

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.В.ДВ.05.01 Пищевая биотехнология

Направление подготовки: 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции

Профиль подготовки: Технология производства и переработки продукции животноводства

Квалификация выпускника: бакалавр

Форма обучения: очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций	
1.1 Лекция № Л 1 Современное состояние пищевой биотехнологии в мире.	
1.2 Лекция № Л 2 Технология ферментных препаратов и их использование в пищевой промышленности	
1.3 Лекция № Л 3 Методы получения промышленных штаммов микроорганизмов.	
1.4 Лекция № Л 4 Технология ферментных препаратов и их использование в пищевой промышленности	
1.5 Лекция № Л 5 Технология получения и использования дрожжевых культур в пищевой промышленности.	
1.6 Лекция № Л 6 Биотехнологические процессы получения пищевых кислот.	
1.7 Лекция № Л 7 Получение пищевых веществ методами биотехнологии.	
1.8 Лекция № Л 8 Методы выделения, очистки и получения товарных форм целевых продуктов.	
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ	
2.1 Лабораторная работа № ЛР 1 Сырьевые ресурсы биотехнологии.	
2.2 Лабораторная работа № ЛР 2 Методы получения промышленных штаммов микроорганизмов.	
2.3 Лабораторная работа № ЛР 3 Технология ферментных препаратов и их использование в пищевой промышленности	
2.4 Лабораторная работа № ЛР 4 Изучение метода накопительных культур для выделения микроорганизмов разных физиологических групп	
2.5 Лабораторная работа № ЛР 5 Исследование влияния продолжительности брожения теста на показатели качества готового хлеба	
2.6 Лабораторная работа № ЛР 6 Ускоренный метод определения качества дрожжей	
2.7 Лабораторная работа № ЛР 7 Молоко как сырье для биотехнологических процессов	
2.8 Лабораторная работа № ЛР 8 Изучение биотехнологических основ приготовления сыра	
2.9 Лабораторная работа № ЛР 9 Изучение биотехнологических основ приготовления сыра	
2.10 Лабораторная работа № ЛР 10 Изучение процесса брожения при производстве кисломолочных продуктов. Кинетика нарастания кислотности	
2.11 Лабораторная работа № ЛР 11 Изучение процесса брожения при производстве кисломолочных продуктов. Кинетика нарастания кислотности	

- 2.12 Лабораторная работа № ЛР 12 Исследование влияния состава посолочных смесей на органолептические показатели и выход мясопродуктов
- 2.13 Лабораторная работа № ЛР 13 Технология получения мясопродуктов
- 2.14 Лабораторная работа № ЛР 14 Оценка качества муки
- 2.15 Лабораторная работа № ЛР 15 Тема LR15

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1.1 Лекция № 1 (2 часа)

Тема: Современное состояние пищевой биотехнологии в мире.

1.1.1 Вопросы лекции:

1.1. 1. История развития пищевой биотехнологии

1.2. 2. Основные термины и определения биотехнологии

1.3. 3. Требования, предъявляемые к микроорганизмам-продуцентам

1.1.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. История развития пищевой биотехнологии

Важность пищевой биотехнологии для специалистов в области товароведения и экспертизы определяется тем, что использование микроорганизмов или ферментных препаратов, биотехнологических процессов при производстве пищевых продуктов оказывает существенное влияние на потребительские свойства и показатели качества продовольственных товаров. Знание о биотехнологических процессах позволит товароведу-эксперту определить причины порчи продовольственных товаров и возникновения дефектов, приводящих к существенным количественным потерям товаров. Например, неправильное применение заквасок может привести к ухудшению качества и возникновению дефектов кисломолочной продукции. С другой стороны, использование новых штаммов микроорганизмов может придать продукту – пиву, вину и другим пищевым продуктам, – новые оригинальные оттенки вкуса и аромата. Применение ферментных препаратов и других соединений, полученных биотехнологическим способом, будет способствовать оптимизации и интенсификации технологических процессов производства пищевых продуктов, улучшению их свойств и продлению сроков хранения.

3.2. 2. Основные термины и определения биотехнологии

В биотехнологии обычно используются чистые культуры микроорганизмов-продуцентов, так как это позволяет получить продукт с заранее известными свойствами. Применяются штаммы микроорганизмов – микроорганизмы одного вида, выращенные в определенных условиях, вследствие чего обладающие определенными свойствами, которые отличаются от других чистых культур данного вида.

Не все микроорганизмы могут быть использованы в промышленных условиях, а лишь те микроорганизмы-продуценты, обладающие способностью под воздействием внешних факторов (состава среды, условий культивирования, температуры, pH среды и т.д.) образовывать в больших количествах преимущественно то соединение, которое является главным (целевым) продуктом данного производства.

3.3. 3. Требования, предъявляемые к микроорганизмам-продуцентам

К микроорганизмам-продуцентам предъявляется ряд обязательных требований. Микроорганизмы должны:

- расти на дешевых и доступных питательных средах;
- максимально усваивать питательные вещества среды;
- обладать высокой скоростью роста биомассы и давать высокий выход целевого продукта;
- проявлять синтетическую активность, направленную в сторону получения желаемого продукта; образование побочных продуктов должно быть незначительным;
- быть генетически однородными, стабильными в отношении продуктивности, требований к питательному субстрату и условиям культивирования;

- быть устойчивыми к фагам и другой посторонней микрофлоре;
- быть безвредными для людей (не обладать патогенными свойствами) и для окружающей среды;
- обладать хорошей способностью выделения.

Сверхсинтез, то есть способность микроорганизма синтезировать определенный продукт в количествах, превосходящих физиологические потребности, часто встречается в природе. Микроорганизмы с такими свойствами первыми были использованы в хозяйственной деятельности человека, и таким образом был проведен стихийный отбор наиболее продуктивных форм.

В промышленности применяют три вида штаммов: природные штаммы, нередко улучшенные естественным или искусственным отбором; штаммы, измененные в результате индуцированных мутаций; штаммы культуры, полученные методами генной или клеточной инженерии.

Часто путем отбора не удастся получить высокоактивные продуценты, поэтому возникает задача изменения природы организма в нужном направлении. Для этого используют методы селекции.

Селекция – это направленный отбор мутантов, то есть микроорганизмов, наследственные признаки которых претерпели изменения в нужном для человека направлении.

Природные штаммы микроорганизмов не обладают способностью выделять и накапливать в питательной среде такое количество нужного продукта, которое обеспечило бы низкую его стоимость и требуемый объем производства. Поэтому задачей селекции является не только усиление природной способности микроорганизмов продуцировать определенное вещество (ферменты, антибиотики, аминокислоты и т.д.), но во многих случаях и создание продуцента «заново» из штамма дикого типа, способного синтезировать вещество, но не способного его продуцировать. Эти задачи осуществляются получением у природных штаммов наследственных изменений – мутаций, влияющих на фенотип (физиологические и морфологические признаки) клетки. Спонтанные (происходящие случайным образом) мутации помогают микробным популяциям приспосабливаться к новым условиям существования. Мутации приводят к усилению природной способности микроорганизмов синтезировать и продуцировать определенное вещество, а также к появлению новой способности – синтезировать вещество в избытке (сверх своих потребностей) и продуцировать его. Для ускорения селекции используют индуцированный мутагенез, применяя мутагенные факторы физической, химической и биологической природы. К универсальным физическим мутагенам относятся ультрафиолетовое облучение (УФО), рентгеновские лучи и др.; химические факторы мутагенного воздействия - азотистый иприт, нитрозамины, четыреххлористый углерод и другие химикаты; биологическими мутагенами являются фаги (вирусы микроорганизмов).

1.2 Лекция № 2 (2 часа)

Тема: Технология ферментных препаратов и их использование в пищевой промышленности

1.2.1 Вопросы лекции:

1.1. 1. Мукомольное производство и хлебопечение

1.2. 2. Производство крахмала и крахмалопродуктов

1.2.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. Мукомольное производство и хлебопечение

Качество хлеба определяется особенностями химического состава муки и активностью ее ферментного комплекса. Значительное влияние оказывают также условия брожения и выпечки. Получить хлеб хорошего качества можно только в том случае, когда в процессе тестоведения гармонически сочетаются скорости микробиологических процессов и биохимических превращений. Ферментативный гидролиз высокомолекулярных компонентов сырья — белков и углеводов — в определенной степени способствует интенсификации этих превращений и, в конечном счете, положительно сказывается на качестве хлеба.

Если раньше в качестве источника ферментов использовали солод, то в последние годы все большие масштабы приобретает применение ферментных препаратов для регулирования биокаталитических процессов, протекающих при приготовлении теста и выпечки хлеба. Солод используется в основном для приготовления питательных сред (заварок) для жидких дрожжей, для активации прессованных дрожжей, а также при выпечке специальных сортов хлеба, например рижского.

Эффективность использования тех или иных ферментных препаратов в хлебопечении в значительной степени зависит от качества муки. Хлебопекарные свойства муки, в особенности качество клейковины и активность собственных ферментов, определяют требования к ферментным препаратам.

Основным препаратом, широко внедренным в хлебопекарную промышленность, является амилоризин П10Х. Препарат получают из поверхностной культуры *A. oryzae* осаждением этанолом. Он обладает амилолитической и протеолитической активностью. В соответствии с ГОСТом препарат должен удовлетворять следующим требованиям: амилолитическая способность — 2000 ед/г препарата; осахаривающая способность — 150 ед/г препарата; протеолитическая активность — 7 ед/г препарата. Кроме того, особо важное значение для хлебопекарной промышленности имеет степень обсемененности препарата спорами *Bac. mesentericus* (картофельная палочка) и *Bac. subtilis* (сенная палочка). Существенный признак поражения хлеба картофельной палочкой — тягучий мякиш и появление специфического неприятного запаха и вкуса. Поэтому на хлебозаводах при выработке хлеба с использованием препарата амилоризина П10Х каждую партию препарата проверяют на обсемененность спорами *Bac. mesentericus* (она не должна превышать величину 10⁵). Одним из требований, обуславливающих стабильность ферментных препаратов, является их строгая стандартизация. За рубежом для этой цели используют различные наполнители — сахар, крахмал, декстрины и т. п. В нашей стране наряду с этими наполнителями применяют сернокислый аммоний, именно он включен в ГОСТ на амилоризин П10Х.

