:	
афлатоксин М1	0,0005
Антибиотики:	
пенициллин	не допускается (< 0,004)
левомицетин (хлорамфеникол)	не допускается (< 0,0003)
тетрациклиновая группа	не допускается (< 0,01)
стрептомицин	не допускается (< 0,2)
Пестициды:	
ГХЦГ	0,05 (в пересчете на жир)
ДДТ и его метаболиты	0,05 (в пересчете на жир)
Радионуклиды:	
цезий-137	100 Бк/кг
стронций-90	25 Бк/кг
Диоксины	0,000003 (в пересчете на жир)
Меламин	не допускается (< 1,0) мг/кг

По микробиологическим показателям продукт должен соответствовать требованиям ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», приведенным в таблице 4.

Таблица 4 – Микробиологические показатели мелассы молочной

Наименование показателя	Допустимое количество микроорганизмов или масса жидкого продукта, в которой они не допускаются
Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, КОЕ в 1 г продукта, не более	1×10^5
Бактерии группы кишечных палочек (коли-формы) в 0,01 г продукта	Не допускаются
Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, в 25 г продукта	Не допускаются
<i>S. aureus</i> в 1 г продукта	Не допускаются
<i>L. monocytogenes</i> , в 25 г продукта	Не допускаются

Сырье и материалы, используемые в производстве продукта, должны быть разрешены к применению органами Роспотребнадзора РФ. Качество сырья должно соответствовать требованиям действующей нормативно-технической документации и требованиям, прописанным в ТР ТС 033/2013 и в ТР ТС 021/2011.

Для производства продукта должны применяться следующие виды сырья и основных материалов:

- пермеат жидкий по СТО 00437062-006-2017;
- кислота соляная по ГОСТ 3118-77;
- вода питьевая отвечающая требованиям СанПин 2.1.4.1074-01

БЛОК 2. Исследование химического состава мелассы молочной.

2.1. Определение общего белка методом Къельдаля.

В колбу Къельдаля помещают последовательно несколько стеклянных бусинок или кусочков фарфора, около 10 г сернокислого калия, 0,5 г окиси ртути или 0,04 г сернокислой меди. В бюксе с крышкой отмеривают 5 мл молока, крышку закрывают и взвешивают с точностью до 1 мг. Пустую бюксу вновь взвешивают и по разнице между массой бюксы с молоком и массой пустой бюксы устанавливают массу взятого молока. В колбу добавляют 20 мл серной кислоты, вливая осторожно по стенкам колбы, смывая с них капли молока. Колбу закрывают грушеобразной стеклянной пробкой и осторожно круговыми движениями перемешивают содержимое колбы.

Колбу ставят на нагревательный прибор в наклонном положении под углом 45° и осторожно нагревают. Продолжают нагревание колбы до тех пор, пока не прекратится пенообразование и содержимое колбы не станет жидким. Затем сжигание продолжают при более интенсивном нагревании. Степень нагревания считают достаточной, когда кипящая кислота конденсируется в середине горловины колбы Къельдаля.

Время от времени содержимое колбы перемешивают, смывая обуглившиеся частицы со стенок колбы. Нагревание продолжают до тех пор, пока жидкость не станет совершенно прозрачной и практически бесцветной (при применении в качестве катализатора окиси ртути) или слегка голубоватой (при применении в качестве катализатора сернокислой меди).

После осветления раствора нагревание продолжают в течение 1,5 ч, после чего колбе дают остыть до комнатной температуры. Добавляют 150 см³

дистиллированной воды и несколько кусочков свежeproкаленной пемзы, перемешивают и снова охлаждают.

В коническую колбу отмеривают 50 см³ раствора борной кислоты, добавляют 4 капли индикатора Таширо и перемешивают. Коническую колбу соединяют с холодильником с помощью аллонжа и резиновой пробки так, чтобы конец аллонжа был ниже поверхности раствора борной кислоты в конической колбе. Колбу Къельдаля соединяют с холодильником при помощи каплеуловителя, проходящего через одну пробку с делительной воронкой. Градуированным цилиндром отмеривают 80 см³ раствора гидроокиси натрия (при применении в качестве катализатора красной окиси ртути используют раствор гидроокиси натрия, содержащий сульфид натрия) и через делительную (или капельную) воронку вносят его в колбу Къельдаля. Сразу же после выливания раствора закрывают кран делительной воронки для избежания потери образующегося аммиака. Содержимое колбы Къельдаля осторожно смешивают круговыми движениями и нагревают до кипения. При этом необходимо избегать пенообразования.

Продолжают перегонку до тех пор, пока жидкость не начнет вскипать толчками. При этом регулируют степень нагрева так, чтобы время дистилляции было не более 20 мин. Убедиться в полноте перегонки аммиака можно путем дополнительной перегонки в новую партию борной кислоты (20 см³) в течение 5 мин. Окраска раствора борной кислоты должна остаться без изменения. При перегонке не допускают нагревания раствора борной кислоты в конической колбе. Слишком сильное охлаждение (ниже +10 °C) также нежелательно, так как оно может вызвать переброс жидкости из конической колбы в колбу Къельдаля.

Перед окончанием перегонки опускают коническую колбу так, чтобы конец аллонжа оказался над поверхностью раствора борной кислоты, и продолжают перегонку в течение 1-2 мин. Прекращают нагревание и отсоединяют аллонж. В коническую колбу смывают внешнюю и внутреннюю поверхности аллонжа небольшим количеством дистиллированной воды.

Титруют дистиллят 0,1 н раствором соляной кислоты до перехода зеленого цвета в фиолетовый.

Параллельно проводят контрольный анализ так же, как и основной, применяя 5 мл дистиллированной воды вместо сырья. Контрольный анализ проводят в каждой серии определения количества белка и при каждой замене реактивов.

Массовую долю общего белка (Б) в процентах вычисляют с точностью до третьего десятичного знака по формуле:

$$B = \frac{1,4 * 0,1K(V_1 - V_0) * 6.38}{m};$$

(1)

где 1,4 – количество азота, эквивалентное 1 мл 0,1 н раствора соляной кислоты, мг;

0,1 – нормальность раствора соляной кислоты;

V_1 – объем 0,1 н соляной кислоты, израсходованной на титрование дистиллята в основном анализе, мл;

V_0 – объем 0,1 н соляной кислоты, израсходованной на титрование дистиллята в контрольном анализе, мл;

6,38 – коэффициент для перевода массовой доли общего азота на массовую долю общего белка;

m – масса сырья, взятого на анализ, г.

2.2. Определение содержания сухого остатка (влаги) в молоке и молочных продуктах методом высушивания до постоянного веса (арбитражный метод).

В металлическую бюксу на дно укладывают два кружка марли, высушивают с открытой крышкой при 105°C 20-30 мин. и, закрыв крышкой, охлаждают в эксикаторе в течение 20-30 мин., затем взвешивают. В подготовленную бюксу пипеткой вносят 3 см³ исследуемого продукта, равномерно распределяя его по всей поверхности марли и закрыв крышкой, взвешивают. Затем открытую бюксу и крышку помещают в сушильный шкаф при 105°C на 60 мин., после чего бюксу закрывают, охлаждают и взвешивают.

Высушивание и взвешивание продолжают через 20-30 мин. до получения разницы в массе между двумя последовательными взвешиваниями не более 0,001 г. Сухой остаток на поверхности марлевого кружка должен иметь равномерный светло-жёлтый цвет. Массовую долю сухого вещества (С) в процентах вычисляют по формуле:

$$C = \frac{(m_1 - m_0) * 100}{m - m_0}, \quad (2)$$

где m_0 — масса бюксы с песком и стеклянной палочкой, г;

m — масса бюксы с песком, стеклянной палочкой и навеской исследуемого продукта до высушивания, г;

m_1 — масса бюксы с песком, стеклянной палочкой и навеской исследуемого продукта после высушивания, г.

Расхождение между параллельными определениями должно быть не более 0,1% для молока и 0,2 % для мороженого, сыра, творога и творожных изделий. За окончательный результат для каждого исследуемого продукта принимают среднее арифметическое двух параллельных определений. Массовую долю влаги в продуктах (В) в процентах вычисляют по формуле:

$$B = 100 - C,$$

(3)

где C — массовая доля сухого вещества, %.

2.3. Определение массовой доли лактозы поляризметрическим методом (по Г. Вижинайте).

В стакане на 100 см³ взвешивают 33 г продукта с точностью до 0,01 г. Молоко количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, ополаскивая стакан дистиллированной водой. В колбу приливают по 5 см³ уксуснокислого цинка и железистосинеродистого калия. Содержимое колбы после добавления каждого реактива осторожно перемешивают, не встряхивая во избежание образования пузырьков воздуха. Затем приливают 25 см³ 0,2н раствора бромноватокислого калия, осторожно перемешивают.

Содержимое колбы доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают, сильно встряхивая. Через 5-10 мин. фильтруют через сухой складчатый фильтр в сухую колбу. Фильтрат поляризуют в поляриметрической трубке длиной 400 мм. Отсчёт проводят 3-5 раз и берут среднеарифметическое. Содержание лактозы вычисляют по формуле:

$$L = \frac{P}{2} * K ,$$

(4)

где P — показание сахариметра;

K — поправка на объём осадка.

2.4. Определение кальция комплексометрическим методом (по Дуденкову).

К 5 см³ продукта в химическом стакане приливают 90-95 см³ дистиллированной воды, 5 см³ 8%-го раствора NaOH и из бюретки отмеривают точно 3,5 см³ 0,1н раствора трилона-Б, перемешивают стеклянной палочкой и оставляют на 2 мин. Вносят на кончике ножа около 0,04 г сухой смеси индикатора мурексида с хлористым натрием (1 часть мурексида тщательно растирают с 50 частями химически чистого хлористого натрия). Раствор окрашивается в сиреневый цвет. Содержимое титруют 0,1н раствором CaCl₂, добавляя его по каплям при непрерывном перемешивании до появления устойчивого розового окрашивания. Затем из бюретки снова приливают при помешивании по каплям раствор трилона-Б до появления устойчивого сиреневого цвета. Через 1 мин, в случае исчезновения окрашивания, прибавляют ещё 1 каплю трилона-Б.

Из общего объёма раствора трилона-Б, израсходованного на первое и второе титрование и пересчитанного на точно 0,1н раствор, вычитают объём 0,1н раствора CaCl₂, израсходованного на обратное титрование и находят объём трилона-Б, связанного с кальцием молочного сырья. Содержание кальция в мг % рассчитывают по формуле:

$$C_a = \frac{a * 2 * 100 * 0,97}{6},$$

(5)

где а – количество 0,1н раствора трилона-Б, связанного с кальцием, см³;

2–количество кальция, соответствующее 1 мл 0,1н раствора трилона-Б, мг;

5 – объём молока, взятого для анализа, см³.

БЛОК 3. Исследование физико-химических свойств мелассы молочной.

3.1. Определение кислотности молока и молочных продуктов титрометрическим методом (титруемая кислотность).

В коническую колбу вместимостью 150-200 см³ отмеривают с помощью пипетки 10 см³ молока, прибавляют 20 см³ дистиллированной воды и три капли фенолфталеина, смесь тщательно перемешивают и титруют 0,1н раствором гидроксида натрия (калия) до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего контрольному эталону окраски, не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность молока в градусах Тернера равна количеству миллилитров 0,1н раствора гидроксида натрия (калия), затраченного на нейтрализацию 10 см³ молока, умноженному на 10. Расхождение между параллельными определениями должно быть не выше 1°Т.

3.2. Определение кислотности молока и молочных продуктов путём измерения рН (активная кислотность).

Около 40 см³ продукта отбирают в стакан, погружают в него электроды и через 10-15 с отсчитывают показания по прибору. Для более быстрого установления показаний замер рН жидких молочных продуктов производят при их непрерывном лёгком взбалтывании.

3.3. Определение буферности и буферной ёмкости молочного сырья.

К 10 см³ молока в колбе вместимостью 100-150 см³ прибавляют 3 капли раствора фенолфталеина и титруют 0,1н раствором гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания. Другую пробу молока титруют 0,1н раствором

хлористоводородной кислоты с раствором метилрота до появления красного окрашивания. Количество щёлочи и кислоты в см³ рассчитывают на 100 см³ молока, что и будет характеризовать буферность его. При титровании молока щёлочью реакция сдвигается с рН 6,8 до 8,2, а при титровании кислотой - с рН 6,8 до 4,7.

При сдвиге рН в кислую сторону буферность 100 см³ молока составляет в среднем около 20 см³ 0,1н раствора хлористоводородной кислоты, а в щелочную – около 15 см³ 0,1н раствора щёлочи. Буферной ёмкостью называют количество эквивалентов кислоты или щёлочи, которое требуется для того, чтобы изменить величину рН в 1000 см³ раствора на единицу. Найдя буферность молока на кислой и щелочной сторонах, рассчитывают буферную ёмкость молока по формулам:

По щёлочи:

$$B_{\text{щ}} = \frac{K}{1,5 \cdot 10}, \quad (6)$$

По кислоте:

$$B_{\text{к}} = \frac{K_1}{2,0 \cdot 10}, \quad (7)$$

где К – буферность по щёлочи;

1,5 – сдвиг рН при титровании с фенолфталеином;

К₁ – буферность по кислоте;

2,0 – сдвиг рН при титровании с метилротом;

10 – коэффициент перевода 0,1н раствора в нормальный раствор.

3.4. Пикнометрический метод определения плотности.

Подготовленные к измерениям пикнометры (не менее двух) заполняют при помощи шприца предварительно тщательно перемешанной исследуемой пробой заготавливаемого коровьего или обезжиренного молока немного выше отметки на их шейке и закрывают пробками. Пикнометры термостатируют и доводят уровень исследуемой пробы до отметки на их шейке. Пикнометры вынимают из термостата, доводят при помощи шприца и фильтровальной

бумаги уровень молока до отметки на их шейке (по верхнему краю мениска). Внутреннюю поверхность шейки пикнометров выше отметки тщательно вытирают фильтровальной бумагой, не касаясь уровня жидкости в пикнометрах, вытирают снаружи досуха полотенцем и оставляют в витрине весов не менее 20 мин. За значение массы гирь, уравнивающих каждый пикнометр с молоком, принимают среднее арифметическое результатов двух взвешиваний m_3 . По аналогичной методике определяют массу пикнометра, наполненного водой m_2 .

Плотность молока ρ_1 при 20°C кг/м^3 , вычисляют по формуле:

$$\rho_1 = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} * (\rho_v - l) + l, \quad (8)$$

где m_1, m_2, m_3 – массы гирь, уравнивающих, соответственно, пустой пикнометр, пикнометр с водой и пикнометр с молоком, кг;

ρ_v – плотность воды при 20°C и нормальном давлении, равном $1,01 \cdot 10^5$ Па ($\rho_v = 998,20 \text{ кг/м}^3$);

l – плотность воздуха при 20°C и нормальном давлении ($l = 1,2 \text{ кг/м}^3$).

Допускаемое расхождение между двумя результатами определения плотности молока не должно превышать по абсолютному значению $0,3 \text{ кг/м}^3$.

БЛОК 4. Отчет по работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы;
- теоретическое обоснование проводимых исследований;
- результаты исследований состава и физико-химических свойств мелассы молочной;
- выводы.

БЛОК 5. Контрольные вопросы:

- показатели качества и безопасности мелассы молочной как сырья для промышленной переработки;

- характеристика мелассы молочной мелассы как сырья для биотехнологических производств;

- методы исследований химического состава мелассы молочной;

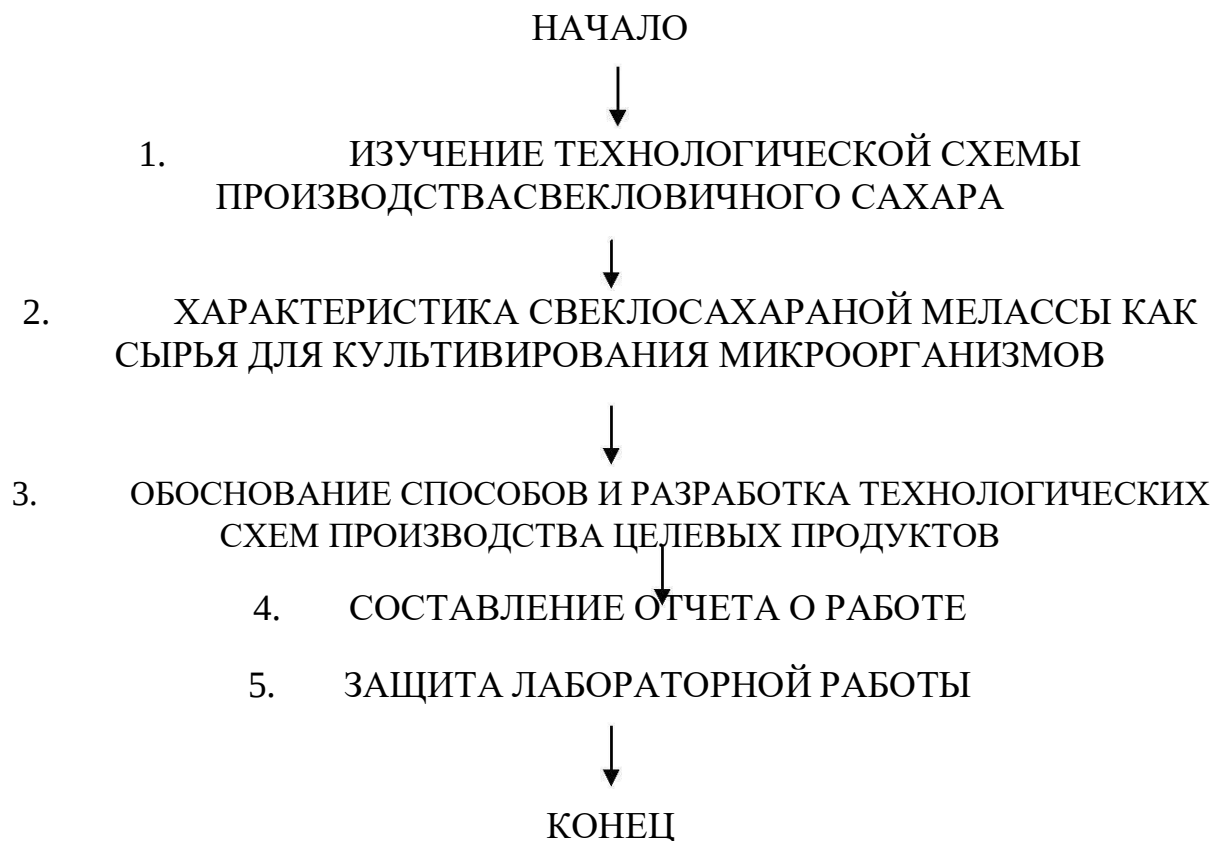
методы исследований физико-химических свойств мелассы молочной.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 1

ИЗУЧЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕРАБОТКИ СВЕКЛОСАХАРНОЙ МЕЛАССЫ

Цель работы: рассмотреть технологическую схему производства свекловичного сахара с образованием мелассы, рассмотреть состав и свойства мелассы как сырья для промышленного культивирования микроорганизмов; обосновать выбор рецептур питательных сред, микроорганизмов-продуцентов и технологических режимов получения целевых продуктов при культивировании на мелассных средах; разработать технологические схемы производства целевых продуктов.

АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ



БЛОК 1. Изучить технологическую схему и аппаратное оформление процессов производства свекловичного сахара. Проанализировать, какие факторы влияют на состав и свойства свекловичной мелассы.

БЛОК 2. Рассмотреть требования к мелассе как сырью для микробиологической промышленности. В отчете привести данные о составе, физико-химических, микробиологических показателях свеклосахарной мелассы, проанализировать пригодность мелассы как компонента питательных сред (наличие биогенных элементов, ингибирующих веществ). Составить аппаратно-процессовую технологическую схему подготовки мелассы к процессам культивирования микроорганизмов.

БЛОК 3. На основании индивидуального задания (приложение 1) обосновать выбор вида микроорганизмов и состава питательной среды для получения заданного целевого продукта, разработать аппаратно- процессовую технологическую схему получения целевого продукта и ее описание с указанием параметров основных технологических операций.

БЛОК 4. Отчет по работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы;
- описание технологии получения свекловичного сахара с образованием мелассы;
- обоснование использования мелассы как сырья биотехнологической промышленности;
- технологическую схему подготовки мелассы к процессам культивирования микроорганизмов;
- технологическую схему и описание разработанного способа получения целевого продукта;
- выводы.

БЛОК 5. Контрольные вопросы:

- влияние технологических факторов процессов производства свекловичного сахара на состав и свойства мелассы;
- характеристика свеклосахарной мелассы как сырья для микробиологических производств;
- общие технологические процессы подготовки мелассы к процессам ферментации;
- технология получения пекарских дрожжей на мелассных средах;
- технология получения этилового спирта на мелассных средах;
- технологии производства органических кислот на мелассных средах;
- технология микробного синтеза концентратов и препаратов аминокислот на мелассных средах.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

№ варианта	Целевой продукт
1	Хлебопекарные дрожжи
2	Этиловый спирт
3	Лимонная кислота
4	Молочная кислота
5	Концентрат кормового лизина
6	Глутаминовая кислота
7	Концентрат кормового триптофана

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Цель работы: изучить методы контроля качества липолитических, гликолитических и протеолитических ферментных препаратов.

Теоретическое обоснование.

Препарат Панкреатин (Pancreatin).

АТХ А09АА02 Полиферментные препараты (в т.ч. липаза, протеаза).

Фармакологическая группа ферменты и антиферменты.

Состав и форма выпуска: 1 драже панкреатин с энзимной активностью: протеолитической – 200 ФИП единиц (МЕ ферментативной активности) амилазной – 3500 ФИП единиц липолитической – 4300 ФИП единиц, вспомогательные вещества: лактоза; глюкоза; крахмал; стеарат магния; сахароза; тальк; целлюлозы ацетат-фталат; диэтилфталат; белый воск; карнаубский воск; гуммиарабик; шеллак; краситель шоколадный коричневый.

Описание лекарственной формы. Драже коричневого цвета с гладкой, блестящей поверхностью, при разламывании – светло-коричневого цвета.

Фармакологическое действие – восполняющее дефицит ферментов поджелудочной железы.

Входящие в состав препарата амилаза, липаза и протеаза облегчают переваривание углеводов, жиров и белков, способствуя более полному их всасыванию в тонком кишечнике.

Показания препарата. Недостаточность внешнесекреторной функции поджелудочной железы (хронический панкреатит, муковисцидоз и пр.); хронические воспалительно-дистрофические заболевания желудка, кишечника, печени, желчного пузыря; состояния после резекции или облучения этих органов, сопровождающиеся нарушениями переваривания пищи, метеоризмом, диареей (в составе комбинированной терапии); улучшение переваривания пищи у пациентов с нормальной функцией ЖКТ в случае погрешностей в питании, а также при нарушениях жевательной функции, при малоподвижном образе

жизни; при подготовке к рентгенологическому исследованию и УЗИ органов брюшной полости.

Противопоказания. Гиперчувствительность, острый панкреатит, обострение хронического панкреатита. Применение при беременности и кормлении грудью. Безопасность применения при беременности изучена недостаточно. Применение возможно, если ожидаемый эффект терапии превышает потенциальный риск для плода.

Побочные действия. Аллергические реакции. При длительном употреблении в высоких дозах возможны гиперурикемия и гиперурикурия.

Возможно снижение всасывания препаратов железа. Антацидные средства, содержащие кальция карбонат и/или магния гидроксид, могут снижать эффективность панкреатина.

Способ применения и дозы. Внутрь, не разжевывая, во время или после еды. Взрослым – по 1–3 драже 3 раза в сутки. Детям – по назначению врача. Курс лечения – от нескольких дней (при нарушении процесса пищеварения вследствие погрешностей в диете) до нескольких месяцев или лет (постоянная заместительная терапия).

Условия хранения препарата. В сухом, защищенном от света месте, при температуре ниже 25 °С. Срок годности препарата 3 года.

Препарат Мезим – ферментный препарат, способствующий процессу переваривания.

Фармакологическое действие. Мезим обладает протеолитическими (расщепляет белки до аминокислот), амилалитическими (способствует разложению крахмала до мальтозы и олигосахаридов) и липолитическими свойствами (расщепляет жиры до жирных кислот и глицерина). Действующим веществом препарата является панкреатин, представляющий собой ферменты поджелудочной железы животных, как правило, свиней. Анальгезирующее действие Мезима обусловлено свойствами трипсина, одного из ферментов, который подавляет чрезмерную секрецию поджелудочной железы. Применение Мезима позволяет восполнить недостаток собственных ферментов, тем самым

улучшив переваривание пищи. Специальная оболочка защищает панкреатин от действия желудочного сока, позволяя ему достичь и высвободиться в тонком кишечнике. Максимальную активность ферментов можно наблюдать через 30-45 минут после перорального применения Мезима.

Показания к применению. Мезим рекомендуют принимать при: заболеваниях, характеризующихся недостаточностью внешнесекреторной функции поджелудочной железы (хронический панкреатит, муковисцидоз и др.); хронических воспалительно-дистрофических заболеваниях желчного пузыря, печени, кишечника, желудка; состояниях после резекции (операция по удалению части желудка) или облучения органов пищеварительной системы, желчного пузыря, печени, которые сопровождаются нарушением переваривания пищи, диареей, метеоризмом; погрешностях в диете, употреблении непривычной или жирной пищи для облегчения ее переваривания; нарушении жевательной функции, длительной неподвижности или малоподвижном образе жизни; подготовке к рентгенологическим исследованиям или УЗИ органов брюшной полости.

Противопоказания. Мезим не следует принимать при остром панкреатите, обострении хронического панкреатита, а также при гиперчувствительности. Мезим при беременности и грудном вскармливании принимать не рекомендуется, поскольку адекватные исследования на предмет безопасности данного препарата проведены не были. Мезим при беременности может быть назначен врачом, в случае если альтернативные методы лечения неэффективны.

Инструкция по применению Мезима. Одна таблетка Мезим форте содержит панкреатин, в котором минимальная энзимная активность липазы составляет 3500 ЕД, протеазы – 250 ЕД и амилазы – 4200 ЕД. Одна таблетка Мезим форте 10 000 содержит панкреатин, в котором активность липазы, протеазы и амилазы составляет 10000 ЕД, 375 ЕД и 7500 ЕД соответственно. Принимать Мезим инструкция рекомендует перед едой, целиком, не нарушая целостности оболочки, запивая жидкостью в большом количестве (предпочтительней фруктовые соки, щелочная вода). Обычная разовая доза

препарата – 1-2 таблетки, при необходимости во время еды могут быть приняты дополнительные 1-4 таблетки. Средняя суточная доза Мезима для взрослых составляет 150 тыс. ЕД липазы, при полной недостаточности собственных ферментов – 400 тыс. ЕД липазы. Применение должно быть согласовано с врачом, детям младше 1,5 лет в сутки назначают в количестве, равном 50 тыс. ЕД, а детям старше 1,5 лет в дозе, соответствующий 100 тыс. ЕД.

Побочные действия. Применение Мезима может повлечь такие нежелательные эффекты, как аллергические реакции, неприятные ощущения в эпигастральной области, тошнота, запор или диарея. В случае длительного приема препарата возможно развитие гиперурикозурии (повышенный уровень мочевой кислоты в моче).

Препарат Креон. Международное наименование Панкреатин (Pancreatin).

Групповая принадлежность – пищеварительное ферментное средство.

Описание действующего вещества (МНН) Панкреатин.

Лекарственная форма драже, капсулы, таблетки покрытые кишечнорастворимой оболочкой, таблетки покрытые оболочкой.

Фармакологическое действие. Пищеварительное ферментное средство, восполняет дефицит ферментов поджелудочной железы, оказывает протеолитическое, амилалитическое и липолитическое действие. Входящие в состав панкреатические ферменты (липаза, альфа-амилаза, трипсин, химотрипсин) способствуют расщеплению белков до аминокислот, жиров – до глицерина и жирных кислот, крахмала - до декстринов и моносахаридов, улучшает функциональное состояние ЖКТ, нормализует процессы пищеварения. Трипсин подавляет стимулированную секрецию поджелудочной железы, оказывая анальгезирующее действие. Панкреатические ферменты высвобождаются из лекарственной формы в щелочной среде тонкого кишечника, т.к. защищены от действия желудочного сока оболочкой. Максимальная ферментативная активность препарата отмечается через 30-45 мин. после перорального приема.

Показания. Заместительная терапия при внешнесекреторной

недостаточности поджелудочной железы: хронический панкреатит, панкреатэктомия, состояние после облучения, диспепсия, муковисцидоз; метеоризм, диарея неинфекционного генеза. Нарушение усвоения пищи (состояние после резекции желудка и тонкого кишечника); для улучшения переваривания пищи у лиц с нормальной функцией ЖКТ в случае погрешностей в питании (употребление жирной пищи, большого количества пищи, нерегулярное питание) и при нарушениях жевательной функции, малоподвижном образе жизни, длительной иммобилизации. Синдром Ремхельда (гастрокардиальный синдром).

Противопоказания. Гиперчувствительность, острый панкреатит, обострение хронического панкреатита.

Побочные действия. Аллергические реакции, редко – диарея или запор, тошнота, дискомфорт в эпигастральной области. При длительном применении в высоких дозах – гиперурикозурия, при использовании высоких доз у больных муковисцидозом – стриктуры в илеоцекальном отделе и в восходящей ободочной кишке.

Передозировка. Симптомы: гиперурикозурия, гиперурикемия. У детей – запоры. Лечение: отмена препарата, симптоматическая терапия.

Применение и дозировка. Внутрь, во время или после еды, проглатывая целиком, запивая большим количеством жидкости (вода, фруктовые соки). Доза препарата (в пересчете на липазу) зависит от возраста и степени недостаточности поджелудочной железы. Средняя доза для взрослых – 150 тыс. ЕД/сут; при полной недостаточности внешнесекреторной функции поджелудочной железы – 400 тыс. ЕД/сут, что соответствует суточной потребности взрослого человека в липазе. Максимальная суточная доза – 15-20 тыс. ЕД/кг. Детям в возрасте до 1.5 лет – в суточной дозе 50 тыс. ЕД; старше 1.5 лет - 100 тыс. ЕД/сут. Продолжительность лечения может варьировать от нескольких дней (при нарушении пищеварения, погрешности в диете) до нескольких месяцев и даже лет (при необходимости постоянной заместительной терапии). Снижает всасывание Fe.

Препарат Пензитал (Penzital). Действующее вещество: Панкреатин (Pancreatin). Латинское название Penzital. Фармакологическая группа Пищеварительное ферментное средство.

Состав: Таблетки, покрытые оболочкой, растворимой в кишечнике.

1 таблетка: активное вещество: панкреатин 212,5 мг с энзимной активностью липазы – 6000 ЕД FIP; амилазы – 4500 ЕД FIP; протеазы – 300 ЕД FIP вспомогательные вещества: лактоза; МКЦ; натрия крахмала гликолят; повидон; тальк; кремния диоксид коллоидный; метакриловой кислоты сополимер; диэтилфталат; титана диоксид.

Описание лекарственной формы. Белые, круглые, двояковыпуклые таблетки, покрытые пленочной оболочкой.

Фармакологическое действие. Липолитическое, амилалитическое, протеолитическое, восполняющее дефицит ферментов поджелудочной железы.

Показания препарата: заместительная терапия при внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы (хронический панкреатит, панкреатэктомия, состояние после облучения, диспепсия, синдром Ремхельда (гастрокардиальный синдром), муковисцидоз); метеоризм, диарея неинфекционного генеза; нарушение усвоения пищи (состояние после резекции желудка и тонкого кишечника); для улучшения переваривания пищи у лиц с нормальной функцией ЖКТ в случае погрешностей в питании (употребление жирной пищи, большое количество пищи, нерегулярное питание) и при нарушениях жевательной функции, малоподвижном образе жизни, длительной иммобилизации; подготовка к рентгенологическому исследованию и УЗИ органов брюшной полости.

Противопоказания повышенная чувствительность к компонентам препарата; острый панкреатит; обострение хронического панкреатита.

Применение при беременности и кормлении грудью

Безопасность применения панкреатина при беременности изучена недостаточно. Применение возможно в случаях, когда ожидаемая польза для матери превышает потенциальный риск для плода.

Побочные действия. Аллергические реакции. В отдельных случаях – диарея, запор, ощущение дискомфорта в области желудка, тошнота (причинно-следственная связь развития этих реакций с действием панкреатина не установлена, т.к. указанные явления относятся к симптомам внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы). При длительном применении в высоких дозах возможны развитие гиперурикозурии, повышение уровня мочевой кислоты в плазме крови. При муковисцидозе в случае превышения необходимой дозы панкреатина возможно развитие стриктур (фиброзной колонопатии) в илеоцекальном отделе восходящей ободочной кишки.

При применении панкреатина в высоких дозах у детей возможно возникновение перианального раздражения и раздражение слизистой оболочки полости рта.

При одновременном применении панкреатина с препаратами железа возможно снижение всасывания последних. Одновременное применение антацидных средств, содержащих кальция карбонат и/или магния гидроксид, может привести к снижению эффективности панкреатина.

Способ применения и дозы. Внутрь, во время или после еды, не разжевывая и запивая нещелочной жидкостью (вода, фруктовые соки).

Доза определяется индивидуально, в зависимости от степени нарушения пищеварения.

Взрослым обычно назначают по 1–2 табл. 3 раза в сутки. У детей препарат применяется по назначению врача.

Продолжительность лечения может варьировать от нескольких дней (при нарушении процесса пищеварения вследствие погрешностей в диете) до нескольких месяцев или лет (при необходимости постоянной заместительной терапии).

Передозировка. Симптомы: гиперурикозурия, гиперурикемия. У детей – запор.

Аппаратура, оборудование и материалы: оливковое масло, 2 %-й раствор поливинилового, гомогенизатор, спектрофотометр, пробирки, водяная

баня, дистиллированная вода, этанол, 0,05 н раствор NaOH, 1 %-й раствор фенолфталеина, буфер с $\text{pH} = 7,0$, субстрат лактозы, раствор глюкозы, 2 %-й раствор КСБ или другого белка (1 г белка растворяют в 50 см^3 0,06 н HCl в мерной колбе), 10 %-й раствор ТХУ, реактив Фолина, раствор тирозина концентрации 10^3 М (181,19 мг чистого тирозина растворяют в 0,2 н растворе HCl в мерной колбе емкостью 1 дм^3), раствор углекислого натрия.

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности. Знание студентами правил техники безопасности преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок выполнения работы

1. Определение активности липазы по модифицированному методу Ота – Ямада

За единицу ферментной активности липазы принимают такое количество фермента, которое освобождает 1 мкмоль олеиновой кислоты из 40 % эмульсии оливкового масла при $\text{pH}=7,0$ и температуре 37°C в течение часа.

Метод основан на определении путем титрования щелочью жирных кислот, образовавшихся под действием липазы при использовании в качестве субстрата оливкового масла.

Приготовление субстрата: 100 см^3 оливкового масла смешивают со 150 см^3 2 %-го раствора поливинилового спирта в пищевом гомогенизаторе в течении 5 – 10 минут. Полученную эмульсию выдерживают на льду в течение 60 мин. Если расслаивание не наблюдается, субстрат пригоден к использованию. Если замечено расслаивание, перемешивание необходимо повторить. Приготовление ферментного раствора: 200 мг испытуемого образца растворяют в 200 см^3 дистиллированной воды. Техника определения: 5 см^3 эмульсии субстрата и 4 см^3

буфера с $pH=7,0$ помещают в плоскодонную колбу на 100 см^3 , которую закрывают пробкой. Смесь выдерживают на водяной бане при $t=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 мин. Затем к смеси добавляют 1 см^3 раствора фермента и хорошо перемешивают. Полученную смесь выдерживают при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 60 мин, после чего немедленно добавляют 30 см^3 этанола для прекращения реакции. Раствор титруют $0,05\text{ н}$ раствором NaOH в присутствии $1\text{ \%}$ -го раствора фенолфталеина до исчезновения окраски. Контрольную пробу готовят следующим образом: к смеси субстрата и буфера с $pH=7,0$ выдержанной при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ добавляют 30 см^3 этанола, затем 1 см^3 ферментного раствора и смесь немедленно титруют. Разность между результатами титрований контрольной и опытной проб соответствует количеству $0,05\text{ н}$ раствора NaOH , которое пошло на нейтрализацию жирных кислот, образовавшихся из оливкового масла под действием фермента.

Обработка результатов. Липазную активность ферментного препарата ЛС (ед/г) определяют по формуле:

$$\text{ЛС} = A \times T \times 50 / B, \quad (9.1)$$

где A – разность между результатами титрования опытной и контрольной пробы, (см^3);

T – титр щелочи;

B – концентрация образца ферментного раствора, (г/см^3);

50 – коэффициент пересчета в мкмоль жирных кислот.

2. Фотоколориметрический метод определения β -галактозидазной (лактазной) активности с применением реактива Щербухина.

β -Галактозидаза, β -D-галактозид-галактогидролаза (КФ 3.2.1.23), катализирует гидролитическое расщепление дисахарида лактозы на глюкозу и галактозу.

Определение активности галактозидазы основано на установлении скорости ферментативной реакции гидролиза лактозы, которую находят по количеству образовавшейся глюкозы в процессе этой реакции. Глюкозу анализируют глюкозооксидазным методом За единицу активности β -

галактозидазы принято такое количество фермента, которое способно катализировать расщепление 1 мкмоль лактозы в 1 мин. при температуре 30 °С и оптимальном рН. Активность ферментных материалов характеризуется числом единиц фермента, содержащимся в 1 г очищенного препарата или в 1 см³ жидкого продукта.

Данный метод определения активности рекомендуется для анализа очищенных препаратов, сред для культивирования микроскопических грибов, экстрактов из пекарских дрожжей и других биологических сред.

Техника определения: 4 см³ раствора субстрата лактозы помещают в пробирку и нагревают в ультратермостате при температуре 30 °С в течение 10 мин. Добавляют 1 см³ исследуемого ферментного раствора и инкубируют смесь в ультратермостате при 30 °С в течение 15 мин. По истечении этого времени от реакционной жидкости отбирают 1 см³ гидролизата в пробирку, которую помещают в кипящую водяную баню, где выдерживают 5 мин. для инактивации фермента. Затем содержимое пробирки охлаждают и определяют количество образовавшейся глюкозы. Одновременно готовят контрольный раствор, для чего 1 см³ раствора фермента в пробирке выдерживают 5 мин. в кипящей водяной бане для его инактивации. После этого в пробирку вносят 4 см³ раствора лактозы и затем с растворами проводят все последующие операции, аналогично опытным пробам. Интенсивность окраски определяют на фотоэлектроколориметре при длине световой волны 400 нм или близкой к ней, в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм, против контроля на рабочий реактив.

По полученным оптическим плотностям по градуировочному графику определяют количество образовавшейся глюкозы. График строят для каждой серии определений на стандартных растворах глюкозы, в 1 см³ которых содержится от 10 до 150 мкг сахара. Со стандартными растворами глюкозы проводят ферментативную реакцию с глюкозооксидазным реактивом в приведенных выше условиях. В результате получают ряд значений оптической плотности и с их помощью строят градуировочный график, откладывая по оси абсцисс содержание глюкозы в 1 см³ раствора. Получают прямую, по которой,

устанавливая оптическую плотность исследуемого раствора, определяют количество образовавшейся глюкозы в реакционной среде. β -Галактозидазную активность (ед/г или ед/см³) исследуемого препарата рассчитывают по формуле:

$$ЛА = \frac{C_0 - C_k}{a \times t \times 0,036} \quad (9.2)$$

где C_0 – количество глюкозы в 1 см³ опытного гидролизата по градуировочному графику, мг;

C_k – содержание глюкозы в контроле, мг; a – количество исследуемого ферментного препарата в 1 см³ гидролизата, г или см³;

t – продолжительность инкубации, мин.;

0,036 – количество глюкозы, образующейся при действии 1 ед. фермента на 1 мкмоль лактозы, мг.

3. Определение протеолитической активности ферментных препаратов

Для определения протеолитической активности панкреатина используют метод, основанный на количественном определении аминокислоты тирозина, отщепляемого панкреатином в результате гидролиза белков. Количество высвобождающегося тирозина прямо пропорционально активности панкреатина. Тирозин взаимодействует с реактивом Фолина, дает окрашенный в синий цвет комплекс, интенсивность окраски которого определяют на фотоколориметре в единицах оптической плотности.

Ход работы:

В три пробирки (контрольную и две опытные) вносят по 4 см³ 2 %-го раствора казеина (1 г казеина растворяют в 50 см³ 0,06 н НСl в мерной колбе).

Для выравнивания температуры пробирки помещают на 10 мин. в термостат при 37 °С.

После термостатирования во все пробирки вносят по 1 см³ раствора панкреатина (2 мг панкреатина растворяют в 50 см³ 0,06 н НСl). В одну из пробирок (контрольную) одновременно с панкреатином добавляют 5 см³ 10 %-го раствора ТХУ – для инактивации фермента и осаждения белков.

Две опытные пробирки помещают в термостат при 37 – 40 °С. Одну выдерживают в течение 15 мин., другую – 30 мин., после чего в них наливают по 5 см³ 10 %-го ТХУ, дают сформироваться осадку (охлаждают в прохладной воде) и затем содержимое всех трех пробирок фильтруют через бумажный фильтр в чистые пробирки.

В фильтрате проводят определение тирозина: к 1 см³ фильтрата из каждой опытной и контрольной пробы добавляют по 5 см³ реактива Фолина и через 10 мин. определяют оптическую плотность окрашенных растворов на ФЭКе в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны $\lambda = 630$ нм.

Количество тирозина определяют по величине оптической плотности (D) с использованием калибровочного графика.

Полученные результаты:

Величина оптической плотности контрольного ($D_{\text{конт}}$) и опытного образцов ($D_{\text{опыт}}$).

$D_{\text{конт}} - 0,06;$

$D_{\text{опыт}} - 0,56.$

Построение градуировочной кривой

Для расчета протеолитической активности необходимо построить градуировочную кривую по тирозину. Затем по градуировочной кривой вычислить тирозиновый эквивалент, т.е. ту оптическую плотность, которую бы дал 1 мкмоль тирозина в 1 см³ стандартного раствора.

Ход работы

Для построения градуировочной кривой готовят раствор тирозина концентрации 10³ М. Для этого 181,19 мг чистого тирозина растворяют в 0,2 н растворе HCl в мерной колбе емкостью 1 дм³. Из этого исходного раствора тирозина готовят дальнейшие разведения следующим образом.

Раствор 1. В мерную колбу емкостью 50 см³ вносят 1 см исходного раствора тирозина и доводят объем до метки 0,2 н раствором HCl. Концентрация тирозина (C_1) при этом составляет $0,2 \times 10^{-4}$ М или 0,02 мкмоль/см³.

Последующие растворы готовят аналогичным образом:

Раствор 2. 2 см³ исходного раствора C₂ – 0,4×10⁻⁴ М или 0,04 мкмоль/см³;
Раствор 3. 4 см³ исходного раствора C₃ – 0,8×10⁻⁴ М или 0,08 мкмоль/см³;
Раствор 4. 5 см³ исходного раствора C₄ – 1,0×10⁻⁴ М или 0,10 мкмоль/см³;
Раствор 5. 7,5 см³ исходного раствора C₅ – 1,5×10⁻⁴ М или 0,15 мкмоль/см³;
Раствор 6. 10 см³ исходного раствора C₆ – 2,0×10⁻⁴ М или 0,2 мкмоль/см³;
Раствор 7. 15 см³ исходного раствора C₇ – 3,0×10⁻⁴ М или 0,3 мкмоль/см³.

Затем в пробирки вносят по 1 см³ раствора тирозина разной концентрации. Добавляют в них при постоянном перемешивании по 5 см³ **М** раствора углекислого натрия и 1 см³ рабочего раствора рекатива Фолина.

Контрольный опыт готовят также, но вместо раствора тирозина берут 1 см³ дистиллированной воды. Дают реакционной жидкости постоять 20 мин. Интенсивность окраски измеряется фотоколориметром против контрольной пробы при длине волны $\lambda = 656-670$ нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Параллельно проводят два опыта. По средним данным, полученным из двух опытов, строим градуировочную кривую. При этом на оси абсцисс откладывается количество тирозина (C) в мкмоль/ см³, на оси ординат – соответствующие значение оптической плотности (D).

Обработка полученных результатов:

Протеолитическую активность (ПС) в ед/г или ед/см³ вычисляют по формуле:

$$ПС = (D \times 4 / TE) \times 15m \times 1000, \quad (9.3)$$

где D – оптическая плотность опытного образца, измеренная на фотоколориметре при толщине поглощающего слоя 10 мм;

4 – отношение объемов реакционной смеси и раствора фермента после добавления ТХУ;

TE – тирозиновый эквивалент, определяемый по градуировочной кривой;

15 – время гидролиза субстрата, мин.;

m – количество ферментного препарата, взятого на протеолиз (в мг на 1 см³ ферментного раствора);

1000 – переводной коэффициент полученных единиц на 1 г ферментного препарата (панкреатина).

ТЕ определим по формуле:

$$TE = (a - b) \times \tau \times 10 / 1, \quad (9.4)$$

где a – количество тирозина в фильтрате опытной пробы, найденное по графику, мкг/см³ (из калибровочного графика (см. рис.2.4) $a = 0,2$);

b – количество тирозина в фильтрате контрольной пробы, мкг/см³ ($b = 0,02$);

τ – время инокулирования (15 мин.).

$$TE = (0,2 - 0,02) \times 15 \times 10 / 1 = 30,3 \text{ мкг/мин} \times \text{см}^3.$$

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Технология выделения ферментных препаратов из сырья животного происхождения.

2. Технология получения ферментных препаратов из культур микроорганизмов.

3. Применение ферментных препаратов в пищевой промышленности.

Защита работы проводится на следующем после ее выполнения лабораторном занятии в форме устного опроса.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 2

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Производство ферментных препаратов является одной из наиболее масштабных и динамически развивающихся отраслей биотехнологии. Большие объемы производства и широкий ассортимент ферментных препаратов обусловлены их востребованностью в различных отраслях промышленности, медицине, научных исследованиях.

В соответствии с современной классификацией идентифицировано около 2000 ферментов. Промышленностью выпускается около 250 наименований ферментных препаратов. При этом порядка 99% приходится на препараты 18 ферментов. Основными из них являются:

- бактериальные и грибные протеиназы;
- бактериальные и грибные α -амилазы, глюкоамилазы, декстраназы;
- глюкозоизомеразы;
- молокосвертывающие ферментные препараты;
- пектолитические, целлюлолитические и гемицеллюлолитические препараты;
- дрожжевые, бактериальные и грибные β -галактозидазы;
- препараты β -фруктофуранозидазы;
- липазы и липоксигеназы.

Наибольший удельный вес в общем объеме производства (до 60 %) занимают α -амилазы для переработки крахмала и протеиназы, выпускаемые для синтетических моющих средств. Другими потребителями ферментных препаратов являются (в %): производство соков и вин – 10; спиртовая промышленность – 8; пивоварение – 6; сыроделие – 5; хлебопечение – 5; прочие отрасли -6. В ближайшие 10-15 лет наиболее востребованными для промышленного производства будут ферментные препараты, содержащие амилазы, протеиназы, глюкозоизомеразу, целюлазы, мацеразы, молокосвертывающие ферменты. Перспективным является получение комплексных ферментных препаратов и мультиэнзимных комплексов для использования в определенных биотехнологических производствах, в т.ч. в пищевой биотехнологии.

Классификация и номенклатура ферментных препаратов.

По современной классификации ферменты подразделяют на шесть классов: 1) оксидоредуктазы; 2) трансферазы; 3) гидролазы; 4) лиазы; 5) изомеразы; 6) лигазы (синтетазы). Большинство производимых промышленностью ферментных препаратов являются препаратами гидролитических ферментов. В состав ферментных препаратов помимо основного фермента входят, как правило, ряд сопутствующих ферментов и других веществ белковой природы. В связи с этим, товарные ферментные препараты классифицируют по основному веществу.

В России используется система названий ферментных препаратов, в которой учитывается природа основного фермента, источник получения и степень очистки. Наименование препаратов включает сокращенное название основного фермента и видовое название продуцента. После названия препарата указывается способ культивирования продуцента (Г- глубинное, П – поверхностное), далее следует буква х. Для очищенных препаратов также указывается степень очистки:

2 – жидкий неочищенный концентрат исходной культуры;

3 - сухой препарат, полученный путем распылительной сушки неочищенного раствора фермента (экстракта из поверхностной культуры или культуральной жидкости);

10 – сухие препараты, полученные осаждением ферментов органическими растворителями или методом высаливания;

15, 18, 20 – препараты очищенные от балластных веществ и частично от сопутствующих ферментов.

Для препаратов с индексом очистки выше 20 указанная номенклатура не применяется, т.к. речь идет о высокоочищенных или гомогенных ферментах. Для таких препаратов используют наименования в соответствии с существующей номенклатурой и классификацией ферментов. Тривиальные названия также используются для препаратов ферментов, выделенных из растительных или животных источников.

В настоящее время в пищевой промышленности используют следующие группы ферментных препаратов.

Амилолитические препараты – по основному ферменту подразделяют на препараты α - и β -амилазы, декстраназы и α -глюкозидазы. Основными

промышленными продуцентами являются штаммы грибов рода *Aspergillus* (*A. awamori*, *A. niger*, *A. oryzae*) и бактерий рода *Bacillus* (*Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*). Основными потребителями являются спиртовая, крахмало-паточная пивоваренная и хлебопекарная отрасли пищевой промышленности. В пищевых производствах используют препараты низкой степени очистки, представляющие собой смеси различных гликолитических ферментов.

Пектолитические препараты – подразделяют на пектингидролазы и ферменты класса лиаз, катализирующие расщепление пектиновых веществ с образованием двойной связи в продуктах расщепления. Гидролазы в составе препаратов представлены пектинэстеразами и полигалактуроназами, а лиазы – пектинтрансэлиминазами и протопектиназами. Основными промышленными продуцентами являются *A. awamori* и *Clostridium pectinofermentans*. Пектолитические препараты применяются в производстве консервированных фруктов, для осветления соков и вин.

Целлюлолитические препараты – в их состав входят эндоглюканаза (1,4-β-D-глюкан-4-глюканогидролаза), 1,4-β-глюкозидаза, целлобиогидролаза, β-глюкозидаза. В ферментной промышленности для получения данной группы ферментов используют культуры грибов родов *Trichoderma*, *Geotrichum* и некоторые виды бактерий рода *Clostridium*. Применяют препараты целлюлаз в спиртовой, пивоваренной, пищеконцентратной промышленности для осахаривания различных растительных материалов.

Липолитические препараты – получают из источников животного, растительного (семена масличных растений) и микробиологического происхождения. Для промышленного синтеза рекомендованы бактериальные культуры родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, дрожжи *Candida lipolytica*, грибы родов *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*. Наиболее широко липолитические препараты используются в масложировой промышленности для частичного или полного гидролиза триацилглицеринов, а также в реакциях направленного синтеза и переэтерификации моно- ди- и триглицеридов жирных кислот.

Протеолитические препараты – источники получения: эндокринно-ферментное сырье, плоды некоторых тропических растений, культуры микроорганизмов. К промышленным продуцентам протеиназ относятся бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, грибы родов *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Ферменты данной группы используются при

производстве мясных, рыбных изделий и полуфабрикатов, в молочной промышленности (молокосвертывающие ферментные препараты); в пивоварении, виноделии, спиртовой, крахмало-паточной промышленности при переработке крахмалсодержащего сырья, в хлебопечении.

Препараты β -галактозидазы (лактазы) – различают препараты нейтральной и кислой β -галактозидазы. Продуцентами нейтральных β -галактозидаз являются дрожжи *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marianus*, бактерии *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus sporogenes*, а также мутантные штаммы *E. coli*, для получения кислых β -галактозидаз используют грибные культуры *Penicillium canescentis*, *Curvularia inaequalis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*. Процесс ферментативного гидролиза лактозы молочного сырья может быть использован для получения следующих групп продуктов и препаратов:

- низколактозные и делактозированные продукты цельномолочного производства;
- напитки и концентраты на основе молочной сыворотки с гидролизованной лактозой;
- глюкозо-галактозные сиропы как сахарозаменители для кисломолочных продуктов, мороженого, кондитерского производства;
- углеводные модули на основе лактозосодержащего сырья для продуктов функционального питания;
- высокоочищенные препараты галактозы.

Препараты β -фруктофуранозидазы (инвертазы) – продуцентами данного фермента являются дрожжи родов *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*, *S. rouxii*, *S. carlsbergensis*, *S. vini*) и *Candida* (*C. utilis*, *C. kefir*); грибы *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*; бактерии *Bacillus subtilis*, *Streptomyces mutans*, *E. coli*. Применяют при производстве глюкозо-фруктозных сиропов и в кондитерской промышленности в технологических процессах, сопряженных с реакцией инверсии сахарозы.

Препараты глюкозооксидазы и каталазы – источниками получения являются грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Используют в кондитерской, пищекопцентратной, пивоваренной промышленности, при производстве соков и напитков для удаления из продуктов глюкозы и кислорода (предотвращение окислительной порчи).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКЕ

Цель работы: изучить требования к молочной сыворотке, как сырью для промышленного культивирования микроорганизмов; рассмотреть современные способы биотехнологической переработки молочной сыворотки; разработать технологические схемы производства целевых продуктов; исследовать влияние состава питательной среды на процессы биосинтеза биологически активных веществ молочнокислыми и пропионовокислыми микроорганизмами; освоить методики определения продуктов молочнокислого и пропионовокислого брожения в ферментированной сыворотке.

Теоретическое обоснование.

Молочная сыворотка является перспективным видом сырья промышленной биотехнологии. Актуальность использования молочной сыворотки в качестве основы питательных сред для культивирования промышленных продуцентов этанола, органических кислот, белковых и биологически активных веществ и других целевых продуктов биотехнологии обусловлена следующими факторами:

- высокое содержание лактозы (4,2-4,7 % при массовой доле сухих веществ 6,0-6,5 %), ассимилируемой многими микроорганизмами в качестве одного из основных источников углерода;
- наличие в составе молочной сыворотки органических соединений азота, водорастворимых витаминов, макро- и микроэлементов;
- дешевизна и доступность по сравнению препаратами углеводов, используемых при приготовлении синтетических питательных сред;
- необходимость разработки технологий рациональной переработки молочной сыворотки на продукты пищевого и кормового назначения;
- исключение сброса молочной сыворотки в канализацию, на поля орошения и фильтрации.

Результаты исследований отечественных и зарубежных ученых подтвердили возможность и целесообразность биотехнологической переработки молочной сыворотки для получения следующих групп целевых продуктов:

- органических кислот (молочной, уксусной, пропионовой, лимонной);
- этилового спирта и глицерина;
- концентратов витаминов группы В;
- белково-витаминных и каротинсодержащих концентратов;
- ферментных препаратов.

Микроорганизмы, которые могут быть использованы в биотехнологических процессах переработки молочной сыворотки, в зависимости от способности усваивать источники углеродного и азотного питания можно разделить на три группы.

1) Микроорганизмы, усваивающие лактозу и белки молочной сыворотки, для которых в качестве основы питательной среды используется натуральная или сгущенная до массовой доли сухих веществ (18 – 20)% молочная сыворотка. К этой группе относятся молочнокислые бактерии и палочки, дрожжи родов *Kluyveromyces* и *Torulopsis*.

2) Микроорганизмы, ассимилирующие лактозу, для которых сывороточные белки являются недоступным или труднодоступным источником азота. Для процессов культивирования данной группы продуцентов используются среды на основе депротеинизированной молочной сыворотки, скорректированные по азоту, фосфору и другим элементам, или на основе молочной сыворотки, обработанной препаратами протеолитических ферментов. Примерами подобных микроорганизмов являются бактерии рода *Clostridium*, грибы *Aspergillus niger*.

3) Микроорганизмы, не усваивающие лактозу или для которых предпочтительными являются другие источники углерода. В данном случае возможно совместное (пропионовокислые бактерии) или постадийное (уксуснокислые бактерии) культивирование с молочнокислыми микроорганизмами, а также предварительная обработка молочной сыворотки препаратами лактазы (дрожжи-сахаромицеты). Основные направления применения культур микроорганизмов при переработке молочной сыворотки представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Направления биотехнологической переработки молочной сыворотки.

Микроорганизмы-продуценты	Целевые продукты
Гомоферментативные молочно-кислые бактерии	Молочная кислота, бакконцентраты, белково-витаминные концентраты, низин.
Гетероферментативные молочно-кислые бактерии	Напитки из молочной сыворотки, белковые пасты, бакконцентраты.
Пропионовокислые бактерии	Белково-витаминные концентраты, уксусная и пропионовая кислоты, витамин В ₁₂ .
Уксуснокислые бактерии	Уксусная кислота, столовый уксус.
Клостридии	Ацетон и бутанол, масляная кислота, рибофлавин.
Дрожжи	Этиловый спирт и глицерин, белково-витаминные концентраты, биожир, каротиноиды, рибофлавин.
Микроскопические грибы	Лимонная кислота, антибиотики, ферментные препараты, белково-витаминные концентраты, биожир, каротиноиды, рибофлавин.

Перспективным направлением переработки молочной сыворотки является получение белково-витаминных концентратов на основе биомассы молочнокислых и пропионовокислых бактерий, обогащенных витаминами группы В, а также концентратов и препаратов водорастворимых витаминов пищевого назначения.

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности. Знание студентами правил техники

безопасности преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок проведения работы.

Порядок проведения работы представлен в виде блок-схемы алгоритма на рисунке 1.

