

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Уральский государственный аграрный университет
Факультет биотехнологии и пищевой инженерии
Кафедра биотехнологии и пищевых продуктов

О. В. ЗИНИНА, О. П. НЕВЕРОВА, О. В. ГОРЕЛИК,
Е. В. РАЖИНА, П. В. ШАРАВЬЕВ

БИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Екатеринбург
Издательство Уральского ГАУ
2023

УДК 636.087.25
ББК 36.800.9
363

*Утверждено и рекомендовано к печати Учебно-методическим советом
ФГБОУ ВО Уральский ГАУ (протокол № 9 от 11.04.2023)*

Рецензенты: Миколайчик И. Н., доктор сельскохозяйственных наук,
профессор Курганского государственного университета
Меренкова С. П., кандидат ветеринарных наук, доцент
Южно-Уральского государственного аграрного уни-
верситета
Галиев Д. М., кандидат сельскохозяйственных наук,
доцент Уральского государственного аграрного уни-
верситета

Зинина, Оксана Владимировна
363 Биоконверсия отходов пищевых производств: учебное пособие /
О. В. Зинина, О. П. Неверова, О. В. Горелик, Е. В. Ражина, П. В. Шара-
вьев. — Екатеринбург: Издательство Уральского ГАУ, 2023. — 136 с.

ISBN 978-5-87203-547-3

В учебном пособии рассмотрены процессы биоконверсии сырья растительного
и животного происхождения. Приведены особенности ферментной и микроб-
ной биоконверсии.

Учебное пособие предназначено для студентов очной и заочной форм
обучения направлений бакалавриата 19.03.03 «Продукты питания животного
происхождения», 35.03.07 «Технология производства и переработки сельско-
хозяйственной продукции» и магистратуры 36.04.02 «Зоотехния».

УДК 636.087.25
ББК 36.800.9

© О. В. Зинина, 2023
© О. П. Неверова, 2023
© О. В. Горелик, 2023
© Е. В. Ражина, 2023
© П. В. Шаравьев, 2023
© Уральский государственный
аграрный университет, 2023

ISBN 978-5-87203-547-3

ОГЛАВЛЕНИЕ

.....

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. КЛАССИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА СЫРЬЯ ДЛЯ БИОКОНВЕРСИИ	6
1.1. Отходы переработки животных и производства мясопродуктов	6
1.2. Отходы переработки молока	11
1.3. Отходы переработки рыб	13
1.4. Отходы переработки растительного сырья	14
Глава 2. БИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ	19
2.1. Общие сведения о биоконверсии	19
2.2. Характеристика и промышленное использование ферментов	26
2.3. Микробная биоконверсия	58
2.4. Продукты биоконверсии сырья животного происхождения	67
2.5. Биоконверсия растительного сырья	89
ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ	124
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	126
ТЕСТЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ	127
БИБЛИОГРАФИЯ	132

ВВЕДЕНИЕ

.....

Количество вторичных ресурсов в пищевой промышленности составляет 60–80 % от перерабатываемого сырья. При этом потенциально возможные доходы от реализации продукции, полученной из различных отходов, могут многократно превосходить доходы от продажи основного продукта и позволят без дополнительных затрат поднять общую рентабельность производства минимум на 300–400 %.

Однако в своем естественном состоянии большинство отходов несовместимы с технологиями традиционных пищевых и комбикормовых производств по причине своих физико-механических свойств (жидкие, вязкие и пр.). Кроме того, они характеризуются низкой пищевой и кормовой ценностью из-за наличия трудно гидролизуемых полисахаридов и невысокого содержания усваиваемого белка, а некоторые из отходов содержат компоненты, сдерживающие их использование как в производстве пищевых продуктов, так и на корм скоту.

Поэтому проблема поиска новых и альтернативных способов извлечения полезных компонентов, получения кормовых продуктов, повышения качества при снижении затрат на их производство, а также развитие сопутствующих источников энергии актуальна и является одной из основных задач агропромышленного сектора экономики.

Наращивание темпов экономического развития в сельском хозяйстве, пищевой и лесотехнической промышленности также привело к обострению проблемы использования и утилизации сопутствующих отходов.

Крайне нерационально используются солома, зерноотходы и отсев мукомольной промышленности, отруби, стебли кукурузы и любые другие отходы растениеводства, а также растительные отходы винного, пивного и кондитерского производств. Причем количество растительных отходов в несколько раз превосходит долю целевой выращенной продукции. Другим примером является непосредственное внесение в землю в качестве органического удобрения растительных отходов (измельченной соломы, ботвы и др.). Это приводит к тому, что азот в почве, так необходимый растениям, используется не для питания корневой системы, а для процессов разложения органических остатков.

Объемы производства сырья, малоиспользуемого, но потенциально пригодного для кормовых целей, многократно превосходят объемы специально производимых фуражных компонентов. А количество кормов, которое может быть получено из неиспользуемых отходов, значительно превосходит общую потребность в кормах сырьевого региона. При этом не менее 50 % посевных площадей, ориентированных на выращивание фуражных культур, можно безболезненно направить на выращивание культур продовольственного назначения.

Количество вторичных ресурсов в пищевой промышленности составляет 60–80 % от перерабатываемого сырья, в некоторых случаях достигает 95 %.

В последние годы в отечественной и зарубежной практике наметилась тенденция изыскания возможности использования вторичных коллагенсодержащих ресурсов мясной промышленности в пищевых целях на основе конверсии трудноусвояемых белковых компонентов: коллагена, эластина, ретикулина. Применение специфических ферментов способствует наиболее полному использованию белковых компонентов сырья, улучшению сенсорной оценки и функционально-технологических свойств.

В успешном решении задач более полного и рационального использования сырья животного происхождения, в частности вторичного и малоценного, а также отходов, большая роль принадлежит целенаправленным биотехнологическим методам модификации сырья.

Глава 1

КЛАССИФИКАЦИЯ И ХАРАКТЕРИСТИКА СЫРЬЯ ДЛЯ БИОКОНВЕРСИИ

.....

Все сырье, использующееся в промышленных биотехнологических процессах, в зависимости от происхождения можно разбить на 4 класса:

I – растительного происхождения;

II – животного происхождения (молочная сыворотка, экскременты животных);

III – минерального происхождения (нефть, природный газ, уголь – источники получения жидких углеводородов, дизельного топлива, окисленных углеводородов – низших спиртов, газообразных углеводородов);

IV – биосфера (вода и воздух – источники получения водорода, кислорода, углекислого газа).

1.1. ОТХОДЫ ПЕРЕРАБОТКИ ЖИВОТНЫХ И ПРОИЗВОДСТВА МЯСОПРОДУКТОВ

К вторичным продуктам переработки сельскохозяйственных животных относятся внутренние органы (желудки, печень почки, кишки, селезенка, вымя и т.д.), шкуры и другие технологические отходы (голова, уши, губы, путовый сустав и др.), образующиеся в процессе получения основного продукта – мяса.

Одним из основных компонентов этих продуктов является коллаген – неполноценный белок, который в модифицированном состоянии трансформируется в усвояемую организмом форму.

Примерно одну треть сырья, получаемого при убое скота, составляют кости, кровь, субпродукты и другие побочные продукты. Все они могут служить дополнительным источником получения продуктов питания и восполнить дефицит животного белка.

Окерман и Хансен (1988) представили данные, свидетельствующие, что выход побочных продуктов более 40 % от массы туш для крупного рогатого скота, 50 % – мелкого рогатого скота, 30 % – свиней и птицы.

Субпродукты и отходы содержат в своей структуре коллагеновые белки (% от массы сырой ткани): сухожилия – от 25 до 35; хрящи – от 10 до 15; стенки сосудов – от 5 до 12; почки – от 0,4 до 1,0; мозги – от 0,2 до 0,4; язык – 2,5; легкие – 3,3; селезенка – 1,38; рубец – 6,8. Кроме рубца, содержащего 6,8 % коллагена от массы сырой ткани, следует выделить сухожилия, в которых 88,5 % суммарных белков представлены коллагеном.

Содержание коллагеновых белков определяет принадлежность субпродуктов к I или II категории по пищевой ценности. Субпродукты I категории равны по этому показателю мясу или превосходят его, успешно применяются для производства высокосортных колбас, консервов, реализуются через торговую сеть и пользуются большим спросом у населения, из них получают высококачественные продукты.

Специфика состава и свойств субпродуктов II категории:

- неоднородность морфологического строения;
- высокое содержание соединительной ткани;
- специфические органолептические показатели;
- низкая биологическая ценность;
- высокая микробиологическая обсемененность.

Характерной особенностью химико-морфологического состава субпродуктов II категории является сложность и неоднородность их структуры.

Преобладающим составным компонентом субпродуктов является коллаген с включениями (в зависимости от вида сырья) различных количеств жировой и мышечной ткани.

Говяжьи субпродукты II категории по содержанию коллагена и, следовательно, потенциальной возможности получения из них белковых продуктов располагают в следующей последовательности: уши – губы – рубец – легкие – ножки – семенники (КРС и МРС).

Химический состав некоторых субпродуктов II категории представлен в таблице 1.

В МГУПБ И. Е. Титовым проведены комплексные исследования различных видов коллагенсодержащего сырья – рубца и губ крупного рогатого скота, обрезков свиных шкур (таблица 2). Показатели химического состава свидетельствуют о том, что такое сырье обладает высокими функционально-технологическими свойствами.

Таблица 1

Массовая доля компонентов
в составе некоторых субпродуктов II категории

СЫРЬЕ	ВЛАГА	ЗОЛА	ЖИР	Белки				ЭКСТРАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА
				Всего	в том числе			
					полноценные	коллаген	эластин	
Легкие:								
говяжьи	77,5	1,0	4,7	15,2	9,47	4,64	1,04	1,6
свиные	78,6	1,0	3,6	14,8	9,10	4,88	0,86	2,0
бараньи	79,3	0,8	2,3	15,6	11,56	3,52	0,53	2,0
Рубец:								
говяжий	80,0	0,5	4,2	14,8	7,42	6,77	0,59	0,5
бараний	82,7	0,4	4,0	11,5	2,89	8,15	0,44	1,4
Уши:								
говяжьи	69,8	0,7	2,3	25,2	5,07	17,83	2,27	2,0
свиные	60,9	0,7	14,1	21,0	5,70	16,40	1,93	3,3
Селезенка:								
говяжья	75,5	1,5	4,2	18,8	—	—	—	—
баранья	78,3	1,4	3,0	16,0	14,93	1,72	0,34	—
Книжка:								
говяжья	85,0	1,5	3,0	10,5	—	—	—	—
баранья	82,1	0,4	4,5	12,1	3,74	7,33	1,02	1,0

При обосновании рациональных путей использования вторичных коллагенсодержащих ресурсов мясной отрасли в производстве пищевых продуктов целесообразна их систематизация по микроструктурным характеристикам и соотношению белка и жира для формирования дифференцированных подходов, способов, методов переработки в пищевые добавки либо функциональные коллагеновые субстанции.

В связи с этим И. А. Готовой предложено разделение данного сырья на 2 группы (рис. 1).

При этом свиная шкурка, шквара, субпродукты II категории могут быть эффективно использованы для получения биологически ценных пищевых добавок за счет комбинирования с комплементарными по аминокислотному составу источниками растительного белка. Получаемые

композиты служат структурообразующими компонентами в технологии эмульгированных продуктов на основе мясного сырья без снижения биологической ценности суммарного белка в составе комбинированных пищевых систем.

Таблица 2

Химический состав различных видов коллагенсодержащего сырья

Показатель	Рубец КРС	Губы КРС	Обрезки свиных шкур
Содержание, %			
белок	16,54	23,78	27,8
влага	79,61	67,27	62,0
жир	2,82	8,43	10,10
минеральные вещества	0,54	0,52	0,58
температура сваривания, °С	66,00	—	60,40
влагосвязывающая способность, % от общей влаги	54,00	93,3	76,10
Структурно-механические свойства:			
напряжение среза, $Q, 10^4$ Па	80,70	—	—
работа резания, $A, 10^2$ Дж/м ²	42,50	—	—

Вместе с тем специфика аминокислотного состава, уникальная пространственная структура молекул коллагена в составе вторичных ресурсов при переработке крупного рогатого скота в условиях мясокомбинатов (отходы шкурсырья, кишечного сырья, натуральной колбасной оболочки, жилки и сухожилия при жиловке мяса) обеспечивают стойкость коллагеновых субстанций при выделении из тканей и отделении от других компонентов, способность к восстановлению из растворов с формированием различных надмолекулярных структур, свойства пищевого волокна, обуславливая широкие прикладные возможности модифицированных коллагеновых продуктов. С учетом микроструктурных характеристик и физико-химических свойств коллагенсодержащих сырьевых источников продуктами переработки могут быть как пищевые добавки, пленки, покрытия, съедобные колбасные оболочки, физиологически активные ингредиенты в составе продуктов питания, так и препараты профилактического и лечебного действия для нужд медицины, ветеринарии, косметологии.

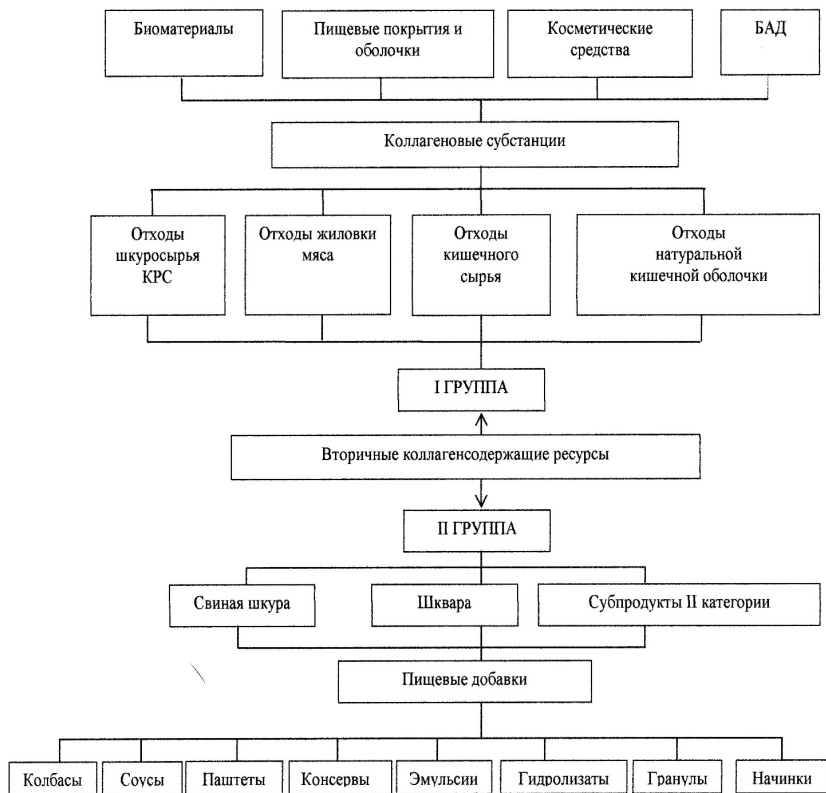


Рис. 1. Систематизация вторичных коллагенсодержащих ресурсов мясной отрасли по микроструктурным характеристикам

1.2. ОТХОДЫ ПЕРЕРАБОТКИ МОЛОКА

К основному виду вторичного сырья в молочной отрасли относится сыворотка.

Традиционные способы разделения молока, основанные на биотехнологии (закваски, ферменты) и использовании химических реагентов (кислоты, щелочи, соли), обеспечивают получение подсырной (сладкой), творожной (кислой) и казеиновой сыворотки. В процессе производства сыров, творога и казеина в молочную сыворотку переходит около 50 % сухих веществ молока. Степень перехода основных компонентов молока в молочную сыворотку определяется главным образом их размерами.

Состав и свойства молочной сыворотки обусловлены видом основного продукта (творога, сыра, казеина и т.д.) и особенностями технологии его получения, а также аппаратным оформлением процесса. Состав подсырной сыворотки зависит от вида вырабатываемого сыра и его жирности; творожной – от способа производства творога и его жирности; казеиновой – от вида вырабатываемого казеина. Нетрадиционные способы разделения молока, разработанные в последнее время (молекулярно-ситовая фильтрация, термодинамическое выделение белков молока биополимерами), дают ультрафильтрат и бесказеиновую фазу.

Основным компонентом в составе сухих веществ молочной сыворотки является лактоза, которая составляет более 70 %. Биологическая ценность молочной сыворотки обусловлена содержащимися в ней белковыми азотистыми соединениями, углеводами, липидами, минеральными солями, витаминами, органическими кислотами, ферментами, иммунными телами, микроэлементами.

Аминокислотный состав казеина и сывороточных белков несколько различен. В альбумине содержание триптофана в 4 раза больше, чем в казеине. Содержание незаменимой серосодержащей аминокислоты цистина в глобулине почти в 7 раз, а в альбумине в 19 раз больше, чем в казеине. Сывороточные белки могут служить дополнительным источником аргинина, гистидина, метионина, лизина, треонина, триптофана и лейцина. Это позволяет отнести их к полноценным белкам, используемым организмом для структурного обмена, в основном для регенерации белков печени, образования гомоглобулина и плазмы крови. В молочной сыворотке содержатся все незаменимые аминокислоты. Общее содержание аминокислот в подсырной и творожной сыворотке

примерно одинаково. Однако творожная сыворотка содержит в 3,5 раза больше свободных аминокислот и в 7 раз больше незаменимых аминокислот (в основном валин, фенилаланин, лейцин и изолейцин). Данное различие можно объяснить более интенсивным гидролизом белков молока, происходящим при производстве творога. Содержание свободных аминокислот в подсырной сыворотке в 4 раза больше, чем в исходном молоке, а в творожной – в 10 раз.

Различные виды молочной сыворотки отличаются содержанием лактозы, белков, пептидов, аминокислот, витаминов, поэтому представляют собой разную среду для молочнокислых бактерий. Количество жира в молочной сыворотке зависит от его количества в исходном сырье и технологии выработки основного продукта. Жир в молочной сыворотке диспергирован больше, чем в молоке, что положительно влияет на биохимические процессы, происходящие в организме человека и животных.

Минеральный состав молочной сыворотки разнообразен. В нее переходят практически все соли и микроэлементы молока, а также соли, вводимые при выработке основного продукта, и соединения с поверхности оборудования. В молочную сыворотку переходят водо- и жирорастворимые витамины молока. Из органических кислот обнаружены молочная, лимонная, нуклеиновая и летучие жирные кислоты – уксусная, муравьиная, пропионовая, масляная. В целом молочная сыворотка является продуктом с естественным набором жизненно важных минеральных соединений.

В молочной сыворотке, особенно творожной, присутствуют антибиотические вещества. Так, из творожной сыворотки путем вымораживания был получен антибиотик низин, действие которого идентично действию биомицина.

При хранении состав и свойства молочной сыворотки изменяются. Этому способствует действие молочнокислых бактерий в процессе производства, обсеменение микрофлорой. Лактоза как наименее устойчивый компонент подвергается ферментативному гидролизу. Изменяются также pH среды и мутность сыворотки. Кроме того, происходит гидролиз белков и жира, изменяется вкус сыворотки, могут накапливаться нежелательные и даже вредные вещества.

1.3. ОТХОДЫ ПЕРЕРАБОТКИ РЫБ

Коллагены различных тканей организмов имеют специальные названия: коллагеноподобный белок морских губок назван спингином; коллаген кишечнорастворимых организмов называется корнеином; шкуры, сухожилия и плавательные пузыри рыб содержат ихтиокол; в спинном плавнике акулы находится эластоидин; коллаген костей наземных животных называется оссеином.

К коллагенсодержащему сырью гидробионтов относятся кожа, чешуя, плавники, плавательные пузыри, кости, а также спинная хорда (вязига) осетровых. Содержание азотистых веществ в названном сырье колеблется в очень широких пределах – от 7,5 до 34,4 %. Большим колебаниям в нем подвержены липиды, за исключением чешуи и вязиги (0,3–0,8 %).

Содержание коллагена в сырье рыб составляет (% на сырое вещество): в кожном покрове – от 3,1 до 5,3; в плавательном пузыре – от 1,1 до 3,5; в вязиге осетра – до 1,6. Сухое вещество чешуи рыб содержит коллагена до 30 %. В кожном покрове рыб содержание коллагена составляет около 90 % всех его белковых веществ.

Ценными источниками коллагена являются плавники, покровное сало, ткани сперматозоидного органа морских млекопитающих (китов – усатого кита сейвала и зубатого кита кашалота). Так, соединительная ткань покровного сала кашалота содержит от 73,7 до 88 % коллагена от сырого протеина, плавники – от 60 % (грудной плавник) до 83 % (хвостовой плавник), в ткани сперматозоидного органа его содержание достигает 84 %.

Среди нерыбных гидробионтов повышенным содержанием коллагена отличаются трепанг (около 40 %) и кукумария (до 62 % к общему азоту).

1.4. ОТХОДЫ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Основным источником углеводов является растительное сырье. Все растительное сырье можно разбить на 5 групп:

- 1) древесное сырье – побочные продукты лесопиления и деревообработки (щепа, опил, дрова) и продукты лесозаготовки (пни, сучья, вершинки);
- 2) сельскохозяйственное и пищевое сырье – побочные продукты переработки сельскохозяйственного сырья (шелуха, лузга, отруби, барда спиртовых заводов, меласса, рафинадная патока, жмыхи, отходы крахмалопаточных и сахарных заводов); некондиционное зерно, картофель, травы пряно-ароматические и лекарственные, овощи и фрукты, углеводсодержащие целевые продукты пищевых заводов (сахароза, крахмал, мука соевая и кукурузная и т.д.);
- 3) недревесное сырье – торф и тростник, искусственно выращенные водоросли;
- 4) вторичное сырье промышленных предприятий (целлюлозосодержащее): макулатура, отходы текстильной промышленности;
- 5) отходы и сточные воды предприятий пищевой, целлюлозно-бумажной и микробиологической промышленности, городские отходы.

Углеводсодержащее сырье растительного происхождения по химическому составу подразделяют на целлюлозосодержащее, пентозансодержащее, крахмалсодержащее, сахарсодержащее.

К целлюлозосодержащему сырью относят древесину хвойных пород, лен, джут, рами, отходы производства бумаги, типографий и др. Древесину лиственных пород, одубину (отход получения дубильных экстрактов), отходы переработки сельскохозяйственных растений, плодоовощную продукцию, а также дикорастущие растения (тростник, камыш и др.) и отходы их переработки, в том числе багассу (жмых производства сахарного тростника), малоразложившийся торф, относят к пентозансодержащему сырью.

Крахмалсодержащим сырьем считается зерно, отруби и картофель. К сахарсодержащему сырью относят свеклу, рафинадную патоку, мелассу (отходы сахарного производства), сахарный тростник.

Отходами сельского хозяйства являются солома злаковых культур, стебли хлопчатника, кукурузы, подсолнечника, кукурузная кочерыжка, шелуха семян подсолнечника, проса, гречихи, овса, хлопка, риса, льняная и конопляная костра и т.д. Сельскохозяйственные отходы относят

к пентозансодержащему сырью и используют в производстве кормовых дрожжей, фурфурола и ксилита.

Камыш, или тростник, водоросли и торф являются недревесным сырьем. В России богатые запасы тростника, особенно в пойме реки Волги. Водоросли обитают в естественных водоемах. Морские водоросли используют для производства агара.

В промышленности используется метод биоконверсии ферментативного или кислотного гидролизатов зерносырья, содержащих моно- и олигосахара. В качестве крахмалсодержащего растительного сырья используются различные зерновые культуры: как голозерные (кукуруза, рожь, пшеница), так и пленчатые (овес, просо, рис, ячмень), а также пораженное зерно и отруби.

В зерне синтезируются полисахариды, относящиеся к двум классам: структурные (целлюлоза, гемицеллюлоза) и запасные (крахмал, фитоглютен, фруктозаны). Структурные полисахариды образуют клеточные стенки, запасные – временный или постоянный запас связанного углерода и энергии. Запасной полисахарид крахмал является основным углеводным компонентом зерносырья, он и продукты его гидролиза являются лучшими источниками углерода в процессах биоконверсии. Крахмал состоит из двух компонентов: разветвленного амилопектина и неразветвленной амилозы. Остатки глюкозы в линейных участках амилопектина связаны глюкозидными связями. В обычных злаках содержание амилозы колеблется в пределах от 14 до 26 % от общего количества крахмала. Крахмалы различных восковидных сортов кукурузы, риса, ячменя и т.д. лишены амилозы.

Остальные полисахариды называют некрахмальными (НПС). К ним относятся структурные полисахариды: гемицеллюлозы и целлюлоза. Гемицеллюлозы злаковых культур являются гетерополисахаридами. Основная цепь полисахаридов обычно состоит из остатков моносахаридов одного типа, а боковые ветви образованы другими моносахаридами, присоединенными к основной цепи. При гидролизе гемицеллюлоз образуется ряд моносахаров: ксилоза, арабиноза, глюкоза, манноза, галактоза. Наряду с моносахаридами образуются также глюкуроновая и галактуроновая кислоты. Гемицеллюлозы зерносырья в основном состоят из пентозанов. Пентозаны (основная часть гумми) в зерносырье представлены полисахаридами ксиланом, арабинаном, арабиногалактаном, арабиноманнаном, арабиноглюканом и арабиноксиланом. Основными гемицеллюлозами клеточных стенок злаковых являются арабиноксиланы с небольшим количеством глюкуроновой кислоты, у двудольных – кси-

логлюканы. Значительное количество гемицеллюлоз ячменя, овса и ржи представлено β -глюканами. Моносахариды и олигосахариды в зерне злаков и продуктах их переработки (отрубях) представлены глюкозой, сахарозой, фруктозой, рафинозой; преобладает сахароза и в небольшом количестве имеются три- и тетрасахариды. В семенах растений встречается стахиоза (соя) и вербаскоза (соя, люцерна, вика).

Пектиновые полисахариды зерносырья состоят из полиуроновых кислот и нейтральных сахаров: рамнозы, галактозы, ксилозы др. Основная цепь пектинов состоит из D-галактуроновой кислоты и рамнозы. Строение пектинов определяет их свойства как структурообразователей и гелей. Целлюлозу крахмалсодержащего сырья называют клетчаткой. Наибольшее ее количество наблюдается в свежубранном зерне. При употреблении растительной пищи клетчатка растений в животных организмах улучшает пищеварение, способствует выведению из организма продуктов распада, способствует синтезу витаминов групп В и К и усвоению витамина С. Азотистые вещества в здоровом зерне представлены в основном белками (5–26 %).

Отруби в сравнении с зерновыми культурами содержат меньшее количество крахмала (11–24 %) и большее пентозанов (20,64 %), количество сахаров на одинаковом уровне. Содержание трудно гидролизующих полисахаридов – сырой клетчатки (целлюлозы) – в пшеничных и ржаных отрубях больше, чем в зерне пшеницы и ржи, но на одинаковом уровне с содержанием этих углеводов в таких зерновых культурах, как овес, рис и просо. В зерносырье присутствует полный набор гидролитических ферментов. Уровень активности гидролаз зависит от физиологического состояния зерна, этапа его развития. В процессе созревания зерна активность ферментов снижается и достигает определенного уровня. В процессе хранения зерна под действием ферментов идет снижение растворимых полисахаридов, увеличивающих вязкость содержимого кишечника животных. Это способствует повышению питательной ценности зерна.

К сахарсодержащему сырью относят сахарную свеклу и мелассу – отход сахарного производства, а также плодоовощную продукцию, которая используется в производстве вина и соков.

САХАРНАЯ СВЕКЛА

Корнеплоды сахарной свеклы содержат 25 % сухих веществ и 75 % воды. В среднем в состав сухих веществ свеклы входят сахароза в количестве 17,5 %; инвертный сахар – 0,1 %; рафиноза – 0,02 %; целлюлоза –

1,2–1,4 %; гемицеллюлоза – 1,1 %; пектиновые вещества – 2,5 %; органические кислоты – 0,5 %; азотистые вещества – 1,1 %; сапонин – 0,1 %; минеральные вещества – 0,6–5,8 %; прочие вещества – 0,3 %; в пересчете на влажные вещества: экстрактивные безазотистые вещества – 20,9 %; жир – 0,1 %; сырой протеин – 1,5 %. В состав органических кислот входят щавелевая, лимонная, яблочная и другие кислоты. Свекловичный сок имеет слабокислую среду pH 6,1–6,5. Из азотистых веществ свеклы белки составляют 60 %, из аминокислот основную часть составляет глютаминовая кислота. В качестве органических оснований свекла содержит бетаин и холин.

МЕЛАССА

Меласса – это отход производства сахара, и выход ее от исходного сырья составляет 3–5 %. Меласса представляет собой темную густую жидкость. Она содержит 75–82 % сухих веществ. Качество ее оценивается содержанием сахара в 100 г абсолютно сухих веществ мелассы (показатель доброкачественности). Меласса хорошего качества характеризуется доброкачественностью в пределах 57–62 %. В состав сухих веществ мелассы входит сахароза в количестве 45–50 %, инвертный сахар – 0,1–2 %, рафиноза – 2–3 %, несбраживаемые вещества – 35–40 %, минеральные вещества – 8,5 %.

Инвертный сахар – это продукт инверсии сахарозы. В состав инвертного сахара входят левовращающая смесь глюкозы и фруктозы. Однако содержание глюкозы в мелассе несколько больше, чем фруктозы. Из трисахаридов, кроме рафинозы, в мелассе имеются кестоза и неокестоза (0,5–1,6 %), плантеоза (0,01 %). Мелассу используют в спиртовом производстве. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* способны сбраживать и ассимилировать для синтеза биомассы сахарозу, инвертный сахар и 1/3 рафинозы. Поэтому данные сахара относят к сбраживаемым углеводам. Сумма сбраживаемых сахаров составляет 40–57 %. Несахара мелассы можно подразделить на безазотистые органические соединения и азотсодержащие вещества. К безазотистым органическим соединениям относят пентозаны и гексозаны, органические кислоты (в виде солей), ростовые, красящие и другие вещества. Азотсодержащие вещества представлены аминокислотами, органическими основаниями (бетаин, холин, пуриновые и ксантиновые основания), амидами, солями аммония и нитратами.

Меласса является богатой питательной средой для развития бактерий. Микрофлора мелассы представлена следующими бактериями: молочно-

кислыми (лейконостоками *Leuconostoc mesenterioides* и др.), уксуснокислыми, *Bac. subtilis* (сенная палочка), *Bac. mesentericus* (картофельная палочка) и дрожжами рода *Saccharomyces*, *Torula*, *Candida* и др. Из-за высокой концентрации сахарозы микроорганизмы в ней находятся в неактивном состоянии. При разведении мелассы водой создаются благоприятные условия для развития содержащихся в ней микроорганизмов. Для предотвращения развития посторонней микрофлоры ее следует подвергать термообработке или другим способам обработки кислотой.

Вопросы для самоконтроля

1. На какие классы делят сырье в зависимости от происхождения для промышленной биотехнологии?
2. Какие отходы, ценные с точки зрения биотехнологий, образуются в животноводстве?
3. Какое сырье относят к вторичному при переработке сельскохозяйственных животных?
4. Охарактеризуйте состав вторичных продуктов убоя.
5. Какова специфика свойств субпродуктов II категории?
6. Какие виды сырья относятся к вторичному в молочной отрасли?
7. Охарактеризуйте состав молочной сыворотки.
8. Что относят к коллагенсодержащему сырью гидробионтов?
9. Как классифицируют растительное сырье как источник углеводов?
10. Какие виды сырья относят к целлюлозосодержащему?
11. Какие виды сырья относят к крахмалсодержащему?
12. Приведите характеристику отрубей.
13. Что такое инвертный сахар?
14. Что такое меласса?

Глава 2

БИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

.....

2.1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О БИОКОНВЕРСИИ

Биоконверсия (биотрансформация) – это раздел биотехнологии, наука по изучению превращения одних органических соединений биологического сырья в другие под действием ферментных систем растительного, микробного и животного происхождения.

Виды процессов биоконверсии:

1. Одноступенчатые:
 - брожение (продуктами являются спирты и органические кислоты);
 - изомеризация (превращение глюкозы во фруктозу);
 - получение стероидных гормонов (из гидрокортизона получают преднизолон).
2. Многоступенчатые (требуются смешанные культуры микроорганизмов или последовательное, многостадийное добавление штаммов микроорганизмов):
 - получение кормового белка;
 - получение БАВ: гормоны, антибиотики, витамины;
 - биоконверсионная очистка сточных вод;
 - вермикультивирование (природная биоконверсия).

Преимущества биоконверсионных превращений в сравнении с химическими:

- получают продукты точно химически заданного состава, без побочных включений;
- необходимые катализаторы синтезируются клетками микроорганизмов, что уменьшает число стадий производства, что, в свою очередь, влечет за собой удешевление;

- высокая специфичность реакций (протекает только один тип реакций);
- стереоспецифичность (образуются родственные по структуре соединения);
- мягкие условия протекания реакций;
- энергетически выгодно (т.к. мягкие условия, то реакции протекают при низких температурах, т.д. идут малые затраты энергии, при значительной скорости процесса);
- большое КПД целевых веществ (93–100 %);
- возможность использования иммобилизованных клеток-микроорганизмов, которые более стабильны, чем ферменты, как следствие – увеличивается эффективность процесса и падает его цена);
- в результате очистки загрязнений (биоразрушения) не появляется второй загрязняющий агент.

Технологическое преимущество биоконверсии по сравнению с процессами химических превращений веществ состоит в том, что необходимые катализаторы синтезируются культурой микроорганизма либо используются выделенные ферменты и конверсия может быть осуществлена в одну стадию. Кроме того, ферментативные процессы в живых системах энергетически более выгодны, чем химические превращения веществ.

Современное промышленное производство продуктов биосинтеза представляет собой единую биотехнологическую систему, которая складывается из последовательных стадий и операций, количество и особенности которых зависят от вида производимой продукции и ее товарной формы.

Структура и особенности биотехнологии могут охватывать отдельные операции или процесс в целом. Совершенствование биотехнологического процесса может привести к созданию новых структурных единиц и к ликвидации устаревших. Определяющими факторами в данном случае являются:

- используемый биологический агент (объект);
- субстрат и его биохимические и биофизические характеристики;
- аппаратное оформление, включая системы контроля и управления;
- технологический режим или способ реализации;
- соответствие технологических процессов, оборудования, помещений, качества продукции и ее упаковки требованиям стандартов.

Биологическим агентом (объектом) биотехнологической системы может быть клетка (прокариот, эукариот) или вирусная частица.