Получить хлеб с надлежащей пористостью, объемом и окраской корки можно только в том случае, если на всех стадиях технологического процесса достаточно Сахаров, обеспечивающих интенсивность газообразования. Несмотря на присутствие в муке собственных Сахаров, хлеб, полученный за счет сбраживания только собственных Сахаров муки, не будет отвечать требованиям стандарта. При газообразовании только за счет собственных Сахаров муки максимум выделения диоксида углерода приходится на первые 1 — 2 часа брожения. Между тем в процессе хлебопечения газообразование в

тесте должно оставаться достаточно высоким и на последней стадии (расстойка и первые 10 — 15 минут выпечки). При наличии в муке активной β -Амилазы газообразование в процессе брожения теста идет по возрастающей и максимум приходится на 4 часа брожения. В противном случае для получения дополнительного количества сбраживаемых Сахаров и интенсификации процесса брожения необходимо применение амилолитических ферментных препаратов.

3.2. 2. Производство крахмала и крахмалопродуктов

Современная крахмало-паточная промышленность, используя в основном традиционные источники сырья — картофель и кукурузу, — вырабатывает большой ассортимент продукции, включающий десятки наименований, которые используются в различных отраслях промышленности. В первую очередь это отрасли пищевой промышленности (кондитерская, хлебопекарная, молочная, консервная, пищекопцентратная и т.д.), а также другие отрасли (медицинская, текстильная, полиграфическая и др.).

Основными продуктами крахмало-паточного производства являются:

- сухой крахмал;
- модифицированные крахмалы: расщепленные крахмалы (окисленные и набухающие); замещенные крахмалы (фосфатные, ацелированные, сополимеры крахмала);
- декстрины;
- различные виды крахмальных патоки: карамельная (38 — 44% РВ), карамельная низкоосахаренная (30 — 34% РВ), глюкозная высокоосахаренная (44 — 60% РВ), мальтозная (не менее 60% РВ);
- глюкоза (техническая, пищевая, кристаллическая);
- глюкозо-фруктозные сиропы.

В настоящее время в России ведется поиск новых источников крахмала и разработка новых технологических приемов с целью увеличения объема и расширения ассортимента вырабатываемых сахаристых крахмало-продуктов. Одним из таких перспективных видов крахмалсодержащего сырья является зерновое сорго, которое может быть использовано наряду с картофелем, кукурузой, рисом и пшеницей. Кроме того, ведется поиск и исследование новых амилолитических ферментных препаратов и способов ферментативного получения сахарных сиропов (гидролизатов) различного углеводного состава с учетом их целевого назначения.

Применение амилаз. Ферментные препараты амилаз нашли широкое применение в технологиях получения различных патоки и глюкозы.

Первой технологической операцией производства крахмальных гидролизатов является гидролиз крахмала. Его проводят кислотным, кислотно-ферментативным или ферментативным способом. Во всех случаях процесс гидролиза включает стадии клейстеризации крахмала, разжижения крахмального клейстера и его осахаривания.

Кислотный гидролиз в настоящее время осуществляется в основном, с применением соляной кислоты. При этом можно достичь различной степени гидролиза и получить гидролизаты с различной степенью осахаривания. Однако кислотный гидролиз крахмала, несмотря на дешевизну и быстроту процесса, имеет весьма существенные недостатки: получаемые гидролизаты имеют невысокое качество из-за присутствия в них продуктов деградации белков, а также минеральных примесей, которые образуются при нейтрализации кислоты после гидролиза.

Кислотно-ферментативным методом производят разжижение крахмала сначала кислотой, для этого суспензию крахмала подкисляют соляной кислотой до pH 1,8-2,5, нагревают до 140°C в течение 5 мин. Затем нейтрализуют раствором кальцинированной соды до pH 6,0 — 6,5 и охлаждают до 85°C, после чего добавляют ферментный препарат α -амилазы и ведут гидролиз в течение 30 мин.

1.3. Лекция № 3 (2 часа)

Тема: Методы получения промышленных штаммов микроорганизмов.

1.3.1 Вопросы лекции:

- 1.1. 1. Отбор штаммов микроорганизмов и работа с ними.
- 1.2. 2. Приготовление посевной микробной культуры.
- 1.3. 3. Приготовление и стерилизация питательных сред.
- 1.4. 4. Подготовка биореактора к посеву.

1.3.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. Отбор штаммов микроорганизмов и работа с ними.

Эталонные, или референтные, штаммы хранятся и поддерживаются на заданном уровне во ВГНКИ ветеринарных препаратов. Эти штаммы, в свою очередь, являются производственными, поскольку на их основе готовятся вакцины. При этом инактивированные вакцины, как правило, готовятся из высоковирулентных штаммов, а живые вакцины - из аттенуированных (ослабленных), авирулентных штаммов.

Наряду с производственными и эталонными штаммами во ВГНКИ хранятся контрольные штаммы, которые используют для оценки качества вакцинных препаратов.

Эти штаммы должны быть генетически однородными популяциями микроорганизмов со стабильными морфологическими, специфическими и биологическими свойствами. Основными требованиями к этим штаммам являются их высокие антигенные и иммуногенные свойства.

Антигенные свойства штаммов оцениваются по титру антител в сыворотке крови чувствительных животных через определенные сроки после введения им микроорганизмов.

Иммуногенные свойства штаммов определяются по устойчивости привитых животных к заражению возбудителем болезни определенной дозой контрольного (вирулентного) штамма и выражают 50%-ной дозой иммуногенности или по нарастанию титра антител в сыворотке крови. При этом 80% привитых животных должны быть невосприимчивы к инфекции, против которой их вакцинировали.

Безвредность (реактогенность) эталонного, производственного штамма проверяют по выраженности реакции у лабораторных и естественно-восприимчивых животных на 5-10-кратное увеличение прививочной дозы.

3.2. 2. Приготовление посевной микробной культуры.

Обычно производственное культивирование микроорганизмов при изготовлении вакцин осуществляют 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 флаконы емкостью 100-200 см³, заполненные по 50-150 мл производственной средой. Затем из флаконов делают высевы в большие емкости - бутыли объемом 18-20 литров. При хорошем накоплении микроорганизмов такую культуру вносят в реактор и называют посевной (матрачной, матровой, маточной). При этом нужно предварительно рассчитать необходимое количество посевной культуры для производственного культивирования микроорганизмов, исходя из посевной дозы, которая обычно составляет от 1 до 101% по объему. Посевные микробные культуры также контролируются на сохранение ими типичных морфологических, культурально-биохимических, антигенных и

3.3. 3. Приготовление и стерилизация питательных сред.

Одним из этапов получения биопрепаратов является культивирование микроорганизмов, которое невозможно без достаточного количества разнообразных

стандартных, эффективных и недорогих питательных сред (ПС). В этой связи представляется целесообразным рассмотреть основные принципы, лежащие в основе конструирования ПС, к которым относятся: - удовлетворение питательных потребностей микроорганизмов; - выбор сырьевых источников для конструирования ПС; - дифференциация ПС по целевому назначению; - оптимизация ПС; - стандартизация ПС. Удовлетворение питательных потребностей микроорганизмов. Основопологающим принципом конструирования ПС является полноценность, т.е. состав среды должен удовлетворять питательным потребностям культивируемых микроорганизмов. В процессе роста микроорганизмы потребляют из окружающей их питательной среды целый ряд разнообразных химических веществ, составляющих основу энергетического и конструктивного обмена в клетках. Поступление питательных веществ в цитоплазму может осуществляться через всю поверхность клетки, и связано с их диффузией, а также с действием специальных транспортных систем. Причем необходимые для роста и жизнедеятельности клетки элементы должны находиться в определенной, легкоусваиваемой форме. К основным компонентам, формирующим клеточное вещество, относятся: углерод, азот, кислород и водород. Содержание этих элементов в различных микроорганизмах практически постоянно. Синтетические возможности микроорганизмов и способы получения ими энергии разнообразны, следовательно, и очень индивидуальны их потребности в источниках питания. Отсюда ясно, что универсальных сред, одинаково пригодных для роста всех без исключения микроорганизмов и клеток не существует. Разнообразие микроорганизмов проявляется, прежде всего, в отношении к источникам углерода и азота. Эти элементы представлены в средах различными веществами, и именно они определяют специфичность сред. В зависимости от формы, в которой микроорганизмы используют необходимые им питательные вещества, их подразделяют на две большие группы: 1. Автотрофы — микроорганизмы, которые могут синтезировать вещества своей протоплазмы из простых неорганических соединений. Например, они ассимилируют углерод из углекислоты воздуха, азот из аммиака. 2. Гетеротрофы - микроорганизмы, для которых источником углерода и азота служат органические вещества. Они усваивают органические углеродсодержащие соединения: углеводы, органические кислоты, спирты и углеводороды. Наиболее доступные из источников углеродного питания - углеводы, такие как глюкоза, сахароза или мальтоза. В зависимости от типов используемых азотистых соединений микроорганизмы разделяют на две группы: 1. Протеолитические, расщепляющие высокомолекулярные белковые вещества и пептиды; 2. Дезаминирующие, требующие присутствия в среде готовых аминокислот, расщепление которых сопровождается выделением аммиака. Очень часто микроорганизмы и клетки нуждаются во многих природных аминокислотах, которые являются универсальными компонентами питания. Они целиком включаются в структуру клетки.

3.4. 4. Подготовка биореактора к посеву.

Для создания оптимальной биореакторной системы необходимо точно придерживаться следующей генеральной линии: • Биореактор должен быть сконструирован так, чтобы исключить попадание загрязняющих микроорганизмов, а также обеспечить сохранения требуемой микрофлоры. • Объем культивируемой смеси должен оставаться постоянным, т. е. чтобы не было утечки или испарения содержимого. • Уровень растворенного кислорода должен поддерживаться выше критических уровней аэрирования культуры аэробных организмов. • Параметры внешней среды, такие, как температура, рН и т. п., должны постоянно контролироваться. • Культура при выращивании должна быть хорошо перемешиваемая. К материалам, используемым при конструировании сложных, прецизионно работающих ферменторов, предъявляются определенные требования (порой весьма строгие): а) все материалы, вступающие в контакт с растворами, подающимися в биореактор, соприкасающиеся с культурой

микроорганизма, должны быть устойчивыми к коррозии, чтобы предотвратить загрязнения металлами даже в следовых количествах;

б) материалы должны быть нетоксичными и, чтобы даже при самой малой растворимости они не могли бы ингибировать рост культуры; в) компоненты и материалы биореактора должны выдерживать повторную стерилизацию паром под давлением; г) перемешивающая система биореактора и места поступления и выхода материалов и продуктов должны быть легко доступными и достаточно прочными, чтобы не деформироваться или ломаться при механических воздействиях; д) необходимо обеспечить визуальное наблюдение за средой и культурой, так что материалы, используемые в процессе, по возможности должны быть прозрачными.

ВЫРАЩИВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В РЕАКТОРЕ И КОНТРОЛЬ ЗА ПРОЦЕССОМ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ. Рассмотрим примеры особенностей культивирования некоторых микроорганизмов с применением: 1. Активной аэрации микробных культур. 2. В покоем состоянии без применения механических мешалок (без аэрации). 3. В состоянии анаэробноза. Промышленное культивирование микроорганизмов с применением активной аэрации. Процесс осуществляют в реакторах объёмом от 0,01 до 100 м³, как правило, в асептических условиях. Пустой аппарат тщательно моют, проверяют герметичность, стерильность и стерилизуют острым паром. Одновременно стерилизуют все коммуникации. Затем в реактор подают простерилизованную в УНС и охлажденную до 25- 35°С питательную среду, вносят посевной материал в количестве 5-10% объёма питательной среды (0,2-0,4 млрд. живых микробных клеток в 1 мл по оптической концентрации), включают систему аэрации и перемешивающее устройство. Так, например, для листерий и сальмонелл скорость вращения механической мешалки составляет 150-180 об/мин, а культура микробов аэрируется подогретым до 37°С очищенным, стерильным воздухом с коэффициентом подачи 1,5 л воздуха на 1 л среды в одну минуту. Коэффициент заполнения реактора обычно 0,5-0,8. Превышение этой величины может привести к значительному уносу пены с отходящим воздухом и нарушению асептических условий. Температуру культивирования поддерживают путём подачи охлаждающей воды в рубашку и другие теплообменные устройства аппарата. Оптимальная температура для разных микроорганизмов различна, обычно от 25 до 37°С. Для регулирования рН культуральной жидкости в ходе культивирования добавляют соответствующие титрующие агенты (щёлочи, кислоты, раствор аммиака и др.). Продолжительность выращивания микроорганизмов в культиваторе 18-24 ч, спорообразующих - 40-48 ч и 200-250 ч - для актиномицетов и микроскопических грибов. Процесс культивирования контролируют по показателям приборов - изменение температуры, рН, расход воздуха, частота вращения мешалки, рО₂, а также путём периодического отбора проб (через 1-12 ч в зависимости от длительности процесса). В отобранных пробах определяют содержание углеводов, общего и аммонийного азота, фосфора, биомассы, целевого продукта метаболизма, морфологию микробных клеток, наличие посторонней микрофлоры. Технология культивирования микроорганизмов в покоем состоянии без аэрации. Некоторые микроорганизмы относятся к группе микроаэрофильных (возбудители бруцеллёза, лептоспироза, кампилобактериоза и др.), которые не требуют принудительной аэрации питательной среды, в которой они выращиваются. Применяют баллонный и реакторный способы культивирования.

1.4 Лекция № 4 (2 часа)

Тема: Технология ферментных препаратов и их использование в пищевой промышленности

1.4.1 Вопросы лекции:

1.1. 1. Оксидоредуктазы

1.2. 2. Каталаза.

1.3. 3. Глюкозооксидаза.

1.4. 3. Липоксигеназа.

1.4.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. Оксидоредуктазы

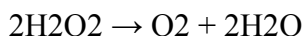
Этот фермент известен под различными тривиальными названиями: *о-дифенолоксидаза*, *тирозиназа*, *фенолаза*, *катехолаза* и др. Фермент может катализировать окисление моно-, ди-, и полифенолов. Типичная реакция, катализируемая полифенолоксидазой, имеет вид:



В зависимости от того, из какого источника выделен фермент, способность его к окислению различных фенолов различна. С действием этого фермента связано образование темноокрашенных соединений — *меланинов* при окислении кислородом воздуха аминокислоты *тирозина*. Потемнение срезов картофеля, яблок, грибов, персиков и других растительных тканей в большей степени или полностью зависит от действия полифенолоксидазы. В пищевой промышленности основной интерес к этому ферменту сосредоточен на предотвращении рассмотренного нами ферментативного потемнения, которое имеет место при сушке плодов и овощей, а также при производстве макаронных изделий из муки с повышенной активностью полифенолоксидазы. Эта цель может быть достигнута путем тепловой инактивации фермента (бланшировка) или добавлением ингибиторов (NaHSO_3 , SO_2 , NaCl). Положительная роль фермента проявляется при некоторых ферментативных процессах: например, при ферментации чая. Окисление дубильных веществ чая под действием полифенолоксидазы приводит к образованию темноокрашенных и ароматических соединений, которые определяют цвет и аромат черного чая.

3.2. 2. Каталаза.

Этот фермент катализирует разложение пероксида водорода по реакции:



Каталаза относится к группе гемопротеиновых ферментов. Содержит 4 атома железа на одну молекулу фермента. Функцией каталазы в живом организме является защита клетки от губительного действия перекиси водорода. Хорошим источником для получения промышленных препаратов каталазы являются культуры микроорганизмов и печень крупного рогатого скота. Каталаза находит свое применение в пищевой промышленности при удалении избытка H_2O_2 при обработке молока в сыроделии, где пероксид водорода

используется в качестве консерванта; а также совместно с глюкозооксидазой применяется для удаления кислорода и следов глюкозы.

3.3. 3. Глюкозооксидаза.

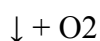
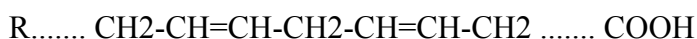
Этот фермент представляет собой флавопротеид, в котором белок соединен с двумя молекулами ФАД (активная форма витамина В2). Он окисляет глюкозу с образованием в конечном счете глюконовой кислоты и обладает практически абсолютной специфичностью по отношению к глюкозе. Суммарное уравнение имеет следующий вид:



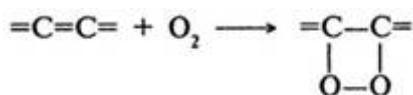
Высокоочищенные препараты глюкозооксидазы получают из плесневых грибов рода *Aspergillus* и *Penicillium*. Препараты глюкозооксидазы нашли применение в пищевой промышленности как для удаления следов глюкозы, так и для удаления следов кислорода. Первое необходимо при обработке пищевых продуктов, качество и аромат которых ухудшаются из-за того, что в них содержатся восстанавливающие сахара; например, при получении из яиц сухого яичного порошка. Глюкоза при сушке и хранении яичного порошка, особенно при повышенной температуре, легко вступает в реакцию с аминными группами аминокислот и белков. Порошок темнеет, и образуется ряд веществ с неприятным вкусом и запахом. Второе — необходимо при обработке продуктов, в которых длительное присутствие небольших количеств кислорода приводит к изменению аромата и цвета (пиво, вино, фруктовые соки, майонез). Во всех подобных случаях в ферментную систему включают каталазу, разлагающую H_2O_2 , которая образуется при реакции глюкозы с кислородом.

3.4. 3. Липоксигеназа.

Этот фермент катализирует окисление полиненасыщенных высокомолекулярных жирных кислот (линолевой и линоленовой) кислородом воздуха с образованием высокотоксичных гидроперекисей. Ниже приведена реакция, катализируемая этим ферментом:



Возможно образование и циклических гидроперекисей по следующей схеме:



Однако основное количество жирных кислот превращается в гидроперекиси, обладающие сильными окислительными свойствами, и именно на этом основано использование липоксигеназы в пищевой промышленности.

1.5. Лекция № 5 (2 часа)

Тема: Технология получения и использования дрожжевых культур в пищевой промышленности.

1.5.1 Вопросы лекции:

1.1. 1. Методы лабораторного культивирования хлебопекарский дрожжей

1.2. 2. Технологическая схема

1.3. 3. Биотехнология этилового спирта

1.5.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. Методы лабораторного культивирования хлебопекарский дрожжей

технологический процесс выращивания дрожжей складывается из отдельных основных этапов: приготовление питательной среды, выращивание дрожжей, выделение, формовка и упаковка прессованных дрожжей, сушка и упаковка сушеной продукции. Приготовление питательной среды. Под питательной средой понимают растворы мелассы, а также растворы азот- и фосфорсодержащих солей. Густую мелассу из мелассохранилищ передают в сборник 1, где хранится суточный запас ее. Из сборника 1 мелассу направляют на весы 2, откуда после взвешивания передают в сборник для разбавления мелассы 3, где ее разводят водой. Этот процесс называют разбавлением. Затем раствор мелассы подают на кларификаторы 4, где происходит освобождение ее от механических примесей - этот процесс называют осветлением. Осветленную мелассу насосом перекачивают в приточные сборники для мелассы 7, откуда ее подают в дрожжерастильные аппараты. Азот- и фосфорсодержащие соли растворяют отдельно в специальных емкостях водой и используют для питания дрожжей в виде растворов, которые подают в дрожжерастильные аппараты из приточных сборников для солей 5, 6. Для каждой соли используют отдельные резервуары как для растворения ее, так и для притока. Выращивание дрожжей. Этот этап является основным в производстве хлебопекарных дрожжей. Выращиванием дрожжей называют процесс размножения клеток дрожжей, когда из небольшого количества засеваемых в питательную среду клеток постепенно, путем ряда последовательных стадий получают большое количество дрожжей, используемых в ряде отраслей промышленности, и прежде всего в хлебопекарной. Процесс выращивания дрожжей складывается из двух этапов: получения маточных и товарных дрожжей. Маточные дрожжи сначала получают в лаборатории завода, а затем в цехе чистых культур, для чего используют дрожжерастильные аппараты 8 и 9. Прежде всего получают дрожжи чистой культуры (ЧК), а из них - дрожжи естественно-чистой культуры (ЕЧК). Чистой культурой называют дрожжи, выращенные из одной клетки, без примеси посторонних микроорганизмов. Первые стадии размножения дрожжей ЧК проходят в лаборатории завода, затем в цехе чистых культур и, наконец, в производственном дрожжерастильном аппарате, предназначенном для выведения чистой и естественно-чистой культуры. Естественно-чистой культурой называют дрожжи, содержащие незначительное количество посторонних микроорганизмов и используемые в качестве засевного материала для выращивания товарных дрожжей. Товарные дрожжи на отечественных дрожжевых заводах получают в две стадии: стадия Б —засевные дрожжи, которые выращивают в аппарате 10 и стадия В — товарные дрожжи, которые выращивают в аппарате 11 с созреванием в аппарате 12. Выделение дрожжей. Выросшие маточные и товарные дрожжи выделяют из культуральной среды (среды, в которой они размножались), промывают холодной водой и сгущают до концентрации 500—600 г/л на специальных машинах - сепараторах 13, 15. Для промывки дрожжей используют специальные бачки 14. Сгущенные дрожжи называют дрожжевым молоком. Их после сепарирования направляют в специальные сборники дрожжевого молока. Дрожжевое молоко маточных дрожжей помещают в сборники 23, а товарных дрожжей - в сборники 24. при сепарировании