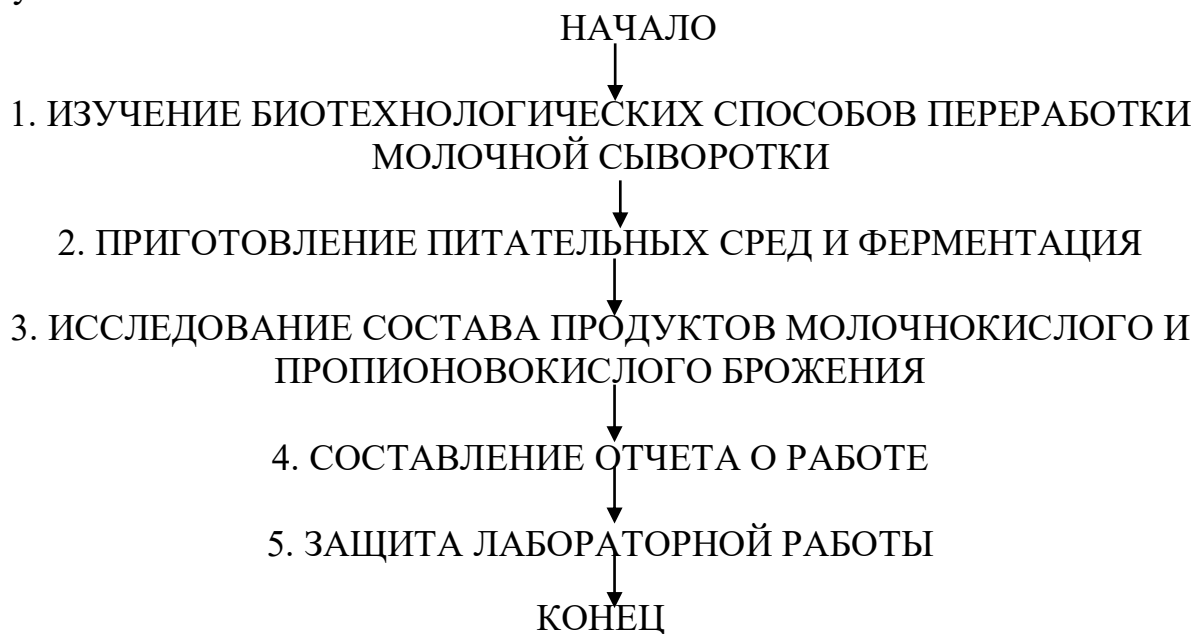


Рисунок 1. Блок-схема алгоритма выполнения лабораторной работы «Изучение технологии микробного синтеза биологически активных веществ на молочной сыворотке».

Пояснения к блокам.

БЛОК 1. Изучить по литературным источникам и лекционному материалу основные направления биотехнологической переработки молочной сыворотки. В отчете о работе следует привести краткое описание технологии получения следующих продуктов:

- органических кислот (молочной, уксусной и пропионовой, лимонной);
- этилового спирта;
- концентратов рибофлавина и витамина В₁₂;
- белково-витаминных концентратов (на примере продуктов «Промикс» и «Провилакт»).

На основании индивидуального задания (приложение А) обосновать выбор вида микроорганизмов и состава питательной среды для получения заданного целевого продукта; разработать технологическую схему получения целевого продукта и ее описание с указанием параметров основных технологических операций.

БЛОК 2. Молочную сыворотку пастеризуют при температуре 70-75°C в течение 1 часа и охлаждают до температуры заквашивания. Контролируют массовую долю лактозы в исходной сыворотке йодометрическим методом (приложение Б), содержание молочной кислоты фотокolorиметрическим

методом (приложение В), аскорбиновой кислоты (приложение Г) и витаминов группы В (приложение Д). В сыворотку вносят добавки минеральных солей (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3; K_2HPO_4 - 2,0; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,002; pH среды 6,8 - 7,0 устанавливают с помощью 10%-ного раствора NaHCO_3 и 10%-го раствора H_2SO_4 . Среду разливают по 250 см³ в конические колбы.

В качестве посевного материала по заданию преподавателя используют закваску на чистых культурах молочнокислых микроорганизмов (болгарской или ацидофильной палочки, термофильного стрептококка), симбиотическую закваску на чистых культурах молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Закваски готовят на пастеризованном или стерилизованном обезжиренном молоке. Чистоту культуры контролируют методом непосредственного микроскопирования окрашенных препаратов. При микроскопии препарата просматривают до 10 полей зрения, при этом не должно быть скопления клеток микроорганизмов. Количество посевного материала - 10% от объема питательной среды. Определяют массовую долю сухих веществ среды рефрактометрическим методом, титруемую кислотность.

Ферментацию осуществляют при температуре, оптимальной для развития исследуемой культуры микроорганизмов (для симбиотической закваски – 30°C), в течение 96 часов по четырем вариантам.

- 1) Контрольная среда без внесения добавок.
- 2) Модифицированная среда с добавлением 5% обезжиренного молока.
- 3) Модифицированная среда с внесением 5% гидролизата обезжиренного молока.
- 4) Модифицированная среда с внесением 5% дрожжевого автолизата.

Через каждые 24 часа контролируют титруемую кислотность, массовую долю сухих веществ. Результаты исследований представить в виде графических зависимостей титруемой кислотности и массовой доли сухих веществ сред от времени культивирования.

БЛОК 3. В средах до внесения закваски и по завершении ферментации определяют титруемую кислотность, массовую долю сухих веществ, лактозы, концентрацию аскорбиновой кислоты и витаминов группы В.

Результаты исследований сводят в таблицу 2.

Таблица 2 – Результаты исследований продуктов ферментации.

№ варианта	Массовая доля СВ, %		Массовая доля лактозы, %		Титруемая кислотность, °Т		Содержание молочной кислоты, мг%	Содержание кобаламинов, мкг/мл
	исх.	кон.	исх.	кон.	исх.	кон.		

БЛОК 4. Отчет о работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы и теоретическое обоснование проводимых исследований;

- алгоритм выполнения работы;
- направления биотехнологической переработки молочной сыворотки;
- технологический регламент и аппаратурно-процессовые схемы получения целевых продуктов;
- методику проведения исследований;
- результаты исследований;
- выводы.

БЛОК 5. Контрольные вопросы:

- биотехнологические процессы получения пищевых добавок;
- биотехнологические процессы получения биологически активных добавок к пище;
- направления биотехнологической переработки молочной сыворотки;
- характеристика микроорганизмов, используемых при получении целевых продуктов на молочной сыворотке;
- теоретические основы биосинтеза кобаламинов;
- методы исследования продуктов ферментации молочной сыворотки культурами молочнокислых и пропионовокислых бактерий.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

№ варианта	Целевой продукт
1	Молочная кислота
2	Лимонная кислота
3	Пропионовая и уксусная кислоты
4	Этиловый спирт
5	Концентрат рибофлавина сухой
6	Кормовой продукт «Провилакт»
7	Концентрат витамина В ₁₂ сухой

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ ЛАКТОЗЫ В МОЛОКЕ ЙОДОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

В мерную колбу на 250 см³ отвешивают 10 г молочного сырья с точностью до 0,01 г, прибавляют до половины объема дистиллированной воды, вносят 10 см³ раствора медного купороса и 4 см³ 1 н. раствора едкого натра, перемешивая жидкость после внесения каждого реактива. Содержимое колбы доливают до метки дистиллированной водой и оставляют для отстаивания на 30 минут. Отстоявшуюся жидкость профильтровывают в сухую колбу через складчатый фильтр, удаляя первые 20-30 см³ фильтрата.

50 см³ фильтрата переносят пипеткой в коническую колбу на 250-300 см³ с притертой или резиновой пробкой, добавляют 25 см³ 0,1 н. раствора йода и сейчас же при непрерывном перемешивании добавляют из бюретки 37,5 см³ 0,1 н. раствора гидроксида натрия. Закрывают колбу пробкой и оставляют в темноте на 20 минут при температуре 20°C.

Прибавляют в колбу 8 см³ 0,5 н. раствора соляной кислоты, оттитровывают выделившийся йод 0,1 н. раствором гипосульфита натрия в присутствии 1 %-го раствора крахмала. Титрование ведут медленно, сначала без прибавления индикатора (до получения светло-желтой окраски), затем прибавляют 1 см³ 1 %-го раствора крахмала и продолжают титрование до того момента, когда от 1 капли раствора гипосульфита натрия исчезнет синяя окраска.

Проводят холостую пробу, для чего в другую колбу отмеривают 25 см³ 0,1 н. раствора йода, добавляют при непрерывном перемешивании 37,5 см³ 0,1 н. раствора гидроксида натрия и, закрыв колбу, оставляют в темноте на 20 минут, а затем проводят определение, как в первой колбе.

Содержание лактозы в процентах определяют по формуле:

$$Л = [0,01801 * (а - б) * 0,97 * 100] / в,$$

где а – количество 0,1 н. раствора гипосульфита натрия, пошедшего на титрование йода в холостой пробе, см³;

б – количество 0,1 н. раствора гипосульфита натрия, пошедшего на титрование йода в фильтрате, см³;

в – количество молока в 50 см³ фильтрата (равное 2 г).

ПРИЛОЖЕНИЕ В

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ.

В колбу 250-300 см³ вносят 1 г образца, приливают 24 мл воды и из бюретки – по 5 см³ растворов BaCl₂ (197,5 г/дм³), NaOH (1 н.), ZnSO₄ (225 г/дм³). Для контроля эти реактивы в той же последовательности добавляют к 25 см³ воды. Реактивы вводят очень быстро, обязательно перемешивая после добавления каждого из них не менее 30 сек. Контрольный и исследуемый образцы фильтруют через двойной бумажный фильтр. В мерные цилиндры на 100 см³ вносят фильтрат и 0,5 см³ 1%-го раствора FeCl₂, доливают до объема 100 см³ водой.

Колориметрируют на ФЭКе при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Показание оптической плотности по калибровочному графику соответствует процентному содержанию молочной кислоты.

Для построения графика подготавливают растворы кислоты 1,10,20,30,40,50 мг в 10 см³. Колориметрируют подвергнутые осаждению и неосажденные растворы. Поправочный коэффициент, учитывающий потери молочной кислоты с осадком составляет +0,11 по оптической плотности или +0,007 в пересчете на молочную кислоту.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ

К 50 см³ молочной сыворотки приливают 4 см³ насыщенного раствора щавелевой кислоты, взбалтывают и добавляют 10 см³ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и фильтруют. 25 см³ фильтрата переносят в коническую колбу, титруют из микробюретки 0,001 н. раствором 2,6 дихлорфенолиндофенола до розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 секунд. Если результаты титрования параллельных проб не совпадают, производят титрование еще двух проб.

1 см³ 0,001 н. раствором 2,6 дихлорфенолиндофенола эквивалентен 0,088 мг аскорбиновой кислоты, следовательно содержание аскорбиновой кислоты (в мг %) в сыворотке можно рассчитать по формуле

$$C = V_{\text{титр}} * 0,088 * 100 / V_{\text{ал}} \quad (8.2)$$

где $V_{\text{титр}}$ – объем раствора 2,6 дихлорфенолиндофенола, пошедший на титрование;

$V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты (25 см³).

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ В
ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Осаждение белков молочной сыворотки проводят по методике, применяемой при определении содержания аскорбиновой кислоты. Полученный фильтрат используют для определения содержания рибофлавина, тиамин, пиридоксина и никотиновой кислоты.

Определение содержания рибофлавина. Измеряют оптическую плотность фильтрата на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре относительно дистиллированной воды при длине волны 270-280 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание рибофлавина определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы рибофлавина с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг % и колориметрируют относительно дистиллированной воды при длине волны 270 – 280 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Определение содержания тиамин. К 10 см³ фильтрата добавляют 1-2 капли 5 %-го раствора железосинеродистого калия, 10 капель 10 %-го раствора NaOH, перемешивают и нагревают на водяной бане до появления желтого окрашивания. Фильтрат охлаждают и измеряют оптическую плотность относительно дистиллированной воды при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание тиамин определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы тиамин с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг %, проводят цветную реакцию по описанной выше методике и колориметрируют относительно дистиллированной воды при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Определение содержания никотиновой кислоты.

К 10 см³ фильтрата добавляют 1 см³ 1 н. раствора KOH, 0,3 см³ 10 %-го раствора уксусной кислоты, 10 см³ 5 %-го раствора сульфата меди. Определяют оптическую плотность раствора относительно дистиллированной воды при длине волны 590 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание никотиновой кислоты определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы тиамин с концентрацией 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 мг %, проводят цветную реакцию и колориметрируют относительно дистиллированной воды при длине волны 590 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Определение содержания пиридоксина.

К 10 см³ фильтрата добавляют 2 см³ 5 %-го раствора хлорного железа. Определяют оптическую плотность раствора относительно дистиллированной воды при длине волны 490 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание пиридоксина определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы тиамин с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг %, проводят цветную реакцию и

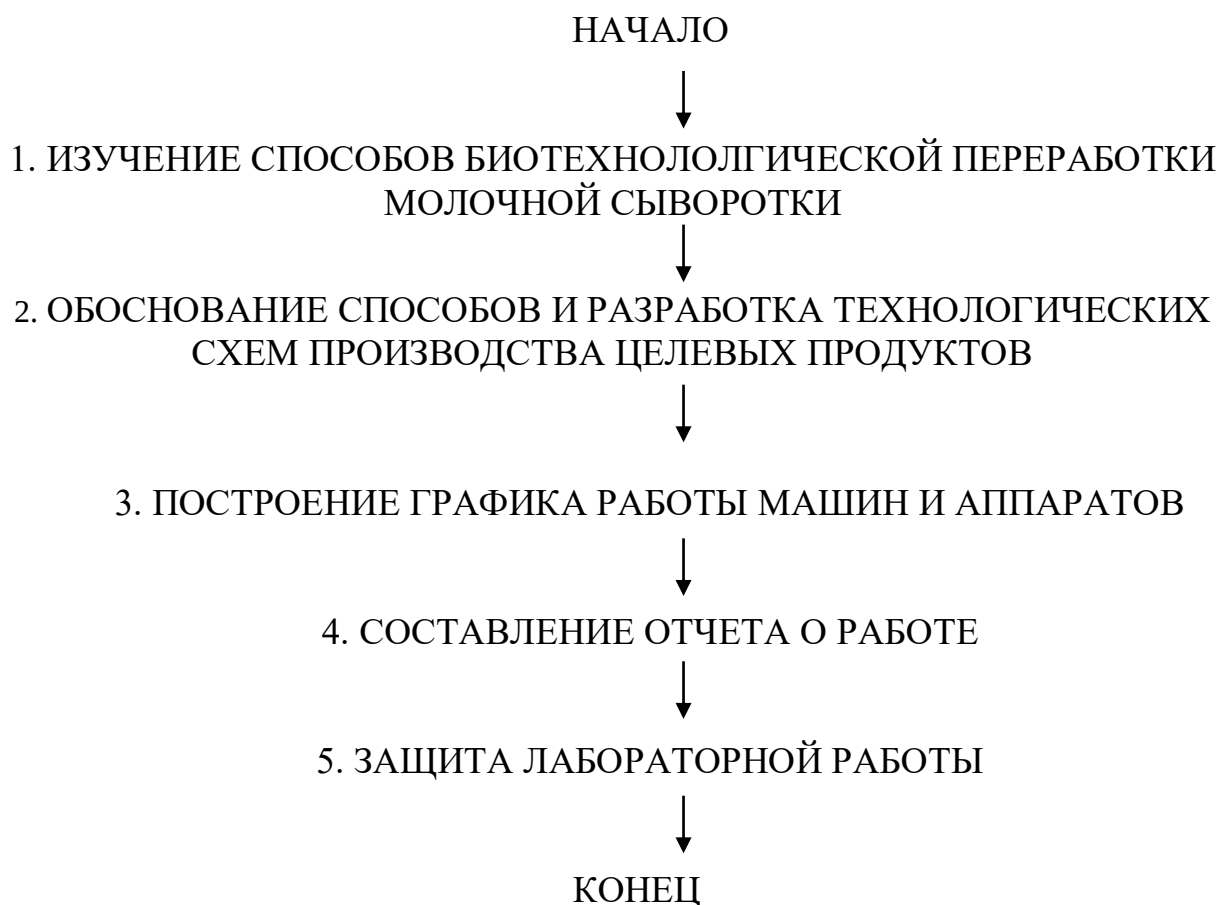
колориметрируют относительно дистиллированной воды при длине волны 490 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 3

ИЗУЧЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕРАБОТКИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Цель работы: рассмотреть современные способы биотехнологической переработки молочной сыворотки; обосновать выбор рецептур питательных сред, микроорганизмов-продуцентов и технологических режимов получения целевых продуктов при культивировании на молочной сыворотке; разработать технологические схемы производства целевых продуктов; построить график работы машин и аппаратов.

АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ



Блок 1. Основные направления биотехнологической переработки молочной сыворотки изучаются по литературным источникам и лекционному материалу. В отчете о работе следует привести краткое описание технологии получения следующих продуктов:

- органических кислот (молочной, уксусной, пропионовой, лимонной);
- этилового спирта и глицерина;
- концентратов витаминов группы В;
- каротинсодержащих концентратов;
- белково-витаминных концентратов.

Блок 2. На основании индивидуального задания (приложение 5) обосновать выбор вида микроорганизмов и состава питательной среды для получения заданного целевого продукта; разработать технологическую схему получения целевого продукта и ее описание с указанием параметров основных технологических операций.

Блок 3. По данным приложения 2 провести материальный расчет целевого продукта. По данным материального расчета построить график работы машин и аппаратов.

Блок 4. Отчет по работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы;
- описание биотехнологических способов переработки молочной сыворотки;
- технологическую схему, описание разработанного способа получения целевого продукта, материальный расчет;
- график работы машин и аппаратов;
- выводы.

Блок 5. Контрольные вопросы:

- виды, состав и свойства молочной сыворотки как сырья для биотехнологической переработки;

- биотехнология получения молочной и других органических кислот на основе брожения лактозы;
- биотехнологические способы получения органических кислот, основанные на окислении лактозы;
- микробный синтез витаминов группы В на основе брожения и окисления лактозы;
- микробный синтез каротиноидов на молочной сыворотке;
- биотехнологические способы производства этанола и глицерина, основанные на брожении лактозы;
- технологические особенности микробного синтеза белков и липидов на молочной сыворотке;
- общие принципы составления графика работы машин и аппаратов.

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

№ варианта	Целевой продукт
1	Молочная кислота техническая
2	Лимонная кислота (глубинный способ)
3	Этиловый спирт-сырец
4	Концентрат рибофлавина сухой
5	Сухой белково-каротиноидный препарат
6	Кормовой продукт «Провилакт»
7	Сухой белково-жировой препарат

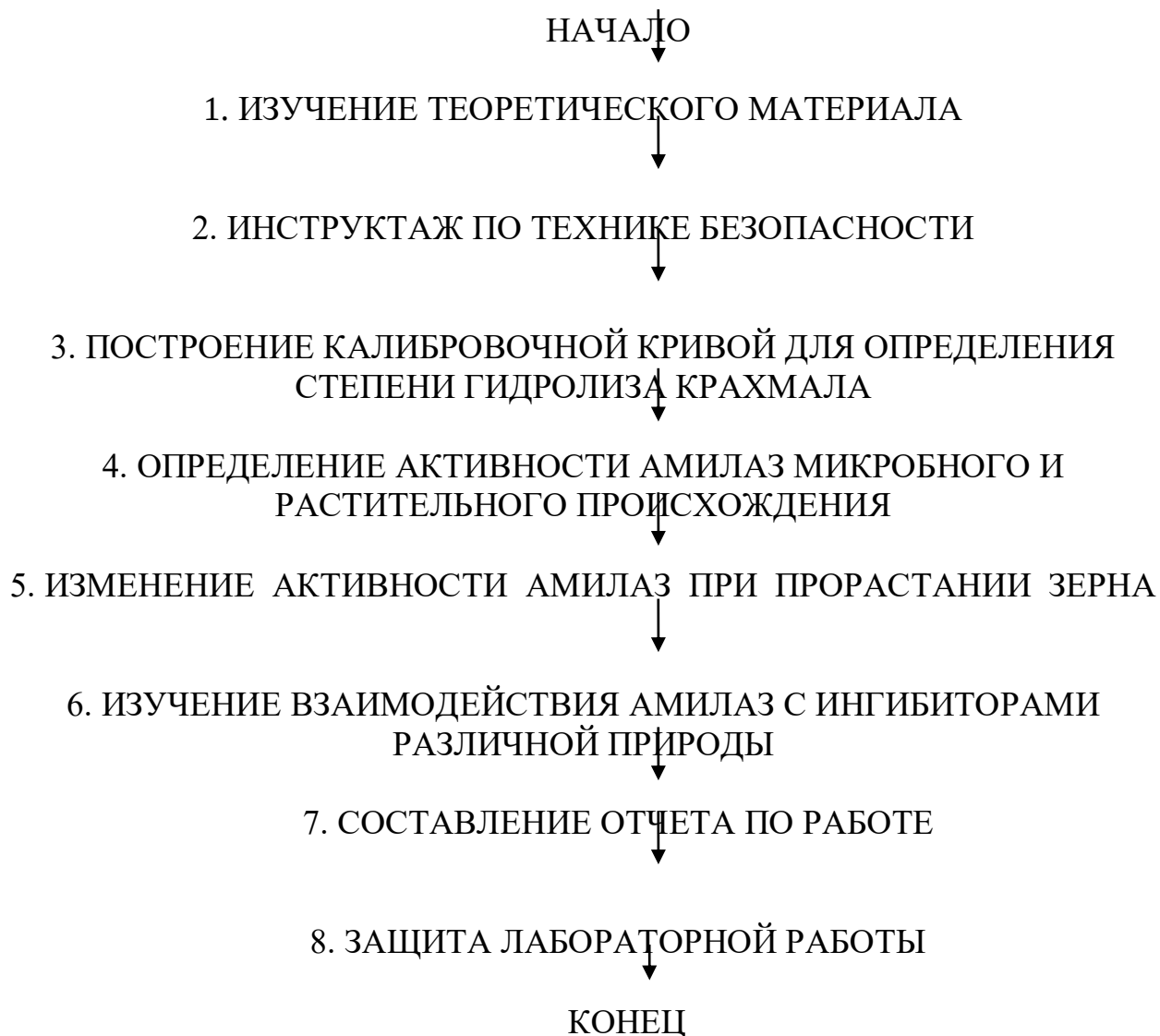
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АМИЛАЗ

МИКРОБНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Цель работы: выделить и исследовать свойства окислительно-восстановительных ферментов и гидролаз; определить активность препаратов амилазы различного происхождения; изучить взаимодействие амилаз с ингибиторами различной природы.

АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ



Блок 1. Микроорганизмы обладают специфическим для каждого вида набором ферментов, катализирующих процессы катаболизма и анаболизма клетки. По типу важнейших биохимических процессов, лежащих в основе жизнедеятельности любого организма, ферменты делятся на 6 классов.

1-й класс: оксидоредуктазы – катализируют окислительно-восстановительные реакции.

2-й класс: трансферазы – катализируют реакции переноса функциональных групп и молекулярных остатков;

3-й класс: гидролазы – катализируют реакции гидролитического распада.

4-й класс: лиазы – катализируют все реакции негидролитического отщепления от субстратов определенных групп атомов с образованием двойной связи (или присоединяют группы атомов по двойной связи);

5-й класс: изомеразы – катализируют пространственные или структурные перестройки в пределах одной молекулы;

6-й класс: лигазы - катализируют реакции синтеза, сопряженные с распадом богатых энергией связей.

Ключевую роль в подготовке компонентов питательной среды к транспорту через цитоплазматическую мембрану и включению в процессы катаболизма играют гидролитические ферменты. Расщепление макромолекул полисахаридов, белков и пептидов, полинуклеотидов, липидов катализируют внеклеточные гидролазы, секретируемые микробной клеткой во внешнюю среду. Синтез данных ферментов и их транспорт через мембрану реализуется при наличии в среде индуктора, как правило, конечного или промежуточного продукта гидролиза высокомолекулярного соединения.

Особое значение для поддержания метаболизма клетки имеют гликолитические ферменты, ответственные за подготовку к транспорту в клетку углеродных субстратов. Гликолитические ферменты подразделяют на следующие группы:

- гликозидазы – катализируют гидролиз олигосахаридов и гликозидов (глюкозидазы, галактозидазы, инвертаза);
- гликаназы – обеспечивают гидролитический распад полисахаридов крахмала (амилазы), пектиновых веществ (полигалактуроназы), инулина (инулаза);
- целлюлазы – катализируют гидролиз целлюлозы.

Амилазы широко распространены в природе. Помимо микробных амилаз в биотехнологических процессах нашли применение амилалитические препараты растительного происхождения. В зависимости от характера фермента разрыв гликозидных связей между остатками α -D-глюкопиранозы в молекуле крахмала и присоединение по месту разрыва элементов воды (H и OH-группа) может происходить в различных позициях. Соответственно этому конечными продуктами гидролиза крахмала оказываются либо глюкоза, либо мальтоза, либо олигосахариды.

В процессе постепенного укорочения молекулы крахмала в результате гидролитического отщепления моносахаридных, дисахаридных или олигосахаридных звеньев в качестве промежуточных продуктов возникают декстрины. Наличие и динамику их образования легко установить, прослеживая изменение окраски крахмала с иодом от синей до красно-бурой в процессе ферментативного гидролиза крахмала.

Влияние на ферменты активаторов и ингибиторов. К числу агентов, повышающих активность ферментов, относятся ионы многих металлов и некоторые анионы. Особенно часто активаторами ферментов бывают Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , K^+ и Co^{2+} , а из анионов – Cl^- . В одних случаях ионы металлов входят в состав простетической группы ферментов, в других – облегчают образование фермент-субстратного комплекса, в третьих – способствуют присоединению кофермента к апоферменту, в четвертых – обеспечивают становление четвертичной структуры фермента или же действуют иными путями.

Механизм ингибирующего действия разнообразен, но в большинстве сводится к двум типам торможения: необратимому и обратимому. При необратимом торможении ингибитор, обладающий структурным сходством (изостерией) с субстратом, соединяется с ферментом, подменяя собой субстрат. При необратимом ингибировании фермента ингибитор может не обладать структурным сходством с субстратом, т.е. может модифицировать фермент вне его активного центра, тем не менее резко изменяя каталитическую активность

последнего вследствие нарушения конформации как фермента в целом, так и его активного центра.

Обратимое ингибирование может быть конкурентным и неконкурентным. Классическим примером конкурентного ингибирования ферментативной активности является торможение действия дегидрогеназы янтарной кислоты дикарбоновыми кислотами (малоновая, глутаровая), близкими по структуре к янтарной кислоте: между ними идет конкуренция за связывание в активном центре фермента. При неконкурентном торможении ингибитор взаимодействует с апоферментом или протетической группой, вследствие чего фермент теряет активность. Одним из вариантов такого торможения может служить блокирование ферментов тяжелыми металлами (ртуть, мышьяк, свинец и др., которые присоединяются к сульфгидрильным группам полипептидной цепи), солями синильной кислоты, оксидом углерода (II) и др.

Некоторые особенности взаимодействия амилаз разного происхождения с крахмалом и с ингибиторами можно проследить на простых модельных системах. Для этого удобно использовать характерную реакцию крахмала с иодом. По мере расщепления крахмала амилазами снижается интенсивность окраски комплекса «крахмал-иод». Ослабление окраски может быть зафиксировано путем измерения оптической плотности раствора.

Блок 3. На первом этапе проводят выбор светофильтра фотоэлектроколориметра. В пробирке смешивают 2 мл раствора крахмала концентрации 0,2 мг/мл (рабочий раствор крахмала разводят в 10 раз) и 2 мл раствора иода. На фотоэлектроколориметре измеряют оптическую плотность комплекса «крахмал-иод» при всех светофильтрах. Результаты заносят в таблицу 1 и строят график изменения оптической плотности при разных длинах волн. Для дальнейшей работы выбирают светофильтр, соответствующий максимальному поглощению.

Таблица 1 – Результаты измерений оптической плотности раствора

Длина волны, нм	380	415	500	530	600	630	720
Цвет светофильтра							
Оптическая плотность, (A)							

Для построения калибровочной кривой используют рабочий раствор крахмала с концентрацией 2,0 мг/мл. Из него готовят растворы с меньшей концентрацией по схеме:

- | | |
|--|-------------|
| 1. Рабочий раствор крахмала | - 2,0 мг/мл |
| 2. 7,5 мл (1) + 2,5 мл H ₂ O | - 1,5 мг/мл |
| 3. 5,0 мл (1) + 5,0 мл H ₂ O | - 1,0 мг/мл |
| 4. 4,5 мл (1) + 5,5 мл H ₂ O | - 0,9 мг/мл |
| 5. 4,0 мл (1) + 6,0 мл H ₂ O | - 0,8 мг/мл |
| 6. 3,5 мл (1) + 6,5 мл H ₂ O | - 0,7 мг/мл |
| 7. 3,0 мл (1) + 7,0 мл H ₂ O | - 0,6 мг/мл |
| 8. 2,5 мл (1) + 7,5 мл H ₂ O | - 0,5 мг/мл |
| 9. 2,0 мл (1) + 8,0 мл H ₂ O | - 0,4 мг/мл |
| 10. 1,5 мл (1) + 8,5 мл H ₂ O | - 0,3 мг/мл |
| 11. 1,0 мл (1) + 9,0 мл H ₂ O | - 0,2 мг/мл |
| 12. 0,5 мл (1) + 9,5 мл H ₂ O | - 0,1 мг/мл |

Содержимое пробирок перемешивают, из каждой пробирки отбирают по 2 мл раствора и переносят в пробирки с 2 мл раствора иода. В качестве контроля используют пробу, в которой вместо раствора крахмала взята дистиллированная вода. Оптическую плотность комплекса «крахмал-иод» измеряют на фотоэлектроколориметре при выбранном светофильтре. Измерения начинают с наименее окрашенных проб, последовательно переходя к пробам с более интенсивной окраской. Все замеры дублируются 2-3 раза. Полученные результаты вносят в таблицу 2.

Таблица 2 – Данные для построения калибровочной кривой

Крахмал, мг/мл	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,5	2,0
Оптическая плотность (A)												

По полученным данным строят калибровочную кривую в координатах: «оптическая плотность – концентрация крахмала», используя при этом все полученные результаты.

Блок 4. В работе могут быть использованы препараты амилаз различного происхождения (солодовые амилазы, амилазы микробного происхождения). Для выделения амилазы из биомассы дрожжей используют методику, аналогичную способу получения препарата дрожжевой инвертазы.

При работе с солодовыми амилазами готовят солодовую вытяжку в соотношении 1:20. Для этого к 2,5 г размолотого солода добавляют 50 мл дистиллированной воды, интенсивно перемешивают в течение 3 мин, затем центрифугируют и надосадочную жидкость используют для определения активности амилаз.

Работа проводится с разными концентрациями фермента, для чего исходный раствор разводят в 5, 10, 20 и 50 раз. В пробирку вносят 5 мл раствора крахмала (2 мг/мл), 4 мл воды и 1 мл фермента. Содержимое пробирок быстро перемешивают и отбирают пробы по 2 мл через 0, 5, 10, 15 и 20 мин после внесения фермента. Каждую отобранную пробу сразу же переносят в заранее приготовленные пробирки с 2 мл раствора иода на 0,1 н НС1. Измеряют оптическую плотность комплекса «крахмал-иод» на фотоэлектроколориметре при выбранном светофильтре. Интервалы времени между отборами проб могут быть сокращены или увеличены в зависимости от интенсивности гидролиза крахмала. Полученные данные вносят в таблицу 3. По калибровочной кривой определяют степень гидролиза крахмала.

Таблица 3 – Результаты определения активности амилаз

Вариант	Кратность разведения	Активность амилаз														
		Оптическая Плотность (А)					Крахмал, мг (Х)					Крахмал, мг (С-Х)				
		0	5	10	15	20	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
1	5															
2	10															
3	20															
4	50															

Примечание: Х – остаточная концентрация крахмала;

С – исходная концентрация крахмала с учетом разведения;

(С-Х) – количество прогидролизованного крахмала.

Полученные результаты используют для построения кривых хода ферментативной реакции гидролиза крахмала при разных концентрациях (разведениях) фермента, определения начальной скорости и выявления зависимости ее от концентрации фермента.

Блок 5. В работе используют непроросшее зерно и зерно различных сроков прорастания (одни сутки, двое и трое суток). Солодовую вытяжку получают по описанной выше методике. При этом необходимо учитывать увеличение активности амилаз при прорастании и перед определением активности амилаз солода провести разведение вытяжки согласно данным, полученным при определении активности.

Определение активности амилаз для всех вариантов проводят согласно принятой методике. Полученные данные вносят в таблицу 4, учитывая кратность разведения амилаз.

Таблица 4 – Изменение активности амилаз

Материал	Кратность разведе- ния	Время гидроли- за, мин	Активность амилаз		
			Оптическая плотность (А)	Крахмал, мг, (X)	Крахмал, мл (С – X)
Непророс- шее зерно		0			
		5			
		10			
		15			
		20			
1 сутки пророста- ния		0			
		5			
		10			
		15			
		20			
2 суток пророста- ния		0			
		5			
		10			
		15			
		20			
3 суток пророста- ния		0			
		5			
		10			
		15			
		20			

Примечание:

X – остаточная концентрация крахмала;

С– исходная концентрация крахмала с учетом разведения;

(С-X) – количество прогидролизованного крахмала.

По полученным данным строят графики:

- изменения активности амилаз при разных сроках прорастания зерна в координатах: количество прогидролизованного крахмала – время гидролиза;
- зависимости активности солодовых амилаз ($V_{нач.}$) от времени прорастания зерна (сутки).

Блок 6. В качестве ингибиторов амилаз используют 0,5 %-й раствор сульфата меди и картофельный сок, в котором содержатся мощные ингибиторы амилаз белковой природы. В качестве источника фермента используют солодовую вытяжку с наибольшей активностью.

Инкубационную смесь готовят согласно таблице 4, причем субстрат вносят в последнюю очередь после 10 минутной выдержки фермента с ингибитором. Далее активность амилаз определяют по принятой методике.

Полученные данные вносят в таблицу 5. По калибровочной кривой определяют степень гидролиза крахмала.

Таблица 5 – Результаты исследований ингибирующего действия

№ п/п	Состав инкубационной смеси				Время гидро-лиза, мин	Активность амилаз		
	Фер-мент, мл	CuSO ₄ , мл	Вода, мл	Крах-мал, мл		Оптичес-кая плот-ность (А)	Крахмал, Мг (Х)	Крахмал, мг (С-Х)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1	0	4,0	5	0			
					5			
					10			
					15			
					20			

Продолжение табл. 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	1	1,0	3,0	5	0 5 10 15 20			
3	1	0,5	3,5	5	0 5 10 15 20			
4	1	0,2	3,8	5	0 5 10 15 20			
5	1	0,1	3,9	5	0 5 10 15 20			
6	0	0	5,0	5	0 5 10 15 20			

Примечание:

X – остаточная концентрация крахмала;

C – исходная концентрация крахмала с учетом разведения;

(C-X) – количество прогидролизованного крахмала.

Аналогично проводят эксперимент с использованием свежего картофельного сока в качестве ингибитора амилаз солода, который получают измельчением клубней картофеля на терке с последующим отжатием через марлю. По полученным результатам строят график влияния ингибиторов на активность амилаз солода в координатах: количество гидролизованного крахмала – время гидролиза, и делают вывод об ингибирующей способности CuSO_4 и картофельного сока по отношению к амилазам солода.

Блок 7. Отчет о работе должен содержать:

- титульный лист;
- цель работы и краткое теоретическое обоснование проводимых исследований;
- описание методик построения калибровочной кривой, определения активности амилаз, влияния на активность фермента ингибиторов различной природы;
- результаты исследований и графические зависимости;
- выводы.

Блок 8. Контрольные вопросы:

- классификация ферментов, их функции;
- номенклатура и источники получения ферментных препаратов;
- Технология выделения ферментных препаратов из сырья растительного и животного происхождения;
- технология получения ферментных препаратов из культур микроорганизмов;
- роль гидролитических ферментов в метаболизме микроорганизмов, их классификация, специфичность действия;
- биологические функции амилаз, источники получения амилолитических препаратов;
- активаторы и ингибиторы амилаз, механизмы их действия;
- сущность колориметрического метода определения степени гидролиза крахмала;

- схема определения активности амилаз;
- влияние ингибиторов на активность амилаз.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 4

ИЗУЧЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕРАБОТКИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Цель работы: изучить биотехнологические процессы производства крахмальной патоки и глюкозо-фруктозных сиропов, характеристик ферментных препаратов, применяемых в крахмало-паточной промышленности.

Технология крахмальной патоки.

В пищевой промышленности получило распространение производство и использование сахаристых продуктов на основе частичного или полного гидролиза крахмала с использованием препаратов амилолитических ферментов, а также с модификацией отдельных продуктов гидролиза. К первой группе традиционных продуктов гидролиза относят крахмальные патоки, состав которых варьируется в зависимости от глубины гидролиза крахмала (мальтодекстрины, низко- и высокоосахаренные, мальтозные и глюкозо-мальтозные патоки).

Продукты полного гидролиза крахмала с возможной их модификацией включают моногидратную или ангидридную глюкозу, фруктозу, глюкозные и глюкозо-фруктозные сиропы. Перспективным направлением является производство сахаристых крахмалопродуктов непосредственно из зернового сырья без выделения крахмала – зерновых сиропов.

Крахмальная патока – это продукт неполного гидролиза крахмала разбавленными кислотами или амилолитическими ферментами. Патока представляет собой бесцветную или слегка желтоватую жидкость, очень вязкую, со сладким вкусом. Сладость ее в 3–4 раза ниже сладости сахарозы. В зависимости от степени гидролиза крахмала патока содержит различное количество глюкозы, мальтозы и декстринов. В этом заключается специфичность ее использования в качестве дополнительного сырья при получении отдельных видов пищевой продукции. Патока используется в качестве антикристаллизатора при получении карамели, варке варенья, фруктовых сиропов, повидла, а также для загущения ликеров, подслащивания безалкогольных напитков и улучшения качества хлебобулочных изделий. В зависимости от назначения крахмальную патоку вырабатывают в трех видах: карамельную (К), карамельную низкоосахаренную (КН) и глюкозную высокоосахаренную (ГВ). Карамельная патока выпускается двух сортов: высшего (КВ) и первого (КІ). Особое место занимает мальтозная патока, содержащая не менее 65% редуцирующих веществ в пересчете на

мальтозу. Патока классифицируется в зависимости от ее углеводного состава, который определяют по общему содержанию редуцирующих веществ. Условно выраженная в глюкозных единицах, эта величина отражает суммарное содержание всех сахаров в сухом веществе патоки. Содержание редуцирующих веществ, выраженное в процентах от сухого вещества, в карамельной патоке находится в пределах 38–44, в низкоосахаренной – 30–34, в глюкозной – 44–60. При повышенном содержании редуцирующих веществ патока теряет антикристаллизационные свойства. Поэтому глюкозная высокоосахаренная патока применяется как сахаристое вещество при производстве варенья, фруктовых консервов, хлебобулочных изделий и т. д. Технологическая схема получения патоки включает в себя следующие стадии производства: подготовка крахмала к гидролизу, гидролиз крахмала, нейтрализация гидролизатов, фильтрование сиропов, обесцвечивание фильтрованных сиропов адсорбентами, уваривание жидких сиропов до густых, уваривание густых сиропов до патоки, охлаждение патоки.

Подготовка крахмала к гидролизу. Сырье, поступающее на производство патоки, должно содержать минимальное количество примесей, так как они отрицательно влияют на ход технологического процесса и качество патоки. Обычно перерабатывается крахмал, поступающий с различных предприятий, поэтому его подвергают очистке по такой же технологической схеме, что и при выработке сухого крахмала.

Гидролиз крахмала. Первой технологической операцией производства патоки является гидролиз крахмала. Его проводят в присутствии катализатора кислотным, кислотнo-ферментативным или ферментативным способами. Процесс гидролиза включает стадии клейстеризации крахмала, разжижения крахмального клейстера и его осахаривание. Клейстеризация начинается с ослабления и разрыва связей между макромолекулами амилозы и амилопектина, нарушения структуры крахмальных зерен и образования гомогенной массы с высокой вязкостью. Под действием катализатора длинные цепочки молекул крахмала разрываются. При этом образуются продукты с различной молекулярной массой, вязкость клейстера снижается – происходит его разжижение, идет дальнейший разрыв молекул крахмала вплоть до глюкозы.

Кислотный гидролиз крахмала. Кислотный гидролиз крахмала проводится в конверторах периодического действия или осахаривателях. Процесс осахаривания крахмала длится несколько минут. Контроль за процессом осуществляют по окраске отбираемых проб с йодом. Так как осахаривание крахмала в конверторе осуществляется периодическим способом, неизбежны колебания содержания редуцирующих веществ в патоке, повышенный расход пара

и т. д. Для устранения этих недостатков и интенсификации производства гидролиз ведут в аппаратах непрерывного действия.

Получаемые гидролизаты имеют невысокое качество из-за присутствия в них продуктов реверсии и термического кислотного разложения углеводов, продуктов разрушения белковых примесей крахмала под действием кислоты и высокой температуры процесса, а также минеральных примесей, которые образуются при нейтрализации кислоты после гидролиза.

Достичь наиболее полного осахаривания крахмала кислотным гидролизом не удастся. Поэтому для проведения гидролиза крахмала на любой его стадии целесообразно использовать ферменты. Благодаря направленности и специфичности действия ферментов можно вырабатывать патоку с различным составом углеводов. Гидролизаты имеют высокое качество, низкую цветность, так как ферментативный гидролиз идет при значительно более низких температурах и значениях pH, близких к нейтральным. Глюкозный эквивалент (ГЭ) может достигать 98%, что значительно повышает выход кристаллического продукта в производстве глюкозы.

Кисотно-ферментативный гидролиз крахмала проводят для устранения недостатков кислотного разжижения. Суспензию крахмала подкисляют соляной кислотой до pH 1,8–2,5 и подают в непрерывно действующий осахариватель, где нагревают до температуры 140°C в течение 5 мин, после чего кислоту нейтрализуют раствором кальцинированной соды до pH 6,0–6,5. Продукт практически мгновенно охлаждают в циклоне-испарителе до температуры 85°C и немедленно, во избежание ретроградации крахмала, добавляют раствор α -амилазы. В качестве разжижающего вещества используют ферментный препарат амилосубтилин Г20х с оптимумом действия при температуре 85°C и pH 6,2–6,5. Гидролиз длится в течение 30 минут, после чего полученный гидролизат имеет 10–13% ГЭ и хорошие фильтрационные свойства. Осахаривание его проводят также с использованием ферментов.

В настоящее время в крахмалопаточной промышленности для осахаривания гидролизатов применяют порошкообразные ферментные препараты очищенной глюкоамилазы: глюконигрин Г20х – при производстве кристаллической глюкозы, глюкоаваморин Г20х – при производстве крахмальных патоки и глюкозного концентрата. Осахаривание ведут при температуре 60°C и pH, оптимальном для действия фермента, до необходимого глюкозного эквивалента. Фермент инактивируют нагреванием продукта при 80°C в течение 20 минут.

Ферментативный гидролиз крахмала. При использовании ферментативного разжижения крахмала в 30–35%-ную суспензию крахмала вводят раствор кальцинированной соды до pH 6,0–6,5, раствор бактериальной α -амилазы (ферментного препарата амилосубтилина Г10х) и ее стабилизаторов CaO или Ca(OH)₂.

Смесь подогревают острым паром до 85°C и выдерживают при этой температуре 1,5 ч, после чего подогревают до 140°C в течение 5 минут для улучшения фильтрационных свойств. Температуру разжиженного крахмала быстро снижают до 60°C и ведут осахаривание амилаглюкозидазой в условиях, оптимальных для ее действия, до достижения требуемого глюкозного эквивалента.

Кислотно-ферментативный и ферментативный гидролиз крахмала используют при производстве низкоосахаренной (с содержанием редуцирующих веществ не более 32% от массы сухого вещества), высокоосахаренной (63–67%), мальтозной и декстриномальтозной видов крахмальных патонок.

Нейтрализация гидролизатов. Если гидролиз крахмала проводился с помощью кислоты, необходимо провести нейтрализацию гидролизатов. Цель нейтрализации – прекращение гидролиза крахмала по достижении заданной степени осахаривания, перевод свободных минеральных кислот, недопустимых в пищевых продуктах, в безвредные соли и создание оптимальных условий для последующей очистки сиропов от примесей. Оптимальная величина pH сиропа обеспечивает устойчивость глюкозы, коагуляцию белков и наилучшие условия обесцвечивания сиропов углями. Нейтрализованный сироп не должен иметь pH ниже 4,5–4,9. Гидролизаты, осахаренные с помощью соляной кислоты, нейтрализуют только содой.

Поваренная соль, которая образуется в нейтральзованном сиропе в количестве 0,23–0,25% (от массы сухих веществ сиропа), не влияет на вкус патоки и не ухудшает ее качества.

Нейтрализацию проводят очень осторожно, интенсивно перемешивая, чтобы не допустить даже местного перещелачивания. В противном случае глюкоза разлагается с образованием окрашенных продуктов, а карбонат натрия легко вступает в реакцию с кислыми фосфатами, переводя их в средние, что ведет к потемнению и помутнению патоки при хранении.

Процесс ведут в специальных нейтрализаторах периодическим или непрерывным способом. Конструкция аппарата должна обеспечивать быстрое смешивание соды с кислотой и улавливание капель сиропа из отходящих паров.

Подготовка сиропов к фильтрованию. Промышленные гидролизаты паточного производства содержат 0,9–1,9% взвешенных частиц. Основную массу нерастворимых примесей составляет белок (0,3–1%), который под действием кислоты и высокой температуры полностью денатурируется и подвергается пептизации.

В процессе осахаривания кукурузного крахмала высвобождаются жир и жирные кислоты (0,2–0,4% от массы сухих веществ). Часть нерастворимых примесей составляет мезга, которая находится в крахмале. Все эти примеси удаляют фильтрованием гидролизатов. Чтобы облегчить процесс фильтрования, некото-

рую часть примесей предварительно выделяют путем отстаивания сиропов в специальных отстойниках-скиммерах или обработкой их на тарельчатых сепараторах с периодической или непрерывной выгрузкой осадка.

Фильтрация сиропов. Для более полного выделения взвесей гидролизат фильтруют. Осадки в основном состоят из скоагулированных хлопьев белка, легко сжимаемых и труднопроницаемых, поэтому для облегчения фильтрации к сиропу добавляют пористый наполнитель (перлит, диатомит). На большинстве предприятий гидролизаты фильтруют на вакуум-фильтрах или автоматических фильтр-прессах. Фильтрация проводят при температуре гидролизатов 75–80°C. При этом давление может достигать 0,3–0,5 МПа.

Обесцвечивание фильтрованных сиропов адсорбентами. После фильтрации паточные сиропы превращаются в прозрачные жидкости желтого цвета. Интенсивность их окраски зависит от чистоты перерабатываемого крахмала, способа проведения гидролиза и условий нейтрализации. К красящим веществам паточного сиропа относятся продукты гидролиза белков, разложения углеводов, а также продукты реакции меланоидинообразования и др. Наряду с красящими веществами в сиропе присутствуют кислые фосфаты, обуславливающие кислотность патоки, некоторые минеральные вещества, растворимые белки, органические кислоты и другие вещества.

Цель очистки паточного сиропа адсорбентами – полное его обесцвечивание, устранение запаха и удаление примесей. В качестве адсорбентов на паточных заводах применяют активированный уголь, который удаляет из раствора красящие и минеральные вещества, коллоидные и азотистые вещества, жир и жирные кислоты. После выделения взвешенных частиц гидролизаты однократно обрабатывают углем в специальных реакторах. Порошкообразный активированный уголь используют в виде водной суспензии 25%-ной концентрации. Ее вводят непосредственно в сироп, температура которого составляет 65–70°C, и постоянно перемешивают в течение 20–30 минут. После обработки адсорбент удаляют фильтрацией. Сиропы также обесцвечивают, пропуская их через слой угля, нанесенного на фильтрующую перегородку. Фильтрация ведут при давлении 0,5–0,8 МПа. Кроме того, сиропы можно очищать гранулированными углями в непрерывно действующих колоннах. Отработанный гранулированный уголь подвергают регенерации. Активированный уголь, применяемый в крахмалопаточной промышленности, должен иметь рН водной вытяжки в пределах 4–6. Применение щелочных углей значительно снижает эффект обесцвечивания, поэтому их предварительно обрабатывают кислотой.

Уваривание жидких сиропов. Для получения густого сиропа с оптимальной цветностью и для экономии расхода теплоты сгущение сиропа от жидкого (с концентрацией 35–40%) до густого (55–57%) осуществляют в многокорпусных

выпарных аппаратах под разрежением. На паточных заводах работают вакуум-выпарные аппараты различных конструкций, но наибольшее распространение получили вертикальные выпарные аппараты, как правило, трехкорпусные. Перед первым корпусом сироп подогревают до 97°C. Температура кипения сиропа в этом корпусе составляет 100°C, соответственно во втором корпусе – 86°C, в третьем – 67,7°C.

Уваривание густых сиропов до патоки. Очищенный густой сироп с концентрацией сухих веществ 55–57% уваривают в вакуум-аппаратах до патоки с содержанием сухих веществ не менее 78%. Для получения патоки высокого качества процесс уваривания ведут при температуре не выше 60°C. Продолжительность процесса уваривания должна быть минимальной (50–55 минут).

Охлаждение патоки. Патока, выходящая из вакуум-аппарата, имеет температуру 60÷70°C. Так как это вязкий продукт, то естественное охлаждение идет очень медленно при быстром нарастании цветности за счет образования красящих веществ. Чтобы избежать этого, стремятся быстро (в течение 40–80 минут) охладить ее до температуры 40–45°C. Для этой цели используют змеевиковый теплообменник. В центре теплообменника находятся циркуляционная труба и мешалка. Резервуар имеет коническое днище и крышку. Холодная вода поступает через воронки отдельно в каждый змеевик, а отработавшая вода отводится через общую воронку. Горячая патока, проходя между трубами змеевиков, охлаждается и самотеком выходит в сборник. Затем патоку фасуют и хранят.

Технология глюкозно-фруктозных сиропов.

Наиболее распространенной по объемам производства в мире группой сахаристых крахмалопродуктов являются глюкозо-фруктозные сиропы. Исходным сырьем для производства сиропов служит глюкоза, получаемая при гидролизе кукурузного или картофельного крахмала. В промышленных биореакторах используют препараты глюкозоизомеразы, иммобилизованной на ионообменных смолах или неорганических носителях. Также отработаны процессы с иммобилизованными клетками *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Streptomyces phaeochromogenes*, *Streptomyces olivaceus*, *Streptomyces venezuelae*, иммобилизованные путем включения в полимерные структуры (гранулы, шарики, полые волокна).

Изомеризация глюкозы во фруктозу может происходить как при воздействии щелочи на холоде или при слабом нагревании раствора глюкозы, так и при воздействии фермента глюкоизомеразы. При этом применяют иммобилизованные препараты фермента, пригодные к многократному использованию. Для получения глюкозно-фруктозного сиропа в качестве исходного сырья используют в основном кукурузный крахмал. Содержание

примесей в нем должно быть минимально, а содержание белка не должно превышать 0,4%, в том числе растворимого – 0,05%.

Для получения глюкозно-фруктозного сиропа используют гидролизаты крахмала с высоким содержанием глюкозы (96%), полученные при ферментативном гидролизе крахмала. Для удаления растворимых примесей (зольных элементов, особенно ионов кальция, красящих веществ, протеина и др.) глюкозный сироп обрабатывают ионообменными смолами и активированным углем. Очищенный глюкозный сироп направляют на выпаривание до содержания сухих веществ 40–50%. При более высокой концентрации сиропа увеличивается его вязкость и падает скорость изомеризации. Иногда вместо выпаривания сироп стерилизуют при температуре 125°C в течение 2 минут, после чего охлаждают до температуры 60°C. В подготовленный субстрат добавляют ионы магния и кобальта для повышения активности фермента, а также бисульфит для предупреждения развития микрофлоры. Ферментный препарат (глюкоизомеразы) дозируется по его глюкоизомеразной активности. В процессе изомеризации необходимо контролировать и поддерживать на заданном уровне величину pH субстрата. Изомеризация длится около 20–24 ч до 42%-ного содержания фруктозы в гидролизате. Далее сироп отстаивают в течение нескольких часов и сливают так, чтобы осевший на дно фермент был покрыт слоем сиропа во избежание его контакта с воздухом. В реактор вновь подают свежий субстрат – и начинается новый цикл. Фермент используют 5–30 суток и выводят из производства.

Полученный сироп подкисляют соляной кислотой до достижения pH 4,5, очищают ионообменными смолами и обесцвечивают активированным углем. Затем его уваривают при температуре 60°C (при более высоких температурах фруктоза разлагается) в выпарных аппаратах пленочного типа до содержания сухих веществ в пределах 71–74%, охлаждают до температуры 30°C и хранят при температуре 25–30°C, так как при температуре ниже 25°C начинается кристаллизация глюкозы, а при температуре выше 30°C нарастает цветность сиропа из-за разложения моносахаридов.

Для получения глюкозо-фруктозных сиропов используют биореакторы колонного типа производительностью 6000–9000 кг глюкозо-фруктозного сиропа на 1 кг иммобилизованного фермента. Время полуинактивации ферментационной системы составляет 20–50 суток. Получаемый сироп содержит 42–45 % фруктозы, 51 % глюкозы, небольшое количество олигосахаридов.

Глюкозно-фруктозные сиропы находят широкое применение за рубежом при производстве детского и диетического питания, хлебобулочных изделий, безалкогольных напитков, мороженого, кремов, тортов, пирожных и т. д.

По своим свойствам такие сиропы близки к инвертному сахару. Из-за большого содержания моносахаридов, особенно фруктозы, использование сиро-

пов позволяет получать кондитерские изделия повышенного качества: они долго остаются свежими и не засыхают. Хлебобулочные изделия, приготовленные на глюкозно-фруктозном сиропе, имеют лучшую окраску корки. Сироп с 90%-ным содержанием фруктозы позволяет получать пищевые продукты пониженной калорийности благодаря снижению содержания сахара в рецептуре изделий за счет очень сладкого вкуса сиропа. Глюкозно-фруктозные сиропы используют также при производстве джемов и консервов для усиления их фруктового аромата.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА И КОНКУРЕНТОСПОСОБНОСТИ НОВЫХ ВИДОВ ПИВА РОССИЙСКИХ И ЗАРУБЕЖНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Цель работы: определить конкурентоспособности различных сортов пива.

Теоретическое обоснование Пиво – самый древний алкогольный напиток в истории человечества. Освежающий, насыщенный диоксидом углерода пенистый, получается он в результате сбраживания пивного сусла специальными расами пивных дрожжей. Различают следующие типы пива: светлое, полутемное, темное, безалкогольное, крепкое, оригинальное; светлое с увеличенным сроком дображивания и повышенной нормой внесения хмеля; пастеризованное – с повышенной биологической стойкостью, получаемой путем тепловой обработки; специальное – приготовленное с применением вкусовых или ароматических добавок.

Технологический процесс приготовления пива включает следующие основные операции: производство солода из ячменя или других культур, приготовление пивного сусла, подготовка чистой культуры дрожжей, сбраживания пивного сусла, осветления и розлива пива. В пивоваренном производстве основным сырьем являются ячмень, хмель, вода и дрожжи. Суслом называют водный раствор экстрактивных веществ, получаемых при затирании солода (грубо говоря, нагревании солода и другого сырья с водой). Сусло обязательно фильтруют, кипятят с хмелем, отделяют хмель, и только после этого сбраживают. После брожения сусло превращается в пиво.

Аппаратура, оборудование и материалы: прибор анализа качества пива «КОЛОС-1»; колбы емкостью 200 – 250 см³; цилиндр 100 см³; образцы пива.

Указания по технике безопасности

При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате.

Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок выполнения работы

Для анализа используется несколько образцов пива. Перед началом выполнения работы дается описание каждой единицы продукции: производитель, стоимость, название, вид пива и т.д.

Каждая единица продукции оценивается по следующим показателям:

1. Упаковка и маркировка продукции
2. Степень соответствия ГОСТ
3. Потребительская оценка вкуса
4. Потребительская оценка спроса
5. Потребительская оценка дизайна образцов

Оценку упаковки, укупоривания и маркировки пива проводят по следующим критериям:

- цвет, дизайн бутылки;
- способ нанесения этикетки на бутылку (одно-, двух- или трехпозиционным способом),
- вид укупорки бутылки (простой кроненпробкой, гравированной, литографированной),
- цветистость оформления горлышка бутылки (фольга и др.),
- дизайн этикетки (правильность размещение необходимых данных на этикетке, соединение цветовой гаммы и металлика, выполнение требований стандарта по нанесению необходимых данных на этикетку).

На этикетке бутылочного пива должна содержаться следующая информация:

- наименование изготовителя или наименование товарного знака;
- наименование напитка языком страны (допускается одновременное использование любого другого - английского, немецкого и т.д.);
- экстрактивность начального сусла пива и содержание спирта в пиве;
- срок стойкости (гарантия сохранения);

- дата разлива (наносится на этикетку компостером или просечением), которая состоит из числа и месяца;
- объём, дм³;
- нанесение энергетической и другой информации, предусмотренной стандартом на этот сорт пива;
- для пастеризованного и стабилизированного пива - слова "пастеризовано", "стабилизировано";
- обозначение нормативно-технической документации, соответственно которой вырабатывается.