Субстратом является питательная среда для культивирования клеток, продуктом – биомасса клеток, вирусов или синтезируемое клетками вещество, которому при соответствующей обработке придается товарный вид.

Одним из основных элементов аппаратурного обеспечения биотехнологического процесса является биореактор (аппарат-культиватор, ферментер). При определенных параметрах и режимах культивирования в биореакторах можно выращивать практически любые клетки.

Биологическими объектами (агентами) биотехнологии являются различные представители живой природы, которые делятся на три надцарства: акариоты (безъядерные), прокариоты (предъядерные) и эукариоты (ядерные) и 5 царств: вирусы, бактерии, в том числе микроскопические водоросли, грибы, а также растения и животные, в том числе простейшие.

Вирусы представляют собой бесклеточные частицы размером несколько нанометров и видны только в электронном микроскопе. Они являются облигатными (то есть обязательными) паразитами и могут размножаться только в клетках других организмов. Вне клеток вирусы существуют в виде вирионов, представляющих собой комплекс нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) с белком, связанных между собой нековалентными связями. Белковые молекулы, окружающие РНК или ДНК, создают оболочку вируса, называемую капсидом. По типу нуклеиновой кислоты вирусы делятся на РНК-содержащие (вирусы растений, а также возбудители гриппа, полиомиелита, СПИДа и других заболеваний) и ДНК-содержащие (бактериофаги, некоторые вирусы человека и животных, например, герпеса, оспы и другие). Наряду с типичными вирусами открыты вириды. Они представляют собой частицы, состоящие из низкомолекулярных РНК (240–400 нуклеотидов) и не содержащие капсидов.

Бактерии представляют собой безъядерные, одноклеточные (как правило) организмы размером 0,2–10,0 мкм и имеющие определенную форму (палочки, кокки, спиралевидные формы и т. д.). Внутреннее содержимое бактериальной клетки (цитоплазма) изолировано от внешней среды клеточной оболочкой, состоящей из тонкой мембраны и стенки, на которую приходится до 20 % сухого вещества бактерий. Клеточная стенка имеет сложное строение и придает бактериальной клетке определенную форму. Исключение составляют микоплазмы, у которых нет клеточной стенки и, соответственно, определенной формы. Бактериальные клетки, лишенные клеточной стенки, называются протопластами. Протопласты

используются в клеточно-инженерных исследованиях. Бактерии отличаются чрезвычайным разнообразием по условиям обитания, приспособляемости, способам питания и биоэнергообразования, а также по отношению к макроорганизмам – животным и растениям. Среди них выделяют наиболее древние формы, археобактерии, способные жить в экстремальных условиях. Так, для галобактерий, обнаруженных в морских солевых растворах, оптимальной средой обитания является концентрированный раствор поваренной соли (3,5–5,0 моль/л). Термоацидофильные бактерии способны жить в горячих источниках, на склонах вулканов и в терриконах угольных шахт при pH 1–3 и температуре 59–105 °C. Эубактерии являются более чувствительными к условиям окружающей среды. Многие из них способны паразитировать в многоклеточных организмах и вызывать болезни человека, животных и растений. Болезнетворные микроорганизмы называются патогенными. Неболезнетворные бактерии, способные обитать на слизистых оболочках и кожных покровах, но не питающиеся «живым белком», называются сапрофитами.

Благодаря большому разнообразию бактерий, обладающих широким диапазоном биохимического состава и своеобразием протекающих в них реакций, бактерии наиболее часто служат биотехнологическими объектами. Из биомассы бактерий получают различные органические вещества, в частности, аминокислоты, белки, в том числе ферменты. Бактерии являются удобным объектом для генетических исследований, так как быстро размножаются и содержат плазмидную ДНК, способную включать в свой состав чужеродные фрагменты. Генетически модифицированные и иммобилизованные на носителях клетки бактерий используются в научно-исследовательских и промышленных целях. Наиболее изученной и широко применяемой в генноинженерных исследованиях клеткой является кишечная палочка, обитающая в толстом кишечнике человека. Грибы, насчитывающие десятки тысяч видов, сочетают в себе черты клеток растений и животных. Они имеют клеточное ядро, как и растения – прочную клеточную стенку; аналогично клеткам животных они нуждаются в некоторых витаминах и способны синтезировать свойственные животным полисахариды хитин и гликоген.

Наибольший интерес для биотехнологии представляют микроскопические грибы, к которым относятся дрожжи, применяемые в хлебопечении, пивоварении и в молочной промышленности, а также плесневые грибы и другие микроорганизмы. Грибы, в частности плесени, широко используются в качестве продуцентов для получения спиртов, органиче-

ских кислот, антибиотиков, ферментов, различных биологически активных веществ и кормового белка. Самостоятельную группу организмов, представляющих собой симбиоз (сожительство) грибов с водорослями или с цианобактериями, составляют лишайники, которые являются перспективными источниками ряда биологически активных веществ.

Растения, насчитывающие около 500 000 видов, состоят из ядерных клеток, которые имеют сложное строение и выполняют различные специализированные функции. К ним относятся водоросли, являющиеся водными организмами, и высшие растения, обитающие преимущественно на суше. Водоросли отличаются от высших растений тем, что не имеют органов и тканей, а представляют собой слоевища, состоящие из недифференцированных (одинаковых) клеток. Как и другие растения, водоросли обладают способностью к фотосинтезу и богаты различными углеводами и пигментами. Один из видов водорослей – морская капуста – используется в пищу. Из водорослей добывают агар-агар и альгинаты – полисахариды, используемые для изготовления микробиологических сред и в пищевой промышленности.

Высшие растения – многоклеточные организмы, имеющие специализированные органы, такие как корни, стебли, листья. Они состоят из тканей, образованных дифференцированными клетками. Ткани различаются химическим составом, строением и выполняют разнообразные функции: механические, покровные, выделительные, проводящие и другие. Особое значение для биотехнологии имеет одна из тканей растений, называемая меристемой. Клетки меристемы способны к делению, благодаря чему осуществляется рост, а также образование тканей и органов растений. Они не утрачивают способности делиться и после удаления из растения. При выращивании на специальных питательных средах меристемные клетки дают массу делящихся клеток – каллус, который можно длительно культивировать, получать из него новые растения или использовать для извлечения нужных веществ. Наиболее сложным, но в то же время и неизмеримо более эффективным является выращивание отдельных растительных клеток в жидких средах (в суспензионных культурах). Благодаря способности растений улавливать световую энергию солнца и использовать ее в синтезе органических веществ, растения служат поставщиками питательных веществ для других организмов.

Растения составляют большую часть биомассы Земли, поэтому производство и переработка растительного сырья для удовлетворения различных потребностей человека используются с древнейших времен.

Являясь богатейшими и незаменимыми источниками разнообразных углеводов, липидов, витаминов и многих других физиологически активных и лекарственных веществ, растения служат прежде всего для их получения. При этом до настоящего времени, несмотря на выдающиеся достижения биотехнологии, используются традиционные способы извлечения биогенных соединений: экстракция, перегонка, фильтрация. Однако все большую роль приобретают технологии получения биологически активных веществ из клеточных культур (биостимуляторы из женьшеня, противораковое средство таксол из коры тиса и др.), а также производство продуктов из генетически модифицированных растений.

Животные бывают простейшими (одноклеточными) и высшими (многоклеточными). Как и растения, они состоят из ядерных клеток. Среди простейших имеются паразиты и возбудители болезней высших животных и человека. Культивирование их на искусственных средах чрезвычайно затруднено. Однако некоторые простейшие выращиваются и используются для целей биоиндикации, в токсикологических исследованиях и для получения отдельных веществ. Ткани высших животных являются источниками полноценного белка, липидных веществ и некоторых витаминов, необходимых для питания человека.

Из органов и крови животных получают различные белковые препараты (альбумин, иммуноглобулины, ферменты), некоторые гормоны и другие биологически активные вещества. Поскольку сырье животного происхождения является наиболее дорогим, а выход конечных продуктов недостаточно высок, то в современных технологиях все чаще используются культуры клеток животных или человека, выращиваемых на искусственных средах (получение интерферона, моноклональных антител).

Наиболее перспективным и экономичным способом производства биологически активных веществ является генная инженерия, позволяющая внедрить ген животного в клетку бактерии, которая начинает синтезировать нужное вещество. Так получают в настоящее время человеческий инсулин – гормон белковой природы, без которого невозможен нормальный обмен веществ; гормон роста и некоторые другие вещества.

Практически все биотехнологические процессы тесно связаны с жизнедеятельностью различных групп микроорганизмов – бактерий, вирусов, дрожжей, микроскопических грибов. Микроорганизмы потребляют из окружающей среды вещества, растут, размножаются, выделяют жидкие и газообразные продукты метаболизма, тем самым реализуя те изменения в системе (накопление биомассы или продуктов метаболизма,

потребление загрязняющих веществ), ради которых проводят процесс культивирования. Следовательно, микроорганизм можно рассматривать как центральный элемент биотехнологической системы, определяющий эффективность ее функционирования.

К биологическим методам конверсии относят процессы ферментативного гидролиза и ферментации.

Биологические методы конверсии растительного сырья:

- биоконверсия растительного сырья ферментами;
- прямая биоконверсия растительного сырья микроорганизмами (выращивание микроорганизмов, различные виды брожения);
- биоконверсия растительного сырья ферментами и микроорганизмами;
- биоконверсия растительного сырья после химических методов гидролиза.

У. Э. Виестур систематизировал процессы ферментации и разделил их по технологическим признакам на группы в соответствии с характеристиками биореакторов и условиями выращивания микроорганизмов.

В соответствии с этой классификацией процессы ферментации микроорганизмов можно разделить по следующим технологическим признакам:

- аэробные, анаэробные;
- периодические, непрерывные (полунепрерывные, приточные, отборно-приточные);
- стерильные, условно-стерильные, нестерильные;
- целевой продукт находится в клетках, вне клеток, нужна биомасса;
- глубинные, поверхностные, биокаталитические реакции, осуществляемые при помощи клеток или их компонентов на носителях (иммобилизованные системы);
- глубинные процессы на различных субстратах:
 - растворимых;
 - нерастворимых (жидких – эмульсионных и в виде пульпы);
- поверхностные процессы на различных субстратах:
 - жидких;
 - твердых.

2.2. ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРОМЫШЛЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ

2.2.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТОВ

Все биохимические реакции, протекающие в живых организмах, катализируются ферментами, являющимися по своему строению белками. Их второе равнозначное название – энзимы, а отрасль науки, изучающая ферменты, называется энзимология. Следовательно, ферменты, или энзимы, – это специализированные белки, содержащиеся в клетках и внеклеточных жидкостях микроорганизмов, растений и животных.

Первые систематические исследования специфических ферментов проведены Эмилем Фишером в начале XX века. К тому времени уже было известно, что ферменты – наиболее специализированные белки, обладающие каталитической активностью. Их эффективность и мощность намного превосходит таковые у синтетических катализаторов. Они высокоспецифичны по отношению к своим субстратам и ускоряют строго определенные химические реакции без образования побочных продуктов; ферменты функционируют в разбавленных водных растворах при физиологических значениях температуры и показателя pH.

Ферменты – функциональные единицы клеточного метаболизма. Действуя в строго определенной последовательности, они катализируют сотни многостадийных реакций, в ходе которых расщепляются молекулы питательных веществ, запасается и преобразуется химическая энергия, из простых молекул-предшественников строятся макромолекулы, входящие в состав клетки. С помощью ферментов обеспечивается гармоническое равновесие между различными метаболическими процессами, необходимыми для поддержания жизнеспособности отдельных клеток и целых организмов. Они участвуют в реакциях расщеплении белков, липидов и полисахаридов в желудочно-кишечном тракте, в процессах внутриклеточного обмена веществ, в образовании и выведении из организма конечных продуктов обмена, в энергетических процессах, в обезвреживании токсических веществ, в синтезе клеточных белков и других биогенных соединений, необходимых для жизнедеятельности.

Основное внимание в ранний период развития этимологии было сосредоточено на исследовании ферментов пищеварения (пепсин, трипсин, химотрипсин) и брожения. Именно они и являются наиболее изученными. Сейчас осознана важная роль внутриклеточных ферментов;

современный уровень развития энзимологии характерен открытием их новых представителей, позволившим понять механизм многих фундаментальных жизненных процессов. Знания о закономерностях развития автолитических процессов при переработке промышленных животных значительно пополнились благодаря выделению и изучению свойств внутриклеточных протеиназ (катепсинов) и ферментов, ответственных за двигательную функцию клетки.

Возможность получения ферментов в чистом виде привела к успешному развитию структурной энзимологии. Исследование чистых ферментов с помощью специальных химических методов позволило определить полные последовательности аминокислот в полипептидных цепях многих ферментов, а применение методов рентгеноструктурного анализа – установить детальную трехмерную структуру молекул некоторых ферментов, полученных в кристаллическом состоянии. Были определены конформация пептидных цепей, расположение различных групп, образующих субстрат, связывающий участок, и характер взаимодействия последнего с молекулой субстрата.

На основе фундаментальных исследований установлено, что все ферменты обнаруживают свойства белков, причем их каталитическая активность зависит от степени сохранности нативной структуры белка. Имея большую молекулярную массу и являясь полимерами, молекулы ферментов обладают компактной структурой, отличающейся от структуры обычных линейных полимеров. Молекулы ферментов невелики в размерах, плотно «уложены», содержат всего лишь 20–30 % воды, их растворы имеют во много раз меньшую вязкость, чем растворы линейных полимеров.

К преимуществам ферментов относятся избирательность и стереоспецифичность их действия, возможность достижения высоких скоростей превращения субстратов при относительно мягких условиях технологий, безвредность ферментов для окружающей среды и человека.

Преимуществами использования технологий на основе направленного ферментативного гидролиза являются:

- высокая скорость реакций биокаталитических процессов,
- направленное регулирование свойств,
- экономическая эффективность благодаря небольшому расходу,
- возможность широкого внедрения за счет хорошей адаптированности к традиционным технологиям.

Ферменты не являются чужеродными для организма человека веществами. В пищевых технологиях применяются в основном ферменты,

присутствующие в пищевом сырье, которые поступают в организм человека при потреблении продуктов питания.

В технологических процессах ферменты используются в малых количествах – миллиграммы на килограмм продукта. При технологической обработке пищевых продуктов они, как правило, инактивируются.

К ферментным препаратам, применяемым при производстве пищевых продуктов, предъявляются следующие требования:

- фермент должен быть специфичным по отношению к субстрату сырья;
- характер воздействия фермента на субстрат и образующиеся продукты гидролиза должны обеспечивать заданные свойства продукта гидролиза;
- активность фермента должна полностью или в значительной степени проявляться при естественном pH водного раствора или дисперсии субстрата при температуре, имеющей место в технологическом процессе (если гидролиз не выделяется как отдельная стадия);
- если в условиях применения активность фермента проявляется не полностью, нужно изменить дозировку препарата.

Существует шесть классов ферментов:

- гидролазы;
- оксидоредуктазы;
- трансферазы;
- лиазы;
- изомеразы;
- лигазы.

К гидролазам относят ферменты, которые расщепляют молекулы различных субстратов на две части с присоединением воды, к одной из частей присоединяется катион водорода, а к другой части – анион гидроксила. Большинство внеклеточных ферментов относят к гидролазам. Различные типы гидролаз расщепляют специфические связи. Гидролазы действуют на гликозидные, сложноэфирные, эфирные, пептидные, амидные и кислотнo-ангидридные связи. Представителями этого класса ферментов являются важнейшие гликозидазы, карбогидразы, фосфатазы, липазы, рибонуклеазы.

Ферменты, катализирующие процессы расщепления полисахаридов до более простых соединений с участием воды, относят к классу гидролаз, а точнее, к карбогидразам (амилазы, целлюлазы, гемицеллюлазы, полигалактуроназы, пектиназы и другие).

Процесс ферментативного гидролиза сырья зависит от его химического состава, от физического строения и надмолекулярной структуры клеточных стенок, определяющих доступ фермента к макромолекулам полисахаридов. Как ранее было показано, в состав растительного сырья входят разнообразные полисахариды. И для их комплексного гидролиза используют не один фермент, а несколько. Ферменты, объединенные в комплексы, обладают рядом особенностей (изменение микроокружения, кооперативность, диффузионное сопротивление среды). Это приводит к изменениям кинетических характеристик осуществляемых ферментами реакций.

Ферменты, участвующие в трансформации органического сырья, можно условно разделить на четыре группы:

- 1) ферменты, содержащиеся в сырье;
- 2) ферменты сопутствующей микрофлоры сырья;
- 3) ферментные системы культурных штаммов микроорганизмов – возбудителей брожения, продуцентов органических кислот, аминокислот, витаминов, ферментов, пищевого белка и пр.;
- 4) ферментные препараты (растительного, микробного и животного происхождения).

Из группы ферментов, содержащихся в сырье, наиболее важными являются гидролитические и окислительно-восстановительные ферменты.

Гидролитические ферменты – определяющие в начальной стадии производства продуктов глубокой биоконверсии, таких как спирт, пиво, вино, различные виды продуктов микробиологического синтеза. При недостаточной активности гидролаз сырья применяют обработку ферментными препаратами.

При заготовке и хранении сырья ферментативные процессы, как правило, являются отрицательным фактором. Технологические приемы заготовки и хранения пищевого сырья, а также многих видов кормов направлены на ограничение активности ферментов, прежде всего гидролитических и окислительно-восстановительных, действие которых приводит к снижению качества большинства видов растительного и животного сырья. Хорошо известна отрицательная роль оксидоредуктаз при переработке свежего растительного сырья.

На качество сырья и продуктов переработки влияют ферменты сопутствующей микрофлоры сырья, многие виды которой обладают высокой активностью гидролитических ферментов. Такие виды вызывают

быструю порчу сырья, а получаемые из поврежденного сырья продукты имеют низкое качество.

СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

В отличие от катализаторов небиологического происхождения для ферментов характерна специфичность – направленность их действия на определенный субстрат, группу субстратов, близких по своим свойствам, или на определенный тип связи. Соответственно, различают абсолютную, относительную (групповую) и стереоизомерную специфичность ферментов.

Ферменты, обладающие абсолютной специфичностью, катализируют лишь одну реакцию и действуют на один точно определенный субстрат. Групповая специфичность характерна для ферментов, действующих на разные субстраты, имеющие один тип связи. Такие ферменты специфичны по отношению к определенному типу реакций.

Являясь белками, ферменты обладают всеми их свойствами, но вместе с тем отличаются рядом специфических особенностей, вытекающих также из их белковой природы: термолабильностью, зависимостью активности ферментов от pH среды, подверженностью влиянию химических эффекторов (активаторов и ингибиторов).

Активность ферментов зависит от температуры среды. При повышении температуры на 10 °C скорость катализируемой ферментом реакции увеличивается в 2 раза. Однако повышение каталитической активности происходит только до тех пор, пока не начнется денатурация белка.

Стойкость ферментов к нагреванию зависит от химической природы фермента и степени его очистки, а также от условий проведения нагревания: кислотности среды, присутствия в растворе солей и их количества, продолжительности нагревания и т. д.

Температура, при которой фермент имеет максимальную активность, называется оптимальной температурой фермента. Для большинства ферментов, выделенных из организмов человека и животных, оптимальная температура колеблется от 37 до 45 °C. Некоторые ферменты (рибонуклеаза, трипсин, миокиназа и др.) отличаются высокой термостабильностью и малоактивны при 60–80 °C.

При температуре выше оптимальной происходит резкое снижение активности фермента, что объясняется денатурацией ферментного белка.

При температуре ниже оптимальной активность ферментов уменьшается, а при температуре ниже нуля она полностью утрачивается, однако в этих условиях структура фермента не разрушается. Поэтому при

повышении температуры фермент полностью восстанавливает свою активность.

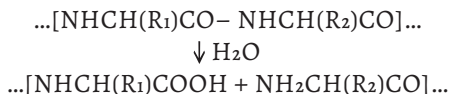
Для каждого фермента существует оптимальное значение pH среды, при котором он проявляет максимальную активность. Влияние реакции среды на скорость ферментативной реакции зависит от многих факторов.

Реакция среды влияет на состояние фермента и субстрата, на их состояние и, соответственно, скорость ферментативной реакции. Это связано с тем, что взаимодействующие с субстратом функциональные группы активных центров ферментов имеют определенный заряд только при соответствующем значении pH среды, которое считается оптимальным для данного фермента.

2.2.2. ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ

Белки и пептиды расщепляют ферменты, объединяемые в подкласс пептидгидролаз. Их называют также протеазами, протеолитическими ферментами. Пептидгидролазы расщепляют пептидную связь, которая является одной из разновидностей амидной связи.

Гидролиз идет по схеме:



Расщепление пептидной связи в точках, удаленных от конца молекулы, катализируют эндопептидазы. Их делят на четыре группы:

- 1) сериновые (трипсин, химотрипсин);
- 2) тиоловые (папаин, химопапаины А и В, бромелаин, фицин);
- 3) карбоксильные (пепсин);
- 4) металлосодержащие (протосубтилин).

Отщепление концевых аминокислот и дипептидов, а также гидролиз дипептидов катализируют экзопептидазы, которые разделяют на пять групп:

- 1) аминокпептидазы – катализируют отщепление единичных аминокислот от Н-конца полипептидной цепи;
- 2) карбоксипептидазы – катализируют отщепление единичных аминокислот от С-конца;
- 3) дипептидазы – гидролизуют дипептиды;

- 4) дипептидилпептидазы – катализируют отщепление дипептидов от М-конца;
- 5) пептидилдипептидазы – катализируют отщепление дипептидов от С-конца полипептидной цепи.

Скорость ферментативного гидролиза белковых соединений определяется наличием в них пептидных связей, специфичных для действия фермента, а также пространственной структурой субстрата. Последняя не является ограничивающим фактором при гидролизе коротких пептидов, где все пептидные связи доступны расщеплению. В белках на ранних стадиях гидролиза часть специфичных для действия фермента связей остается недоступной из-за особенностей конфигурации молекулы.

На доступность пептидных связей гидролизу влияют вторичная, третичная и четвертичная структура белков. Чем выше степень упорядоченности структуры, тем менее белок подвержен протеолизу.

Наименее доступны протеолизу молекулы с наименьшей удельной поверхностью, то есть приближающиеся по форме к шару.

Денатурация белков под действием различных физико-химических факторов (высокой температуры, экстремальных значений pH, высокой концентрации мочевины и др.) приводит к конформационным изменениям, которые в определенных условиях могут быть необратимыми. Денатурированные белки гидролизуются в целом быстрее и полнее нативных. В то же время в процессе денатурации могут происходить внутримолекулярные химические реакции, в результате которых претерпевают превращения реакционные группы, существенные для катализа, что препятствует гидролитическому расщеплению белка.

Различия в пространственной структуре белков, их конформационной подвижности, доступности тех или иных аминокислотных остатков внешним воздействиям определяют разнообразие субстратной специфичности протеаз. Промышленные препараты протеолитических ферментов выделяют из сырья, содержащего секретируемые ферменты. Среди них встречаются представители всех групп эндопептидаз, а также аминопептидазы и карбоксипептидазы.

Протеолитические ферменты синтезируются практически всеми живыми существами. Они очень распространены в природе и в последнее десятилетие находятся на переднем крае развития энзимологии. В промышленных целях как источник получения протеаз используют животные ткани, растения и клетки микроорганизмов.

ПРАВИЛА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

При практическом использовании протеолитических ферментов для гидролиза белков следует принимать во внимание следующие соображения:

1. Большинство индивидуальных протеолитических ферментов гидролизуют белки и пептиды не полностью. Поэтому для глубокого гидролиза предпочтительно применять ферментные комплексы, состоящие из пептидгидролаз различной специфичности.
2. Полнота гидролиза белков зависит не только от специфичности применяемых ферментов, но и от конформационного состояния белков. Нативные и в особенности ассоциированные белки гидролизуются труднее денатурированных. Степень гидролиза нативных белков зависит от их растворимости, для белков низкой растворимости – от степени измельчения субстрата (чем выше степень измельчения, тем больше площадь контакта белка с ферментом).
3. Для глубокого гидролиза белков наиболее целесообразно использовать комплексные ферментные препараты из культур микроорганизмов. В комплексы микробных пептидгидролаз входят внеклеточные и внутриклеточные ферменты различной специфичности. В составе ферментных препаратов преобладают внеклеточные ферменты.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПРОТЕАЗЫ

Растительные протеазы сначала разрушают мукополисахариды основного вещества ткани, затем превращают его волокна в аморфную массу.

На сегодняшний день можно выделить следующие наиболее известные ферменты, получаемые из растений: папаин из дынного дерева, фицин из инжира, бромелаин из ананасов; менее известны асклепаин из ваточника, мацин из маклюры оранжевой, мадар и раджи из латекса индийских растений *Calotropis gigantea* и *Elensine coracana*.

Папаин, бромелаин, фицин – протеиназы широкой субстратной специфичности. Они гидролизуют в белках пептидные связи, образованные лейцином или глицином.

Другие типы связей, в том числе характерные для специфичности пепсина, трипсина, химо tripsина, карбоксипептидазы, также могут расщепляться, хотя и с меньшей скоростью, благодаря этому растительные тиловые протеиназы гидролизуют белки более глубоко, чем сериновые и карбоксильные протеиназы животного происхождения.

Фермент папаин содержится во всех частях растения, за исключением корней. Неочищенный или частично очищенный папаин в прошлом был объектом многочисленных исследований. Однако позднее было установлено, что сухой латекс дынного дерева, кроме папаина, содержит целый набор цистеиновых протеиназ, которые разделяются на три главные группы: собственно папаин, химопапаины А и В (КФ 3.4.22.6) и пептидазы А и В (КФ 3.4.22.6). В последние годы папаин и химопапаины были обнаружены также в латексе из вегетативных органов (листьев и черешков) дынного дерева. В 1937 г. Болз и др. впервые получили кристаллический папаин, а в 1941 г. Янсен и Болз выделили кристаллический химопапаин.

Кристаллы папаина получают из жидкого или сухого латекса дынного дерева. Несколько раз перекристаллизованный папаин ведет себя при электрофорезе как однородное вещество основного характера с изоэлектрической точкой около $pH = 9$. Относительная молекулярная масса равна 20700. Папаин стабилен в зоне $pH = 3...11$, наибольшая стабильность наблюдается при $pH = 5$. В присутствии окислителей папаин быстро теряет активность, поэтому при работе с ним необходимо следить за окислительным потенциалом среды. Кристаллический папаин обладает, как правило, низкой активностью в отсутствие активаторов. В роли активаторов могут выступать различные низкомолекулярные тиолы, цианиды и ряд других веществ, обладающих свойствами восстановителей, например цистеин, глутатион, тиогликолевая кислота, тиосульфат и боргидрид натрия.

Папаин обладает широкой специфичностью, осуществляя глубокий протеолиз белков и синтетических субстратов. Папаин относительно устойчив в нейтральной и слабощелочной среде, но быстро и необратимо теряет активность в области кислых значений pH . По сравнению с другими протеиназами растительного происхождения (например, бромелаином и фицином) папаин проявляет значительную устойчивость к действию повышенных температур. Фермент стабилен в лиофилизированном неактивированном состоянии. Потеря активности в водных растворах происходит медленно, но зависит от температуры хранения. При инкубации в присутствии активаторов папаин теряет активность в результате автолиза. Впервые процесс автолиза папаина наблюдали при ионнообменной хроматографии. Медленное протекание процесса автолиза является причиной того, что даже наиболее активные препараты фермента оказываются загрязненными низкомолекулярными продуктами.

В пищевых отраслях широко применяется папаин, который изготавливают в различных товарных формах. В последние годы в нашей стране освоен выпуск препаратов папаина из незрелых плодов дынного дерева, которые ввозят из Эквадора. В выделяемом ферментном препарате протеолитическая активность составляет 750–1000 ед/г (по методу Ансона, субстрат – казеинат натрия). Ферментный комплекс включает: папаин, химопапаин, пептидазу А, незначительное количество лизоцима. Производится также иммобилизованная форма препарата (носитель – нейлоновое полотно) с высокой термо- и операционной стабильностью.

Фицин – протеолитический фермент, выделенный из плодов, стеблей и листьев тропических растений рода *Ficus*. Эта протеиназа типа папаина проявляет активность в широких пределах рН, но оптимальным считается диапазон 6,5–9,5, температурный оптимум активности находится в пределах 60–65 °С, инактивируется при 80 °С, оказывает заметное воздействие на мышечную и соединительную ткани. Есть сведения, что фицин способен гидролизовать нативный коллаген, хотя активность его в отношении этого субстрата заметно слабее и хорошо проявляется при рН = 3,0, резко возрастая при температуре выше 60 °С. Обладает активностью по отношению к мукополисахаридному комплексу внутримышечной соединительной ткани и растворимым белкам мяса. С повышением температуры фицин проявляет более выраженную эластазную активность.

Кристаллы фицина отличаются по форме от кристаллов папаина. Подобно папаину, в акте катализа важную роль играет цистеин. Кроме того, структура молекулы фицина имеет некоторую аналогию с папаином. Относительная молекулярная масса фицина равна 25 000–26 000.

Фицин также имеет довольно широкую субстратную специфичность. По характеру гидролизуемых связей фицин значительно отличается от папаина. Наилучшим из числа известных синтетических субстратов фицина является амид карбобензоксиметионина. Установлено, что фицин расщепляет связи четырех из пяти содержащихся в β -цепи инсулина остатков ароматических аминокислот. Предполагается, что фермент предпочтительно расщепляет связь Arg–Lys.

Фицин – единственный представитель группы растительных протеиназ, способный гидролизовать нативный коллаген. Вместе с тем он обладает высокой активностью по отношению к мукополисахаридному комплексу внутримышечной соединительной ткани. В наибольшей степени на активность фицина по отношению к коллагену и эластину влияют рН и температура.

Бромелаин выделен из плодов ананаса и по своему отношению к ингибиторам и активаторам, а также по ряду других свойств близок к папаину. Относительная молекулярная масса – около 33 000. Молекула бромелаина содержит 285 аминокислотных остатков и представляет собой одну полипептидную цепь, стабилизированную пятью дисульфидными связями и несущую одну свободную сульфгидрильную группу. Полипептидная последовательность характеризуется высокой долей основных аминокислот, что придает соответствующие свойства белку-ферменту (ИЭТ при pH = 9,55).

Бромелаин – сложный белок, содержит в качестве небелковой части прочно связанный углеводный компонент. Его активность повышается в присутствии цистеина, цианида, меркаптоэтанола; угнетается веществами, специфически реагирующими с SH-группами.

Кроме белков, бромелаин активно гидролизует и некоторые синтетические пептиды. Из всех исследованных низкомолекулярных субстратов лучше других им гидролизуются производные аргинина. В отличие от папаина бромелаин гидролизует эфир бензоил-L-аргинин, что предполагает, несмотря на большое сходство с папаином, различия в строении активных центров.

По способности гидролизовать белки мяса бромелаин оценивается примерно так же, как папаин.

Бромелаин проявляет активность в широком диапазоне pH (от 4,5 до 8,5). Растворимые белки мяса в наибольшей степени расщепляются им в интервале pH от 2,0 до 10,0 с максимумом при pH = 7,0. Он, как и другие растительные ферменты, не способен гидролизовать нативные коллаген и эластин, однако проявляет высокую коллагеназную и эластазную активность при температуре 60 °C и выше.

В связи с этим его применение в ряде зарубежных стран связано с мягчением жесткого мяса, а также с производством мясных паст, эмульсий и т.д.

ПРОТЕАЗЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В последнее время в мясоперерабатывающей промышленности стали чаще применять ферментные препараты животного происхождения как наиболее физиологичные, проявляющие высокую активность к белкам соединительной ткани.

Известны пути применения ферментов животного происхождения – пепсина, трипсина, химотрипсина, панкреатина – в различных отраслях хозяйства: медицине, пищевой, кожевенной, микробиологической, тек-

стильной отраслях промышленности, сельском хозяйстве и т.д. Однако при гидролизе белков типа эластина и коллагена их применение целесообразно лишь после предварительной термической обработки субстрата. Кроме того, ферменты животного происхождения термолабильны, их источники ограничены, препараты дороги. Несмотря на это, они находят применение в ряде стран для обработки мясного сырья и вторичных его ресурсов с целью повышения интенсивности процессов, получения более качественных продуктов, при разработке новых видов продукции.

Органы и ткани животных (поджелудочная железа, слизистые оболочки желудков и тонких кишок свиней и т. п.), содержащие ферменты, на мясокомбинатах консервируют и используют для получения ферментов. Из слизистой желудка свиней и крупного рогатого скота получают препарат пепсин. Из поджелудочной железы свиней получают панкреатин, смеси трипсина, химотрипсина, липаз и амилаз. Пепсин, трипсин и химотрипсин применяют для размягчения мяса, однако больший эффект получен при обработке мяса панкреатином.

Пепсин – фермент слизистой оболочки желудков свиней и сычугов крупного рогатого скота. Был вторым в истории энзимологии кристаллическим ферментом. Пепсин обнаружен в желудочном соке всех позвоночных.

Пепсины относятся к числу кислых протеиназ млекопитающих: пепсин А (КФ 3.4.23.1), пепсин В (КФ 3.4.23.2) и пепсин С (КФ 3.4.23.3). Они проявляют активность в кислой среде.

Относительная молекулярная масса пепсина равна 34163. Молекула пепсина имеет 321 кислотный остаток. Наиболее характерной особенностью аминокислотного состава пепсина является преобладание дикарбоновых аминокислот над основными. ИЭТ пепсина характеризуется $pH = 1,0$, pH -оптимум находится в области 1,5–2,5, интервал pH стабильности 1,5–6,0. Пепсин гидролизует белки намного медленнее, чем другие протеиназы. Еще медленнее он действует на пептиды. В противоположность некоторым другим пептидазам пепсин не действует на амидные и сложноэфирные связи, а расщепляет только пептидные.

Пепсин проявляет специфичность в отношении связей, образованных аминокислотными группами тирозина или фенилаланина. Наличие свободной аминокислотной группы вблизи пептидной связи препятствует гидролизу белка, а карбоксильной – увеличивает скорость гидролиза. Пепсин расщепляет различные животные и растительные белки, в том числе казеин, коллаген, глютин, эластин, кератин, гистон.

В поджелудочной железе человека и млекопитающих животных синтезируются сериновые протеиназы – трипсин (КФ 3.4.21.4), химотрипсины А и В (КФ 3.4.21.1), химотрипсин С (КФ 3.4.21.2).