отделяется до 80% жидкости. Окончательное отделение дрожжей от жидкости происходит на специальных машинах, называемых вакуум-фильтрами или фильтр-прессами (16), в которые подают дрожжевое молоко из сборников. При этом дрожжи приобретают плотную консистенцию и форму пластин или пластов различной толщины. Формовка и упаковка дрожжей. Пластины дрожжей от вакуум-фильтров или фильтр-прессов транспортером подают в бункер 17 формовочно-упаковочного автомата 18, где они формируются в бруски различной массы и упаковываются в специальную этикеточную бумагу. Сушка и упаковка сушеной продукции. На некоторых дрожжевых заводах прессованные дрожжи, минуя формовку, направляют в сушильные агрегаты (сушилки), где им придают форму вермишели, измельчают и затем высушивают. Сушеные дрожжи имеют форму гранул. Высушенные дрожжи упаковывают вручную в крафт-мешки с полиэтиленовым вкладышем, либо в ящики с подпергаментной бумагой или расфасовывают на специальных машинах в герметичную упаковку – жестяные банки.

1.2 Способы культивирования и показатели процесса

При выращивании дрожжей применяют способы, различающиеся режимом подачи питательных веществ, воздуха и длительностью процесса. При этом различают бесприточный, воздушно-приточный, воздушно-проточный способы. Бесприточный способ культивирования применяется при получении маточных дрожжей. По этому способу все питательные вещества в воду подают сразу при загрузке аппарата. Воздух при этом либо не подают совсем, либо подают периодически, либо небольшое количество на протяжении всего периода культивирования. Воздушно-приточным называется способ, при котором дрожжи выращивают с постоянной подачей воздуха и постепенным притоком питательной среды в дрожжерастительный аппарат. Такой режим называется периодическим. Его обычно используют при получении последних стадий маточных дрожжей, а также товарных дрожжей. Воздушно-проточным называется способ, при котором дрожжи выращивают с постоянной подачей воздуха и одновременным притоком питательной среды в дрожжерастительный аппарат и оттоком культуральной среды с дрожжами в отборочный. При этом в течение 6-7 часов дрожжи накапливаются в дрожжерастительном аппарате – этот период называется накопительным. Через 6-7 часов начинается отток среды с дрожжами из дрожжерастительного аппарата в отборочный аппарат – отточный период, или отборочный, который длится 20-30 часов и более – удлинённый или непрерывный режим. Накопительный период протекает в основном в дрожжерастительном аппарате, куда непрерывно подается питательная среда и воздух. При этом дрожжевые клетки так же, как и при периодическом способе, проходят лаг-фазу и фазу логарифмического роста, которая длится непрерывно. В первые часы наблюдается синхронное отпочковывание дочерних клеток с невысоким коэффициентом часового прироста (1,08-1,10), затем прирост увеличивается и к 5-му и 6-му часу коэффициент часового прироста достигает величины прироста достигает величины 1,20-1,25. в культуральной среде при этом накапливается максимально возможное количество дрожжей, так называемая «рабочая биомасса», после чего начинается период непрерывного размножения, или отборочный период. В этот период в основном дрожжерастительном аппарате клетки находятся в стадии логарифмического роста и устанавливается постоянное соотношение клеток по величине и ферментативной активности. Количество крупных клеток составляет 20%, средних 55% и мелких не более 25-30%. Отборочный период может длиться бесконечно долго при соблюдении следующих условий: - обеспечение дрожжевых клеток необходимыми питательными и ростовыми веществами, а также кислородом в достаточном количестве; - непрерывный вывод из дрожжерастительного аппарата продуктов обмена (метаболизма) клеток, тормозящих их рост и размножение; - непрерывный отбор из основного дрожжерастительного аппарата прирастающей биомассы. Стационарная фаза развития дрожжей в непрерывном процессе наступает лишь в отборочном аппарате, куда питательные вещества не поступают и откуда непрерывно отбирается прирастающая биомасса. Таким образом, выращиваемые в основном аппарате дрожжи характеризуются

активностью ферментных систем, т.е. способностью к активному росту и размножению с постоянной, установленной для данного аппарата и перерабатываемого сырья скоростью. От правильного ведения этого процесса в отборочном аппарате засвистит в основном качество дрожжей.

1.3 Основные рассчитываемые показатели Выход дрожжей Основным показателем эффективности материальных затрат и дрожжевой промышленности является выход дрожжей. Под выходом дрожжей понимают количество дрожжей, отнесенное к переработанной мелассе и выраженное в процентах. Выход дрожжей V рассчитывают по формуле: $V = D \cdot 100 / M$ где D — количество полученных дрожжей, кг; M — количество израсходованной мелассы, кг. Выход дрожжей на разных заводах различен и зависит от конструкции оборудования, технологической схемы, качества сырья и материалов, снабжения электроэнергией, водой, паром и т. д. Расчет расхода мелассы на 1 т дрожжей На дрожжевых заводах при расчете расхода мелассы с содержанием 46% сахара за основу берут выход и выработку дрожжей, которые запланированы вышестоящей организацией в зависимости от технического состояния предприятия и его мощности. Расход мелассы M по заводу, а также по каждой стадии рассчитывают по формуле $M = D \cdot 100 / V$ где D — количество дрожжей, кг; V — выход дрожжей, %.

3.2. 2. Технологическая схема

Основным источником питательных веществ для дрожжей является свекловичная меласса, представляющая собой густую сиропообразную жидкость. Характеристика мелассы В состав мелассы входят сахара (углеводы), несахара и вода. Основной частью углеводов мелассы является сахароза $C_{12}H_{22}O_{11}$, количество которой колеблется в пределах 40—50% в отдельных случаях 54-56%. Кроме сахарозы в мелассе содержится инвертный сахар и рафиноза. Инвертный сахар (смесь глюкозы $C_6H_{12}O_6$ и фруктозы $C_6H_{12}O_6$) мелассы частично поступает из свеклы, где он содержится в количестве 0,1-0,2%. Содержание инвертного сахара значительно увеличивается в подгнившее и замороженной свекле. Значительна я часть инвертного сахара образуется в результате гидролитического расщепления сахара в процессе сахароварения. Продукты инверсии — глюкоза и фруктоза — снижают содержание сахарозы и ухудшают качество мелассы, так как в процессе сахароварения они превращаются в кислоты и красящие вещества. Рафиноза находится в свекле в количестве 0,01-0,03%. Она устойчива к высоким температурам и действию щелочей при производстве сахара, поэтому полностью переходит в мелассу и ее содержание достигает иногда 2%. Рафиноза $C_{18}H_{32}O_{16}$ представляет собой трисахарид, состоящий из галактозы, фруктозы и глюкозы. В дрожжевом производстве содержание углеводов в мелассе учитывают по сумме сбраживаемых сахаров, которая представляет собой общее количество сахарозы, инвертного сахара и 1/3 рафинозы.

Общее количество неорганических веществ определяют по составу золы, которое колеблется в зависимости от почвенных и климатических условий выращивания свеклы. При выращивании хлебопекарных дрожжей большое значение для накопления биомассы имеет не только абсолютное содержание золы, но и соотношение зольных веществ и сахаров. Так, в полноценной мелассе на каждые 100 г углеводов должно приходиться не менее 15 г золы, или 8—10% по отношению к мелассе. В состав органических несахаров мелассы входят азотсодержащие и безазотистые соединения. Азотсодержащие вещества состоят из продуктов распада белков - аминокислот, амидов и аммонийного азота, усваиваемых дрожжами. Большая часть азота является азотом бетаина, который дрожжами не усваивается. Безазотистые вещества состоят из органических кислот щавелевой, янтарной, глутаровой и др.), летучих органических кислот (уксусной, муравьиной, масляной, пропионовой), а также из карамелей - продуктов конденсации углеводов, образовавшихся под воздействием высоких температур в процессе получения сахара. Вода в мелассе содержится в свободном и в связанном состоянии в количестве около 20%. Кроме того, в мелассе имеются ростовые вещества - биотин, пантотеновая кислота, инозит, аневрин, рибофлавин, пиридоксин, никотиновая и фолиевая кислоты и микроэлементы: кобальт (Co), бор (B), железо (Fe), медь (Cu) марганец (Mn), молибден (Mo). цинк (Zn). Большую роль в развитии дрожжей играет

реакция (pH) мелассы и наличие в ней вредных примесей. Полноценной мелассой считается меласса нейтральная, слабощелочная (pH 7,1—8,5) и слабокислая (pH 6,3—6,9). Кислая меласса (pH ниже 6,5) не пригодна для длительного хранения. Наличие большого количества красящих веществ в мелассе тормозит рост дрожжей и ухудшает их качество.

Содержание в мелассе таких вредных примесей, как сернистый ангидрид и летучие кислоты, в настоящее время не имеет столь большого значения, как раньше, поскольку за последние годы мелассы с повышенным содержанием сернистого ангидрида практически совсем не встречаются, а большая часть летучих кислот находится в мелассе в связанном состоянии в виде солей, значительно менее вредных для дрожжей. Мелассу, поступающую на дрожжевые заводы, можно разделить, на три основные группы: - меласса нормальная, соответствующая установленной норме; - неполноценная меласса, содержащая недостаточное количество веществ, необходимых для нормального роста дрожжей; - дефектная меласса, содержащая вредные примеси, тормозящие рост дрожжей (летучие кислоты, сернистый ангидрид, активные нитритообразующие бактерии), меласса с повышенной цветностью. Нормальная меласса перерабатывается в дрожжевом производстве по принятым технологическим режимам без нормализации состава, т. е. в основном без добавления активаторов роста и калийного питания. Влияние состава мелассы на накопление биомассы и качество дрожжей. При выращивании дрожжей на мелассе важно знать количество в ней азота, усваиваемого растущими клетками количество ростовых и зольных веществ. Азотистые вещества.