Степень соответствия ГОСТ или другим нормативным документам (в частности, показателям, указанным на этикетке) оценивается по органолептическим и физико-химическим показателям.

Процесс органолептической оценки состоит из нескольких последовательных этапов, для чего требуется:

1. сосредоточить внимание и несколькими последовательными вдохами через нос ощутить запах пива;
2. взболтать пиво по кругу в бокале и еще раз ощутить запах, отметив разницу воспринимаемого запаха при взбалтывании пива и без него;
3. визуально оценить образование пены, прозрачность, блеск и игристость пива;
4. взять в рот немного пива, выдержать в течение 15 секунд и зафиксировать впечатление;
5. ощутить полный аромат пива носом и ртом;
6. сделать глоток и ощутить вкус и остающееся послевкусие после проглатывания пива.

При оценке органолептических показателей используют следующие термины:

1. для характеристики аромата
 - а. *свойственный для пива* - чистый, хмелевой, солодовый, свежий, дрожжевой, цветочный;

в. *посторонние запахи* - фенольный (запах лекарств), затхлый, кислый, масляный (диацетил), вареной кукурузы (диметилсульфид), зеленых яблок (ацетальдегид), и т.д.;

2. для характеристики вкуса

а. *характерные*: чистый, полный, гармоничный, выраженный, негармоничный, слабо выраженный, пустой;

в. *нехарактерные*: сладковатый, солодовый, дрожжевой, карамельный, фруктовый, кисловатый, металлический, сернистый, медовый, масляный, фенольный;

3. для характеристики горечи

а. тонкая, мягкая, грубая, остаточная, приятная, неприятная, сильная, слабая;

в. не хмелевая.

Прозрачность и цвет. Пиво высокого качества должно быть прозрачным с блеском, искриться при просматривании на свет. Прозрачность пива с блеском оценивают наивысшим баллом, прозрачность без блеска с единичными мелкими взвесями – на балл ниже, пиво слабо опалесцирующее – 1 баллом, а сильно опалесцирующее обычно снимается с дегустации.

Если цвет соответствует типу пива и находится на минимально установленном уровне для данного пива, то его оценивают максимальным количеством баллов, на максимально допустимом – 1 баллом, а пиво с цветом, не соответствующим его типу, является неудовлетворительным. Хорошее светлое пиво должно иметь полную прозрачность и «искру», которая просматривается через стекло стакана, в котором резко преломляется свет. По сильному блеску судят о чистоте и совершенстве продукта.

Аромат. Аромат напитка должен быть чистым, свежим выраженным. Для светлого пива больше характерен хмелевой аромат. Недочеты при ведении процесса приводят к различным дефектам, наличию в аромате посторонних тонов: фруктовые, кисловатые, дрожжевые, а также аромат молодого пива.

Вкус. Отличный вкус - это полный, чистый без посторонних привкусов, гармоничный. Чистым называют вкус, придаваемый пиву качественным хмелем и солодом. Горечь не должна быть грубой и терпкой, должна ярко ощущаться только в момент употребления пива, а потом ощущение горечи должно быстро проходить.

Физико-химические показатели образцов пива оцениваются с использованием прибора анализа качества пива «КОЛОС-1». Перед анализом пробы подготавливаются следующим образом для удаления углекислого газа: 50 – 70 см³ пива помещается в колбу емкостью 200 – 250 см³. Горлышко колбы плотно закрывается ладонью, и колба встряхивается в течение 5 минут. Затем колбу оставляют в покое на 10 минут и процедуру повторяют до тех пор, пока полностью не перестанут выделяться пузырьки углекислого газа. Перед каждым измерением проводится промывка прибора.

Пенообразование: пиво наливается с высоты 25 мм (расстояние от горла бутылки до верхнего края сосуда) в цилиндрический чистый стеклянный сосуд высотой 105 – 110 мм с наружным диаметром 70 – 75 мм при температуре (12 ± 2) °С.

Пена должна быть компактной, выделять пузырьки двуокиси углерода. Пена образуется в бокале при наполнении за счет выделения пузырьков СО₂, который улетучивается вследствие падения давления. Высокая, густая и стойкая пена является признаком хорошего качества пива. Пиво с густой, плотной пеной обладает полнотой вкуса и долго сохраняет свежесть. Хорошая пена оставляет след на стенке бокала после каждого глотка. Измерения проводятся в трех повторностях и результаты заносятся в таблицу 1.

Таблица 1 – Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели исследуемого пива

Показатели		Наименование продукта			
		1	2	3	4
Органолептические	Прозрачность				
	Аромат и вкус				
	Объемная доля спирта, %, не менее				
	Экстрактивность начального сусла, %				

Физико-химические	Кислотность, к ед.				
	Цвет, ц. ед.				
	Массовая доля двуокиси углерода, %, не менее				
	Пенообразование: высота пены, мм, не менее пеностойкость, мин, не менее				
	Стойкость, сут, не менее				
	Энергетическая ценность, ккал в 100 г пива				
	Углеводы, в 100 г пива, не более				

Потребительская оценка дизайна товара, вкуса и спроса оценивается по 10 бальной шкале. Обобщенные данные заносятся в таблицу 2.

Таблица 2 – Общие данные

Наименование продукта	Упаковка и маркировка товара	Степень соответствия ГОСТу	Потребительская оценка вкусовых характеристик продукта	Потребительская оценка спроса на товар	Потребительская оценка дизайна товара	Оценка конкурентоспособности товара (W)
	Весовой коэффициент показателя (X)					
	Y	X×Y	Y	X×Y	Y	X×Y

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Виды пива, технология производства различных сортов пива.
2. Основные показатели, характеризующие качество пива.
3. Использование различных добавок при производстве пива.
4. Общая схема оценки конкурентоспособности товаров биотехнологической отрасли.

Защита работы проводится на следующем после ее выполнения лабораторном занятии в форме устного опроса.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 5

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА ПИВА.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПИВА

Цель работы: закрепление теоретических знаний и приобретение практических навыков в проведении необходимых анализов по контролю производства.

Пивоваренная промышленность имеет богатые традиции: многие пивовары используют технологии, практически не изменившиеся за последние 100 лет. Новые технологические прорывы в процессе пивоварения встречаются достаточно редко, так как большинство пивоваров опасаются, что изменения могут или ухудшить качество, или сказаться на популярности бренда.

В последние годы ситуация начала меняться: путем объединений и слияний сформировались крупные пивоваренные компании, а усилившаяся конкуренция на пивном рынке заставила пивоваров проводить более эффективную ценовую политику, чем раньше.

В настоящее время для повышения производительности труда, уменьшения затрат на энергию или для создания новых продуктов стали применять технологические инновации, позволяющие сократить производственный цикл и снизить себестоимость продукции.

Технологическая схема производства пива

В последние годы разработаны и внедрены технологические схемы производства пива с использованием ускоренных и непрерывных процессов. Технологические схемы могут быть различными в зависимости от выбранного способа и применяемого оборудования. Любая технологическая схема должна обеспечивать при минимальных затратах материальных ресурсов максимальный выход и высокое качество готового продукта. Обобщенная функциональная схема производства пива приведена на рисунке 1.

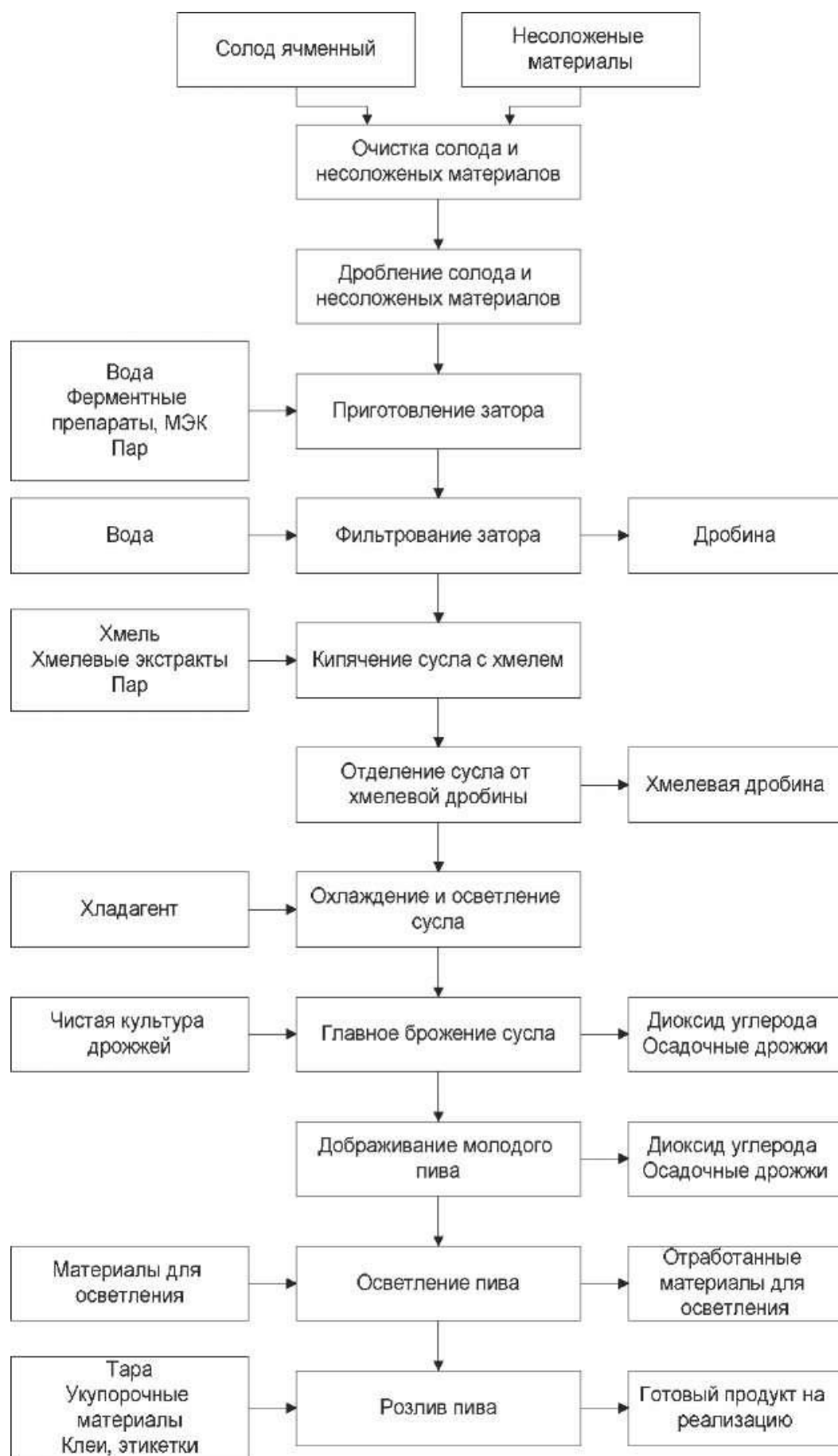


Рисунок 1 – Технологическая схема производства пива

1. Затириание сусла

Затириание требуется для продуцирования и экстрагирования из солода сбраживаемых Сахаров. Следовательно, чтобы улучшить растворение экстрагируемых материалов, солод требуется измельчить, причем оболочка солода должна остаться неповрежденной, так как она служит природным фильтром в ходе фильтрования затора. Самый простой способ – это затириание солода водой постоянной температуры: солод замачивают в течение определенного времени при температуре около 65 °С. Такое затириание происходит в одной емкости, используемой также и для фильтрования (удаления нерастворимых фракций), его часто применяют в Великобритании при производстве сусла для эля, но такой способ затириания можно использовать только при работе с хорошо модифицированным солодом. Для менее модифицированного солода температура при затириании должна меняться.

Температуру повышают до оптимальной для тех или иных требуемых для пивовара ферментативных реакций и некоторое время поддерживают постоянной. Для действия протеазы оптимальная температура обычно равна 50 °С (белковая пауза), для максимальной активности (3-амилазы – 62 °С (мальтозная пауза), а оптимальная температура для действия α-амилазы – 72 °С (осахаривающая пауза). Поскольку (3-амилаза действует при более низкой температуре, чем α-амилаза, при традиционном затириании невозможно достичь полного преобразования крахмала в мальтозу: некоторые более крупные полисахариды (декстрины) остаются в сусле. Чтобы добиться достаточной степени осахаривания, необходимо тщательно выдерживать температурные паузы.

Затириание солода с изменением температуры производят, нагревая сусло в котле с месильным органом или при помощи частичного кипячения сусла. В последнем случае часть сусла откачивают в другой котел, нагревают до температуры кипения, а затем возвращают в основной затор. При смешивании этих двух частей сусла температура затора увеличивается. Такое частичное кипячение сусла особо полезно при использовании добавок, так как позволяет

обрабатывать несоложеное сырье (температура клейстеризации крахмала которого обычно выше, чем у солода) по отдельности.

2 Фильтрация затора

После затирания жидкость (сусло) отделяют от дробины обычно при помощи фильтр-чана или фильтр-пресса. Фильтр-чан представляет собой емкость с плоским перфорированным дном. В начале процесса фильтрации оболочка быстро оседает на дно сосуда и через несколько минут образует дополнительный естественный фильтр. В это время сусло рециркулирует и после образования такого фильтра фильтруется через оболочки зерен. Фильтрацией в фильтр-чане получают сусло отличного качества, то есть чистое сусло с низким содержанием липидов, но такое фильтрация занимает довольно много времени, а последующее удаление дробины представляет определенные трудности.

После основной фильтрации фильтр промывают, чтобы извлечь из дробины как можно больше сбраживаемых сахаров. Такая промывка фильтра увеличивает выход экстракта при фильтрации, но приводит к разбавлению сусла, что следует компенсировать испарением в ходе его кипячения.

3. Кипячение сусла с хмелем

Сусло кипятят, чтобы инактивировать ферменты (амилазы, протеазы, β -глюканазы) и стерилизовать питательную среду для последующего брожения, однако у кипячения сусла имеются и другие побочные, но не менее важные эффекты. В ходе кипячения в течение 2 ч белки коагулируют под воздействием температуры, что играет важную роль в физической стабилизации пива: недостаточная коагуляция белков приводит к возможному помутнению готового пива в ходе хранения. Кислоты хмеля образуют изомеры, и под действием реакций Майяра происходит образование новых вкусоароматических соединений. Те же реакции Майяра делают цвет сусла более темным (цвет является важным качественным показателем для светлых типов пива), и образование нежелательного цвета может служить поводом для сокращения времени кипячения.

В ходе кипячения испаряются некоторые нежелательные летучие соединения, в частности, диметилсульфид, образующийся из солода. Кроме того, сусло при испарении концентрируется со скоростью около 8 %/ч.

Кипячение обычно ведут в открытой емкости при атмосферном давлении с подводом тепла через рубашку или встроенный теплообменник.

4. Брожение и дображивание охмеленного сусла

После кипячения сусла из него извлекают продукты горячего разложения (с помощью вихревого насоса, центрифуги или отстойного резервуара), затем сусло охлаждают, насыщают кислородом и засевают дрожжами. На большинстве пивоваренных заводов используются чистые дрожжевые культуры, но иногда используют дрожжи, собранные после предыдущего брожения. Чтобы избежать контаминации и деградации используемого штамма, пивовары обычно применяют дрожжи лишь несколько раз. В таком случае через определенные промежутки времени новую дрожжевую культуру сначала выращивают, потом размножают в лаборатории, а затем ею заменяют засевные дрожжи.

Температура и продолжительность брожения зависят от типа изготавливаемого пива. При варке пива низового брожения (лагерного) брожение ведут около 7 дней (например, для сусла «нормальной плотности», что составляет 12°, то есть 12 г сахара на 100 г раствора). У элей, температура брожения которых выше, продолжительность брожения обычно меньше.

В ходе брожения сахар (в основном мальтоза и меньшее количество глюкозы, сахарозы, фруктозы и мальтотриозы) преобразуется в спирт. На этом этапе образуются также важные вкусоароматические соединения – сложные эфиры (этилацетат, изоамилацетат и т. д.) и высшие спирты (пропанол, бутанол, изоамиловый спирт и т. п.), которые существенно влияют на органолептические свойства готового пива.

При приготовлении лагерного пива после основного брожения следует процесс дображивания, длящийся несколько недель.

Раньше брожение осуществлялось в открытых емкостях, но в настоящее время на большинстве пивоваренных заводов используют закрытые

цилиндрикоконические танки (ЦКТ), коническая форма дна которых облегчает сбор дрожжей, оседающих в ходе низового брожения хлопьями на дно.

После основного брожения хлопьевидные (флокулированные) дрожжи собирают, а пиво охлаждают для последующего дображивания. В ходе дображивания сбраживаются оставшиеся сахара, и пиво насыщается выделяющейся двуокисью углерода. При этом определяется вкус пива, прежде всего из-за сокращения количества диацетила, придающего продукту маслянистый привкус. Диацетил представляет собой побочный продукт синтеза изолейцина и валина и образуется в ходе декарбоксилирования α -ацетолактата. Дрожжи восстанавливают диацетил до ароматически нейтральных соединений – ацетоина и бутандиола.

При дображивании происходит дальнейшая флокуляция дрожжей, вследствие чего пиво становится еще прозрачнее. Классическое дображивание может занимать несколько недель и даже месяцев. Оно проводится в закрытых невысоких емкостях или, что более распространено в настоящее время, в цилиндрикоконических танках – таких же, какие применяются для основного брожения. После дображивания пиво для удаления оставшихся дрожжей можно отфильтровать, после чего оно готово к розливу в бутылки и употреблению.

Аппаратура, оборудование и материалы: пивное сусло различных видов, дрожжи пивные, емкость для брожения, холодильник, pH-метр, коническая колба, 0,1 н раствор КОН, фенолфталеин, микробюретка, 0,1 н раствор йода, вискозиметр капиллярный ВПЖ, раствор хлорной меди (27,3 г хлорной меди растворяют в 1 дм³ дистиллированной воды); раствор трехзамещенного фосфата натрия (64,5 г двухзамещенного фосфорно-кислого натрия K_2HPO_4 растворяют в 500 см³ дегазированной дистиллированной воды; добавляют 7,2 г гидроксида натрия, а после растворения доливают водой до 1 дм³); боратный буферный раствор (57,21 г буры растворяют в 1,5 дм³ воды, добавляют 100 см³ 1 н раствора соляной кислоты и доводят водой до 2 дм³); суспензия фосфорнокислой меди (1 объем хлорной меди смешивают с 2 объемами раствора фосфата натрия и приливают 2 объема раствора боратного

буфера; суспензию можно использовать в течение 2 – 3 сут.); раствор тимолфталейна (0,25 г тимолфталейна растворяют в 100 см³ 50 %-го этилового спирта); 0,01 н раствор тиосульфата натрия (готовится путем разбавления 0,1 н раствора тиосульфата натрия); 80 %-я уксусная кислота (ледяная); 1 %-й раствор крахмала.

Методика и порядок выполнения работы.

Определение активной и титруемой кислотности

Активная кислотность в солоде оказывает существенное влияние на ферментативные процессы при затирации. Определяют активную кислотность с помощью рН-метров. Обычно рН затора составляет 5,4 – 5,6. Титруемую кислотность определяют методом выноса капель.

50 см³ лабораторного сусла титруют в конической колбе 0,1 н. раствором КОН с фенолфталейном до тех пор, пока розовая окраска будет держаться 30 с.

Кислотность (К) выражается в кубических сантиметрах 1 н. раствора КОН на 100 г экстрактивных веществ солода:

$$K=20 \times a/d \times c, \quad (1)$$

где a – объем 0,1 н раствора КОН, пошедшего на титрование, см³;

d - относительная плотность сусла (определяется пикнометрически);

c - концентрация сусла, % (Приложение А).

В солоде хорошего качества титруемая кислотность колеблется в пределах 10 – 14 см³ 1н раствора NaOH на 100 г экстракта.

Определение цвета сусла

Цвет определяют в лабораторном сусле и выражают его в кубических сантиметрах 0,1 н раствора йода на 100 см³ воды.

В один стакан наливают исследуемое сусло, в другой – воду (по 100 см³) и прибавляют в последний при размешивании из микробюретки 0,1 н раствор йода. Йод приливают до тех пор, пока цвет жидкости в обоих стаканах не станет одинаковым, что устанавливают, наблюдая за изменением окраски в проходящем свете и сверху. В случае темной окраски сусла его разбавляют водой и при расчетах учитывают степень разбавления.

Определение вязкости сусла

Относительная вязкость лабораторного сусла характеризует солод с точки зрения получения из него пива с хорошей пенистостью: чем выше вязкость, тем лучше будет пенистость пива.

Сущность определения сводится к последовательному установлению времени истечения дистиллированной воды, а затем сусла из одного и того же объема, ограниченного метками. При этом вискозиметр должен находиться в водяной бане при 20 °С.

Во время определения в тщательно вымытый дистиллированной водой вискозиметр наливают столько воды, чтобы она не доходила до капилляра. Воду всасывают через трубку, присоединенную к узкому колену таким образом, чтобы верхний мениск воды установился выше метки, и при помощи зажима на трубке фиксируют это положение. Вискозиметр выдерживают на водяной бане при 20°С в течение 15 – 20 мин. Затем открывают зажим и по секундомеру устанавливают время, необходимое для вытекания воды из пространства, заключенного между метками; после чего вискозиметр ополаскивают суслом и определяют время его вытекания из фиксированного объема таким же образом, как и в случае с водой.

Относительную вязкость сусла определяют по формуле:

$$B = T_2 \times d / T_1, \quad (2)$$

где T_2 – время истечения сусла, с;

d - относительная плотность сусла;

T_1 – время истечения воды, с.

Определение аминного азота

Аминный азот в сусле определяют медным способом. Метод основан на способности большинства аминокислот и пептидов образовывать с медью растворимые комплексные соединения («медный способ»). Избыток меди оттитровывают, а ее количество, эквивалентное аминному азоту, уксусной кислотой переводят в соль уксусной кислоты и количественно определяют йодометрическим титрованием.

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ прозрачного сусла, прибавляют три-четыре капли тимолфталейна и 1 н раствор гидроксида натрия до бледно-голубого окрашивания. При перемешивании осторожно приливают 30 см³ суспензии фосфорнокислой меди и доводят до метки дистиллированной водой. Смесь после тщательного перемешивания фильтруют через бумажный фильтр, перефильтровывая первые порции фильтрата.

10 см³ прозрачного фильтрата подкисляют 0,5 см³ 80 %-й уксусной кислоты, прибавляют к нему 1 г йодистого калия и после размешивания оттитровывают выделившийся йод 0,01 н раствором тиосульфата натрия и добавляют в конце титрования одну-две капли раствора крахмала. Титрование заканчивают при обесцвечивании раствора от одной капли тиосульфата натрия.

Количество пошедшего на титрование тиосульфата натрия, умноженное на 0,28, дает содержание аминного азота в 10 см³ фильтрата. Это соответствует 2 см³ сусла с учетом разбавления, исходя из того, что 1 см³ 0,01 н. раствора тиосульфата соответствует 0,28 г азота.

Количество аминного азота (N, мг) в 100 см³ сусла вычисляют по формуле:

$$N = a \times 0,28 \times 5 \times 10, \quad (3)$$

где a – количество 0,01 н. раствора тиосульфата натрия, пошедшее на титрование выделившегося йода, см³; 5 и 10 – коэффициенты пересчета с 2 см³ на 100 см³.

Если солод перерастворен, то в 100 г экстракта будет содержаться более 230 мг аминного азота; если солод очень хорошо растворен – 230-200 мг; если хорошо растворен – 200-180 мг; если плохо растворен – менее 180 мг. В пересчете на 100 г сухих веществ солода содержание аминного азота варьирует от 120 до 160 мг.

Брожение пивного сусла

В охлажденное и осветленное сусло вносится разводка чистой культуры пивных дрожжей. Брожение осуществляется при температуре не выше 12 – 14 °С. За ходом брожения можно следить по внешним характерным изменениям сусла. Различают следующие стадии брожения:

1. забел (1-е сутки);
2. стадия низких завитков (на 2-е и 3-й сутки);
3. стадия высоких завитков (3-5-е сутки);
4. опадение пены и образование деки (до 7-8 суток)

За ходом брожения можно отслеживать не только по этим внешним проявлениям, но и по изменениям, происходящим с бродящим сусликом, то есть по поведению дрожжей, снижению экстрактивности, увеличению температуры и повышению кислотности (снижению значения pH).

Норма внесения дрожжей в суслик составляет 3 – 5 % при содержании $25 - 30 \times 10^6$ клеток в 1 см³ суслика.

Закончившее брожение пивное суслик отправляют на дображивание при температуре, близкой к минус 1 – 0 °C.

Дображивание пива

Поскольку в лабораторных условиях дображивание пива в герметичных сосудах с накоплением необходимого количества углекислого газа имеет некоторые трудности, дображивание осуществляется в холодильной камере в емкости с гидрозатвором для предотвращения внесения инфекции в молодое пиво.

Дображивание в зависимости от типа получаемого пива может длиться от 10 до 90 суток.

В процессе дображивания контролируют температуру и степень осветления пива. В готовом пиве проверяют показатели качества.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;

- ВЫВОДЫ.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Приготовление затора. Превращения составных веществ сырья в процессе затирания. Приготовление сусла с несоложенными материалами.

2. Использование ферментных препаратов микробиального происхождения в производстве пивного сусла.

3. Разделение затора. Отстаивание, фильтрование, воздействие центробежного поля. Фильтрование и выщелачивание дробины. Отстаивание затора, фильтрация первого сусла.

4. Кипячение сусла с хмелем. Растворение составных частей хмеля. Превращения горьких, дубильных и ароматических веществ хмеля. Нормы расхода хмеля.

5. Физико-химические процессы при охлаждении и осветлении сусла.

6. Отделение сусла от хмелевой дробины. Химический состав охмеленного сусла. Охлаждение и осветление пивного сусла.

Защита работы проводится на следующем после ее выполнения лабораторном занятии в форме устного опроса.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 6

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Цель работы: изучить технологию бакпрепаратов молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий, способы получения производственных заквасок; освоить методы контроля качества бакпрепаратов и производственных заквасок.

Процесс молочнокислого брожения с древнейших времен был реализован человечеством при получении кисломолочных напитков, творога и сыра. В настоящее время в молочной промышленности применяются закваски (стартовые культуры) на основе чистых культур молочнокислых микроорганизмов для получения продуктов высокого качества, стойких при хранении и характеризующихся высокой пищевой и биологической ценностью.

Характерными особенностями молочнокислых микроорганизмов являются:

- способность усваивать лактозу в качестве основного источника углерода и энергии;
- образование молочной кислоты с выходом более 90 % от исходной концентрации лактозы в среде;
- высокая кислотоустойчивость (сохраняют жизнеспособность при pH 3,0 – 3,5);
- спиртоустойчивость (выдерживают до 16 % этанола);
- использование флавиновых оснований и коэнзима B_{12} в окислительно-восстановительных ферментах;
- отсутствие ЦТК и окислительного фосфорилирования.

По биохимическим закономерностям и составу конечных продуктов метаболизма молочнокислые бактерии и палочки подразделяют на гомоферментативные и гетероферментативные. В первом случае образуется преимущественно молочная кислота (обнаруживаются лишь следовые количества летучих кислот, этанола, других побочных продуктов); во втором –

наряду с молочной кислотой образуются значительные количества CO_2 , этанола, летучих ароматических веществ.

При гетероферментативном молочнокислом брожении наряду с молочной кислотой могут образовываться CO_2 , этанол, уксусная и пропионовая кислоты, ароматические вещества (диацетил, ацетоин), многоатомный спирт маннит. Метаболиты гетероферментативного брожения обеспечивают уникальные органолептические свойства кисломолочных напитков и сметаны, а некоторые из них, например, витамины группы В, повышают биологическую ценность продуктов. Гетероферментативное брожение в свою очередь подразделяют на идущее без выделения CO_2 и сопровождающееся газовыделением.

Технология многих молочных продуктов (кисломолочные напитки, сметана, творог и творожные изделия, сыры, кислосливочное масло и др.) предусматривает крупномасштабное культивирование микроорганизмов. При производстве ферментированных молочных продуктов применяют специально подобранные и выращенные в асептических условиях чистые культуры. В состав чистых культур включают виды и штаммы микроорганизмов, которые обладают определенными, ценными с технологической точки зрения свойствами:

- способность к гидролизу пептидных и других связей, ответственных за стабильность белковых надмолекулярных структур (протеолитическая активность);
- возможность деструкции липидных и фосфолипидных компонентов (липолитическая и фосфолипазная активность);
- высокая активность β -галактозидазы;
- способность к продуцированию ароматических веществ (диацетил, ацетоин) и летучих жирных кислот;
- скорость и глубина конверсии лактозы в молочную кислоту;
- способность к продуцированию диоксида углерода и других газов;
- сорбция кислорода при метаболических реакциях.

Морфологические и культуральные свойства молочнокислых микроорганизмов, включаемых в состав заквасок, представлены в таблице 1.

Для приготовления производственных заквасок на предприятиях молочной промышленности в качестве исходного посевного материала используют бактериальные закваски (жидкие и сухие) и бактериальные концентраты лиофильной или распылительной сушки. Бактериальные закваски содержат в 1 см³ не более 10 млрд жизнеспособных клеток, бактериальные концентраты – не менее 100 млрд жизнеспособных клеток в 1 см³. Приготовление производственной закваски заключается в накоплении биомассы и активизации физиологических функций микробных клеток.

Таблица 3. 1 – Морфологические и культуральные свойства молочнокислых микроорганизмов

Вид	Морфология	Температура роста, °С		Предельная кислотность, °Т
		Оптимальная	Предельная	
<i>Streptococcus lactis</i>	Диплококки, короткие цепочки	30-35	10-40	120
<i>Streptococcus cremoris</i>	Цепочки кокков	25	10-35	110-115
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	Одиночные и двойные кокки или цепочки	25-30	10-35	80-100
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Цепочки кокков	40-45	10-55	110-115
<i>Lactobacillus bulgaricum</i>	Палочки с закругленными концами в виде цепочек	40-45	22-53	200-300
<i>Lactobacillus acidophilum</i>	Палочки одиночные или в виде цепочек	37	20-48	200-250
<i>Lactobacillus casei</i>	Палочки в виде отдельных и двойных клеток	30	15-38	80-180
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Палочки, образующие короткие и длинные цепочки	30	15-38	180

При использовании сухих и жидких бактериальных заквасок приготовление производственной закваски традиционно осуществляют трехпересадочным способом.

Первичную (материнскую, лабораторную) закваску готовят на обезжиренном молоке, стерилизованном при температуре 120 °С с выдержкой 15 – 20 мин. или пастеризованном при температуре 95 °С с выдержкой 30 – 60 мин. Посевная доза должна составлять 0,5 – 1,5 млн. активных клеток на 1 см³ молока, инокулируемый объем – 250 – 500 см³. К 8 – 12 часам культивирования численность жизнеспособных клеток достигает 1 – 3 млрд. в 1 см³ закваски.

Лабораторную закваску можно хранить в течение недели при температуре 6 – 10 °С.

Для получения вторичной и производственной заквасок используют пастеризованное при температуре 85 – 87 °С с выдержкой 5 – 10 минут обезжиренное молоко. Рекомендуемая посевная доза составляет 20 – 50 млн на 1 см³ молока. Инокулируемый объем составляет для второй стадии 10 – 40 литров, для третьей – 300 – 600 литров. Необходимая концентрация жизнеспособных клеток при оптимальной для данного вида температуре развития достигается через 5 – 7 часов культивирования.

При использовании в качестве посевной культуры бактериальных концентратов культуру активизируют в инокуляторах (заквасочниках) объемом 300 – 600 литров, получая, таким образом, производственную закваску, либо готовят лабораторную закваску, непосредственно используемую при производстве кисломолочных продуктов. В последние годы на предприятиях молочной промышленности все шире стали использоваться бактериальные концентраты прямого внесения, не требующие предварительной активизации.

Качество всех видов заквасок оценивают по скорости и уровню кислотообразования, органолептическим показателям, видовому составу и отсутствию контаминирующей микрофлоры.

В последние годы при производстве продуктов питания функционального назначения, в первую очередь кисломолочных продуктов, находят применение бактериальные препараты микроорганизмов-пробиотиков. В связи с этим, важнейшей задачей пищевой биотехнологии является изучение свойств представителей нормофлоры кишечника человека (бифидобактерий, лактобацилл и других), разработка технологий бакпрепаратов на основе чистых культур данных микроорганизмов и методов их использования при производстве продуктов питания.

Микроорганизмы рода *Bifidobacterium* являются типичными представителями полезной микрофлоры. В настоящее время род *Bifidobacterium* включает 32 вида, из которых 3 новых (*B. lactis*, *B. inopintanum*, *B. deuricolens*)

были включены в этот род лишь в последние годы. Из них десять видов обнаружены у человека. В кишечнике человека наиболее часто встречаются следующие виды: *B. infantis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* и *B. breve* преобладают в кишечнике младенцев, а с возрастом они меняются на *B. bifidum*, *B. longum* и *B. adolescentis*.

Морфологически бифидобактерии представляют собой неспорообразующие, грамположительные, неподвижные палочки размером (0,5 – 0,7)~(2 – 8) мкм, зернистые: микробные клетки никогда не складываются в цепочки. Характерным признаком этих микроорганизмов является полиморфизм. Изучены прямые и разветвленные палочки V- или Y – формы, булабовидные и лопатовидные формы. Морфология бифидобактерий изменяется в зависимости от состава среды и времени культивирования.

Бифидобактерии являются облигатными анаэробами, получающими энергию в результате брожения. Спектр сахаров, сбраживаемых этими бактериями довольно широк: глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, раффиноза и лактоза. Размножение этих микроорганизмов обусловлено большим количеством факторов роста. Бифидобактерии нуждаются в биотине, пантотеновой кислоте, цистеине, рибофлавине, пуриновых и пиримидиновых основаниях, пептидах и аminosахарах, коферменте А, олигосахарах, некоторых ненасыщенных жирных кислотах и других. Установлена высокая потребность бифидобактерий как в веществах пептидной природы, так и в аминокислотах. Из аминокислот им чаще всего требуется лизин, пролин, серин, аланин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты.

В синтетических средах бифидобактерии для роста требуют железо, магний, фосфаты, хлориды калия и натрия, в некоторых случаях – марганец. Особую роль в их жизнедеятельности выполняет натрий, ускоряющий развитие бифидобактерий и повышающий выход биомассы; важное значение в жизнедеятельности бифидобактерий играет магний.

В настоящее время в пищевой промышленности при производстве функциональных продуктов питания используют препарат «Бифидумбактерин»

на основе живых клеток бифидобактерий штаммов *Bifidobacterium bifidum* 1,791 или ЛВА-3. Внешний вид препарата - пористая или кристаллическая масса разных оттенков бежевого или беловато-серого цвета. Препарат имеет вид лиофилизированной кристаллической или пористой массы бежевого цвета различной интенсивности или бежевого цвета с сероватым оттенком, со специфическим запахом и вкусом. При добавлении воды образует непрозрачную взвесь.

Технологический процесс получения сухого бакпрепарата включает в себя следующие стадии:

- приготовление и стерилизация питательной среды;
- культивирование бифидобактерий на элективных питательных средах при температуре $(38 \pm 1) ^\circ\text{C}$, рН среды (4,5 – 5,0) в течение 36 – 40 ч (каждая стадия);
- отделение бактериальной суспензии на бактофуге или концентрирование культуральной жидкости без отделения клеток микроорганизмов;
- подготовку и внесение защитной среды;
- стерильный розлив во флаконы;
- замораживание и сублимационное высушивание препарата.

В нашей стране на протяжении ряда лет ведется работа по адаптации культур бифидобактерий к молоку и разработке напитков, содержащих живые культуры бифидобактерий. Во ВНИМИ (г. Москва) разработан способ получения активной закваски на основе штамма *Bifidobacterium adolescentis* МС-42. Данный штамм был использован при производстве детского продукта «Бифидин» и сухого продукта лечебно-профилактического назначения «Бифидин».

В последние годы разработан ряд технологий напитков с использованием комбинированных заквасок, обогащенных биомассой бифидобактерий: бифидокефир, биоигурт, биопростокваша, бифилайф, бифилюкс. При производстве кисломолочных напитков предусмотрено приготовление суспензии бифидобактерий на стерильном обезжиренном молоке при

температуре (20 – 25) °С из расчета 1 учетная единица на 100 г обезжиренного молока (1 уч. ед. – количество бифидобактерий, равное 10^{11} клеток, предназначенное для заквашивания 1000 кг нормализованного молока).

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности. Знание студентами правил техники безопасности преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок выполнения работы

По лекционному материалу, учебной и периодической литературе составить технологический регламент, аппаратурно-процессовые технологические схемы производства бакпрепаратов молочнокислых микроорганизмов (одного из видов по заданию преподавателя) и бифидобактерий.

Для приготовления заквасок образцы обезжиренного молока объемом 250 см³ пастеризуют в термостойкой колбе на водяной бане при температуре 85 – 87 °С с выдержкой 5 – 10 минут; охлаждают молоко до температуры, оптимальной для развития культуры; в асептических условиях вносят жидкую закваску молочнокислых микроорганизмов в количестве 5 – 10 % от объема обезжиренного молока.

Культивирование проводят в течение 8 – 12 часов (в зависимости от видового состава закваски) при температуре, оптимальной для развития культуры.

В полученных лабораторных заквасках анализируют следующие показатели.

Видовой состав и морфологию молочнокислых микроорганизмов контролируют методом непосредственного микроскопирования окрашенных

препаратов. При микроскопии препарата просматривают до 10 полей зрения, при этом не должно быть скопления клеток микроорганизмов.

Наличие посторонней микрофлоры (бактерий группы кишечной палочки, аэробных и анаэробных спорообразующих бактерий, дрожжей и плесневых грибов) устанавливают по следующим методикам.

Бактерии группы кишечной палочки определяют посевом 3 см³ закваски в 20 см³ среды Кесслер, выдерживают при температуре 43 – 45 °С в течении 18-24 часов. Появление газа свидетельствует о возможной контаминации закваски бактериями группы кишечной палочки.

Споровые бактерии определяют посевом 1 см³ жидкой закваски в 20 см³ стерильного обезжиренного молока с добавлением парафина для создания анаэробных условий и без добавления парафина для культивирования в аэробных условиях. Обе пробы термостатируют при 85 °С в течение 10 минут. Затем охлаждают и выдерживают при температуре 30 °С в течение 2 суток. В случае контаминации молока анаэробными споровыми бактериями парафиновая пробка поднимается, молоко может пептонизироваться, при микроскопии препаратов видны утолщенные палочки со спорами.

Дрожжи и плесневые грибы определяют путем посева 1 см³ закваски в чашки Петри на сусло-агар.

Активность закваски определяют по времени свертывания пастеризованного молока при внесении в него 5 % закваски. Для заквасок молочнокислых стрептококков свертывание молока должно происходить не более чем за 7 часов, молочнокислых палочек – не более чем за 6 часов.

Определение в закваске ароматобразующих бактерий проводят по следующим методикам.

Определение CO₂. В пробирку наливают 20 см³ закваски, отмечают ее уровень и помещают в водяную баню с холодной водой. Температуру воды поднимают до 90 °С, отмечают уровень поднятия жидкости. Поднятие уровня на 0,6 – 3 см и выше свидетельствует о наличии CO₂.

Определение ацетоина и диацетила. Фильтруют закваску через бумажный фильтр. Три капли фильтрата смешивают с тремя каплями 40 %-го раствора гидроксида натрия. При наличии в культуральной жидкости диацетила и ацетоина, через 10 – 15 минут появляется розовое окрашивание. Окрашивание через 30 минут и позднее не учитывается.

Титруемая кислотность закваски. В коническую колбу емкостью 150 – 200 см³ вносят 10 см³ закваски, 20 см³ дистиллированной воды и 3 капли фенолфталеина. Титруют молоко 0,1 н раствором гидроксида натрия или калия до слабо розовой окраски, не исчезающей в течение 30 секунд. Оттитрованную пробу сравнивают с эталоном, для приготовления которого к 20 см³ молока добавляют 1 см³ 0,25 %-го раствора сульфата кобальта.

Титруемую кислотность в градусах Тернера рассчитывают, умножая объем щелочи, пошедший на нейтрализацию пробы, на десять.

Контроль качества препарата «Бифидумбактерин».

Растворимость препарата пробиотика «Бифидумбактерин». При добавлении воды из расчета 1 см³ на 1 дозу препарата в течение 5 мин. образуется гомогенная взвесь серовато-бежевого цвета. Определяют визуально.

Прозрачность препарата пробиотика «Бифидумбактерин». Взвесь должна быть непрозрачной.

Цветность препарата пробиотика «Бифидумбактерин». Взвесь должна иметь бежевый или бежевый с сероватым оттенком цвет. Определяют визуально.

Значение рН препарата пробиотика «Бифидумбактерин» должно быть в диапазоне от 5.5 до 6.5.

Микробиологическая чистота препарата пробиотика «Бифидумбактерин».

Препарат не должен содержать посторонних микроорганизмов, плесени и дрожжеподобных грибов. Образец лекарственного средства в количестве 10 г помещают в мерный флакон емкостью 250 см³, доводят до 100 см³ (разведение 1:10) буферным раствором с натрия хлоридом и пептоном, рН 7,0 и перемешивают до образования гомогенной взвеси. Для определения общего количества бактерий по 1 см³ взвеси высевают не менее, чем на две чашки Петри

с питательной средой № 1 методом двухслойного посева. Для определения общего количества грибов по 1 см³ взвеси высевает не менее, чем на две чашки Петри с густой питательной средой № 2 методом двухслойного посева. Посевы на среде № 1 инкубируют при 30 – 35 °С для выявления бактерий, а посевы на среде № 2 – при 20 – 25 °С для выявления грибов в течение 5 суток, если достоверные результаты не будут получены ранее.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Номенклатура и классификация препаратов молочнокислых микроорганизмов;
2. Общая технологическая схема получения сухих препаратов молочнокислых микроорганизмов;
3. Технология производства препарата «Бифидумбактерин»
4. Направления использования бактериальных препаратов в молочной промышленности;
5. Схемы приготовления производственных заквасок молочнокислых микроорганизмов и активных заквасок бифидобактерий;
6. Методы исследования жидких заквасок и сухих бакпрепаратов.

Защита работы проводится на следующем после ее выполнения лабораторном занятии в форме устного опроса.

ПРЕАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 6

ТЕХНОЛОГИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЗАКВАСОК НА ЧИСТЫХ КУЛЬТУРАХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Цель работы: изучить технологические схемы приготовления заквасок на чистых культурах молочнокислым микроорганизмов, применяемых в молочной и других отраслях пищевой промышленности.

Технология многих молочных продуктов (кисломолочные напитки, сметана, творог и творожные изделия, сыры, кислосливочное масло и др.) предусматривает крупномасштабное культивирование микроорганизмов.

Для приготовления производственных заквасок на предприятиях молочной промышленности в качестве исходного посевного материала используют бактериальные закваски (жидкие и сухие) и бактериальные концентраты лиофильной или распылительной сушки. Бактериальные закваски содержат в 1 см³ не более 10 млрд жизнеспособных клеток, бактериальные концентраты – не менее 100 млрд жизнеспособных клеток в 1 см³. Приготовление производственной закваски заключается в накоплении биомассы и активизации физиологических функций микробных клеток.

При использовании сухих и жидких бактериальных заквасок приготовление производственной закваски традиционно осуществляют трехпересадочным способом.

Первичную (материнскую, лабораторную) закваску готовят на обезжиренном молоке, стерилизованном при температуре 120°C с выдержкой 15-20 мин. или пастеризованном при температуре 95°C с выдержкой 30-60 мин. Посевная доза должна составлять 0,5-1,5 млн активных клеток на 1 см³ молока, инокулируемый объем – 250 – 500 см³. К 8-12 часам культивирования численность жизнеспособных клеток достигает 1-3 млрд в 1 см³ закваски. Лабораторную закваску можно хранить в течение недели при температуре 6-10 °C.

Для получения вторичной и производственной заквасок используют пастеризованное при температуре 85-87°C с выдержкой 5-10 минут обезжиренное молоко. Рекомендуемая посевная доза составляет 20-50 млн на 1 см³ молока. Инокулируемый объем составляет для второй стадии 10-40 литров, для третьей – 300-600 литров. Необходимая концентрация жизнеспособных

клеток при оптимальной для данного вида температуре развития достигается через 5-7 часов культивирования.

При использовании сухого бактериального концентрата упрощается схема приготовления заквасок. Сухой бактериальный концентрат активизируется путем растворения его в стерилизованном обезжиренном молоке в инокуляторах (заквасочниках) объемом 300-600 литров, и выдержки в течение 1,5-5 ч при оптимальной температуре развития бактериальных клеток. После активации бактериальный препарат направляют непосредственно в производство или для получения первичной производственной закваски, приготовленной на пастеризованном молоке.

В последние годы на предприятиях молочной промышленности все шире стали использоваться бактериальные концентраты прямого внесения, не требующие предварительной активизации. В качестве таких заквасок используют культуры DVS (прямое сквашивание в емкости), которые просты в употреблении и не нуждаются в предварительной подготовке, например в активизации. Во ВНИИМСе разработана технология лиофилизированных бактериальных концентратов, пригодных для непосредственного внесения в молоко при выработке сыра. Это исключает необходимость приготовления производственных заквасок на заводах.

Температура заквашивания устанавливается в зависимости от видового состава используемых при производстве того или иного кисломолочного продукта заквасок (таблицы 1, 2).

Таблица 1 – Режимы заквашивания и сквашивания молока при производстве наиболее распространенных кисломолочных напитков.

Вид напитка	Видовой состав заквасок	Температура заквашивания, °С	Продолжительность сквашивания, часы	Конечная кислотность сгустка, °Т
Кефир	Симбиоз молочнокислых микроорганизмов и дрожжей	20 - 25	10 - 12	85 - 100
Простокваша	ЛКД (ЛКДБ)	30 - 35	6 - 8	80 - 110
Простокваша Мечниковская	Тс	40 - 45	3 - 5	75 - 80
Варенец	Тс	41 - 45	3 - 4	75 - 80
	Тс : ЛКД = 4:1	37 - 38	5 - 6	75 - 80
Ряженка	Тс : Пб = 4:1	41 - 45	4 - 5	65 - 70
Йогурт	Тс : Пб = 4:1	40 - 42	3 - 4	75 - 85
Ацидофильное молоко	Па	40 - 44	4 - 5	80
Ацидофилин	Па : ЛКД = 1:1, с добавлением кефирной закваски	31 - 35	6 - 8	70 - 80

(*По завершении сквашивания проводят созревание кисломолочного сгустка при медленном охлаждении в течение 9-13 часов до температуры 12 – 16°С.

Таблица 2 – Режимы заквашивания и сквашивания молока при производстве сметаны.

Видовой состав заквасок	Температура заквашивания, °С	Продолжительность сквашивания, часы	Конечная кислотность, °Т
ЛКДБ	26 - 30	9-16	60 (м.д. жира 10 и 15 %) 55 (м.д. жира 20 и 25 %) 50 (м.д. жира 30 %)
ЛКДБ : Тс = 4:1	28 - 32	7-10	60 (м.д. жира 10 и 15 %) 55 (м.д. жира 20 и 25 %) 50 (м.д. жира 30 %)
ЛКДБ : Тс = 1:1	38 - 40	6	45-50
Па : Д = 1:1	40 – 44	1-3 (*)	30-40
«Бифилакт Д», «Бифилакт А»	30 – 35	6-8	80

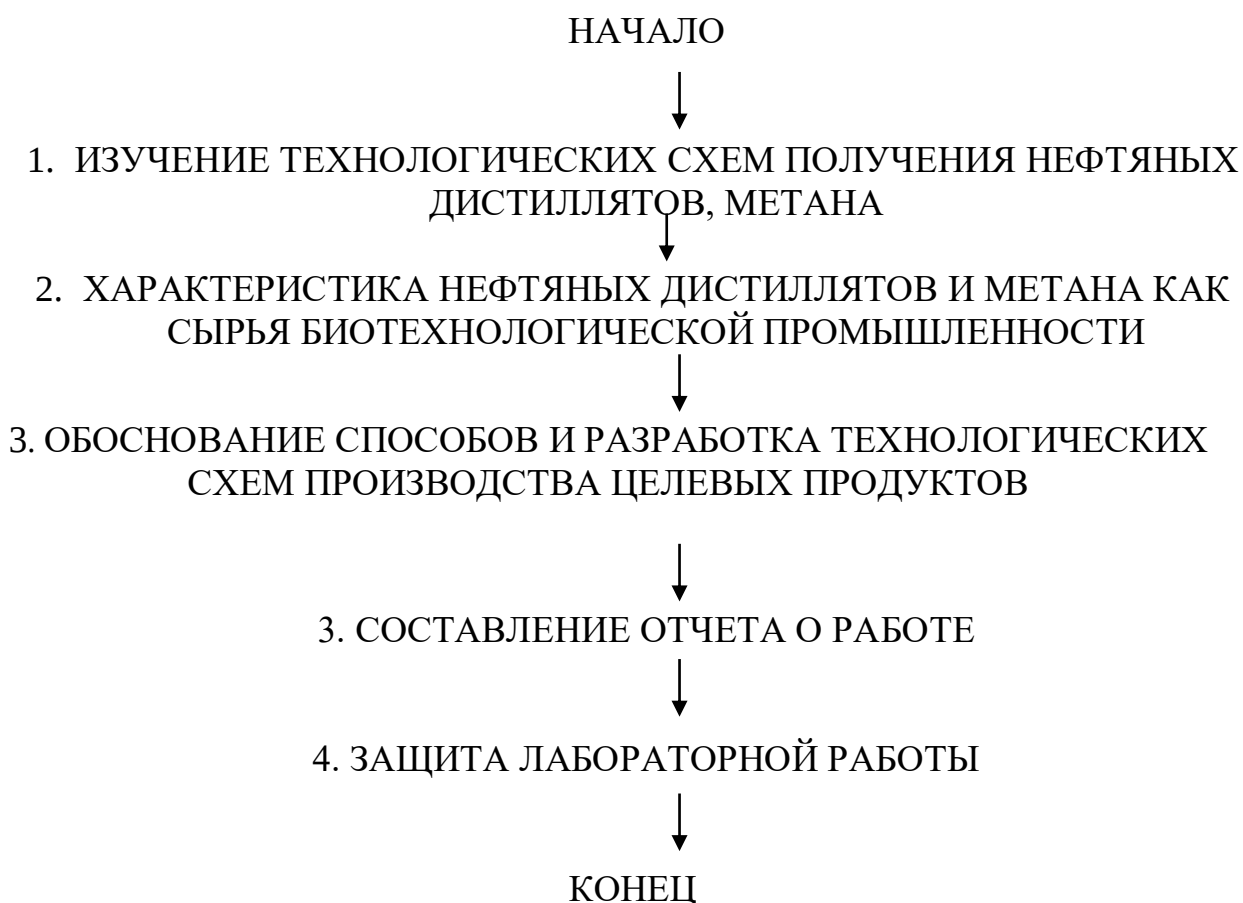
(* Примечание. При производстве сметаны ацидофильной проводят подсквашивание сливок при указанных в таблице режимах с последующим охлаждением до 25-26 °С и гомогенизацией при давлении 15-20 МПа. Кислотность сливок после гомогенизации должна составлять 60-65 °Т.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 7

ИЗУЧЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕРАБОТКИ УГЛЕВОДОРОДНОГО СЫРЬЯ

Цель работы: изучить биотехнологические процессы переработки углеводородного сырья; обосновать выбор рецептур питательных сред, микроорганизмов-продуцентов и технологических режимов получения целевых продуктов при культивировании на различных видах сырья; разработать технологические схемы производства целевых продуктов.

АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ



БЛОК 1. Углеродсодержащее сырье является основным для микробиологических производств. Источники углерода, используемые в биотехнологии (таблица), одновременно выполняют функцию носителей энергии, водорода и, в большинстве случаев, кислорода. С точки зрения

метаболизма микробной клетки большое значение имеют строение углеродной цепи и степень окисления углеродных атомов. Легкодоступными для большинства продуцентов являются сахара, многоатомные спирты. Некоторые микроорганизмы обладают способностью ассимилировать спирты (этанол, метанол), уксусную и другие карбоновые кислоты, углеводороды.

БЛОК 2. Привести данные о составе нефтяных дистиллятов, метансодержащих ферментационных сред. Сформулировать требования, предъявляемые к данным видам сырья при составлении рецептур питательных сред для культивирования микроорганизмов: качественный и количественный состав источников углерода, азота, фосфора, макро- и микроэлементов; наличие стимуляторов и ингибиторов биохимических процессов.

БЛОК 3. На основании индивидуального задания (приложение 2) обосновать выбор вида микроорганизмов и состава питательной среды для получения заданного целевого продукта, разработать аппаратурно-процессовую технологическую схему получения целевого продукта и ее описание с указанием параметров основных технологических операций.

БЛОК 4. Отчет по работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы;
- состав сырья и требования к сырью в биотехнологической промышленности;
- описание способов и технологические схемы получения нефтяных дистиллятов;
- технологическую схему и описание разработанного способа получения целевого продукта;
- выводы.

БЛОК 5. Контрольные вопросы:

- характеристика фракций н-алканов, метана как сырья для биотехнологических производств;

- способы получения фракций н-алканов, метана для процессов культивирования микроорганизмов;
- технологические особенности получения микробного белка при культивировании продуцентов на н-алканах, метансодержащих средах;
- технология получения белково-жировых дрожжей, биожира и биошрота при культивировании продуцентов на нефтяных дистиллятах, метансодержащих средах.

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

№ варианта	Субстрат	Целевой продукт
1	н-алканы	Белково-жировые дрожжи
2	н-алканы	Биожир и биошрот
3	н-алканы	БВК
4	метан	Белково-жировые дрожжи
5	метан	Биожир и биошрот
6	метан	БВК

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 7

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ УГЛЕВОДОРОДНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Цель работы: рассмотреть технологические схемы и аппаратное оформление процессов получения очищенных н-парафинов, нефтяных дистиллятов, метансодержащих сред для культивирования микроорганизмов – продуцентов белка; проанализировать требования к данным видам углеводородсодержащего сырья при использовании в микробиологической промышленности.

Источником углеводородов в промышленном микробиологическом синтезе являются продукты переработки нефти, в первую очередь дизельная фракция прямой перегонки, содержащая в своем составе нормальные парафиновые углеводороды, структура и молекулярная масса которых оптимальна с точки зрения их потребления дрожжами.

Получение нефтяных дистиллятов прямой перегонкой нефти.

Главным источником жидких парафинов и дизельной фракции, используемых в микробиологической промышленности, является нефть, которая состоит главным образом из парафиновых, нафтеновых и ароматических углеводородов с большей или меньшей примесью кислородсодержащих и сернистых соединений. Перед перегонкой сырая нефть, содержащая до 1% (по массе) воды и до 1800 мг/л хлоридов, обязательно подвергается обессоливанию и обезвоживанию, это снижает содержание воды в нефти до 0,1 % (по массе) и хлоридов до 3-4 мг/л. После этого нефть подается для перегонки на атмосферно-вакуумную трубчатую (АВТ) установку, технологическая схема которой приведена на рисунке 1.

Поток нефти с давлением 0,3-0,4 МПа проходят предварительные теплообменники-рекуператоры 1, где подогревается до температуры 210-230 °С и поступает в отбензинивающую колонну 2. В этой колонне из нефти выделяется легкая бензиновая фракция, которая конденсируется и собирается в емкость 3. Из нее часть легкой фракции возвращается на орошение колонны 2, а часть подается в стабилизационную колонну 7. Из этой же емкости 3 выделившийся из нефти растворенный газ поступает на компримирование и затем на газодиффузионную установку (ГДУ).

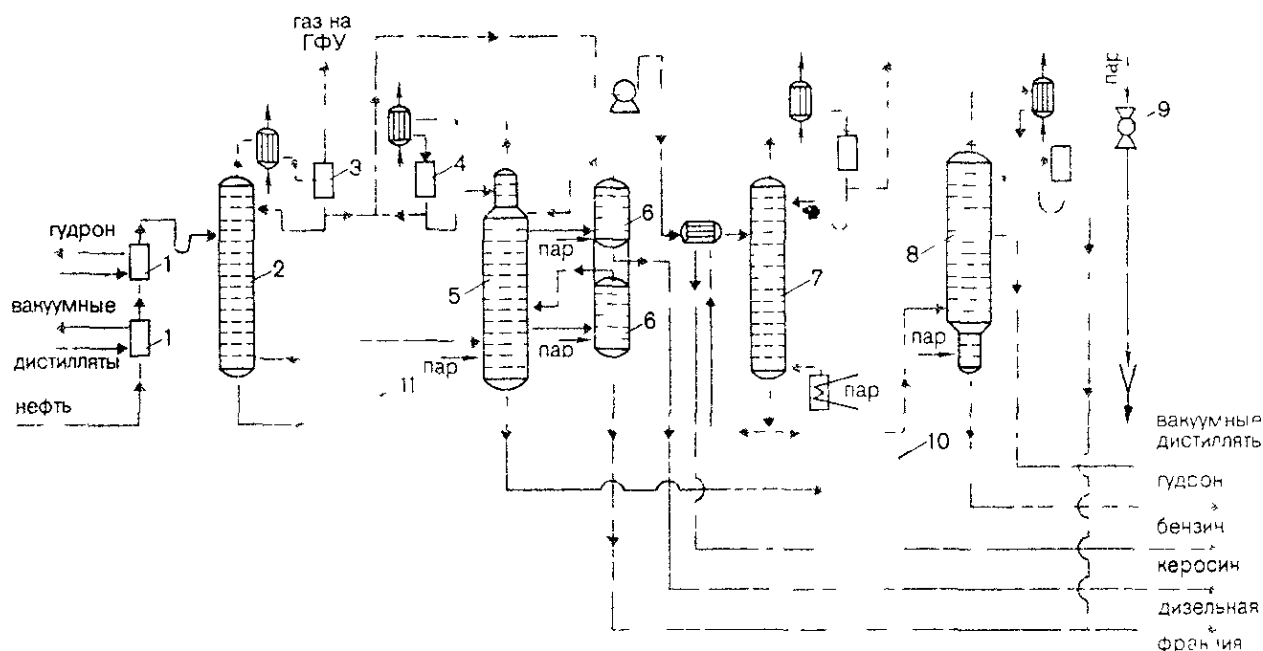


Рисунок 1 – Технологическая схема получения нефтяных дистиллятов

Полуотбензиненная нефть с низа колонны 2 направляется в трубчатую печь 11, где нагревается до 320-360 °С. Выходящий из трубчатой печи поток разделяется на две части: одна (15-20%) часть возвращается в виде «горячей струи» в отбензинивающую колонну 2, сообщая дополнительное количество тепла, необходимое для ректификации; другая часть потока поступает в атмосферную ректификационную колонну 5, где при давлении 60-100 КПа происходит разделение нефти на несколько фракций: с верха колонны 5 в паровой фазе выходит тяжелый бензин, который конденсируется в холодильнике-конденсаторе, поступает в сборную емкость 4, из которой частично возвращается на орошение колонны 5, а частично направляется в стабилизационную колонну 7; в качестве боковых продуктов выводятся керосиновая и дизельная фракции, которые направляются в соответствующие секции отпарной колонны 6.