Активная форма трипсина – однокомпонентный белок, состоящий из единственной полипептидной цепи. Фермент, выделенный из поджелудочной железы человека и различных млекопитающих, имеет молекулярную массу 22,9–25,5 кДа, рН-оптимум около 7–8. В организме трипсин стабилизируется с помощью ингибитора, с которым образует неактивный комплекс, устойчивый к протеолизу. Ингибитор синтезируется в поджелудочной железе.

Трипсин гидролизует пептидные связи, образованные карбоксилатами аргинина или лизина. Молекулы трипсина имеют глобулярное строение; свиной и бычий трипсины характерны выраженными основными свойствами (изоэлектрическая точка (ИЭТ) при $pH = 10,5$). В растворе они имеют высокую симметрию и малую степень гидратации, оптимум активности обнаруживается при интервале pH от 7,0 до 9,0 и при температуре около 50 °С. Относительная атомная масса 23 800 (бычий трипсин). Важным свойством молекул трипсина является их способность к ассоциации, в которой активный центр не участвует.

Существенно наличие свободной аминогруппы диаминокислот по соседству с расщепляемой связью. Фермент гидролизует не только амидные, но также сложноэфирные и лактонные связи. Он расщепляет различные животные и растительные белки, проявляет высокую активность в отношении белковых компонентов клеточных стенок микроорганизмов. Комплекс трипсина и лизоцима, секретируемого слизистой оболочкой кишечника, является важнейшим фактором регуляции состава микрофлоры пищеварительного тракта животных и человека.

Химотрипсин был исследован более детально, чем какой-либо другой очищенный фермент. Относительная молекулярная масса, определенная методом гельфильтрации, составляет 23 000, рН-оптимум 7,0–9,0, температурный оптимум – примерно 50 °С, изоэлектрическая точка белковой молекулы трипсина (pH) составляет 8,1–8,2.

Подобно трипсину химотрипсин осуществляет гидролиз субстратов типа сложных эфиров, который идет через образование ковалентного промежуточного соединения. Наряду с пептидами фермент гидролизует амиды и эфиры, при этом он предпочитительно расщепляет связи, образованные остатками ароматических кислот. Гидролизует также связи, образованные карбоксилатами лейцина, метионина, триптофана.

Химотрипсины, как и трипсин, расщепляют сложные эфиры и лактоны. Разнообразие типов гидролизуемых связей определяет широкую специфичность действия химотрипсинов.

К семейству химотрипсина, помимо его разновидностей и трипсина, относятся также сериновые протеиназы животного происхождения – эластаза, тромбин, плазмин, тканевые сериновые протеиназы.

На российском рынке выпускается ряд ферментных препаратов животного происхождения, в условиях ЗАО «Завод эндокринных ферментов» (п. Ржавка, Московская область) и ЗАО «Биопрогресс» (г. Щелково, Московская область) начато производство ферментных препаратов под названиями соответственно протепсин и коллагеназа.

Протепсин – энзимный препарат животного происхождения, содержащий комплекс кислых протеиназ. По данным разработчиков, препарат представляет собой порошок светло-серого цвета. Ферментный препарат характеризуется протеолитической активностью 50, 100, 150 ед/г, температурный оптимум действия в диапазоне 20–45 °С, рН = 5...6,5.

Коллагеназа из гепатопанкреаса камчатского краба – мелкодисперсный, однородный порошок бежевого цвета без посторонних включений, стандартная активность 100 ед/г, рН – оптимум действия 6,0–9,0, температурный оптимум 37–45 °С. Для коллагеназы, подобно коллагену, характерны высокие массовые доли оксипролина (1 %) и пролина (7,5 %). Степень гидролиза коллагена достигает 75,0–87,5 %.

Коллагеназно-эластазный комплекс получают на мясокомбинатах из экстракта поджелудочной железы, но из-за ограниченности источников препарат выпускается только для медицинских целей.

Препараты хорошо зарекомендовали себя в технологии производства гидролизатов из коллагенсодержащего сырья. Полученные гидролизаты находят свое применение не только в технологии пищевых производств, но и в качестве высокопитательной добавки при производстве белкового корма.

МИКРОБНЫЕ ПРОТЕАЗЫ

Протеиназы, включающие ферменты микробного происхождения, составляют около половины производства препаратов на мировом рынке. Их эффективность и мощность намного превосходят синтетические катализаторы. Они высокоспецифичны по отношению к своим субстратам и ускоряют строго определенные химические реакции без образования побочных продуктов. По экономическим и технологическим соображениям получать ферменты с помощью микроорганизмов более выгодно,

чем из растительных и животных источников. В специально созданных условиях микроорганизмы способны синтезировать огромное количество разнообразных ферментов. Они неприхотливы к составу питательной среды, легко переключаются с синтеза одного фермента на другой и имеют сравнительно короткий цикл роста (16–100 часов).

Продуцентами ферментов могут быть различные микроорганизмы: бактерии, грибы, дрожжи, актиномицеты. Для промышленного получения ферментных препаратов используют как природные штаммы микроорганизмов, так и мутантные.

К микроорганизмам – продуцентам ферментов предъявляются следующие требования:

- наличие высокой ферментативной активности;
- преимущественный синтез фермента или группы ферментов, превращающих определенный субстрат;
- генетическая стабильность по признаку синтеза фермента или ферментов;
- достаточно высокая скорость роста;
- способность расти на средах с доступными и недорогими источниками питания.

Микроорганизмы могут синтезировать одновременно целый комплекс ферментов, но есть и такие, особенно среди мутантных штаммов, которые являются моноферментными и образуют в больших количествах только один фермент. Среди микроорганизмов, обладающих высокой активностью определенного фермента, предпочтение отдается тем, которые в оптимальных физиологических условиях способны синтезировать преимущественно один фермент или группу родственных ферментов (например, только α -амилазу или только комплекс целлюлаз). Такое предпочтение связано с тем, что, во-первых, при направленном синтезе достигается наиболее высокая ферментативная активность; во-вторых, препараты с выраженной активностью определенных ферментов и отсутствием или следовыми количествами других ферментов могут применяться для воздействия на индивидуальные компоненты сложных субстратов; в-третьих, такие ферментные препараты удобны для составления мультиэнзимных композиций с заданной активностью нескольких ферментов.

Микробные клетки содержат или продуцируют более 2000 ферментов, катализирующих биохимические реакции, связанные с ростом, дыханием и образованием продуктов. Многие из этих ферментов могут

быть легко выделены и проявляют свою активность независимо от того, находятся ли они внутри клетки или в культуральной жидкости.

2.2.3. ПЕКТОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Пектолитические ферментные препараты используются для расщепления пектиновых веществ, содержащихся в стеблях растений (льна), в различных корнеплодах, фруктах. К ним относятся пектин, пектиновые кислоты и протопектин. Пектиновая кислота – это полимер галактуроновой кислоты. Пектин – это полностью или частично этерифицированная метиловым спиртом пектиновая кислота. Протопектин представляет собой комплекс с целлюлозой и белковыми веществами. Строение комплекса пока полностью не установлено. Пектиновые вещества имеют молекулярную массу от 20 до 200 кДа. Пектиназы делятся на две группы – гидролазы и трансэлиминазы. Первые катализируют процесс отщепления метоксильных групп (пектинэстераза) или обеспечивают разрыв α -1,4-гликозидных связей (полигалактуроназы). Вторые осуществляют негидролитическое расщепление пектиновых веществ с образованием двойных связей (пектинтрансэлиминазы).

«Пектаваморин Пюх» и «Пектаваморин Гюх» (ГОСТ 18920-73) – препараты пектолитических ферментов и кислой протеазы из культуры гриба *Aspergillus awamori*. Ферментный комплекс включает: эндо- и экзополигалактуроназу, пектинэстеразу, ксиланазу, кислую протеазу, β -глюканазу. Общая пектолитическая активность (ПкС) выражена в тех же единицах, что и для препарата «Целлюлаза-100». За единицу пектинэстеразной активности принято количество фермента, которое катализирует гидролиз 1 мк-экв сложнэфирных связей в молекуле пектина за 1 мин при 30 °С.

За единицу полигалактуроназной активности принято количество фермента, которое в условиях определения при 30 °С катализирует гидролиз 1 мк-экв гликозидных связей в молекуле пектовой кислоты за 1 мин. За единицу протеолитической активности принята способность фермента превращать за 1 мин при температуре 30 °С казеинат натрия в неосаждаемые трихлоруксусной кислотой продукты в количестве, соответствующем 1 мкмоль тирозина. В препарате «Пектаваморине Гюх» активность пектолитических ферментов по группам соответствует таблице 3, активность кислой протеазы не регламентируется.

Оптимальные условия действия препаратов: pH 2,5–5, температура 45–52 °С. Влажность препаратов не более 13 %, конидии (споры) грибов не должны присутствовать.

«Пектофоетидин П10х» (ТУ 64-13-04-87) имеет ферментативный комплекс, сходный с «Пектавамоорином» (таблица 3). Продуцент – *Asp. foetidus*. Оптимальные условия действия для пектолитических ферментов pH 3,5–4,5, температура 35–45 °С; для кислой протеазы – pH 2,5–4. В качестве наполнителей используются кизельгур, перлит – в партиях, предназначенных для виноделия и консервной промышленности; поваренная соль, мука кукурузная или иная – в препаратах для животноводства. Влажность препарата – не более 15 %. Бактериальная обсемененность – не более 10⁵ колоний/г, споры гриба-продуцента не должны обнаруживаться.

Таблица 3

Активность препаратов
пектинрасщепляющего действия по группам, ед/г

Вид активности	Группа			
	1	2	3	4
«Пектаваморин П10х» (группы 1–4)				
Пектолитическая	36	27	18	9
Пектинэстеразная	70	40	20	8
Полигалактуроназная	450	330	240	120
Протеолитическая (при pH 2,5)	12	9	6	3
«Пектофоетидин П10х» (группы 1–3)				
Пектолитическая	100	36	9	
Пектинэстеразная	80	60	7	
Полигалактуроназная	1500	570	160	
Протеолитическая (при pH 2,5)	10	3	1	

«Пектофоетидин Г20х» (ТУ 9291-007-05800805-93) – препарат из глубинной культуры *Asp. foetidus*. Стандартизуется по общей пектолитической активности, которая составляет по группам, ед./г: 1–200, 2–150, 3–100, 4–18. Оптимальные условия действия: pH 3,8–4, температура 35–37 °С. Препарат стандартизуют добавлением кизельгура, поваренной соли, кукурузной муки в зависимости от целевого назначения. Споры продуцента в препарате должны отсутствовать. «Пектофоетидин Г20х» (ТУ 9291-007-05800805-93) – препарат из глубинной культуры *Asp. foetidus*. Стандартизуется по общей пектолитической активности, которая состав-

ляет по группам, ед./г: 1–200, 2–150, 3–100, 4–18. Оптимальные условия действия: pH 3,8–4, температура 35–37 °С. Препарат стандартизуют добавлением кизельгура, поваренной соли, кукурузной муки в зависимости от целевого назначения. Споры продуцента в препарате должны отсутствовать.

2.2.4. ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Целлюлолитические ферментные препараты используются при обработке целлюлозы. Сама целлюлоза, или клетчатка, представляет собой полисахарид общей формулы $(C_6H_{10}O_5)_n$ и содержится в клеточных стенках растений. При степени полимеризации $n = 10$ образует кристаллическую решетку. Нитевидные молекулы, взаимодействуя между собой, образуют прочные структуры – фибриллы. В объеме таких фибрилл существуют упорядоченные кристаллические участки, где молекулы расположены параллельно друг другу и связаны водородными связями. Существуют также аморфные участки с неупорядоченной структурой. Микроорганизмы способны синтезировать целый комплекс целлюлолитических ферментов, которые последовательно катализируют процесс гидролиза целлюлозы до глюкозы. Целлюлолитические ферменты, разрушающие целлюлозу, синтезируются в основном грибами, относящимися к различным видам: *Aspergillus amstelodami*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus oryzae*, *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma virida*, *Trichoderma koningii* и многие другие. В ферментном комплексе различают три группы ферментных препаратов: *Ci*-фактор, *Cx*-фермент и целлюбиазу.

Они широко распространены в природе (в почве, в организмах животных, в растительных остатках).

Для более эффективного гидролиза целлюлозы можно использовать комплекс ферментов. Целлюлазный комплекс содержит 4 группы ферментов.

Оптимальное действие ферментного препарата «Целловиридин» проявляется при температуре $50 \pm 0,2$ °С и значениях pH $5,0 \pm 0,5$. Срок хранения препарата – 12 месяцев при температуре не более 25 °С. Нормы внесения (ЦЛА 2000 ед/г) 0,001–0,025 % к массе зернопродукта. В России начали производить мультиэнзимные ферментные препараты МЭК-СХ-1 и МЭК-СХ-2, обладающие целлюлолитической активностью (185 ед/г).

«Целлоконингин Пюх», «Целлолигнорин Пюх» – препараты целлюлазы из культур грибов *T. koningii*, *T. lignorum*. В ферментном комплексе присутствуют эндо- и экзо- β -1,4-глюканазы, целлобиогидролаза, целлобиаза, ксиланаза. Стандартная активность целлюлазы – 50 ед/г. Оптимальные условия действия: pH 4,5–5,5, температура 50–60 °C.

«Целлобрин ГЗх» – препарат целлюлазы из культуры *T. longibrachiatum*. В комплекс ферментов входят эндо- β -1,4-глюканаза, целлобиогидролаза, целлобиаза, ксиланаза. Стандартная активность целлюлазы – 50 ед/г.

«Целлюлаза-100» – комплексный цитолитический ферментный препарат, выделяемый из смешанной культуры грибов *Asp. foetidus* и *T. viride*. Обладает активностью эндо- β -1,4-глюканазы, целлобиогидролазы, целлобиазы, эндо- β -1,3–1,4-глюканазы, β -1,3-глюканазы, ксиланазы, полигалактуроназы, пектинэстеразы. Сопутствующие ферменты – хитиназа, кислая протеаза.

За единицу целлюлазной активности принято такое количество фермента, которое, действуя на субстрат (хроматографическую бумагу) при температуре 50 °C и pH 4,8 в течение 1 мин, образует 1 мкмоль восстанавливающих сахаров в пересчете на глюкозу. Данная единица активности в 10,8 раза больше единицы, принятой для выражения активности «Целловиридина».

2.2.5. АМИЛОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ

Амилазы объединяют большую группу ферментов, которые осуществляют гидролиз преимущественно α -(1,4)-гликозидной связи в амилозе, амилопектине, гликогене и других мальтоолигосахаридах. Они находят применение почти во всех областях, где перерабатывается крахмалосодержащее сырье.

Амилазы бывают двух типов: эндо- и экзоамилазы. Четко выраженной эндоамилазой является α -амилаза, способная к разрыву внутримолекулярных связей в полимерных цепях субстрата. Глюкоамилаза и β -амилаза являются экзоамилазами, т.е. ферментами, атакующими субстрат с нередуцирующего конца.

Реакции, катализируемые амилазами, имеют две стадии: короткую предстационарную и длительную стационарную. Во время первой стадии эндоамилаза быстро уменьшает молекулярную массу субстрата, образуя смесь линейных и разветвленных олигосахаридов. Второй этап реакции

продолжается, пока продукты гидролиза не перестанут окрашиваться йодом; он протекает значительно медленнее и зависит от индивидуальных свойств фермента и его природы.

α -амилаза (1,4- α -D-глюкан-глюканогидролаза) является эндоамилазой, вызывающей гидролитическое расщепление α -1,4-гликозидных связей внутри полимерного субстрата. Это водорастворимый белок, обладающий свойствами глобулина и имеющий молекулярную массу 45–60 кДа. Все α -амилазы относятся к металлоэнзимам, содержание в них Са колеблется от 1 до 30 г-атом / 1 г-моль фермента. Полное удаление Са приводит к инактивации фермента. Глутаминовая и аспарагиновая кислоты составляют 25 масс. % от массы белка. В зависимости от вида микроорганизма свойства α -амилаз могут сильно отличаться не только по механизму воздействия на субстрат и по конечным продуктам, но и по оптимальным условиям для проявления максимальной активности. Присутствие в промышленных препаратах протеиназ снижает каталитическую активность α -амилазы. В результате воздействия α -амилазы на первых стадиях в гидролизате накапливаются декстрины, затем появляются не окрашивающиеся йодом тетра- и тримальтоза, которые очень медленно гидролизуются α -амилазой до ди- и моносахаридов.

β -амилаза (1,4- α -D-глюкан-мальтогидролаза) является экзоферментом концевой действия и проявляет сродство к предпоследней 1,4-связи с нередуцирующего конца линейного участка амилозы и амилопектина. Продукт реакции – мальтоза – имеет β -конфигурацию. Гидролиз идет по линейной цепи только до α -1,6-связей. При гидролизе крахмала образуется 54–58 % мальтозы и 42–46 % высокомолекулярных декстринов (β -декстринов). Бета-амилазы проявляют большую стабильность в отсутствие ионов Са. Фермент может состоять из одной или четырех субъединиц, содержит SH-группы и чувствителен к действию тяжелых металлов. Для получения мальтозы из крахмала используют бактериальные β -амилазы.

Глюкоамилаза (1,4- α -D-глюкан-глюкогидролаза) широко распространена в природе. Она синтезируется многими микроорганизмами и образуется в животных тканях. В литературе фермент известен под различными названиями: амилоглюкозидаза, γ -амилаза, лизосомальная α -глюкозидаза, кислая мальтаза, матулаза, экзо- α -1,4-глюкозидаза. Глюкоамилаза катализирует последовательное отщепление концевых остатков α -D-глюкозы с нередуцирующих концов субстрата. Этот фермент проявляет экзогенный механизм воздействия на субстрат.

Фермент пуллуланаза (пуллулан-6-глюканогидролаза) ранее был известен под названиями R-фермент, предельная декстриназа, амилопектин-6-глюканогидролаза. Пуллуланаза, как и α -амилаза, является эндогенным ферментом, но в отличие от нее способна неупорядоченно гидролизовать α -1,6-связи в пуллулане, амилопектине, гликогене и предельных декстринах, получаемых при совместном воздействии на крахмал и гликоген α - и β -амилаз.

Изоамилаза (гликоген-6-глюканогидролаза), или дебранчинг-фермент, гидролизует α -1,6-связи в разветвленных полисахаридах, таких как амилопектин, гликоген, β -предельные декстрины. Отличительной особенностью изоамилазы по сравнению с пуллуланазой является то, что она не способна гидролизовать пуллулан и слабо действует на предельные β -декстрины. Бактериальная изоамилаза расщепляет α -1,6-связи в гликогене полностью, а пуллуланаза действует на этот субстрат слабо. Изоамилазу образуют многие микроорганизмы, такие как *B. amyloliquefacie*, *Cytophaga*, *Streptomyces*, *Pseudomonas amyloclavata*, *Saccharomyces cerevisiae* и др., ферменты которых обладают способностью гидролизовать субстрат при pH от 3,5 до 6,5 и температурах от 25 до 53 °C. Изоамилаза не стабилизируется кальцием, за исключением фермента из *Cytophaga*.

α -глюкозидаза (α -D-глюкозидглюкогидролаза) обладает способностью гидролизовать α -1,4-связи от нередуцирующего конца субстрата с отщеплением остатка глюкозы. Фермент проявляет наибольшее сродство к низкомолекулярным субстратам, легко гидролизует мальтозу, олигосахариды, а полисахариды гидролизует медленно или вовсе не гидролизует. α -Глюкозидаза объединяет группу ферментов и имеет ряд других названий: мальтаза, глюкоинвертаза, глюкозидосахараза.

Декстраназа (1,6- α -D-глюкан-6-глюканогидролаза) катализирует расщепление α -1,6-связей в бактериальном полисахариде декстране. Среди продуцентов декстраназ следует отметить *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Lactobacillus bifidus*, *Streptococcus mutans*, *Bravibacterium fuscum*, *Pseudomonas* UQM-733, различные почвенные бактерии, а также многочисленные виды микроскопических грибов рода *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*.

Декстраназы имеют молекулярную массу от 35 до 71 кДа; они являются слабокислыми белками. Изоэлектрическая точка для всех грибных декстраназ лежит в диапазоне от 4,0 до 4,6. Для большинства бактериальных декстраназ оптимальная температура каталитического действия составляет 35–37 °C; для грибных продуцентов температура несколько

выше – 55–60 °С. Оптимальное значение pH колеблется в зависимости от вида продуцента от 4,4 до 7,5.

АМИЛОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

«Амилосубтилин Гзх», «Амилосубтилин Гюх» – препараты α -амилазы из культуры *B. subtilis*. Сопутствующие ферменты: эндо- β -1,3–1,4-глюканаза, нейтральная металлопротеиназа. «Амилосубтилин Гзх» (ГОСТ 23635-90) стандартизуется по амилолитической и протеолитической активности (таблица 4).

Таблица 4

Активность амилолитических ферментных препаратов
по группам, ед/г

Вид активности	Группа	
	1	2
«Амилосубтилин Гзх»		
Амилолитическая	100	600
Протеолитическая (при pH 7,2), не менее	5	4,6
«Амилоризин Пюх»		
Амилолитическая (при pH 4,7)	2500	2000
Протеолитическая (при pH 5,5), не менее	45	30
«Глюкаваморин Гзох» (порошок)		
Глюкоамилазная	2000	1000
Амилолитическая, не менее	30	15
Протеолитическая, не более	15	10
Глюкоамилаза очищенная		
Глюкоамилазная	2000	1000
Амилолитическая (при pH 4,7)	30	15
Протеолитическая (при pH 5,5), не более	15	10

«Амилосубтилин Гюх» имеет стандартную амилолитическую активность 3000 ед/г. За единицу амилолитической активности принята способность фермента катализировать в стандартных условиях расщепление до декстринов различной молекулярной массы 1 г крахмала, что составляет 30 % крахмала, введенного в реакцию. Оптимальные условия действия: pH 5,4–6,2, температура 55–70 °С. Стабилизаторы – ионы кальция и других щелочноземельных металлов, ингибиторы – хелаты, тяжелые металлы. В качестве наполнителей используют поваренную соль, кукурузную муку, мел. Влажность препарата Гзх – не более 8 %, Гюх – не более 13 %.

«Амилолихетерм Г18х» – препарат термостабильной α -амилазы из культуры *B. licheniformis*. Сопутствующие ферменты: пуллулаза, β -глюканаза, протеаза, ксиланаза, эстераза. Выпускается в жидкой форме. Стандартная активность α -амилазы – 1000 ед/мл. Оптимальные условия действия: pH 8, температура 90 °С. Активаторы α -амилазы – ионы кальция, магния и натрия.

«Амилоризин П10х» – препарат α -амилазы из культуры гриба *Asp. oryzae*. Обладает также активностью протеазы, β -глюканазы, ксиланазы. Стандартизуется по трем видам активности (таблица 7). Оптимальные условия действия препарата: pH 4,7, температура 45–55 °С. Стабилизаторы – соли кальция, ингибиторы – хелаты, тяжелые металлы. Обсемененность препарата ограничивается величиной 10^5 колоний/г. Осахаривающая активность препарата по группам составляет, ед/г, не менее: 1–12 500, 2–10 000. За единицу осажаривающей активности принята способность фермента катализировать за 1 мин при определенной температуре и pH расщепление 1 мкмоль гликозидных связей в растворимом крахмале с образованием восстанавливающих сахаров.

Помимо «Амилоризина», выпускаются аналогичные препараты под названиями «Амилопроторизин Г10х» и «П10х» из различных штаммов *A. oryzae*. «Амилопроторизин» обладает повышенной по сравнению с «Амилоризином» протеолитической активностью, составляющей при pH 4 540–806 ед/г, при pH 5,5–590–950 ед/г. «Амилопроторизин» имеет оптимум действия при pH 4,0–6,5 и температуре 50 °С, стабилен при температуре не выше 60 °С. В протеолитический комплекс препарата входят сериновая протеиназа, карбоксильная протеиназа, металлопротеиназа, лейцинаминопептидаза, карбоксипептидаза (выделены основные компоненты). Амилолитическая активность «Амилопроторизина» составляет 1200–1700 ед/г, ксиланазная – 3100–3800, экзо- β -глюканазная – 150–360 ед/г.

2.2.6. ПРОИЗВОДСТВО ФЕРМЕНТОВ

Объем продаж ферментов на мировом рынке составляет сотни миллионов долларов в год, при этом их производство ежегодно возрастает на 10–15 %. Ферменты получают из сырья растительного и животного происхождения, однако наиболее дешевым и технологичным источником ферментов являются микроорганизмы. В них найдено около половины из более чем 3000 открытых к настоящему времени ферментов, при этом на долю ферментных белков приходится до 5 % от общего количества

содержащихся в микроорганизмах белковых веществ. Основные этапы получения ферментов из микроорганизмов следующие: культивирование продуцентов в питательной среде в течение 1–7 суток, выделение клеток путем центрифугирования и их отмывание, дезинтеграция (разрушение) клеток, центрифугирование цитозоля, выделение ферментов из надосадочной жидкости путем высаливания и гельфльтрации, очистка от низкомолекулярных примесей путем диализа, высушивание, контроль активности и фасовка. Поскольку получение очищенных ферментов – довольно трудоемкий процесс, иногда в технологических процессах используют целые микробные клетки, содержащие необходимые ферменты.

Наиболее эффективным является применение иммобилизованных ферментов. Иммобилизация, то есть фиксация молекулы фермента на неподвижной матрице, значительно, в десятки тысяч раз, увеличивает стабильность фермента и срок его активности, что позволяет многократно или непрерывно в течение длительного времени использовать ферментный препарат. Иммобилизация осуществляется путем присоединения молекул ферментов к носителю за счет ионных, адсорбционных взаимодействий посредством ковалентной связи или включением их в гелевые, волокнистые структуры, в микрокапсулы, липосомы. Носителями могут служить различные полимерные материалы, силикагель, оксиды металлов, целлюлоза и другие полисахариды, а также стекло и керамика. Иммобилизуют не только очищенные ферменты, но и целые или частично разрушенные микробные клетки, что экономически более выгодно.

Технологический процесс с участием иммобилизованных ферментов проводят, как правило, в проточных реакторах (колоннах), в которых катализатор функционирует в виде неподвижной фазы или в перемешиваемом слое. С помощью иммобилизованных клеток *E. coli*, содержащих аспартат-аммиаклиазу, синтезируют аспарагиновую кислоту. Аналогичным методом получают глутаминовую кислоту, треонин, лизин и другие аминокислоты, органические кислоты и их оптические изомеры, а также лекарственные препараты, в частности, стероидные гормоны, антибиотики и другие биогенные вещества. Ферменты сохраняют свои уникальные свойства (эффективность, специфичность действия) и вне клеток, поэтому ферментные препараты широко применяют в практических целях. Биологические катализаторы нетоксичны, работают в мягких условиях, в качестве субстратов используется доступное сырье, в том числе и отхо-

ды. В связи с этим применение ферментов в промышленности выгодно с экономической и экологической точек зрения.

Производство ферментных препаратов осуществляется и поверхностным, и глубинным способами. При поверхностном способе в качестве продуцентов используются грибы. Питательные среды при этом способе имеют твердую или рыхлую консистенцию. Основой почти всех сред являются увлажненные пшеничные отруби. Для придания среде рыхлой структуры и ее обогащения к пшеничным отрубям добавляются древесные опилки или солодовые ростки. Культивирование проводят в условиях аэрации.

Глубинный способ выращивания принципиальных отличий от поверхностного не имеет. Культивирование проводят в жидких средах, а продуцентами могут быть и бактерии.

При получении внеклеточных ферментов применяют питательные среды неопределенного состава. В таких средах в качестве источника органического углерода и азота, как правило, используют различные сорта крахмала (картофельный, кукурузный, рисовый), кукурузный экстракт, соевую муку, гидролизаты биомассы дрожжей. Однако такие питательные среды неприменимы при выделении внутриклеточных ферментов, так как биомасса в этом случае содержит нерастворимые компоненты, затрудняющие выделение и очистку целевого продукта.

При получении ферментов высокой степени очистки целесообразно культивировать продуцент в питательной среде строго детерминированного (определенного) состава, что обеспечивает направленный биосинтез нужного фермента.

Ферментные препараты представляют собой жидкости (до 50 % сухих веществ) либо порошки. Часто они содержат не один фермент, а целый комплекс. Выделение и очистка ферментов – очень трудоемкий и дорогой процесс, поэтому в некоторых случаях ферментные препараты применяют неочищенными. Но в пищевой промышленности используют препараты высокой и даже предельной степени очистки. Чем выше очистка, тем выше активность препарата. В целом ряде случаев необходимо иметь ферментные препараты, стандартизованные по активности входящих в их состав ферментов. В этом случае используют различные наполнители: муку, крахмал, соли серной и соляной кислот, бентонит и др.

За рубежом выпускают комплексные ферментные препараты, содержащие амилазы, протеазы, пектиназы, целлюлазы и гемицеллюла-

зы (Gellulfse Onozuka SS, Pancellase RR – фирма Yakult Honaha Co, Ltd; Zellozume – фирма Nagase; «Дерасил» – фирма Geva и другие).

2.2.7. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

Ферменты зерновых культур в практической деятельности человека применяются с древних времен. Зерно злаков богато запасными веществами, которые используются в энергетическом и конструктивном метаболизме при прорастании зерна.

Преобразование крахмала, крахмальных полисахаридов, белка, липидов начинается с их гидролитического расщепления. Продукты расщепления используются в циклах дыхания и биосинтеза структурных элементов растения. В покоящемся зерне имеются ферменты, необходимые для гидролиза всех видов полимеров. Значительная часть гидролитических ферментов находится в связанном, неактивном состоянии. Активность свободных форм гидролаз не проявляется из-за отсутствия свободной воды, необходимой для протекания реакций гидролиза.

В зерне имеются ингибиторы протеолитических ферментов и α -амилазы. Ингибиторы протеаз предотвращают протеолитический процесс связанных ферментов и их переход в свободные, активные формы. При соответствующей температуре и влажности зерно набухает и прорастает. Процесс прорастания сопровождается увеличением активности большинства ферментов. Ингибиторы протеаз – белки с низкой молекулярной массой – диффундируют во внешнюю среду, что создает условия для проявления активности протеаз. Под действием протеаз активируются связанные формы ферментов. Параллельно осуществляется биосинтез новых ферментов.

Проросшее зерно (солод) – богатейший источник ферментов. Ферментативный комплекс солода включает амилолитические ферменты (α - и β -амилазу, α -глюкозидазу, пуллулазу, предельную декстриназу), β -фруктофуранозидазу, целлюлолитические ферменты (эндо- и экзоглюканазы, целлобиазу), гемицеллюлазы (эндо- β -1,3-глюканазу, ламинарибиазу, эндо- и экзоксилазы, ксилобиазу, арабинозидазу), протеазы эндо- и экзотипов, липазы, фосфатазы, окислительно-восстановительные ферменты (каталазу, пероксидазу, о-дифенолоксидазу).

Рациональная технология солода обеспечивает получение максимальной активности гидролитических ферментов при минимальных затратах массы зерна на дыхание. Активность ферментов в процессе

прорастания изменяется в зависимости от влажности зерна, температуры среды, продолжительности выращивания, способа аэрации (таблица 5). При получении сухого солода его ферментативная активность зависит от способа сушки.

Наибольшее применение находят ячменный и ржаной солод, первый – в пивоварении, второй – в хлебопечении и при приготовлении квасного сула. Высокой ферментативной активностью обладает солод из шестирядного озимого ячменя: амилолитическая и протеолитическая активность соответственно в 1,5–2 и 3–5 раз выше, чем в солоде из двухрядного пивоваренного ячменя.

Таблица 5

Оптимальные режимы солодоращения для разных культур

КУЛЬТУРА	ТЕМПЕРАТУРА, °С	ВЛАЖНОСТЬ ЗЕРНА, %	ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ПРОРАЩИВАНИЯ, СУТ.
Ячмень двухрядный	13–15	46	7
Ячмень шестирядный	17–19	47–48	6
Рожь	18–20	48–50	3
Пшеница	16–18	46–48	3–4
Овес	15–18	42–43	5–6
Кукуруза	18–20	46–48	5

Амилолитические ферменты солода имеют сходные свойства. В покоящемся зерне α -амилаза присутствует в незначительных количествах. Фермент активно синтезируется в процессе прорастания. Синтез индуцируют гиббереллины, образующиеся в ростке. Максимальная активность α -амилазы найдена в алейроновом слое.

Оптимальные условия действия фермента: pH 5,6–5,8, температура 60–65 °С. В заторах температурный оптимум повышается до 70–75 °С, а предел термостабильности – до 80 °С, что связано со стабилизирующим действием высоких концентраций крахмала в заторах. Активируется α -амилаза солода ионами кальция и хлора, ингибируется ионами железа, хрома, меди. В солоде присутствуют два изофермента α -амилазы. При длительном гидролизе крахмала солодовой α -амилазой получают смесь сахаров, состоящую на 87 % из мальтозы и на 13 % из глюкозы.

Фермент β -амилаза находится в зерне в свободной и связанной формах. Связанная форма локализуется только в эндосперме. Активация ее происходит под действием протеаз и тиоловых агентов. Накапливается β -амилаза в зерне в интервале от 2 до 5 суток проращивания, основная активность сосредоточена в алейроновом слое. Фермент имеет оптимум

действия в разбавленных растворах крахмала при pH 4,6–5,6 и температуре 40–50 °С, в заторах крахмалистого сырья – при 60–65 °С. Стабилен при pH 4–8 и температуре до 60 °С, в заторах – до 70 °С. Ингибиторы – ионы тяжелых металлов, галогены, озон.

β -Амилаза расщепляет амилозу на 100 % с образованием мальтозы. Гидролизу амилопектина препятствуют точки ветвления, вокруг которых долго сохраняются негидролизованные фрагменты полиглюкозидных цепочек. Крахмал в целом расщепляется с образованием около 50 % мальтозы и такого же количества предельного β -декстрина, дальнейшее расщепление которого может происходить при добавлении α -амилазы.

Полный комплекс амилотических ферментов солода гидролизует зерновой крахмал на 100 %.

При прорастании зерна существенно увеличивается активность β -фруктофуранозидазы, эндо- и экзоглюканаз (в 10 раз), эндоксилазы (в 3 раза), экзоксилазы (в 2 раза), эндопептидазы (в 5–6 раз), экзопептидаз (в 1,5–10 раз), фосфатаз (в 5–10 раз), липазы (в 2 раза). Целлобиазная активность, высокая в покое зерне, при прорастании снижается. Это коррелирует с повышением активности других целлюлолитических ферментов, комплекс которых может расщеплять целлюлозу до глюкозы без участия целлобиазы.