Меласса, содержащая недостаточное количество азотистых веществ, является неполноценным сырьем для производства дрожжей критерием оценки пригодности мелассы для производства является содержание легкоусваиваемого азота аминокислот. В мелассе содержится 17 аминокислот, при этом преобладают аспарагиновая и глутаминовая, ускоряющие рост дрожжей. Ростовые вещества (биотин). Для нормального развития дрожжей обязательно требуется наличие в среде веществ, стимулирующих накопление биомассы (биотина, инозита и пантотеновой кислоты). Все эти ростовые вещества содержатся в свекловичной мелассе в следующих количествах (мкг/кг): инозит 5 770 000—8 000 000, пантотеновая кислота 50 000—110 000, биотин 40—140. При этом количество инозита и пантотеновой кислоты обычно соответствует или несколько превышает то количество, которое необходимо для быстрого накопления биомассы с высоким выходом готовой продукции на единицу сырья. Содержание же биотина даже в мелассах хорошего качества обычно не достигает требуемой нормы (200—250 мкг/кг). Поэтому при оценке пригодности свекловичной мелассы содержание биотина является очень важным показателем. Содержание биотина в мелассе, поступающей на дрожжевые заводы, колеблется в широких пределах - от 40-140 мкг/кг и в среднем составляет 83 мкг/кг, причем партии мелассы с более высоким содержанием биотина (115-140 мкг/кг) встречаются редко. Таким образом, по содержанию биотина свекловичная меласса не удовлетворяет требованиям современного дрожжевого производства.

3.3. 3. Биотехнология этилового спирта

Основными промышленными продуцентами являются дрожжи *Sacch.cerevisiae*. Перспективным является использование дрожжей рода *Candida*, способных сбраживать пентозы сульфитных щелоков; дрожжей *Kluyveromyces fragilis* и *Kl. Lactic*, ассимилирующих лактозу (молочная сыворотка). Некоторые дрожжевые культуры – продуценты этанола обладают высокой амилазной активностью (*Candida fennica*); дрожжи *S.tropicalis*, *Kluyveromyces marxianus* образуют этанол из D-ксилозы в аэробных условиях; дрожжи *Pichia stipitis* и *C.shehata* могут использоваться для производства этилового спирта из гидролизатов растительного сырья.

Промышленные способы предусматривают использование трех видов сырья: сахаросодержащие (меласса, сок сахарной свеклы и сахарного тростника); крахмалсодержащее (ячменное и злаковое сусло, кукурузный сироп, рис);

целлюлозосодержащее (гидролизаты древесины, сульфитный щелок, початки кукурузы, картофельная мезга, злаковая солома).

Для гидролиза (осахаривания) крахмалсодержащего сырья используют препараты α -амилазы, в т.ч. иммобилизованные; культуры дрожжей, обладающих высокой амилазной активностью. При использовании злаковой муки ее предварительно растворяют при температуре 70-80°C. Гидролиз крахмала осуществляют при 50-60°C, pH 6,0-6,5.

Целлюлозосодержащее сырье подвергают кислотному гидролизу при pH 1,8-2,2 (слабой серной кислотой) и нейтрализуют до pH, оптимального для культивирования продуцента (4,5-5,5).

Посевной материал дрожжей выращивают при 28-30°C; pH 4,2-4,5; аэрации, как правило, на мелассных или крахмалсодержащих средах.

Способы промышленной ферментации:

- глубинное периодическое культивирование, продуктивность 1,8-2,5 г/л*ч (*Zygomonas mobilis* – чувствительны к этанолу);

- отъемно-доливной метод, позволяет повысить выход спирта в 2-2,5 раза;

- непрерывная ферментация, осуществляется в каскаде бродильных аппаратов; дрожжи выделенные на стадии сепарации рециклируют или концентрируют и высушивают (5-6 г/л*ч);

- вакуумный процесс – представляет собой одностадийное проточное культивирование; дрожжи рециклируют, культуральную жидкость упаривают под вакуумом (удаляют этанол, CO₂) и возвращают в ферментатор (20 г/л*ч);

- непрерывная ферментация с применением флорулирующих продуцентов и иммобилизованных клеток (30-50 г/л*ч).

В настоящее время наиболее распространенным способом является двухпоточная схема культивирования дрожжей на мелассных средах с добавлением фосфатов K, Mg, Ca, солей аммония и мочевины.

1.6 Лекция № 6 (2 часа)

Тема: Биотехнологические процессы получения пищевых кислот.

1.6.1 Вопросы лекции:

1.1. 1. Молочная кислота

1.2. 2. Лимонная кислота

1.6.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. Молочная кислота

Органические кислоты можно получать как на основе брожения лактозы, так и на основе окисления лактозы в молочной сыворотке.

Молочная кислота может иметь оптические формы: D (-); L (+) или DL (-+). Форма образуемой кислоты характерна для различных видов микроорганизмов и служит одним из признаков при их идентификации. Так, молочнокислые палочки *L. bulgaricus*, *L. lactis* при брожении лактозы образуют D (-) молочную кислоту; *L. casei* var *casei* – L (+), а *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. jogurt* – DL (-+) форму.

Для промышленного производства молочной кислоты в качестве продуцента используют *L. bulgaricus* и *L. acidophilus*. Эти микроорганизмы могут превращать более 90 % лактозы в молочную кислоту. Кроме того *L. bulgaricus* может развиваться при сравнительно высокой температуре 45-50 °C, когда затруднено развитие посторонней микрофлоры.

Процесс получения молочной кислоты из молочной сыворотки состоит из следующих операций: приемка и оценка качества сырья; подготовка посевного материала микроорганизма-продуцента; подготовка питательной среды для брожения; проведение брожения; обработка сброженного сусла; получение чистой молочной кислоты из лактата кальция.

Сырьем для производства молочной кислоты служит молочная сыворотка всех видов. Посевной материал или закваску готовят на пастеризованной молочной сыворотке в несколько этапов. Вначале стерилизованное обезжиренное молоко в колбе засевают чистой культурой микроорганизма-продуцента. Сбраживание длится 24 ч при температуре 40-43 °C. приготовленную культуру используют для засева большей порции пастеризованного обезжиренного молока. Режимы выращивания культуры те же. Вновь полученная культура используется для засева пастеризованной молочной сыворотки (маточник), которая и служит посевным материалом и вносится в производственный ферментер в количестве 10 % от объема производственной питательной среды. Температура культивирования 40-43 °C, продолжительность – 24 ч.

Молочную сыворотку, очищенную от казеиновой пыли и жира, пастеризуют при температуре 70-75 °C с выдержкой в течение 60 мин, нейтрализуют молочную кислоту (если сыворотка кислая) и охлаждают до 45 °C. В подготовленную питательную среду (затор) добавляют мел в количестве 2 % к массе лактозы, содержащейся в питательной среде. В подготовленную смесь вносят посевной материал из расчета 5-10 %. Количество посевного материала зависит от активности штаммов и запрограммированной продолжительности брожения. Процесс брожения проводят в ферментерах, имеющих паровую рубашку и мешалку. Температуру брожения поддерживают в пределах 40-43 °C. Через каждые 6 ч к бродящему суслу добавляют болтушку из гашеной извести для связывания излишней молочной кислоты. Свободная молочная кислота не должна превышать 0,6 % (65-70 ОТ). Нейтрализация позволяет сократить продолжительность брожения и увеличивает выход молочной кислоты. В конце брожения содержание молочной кислоты не должно превышать 0,1 % (10-12 ОТ). При проведении нейтрализации необходимо учитывать, что для проведения нейтрализации каждые 18 частей молочной кислоты требуется 10 частей химически чистого мела. Используют для этих целей обычно технический мел, который содержит 60-65 % карбоната кальция, что

необходимо учитывать при расчетах. Для расчета количества молочной кислоты считают, что каждый 1 ОТ эквивалентен 0,009 % молочной кислоты. При проведении нейтрализации среда тщательно перемешивается.

3.2. 2. Лимонная кислота

Получать лимонную кислоту можно двумя способами: поверхностным и глубинным. Технологический процесс производства лимонной кислоты включает следующие операции: приемка сырья, оценка его качества, сортировка; подготовка сыворотки к ферментации; ферментация сыворотки и получение сброженного раствора; обработка сброженного раствора и получение лимонной кислоты.

В качестве сырья используют подсырную сыворотку с pH 4,0-5,0. отобранную сыворотку стерилизуют при давлении 0,106-0,108 МПа в течение 30 мин, охлаждают до температуры 25-28 °С, устанавливают pH 4,5 и инокулируют суспензией спор гриба *A.niger*. Качество посевного материала определяют по количеству спор в 1 мл. Их должно быть не менее $3 \cdot 10^6$ спор/мл. Количество посевного материала должно быть 5-10 %-. Процесс ферментации ведут при температуре 25-28 °С в течение 6 суток. Конец процесса определяют по количеству оставшейся лактозы (0,5 %). По окончании процесса ферментации удаляют мицелий гриба фильтрацией или центрифугированием и направляют на кормопроизводство. Сброженный раствор (субстрат) направляют на обработку. Для этого готовят известковое молоко (40 %-й раствор), вносят его в субстрат из расчета 43,5 л на 1 т, смесь перемешивают, выдерживают два часа для завершения реакции и выделяют кальциевую соль лимонной кислоты фильтрацией или центрифугированием. Фильтрат идет на переработку (кормопроизводство), цитрат кальция на получение водного раствора лимонной кислоты. Разложение цитрата кальция проводят серной кислотой 20 %-ной концентрации. Количество серной кислоты берут из расчета 75 л/т. Раствор перемешивают и выдерживают 1,5 ч для завершения реакции. После чего осадок удаляют фильтрацией или центрифугированием, а водный раствор лимонной кислоты упаривают до нужной концентрации. Выход лимонной кислоты составляет 19,8 кг из 1 т сыворотки.

Глубинный способ получения лимонной кислоты считается более эффективным. Технологический процесс производства этим способом включает следующие операции: подготовка молочной сыворотки к ферментации; инокуляция среды суспензией спор гриба-продуцента и ферментация; обработка сброженной сыворотки и получение водного раствора лимонной кислоты; концентрация водного раствора кислоты; кристаллизация лимонной кислоты; отделение и сушка кристаллов лимонной кислоты.