В отпарной колонне 6 с помощью острого пара дополнительно удаляются легкие фракции, которые возвращаются в атмосферную колонну 5. После секций отпарной колонны 6 керосиновая и дизельная фракции через соответствующие теплообменники-утилизаторы выводятся с установки.

С низа атмосферной колонны 5 выходит мазут с температурой 300-350 °С, который нагревается в трубчатой печи 10 до 400-420 °С и поступает в колонну вакуумной перегонки 8, работающую при давлении 4-10 КПа. В ней мазут разделяется на вакуумные дистилляты и гудрон, которые в виде бокового продукта и кубового остатка выходят из колонны 8 и через теплообменники-утилизаторы 1 выводятся с установки. Сверху вакуумной колонны 8 паровым насосом 9 отсасываются пары воды, воздух, газы разложения и

некоторое количество легких нефтепродуктов, по температуре кипения близких к дизельной фракции.

Для снижения температуры нижней части колонн 5 и 8 и более полного извлечения дистиллятных фракций в низ колонн подается острый водяной пар. Избыточная теплота в колоннах 5, 8 снимается циркулирующим орошением.

В стабилизационной колонне 7 при давлении 0,7-1,1 МПа получают сверху сжиженный углеводородный газ, поступающий на ГФУ, а снизу стабильный бензин, не содержащий углеводородов C_3-C_4 , который затем подается на вторичную разгонку.

После разгонки нефти на АВТ получается ряд продуктов в следующем количестве (в процентах от исходного количества нефти) и выкипающих в следующем температурном диапазоне:

Продукты:	Количество, %	Температура, °С
сжиженный газ	1,0-1,2	до 50
бензиновая фракция	12-18	50-140
керосиновая фракция	16-18	120-240
дизельная фракция	17-21	200-360
вакуумный дистиллят	22-23	350-500
гудрон	20-30	свыше 500

Наиболее экономичным и доступным сырьем для производства кормовой биомассы могут служить дизельные фракции парафинистой и высокопарафинистой нефти, содержащие не менее 15 % н-алканов. Более низкое содержание н-парафинов делает процесс прямого получения биомассы неэффективным и требует предварительного выделения н-алканов для их последующего использования.

Микробиологическая депарафинизация дизельной фракции (нефтяных дистиллятов) позволяет осуществить комплексную переработку сырья, получая одновременно три целевых продукта: кормовую биомассу, технический биожир, компонент дизельного топлива с пониженной температурой застывания.

Получение н-парафинов для культивирования микроорганизмов переработкой нефтяных дистиллятов.

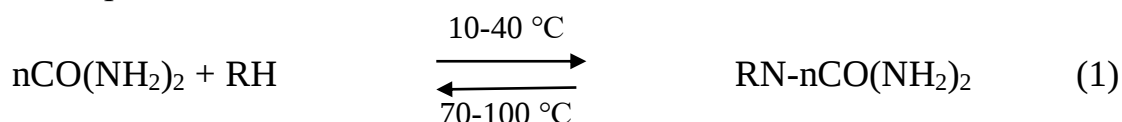
Для получения кормовой биомассы широко используются очищенные жидкие парафины с температурой кипения от 180 до 350 °С следующего состава (в %):

н-алканы	87-98
ароматические углеводороды	не более 0,5
сера	не более 0,05

Выделение парафинов с температурой плавления менее 30 °С (жидкие парафины) можно осуществлять несколькими способами. При получении н-алканов с длиной цепи $C_{10}-C_{20}$ как сырья для микробиологической

промышленности используют методы карбамидной депарафинизации дизельной фракции или адсорбционного извлечения жидких парафинов. Одновременно с выделением парафинов в обоих случаях получают низкозастывающее дизельное топливо (депарафинизат, нормализат) с температурой застывания от -35 до -45 °С.

Получение n-алканов карбамидной депарафинизацией дизельной фракции. Выделение n-парафинов из дизельной фракции основано на их способности образовывать с мочевиной (карбамидом) легко разлагаемые кристаллические соединения по реакции:



Технологическая схема этого процесса с применением растворителя (метиленхлорида.) для поддержания оптимальной температуры и лучшей грануляции комплекса приведена на рисунке 2.

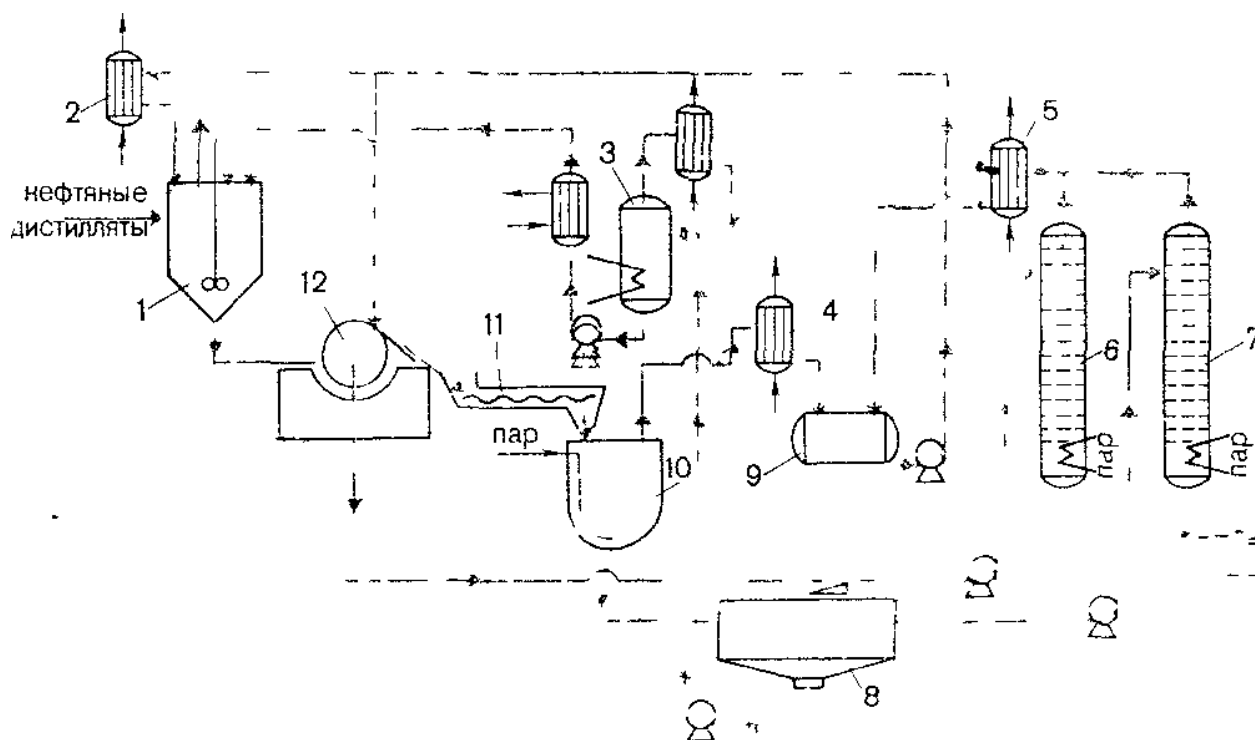


Рисунок 2 – Технологическая схема карбамидной депарафинизации нефтяных дистиллятов

В кристаллизатор 1 подают равные объемы нефтяных дистиллятов, содержащих до 20-30 % n-парафинов, метиленхлорида и насыщенного при 70-80 °С водного раствора карбамида. Кристаллы образуются очень быстро, а тепло кристаллизации снимается легкокипящим метиленхлоридом. Его пары конденсируются в конденсаторе 2 и растворитель возвращается в

кристаллизатор 1. Благодаря этому циклу в кристаллизаторе 1 поддерживается температура 35-40 °С.

Образовавшаяся масса направляется на барабанный фильтр 12, осадок промывается метиленхлоридом. Кристаллы с фильтра 12 шнеком 11 направляются в подогреватель 10, где они обрабатываются острым паром или горячей водой для разложения комплекса. Одновременно из подогревателя 10 отгоняется метиленхлорид, унесенный с кристаллами, который затем конденсируется в холодильнике 4 и стекает в сборник метилен-хлорида 9. Жидкость из подогревателя 10 отстаивается в отстойнике 8 (или разделяется на сепараторах), разделяясь на два слоя: верхний – парафин и нижний – водный раствор карбамида. Горячий парафин из отстойника 8 и депарафинизат из фильтра 12 поступают соответственно в ректификационные колонны 7 и 6, где от них отгоняется растворитель. Пары растворителя конденсируются в конденсаторе 5 и метиленхлорид стекает в сборник 9. Жидкие парафины и депарафинизат выводятся из кубов колонн 7 и 6. Водный раствор карбамида из отстойника 8 после «укрепления» в выпарном аппарате 3, где его доводят до насыщенного состояния при 70-80 °С, снова подают в кристаллизатор.

Полученные карбамидным способом жидкие парафины содержат до 85-92 % н-алканов и до 5 % алкилароматических соединений.

Снижение содержания ароматических углеводородов до требований микробиологической промышленности (не более 0,5 %) достигается с помощью дополнительной очистки серной кислотой или олеумом. После такой очистки содержание ароматических углеводородов составляет 0,2-0,4 % и эти парафины можно использовать при получении кормовой биомассы

Адсорбционное извлечение жидких парафинов.

Выделение жидких парафинов фракции C₁₀-C₁₈ из нефтяных дистиллятов основано на способности цеолитов избирательно сорбировать вещества с определенными размерами и конфигурацией молекул. Процесс состоит из двух стадий: адсорбция н-алканов на цеолитах (с размером пор до 0,5 нм) и их десорбции из пор цеолита. Десорбцию можно проводить с помощью снижения давления, повышения температуры или вытеснением другим веществом (н-пентаном, н-гексаном, аммиаком и т. д.).

Технологическая схема выделения н-алканов на цеолитах с использованием вытеснительной десорбции приведена на рисунке 3.

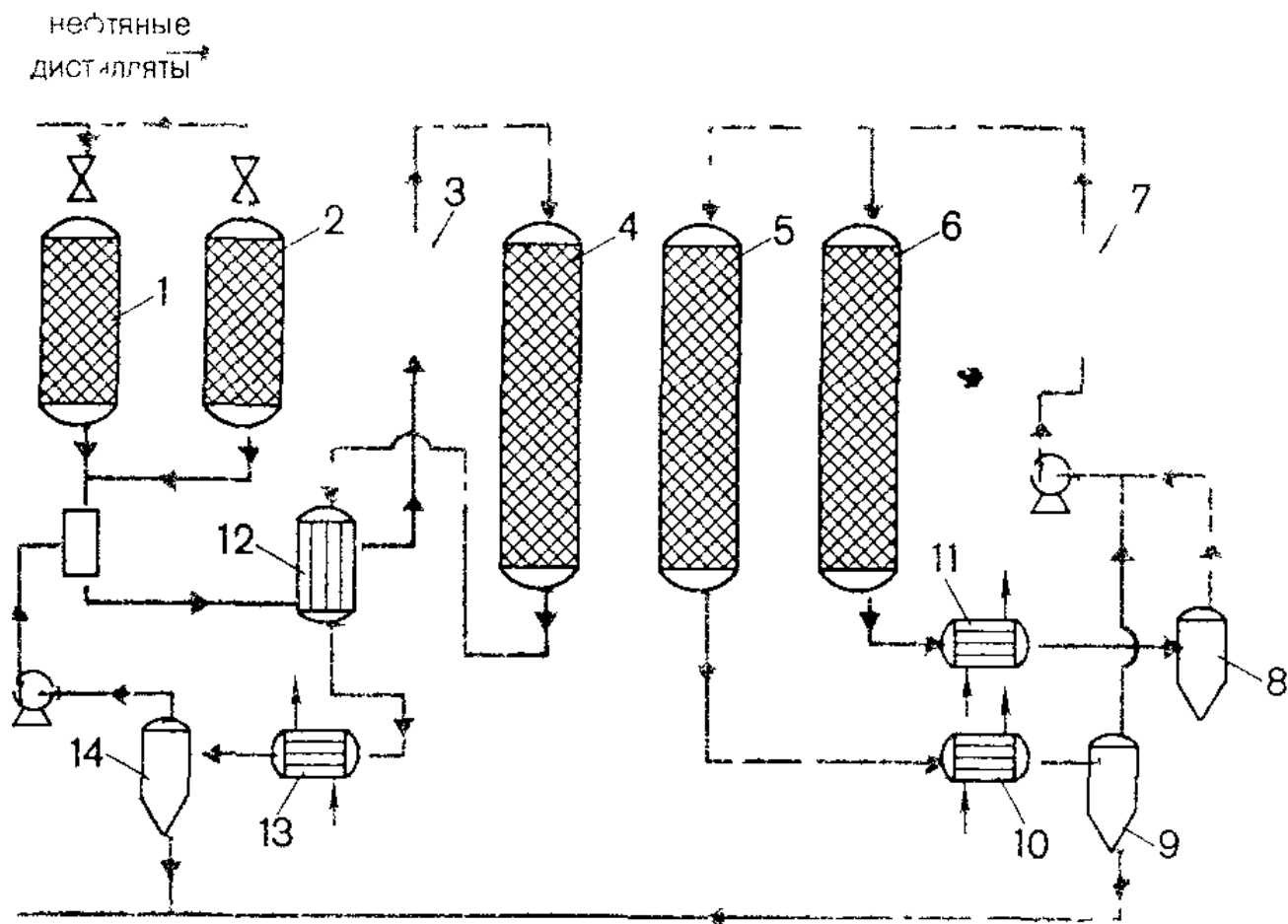


Рисунок 3. Технологическая схема адсорбционного извлечения жидких парафинов

Подаваемая на очистку нефтяная фракция (температура кипения 200-320 °С) подвергается предварительной сушке в адсорберах 1 или 2, работающих по сменно-циклическому графику для обеспечения регенерации адсорбента. После осушки сырье смешивается с газом-носителем (азот или водородсодержащий газ), подогревается в теплообменнике-утилизаторе 12 и после испарения и нагрева в трубчатой печи 3 до температуры 150-200 °С поступает в адсорбер 4, где и происходит адсорбция *n*-алканов. Адсорберы 4, 5, 6 работают по сменно-циклическому графику: адсорбция, продувка, десорбция. На этом рисунке показан случай, когда адсорбер 4 работает по графику адсорбции, 5 – по графику продувки и 6 – десорбции *n*-парафинов.

Выходящую из адсорбера 4 смесь охлаждают в теплообменнике-утилизаторе 12 и холодильнике 13, а в сепараторе 14 отделяют депарафинизированный конденсат от газа-носителя.

Депарафинизированная дизельная фракция с температурой застывания (-35)-(-45) °С выводится с установки. Отделенный в сепараторе 14 газ-носитель возвращается в цикл на смешение с исходной фракцией.

После окончания адсорбции производится продувка адсорбера аммиаком с температурой 200 °С (в адсорбере 5), при которой из свободного объема

адсорбера удаляются компоненты не вступившего в реакцию сырья, а с внешней поверхности гранул цеолита – неселективно адсорбированные углеводороды. Продувочный продукт проходит холодильник 10, в сепараторе-отделителе 9 отделяется от аммиака и объединяется с депарафинизатом, уходящим с установки.

После продувки начинается стадия десорбции (в десорбере 6). В адсорбер 6 подается аммиак с температурой 200 °С; проходя через цеолит, он десорбирует н-парафины из пор. Смесь н-алканов с аммиаком выходит из адсорбера 6, охлаждается в холодильнике 11, жидкие парафины при этом конденсируются и затем отделяются от аммиака в сепараторе 8. н-Парафины выводятся с установки, а аммиак из сепараторов 9 и 8 объединяется в один поток, нагревается в трубчатой печи 7 и возвращается в процесс.

Полученные жидкие парафины имеют следующий состав (в %):

н-алканы	не менее 98
ароматические углеводороды	не более 0,2
сера	не более 0,05

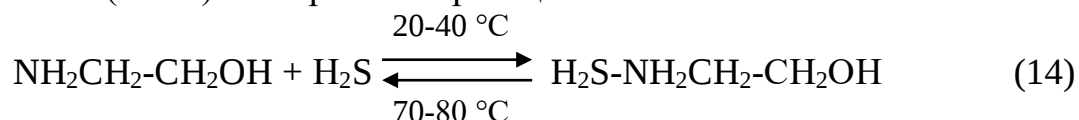
Таким образом, полученные жидкие парафины пригодны для дальнейшей микробиологической переработки без дополнительной очистки и могут быть поданы на стадию культивирования микроорганизмов.

Подготовка сырья для микроорганизмов, утилизирующих метан.

Природный газ – один из перспективных источников углерода в решении проблемы получения белковых продуктов из непищевого сырья. Помимо широкой распространенности и хорошей транспортабельности к его преимуществам следует отнести невысокую стоимость метана, практически полное отсутствие в нем ингибирующих примесей, а также легкое и полное удаление его из среды на всех стадиях переработки.

Метан – основной компонент природного газа и его концентрация может приближаться (для некоторых месторождений) к 100 %. Вместе с тем, круг метанотрофов сравнительно ограничен, а имеющийся в нашей стране природный газ требует перед подачей в ферментер дополнительной очистки, в первую очередь от сероводорода и других серосодержащих соединений, сильно ингибирующих рост клеток. Ниже изложены основы технологии очистки природного газа и его подготовки к подаче в биореактор.

Очистка от меркаптанов, сероводорода и воды осуществляется с помощью моноэтаноламина (МЭА) по обратимой реакции:



Технологическая схема процесса моноэтаноламинной очистки природного газа приведена на рисунке 4.

Природный газ с давлением около 0,3 МПа подается в нижнюю часть абсорбера 1, где контактирует с движущимся противотоком 15%-ным водным раствором МЭА и освобождается от примесей, которые переходят в раствор. Температура в абсорбере 1 не превышает 35-40 °С, что обеспечивает образование комплексов по уравнению (14). Очищенный газ выводится с установки.

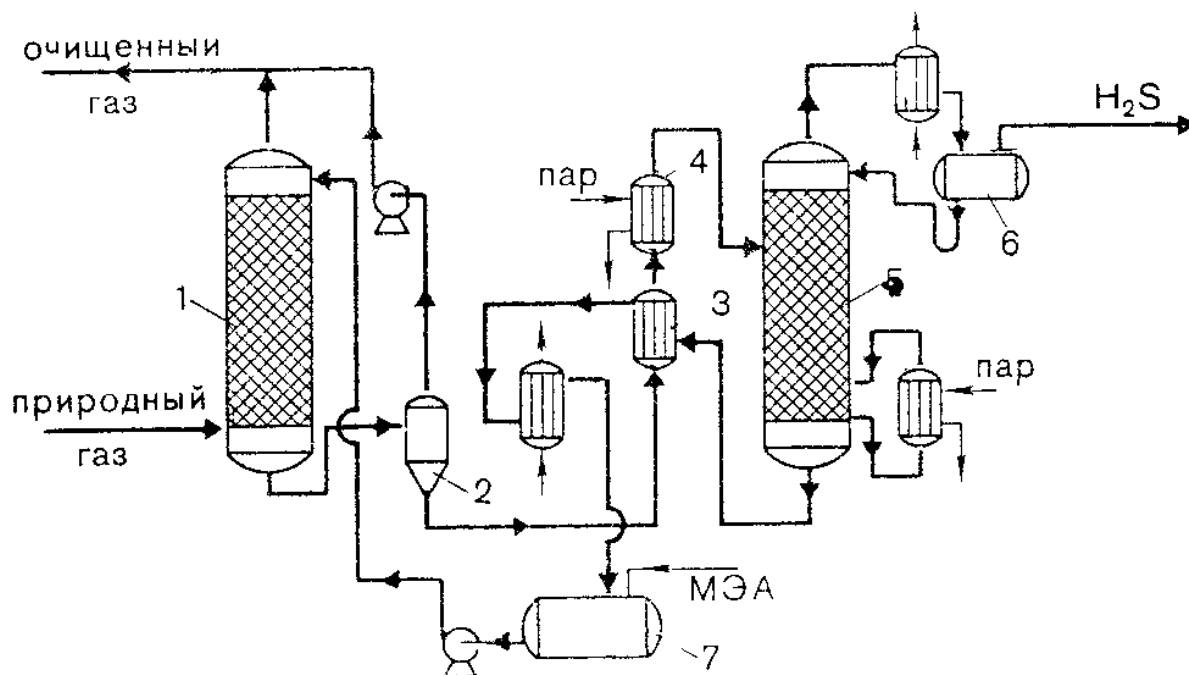


Рисунок 4. Технологическая схема МЭА очистки природного газа

Насыщенный серосодержащими соединениями раствор МЭА выводится из нижней части абсорбера 1 и поступает в сепаратор 2, где за счет снижения давления до 0,15 МПа выделяются растворившиеся газообразные углеводороды, которые отделяются, компримируются до давления 0,3 МПа и соединяются с газовым потоком из абсорбера 1.

Из сепаратора 2 раствор МЭА через теплообменник-рекуператор 3 и подогреватель 4 поступает в десорбер 5, в котором под действием острого пара при температуре 115-130 °С происходит разложение комплекса и выделение поглощенных МЭА серосодержащих соединений.

Регенерированный раствор МЭА выводится из десорбера 5, охлаждается в теплообменнике-рекуператоре 3, холодильнике и поступает в сборник 7. В этот

же сборник для компенсации потерь подается свежий раствор МЭА. Из сборника раствор МЭА насосом подается в абсорбер 1.

Насыщенный сероводородом водяной пар из десорбера 5 проходит через холодильник-конденсатор 8 и поступает в сборник 6. Из сборника 6 паровой конденсат возвращается на орошение десорбера 5, а выделившийся сероводород выводится с установки.

Полученный после очистки природный газ имеет следующий состав (% по объему):

Метан	не менее 95	Диоксид углерода	не более 1
Гомологи этан	не более 2	Сероводород	не более 0,01
пропан	не более 1	Серусодержащие	
сумма остальных	не более 1	соединения	не более 0,001

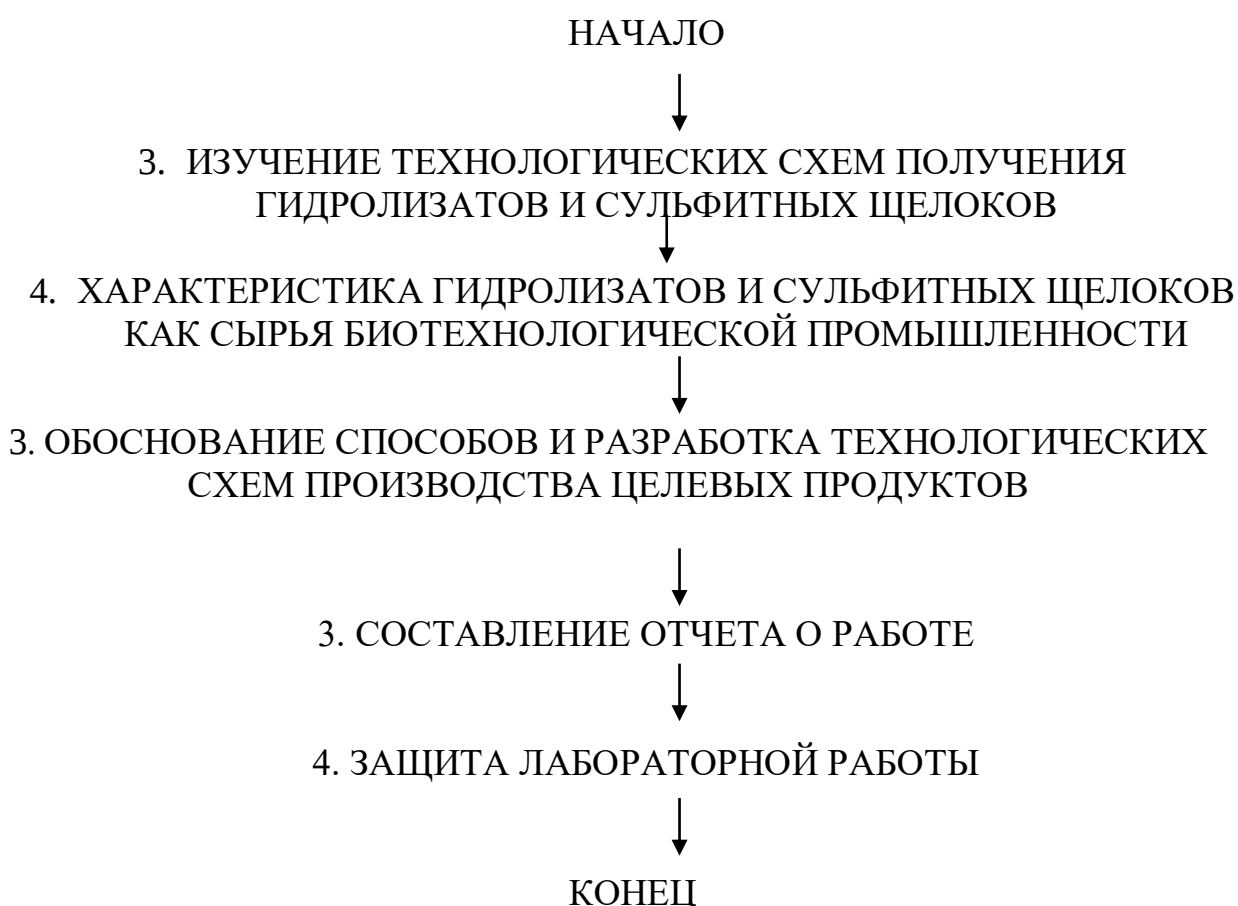
Такой природный газ является товарным продуктом, полностью соответствует требованиям микробиологической промышленности и может быть использован для культивирования микроорганизмов.

При получении белковых веществ из метана возникает и целый ряд технологических трудностей, например, медленный рост микроорганизмов и их повышенная потребность в кислороде (в 5 раз выше, чем на углеводах, и в 2-2,5 раза выше, чем на н-парафинах); низкая растворимость метана в культуральной жидкости (не более 0,02 г/л при атмосферном давлении); взрывоопасность (в интервале концентраций 5-15 % по объему метан образует с воздухом взрывоопасные смеси).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 8
ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ И
ПЕРЕРАБОТКИ ГИДРОЛИЗАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И
ТОРФА, СУЛЬФИТНЫХ ЩЕЛОКОВ.

Цель работы: обосновать выбор рецептур питательных сред, микроорганизмов-продуцентов и технологических режимов получения целевых продуктов при культивировании на различных видах сырья; разработать технологические схемы производства целевых продуктов.

АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ



БЛОК 1. Способы получения гидролизатов растительного сырья и торфа, сульфитных щелоков для нужд биотехнологической промышленности изучаются по литературным источникам и лекционному материалу. В отчете по

работе следует привести краткое описание технологии и аппаратное оформление следующих способов получения сырья:

- гидролиз растительного сырья перколяционным способом с последующей очисткой гидролизата;
- гидролиз торфа непрерывным способом с последующей очисткой гидролизата;
- получение сульфитных щелоков и их подготовка к процессам культивирования дрожжей.

БЛОК 2. Привести данные о составе гидролизатов растительного сырья и торфа, сульфитных щелоков. Сформулировать требования, предъявляемые к данным видам сырья при составлении рецептур питательных сред для культивирования микроорганизмов: качественный и количественный состав источников углерода, азота, фосфора, макро- и микроэлементов; наличие стимуляторов и ингибиторов биохимических процессов.

БЛОК 3. На основании индивидуального задания (приложение 4) обосновать выбор вида микроорганизмов и состава питательной среды для получения заданного целевого продукта, разработать аппаратно-процессовую технологическую схему получения целевого продукта и ее описание с указанием параметров основных технологических операций.

БЛОК 4. Отчет по работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы;
- состав сырья и требования к сырью в биотехнологической промышленности;
- описание способов и технологические схемы получения гидролизатов и сульфитных щелоков;
- технологическую схему и описание разработанного способа получения целевого продукта;
- выводы.

БЛОК 5. Контрольные вопросы:

- характеристика гидролизатов растительного сырья и торфа, сульфитных щелоков как сырья для биотехнологических производств;
- способы получения гидролизатов и сульфитных щелоков для процессов культивирования микроорганизмов;
- технологические особенности получения микробного белка при культивировании продуцентов на гидролизатах и сульфитных щелоках;
- технология получения белково-жировых дрожжей, биожира и биошрота при культивировании продуцентов на гидролизатах торфа;
- биотехнология получения этилового спирта на гидролизатах и сульфитных щелоках.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

№ варианта	Субстрат	Целевой продукт
1	Гидролизат растительного сырья	Белково-жировые дрожжи
2	Гидролизат торфа	Биожир и биошрот
3	Сульфитный щелок	БВК
4	Гидролизат растительного сырья	Этиловый спирт
5	Гидролизат торфа	Этиловый спирт
6	Сульфитный щелок	Этиловый спирт

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 8

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПОЛУЧЕНИЯ И ПЕРЕРАБОТКИ ГИДРОЛИЗАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ТОРФА, СУЛЬФИТНЫХ ЩЕЛОКОВ.

Цель работы: рассмотреть технологические схемы и аппаратное оформление процессов получения гидролизатов растительного сырья, торфа, а также сульфитных щелоков; проанализировать требования к данным видам сырья при использовании в микробиологической промышленности.

Технология получения гидролизатов растительного сырья.

Гидролиз растительного, главным образом древесного сырья, предназначенный первоначально для получения гексоз, дающих при сбраживании этанол, служит почти исключительно для изготовления гидролизатов как сырья для аэробного культивирования дрожжей. Гидролизаты содержат смесь моносахаридов состава C5 и C6 – пентоз и гексоз – и примеси, к сожалению, в большинстве своем нежелательные для микробиологического синтеза, но трудно отделяемые из получающегося разбавленного раствора углеводов. Важнейшим побочным продуктом гидролиза оказывается лишь фурфурол, химический синтез которого пока слишком затруднителен и не реализован в промышленности. Вследствие этого все схемы гидролиза предусматривают тщательное отделение фурфурола, а для так называемого пентозансодержащего сырья (подсолнечной и хлопковой шелухи, кукурузных кочерыжек и т.п.) режим гидролиза подбирается специально в расчете на наибольший выход фурфурола.

Химический состав растительного сырья, перерабатываемого на гидролизных заводах, неодинаков и колеблется в широких пределах. Главной частью этого сырья являются полисахариды, количество которых составляет 40-75 %, и лигнин, содержание которого может варьировать от 15 до 60 %. Обычно

в гидролизной промышленности под лигнином понимают все нерастворимые при кислотном гидролизе полисахаридов компоненты растительного сырья.

Полисахариды растительного сырья делятся на легко- и трудногидролизуемые. Легкогидролизуемая часть полисахаридов состоит из гемицеллюлоз и пектиновых веществ, количество которых составляет 15-40 %. Трудногидролизуемая часть полисахаридов состоит из целлюлозы с небольшой примесью гемицеллюлоз, общее количество которых 25-50 % в зависимости от вида растительного сырья.

Химический состав некоторых видов растительного сырья, максимально возможный выход редуцирующих веществ (РВ) и соотношение между гексозами и пентозами после гидролиза приведены в таблице 1. Как видно из таблицы, наибольшее количество РВ может быть получено при гидролизе кукурузной кочерыжки и древесины хвойных и лиственных пород.

Таблица 1 – Химический состав гидролизуемого растительного сырья (в процентах от АСВ)

Наименование сырья	Максимальный выход моносахаров			Полисахариды		Уроновые кислоты	Азотистые вещества	Лигнин
	общий	пентоз	гексоз	легко-гидролизуемые	трудно-гидролизуемые			
Древесина: - ели, сосны - березы, осины	62-72 69-73	5-6 19-25	62-66 44-54	16-19 21-28	40-49 34-44	3,9-4,1 5,7-8,0	1,4-2,2 1,3-4,0	24-28 20-27
Кора: - сосны - березы	45-57 37	10-16 17	26-36 20	21-31 18	16-20 17	7-10 7,3	1,1-3,1 -	20-53 24-25
Подсолнечная лузга	46-56	20	28	19-22	25-29	10-11	5,7-7,6	27-29
Кукурузная кочерыжка	79-83	35-39	11-43	37-39	33-34	5,5-8,2	2,1-2,9	15-17

Соотношение между гексозами и пентозами не имеет существенного значения при выращивании кормовых дрожжей, поскольку обе группы моносахаров утилизируются микроорганизмами. Уроновые кислоты усваиваются дрожжами значительно хуже, чем моносахариды. Поэтому сырье, богатое уроновыми кислотами, образует гидролизаты более низкого качества.

Ацетильные группы, входящие в состав многих гемицеллюлоз, легко отщепляются и при полном гидролизе образуют уксусную кислоту, которая при

культивировании кормовой биомассы усваивается наравне с моносахаридами. Легкоотщепляемые метоксильные группы при гидролизе образуют метиловый спирт, содержание которого может достигать 2-7 кг на 1 т абсолютно сухого сырья. Азотистые вещества в большей степени состоят из белков, которые при гидролизе распадаются до аминокислот. Небольшая часть негидролизованного белка остается в лигнине. При производстве кормовой биомассы аминокислоты легко усваиваются микроорганизмами и способствуют их росту.

Лигнин – нерастворенный при гидролизе остаток растительного сырья – находит ограниченное применение и в большинстве случаев является балластом. При гидролизе хвойных пород, содержащих от 2 до 10 % смолистых веществ, часть смолы образует эмульсию и вместе с коллоидным лигнином и продуктами распада сахаров оседает на стенках труб и приемников.

Основным способом гидролиза растительного сырья является перколяционный гидролиз разбавленной серной кислотой при повышенном давлении и температуре. По этому способу горячая разбавленная кислота (жидкая фаза) непрерывно протекает через слой неподвижной твердой фазы (измельченное растительное сырье), которая полностью погружена в жидкость.

Технологическая схема гидролиза растительного сырья приведена на рисунке 1. Измельченное растительное сырье транспортером 5 подается в гидролизатор 2 через верхнюю горловину. Для проведения процесса перколяции через верхний штуцер из смесителя 6 непрерывно подается горячая разбавленная серная кислота, получаемая смешением предварительно нагретой до 180-190 °С воды с концентрированной серной кислотой. Концентрированная серная кислота из емкости 25 проходит фильтр 24 для отделения взвешенных частиц и затем плунжерным насосом 23 через обратный клапан подается в смеситель 6.

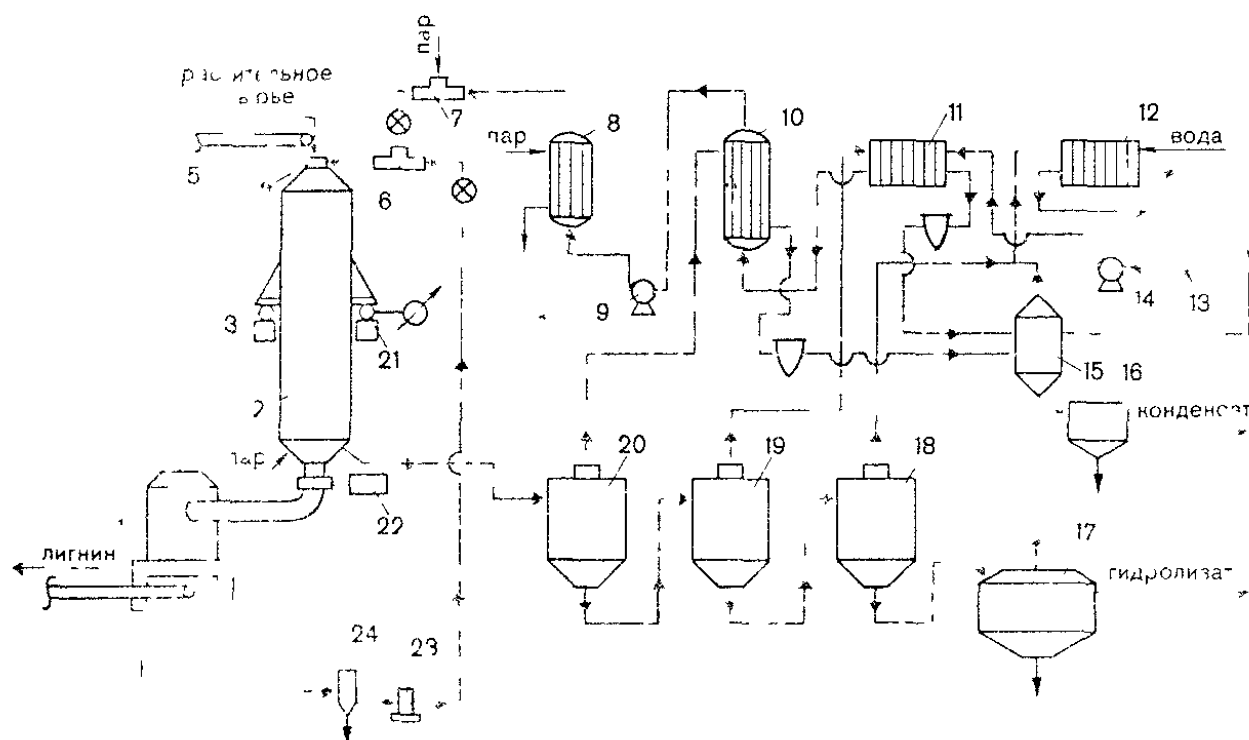


Рисунок 1 – Технологическая схема получения гидролизатов растительного сырья

Заданная концентрация серной кислоты, поступающей в гидролизатор, определяется соотношением потоков горячей воды и концентрированной кислоты, поступающих в смеситель 6. Для контроля за количеством жидкости в гидролизаторе 2 под одну из его опор устанавливается весомер 21, а под другую – подвижный шарнир 3.

Перед началом перколяции подогрев реакционной массы и гидролизатора осуществляется острым паром, подаваемым в нижний штуцер гидролизатора. В начальной стадии подогрева в верхней части гидролизатора 2 собирается воздух, вытесняемый из растительного сырья. Находящийся в воздухе кислород способствует образованию окисленных продуктов, что снижает качество получаемого гидролизата и выход РВ. Удаление воздуха из гидролизатора 2 (сдувка) проводится через обратный клапан и штуцер 4 снижением давления внутри аппарата с 0,3 до 0,1 МПа.

После сдувки давление пара в аппарате снова поднимается до заданного значения и начинается стадия перколяции (одновременная подача варочной

кислоты и отбор гидролизата). Перегретый гидролизат с температурой 150-185 °С отводится из гидролизаппарата в систему последовательно соединенных испарителей 20, 19, 18, где происходит ступенчатое снижение давления и охлаждение гидролизата до 100-105 °С. Для более полной рекуперации теплоты отходящего гидролизата работа испарителей регулируется так, чтобы давление в испарителе 20 было наибольшим, а в испарителе 18 – наименьшим, близким к атмосферному. В случае проведения инверсии гидролизата при повышенном давлении испаритель 18 не используется. В процессе снижения давления в испарителях образуются пары самоиспарения (около 10 % объема гидролизата), вместе с которыми из гидролизата удаляется большая часть фурфурола.

Пары самоиспарения из испарителя высокого давления 20 с температурой 140-150 °С поступают на конденсацию в поверхностный конденсатор высокого давления 10. Аналогично пары самоиспарения из испарителей 19 и 18 с температурой 115-125 °С и 100-105 °С соответственно конденсируются в конденсаторах 11 и 12.

Жидкость из аппаратов 10-12 через конденсационные горшки, пропускающие только жидкость, поступает в испаритель 15, где охлаждается до 100 °С, и затем поступает в сборник 16. На ряде гидролизных заводов конденсат из сборника 16 направляется на получение фурфурола.

Вода, используемая для разбавления серной кислоты, вначале подогревается в теплообменнике низкого давления 12 до 50-60 °С и собирается в сборник теплой воды 13. Из него теплая вода центробежным насосом 14 под давлением 0,4-0,5 МПа подается последовательно в теплообменники 11 и 10, где нагревается до 120-140 °С. Подогретая вода центробежным насосом высокого давления 9 под давлением до 1,0 МПа подается в подогреватель 8, где нагревается глухим паром до 160-170 °С. Окончательный нагрев воды осуществляется острым паром в струйном подогревателе 7. Такой двухступенчатый подъем давления подогреваемой воды позволяет использовать часть тепло-обменной аппаратуры, рассчитанной на меньшее давление.

По окончании процесса гидролиза оставшийся на дне гидролизаппарата лигнин через быстрооткрывающийся клапан 22 выбрасывается в циклон 1, где отделяется от паров самоиспарения, охлаждаясь до 105-110 °С, и транспортером удаляется из циклона.

Охлажденный до 103-108 °С гидролизат из последнего испарителя 18 поступает в инвертор 17, где происходит инверсия – процесс превращения не полностью гидролизованных растворимых в воде полисахаридов (в основном олигосахаридов и декстринов) в моносахариды, усваиваемые микроорганизмами. Поступающий в работающий при атмосферном давлении инвертор 17 гидролизат из-за снижения давления вскипает, охлаждаясь до 98-99 °С. Образующиеся пары самоиспарения поддерживают эту температуру в инверторе в течение 2-3 ч – всего времени инверсии. В процессе инверсии из гидролизата выделяется взвешенный лигнин, унесенный через сетчатые фильтры из гидролизаппарата 2, а также осадок смол, которые собираются в конусном днище инвертора и периодически удаляются из него.

Для уменьшения времени инверсии возможно проведение процесса при повышенном давлении (температура), так при температуре 130°С время инверсии составляет 40 мин.

Кислый гидролизат с рН 1,3-1,4 после инверсии имеет следующий состав (в % по объему):

Общее содержание РВ	2,5-3,5	Оксиметилфурфурол	0,08-0,2
Летучие органические кислоты	0,2-0,4	Формальдегид	0,005-0,015
Серная кислота	0,5-0,7	Коллоидные вещества	
Уроновые кислоты	0,1-0,2	(лигнин, гуминовые вещества)	0,2-0,4
Фурфурол	0,03-0,09		

При использовании гидролизата для культивирования микроорганизмов необходимо оценить его биологическую доброкачественность, под которой понимают показатель, отражающий степень влияния вредных примесей среды на процесс выращивания дрожжей или выход целевых продуктов их жизнедеятельности. Таким образом, биологическая доброкачественность сред

зависит от содержания в них примесей, мешающих развитию микроорганизмов, отрицательно действующих на их жизнедеятельность, тормозящих процессы обмена. Доброкачественность сред определяют биологическим методом по таким показателям, как выход биомассы в единицу времени, физиологическая активность клеток микроорганизмов и т.д.

В гидролизных средах основной примесью, подавляющей обмен веществ, рост и размножение дрожжей, является фурфурол, тормозящее действие которого проявляется при концентрациях выше 0,02 %. Оксиметилфурфурол (ОМФ) – также ингибитор процесса культивирования дрожжей, проявляет угнетающее действие при концентрациях выше 0,1 %. Однако при непрерывном культивировании допускается содержание ОМФ в гидролизате до 0,2 %, незначительно снижающее скорость роста дрожжей. Поскольку полного удаления всех ингибирующих примесей достигнуть не удастся, установлены минимально допустимые концентрации (в %) основных ингибирующих примесей в питательной среде:

Фурфурол	не более 0,03-0,04
ОМФ	0,05-0,1 (до 0,2)
Лигногуминовые вещества	до 0,1

Для получения биологически доброкачественных гидролизатов необходимо провести их обработку, включающую в себя следующие основные операции: нейтрализацию минеральных и части органических кислот; отделение осадков и коллоидных частиц; охлаждение субстрата до 30-35 °С; удаление вредных летучих примесей.

Характеристика побочных продуктов целлюлозно-бумажной промышленности как сырья для биотехнологии.

Основными отходами целлюлозно-бумажной промышленности являются предгидролизаты и сульфитный щелок. Предгидролизаты образуются при первичной обработке древесной щепы горячей водой для удаления гемицеллюлоз. При этом отщепляется содержащаяся в древесине связанная уксусная кислота и, переходя в водный раствор, создает в нем слабокислую реакцию ($\text{pH} \approx 4,5$). Это способствует протеканию частичного гидролиза

гемицеллюлоз и накоплению в водном растворе продуктов ее деполимеризации. При варке целлюлозы образуется до 6 м³ предгидролизатов на 1 т перерабатываемой древесины. Технология подготовки предгидролизатов для культивирования микроорганизмов аналогична процессу обработки гидролизатов растительного сырья.

Вторым отходом целлюлозно-бумажной промышленности является сульфитный щелок, объем которого составляет 6,5-8 м³ на 1 т полученной целлюлозы. В промышленности для выделения целлюлозы из древесины широкое распространение получил сульфитный метод, при котором древесину обрабатывают при повышенном давлении и температуре водным раствором солей сернистой кислоты. Нецеллюлозные компоненты древесного сырья, переходящие при такой обработке в раствор (сульфитный щелок), можно после соответствующей обработки и подготовки использовать в микробиологической промышленности.

Состав образующегося сульфитного щелока зависит от вида используемого сырья, режима варки и выхода целлюлозы. В зависимости от состава варочной кислоты различают следующие виды сульфитных варок:

1. Моносульфитная варка – процесс варки при pH 6-7, когда в гидролизаппарате вся сернистая кислота (диоксид серы) находится в связанном состоянии в виде моносульфата кальция (CaSO_3).

2. Бисульфитная варка – процесс варки при pH 4,0-4,2, когда весь диоксид серы связан в виде гидросульфита кальция $\text{Ca}(\text{HCO}_3)$ – без избытка SO_2 в среде.

3. Кислая бисульфитная варка – процесс варки при pH 1,0-1,5, когда в варочной кислоте вместе с гидросульфитом кальция имеется значительный избыток свободного SO_2 .

Для микробиологической переработки пригодны сульфитные щелока бисульфитной и кислой бисульфитной варок. Сульфитный щелок в зависимости от сырья и условий варки (pH 1,5-2,0 или pH 3,5-4,2) имеет следующий состав (% по объему, таблица 2).

Таблица 2 – Химический состав сульфитного щелока

Общее содержание РВ	1,7-3,1
Летучие органические кислоты	0,2-0,5
Сернистая кислота (в пересчете на SO ₂)	0,06-0,1
Метиловый спирт	0,03-0,06
Формальдегид	0,02-0,05
Фурфурол	0,02-0,06
Лигносulьфоновые кислоты	3,5-7,0
Гидросульфит кальция	0,03-0,8

Помимо концентраций ряда примесей определяющих биологическую доброкачественность субстрата, необходимо отметить присутствие диоксида серы, наиболее угнетающе действующего на рост и размножение дрожжей. Концентрация свободного SO₂ не должна превышать 0,005 %, непосредственно титруемого SO₂ – 0,03-0,06 %, альдегидносвязанного SO₂ – 0,2-0,3 %, содержание волокон целлюлозы – не более 0,05 г/л.

Для снижения концентраций вредных примесей до значений ПДК сульфитные щелока перед культивированием должны пройти обработку, включающую следующие стадии: отделение волокон целлюлозы; десульфитацию, включающую как удаление свободного диоксида серы, так и выведение избытка сульфитов, разрушение карбоксилсульфитных соединений, окисление ряда сульфитов в сульфаты; нейтрализацию щелока с его последующим охлаждением и отстаиванием (для щелоков кислой бисульфитной варки).

Для повышения содержания усваиваемых моносахаридов в 1,5-2 раза рекомендуется проведение инверсию щелоков, аналогичную обработке предгидролизатов растительного сырья. Технологическая схема процесса обработки сульфитных щелоков приведена на рисунке 2.

Сульфитный щелок с температурой 80-90 °С поступает в инвертор 1, где в течение 2-3 ч. происходит гидролиз олигосахаридов. Из инвертора 1 сульфитный щелок направляется на отделение волокон целлюлозы, осуществляемое на вакуум фильтре 2, так как волокна неблагоприятно влияют на процесс ферментации дрожжей и забивают аппаратуру.

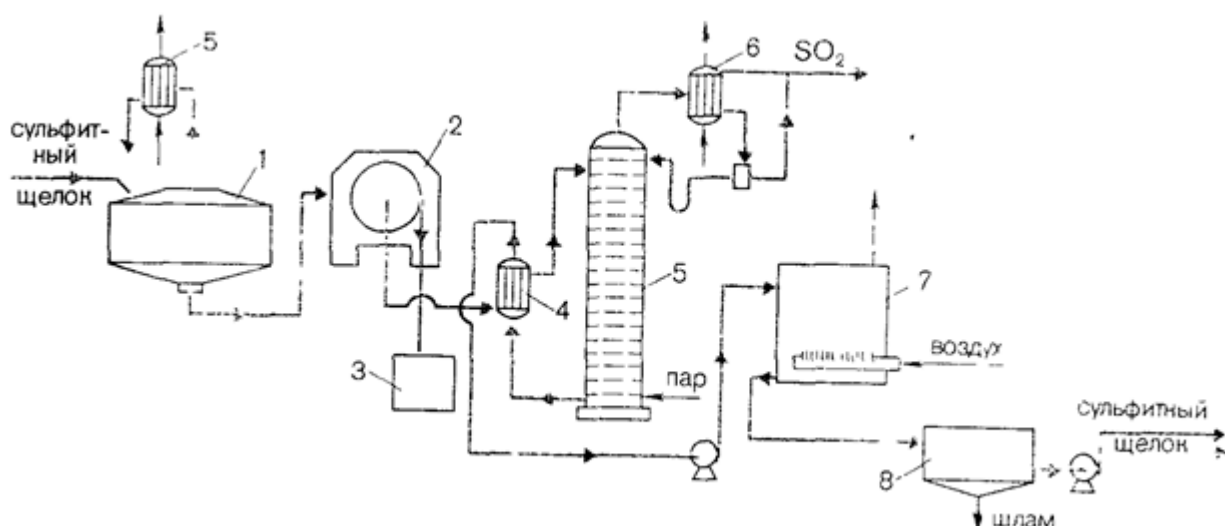


Рисунок 2 – Технологическая схема подготовки сульфитных щелоков

Для предупреждения потерь тепла в окружающую среду процесс проводят в закрытых барабанных фильтрах. Отделенные на фильтре волокна целлюлозы направляют в сборник 3, а сульфитный щелок проходит подогреватель 4, нагреваясь там до 90-95 °С, и подается в барботажную колонну 5, где происходит отдувка сернистых соединений острым паром. Выходящая из колонны парогазовая смесь конденсируется в конденсаторе 6 и направляется в систему регенерации SO_2 .

Выходящий из колонны 5 щелок с температурой 105-108 °С отдает часть теплоты в теплообменнике 4 и с температурой 80-85 °С поступает в сборник-окислитель 7, в котором продувается воздухом в течение 1-3 ч для окисления растворимых сульфитов в сульфаты. Степень окисления сульфитов в сульфаты сильно зависит от температуры щелока, уменьшаясь при снижении температуры. Для обеспечения не только полного окисления сульфитов, но и осаждения кристаллов гипса, присутствующего в любом щелоке, кислотность щелока не должна превышать 3,5. После окисления в окислителе 7 сульфитный щелок бисульфитной варки имеет рН 3,5-4,0 и может подаваться после осветления в отстойнике 8 на стадию культивирования дрожжей без дополнительной обработки.

Сульфитный щелок после кислой бисульфитной варки имеет рН 2-2,5 и должен подаваться на стадию нейтрализации. После нейтрализации сульфитный

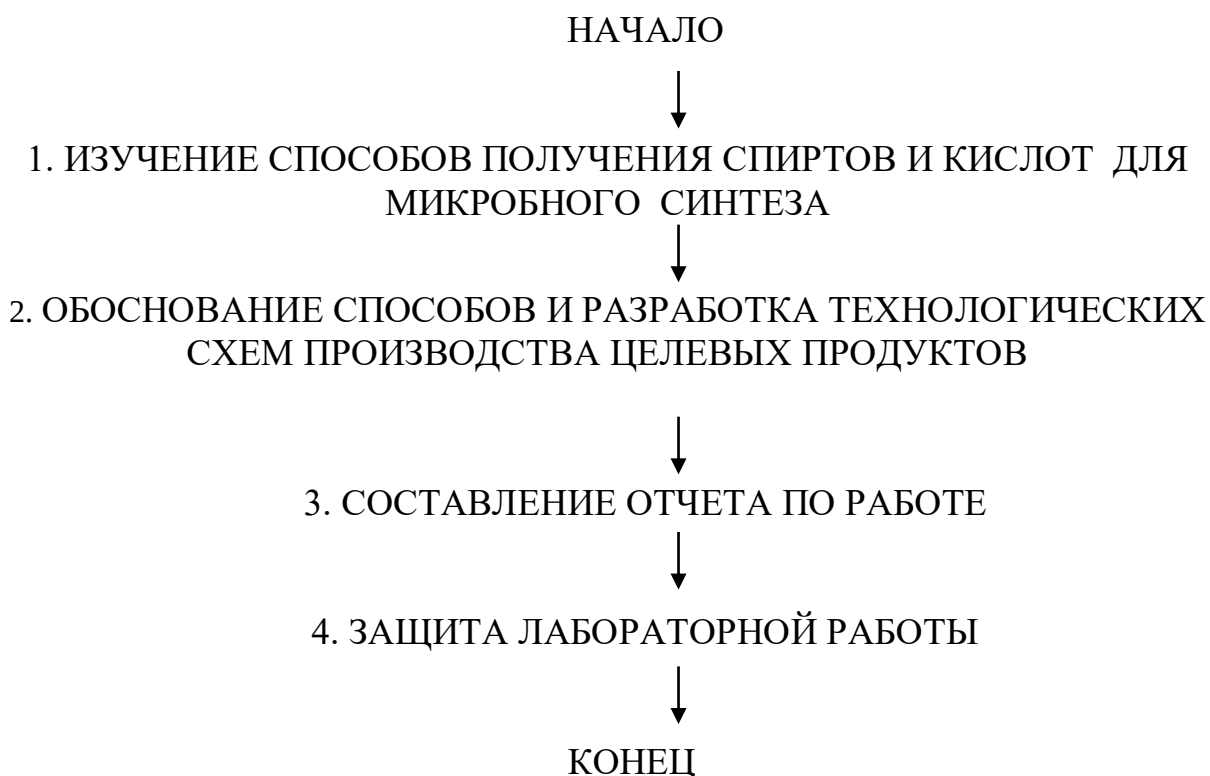
щелок с температурой 30-35 °C и pH 3,7-4,2 поступает на стадию ферментации для культивирования микроорганизмов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 9

ИЗУЧЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕРАБОТКИ СПИРТОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

Цель работы: рассмотреть технологические схемы и аппаратное оформление процессов получения спиртов и уксусной кислоты торфа для микробиологической промышленности; обосновать выбор рецептур питательных сред, микроорганизмов-продуцентов и технологических режимов получения целевых продуктов при культивировании на данных видах сырья; разработать технологические схемы производства целевых продуктов.

АЛГОРИТМ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ



Блок 1. Способы получения спиртов и органических кислот для нужд биотехнологической промышленности изучаются по литературным источникам и лекционному материалу. В отчете по работе следует привести краткое описание технологии и аппаратное оформление следующих способов получения сырья:

- получение метанола на основе синтез-газа;
- синтез этанола сернокислотной гидратацией этилена;
- синтез этанола прямой гидратацией этилена;
- получение уксусной кислоты окислением этилена;
- получение уксусной кислоты карбонилированием метанола.

Блок 2. На основании индивидуального задания (приложение 3) обосновать выбор вида микроорганизмов и состава питательной среды для получения заданного целевого продукта, разработать технологическую схему получения целевого продукта и ее описание с указанием параметров основных технологических операций.

Блок 3. Отчет по работе должен включать:

- титульный лист;
- цель работы;
- описание способов и технологические схемы получения метанола, этанола, уксусной кислоты для нужд биотехнологии;
- технологическую схему и описание разработанного способа получения целевого продукта;
- выводы.