Протеолитический комплекс солода включает эндо- и экзопептидазы. Эндопептидазы в зерне представлены свободной и связанной формой. Переход в свободную форму происходит за счет удаления ингибиторов (их протеолиза, диффузии во внешнюю среду). В комплексе экзопептидаз идентифицированы карбоксипептидаза, магнийсодержащая лейцинаминопептидаза и дипептидаза.

Протеолитические ферменты солода гидролизуют белок в зоне pH 4–9. Этот диапазон соответствует изменению величины pH в различных участках прорастающего зерна, что связано с гидролизом белка, превращениями аминокислот, синтезом органических кислот. Эти изменения отражаются в возрастании титруемой кислотности в процессе проращивания в 4–5 раз при незначительном увеличении средней величины pH (с 6 до 6,3). Компенсация активной кислотности происходит за счет буферного действия белков, фосфорорганических соединений, свободного фосфата, ионов органических кислот и металлов.

Сушка солода приводит к изменению абсолютной активности ферментов и соотношения ферментативных активностей, что объясняется ограниченной и различной термостабильностью компонентов фермен-

тативного комплекса. В результате сушки амилолитическая активность светлого солода снижается на 30–40 %, темного – на 70 %. Потери происходят в основном за счет термоинактивации β -амилазы, α -амилаза более стабильна.

Снижение пептидазной активности при сушке светлого солода (температура 95–100 °С) незначительно. В темном солоде, который сушат в интервале температуры 112–120 °С, наблюдается существенное снижение пептидазной и фосфатазной активности. Высокоферментативный солод из шестирядного ячменя рекомендуют сушить при температуре 72–80 °С.

2.2.8. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ БИОКОНВЕРСИИ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Ферментативные процессы применяются с доисторических времен во всех сферах деятельности человека. Виноделие и пивоварение, сыроварение и получение соевых продуктов, лечение нарушений пищеварения и выделка кож – наиболее характерные примеры использования ферментов. Применение ферментов в химических и пищевых технологиях обусловлено их специфичностью, а также высокой активностью при проведении реакций в мягких условиях и отсутствием побочных продуктов реакций.

Со второй половины XX в. производятся сотни тонн очищенных ферментов различного назначения. Около половины получаемых ферментных препаратов приходится на протеазы. Постоянно расширяются их ассортимент и сфера применения. Протеазы используются для умягчения мяса и увеличения выхода качественных мясных продуктов, створаживания молока и производства новых молочных продуктов, для предотвращения холодного помутнения пива и расщепления клейковины муки, а также для получения белковых гидролизатов и смесей аминокислот пищевого и медицинского назначения. Ряд тиоловых ферментов, применяемых для повышения физико-химических и качественных показателей мясных изделий, выделяют из растительного сырья. К ним относятся папаин, бромелаин, а также фицин. Перечисленные ферменты отличаются дороговизной, поскольку их продуцентами являются тропические растения. Вследствие этого в мясное производство все больше внедряются кислые протеазы, синтезируемые грибами и похожие по свойствам на пепсин и ренин.

В странах Индокитая с их помощью гидролизуют белки сои и готовят соевые соусы. Кислые протеазы применяются также в кожевенной

промышленности для удаления шерсти и выделки мягких, эластичных кож. Сериновые протеазы, характеризующиеся низкой специфичностью и широким оптимумом действия, чаще всего используют в качестве действующего начала в стиральных порошках. Из них в наибольших количествах (более 500 т в год) вырабатывается субтилизин Carlsberg. Разработаны технологии получения сериновых протеаз из алкилофильных микроорганизмов, которые активны при pH 9–12 и температуре выше 50 °C. Отличительной особенностью сериновых протеаз является то, что они не гидролизуют белки до отдельных аминокислот. Ограничением для их применения в пивоварении является то, что они инактивируются сериновым ингибитором солода. Более высокой избирательностью действия по сравнению с сериновыми протеазами обладают металлоферменты, в активном центре которых обычно содержится цинк. Они используются для различных целей наряду с бромелаином и папаином, в том числе для гидролиза белков ячменя при осветлении пива. Для выделки сыра необходима специфичная протеаза (ренин или сычужный фермент), расщепляющая одну пептидную связь в κ -казеине. Традиционно этот фермент вырабатывается из слизистой оболочки желудка телят.

В связи с труднодоступностью и дороговизной сырья в течение длительного времени шли поиски заменителя ренина. Однако ни одна из известных протеаз (в том числе микробного происхождения) не отвечала требованиям сыроделов. Только в последнее время удалось получить ренин методом генной инженерии, путем внедрения рекомбинантной ДНК, содержащей ген сычужного фермента теленка, в *E. coli*. Более 25 % производимых путем биотехнологии ферментов являются гликозидазами, катализирующими расщепление различных поли- и олигосахаридов. Они применяются для гидролиза (осахаривания) крахмала, расщепления сахарозы и лактозы с целью получения моносахаридов и безлактозных продуктов, а также на разных стадиях производства пива. Для полного расщепления крахмала применяется пуллулаза, катализирующая разрыв α -1,6-гликозидных связей амилопектина в точках ветвления. Ферменты бактерий, способные катализировать гидролиз β -гликозидных связей в клетчатке, применяются в переработке сельскохозяйственной продукции, что увеличивает выход пищевых углеводов. Около четверти от общего количества вырабатываемых промышленностью ферментов представлены энзимами разных классов, которые применяются в разных отраслях промышленности, в лечении и диагностике заболеваний, а также в генно-инженерных исследованиях.

Из нескольких тысяч известных в настоящее время ферментов наиболее широко в промышленности используются гидролитические ферменты: амилазы, протеазы, пектиназы и целлюлазы. К этой группе препаратов относятся α -, β -амилазы и глюкоамилаза. Их используют для гидролиза крахмала и гликогена. В процессе гидролиза сначала образуются более простые полисахариды – декстрины, а в последующем – глюкоза. При этом α -амилаза гидролизует без определенного порядка α -1,4-глюкозидные связи с образованием декстринов, мальтозы и глюкозы, β -амилаза отщепляет остатки β -мальтозы, а глюкоамилаза – остатки глюкозы от концевых частей молекул полисахарида. Наиболее широкое применение эти препараты нашли в пищевой промышленности (производство патоки и глюкозы).

Протеазы нашли свое применение в различных отраслях народного хозяйства: в пищевой и легкой промышленности (предварительная обработка свежего сырого мяса и шкур, животных в кожевенной промышленности), в химической промышленности при получении синтетических моющих средств с добавками протеолитических ферментных препаратов, в здравоохранении при лечении некоторых воспалительных процессов, ожогов, тромбозов.

Пектолитические препараты нашли свое применение в легкой промышленности при вымачивании льна и в пищевой промышленности для осветления вин и консервирования фруктовых соков.

Целлюлолитические ферментные препараты нашли применение в целлюлозно-бумажной промышленности, медицинской промышленности (получении лекарственных веществ – стероидов из растений), в пищевой промышленности (при производстве растительных масел) и в сельском хозяйстве (в качестве добавок к кормам жвачных животных).

Классическими примерами биоконверсии служат процессы получения продуктов брожения: спиртов, органических кислот (уксусной, молочной, лимонной, глюконовой) из углеводных субстратов, ферментативное превращение глюкозы во фруктозу.

Ферментными методами получают различные виды сахаристых продуктов, используя в качестве сырья крахмал, зерно злаков, инулинсодержащее сырье, молочную сыворотку. Ведущее место занимают продукты ферментации крахмала – глюкозно-фруктозный сироп и различные виды патоки. С начала 70-х годов мировая потребность в сахаре, используемом при производстве кондитерских изделий, в значительной мере удовлетворяется за счет сахаристых продуктов из крахмала, производство которых в развитых странах существенно превышает производство сахарозы.

Производство спирта этилового из пищевого сырья основано на конверсии сбраживаемых органических соединений в этанол с помощью культур дрожжей. Решение задачи получения спирта из сырья и повышения рентабельности его производства состоит из следующих этапов:

- 1) обеспечение путем биоконверсии полного гидролиза крахмала и некрахмальных полисахаридов в сбраживаемые сахара;
- 2) обеспечение применяемых дрожжей питательными элементами, необходимыми для их быстрого размножения и синтеза гидролитических ферментов и ферментов цикла брожения.

Ферменты играют ключевую роль на всех этапах пивоварения. Классическая технология пива основана на использовании ферментов ячменного солода и дрожжей-сахаромицетов. Технология виноделия основана на регуляции процессов, катализируемых ферментами сырья, его микрофлоры, культурных штаммов дрожжей и бактерий – возбудителей брожения. Обработку ферментными препаратами применяют на стадиях получения сока, подготовки сусла к брожению, стабилизации вина. Способ применения ферментных препаратов определяется качеством сырья и видом вырабатываемой продукции. Ферментация растительного материала применяется при производстве компонентов безалкогольных напитков, витаминных экстрактов, пищевых красителей. Ферментация соков снижает содержание коллоидов в растворе и повышает скорость их последующей фильтрации.

Ферментные препараты применяются при производстве чая и чайных экстрактов. Так, обработка чайного листа на стадии скручивания-ферментации раствором препарата «Целлолигнорин Пюх» увеличивает на 2,0–3,3 % в чайном листе количество экстрактивных веществ (фенолов, аминокислот, сахаров). Окислительные превращения указанных веществ формируют аромат и цвет настоя чая.

Таким образом, к настоящему времени ферментные препараты стали мощным средством трансформации практически любого вида биологического сырья, формирования и контроля качества продуктов. Применение ферментных препаратов позволило существенно повысить глубину переработки пищевого сырья и кормов, улучшить органолептические свойства и создать новые виды пищевых продуктов, повысить усвояемость кормов. При переработке органического сырья необходимо держать в поле зрения все возможные источники ферментативной активности и правильно оценивать их влияние на выход и качество продуктов переработки.

2.3. МИКРОБНАЯ БИОКОНВЕРСИЯ

2.3.1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О МИКРОБНОЙ БИОКОНВЕРСИИ

Микроорганизмы способны к трансформации природных соединений в ценные для человека вещества. Микробным синтезом получают ферменты, белки, витамины, органические кислоты, антибиотики и другие полезные вещества.

Среди продуктов микробной биоконверсии сырья можно выделить несколько групп: корма с повышенным содержанием легкоусвояемых веществ, протеинизированные корма (с повышенным содержанием белка), белковые пищевые продукты, белковые гидролизаты, обезвреженные продукты и корма. Питательным субстратом для микроорганизмов может служить доступное, дешевое сырье, в том числе отходы перерабатывающих отраслей агропромышленного комплекса.

В процессах микробной биоконверсии используют необработанное сырье (прямая биоконверсия) или сырье, подвергнутое предварительной обработке механическими, химическими, электрохимическими, радиационными методами, а также с помощью ферментных препаратов.

Прямая биоконверсия целесообразна при переработке жидких субстратов с достаточно высоким содержанием легкоусвояемых соединений углерода и азота. При переработке твердых субстратов прямую биоконверсию применяют при наличии микроорганизмов с мощными ферментными системами, способными воздействовать на биополимеры сырья, прежде всего на структурные биополимеры.

Основными источниками сырья для микробной биоконверсии служат отходы пищевой промышленности и сельскохозяйственного производства. Отходы сельскохозяйственного производства (солома злаков, початки, стебли и листья кукурузы, стебли и корзинки подсолнечника, ботва различных корнеплодов, отходы виноградной лозы, чайных плантаций, стебли табака и пр.) обладают низкой кормовой ценностью из-за наличия трудно гидролизующих полисахаридов и невысокого содержания белка. В некоторых видах сельскохозяйственных отходов присутствуют компоненты, затрудняющие использование на корм скоту.

2.3.2. ТЕХНОЛОГИЯ МИКРОБНОЙ БИОКОНВЕРСИИ

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА СЫРЬЯ применяется для увеличения его доступности действию микробных ферментов, частичной или полной деструкции комплексов биополимеров и их компонентов. Основной задачей предобработки является воздействие на структурные животные и растительные полимеры – коллаген, целлюлозу, гемицеллюлозу, пектиновые вещества – и матриксный компонент лигнин. Эти полимеры обеспечивают прочность и жесткость клеточных стенок, что является основным препятствием для ферментативной деструкции.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ОБРАБОТКА применяется в технологии биоконверсии низкоценного и трудногидролизуемого сырья – плодоовощных отходов, некондиционного фуражного зерна, лигноцеллюлозных материалов (соломы, отходов хлопчатника, подсолнечника и др.), коллаген-содержащего сырья.

Ферментные препараты выбирают в соответствии с составом сырья. Так, для гидролиза плодоовощных отходов, содержащих значительные количества пектиновых веществ и целлюлозы, используют комплекс пектиназ и целлюлаз, для отходов хлопчатника – комплекс гемицеллюлаз и целлюлаз. Для обработки фуражного зерна, главные компоненты которого – крахмал, белок, глюкан, арабиноксилан, – необходим комплекс амилазы, протеазы, глюканазы и ксиланазы. Такой комплекс можно получить, например, сочетанием препаратов «Амилосубтилина», «Протосубтилина» и «Целловиридина» или «Вильзима АК».

В тех случаях, когда микробную биоконверсию осуществляют в асептических условиях, ферментативную обработку проводят на стадии приготовления питательной среды. При выращивании микроорганизмов на нестерильных средах обработку сырья ферментами можно совместить с процессом культивирования, однако необходимо учитывать уровень и характер обсемененности ферментных препаратов.

МЕХАНИЧЕСКОЕ ИЗМЕЛЬЧЕНИЕ представляет собой наиболее простой способ предобработки сырья. Измельчение позволяет увеличить удельную поверхность материала, то есть площадь его контакта с химическими агентами или биокатализаторами. Это адекватно повышению реальной концентрации субстратов в реакционной среде и приводит к пропорциональному возрастанию скорости их превращений в соответствии с законом действующих масс которому подчиняются как химические, так и ферментативные реакции.

Сильное механическое измельчение изменяет структуру сырья на молекулярном уровне. Очень важно контролировать температурный режим процесса измельчения, поскольку сильный нагрев вызывает побочные химические реакции в сырье.

Механические методы предобработки часто сочетают с химическими и ферментативными.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРЕДОБРАБОТКА сырья применяется для разделения комплексов структурных полимеров путем преимущественной экстракции какого-либо компонента, а также для расщепления полимеров на низкомолекулярные продукты, которые могут быть использованы микроорганизмами как источники питания.

В качестве химических агентов чаще всего применяют кислоту и щелочи. Мягкая обработка этими агентами (в течение 1–4 ч при температуре не выше 100 °С и атмосферном давлении) применяется для перевода в растворимое состояние гемицеллюлозы, пектиновых веществ, лигнина. Более жесткий режим обработки дает возможность расщепить биополимеры на блоки различной величины, вплоть до мономеров.

Недостаток химической обработки в том, что она дает побочные продукты реакции, обладающие токсическим действием на организм. При кислотном гидролизе растительного материала образуются такие токсины, как метанол, формальдегид, ацетон, летучие фенолы, фурфурол и его производные, муравьиная кислота. Как кислотный, так и щелочной гидролиз приводит к деградации аминокислот, образованию продуктов их конденсации с углеводами и другими соединениями. Поэтому использование химических агентов для предобработки сырья требует тщательных исследований механизма и кинетики процессов с целью получения продуктов гидролиза заданного состава и качества.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ. Микробную биоконверсию сырья осуществляют путем ферментации глубинной, твердофазной или смешанного типа. Выбор способа культивирования зависит от вида сырья и физиологических особенностей микроорганизмов, используемых при биоконверсии.

Двухступенчатую ферментацию смешанного типа применяют при необходимости двухстадийной биоконверсии сырья различными штаммами микроорганизмов. Такая ферментация проводится, например, при биологической детоксикации кормов с высоким содержанием афлатоксинов.

Разработка технологии культивирования включает обязательные стадии:

- выбор штамма микроорганизма;
- выбор способа культивирования;
- определение оптимальных параметров технологического процесса.

Выбор культуры микроорганизмов определяется прежде всего их способностью продуцировать целевой продукт на сырье, подлежащем биоконверсии.

Для прямой биоконверсии субстрата в белковый кормовой продукт можно использовать один штамм микроорганизмов, обладающий комплексом ферментов для гидролиза субстрата и синтеза белка на основе продуктов гидролиза, или ассоциацию из двух и более штаммов, среди которых есть микроорганизмы с высокой активностью гидролитических ферментов и микроорганизмы, активно синтезирующие белок.

Выбор микроорганизма – продуцента белка облегчается, если есть возможности для предобработки сырья, которая частично заменяет действие гидролитических ферментов микроорганизмов. При выборе микроорганизмов принимают во внимание ограничения, связанные с имеющимся арсеналом технологического оборудования. Аппаратурное оформление процесса культивирования должно обеспечивать соблюдение оптимальных технологических параметров.

Выбранный штамм микроорганизмов, помимо способности синтезировать целевой продукт на определенном виде сырья, должен обладать генетической стабильностью (способностью сохранять биосинтетический потенциал длительное время в условиях промышленного производства); высокой скоростью роста; устойчивостью к инфекции; способностью к выживанию в достаточно широком диапазоне параметров внешней среды (рН, температуры, концентрации кислорода и элементов питания). Предпочтительно использовать спорообразующие формы микроорганизмов, так как они имеют более высокую генетическую стабильность, чем вегетативные формы, и более удобны для размножения в чистой культуре.

Подготовка посевного материала. Качество и количество посевного материала в значительной мере определяют результат культивирования микроорганизмов на субстрате биоконверсии. Посевного материала должно быть достаточно, чтобы обеспечить быстрое развитие микроорганизмов в питательной среде. Это особенно важно при выращивании микроорганизмов на нестерильных средах, когда продолжительная лаг-фаза

микроорганизма-продуцента может способствовать развитию инфицирующих форм, содержащихся в среде или поступающих из воздуха.

При выращивании грибов, обладающих способностью к спороношению (конидиеобразованию), в качестве посевного материала используют поверхностные культуры, которые получают выращиванием на твердых средах – отрубях, свекловичном жоме, крупах, ломтях моркови и пр. Культуры должны обильно спороносить, количество спор – 0,5–3 млрд/г сухой культуры. Расход посевной культуры грибов на единицу массы среды составляет при глубинном культивировании около 0,005 %, при твердофазном – около 0,01 %.

Перед использованием посевного материала его активируют. Культуру заливают стерильным раствором минеральных солей, иногда с добавлением биостимуляторов (экстракта солодовых ростков, кукурузного экстракта, триптического гидролизата казеина, отдельных сахаров, аминокислот), получают суспензию спор, которую переносят в колбу и ставят в термостатируемую качалку на 6–12 ч. Споры набухают и прорастают, что сокращает лаг-фазу роста в основной ферментации.

Спороносящие бактерии выращивают в виде пленок на твердых или жидких питательных средах в течение времени, необходимого для перехода культуры в стадию спороношения (1–3 сут.). Расход посевного материала (по массе среды, на которой он выращен) – 0,002–0,03 %. Активация посевного материала не требуется. Пленки на жидких средах используются непосредственно, пленки на твердых средах (отрубях, ломтях картофеля, крупах) заливают стерильной водой, взбалтывают и полученной суспензией засевают производственную питательную среду.

Посевной материал спороносящих культур грибов и бактерий, выращенный на отрубях и крупяных твердых средах, может храниться при комнатной температуре в течение месяца более без потери биологического потенциала. Посевной материал неспороносящих форм микроорганизмов расходуется в больших количествах – от 3 до 10 % к объему засеваемой среды. При малых дозах посевного материала вегетативные формы микроорганизмов развиваются очень медленно.

Выращивание вегетативных форм микроорганизмов ведут ступенчато. Классическим примером является получение пекарских дрожжей на мелассе. Дрожжи из пробирки с чистой культурой пересевают несколько раз в последовательно возрастающие объемы питательной среды, сохраняя дозировку посевного материала 10 %. Аналогично поступают при

получении культуральной жидкости продуцентов белка, аминокислот, ферментов и пр.

При периодическом культивировании микроорганизмов такая технология доставляет много хлопот. Поэтому культивирование вегетативных форм стараются проводить в непрерывном режиме, если позволяют технологические характеристики процесса. Примерами непрерывных процессов, основанных на культивировании вегетативных форм микроорганизмов, являются получение пищевых и кормовых дрожжей, производство этанола, уксусной кислоты.

ВЫБОР СПОСОБА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ определяется физиологическими особенностями микроорганизмов и свойствами сырья для биоконверсии. Как отмечалось ранее, существуют два основных способа культивирования: поверхностный (на поверхности жидких и сыпучих питательных сред) и глубинный (в толще жидкой питательной среды). Поверхностный способ (чаще – твердофазный) осуществляется в периодическом режиме, глубинный – в периодическом и различных вариантах непрерывного культивирования.

Твердофазное культивирование – это выращивание микроорганизмов на увлажненных, хорошо аэрируемых твердых (сыпучих) средах.

Основой сред могут служить отруби зерновых культур, крупы, лигно-целлюлозные субстраты, свекловичный жом и пр. Эти компоненты при необходимости дополняют минеральными солями, растворы которых используют для увлажнения субстратов. Влажность питательных сред в зависимости от вида культивируемого микроорганизма составляет 55–75 %.

Питательные среды стерилизуют, засевают культурами микроорганизмов, перемешивают для равномерного распределения посевного материала, а затем раскладывают в кюветы тонким слоем (3–5 см). Кюветы помещают в растительные камеры с регулируемой температурой и влажностью. Современный вариант твердофазного культивирования – это выращивание микроорганизмов в механизированных растительных камерах вертикального или горизонтального типа при толщине слоя культуры 30–50 см.

По окончании твердофазного процесса получают культуру в виде плотной, подсохшей массы с содержанием сухих веществ 50–65 %. До 30 % сухих веществ составляют водорастворимые компоненты – ферменты, неактивные белки, пептиды, аминокислоты, олиго- и полисахариды, нуклеиновые соединения, минеральные вещества.

Преимуществами твердофазного культивирования являются возможность использования крупнодисперсных субстратов, хорошие физические свойства среды, обеспечивающие высокий уровень тепло- и массообменных процессов в культуре.

Микроорганизмы растут в условиях, близких к естественным, при фиксации на субстрате, который при этом быстро и полно используется.

Твердофазное культивирование применяют почти исключительно для выращивания мицелиальных грибов. Одноклеточные микроорганизмы в твердой фазе выращивают в тех случаях, когда они имеют тенденцию к образованию нитевидных, мицелиальных форм, то есть обладают диморфизмом.

Для выращивания бактерий, одноклеточных дрожжей и актиномицетов применяют глубинный способ культивирования. Он успешно используется и для мицелиальных грибов. Глубинное культивирование проводят в ферментерах, снабженных перемешивающими устройствами, системами аэрации, термо- и pH-регуляции. Питательные среды стерилизуют в ферментерах или установках непрерывной стерилизации. В технологии биоконверсии растительного сырья часто используют нестерильные среды. Концентрация питательных компонентов в средах не превышает 25 %, обычно составляя 5–10 %. В состав питательных сред входят минеральные соли, стимуляторы роста, источники органических соединений углерода и азота, последние – в водорастворимой или мелкодисперсной форме.

Преимущества глубинного способа выращивания: высокий уровень механизации и автоматизации процесса; возможность ведения процесса в условиях стерильности, регулируемого pH и состава среды, а также в непрерывном режиме, при котором значительно повышаются экономические показатели и обеспечивается генетическая стабильность микроорганизмов-продуцентов.

Непрерывное культивирование используется в тех процессах биоконверсии, где образование целевого продукта связано с накоплением биомассы и достигает максимума в конце экспоненциальной – начале стационарной фазы. Это имеет место, например, в процессах микробного синтеза белка.

Как правило, при непрерывном культивировании удельная скорость роста и биосинтеза целевых продуктов выше, чем при периодическом. Снижается расход компонентов питательной среды, поскольку для притока используются более бедные среды, чем для периодического куль-

тивирования. Повышается коэффициент использования оборудования, уменьшается расход энергии и количество сточных вод. В длительных непрерывных процессах за счет автоселекции стабилизируется генотип микроорганизмов, что приводит к повышению продуктивности.

Режимы культивирования. Выбор оптимального режима культивирования включает определение следующих параметров: состав среды, pH, температура, уровень аэрации среды, влажность среды и подаваемого воздуха (для твердофазного процесса), вид пеногасителя (для глубинного процесса), продолжительность культивирования.

Кислотность среды должна соответствовать оптимуму для роста микроорганизмов. Обычно pH устанавливают в интервале 5–7. В условиях глубинного культивирования pH регулируют подачей водного аммиака или растворов слабых кислот (ортофосфорной, уксусной).

В период активного роста микроорганизмов температуру среды поддерживают на оптимальном для роста уровне. Оптимальная температура роста для мезофильных бактерий составляет 30–37 °С, для дрожжей и грибов 26–30 °С. Термофильные формы микроорганизмов имеют оптимальную температуру роста до 65 °С, в зависимости от температуры естественной среды обитания. В начальной стадии культивирования спорообразующих форм микроорганизмов устанавливают температуру несколько выше оптимальной для вегетативного роста, с целью активировать прорастание спор. Так, культивирование спороносных бактерий с оптимумом роста 37 °С начинают при температуре 43–45 °С.

Заключительные стадии процессов биоконверсии, связанных с образованием вторичных метаболитов или детоксикацией растительных материалов, проводят при температуре, оптимальной для биоконверсии, которая обычно несколько ниже оптимальной для роста.

При твердофазном культивировании температуру среды поддерживают подачей воздуха или воды с соответствующей температурой в рубашку установки. При глубинном культивировании терморегуляцию осуществляют подачей горячей или холодной воды в рубашку ферментера.

Аэрацию жидких питательных сред увеличивают по мере ускорения роста и накопления биомассы микроорганизмов. Аэрация усиливается за счет барботажа и перемешивания жидкости. Диспергирование подаваемого воздуха необходимо, поскольку микроорганизмы поглощают только растворенный кислород.

При твердофазном культивировании воздух расходуется не только на аэрацию, но и на теплообмен, поэтому воздух находится в сфере ро-

ста всегда в достаточном количестве. Расход воздуха в зависимости от возраста культуры и типа растительной установки колеблется в пределах 3–30 м³/ч·кг абсолютно сухих веществ культуры. Влажность подаваемого воздуха должна быть 98–100 %, что необходимо для предотвращения высыхания твердофазной культуры.

Важным элементом технологии глубинного культивирования является пеногашение. Вспенивание среды вызывается наличием таких компонентов, как крахмал, декстрины, белки, пептиды, глюкозиды, пектиновые вещества. Вспенивание приводит к потере культуральной жидкости в результате уноса с газообразной фазой.

Для предотвращения вспенивания применяют природные и синтетические пеногасители, чаще вторые (адеканоль, пропиол и др.). Наиболее сильное вспенивание происходит в фазе активного роста, что связано с выделением белков из клеток активно размножающейся культуры, а также с высоким уровнем аэрации среды в этот период.

Для пеногашения используют разбавленные стерильные растворы пеногасителей, которые вносят в культуральную жидкость небольшими порциями. Передозировка пеногасителя может привести к прекращению роста культуры или его частичному торможению. Современные ферментеры оснащены системами автоматической подачи пеногасителя, а также механическими устройствами для пеногашения.

При культивировании анаэробных микроорганизмов (кловстридий, некоторых видов молочнокислых бактерий и др.) среды не аэрируют, но производят постоянное или периодическое перемешивание для активизации массообмена. Анаэробы выращивают только глубинным способом.

Необходимая продолжительность ферментации может быть определена по динамике накопления целевых продуктов или утилизации компонентов среды (в частности, токсинов – в процессах детоксикации).

2.4. ПРОДУКТЫ БИОКОНВЕРСИИ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

2.4.1. ПРОДУКТЫ БИОКОНВЕРСИИ СЫВОРОТКИ

Начало развития биотехнологии в молочной промышленности связано с использованием процессов брожения лактозы молочнокислыми микроорганизмами и получением различных напитков. Использование микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности вплоть до появления основополагающих работ Л. Пастера носило спонтанный характер и мало зависело от человека. После установления природы возбудителей брожения процесс стал более управляемым. В 1913–1914 гг. появляются сообщения о получении молочной кислоты, дрожжевой биомассы и рибофлавина на молочной сыворотке. Однако малые объемы сырья, имеющегося на сравнительно мелких молокоперерабатывающих предприятиях, не способствовали развитию этих производств. Бурный поток информации о технологии микробного синтеза наблюдался в 1939–1945 гг. и позже в связи с развитием производства антибиотиков. Успехи в области энзимологии открыли новую страницу в биотехнологии: появились работы о производстве и применении ферментов, в том числе в иммобилизованном состоянии, о трансформации органических соединений в различные продукты, в том числе с использованием мутантных форм микроорганизмов и т. д.

Наличие в молочной сыворотке легкоусвояемых многими видами микроорганизмов источником углеводного питания, а также различных ростовых факторов выдвигает ее в ряд наиболее ценных питательных сред для получения продуктов микробного синтеза. Немаловажное значение имеет и то обстоятельство, что применение молочной сыворотки не требует специальной сложной подготовки (как, например, при получении продуктов микробного синтеза на различных гидролизатах и другом непищевом сырье), а культуральная среда после выращивания в ней микроорганизмов может быть использована в пищевых и кормовых целях без обработки. В настоящее время известно более 30 различных продуктов из сыворотки, в основу получения которых положена микробная биотехнология. С развитием исследований в этом направлении (особенно интенсифицировавшихся в последние годы) разрабатываются новые технологии микробного синтеза, в ряде стран организуются круп-

нотоннажные производства как в системе молочной промышленности, так и в смежных подотраслях агропромышленного комплекса. Только в последние годы в нашей стране созданы и внедрены новые технологические процессы получения жидких и сухих белково-витаминных кормовых продуктов («Промикс», «Био-ЗЦМ», «Провилакт»), создана технология отдельных гидролитических ферментов (β -галактозидаза, целлюлаза), различных напитков и т.д. В ряде стран нашло широкое применение использование для расщепления лактозы на глюкозу и галактозу иммобилизованных ферментов, что позволяет применять для целей биосинтеза микроорганизмы, неспособные в обычных условиях утилизировать лактозу. Это, в свою очередь, значительно расширяет возможности переработки сыворотки в разнообразные продукты на основе биотехнологии (таблица 6).

Таблица 6

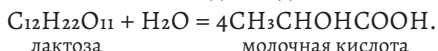
Основные пути использования подсырной сыворотки

Нативная молочная сыворотка	Производство напитков, паст, сырков, кормление животных
Сухая сыворотка	Пищевая промышленность, кормление животных
Лактоза	Пищевая и фармацевтическая промышленность
Сывороточные белки	Пищевая промышленность
Продукты переработки на основе биотехнологии:	
молочная кислота	Легкая и пищевая промышленность
этанол	Пищевая промышленность, технические цели (топливо)
метан	Энергетика
лимонная кислота	Пищевая промышленность
антибиотики	Фармацевтическая промышленность
белок одноклеточных (из дрожжей и грибов)	Пищевая промышленность, кормление животных
ферменты	Пищевая промышленность
микробный жир	Кормление животных

Биологическая обработка молочной сыворотки повышает ее питательную ценность за счет обогащения полезными веществами, а также получения ряда специфических продуктов. Основные направления биологической обработки: синтез белковых веществ дрожжами, использующими лактозу; гидролиз лактозы ферментами до более сладких моноз; микробный синтез витаминов, жира, ферментов; переработка лактозы в молочную кислоту и этиловый спирт; расщепление молочных белков до свободных аминокислот.

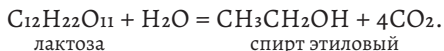
Использование микроорганизмов – один из основных методов обогащения молочного сырья, в том числе и молочной сыворотки, белком. На этом методе основано производство широкого ассортимента продуктов и полуфабрикатов для пищевых (напитки, сыворотка для хлебопекарной и кондитерской промышленности), кормовых (сыворотка обогащенная, закваски для силосования кормов,) и технических (этиловый спирт, молочная кислота, столовый уксус, лизин и др.) целей. Для этого в молочную сыворотку после предварительной обработки вносят различные закваски, которые готовят на чистых культурах определенных видов микроорганизмов (молочнокислых, уксуснокислых бактерий, дрожжей).

В результате молочнокислого брожения происходит расщепление лактозы до глюкозы и галактозы и далее до молочной кислоты:



Параллельно с молочнокислым брожением, как правило, протекают побочные процессы, которые обуславливают накопление продуктов распада лактозы – летучих кислот, спиртов, диацетила. Брожение прекращается самопроизвольно, когда микроорганизмы расщепляют лишь часть (20 %) лактозы, поскольку образующаяся молочная кислота губительно действует на их развитие.

Получение этилового спирта из молочной сыворотки основано на сбраживании лактозы специальными видами дрожжей до спирта и углекислоты:



Считается, что на спирт расходуется до 95 % молочного сахара, а 5 % идет на образование массы дрожжевых клеток и побочных продуктов спиртового брожения. Суть технологии состоит в том, что исходную молочную сыворотку очищают от белков, вносят дрожжи и ведут процесс брожения при 33–34 °С в течение 48–72 ч. Затем дрожжи отделяют от бражки (например, центрифугированием), а последнюю подвергают дистилляции. Выход спирта в условиях промышленного производства составляет 84 %. Побочными продуктами процесса получения спирта являются сывороточные белки, которые могут использоваться на пищевые цели, а также послеспиртовая бражка, которая может использоваться на корм сельскохозяйственным животным.

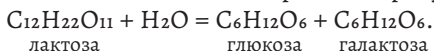
Наиболее приемлемый продуцент белка в молочной сыворотке – дрожжи, использующие для питания лактозу. Дрожжевая сыворотка по содержанию белка превосходит исходную. Кроме дрожжей, микробный

белок на молочной сыворотке синтезируют плесени. При этом сыворотку целесообразно обогащать солями марганца или цинка и вносить азотсодержащие соединения. Также для улучшения культивирования плесени вносят бактерии *E. coli*. Обогащенная микробным белком и витаминами молочная сыворотка является основой био-ЗЦМ для телят. Для дрожжевания применяют свежую творожную или подсырную сыворотку, из которой удалены белки. Процесс ферментации осуществляется в аппаратах с мешалкой при постоянном поступлении воздуха до полного использования лактозы. Далее – температурная обработка для инактивации живых клеток, сгущение до 40 % сухого вещества.

Для очистки перед дрожжеванием сыворотку нагревают (90 °С) в сочетании с кислотной коагуляцией (соляная или молочная кислота) для подсырной и раскислением (водный раствор аммиака) для творожной сыворотки. Для интенсификации накопления биомассы вводят минеральные вещества.