Для выработки лимонной кислоты этим способом пригодны все виды молочной сыворотки. Сыворотку очищают от сывороточных белков тепловым методом, денатурированные белки отделяют, а безбелковую фракцию раскисляют до pH 6,25-6,50 и повторно фильтруют или центрифугируют для отделения дополнительно денатурированных белковых соединений. После этого очищенную сыворотку сгущают на вакуум-выпарном аппарате в 2-4 раза, сгущенную сыворотку подкисляют до pH 4,5 серной или соляной кислотой и направляют на стерилизацию. Стерилизуют подготовленную сгущенную сыворотку при давлении 0,106-0,108 МПа в течение 30 мин и охлаждают до 35-39 °С. На этом этап подготовки молочной сыворотки к ферментации считают законченным.

Засев подготовленной сгущенной сыворотки спорами гриба аналогичен поверхностному способу. Количество посевного материала колеблется в пределах 5-10 %. Процесс ферментации протекает при температуре 32-35 °С в течение 2,5-3,5 суток. В процессе ферментации в среду вносят минеральные соли и обильное количество стерильного воздуха. Конец ферментации определяют по количеству оставшейся лактозы (0,5 %). По окончании ферментации мицелий гриба отделяют фильтрацией и направляют на кормопроизводство, а сброженный раствор на дальнейшую переработку. Лимонную

кислоту с помощью известкового молока переводят в соль – цитрат кальция. Лимонную кислоту в виде соли отделяют центрифугированием или фильтрацией, а фильтрат используют в кормопроизводстве. Цитрат кальция разлагают серной кислотой 96 %-й концентрации. Осадок сернокислого кальция удаляют центрифугированием или фильтрацией, а водный раствор лимонной кислоты направляют на упаривание. Для получения пересыщенного раствора лимонной кислоты используют вакуум-выпарные аппараты. Температуру сгущения поддерживают в пределах 65-70 0С, а концентрация пересыщенного раствора составляет 71-72 %. Кристаллизацию лимонной кислоты из пересыщенного раствора осуществляют в несколько этапов, изменяя скорость охлаждения раствора:

Температурный интервал, 0С 70 → 37 37 → 27 27 → 22 22 → 08 Скорость охлаждения, 0С в час 20,0 10,0 5,0 3,0

В конце кристаллизации раствор выдерживают в течение 30 мин для созревания кристаллов. Выкристаллизовавшуюся молочную кислоту отделяют от маточного раствора центрифугированием. Влажные кристаллы с массовой долей влаги 2-3 % направляют на сушку. Сушат продукт на барабанных сушилках из кислотоустойчивой стали. Температура воздуха на входе в сушилку не должна превышать 70 0С, а на выходе – 35 0С.

Маточные растворы, после отделения из них кристаллов, не смешивают между собой и основным раствором лимонной кислоты, чтобы не снизить качество готового продукта. Первый маточный раствор сгущают и кристаллизуют, получая второй маточный раствор (может быть и третий). Для повышения качества лимонной кислоты вторичные маточные растворы обрабатывают активированным углем (1...2 %) при температуре 70 0С в течение 30 мин.

1.7 Лекция № 7 (2 часа)

Тема: Получение пищевых веществ методами биотехнологии.

1.7.1 Вопросы лекции:

1.1. 1. Получение биомассы дрожжей с высоким (не менее 50 % от АСБ) содержанием белка;

1.2. 2. Направленный синтез белков микромицетами;

1.3. 3. Выращивание макромицетов в условиях биореактора;

1.7.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. Получение биомассы дрожжей с высоким (не менее 50 % от АСБ) содержанием белка.

Дрожжи содержат 40 - 55 % белка и усваиваются организмом человека на 85 - 88 %, занимая по этому показателю промежуточное положение между белками растительного и животного происхождения. Белок дрожжей обычно беден метионином и цистеином, но богат лизином и треонином. Отсюда очевидна целесообразность его переработки вместе с белками зерновых культур.

В Великобритании, Франции, США, Нидерландах получают белковые экстракты из дрожжей в виде паст или порошкообразных продуктов. Дрожжевые экстракты содержат от 30 до 55 % белка и используются при производстве консервов, пищевых концентратов первых и вторых блюд, хлебобулочных, кондитерских и колбасных изделий, плавленых сыров. Добавление дрожжевых паст и порошков обычно не превышает 1,5 - 10 % массы пищевого продукта. В нашей стране были также разработаны технологии белковых пищевых добавок на основе хлебопекарных и пивных осадочных дрожжей, ферментативных гидролизатов и белковых изолятов из дрожжевой и бактериальной биомасс, выращенных на пищевых и непищевых питательных средах (меласса, этанол, метанол, природный газ, н-парафины).

На основе исследований, проводившихся во ВНИИСинтезбелок, была разработана технология высокомолекулярных белковых изолятов из дрожжей и бактерий. Технологическая схема включает следующие основные этапы: дезинтеграция клеток микроорганизмов в водной суспензии на установке, основанной на принципе декомпрессии, щелочная экстракция клеточных белков, нейтрализация, отделение остатков клеточных структур от белкового экстракта, очистка и сгущение последнего на ультрафильтрационных установках и обезвоживание. Белковые изоляты из микроорганизмов содержат около 80 % белка, 2 - 3 % нуклеиновых кислот и имеют молекулярную массу в диапазоне от 50000 до 300000 Д.

3.2. 2. Направленный синтез белков микромицетами.

Теоретической предпосылкой использования микроскопических грибов в пищевой биотехнологии является способность многих видов к окислению углеводов и других углеродных субстратов в вещества белковой природы. В качестве продуцентов пищевого белка могут быть использованы грибы родов *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*.

Ценным источником пищевого белка являются съедобные шляпочные грибы. Производство спорофоров и мицелия базируется на совершенно различных технологиях. Шляпочные грибы выращивают в питомниках, а производство мицелия является промышленным процессом ферментации. При выращивании шляпочных грибов мицелий является отходом, тогда как в процессе промышленного производства нитчатых грибов методом ферментации подбираются такие условия, при которых спорообразование не происходит.

Выращивание шляпочных грибов в промышленных условиях связано с определенными трудностями и существенными затратами. Эти грибы используют непосредственно как пищевой продукт или как вкусовую приправу к различным блюдам.

В последнем случае приемлемо использование мицелиальных форм грибов. Мицелиальные массы в промышленных условиях начали получать в 40 - 50-х годах XX столетия. В настоящее время во многих странах производят в промышленных условиях съедобные грибы.

3.3. 3. Выращивание макромицетов в условиях биореактора.

Одной из причин, сдерживающих развитие промышленного производства микроводорослей, является отсутствие эффективной технологии и аппаратуры, обеспечивающих получение продукции, по себестоимости сопоставимой с традиционными растительными продуктами. Большая часть крупных установок рассчитана на использование открытых бассейнов, однако относительно низкие капитальные затраты на их возведение не обеспечивают низкой себестоимости продукции.

В основу крупномасштабного микробного фотосинтеза НПО "Биотехника" было предложено использование аппаратов закрытого типа - фотореакторов. Исследование различных типов аппаратов показало перспективность для промышленного использования фотореакторов с трубчатой формой лучеприемника, обеспечивающей максимальную фотоэнергоемкость. Фотореактор включает также теплообменник, газообменное устройство для насыщения суспензии клеток диоксидом углерода и десорбции образующегося кислорода, побудитель расхода суспензии, а также специальное устройство, которое обеспечивает ежедневную очистку внутренних поверхностей без применения ручного труда и остановки аппарата.

Производство микроводорослей объединяют с линией комплексной безотходной переработки биомассы. В результате такой переработки получают ряд продуктов (в том числе ценных биологически активных веществ), производство которых обеспечивает экономическую рентабельность производства, а также дешевых полноценных кормовых продуктов. Так, например, при переработке биомассы хлореллы могут быть последовательно получены следующие продукты (в % к массе исходного сырья): липидный концентрат 8 - 13, белковый гидролизат 22 - 35, деструктат клеток (шрот) до 60.

Полученный белковый гидролизат содержит (в % СВ): свободные аминокислоты - 60, нуклеотиды - 6,85, остаточный белок - 4,12, углеводы (сумма) - 21,12. В составе гидролизата обнаружено значительное количество водорастворимых витаминов, главным образом группы В. Им могут быть заменены белковые основы, изготавливаемые в настоящее время из пищевого белкового сырья (мяса, рыбы, казеина).

Аналогичным образом осуществляется комплексная переработка биомассы некоторых других микроводорослей. Перспективным сырьем для получения серии ценных продуктов, в том числе биологически активных веществ, является биомасса спирулины, в которой содержится 60 - 68 % протеина. В зависимости от условий культивирования в биомассе спирулины обнаруживаются (в мг/100 г): β -каротин 300 - 600, рибофлавин 4 - 6,6, кобаламин 0,1 - 0,18. Клетки спирулины лишены прочной оболочки, что существенно упрощает технологию переработки биомассы.

1.8. Лекция № 8 (2 часа)

Тема: Методы выделения, очистки и получения товарных форм целевых продуктов.

1.8.1 Вопросы лекции:

1.1. 1. Физические методы

1.2. 2. Энзиматические методы

1.3. 3. Химические методы

1.8.2 Краткое содержание вопросов

3.1. 1. Физические методы

К физическим методам относятся: разрушение клеток баллистическим способом с применением бус баллотини, кварцевого песка, растирание клеток в дисковой мельнице, дробление замороженных в жидком азоте или в сухом льде клеток; экструдирование клеток под высоким давлением (2-5 атм) через узкую щель или отверстие; гадодекомпрессионная дезинтеграция, основанная на создании в камере с разрушаемым материалом высокого давления и быстрым сбросом его, приводящим к разрыву клеточных стенок; ультразвуковая дезинтеграция.

3.2. 2. Энзиматические методы

Энзиматические методы основаны на применении литических ферментов, разрушающих клеточную стенку: лизоцима, выделяемого из белка куриных яиц и разрушающего главным образом оболочки бактериальных клеток; ферментного комплекса, содержащегося в желудочном соке улитки *Helix pomatia* или продуцируемого некоторыми видами актиномицетов, лизирующего оболочки эукариотических клеток, в частности грибов.

3.3. 3. Химические методы

Химические методы дезинтеграции основаны на разрушении клеточной оболочки под воздействием щелочей, кислот, детергентов, ингибиторов синтеза оболочки клетки.

Выбор метода дезинтеграции определяется целью работы: для получения внутриклеточных ферментов наиболее приемлемы баллистические и экструзионные способы; энзиматические методы широко применяют в научных исследованиях для выделения в целостности различных субклеточных структур (органелл, мембран и т. д.), а также для получения протопластов. Применение химических методов дезинтеграции микроорганизмов ведет к нарушению целостности клеточных структур, инактивации ферментов. Поэтому химические методы обычно применяют для получения пищевого белка и биожир из дрожжей.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

2.1 Лабораторная работа № 1 (2 часа)

Тема: Сырьевые ресурсы биотехнологии.