Блок 4. Контрольные вопросы:

- характеристика метилового и этилового спиртов как сырья для биотехнологических производств;
- способы получения метанола и этанола для микробиологической промышленности;
- обоснование к уксусной кислоте как сырьем для микробиологической промышленности;

- технологические особенности культивирования микроорганизмов при получении микробного белка на метаноле и этаноле;
- биотехнология и аппаратное оформление получения уксусной кислоты;
- технология и аппаратно-процессовое оформление получения кормового лизина.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ЗАДАНИЯ

№ варианта	Субстрат	Целевой продукт
1	Метиловый спирт	БВК
2	Метиловый спирт	Белково-жировые дрожжи
3	Этиловый спирт	Микробный белок
4	Уксусная кислота	Кормовой лизин
5	Этиловый спирт	Уксусная кислота (периодическая ферментация)
6	Этиловый спирт	Уксусная кислота (непрерывная ферментация)

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 9

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА ЛИЗИНА НА МЕЛАССНЫХ И АЦЕТАТНЫХ СРЕДАХ

Цель работы: проанализировать технологические схемы получения концентратов и препаратов лизина на углеводных и ацетатных средах, оценить их эффективность.

Производственные штаммы-суперпродуценты лизина – это ауксотрофные штаммы бактерий *Corynebacterium glutamaticum*, *Brevibacterium flavum*. Биотехнологический процесс производства лизина с использованием ауксотрофных микроорганизмов требует специального состава питательных сред, которые подбираются индивидуально для каждого штамма. Получены штаммы, обеспечивающие 40 %-ю конверсию углеродного субстрата в аминокислоту и выход лизина на сахарах до 40 г/л, на уксусной кислоте – до 50–73 г/л.

Получение L-лизина на питательных средах, содержащих уксусную кислоту.

В состав питательной среды в качестве источника углерода входит смесь, включающая уксусную кислоту и свекловичную мелассу; в качестве источника азота – соли аммония, мочевины; в качестве источника биологически активных веществ – кукурузный экстракт (1,2–1,5 % по содержанию сухих веществ, гидролизат дрожжей, витамины группы В, биотин, микроэлементы (Р, Mg, Fe, Са и др.). Токсичность уксусной кислоты делает необходимой дробную подачу ацетата; его концентрация не должна превышать 2 %. Небольшие добавки сахара в среду (около 1 %) повышают выход лизина на 30–50 %.

Ферментация проводится в асептических условиях строго в глубинной аэробной периодической культуре в аппаратах объемом 50 и 100 м³. Процесс длится 55–72 часа при 28–32 °С, контролируемом рН 7,0–7,2, непрерывном перемешивании и избыточном давлении. Уровень аэрации составляет 1 м³

воздуха/м³ питательной среды в минуту. При снижении аэрации происходит образование молочной кислоты. Для пеногашения используют синтетические масла (0,5 % от объема среды). Конечная концентрация лизина в среде достигает до 50 г/л. При использовании мутантного штамма *B. flavum* обеспечивается выход лизина на ацетатной среде до 73,0 г/л.

Для получения очищенного препарата лизина, культуральную жидкость после отделения фильтрацией бактерий, подкисляют хлористоводородной кислотой до pH 1,6–2,0. Полученный монохлоргидрат лизина в культуральной жидкости подвергают хроматографии на катионите. Обладая двумя положительно заряженными ионогенными группировками, лизин прочно сорбируется на смоле. При этом происходит сорбция лизина на катионите и отделение аминокислоты от культуральной жидкости. Десорбцию лизина проводят раствором аммиака. Полученный раствор аминокислоты в растворе аммиака концентрируется в вакууме при 60 °С до 30–50 % концентрации по сухому веществу. Концентрированный раствор охлаждают при температуре 10–12 °С. При охлаждении монохлоргидрат выпадает в виде кристаллов желтого цвета. Путем перекристаллизации полученной соли монохлоргидрата лизина в этиловом спирте удастся получить субстанцию лизина с чистотой 97–98 % основного вещества. Существует возможность выделять высокоочищенный лизин и по другой схеме: ультразвуковая обработка бактерий, центрифугирование и ионно-обменная хроматография.

Предложен метод получения лизина за счет сорбции аминокислоты в двухзарядной форме, так как после ферментации культуральную жидкость (исходная концентрация лизина в культуральной жидкости 20 г/л) подкисляют серной кислотой до pH 1,5–1,9 и в охлажденном виде подают на ионообменную колонну с катионитом КУ-2-8.

После сорбции колонну промывают водой для удаления клеток, примесей и окрашенных пигментных веществ. Необходимо отметить, что лизин в процессе сорбции эффективно отделяется от сопутствующих аминокислот. При указанной величине pH (1,5–1,9) лизин обладает наибольшим сродством к катиониту.

Десорбцию и элюирование проводят 4,5 % раствором аммиака с линейной скоростью 1,1–1,3 м³/час. Объединенная фракция содержит 126–130 г/л лизина. При проведении хроматографии снижается концентрация Na⁺, K⁺, Ca²⁺ по сравнению с исходной концентрацией в 20, 12 и 11 раз, соответственно. В результате очистки из 2400 кг лизина, содержащегося в культуральной жидкости, выделено 1900 кг аминокислоты в виде обогащенной фракции. Аммиак из элюата удаляют нагревом раствора. После перекристаллизации получают 1400 кг очищенного лизина.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по организации самостоятельной работы обучающихся
по дисциплине «**Технология ферментационных процессов.**

Пищевая биотехнология»

для студентов направления подготовки

19.03.01 Биотехнология

Направленность (профиль): «Промышленная биотехнология»

Ставрополь, 2026

ВВЕДЕНИЕ

Освоение программы дисциплины предполагает освоение теоретических знаний и формирование навыков их практического применения.

Самостоятельная работа студентов – важнейшая составная часть занятий, необходимая для полного усвоения программы курса.

Целью самостоятельной работы является закрепление и углубление знаний, полученных студентами на лекциях, подготовке к текущим лабораторным работам, промежуточным формам контроля знаний и к итоговому контролю.

Дидактические цели самостоятельных занятий:

- формирование профессиональных умений;
- формирование умений и навыков самостоятельного умственного труда;
- мотивирование регулярной целенаправленной работы по освоению дисциплины;
- развитие самостоятельности мышления;
- формирование убежденности, волевых черт характера, способности к самоорганизации.

Методическое обеспечение самостоятельной работы дисциплине состоит из:

- определения учебных вопросов, которые студенты должны изучить самостоятельно;
- подбора необходимой учебной литературы, обязательной для проработки и изучения;
- поиска дополнительной научной литературы, к которой студенты могут обращаться по желанию, если у них возникает интерес в данной теме;
- определения контрольных вопросов, позволяющих студентам самостоятельно проверить качество полученных знаний;
- организации консультаций преподавателя со студентами для разъяснения вопросов, вызвавших у студентов затруднения при самостоятельном освоении учебного материала.

Самостоятельная работа студента – это особым образом организованная деятельность, включающая в свою структуру такие компоненты, как: уяснение цели и поставленной учебной задачи; четкое и системное планирование самостоятельной работы; поиск необходимой учебной и научной информации; освоение собственной информации и ее логическая переработка; проведение самоанализа и самоконтроля.

Основные виды самостоятельных работ по учебной дисциплине:

работа с понятийным аппаратом; поисковая работа с различными источниками; составление аннотированного списка литературы по проблеме.

Контроль знаний студентов включает формы текущего и итогового контроля.

Текущий контроль осуществляется в процессе изучения курса и включает в себя оценку работы студентов на лабораторных работах.

1 Общая характеристика самостоятельной работы

Целью изучения дисциплины «Технология ферментационных процессов. Пищевая биотехнология» является формирование профессиональных компетенций будущего бакалавра в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению подготовки 19.03.01 - Биотехнология, направленность (профиль) – Промышленная биотехнология.

Задачи дисциплины состоят в изучении на базе фундаментальных законов физики и химии общих процессов, протекающих в различных пищевых производствах, изучении современных аппаратов, общих методов их расчёта, путей рационализации процессов, выбора оптимальных конструкций аппаратов в конкретных производствах, в освещении основных технических проблем, научных достижений и современных тенденций использования новых физических методов обработки пищевых продуктов в тесной взаимосвязи с вопросами технологии.

Цели и задачи самостоятельной работы. Самостоятельная работа направлена на решения ряда задач, к которым относятся:

- систематизация и закрепление полученных теоретических знаний и лабораторных умений студентов;
- углубление и расширение теоретических знаний;

- формирование умения использовать справочную литературу;
- развитие познавательных способностей и активности студентов:
- творческой инициативы, самостоятельности, ответственности и организованности;
- формирование самостоятельности мышления, способностей к саморазвитию, самосовершенствованию и самореализации;
- развитие исследовательских умений.

Актуальность: Работа выпускника в современных условиях обуславливает необходимость изучения принципиальных подходов к изучению дисциплины. Знания, полученные в рамках изучения дисциплины необходимы на протяжении всей профессиональной деятельности.

Виды самостоятельной работы

Рабочей программой по дисциплине предусмотрено самостоятельное изучение материалов в т. ч. по темам лабораторных работ. Для успешного выполнения данного вида работ, необходимо самостоятельно детально изучить материалы представленных тем по рекомендуемым источникам информации:

№ п/п	Виды самостоятельной работы	Рекомендуемые источники информации (№ источника)			
		Основная	Дополнительная	Методическая	Интернет-ресурсы
1	Подготовка к лекции	1 2	1 2	1 2	1
2	Подготовка к лабораторному занятию	1 2	1 2	1 2	1
3	Подготовка к практическому занятию	1 2	1 2	1 2	1
4	Самостоятельное изучение литературы	1 2	1 2	1 2	1

При изучении материалов по каждой теме необходимо составить краткий конспект наиболее важной информации.

Работа с конспектом лекций.

Просмотрите конспект сразу после занятий. Отметьте материал конспекта лекций, который вызывает затруднения для понимания. Попробуйте найти ответы на затруднительные вопросы, используя предлагаемую литературу. Если самостоятельно не удалось разобраться в материале, сформулируйте вопросы и обратитесь на текущей консультации или на ближайшей лекции за помощью к преподавателю.

Каждую неделю отводите время для повторения пройденного материала, проверяя свои знания, умения и навыки по контрольным вопросам и тестам.

Помимо самостоятельного изучения материалов по темам к самостоятельной работе студентов относится подготовка к лабораторным работам по результатам которой студент представляет отчет преподавателю и проходит собеседование.

При самостоятельной подготовке к лабораторной работе студент:

- организует свою деятельность в соответствии с методическим руководством по выполнению лабораторных работ;
- изучает информационные материалы;
- подготавливает и оформляет материалы лабораторных работ в соответствии с требованиями.

В результате выполнения указанных видов самостоятельной работы происходит **формирование компетенций** представленных ниже:

Код	Формулировка
ПК-1	Способен участвовать в разработке и проектировании технологических процессов согласно принятой в организации технологии производства пищевой и биотехнологической продукции с использованием современных систем автоматизированного проектирования
ПК-2	Способен к реализации биотехнологических процессов в соответствии с технологическим регламентом и использованием средств измерения основных параметров, методов контроля свойств сырья, полуфабрикатов и готовой продукции

2 План-график выполнения самостоятельной работы

Правильная организация самостоятельной работы и ее систематичность, позволяет развивать умения и навыки; проводить систематизацию полученных знаний, обеспечивать высокий уровень успеваемости в период обучения, получить навыки повышения профессионального уровня.

3. Методические рекомендации по изучению теоретического материала

При изучении дисциплины у студентов должен вырабатываться рационально-критический подход к изучаемым проблемам и явлениям. Это включает понимание того, что со временем ряд информационных и теоретических материалов устаревает, требуя критического отношения. С другой стороны, каждый текущий вопрос имеет свою историю, которую тоже полезно знать.

Чтобы понять содержание теоретического материала, нужно уметь его прочитывать. Начинать следует с предварительного просмотра, в ходе которого ознакомиться с названием работы, с аннотацией, оглавлением, предисловием. Часто замысел работы ясен уже при ознакомлении с ее названием. Но особенно интересен просмотр оглавления, в результате которого становится ясным развитие мысли автора. Неплохо было бы появившиеся при этом мысли зафиксировать на бумаге.

Просматривая текст оглавления, нужно остановиться на тех главах, которые представляют для вас особенный интерес, бегло ознакомиться с ними, составляя в общих чертах свое представление о них. Цель этого действия – найти места, относящиеся к искомой теме, определив при этом, что ценного в каждом из них.

Следующий этап – прочтение выделенных мест с фиксацией самых главных сведений. При этом надо четко и ясно осознавать цель чтения, постоянно держа ее перед собой: по какому вопросу нужна информация, для чего нужна, ее характер и т.д. необходимо менять режим чтения – от беглого вдумчивого – в зависимости от ценности информации, останавливаясь там, где это требуется для глубокого понимания текста.

Следует научиться определять структуру текста по соподчиненности его частей, учитывая взаимосвязь текста с рисунками, сносками, примечаниями и таблицами. Все это поможет пониманию текста при беглом ознакомлении с ним. Так вырабатывается способность при прочтении сразу понимать смысл и значение новой информации.

Многие книги и статьи имеют в своем аппарате списки литературы, которые дают возможность пополнить информационную осведомленность о дополнительной литературе по данному вопросу.

Отдельный этап прочтения – ведение записей прочитанного. Существует несколько видов записей: план, выписки, тезисы, аннотация, резюме, конспект.

Планом удобно пользоваться при подготовке к устному выступлению по выбранной теме. Каждый пункт плана должен раскрывать одну из сторон избранной темы, а весь план должен охватывать ее целиком.

Тезисы предполагают сжатое изложение основных положений текста в форме утверждения или отрицания. Они являются более совершенной формой записей и представляют основу для дискуссии. К тому же их легко запомнить.

Аннотация – краткое изложение содержания – дает общее представление о работе.

Резюме кратко характеризует выводы, главные итоги произведения.

Конспект является наиболее распространенной формой ведения записей. Основную ткань конспекта составляют тезисы, дополненные доказательствами и рассуждениями. Конспект может быть текстуальным, свободным или тематическим. Текстуальный представляет собой цитатник с сохранением логики работы и структуры текста. Свободный конспект основан на изложении материала в том порядке, который более удобен автору. В этом смысле конспект представляет собирание воедино мыслей, разбросанных по всей книге. Тематический конспект может быть составлен по нескольким источникам, где за основу берется тема, интерпретируемая по-разному.

Экономия времени дает использование при записях различного рода сокращений, аббревиатуры и т.д. многие используют для регистрации исследуемых тем систему карточек. Преимущество карточек в том, что тема там излагается очень сжато, и они очень удобны в использовании, т.к. их можно разложить на столе, перегруппировать и без труда найти искомую тему.

4. Методические указания по видам работ, предусмотренных рабочей программой

Работа на лекции является очень важным видом студенческой деятельности для изучения дисциплины «Проектирование предприятий общественного питания», т.к. на лекции происходит не только сообщение новых знаний, но и систематизация и обобщение накопленных знаний, формирование на их основе идейных взглядов, убеждений, мировоззрения, развитие познавательных и профессиональных интересов. Лектор ориентирует студентов в действующем законодательстве Российской Федерации и соответственно в учебном материале.

Краткие записи лекций (конспектирование) помогает усвоить материал. Написание конспекта лекций: кратко, схематично, последовательно фиксировать основные положения, выводы, формулировки, обобщения; пометить важные мысли, выделять ключевые слова, термины. Конспект лучше подразделять на пункты, параграфы, соблюдая красную строку. Принципиальные места, определения, формулы следует сопровождать замечаниями: «важно», «особо важно», «хорошо запомнить» и т.п. или подчеркивать красной ручкой. Целесообразно разработать собственную символику, сокращения слов, что позволит сконцентрировать внимание студента на важных сведениях. Прослушивание и запись лекции можно производить при помощи современных устройств (диктофон, ноутбук, нетбук и т.п.).

Работая над конспектом лекций, всегда следует использовать не только учебник, но и ту литературу, которую дополнительно рекомендовал лектор, в том числе нормативно-правовые акты соответствующей направленности. По результатам работы с конспектом лекции следует обозначить вопросы, термины, материал, который вызывают трудности, пометить и попытаться найти ответ в рекомендуемой литературе. Если самостоятельно не удастся разобраться в материале, необходимо сформулировать вопрос и задать преподавателю на консультации, на лабораторной работе.

Лекционный материал является базовым, с которого необходимо начать освоение соответствующего раздела или темы.

В процессе подготовки к лабораторной работе студент знакомится с рабочей программой дисциплины, темами и планами лабораторных работ, уделяя особое внимание целям и задачам, структуре и содержанию дисциплины, проводит анализ основной нормативно-правовой и учебной литературы, после чего работает с рекомендованной дополнительной литературой.

Формы организации лабораторных работ определяются в соответствии со специфическими особенностями учебной дисциплины и целями обучения. При устном

выступлении по контрольным вопросам студент должен излагать (не читать) материал выступления свободно. Необходимо концентрировать свое внимание на том, что выступление должно быть обращено к аудитории, а не к преподавателю, т.к. это значимый аспект профессиональных компетенций выпускника.

По окончании занятия студенту следует повторить выводы, проследив логику их построения, отметив положения, лежащие в их основе. Для этого студенту в течение лабораторной работы следует делать пометки. Более того, в случае неточностей и (или) непонимания какого-либо вопроса пройденного материала студенту следует обратиться к преподавателю для получения необходимой консультации и разъяснения возникшей ситуации.

Для подготовки к зачету необходимо выполнить цикл лабораторных работ, тщательно изучить и проанализировать теоретические сведения по каждому виду работ. При подготовке к ответу студенту предоставляется право пользования основной и дополнительной литературой, научными статьями, а также ресурсами сети интернет.

Список рекомендуемой литературы

Основная литература

1. Основы биотехнологии Электронный ресурс : учебное пособие / Р.М. Турпанова / М.С. Исабекова / Ж.Б. Махатаева / Г.К. Жайлибаева. - Алматы : Нур-Принт, 2017. - 57 с. - Книга находится в базовой версии ЭБС IPRbooks. - ISBN 978-601-263-304-7
2. Микробиология с основами биотехнологии (теория и практика) Электронный ресурс : учебное пособие / О.Л. Мещерякова / Е.А. Мотина / О.Ю. Мальцева / Г.П. Шуваева / Т.В. Свиридова / О.С. Корнеева. - Микробиология с основами биотехнологии (теория и практика), 2020-09-27. - Воронеж : Воронежский государственный университет инженерных технологий, 2017. - 316 с. - Книга находится в базовой версии ЭБС IPRbooks. - ISBN 978-5-00032-239-0

Дополнительная литература:

1. Горленко, В. А. Научные основы биотехнологии / В.А. Горленко ; Н.М. Кутузова ; С.К. Пятунина, И. Нанотехнологии в биологии. - Москва : Прометей, 2013. - 262 с. - ISBN 978-5-7042-2445-7
2. Бирюков, В. В. Основы промышленной биотехнологии: учебное пособие/ В. В. Бирюков. - М.: КолосС:Химия, 2004. - 296 с. (Для высшей школы). - Библиогр.: с. 295.
3. Егорова, Т. А. Основы биотехнологии : учеб. пособие для студ. вузов*. - 3-е изд., стереотип. - М. : ACADEMIA, 2006. - 208 с. - (Высшее профессиональное образование). - Библиогр.: с. 205-206. - ISBN 5-7695-2808-7
4. Сироткин, А. С. Теоретические основы биотехнологии / А.С. Сироткин ; В.Б. Жукова. - Казань : КГТУ, 2010. - 87 с. - ISBN 978-5-7882-0906-7
5. Общая и фармацевтическая биотехнология : Учебное пособие / сост.: В. А. Махмуткин, Н. И. Танаева. - Самара : РЕАВИЗ, 2009. - 118 с. - Книга находится в базовой версии ЭБС IPRbooks
6. Клунова, С. М. Биотехнология : учебник для вузов / С. М. Клунова, Т. А. Егорова, Е. А. Живухина. - Москва : Академия, 2010. - 255, [1] с.
7. Биотехнология : учебник / [И. В. Тихонов и др.] ; под ред. Е. С. Воронина. - СПб. : ГИОРД, 2008. - 704 с.
8. Иванова, Л. А. Пищевая биотехнология : учеб. пособие / Л. А. Иванова, Л. И. Войно, И. С. Иванова ; под ред. И. М. Грачевой, Кн. 2, Переработка растительного сырья. - М. : КолосС, 2008. - 472 с.
9. Сазыкин, Ю. О. Биотехнология : учеб. пособие / Ю. О. Сазыкин, С. Н. Орехов, И. И. Чакалева. - 3-е изд., стер. - Москва : Академия, 2008. - 253 с.
10. Основы биотехнологии : учеб. пособие для студентов вузов, обучающихся по

специальности "Биология" / Егорова Т. А., Клунова С. М., Живухина Е. А. – 3-е изд., стер. – М. : ACADEMIA, 2006. – 208 с.

11. Основы фармацевтической биотехнологии : учеб. пособие / Т. П. Прищеп [и др.] ; [ред. Т. Портнова, А. Михайленко]. – Ростов н/Д : Феникс ; Томск : Изд-во НТЛ, 2006. – 256 с.

12. Егорова, Т. А. Основы биотехнологии : учеб. пособие для студ. вузов. - 3-е изд., стереотип. - М. : ACADEMIA, 2006. - 208 с.

13. Сельскохозяйственная биотехнология : Учебник для студентов вузов / [В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 2003. – 469 с.

Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

1. Методические рекомендации по выполнению лабораторных и практических работ по дисциплине Технология ферментационных процессов. Пищевая биотехнология. Направление подготовки 19.03.01 - Биотехнология, направленность (профиль) – Промышленная биотехнология. Квалификация выпускника - бакалавр. Ставрополь, СКФУ, 2026.

2. Методические рекомендации по организации самостоятельной работы студентов по дисциплине Технология ферментационных процессов. Пищевая биотехнология. Направление подготовки 19.03.01 - Биотехнология, направленность (профиль) – Промышленная биотехнология. Квалификация выпускника - бакалавр. Ставрополь, СКФУ, 2026.

3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины

1 www.shiphelp.ru – нормативные и законодательные документы в области строительства

2 www.biblioclub.ru – ЭБС «Университетская библиотека ОНЛАЙН», электронная библиотека, обеспечивающая доступ к наиболее востребованным материалам учебной и научной литературы по всем отраслям знаний от ведущих российских издательств
www.iprbookshop.ru – ЭБС «IPRbooks», мультидисциплинарная полнотекстовая база

3 электронных изданий

www.elibrary.ru/ - сайт научной электронной библиотеки

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования**
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
К ЛАБОРАТОРНЫМ РАБОТАМ**
по дисциплине **«Технология ферментационных процессов.
Пищевая биотехнология»**
для студентов направления подготовки
19.03.01 Биотехнология
Направленность (профиль): «Промышленная биотехнология»
Часть 2

Ставрополь, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

Указания по технике безопасности к выполнению лабораторных работ	4
Лабораторная работа № 1	
Изучение влияния технологических режимов на эффективность тепловой обработки питательных сред и пищевого сырья	10
Лабораторная работа № 2	
Влияние условий процесса ферментации на рост микроорганизмов при периодическом культивировании	17
Лабораторная работа № 3	
Изучение технологии получения и контроля качества бактериальных препаратов для пищевых производств	27
Лабораторная работа №4	
Оценка качества различных видов молочной продукции с пробиотическими свойствами	38
Лабораторная работа №5	
Оценка качества хлебопекарных дрожжей	44
Лабораторная работа №6	
Оценка качества и конкурентоспособности новых видов пива российских и зарубежных производителей	50
Лабораторная работа № 7	
Изучение технологии микробного синтеза биологически активных веществ на молочной сыворотке	57
Лабораторная работа №8	
Оценка качества различных видов лекарственных пребиотических препаратов	67

УКАЗАНИЯ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Общие правила техники безопасности в химической лаборатории

1. Работать в лаборатории необходимо в халате из хлопковой или хлопчатобумажной ткани (но не из синтетики!). Рабочий халат должен быть по длине ниже колен и застегиваться спереди. В кармане халата должно быть маленькое чистое сухое полотенце или платок для быстрого удаления попавших на кожу твердых или жидких реагентов. При работе с особо опасными веществами дополнительно надевают длинный фартук из поливинилхлорида и нарукавники. При необходимости для защиты лица и глаз используют защитные маски и защитные очки, для защиты рук – специальные защитные перчатки, а для защиты дыхательных путей – респираторы. Волосы должны быть тщательно убраны (используют шапочку или платок) или закреплены и не свисать по сторонам.

2. Рабочее место следует поддерживать в чистоте, не загромождать его посудой и побочными вещами.

3. Студентам запрещается работать в лаборатории без присутствия преподавателя или лаборанта, а также в неустановленное время без разрешения преподавателя.

4. До выполнения каждой лабораторной работы можно приступить только после получения инструктажа по технике безопасности и разрешения преподавателя.

5. Приступая к работе, необходимо: изучить методику работы, правила ее безопасного выполнения; проверить соответствие взятых веществ тем веществам, которые указаны в методике работы.

6. Опыт необходимо проводить в точном соответствии с его описанием в методических указаниях, особенно придерживаться очередности добавления реактивов.

7. Для выполнения опыта пользоваться только чистой, сухой лабораторной посудой; для отмеривания каждого реактива нужно иметь мерную посуду (пипетки, бюретки, мензурку, мерный цилиндр или мерный стакан); не следует выливать избыток налитого в пробирку реактива обратно в емкость, чтобы не испортить реактив.

8. Если в ходе опыта требуется нагревание реакционной смеси, надо следовать предусмотренным методическим указаниям способа нагрева: на водяной бане, на электроплитке или на газовой горелке и др. Сильно летучие горючие вещества опасно нагревать на открытом огне.

9. Пролитые на пол и стол химические вещества обезвреживают и убирают под руководством лаборанта (преподавателя) в соответствии с правилами.

10. При работе в лаборатории следует соблюдать следующие требования: выполнять работу нужно аккуратно, добросовестно, внимательно, экономно, быть наблюдательным, рационально и правильно использовать время, отведенное для работы.

11. По окончании работы следует привести в порядок свое рабочее место: помыть посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола, закрыть водопроводные краны, выключить электрические приборы.

Помните, не каждое нарушение инструкции влечет за собой несчастный случай, однако мелкие нарушения быстро входят в привычку и объективно способствуют росту травматизма. Умение работать без травм и аварий – один из основных критериев при определении профессиональной квалификации любого специалиста.

Правила техники безопасности в лаборатории при работе с кислотами и щелочами

1. Кислоты и щелочи в большинстве относятся к веществам повышенного класса опасности и способны вызвать химические ожоги и

отравления. Поэтому необходимо внимательно следить за тем, чтобы реактивы не попадали на лицо, руки и одежду.

2. Не ходить по лаборатории с концентрированными кислотами и щелочами, а наливать их только в отведенном для этого месте.

3. Разливать концентрированную азотную, серную и соляную кислоты следует только при включенной вентиляции в вытяжном шкафу.

4. Запрещается набирать кислоты и щелочи в пипетку ртом. Для этого следует применять резиновую грушу и прочее оборудование для отбора проб.

5. Для приготовления растворов серной, азотной и других кислот необходимо их приливать к воде тонкой струей при непрерывном перемешивании, а не наоборот. Приливать воду в кислоту запрещается!

6. Растворять твердые щелочи следует путем медленного добавления их небольшими кусочками к воде при непрерывном перемешивании. Кусочки щелочи нужно брать только щипцами.

7. При смешивании веществ, которое сопровождается выделением тепла, необходимо пользоваться термостойким толстостенной стеклянной или фарфоровой посудой.

8. Разлитые кислоты или щелочи необходимо немедленно засыпать песком, нейтрализовать, и только после этого проводить уборку.

9. При попадании на кожу или одежду кислоты, надо смыть ее большим количеством воды, а затем 3 – 5% раствором пищевой соды или разбавленным раствором аммиака.

10. При попадании на кожу или одежду щелочи, после смывания ее большим количеством воды, нужно провести обработку 2 – 3 % раствором борной, лимонной или уксусной кислотами.

11. Вещества, фильтры, бумагу, использованные при работе, следует выбрасывать в специальное ведро, концентрированные растворы кислот и щелочей также сливать в специальную посуду.

Правила техники безопасности в лаборатории при работе с химической посудой

1. Основным травмирующим фактором, который связан с использованием стеклянной посуды, аппаратов и приборов, являются острые осколки стекла, способные вызвать порезы тела работающего, а также ожоги рук при неосторожном обращении с нагретыми до высокой температуры частями стеклянной посуды.
2. Размешивать реакционную смесь в сосуде стеклянной палочкой или шпателем надо осторожно, не допуская разлома сосуда. Держать сосуд при этом необходимо за ее горловину.
3. Перенося сосуды с горячей жидкостью, надо держать их двумя руками: одной – за дно, другой – за горловину, используя при этом полотенце (чтобы избежать ожогов кистей и пальцев рук).
4. При закрывании толстостенной посуды пробкой следует держать ее за верхнюю часть горловины. Нагретый сосуд нельзя закрывать притертой пробкой пока он не охладится.
5. В опытах с нагревом необходимо пользоваться посудой, которая имеет соответствующую маркировку.
6. В случае пореза стеклом нужно сначала внимательно осмотреть рану и извлечь из нее осколки стекла, если они есть, а затем обмыть раненное место 2% раствором перманганата калия, смазать йодом и завязать бинтом или наклеить лейкопластырем.

Правила техники безопасности в лаборатории с электрооборудованием и электроприборами

1. Химические лаборатории согласно степени опасности поражения электрическим током относятся к помещениям с повышенной или особой опасностью, которая обусловлена возможностью воздействия на электрооборудование химически активных сред.

2. Все работы, связанные с применением электроприборов должны проходить под наблюдением преподавателя (лаборанта).

3. При работе с водяной баней нельзя пробовать степень нагрева воды рукой.

4. При неисправности в работе электроприбора необходимо обратиться к преподавателю. Чинить самостоятельно приборы запрещается.

5. При поражении электрическим током, если пострадавший остается в соприкосновении с токоведущими частями, необходимо немедленно выключить ток с помощью пускателя или вывернуть охранную пробку или перерубить токопроводящий провод изолированным инструментом. К пострадавшему, пока он находится под током, нельзя касаться незащищенными руками (без резиновых перчаток). Если пострадавший потерял сознание, после выключения тока нужно немедленно, не дожидаясь врача, делать искусственное дыхание.

Правила техники безопасности в лаборатории при работе с реактивами

1. Если к работе не дано указаний относительно дозировки реактивов, то брать их для проведения опытов необходимо в возможно меньшем количестве (экономия материалов и времени, которое затрачивается на опыт).

2. Избыток реактива нельзя высыпать и выливать обратно в сосуд, из которого он был взят.

3. После расходования реактива банку или стакан необходимо сразу закрыть пробкой и поставить на место.

4. Сухие реактивы брать с помощью лопаток, пластмассовых или металлических шпателей. Шпатель должен быть всегда сухим и чистым. После расходования следует его тщательно обтереть.

5. Когда реактив отбирается пипеткой, ни в коем случае нельзя той же пипеткой, не вымыв ее, брать реактив с другой емкости.

6. При наливании реактивов нельзя наклоняться над сосудом, предотвращая попадания брызг на лицо или одежду.

7. Нельзя держать банку или стакан с реактивом, которую нужно открыть, держа в руках, ее надо поставить на лабораторный стол и только после этого открывать.

Меры первой помощи при отравлениях неорганическими веществами

Азотной кислотой. Свежий воздух, покой, тепло. Вдыхание кислорода. Сульфадимезин или иной сульфаниламидный препарат (2 г), аскорбиновая кислота (0,5 г), кодеин (0,015 г). Искусственное дыхание. Консультация врача.

Серной кислотой. Свежий воздух. Промыть верхние дыхательные пути 2 % раствором пищевой соды. В нос – 2 – 3 капли 2 % раствора эфедрина. Теплое молоко с содой, кодеин (0,015 г) или дионин (0,01 г). При попадании в органы пищеварения смазать слизистую рта 2 % раствором дикаина. Промывание желудка большим количеством воды. Внутрь принять: столовую ложку оксида магния на стакан воды каждые 5 минут, яичный белок, молоко, крахмальный клейстер, кусочки сливочного несоленого масла, кусочки льда. Нельзя вызывать рвоту и применять карбонаты. Консультация врача.

Щелочами. Вдыхание теплого водяного пара (в воду добавить немного лимонной кислоты). Внутрь – теплое молоко с медом, кодеин (0,015 г) или дионин (0,01 г). При попадании в органы пищеварения смазать слизистые оболочки рта и горла 1 % раствором новокаина. Внутрь – по столовой ложке 1 % раствора лимонной кислоты каждые 3 – 5 минут, крахмальный клейстер с добавлением лимонной или уксусной кислоты, 2 – 3 столовые ложки растительного масла, кусочки льда. Консультация врача.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 1

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РЕЖИМОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕПЛОВОЙ ОБРАБОТКИ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ

Цель работы: исследовать влияние режимов тепловой обработки на термоустойчивость молочнокислых микроорганизмов; освоить методы определения эффективности пастеризации молочного сырья; оценить эффективность пастеризации и изменение термолабильных компонентов молочного сырья на примере аскорбиновой кислоты при различных режимах тепловой обработки.

Теоретическое обоснование

Большинство микроорганизмов плохо переносит превышение максимальных температур развития. При 55-65 °С возможна тепловая коагуляция белковых структур микробной клетки. Термоустойчивость микроорганизмов в зависимости от видовых особенностей и формы жизнедеятельности различна. Бесспоровые бактерии, вегетативные формы споровых бактерий, мицелиальные грибы и дрожжи погибают при температуре 60-70 °С в течение 15-30 минут, при 80-100 °С – в течение 1-3 минут. Споры дрожжей и мицелиальных грибов погибают при 65-80 °С, большинства бактерий – при 80-100 °С в течение нескольких часов или при автоклавировании при 120 °С в течение 20 минут.

В биотехнологии широко применяют термические методы обеззараживания питательных сред или отдельных их компонентов: автоклавирование, стерилизацию, кипячение, пастеризацию и др. Споры микроорганизмов имеют терморезистентность в 3×10^6 большую по сравнению с вегетативными формами, поэтому промышленные режимы стерилизации ориентированы именно на их максимальное уничтожение.

Важной особенностью стерилизации реальных сред является необходимость уничтожения одновременно нескольких типов микроорганизмов. В связи с этим, параметры процесса стерилизации (температура и продолжительность выдержки), задаются таким образом, чтобы обеспечить эффективную гибель наиболее термоустойчивых видов микроорганизмов.

В пищевой промышленности наряду со стерилизацией широко используются методы пастеризации сырья. Выбор режимов пастеризации определенных видов сырья, например, молока, обусловлен следующими факторами:

- наиболее полное уничтожение вегетативных форм патогенных, санитарно-показательных и технологически вредных микроорганизмов;
- инаktivация нативных и бактериальных ферментов;

- придание продуктам специфических органолептических и функционально-технологических свойств;
- максимальное сохранение термолабильных компонентов сырья, подвергаемого тепловой обработке.

Для оценки эффективности пастеризации молочного сырья используют следующие методы.

Определение эффективности пастеризации фосфатазным методом.

Качественный метод основан на фиксировании розового цвета соединения, образующегося в результате реакции выделившегося при гидролизе фенилфосфата динатрия-фенола с 4-аминоантипирином в присутствии смеси сульфатов цинка и меди (ГОСТ 3624-73).

Определение эффективности пастеризации пероксидазным методом.

Метод основан на разложении перекиси водорода ферментом пероксидазой, содержащейся в молоке и молочных продуктах. Освобождающийся при разложении перекиси водорода активный кислород окисляет йодистый калий, освобождая йод, образующий с крахмалом соединение синего цвета.

При пастеризации молока и молочных продуктов наряду с термолабильной фракцией сывороточных белков при тепловой обработке деструктивным изменениям могут подвергаться витамины. Наиболее термолабильным компонентом является аскорбиновая кислота.

Аппаратура, оборудование и материалы: термостат суховоздушный, баня водяная, чашки Петри со средой МПА, колбы мерные емкостью 25 – 50 см³, колбы конические ёмкостью 150-200 см³, стаканы химические, пипетки на 1, 2, 5, 10, 20 см³, бюретки, пробирки, термометры ртутные стеклянные с диапазоном измерения 0 – 100 °С, рабочий раствор субстрата, осадитель системы цинк-медь, перекись водорода 0,5%-й раствор, 1%-й раствор йодистокалиевого крахмала, насыщенный раствор щавелевой кислоты, насыщенный раствор хлорида натрия, 0,001 н. раствор 2,6 дихлорфенолиндифенола.

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности, знание которых преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок выполнения работы

Для выполнения задания готовят суспензии молочнокислых микроорганизмов, для чего в пробирки с 10 см³ стерильной воды в асептических условиях вносят по 1 см³ жидкой закваски термофильных молочнокислых микроорганизмов. Каждая бригада готовит по 3 образца суспензий. Пробирки нагревают на водяной бане до температуры 50, 60, 70 или 80 °С (по заданию преподавателя). Первый образец нагревают до заданной температуры без выдержки, второй термостатируют в течение 15 минут, третий – в течение 30 минут.

Предварительно подготовленные чашки Петри со средой с внешней стороны размечают на три сектора, которые подписывают соответственно «0», «15» и «30». Пробирки с суспензиями молочнокислых микроорганизмов охлаждают до температуры 40-45 °С и производят посевы микробиологической петлей на соответствующие сектора чашек Петри со средой МПА. Чашки помещают в термостат при температуре 40-41 °С на 24 часа, после чего производят учет роста микроорганизмов.

Образцы цельного или обезжиренного молока объемом 100 см³ подвергают тепловой обработке при режимах, указанных в таблице 1. 1.

Таблица 1. 1 – Режимы тепловой обработки молочного сырья

№ образца	Температура, °С	Продолжительность выдержки, мин.
1	60	30
2	76	5
3	76	0,5
4	85	Без выдержки

Оценку эффективности пастеризации полученных образцов молочного сырья проводят двумя методами.

Определение эффективности пастеризации фосфатазным методом. В пробирку вносят пипетками 3 см³ молока и 2 см³ рабочего раствора субстрата (рабочая проба). Содержимое пробирки перемешивают и помещают в водяную баню с температурой 40-45 °С на 30 мин. Далее в ту же пробу добавляют пипеткой 5 см³ осадителя системы цинк-медь, перемешивают и снова помещают пробирку в водяную баню с температурой 40-45 °С на 10 мин. Вынув пробирку из бани, сравнивают окраску содержимого пробирки с контролем. Контролем является аналогичная реакция с кипячёным молоком. Если в опыте с кипячёным молоком появляется слабо-

розовое окрашивание, то готовят свежий субстрат или же соль подлежит дополнительной очистке.

При отсутствии фосфатазы в молоке содержимое пробирки (раствор, отделившийся от осаждённого белка) бесцветное, т.е. такое же, как содержимое пробирок контрольного опыта. При наличии фосфатазы в молоке содержимое пробирок окрашивается от розового до тёмно-красного цвета. При оценке результатов реакции учитывается только цвет, но не прозрачность раствора. Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление сырого молока к пастеризованному в количестве 0,3 %.

Определение эффективности пастеризации пероксидазным методом. В пробирку вносят пипеткой 5 см³ молока, приливают 5 капель 0,5 %-го раствора перекиси водорода, вращательными движениями перемешивают содержимое пробирки после добавления каждого реактива. Затем определяют наличие пероксидазы по изменению окраски.

При отсутствии фермента пероксидазы в молоке цвет содержимого пробирки не изменяется. Следовательно, молоко было подвержено пастеризации при температуре не ниже 80 °С. При наличии пероксидазы в молоке содержимое пробирки приобретает тёмно-синее окрашивание.

Для оценки влияния режимов тепловой обработки на термолабильные компоненты сырья определяют содержание аскорбиновой кислоты в исходном молоке и образцах, подвергнутых тепловой обработке при указанных выше режимах.

Определение содержания аскорбиновой кислоты. К 50 см³ молочной сыворотки приливают 4 см³ насыщенного раствора щавелевой кислоты, взбалтывают и добавляют 10 см³ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и фильтруют. 25 см³ фильтрата переносят в коническую колбу, титруют из микробюретки 0,001 н раствором 2,6 дихлорфенолиндофенола до розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 секунд. Если результаты титрования параллельных проб не совпадают, производят титрование еще двух проб.

1 см³ 0,001 н раствором 2,6 дихлорфенолиндофенола эквивалентен 0,088 мг аскорбиновой кислоты, следовательно содержание аскорбиновой кислоты (в мг %) в сыворотке можно рассчитать по формуле

$$C = V \text{ титр} \times 0,088 \times 100 / V \text{ ал} \quad (1.1)$$

где V титр – объем раствора 2,6 дихлорфенолиндифенола, пошедший на титрование;

$V_{ал}$ – объем аликвоты (25 см³).

Результаты исследований по термоустойчивости молочнокислых микроорганизмов сводят в таблицу 1. 2.

Таблица 1. 2 – Результаты исследований термоустойчивости молочнокислых микроорганизмов

Температура нагревания, °С	Характеристика роста при продолжительности выдержки, мин. (*		
	без выдержки	15	30
50			
60			
70			
80			

* Примечание. При оформлении результатов можно использовать следующие условные обозначения: - (отсутствие роста), + (слабый рост), ++ (умеренный рост), +++ (обильный рост).

Экспериментальные данные по влиянию режимов пастеризации молока на эффективность процесса и изменение термолабильных компонентов можно представить по форме, приведенной в таблице 1. 3.

Таблица 1. 3 – Влияние режимов пастеризации молока на эффективность процесса и содержание аскорбиновой кислоты.

№ образца	Эффективность пастеризации (+ / -)		Массовая доля аскорбиновой кислоты, мг %	
	фосфатазный метод	пероксидазный метод	до пастеризации	после пастеризации
1				
2				
3				
4				

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;

- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Общие принципы подбора источников сырья для биотехнологических производств;
2. - Виды углеродных субстратов, источников минерального питания, комплексные обогатители питательных сред;
3. - Классификация питательных сред для культивирования микроорганизмов, используемых в биотехнологии;
4. - Технология и аппаратное оформление приготовления растворов компонентов питательных сред;
5. - Промышленные способы стерилизации жидких и твердых питательных сред;
6. - Методика исследования термоустойчивости микроорганизмов;
7. - Сущность методов определения эффективности пастеризации молока, массовой доли аскорбиновой кислоты.

Защита работы проводится на следующем после ее выполнения лабораторном занятии в форме устного опроса.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 2

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАЦИИ НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Цель работы: проведение процесса периодического культивирования дрожжей и бактерий в экспериментальных условиях, определение параметров их роста в зависимости от условий культивирования.

Теоретическое обоснование

Культивирование продуцентов в промышленных условиях принято называть ферментацией. В зависимости от классификационного признака различают следующие типы ферментационных процессов:

- *по отношению микроорганизмов продуцентов к кислороду* - аэробные и анаэробные;
- *по локализации продуцентов в питательной среде* - глубинные и поверхностные;
- *по условиям проведения процесса* - периодические, полунепрерывные (отъемно-доливные, с подпиткой); непрерывные.

Наиболее широкое распространение в промышленной биотехнологии в настоящее время получили процессы глубинного периодического аэробного и анаэробного культивирования.

Процессы глубинной аэробной ферментации используют при получении следующих групп целевых продуктов биотехнологических производств:

- кормовых белково-витаминных препаратов на основе биомассы дрожжей или аэробных бактерий;
- пекарских дрожжей;
- ферментных препаратов при глубинном культивировании продуцентов;
- препаратов и концентратов метаболитов, синтезируемых в микробных клетках при участии ферментов цикла трикарбоновых кислот (лимонная и

кислота, аминокислоты и антибиотики, предшественниками которых являются промежуточные продукты цикла Кребса и др.);

- органических соединений сложного строения, являющихся продуктами реакций окислительных микробиологических трансформаций.

Аэробные ферментационные процессы осуществляют, как правило, в биореакторах большого объема (50 – 100 м³ и более), что объясняется малыми значениями коэффициента заполнения (0,4 – 0,6). Конструкции промышленных ферментеров для глубинного аэробного культивирования микроорганизмов различаются по способам перемешивания и аэрации среды.

Анаэробные процессы культивирования микроорганизмов не эффективны с точки зрения накопления биомассы, так как в этом случае (95 – 97) % источника углеродного питания расходуется на образование продуктов метаболизма и поддержание энергетического обмена клетки. Исключение составляют процессы культивирования анаэробных микроорганизмов, например, молочнокислых и пропионовокислых бактерий, бифидобактерий.

Процессы анаэробного культивирования наиболее широко реализованы в технологии бродильных производств при получении спиртов и растворителей (этанола, глицерина, бутанола и ацетона), органических кислот (молочной, уксусной, пропионовой).

Биореакторы для анаэробных процессов традиционно называют бродильными аппаратами. Их конструкция значительно проще по сравнению с ферментерами для аэробного культивирования, так как отпадает необходимость насыщения среды кислородом и интенсивного теплообмена. В то же время конструкция бродильных аппаратов должна предусматривать систему отвода газообразных продуктов метаболизма и, в некоторых случаях, подачи газообразных субстратов (метана, диоксида углерода, диоксида азота). К бродильным аппаратам предъявляются более жесткие требования по

сравнению с аппаратами для аэробных процессов в плане герметизации всех узлов и коммуникаций.

Полунепрерывное культивирование в условиях промышленного биореактора осуществляют следующими методами:

- периодическое культивирование с подпиткой;
- культивирование отъемно-долевым (отъемно-доливочным) способом;
- метод регулируемой полунепрерывной ферментации;
- метод культивирования с диализом.

В непрерывных процессах обеспечивается постоянная подача питательной среды и отток культуральной жидкости из ферментационного аппарата. Ферментаторы, работающие по принципу полного смешения более применимы в промышленных условиях по сравнению с биореакторами полного вытеснения (особенно если речь идет об аэробном культивировании микроорганизмов).

При хемотратном режиме культивирования в биореактор с постоянной скоростью подают питательную среду, лимитированную по одному из компонентов (источник углерода, азота, растворенный кислород и др.). В этом случае биореактор приобретает свойства саморегулирующейся системы, скорость роста культуры в которой автоматически «подстраивается» под скорость разбавления микробной суспензии свежей питательной средой; при этом популяция микроорганизмов должна поддерживаться на той фазе роста, которая является оптимальной для синтеза целевого продукта.

Турбидостатные реакторы отличаются от хемотратных системой контроля скорости потока среды. Наиболее распространен контроль концентрации биомассы в реакторе, основанный на измерении светорассеяния культуральной жидкости на выходе из аппарата с помощью фотоэлемента. Также концентрация клеток может оцениваться по косвенным параметрам: pH среды, титруемой кислотности, убыли концентрации субстрата, приросту концентрации специфических метаболитов.

Непрерывное культивирование *по принципу идеального вытеснения* применимо для процессов анаэробной ферментации, так как в данном случае отсутствует необходимость равномерного распределения по объему среды растворенного кислорода. Процесс полного вытеснения технически может быть реализован в тубулярных биореакторах и каскадах последовательно соединенных ферментеров проточного типа.

Для культивирования микроорганизмов необходимо наличие жизнеспособной засевной культуры (инокулята), питательной среды, содержащей все необходимые элементы питания, отсутствие в среде разного рода ингибиторов роста. Необходимо также поддержание оптимальных для роста микроорганизмов физико-химических условий окружающей среды (температура, pH, давление, условия аэрации, источники света и др.).

Основные параметры роста микроорганизмов:

X - концентрация биомассы, г/л (кг/м^3);

N - число клеток в единице объема (титр культуры, плотность популяции), количество клеток в 1 см^3 культуральной жидкости;

μ - удельная скорость роста - прирост биомассы или числа клеток в единицу времени, отнесенный к концентрации биомассы или количеству клеток, ч^{-1} ;

Y - экономический коэффициент (или выход биомассы от потребленного субстрата).

Для контроля роста микроорганизмов используется ряд методов, которые подразделяются на прямые и косвенные методы определения. К прямым методам относятся:

- определение биомассы весовым или турбидиметрическим методом;
- определение количества клеток микроорганизмов при использовании счетных камер или при высеве на твердые среды.

При использовании косвенных методов проводят определение массы отдельных компонентов клетки (белок, клеточный азот, нуклеиновые кислоты, АТФ и др.), массы образуемых продуктов метаболизма или др.

Аппаратура, оборудование и материалы: качалка или водяная баня с магнитной мешалкой, фотоэлектроколориметр, рефрактометр, центрифуга лабораторная, микроскоп, шкаф сушильный, колбы термостойкие емкостью 500 – 750 см³, пипетки стерильные на 1 см³ и 10 см³, стекла предметные и покровные, бюксы алюминиевые, компоненты питательных сред, дрожжи пивные или хлебопекарные.

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности. Знание студентами правил техники безопасности преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок выполнения работы

Приготовить питательные среды для культивирования дрожжей по вариантам (по заданию преподавателя).

Среда 1 (г/л): глюкоза - 10,0; (NH₄)₂SO₄ - 3,5; NH₄H₂PO₄ - 0,8; KCl - 0,5; MgSO₄×7H₂O - 0,25; FeSO₄ - 0,15; ZnSO₄ - 0,015; дрожжевой автолизат - 1 . см³

Среда 2 (г/л): глюкоза - 10,0; (NH₄)₂SO₄ - 3,5; NH₄H₂PO₄ - 0,8; KCl - 0,5; MgSO₄×7H₂O - 0,25; FeSO₄ - 0,15; ZnSO₄ - 0,015.

Среда 3 (г/л): глюкоза - 5,0; (NH₄)₂SO₄ - 3,5; NH₄H₂PO₄ - 0,8; KCl - 0,5; MgSO₄×7H₂O - 0,25; FeSO₄ - 0,15; ZnSO₄ - 0,015.

Среда 4 (г/л): глюкоза - 10,0; (NH₄)₂SO₄ - 0,35; NH₄H₂PO₄ - 0,08; KCl - 0,5; MgSO₄×7H₂O - 0,25; FeSO₄ - 0,15; ZnSO₄ - 0,015.

Среда 5 (г/л): глюкоза - 10,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,5; $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ - 0,08; KCl - 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,25; FeSO_4 - 0,15; ZnSO_4 - 0,015.

Таким образом, в зависимости от варианта опыта, помимо основной питательной среды (1), готовят питательную среду без добавления комплексного обогатителя (дрожжевого автолизата), а также среды, лимитированные по источникам углерода (50 % глюкозы), фосфора (10 % $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) и азота (10 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$).

Подготовленные питательные среды разливают в термостойкие колбы и стерилизуют при температуре 125 °С и давлении 0,5 МПа в течение 20 минут.

Чистые культуры дрожжей выращиваются на твердой питательной среде (сусло-агаре или БФ) в течение 48 ч при температуре соответственно 32-34°С. Культуры дрожжей с плотной питательной среды засевают в жидкую питательную среду полного состава (среда 1) и выращивают на качалке в течение 24 ч. Выросшие культуры используются в качестве посевного материала.

Провести экспериментально периодическое культивирование микроорганизмов. Варианты эксперимента представлены в таблице 2. 1.

Таблица 2. 1 – Варианты периодического культивирования дрожжей

№ варианта	Состав питательной среды	Условия аэрации
1	Среда 1	Перемешивание
2	Среда 1	Стационарные
3	Среда 2	Перемешивание
4	Среда 3	Перемешивание
5	Среда 4	Перемешивание
6	Среда 5	Перемешивание

В питательных средах до внесения дрожжевой суспензии определить содержание сухих веществ рефрактометрическим методом. В колбы со стерильной питательной средой, подогретой до температуры инокуляции (32 – 34 °С), в асептических условиях внести культуры дрожжей, выращенные на жидкой питательной среде из расчета 3 – 5 % от объема среды. Дрожжи культивируют в обогреваемой качалке или водяной бане с магнитной

мешалкой (варианты 1, 3 – 6) или в термостате (вариант 2) при указанной температуре инкубации.

В начальный момент после внесения дрожжевой суспензии и в процессе культивирования с интервалом 40 – 60 минут (первые 3 – 4 часа) отбирают в стерильных условиях образцы культуральной жидкости объемом 5 см³. При выращивании дрожжей в стационарных условиях перед отбором проб среду необходимо перемешать. В отобранных пробах измеряют содержание сухих веществ на рефрактометре и оптическую плотность среды на спектрофотометре. По измеренной величине оптической плотности среды рассчитывают концентрацию АСБ дрожжей для чего предварительно устанавливают коэффициент пересчета оптической плотности на концентрацию АСБ.

Культуральная жидкость, в которой предполагается определять концентрацию биомассы турбидиметрическим методом, должна быть оптически прозрачной. Если помутнение среды связано с выпадением в осадок солей, чаще всего фосфатов, то перед измерением светорассеяния среду подкисляют несколькими каплями концентрированной соляной кислоты.

Для измерения оптической плотности выбирают светофильтр, обеспечивающий максимум пропускания света данной суспензии. Оптическую плотность в бесцветных средах измеряют с зеленым или сине-зеленым фильтром против воды. При высоких концентрациях клеток в культуральной среде рассеяние света усиливается, что приводит к получению заниженных результатов. Поэтому суспензии с высокой плотностью клеток перед измерением светорассеяния следует разводить средой или водой.

Процесс культивирования проводят в течение 24 часов. По завершении процесса биомассу дрожжей отделяют на центрифуге от культуральной жидкости. Концентрированную дрожжевую суспензию переносят количественно на предварительно взвешенный фильтр и высушивают в сушильном шкафу при температуре (105 – 110) °С до постоянной массы. В

осветленной культуральной жидкости определяют содержание сухих веществ рефрактометрическим методом.

Рассчитывают основные показатели процесса культивирования дрожжей. Концентрацию абсолютно сухой биомассы дрожжей (г/л) определяют по формуле:

$$[X] = (m - m_0) \times 1000 / V, \quad (2.1)$$

где m , m_0 – массы соответственно высушенного фильтра с дрожжами и пустого фильтра;

V – объем инокулируемой питательной среды.

Удельную скорость роста μ (ч^{-1}) можно рассчитать из уравнения:

$$\text{Ln} ([X]/[X_0]) = \mu \times \tau, \quad (2.2)$$

где $[X_0]$ – начальная концентрация АСБ дрожжей, определенная турбидиметрическим методом;

τ – продолжительность культивирования, ч.

Экономический коэффициент определяют по формуле:

$$Y = ([X] - [X_0]) / (C - C_0), \quad (2.3)$$

где C , C_0 – массовые доли сухих веществ соответственно осветленной культуральной жидкости и питательной среды до инокуляции дрожжей.

Описать морфологию культуры дрожжей. Для изучения морфологии дрожжей готовится препарат «раздавленная капля», окрашенный метиленовым синим, и микроскопируется с объективом 40.

Результаты исследований по культивированию дрожжей заносят в таблицу 2. 2.

Таблица 2. 2 – Кинетика роста дрожжей

Продолжительность культивирования, часов	Концентрация АСБ дрожжей, г/л	Массовая доля сухих веществ, %

По данным таблицы построить графики зависимости концентрации АСБ и массовой доли сухих веществ культуральной жидкости от времени

культивирования. По графикам определить продолжительность латентной фазы роста дрожжей.

Обобщить результаты опытов, полученные по всем вариантам культивирования. Данные свести в таблицу 2. 3.

Таблица 2. 3 – Сводные данные по культивированию дрожжей

Варианты культивирования	Параметры роста			Морфологическое состояние клеток
	продолжительность лаг-фазы, ч	μ	Y	

Сформулировать выводы о влиянии условия культивирования на рост изученных культур микроорганизмов.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель работы и краткое теоретическое обоснование проводимых исследований;
- алгоритм и методики проведения исследований;
- результаты исследований и расчетов, графические зависимости;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы:

1. - общая схема приготовления посевного материала для производственной ферментации;
2. - промышленная реализация процессов глубинного периодического анаэробного и аэробного культивирования микроорганизмов;
3. - технологические способы полунепрерывного и непрерывного культивирования;
4. - технология и аппаратное оформление крупномасштабного поверхностного культивирования микроорганизмов;
5. - основные параметры процесса культивирования.

6. - методы определения параметров роста культур микроорганизмов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 3

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

Цель работы: изучить технологию бакпрепаратов молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий, способы получения производственных заквасок; освоить методы контроля качества бакпрепаратов и производственных заквасок.

Теоретическое обоснование

Процесс молочнокислого брожения с древнейших времен был реализован человечеством при получении кисломолочных напитков, творога и сыра. В настоящее время в молочной промышленности применяются закваски (стартовые культуры) на основе чистых культур молочнокислых микроорганизмов для получения продуктов высокого качества, стойких при хранении и характеризующихся высокой пищевой и биологической ценностью.

Характерными особенностями молочнокислых микроорганизмов являются:

- способность усваивать лактозу в качестве основного источника углерода и энергии;
- образование молочной кислоты с выходом более 90 % от исходной концентрации лактозы в среде;
- высокая кислотоустойчивость (сохраняют жизнеспособность при pH 3,0 – 3,5);
- спиртоустойчивость (выдерживают до 16 % этанола);
- использование флавиновых оснований и коэнзима B₁₂ в окислительно-восстановительных ферментах;
- отсутствие ЦТК и окислительного фосфорилирования.

По биохимическим закономерностям и составу конечных продуктов метаболизма молочнокислые бактерии и палочки подразделяют на

гомоферментативные и гетероферментативные. В первом случае образуется преимущественно молочная кислота (обнаруживаются лишь следовые количества летучих кислот, этанола, других побочных продуктов); во втором – наряду с молочной кислотой образуются значительные количества CO_2 , этанола, летучих ароматических веществ.

При гетероферментативном молочнокислом брожении наряду с молочной кислотой могут образовываться CO_2 , этанол, уксусная и пропионовая кислоты, ароматические вещества (диацетил, ацетоин), многоатомный спирт маннит. Метаболиты гетероферментативного брожения обеспечивают уникальные органолептические свойства кисломолочных напитков и сметаны, а некоторые из них, например, витамины группы В, повышают биологическую ценность продуктов. Гетероферментативное брожение в свою очередь подразделяют на идущее без выделения CO_2 и сопровождающееся газовыделением.