ОБРАБОТКА СЫВОРОТКИ ФЕРМЕНТНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

Для гидролиза лактозы используют фермент β-галактозидазу. В результате гидролиза плохо растворимый и несладкий молочный сахар (лактоза) превращается в более сладкую и хорошо растворимую смесь моносахаров (глюкозы и галактозы), что позволяет широко использовать фермент для производства пищевых и кормовых продуктов.



В результате гидролиза в моносахара превращается до 50–70 % лактозы, увеличиваются сладость и усвояемость готового продукта.

Натуральная молочная сыворотка содержит значительное количество ароматических соединений. Технологическая обработка и гидролиз увеличивают их количество, что благоприятно отражается на возможности использования в хлебопечении, производстве безалкогольных напитков и других пищевых продуктов.

Гидролиз белков молочной сыворотки до пептидов и аминокислот осуществляется для повышения биологической ценности и качества (прозрачность и отсутствие осадка) продуктов. Наиболее эффективны следующие протеолитические ферменты: протеазы *Actinomyces vulgaris* (88 % гидролиза), трипсин (76), протофрадин и панкреатин (67), куриный пепсин (54), протоальбин (47). В процессе гидролиза в молочной сыворотке изменяется количество аминокислот. В гидролизованной молочной сыворотке содержится весь набор аминокислот, заметно увеличивается их содержание в сравнении с исходной сывороткой, особенно лейци-

на и глутаминовой кислоты. Появляются оксиаминокислоты (серин, треонин), двухосновные (гистидин, аргинин), а также ароматические и серосодержащие аминокислоты.

Из такой молочной сыворотки готовят сгущенные и сухие обогащенные концентраты. В производстве молочного сахара гидролиз белков позволяет улучшить его качество и стабилизировать технологический процесс. На основе ферментации молочной сыворотки можно приготовить белковые гидролизаты для микробиологических питательных сред.

2.4.2. ПРОДУКТЫ БИОКОНВЕРСИИ РЫБНОГО СЫРЬЯ

Изменение видового состава сырья, ежегодное увеличение доли маломерных рыб и рыб пониженной товарной ценности в уловах заставляют изыскивать пути и методы наиболее целесообразного использования этого нетрадиционного белкового сырья. Наиболее перспективным направлением является производство белковых концентратов, гидролизатов, изолятов, фаршей и создание на их основе структурированных изделий, имитирующих традиционную продукцию. В связи с этим широкое развитие должно получить новое направление производства различных ароматизаторов, пищевых красителей, структурообразователей на основе использования отходов рыбной промышленности.

К числу белковых препаратов из гидробионтов относятся гидролизаты рыбного белка (ГРБ), рыбные белковые концентраты (РБК) и изоляты рыбного белка (ИРБ).

Концентраты белка,готавливаемые из рыбы и морепродуктов, были известны человечеству давно, но объектом научного исследования они стали только в последние 50–60 лет. Ученые многих стран работают над созданием способов получения из различного сырья водного происхождения концентратов, гидролизатов и изолятов. Однако предлагаемые технологические процессы далеки от оптимальных, что связано со сложностью обработки рыбы, многообразием и лабильностью ее белков, способных легко вступать в комплексы с липидами, трудно удаляемыми при обезжиривании продукта.

Сырьем для производства РБК могут служить свежая или мороженая рыба потрошенная или без разделки, рыбная мука, отходы от филетирования рыбы, криль или отходы от разделки ракообразных и других беспозвоночных (крабы, кальмары). Над решением проблемы использования малоценного рыбного сырья для получения пищевого белка в течение

многих лет работали ВНИРО, АтлантНИРО, Астрыбвтуз и другие отечественные научные организации.

Принципиальная технологическая схема получения рыбных белковых гидролизатов включает следующие основные операции: измельчение сырья, разжижение тканей рыбы в процессе ферментативного гидролиза, отделение нерастворившегося остатка, концентрирование жидкой фракции, сушка. Измельченное рыбное сырье перед гидролизом подогревают до температуры, оптимальной для деятельности ферментов. В процессе гидролиза производят механическое перемешивание массы, контролируют температуру и pH. По окончании гидролиза ферменты инактивируют, изменяя pH или повышая температуру до 100 °C.

При использовании жирного сырья липиды отделяют от гидролизованной массы центрифугированием или предотвращают окисление добавлением антиоксидантов. Гидролизаты из жирных рыб обычно не сушат, а хранят до употребления при температуре –30 °C.

Гидролизаты состоят преимущественно из пептидов и аминокислот и в основном водорастворимы.

Состав белковых гидролизатов определяется в первую очередь видом белкового сырья, а также субстратной специфичностью ферментов, осуществляющих этот гидролиз. В настоящее время для получения ферментных белковых гидролизатов обычно используют препараты из животного сырья (поджелудочной железы крупного рогатого скота и свиней, содержащие преимущественно эндопептидазы (трипсин и химотрипсин) а также экзопептидазы (амино- и карбоксипептидазы). Оптимальное сочетание эндо- и экзопептидаз обеспечивает наиболее полный гидролиз и уменьшение горького вкуса в продукте. Использование микробиальных протеиназ нежелательно из-за высокой вероятности попадания токсичных метаболитов, особенно в случае приготовления продуктов парентерального и детского питания. Использование различных ферментных препаратов для гидролиза белков позволяет получать продукты, различающиеся по качественному и количественному составу пептидов и аминокислот.

Ферментные препараты из гидробионтов способны расщеплять не только рыбное сырье, но и гемоглобин, казеин, коллаген. С помощью этих препаратов, содержащих в основном эндопептидазы, удается получать гидролизаты со значительным (до 20 % по массе) содержанием свободных аминокислот. Такое количество очень важно для продуктов парентерального питания. Более интенсивно образование аминокислот происходит при применении пилорина. Преобладающими в составе

аминокислот являются лизин, аргинин и ароматические аминокислоты, пептидные связи которых специфически разрушаются трипсином и химо tripsином. Кроме того, обнаруживается много лейцина, изолейцина, аланина и валина. Во всех гидролизатах с пилорином накапливается метионин.

Для приготовления жидкого ферментативного гидролизата в реактор загружают подготовленный рыбный фарш и воду в соотношении 1 : 2, а также пищевую поваренную соль в количестве 4 % к массе фарша и при постоянном и тщательном перемешивании прогревают до температуры 50–55 °С, после чего добавляют ферментный препарат «Протосубтилин Г10х» с активностью 70 ед/г в количестве 0,7 % к массе фарша, смесь выдерживают (ферментируют) в течение 3 часов.

По окончании ферментализации смесь в реакторе нагревают до температуры 98–100 °С и выдерживают при этой температуре в течение 20 мин для инактивации ферментов. Затем смесь фильтруют под вакуумом 9,8–19,6 кПа (0,1–0,2 кгс/см²) на нутч-фильтре через два слоя фильтровальной бумаги и три слоя сукна. Плотный остаток, собирающийся на фильтре, используют для получения кислотного гидролизата или на кормовые цели.

Профильтрованный гидролизат далее направляют на дезодорацию путем отгонки летучих ароматических веществ с водяным паром, пропуская через гидролизат острый пищевой пар в течение 20–30 мин. Давление пара в сети должно быть не менее 196 кПа (2 кгс/см²), а температура 120 °С. После дезодорации продукт используют для получения упаренного или сухого гидролизата.

Упаривание гидролизата производят под вакуумом 49,0–68,6 кПа (0,5–0,7 кгс/см²) при температуре 70–80 °С до содержания сухих веществ в ферментативном гидролизате для соусов 50–55 %, а для бульонной пасты – 65–70 %.

Для приготовления сухих гидролизатов их сначала упаривают при 70–80 °С под вакуумом 49–68,6 кПа (0,5–0,7 кгс/см²) до содержания сухих веществ 15–20 %, а затем высушивают в распылительной сушилке. Содержание сухих веществ в сухом гидролизате должно быть не менее 93 %. Сухой гидролизат может быть также получен высушиванием упаренного гидролизата в вакуум-сушильном аппарате при температуре не выше 80 °С и вакууме 49–75 кПа (0,5–0,75 кгс/см²).

Рыбный пищевой концентрат вырабатывается в виде упаренного гидролизата, сухого концентрата без наполнителя (РПК) с содержанием

ем белка 90–92 % или в виде рыборастворительного концентрата (РРПК) с содержанием белка 65–70 %, где в качестве наполнителя используется пшеничная мука. Сырье для получения РПК – свежая или свежемороженая килька, килька-лопанец, а также пищевые отходы консервных цехов.

Способ получения РПК включает следующие операции: измельчение сырья до фарша, консервирование этанолом в виде водно-спиртового раствора и ферментация в асептических условиях при температуре 42 °С в течение 2 суток. Около 70 % всего азота рыбы переходит в раствор (гидролизат). Гидролизат отделяется, обезжиривается, дезодорируется для удаления аминов, придающих продукту рыбный запах, затем упаривается и сушится.

Процесс ферментативного получения РБК разработан также Национальной службой морского рыболовства США. К измельченной рыбе добавляются вода, ферментный препарат (щелочная протеаза из *Bacillus subtilis*), серная кислота или едкий натр для доведения pH массы до оптимального значения для деятельности фермента. Смесь прогревается до оптимальной для фермента температуры и выдерживается до растворения белков. После этого смесь прогревается до 100 °С для инактивации ферментов и процеживается на вибрационном сите для удаления костей и чешуи. Жидкая фракция центрифугируется и разделяется на три части: жир, твердые вещества и белоксодержащий раствор. Плотная часть добавляется к костям и чешуе, затем высушивается, измельчается и реализуется как костная мука. Жировая фракция центрифугируется с добавлением горячей промывной воды и реализуется как рыбий жир. Растворимый белок концентрируется под вакуумом в выпарном аппарате, далее его можно фасовать в банки как рыбный соус или дополнительно высушивать в распылительной сушилке для получения сухого, порошкообразного, частично растворимого РБК.

Рыбный белковый концентрат можно также получить ферментативным гидролизом из жирной рыбы. Сырую рыбу разваривают, полученный жом обезжиривают с помощью шнекового пресса и подвергают ферментативному гидролизу. Кости и другие негидролизованные вещества удаляют на вибросите, высушивают и реализуют как костную муку. Жидкость, проходящую через решетку, выпаривают до содержания влаги, свойственного рыбному соусу, затем фасуют или подвергают дальнейшей сушке для получения порошка.

Зарубежными специалистами процесс ферментативного гидролиза положен в основу многих биологических способов приготовления рас-

творимых и частично растворимых рыбных белковых концентратов. Особый интерес представляет способ получения РБК с использованием ферментов грибковой культуры (с добавлением 1 % фермента к массе свежей рыбы или 5 % к массе сухих веществ), способных модифицировать рыбные белки без ухудшения их качества, а также существенно нейтрализовать рыбный запах и привкус.

Для ферментации предложено использовать 30-часовую культуру *Aspergillus oryzae flavus*, выращенную на отрубях 6-процентной влажности. Культуру применяют в измельченном виде или в виде водяного экстракта после его фильтрации и концентрирования. Неочищенная культура и ее водный экстракт содержат различные ферменты: амилазу, пектиназу, протеазу, целлюлазу и др. Комплекс этих ферментов действует синергически, модифицируя и одновременно дезодорируя белки.

Ферментацию рыбного белка обычно осуществляют в двух температурных диапазонах: 42–46 °С и 52–56 °С, – способствующих оптимальному размножению бактерий. При необходимости затормозить или совсем приостановить размножение бактерий, не разрушая при этом ферменты, в ферментируемую массу добавляют 0,25–0,5 % активных хлебопекарных или пивных дрожжей на жидкой основе и 0,5–3 % ферментирующих сахаров.

Разработан способ гидролиза белоксодержащего сырья с помощью дрожжевой культуры *Sacharomyces platensis proteolyticus* sp. Под действием ферментов дрожжей белки гидролизуются до полипептидов и аминокислот, образуя пастообразный продукт, который может храниться без признаков порчи длительное время. На 1000 кг любого белоксодержащего сырья добавляют 200 кг сахара или свекольной патоки, 10 л дрожжевой культуры концентрацией 1 млн клеток в 1 мл. Смесь рыбы, сахара и дрожжей по этой технологии выдерживают в течение 8 суток при температуре 22–25 °С, периодически (примерно 3 раза в сутки) перемешивая.

Гидролизовать белковое сырье можно при температурах 8–37 °С, но при низких температурах белок гидролизуются не полностью, оптимальной температурой ферментации является интервал 12–18 °С. Гидролиз сопровождается значительным увеличением объема смеси (втрое превышает первоначальный объем) при продолжительности 3–4 суток. Величина pH в начале процесса гидролиза медленно снижается, достигая 4,8–5,0 на 4–5-е сутки, затем повышается. В конце процесса (8–10-е сутки) pH достигает 5,75–5,85. Конечный продукт представляет собой пасту (цвет

которой зависит от окраски исходного сырья), богатую витаминами В1 и В2, количество которых в процессе гидролиза увеличивается.

Потери белков, витаминов, минеральных веществ при производстве белкового концентрата по этой технологии не наблюдается, поскольку процесс протекает в закрытой емкости (дрожжи-анаэробы) и при сравнительно низкой температуре.

Для обработки жирного рыбного сырья, включая рыбные отходы, применима следующая технология: сырье предварительно грубо измельчают ножами, затем в ударной центробежной или вальцовой мельнице. Рыбную массу обрабатывают протеолитическими ферментами из культуры убитых молочнокислых бактерий в течение 5–6 ч при температуре 35–40 °С и постоянном перемешивании. После этого рыбную массу подогревают в смесителе до 50 °С, пропускают через вибросито и разделяют на три фракции: жировую, водную и осадочную.

Жировую фракцию направляют в очиститель, водную и осадочную смешивают, причем рН снижают до 3,6–4,2. Содержание жира в этой массе понижается до 0,3–0,5 %. Для ускорения распада белков кроме ферментов, поступающих вместе с культурой убитых молочнокислых бактерий, к рыбной массе можно добавлять и такие ферменты, как папаин, катепсин, липазы и др. Готовый продукт растворим в воде, устойчив при хранении и имеет высокую питательную ценность, может применяться в пищу как в чистом виде, так и в сочетании с другими продуктами.

Разработана технология получения белковой массы на основе гидролиза белковых веществ мелкой рыбы (анчоусовидная килька, мойва, сайка и др.) при повышенной температуре (55, 60, 65 °С) под воздействием собственных ферментов и ферментных препаратов.

Сущность способа получения белковой массы основана на проведении неглубокого кратковременного ферментолита мелкой рыбы при повышенной температуре с целью разрушения структуры белковых веществ до крупных высокомолекулярных полипептидов, осаждаемых нагреванием, и высвобождения липидов, входящих в структуру клеток и сложных соединений. После ферментолита становится возможным отделить мышечную ткань от костей скелета и удалить большую часть липидов с помощью горячей воды, одновременно удаляя из белковой массы нестойкие низкомолекулярные продукты протеолиза, включая азотистые основания, входящие в состав фосфатидов.

Установлено, что температурный оптимум комплекса протеолитических ферментов рыбы-сырца является функцией времени, в течение которого осуществляется протеолиз. Начальная скорость автопротеолиза кильки имеет высокое значение при температуре 60 °С, а при температуре 70 °С она превышает скорость автопротеолиза при температуре 40 °С. Быстрая инактивация протеаз кильки наступает при 80 °С.

Килечный фарш смешивают с водой (50 %) и ферментируют при температуре 65–70 °С и значении рН (6,6) в течение 20–30 мин, не прибегая к использованию консервантов. Если удалить кишечник (это достигается путем измельчения мелкой рыбы на куски и последующей мойки водой), тогда необходимо добавить коммерческий ферментный препарат (протооризин ПК, прототерризин ПК и др.). Из проферментированной массы путем процеживания через вибросито отделяют кости, массу нагревают до 95–100 °С для прекращения процесса ферментации и осаждения белка.

Белковую массу отделяют от жидкой части центрифугированием и при необходимости подвергают рафинации. Рафинация включает промывку горячей водой (для удаления жира и остатков низкомолекулярных продуктов протеолиза) и отбелку перекисью водорода (0,4–0,6 % в виде 15-процентного раствора). Массу кипятят 30 мин до полного разрушения H_2O_2 . После отбелки белковый осадок промывают горячей водой с применением отстойной центрифуги. К полученной белковой массе добавляют антиоксиданты в виде 1-процентного экстракта злаков или пряностей, одновременно придавая массе соответствующий аромат. Выход белковой массы – 50–55 % (без рафинации), 40–45 % (с рафинацией) к исходному сырью. Срок хранения не более 6 месяцев при температуре –18 °С.

Белковая масса как разновидность РБК предназначена в качестве белковой добавки в различные мучные изделия, в качестве компонента колбасных изделий, белково-фруктовых паст, рыбных палочек, соломки и др.

Получение белковых изолятов из рыбы включает четыре основные стадии: растворение белка в водной среде с определенным значением рН, удаление нерастворимого осадка (костей, чешуи и т. д.) из раствора, выделение белка из раствора в виде творожистого сгустка путем изменения рН или другим способом, очистку и высушивание белковой фракции.

Для получения рыбного изолята из отходов от разделки рыб на филе и из мелких рыб предложена следующая технология. Сырьем являются отходы от разделки тресковых рыб на филе, головы рыб, мелкие пелагические виды рыб (например, анчоусы) в неразделанном виде.

1000 кг отходов пропускают через волчок, затем гомогенизируют. К полученной однородной массе добавляют едкий натр, чтобы pH среды достиг 9,0. После этого к смеси добавляют 2 кг бактериальной протеазы, нагревают все до 50 °C и выдерживают при перемешивании 2 ч. При этой обработке более 80 % белков переводится в растворенное состояние. К смеси добавляют соляную кислоту до pH 4,5 и нагревают при 90 °C для инактивации ферментов. После прогревания при 90 °C в течение 2 мин смесь охлаждают до 30 °C и для отделения костей и других нерастворившихся частичек от жидкой фракции пропускают через вибросито, после чего жидкую фракцию для отделения растворившихся белков дополнительно центрифугируют. Очищенный белковый раствор концентрируют ультрафильтрацией до содержания сухих веществ 12–30 %. Концентрированный белковый раствор дезодорируют водяным паром в течение 15 мин при 100 °C и расходе его 0,5 кг на 1 кг раствора. Дезодорированный раствор упаривают до содержания сухих веществ 65 %, а затем высушивают в распылительной сушилке.

Перспективным направлением производства пищевых продуктов является создание аналогов молочных продуктов на основе рыбных фаршей. Известен способ получения сыроподобного продукта методом ферментирования смеси, состоящей из пастеризованного при температуре 80 °C в течение 20 мин мяса рыбы, воды, сахарозы, азотнокислого калия и хлористого кальция, препаратом молочнокислых бактерий, содержащим штаммы *Lactobacillus helveticus* и *Lacidophilus*. Смесь, выдержанную при температуре 30 °C в течение 24 ч, отжимают на сыроваренном прессе, полученные блоки погружают в 20-процентный раствор поваренной соли на 1,5 ч, подсушивают и упаковывают под вакуумом в пленочные пакеты.

Гидролизаты из бурых водорослей. Морские бурые водоросли с их уникальным химическим составом являются незаменимым сырьевым источником пищевых и кормовых добавок. Однако плохая усвояемость организмом водорослевого материала, снижающая его пищевую ценность, объясняется сложностью структуры белковых веществ, относящихся к гликопротеидам, что вызывает необходимость выбора способа его переработки для получения легкоусвояемых добавок. В связи с этим наиболее перспективно использование гидролизатов, основные компоненты которых – аминокислоты в свободном состоянии, их соли, пептиды, а также биогенные макро- и микроэлементы.

Водорослевая перерабатывающая промышленность на Дальнем Востоке ежегодно производит большое количество неиспользуемых остатков, которые являются потенциальным сырьем для получения новых

продуктов. Таковыми являются воздушно сухие образцы водорослевого остатка после выделения альгинатов из бурых водорослей семейства ламинариевых. В технологии гидролизатов наиболее важный процесс – достижение максимума расщепления белка до пептидов и аминокислот без их разрушения.

2.4.3. ПРОДУКТЫ БИОКОНВЕРСИИ ВТОРИЧНОГО МЯСНОГО СЫРЬЯ

Ферментные способы обработки сырья позволяют получить коллаген с хорошей волокнообразующей способностью. В связи со сложностью приготовления препаратов ферментов, потерей довольно значительной части коллагена в результате неполного его растворения и денатурации под влиянием повышенной температуры уменьшается значение методов обработки коллагена протеолитическими ферментами. Поэтому наиболее часто для перевода коллагена в растворенное состояние проводят ряд последовательных обработок. Наиболее типичным примером такой комплексной обработки является метод, при котором соединительную ткань очищают от неколлагеновых компонентов, замораживают, измельчают и затем последовательно обрабатывают 0,1 М раствором Na_3PO_4 и 10-процентным NaCl . Полученные продукты промывают, отжимают и готовят дисперсию с 0,3 % сухого остатка.

Диспергированный коллаген заливают 0,2–0,3-процентным раствором уксусной кислоты для набухания при 20 °С в течение 10–16 ч, а затем обрабатывают растворами протеолитических ферментов концентрацией 0,01–1,0 % при 25 °С в течение 10–12 суток. В результате такой обработки большая часть межмолекулярных связей разрушается, дисперсия коллагена становится растворимой в кислотах.

В. Г. Волик, Д. Ю. Исмаиловой и другими был предложен способ обработки вторичного коллагенсодержащего сырья протеолитическими ферментами с целью получения белкового гидролизата. Животное сырье предварительно измельчают, разбавляют дистиллированной водой и нагревают до 37–55 °С, полученную реакционную смесь перемешивают, добавляют смесь протеолитических ферментов животного, растительного или микробного происхождения, в течение 2–3 ч проводят гидролиз сырья при диапазоне pH от 2 до 7. Раствор гидролизата сливают из реактора, подвергают дальнейшей очистке путем фильтрации, сепарирования и концентрирования для отделения твердого осадка и жира, после чего высушивают с применением низкотемпературной распылительной или

сублимационной сушки с получением целевого продукта, содержащего не менее 90 % массовой доли полноценного белка с аминокислотным скором от 90 до 105. Полученный таким образом гидролизат используют в составе бульонов, супов и других первых и вторых блюд.

Л. В. Антиповой предложен способ получения белковой пищевой добавки путем обработки мясного сырья ферментными препаратами. Белковая добавка может быть использована в пищевой промышленности и медицине.

Способ получения белковой пищевой добавки предусматривает измельчение мясокостного сырья на волчке, перемешивание с водой, обезжиривание на центрифуге, гидролиз ферментными препаратами при температуре 40–50 °С и pH 6,5–7,8, отделение осадка от гидролизата на центрифуге, нагрев гидролизата до температуры 90–100 °С с выдержкой 10–15 мин и сушку на распылительной сушилке. В качестве исходного сырья используют вторичные продукты переработки птицы. Его перед измельчением подвергают тепловой обработке в автоклаве при температуре 120–123 °С, давлении 0,1 МПа в течение 30 мин. Смешивание с водой производят при соотношении сырья и воды 1 : 15. Перед ферментативным гидролизом доводят pH среды до 7,0–7,2 путем внесения 1 н раствора гидроксида натрия. В качестве ферментного препарата используют раствор коллагеназы, который готовят путем растворения в буферном растворе с pH 7,2 при соотношении ферментного препарата и буфера 1 : 12. Внесение раствора ферментного препарата коллагеназы или протосубтилина ГюХ осуществляют из расчета 30–50 единиц протеолитической активности на 1 г белка обрабатываемого сырья. Продолжительность обработки составляет при этом 2,5–3 ч. Это позволяет обеспечить замену ферментно-эндокринного и мясного сырья на вторичное сырье птицеперерабатывающей промышленности, повышение выхода готового продукта, регулирование фракционного состава гидролизата, улучшение органолептических показателей продукта. При этом улучшаются функциональные возможности добавки, повышается ее биологическая ценность за счет обогащения минеральными веществами, пищевыми волокнами.

Украинскими учеными разработаны режимы ферментативного протеолиза коллагенсодержащего сырья (жилки, сухожилия) композицией ферментов протомегатерина Г2оХ и папаина, установлено соотношение в композиции 1,5 : 1 соответственно, а концентрация композиции к массе сырья составила 0,15 %. Для эффективного протеолиза белков соединительной ткани установлен гидромодуль «коллагенсодержащее

сырье: вода» в соотношении 1 : 3, продолжительность – $33-36 \cdot 10^2$ с; температура – 60–65 °С.

Известен способ получения белковых препаратов из коллагенсодержащих субпродуктов II категории. Способ предусматривает измельчение сырья и его обработку для разрыхления структуры. Обработку проводят водным раствором ферментного препарата коллагеназы из гепатопанкреаса камчатского краба концентрацией 0,05–0,15 % в течение 4–6 ч при температуре 12–17 °С при соотношении сырья и раствора 1: 1 при периодическом перемешивании. Изобретение обеспечивает улучшение функционально-технологических свойств субпродуктов II категории для их рационального использования и расширения области применения.

Коллагенсодержащие субпродукты II категории, предварительно обработанные согласно стандартным технологическим схемам первичной переработки, подвергают измельчению. Затем измельченные субпродукты обрабатывают раствором ферментного препарата коллагеназы из гепатопанкреаса камчатского краба путем залива раствора в емкость с сырьем и выдержки при периодическом перемешивании. Для приготовления 0,05–0,15-процентного водного раствора препарат растворяют в воде, температура которой равна температуре обработки. Получаемые таким образом продукты ферментативной обработки могут непосредственно вноситься в фарши вареных мясных продуктов.

В Воронежской государственной технологической академии разработан способ обработки отходов жиловки мяса, который предусматривает удаление видимых прирезей жировой и мышечной ткани, промывку в проточной воде температурой 30–35 °С в течение 5–10 мин; измельчение на волчке с диаметром отверстий 2–3 мм, обработку измельченной массы ферментными препаратами. На первой стадии применяют ферментный препарат общепротеолитического действия «Нейтраза 1.5 МГ» с целью удаления балластных веществ, после обработки твердую фракцию промывают водой для удаления продуктов гидролиза и фермента, отделяют и измельчают на гомогенизаторе, а в измельченную массу вносят водный раствор ферментного препарата с коллагенолитической активностью «Коллагеназа пищевая» с гидромодулем 1 : 2, взятый в количестве 6 ед. протеолитической активности на 1 г сырья, обработку проводят в течение 2,5–3 ч при температуре 37–40 °С и рН 6,8–7,2. Твердую фракцию отделяют центрифугированием. Полученный коллагеновый гидролизат упаковывают в полиэтиленовые пакеты и замораживают. Способ обеспечивает повышение качества функционального коллагенового продукта

и его выхода, интенсификацию технологического процесса, сохранение нативной структуры коллагена.

Отходы жиловки после ферментной обработки коллагеназой предложено использовать для получения полифункциональной селенсодержащей добавки с применением коллагеновых белков как носителей. Способ обработки смеси жилок и сухожилий крупного рогатого скота, выделяемых на этапах жиловки в колбасном, консервном, полуфабрикатном производствах, включает измельчение на волчке, промывку проточной водой, ферментативный гидролиз балластных белковых фракций с повторной промывкой, пероксидно-щелочной гидролиз, внесение раствора диметилпиразолилселенида с последующей иммобилизацией селена на носителе, нейтрализацию и промывку. Ферментативный гидролиз проводится в течение 4 ч коллагеназой в концентрации 0,05 %, что соответствует дозировке 0,8–1,0 ед. ПА/г сырья. Режимы обработки аналогичны обоснованным и рекомендованным для подобных объектов работами проф. Л. В. Антиповой, О. Т. Ибрагимовой (2003–2004 гг.). Вторым этапом модификации коллагенсодержащего сырья предусмотрена пероксидно-щелочная обработка с содержанием 10 г/дм³ гидроксида натрия и 5 г/дм³ пероксида водорода при соотношении компонентов 2 : 1 в течение 6 ч, $t = 16–25\text{ }^{\circ}\text{C}$. В полученный препарат коллагеновых белков с рН = 9,0 вносятся соответственно растворы селенита натрия и диметилдипиразолилселенида из расчета 2 мкг/г при температуре 18–20 °С. Разработанную полифункциональную добавку предлагается использовать в рецептурах рубленых полуфабрикатов.

Для более эффективного гидролиза белков животного происхождения предлагается ряд комбинированных способов. При этом применяется предварительная кислотная или щелочная обработка, а затем – ферментативный гидролиз.

Следует, однако, подчеркнуть, что протеиназы растительного происхождения, подобно животным, не могут полностью удовлетворять потребности в протеолитических ферментах. В связи с этим для мясной промышленности самыми перспективными являются микробные ферментные препараты и клетки, обладающие специфической активностью в отношении фибриллярных белков упроченной структуры.

Микробная биоконверсия вторичного мясного сырья

Одним из перспективных направлений следует признать обработку коллагенсодержащего сырья биологически активными веществами на основе продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Установлено, что микроорганизмы, внесенные с заквасками, посредством ферментов меняют структуру субстрата, образуя новые вещества, способствующие улучшению качественных показателей продукта.

Зарубежными учеными отмечено, что определенные заквасочные микроорганизмы способны повышать биологическую ценность ферментированных продуктов благодаря биосинтезу ферментов, витаминов, свободных аминокислот.

Известен способ обработки вторичного сырья заквасками микроорганизмов. Нестандартное мясное сырье, такое как легкое или селезенка, в соотношении 1 : 1 после предварительной очистки, промывки и шпарки подвергается измельчению и эмульгированию. В полученный субстрат вносят соль (3 %), молочную сыворотку как источник углеводов и белка (10 %), закваску молочнокислых микроорганизмов *L. plantarum* 31 и 32 (0,2 %), а также закваску *M. caseolyticus* 38 (0,05 %). Ферментацию проводят при температуре 25 °С в течение 24 ч. Полученная таким образом белковая смесь позволяет заменять от 30 % до 50 % основного сырья при производстве паштетов, не ухудшая при этом органолептические свойства продукта.

Молочнокислые бактерии, например, *Lactobacillus casei*, обладают способностью интенсивно расщеплять легкоусвояемые белки мышечной ткани и параллельно расщеплять трудноусвояемые белки соединительной ткани. При этом выделяются продукты роста жизнедеятельности бактерий в виде экзоферментов, чем и обусловлен прирост массы аминного азота – в три раза интенсивнее убыли водорастворимого белка.

Украинскими учеными разработан и исследован бактериальный препарат МКС, который является лиофилизированной симбиотической заквасочной композицией штаммов молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* IMB B-7058, *L. casei subsp. rhamnosus* ИМО B-7060 и стафилококков *Staphylococcus simulans* IMB B-7040, соотношение культур 1 : 1 : 1. Доказана высокая протеолитическая активность данного препарата при обработке мясного сырья, заквасочные культуры обеспечивают не только образование низкомолекулярных белковых фракций, но и увеличение количества свободных аминокислот.

Известен способ подготовки коллагенсодержащего сырья для использования в колбасном и консервном производстве: коллагенсодержащее сырье (шквара, жилки и сухожилия, рубец) промывают, измельчают и обрабатывают ультразвуковыми колебаниями при температуре сырья 30–32 °С, рН 5,0–5,5 в течение 8–10 мин и соотношении сырья к воде

1 : 2. Затем жидкую фракцию отделяют для гидратирования белково-углеводного концентрата чечевицы из расчета 1 часть концентрата на 3 части жидкости. Обработанное сырье смешивают с гидратированным белковым компонентом и бактериальной закваской *Lactobacillus casei*, которую вносят из расчета 2–4 % к массе смеси обработанного сырья с гидратированным белковым компонентом. Смесь перемешивают и термостатируют при 4–6 °С в течение 12–24 ч. Таким образом обеспечивается получение продукта с повышенным содержанием белка, обладающего улучшенными органолептическими свойствами при одновременном снижении энергетических затрат на термическую обработку сырья.

Под руководством проф. В. Г. Борескова выполнены работы по модификации соединительной ткани рубца комплексным воздействием ферментных препаратов и молочнокислых микроорганизмов.

Целесообразность комбинации ферментов и бактериальных препаратов применительно к коллагенсодержащему сырью со специфическими органолептическими характеристиками объясняется возможностью дезодорации и размягчения сырья одновременно в процессе предварительной подготовки. Оба этих эффекта могут быть достигнуты обработкой сырья органическими кислотами, такими как молочная, лимонная, уксусная. Стартовые культуры рассматриваются как естественные продуценты карбоновых кислот, размягчающее действие которых может быть усилено внеклеточными протеиназами микроорганизмов. Рубец, посоленный в рассоле, включающем культуры молочнокислых микроорганизмов 10^6 КОЕ в 1 см^3 и ферментный препарат 1 %, отличался более мягкой и пластичной консистенцией, приятным цветом и отсутствием запаха. Разработанная схема предварительной обработки позволила сократить время варки рубца в 2 раза (до 3–4 ч).

А. Г. Бучинской предложен способ получения белкового композита из легких крупного рогатого скота, обработанных бактериальной закваской, состоящей из *Lactobacillus curvatus* 1, *Lactobacillus casei* 10, *Pediococcus acidilactici* 8, *Pediococcus pentosaceus* 28 в соотношении 4 : 4 : 1 : 1. Установлено, что внесение бактериальной закваски в количестве 10^9 КОЕ/г в измельченные легкие крупного рогатого скота позволяет улучшать их органолептические и санитарно-гигиенические показатели, а также изменять их аминокислотный состав, что позволяет рекомендовать биотрансформированное вторичное сырье для введения в количестве 20 % взамен основного мясного сырья в рецептурах вареных колбас.

Имеются данные о протеолитической активности дрожжей. Чрезвычайно важным биохимическим свойством некоторых видов дрожжей, в частности *Debaryomyces hansenii*, является коллагеназная активность.

В. Н. Лузан и Е. С. Гарифулиной был предложен способ обработки рубца кисломолочным продуктом, содержащим микробную ассоциацию кефирных грибов, с целью придания ему оптимальных органолептических и функционально-технологических свойств для производства рубленых полуфабрикатов.

Функциональную добавку на основе коллагенсодержащего сырья, то есть субпродуктов II категории (рубца, выйной связки), получают по следующей схеме: к измельченному сырию ($d = 2-3$ мм) вносят 5–7 % закваски молочнокислых микроорганизмов от массы основного сырья, 5 % пшеничной муки для обеспечения углеводного питания микроорганизмов. Модификацию сырья осуществляют при температуре 5 °С в течение 48 ч. В результате гидролитического действия ферментного комплекса молочнокислых бактерий на коллаген и эластин сырья, а также воздействия образуемой в процессе биомодификации молочной кислоты обеспечивается глубокая переработка сырья, благодаря чему происходит набухание и разрыхление коллагеновых и эластиновых волокон. Полученная добавка может быть использована при производстве вареных, ливерных колбас, а также рубленых полуфабрикатов взамен основного сырья.