2.1.1 Цель работы: Изучить сырьевые ресурсы биотехнологии.

2.1.2 Задачи работы:

- 1. Методика проведения работы**
- 2. Рецептура питательных сред.**
- 3. Углеводное сырьё. Гидролизаты растительной биомассы.**

2.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

- 1. Мультимедиапроектор.**
- 2. Слайдшоу.**

2.1.4 Описание (ход) работы:

В промышленности для культивирования микроорганизмов могут применяться питательные среды различного состава. При этом с целью снижения затрат на производство продуктов стараются использовать питательные среды на основе сырья растительного происхождения и отходов различных отраслей промышленности. Из наиболее часто используемых источников следует отметить: гидролизаты растительной биомассы, отходы целлюлозно-бумажной и пищевой промышленности, отходы сельского хозяйства, а также продукты химической и нефтяной промышленности (спирты, органические кислоты, углеводороды).

2.2 Лабораторная работа № 2 (2 часа)

Тема: Методы получения промышленных штаммов микроорганизмов.

2.2.1 Цель работы: Изучить методы получения промышленных штаммов микроорганизмов.

2.2.2 Задачи работы:

- 1. культура микроорганизмов;**
- 2. питательная среда;**
- 3. аппаратура для выращивания и проведения вспомогательных операций;**

4. средства контроля и управления.

2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.2.4 Описание (ход) работы:

Культивирование является основной стадией технологического процесса и во многом определяет количественные и качественные характеристики производства биопрепаратов. На стадии культивирования осуществляется накопление, как самой биомассы, так и продуктов метаболизма (жизнедеятельности) микроорганизмов. Иногда, например, при производстве бактериальных препаратов, целевым продуктом является сама биомасса, в других случаях продукты, синтезируемые клеткой - антибиотики, ферменты, аминокислоты и др. При этом синтезируемый продукт может накапливаться как внутри клеток, так и выделяться в культуральную жидкость. В том случае, когда культура растет на поверхности жидкой или плотной питательной среды, потребляя содержащиеся в ней субстраты и выделяя в эту среду продукты метаболизма, такой способ культивирования называют поверхностным. При твердофазном культивировании клетки растут на поверхности твердой (плотной) среды, содержащей достаточное количество влаги и питательных веществ (чаще всего основу такой среды составляют пшеничные отруби). При жидкофазном (глубинном) культивировании, микроорганизмы распределяются по всему объекту жидкой питательной среды, а кислород поступает к клеткам в результате интенсивной операции перемешивания.

2.3 Лабораторная работа № 3 (2 часа)

Тема: Технология ферментных препаратов и их использование в пищевой промышленности

2.3.1 Цель работы: Изучить ферменты пищевой биотехнологии.

2.3.2 Задачи работы:

1. Оксидоредуктазы

2. Гидролитические ферменты

3. Протеолитические ферменты семян растений.

2.3.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

Описание (ход) работы:

Предназначение ферментов достаточно обширно. Их принято называть биологическими катализаторами, имеющих белковую природу. Они способны изменять скорость течения ряда химических реакций.

В современной пищевой промышленности, применяются не только для ускорения реакций, но и для торможения некоторых процессов. Особенно актуальны ферменты в таких производствах, как виноделие, изготовление спирта, кисломолочной продукции, пивоварение, хлебопечение, сыроделие и некоторые другие.

Эффективность их действия определяется совокупностью факторов, в том числе:

Температурой сырья.

Кислотностью среды.

Присутствием ингибиторов либо активаторов в составе исходного сырья.

Применяемые в пищевом производстве ферменты классифицируются на шесть разновидностей:

-оксидоредуктазы;

-трансферазы;

-гидролазы;

-лиазы;

-изомеразы.

2.4 Лабораторная работа № 4 (2 часа)

Тема: Изучение метода накопительных культур для выделения микроорганизмов разных физиологических групп.

2.4.1 Цель работы: Изучить метод накопительных культур.

2.4.2 Задачи работы:

1. Получение накопительной культуры

2. Основные факторы, определяющие получение накопительных культур некоторых групп бактерий.

2.4.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.4.4 Описание (ход) работы:

В основе выделения и определения численности представителей отдельных групп микроорганизмов лежит получение накопительных культур с помощью создания селективных условий. Накопительными называют такие культуры, в которых преобладают

представители одной группы или даже одного вида микроорганизмов. Элективными называют условия, обеспечивающие преимущественное развитие определенной группы или вида микроорганизмов. При создании элективных условий учитывают особенности физиологии и метаболизма микроорганизмов: требования их к источникам питания, отношение к кислотности среды, аэрации, температуре, способность к образованию эндоспор и т.д. Особенно часто элективные условия создают путем подбора соответствующей питательной среды.

К физическим методам, которые могут быть использованы при получении накопительной культуры, следует отнести регуляцию роста температурой, тепловую и ультразвуковую обработку, ультрафиолетовое облучение и др. Можно использовать также и особенности некоторых других физических свойств данного микроорганизма, например, его размеры, подвижность, что позволяет отделять данный микроорганизм от других членов популяции. В качестве примеров можно привести следующие:

Использование освещения для получения культур цианобактерий. Такие виды легко выделяются из пресной воды и морских осадков. Для получения накопительных культур, образцы инкубируют при 25 °С и постоянном освещении от 500 до 3000 лк. Через 4–7 дней наблюдается увеличение мутности культуры, имеющей часто розовую, коричневую, желтую окраску.

Инкубация при низкой температуре для получения культур психрофильных бактерий. Низкая температура способствует задержке роста многих бактерий. На первом этапе проводят инкубирование при температурах 0–5 °С в течение 14–24 дней.

2.5 Лабораторная работа № 5 (2 часа)

Тема: Исследование влияния продолжительности брожения теста на показатели качества готового хлеба

2.5.1 Цель работы: Изучить технология получения хлебопекарного теста

2.5.2 Задачи работы:

1. Выпекают хлеб из теста, бродившего при различной температуре.

2.5.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.5.4 Описание (ход) работы:

Выпекают хлеб из теста, замешенного из муки и воды в различных соотношениях:

- вариант 1 (контрольный) - соотношение обычное;
- вариант 2 (тесто крепкой консистенции) - воды на 80 мл (на 600 г муки в тесте) меньше, чем в контрольном тесте;
- вариант 3 (тесто слабой консистенции) - воды на 80 мл (на 600 г муки в тесте) больше, чем в контрольном.

Тесто готовят безопасным способом по методике, описанной выше.

При приготовлении теста следят за ходом технологического процесса, определяют его свойства, следят за ходом расстойки, а по окончании выпечки и после остывания определяют и сравнивают качество полученного хлеба.

2.6 Лабораторная работа № 6 (2 часа)

Тема: Ускоренный метод определения качества дрожжей

2.6.1 Цель работы: Изучить ускоренный метод определения качества дрожжей.

2.6.2 Задачи работы:

1. Использование сред и ингибирующих добавок

2.6.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

Описание (ход) работы:

При определении дрожжей и плесеней в таких продуктах отечественные методики регламентируют использование целого ряда сред и ингибирующих добавок [1, 3, 4]. Это, с одной стороны, отрицательно отражается на стандартизации условий определения показателя, но, с другой стороны, делает методики более гибкими, позволяющими скорректировать условия анализа в зависимости от особенностей исследуемого объекта. Немаловажно, что методика ГОСТ 10444.12–88 рекомендует использовать коммерческие хромогенные среды [1]. Как и в методике определения осмоотolerантных грибов, отечественные методики [1, 3, 7] не предусматривают биологического контроля питательных сред, и только ГОСТ 10444.12–88 регламентирует проведение контроля стерильности среды [1]. ГОСТ Р на базе стандарта ИСО [5] предусматривает использование только одной среды: агара с дихлораном, бенгальским розовым и хлорамфениколом (DRBC), в которую дополнительно могут быть внесены добавки

тетрациклина, микроэлементов или тергитола. Перед применением регламентируется проведение количественного биологического контроля среды.

2.7 Лабораторная работа № 7 (2 часа)

Тема: Молоко как сырье для биотехнологических процессов

2.7.1 Цель работы: Изучить технологии переработки молока.

2.7.2 Задачи работы:

1. Оценка качества молочного сырья.

2. Ферменты для переработки.

3. Молочные продукты.

2.7.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.7.4 Описание (ход) работы:

Микрофлора, вводимая с закваской, оказывает основное влияние на вкус и аромат сыров, поэтому выбор соответствующих культур является вопросом первостепенной важности.

2.8 Лабораторная работа № 8 (2 часа)

Тема: Изучение биотехнологических основ приготовления сыра

2.8.1 Цель работы: Технология приготовления сыра.

2.8.2 Задачи работы:

1. Изучить технологию приготовления сыра.

2.8.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.8.4 Описание (ход) работы:

1. Пастеризация молока. Как известно существует три режима пастеризации: длительная, когда молоко следует нагреть до 65°C и выдерживать 30 минут; кратковременная – молоко нагревают до 75°C и выдерживают 20 минут; мгновенная, когда молоко нагревают до 90°C и не выдерживают.

2. Образование сгустка. После того, как вы добавите в молоко молокосвертывающий фермент или закваску, образуется гель.
3. Нарезка сгустка. Коагулят готов к разрезанию по прошествии периода от 25 мин до 2 часов в зависимости от рецепта сыра.
4. Получение сырной массы. В результате процессов, производимых с сыром, получается сырная масса. По сути, это уже готовый сыр, в который можно на данном этапе добавлять различные специи, соль, травы, орехи и др. Сырную массу либо отцеживают, либо прессуют.
5. Прессование и самопрессование сыра. На этапе прессования и самопрессования сыр выкладывается в специальные формы и подвергается прессованию.

2.9 Лабораторная работа № 9-10 (4 часа)

Тема: Изучение биотехнологических основ приготовления сыра

2.9.1 Цель работы: Изучить биотехнологических основ приготовления сыра.

2.9.2 Задачи работы:

1. По материалам предыдущего задания изучить биотехнологию приготовления сыра.

2.9.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.9.4 Описание (ход) работы:

Сыр - не только вкусный, но и чрезвычайно полезный молочнокислый продукт. Французы говорят: «десерт без сыра, что девушка без улыбки». Сыр довольно калориен - в 100 граммах продукта содержится до 300-400 ккал, а усваивается практически полностью. Он богат легкоперевариваемыми белками, жирами кальцием, фосфором, а также витаминами А и В.