Технология многих молочных продуктов (кисломолочные напитки, сметана, творог и творожные изделия, сыры, кислосливочное масло и др.) предусматривает крупномасштабное культивирование микроорганизмов. При производстве ферментированных молочных продуктов применяют специально подобранные и выращенные в асептических условиях чистые культуры. В состав чистых культур включают виды и штаммы микроорганизмов, которые обладают определенными, ценными с технологической точки зрения свойствами:

- способность к гидролизу пептидных и других связей, ответственных за стабильность белковых надмолекулярных структур (протеолитическая активность);
- возможность деструкции липидных и фосфолипидных компонентов (липолитическая и фосфолипазная активность);
- высокая активность β -галактозидазы;

- способность к продуцированию ароматических веществ (диацетил, ацетоин) и летучих жирных кислот;
- скорость и глубина конверсии лактозы в молочную кислоту;
- способность к продуцированию диоксида углерода и других газов;
- сорбция кислорода при метаболических реакциях.

Морфологические и культуральные свойства молочнокислых микроорганизмов, включаемых в состав заквасок, представлены в таблице 3. 1.

Для приготовления производственных заквасок на предприятиях молочной промышленности в качестве исходного посевного материала используют бактериальные закваски (жидкие и сухие) и бактериальные концентраты лиофильной или распылительной сушки. Бактериальные закваски содержат в 1 см³ не более 10 млрд жизнеспособных клеток, бактериальные концентраты – не менее 100 млрд жизнеспособных клеток в 1 см³. Приготовление производственной закваски заключается в накоплении биомассы и активизации физиологических функций микробных клеток.

Таблица 3. 1 – Морфологические и культуральные свойства молочнокислых микроорганизмов

Вид	Морфология	Температура роста, °С		Предельная кислотность, °Т
		Оптимальная	Предельная	
<i>Streptococcus lactis</i>	Диплококки, короткие цепочки	30-35	10-40	120
<i>Streptococcus cremoris</i>	Цепочки кокков	25	10-35	110-115
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	Одиночные и двойные кокки или цепочки	25-30	10-35	80-100
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Цепочки кокков	40-45	10-55	110-115
<i>Lactobacillus bulgaricum</i>	Палочки с закругленными концами в виде цепочек	40-45	22-53	200-300
<i>Lactobacillus acidophilum</i>	Палочки одиночные или в виде цепочек	37	20-48	200-250
<i>Lactobacillus casei</i>	Палочки в виде отдельных и двойных клеток	30	15-38	80-180
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Палочки, образующие короткие и длинные цепочки	30	15-38	180

При использовании сухих и жидких бактериальных заквасок приготовление производственной закваски традиционно осуществляют трехпересадочным способом.

Первичную (материнскую, лабораторную) закваску готовят на обезжиренном молоке, стерилизованном при температуре 120 °С с выдержкой 15 – 20 мин. или пастеризованном при температуре 95 °С с выдержкой 30 – 60 мин. Посевная доза должна составлять 0,5 – 1,5 млн. активных клеток на 1 см³ молока, инокулируемый объем – 250 – 500 см³. К 8 – 12 часам культивирования численность жизнеспособных клеток достигает 1 – 3 млрд. в 1 см³ закваски. Лабораторную закваску можно хранить в течение недели при температуре 6 – 10 °С.

Для получения вторичной и производственной заквасок используют пастеризованное при температуре 85 – 87 °С с выдержкой 5 – 10 минут обезжиренное молоко. Рекомендуемая посевная доза составляет 20 – 50 млн на 1 см³ молока. Инокулируемый объем составляет для второй стадии 10 – 40 литров, для третьей – 300 – 600 литров. Необходимая концентрация жизнеспособных клеток при оптимальной для данного вида температуре развития достигается через 5 – 7 часов культивирования.

При использовании в качестве посевной культуры бактериальных концентратов культуру активизируют в инокуляторах (заквасочниках) объемом 300 – 600 литров, получая, таким образом, производственную закваску, либо готовят лабораторную закваску, непосредственно используемую при производстве кисломолочных продуктов. В последние годы на предприятиях молочной промышленности все шире стали использоваться бактериальные концентраты прямого внесения, не требующие предварительной активизации.

Качество всех видов заквасок оценивают по скорости и уровню кислотообразования, органолептическим показателям, видовому составу и отсутствию контаминирующей микрофлоры.

В последние годы при производстве продуктов питания функционального назначения, в первую очередь кисломолочных продуктов, находят применение бактериальные препараты микроорганизмов-

пробиотиков. В связи с этим, важнейшей задачей пищевой биотехнологии является изучение свойств представителей нормофлоры кишечника человека (бифидобактерий, лактобацилл и других), разработка технологий бакпрепаратов на основе чистых культур данных микроорганизмов и методов их использования при производстве продуктов питания.

Микроорганизмы рода *Bifidobacterium* являются типичными представителями полезной микрофлоры. В настоящее время род *Bifidobacterium* включает 32 вида, из которых 3 новых (*B. lactis*, *B. inopinatum*, *B. deuricolens*) были включены в этот род лишь в последние годы. Из них десять видов обнаружены у человека. В кишечнике человека наиболее часто встречаются следующие виды: *B. infantis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. infantis* и *B. breve* преобладают в кишечнике младенцев, а с возрастом они меняются на *B. bifidum*, *B. longum* и *B. adolescentis*.

Морфологически бифидобактерии представляют собой неспорообразующие, грамположительные, неподвижные палочки размером (0,5 – 0,7)~(2 – 8) мкм, зернистые: микробные клетки никогда не складываются в цепочки. Характерным признаком этих микроорганизмов является полиморфизм. Изучены прямые и разветвленные палочки V- или Y – формы, булабовидные и лопатовидные формы. Морфология бифидобактерий изменяется в зависимости от состава среды и времени культивирования.

Бифидобактерии являются облигатными анаэробами, получающими энергию в результате брожения. Спектр сахаров, сбраживаемых этими бактериями довольно широк: глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза, раффиноза и лактоза. Размножение этих микроорганизмов обусловлено большим количеством факторов роста. Бифидобактерии нуждаются в биотине, пантотеновой кислоте, цистеине, рибофлавине, пуриновых и пиримидиновых основаниях, пептидах и аминасахарах, коферменте А, олигосахарах, некоторых ненасыщенных жирных кислотах и других. Установлена высокая потребность бифидобактерий как в веществах пептидной природы, так и в

аминокислотах. Из аминокислот им чаще всего требуется лизин, пролин, серин, аланин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты.

В синтетических средах бифидобактерии для роста требуют железо, магний, фосфаты, хлориды калия и натрия, в некоторых случаях – марганец. Особую роль в их жизнедеятельности выполняет натрий, ускоряющий развитие бифидобактерий и повышающий выход биомассы; важное значение в жизнедеятельности бифидобактерий играет магний.

В настоящее время в пищевой промышленности при производстве функциональных продуктов питания используют препарат «Бифидумбактерин» на основе живых клеток бифидобактерий штаммов *Bifidobacterium bifidum* 1,791 или ЛВА-3. Внешний вид препарата - пористая или кристаллическая масса разных оттенков бежевого или беловато-серого цвета. Препарат имеет вид лиофилизированной кристаллической или пористой массы бежевого цвета различной интенсивности или бежевого цвета с сероватым оттенком, со специфическим запахом и вкусом. При добавлении воды образует непрозрачную взвесь.

Технологический процесс получения сухого бакпрепарата включает в себя следующие стадии:

- приготовление и стерилизация питательной среды;
- культивирование бифидобактерий на элективных питательных средах при температуре $(38 \pm 1) ^\circ\text{C}$, pH среды (4,5 – 5,0) в течение 36 – 40 ч (каждая стадия);
- отделение бактериальной суспензии на бактофуге или концентрирование культуральной жидкости без отделения клеток микроорганизмов;
- подготовку и внесение защитной среды;
- стерильный розлив во флаконы;
- замораживание и сублимационное высушивание препарата.

В нашей стране на протяжении ряда лет ведется работа по адаптации культур бифидобактерий к молоку и разработке напитков, содержащих живые культуры бифидобактерий. Во ВНИМИ (г. Москва) разработан способ получения активной закваски на основе штамма *Bifidobacterium adolescentis* МС-42. Данный штамм был использован при производстве детского продукта «Бифидин» и сухого продукта лечебно-профилактического назначения «Бифидин».

В последние годы разработан ряд технологий напитков с использованием комбинированных заквасок, обогащенных биомассой бифидобактерий: бифидокефир, биоигурт, биопростокваша, бифилайф, бифилюкс. При производстве кисломолочных напитков предусмотрено приготовление суспензии бифидобактерий на стерильном обезжиренном молоке при температуре (20 – 25) °С из расчета 1 учетная единица на 100 г обезжиренного молока (1 уч. ед. – количество бифидобактерий, равное 10^{11} клеток, предназначенное для заквашивания 1000 кг нормализованного молока).

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности. Знание студентами правил техники безопасности преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок выполнения работы

По лекционному материалу, учебной и периодической литературе составить технологический регламент, аппаратурно-процессовые технологические схемы производства бакпрепаратов молочнокислых

микроорганизмов (одного из видов по заданию преподавателя) и бифидобактерий.

Для приготовления заквасок образцы обезжиренного молока объемом 250 см^3 пастеризуют в термостойкой колбе на водяной бане при температуре $85 - 87^\circ\text{C}$ с выдержкой 5 – 10 минут; охлаждают молоко до температуры, оптимальной для развития культуры; в асептических условиях вносят жидкую закваску молочнокислых микроорганизмов в количестве 5 – 10 % от объема обезжиренного молока.

Культивирование проводят в течение 8 – 12 часов (в зависимости от видового состава закваски) при температуре, оптимальной для развития культуры.

В полученных лабораторных заквасках анализируют следующие показатели.

Видовой состав и морфологию молочнокислых микроорганизмов контролируют методом непосредственного микроскопирования окрашенных препаратов. При микроскопии препарата просматривают до 10 полей зрения, при этом не должно быть скопления клеток микроорганизмов.

Наличие посторонней микрофлоры (бактерий группы кишечной палочки, аэробных и анаэробных спорообразующих бактерий, дрожжей и плесневых грибов) устанавливают по следующим методикам.

Бактерии группы кишечной палочки определяют посевом 3 см^3 закваски в 20 см^3 среды Кесслер, выдерживают при температуре $43 - 45^\circ\text{C}$ в течение 18-24 часов. Появление газа свидетельствует о возможной контаминации закваски бактериями группы кишечной палочки.

Споровые бактерии определяют посевом 1 см^3 жидкой закваски в 20 см^3 стерильного обезжиренного молока с добавлением парафина для создания анаэробных условий и без добавления парафина для культивирования в аэробных условиях. Обе пробы термостатируют при 85°C в течение 10 минут. Затем охлаждают и выдерживают при температуре 30°C в течение 2 суток. В

случае контаминации молока анаэробными споровыми бактериями парафиновая пробка поднимается, молоко может пептонизироваться, при микроскопии препаратов видны утолщенные палочки со спорами.

Дрожжи и плесневые грибы определяют путем посева 1 см³ закваски в чашки Петри на сусло-агар.

Активность закваски определяют по времени свертывания пастеризованного молока при внесении в него 5 % закваски. Для заквасок молочнокислых стрептококков свертывание молока должно происходить не более чем за 7 часов, молочнокислых палочек – не более чем за 6 часов.

Определение в закваске ароматобразующих бактерий проводят по следующим методикам.

Определение CO₂. В пробирку наливают 20 см³ закваски, отмечают ее уровень и помещают в водяную баню с холодной водой. Температуру воды поднимают до 90 °С, отмечают уровень поднятия жидкости. Поднятие уровня на 0,6 – 3 см и выше свидетельствует о наличии CO₂.

Определение ацетоина и диацетила. Фильтруют закваску через бумажный фильтр. Три капли фильтрата смешивают с тремя каплями 40 %-го раствора гидроксида натрия. При наличии в культуральной жидкости диацетила и ацетоина, через 10 – 15 минут появляется розовое окрашивание. Окрашивание через 30 минут и позднее не учитывается.

Титруемая кислотность закваски. В коническую колбу емкостью 150 – 200 см³ вносят 10 см³ закваски, 20 см³ дистиллированной воды и 3 капли фенолфталеина. Титруют молоко 0,1 н раствором гидроксида натрия или калия до слабо розовой окраски, не исчезающей в течение 30 секунд. Оттитрованную пробу сравнивают с эталоном, для приготовления которого к 20 см³ молока добавляют 1 см³ 0,25 %-го раствора сульфата кобальта.

Титруемую кислотность в градусах Тернера рассчитывают, умножая объем щелочи, пошедший на нейтрализацию пробы, на десять.

Контроль качества препарата «Бифидумбактерин».

Растворимость препарата пробиотика «Бифидумбактерин». При добавлении воды из расчета 1 см³ на 1 дозу препарата в течение 5 мин. образуется гомогенная взвесь серовато-бежевого цвета. Определяют визуально.

Прозрачность препарата пробиотика «Бифидумбактерин». Взвесь должна быть непрозрачной.

Цветность препарата пробиотика «Бифидумбактерин». Взвесь должна иметь бежевый или бежевый с сероватым оттенком цвет. Определяют визуально.

Значение pH препарата пробиотика «Бифидумбактерин» должно быть в диапазоне от 5.5 до 6.5.

Микробиологическая чистота препарата пробиотика «Бифидумбактерин».

Препарат не должен содержать посторонних микроорганизмов, плесени и дрожжеподобных грибов. Образец лекарственного средства в количестве 10 г помещают в мерный флакон емкостью 250 см³, доводят до 100 см³ (разведение 1:10) буферным раствором с натрия хлоридом и пептоном, pH 7,0 и перемешивают до образования гомогенной взвеси. Для определения общего количества бактерий по 1 см³ взвеси высевают не менее, чем на две чашки Петри с питательной средой № 1 методом двухслойного посева. Для определения общего количества грибов по 1 см³ взвеси высевают не менее, чем на две чашки Петри с густой питательной средой № 2 методом двухслойного посева. Посевы на среде № 1 инкубируют при 30 – 35 °С для выявления бактерий, а посевы на среде № 2 – при 20 – 25 °С для выявления грибов в течение 5 суток, если достоверные результаты не будут получены ранее.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

7. Номенклатура и классификация препаратов молочнокислых микроорганизмов;
8. Общая технологическая схема получения сухих препаратов молочнокислых микроорганизмов;
9. Технология производства препарата «Бифидумбактерин»
10. Направления использования бактериальных препаратов в молочной промышленности;
11. Схемы приготовления производственных заквасок молочнокислых микроорганизмов и активных заквасок бифидобактерий;
12. Методы исследования жидких заквасок и сухих бакпрепаратов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 4

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКЦИИ С ПРОБИОТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

Цель работы: оценить качество и конкурентоспособность биотехнологической продукции с пробиотическими свойствами на примере кисломолочной продуктов. Рассмотреть качества, по которым оцениваются пробиотические и потребительские свойства кисломолочных продуктов, определить конкурентоспособность исследуемых продуктов с использованием немодифицированной модели Розенберга.

Теоретическое обоснование

Экономический успех предприятия прямо зависит от того, насколько его продукция удовлетворяет определенным потребностям. Соответствие продукта требованиям рынка можно определить, исходя из анализа самых разнообразных показателей. Индикаторами могут служить объем сбыта, прибыль, покрытие постоянных затрат. Однако, в большинстве случаев, невозможно оценить продукт только по экономическим показателям.

В подобных случаях важно выяснить, насколько товар (продукт) или производственная программа соответствуют требованиям рынка и потребителей. В дальнейшем будем это называть *конкурентоспособностью товара*.

Для оценки конкурентоспособности товара могут быть применены различные подходы:

- а) *полевые* маркетинговые исследования, позволяющие выяснить активизацию потребностей и предпочтения потребителей при покупке тех или иных товаров;
- б) *лабораторные* маркетинговые исследования, предопределяющие возможность оценки эмоционального воздействия товара на потребителей;
- в) *аналитическое* моделирование, обеспечивающее выявление оценки субъективного качества товара;

г) *многомерное* компьютерное моделирование, обеспечивающее сравнительные оценки разных товаров по самым различным характеристикам.

К наиболее известным аналитическим моделям конкурентоспособности товаров относятся модель Розенберга и модель с идеальной точкой.

Модель Розенберга исходит из того, что потребители оценивают продукты с точки зрения пригодности для удовлетворения своих потребностей. В изначальном виде субъективная пригодность продукта по данной модели оценивалась как суммирование субъективных оценок пригодности данного продукта для удовлетворения различных мотиваций.

$$W_j = \sum_k^1 Y_{jk} \quad (4.1)$$

где W_j – оценка рыночной адекватности j товара;

Y_{jk} – оценка k характеристики j товара.

Собрав таким способом данные о многих товарах, можно получить:

- общие оценки товаров, которые могут служить индикаторами предпочтений потребителей;
- информацию о том, как воспринимаются потребителями отдельные товары.

Аппаратура, оборудование и материалы: термометр спиртовой; центрифуга; баня водяная; весы аналитические; титровальная установка; кислота серная плотностью 1,81 – 1,82 г/см³; спирт изоамиловый; 0,1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина; 0,1 н раствор гидроксида натрия; 2,5 %-й раствор сульфата кобальта; образцы кисломолочных продуктов (объем не менее 200 см³); спиртовка; предметные стекла; фуксин; масло; микроскоп; стерильные цилиндры емкостью 50 – 100 см³; цилиндры или мерные стаканы емкостью 250 – 500 см³; жиरोмеры молочные; пробки резиновые для жиरोмеров; пипетки на 10,77 см³, 10 см³, 1 см³; приборы для отмеривания серной кислоты и изоамилового спирта на 10 см³ и 1 см³; колбы конические ёмкостью 150 – 200 см³.

Указания по технике безопасности

При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок и выполнения работы

Для оценки конкурентоспособности товара предлагаются образцы кисломолочных продуктов, которые оцениваются по 6 основным показателям:

- Упаковка товара.
- Маркировка.
- Степень соответствия ГОСТу.
- Пробиотические свойства продукта.
- Экспертная оценка вкусовых характеристик продукта.
- Экспертная оценка спроса на товар.

Каждый показатель оценивается по 10 бальной шкале. Перед началом выполнения работы дается описание каждого исследуемого образца: название продукта, производитель, сроки хранения, цена. Затем оценивается упаковка и маркировка товара, даются пояснения по продуктам, набравшим максимальное и минимальное количество баллов. Результаты заносятся в сводную таблицу 4. 1.

После этого образцы анализируются на степень соответствия ГОСТу. Определяются органолептические и физико-химические показатели.

Количество молочнокислых микроорганизмов в 1 г продукта оценивается по методу Виноградского-Брида. На предметном стекле маркером наносится квадрат со сторонами 15 мм. В область квадрата помещается 0,01 см³ продукта, разбавленного в два раза. Готовится окрашенный фиксированный мазок, препарат микроскопируется с увеличением 90×15. В 5 полях зрения подсчитывается количество

молочнокислых микроорганизмов. Количество микроорганизмов в 1 см³ продукта (K) определяется по формуле:

$$K=2,25 \cdot 10^6 \cdot A \quad (4.2)$$

где A – среднее количество молочнокислых микроорганизмов в поле зрения микроскопа.

Результаты заносятся в таблицу 4. 1.

Таблица 4. 1 – Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели исследуемых продуктов

Показатели		Наименование продукта			
Органолептические показатели	Внешний вид				
	Вкус и запах				
	Консистенция				
Физико-химические показатели	Кислотность, °Т				
	Массовая доля белка, %				
	Массовая доля жира, %				
	СОМО, %				
	Массовая доля сахаров, в пересчете на инвертный сахар, %				
Микробиологические показатели					
Количество молочнокислых микроорганизмов в 1 г продукта					

По данным таблицы 4. 1 дается бальная оценка соответствия образцов ГОСТу. Товар получает максимальное количество баллов, если все показатели соответствуют ГОСТу.

Для оценки пробиотических свойств продукта проводится заквашивание пастеризованного молока исследуемыми продуктами (5 % закваски), результаты заносятся в таблицу 4. 2.

Таблица 4.2 – Степень нарастания кислотности

Наименование продукта	Кислотность после заквашивания, °Т	Кислотность после сквашивания, °Т	Степень нарастания кислотности

По данным таблицы 4. 2 проводится бальная оценка пробиотических свойств продуктов.

Экспертная оценка вкуса и спроса на товар проводится путем опроса определенного числа респондентов. Полученные данные заносятся в таблицу 4. 3.

Таблица 4. 3 – Экспертная оценка спроса продуктов

Наименование продукта	Оценка вкусовых характеристик продукта	Средний балл	Оценка спроса на товар	Средний балл

Полученные результаты заносятся в таблицу 4. 4 для вычисления коэффициента конкурентоспособности.

Таблица 4. 4 – Вычисление коэффициента конкурентоспособности

Наименование продукта	Упаковка товара	Маркировка	Степень соответствия ГОСТу	Пробиотические свойства продукта	Экспертная оценка вкусовых характеристик продукта	Экспертная оценка спроса на товар	Оценка конкурентоспособности товара (W)

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- таблицы с результатами;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Понятие пробиотических продуктов.
2. Микроорганизмы, использующиеся при производстве пробиотических продуктов.
3. Бифидо- и лактобациллодержающие пробиотические продукты.
4. Методы оценки конкурентоспособности товара.
5. Метод Розенберга.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ

Цель работы: проанализировать конкурентоспособность новых видов хлебопекарных дрожжей с использованием модифицированной модели Розенберга. Рассмотреть, используя лекционный материал, особенности рынка товаров широкого потребления и специальных товаров. Охарактеризовать виды хлебопекарных дрожжей, их основные характеристики, новинки.

Теоретическое обоснование

Рассмотренная ранее не модифицированная модель Розенберга основана на предположении, что каждая характеристика анализируемого товара желательна и чем выше ее оценка, тем лучше. Однако, очевидно, что не все показатели оценки продукта равнозначны. Высказывания опрашиваемых не дают указания на то, какие характеристики продукта должны быть изменены. В модифицированной модели Розенберга значение отдельных мотивов определяется опосредованно, через конкретные характеристики продукта, с учетом значимости каждой характеристики для оценки, как показано в формуле модели:

$$W_i = \sum_{k=1}^n X_k \bullet Y_{jk}, \quad (5.1)$$

где W_j – оценка рыночной адекватности j -того товара;

X_k – весовой коэффициент k характеристики;

Y_{jk} – оценка k характеристики j товара.

Собрав таким способом данные о многих товарах, можно получить сведения не только об общей оценке товаров, но и информацию о важности различных характеристик для общей оценки

В хлебопекарном производстве используются в основном прессованные и сухие дрожжи. Прессованные дрожжи представляют собой выращенные в особых условиях дрожжевые клетки, выделенные из среды, в которой они

размножались, сепарированием, промытые и спрессованные. Прессованные дрожжи не должны иметь запаха плесени и других посторонних запахов. Цвет серый с желтоватым оттенком, без темных пятен на поверхности. Консистенция плотная. Дрожжи должны легко ломаться и не мазаться. Влажность не более 75 %. Подъем теста до 70 мм должен продолжаться не более 75 мин. Для промышленной переработки допускаются дрожжи с подъемной силой 85 мин. Кислотность 100 г дрожжей в мг уксусной кислоты в день выпуска с завода – не более 120 °Т, а после 12 суток хранения или транспортирования при температуре от 0 до 4 °С – не более 360 °Т.

Дрожжи сушеные должны иметь форму гранул или вермишели, допускается 10 % пылевидных частиц. Цвет светло-желтый или светло-коричневый. Не должны иметь посторонних запахов: гнилостного, плесени и т. п. Влажность для высшего сорта не более 8 %, а для I сорта не более 10 %. Подъем теста до 70 мм для высшего сорта – не более 70 мин; I сорта – не более 90 мин. Сохранность со дня выработки для высшего сорта не менее 12 месяцев, для I сорта – 5 месяцев.

Аппаратура, оборудование и материалы: термометр спиртовой; термостат; сушильный шкаф; прибор Чиждова; весы аналитические; титровальная установка; 0,1 %-й спиртовой раствор фенолфталеина; 0,1 н раствор гидроксида натрия; спиртовка; предметные стекла; фуксин; масло; микроскоп; цилиндры или мерные стаканы емкостью 250-500 см³; колбы конические ёмкостью 150-200 см³; образцы дрожжей; мука; дистиллированная вода.

Указания по технике безопасности

При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок и выполнения работы

Для оценки конкурентоспособности товара предлагаются образцы дрожжей, которые оцениваются по 5 основным показателям:

- Упаковка и маркировка товара
- Органолептические показатели
- Подъемная сила дрожжей
- Другие физико-химические показатели дрожжей (кислотности дрожжей, влажности прессованных и сушеных дрожжей)
- Микробиологическая оценка препаратов дрожжей

Каждый показатель оценивается по 10 бальной шкале. Перед началом выполнения работы дается описание каждого исследуемого образца: название продукта, производитель, сроки хранения.

На первом этапе оценивается упаковка и маркировка товара, даются пояснения по продуктам, набравшим максимальное и минимальное количество баллов. Результаты заносятся в сводную таблицу.

Затем проводится оценка органолептических образцов. Результаты приводятся в таблице 5. 1.

Таблица 5. 1 – Органолептические показатели исследуемых дрожжей

Наименование показателя	Характеристика образцов			
	1	2	3	4
Цвет				
Запах				
Вкус				
Консистенция				
Бальная оценка органолептических показателей				

Определение подъемной силы дрожжей проводится с использованием ускоренного метода определения. На технических весах взвешивают 0,31 г дрожжей, переносят в фарфоровую чашку, приливают 4,8 см³ приготовленного раствора поваренной соли (2,5 %), нагретого до 35 °С и тщательно перемешивают пестиком или шпателем. К полученному раствору добавляют 7 г муки, замешивают тесто и придают форму шарика. Шарик опускают в стакан с водой, температурой 35 °С и помещают в термостат с той же температурой. Подъемная сила дрожжей характеризуется временем,

прошедшим с момента опускания шарика в воду до момента его всплывания. Время подъема шарика в минутах умножают на коэффициент 3,5, полученный эмпирически, для определения подъемной силы. Результаты заносятся в таблицу 5. 2.

Таблица 5. 2 – Подъемная сила дрожжей

Наименование образца	Время подъема шарика из теста, мин	Подъемная сила	Бальная оценка характеристики

Кислотность образцов дрожжей определяют следующим образом: на технических весах взвешивают 10 г дрожжей, переносят в сухую фарфоровую чашку, добавляют 50 см³ дистиллированной воды, тщательно перемешивают, взбалтывают до получения однородной массы и титруют 0,1 н раствором едкого натра в присутствии индикатора фенолфталеина до появления розового окрашивания.

Кислотность (К) дрожжей в пересчете на уксусную кислоту в мг на 100 г дрожжей вычисляют по формуле:

$$K = \frac{V \times 60 \times 10}{10} = 60 \times V \quad (5.2)$$

где V – расход 0,1 н. раствора щелочи, в мл;

10 (в знаменателе) – пересчет на нормальный раствор щелочи;

10 (в числителе) – пересчет на 100 г дрожжей;

60 – титр нормального раствора уксусной кислоты, в мг;

Результаты заносятся в таблицу 5. 3.

Таблица 5. 3 – Кислотность прессованных (сушеных) дрожжей

Наименование образца	Расход щелочи на титрование, мл	Кислотность в мг на 100 г дрожжей	Бальная оценка показателя

Влажность образцов определяется: высушивают 2 г сухих дрожжей или 5 г прессованных при температуре 105 °С до постоянного веса с точностью до 0,001 г. Вычисляется влажность по формуле:

$$W = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m_2 - m_3} \quad (5.3)$$

где: m_1 – масса пустого пакета (бюкса), г;

m_2 – масса пакета (бюкса) с навеской до высушивания, г;

m_3 – масса пакета (бюкса) с навеской после высушивания, г.

Результаты заносятся в таблицу 5. 4.

Таблица 5. 4 – Влажность прессованных (сушеных) дрожжей

Наименование образца	Масса бюкса без навески, г	Масса бюкса с навеской, г		Масса испарившейся влаги, г	Влажность дрожжей, %	Бальная оценка показателя
		До высушивания	После высушивания			

Микробиологическая оценка препаратов дрожжей проводится по фиксированным мазкам и по препарату «раздавленная капля». По фиксированным мазкам оценивается количество дрожжевых клеток в образцах. По препарату «раздавленная капля» оценивается количество живых клеток. Для исследования берутся препараты дрожжей до, и после активации. Активация проводится в течение 30 мин. следующим образом: 1 г исследуемых дрожжей помещается в 20 – 25 см³ 5 % раствора сахарозы с температурой 25 – 30 °С.

Определение стойкости. Взятую из выборки отформованную пачку дрожжей массой 1,0 кг, предварительно охлажденную до 4 °С, помещают в термостат при (35 ± 2) °С и хранят ее до полного размягчения. Время, прошедшее с момента помещения дрожжей в термостат до их размягчения, характеризует стойкость дрожжей и выражается в часах.

Полученные результаты заносятся в сводную таблицу 5. 5 для вычисления конкурентоспособности по модифицированной модели Розенберга.

Таблица 5. 5 – Вычисление коэффициента конкурентоспособности

Наименование продукта	Упаковка товара		Маркировка		Органолептические показатели (бальная оценка соответствия)		Подъемная сила		Физико-химические показатели		Микробиологические показатели		Оценка конкурентоспособности товара (W)	
	Весовой коэффициент показателя (X)													
	Y	X×Y	Y	X×Y	Y	X×Y	Y	X×Y	Y	X×Y	Y	X×Y		

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Виды дрожжей, используемых в хлебопекарной промышленности.
2. Основные показатели, характеризующие качество хлебопекарных дрожжей.
3. Понятие рынка, отличия рынка товаров широкого потребления и специальных товаров.
4. Расчет конкурентоспособности по модифицированной модели Розенберга.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 6

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА И КОНКУРЕНТОСПОСОБНОСТИ НОВЫХ ВИДОВ ПИВА РОССИЙСКИХ И ЗАРУБЕЖНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Цель работы: определить конкурентоспособности различных сортов пива.

Теоретическое обоснование Пиво – самый древний алкогольный напиток в истории человечества. Освежающий, насыщенный диоксидом углерода пенистый, получается он в результате сбраживания пивного сусла специальными расами пивных дрожжей. Различают следующие типы пива: светлое, полутемное, темное, безалкогольное, крепкое, оригинальное; светлое с увеличенным сроком дображивания и повышенной нормой внесения хмеля; пастеризованное – с повышенной биологической стойкостью, получаемой путем тепловой обработки; специальное – приготовленное с применением вкусовых или ароматических добавок.

Технологический процесс приготовления пива включает следующие основные операции: производство солода из ячменя или других культур, приготовление пивного сусла, подготовка чистой культуры дрожжей, сбраживания пивного сусла, осветления и розлива пива. В пивоваренном производстве основным сырьем являются ячмень, хмель, вода и дрожжи. Суслом называют водный раствор экстрактивных веществ, получаемых при затирании солода (грубо говоря, нагревании солода и другого сырья с водой). Сусло обязательно фильтруют, кипятят с хмелем, отделяют хмель, и только после этого сбраживают. После брожения сусло превращается в пиво.

Аппаратура, оборудование и материалы: прибор анализа качества пива «КОЛОС-1»; колбы емкостью 200 – 250 см³; цилиндр 100 см³; образцы пива.

Указания по технике безопасности

При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем

халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок выполнения работы

Для анализа используется несколько образцов пива. Перед началом выполнения работы дается описание каждой единицы продукции: производитель, стоимость, название, вид пива и т.д.

Каждая единица продукции оценивается по следующим показателям:

6. Упаковка и маркировка продукции
7. Степень соответствия ГОСТ
8. Потребительская оценка вкуса
9. Потребительская оценка спроса
10. Потребительская оценка дизайна образцов

Оценку упаковки, укупоривания и маркировки пива проводят по следующим критериям:

- цвет, дизайн бутылки;
- способ нанесения этикетки на бутылку (одно-, двух- или трехпозиционным способом),
- вид укупорки бутылки (простой кроненпробкой, гравированной, литографированной),
- цветистость оформления горлышка бутылки (фольга и др.),
- дизайн этикетки (правильность размещение необходимых данных на этикетке, соединение цветовой гаммы и металлика, выполнение требований стандарта по нанесению необходимых данных на этикетку).

На этикетке бутылочного пива должна содержаться следующая информация:

- наименование изготовителя или наименование товарного знака;
- наименование напитка языком страны (допускается одновременное использование любого другого - английского, немецкого и т.д.);
- экстрактивность начального сусла пива и содержание спирта в пиве;

- срок стойкости (гарантия сохранения);
- дата разлива (наносится на этикетку компостером или просечением), которая состоит из числа и месяца;
- объём, дм³;
- нанесение энергетической и другой информации, предусмотренной стандартом на этот сорт пива;
- для пастеризованного и стабилизированного пива - слова "пастеризовано", "стабилизировано";
- обозначение нормативно-технической документации, соответственно которой вырабатывается.

Степень соответствия ГОСТ или другим нормативным документам (в частности, показателям, указанным на этикетке) оценивается по органолептическим и физико-химическим показателям.

Процесс органолептической оценки состоит из нескольких последовательных этапов, для чего требуется:

7. сосредоточить внимание и несколькими последовательными вдохами через нос ощутить запах пива;
8. взболтать пиво по кругу в бокале и еще раз ощутить запах, отметив разницу воспринимаемого запаха при взбалтывании пива и без него;
9. визуально оценить образование пены, прозрачность, блеск и игристость пива;
10. взять в рот немного пива, выдержать в течение 15 секунд и зафиксировать впечатление;
11. ощутить полный аромат пива носом и ртом;
12. сделать глоток и ощутить вкус и остающееся послевкусие после проглатывания пива.

При оценке органолептических показателей используют следующие термины:

4. для характеристики аромата

а. *свойственный для пива* - чистый, хмелевой, солодовый, свежий, дрожжевой, цветочный;

б. *посторонние запахи* - фенольный (запах лекарств), затхлый, кислый, масляный (диацетил), вареной кукурузы (диметилсульфид), зеленых яблок (ацетальдегид), и т.д.;

5. для характеристики вкуса

а. *характерные*: чистый, полный, гармоничный, выраженный, негармоничный, слабо выраженный, пустой;

б. *нехарактерные*: сладковатый, солодовый, дрожжевой, карамельный, фруктовый, кисловатый, металлический, сернистый, медовый, масляный, фенольный;

6. для характеристики горечи

а. тонкая, мягкая, грубая, остаточная, приятная, неприятная, сильная, слабая;

б. не хмелевая.

Прозрачность и цвет. Пиво высокого качества должно быть прозрачным с блеском, искриться при просматривании на свет. Прозрачность пива с блеском оценивают наивысшим баллом, прозрачность без блеска с единичными мелкими взвесями – на балл ниже, пиво слабо опалесцирующее – 1 баллом, а сильно опалесцирующее обычно снимается с дегустации.

Если цвет соответствует типу пива и находится на минимально установленном уровне для данного пива, то его оценивают максимальным количеством баллов, на максимально допустимом – 1 баллом, а пиво с цветом, не соответствующим его типу, является неудовлетворительным. Хорошее светлое пиво должно иметь полную прозрачность и «искру», которая просматривается через стекло стакана, в котором резко преломляется свет. По сильному блеску судят о чистоте и совершенстве продукта.

Аромат. Аромат напитка должен быть чистым, свежим выраженным. Для светлого пива больше характерен хмелевой аромат. Недочеты при

ведении процесса приводят к различным дефектам, наличию в аромате посторонних тонов: фруктовые, кисловатые, дрожжевые, а также аромат молодого пива.

Вкус. Отличный вкус - это полный, чистый без посторонних привкусов, гармоничный. Чистым называют вкус, придаваемый пиву качественным хмелем и солодом. Горечь не должна быть грубой и терпкой, должна ярко ощущаться только в момент употребления пива, а потом ощущение горечи должно быстро проходить.

Физико-химические показатели образцов пива оцениваются с использованием прибора анализа качества пива «КОЛОС-1». Перед анализом пробы подготавливаются следующим образом для удаления углекислого газа: 50 – 70 см³ пива помещается в колбу емкостью 200 – 250 см³. Горлышко колбы плотно закрывается ладонью, и колба встряхивается в течение 5 минут. Затем колбу оставляют в покое на 10 минут и процедуру повторяют до тех пор, пока полностью не перестанут выделяться пузырьки углекислого газа. Перед каждым измерением проводится промывка прибора.

Пенообразование: пиво наливается с высоты 25 мм (расстояние от горла бутылки до верхнего края сосуда) в цилиндрический чистый стеклянный сосуд высотой 105 – 110 мм с наружным диаметром 70 – 75 мм при температуре (12 ± 2) °С.

Пена должна быть компактной, выделять пузырьки двуокиси углерода. Пена образуется в бокале при наполнении за счет выделения пузырьков СО₂, который улетучивается вследствие падения давления. Высокая, густая и стойкая пена является признаком хорошего качества пива. Пиво с густой, плотной пеной обладает полнотой вкуса и долго сохраняет свежесть. Хорошая пена оставляет след на стенке бокала после каждого глотка. Измерения проводятся в трех повторностях и результаты заносятся в таблицу 6. 1.

Таблица 6. 1 – Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели исследуемого пива

Показатели		Наименование продукта			
		1	2	3	4
Органолептические	Прозрачность				
	Аромат и вкус				
Физико-химические	Объемная доля спирта, %, не менее				
	Экстрактивность начального сусла, %				
	Кислотность, к ед.				
	Цвет, ц. ед.				
	Массовая доля двуокиси углерода, %, не менее				
	Пенообразование: высота пены, мм, не менее пеностойкость, мин, не менее				
	Стойкость, сут, не менее				
	Энергетическая ценность, ккал в 100 г пива				
	Углеводы, в 100 г пива, не более				

Потребительская оценка дизайна товара, вкуса и спроса оценивается по 10 бальной шкале. Обобщенные данные заносятся в таблицу 6.2.

Таблица 6. 2 – Общие данные

Наименование продукта	Упаковка и маркировка товара		Степень соответствия ГОСТу		Потребительская оценка вкусовых характеристик продукта		Потребительская оценка спроса на товар		Потребительская оценка дизайна товара		Оценка конкурентоспособности товара (W)
	Весовой коэффициент показателя (X)										
	Y	X×Y	Y	$\frac{X \times Y}{Y}$	Y	X×Y	Y	X×Y	Y	X×Y	

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

5. Виды пива, технология производства различных сортов пива.

6. Основные показатели, характеризующие качество пива.
7. Использование различных добавок при производстве пива.
8. Общая схема оценки конкурентоспособности товаров биотехнологической отрасли.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 7
ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
НА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКЕ

Цель работы: изучить требования к молочной сыворотке, к сырью для промышленного культивирования микроорганизмов. Рассмотреть современные способы биотехнологической переработки молочной сыворотки; разработать технологические схемы производства целевых продуктов; исследовать влияние состава питательной среды на процессы биосинтеза биологически активных веществ молочнокислыми и пропионовокислыми микроорганизмами. Освоить методики определения продуктов молочнокислого и пропионовокислого брожения в ферментированной сыворотке.

Теоретическое обоснование Молочная сыворотка является перспективным видом сырья промышленной биотехнологии. Актуальность использования молочной сыворотки в качестве основы питательных сред для культивирования промышленных продуцентов этанола, органических кислот, белковых и биологически активных веществ и других целевых продуктов биотехнологии обусловлена следующими факторами:

- высокое содержание лактозы (4,2-4,7 % при массовой доле сухих веществ 6,0-6,5 %), ассимилируемой многими микроорганизмами в качестве одного из основных источников углерода;
- наличие в составе молочной сыворотки органических соединений азота, водорастворимых витаминов, макро- и микроэлементов;
- дешевизна и доступность по сравнению препаратами углеводов, используемых при приготовлении синтетических питательных сред;
- необходимость разработки технологий рациональной переработки молочной сыворотки на продукты пищевого и кормового назначения;

- исключение сброса молочной сыворотки в канализацию, на поля орошения и фильтрации.

Результаты исследований отечественных и зарубежных ученых подтвердили возможность и целесообразность биотехнологической переработки молочной сыворотки для получения следующих групп целевых продуктов:

- органических кислот (молочной, уксусной, пропионовой, лимонной);
- этилового спирта и глицерина;
- концентратов витаминов группы В;
- белково-витаминных и каротинсодержащих концентратов;
- ферментных препаратов.

Микроорганизмы, которые могут быть использованы в биотехнологических процессах переработки молочной сыворотки, в зависимости от способности усваивать источники углеродного и азотного питания можно разделить на три группы:

1) Микроорганизмы, усваивающие лактозу и белки молочной сыворотки, для которых в качестве основы питательной среды используется натуральная или сгущенная до массовой доли сухих веществ (18 – 20) % молочная сыворотка. К этой группе относятся молочнокислые бактерии и палочки, дрожжи родов *Kluyveromyces* и *Torulopsis*.

2) Микроорганизмы, ассимилирующие лактозу, для которых сывороточные белки являются недоступным или труднодоступным источником азота. Для процессов культивирования данной группы продуцентов используются среды на основе депротеинизированной молочной сыворотки, скорректированные по азоту, фосфору и другим элементам, или на основе молочной сыворотки, обработанной препаратами протеолитических ферментов. Примерами подобных микроорганизмов являются бактерии рода *Clostridium*, грибы *Aspergillus niger*.

3) Микроорганизмы, не усваивающие лактозу или для которых предпочтительными являются другие источники углерода. В данном случае возможно совместное (пропионовокислые бактерии) или постадийное (уксуснокислые бактерии) культивирование с молочнокислыми микроорганизмами, а также предварительная обработка молочной сыворотки препаратами лактазы (дрожжи-сахаромицеты). Основные направления применения культур микроорганизмов при переработке молочной сыворотки представлены в таблице 7. 1.

Таблица 7. 1 – Направления биотехнологической переработки молочной сыворотки.

Микроорганизмы-продуценты	Целевые продукты
Гомоферментативные молочнокислые бактерии	Молочная кислота, бакконцентраты, белково-витаминные концентраты, низин.
Гетероферментативные молочнокислые бактерии	Напитки из молочной сыворотки, белковые пасты, бакконцентраты.
Пропионовокислые бактерии	Белково-витаминные концентраты, уксусная и пропионовая кислоты, витамин В ₁₂ .
Уксуснокислые бактерии	Уксусная кислота, столовый уксус.
Клостридии	Ацетон и бутанол, масляная кислота, рибофлавин.
Дрожжи	Этиловый спирт и глицерин, белково-витаминные концентраты, био жир, каротиноиды, рибофлавин.
Микроскопические грибы	Лимонная кислота, антибиотики, ферментные препараты, белково-витаминные концентраты, био жир, каротиноиды, рибофлавин.

Перспективным направлением переработки молочной сыворотки является получение белково-витаминных концентратов на основе биомассы молочнокислых и пропионовокислых бактерий, обогащенных витаминами группы В, а также концентратов и препаратов водорастворимых витаминов пищевого назначения.

Аппаратура, оборудование и материалы: молочная сыворотка, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; K_2HPO_4 ; $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$; рН-метр; 10 %-й раствор NaHCO_3 ; 10 %-й раствор H_2SO_4 ; конические колбы на 250 см³; чистые культуры молочнокислых микроорганизмов; термостат; дистиллированная вода; раствор медного купороса; раствора едкого натра; 0,1 н раствора йода; 0,1 н раствор гидроксида натрия; 0,5 н раствор соляной кислоты, 0,1 н раствор гипосульфита натрия; 1 %-й раствор крахмала; раствор BaCl_2 (197,5 г/дм³);

NaOH (1 н); ZnSO₄ (225 г/дм³); мерные цилиндры на 100 см³ 1%-й раствор FeCl₂, спектрофотометр; насыщенный раствор щавелевой кислоты; насыщенный раствор хлорида натрия; 0,001 н раствор 2,6 дихлорфенолиндофенола; растворы рибофлавина с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг; 5 %-й раствор железосинеродистого калия, 10 %-й раствор NaOH; водяная баня; растворы тиамина с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг %; 1 н раствор KOH; 10 %-й раствор уксусной кислоты, 5 %-й раствор сульфата меди; 5 %-й раствор хлорного железа.

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности. Знание студентами правил техники безопасности преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок проведения работы.

Изучить по литературным источникам и лекционному материалу основные направления биотехнологической переработки молочной сыворотки. В отчете о работе следует привести краткое описание технологии получения следующих продуктов:

- органических кислот (молочной, уксусной и пропионовой, лимонной);
- этилового спирта;
- концентратов рибофлавина и витамина B₁₂;
- белково-витаминных концентратов (на примере продуктов «Промикс» и «Провилакт»).

На основании индивидуального задания (приложение А) обосновать выбор вида микроорганизмов и состава питательной среды для получения

заданного целевого продукта; разработать технологическую схему получения целевого продукта и ее описание с указанием параметров основных технологических операций.

Молочную сыворотку пастеризуют при температуре 70 – 75 °С в течение 1 часа и охлаждают до температуры заквашивания. Контролируют массовую долю лактозы в исходной сыворотке йодометрическим методом (приложение Б), содержание молочной кислоты фотоколориметрическим методом (приложение В), аскорбиновой кислоты (приложение Г) и витаминов группы В (приложение Д). В сыворотку вносят добавки минеральных солей (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 3; K_2HPO_4 – 2,0; $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,002; pH среды 6,8 – 7,0 устанавливают с помощью 10 %-го раствора NaHCO_3 и 10 %-го раствора H_2SO_4 . Среду разливают по 250 см³ в конические колбы.

В качестве посевного материала по заданию преподавателя используют закваску на чистых культурах молочнокислых микроорганизмов (болгарской или ацидофильной палочки, термофильного стрептококка), симбиотическую закваску на чистых культурах молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Закваски готовят на пастеризованном или стерилизованном обезжиренном молоке. Чистоту культуры контролируют методом непосредственного микроскопирования окрашенных препаратов. При микроскопии препарата просматривают до 10 полей зрения, при этом не должно быть скопления клеток микроорганизмов. Количество посевного материала – 10 % от объема питательной среды. Определяют массовую долю сухих веществ среды рефрактометрическим методом, титруемую кислотность.

Ферментацию осуществляют при температуре, оптимальной для развития исследуемой культуры микроорганизмов (для симбиотической закваски – 30 °С), в течение 96 часов по четырем вариантам.

- 1) Контрольная среда без внесения добавок.
- 2) Модифицированная среда с добавлением 5 % обезжиренного молока.

3) Модифицированная среда с внесением 5 % гидролизата обезжиренного молока.

4) Модифицированная среда с внесением 5 % дрожжевого автолизата.

Через каждые 24 часа контролируют титруемую кислотность, массовую долю сухих веществ. Результаты исследований представить в виде графических зависимостей титруемой кислотности и массовой доли сухих веществ сред от времени культивирования.

В средах до внесения закваски и по завершении ферментации определяют титруемую кислотность, массовую долю сухих веществ, лактозы, концентрацию аскорбиновой кислоты и витаминов группы В.

Определение лактозы. В мерную колбу на 250 см³ отвешивают 10 г молочного сырья с точностью до 0,01 г, прибавляют до половины объема дистиллированной воды, вносят 10 см³ раствора медного купороса и 4 см³ 1 н раствора едкого натра, перемешивая жидкость после внесения каждого реактива. Содержимое колбы доливают до метки дистиллированной водой и оставляют для отстаивания на 30 минут. Отстоявшуюся жидкость профильтровывают в сухую колбу через складчатый фильтр, удаляя первые 20-30 см³ фильтрата.

50 см³ фильтрата переносят пипеткой в коническую колбу на 250-300 см³ с притертой или резиновой пробкой, добавляют 25 см³ 0,1 н. раствора йода и сейчас же при непрерывном перемешивании добавляют из бюретки 37,5 см³ 0,1 н раствора гидроксида натрия. Закрывают колбу пробкой и оставляют в темноте на 20 минут при температуре 20 °С.

Прибавляют в колбу 8 см³ 0,5 н раствора соляной кислоты, оттитровывают выделившийся йод 0,1 н раствором гипосульфита натрия в присутствии 1 %-го раствора крахмала. Титрование ведут медленно, сначала без прибавления индикатора (до получения светло-желтой окраски), затем прибавляют 1 см³ 1 % раствора крахмала и продолжают титрование до того

момента, когда от 1 капли раствора гипосульфита натрия исчезнет синяя окраска.

Проводят холостую пробу, для чего в другую колбу отмеривают 25 см³ 0,1 н раствора йода, добавляют при непрерывном перемешивании 37,5 см³ 0,1 н раствора гидроксида натрия и, закрыв колбу, оставляют в темноте на 20 минут, а затем проводят определение, как в первой колбе.

Содержание лактозы в процентах определяют по формуле:

$$Л = [0,01801 \times (a - б) \times 0,97 \times 100] / В, \quad (7.1)$$

где a – количество 0,1 н раствора гипосульфита натрия, пошедшего на титрование йода в холостой пробе, см³;

$б$ – количество 0,1 н. раствора гипосульфита натрия, пошедшего на титрование йода в фильтрате, см³;

$В$ – количество молока в 50 см³ фильтрата (равное 2 г).

Определение содержания молочной кислоты.

В колбу 250-300 см³ вносят 1 г образца, приливают 24 мл воды и из бюретки – по 5 см³ растворов BaCl₂ (197,5 г/дм³), NaOH (1 н), ZnSO₄ (225 г/дм³). Для контроля эти реактивы в той же последовательности добавляют к 25 см³ воды. Реактивы вводят очень быстро, обязательно перемешивая после добавления каждого из них не менее 30 сек. Контрольный и исследуемый образцы фильтруют через двойной бумажный фильтр. В мерные цилиндры на 100 см³ вносят фильтрат и 0,5 см³ 1 %-го раствора FeCl₂, доливают до объема 100 см³ водой.

Колориметрируют на ФЭКе при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Показание оптической плотности по калибровочному графику соответствует процентному содержанию молочной кислоты.

Для построения графика подготавливают растворы кислоты 1, 10, 20, 30, 40, 50 мг в 10 см³. Колориметрируют подвергнутые осаждению и неосажденные растворы. Поправочный коэффициент, учитывающий потери

молочной кислоты с осадком составляет +0,11 по оптической плотности или +0,007 в пересчете на молочную кислоту.

Определение содержания витамина С. К 50 см³ молочной сыворотки приливают 4 см³ насыщенного раствора щавелевой кислоты, взбалтывают и добавляют 10 см³ насыщенного раствора хлорида натрия, перемешивают и фильтруют. 25 см³ фильтрата переносят в коническую колбу, титруют из микробюретки 0,001 н раствором 2,6 дихлорфенолиндофенола до розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 секунд. Если результаты титрования параллельных проб не совпадают, производят титрование еще двух проб.

1 см³ 0,001 н раствором 2,6 дихлорфенолиндофенола эквивалентен 0,088 мг аскорбиновой кислоты, следовательно, содержание аскорбиновой кислоты (в мг %) в сыворотке можно рассчитать по формуле:

$$C = V_{\text{титр}} \times 0,088 \times 100 / V_{\text{ал}}, \quad (7.2)$$

где $V_{\text{титр}}$ – объем раствора 2,6 дихлорфенолиндофенола, пошедший на титрование;

$V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты (25 см³).

Определение содержания витаминов группы В. Осаждение белков молочной сыворотки проводят по методике, применяемой при определении содержания аскорбиновой кислоты. Полученный фильтрат используют для определения содержания рибофлавина, тиамина, пиридоксина и никотиновой кислоты.

Определение содержания рибофлавина. Измеряют оптическую плотность фильтрата на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре относительно дистиллированной воды при длине волны 270-280 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание рибофлавина определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы рибофлавина с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг % и колориметрируют

относительно дистиллированной воды при длине волны 270 – 280 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Определение содержания тиаминa. К 10 см³ фильтрата добавляют 1-2 капли 5 %-го раствора железосинеродистого калия, 10 капель 10 %-го раствора NaOH, перемешивают и нагревают на водяной бане до появления желтого окрашивания. Фильтрат охлаждают и измеряют оптическую плотность относительно дистиллированной воды при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание тиаминa определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы тиаминa с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг %, проводят цветную реакцию по описанной выше методике и колориметрируют относительно дистиллированной воды при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Определение содержания никотиновой кислоты.

К 10 см³ фильтрата добавляют 1 см³ 1 н. раствора KOH, 0,3 см³ 10 %-го раствора уксусной кислоты, 10 см³ 5 %-го раствора сульфата меди. Определяют оптическую плотность раствора относительно дистиллированной воды при длине волны 590 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание никотиновой кислоты определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы тиаминa с концентрацией 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 мг %, проводят цветную реакцию и колориметрируют относительно дистиллированной воды при длине волны 590 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Определение содержания пиридоксина.

К 10 см³ фильтрата добавляют 2 см³ 5 %-го раствора хлорного железа. Определяют оптическую плотность раствора относительно дистиллированной воды при длине волны 490 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Содержание пиридоксина определяют по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика готовят растворы тиамин с концентрацией 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг %, проводят цветную реакцию и колориметрируют относительно дистиллированной воды при длине волны 490 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм.

Результаты исследований сводят в таблицу 7.2.

Таблица 7.2 – Результаты исследований продуктов ферментации.

№ варианта	Массовая доля СВ, %		Массовая доля лактозы, %		Титруемая кислотность, °T		Содержание молочной кислоты, мг%	Содержание кобаламинов, мкг/мл
	исх.	кон.	исх.	кон.	исх.	кон.		

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы:

1. Биотехнологические процессы получения пищевых добавок;
2. Биотехнологические процессы получения биологически активных добавок к пище;
3. Направления биотехнологической переработки молочной сыворотки;
4. Характеристика микроорганизмов, используемых при получении целевых продуктов на молочной сыворотке;
5. Теоретические основы биосинтеза кобаламинов;

6. Методы исследования продуктов ферментации молочной сыворотки культурами молочнокислых и пропионовокислых бактерий.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 8

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Цель работы: изучить технологию пребиотических препаратов для молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий, способы получения производственных препаратов, освоить методы контроля качества препаратов.

Теоретическое обоснование. Общая характеристика пребиотиков

Пребиотики – это углеводы, или сахара, которые поступают в наш организм вместе с пищей, БАДами и медицинскими препаратами. Различают 2 основные группы пребиотиков: олигосахариды и полисахариды.

Большая часть пребиотиков относится к первой группе низкомолекулярных углеводов – олигосахаридов, которые содержатся в овощах, зелени, крупах, молоке и молочных продуктах. Группа полисахаридов представлена такими полезными веществами, как пектин, инулин и растительная клетчатка. Источниками получения данной группы пребиотических веществ являются овощи, фрукты, отруби и зерновые культуры. Все пребиотики обладают следующими свойствами:

- безопасны для здоровья;
- расщепляются и метаболизируются в толстом кишечнике;
- являются необходимыми веществами для стимуляции роста здоровой микрофлоры.

К наиболее популярным на сегодняшний день полусинтетическим пребиотикам относится лактулоза, которая восстанавливает микрофлору кишечника и применяется по назначению врача для детей на искусственном вскармливании. Также она показана и взрослым при недостатке полезных бактерий в организме. В отличие от пробиотиков, пребиотики действуют на организм более медленно, но результат их употребления оказывается более стойким. В некоторых случаях медики рекомендуют комплексное употребление пребиотиков вместе с пробиотиками.

Суточная потребность в пребиотиках

В зависимости от типа используемых пребиотиков, определяется их суточная потребность. Так, например, потребность организма в растительной клетчатке составляет

около 30 грамм в день, лактулозу принимают, с целью восстановления микрофлоры кишечника, начиная от 3 см³ в сутки. Допустимое количество лактозы для взрослого человека – 40 грамм в сутки.

Потребность в пребиотиках возрастает:

- при сниженном иммунитете;
- низкой усвояемости питательных веществ;
- запорах;
- дисбактериозе;
- дерматитах;
- интоксикациях организма;
- артритах;
- инфекционных заболеваниях мочевыделительной системы.

Потребность в пребиотиках снижается:

- при отсутствии в организме ферментов, необходимых для расщепления пребиотиков;
- при индивидуальной непереносимости и аллергических реакциях на данные компоненты питания;
- при имеющихся медицинских противопоказаниях, в связи с выявленными посторонними заболеваниями.

Например, чеснок и чесночная настойка могут вызвать проблемы с сердцем у людей с предрасположенностью к инфарктам.

Усвояемость пребиотиков

Пребиотики – это вещества, которые не перерабатываются организмом в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, и только лишь с помощью фермента бетаглюкозидазы, в толстом кишечнике начинается их подготовка и усвоение лакто-, бифидобактериями и молочнокислыми стрептококками.

Полезные свойства пребиотиков, их влияние на организм

Пребиотики метаболизируются организмом с образованием молочной, уксусной, масляной и пропионовой кислоты. При этом происходит активный рост и развитие полезной микрофлоры, и подавление вредной.

Организм избавляется от роста популяций стафилококков, клостридий, энтеробактерий. В кишечнике подавляются гнилостные процессы и успешно размножаются полезные бактерии. Таким образом, происходит оздоровление желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, суставов и кожи. Происходит активная регенерация слизистой оболочки толстой кишки, что приводит к избавлению от колитов.

Взаимодействие с другими элементами

Применение пребиотиков повышает усваиваемость кальция, благодаря которому повышается крепость костей, их плотность. Нормализуются показатели уровня холестерина в крови, оптимизируется синтез желчных кислот. Лучше усваивается магний, цинк и железо.