При производстве мясопродуктов целесообразнее использовать активизированные бакпрепараты в виде производственной закваски. Использование заквасок позволяет:

- равномерно распределить бакпрепараты в структуре мясного сырья и обеспечить высокую удельную концентрацию микробных клеток;
- обогатить мясное сырье белком молочного сгустка, а также ионами Ca^{2+} и метаболитами микроорганизмов, что повышает технологический потенциал препаратов и их питательную ценность;
- рационально и экономично использовать исходный препарат.

Традиционно для активизации бакпрепаратов используют стерилизованное коровье молоко, в которое дополнительно могут быть добавлены различные ростостимулирующие вещества (витамины, минеральные вещества, растительные компоненты).

2.4.4. ПРОДУКТЫ БИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Многолетние исследования и экономические расчеты показали, что помет может быть наиболее эффективно использован лишь для производства удобрений. С учетом климатических зон и местных условий, птицефабрик производство органических удобрений на основе помета может быть организовано по следующим направлениям: пассивное компостирование и аэробная твердофазная ферментация.

ПАССИВНОЕ КОМПСТИРОВАНИЕ – достаточно простой и наименее затратный способ. Помет смешивается в определенных пропорциях с органическими компонентами: торфом, пометом с подстилкой, древесными опилками, соломой, лигнином – и вывозится на полевые площадки. Органическая смесь формируется в штабели высотой не более 2,5 м. Через 6–8 месяцев хранения на полевых площадках происходит ее созревание, создаются благоприятные условия для роста и развития мезофильных и термофильных микроорганизмов, в результате чего и образуется компост, пригодный для использования в качестве биоудобрения.

АЭРОБНАЯ ТВЕРДОФАЗНАЯ ФЕРМЕНТАЦИЯ – процесс, который протекает только в присутствии растворенного кислорода. Это биотермический процесс минерализации и гумификации веществ, происходящий под действием в основном термофильных (теплолюбивых) микроорганизмов.

Окисление органических веществ с использованием атмосферного кислорода как конечного акцептора электронов – это первичная реакция, обеспечивающая образование полезной химической энергии для большинства микроорганизмов. Такие микроорганизмы называются аэробными.

В процессе биологической аэробной ферментации органических компонентов участвует целый комплекс микроорганизмов. Они могут приспосабливаться к различным органическим веществам, параметрам внешней среды (температуре, влажности, кислотному числу).

Процесс аэробной твердофазной ферментации состоит из двух периодов.

Первый – климация микрофлоры. Этот период при соответствующих условиях может быть сокращен с 32 до 12 часов благодаря принудительному подогреву органической массы от искусственных источников тепла (горячее водоснабжение, продувка горячим воздухом, использование электротенов перед вентиляторами).

Второй – интенсивное развитие и количественный рост мезофильных, а затем и термофильных бактерий – 22–54 часа, сопровождающееся

выделением биологического тепла и повышением температуры компостируемой массы до 30–38 °С.

Микробиологический процесс разложения органического вещества, как было указано ранее, проходит в две стадии. Сначала с ростом численности микроорганизмов температура компостируемой массы повышается с 10 до 47 °С. На этой стадии усиленно размножаются мезофильные микроорганизмы (оптимальная температура их развития 30–45 °С). Затем температура поднимается до 55–80 °С, что приводит к гибели мезофилов и размножению термофилов. Это самая важная стадия компостирования, во время которой окислительные процессы достигают наибольшей интенсивности.

В России Институтом сельскохозяйственной микробиологии разработаны технологии, обеспечивающие получение новых видов микробных удобрений: бамила, омуга, экуда и пудрета.

Бамил – биоудобрение на основе свиного навоза. Это органическое удобрение, изготавливаемое из активного ила, полученного в результате аэробной биологической очистки навозной жижи свинокомплексом. Бамил состоит из органических компонентов осадка сточных вод, высушенной биомассы активного ила и микробных метаболитов. В состав удобрения входят также жизнеспособные микроорганизмы в количестве $(2...6) \cdot 10^3$ КОЕ/г. В основе получения бамила лежит направленное культивирование ассоциаций аэробных микроорганизмов на стоках свиноводческих ферм. Доминирующее положение в микробиоценозе бамила занимают *P. Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. brevis*), *Micrococcus*, *Arthrobacter*), способные к образованию устойчивых спор и наиболее широко распространенные во всех природных субстратах. Бактерии данных родов участвуют в процессах разложения различных органических субстратов (мочевины, фосфорорганических соединений и т. д.), составляя группу гидролитиков. Позитивное влияние бамила на растения было продемонстрировано в многочисленных вегетационных и полевых опытах. Проведенные исследования показали, что бамил является эффективным удобрением, обеспечивающим повышение урожая сельскохозяйственных культур на 40–160 % по сравнению с контролем. Изучение механизма стимуляции роста растений позволило выявить в бамиле физиологически активные соединения, представленные триптофаносодержащими белками, аминокислотами: триптофаном, тирозином, фенилаланином. Известно, что при внесении органических удобрений значительно стимулируется синтез витаминов группы В почвенными микроорганизмами.

ОМУГ, ЭКУД, ПУДРЕТ – биоудобрения на основе птичьего помета. Получение биоудобрения из птичьего помета является новым направлением в сельском хозяйстве. Органические отходы представляют серьезную экологическую опасность в местах расположения птицефабрик, но в то же время они могут служить сырьем для производства биоудобрений. Внесение помета в почву в исходном виде загрязняет окружающую среду и грунтовые воды, приводит к потерям азота. Поэтому все большую актуальность приобретают разработки и усовершенствование микробиологической ферментации птичьего помета в биоудобрения. Физиологическая активность и качество удобрений характеризуются главным образом агрохимическими показателями, видовым составом микробных сообществ, наличием в биоудобрениях биологически активных соединений.

Омуг – удобрение, полученное из подстилочного птичьего помета с влажностью 45 %. Помет ферментируется в аэробных условиях при продувке горячим воздухом в течение 8 ч. Затем смесь гранулируют и расфасовывают.

Экуд – биоудобрение, полученное из птичьего помета влажностью 75 % после аэробной ферментации в метантенке. Ферментация происходит при 40 °С в течение 7–8 суток. Твердая фракция гранулируется, высушивается при температуре 70 °С до влажности 10 %.

Пудрет – удобрение, полученное из птичьего помета влажностью 75 %. Основным технологическим приемом его получения является сушка помета в ИК-лучах при температуре 80–96 °С.

Сравнительная оценка агрохимических параметров биоудобрений показала, что наиболее ценными по содержанию азота являются омуг и пудрет. При анаэробной ферментации в метантенке теряется часть азота, поэтому в экуде остается только 1,8 %. Установлено количество триптофана в биоудобрениях: в омуге – 24 мкг/г, в экуде – 18 мкг/г, в пудрете – 3 мкг/г. Это косвенно подтверждает целесообразность аэробной ферментации помета, поскольку она позволяет активизировать рост аэробной микрофлоры, среди которой много стимуляторов роста. Выделение и идентификация доминирующих бактериальных культур из омуга, экуда и пудрета показали, что в них содержатся микроорганизмы рода *Bacillus*. Они способны подавлять рост и развитие патогенных грибов, вызывающих такие болезни, как фузариоз, корневые и стеблевые гнили, вертицеллезное увядание растений, склеротиниоз.

2.5. БИОКОНВЕРСИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

К биологическим методам конверсии растительного сырья относят ферментативный гидролиз и микробиологическую ферментацию. Микробиологические ферментационные процессы можно разделить на анаэробные и аэробные.

К анаэробным процессам относятся все процессы брожения (спиртовое, молочнокислое, пропионовокислое, маслянокислое, метановое).

Аэробные процессы – это процессы выращивания микроорганизмов в присутствии кислорода воздуха с целью получения биомассы (биосинтез белка) или продуктов метаболизма, которые находятся в клетках или вне клеток микроорганизмов.

Все ферментационные процессы также можно разделить в зависимости от физического состояния питательного субстрата. Питательный субстрат из растительного сырья может быть в виде суспензии или в виде осветленного раствора. При выращивании микроорганизмов с целью получения белка на неосветленном субстрате получают углеводно-белковый продукт, на осветленном – биомассу микроорганизмов. Как правило, процессы культивирования микроорганизмов на твердых и суспензионных субстратах можно осуществить несколькими путями:

- поверхностным или глубинным культивированием микроорганизмов, образующих ферментные системы, катализирующие расщепление целлюлозы, гемицеллюлоз, пектина и лигнина и хорошо растущих на лигноцеллюлозных материалах, – процессы прямой биоконверсии;
- культивированием микроорганизмов после ферментативной обработки растительных отходов или при совместном использовании ферментов и микроорганизмов;
- выращиванием микроорганизмов на целлюлозо- и гемицеллюлозосодержащих отходах после их предварительной химической обработки (щелочью, кислотой или солями), при которой разрушается лигноуглеводный комплекс, аморфизируется целлюлоза.

Первые два пути широко используются в производстве белка и других биологически активных веществ. Третий путь возможно использовать только в технологических схемах, где предусматривается разделение целевых продуктов микробиологического синтеза и питательного субстрата, так как иначе используемые химические катализаторы гидролиза

полисахаридов растительных отходов будут входить в состав продуктов и ухудшать их качество.

Осветленными субстратами в промышленном производстве являются нейтрализованные осветленные сернокислотные гидролизаты растительного сырья и сульфитные щелока. Их используют в производстве этилового спирта и кормовых дрожжей.

2.5.1. ПОДГОТОВКА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ К БИОКОНВЕРСИИ

Для того чтобы подвергнуть растительное сырье ферментативной деградации или ферментации микроорганизмами, его необходимо подвергнуть предобработке физическими или химическими способами. Выбор методов предобработки растительного сырья зависит от его вида.

Целлюлозосодержащее и пентозансодержащее сырье предварительно обрабатывают физическими и химическими методами.

При подготовке крахмала (или крахмалсодержащего сырья) к биоконверсии его подвергают термообработке. Эффективность процесса биоконверсии зависит от того, насколько полно прошло растворение крахмала.

Для термической обработки необходимо подобрать оптимальный режим, который должен обеспечить более полный переход крахмала в растворимое состояние и образование минимального количества побочных продуктов распада гексоз (оксиметилфурфурола) и взаимодействия углеводов и белков – меланоидов. Установлено, что при термической обработке зерносырья (55–80 °C) зерна крахмала набухают, распадаются и образуют коллоидный раствор. То есть набухание крахмала идет одновременно с клейстеризацией. Клейстеризация крахмала из зерна ржи и продуктов его переработки проходит при температуре 50–55 °C, а из зерна пшеницы – при температуре 54–62 °C. Причем температура термообработки зависит от степени измельчения крахмалсодержащего сырья. При термообработке целого зерна для разрушения его клеточной структуры требуется нагревание до температуры 140–150 °C ($P = 4 \dots 5$ атм). Для измельченного сырья, клеточная структура которого разрушена, достаточно температуры 120–126 °C.

В спиртовом производстве на основе зерносырья для его измельчения используют молотковые дробилки и роторно-пульсационные аппараты. В производстве кормовых добавок на основе зерносырья применяют роторно-пульсационные аппараты.

2.5.2. ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Ферментативный гидролиз растительного сырья имеет ряд преимуществ перед кислотным гидролизом. Его реализуют при более низких температурах; это теплоэнергосберегающий способ гидролиза и гидролизаты содержат меньше побочных продуктов.

Как уже отмечалось ранее, ферменты обладают субстратной специфичностью – селективностью. Поэтому для различных видов растительного сырья используют соответствующие ферменты или группы ферментов.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО И ПЕНТОЗАНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

Природную целлюлозу редко можно встретить в растительном сырье в свободном виде, ей обычно сопутствуют гемицеллюлозы и лигнин. Высококристаллическая целлюлоза медленно и плохо атакуется ферментами, практически нативную целлюлозу ферментами гидролизовать невозможно. До сих пор отсутствует промышленное производство глюкозы из целлюлозы путем ферментативного гидролиза. Для того чтобы гидролизовать целлюлозу ферментами, ее надо освободить от гемицеллюлозы и лигнина. Если от гемицеллюлозы ее освободить легко, то лигнин удаляется очень трудно.

Природную целлюлозу можно разбить на два типа: лигноцеллюлоза (древесина, кустарники, трава, листья, водоросли и др.) и чистая целлюлоза (хлопок, его отходы и лен). Природную целлюлозу трудно гидролизовать из-за того, что она имеет упорядоченную структуру. Гидролиз лигноцеллюлозы еще более сложен, так как лигнин является физическим барьером, затрудняющим доступ ферментов.

Наиболее перспективным сырьем для ферментативной обработки можно считать только те целлюлозосодержащие материалы, в которых нецеллюлозных компонентов очень мало и которые являются вторичными продуктами или отходами крупных производств. Например, отходы от переработки сельскохозяйственной продукции, отходы целлюлозно-бумажной промышленности, сбора и обработки хлопка, льна и др.

Ферментативный гидролиз целлюлозо- и пентозансодержащего сырья осуществляют комплексом целлюлолитических, гемицеллюлазных и лигнолитических ферментов.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ КРАХМАЛСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

В настоящее время процессы ферментативного воздействия на зерносырье используют в биотехнологии в нескольких направлениях: в про-

изводствах пива, этилового спирта, при получении кормовых белковых продуктов в процессе микробиологического синтеза.

Известны различные схемы тепловой и ферментативной обработки крахмалсодержащего сырья. Ферментативный гидролиз зерносырья в спиртовой промышленности России осуществляют несколькими ферментными препаратами. Ферментативный гидролиз крахмала производится амилаسوبтилином, глюкаваморином. Для ферментативного гидролиза белка используют протосубтилин, для гидролиза клетчатки дополнительно применяют целловиридин, для гидролиза пентозанов – комплексные препараты («Ксилаваморин ГЗх», МЭК и др.).

Существует ряд способов переработки растительного сырья, в т. ч. и зерновых отходов на кормовые белковые добавки. Термообработка и ферментативный гидролиз зерновых культур проводится при температуре 65–90 °С с последующим выращиванием дрожжей. Но в большинстве научных публикаций отсутствует количественная оценка эффективности процессов, что затрудняет выбор оптимальных вариантов.

ОПТИМАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ЗЕРНОСЫРЬЯ

Исследована эффективность процесса ферментативного гидролиза зерносырья различными ферментными препаратами: амилаسوبтилином, глюкаваморином, целловиридином. Установлено, что перед ферментативным гидролизом необходимо подвергнуть зерносырье предварительной термообработке: гидромодуль 1: 5, выдержка при температуре 80–100 °С в течение 1 ч. Оптимальные условия последующего ферментативного гидролиза зерносырья с ферментными препаратами амилаسوبтилином, глюкаваморином, целловиридином (температура 58–60 °С, рН = 5...6; время – 1,5 ч) обеспечивают высокую степень конверсии полисахаридов отрубей (84 %) и степень осахаривания (34–38 %).

Были проведены исследования эффективности ферментативного гидролиза водной пульпы пшеничных отрубей с другими ферментными препаратами: «Зимаджунт НТ-340 С+ N» (активность 340 ед. АС/см³), «Зимаджунт НТ-340 С+» (активность 600 ед. АС/см³) и «Амилаза НТ-4000» (активность 600 ед. АС/см³), – содержащими термостабильную бактериальную альфа-амилазу. Поставщиками этих ферментных препаратов даны оптимальные параметры ферментативного гидролиза и дозы их использования (0,3–1,2 см³/кг ЛГПС) для зерна.

С данными ферментными препаратами максимальная степень конверсии полисахаридов отрубей 61 % достигается за 3 ч. Степень конверсии

ниже, чем при использовании трех ферментных препаратов, так как ферментативный гидролиз осуществляли без глюкоамилазы.

При ферментативном гидролизе полисахаридов пульпы отрубей с данными ферментными препаратами оптимальным интервалом рН является 5,5–6,5. При этом степень конверсии полисахаридов пульпы отрубей с ферментным препаратом «Зимаджунт НТ-340 С+N» составляет 61–62 %.

Увеличение объема дозирования ферментного препарата до 1,2 см³/кг незначительно повышает степень конверсии полисахаридов (63 %).

При температуре 85 °С оптимальным значением рН является интервал 6,0–6,5, при температуре 90 °С – 5,5–6,0. Максимальная степень конверсии составляет 60–61 %.

Таким образом, при ферментативном гидролизе водной пульпы отрубей при оптимальных условиях с ферментными препаратами амила-субтилином, глюкавамоорином и целловиридином достигнуты степень конверсии (по РВИ) 84 % и степень осахаривания 34–38 %. В случае использования ферментных препаратов, содержащих только термостабильную α -амилазу, степень конверсии при оптимальных условиях составляет 61–63 %.

В случае ферментативного гидролиза фракции пшеничных отрубей с диаметром частиц 1 мм степень конверсии РВИ повышается. При ферментативном гидролизе отрубей с диаметром частиц 1 мм и с ферментным препаратом «Зимаджунт НТ-340 С+ N» степень конверсии полисахаридов пшеничных отрубей повышается до 79 %. В случае использования дополнительного ферментного препарата целловиридина степень конверсии достигает 92,2 %. При использовании ферментного препарата глюкаваморина, содержащего фермент глюкоамилазу, степень осахаривания возрастает почти в два раза за счет увеличения содержания глюкозы и снижения концентрации олигосахаридов. При ферментативном гидролизе измельченного зерна при диаметре частиц 1 мм ферментным препаратом «Зимаджунт НТ-340 С+ N» при оптимальных условиях, аналогичных полученным для отрубей, степень конверсии по РВИ составила для пшеницы 99 % и степень осахаривания – 21,5 %, для ржи – 87,5 % и 14 % соответственно.

СИНТЕЗ ПИЩЕВОГО БЕЛКА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

В последнее время во многих странах мира возрос интерес к проблеме получения белка пищевого и кормового назначения путем культивирования различных микроорганизмов на твердых питательных средах, чаще всего на целлюлозосодержащих промышленных и городских отходах.

Этот интерес обусловлен тем, что процесс получения белка на твердом питательном субстрате должен быть более экономически выгодным по сравнению с получением кормовых дрожжей на растительных гидролизатах, так как исключает дорогостоящий процесс кислотного гидролиза и ферментативного гидролиза, требующего специального получения ферментов. Получение белка непосредственно на твердых растительных субстратах основано на способности ряда микроорганизмов благодаря синтезу ими комплекса целлюлолитических, окислительных и других ферментов усваивать компоненты растительных материалов и накапливать белок. По использованию целлюлозсодержащих растительных материалов для непосредственного синтеза белка микроорганизмами опубликовано большое количество работ.

В качестве продуцентов белка различные авторы использовали бактерии, актиномицеты, дрожжи и грибы. В качестве субстратов применяли отходы сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности (багаса, картофельная мезга, солома, кукурузные стебли и кочерыжка, отходы от переработки овощей), целлюлозно-бумажной и деревообрабатывающей промышленности, а также бытовые отходы (газеты, бумага) и т.д.

Так, были проведены исследования по обогащению хлопковой шелухи белком путем поверхностного выращивания микроскопического гриба *Sporotrichum pulverulentum*. Хлопковая шелуха содержит 3–4 % белка, содержание белка повышалось до 13 %.

В Индии созданы процессы превращения отхода сахарного тростника в белковый корм посредством культивирования целлюлолитических бактерий *Cellulomonas sp.*

При изучении механизма ферментативной деструкции целлюлозы с помощью актиномицетов *Thermojmijnspora fusca* и микроскопического гриба *Sporotrichum pulverulentum* было показано, что субстраты, содержащие лигнин и целлюлозу высокой кристалличности, менее пригодны для утилизации и дают продукт с меньшим содержанием белка. Так, при выращивании актиномицетов на еловой древесине получен белок 14,4 % (время выращивания – 6 суток), в то время как на целлобиозе – 59,0 %. При выращивании микроскопического гриба на порошкообразной целлюлозе с высокой кристалличностью содержание белка составило 6,0 %, на древесных отходах после механического размола – 13,8 %, на аморфной целлюлозе – 32 %, а на целлобиозе – 40,2 %.

Процесс прямой биоконверсии крахмала, муки и зерносырья различных видов, картофельной мезги при глубинном и поверхностном

культивировании мицеллярных грибов и актиномицетов используют в промышленном производстве для получения ферментов, антибиотиков и других биологически активных веществ.

Длительность процессов (до 5 суток) является их основным недостатком. С целью снижения затрат на производство продукции микробиологической промышленности (кормового белка и спирта) ведутся научно-исследовательские работы по прямой биоконверсии крахмалсодержащего сырья в направлении подбора микроорганизмов.

Для биоконверсии пшеницы и пшеничных отрубей использовали смеси культур: 1) *Lipomyces kononenkoae* ИНМИА 10093, обладающую амилалитической активностью, и *Candida scottii* ИНМИА 10208; 2) *Schwanniomyces alluvius* ИНМИА 10198, обладающую амилалитической активностью, и *Candida scottii* ИНМИА 10208. После выращивания микроорганизмов биомассу центрифугировали и определяли содержание белка по Барнштейну. При биоконверсии отрубей он составил 13–14 %, а при биоконверсии пшеницы – 30–31 %.

В АН Латвии разрабатываются методы твердофазной ферментации пшеничных отрубей с целью их обогащения кормовым белком. При использовании дрожжей *Endomycopsis fibuligera* и бактерий *Brevibacterium* (время роста – 24–35 часов) получен препарат с высоким содержанием лизина, глюкоамилазной активностью и содержанием белка 12,4 %.

Проведена твердофазная ферментация фуражной муки грибом *Polyporus squamosus*. Получен продукт с содержанием белка 15 %.

Имеются данные по прямой ферментации смеси муки и спиртовой барды ассоциацией дрожжей *Saccharomycopsis fibuligera* ВСБ-12 и бактерий *Rhodococcus erythropolis* ВСБ-655. Добавление муки в количестве 6 % к спиртовой барде позволило получить продуктивность процесса 6,8–7,5 кг/м³. Содержание протеина в концентрированной барде составило 47–48 %.

В Институте микробиологии АН Белоруссии разработана технология получения препаратов микробного синтеза на основе отходов переработки картофеля: дигитатина и нотатина. Название продукты получили от наименования продуцентов белка *Penicillium digitatum* и *Penicillium notatum*. Питательный субстрат содержал клеточный сок картофеля и мезгу (а. с. в. 2–3 %). При времени ферментации 48–72 ч содержание сырого протеина в продуктах составляет 44,9 и 55,0 %, а белка – 36,2 и 43,8 % соответственно.

Индийские специалисты выделили из природных источников новый вид дрожжей, идентифицированный как *Saccharomyces diastaticus*.

Он отличается от других видов активностью и способностью к ассимиляции, осахариванию и сбраживанию крахмала.

Штаммы *S. cerevisiae* BR Q 530 и BR Q 536 являются мейотическими сегрегантами штамма *S. cerevisiae* NCY C 361. Все три штамма продуцируют внеклеточную глюкоамилазу. Штамм *Lypotusces kononenkoae* CB S 2514 можно использовать для прямого получения дрожжевой биомассы из отходов, содержащих крахмал. Он продуцирует α -амилазу и глюкоамилазу. Из этих четырех штаммов наиболее эффективным оказался S. с. BR Q 530. Биомасса штамма содержала 41 % белка.

С целью интенсификации процесса прямого сбраживания крахмала используются также гибридные штаммы. Так, штамм *S. cerevisiae* Y-717 способен сбраживать простые углеводы и выделять в среду ферменты, гидролизующие крахмал. Применение этого штамма снижало расход фермента ГХ-466 в 2 раза на фоне нормативного расхода солода (5,6 %). Кроме того, время брожения сокращалось до 55 часов.

Специалисты Японии разработали способ прямой биоконверсии крахмалсодержащего сырья клетками дрожжей *S. cerevisiae*, включающих модифицированный ген глюкоамилазы *Rhizopus*. От исходного штамма QD-1902 традиционным путем получен гаплоидный штамм Q-1315, сохранивший высокую ферментативную активность и способность к трансформации дрожжевыми плазмидами. Его производные трансформанты Q-3315 и Q-2315 обладают глюкоамилазной активностью.

При прямой биоконверсии зерносырья (отруби, нестандартное зерно) большой интерес представляет использование в качестве основного продуцента белка дрожжей сахаромикетов.

Для разработки процесса прямой биоконверсии зерносырья использовали штамм дрожжей *S. cerevisiae* (*diastaticus*) ВКПМ Y-1218, обладающий амилалитической активностью.

Прямую биоконверсию зерносырья используют в промышленном производстве кормовых белковых добавок. Производство кормовых белковых добавок на основе отходов мукомольной промышленности организовано на Башкирском биохимическом заводе (торговое название «Биотрин», ТУ 9291-001-00479994-95) и в Белоруссии на Новополоцком заводе БВК (торговое название «Провит»).

Принципиальная технологическая схема производства кормовых белковых продуктов на основе отрубей на всех заводах одинакова и включает в себя следующие стадии:

- 1) подготовка питательного субстрата: измельчение зерносырья, термообработка суспензии зерносырья с гидромодулем (1 : 3,8)–(1 : 4); добавление питательных солей (мочевины, сульфата аммония, хлорида калия) и микроэлементов (Mg, Fe, Mn и др.); охлаждение субстрата;
- 2) накопление биомассы дрожжей в аппаратах отделения чистой культуры;
- 3) ферментация в биореакторе с эжекционной системой воздухораспределения (Б-50 и АДР-900);
- 4) плазмолиз биосуспензии при температуре 80–90 °С и сушка на сушилках СРЦ-12,5;
- 5) упаковка в клапанные мешки или грануляция и складирование в силосах.

Кормовые белковые добавки, получаемые по данной технологии, содержат сырой протеин в количестве 40,8–45 % и белок до 25 %. Данные кормовые белковые добавки на основе зерноотходов прошли испытания на эффективность скармливания птице, КРС (телятам), свиньям и норкам. Во всех случаях получены положительные результаты.

В аэробном процессе биоконверсии растительного сырья получают кормовой белковый продукт. При выращивании микроорганизмов на ферментолизатах отходов консервных и винограделъческих предприятий (виноградные, яблочные выжимки и т.д.) можно увеличить содержание белка в сырье до 20 %.

Ферментативный гидролиз зерносырья широко используют в спиртовом производстве и производстве пива. Объем исследований по ферментации микроорганизмов на ферментолизатах крахмалсодержащего сырья с целью получения кормовых белковых продуктов ограничен. Качество кормовых белковых продуктов зависит от используемых культур микроорганизмов, а также режима предобработки сырья. Содержание сырого протеина колеблется от 27 до 50 % и белка от 21 до 34 %. Наивысшие показатели (содержание сырого протеина 52 %) получены при использовании бактериальных культур: *Acetobacter methylicum* и *Acetobacter methylovorans* в смеси с *S. cerevisiae* (*diastaticus*) ВКПМ-1218 – на пульпе ферментолизата отрубей с концентрацией а.с.в. 11 %. При ферментации культуры дрожжей *Candida blankii* на ферментолизате зерна, полученном путем двухступенчатого ферментативного гидролиза термостабильной α -амилазой и глюкоамилазой, сырой протеин в отсепарированной биомассе дрожжей и зерна (концентрация а.с.в. 10 %) составлял 50 %. Усло-

вия культивирования при этом были следующие: pH 4,5, концентрация РВ в субстрате 4 %, скорость ферментации – 0,25 ч. Описанный способ биоконверсии не был проверен в промышленных условиях.

2.5.3. ПРОДУКТЫ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Технологии биоконверсии растительного сырья широко применяются в пищевой и перерабатывающей промышленности с целью получения высококачественной и конкурентноспособной продукции, а также организации малоотходных производств. Методами биоконверсии с использованием ферментов получают биологически ценные продукты, которые находят все большее распространение в технологиях пищевых производств.

Пектин. Благодаря прекрасным желирующим свойствам пектин широко применяется в производстве пищевых продуктов – кондитерских изделий, фруктовых желе, джемов. Пектин вместе с другими некрахмалистыми полисахаридами образует группу пищевых волокон, положительно влияющих на процесс пищеварения (стимулирует моторную функцию кишечника, препятствует всасыванию холестерина, нормализует состав микрофлоры кишечника, участвует в ингибировании гнилостных процессов, адсорбирует желчные кислоты).

Кроме того, пектин обладает детоксицирующими свойствами, связывая токсичные элементы и радионуклиды и выводя их из организма. Это делает пектин и пектиносодержащие продукты ценной добавкой при производстве продуктов лечебно-профилактического назначения.

Для производства пектиновых веществ можно использовать любое растительное сырье с высоким содержанием пектина. Основными источниками получения пектинов являются четыре вида растительного сырья: яблочные выжимки, жом сахарной свеклы, корзинки подсолнечника и корочки цитрусовых. В настоящее время ведутся исследования по использованию и другого фруктово-ягодного сырья для производства пектинов.

Существует традиционная технология получения пектина, основанная на кислотно-термическом гидролизе и спиртовом коагулировании пектина из экстракта. Условно процессы получения пектина можно разделить на три основные группы.

Первая группа технологических процессов включает подготовку сырья, кислотный гидролиз протопектина, экстрагирование пектина из

тканей сырья в водную фазу (экстракт), очистку и концентрирование пектинового экстракта; вторая – спиртовое выделение пектина из экстракта, его сушку и стандартизацию; третья – процесс регенерации отработанных спиртов и утилизацию или обезвреживание твердых отходов и стоков пектинового производства. Такая технология производства пектина энергоемка и требует огромных затрат на производство, утилизацию кислых сред и амортизационные отчисления на восстановление технологического оборудования, работающего в агрессивных средах, а также содержание очистных сооружений и пр.

Кислотный гидролиз растительного сырья с целью высвобождения растворимого пектина может быть заменен на ферментативный с использованием целлюлаз, гемицеллюлаз и пектолитических ферментов. Ферментативный гидролиз сырья взамен кислотного существенно упрощает технологию производства пектина. Снижается количество неорганических примесей в пектине, расход этанола на его осаждение и промывание, сокращаются энергозатраты.

Гидролиз целлюлозы облегчает переход комплекса полигалактуроновой кислоты и гемицеллюлоз в свободное состояние. Выделение собственно растворимого пектина (метоксилированной полигалактуроновой кислоты) возможно двумя путями: гидролитическим отщеплением гемицеллюлозной составляющей комплекса с помощью гемицеллюлаз или ограниченным гидролизом полигалактуроновой кислоты с помощью пектинрасщепляющих эндоферментов, с вычленением достаточно крупных ее фрагментов, сохраняющих основные физико-химические свойства пектина.

Методы, основанные на применении препаратов целлюлаз без существенной примеси пектиназ, не позволяют получать достаточно чистого пектина, поскольку не отделяется гемицеллюлозная составляющая комплекса. При использовании пектиназ этот недостаток устраняется, но важно ограничить степень гидролиза пектина в процессе его выделения и получить продукт достаточно высокой молекулярной массы.

Предложенный более двух десятилетий назад способ получения пектина из выжимок (яблок, груш, айвы и других видов сырья) основан на гидролизе сырья «Целловиридином Гзх». В данном ферментном препарате практически отсутствует пектиназная активность. Гидролиз свежего сырья проводят в течение 2–3 ч при температуре 45–50 °С, гидромодуле 1 : 3 и дозе препарата 0,1–0,3 % к массе сырья. При гидролизе в экстракт переходит 85–90 % пектина, который представлен в виде как пектиновой

кислоты, так и протопектина (то есть в комплексе с гемицеллюлозой). Из экстрактов получают концентрированные жидкие или спиртоосажденные сухие препараты пектина.

Более чистые препараты пектина получают при гидролизе сырья пектинрасщепляющими ферментами. Для выделения пектина из цитрусовых выжимок используют препараты «Пектомацерин Гюх» и «Пектациллиацин Гюх». Оптимальная доза первого препарата составляет 0,0025–0,0062 %, второго – 0,05–0,07 % от массы сырья. Гидролиз проводят при pH 3,5–4,5 и температуре 40–45 °C в течение 30–60 мин. При осаждении пектина из экстракта выход составляет 14 % от массы сырья. Повышение дозы ферментных препаратов приводит к деградации пектина, что выражается в уменьшении желирующей способности.

Имеется практический опыт получения пектина из тыквенного жома, который является отходом производства тыквенного сока. При этом использовали 6 отечественных ферментных препаратов в качестве гидролизующих агентов. Наибольший выход пектина получен при использовании ферментного препарата *Asp. awamori* (14 % от массы воздушно-сухого жома против 7 % при кислотной экстракции). Ферментный препарат обладает целлюлазной, β -гликозидазной, эндополигалактуроназной и пектинэстеразной активностями. Полученный тыквенный пектин обладает способностью эффективного комплексообразователя с тяжелыми металлами и может быть использован как функциональная добавка в производстве продуктов лечебно-профилактического назначения.

При использовании новых технологий выделения пектина из растительного сырья получены его высокоочищенные препараты. Охарактеризуем лишь некоторые из них. Препараты «Зостерин» и «Ронколейкин» зарекомендовали себя как средства для улучшения общего состояния больных в послеоперационный период. Они снижают симптомы интоксикации, успешно применяются при лечении онкозаболеваний, в частности рака толстой кишки.

Препарат «Бромелайн», содержащий клетчатку и пектин ананаса, сжигает жиры, снижает риск тромбозов, повышенной свертываемости крови, разжижает слизь, увеличивает силу действия антибиотиков.

Энтеросорбент «Пекто» обладает выраженным бактерицидным действием в отношении возбудителей острых кишечных инфекций. Препарат яблочного пектина выводит из организма токсины, накапливаемые им в процессе жизнедеятельности, обладает активной комплексообразующей способностью по отношению к радиоактивному кобальту, строн-

цию, цезию, цирконию и другим металлам, связывает желчные кислоты в кишечнике и этим препятствует накоплению холестерина в организме.

НАТУРАЛЬНЫЕ ПИЩЕВЫЕ КРАСИТЕЛИ. Приятный цвет – важнейший органолептический показатель, который в совокупности со вкусовыми и ароматическими свойствами определяет потребительские свойства продукта и привлекает внимание покупателя. Натуральные пищевые красители получают из овощей, фруктов, ягод, насекомых, а также листьев, содержащих пигменты (хлорофиллы, антоцианы, ксантофиллы, каротиноиды). Способы получения натуральных пищевых красителей различны и зависят от свойств основного окрашивающего пигмента, характера сопутствующих веществ, а также от вида используемого сырья. Обычно красящие вещества извлекают из соков растений путем экстракции их соответствующими растворителями.