Свёртывания молока при производстве сыра может идти двумя путями: с помощью сычужного фермента реннина или молочной кислоты, которую вырабатывают молочнокислые бактерии, входящие в состав заквасок. Производство сыра проходит такие стадии: подготовка молока к свёртыванию (нормализация, пастеризация, внесение бактериальных заквасок), свёртывание молока, удаление лишней сыворотки, разрезание полученного сгустка, формование, прессование, посолка и созревание сыра. Качество молока контролируется на кислотность, содержание жира, плотность, степень микробиологической и механической чистоты. Жирность сырья контролируется путем добавления обезжиренного молока или сливок. Молоко пастеризуют при температуре 71-

76оС, а затем охлаждают до температу свёртывания (28-33оС). В смесь добавляют от 0,3 до 3% (по объёму) бактериальной закваски (в зависимости от вида сыра), приготовленной на чистых культурах молочнокислых бактерий, хлорид кальция для улучшения свёртывания (до 40 г сухого вещества на 100 кг молока) и молокосвёртывающий фермент. Под действием фермента молоко образует плотный сгусток, который при дальнейшей обработке освобождают от лишней сыворотки, дробят на равномерные кубики (зёрна), нагревают и вымешивают для получения однородной массы, затем формируют сырную массу.

2.10 Лабораторная работа № 11 (2 часа)

Тема: Изучение процесса брожения при производстве кисломолочных продуктов.

Кинетика нарастания кислотности

2.10.1 Цель работы: Изучить биотехнологию получения кисломолочных продуктов.

2.10.2 Задачи работы:

1. Исследование влияния качества, свойств и состава молока, бактериальных заквасок и других факторов на брожение лактозы и коагуляции казеина.

2. Биохимические и физико-химические процессы при производстве кисломолочных продуктов.

3. Анализ биохимических процессов брожения молочного сахара.

2.10.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.10.4 Описание (ход) работы:

Брожение - это процесс глубокого распада молочного сахара (без участия кислорода) под действием ферментов микроорганизмов. При брожении молочный сахар распадается на более простые соединения: кислоты, спирт, углекислый газ и пр. В результате выделяется энергия, необходимая для жизнедеятельности организмов. В зависимости от образующихся продуктов различают молочнокислое, спиртовое, пропионовокислое, маслянокислое и другие виды брожения.

Все виды брожения до образования пировиноградной кислоты идут по одному и тому же пути. На первой стадии молочный сахар под влиянием лактазы распадается на моносахариды: глюкозу и галактозу (галактоза не подвергается непосредственному брожению и переходит в глюкозу).

2.11 Лабораторная работа № 12 (2 часа)

Тема: Изучение процесса брожения при производстве кисломолочных продуктов.

Кинетика нарастания кислотности

2.11.1 Цель работы: Изучение процесса брожения.

2.11.2 Задачи работы:

1. Анализ биохимических процессов брожения молочного сахара.

2.11.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.11.4 Описание (ход) работы:

1). Виды брожения лактозы.

2). Химизм отдельных видов брожения.

3). Механизм образования диацетила, ацетоина, ацетальдегида.

В основе изготовления целого ряда молочных продуктов лежат процессы глубокого распада молочного сахара под действием микроорганизмов, называемые брожением. Вместе с тем процессы брожения сахара могут быть причиной порчи молочных продуктов (излишняя кислотность, вспучивание творога, сметаны, сыра и т. д.). Существует несколько типов брожения лактозы, различающихся составом конечных продуктов.

2.12 Лабораторная работа № 13 (2 часа)

Тема: Исследование влияния состава посолочных смесей на органолептические показатели и выход мясопродуктов

2.12.1 Цель работы: Изучить влияния состава посолочных смесей на органолептические показатели и выход мясопродуктов.

2.12.2 Задачи работы:

1. Изучить технологию посола и состав смесей.

2.12.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.12.4 Описание (ход) работы:

Посол мяса – самый древний и доступный способ его консервирования. Он используется самостоятельно, а также в сочетании с другими способами при копчении, производстве колбас и др. В последнем случае посол способствует достижению требуемых потребительских и технологических свойств готового продукта. Содержание соли в пищевых продуктах не должно ухудшать их вкуса. Поэтому эти показатели регламентируют. Обычно массовое содержание соли в мясных продуктах колеблется от 2,0 до 2,5 % (малосоленые) до 4,5 % (соленые).

При посоле мясо обрабатывают поваренной солью, рассолом или посолочной смесью для придания ему липкости, пластичности, влагоудерживающей способности, для обеспечения органолептических показателей готового продукта и устойчивости его при хранении.

Консервирование поваренной солью основано на разности осмотического давления в мясе и рассоле, вследствие чего происходит диффузный обмен: в мясо проникает поваренная соль, а из мяса в рассол переходит вода с растворенными в ней органическими соединениями. Диффузия продолжается до уравнивания концентрации соли в рассоле и в мясе. Высокое осмотическое давление солевого раствора способствует обезвоживанию микроорганизмов. Известно также и бактериостатическое действие соли.

Консервируют солью только свежее, охлажденное до 3 – 4 °С мясо, полученное от здоровых животных. При этом используют соль белую, сухую, содержащую не менее 98 % хлористого натрия. Длительность посола зависит от концентрации солевого раствора и температуры окружающей среды. С их повышением процесс ускоряется. Однако использование высококонцентрированного раствора соли значительно ухудшает качество получаемого продукта. Даже длительное вымачивание не всегда делает его съедобным. В свою очередь высокая температура способствует развитию солеустойчивых микроорганизмов. В связи с этим соль необходимо использовать умеренно, а посол производить при температуре 2 – 4 °С.

2.13 Лабораторная работа № 14 (2 часа)

Тема: Технология получения мясопродуктов

2.13.1 Цель работы: Изучить технологию получения мясопродуктов.

2.13.2 Задачи работы:

1. Классификация цельномышечных продуктов. Общие принципы производства

2. Технологические особенности подготовки сырья

3. Характеристики основного сырья.

2.13.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

2.13.4 Описание (ход) работы:

Подходы к классификации и систематизации вырабатываемых цельномышечных мясопродуктов чрезвычайно разнообразны, так как в их основе могут лежать различные признаки сырья и условия технологической обработки. В связи с этим данную группу изделий условно подразделяют:

- по видам используемого сырья (свинина, говядина, баранина, конина, оленина, мясо лося, птица, субпродукты);
- по характеру посола и термообработки (вареные, копчено-вареные, варено-копченые, сырокопченые, сыросоленые, копчено-запеченные, запеченные, жареные);
- по наличию костной ткани (мякотные и мясокостные);
- по степени измельчения исходного сырья (цельнокусковые и реструктурированные);
- по характеру формования (натуральные отруба, цельномышечные куски, в оболочках, в сетках, в пресс-формах, в полимерных емкостях-пакетах);
- по длительности хранения и т.п. используемого сырья и приемов обработки, в основе большинства технологии производства цельномышечных мясопродуктов лежит комплексное воздействие на сырье процессов посола и термообработки, обеспечивающих формирование специфических органолептических характеристик готовых изделий.

2.14 Лабораторная работа № 15 (2 часа)

Тема: Оценка качества муки

2.14.1 Цель работы: Изучить технологию оценки качества муки.

2.14.2 Задачи работы:

1. Органолептический метод оценки качества муки.

2.14.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Мультимедиапроектор.

2. Слайдшоу.

Описание (ход) работы:

При испытании муки пользуются органолептическим и лабораторным методами.

Органолептически определяют цвет муки, свежесть (по запаху и вкусу), зараженность вредителями. Лабораторными приемами устанавливают влажность, зольность, крупность помола, кислотность, содержание клейковины в пшеничной муке, количество металлических примесей (металлических примесей допускается не более 3 мг на 1 кг муки), содержание жира в кукурузной муке. Кроме того, на мельницах перед поступлением зерна в помол определяют содержание в нем вредных примесей (куколя,

головни, спорыньи, горчака, вязеля), содержание ржаной и ячменной муки в пшеничной, ячменной муки в ржаной и содержание муки из проросшего зерна.

Цвет. Цвет муки определяют путем сравнения испытуемой муки с известным образцом муки (эталоном). Определение производят при рассеянном дневном свете, причем мука должна быть одинаковой влажности и крупности. Более отчетливо выступает разница в цвете, если отпрессованные образцы муки опустить на 1—2 минуты в ванночку с водой комнатной температуры, вынуть и сравнить их цвет. Это мокрая проба.

Запах. Свежая мука обладает слабым, свойственным ей запахом. Затхлый и кислый запах муки указывает на то, что она испорчена или получена из несвежего зерна.

Мука обладает свойством поглощать посторонние запахи, которые могут появиться при перевозке муки в загрязненных вагонах или при хранении в несоответствующих складах.

Для обнаружения запаха небольшое количество муки согревают на ладони дыханием и затем определяют запах. Можно также насыпать муку в стакан, облить горячей водой (60°), накрыть, дать постоять 2—3 минуты, слить воду и определить запах.

Вкус. Мука нормального качества имеет при разжевывании слабосладковатый, почти пресный вкус. Слабокислый привкус указывает уже на несвежесть муки, а явно кислый или горький вкус — на то, что мука испорчена. Горьковатый вкус может вызываться также присутствием в зерне, из которого мука получена, таких примесей, как полынь, вязель и др. Сладковатый привкус имеет мука из проросшего, а также из морозобойного зерна.

Разжевыванием щепотки муки устанавливают отсутствие хруста на зубах из-за наличия песка, земли и тому подобных минеральных примесей.

Зараженность амбарными вредителями. В муке не допускается наличия амбарных вредителей — жуков, бабочек, клещей и их личинок.

Влажность. Влажность муки имеет большое значение. Мука сухая (до 14%) хорошо сохраняется в течение года. Мука средне-сухая (14,5—15,5%) может храниться только в прохладные месяцы года, а мука влажная (15,5—17%) — только в зимнее время. В теплые месяцы такая мука слеживается в комья, самосогревается, в ней легко размножаются амбарные вредители, развиваются плесени и бактерии. Сухая мука в процессе изготовления печеного хлеба обладает лучшей набухаемостью; тесто из нее не прилипает к машинам.

Влажность муки определяют преимущественно высушиванием 5 г муки при 130° в течение 40 минут.