Примерами коммерческих препаратов пребиотиков являются:

- Гудлак (лактолоза);
- Дюфалак (лактолоза);
- Импортал Н (лактитол);
- Инулин (инулин);
- Лактулоза сироп (лактолоза);
- Лактусан (лактолоза);
- Лактофильтрум и Лактофильтрум-Эко (лактолоза и лигнинный сорбент);
- Ливолюк ПБ (лактолоза);
- Нормазе (лактолоза);
- Порталак (лактолоза);
- Прелакс (лактолоза);
- Ромфалак (лактолоза);
- Стимбифид (олигофруктоза, инулин, витамины Е, С, РР, В, микроэлементы селен и цинк);
- Трансулоза гель (лактолоза);
- Хилак форте (вещества, вырабатываемые в процессе жизнедеятельности кишечными палочками, лактобактериями и непатогенными стрептококками);
- Экспортал (лактитол);
- Эубикор (клетчатка).

Аппаратура, оборудование и материалы: обезжиренное молоко, препараты пребиотиков, колбы, водяная баня, горелка, спирт, закваска молочнокислых микроорганизмов, суспензия бифидобактерий, среда для культивирования бифидобактерий, дистиллированная вода, фенолфталеин, 0,1 н раствором гидроксид натрия.

Указания по технике безопасности

Студенты могут быть допущены к работе только после ознакомления с правилами техники безопасности. Знание студентами правил техники безопасности преподаватель проверяет и фиксирует в журнале. При выполнении анализов нужно быть внимательным, соблюдать осторожность, все операции проводить аккуратно, без спешки, в рабочем халате. Категорически запрещается принимать пищу за лабораторным столом и пробовать на вкус химические вещества.

Методика и порядок проведения работы. По лекционному материалу, учебной и периодической литературе составить технологический регламент, аппаратурно-процессовые технологические схемы производства препаратов пребиотиков (одного из видов по заданию преподавателя).

Для приготовления питательной среды берут обезжиренное молоко и препараты пребиотиков. Среда готовят:

1. 5 г инулина высыпают в мерную колбу на 100 см³ и доводят до метки обезжиренным молоком;
2. 20 см³ сиропа «Гудлак» наливают в мерную колбу на 100 см³ и доводят до метки обезжиренным молоком;
3. 20 см³ сиропа «Нормазе» наливают в мерную колбу на 100 см³ и доводят до метки обезжиренным молоком;
4. 11 таблеток «Лактофильтрума» размалывают в порошок и добавляют в мерную колбу на 100 см³ и доводят до метки обезжиренным молоком;
5. 60 капель «Хилак-Форте» наливают в мерную колбу на 100 см³ и доводят до метки обезжиренным молоком;
6. обезжиренное молоко в количестве 100 см³.

Готовые среды пастеризуют в термостойкой колбе на водяной бане при температуре (85 – 87) °С с выдержкой (5 – 10) минут; охлаждают до температуры, оптимальной для развития культуры. В асептических условиях вносят жидкую закваску молочнокислых микроорганизмов в количестве (5 – 10) % от объема обезжиренного молока и по 1 см³ суспензии бифидобактерий.

Культивирование проводят в течение (8 – 24) часов (в зависимости от видового состава закваски) при температуре, оптимальной для развития культуры.

Среду для культивирования бифидобактерий готовят по инструкции, если она сухая или берут готовую жидкую среду.

В 6 пробирок со средой вносят:

1. 0,25 г инулина
2. 0,5 см³ сиропа «Гудлак»
3. 0,5 см³ сиропа «Нормазе»
4. 1 таблетка «Лактофильтрума»
5. 10 капель «Хилак-Форте»
6. Контроль

Среда пастеризуется при температуре (85 – 87) °С с выдержкой (5 – 10) минут и охлаждается до температуры посева бифидобактерий. Готовую среду засевают 1 см³ суспензии бифидобактерий. Культивирование проводят в течение (8 – 24) часов при температуре, оптимальной для развития культуры.

В полученных образцах анализируют следующие показатели.

Видовой состав и морфологию молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий а также наличие посторонней микрофлоры контролируют методом непосредственного микроскопирования окрашенных препаратов. При микроскопии препарата просматривают до 10 полей зрения, при этом не должно быть скопления клеток микроорганизмов.

Титруемая кислотность образцов. В коническую колбу емкостью 150 – 200 см³ вносят 10 см³ закваски, 20 см³ дистиллированной воды и 3 капли фенолфталеина. Титруют молоко 0,1 н раствором гидроксида натрия или калия до слабо розовой окраски, не исчезающей в течение 30 секунд. Оттитрованную пробу сравнивают с эталоном, для

приготовления которого к 20 см^3 молока добавляют 1 см^3 0,25 %-го раствора сульфата кобальта.

Титруемую кислотность в градусах Тернера рассчитывают, умножая объем щелочи, пошедший на нейтрализацию пробы, на десять.

Контроль качества препарата «Бифидумбактерин» осуществляют по анализу пробирок после процесса культивирования.

Содержание отчета, форма и правила оформления отчета о выполненной работе

Отчет по лабораторной работе оформляется в тетради и содержит:

- титульный лист;
- цель и алгоритм проведения работы;
- теоретическое обоснование;
- описание методик проведения экспериментов;
- результаты исследований;
- выводы.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Номенклатура и классификация пребиотиков ;
2. Общая технологическая схема получения препаратов пребиотиков;
3. Направления использования препаратов пребиотиков в пищевой промышленности.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
по выполнению практических работ
по дисциплине «**Технология ферментационных процессов.**
Пищевая биотехнология»
для студентов направления подготовки
19.03.01 Биотехнология
Направленность (профиль): «Промышленная биотехнология»

Ставрополь, 2026

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 1.

Основы рационального питания. Определение среднесуточной потребности разных групп людей в энергии и ее основных пищевых источниках

Цель работы: освоить методику расчета среднесуточной потребности людей в энергии и пищевых веществах.

Рациональное питание – это физиологически полноценное питание здорового человека с учетом его пола, возраста, характера труда, климатических условий проживания.

Суть рационального питания составляют четыре основных принципа:

1. Равновесие между поступающей с пищей энергией и энергией, расходуемой человеком в процессе жизнедеятельности, т. е. должен быть баланс энергии.
2. Удовлетворение потребности организма человека в определенном количестве, качественном составе и соотношении пищевых веществ.
3. Соблюдение режима питания.
4. Пища должна быть обработана соответствующим образом с целью сохранения пищевой ценности, усвояемости и предупреждения вредного воздействия на организм.

Восполнение всех энергозатрат человека осуществляется благодаря питанию. При этом углеводы и жиры пищи могут расщепляться до углекислого газа и воды с выделением большого количества энергии. Только белки образуют в организме ряд недоокисленных продуктов, выделяющихся с мочой (например, мочевина).

При кратковременном недостатке энергетической ценности пищи организм частично расходует запасные вещества, главным образом, жир (из жировой ткани) и углеводы (гликоген).

При длительном недостатке энергетической ценности пищи организм расходует не только резервные углеводы и жиры, но и белки, что, в первую очередь ведет к уменьшению массы скелетных мышц, а, следовательно, к возникновению дистрофии.

Кратковременный избыток энергетической ценности пищи отрицательно сказывается на процессах усвояемости и утилизации основных пищевых веществ, что выражается в увеличении количества каловых масс и выделении повышенного количества мочи.

При длительном избытке энергетической ценности пищи часть жиров и углеводов начинает откладываться в виде резервного жира в жировой ткани. Это приводит к увеличению массы тела и впоследствии к ожирению.

Энергия, которой обеспечивается организм при потреблении и усвоении питательных веществ, расходуется на осуществление трех главных функций, связанных с жизнедеятельностью организма. К ним относятся: основной обмен, переваривание пищи, мышечная деятельность.

1. Величина основного обмена (О.О.) – доля суточного расхода энергии на деятельность внутренних органов в состоянии покоя. В этих условиях энергия расходуется на

непрекращающийся обмен веществ и физиологические функции организма: дыхание, кровообращение, поддержание мышечного тонуса и т.д.

В среднем величина основного обмена у взрослых людей составляет 4,185 кДж/ч на 1 кг массы тела или 1 ккал/ч на 1 кг массы тела.

У растущего организма этот показатель тем выше, чем младше ребенок. В 40–50 лет величина основного обмена снижается на 4–5 %.

2. **Переваривание пищи** также требует затрат энергии. При смешанном питании величина основного обмена повышается на 10–15 % в сутки. Наибольший расход энергии требуется для переваривания белковой пищи – величина основного обмена увеличивается на 30–40 %. При приеме жиров – на 4–14 %, при приеме углеводов – на 4–7%.

3. Затраты энергии на **мышечную деятельность** зависят от вида физической активности и напрямую связаны с характером работы.

Физиологическим критерием, определяющим количество энергии по характеру деятельности, является **коэффициент физической активности (КФА)** – это отношение общих энергозатрат на все виды жизнедеятельности к величине основного обмена.

$$\text{КФА} = \frac{\text{Общие энергозатраты на все виды деятельности}}{\text{Величина основного обмена}} .$$

В зависимости от КФА все трудоспособное население делится на пять групп (таблица 1).

Таблица 1 – Группы населения согласно КФА

Группа населения	КФА	Вид профессиональной деятельности
I	1,4	Работники умственного труда: студенты, педагоги, воспитатели, ученые и т. д.
II	1,6	Работники, занятые легким физическим трудом: водители, работники сферы обслуживания, инженерно-технические работники
III	1,9	Работники среднего по тяжести труда: работники пищевой промышленности, врачи-хирурги, химики
IV	2,8	Работники тяжелого физического труда: работники строительных специальностей, механизаторы, работники с.-х., работники деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности
V	3,5	Работники занятые особо тяжелым физическим трудом: каменщики, грузчики, сталевары и т. д.

Физиологическая потребность здорового человека в энергии и пищевых веществах зависит от:

1. *Пола* (у женщин расход энергии в среднем на 15 % ниже, чем у мужчин).
2. *Возраста* (у людей 30–39 лет величина основного обмена на 4–5 % ниже, чем у 18–29-летних. В возрасте 40–59 лет энергозатраты на основной обмен снижаются на 9–10 % по сравнению с 18–29-летними людьми).

3. *Профессии* (см. таблицу 1).
4. *Уровня энергозатрат.*

5. *Климатогеографических условий проживания* (с уменьшением температуры окружающей среды на 10^0C энергозатраты увеличиваются на 10 %).
6. *Национальных особенностей питания.*
7. *Индивидуальных привычек в питании.*

Для определения величины основного обмена необходимо знать величину массы тела.

Различают два вида массы тела:

1. **Идеальный вес** – это вес, который статистически достоверно сочетается с наибольшей продолжительностью жизни. Величина идеального веса зависит от размеров тела, пола и конституции человека. Для ее определения используют специальные таблицы и номограммы.

2. **Теоретический (должный) вес.** Существует несколько способов расчета должного веса:

а) по показателю Брока:

Рост, см	Должная масса тела, кг	До 165	Рост —
100			
166–175	Рост – 105		
Более 175	Рост – 110		

Благодаря своей простоте этот способ нашел широкое распространение, однако при его использовании получают завышенное значение веса. В связи с этим для получения корректных результатов из величины теоретической массы тела, полученной по данному методу, необходимо вычитать 10 %.

Например:

Если рост 170 см, то масса тела = $170 - 105 = 65 - 6,5 = 58,5$ кг.

б) по показателю Бонгарда:

где M – должная масса тела, кг; T – рост, см;
 $T * O_{гр}$

$O_{гр}$ – окружность грудной клетки на уровне сосков, см.

в) по формуле российских медиков:

$$M = 50 + 0,75(T - 150) +$$

где M – должная масса тела, кг; T – рост, см;

A – возраст, лет.

$$\frac{A - 20}{4},$$

Если фактический вес человека отличается от должного не более чем на 10 %, то говорят о нормальном весе. При отклонении фактического веса от должного на 10–20 % говорят об избыточном или недостаточном весе, превышение же веса тела над должным более (или менее) чем на 20 % служит признаком ожирения или истощения соответственно.

Умножив величину массы тела на 1 ккал (4,184 кДж) и на 24 часа, получаем величину основного обмена:

$$O.O. = M \cdot 4,184 \cdot 24 \text{ (кДж)},$$

$$O.O. = M \cdot 1 \cdot 24 \text{ (ккал)}.$$

Энергозатраты конкретного человека можно измерить. Существует несколько методов измерения:

1. Прямая калориметрия – по количеству теплоты, выделяемой человеком, поскольку все виды энергии в организме в конечном счете превращаются в тепловую. Но этот метод имеет скорее историческое значение, так как для измерения количества теплоты, выделяемой человеком, нужны громоздкие теплоизоляционные камеры, в которых трудно создать условия для определения энергозатрат (например, при разных видах производственной деятельности).

2. Непрямая калориметрия – путем измерения конечных продуктов расщепления органических веществ в организме, являющихся источниками энергии – CO_2 и азотистых продуктов распада. Например, определение количества выделившегося из организма и потребляемого O_2 производят с помощью портативного прибора, который дает возможность в любых условиях контролировать объемы и состав вдыхаемого и выдыхаемого воздуха. По полученным данным судят о суммарном расходовании органических веществ в организме.

3. Хронометражно-табличный метод – основан на использовании данных о расходе энергии на отдельные виды деятельности, осуществляемой на протяжении суток. Хронометрируя деятельность каждого из них, определяют энергозатраты на отдельные виды деятельности. Суммируя полученные данные, определяют суточную потребность в энергии.

Для населенных городов и населенных пунктов с малоразвитым коммунальным обслуживанием потребности энергии увеличивают на 200 ккал в сутки. Повышают потребности в энергии на 10–20 % и для жителей Севера.

Таблица 2 – Рекомендуемая потребность в энергии взрослого трудоспособного населения соответственно группам интенсивности труда

		Потребность в энергии			
Группа интенсивности труда	Возрастная группа, годы	мужчины		женщины	
		кДж	ккал	кДж	ккал
I	18–29	11715	2800	10042	2400
		11297		9623	
	30–39	10669	2700	9205	2300
	40–59	12552	2550	106	2200
II		12133		69	
	18–29	11506	3000	102	2550
	30–39	13388	2900	50	2450
	40–59	12970		983	
III		12342	2750	2	2350
	18–29	15480	3200	112	2700
	30–39	15062		96	
	40–59	14434	3100	108	2600
IV		17991	2950	78	2500
	18–29	17154		104	
	30–39	16317	3700	60	3150
	40–59		3600	131	3050
V			3450	79	
	18–29			127	2900
	30–39		4300	61	-
	40–59		4100	121	-

Примечание:

1. Потребность беременных женщин (период 5–9 мес.) в среднем 2900 ккал (12134 кДж).
2. Потребность кормящих матерей в среднем 3200 ккал (13389 кДж).

Среднесуточный расход энергии (Э) рассчитывается по формуле

$$\text{Э} = \text{О.О.} \cdot \text{КФА.}$$

Основными пищевыми веществами, за счет превращения которых в организме человека выделяется определенное количество энергии, являются белки, жиры и углеводы. Вычисление количества вещества, являющегося источником энергии, производится по формуле

$$X = \frac{\text{Э} * \text{Д}}{100 * K},$$

где X – количество вещества, являющегося источником энергии; Э – суточные энергозатраты, кДж или ккал;

Д – доля калорийности для данного пищевого вещества, % (Д, % от суточной энергоценности рациона, принятого за 100 %):

Белки – 12–13 %, Жиры – 30–35 %,
Углеводы – 53–58 %.

К – коэффициент калорийности пищевого вещества, энергетическая ценность пищевого вещества, ккал/г.

Показывает, что
 в процессе окисления 1 г белка выделяется – 4,0 ккал (16,7 кДж) 1 г жиров – 9,0 ккал (37,7 кДж) 1 г
 моно- и дисахаридов – 3,8 ккал (15,9 кДж) 1 г крахмала – 4,1 ккал (17,2
 кДж)
 1 г пищевых волокон – 0 ккал (0 кДж)
 1 г органических кислот – 3,0 ккал (12,5 кДж)

Поступление жиров, белков и углеводов должно быть не только
 достаточным, но должно иметь вполне определенное соотношение:

В среднем:
 белки : жиры : углеводы = 1 : 1 : 4.
 Для людей умственного
 труда: белки : жиры : углеводы = 1 : 1,1 : 4,1.
 Для людей тяжелого физи- ческого труда:

белки : жиры : углеводы = 1 : 1,3 : 5,0.

Оптимальное соотношение животных и растительных белков от 60 : 40 до
 50 : 50 В среднем 55 : 45.

Белки в рационе детей должны содержать не менее 40 % неза- менимых
 аминокислот, в рационе взрослых не менее 36 % незамени- мых аминокислот.

Задание

1. Вычислить по формулам массу своего тела, сравнить ее[с реальным весом.
2. Рассчитать среднесуточные энергозатраты.
3. Рассчитать соотношение белков, жиров и углеводов в сво- ем рационе.

Контрольные вопросы к теме № 1

1. Рациональное питание, основные принципы.
2. Факторы, определяющие потребность организма человека в пище и энергии.
3. На какие процессы расходуется энергия в течение суток?
4. Что характеризует величина основного обмена?
5. С чем связаны различия суточных энергозатрат людей раз- ных профессий?
6. Что характеризует КФА?
7. Методы измерения энергозатрат человека.
8. Каково значение определения расхода энергии организмом разных групп людей в современных условиях?
9. Какое значение имеет соотношение источников энергии и пищи?
10. Источниками каких основных нутриентов являются продук- ты животного происхождения?
11. Источниками каких основных нутриентов являются продук- ты растительного

происхождения?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 2.

Определение энергетической ценности пищевых продуктов

Цель работы: овладеть методикой расчета энергетической ценности продуктов на основании их химического состава.

Энергетическая ценность основных продуктов и суточных рационов – доля энергии, которая может высвободиться из конкретных пищевых веществ (белков, жиров и углеводов) или из всей их суммы, поступившей в организм в составе суточного рациона с продуктами питания в процессе их биологического окисления в организме, и использоваться для обеспечения его физиологических функций.

Энергетическая ценность продуктов в составе суточного пищевого рациона должна полностью покрывать расход энергии за сутки, иначе энергетический баланс в организме нарушается и возникают болезненные отклонения.

Энергетическими источниками в питании человека в основном служат пищевые продукты, богатые углеводами и жирами. Основное место среди них занимают зерновые продукты, содержащие до 70 % углеводов, обладающих высокой усвояемостью (94–96 %). За счет зерновых продуктов обычно покрывается более половины энергетической ценности суточного рациона.

Высокой энергетической ценностью обладают все кондитерские изделия, а также продукты, богатые жиром (жирные сорта мяса, рыбы, птицы, сметана и т. д.), пищевые жиры (сливочные, растительные масла, свиное сало и др.).

По энергетической ценности пищевые продукты делятся на четыре группы:

1. **Особо высококалорийные** – 400–900 ккал (шоколад, жир, масло).
2. **Высококалорийные** – 250–400 ккал (мука, крупа, сахар).
3. **Среднекалорийные** – 100–250 ккал (хлеб, мясо, колбаса, ликер, водка).
4. **Низкокалорийные** – до 100 ккал (молоко, рыба, овощи, пиво, белое вино).

Для расчета энергетической ценности пищевого продукта необходимо знать его химический состав и энергетическую ценность пищевых веществ (см. практическую работу № 1). Источником энергии в организме являются жиры, усвояемые углеводы, белки. Не являются энергетической ценности витамины и минеральные вещества.

Расчет энергетической ценности 100 г пищевого продукта производится по формуле

$$\text{ЭЦ} = \text{Б} \cdot 4,0 + \text{Ж} \cdot 9,0 + \text{К} \cdot 4,1 + \text{М} \cdot 3,8 + \text{О.К.} \cdot 3,0,$$

где ЭЦ – энергетическая ценность 100 г пищевого продукта, ккал; Б – содержание белков, г/100 г продукта;

Ж – содержание жиров, г/100 г продукта;

К – содержание крахмала и декстринов, г/100 г продукта; О.К. – содержание органических кислот, г/100 г продукта.

При необходимости получения результатов в килоджоулях общее количество килокалорий умножается на коэффициент 4,184.

Энергетическая ценность округляется до целых единиц.

Пример: рассчитать энергетическую ценность молока пастеризованного 3,5 % жирности.

1. Находим по таблицам химического состава пищевых продуктов содержание основных пищевых веществ в молоке 3,5 % жирности:

белок – 2,79 г, жиры – 3,50 г,

моносахариды (лактоза) – 4,69 г, органические кислоты – 0,14 г.

2. Рассчитаем энергетическую ценность 100 г молока 3,5 % жирности:

$$\text{ЭЦ} = 2,79 \cdot 4,0 + 3,5 \cdot 9,0 + 4,69 \cdot 3,5 + 0,14 \cdot 3,0 = 61 \text{ ккал.}$$

Задание: рассчитать и сравнить энергетическую ценность двух пищевых продуктов: одного растительного, другого животного (согласно индивидуальному заданию).

Контрольные вопросы к теме № 2

1. Что Вы понимаете под химическим составом пищевых продуктов? Какие компоненты он включает?
2. Энергетическая ценность продуктов питания.
 3. Какие вещества, входящие в состав пищевых продуктов, являются источником энергии в организме?
 4. Какие вещества, входящие в состав пищевых продуктов, не являются источником энергии в организме?
 5. От чего зависит энергетическая ценность пищевых продуктов и как она рассчитывается?
6. Энергетическая ценность белков, жиров и углеводов.
7. Классификация продуктов по энергетической ценности.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 3.

Определение биологической ценности белков пищевых продуктов путем расчета аминокислотного сора относительно стандартной шкалы ФАО/ВОЗ

Цель работы: освоить расчетный метод оценки качества белка, исходя из его аминокислотного состава.

Биологическая ценность — показатель качества пищевого белка, отражающий степень соответствия его аминокислотного состава потребности

организма в аминокислотах для синтеза белка.

Биологическая ценность белков пищевых продуктов определяется различными методами. Один из доступных способов – расчет аминокислотного сора.

Аминокислотный скор белка (АС) – это отношение количества незаменимых аминокислот (НАК) в исследуемом белке к количеству этой же аминокислоты в идеальном белке.

$$\text{АС} = \frac{\text{мг (г) НАК в 100 г.белка продукта}}{\text{(г) НАК в 100 г эталонного белка}} \cdot 100\%$$

Величина аминокислотного сора может выражаться в процентах от 0–100 % или в долях 0–1.

Эталонный (идеальный) белок – это гипотетический продукт, состав которого идеально удовлетворяет физиологическую потребность организма в незаменимых аминокислотах. Наиболее близки к идеальному по химическому составу белок куриного яйца и женское грудное молоко.

Аминокислотный состав идеального белка предложен Комитетом ФАО/ВОЗ в 1985 г. и показывает содержание каждой из незаменимых аминокислот в 100 г белка (таблица 3).

Для определения аминокислотного сора какого-либо продукта необходимо:

- вычислить содержание аминокислот в 100 г белка этого продукта;
- последовательно сравнить содержание той или иной аминокислоты с вышеуказанной стандартной шкалой ФАО/ВОЗ.

Таблица 3 – Аминокислотная шкала и суточная потребность в незаменимых аминокислотах в различном возрасте

Аминокислота	Эталонный белок, г/100 г белка	Дети 2–5 лет	Дети 10–12 лет	Подростки	Взрослые
		мг/кг массы тела в сутки			
Изолейцин	4	31	28	13	10
Лейцин	7	73	44	19	14
Лизин	5,5	64	44	16	14
Метионин + цистеин	3,5	27	22	17	13
Фенилаланин + тирозин	6	69	22	19	14

Треонин	4	37	28	9	7
Триптофан	1	12,5	9	5	3,5
Валин	5	38	25	13	10

В идеальном (стандартном) белке аминокислотный скор каждой незаменимой кислоты принимается за 100 %. **Лимитирующей** биологическую ценность **аминокислотой** считается та, скор которой имеет наименьшее значение. Биологическая ценность белков пищевых продуктов определяется по первой лимитирующей аминокислоте.

В продукте может быть несколько лимитирующих аминокислот. Тогда говорят о первой, второй, третьей и других лимитирующих аминокислотах. В качестве лимитирующих аминокислот часто выступают лизин, треонин, триптофан и серосодержащие аминокислоты (метионин, цистеин).

Белки злаковых культур (пшеница, рожь, овес, кукуруза) лимитированы по лизину, треонину, некоторых бобовых культур – по метионину и цистеину. Наиболее близки к «идеальному» белку белки куриного яйца и молока. Нет дефицита незаменимых аминокислот в мясе и мясопродуктах, рыбе и морепродуктах. Аминокислотный скор их приближается к 100 %.

Биологическая ценность белков в процессе тепловой, механической, ультразвуковой или других видов обработки, а также транспортирования и хранения может понижаться, особенно за счет взаимодействия незаменимых аминокислот, часто лизина, с другими компонентами. При этом образуются недоступные для переваривания в организме человека соединения. В то же время биологическая ценность и аминокислотный скор белков могут быть повышены путем составления смесей продуктов или добавления недостающих и лабильных незаменимых аминокислот. Так, например, сочетание белков пшеницы и соевых бобов при определенных соотношениях обеспечивает полноценный набор аминокислот.

Пример: рассчитать скор по незаменимым аминокислотам для хлеба пшеничного из муки в/с.

Расчет

1. Находим в таблицах химического состава содержание незаменимых аминокислот в хлебе.

Содержание лизина в хлебе из пшеничной муки в/с составляет 189 мг на 100 г продукта.

2. Для расчета аминокислотного сора необходимо рассчитать эту величину в г на 100 г белка. В хлебе содержится 7,59 г белка. Следовательно:

7,59 г белка содержат 0,189 г лизина 100 г белка содержат X г,

Составляем пропорцию: $X = \frac{100 \cdot 0,189}{7,59} = 2,49$.

3. Сравниваем полученное значение с содержанием лизина в эталонном белке по шкале ФАО/ВОЗ:

$$AC = \frac{2,49}{7,59} = 0,45.$$

5,5

Таким образом, лизин является лимитирующей аминокислотой для хлеба пшеничной муки в/с, так как скор по данной аминокислоте меньше 1.

Аналогично производится расчет по всем незаменимым аминокислотам. Определяют первую и вторую лимитирующие аминокислоты.

Лимитирующей незаменимой аминокислотой считается та аминокислота, АС которой наименьший.

Задание: рассчитать и сравнить биологическую ценность белков двух пищевых продуктов (одного растительного, другого животного). Результаты свести в таблицу 4.

Таблица 4 – Расчет аминокислотного сора пищевых продуктов

Аминокислота	Содержание незаменимых аминокислот					Аминокислотный скор	
	Эталон- ный бе- лок, г на 100 г белка	Продукт живот- ного происхожде- ния		Продукт расти- тельного происхо- ждения		Продукт живот- ного про- исхо- ждения	Продукт расти- тельного проеис- хождения
		на 100 г продукта	на 100 г белка	на 100 г продукта	на 100 г белка		
Изолейцин							
Лейцин							
Лизин							
Метионин + цистин							
Фенилаланин + тирозин							
Треонин							
Триптофан							
Валин							
Лимитирующая аминокислота, скор, %							

Контрольные вопросы к теме № 3

1. Какие органические вещества относят к классу белков?
2. Классификация белковых веществ.
 3. Что такое «идеальный», или «эталонный», белок по шкале ФАО/ВОЗ?
 4. Определение биологической ценности белков пищевых продуктов.
 5. Как рассчитать аминокислотный скор по какой-либо незаменимой аминокислоте?
6. Что означает понятие «лимитирующая» аминокислота?
7. Суточная норма потребления белка для взрослого человека.
 8. Каково должно быть соотношение животных и растительных белков в рационе?
9. Что вы понимаете под «полноценным белковым питанием»?
10. Дайте сравнительную характеристику качества растительного и животного белка.
11. Факторы, влияющие на биологическую ценность белка.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 4.

Определение биологической эффективности липидов пищевых продуктов

Цель работы: освоить расчетный метод оценки качества липидных компонентов пищевых продуктов.

Биологическая эффективность – показатель качества жировых компонентов пищевых продуктов, отражающий содержание в них полиненасыщенных жирных кислот.

Биологическая эффективность липидов, определяемая структурными характеристиками жирных кислот, а также их соотношением между собой и другими пищевыми компонентами, характеризуется как комплексный показатель, учитывающий их воздействие на организм человека.

Полиненасыщенные жирные кислоты являются эссенциальными и не могут синтезироваться в организме. Особое значение имеют полиненасыщенные жирные кислоты (линолевая, линоленовая и арахидоновая), которые входят в состав клеточных мембран и других структурных элементов тканей и обеспечивают нормальный рост, обмен веществ и т. п.

Принято, что на 100 г липидов, необходимых в ежедневном рационе человеку:

на долю полиненасыщенных жирных кислот
(ПНЖК) F_{01} приходится 6 г

на долю насыщенных жирных кислот (НЖК) F_{02} 20 г на

долю олеиновой кислоты F_{03}

35 г

С целью использования этих данных для расчета биологической эффективности липидов различных продуктов питания введено понятие «идеальный» липид, представляющий собой гипотетический продукт, содержащий ПНЖК, НЖК и олеиновую кислоту в необходимой пропорции, коэффициент биологической эффективности которого равен 1.

Подобно аминокислотному скору для белков, скор для липидов определяем как отношение количества конкретной фракции в исследуемом растворе образца к количеству этой же фракции в «идеальном» липиде по формуле

$$C_{ij} = \frac{F_{ij}}{F_{0j}}, \quad j = 1 - 3,$$

где C_{ij} – скор для липидов по каждой конкретной фракции; F_{ij} – содержание фракций в исследуемом липиде, г;

F_{0j} – содержание этих же фракций в идеальном липиде, г.

Коэффициент использования липидов (коэффициент биологической эффективности) может быть рассчитан по формуле

$$f_i = \frac{3C_{ik}}{C_{i1} + C_{i2} + C_{i3}}$$

где f_i – коэффициент биологической эффективности липидов;

C_{ik} – скор по минимальному уровню любой из фракций (с учетом усвояемости);

C_{ij} – скор для липидов по каждой фракции.

Примем аксиомное положение об усвоении липидов по минимальному уровню любой из фракций (т. е. если $C_{i1} < C_{i2} < C_{i3}$), то все жирно-кислотные фракции усваиваются на уровне C_{i1} , а избыток каждой фракции, равный $(C_{i2} - C_{i1})$ и $(C_{i3} - C_{i1})$, депонируется в организме или поступает на его энергетические нужды. Следовательно, в расчетах будет использована величина C_{ik} – минимальная.

Для предложенного условного эталона $C_{ik} = C_{i1} = C_{i2} = C_{i3}$, а коэффициент биологической эффективности липидов $f = 1$.

Пример: рассчитать коэффициент биологической эффективности липидов жировой ткани свинины.

Расчет

1. В таблицах химического состава пищевых продуктов находим содержание фракции $F_{02} = 33,34$; $F_{01} = 10,41$; $F_{03} = 38,7$ в г на 100 г липидов жировой ткани. В таблицах содержание липидов приведено в г на 100 г продукта. Поэтому необходимо сделать пересчет в г на 100 г липидов.

F_{i1} 10,41 г ПНЖК содержится в 91,0 г липидов

X г ПНЖК содержится в 100 г липидов X = 11,44 г.

F_{12} 33,34 г НЖК содержится в 91,0 г липидов
X г НЖК содержится в 100 г липидов X = 33,67 г.

F_{i3} 38,7 г олеиновой кислоты 91,0 г липидов
 X г олеиновой кислоты 100 г липидов $X = 42,53$ г.

2. Рассчитаем скоры для фракций липидов:

$$C_{i1} = \frac{\pm 11,44}{F_{01}} = 1,907,$$

$$C_{i2} = \frac{\frac{F_{01}}{F_{i2}} \cdot \frac{6,0}{36,67}}{F_{02}} = \frac{20}{20} = 1,834,$$

$$\frac{F_{i3}}{F_{03}} = \frac{42,53}{35,0} \quad C_{i3} = 1,216.$$

3. В соответствии с положением об усвоении липидов по минимальному уровню любой из фракций рассчитываем коэффициент биологической эффективности липидов жировой ткани свинины:

$$f_i = \frac{3C_{ik}}{\sum_{j=1}^3 C_{ij}}, \quad k = 1 - 3.$$

Минимальный скор, исходя из расчетов, составил $C_{i3} = 1,216$ для фракции F_{i3} , тогда

$$//F_3 = \frac{3C_{i3}}{C_{i1} + C_{i2} + C_{i3}} = \frac{3}{4,951} = 0,735.$$

Результаты расчетов сводим в таблицу 5.

Таблица 5 – Расчет коэффициента эффективности липидов (на примере жировой ткани свинины)

Липиды и их фракции	Жировая ткань свинины, г на 100 г продукта	Жировая ткань свинины, г на 100 г липидов		Идеальный липид, г на 100 г липидов		Жировая ткань липидов (усвояемая часть) C_{ik}
		F_{ik}	C_{ik}	F_{0k}	C_{0k}	
Сумма липидов, %	91,00	100,0	-	100,0	-	-
Содержание НЖК	33,84	36,67	1,83	20,0	1,0	1,22
Содержание олеиновой кислоты	38,7	42,53	1,22	35,0	1,0	1,22
Содержание ПНЖК	10,42	11,44	1,91	6,0	1,0	1,22

Сумма скоров			4,96			3,65
--------------	--	--	------	--	--	------

Задание: рассчитать коэффициент биологической эффективности липидов продуктов согласно индивидуальному заданию. Расчеты свести в таблицу.

Контрольные вопросы к теме № 4

1. Какие вещества относятся к липидам?
2. Физиологическая роль липидов в организме человека.
3. Функции полиненасыщенных жирных кислот.
 4. Что такое «идеальный», или «эталонный» липид по шкале ФЛО/ВОЗ?
 5. Приведите определение «биологической эффективности» пищевых продуктов. Как влияет на этот показатель жирнокислотный состав жира, входящего в продукт?
6. Суточная норма потребления липидов человеком.
 7. Каково оптимальное соотношение животных и растительных жиров в питании?

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 5.

Определение пищевой ценности пищевых продуктов

Цель работы: овладеть методикой расчета пищевой ценности продуктов на основании их химического состава.

Большинство пищевых продуктов обладает самыми разнообразными свойствами. В одних продуктах преобладают вещества с пластическими свойствами, в других – вещества, снабжающие организм энергией, в третьих – биологически активные вещества (витамины, микроэлементы и др.). Животные продукты поставляют полноценные белки, представляющие сбалансированный комплекс незаменимых аминокислот. Растительные масла служат источником высокоактивных полиненасыщенных жирных кислот. Овощи, фрукты и ягоды обеспечивают поступление витаминов, минеральных веществ и т. д.

Показателем, интегрально отражающим всю полноту полезных свойств пищевых продуктов, является пищевая ценность.

Пищевая ценность – показатель качества, отражающий совокупность свойств пищевого продукта, при наличии которых удовлетворяются физиологические потребности человека в необходимых веществах и энергии.

Пищевая ценность продукта – это общее понятие, включающее всю полноту полезных качеств продукта, включая его химический состав, биологическую и энергетическую ценность и органолептические свойства.

Критерии пищевой ценности продукта

1. **Энергетическая ценность продукта** показывает, сколько ккал выделяется при окислении 100 г продукта.
2. **Биологическая ценность продукта** оценивает наличие в продукте полноценных белков, незаменимых аминокислот, сбалансированность аминокислотного состава.
3. **Биологическая эффективность** – отражает сбалансированность жирнокислотного состава продукта, наличие полиненасыщенных жирных кислот.
4. **Безопасность пищевых продуктов** – состояние обоснованной уверенности в

том, что при обычных условиях использования пищевые продукты не являются вредными по содержанию потенциально опасных веществ или микроорганизмов и не представляют

опасности для здоровья нынешнего и будущих поколений.

Для определения пищевой ценности продуктов питания А.А. Покровский предложил метод интегрального сора. Этот показатель выражается в массовых и энергетических единицах и обозначается термином «**формула пищевой ценности продукта**». Он рассчитывается определением процента соответствия каждого из наиболее важных компонентов пищевых продуктов по формуле сбалансированного питания.

Формулой сбалансированного питания называется суточная потребность человека в разных элементах пищи. Основные данные научно обоснованной формулы приведены в таблице 6.

Для определения пищевой ценности конкретного продукта следует:

1. Определить химический состав продукта по таблицам химического состава.
2. Рассчитать энергетическую ценность продукта.
3. Определить биологическую ценность белков пищевого продукта, путем расчета аминокислотного сора и выявить первую лимитирующую аминокислоту.
4. Определить биологическую эффективность липидов продукта путем расчета коэффициента биологической эффективности.
5. Рассчитать степень удовлетворения суточной потребности в основных пищевых веществах и энергии за счет потребления 100 г продукта и выразить в процентах.

Пищевой продукт считается источником того или иного нутриента, если его средняя суточная доза потребления покрывает потребность в данном нутриенте на 20–50 % от рекомендуемой среднесуточной дозы.

Пример:

Пищевая ценность молока 3,2 %-й жирности

Энергетическая ценность молока 3,2 %-й жирности – 58 ккал на 100 г продукта. Она складывается из энергетической ценности белков, жиров, углеводов, органических кислот. Кроме того, в химический состав молока входят витамины и минеральные вещества.

Молоко является белковым продуктом, обладающим высокой биологической ценностью. Содержание белка в продукте 2,9 %.

В состав белка молока входят все незаменимые аминокислоты. Лимитирующих аминокислот нет, за исключением небольшого количества серосодержащих аминокислот за счет цистина (АК, скор равен 94 %).

Белок молока легко переваривается и усваивается на 97 %. Содержание жира в данном продукте 3,2 %.

Липидный комплекс молока представлен ТАГ, замещенными насыщенными жирными кислотами (НЖК) (пальмитиновой, стеариновой и миристиновой), небольшим количеством МНЖК (в основном олеиновой) и следовым количеством ПНЖК. Кроме того, в молочном жире содержатся фосфолипиды и очень небольшое количество стеролов (холестерин 0,01 %).

Коэффициент биологической эффективности молока – 0,41.

Молочный жир относится к наиболее полноценным усваивается на 95 %.
Из углеводов в молоке в небольшом количестве содержится ди-сахарид –

лактоза (4,8 %). Лактоза в молоке содержится в β - (62 %) и α - (38 %) формах.

Основная органическая кислота молока – лимонная. Молоко обладает большим спектром витаминов. Оно является источником витаминов группы В (особенно В₂ и В₁₂) и жирорастворимых А и Д. Витамин С в молоке практически отсутствует.

Таблица 6 – Суточная потребность человека в пищевых веществах (формула сбалансированного питания)

Энергетическая ценность рациона – 2850 ккал.

Пищевые вещества	Суточная потребность
1	2
Вода, мл	1750–2200
Питьевая, в т.ч.:	800–1000
в чае, кофе и др.	250–500
в продуктах питания	700
Белки, г	80–100
Из них: животные	50
Незаменимые аминокислоты, г:	
триптофан	1
лейцин	4–6
изолейцин	3–4
валин	3–4
треонин	2–3
лизин	3–6
метионин	2–4
фенилаланин	2–4
Заменимые аминокислоты, г:	
гистидин	1,5–2,0
аргинин	5–6
серин	3
цистин	2–3

тирозин	3–4
---------	-----

Минеральные вещества находятс²я⁰ в виде солей фосфорной и лимонной кислот. Следует отметить высокое содержание калия (146 мг %), кальция (до 120 мг %), фосфора (до 90 мг %), из микроэлементов – цинка (до 0,5 мг %), железа (67 мкг %).

Минеральные вещества молока находятся в биодоступной форме. Таким образом, молоко – это один из немногих пищевых про-

дуктов с высокой пищевой ценностью. Является источником пластического материала (белков, жиров) при относительно небольшой калорийности.

Задание: определить пищевую ценность продуктов растительного и животного происхождения в соответствии с заданием. Результаты расчетов свести в таблицу 7. Сделать выводы.

Таблица 7 – Формула пищевой ценности продуктов

Показатель	Содержание в 100 г продукта		Суточная потребность	Степень удовлетворения суточной потребности, %	
	Продукт животного происхождения	Продукт растительного происхождения		Продукт животного происхождения	Продукт растительного происхождения
Вода, г					
Белки, г					
Жиры, г					
Холестерин					
Фосфолипиды					
Углеводы усвояемые В т. ч.:					
крахмал и декстрины, г					
моно- и дисахариды, г					
Углеводы неусвояемые (пищевые волокна, пектин), г					
Минеральные вещества, г					
кальций					
фосфор					
натрий					
калий					
хлориды					
магний					
железо					
цинк					
марганец					
хром					
медь					
кобальт					
молибден					

селен					
фториды		21			
иодиды					
Витамины, мг					
Аскорбиновая кислота (С)					
Тиамин (В ₁)					
Рибофлавин (В ₂)					
Ниацин (РР)					
Пантотеновая кислота(В ₃)					
Пиридоксин (В ₆)					

Контрольные вопросы к теме № 5

1. Понятие пищевой ценности продуктов питания.
2. Отдельные критерии, характеризующие пищевую ценность.
3. Отличия в пищевой ценности продуктов животного и растительного происхождения.
4. Особенности пищевой ценности:
 - а) хлеба и хлебобулочных изделий; б) макаронных изделий;
 - в) сахара, кондитерских изделий и шоколада; г) масел и жиров;
 - д) молочных продуктов; е) мясных продуктов;
 - ж) рыбы и рыбных продуктов; з) птицы и яиц;
 - и) овощей и фруктов.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА № 6.

Применение ферментных препаратов в перерабатывающей промышленности

Цель занятия: получить представление о способах получения ферментных препаратов и их применении в перерабатывающей промышленности

Приборы и материалы: методические указания, образцы ферментов, таблицы

1. Производство ферментов методом культивирования микроорганизмов
- Технологические процессы производства ферментных препаратов можно разделить на 2 группы. В первом случае ферментация ведется глубинным методом в жидкой питательной среде (рисунок 2), во втором - используется поверхностная

культура, растущая на специально подготовленной рыхлой и увлажненной питательной среде.

Основные этапы глубинного метода культивирования продуцентов ферментов:

1. получение посевного материала по схеме: исходная культура продуцента - маточная культур, выращенная в колбах — посевная культура, выращенная в инокуляторе, — посевная культура, выращенная в посевном аппарате. Объем посевного аппарата обычно составляет до 10 % от объема промышленного ферментатора;
2. приготовление питательных сред;
3. стерилизация питательных сред с помощью мембран или высоких температур;
4. очистка воздуха до и после аэрирования;
5. производственное культивирование. Здесь необходимо проводить учет увеличения биомассы, накопления ферментов, изменения состава питательной среды, ее кислотности, аэрации и т.д. Глубинный метод более совершенен, чем поверхностный, так как легко поддается механизации и автоматизации, легче и проще осуществляется переход к большим масштабам производства. Этот процесс должен проходить в строго асептических

условиях. Однако концентрация ферментов в 2с2реде при глубинном культивировании обычно значительно ниже, чем в водных экстрактах поверхностной культуры.

//

Рисунок 2 - Технологическая схема процесса глубинного культивирования микроорганизмов

При поверхностном методе культура растет на поверхности твердой увлажненной питательной среды. Недостатками метода являются: необходимость иметь большую поверхность контакта рыхлой среды с воздухом, что часто отражает неинтенсивный характер процесса; мойка, стерилизация, перемещение кювет с небольшой высотой слоя, их заполнение и освобождение, что требует больших затрат ручного труда: выращивание культуры проходит в неаскетических условиях.

Преимущества поверхностного метода: более высокая конечная концентрация фермента на единицу массы среды, такие культуры легко выращивать и приводить в товарную форму; снижена потребность в электроэнергии и т.д.

Принципиально технология получения очищенных ферментов включает следующие этапы: экстракцию из поверхностной культуры; отделение твердой фазы; концентрирование ферментных растворов; ультрафильтрацию; осаждение органическими растворителями; высаливание; сорбционную очистку; сушку; стандартизацию ферментных препаратов.

Состав и количество синтезируемых клетками ферментов зависит от наследственных свойств данного микроорганизма. Под действием мутагенных факторов (ионизирующее и неионизирующее излучения, изотопы, антибиотики, химические соединения, обладающие высокой преобразующей способностью по отношению к наследственным элементам клетки), получают промышленно ценные штаммы мутантов.

Производительность технологических процессов по каждому ферменту зависит и от питательной среды, имея в виду наличие в ней не только источников

углерода, азота, фосфора и других элементов, но и веществ, играющих роль индукторов или репрессоров биосинтеза данного конкретного фермента или их групп. Например, фермент липаза почти не синтезируется грибом на среде без индуктора, внесение кашалотового жира усиливает биосинтез фермента в сотни раз. Этот же вид гриба при добавлении в среду крахмала и полном исключении минерального фосфора интенсивно синтезирует другой фермент - фосфатазу.

Для интенсификации процесса роста и синтеза ферментов часто добавляют всевозможные вытяжки или экстракты, содержащие дополнительные факторы роста. К ним относятся, прежде всего, аминокислоты. Они легко проникают внутрь клетки и специфически влияют на образование фермента. Механизм их действия заключается в компенсации недостающих свободных внутриклеточных аминокислот, необходимых для синтеза фермента. Факторами роста являются также пуриновые основания и их производные, РНК и продукты ее гидролиза. Все рассмотренные факторы должны учитываться при составлении питательных сред для культивирования продуцентов ферментов. В промышленных средах в качестве источников органического углерода и азота чаще всего используют различные сорта крахмала (картофельный, кукурузный, рисовый), кукурузный экстракт, соевую муку, и т. д. Микроорганизмы для своего роста могут утилизировать и минеральные соединения азота, которые превращаются в аммиак, необходимый для синтеза сложных азотсодержащих органических соединений.

2. Использование очищенных ферментов и технических препаратов

Технический препарат фермента представляет собой смесь разных белков, в которой основным является тот, название которого имеет препарат. Количество этого ферментного белка должно быть не менее 10-15% от общего количества белков. Довольно часто технические ферментные препараты содержат нейтральный наполнитель, например ксилозу, которая не влияет на каталитические свойства основного фермента.

Хотя промышленные ферменты иногда реализуются в виде технических препаратов, определенная их часть подвергается экстракции и очистке. При этом решается несколько

задач: удаляют токсичные и нежелательные метаболиты и микроорганизмы, стандартизуют активность. Таким образом, обеспечивается более высокое качество препарата и его стабильность, также можно придать препарату желаемые аромат и цвет. Главная трудность, возникает из-за неоднородного состава культуральных жидкостей, которые часто содержат большие количества коллоидов и имеют высокую вязкость.

Выделение и очистка ферментов - трудоемкий и дорогой процесс. Поэтому в кожевенной, спиртовой промышленности, для введения в корма животных применяют ферментные препараты в неочищенном виде.

Технические препараты используются в разных областях промышленности, в основном связанных с гидролизом крахмала, пектинов, целлюлозы, гемицеллюлозы (ксилан) и дисахаридов (сахароза, лактоза). Большое внимание уделяется протеазам, которые осуществляют гидролиз пептидных связей в белках. Ввиду широкого распространения и быстрого возобновления белки как субстраты, приобретают все большее значение.

В препаратах высокой белковой чистоты основной фермент составляет не менее 60- 70% от общего количества белка. Получение препарата такой чистоты связано с серьезными трудностями, и соответственно стоимость такого препарата оценивается совершенно в других масштабах. Разница между двумя подходами заключается в том, что, если в промышленности ферменты употребляются десятками, в ряде случаев - сотнями килограммов, количество используемых очищенных ферментов исчисляется в миллиграммах и граммах.

Ферменты или их иммобилизованные формы требуемой белковой чистоты применяют в клинической медицине и научных исследованиях.

Технические исходные неочищенные культуры обозначают знаком "X". К очищенным относятся препараты, активность которых после очистки в 10, 15, 20 раз выше исходных (обозначают 10X, 15X, 20X). Название ферментного препарата складывается из основного фермента и видового названия микроорганизма — продуцента. Например, Глюкаваморин П10Х препарат

комплексного действия. Стандартизируется по амилалитической (АС) и декстринолитической активности. Содержит также ферменты мальтазу, гемицеллюлазу и др.

3. Использование промышленных ферментных препаратов

Использование микробных ферментов в некоторых отраслях промышленности началось более 70 лет назад. Большую часть, составляют гидролазы (реакции гидролиза), так как именно они являются основными в промышленной биотехнологии.

Ферменты немикробного происхождения находят применение сравнительно реже в силу различных причин, в частности: низкой лабильности, дороговизны, сезонности получения и других факторов. Но в ряде случаев, в отсутствии микробного аналога, для коммерческих целей выделяют ферменты растительного и животного происхождения. Примерами таких ферментов могут служить ренин животного происхождения, фицин выделенный из инжира, папаин и др. Для получения в производственном масштабе ферментов растительного и животного происхождения в последнее время с успехом используют культивирование тканей и отдельных органов. Предположительно этот метод должен значительно удешевить и соответственно увеличить удельную долю коммерческих ферментов растительного происхождения.

Группы ферментов:

К амилалитическим ферментам относятся L-амилаза, В-амилаза, глюкоамилаза. Их действие проявляется при гидролизе крахмала и гликогена. Крахмал при гидролизе сначала расщепляется на более простые полисахариды - декстрины, а затем - до глюкозы. Эти ферменты применяются в спиртовой промышленности, хлебопечении.

Грибные амилазы используются в пищевой промышленности при выпечке хлеба. Их действие основывается на гидролизе крахмала в муке с образованием сбраживаемых сахаров. В шелкоткацком производстве грибные амилазы применяют для удаления крахмала из тканей (взамен ранее употребляемых химикатов)

Протеолитические ферменты относятся к гидролазам. Их действие заключается в

расщеплении пептидных связей в белках и пептидах.

Применение протеаз широкое: мясная промышленность для умягчения мяса, кожевенная промышленность - при обезволивании (удаление волосяного покрова) и мягчении шкур; кинопроизводство - для растворения желатинового слоя на пленках при их регенерации; парфюмерия - при создании добавок в зубную пасту, кремы, лосьоны, промышленность синтетических моющих средств - при применении моющих добавок для удаления загрязнений белковой природы; медицина - при лечении воспалительных процессов, ожогов, тромбозов.

Грибные протеазы широко используются для деградации клейковины до постоянного уровня. Это позволяет стандартизовать операцию процесса хлебопечения и сократить периоды замешивания и выдерживания.

Используют их также при производстве сухарей с низким содержанием белка.

Все микробные протеазы можно разделить на три класса: сериновые протеазы, металлопротеазы и кислые протеазы. Сериновые и металлопротеазы образуются бактериальными культурами, кислые протеазы образуют микроскопические грибы.

Металлопротеазы используются в пивоваренной и спиртовой промышленности. При производстве пива использование протеаз связано с предотвращением образования мути, являющейся результатом выпадения в осадок белковых компонентов пива. Кроме металлопротеаз для этой цели используются растительные ферменты: бромелин и папаин.

При производстве пищевого спирта ячменный солод заменяют несолодовыми зерновыми. С целью получения сбраживаемых сахаров в среду, предназначенную для сбраживания, добавляют L-амилазу и протеазу.

Кислые протеазы. Ферменты этого типа встречаются у бактерий, но преобладают у высших грибов. Чаще всего эти ферменты, ввиду их способности коагулировать молоко, используются как заменители ренина (фермент получаемый из сычуга молодняка жвачных).

У свертывающих молоко ферментов коагулирующая активность должна преобладать над протеолитической активностью. Сущность процесса коагуляции заключается в образовании комплекса казеина с ионами Ca^{2+} . Сычуг — экстракт желудков телят содержит фермент ренин, который считается наиболее подходящим для этой цели протеолитическим ферментом. Замена дорогостоящего и дефицитного сычужного фермента на дешевый и доступный фермент микробного происхождения является фактором, определяющим дальнейшее развитие сыродельной промышленности. Содержимое брюшной полости стареющих животных невозможно использовать как источник ренина по той причине, что с возрастом вместо ренина образуется протеиназа другого типа — пепсин.

В последние два десятилетия в мире заметно увеличилось употребление сыра, вследствие чего отмечается острая нехватка ренина, что оказывает существенное влияние на коммерческую цену сыра.

Пектолитические ускоряют негидролитическое расщепление пектиновых веществ (пектин - пектиновые кислоты и протопектин- представители полисахаридов, содержатся во фруктах, корнеплодах, стеблях (лен). Применение в текстильной промышленности - вымачивание льна перед его переработкой, в виноделии - осветление вин, уничтожение мутности, в консервировании - при приготовлении фруктовых соков.

Целлюлолитические ферменты проводят гидролиз целлюлозы до глюкозы. Использование их очень перспективно в гидролизной промышленности - это получение глюкозы из целлюлозы; в медицинской - выделение лекарственных веществ (стероидов) из растений; в пищевой - улучшение качества растительных масел; в сельском хозяйстве - как добавки в комбикорма для жвачных животных..

В ближайшем будущем значительный рост использования ферментных препаратов, а именно микробных целлюлаз, связан с возможностью ферментативного гидролиза лигноцеллюлозных субстратов с целью получения сахара для пищевых целей.

Ферменты также используются для улучшения действия пищеварительной системы. С этой целью широкое применение нашли протеазы, амилазы, целлюлазы, липазы и др.

Очевидно, в ближайшем будущем³⁵ существующая ныне тенденция развития

производства ферментных препаратов не изменится. Большое значение будет уделяться производству технических препаратов промышленного назначения широкого спектра и малотоннажной ферментной продукции (прокариотов) высокой чистоты для аналитических, диагностических и терапевтических целей.

Задания

1. Укажите методы культивирования микроорганизмов с целью получения ферментов, выделите преимущества и недостатки этих методов
2. Зарисуйте рисунок 2. Перечислите основные технологические этапы культивирования и способы очистки ферментов.
3. Перечислите факторы, влияющие на синтез ферментов.
4. Определите разницу между техническими и высокоочищенными ферментными препаратами, укажите области их использования
5. Заполните таблицу 3

Таблица 3 - Использование ферментов в промышленности

Фермент	Принцип действия	Область использования

Контрольные вопросы

1. Какие существуют методы получения ферментов?
2. Каковы преимущества глубинного метода культивирования?
3. Какие способы очистки ферментов применяют?
4. Чем отличаются технический и очищенный ферментный препарат?
5. Где применяются протеолитические и амилалитические ферментные препараты?
6. Как применяются ферментные препараты в переработке мяса и молока?

Биотехнология в получении пищевых компонентов микробного
происхождения

Цель занятия: получить представление о биотехнологическом синтезе органических кислот, аминокислот, витаминов, полисахаридов, ароматизаторов.

Приборы и материалы: методические указания.

1. Общий технологический процесс получения пищевых компонентов

В современной пищевой промышленности все более значительную роль играет микробиологический синтез, особенно в промышленном производстве отдельных пищевых ингредиентов, которые во многих странах мира активно применяются для создания полноценных рецептур. Для получения ингредиентов микробного происхождения используются как традиционные, так и новейшие достижения биотехнологии.

Культивирование является основной стадией технологического процесса.

Процесс глубинного культивирования начинают с отбора штаммов микроорганизмов. Обычно производственное культивирование микроорганизмов осуществляется в больших объемах. Поэтому вначале из имеющегося эталонного штамма микроорганизма, находящегося, как правило, в лиофильно-высушенном состоянии в ампуле, делают посевы в небольшие емкости, например, во флаконе емкостью 100-200 см³, заполненные по 50-150 мл производственной средой. Затем из флаконов делают высевы в большие емкости (бутыли объемом 18-20 л). При хорошем накоплении микроорганизмов такую культуру вносят в реактор и называют посевной (маточной) культурой. При этом нужно предварительно рассчитать необходимое количество посевной культуры для производственного культивирования микроорганизмов исходя из посевной дозы, которая обычно составляет от 1 до 10% по объему. Затем осуществляют подготовку питательной среды. Питательная среда служит источником питания для микроорганизмов. Важный элемент подготовки питательных сред – стерилизация с целью уничтожения всех посторонних

микроорганизмов. Ее проводят термическим, радиационным, фильтрационным или химическим методами.

Ферментация – основной этап биотехнологического процесса.

Ферментация – это вся совокупность операций от внесения микробов в подготовленную и нагретую до необходимой температуры среду до завершения биосинтеза целевого продукта или роста клеток. Весь процесс протекает в специальной установке – ферментере. Обычный ферментер представляет собой закрытый цилиндр, в котором механически перемешиваются среда вместе с микроорганизмами.

Через него прокачивают воздух, иногда насыщенный кислородом. Температура регулируется с помощью воды или пара, пропускаемых по трубкам теплообменника. Конструкция ферментера должна позволять регулировать условия роста: постоянную температуру, pH (кислотность или щелочность) и концентрацию растворенного в среде кислорода.

/

Рисунок 3- Схема ферментера

По окончании ферментации образуется смесь рабочих микроорганизмов, раствора непротребленных питательных компонентов и продуктов биосинтеза. Ее называют культуральной жидкостью или бульоном.

По завершении ферментации продукт, который желали получить, очищают от других составляющих культуральной жидкости. Для этого используют различные технологические приемы: фильтрацию, сепарирование (осаждение частиц взвеси под действием центробежной силы), химическое осаждение и др.

Последней стадией биотехнологического цикла является получение товарных форм продукта. Они представляют собой либо смесь, либо очищенный продукт (особенно если он предназначен для использования в медицинских целях).