Так, для экстракции водорастворимых красителей – антоцианов – применяют воду и этанол. С помощью неполярных растворителей и растительных масел выделяют липофильные красители – хлорофиллы и каротиноиды. Содержание красящих веществ в исходном сырье достаточно низкое, поэтому для их очистки и последующей концентрации применяют различные технологические приемы.

Технология производства натурального красителя из фруктово-ягодного сырья сводится к следующему. Ягоды дробят, сок из мезги отделяют прессованием. После грубой фильтрации сок сульфитируют (из расчета 1,5–2 г/л сернистого ангидрида) и отстаивают в герметичном резервуаре в течение 15 мин. Осветленный сок фильтруют на рамном фильтр-прессе и сгущают под вакуумом. Концентрация красящих веществ в таких красителях невелика – около 30 г/л, что, несомненно, ограничивает их широкое применение.

Выход красящих веществ можно увеличить путем замораживания плодово-ягодного сырья. При замораживании в выжимках ягод инактивируются ферменты и в значительной мере замедляются биохимические и окислительные процессы. Это способствует стабилизации пигментов.

Кроме того, глубокое замораживание растительных тканей при температуре –40 °С обуславливает повышение проницаемости и диффузионной способности тканей из-за разрушения их кристалликами льда. Посредством замораживания был увеличен выход антоциановых красителей из выжимок черной смородины и черноплодной рябины и составлял в среднем 30–35 %. Полученные таким способом черносмородиновые и черноплодно-рябиновые натуральные пищевые красители следует

хранить при температуре от 0 °С до +20 °С при относительной влажности воздуха не более 75 % в течение 1 года с момента изготовления.

Разработана технология получения красного свекольного красителя либо из сброженного свежееотжатого сока, либо из сока, доведенного до величины pH, оптимальной с точки зрения стабильности окраски. Далее проводят его высушивание в распылительной сушилке методом пневмо-центробежного распыления, позволяющего получать тонкодисперсные порошки за счет совокупного воздействия на распыляемый продукт центробежных сил инерции и давления сжатого воздуха.

При производстве пищевых красителей для полного извлечения красящих веществ из сырья применяются прессование, экстрагирование в системе больших соотношений: твердое тело – экстрагент; прямоточные и противоточные способы. Из них основной способ – процесс экстрагирования красящих веществ из растительной ткани. Он имеет две сопряженные стадии: проникновение растворителя внутрь клетки и диффузия растворенного красителя во внеклеточное пространство.

Энокраситель получают из выжимок красных темных сортов винограда, содержащих 4–7 % антоцианов – энина и энидина. Энокраситель используют вместо красителя амаранта для подкрашивания пищевых продуктов в кондитерской, винодельческой, безалкогольной отраслях пищевой промышленности. Он не только придает цвет продукту, но и обладает пищевой ценностью, так как содержит сахара, кислоты, пектин, дубильные и минеральные вещества.

Предложенные способы получения сухого энокрасителя основаны на осаждении антоцианов в виде комплексов с двухвалентными металлами. Солянокислый экстракт красящих веществ нейтрализуют до pH 7 (NaOH или Na₂CO₃) и обрабатывают CaCl₂. Затем после 3–4-часового отстоя нерастворимый в воде осадок отделяют, сушат и измельчают. В отдельных партиях энокрасителя содержание красящих веществ изменяется в сравнительно больших пределах от 31,6 до 75 г/кг. Количество сухих веществ (СВ) в образцах красителя составляет 26–27 %. Титруемая его кислотность довольно высока. Концентрированный энокраситель хорошо растворим в воде.

Красящие вещества извлекают из виноградных выжимок и путем их обработки растворами кислот – сернистой, соляной, винной и лимонной. Сернистую кислоту используют в виде 0,2–2-процентного водного раствора, которым заливают выжимки в соотношении 1 : 1. Выжимки пере-

мешивают с раствором, выдерживают 4 суток и прессуют, получая раствор энокрасителя. Благодаря бактерицидным свойствам сернистой кислоты раствор хорошо сохраняется. Перед использованием его десульфитируют путем нагревания. Соляную кислоту применяют в виде 1-процентного водного раствора, которым заливают выжимки. После перемешивания его настаивают в течение 1–2 суток. Отжатый экстракт, имеющий концентрацию СВ 5–7 %, уваривают до их концентрации 40–50 %.

Иногда конечный продукт в производстве красителя закрепляют этанолом до 16 % об. Такой краситель представляет собой водно-спиртовой концентрат. Закрепление красителя этиловым спиртом обеспечивает его надежную микробиологическую и противooksидлительную защиту. Краситель демонстрирует устойчивое окрашивание пищевых продуктов при pH 2,8–4,5.

Этап концентрирования антоцианового экстракта является важным в производстве энокрасителя: от него в значительной степени зависит качество готового концентрата. Использование теплового способа концентрирования антоцианового экстракта вызывает усиление процессов свободнорадикального окисления фенольных соединений, их полимеризацию, поликонденсацию и в результате – появление нежелательных изменений в цветовой характеристике продукта. Негативное действие на качество энокрасителя оказывает и повышение норм кислотности в процессе концентрирования, что сопровождается гидролизом красящего вещества – энина.

Всероссийским научно-исследовательским институтом комбикормовой промышленности (ВНИИКП) разработана технология получения желтого красителя из лепестков календулы для подкрашивания пищевых жиров. Этот краситель является полноценным заменителем желтого импортного красителя аннато, а также отечественного, получаемого из моркови, тыквы и томатов. Преимуществом нового красителя является то, что для его изготовления используется непищевое сырье.

Два способа извлечения пигмента из цветков календулы позволяют получать два вида красителей: масляный экстракт и спиртовой раствор красящих веществ календулы. Это дает возможность окрашивать красителем из календулы разнообразные продукты питания. Масляный экстракт используют для окраски жиросодержащих пищевых продуктов: маргарина, масла, сыра и др. Спиртовые же растворы позволяют получать желтые тона различной интенсивности в кондитерских изделиях, концентратах, сиропах, фруктовых напитках и др.

Во ВНИИ КП исследована также возможность извлечения красящих веществ из шалфея (стебли, листья, побеги), полученного в виде отходов после экстракции из растения эфирного масла. Предварительно отходы шалфея измельчали. Экстракцию проводили тремя способами: настаиванием в спирте без подогрева, настаиванием в спирте в колбе с обратным холодильником при подогреве на кипящей водяной бане и непрерывным экстрагированием в аппарате Сокслета. Во всех случаях получался прозрачный спиртовой экстракт яркого изумрудно-зеленого цвета. Однако при извлечении красящих веществ из отходов шалфея выход высушенных экстрактивных веществ составлял всего 3 %.

Остаток экстрактивных веществ, полученный при концентрировании спиртовых экстрактов выпариванием растворителя досуха, окрашен в темно-зеленый цвет. Он хорошо растворяется в спирте и нерастворим в воде. Хорошая растворимость концентрированного экстракта в спирте указывает на возможность получения красящих веществ из шалфея в концентрированном виде.

Разработан способ получения красителя из зелени петрушки, который заключается в следующем: 500 г высушенной и измельченной зелени петрушки смешивают с 2,5 г MgO и экстрагируют в противоточном шнековом экстракторе при 15 °C с 1500 г 96-процентного этилового спирта в течение 200 мин при среднем времени нахождения сырья в экстракторе 40 мин. Полученный экстракт фильтруют, отгоняют растворитель и концентрируют продукт в роторно-пленочном испарителе при температуре 35 °C и остаточном давлении 1330 Па в течение 1 ч. Таким образом получают черно-зеленую пасту с содержанием сухого вещества 78 % в количестве 4 % от массы экстракта, взятой за 100 %.

В России в качестве источника черного красителя используют кожуру незрелого грецкого ореха, которую высушивают до влажности не более 20 %, измельчают в два этапа: грубый помол и ультрадисперсное измельчение. На первом этапе достигается размер частиц не более 0,5–1 мм. Последующее измельчение проводят с одновременной досушкой продукта в вихревой мельнице при температуре потока газа не более 80–95 °C. Полученные частицы имеют размеры не более 50 мкм и влажность 2–3 %.

Полученный по данной технологии дисперсный порошок черного красителя дополнительно подвергают повторной экстракции водой в течение не менее 30 мин при температуре кипения. Экстракт отстаивают и фильтруют. В полученный жидкий экстракт вводят консервант. В процессе экстракции на смесь ультрадисперсного порошка можно допол-

нительно воздействовать виброакустическим полем, а жидкий экстракт подвергнуть распылительной сушке. Полученный черный краситель годен для использования в пищевой промышленности.

Разработан еще один способ получения черного красителя из незрелого грецкого ореха или из его кожуры, заключающийся в измельчении сырья до частиц размером не более 0,2 мм и прессовании массы с получением сока и жмыха. Сухой жмых (влажностью 3–5 %) измельчают в вихревой мельнице до порошка с размером частиц не более 60 мкм.

Порошок смешивают с полученным соком ореха в соотношении не более 3,5 : 1, нагревают и выдерживают при 100–120 °С до образования желеобразной массы, которую охлаждают до комнатной температуры и смешивают со спиртом в соотношении не менее 10 : 1. Смесь выдерживают в течение 60 мин и подвергают фильтрации на электрофильтре.

Массу, осажденную на фильтре, собирают и центрифугируют при скорости не менее 5000 об/мин в течение 30 мин. Осадок из центрифуги вначале нагревают при температуре не более 150 °С в течение 10–15 мин, а затем помещают в муфельную печь при 350 °С на 5–10 мин.

Полученный продукт смешивают со спиртом в соотношении не более 10 : 1, выдерживают в течение 20–30 мин и фильтруют. Полученный на фильтре осадок и является красителем. Приведенный способ позволяет получить из природного сырья экологически чистый черный краситель, обладающий высокими красящими свойствами.

Технология получения красителя из какао-бобов предусматривает ее измельчение до частиц размером менее 120 мкм и удаление жира из измельченной массы. Обезжиренный остаток нагревают со щелочью при температуре 20–21 °С от 5 мин до 36 ч до получения требуемой окраски. Для экстракции добавляют воду. После отгонки экстракта остаток высушивают распылительной сушкой до получения порошка красно-коричневого цвета.

Представляет интерес и технология получения красителя из гречишной лузги. Ценность его обусловлена химическим составом лузги, отличающимся от оболочек других зерновых культур высоким содержанием полифенолов.

В гречишной лузге содержатся рутин, кемпферол, кверцетин и его производные – гиперозид, кверцитрин, катехины, фенолкарбоновые кислоты (галловая, кофейная, протокатехиновая, хлорогеновая). Суммарное содержание полифенолов в ней – 1,5–2,5 %. Из них таннинов – не менее 1 %, флавоноидов – 0,5 % (в том числе рутин – 0,05 %, кверцетин –

0,015 %). В составе основных красящих веществ красителя – полифенолов – присутствует значительное количество веществ с лечебно-профилактическими свойствами, в том числе с Р-витаминной активностью.

Растительные фенолы обладают биоцидными свойствами, предохраняющими лузгу от гниения, и придают ей темно-коричневый цвет. В лузге присутствуют также витамины и антиоксиданты, минеральные вещества, в том числе железо, марганец, кобальт, медь, фосфор и др.

В настоящее время предлагаются принципиально новые способы выделения красителей из гречишной лузги, предусматривающие высокую электроимпульсную технологию экстремального воздействия на сырье (ударная волна, ультразвук, магнитное поле, электронный удар). Такие технологии позволят создавать технологические линии для производства биофлавоноидных и других красящих веществ из различных видов растительного сырья.

В литературе имеются данные о способах получения высококачественного красителя из нетрадиционного вида сырья – антоциансодержащих мужских соцветий кукурузы (метелок). Данный вид сырья отличается высокой концентрацией содержания пигмента, а также возможностью длительного хранения, что позволяет обеспечить круглогодичное производство натурального антоцианового красителя.

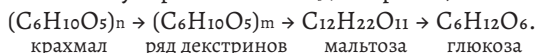
Способы выделения натуральных пищевых красителей все более совершенствуются. Особое место при выделении натуральных красителей занимают гидролитические ферменты – целлюлазы, гемицеллюлазы, пектиназы. При их действии уменьшается количество и прочность связей пигмента с лигнин-углеводным комплексом клетки, тем самым облегчается доступ к нему экстрагента и увеличивается выход.

Для увеличения выхода натуральных (в частности антоциановых) красителей из сырья используют комплексные ферментные препараты, обладающие пектолитическим и целлюлолитическим действием, такие как «Пектинес Ультра Sp-L», «Пектинес SX-L» и «Пектофетидин Пюх». Например, при получении антоцианового красителя из аронии (черноплодной рябины) предварительная ферментация ягод с «Целлюлазой-100» (гидромодуль 1 : 5, температура 50 °С, экспозиция 2 ч, доза препарата 0,4 % от массы сырья) повысила выход антоцианов при последующей водно-спиртовой экстракции на 25 %.

Стабилизируют красители с помощью консервантов. Обычно для этого применяют сульфитацию с использованием SO₂.

Продукты гидролиза крахмала. Мировая потребность в сахаре в настоящее время в значительной мере удовлетворяется за счет сахаристых изделий из крахмала, производство которых в развитых странах существенно превышает производство сахарозы. Различные виды сахаристых продуктов получают из крахмала, зерен злаков, молочной сыворотки, инулинсодержащего сыра.

Будущее место занимают гидролизаты крахмала (различные виды патоки и глюкозо-фруктозный сироп). Гидролизаты крахмала – продукты частичного гидролиза кукурузного, пшеничного или картофельного крахмала разбавленными кислотами и/или ферментами. При гидролизе (осахаривании) происходят деструкция крахмала и образование продуктов с различной молекулярной массой (декстрины, мальтоза, глюкоза):



крахмал ряд декстринов мальтоза глюкоза

Управляя процессом гидролиза, можно получить нужные для пищевой промышленности и питания продукты. Технология сахаристых продуктов из крахмала имеет единую принципиальную схему, включающую три последовательные стадии: клейстеризация-разжижение крахмала, осахаривание, изомеризация глюкозы. Отдельные продукты получают, используя только первую, или первую и вторую, или все три стадии.

При кислотной конверсии не достигается полного осахаривания крахмала, выход глюкозы не превышает 70 %, в гидролизатах образуются продукты реверсии и термического разложения углеводов, снижающие качество и выход сахаристых продуктов. Кислотный гидролиз иногда используется в биоконверсии крахмала на стадии разжижения.

В середине 1960-х гг. на смену кислотному и кислотно-ферментативному процессам пришел ферментативный способ переработки крахмала, основанный на последовательном применении α -амилазы *B. subtilis* («Амилосубтилин») и амилоглюкозидазы *Asp. oryzae* («Амилоризин») или *Asp. niger* («Амилонигерин»).

Главное преимущество ферментативного гидролиза крахмала перед кислотным связано с увеличением скорости процесса, уменьшением уровня загрязнения продуктами реверсии, получением продукта с высоким декстрозным эквивалентом (ДЭ). Величина ДЭ гидролизата (в используемой шкале глюкоза – декстроза соответствует 100 ед.) отражает глубину гидролиза крахмала, для которого ДЭ считается равным нулю.

Важным шагом совершенствования ферментативного гидролиза было внедрение в производство термостабильных α -амилаз, главным образом

из *B. licheniformis*, позволяющих после обработки амилоглюкозидазой получать продукцию с ДЭ, близким к 100.

Высокотемпературное ожигение крахмала сегодня стало обычным промышленным процессом, но следующий этап – осахаривание – до сих пор осуществляется при участии «обычной» глюкоамилазы *Asp. niger* путем одноразовой обработки. Степень расщепления крахмала на стадии клейстеризации-разжижения зависит от продолжительности процесса. Изменяя продолжительность процесса, можно регулировать степень расщепления крахмала. Технология ферментативного разжижения крахмала в различных модификациях используется для получения мальтодекстринов с содержанием редуцирующих веществ (РВ) 5–27 %.

Мальтин – продукт с РВ 5–8 %, получаемый путем декстринизации картофельного или кукурузного крахмала в одну стадию с использованием «Амилосубтилина Гюх». Процесс проводят при 85 °С с последующей термообработкой при температуре 110–115 °С. В новом варианте технологии мальтина используется «Амилолихетерм» (0,45 ед/г крахмала), суспензию крахмала нагревают до 105 °С, затем охлаждают до 95 °С. Достаточная степень гидролиза достигается за 5–7 мин. Гелеобразующая способность мальтина, полученного по данной технологии, на 30 % выше, чем при использовании «Амилосубтилина».

Мальтин обладает свойством образовывать прочные гели, которые обратимо разрушаются при повышении температуры, что позволяет применять его взамен жиров в составе майонезов, кремов для тортов, как загуститель при производстве безалкогольных напитков.

Мальтодекстрины – продукты с РВ до 25 %, получаемые по двухстадийной схеме разжижения крахмала с промежуточной термообработкой при использовании препарата «Амилосубтилин Гюх». Мальтодекстрины степени полимеризации 150–200, что соответствует степени расщепления крахмала 13–18 %, используют как углеводный компонент питания детей грудного возраста. Мальтодекстрины применяют в составе майонезов, маргаринов, кремов для тортов, суповых концентратов, кондитерских изделий.

Продуктами неполного осахаривания крахмала глюкоамилазой являются различные виды патоки. Осахаривание глюкоамилазой можно проводить в разных режимах, получая продукты с РВ от 28 % и выше.

Состав олигосахаридов зависит от степени конверсии крахмала. В продуктах с РВ 30–40 % присутствует значительное количество олигосахаридов со степенью полимеризации 3–7. При РВ более 40 % заметно

снижается концентрация мальтотриозы, достигая минимума при РВ около 70 %. Снижение концентрации мальтозы происходит в интервале РВ 66–95 %. Содержание олигосахаридов со степенью полимеризации 4–6 наблюдается при РВ менее 50 %, а при РВ около 50 % содержание олигосахаридов со степенью полимеризации более 7 достигает минимума.

Патоки применяют в качестве антикристаллизатора при производстве карамели, повидла, в хлебопечении, консервном производстве, производстве безалкогольных напитков, мороженого. Основные операции при получении крахмальной патоки: подготовка крахмала, ферментативный гидролиз крахмала, инаktivация ферментов, очистка полученных сиропов и их уваривание.

Низкоосахаренная патока с РВ 28–32 % содержит около 10 % глюкозы, 40 % олигосахаридов со степенью полимеризации 4–6, по 20 % мальтозы и мальтотриозы, а также олигосахариды со степенью полимеризации 7 и более. Применяется при производстве карамели, а также как углеводный компонент лечебных чаев.

Карамельная патока с РВ 38–44 % содержит 19–23 % глюкозы, около 24 % мальтозы, 20 % мальтотриозы, не более 20 % олигосахаридов со степенью полимеризации 4–6. Применяется при производстве леденцовой карамели.

Высокоосахаренная патока может содержать от 44 до 70 % РВ. При РВ 55–60 % в ней содержится 34–40 % глюкозы, 24 % мальтозы, не более 13 % мальтотриозы, незначительные количества олигосахаридов с более высокой степенью полимеризации. Используется при производстве хлебобулочных, кондитерских изделий, молочных и фруктовых консервов, столовых сиропов, пива.

Высокомальтозная патока – продукт β -амилолиза разжиженного 30–35-процентного крахмала с использованием бактериальной β -амилазы, например, из *B. pulyuxa*. Содержание РВ – 48–49 %, общее содержание сбраживаемых сахаров – 70–75 %. Высокомальтозная патока используется взамен сахарозы при производстве леденцовой карамели и мороженого.

Глюкозно-мальтозная патока характеризуется примерно равным содержанием глюкозы и мальтозы при РВ 66,8–70 %. Повышение содержания мальтозы по сравнению с высокоосахаренной патокой достигается за счет действия грибной α -амилазы «Амилоризина». Фермент расщепляет крахмал с образованием мальтозы в качестве основного продукта реакции. Патока характеризуется высокой сбраживаемостью,

некристаллизуемостью и стабильностью к микробиологической порче. Она может применяться в составе различных пищевых продуктов.

Конечным продуктом гидролиза крахмала является глюкоза, она широко применяется в пищевой промышленности в виде кристаллической глюкозы, а также используется в качестве источника получения глюкозо-фруктозных сиропов (ГФС). Предполагается, что в ближайшее время 30–50 % потребности в сахаристых веществах в мире будет удовлетворяться за счет производства ГФС, и это связано с тем, что один из его компонентов – фруктоза – является более сладким природным сахаром, чем сахароза. Следовательно, ГФС может потребляться в меньшем количестве, чем сахароза.

Глюкозный сироп, очищенный фильтрацией через кизельгур, активированный уголь и ионообменные смолы, концентрируют упариванием при 60 °С до содержания сухих веществ 45 %. Концентрированный продукт является субстратом для изомеризации.

Изомеризацию глюкозы во фруктозу проводят с помощью иммобилизованных препаратов глюкоизомеразы, которые помещают в колонны. Степень конверсии глюкозы зависит от скорости пропускания ее через колонный реактор, от pH и температуры, концентрации солей магния и кобальта. Используют препараты с достаточно высокой термостабильностью, поскольку процесс изомеризации проводится при 58–60 °С во избежание инфицирования продукта. Увеличение температуры более 60 °С, особенно в щелочной среде, приводит к увеличению количества кетосахаров за счет химической изомеризации и продуктов дегградации сахаров.

Отечественная технология ГФС основана на применении препарата «Имфрузим». Процесс изомеризации проводят при pH 7,8 и температуре 58–60 °С. В продукте конверсии содержится 42–43 % фруктозы, 51–52 % глюкозы. После очистки на ионообменниках и активированном угле продукт уваривают до концентрации сухих веществ 71 %. В ГФС с содержанием фруктозы 42 % в процессе хранения кристаллизуется глюкоза, поэтому предпочтительно вырабатывать ГФС с содержанием фруктозы 55 %. ГФС является универсальным заменителем сахарозы. Он применяется при производстве соков, безалкогольных напитков, вина, ликеров хлебобулочных изделий, фруктовых и молочных консервов, мороженого.

Полуфабрикаты для алкогольных и безалкогольных напитков. Частичная переработка плодового и другого растительного сырья в полуфабрикаты для алкогольных и безалкогольных напитков (сиропы, экстракты, концентрированные основы и др.) может осуществляться на заготовительных пунктах.

При производстве полуфабрикатов безалкогольных, а также алкогольных напитков применяется ферментация растительного материала. Мезгу плодов и овощей необходимо обрабатывать ферментными препаратами пектолитического и целлюлолитического действия, предварительно подогрев ее до 80–85 °С для инактивации окислительных ферментов.

При получении экстрактов для каждого вида сырья подбирают оптимальные условия: соотношение жидкой и твердой фазы, температурный режим, рН среды, комплексы ферментных препаратов. Последние выбирают в зависимости от структурно-механических и физико-химических свойств сырья: для корневищ это цитопектопротоамилолитический комплекс, для трав – цитопектопротеолитический.

Для обработки пряно-ароматических трав (зизифоры, мяты, душицы, базилика) используют препарат «Цитороземин Пх» в количестве 2 % от массы сырья, гидролиз проводят в течение 4 ч при 45–55 °С. С целью повышения степени экстракции в среду вводят 3 % сахара-сырца. Сочетание ферментативной обработки с применением сахара увеличивает выход экстрактивных веществ (по оптической плотности) на 30–70 %.

Новая технология переработки сырья разработана для получения морсов в ликероводочной промышленности. Так, для приготовления морса из чернослива в дробленое сырье вносят водный раствор мультиэнзимной композиции, состоящий из 0,5 % «Пектофоетидина Пюх» (активность 9 ед/г) и 0,005 % «Целловиридина Гюх».

Для приготовления морса первого слива в смесь добавляется водно-спиртовой раствор крепостью 10 % с учетом сохранения необходимого соотношения сырья к экстрагенту. Ферментативная обработка длится 4 ч при 20 °С, смесь спиртуют до крепости 50 %, настаивают в течение 2–3 суток с периодическим перемешиванием. Морс второго слива готовят путем вторичного внесения в сырье водно-спиртового раствора крепостью 45 % в количестве 70 % от внесенного в первый раз и выдержи в течение 2–3 суток. Морсы первого и второго слива объединяют.

Технология приготовления рябинового морса включает дробление сырья, смешивание с водно-спиртовым раствором, внесение препарата «Пектофоетидин Пюх» в количестве 0,1 % и настаивание при температуре 20 °С в течение 6 ч. Далее смесь спиртуют до крепости 50 % при соотношении сырья к экстрагенту 1 : 4 и настаивают 3–4 суток. Получают морс первого слива. Сырье вторично заливают водно-спиртовым раствором крепостью 45 % в количестве 70 % от внесенного в первый раз и выдерживают в течение 3–4 суток. Морсы первого и второго слива объединяют.

По разработанной технологии продолжительность настаивания сокращается в 3–4 раза, а содержание извлекаемых экстрактивных веществ возрастает на 3 %.

Ферменты также используются и на других стадиях производства полуфабрикатов для напитков. Разработана технология получения виноградного сиропа как основы безалкогольных напитков и мороженого с использованием фермента сырья – β -фруктофуранозидазы. С помощью фермента гидролизуются сахара, которую вносят в виноградное сусло при приготовлении сиропа.

Фермент имеет оптимум действия при pH 4–5 и температуре 45–65 °C. Максимальная активность β -фруктофуранозидазы накапливается в винограде различных сортов при концентрации сахаров в ягоде 16–18 %. Фермент наиболее активен в среде с концентрацией сахарозы не более 40 %. Для достижения конечной массовой концентрации сухих веществ в сиропе, равной 70 %, необходимо внести 50–55 % сахарозы (с учетом содержания сухих веществ в сусле).

С целью сохранения высокой каталитической активности фермента сахар вносят дробно. Инверсию проводят при 65 °C. По окончании процесса, который контролируют по степени инверсии сахарозы, сироп нагревают до 85 °C и выдерживают 3 мин для инактивации ферментов. Рекомендуют проводить инверсию не менее чем на 60 %, так как при этом сиропы неограниченно стабильны без внесения консерванта.

Важное преимущество ферментативной инверсии состоит в существенном снижении концентрации продуктов меланоидинообразования по сравнению с процессом кислотно-термической инверсии (инверсии за счет кислот сусла при кипячении в течение 30 мин). При степени ферментативной инверсии 25–100 % концентрация оксиметилфурфуrola (один из продуктов меланоидинообразования) составила 0,95–1,65 мг/л, тогда как при 45-процентной кислотно-термической инверсии – 58,8 мг/л.

Витаминные препараты. Многие виды растительного сырья являются основными источниками биологически активных липидов – полиненасыщенных жирных кислот, токоферолов, каротиноидов. Масла из зародышей пшеницы, ржи и просяных мучелей содержат до 11 % линоленовой кислоты – предшественника арахидоновой кислоты в цикле биосинтеза. Для масел из зародышей зерновых и из облепихи характерно высокое содержание токоферолов, превышающее в пшеничном масле 1 %. Плоды шиповника, аронии, красной рябины, кизильника, барбариса, жимо-

лости, облепихи, томатные выжимки и семена богаты каротиноидами. Масло из семян томатов содержит до 1 % каротиноидов.

Разнообразие растительного витаминного сырья, его технологических свойств предполагает возможность различных путей его переработки. Основным элементом технологии препаратов растительных жирорастворимых витаминов (ЖРВ) является способ их извлечения из сырья. Выбор способа извлечения определяет и процедуры подготовки сырья к основному технологическому этапу, и характер заключительных операций при получении продукта.

Способы извлечения ЖРВ из растительного сырья можно разделить на две группы: прессовые и экстракционные. Прессовые технологии эффективны в тех случаях, когда в сырье имеется достаточное количество естественного растворителя ЖРВ – растительного масла. При этом получают высокий выход масла и ЖРВ. Прессование низкомасличного сырья дает невысокий выход конечного продукта.

Экстракционная технология наиболее приемлема для получения препаратов ЖРВ из низкомасличного растительного сырья. При экстракции достигается более высокая степень извлечения витаминов за счет перехода прочносвязанных ЖРВ в свободную форму под действием экстрагента.

Существуют различные варианты экстракционных способов извлечения ЖРВ: экстракции углеводородными растворителями, спиртами, ацетоном, эфиром, маслами и их смесями с другими органическими растворителями, сжиженными газами и пр. Для каждого вида сырья можно использовать множество видов экстракционной технологии, обеспечивающих высокий выход целевых продуктов. Окончательный выбор определяется заданным качеством получаемого препарата (составом, консистенцией), уровнем безопасности производства, сложностью аппаратного оформления процесса, экономическими соображениями.

Этанольные экстракты витаминного сырья могут использоваться как полупродукты в технологии водорастворимых препаратов каротиноидов и токоферолов, последние сорбируются из этанольного раствора на водорастворимые полимеры, нерастворимые в этаноле.

Путем эмульгирования растительных масел в спиртовых экстрактах токоферолов с последующим разделением фаз получают витаминные масла, обогащенные токоферолами. Экстракционные технологии получения витаминных препаратов из растительного сырья основаны на использовании ферментных препаратов.

При получении витаминизированных масел из низкомасличного сырья, такого как зародыши зерновых культур или иные отходы зерна, богатые витаминами, сырье целесообразно предварительно обогатить путем ферментации гидролитическими ферментами. При ферментации происходит гидролиз нелипидных компонентов сырья, повышаются его масличность, доля свободных липидов, степень их экстрагируемости и чистота конечного продукта.

Комплекс гидролитических ферментов для обогащения сырья подбирают в соответствии с составом нелипидных компонентов. В сырье, богатом белком, основным препятствием для экстракции липидов являются белково-липидные взаимодействия. Для расщепления белка используют препараты протеолитических ферментов. Для обеспечения доступа протеиназ к белку и повышения скорости массообмена при гидролизе необходимо разрушить структуры клеточных стенок сырья. Соответственно в комплекс ферментов вводят целлюлазы и гемицеллюлазы.

Оптимум действия ферментов должен находиться в слабокислой или нейтральной среде в соответствии с естественной реакцией водных взвесей сырья. Выбирают ферменты с оптимальной температурой действия 40–50 °С, поскольку гидролиз сырья необходимо проводить при температуре ниже порога клейстеризации крахмала (для пшеничного крахмала это 50 °С).

При ферментации зародышей пшеницы наилучшие результаты получены при сочетании «Протосубтилина» (0,72 ед. протеазы на 1 г сырья) с «Целлюлазой-100» (3,68 ед. целлюлазы и 0,82 ед. пектиназы на 1 г сырья) или «Целловиридином» (1,92 ед. целлюлазы на 1 г сырья). В этих вариантах не наблюдается потерь липидов за счет перехода в жидкую фазу гидролизата, масличность сырья повышается в 2 раза (до 20,9–21,9 %), выход масла составляет 72 % к масличности исходного сырья.

Экстракцию масел и витаминов из обогащенного сырья производят концентрированным этанолом при температуре кипения экстракционной смеси. После отделения экстракта фильтрацией к нему добавляют воду с целью понижения растворимости липидов и из образовавшейся эмульсии выделяют сырое масло. Первую фильтрацию масла проводят сразу после его отделения от водно-спиртового раствора, при этом удаляется белково-липидная фаза. Вторая фильтрация для отделения фракции восков проводится после вымораживания продукта.

Для спирто-масляной экстракции используют измельченное сухое или обезвоженное влажное сырье. С целью повышения степени экстракции

витаминов и чистоты препаратов сырья может быть предварительно обогащено путем ферментации. Состав ферментных комплексов подбирают в соответствии с характером локализации целевого компонента, его связи с полимерами сырья. Например, для ферментации томатов и продуктов его переработки используют препараты с пектолитической активностью – «Целлюлазу-100» и «Пектофетидин». В результате ферментации и отделения жидкой фазы содержание каротиноидов в пересчете на сухое вещество значительно возрастает – в 7,5 и 11 раз в свежем сырье и томатной пасте соответственно.

Измельченное сухое сырье смачивают расчетным количеством этанола и выдерживают несколько минут для полного проникновения экстрагента в структуру сырья. Обезвоженное влажное сырье размешивают в этаноле до получения однородной массы. В обоих случаях расход этанола составляет 1–3 мг/г сырья. Затем добавляют расчетное количество масла (1–3 г/г сырья) и проводят экстракцию в течение 20–30 мин при температуре кипения экстракционной смеси и ее непрерывном перемешивании. После отделения экстракта его охлаждают до 10–15 °С и проводят разделение фаз.

Выход витаминов из одной порции сырья можно повысить повторной экстракцией их из шрота. Для получения высококонцентрированных масляных растворов витаминов проводят многократное насыщение масла путем экстракции свежих порций сырья. В этом случае шрот повторно не экстрагируют, а масляную фазу экстракта первой стадии используют как экстрагент в новом цикле, который проводят при том же соотношении сырья к этанолу, маслу, и т.д.

2.5.4. ПРОДУКТЫ МИКРОБНОЙ БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Микробную биоконверсию растительного сырья в основном проводят с целью получения кормов, обогащенных белком и ферментами, белковых пищевых продуктов, а также для детоксикации пищевых продуктов и кормов.

Микробный синтез белка позволит расширить и качественно улучшить пищевую базу, получить высококачественные продукты, затрачивая минимум труда и не нанося ущерба окружающей среде. Микробному белку по сравнению с животным и растительным белком присущи следующие преимущества:

- большая скорость роста микроорганизмов (микроорганизмы растут в 500 раз быстрее, чем сельскохозяйственные культуры, и в 1000–5000 раз быстрее, чем самые быстрорастущие породы животных);
- высокое содержание белка в биомассе: дрожжи способны накапливать до 40–50 % белка от своей массы, а некоторые бактерии – до 60–70 % белка;
- удовлетворительная биологическая ценность белков: по содержанию большинства незаменимых аминокислот (лизин, треанин, триптофан и др.) белок многих дрожжей и бактерий соответствует эталону;
- независимость производства от погодных условий: биомассу микроорганизмов можно получать круглогодично;
- способность выращивания биомассы на различных непищевых субстратах и на отходах ряда производств;
- возможность организации крупнотоннажного производства.

Сырьем для получения белковой массы традиционно служат различные виды дрожжей. Эти микроорганизмы устойчивы к инфекциям, легко отделяются от среды благодаря крупным размерам клеток, способны усваивать различные источники углерода, азота, могут расти на простых средах. Дрожжи продуцируют биомассу с высокими питательными свойствами и приятным запахом.