2. Производство аминокислот

Производство аминокислот относится к одной из наиболее передовых областей биотехнологии

Аминокислоты – это структурные единицы, из которых рибосомы строят все необходимые белки организма. Природные аминокислоты вовлечены в биосинтез ферментов, гормонов, витаминов, антибиотиков, токсинов и других азотсодержащих соединений. Белки, в свою очередь, способны синтезировать различные аминокислоты из органического сырья. Но все же половина из необходимых аминокислот не синтезируются в организме человека и животных. Они называются незаменимыми аминокислотами. Недостаток этих аминокислот в питании приводит к нарушению обмена веществ, замедлению роста и развития.

Многие белки растительного происхождения имеют дефицит некоторых незаменимых аминокислот. Так, белки пшеницы и риса обеднены лизином и треонином, а белки кукурузы – лизином и триптофаном.

Внесение промышленных аминокислот в кормовые концентраты позволяет балансировать корма сельскохозяйственных животных по уровню белка. При добавлении 2-4 кг дефицитных аминокислот к 1 т. комбикорма общий расход кормов уменьшается на 15- 20%, а выход мяса и молока увеличивается на 20%. Это позволило перевести животноводство на промышленную основу.

Помимо применения в качестве пищевых добавок, приправ и усилителей вкуса аминокислоты используют как сырье в химической, парфюмерной, фармацевтической промышленности и т. п. Промышленное производство аминокислот стало возможным после открытия у некоторых микроорганизмов способности вырабатывать их во внешнюю среду.

Так, штамм *Corynebacterium glutamicum* является продуцентом глутамата. Его использовали при организации первого в мире крупномасштабного биотехнологического производства самой популярной пищевой добавки, глутаминовой кислоты, в Японии в 1956 году.

Натриевая соль (глутамат натрия) является эффективным усилителем вкуса мясных и овощных блюд. Данную аминокислоту добавляют во многие продукты при консервировании, замораживании и длительном хранении.

Растет спрос на глицин и аланин, которые также применяют в качестве приправ.

Для улучшения органолептических показателей мясных продуктов, придания им специфического приятного вкуса и аромата используют цистин, лизин, гистидин. Цистеин и цистин с глутаматом натрия создают имитацию запаха и вкуса мяса, что используется при приготовлении приправ. Цистеин, кроме того, используется для создания пористой структуры хлеба. Добавка к порошковому молоку гистидина и триптофана снимает неприятный «окисленный» привкус.

Промышленными продуцентами лизина являются штаммы бактерий вида *Corinebacterium glutamicum*. Лизин относится к числу незаменимых аминокислот. Также предложены способы биотехнологического получения изолейцина, треонина при использовании *E. coli*. Большинство исследованных штаммов микроорганизмов независимо от их систематического положения преимущественно накапливают L-аланин и глутаминовую кислоту. Значительно меньше штаммов и в меньшем количестве выделяют аспарагиновую кислоту, лейцин, валин, изолейцин.

3. Получение пищевых органических кислот

С помощью микроорганизмов можно получить до 60 органических кислот. Многие из них получают в промышленном масштабе - итаконовая, молочная, уксусная, лимонная, яблочная, янтарная. Эти пищевые кислоты используются как регуляторы кислотности и консерванты. Лимонную кислоту получают с помощью *Yarrowia lipolytica*, *Aspergillus niger*, молочную *Endomycopsis fibuligera*, *Rhizopus oryzae*, *Lactobacillus casei*, янтарную – *Anaerobiospirillum succiniproducens*. Уксусную кислоту получают путем микробиологической конверсии водорода и углекислого газа бактериями *Acetobacterium woodi* и *Clostridium aceticum*.

Лимонная кислота. Лимонная кислота ($C_6H_8O_7$) - трехосновная оксикислота, широко распространена в природе, относительно много ее содержится в некоторых ягодах, фруктах,

особенно в цитрусовых (в лимоне 5-10 %), в листьях и стеблях некоторых растений.

Ранее лимонную кислоту выделяли в виде лимоннокислого кальция из продуктов переработки листьев хлопчатника, стеблей махорки, хвои ели и в значительных количествах из плодов лимонов. Однако это производство является крайне дорогим и небольшим по объему. Поэтому лимонная кислота была дефицитным и дорогим продуктом.

В настоящее время лимонная кислота по объему производства является одним из главных продуктов микробного синтеза, ее общий выпуск в разных странах достигает до 400 тыс. тонн в год.

Общая технологическая схема производства лимонной кислоты включает следующие

этапы:

Подготовка питательной среды. Мелассу загружают в варочный котел, разбавляют

водой до определенной концентрации углеводов (16 %), добавляют источники азота, фосфора и микроэлементы. Устанавливают необходимое значение рН среды (6,8-7,2) добавлением кислоты или щелочи. Для осаждения солей тяжелых металлов (железа, магния и т.д.), находящихся в мелассе, ее раствор обрабатывают желтой кровяной солью. Затем среду стерилизуют и охлаждают до температуры ферментации.

В отдельном цехе выращивают посевной материал в виде спор (конидий) *Aspergillus niger*. Затем размножают его в три стадии: в пробирках, колбах и алюминиевых кюветах. Длительность каждой стадии – 2-4 сут при 32 °С. Для выращивания в пробирках используют твердую агаризованную питательную среду, а в колбах и кюветах – жидкую.

Ферментация может осуществляться поверхностным или глубинным способом. Заводы небольшой или средней мощности используют поверхностный способ. Глубинный способ экономически выгоден тогда, когда мощность завода превышает 2500 т лимонной кислоты в год.

При поверхностном способе ферментация проводится на открытых металлических кислотоустойчивых кюветах высотой 7-20 см, в которых мицелий продуцента развивается на поверхности среды. Кюветы размещаются на многоярусных стеллажах в специальных камерах при температуре 34-36 °С. В камеры подают стерильный кондиционированный воздух. Цикл брожения заканчивается через 8-9 сут.

При глубинном способе мицелий гриба погружен в питательную среду в ферментаторах, туда же подается стерильный воздух. Длительность культивирования - 5-9 суток.

По окончании ферментации мицелий отделяют от культуральной жидкости. При глубинной ферментации - фильтрованием на фильтрах, при поверхностной – вручную, предварительно слив жидкость с кювет.

Мицелий промывают, высушивают и направляют для использования в качестве добавки к животным кормам. Фильтрованная культуральная жидкость (фильтрат) представляет собой водный раствор лимонной кислоты. В 1 литре фильтрата содержится 40- 50 г лимонной кислоты.

Лимонную кислоту выделяют из культуральной жидкости в виде плохо растворимой соли – цитрата кальция, которая образуется при добавлении мела. Перевод лимонной кислоты в свободное состояние достигается при добавлении строго определенного количества H_2SO_4 .

Гипс удаляют фильтрованием. Раствор лимонной кислоты осветляют активным углем, упаривают, сливают в кристаллизаторы, в которых постепенно снижают температуру. Выделившиеся кристаллы центрифугируют, промывают водой, сушат, фасуют.

Лимонная кислота используется в кондитерской промышленности для подкисления карамели, пастилы, вафель, так как она хорошо подчеркивает фруктовый вкус. Данную органическую кислоту в целях подкисления добавляют в мороженое, пищевые концентраты, маргарин, некоторые сорта колбас и сыра.

Лимонную кислоту применяют для торможения образования меланоидинов в сгущенном молоке с сахаром, раствором ее промывают и дезодорируют жировое сырье,

обрабатывают перед холодным хранением свежее мясо, рыбу, фрукты с целью стабилизации их цвета, вкуса и запаха. Соли лимонной кислоты используют для изготовления шампуней и других моющих средств, так как они стимулируют вспенивание и обеспечивают механическую устойчивость пен.

Уксусная кислота. Продуцентами уксусной кислоты являются уксуснокислые бактерии рода *Acetobacter*. Эти бактерии приспособлены к сахаристым и спиртовым субстратам, растут при сильно кислых условиях (рН=4,0). К быстроокисляющим бактериям относят высокопроизводительный штамм *Acetobacter curvum*. Недостатком этого продуцента является то, что он может терять свойство образовывать уксусную кислоту, поэтому его постоянно поддерживают в среде с высокой концентрацией спирта и уксусной кислоты и низкой концентрацией питательных веществ.

В качестве сырья для получения пищевого уксуса используют виноградное вино, пивное сусло, мед, соки различных фруктов и ягод после спиртового брожения или водный раствор этилового спирта для получения белого уксуса. Кроме спирта среда содержит уксусную кислоту и минеральные соли N, P, S, Mn, K. Иногда добавляют источники витаминов в виде различных экстрактов. Уксусная кислота служит источником углерода и энергии для бактерий.

Уксусная кислота стала первым микробиологическим продуктом, полученным с помощью иммобилизованных клеток. Этот способ может быть непрерывным и периодическим. В течение длительного времени применяется адсорбирование уксуснокислых бактерий на древесной стружке, древесном угле, коксе и других субстратах. Пропуская раствор этанола через генераторы с иммобилизованными бактериями, получают 10-15 %-ный раствор уксусной кислоты. Из 100 л безводного спирта теоретически должно быть получено 103 л уксусной кислоты. На практике выход уксуса из 100 л этанола редко превышает 90 л, что связано с переокислением и неполным окислением этанола бактериями, а также с его испарением.

В столовом уксусе содержится 5-9 % уксусной кислоты. Уксус с концентрацией кислоты 20-30 % получают путем вымораживания исходного раствора. Путем перегонки получают 70-80 %-ную уксусную кислоту, называемую уксусной эссенцией. Ледяная уксусная кислота содержит 98,0-99,8 % кислоты.

Уксус, полученный при брожении, имеет приятные аромат и вкус, которые обуславливают побочные продукты брожения: сложные эфиры (этилацетат и другие), высшие спирты, органические кислоты.

Уксусную кислоту или уксус широко используют в пищевой промышленности. Уксус, полученный микробиологическим путем (пищевая уксусная кислота, столовый уксус), различается по сортам в зависимости от характера сбраживаемого субстрата. Известен яблочный, виноградный, грушевый и другие сорта уксуса.

Уксус также применяют для растворения органических красителей, при получении медикаментов, пластмасс и т.д.

Молочная кислота. Для промышленного изготовления молочной кислоты пригодны молочнокислые бактерии, образующие до 98 % молочной кислоты. Применяемые штаммы *Lactobacillus delbrueckii*, *L. bulgaricus* не предъявляют высоких требований к питательной среде и за короткое время дают высокий выход молочной кислоты.

Молочнокислые бактерии преобразуют в молочную кислоту самые разные углеводы, поэтому для промышленного получения этой кислоты используют мелассу, молочную сыворотку, глюкозу, мальтозу, сахарозу, лактозу, осахаренный крахмал и пр. В каждом случае подбирают наиболее подходящий продуцент. Для сбраживания глюкозы или мальтозы обычно применяют штаммы *Lactobacillus delbrueckii*, *L. leichmannii* или *L. bulgaricus*. Для сбраживания осахаренного крахмала используют смесь молочнокислых бактерий *L. delbrueckii* или с *L. bulgaricus*, или со *Streptococcus lactis*. При

сбраживании мальтозы выход молочной кислоты выше при использовании *L. bulgaricus* или *L. casei*.

В качестве основного сырья используют мелассу, картофельный осахаренный затор,

которые разбавляют водой до определенной концентрации (12 %), вносят дополнительные источники аминного азота (свободные аминокислоты), витаминов и других биологически активных веществ в виде кукурузного или дрожжевого экстракта, или вытяжку солодовых ростков (так как на молочнокислое брожение биологически активные вещества оказывают положительное влияние).

Молочную кислоту в промышленных условиях получают методом анаэробной глубинной ферментации. Концентрация сахара в среде должна быть 5-20 %, температура 44- 50 °С, рН 6,3-6,5. Во время ферментации рН среды поддерживают, добавляя мел. Через 6-7 суток культивирования в среде остается 0,5-0,1 % сахаров и 11-14 % лактата кальция. Из 100 г сахаров получают 80-90 г лактата. Осадок мела и коллоиды отделяют фильтрацией. Фильтрат упаривают до концентрации 27-30 %, затем охлаждают до 25-30 °С и выдерживают в кристаллизаторах 36-48 ч. Кристаллы лактата отделяют центрифугированием. Молочную кислоту из лактата получают при помощи серной кислоты. Реакция идет при 60-70 °С .

Для отделения ионов железа молочную кислоту (сырец) при температуре 65 °С обрабатывают желтой кровяной солью. Тяжелые металлы осаждают сульфатом натрия. Молочную кислоту обрабатывают активированным углем, фильтруют и фасуют. Конечный продукт - в виде жидкого концентрата молочной кислоты.

Молочную кислоту применяют для приготовления джемов, в которых она способствует хорошей консистенции. Молочная кислота как регулятор рН, улучшитель вкуса применяется в производстве многих сыров, квашении капусты, в сухом концентрате кваса. В хлебобулочном производстве молочная кислота и лактаты увеличивают объем мякиша и улучшают корку хлеба при использовании муки низкого качества. Способность лактатов удерживать влагу применяют в производстве колбас, сыров, детского питания. Молочную кислоту

также используют для ускорения получения молочно-белкового сгустка при производстве творога.

4. Получение витаминов

В связи с возрастающими потребностями в витаминах особенно большой интерес проявляется к микроорганизмам как продуцентам витаминов. Микроорганизмы содержат много витаминов, которые чаще всего входят в состав ферментов. Состав и количество витаминов в биомассе зависят от биологических свойств данной культуры микроорганизмов и условий культивирования. Некоторые витамины микроорганизмы синтезируют, другие напротив усваивают в готовом виде из окружающей среды.

Витамин В₁₂(цианкобаламин). Синтезировать витамин В₁₂ способны уксуснокислые бактерии, грибы и пропионовокислые бактерии. Наибольшее промышленное значение имеют *Propionibacterium* и *Pseudomonas* (*P. denitrificans*).

Концентрат витамина В₁₂ предназначен для обогащения кормов животных. Он представляет собой однородный порошок коричневого цвета, кисловатый на вкус, имеет характерный запах. Для обогащения кисломолочных продуктов витамином В₁₂ используют пропионовокислые бактерии как в чистом виде, так и в виде концентрата, приготовленного на молочной сыворотке.

Витамин В₂ (рибофлавин) можно в небольших количествах выделять из природного сырья. В наибольшем количестве он содержится в моркови и печени трески. Из 1 т моркови получают 1 г витамина, из 1 т печени – 6 г.

Рибофлавин впервые был выделен в кристаллическом виде в 1933 г. Продуцентами данного витамина являются дрожжи, мицелиальные грибы и бактерии. Наиболее активными продуцентами витамина В₂ являются дрожжеподобные грибы рода *Eremothecium* (эремофекиум), входящие в класс аскомицетов. Культивирование проводят глубинным способом при хорошей аэрации. Максимальное накопление витамина происходит вместе с максимумом накопления биомассы на 2-е сутки, причем синтез рибофлавина начинается лишь после фазы интенсивной ассимиляции сахара.

Витамином В₂ обогащают некоторые сорта белого хлеба, его используют для окраски пищевых продуктов в оранжево-желтый цвет.

Каротиноиды – это предшественники витамина А, среди которых наиболее активен β -каротин. В организме человека каротиноиды не синтезируются, поэтому должны поступать извне. В печени каротин превращается в витамин А.

Продуцентами каротиноидов могут быть грибы и дрожжи. В промышленности β -каротин чаще всего получают с помощью микроскопического гриба рода *Blakeslea* (блакеслеа). Культивирование проводят и поверхностным, и глубинным способами на питательных средах сложного состава. Во время ферментации среду интенсивно аэрируют. Образование каротиноидов в культуре микроорганизмов не идет параллельно с образованием биомассы. Интенсивный синтез каротиноидов начинается, когда в среде использован весь азот, а рост культуры уменьшается. В качестве стимуляторов в питательные среды добавляют экстракты цитрусовых и дрожжей.

β -каротин используют при изготовлении пищевых продуктов как краситель. Его применяют при изготовлении колбас с целью замены нитрита натрия и обеспечения высокой интенсивности и устойчивости цвета. Используют при производстве леденцов, пищевых паст, кексов и других кондитерских изделий. Во многих странах β -каротин применяют для подкрашивания сливочного масла. Нагревают до 30 °С, добавляют β -каротин, который при такой температуре хорошо растворяется в масле. В Италии каротиноиды используют в производстве макаронных изделий.

β -каротин применяется для стабилизации цвета мяса охлажденного и замороженного в тушах. С этой целью раствор β -каротина наносят на поверхность мяса.

Кроме того, β -каротин обладает антиокислительными свойствами, которые используются для продления срока хранения продукта.

Таким образом, витамины, синтезированные микроорганизмами, используют не только для повышения пищевой ценности продуктов питания, но также в качестве антиоксидантов, красителей и стабилизаторов цвета.

5. Получение полисахаридов

Аналогично ферментам, некоторые полисахариды, продуцируемые микроорганизмами во время их глубинного культивирования, являются внеклеточными продуктами метаболизма.

Некоторые из этих полисахаридов после выделения используются в пищевой промышленности для загустения и формирования пищевых гелей. В восточных странах, в частности Китае и Японии, исторически применяли загустители из морских растений для улучшения вкуса и формы пищевых продуктов.

Необходимое условие при использовании полисахаридов - как загустителей и формирующих агентов - это нейтральность и биосовместимость. Например, полисахариды, используются вместо широко применяемого загустителя глюкоманнозы. Изыскание новых источников экзогенных полисахаридов микробного происхождения является актуальной задачей пищевой промышленности.

Микроорганизмы являются важным источником получения полимерных материалов на основе полисахаридов. Ценным микробным полисахаридом является декстран, образуемый бактериями рода *Leucomonstoc*. Декстран служит основой получения медицинских препаратов (кровезаменителей) и препаратов для биохимических исследований.

6. Получение пищевых ароматизаторов

Микробиологическим путем может быть более выгодным и продуктивным, чем их химический синтез или другие традиционные способы. Так, в США был разработан экологически безопасный биокаталитический способ синтеза ванилина из глюкозы с использованием генетически модифицированного штамма *E. coli* и грибного фермента дегидрогеназы. Аромат ванилина при биотехнологическом его получении оказался в несколько раз интенсивнее обычного. Весьма перспективно использование грибных культур в качестве продуцентов сырных, грибных, рыбных ароматизаторов. Освоены

биотехнологические способы получения веществ, имитирующих ароматы земляники,

малины, банана, кокоса, яблока, персика, миндЗа2ля.

Задания

1. Составьте схему биотехнологического производства пищевых компонентов.

2. Зарисуйте схему ферментера.

3. Аминокислоты, органические кислоты, витамины, полисахариды, ароматизаторы.

Укажите значение, источники получения (продуцентов) применение данных пищевых компонентов.

Контрольные вопросы

1. Перечислите основные операции биотехнологического производства пищевых компонентов.

2. Какие пищевые компоненты получают с помощью микробиологического синтеза?

3. Как применяют аминокислоты, органические кислоты, витамины, полисахариды, ароматизаторы в пищевой промышленности?

Добавки, применяемые в пищевой промышленности

Цель занятия: получить представление о добавках, применяемых в пищевой промышленности. Изучить их назначение и способ применения.

Приборы и материалы: методические указания, образцы пищевых добавок.

На сегодня существует более 250 видов технических и вкусовых добавок используемых в переработке мяса. По утверждению производителей этих добавок, их использование даст возможность улучшить экономические показатели Вашего предприятия. Комплексные добавки не только улучшают качество, но и значительно увеличивают выход готовой продукции (до 200%). По заверениям производителей натуральные красители, ароматизаторы, стабилизаторы цвета сделают Ваши изделия оригинальными и выделяют их качество для покупателей. Кроме того, соевые и животные белки, каррагинаны значительно улучшают экономические показатели выпускаемой продукции и позволяют расширить ассортимент без лишних материальных затрат.

Белковые препараты

1. Концентраты соевого белка (содержание белка в пересчете на сухую массу 65- 70%). Концентраты соевого белка производятся при помощи щадящего экстрагирования белка из тщательно отобранных, очищенных и обезжиренных соевых белков. Они предназначены для производства мясопродуктов различных категорий: вареные колбасные и ветчинные изделия, полукопченые и варено-копченые колбасы, фарши, пельмени, паштеты и т.д.

2. Изолированные соевые белки (содержание белка в пересчете на сухую массу более 90%). Изолированные соевые белки производятся из специально очищенной и обезжиренной генетически не модифицированной сои. Это - универсальные функциональные продукты, обладающие высокой гелеобразующей, влагосвязывающей и эмульгирующей способностями, что позволяет использовать их в производстве мясопродуктов высокого качества.

3. Текстурированный концентрат соевого белка и соевой муки (содержание белка в пересчете на сухую массу 50-70%, жира менее 1%). Текстураты производятся из специально селекционированной, очищенной и обезжиренной генетически немодифицированной сои. Текстураты предназначены для производства мясных, рыбных, вегетарианских продуктов и продуктов, имитирующих их.

Кроме того, соевые белки применяют при производстве сыров как заменитель казеината натрия до 50%. В кондитерской промышленности, хлебопечении. Можно получить особый сорт хлеба с 13-14% белка, добавив в

рецептуру концентрат соевого белка вместе с пшеничной клейковиной и при необходимости с липидным эмульгатором.

Преимущества применения белковых добавок

Улучшение экономических показателей: высвобождение дорогостоящего нежирного сырья при сохранении высокого качества продукции. Рациональное использование мясного сырья с различным химическим составом и свойствами. Сокращение потерь массы при термообработке и хранении мясных изделий. Реализация соевого белка в традиционной технологии не требует специального оборудования и капитальных вложений. Повышение качества готовой продукции: улучшение пищевой и сохранение биологической ценности белков, содержащихся в мясных изделиях. Снижение содержания холестерина и жирных кислот. Улучшают текстуру продукта, уменьшают термопотери. Улучшают товарный вид и т. д. Соевый белок – это мелкодисперсный порошок, а если это текстурированный белок, то он может иметь различную форму (круглая, продольные полоски, в виде ломтиков, в форме шницеля и т.д.), цвет от белого до светло-кремового, вкус мягкий, нейтральный. Применяют соевый белок в сухом виде, в виде геля, в составе белково-жировой эмульсии и в составе эмульсии из свиной шкурки.

Загустители, стабилизаторы и гелеобразователи

1. Каррагинаны. Пищевая добавка каррагинан - это натуральный пищевой загуститель, стабилизатор и желирующий агент для мясных продуктов. Представляет собой линейный полисахарид, полученный из красных морских водорослей рода RODOPHYCEAS, обитающих на Филиппинах. По внешнему виду - это порошок светло-бежевого цвета, без вкуса и без запаха. Растворимость: диспергируется в холодной воде и полностью растворяется при температуре выше + 70 °С.

2. Камеди получили свое название от греческого слова «камедон» - густой, быстро застывающий сок растений. Есть камеди растительного и микробного происхождения:

а) гуаровую камедь получают путем размола семян однолетнего кустарника гуары. Это растительный полисахарид – универсальный стабилизатор-загуститель. Используется для варёных, ливерных колбас, паштетов, рубленых полуфабрикатов,пельменей, майонезов, соусов, кетчупов, плавленых сыров и молочных продуктов.

б) камедь плодов рожкового дерева получают путем размола семян этого дерева, которое является разновидностью акации. Высокомолекулярный полисахарид – универсальный стабилизатор-загуститель. Используется для варёных, ливерных колбас, паштетов, рубленых полуфабрикатов,пельменей, майонезов, соусов, кетчупов, плавленых сыров и молочных продуктов.

в) ксантановая камедь – полисахарид, полученный сбраживанием питательной среды культурой микроорганизмов. Является универсальным стабилизатором-загустителем. Используется для варёных и ветчинных изделий, в рассолах, а также для производства полуфабрикатов (фарши, пельмени, котлеты).

Преимущества применения загустителей:

- значительно повышает вязкость фаршей;
- хорошо удерживает влагу;
- максимально снижает отделение воды;
- стабилизатор эмульсий;
- обладает желирующими свойствами;
- хорошо растворима при комнатной температуре;
- способна улучшать консистенцию готового продукта.

Растительные клетчатки/

Растительные клетчатки производятся из колосистой части зерновых культур (пшеничная, овсяная), фруктовых (яблочная, апельсиновая) или овощных шротов (морковная, томатная).

По органолептическим показателям является порошкообразным, мелкозернистым или тонковолокнистым веществом различной степени измельчения и различной длины волокон по показателям вкуса, цвета и запаха соответствует характеристикам исходного злакового, фруктового или овощного сырья.

Пшеничная клетчатка Витацель. Пшеничная клетчатка Витацель – производится из колосистой части пшеницы. Это – функционально-технологическая добавка, представляющая собой пищевые волокна, предназначена для производства всех групп мясопродуктов.

Витацель WF 200, WF 400, WF 600 обладает высокой влаго- и жиросвязывающей способностью, что позволяет успешно использовать ее при производстве мясопродуктов.

Высокие функционально-технологические свойства в сочетании с биологической ценностью выдвигают витацель на одно из первых мест в группе полифункциональных добавок для производства мясопродуктов. Кроме мясных продуктов, витацель используют, при производстве: блинчиков, печенья, вафель, зефира, пастилы, кексов, бисквитов, полуфабрикатов, конфет, пряников. Внешний вид – белый пушистый порошок, нейтрального вкуса и запаха.

Преимущества применения:

- улучшение экономических показателей производства за счет: снижения расхода мясного сырья благодаря высокой влагосвязывающей способности;
- максимального использования в рецептурах жирного сырья благодаря высокой

- сокращения процесса термообработки – трехмерная сетка создает лучшие условия для передачи тепла;
- обеспечение высокой влагоудерживающей способности в продуктах, упакованных под вакуумом;
- снижение весовых потерь при хранении продуктов глубокой заморозки;
- повышение качества готовой продукции;
- снижает калорийность готовых продуктов;
- снижает чувство голода, способствует быстрому насыщению;
- улучшает работу кишечника и т.д.

Функциональные животные белки

Типро ПОРК натуральный продукт, полученный из свиного коллагенового сырья и свиной плазмы крови. Это концентрат соединительного белка. Типро Порк функциональный животный белок с высокими влагосвязывающими и эмульгирующими способностями, при термообработке образует эластичный, необратимый гель.

Миогель – натуральный продукт, который производят из свежей свиной обрези, которую измельчают при низкой температуре, частично обезжиривают, стабилизируют, подвергают экструзии и дегидратации. В своем составе содержит миозин (60% белковой части) и коллаген (35%), которые играют основную роль в образовании структурных готовых колбасных изделий. Белковая часть Миогеля обладает способностью связывать жир и воду, при термообработке образует упругую консистенцию.

Животные белки «Типро» и «Миогель» рекомендуется использовать при производстве: вареных колбасных изделий и мясных хлебов, полукопченых и варено- копченых колбас, вареных реструктурированных продуктов из свинины, говядины и мяса птицы, инъектированных мясных продуктов, консервов, рубленых полуфабрикатов, фаршей, ливерных колбас и паштетов.

Животные белки – это порошки светло-кремового цвета, без вкуса и запаха.

Преимущества от применения. Применение животных белков «Типро» и

«Миогель» наряду с сохранением качественных показателей и повышением питательной ценности мясной продукции значительно снижает ее себестоимость и дает возможность улучшить экономические показатели за счет:

- снижения стоимости исходного сырья;
- повышения рентабельности производства;
- уменьшения потерь массы при термической обработке и хранении колбасных изделий.

Высокие функциональные свойства животных белков позволяют их использовать с различным целевым назначением:

- вместо дорогостоящего мясного сырья;
- в сочетании с жиросодержащим сырьем (жиром-сырцом, шпиком боковым, пашиной, обрезью, свиной и т.д.) для стабилизации функциональных и качественных характеристик мясного сырья;
- для улучшения консистенции, пластичности, сочности, внешнего вида колбасных изделий, а также в целях предотвращения образования бульонно-жировых отеков и потерь при термообработке;
- в целях снижения затрат на производство мясопродуктов и повышения выхода готовой продукции;
- для улучшения товарного вида продукта.

Красители, применяемые в переработке мяса.

Красители применяются при производстве мясопродуктов для придания им нужной окраски. А также для окрашивания гелей, эмульсий, текстурированных соевых белков и т.д. Кроме того, красители применяются для окрашивания натуральных оболочек, поверхностей целномышечных продуктов из говядины, свинины и птицы.

Преимущества применения красителей:

- улучшение товарного вида и цвета готового продукта;
- устранение обесцвечивания готового продукта в процессе хранения и на срезе;
- простота и удобство в применении;
- не требуют изменения технологического процесса производства;
- применяются отдельно или в сочетании друг с другом;

Таблица 2 –Источники получения красителей

Краситель	Источник получения
Ферментированный рис	Производится на основе шлифованного риса путем ферментации при помощи грибка <i>Monascus</i> или его разновидностей
Золотисто-красный	Краситель, получаемый путем экстрагирования пигмента из семян дерева <i>Annato</i>
Карамель (сахарный колер E 150 c)	Краситель получают путем контролируемой термообработки пищевых углеводов в присутствии аммония
Актив Ред	Краситель из форменных элементов крови животных

Комплексные препараты

Входящие в состав смесей сорбиновая кислота и сорбат калия оказывает угнетающее действие на дрожжи, плесневые грибы и некоторые бактерии, блокирует действие некоторых ферментов, действие которых приводит к порче мясопродуктов в течение их хранения. Соли фосфорной кислоты используются в качестве стабилизаторов. Глутамат натрия используется в качестве усилителя вкуса и аромата мясопродуктов. Декстроза (глюкоза) используется как подсластитель. Аскорбиновая кислота выступает в качестве регулятора кислотности, подкислителя, антиокислителя.

Задания

1. Укажите виды белковых препаратов, их различия, области применения
2. Укажите виды загустителей, стабилизаторов, красителей, растительных клетчаток, животных белков; области их применения, назначение.

Контрольные вопросы

1. Какие добавки применяются в пищевой промышленности?
2. Каково назначение пищевых добавок?
3. Каковы преимущества применения добавок?
4. В чем заключается роль биотехнологии в производстве пищевых добавок?

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по организации самостоятельной работы обучающихся
по дисциплине «**Технология ферментационных процессов.**

Пищевая биотехнология»

для студентов направления подготовки

19.03.01 Биотехнология

Направленность (профиль): «Промышленная биотехнология»

Ставрополь, 2026

Введение

В настоящее время актуальными становятся требования к личным качествам современного студента – умению самостоятельно пополнять и обновлять знания, вести самостоятельный поиск необходимого материала.

Ориентация учебного процесса на саморазвивающуюся личность делает невозможным процесс обучения без учета индивидуально-личностных особенностей обучающихся, предоставления им права выбора путей и способов обучения. Соответственно появляется новая цель образовательного процесса – воспитание компетентной личности, ориентированной на будущее, способной решать типичные проблемы и задачи исходя из учебного опыта и адекватной оценки конкретной производственной ситуации.

Решение этих задач невозможно без повышения роли самостоятельной работы студентов над учебным материалом.

Самостоятельная работа выполняет ряд функций в образовательном процессе. К ним относятся: развивающая – приобщение к творческой деятельности, повышение уровня умственного труда; воспитывающая – формирование и развитие профессиональных качеств будущего магистра; информационно-обучающая – самостоятельный поиск и отбор необходимой информации.

Самостоятельная работа студентов проводится с целью:

- систематизации и закрепления полученных знаний и умений студентов,
- углубления и расширения теоретических знаний,
- формирования умений использовать нормативную, правовую, справочную документацию и специальную литературу,
- формирования самостоятельности мышления, способностей к саморазвитию, самосовершенствованию и самореализации,
- развития исследовательских умений.

Самостоятельная работа студента подразделяется на внеаудиторную и аудиторную.

Внеаудиторная работа выполняется студентом по тщательно разработанному заданию преподавателя, но без его непосредственного участия.

Содержание внеаудиторной самостоятельной работы определяется программой самостоятельной работы по дисциплине.

Перед выполнением студентами внеаудиторной самостоятельной работы преподаватель проводит инструктаж по выполнению задания, который включает цель задания, его содержания, сроки выполнения, ориентировочный объем работы, основные требования к результатам работы, критерии оценки. В процессе инструктажа преподаватель предупреждает студентов о возможных типичных ошибках, встречающихся при выполнении задания. Инструктаж проводится преподавателем за счет объема времени, отведенного на изучение дисциплины.

Аудиторная работа выполняется на учебных занятиях под непосредственным руководством преподавателя и по его заданию.

Приступая к выполнению самостоятельной работы, студент должен внимательно ознакомиться с методическими рекомендациями по её выполнению.

Самостоятельная работа может осуществляться индивидуально или группами студентов, на занятиях в зависимости от цели, объема, конкретной тематики самостоятельной работы, уровня сложности, уровня умений студентов.

1. Организация и руководство внеаудиторной самостоятельной работы

Основными видами самостоятельной работы студентов без участия преподавателей являются:

- формирование и усвоение содержания конспекта лекций на базе рекомендованной лектором учебной литературы, включая информационные образовательные ресурсы

(электронные учебники, электронные библиотеки и др.);

- написание рефератов;
- подготовка к семинарам, практическим и лабораторным работам, их оформление;
- составление аннотированного списка статей из соответствующих журналов по отраслям знаний (педагогических, психологических, методических и др.);
- подготовка практических разработок и рекомендаций по решению проблемной ситуации;
- выполнение домашних заданий в виде решения отдельных задач, проведения типовых расчетов, расчетно-компьютерных и индивидуальных работ по отдельным разделам содержания дисциплин и т.д.;

Критериями оценок результатов внеаудиторной самостоятельной работы студента являются:

- уровень освоения студентами учебного материала,
- умения студента использовать теоретические знания при выполнении самостоятельных работ,

- обоснованность и четкость изложения ответа.

Методические рекомендации по составлению конспекта. Конспект, план- конспект – это жанры работы с другим источником. Цель этих жанров – зафиксировать, переработать тот или иной научный текст.

Конспект представляет собой дословные выписки из текста источника. При этом конспект – это не полное переписывание чужого текста. Обычно при написании конспекта сначала прочитывается текст-источник, в нём выделяются основные положения, подбираются примеры, идёт перекомпоновка материала, а уже затем оформляется текст конспекта. Конспект может быть полным, когда работа идёт со всем текстом источника или неполным, когда интерес представляет какой-либо один или несколько вопросов, затронутых в источнике.

План-конспект представляет собой более детальную проработку источника: составляется подробный, сложный план, в котором освещаются не только основные вопросы источника, но и частные. К каждому пункту или подпункту плана подбираются и выписываются цитаты.

Часто записей в виде плана и тезисов бывает недостаточно для полноценного усвоения материала. В этом случае прибегают к конспектированию, т.е. к переработке информации за счет ее свертывания.

Конспектом называется краткое последовательное изложение содержания статьи, книги, лекции. Его основу составляют план тезисы, выписки, цитаты. Конспект в отличие

от тезисов воспроизводят не только мысли оригинала, но и связь между ними, в конспекте отражается не только то, о чем говорится в работе, но и что утверждается, и как доказывается.

Существуют разнообразные виды и способы конспектирования. Одним из наиболее распространенных является, так называемый текстуальный конспект, который представляет собой последовательную запись текста книги или лекции. Такой конспект точно передает логику материала и максимум информации.

Общую последовательность действий при составлении текстуального конспекта можно определить таким образом:

1. Уяснить цели и задачи конспектирования.
2. Ознакомиться с произведением в целом: прочитать предисловие, введение, оглавление и выделить информационно значимые разделы текста.
3. Внимательно прочитать текст параграфа, главы и отметить информационно значимые места.
4. Составить конспект, для этого:
 - сделать библиографическое описание конспектируемого источника;

- последовательно выделить в тексте тезисы и записать их с последующей аргументацией;
- написать краткое резюме – обобщить текст конспекта, выделить основное содержание проработанного материала, дать ему оценку.

Конспекты могут быть плановыми, пишутся на основе составленного плана статьи, книги. Каждому вопросу плана соответствует определенная часть конспекта.

Удобно в этом случае воспользоваться вопросным планом. В левой части страницы вы ставите проблемы, затронутые в книге в виде вопросов, а в правой части страницы даете на них ответы.

Очень удобно пользоваться схематичной записью прочитанного. Составление конспектов-схем служит не только для запоминания материала. Такая работа становится средством развития способности выделять самое главное, существенное в учебном материале, классифицировать информацию.

Схемы могут быть простыми, в которых записываются самые основные понятия без объяснений. Такая схема используется, если материал не вызывает затруднений при воспроизведении.

Действия при составлении конспекта – схемы могут быть такими:

1. Подберите факты для составления схемы.
2. Выделите среди них основные, общие понятия.
3. Определите ключевые слова, фразы, помогающие раскрыть суть основного понятия.
4. Сгруппируйте факты в логической последовательности.
5. Дайте название выделенным группам.
6. Заполните схему данными.

Те учащиеся, которые не могут положиться на свою память, должны иметь зрительную опору, которая является удобным способом проверки и запоминания информации.

Такой опорой может служить опорный конспект. Это творческий вид работы был введён в учебную деятельность Шаталовым В.Ф. известным педагогом-новатором и получил название «опорный сигнал». В опорном сигнале содержание информации «кодируется» с помощью сочетания графических символов, знаков, рисунков, ключевых слов, цифр и т.п. Такая запись учебного материала позволяет быстро и без труда его запомнить, мгновенно восстановить в памяти в нужный момент.

При любом виде конспектирования важно не забывать о том, что: Записи полезно делить, для этого используются:

1. Подзаголовки.
2. Абзацные отступы.
3. Пробельные строки.

Всё это повышает удобочитаемость, организует запись.

При конспектировании нужно пользоваться оформительскими средствами:

1. Делать в тексте конспекта подчёркивания, а на полях тетради отчёркивания «например, вертикальные»
2. Заключать законы, основные понятия, правила и т.п. в рамки.
3. Пользоваться при записи различными цветами.
4. Писать разными шрифтами.

Методические рекомендации по выполнению презентации. Одним из актуальных и распространённых направлений внедрения использования информационных технологий в образовательный процесс учебного заведения являются мультимедийные презентационные технологии.

У термина презентация (от лат. praesento — передаю, вручаю или англ. present — представлять) два значения — широкое и узкое. В широком смысле слова презентация — это

выступление, доклад, защита законченного или перспективного проекта, представление на обсуждение рабочего проекта, результатов внедрения и т.п. В узком смысле слова презентации — это электронные документы особого рода. Они отличаются комплексным мультимедийным содержанием и особыми возможностями управления воспроизведением (может быть автоматическим или интерактивным). Далее этот термин будет использоваться в узком смысле этого слова.

Презентация наглядно отображает на экране в сжатом виде весь отобранный автором материал. Документы этого типа готовятся с помощью специальных программных средств, но при этом широко используются и традиционные универсальные средства, такие как текстовые и табличные процессоры, графические редакторы, средства обработки звуковой и видеоинформации.

Сравнение таких программных средств подготовки электронных презентаций, как Corel Presentation 9, Presentation и Microsoft PowerPoint позволило сделать выбор в пользу последнего — в силу его широкого распространения, доступности интерфейса при достаточно больших возможностях анимации предоставляемого материала, импорта различных графических приложений, видео- и звуковых материалов.

Общая характеристика основных структурных элементов презентации

Основной единицей электронной презентации в среде PowerPoint является слайд, или кадр представления информации, учитывающий эргономические требования визуального восприятия информации.

Каждая электронная презентация с одной стороны, должна быть в значительной степени автономным программным продуктом, а с другой — отвечать некоторым общим стандартам по своей внутренней структуре и форматам содержащихся в ней исходных данных (формат рисунков, дизайн таблиц и т.п.).

Обязательными структурными элементами, как правило, являются: обложка;
титульный
слайд;
оглавление;

основной материал (включая текст, схемы, таблицы, иллюстрации, графики); информационные ресурсы по теме.

При этом содержательное наполнение указанных слайдов может быть прокомментировано следующим образом.

Обложка должна быть по возможности красочной. Для этого следует оформить ее с помощью графических вставок и фонов. Дизайн обложки должен способствовать улучшению эмоционального состояния человека и повышать его интерес к предмету.

Титульный слайд должен включать:

название темы;

информацию об образовательном

учреждении; сведения об авторе;

дату разработки;

информацию о местоположении информации в сети, на локальном компьютере и имя

файла.

Оглавление является очень важным структурным элементом презентации.

С одной

стороны, оно должно быть достаточно подробным, чтобы обеспечивать оперативный доступ (через гипертекстовые ссылки) к ее сравнительно небольшим содержательным частям, с другой стороны, максимально обозримым, т.е. находиться на одном слайде. Практика показывает, что таким требованиям, как правило, удовлетворяет двухуровневое оглавление (разделы и подразделы).

Оглавление может представлять сокращенное графически-текстовое изображение содержания, помогающее понять структуру материала, идеи, заложенные в нем, и сопоставляющее отдельные фрагменты содержания презентации с некими графическими

образами, способствующими ассоциативному запоминанию.

Основной материал в электронной презентации, как правило, представлен в краткой форме, что имеет достаточно веские основания для существования наряду с полным учебным материалом. Такое представление дает качественно иной ракурс для рассмотрения содержания, что достаточно эффективно как на этапе вводных занятий по теме, так и на этапе обобщения и систематизации учебного материала.

Изложение содержания материала может осуществляться в виде текста, рисунков, таблиц, графиков и т.п. При этом графическое представление учебного материала позволяет передать необходимый объем информации при краткости его изложения.

Информационное обеспечение презентации удобно организовать в виде гипертекстовой системы, при которой фрагменты текста с элементами графики соединяются между собой с помощью специальных гиперсвязей в сеть. С помощью гиперссылок можно получить на экране дополнительную или поясняющую информацию, организовать многократное обращение к одним и тем же информационным объектам из разных мест презентации.

Каждый слайд, презентующий материал, как правило, содержит:

область отображения местоположения страницы в контенте презентации;

одно или несколько текстовых полей. Текст может включать небольшие графические вставки (формулы, графики, таблицы и т.п.);

область для размещения элементов управления на странице.

Следует выделить наиболее общие требования к средствам, формам и способам представления содержания самостоятельного материала в электронной презентации:

сжатость и краткость изложения, максимальная информативность текста;

объединение связанных информационных элементов в целостно воспринимающиеся

группы;

каждому положению (каждой идее) должен быть отведен отдельный абзац текста; основная идея абзаца должна находиться в самом начале (в первой строке абзаца). Это

связано с тем, что лучше всего запоминаются первая и последняя мысли абзаца;
предпочтительнее использование табличного (матричного) формата
предъявления

материала, который позволяет представить материал в компактной форме и наглядно
показать связи между различными понятиями;

при проектировании характера и последовательности предъявления материала
должен соблюдаться принцип стадийности: информация может разделяться в
пространстве (одновременное отображение в разных зонах одного слайда) или во времени
(размещение информации на последовательно демонстрируемых слайдах);

вся вербальная информация должна тщательно проверяться на отсутствие
орфографических, грамматических и стилистических ошибок;

графика должна органично дополнять текст. Динамика взаимоотношений
визуальных и вербальных элементов и их количество определяются функциональной
направленностью материала.

При этом большие иллюстрации могут храниться в отдельном альбоме рисунков
(графиков, схем, фотографий), оформляемом в виде самостоятельного модуля
презентации.

Методические рекомендации по написанию реферата.

Это более объемный, чем сообщение, вид самостоятельной работы студента,
содержащий информацию, дополняющую и развивающую основную тему, изучаемую на
аудиторных занятиях.

Ведущее место занимают темы, представляющие профессиональный интерес,
несущие элемент новизны. Реферативные материалы должны представлять письменную
модель первичного документа – научной работы, монографии, статьи. Реферат может
включать обзор нескольких источников и служить основой для доклада на определенную
тему на семинарах, конференциях. Регламент озвучивания реферата – 7-10 мин.

Слово "реферат" (от латинского – *referre* – докладывать, сообщать) означает сжатое изложение в устной или письменной форме содержания какого-либо вопроса или темы на основе критического обзора информации. При подготовке реферата необходимо соблюдать следующие правила. Определить идею и задачу реферата. Следует помнить, что реферат будут читать другие. Поэтому постоянно задавайте себе вопрос, будет ли понятно написанное остальным, что интересного и нового найдут они в работе. Ясно и четко сформулировать тему или проблему. Она не должна быть слишком общей. Найти нужную литературу по выбранной теме. Составить перечень литературы, которая обязательно должна быть прочитана. Только после предварительной подготовки следует приступать к написанию реферата. Прежде всего, составить план, выделить в нем части.

Введение, в котором раскрывается цель и задачи сообщения; здесь необходимо сформулировать социальную или политическую проблему, которая будет проанализирована в реферате, изложить своё отношение к ней, то есть мотивацию выбора; определить особенность постановки данной проблемы авторами изученной литературы; объяснить актуальность и социальную значимость выбранной темы.

Основная часть. Разделы, главы, параграфы основной части должны быть направлены на рассмотрение узловых моментов в теме реферата. Изложение содержания изученной литературы предполагает его критическое осмысление, глубокий логический анализ. Каждый раздел основной части реферата предполагает детальное изучение отдельного вопроса темы и последовательное изложение структуры текстового материала с обязательными ссылками на первоисточник.

В целом, содержание основной части должно отражать позиции отдельных авторов, сравнительную характеристику этих позиций, выделение узловых вопросов дискурса по выбранной для исследования теме. Студент должен показать свободное владение основными понятиями и категориями авторского текста. Для лучшего изложения сущности анализируемого материала можно проиллюстрировать его таблицами, графиками, сравнением цифр, цитатами.

Заключение. В заключении автор реферата должен сформулировать личную позицию в отношении изученной проблемы и предложить, может быть, свои способы её

решения. Целесообразно сделать общие выводы по теме реферата и ещё раз отметить её актуальность и социальную значимость.

Список использованных источников и литературы. Начать реферат можно с изложения яркого, впечатляющего факта, который требует пояснения. Далее изложение должно идти от простого – к сложному. Не останавливайтесь на подробностях. Главное требование к реферату – максимум пользы для читателя при минимуме информации.

Написание рефератов является одной из форм обучения студентов, направленных на организацию и повышение уровня самостоятельной работы студентов, а также на усиление контроля за этой работой.

Целью написания рефератов является привитие студентам навыков самостоятельной работы с литературой с тем, чтобы на основе их анализа и обобщения студенты могли делать собственные выводы теоретического и практического характера, обосновывая их соответствующим образом. В отличие от теоретических семинаров, при проведении которых студент приобретает, в частности, навыки высказывания своих суждений и изложения мнений других авторов в устной форме, написание рефератов даст ему навыки лучше делать то же самое, но уже в письменной форме, грамотным языком и в хорошем стиле. Представляется, что в зависимости от содержания и назначения в учебном процессе рефераты можно подразделить на две основные группы (типы): научно-проблемные и обзорно-информационные.

Научно-проблемный реферат. При написании такого реферата студент должен изучить и кратко изложить имеющиеся в литературе суждения по определенному, спорному в теории, вопросу (проблеме) по данной изучаемой теме, высказать по этому вопросу

(проблеме) собственную точку зрения с соответствующим ее обоснованием. На основе написанных рефератов возможна организация «круглого стола» студентов данной учебной группы. В таких случаях может быть поставлен доклад студента, реферат которого преподавателем признан лучшим, с последующим обсуждением проблемы всей группой студентов. Обзорно-информационный реферат.

Разновидностями такого реферата могут быть:

1) краткое изложение основных положений той или иной книги, монографии, другого издания (или их частей: разделов, глав и т.д.) как правило, только что опубликованных, содержащих материалы, относящиеся к изучаемой теме по курсу дисциплины. По рефератам, содержание которых может представлять познавательный интерес для других студентов, целесообразно заслушивать в учебных группах сообщения их авторов;

2) подбор и краткое изложение содержания статей по определенной проблеме (теме, вопросу), опубликованных в различных журналах за тот или иной период, либо в сборниках («научных трудах», «ученых записках» и т.д.). Такой реферат может рассматриваться и как первоначальный этап в работе по теме курсовой работы.

Темы рефератов определяются преподавателем, ведущим занятия в студенческой группе.

Литература либо рекомендуется преподавателем, либо подбирается студентом самостоятельно, что является одним из элементов самостоятельной работы.

Объем реферата должен быть в пределах 15-20 страниц машинописного текста через 1,5 интервала.

При оформлении реферата необходимо ориентироваться на правила, установленные для оформления курсовых работ.

Написание реферата и его защита перед преподавателем или группой предполагает, что студент должен знать правила написания и оформления реферата, а также уметь подготовить сообщение по теме своего реферата, быть готовым отвечать на вопросы преподавателя и студентов по содержанию реферата.

Роль студента: идентична при подготовке информационного сообщения, но имеет особенности, касающиеся: выбора литературы (основной и дополнительной); изучения информации (уяснение логики материала источника, выбор основного материала, краткое изложение, формулирование выводов); оформления реферата согласно установленной форме.

Критерии оценки: актуальность темы; соответствие содержания теме; глубина проработки материала; грамотность и полнота использования источников; соответствие оформления реферата требованиям.

2 Организация и руководство аудиторной самостоятельной работы

Аудиторная самостоятельная работа по дисциплине выполняется на учебных занятиях под непосредственным руководством преподавателя и по его заданию.

Основными видами аудиторной самостоятельной работы являются:

- выполнение лабораторных/практических работ по инструкциям;
- работа с литературой и другими источниками информации, в том числе электронными;
- само- и взаимопроверка выполненных заданий;
- решение проблемных и ситуационных задач.

Выполнение лабораторных работ осуществляется на лабораторных занятиях в соответствии с графиком учебного процесса.

Для обеспечения самостоятельной работы преподавателями разрабатываются методические указания по выполнению лабораторной работы.

Работа с литературой, другими источниками информации, в т.ч. электронными может реализовываться на семинарских занятиях. Данные источники информации могут быть

представлены на бумажном и/или электронном носителях, в том числе, в сети Internet.

Преподаватель формулирует цель работы с данным источником информации, определяет время на проработку документа и форму отчетности. Само и взаимопроверка выполненных заданий чаще используется на семинарском, практическом занятии и имеет своей целью приобретение таких навыков как наблюдение, анализ ответов сокурсников, сверка собственных результатов с эталонами.

Решение проблемных и ситуационных задач используется на лекционном, семинарском, практическом и других видах занятий. Проблемная/ситуационная задача должна иметь четкую формулировку, к ней должны быть поставлены вопросы, ответы на которые необходимо найти и обосновать.

Критерии оценки правильности решения проблемной/ситуационной задачи должны быть известны всем обучающимся.

Методические рекомендации по выполнению лабораторных/практических занятий. Прежде чем приступить к выполнению лабораторного и практического занятия, необходимо: тщательно изучить содержание работы и порядок ее выполнения; повторить теоретический материал; подготовить таблицы для занесения результатов наблюдений и вычислений.

Работы выполняются в лабораториях кафедры в часы занятий по расписанию.

Лабораторные работы выполняются бригадами, обычно из 2-5 человек. В процессе работы каждый член бригады выполняет определенные обязанности. В последующих работах эти обязанности должны меняться так, чтобы каждый член бригады смог приобрести навыки по различным видам работ лабораторного исследования. При завершении работы студенты составляют письменный отчет о выполнении работы.

Требования к отчетам по лабораторным и практическим занятиям. Отчеты по лабораторным и практическим занятиям следует оформлять в тетради для каждого студента отдельно.

Отчет выполняется рукописным способом пастой синего цвета, четко и аккуратно или с применением печатающих устройств вывода ЭВМ (ПК).

Чертежи, схемы, рисунки и таблицы следует выполнять карандашом, по линейке (при ручном вычерчивании).

Ответы на контрольные вопросы прописываются в отчете и могут быть оформлены как на занятии, аудиторно, так и дома, внеаудиторно.

Отчет по каждой работе должен содержать:

- наименование работы;
- цель работы;
- основные приборы, материалы и оборудование;
- схемы (чертежи, рисунки), таблицы измерений, расчетов при необходимости;
- методы исследования;
- расчеты;
- графический материал (графики, характеристики, диаграммы) при необходимости;
- анализ полученных данных и выводы по работе;
- ответы на контрольные вопросы.

Критерии оценки:

- наличие отчета с правильно и аккуратно выполненными записями, таблицами, рисунками, чертежами, графиками, вычислениями и выводами;
- степень самостоятельности студента при выполнении работы;
- четкость проведения опыта в условиях и режимах, обеспечивающих получение результатов и выводов с наибольшей точностью;
- соблюдение требований безопасности труда;
- знание студентом ответов на контрольные вопросы.

1. Подготовка к зачету и экзамену

Каждый учебный семестр заканчивается зачетно-экзаменационной сессией.

Подготовка к зачетно-экзаменационной сессии, сдача зачетов и экзаменов является также самостоятельной работой студента.

Основное в подготовке к сессии – повторение всего учебного материала дисциплины, по которому необходимо сдавать зачет или экзамен. Только тот студент успевает, кто хорошо усвоил учебный материал.

Если студент плохо работал в семестре, пропускал лекции, слушал их невнимательно, не конспектировал, не изучал рекомендованную литературу, то в процессе подготовки к сессии ему придется не повторять уже знакомое, а заново в короткий срок изучать весь учебный материал.

Все это зачастую невозможно сделать из-за нехватки времени. Для такого студента подготовка к зачету или экзамену будет трудным, а иногда и непосильным делом, а конечный результат – возможное отчисление из учебного заведения.

ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ

1. Ассортимент и номенклатура бактериальных препаратов, применяемых в молочной промышленности.

2. Требования, предъявляемые к культурам молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий.

3. Применение дрожжевых культур в технологии бродильных производств.

4. Направления получения пищевого белка методами биотехнологии.

5. Применение ферментных препаратов в пищевой промышленности.

6. Виды пробиотиков и пребиотиков. Определение симбиотиков и синбиотиков.

7. Характеристика БАД-парафармацевтиков, получаемых методами биотехнологии.

8. Направления использования БАД в технологии продуктов функционального питания.

9. Методы лабораторного и производственного культивирования хлебопекарных дрожжей.

10. Биотехнология этилового спирта.

11. Биотехнологические процессы получения пищевых кислот.

12. Биотехнологические процессы получения интенсивных

подсластителей и сахарозаменителей, усилителей вкуса.

13. Биотехнология получения консервантов на примере низина и пропионовой кислоты.

14. Биотехнологические процессы получения нутрицевтиков.

15. Технология бактериальных заквасок и препаратов молочнокислых микроорганизмов.

16. Технология приготовления и использования заквасок на чистых культурах молочнокислых микроорганизмов.

17. Принципиальная технологическая схема получения товарных форм хлебопекарных дрожжей.

18. Особенности технологии белково-витаминных и белково-липидных концентратов на основе биомассы дрожжей.

19. Технология выделения ферментных препаратов из сырья животного происхождения.

20. Технология получения ферментных препаратов из культур микроорганизмов.

21. Получение пищевых красителей биотехнологическими методами на примере препаратов β -каротина.

ВОПРОСЫ ДЛЯ СОБЕСЕДОВАНИЯ

История формирования современной концепции здорового питания.

1. Классификация, номенклатура ферментных препаратов.
2. Источники получения ферментных препаратов.
3. Технология получения ферментных препаратов из культур микроорганизмов.
4. Способы культивирования микроорганизмов для получения ферментных препаратов.
5. Методы лабораторного культивирования хлебопекарных дрожжей.
6. Методы производственного культивирования хлебопекарных дрожжей.
7. Принципиальная технологическая схема получения товарных форм хлебопекарных дрожжей.
8. Биотехнология этилового спирта из сырья растительного происхождения.
9. Применение дрожжевых культур в технологии бродильных производств.
10. Ассортимент и номенклатура бактериальных препаратов, применяемых в молочной промышленности.
11. Требования, предъявляемые к культурам молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий.
12. Технология бактериальных заквасок и препаратов молочнокислых микроорганизмов.
13. Хлебопродукты.
14. Способы производства хлебопродуктов.
15. Пиво
16. Вино
17. Уксус
18. Направления получения пищевого белка методами биотехнологии.
19. Особенности технологии белково-витаминных и белково-липидных концентратов на основе биомассы дрожжей.
20. Классификация пищевых добавок и БАД к пище. Гигиеническая регламентация применения пищевых добавок.
21. Получение пищевых красителей биотехнологическими методами на примере препаратов β -каротина.
22. Получение и использование аминокислот
23. Получение липидов с помощью микроорганизмов
24. Биотехнологические процессы получения нутрицевтиков.
25. Виды пробиотиков. Технология получения пробиотиков на примере бактериального препарата «Бифидумбакетрин».
26. Характеристика БАД-парафармацевтиков, получаемых методами биотехнологии.
27. Взаимосвязь пищевой биотехнологии и трофологии – науки о питании.
28. Технология выделения ферментных препаратов из сырья

растительного происхождения.

29. Технология выделения ферментных препаратов из сырья животного происхождения.
30. Применение ферментных препаратов в пищевой промышленности.
31. Применение дрожжевых культур в технологии бродильных производств.
32. Классификация дрожжевых культур.
33. Технология бактериальных заквасок и препаратов молочнокислых микроорганизмов.
34. Производственные закваски.
35. Технология приготовления и использования заквасок на чистых культурах молочнокислых микроорганизмов.
36. Закваски прямого внесения.
37. Технология приготовления и использования заквасок на чистых культурах молочнокислых микроорганизмов.
38. Продукты гидролиза крахмала.
39. Патока.
40. Биотехнология этилового спирта из других видов сырья.
41. Сидр.
42. Технология игристых вин.
43. Технология коньяка и коньячных спиртов.
44. Биотехнологические процессы получения пищевых кислот (лимонной, уксусной, молочной).
45. Микрофлора для получения пищевых кислот.
46. Способы культивирования и питательные среды для производства пищевых кислот.
47. Биотехнологические процессы получения интенсивных подсластителей и сахарозаменителей, усилителей вкуса.
48. Биотехнология получения консервантов на примере низина и пропионовой кислоты.
49. Получение витаминов и их применение.