Бактерии также используются для получения белковых веществ. Преимущество бактерий – высокая скорость роста, больше, чем у других микроорганизмов. По составу аминокислот бактериальный белок близок к животному, поэтому представляет ценность в качестве кормового препарата. Вместе с тем диаметр клеток бактерий в 3–5 раз меньше, чем у дрожжей, а плотность их близка к плотности воды, что осложняет стадию выделения. По сравнению с дрожжами бактерии менее устойчивы к инфекциям.

Общий недостаток дрожжей и бактерий – высокое содержание нуклеиновых кислот: у дрожжей – до 12 %, бактерий – до 16 %, что выше допустимого уровня.

Для получения кормового и пищевого белка можно использовать промышленное выращивание различных видов низших и высших грибов. В мицелии несовершенных грибов содержится, %: сырого протеина – до 55–57, истинного белка – 41–43, нуклеиновых кислот – 5–6. Состав мицелия базидиомицетов, %: сырой протеин – 42,5–48,5, истинный бе-

лок – 24,3–30, нуклеиновые кислоты – 2–4. Эти данные получены при культивировании грибов как продуцентов белка. В природных условиях доля углеводного компонента в мицелии выше, в особенности в почвах с бедным минеральным составом.

Грибной белок хорошо усваивается. Степень усвояемости белка *Fusarium culmorum* составляет 84 %, а биологическая ценность по отношению к казеину – 50–70 %. Грибной белок обладает хорошими структурными свойствами, что важно для использования в пищевых продуктах, кулинарных изделиях.

Белковые концентраты из биомассы несовершенных грибов имеют высокую жирудерживающую способность (около 400 %), и могут давать при соединении с жирами однородные продукты. Водоудерживающая способность белковых концентратов в отсутствие солей составляет около 100 %, она возрастает до 200–223 % при увеличении ионной силы до 0,3–1,0. Ионная сила 0,3 соответствует 0,3 М поваренной соли, или концентрации ее раствора 1,75 %.

Водоросли являются перспективными источниками белка. Они легко отделяются от субстрата, медленнее растут, чем дрожжи, поэтому содержат меньше нуклеиновых кислот в биомассе. Общее содержание белка в водорослях может достигать до 70 % от массы.

В производстве пищевых продуктов рассматривают три основные формы использования микробного белка:

- цельная биомасса – без специального разрушения клеточных стенок;
- концентрат – частично очищенная биомасса, полученная путем разрушения клеточных стенок и удаления нежелательных компонентов;
- изоляты – выделенные из биомассы белки.

Белковые концентраты и изоляты называют белковыми препаратами. Белковые продукты отличаются по содержанию белка. Цельные клетки микроорганизмов в среднем содержат около 50 % белка, концентраты – около 70 %, изоляты – до 90 % и выше. Общие требования, предъявляемые к биомассе: отсутствие токсинов, тяжелых металлов и патогенных микроорганизмов, допустимое содержание канцерогенов.

К белковым препаратам микробного происхождения предъявляют ряд специфических требований. Прежде всего, в их составе ограничивают содержание нуклеиновых кислот, так как пуриновые основания в организме животных трансформируются в мочевую кислоту, что создает

риск заболеваний почек и мочевыводящих путей. Суточная норма составляет 2 г нуклеиновых кислот, что соответствует 20–30 г высушенной биомассы дрожжей, или 10–20 г бактерий. Для снижения содержания нуклеиновых кислот в клетках микроорганизмы подвергают воздействию высоких температур в течение нескольких секунд, а затем выдерживают несколько часов при 50–55 °С; обрабатывают экзогенной рибонуклеазой или кислотами, щелочами, метанолом.

Для белковых препаратов ограничивают также содержание β -оксималяной кислоты в липидах; циклопропанов; разветвленных жирных кислот; жирных кислот с нечетным содержанием атомов углерода (для дрожжевого белка), что регулируется условиями культивирования. Контроль содержания остаточных углеводов осуществляют путем регулирования условий и режима сушки. Микроорганизмы-продуценты не должны вызывать аллергических реакций, обладать патогенными свойствами. По всем перечисленным параметрам анализируют как сам белковый препарат, так и белок биомассы.

МИКРОБНЫЙ СИНТЕЗ БЕЛКА. Промышленное получение белка с использованием микроорганизмов обычно осуществляется в ферментаторах, работающих по принципу хемостата. В среду с размножающимся микроорганизмом непрерывно подают водный раствор минеральных солей и органический субстрат, конкретный для осуществляемого процесса. Культуру перемешивают, аэрируют и охлаждают.

Целесообразно использовать термотолерантные штаммы, что позволяет вести выращивание при максимально возможной температуре. С одной стороны, это снижает вероятность инфицирования, с другой – уменьшает затраты на охлаждение, так как расходы на эти цели тем ниже, чем больше разность температур между охлаждающим агентом и средой.

В качестве продуцентов микробного белка используют культуры дрожжей (*Candida*, *Endomycopsis*), несовершенных грибов (*Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*) и базидиомицетов (*Agaricus*, *Coprinus*, *Lentinus*, *Panus*, *Pholiota*, *Pleurotus*, *Russula*). Выбор продуцента определяется общим содержанием белка в биомассе, аминокислотным составом и усвояемостью белка, содержанием нежелательных компонентов (нуклеиновых кислот, некоторых разновидностей жирных кислот, неусвояемых форм полисахаридов с аллергенными свойствами).

Так, например, выращенные клетки дрожжей отделяют от водной среды сепарированием, а клетки грибов – фильтрацией. Термическую обработку проводят, как правило, при 80–90 °С. Сметанообразную массу

после отмирания клеток высушивают в распылительной сушилке, полученные хлопья или порошок гранулируют и упаковывают. Для технолога важно, чтобы ферментатор работал с высокой производительностью, то есть его массообменная характеристика использовалась максимально. В то же время избыток субстрата нежелателен, так как создаются условия для неполной его утилизации, что, соответственно, затрудняет очистку сточных вод, и повышается вероятность попадания его в готовый продукт.

БЕЛКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ. Материал клеточных стенок дрожжей содержит аллергены, антигенные факторы и ряд других нежелательных веществ, поэтому предпочтительно выделять белок из клеток. Это позволяет повысить усвояемость белка и расширить сферу его применения в пищевых производствах. Для получения концентратов с различным фракционным составом и белковых изолятов из биомассы дрожжей используют автолиз и ферментативный лизис с помощью дрожжелитических ферментных препаратов и протеаз обычного типа.

Технологический автолиз пекарских дрожжей (разрушение клеточных стенок дрожжей под действием собственных ферментов) проводят при температуре 45–53 °С в присутствии плазмолизирующих агентов: толуола, хлороформа, этанола, поваренной соли и других. В суспензии биомассы создают рН 5,5–6,5. В ходе автолиза чаще всего рН не регулируют: при естественном изменении рН чередуются оптимальные условия для действия различных деполимеризующих ферментов, что повышает эффективность процесса в целом.

Содержание сухих веществ в суспензии варьирует в от 1 до 20 %, снижение концентрации биомассы в этих пределах приводит к интенсификации автолиза. Рациональной считают концентрацию около 10 %. Продолжительность автолиза составляет 15–30 ч, а при предварительной механической дезинтеграции замороженной биомассы – 5–6 ч.

Способ комплексной переработки биомассы пекарских дрожжей, разработанный отечественными учеными, предполагает проведение автолиза 20-процентной суспензии дрожжей в присутствии 1 % толуола в течение 15–20 ч при 45–50 °С. Последующее фракционирование автолизата включает отделение клеточных стенок дрожжей центрифугированием, обесцвечивание жидкой фазы автолизата, удаление нуклеиновых соединений и пептидов сорбцией на ионите «ИА-1р» в ОН-форме, сорбцию аминокислот из очищенного раствора предыдущей стадии на катионите «КУ-2х8» и их последующую элюацию раствором аммиака.

Получаемая смесь аминокислот содержит все незаменимые и заменимые аминокислоты в пропорциях, характерных для высокопитательных белковых продуктов. Содержание свободных аминокислот составляет около 70 % от белка автолизированной биомассы, около 25 % белка гидролизано до низших пептидов (500–700 Да).

По данной схеме из 50 кг дрожжей с влажностью 75 % получают 2–3 кг смеси аминокислот, 0,3–0,5 кг нуклеиновых компонентов и около 6 кг клеточных стенок, из которых можно дополнительно выделить 35–45 г эргостерина. Аминокислотная смесь используется в препаратах для парентерального и энтерального лечебного питания, а также в качестве добавок (2–3 %) в макаронные и мучные кулинарные изделия, что увеличивает их биологическую ценность на 20–40 %.

Аминокислотная смесь рекомендуется как заменитель цветочной пыльцы в период расплода пчел. Неочищенный дрожжевой автолизат, приготовленный с использованием нетоксичных плазмолитиков, может применяться как кормовая добавка в птицеводстве, рыбоводстве и звероводстве.

Перспективным источником белка являются избыточные пивные дрожжи, которые могут быть автолизированы также по описанной схеме.

Ферментативный лизис клеточных стенок дрожжей проводят с помощью различных ферментов и мультиэнзимных композиций. Для разрушения клеточных стенок свежих дрожжей родов *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulaspora* рекомендуют комплекс внеклеточных ферментов гриба *Tr. viride*, обладающий β -1,3-глюканазной активностью, в сочетании с протеазой растительного происхождения (папаином, бромелаином, фицином).

При лизисе суспензии прессованных пивных дрожжей ферментами *Arthrobacter luteus* в жидкую фазу лизата переходит около 80 % клеточных включений, большая часть белков лизата имеет молекулярную массу выше 50 кДа, что свидетельствует о незначительной степени расщепления.

Препарат изолятов содержит в своем составе около 80 % нативного белка, 7–8 % углеводов и 2–3 % нуклеиновых кислот.

Способы получения продуктов глубокого расщепления основываются на сочетании автолиза дрожжей и их лизиса препаратами литического или протеолитического действия. Для активации протеолиза дрожжей используют растительные, животные и микробные протеазы. Протеазы могут быть неспецифичными по отношению к дрожжевому белку,

но в сочетании с автолитическими протеазами дрожжей дают хороший эффект. Например, «Проназа Е», папаин, пепсин, «Протосубтилин Гюх» нейтральный в соотношении с изолированным белком пекарских дрожжей 1: 1000 гидролизуют его не более чем на 4 %, а добавление этих препаратов в том же соотношении к белку автолизирующихся дрожжей через 5 ч после начала автолиза позволяет спустя еще час получить глубину гидролиза белка 95 %. В контроле этот уровень достигается лишь после 20 ч автолиза.

С применением препарата «Лизосубтилин Гюх» разработан способ получения белково-витаминного обогатителя пищи из гидролизных дрожжей рода *Candida*. Процесс включает следующие операции: кормовые дрожжи с влажностью 75–90 % нагревают до температуры 46–50 °С, вносят «Лизосубтилин» в количестве 0,2–0,5 % к сухому веществу дрожжей, проводят гидролиз в течение 20–30 ч при постоянной температуре и перемешивании. Затем непрогидролизованные остатки клеток отделяют сепарацией, а жидкую фазу высушивают.

Сухой продукт представляет собой порошок соломенно-желтого цвета с приятным пищевым запахом. Содержание аминного азота составляет 4,3 %, около половины определяемых аминокрупп принадлежат свободным аминокислотам, среди которых преобладают аланин, лизин, лейцин (16, 15,7 и 12,4 % соответственно).

«Лизосубтилин» может использоваться для получения белковых продуктов из дрожжей спиртового производства. Эти дрожжи обладают заметной автолитической активностью, причем оптимальные условия автолиза и лизиса «Лизосубтилином» совпадают, что позволяет вести процесс при постоянных значениях pH и температуры (pH 6,3–6,8, температура 50–55 °С). При дозе препарата 0,1 % к сухому веществу биомассы дрожжей выход растворимых форм азота и углеводов возрастает в 2–2,5 раза (по сравнению с автолизом), через 6 ч в жидкую фазу ферментолизата переходит около половины азотистых соединений и треть углеводов. Выход аминного азота составляет около 3 % к сухой массе дрожжей.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ГИДРОЛИЗАТЫ. Белковыми гидролизатами называют продукты гидролитического расщепления белков – аминокислоты, их натриевые соли, пептиды. Натриевые соли аминокислот, особенно глутаминовой кислоты (глутамат натрия), обладают способностью усиливать естественный вкус таких продуктов, как мясо, рыба, овощи, при добавлении к блюду в небольших количествах. Входящие в состав

гидролизатов аминокислоты и их натриевые соли, а также продукты вторичного синтеза (меланоидины и др.) обуславливают определенный вкус (например, вкус грибов, мяса, куриного бульона). Поэтому, используя направленный гидролиз белков и строго подбирая сырье, можно получить гидролизаты определенного вкуса.

Белковые гидролизаты из растительного сырья получают путем культивирования гриба *Asp. oryzae*, а также с использованием ферментных препаратов. Технология получения растительных белковых гидролизатов путем культивирования гриба *Asp. oryzae* включает следующие этапы: подготовка соевого шрота для культивирования плесневого гриба, получение массы, проросшей плесневым грибом, ферментация, созревание, осветление полученного гидролизата, фильтрование, сгущение, расфасовка в стеклянную тару.

Подготовка соевого шрота проводится в несколько этапов: просеивание на вибросите для отделения случайных примесей и пропускание через магниты для улавливания ферропримесей; стерилизация острым паром при давлении 0,2 МПа в течение 30 мин; охлаждение стерилизованной массы; гранулирование; смешивание со стерильной пшеничной мукой и маточной культурой *Asp. oryzae*.

Подготовленную смесь культивируют в специальных аппаратах в течение 24 ч для выращивания гриба. Через 10–12 ч после загрузки смесь продувают кондиционированным и очищенным от пыли воздухом температурой 28–30 °С с относительной влажностью 80–85 %. В течение культивирования на поверхности гранул разрастается мицелий гриба, покрывая их белым налетом. После окончания процесса спороношения (через 24 ч) масса покрывается зеленым налетом. Дальнейшая выдержка ее в аппаратах приводит к снижению протеолитической активности накопленных ферментов. Влажность гранул, проросших грибом, не должна превышать 32 %. Массу, проросшую плесневым грибом, называют коджи.

Ферментацию коджи можно осуществить методами мокрой и сухой ферментации. Метод мокрой ферментации, или чаново-прессовый метод, очень длительный – до 45 суток, поэтому предпочтение отдается сухой ферментации.

По методу сухой ферментации массу коджи измельчают и выдерживают 48 ч в специальных ферментаторах при температуре 40 °С. В результате повышения температуры в массе значительно ускоряются ферментативные процессы, а также процессы вторичного синтеза с образованием меланоидинов. Ферментированную массу промывают раствором пова-

ренной соли, извлекая экстрактивные вещества (аминный азот, пептиды, безазотистые соединения, меланоидины и др.). При необходимости получения бессолевого гидролизата экстракцию ферментированной массы осуществляют кипяченой, слегка подсоленной для смягчения жесткости воды.

Полученный гидролизат подвергают дозреванию, для чего его выдерживают в чанах при температуре 40–45 °С в течение 5 суток, периодически насыщая воздухом. При дозревании в гидролизате продолжают реакции образования аминного азота и разрушения пептидных связей в белках, также идут реакции гидролиза углеводов и, как следствие, реакция меланоидинообразования. В результате гидролизат темнеет, вкус и запах его улучшаются, становятся более полными.

После дозревания гидролизат для осветления обрабатывают активированным углем при нагревании до 70–90 °С и постоянном перемешивании в течение 1–2 ч. Горячий гидролизат фильтруют на нутч-филтре. Активированный уголь промывают на фильтре горячей водой, промывные воды добавляют к гидролизату.

Вместо активированного угля можно использовать древесный уголь, норит или карбораффин.

Осветленный гидролизат сгущают в вакуум-аппарате при остаточном давлении 2,6–8 кПа и температуре 55–60 °С до содержания сухих веществ 75–80 %. По окончании выпаривания получают однородную пастообразную массу с острым, соленым мясо-грибным вкусом, коричневого цвета.

Сгущенный гидролизат расфасовывают в стеклянную тару, герметически укупоривают и хранят до использования. Срок хранения такого гидролизата – 12 месяцев. Из сгущенного гидролизата готовят бульонную пасту, смешивая его с ароматизированным жиром, солью и глутаматом натрия, и используют в производстве пищекокцентратов первых и вторых обеденных блюд.

Вопросы для самоконтроля

.....

1. Что такое биоконверсия?
2. Каковы преимущества биоконверсии по сравнению с химическими превращениями?
3. Что является биологическим агентом биотехнологической системы?
4. Какие процессы относят к биологическим методам конверсии?
5. Приведите классификацию процессов ферментации микроорганизмов по технологическим признакам.
6. Приведите определение и понятие энзимов.
7. Каковы преимущества ферментов?
8. Приведите требования к ферментным препаратам, используемым в пищевой промышленности.
9. На какие классы подразделяют ферменты?
10. На какие группы можно разделить ферменты, участвующие в трансформации органического сырья?
11. Какие свойства характерны для ферментов?
12. Приведите характеристику и классификацию протеолитических ферментов.
13. Охарактеризуйте пектолитические ферменты, приведите примеры ферментных препаратов.
14. Охарактеризуйте целлюлолитические ферментные препараты, приведите примеры.
15. Охарактеризуйте амилалитические ферменты, приведите примеры ферментных препаратов.
16. Какие способы производства ферментных препаратов применяются?
17. Приведите классические примеры биоконверсии в пищевой промышленности.
18. Характеристика прямой биоконверсии.
19. Перечислите этапы технологического процесса микробной биоконверсии.
20. Какие продукты биоконверсии сыворотки вы знаете?
21. Приведите примеры продуктов биоконверсии рыбного сырья.

22. Приведите примеры продуктов биоконверсии вторичного сырья мясной отрасли.
23. Приведите примеры продуктов биоконверсии растительного сырья.
24. В чем заключается отличие ферментной и микробной биоконверсии?
25. Охарактеризуйте продукты гидролиза крахмала.
26. Приведите примеры продуктов биоконверсии отходов сельскохозяйственных животных.
27. Перечислите виды сырья, из которого можно получить белковые продукты.
28. Перечислите, какие ферменты целесообразно использовать для биомодификации животного сырья, а какие предпочтительнее при переработке растительного сырья. Объясните.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

.....

Вовлечение промышленных отходов в производство новых продуктов позволяет повысить степень использования исходного сырья, снизить материальные затраты на единицу выпускаемой продукции и, следовательно, ее себестоимость.

Методы биотехнологии имеют большие перспективы с различных точек зрения. Прежде всего, модификация низкосортного сырья и дальнейшее его привлечение в технологию мясопродуктов, что позволит существенно расширить сырьевую базу и увеличить ресурсы трудно возобновляемого животного белка.

Биоконверсия изучает не только превращения одних природных веществ в другие, но и такие сложные процессы, как переработка и трансформация пищевого сырья в корма и пищевые продукты, детоксикацию пищевых продуктов и кормов, биологическую очистку сточных вод и объектов природы (почв, водоемов). Наиболее важной областью применения биоконверсии является пищевая промышленность.

ТЕСТЫ

для контроля знаний студентов

.....

1. Биоконверсия – это:

- а) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия химических неорганических веществ на исходное сырье
- б) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия ферментных систем микроорганизмов
- в) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия гормональных препаратов животного происхождения
- г) превращение одних органических соединений в другие вследствие воздействия физических факторов окружающей среды

2. Основные продукты, получаемые путем микробиологической биоконверсии растительного сырья:

- а) витаминные препараты
- б) каучук
- в) протеинизированные корма
- г) липосомальные фракции

3. Основными источниками сырья для биоконверсии являются:

- а) отходы металлургической промышленности
- б) отходы авиационного приборостроения
- в) сырье и отходы пищевой промышленности
- г) отходы химической промышленности

4. Ферменты – это катализаторы:

- а) белковой природы
- б) углеводной природы
- в) липидной природы
- г) неорганической природы

5. Ферменты – это химические вещества, которые:

- а) не подвержены воздействию рН среды
- б) не влияют на скорость протекания биохимических реакций

- в) не подвержены влиянию температуры
- г) ускоряют протекание биохимических реакций

6. Гидролазы – это класс ферментов, которые катализируют:

- а) реакции расщепления полимеров без участия воды
- б) окислительно-восстановительные реакции
- в) реакции расщепления полимеров с участием воды
- г) реакции биосинтеза органических веществ

7. Фермент α -амилаза ускоряет реакции гидролиза:

- а) фосфолипидов
- б) крахмала
- в) миозина
- г) нуклеиновой кислоты

8. Целлюлаза ускоряет реакции гидролиза:

- а) фосфолипидов
- б) белка миозина
- в) целлюлозы
- г) нуклеиновой кислоты

9. Фермент протеаза ускоряет реакции гидролиза:

- а) фосфолипидов
- б) крахмала
- в) нуклеиновой кислоты
- г) белка и пептидов

10. Фермент пектиназа ускоряет реакции гидролиза:

- а) фосфолипидов
- б) белка миозина
- в) структурного компонента клеточной стенки растений пектина
- г) нуклеиновой кислоты

11. Процессы созревания пшеничной муки характеризуются:

- а) увеличением кислотности за счет разложения жира и накопления продуктов гидролиза белков
- б) потемнением цвета в результате окисления каротиноидов

- в) отсутствием изменений в показаниях влажности муки
- г) уменьшением структурно-механических свойств клейковины

12. В производстве хлебобулочных изделий применяют следующие микроорганизмы:

- а) плесневые грибы
- б) сине-зеленые водоросли
- в) дрожжи
- г) бактериофаги

13. Для производства спирта этилового пищевого в качестве исходного сырья применяется:

- а) отход деревообрабатывающей промышленности
- б) малиновый сироп
- в) зерно злаковых культур
- г) отход нефтедобывающей промышленности

14. Амилолитический ферментный комплекс применяется в процессе производства спирта этилового:

- а) для охлаждения исходного сырья
- б) для гидролиза крахмала и некрахмальных полисахаридов, содержащихся в исходном сырье, в сбраживаемые сахара
- в) для синтеза белков
- г) для расщепления жирных кислот

15. Для получения пивного сусла из смешанного сырья применяют преимущественно ферменты класса:

- а) гидролаз (амилазы, протеазы)
- б) изомераз
- в) лиаз
- г) трансфераз

16. Для сбраживания пивного сусла применяются следующие микроорганизмы:

- а) бактериофаги
- б) простейшие
- в) дрожжи
- г) бактерии

17. Зерновые отходы спиртового и пивоваренного производства используют:

- а) для приготовления лечебных препаратов
- б) для производства биогаза метана
- в) для очистки сточных вод
- г) для на корм скоту

18. Обработка плодово-ягодного сока пектолитическим ферментным препаратом «Винозим» используется:

- а) для понижения интенсивности окраски
- б) для увеличения количества полисахаридов
- в) для осветления сула
- г) для понижения выхода экстрактивных веществ

19. Ферментацию плодово-ягодных морсов гидролитическими ферментами проводят с целью:

- а) снижения количества коллоидов в растворе
- б) снижения количества витамина С в растворе
- в) увеличения вязкости раствора
- г) защиты растворов от воздействия УФ-лучей

20. Обработка чайного листа гидролитическим ферментным препаратом «Целлолигнорин Плюс» применяется:

- а) для защиты растительных клеток от воздействия УФ-лучей
- б) для снижения количества аминокислот
- в) для увеличения количества ненасыщенных жирных кислот
- г) для увеличения количества экстрактивных веществ

21. Обработка чайного листа ферментным препаратом фенолоксидазой (класс оксидоредуктазы) применяется:

- а) для защиты растительных клеток от воздействия УФ-лучей
- б) для снижения количества аминокислот
- в) для сокращения времени ферментации чайного листа
- г) для увеличения количества экстрактивных веществ

22. Низкая пищевая ценность вторичного мясного сырья обусловлена высоким содержанием:

- а) коллагена
- б) альбумина

- в) жира
- г) гликогена

23. Вторичное молочное сырье, используемое как источник сырья для получения метана и этанола:

- а) молочная сыворотка
- б) пахта
- в) обезжиренное молоко
- г) казеин

24. К ферментам растительного происхождения относятся:

- а) фицин, панкреатин, коллагеназа
- б) пепсин, трипсин, папаин
- в) химотрипсин, пепсин, панкреатин
- г) бромелаин, папаин, фицин

25. Что является наиболее продуктивным сырьем для получения микробного белка?

- а) коллагеновые волокна
- б) молочная сыворотка
- в) клетчатка
- г) водоросли

26. Для производства спирта этилового пищевого в качестве исходного сырья применяется:

- а) отход деревообрабатывающей промышленности
- б) малиновый сироп
- в) зерно злаковых культур
- г) отход нефтедобывающей промышленности

27. Для сбраживания плодово-ягодного сусла применяются следующие микроорганизмы:

- а) бактериофаги
- б) простейшие
- в) бактерии
- г) дрожжи

БИБЛИОГРАФИЯ

.....

Антипова, Л. В. Использование вторичного коллагенсодержащего сырья в мясной промышленности : учебное пособие / Л. В. Антипова, И. А. Глотова. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2006. – 384 с. – Текст : непосредственный.

Антипова, Л. В. Исследование свойств протеолитических ферментных препаратов / Л. В. Антипова, И. С. Косенко. – Текст : непосредственный // Мясная индустрия. – 2010. – № 11. – С. 82–83.

Боресков, В. Г. Перспективные технологии производства мясных изделий с использованием коллагенсодержащего сырья / В. Г. Боресков, Г. П. Казюлин, И. А. Ушакова. – Текст : непосредственный // Мясная индустрия. – 1997. – № 8. – С. 9–10.

Бучинская, А. Г. Разработка технологии вареной колбасы с использованием биотрансформированного сырья : автореф. дис. ... канд. тех. наук : 05.18.04 / А. Г. Бучинская. – Москва : Моск. гос. ун-т приклад. биотехнологии, 2006. – 16 с. – Текст : непосредственный.

Вторушина, И. В. Получение и применение иммобилизованных коллагеновых препаратов селена в технологии мясных и рыбных рубленых полуфабрикатах : автореф. дис. ... канд. тех. наук : 05.18.07 / М. В. Вторушина. – Воронеж : Воронеж. гос. ун-т инж. технологий, 2012. – 16 с. – Текст : непосредственный.

Габинская, О. С. Основы биотехнологии : учебное пособие / О. С. Габинская. – Кемерово : КемТИПП, 1996. – 54 с. – Текст : непосредственный.

Глотова, И. А. Функциональные коллагенсодержащие субстанции на основе вторичных продуктов животноводства / И. А. Глотова, Н. А. Галочкина, Ю. В. Болтыхов. – Текст : непосредственный // Известия вузов. Пищевая технология. – 2012. – № 4. – С. 16–19.

Голубцова, Ю. В. Биотехнология пищевого сырья и продуктов питания : учебное пособие / Ю. В. Голубцова, О. В. Кригер, А. Ю. Просеков. – Кемерово : КемГУ, 2017. – 111 с. // Лань : электронно-библиотечная система. – URL : <https://e.lanbook.com/book/103935> (дата обращения: 22.03.2023). – Режим доступа : для авториз. пользователей. – Текст : электронный.

Голубев, В. Н. Пищевая биотехнология : учебное пособие / В. Н. Голубев, И. Н. Жиганов. – Москва : ДеЛи принт, 2001. – 123 с. – Текст : непосредственный.

Гуринович, Г. В. Биотехнологические способы производства продуктов повышенной пищевой ценности : учебник / Г. В. Гуринович. – Кемерово : ЛМТ КемТИПП, 2002. – 130 с. – Текст : непосредственный.

Зинина, О. В. Биотехнологическая обработка мясного сырья / О. В. Зинина, М. Б. Ребезов, А. А. Соловьева. – Челябинск : ЮУрГУ; В. Новгород : Новгородский технопарк, 2013. – 272 с. – Текст : непосредственный.

Иванов, В. И. Как работают ферменты / В. И. Иванов. – Текст : непосредственный // Соросовский образовательный журнал. – 1996. – № 9. – С. 25–32.

Кацерикова, Н. В. Натуральные пищевые красители / Н. В. Кацерикова, В. М. Позняковский. – Новосибирск : Экор, 1999. – 58 с. – Текст : непосредственный.

Кислухина, О. В. Биотехнологические основы переработки растительного сырья / О. В. Кислухина, И. Кюдулас. – Каунас : Технология, 1997. – 183 с. – Текст : непосредственный.

Кислухина, О. В. Ферменты в производстве пищи и кормов / О. В. Кислухина. – Москва : ДеЛи Принт, 2002. – 336 с. – Текст : непосредственный.

Кунижев, С. М. Новые технологии в производстве молочных продуктов / С. М. Кунижев, В. А. Шуваев. – Москва : ДеЛи принт, 2004. – 203 с. – Текст : непосредственный.

Москаленко, О. В. Разработка режимов ферментативного протеолиза коллагенсодержащего сырья / О. В. Москаленко, В. А. Коваленко, А. Г. Дьяков, В. Г. Горбань. – Текст : непосредственный // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – 2007. – № 6/3 (30). – С. 71–74.

Неверова, О. А. Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения : учебник / О. А. Неверова, Г. А. Гореликова, В. М. Позняковский. – Новосибирск : Сиб. унив. изд-во, 2007. – 415 с. – Текст : непосредственный.

Пат. 2760741. Российская Федерация, А23К 10/12, А23К 10/26. Способ комплексной переработки боенских отходов в белково-пептидный концентрат и костную муку – кормовые добавки / Е. А. Быков, В. А. Мыльцин, О. А. Мыльцин. – № 2021102898; заявл. 08.02.2021; опубл. 30.11.2021. Бюл. № 34. – Текст : непосредственный.

Пат. 2204910 Российская Федерация, МПК7 А 23 J 3/04, А 23 J 1/10, А 23 J 1/02, А 23 J 1/14 А 23 L 1/314, А 23 L 1/317, А 23 В 4/00. Способ обработки колла-

генсодержащего сырья / В. Б. Крылова, О. Н. Витренко. – № 200119177/13; заявл. 11.07.01; опубл. 27.05.03. Бюл. № 15. – Текст : непосредственный.

Пат. 2325814 Российская Федерация, МПК А 23 J 1/00. Способ производства белковых препаратов из субпродуктов II категории / Е. И. Титов, С. К. Апраксина. – № 2006125384/13; заявл. 14.07.06; опубл. 10.06.08. Бюл. № 2. – Текст : непосредственный.

Пат. 2366263 Российская Федерация, МПК7А 23 J 1/02, А 23 L1/39. Бульон с профилактическим действием, содержащий белковый гидролизат и способ получения этого белкового гидролизата / Л. В. Антипова. – № 2007141314/13; заявл. 09.11.07; опубл. 10.09.09. Бюл. № 25. – Текст : непосредственный.

Пат. 2367685 Российская Федерация, МПК С 12 N 1/20. Препарат для производства ферментированных мясных изделий и биотрансформации мясного сырья / В. В. Хорольский, Н. Г. Машенцева, Е. А. Баранова. – № 2007146645/13; заявл. 19.12.07; опубл. 20.09.09. Бюл. № 26. – Текст : непосредственный.

Пат. 2377931 Российская Федерация, МПК А 23 L 1/317, А 23 L 1/312 Способ производства рубленых полуфабрикатов / В. Н. Лузан, Е. С. Гарифуллина. – № 2008116384/13; заявл. 24.04.08; опубл. 10.01.10. Бюл. № 1. – Текст : непосредственный.

Пат. 2390252 Российская Федерация, МПК А 23 J 1/10. Способ получения белковой добавки из сырья животного происхождения / В. Г. Волик, Д. Ю. Исмаилова, О. Н. Ерохина, В. В. Бреннер. – № 2008139915/13; заявл. 09.10.08; опубл. 27.05.10. Бюл. № 15. – Текст : непосредственный.

Пат. 2409216 Российская Федерация, МПК А 23 J 1/10. Способ получения функционального коллагенового гидролизата / Л. В. Антипова, С. А. Сторублевцев. – № 2009118048/13; заявл. 12.05.09; опубл. 13.05.11. Бюл. № 2. – Текст : непосредственный.

Пат. 2753890 Российская Федерация, МПК C12N 1/20 (2006.01). Препарат бактериальный протеолитический для производства ферментированных мясных изделий / Н. Г. Машенцева, И. М. Чернуха, Д. А. Афанасьев. – № 2021101581; заявл. 26.01.2021; опубл. 24.08.2021. Бюл. № 24. – Текст : непосредственный.

Сушкова, В. И. Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества / В. И. Сушкова, Г. И. Воробьева. – Москва : ДеЛи принт, 2008. – 215 с. – Текст : непосредственный.

Храмцов, А. Г. Технология продуктов из молочной сыворотки / А. Г. Храмцов, П. Г. Нестеренко. – Москва : Дели принт, 2004. – 587 с. – Текст : непосредственный.

Черкасова, Л. Г. Биотехнологическая модификация мясного сырья стартовыми культурами микроорганизмов : автореф. дис. ... канд. техн. наук 05.18.04 / Л. Г. Черкасова. – Москва : Моск. гос. акад. приклад. биотехнологии, 1994. – 152 с. – Текст : непосредственный.

Шлейкин, А. Г. Основы биоконверсии : учеб.-метод. пособие / А. Г. Шлейкин. – Санкт-Петербург : Университет ИТМО, 2015. – 57 с. – Текст : непосредственный.

Щербаков, В. Г. Биохимия растительного сырья : учебное пособие / В. Г. Щербаков. – Москва : Колос, 1999. – 376 с. – Текст : непосредственный.

Шуман, Г. Безалкогольные напитки : сырье, технология, нормативы / Г. Шуман; под общ. ред. А. В. Орещенко и Л. Н. Беневоленской; пер. с нем. – Санкт-Петербург : Профессия, 2004. – 278 с. – Текст : непосредственный.

Caplice, E. Food fermentation : role of microorganisms in food production and preservation / E. Caplice, G. F. Fitzgerald. – Текст : непосредственный // International Journal of Food Microbiology. – 1999. – Vol.50. – № 1. – Pp. 131–149.

Smith, H. Enzymes and Their Inhibition / H. Smith, C. Simons. – New York : CRC Press, 2005. – 308 p. – Текст : непосредственный.

Tucker, G. A. Enzymes in Food Processing / G. A. Tucker, L. F. J. Woods. – New York : Springer New York, 1995. – Pp. 145–148. – Текст : непосредственный.

Учебное издание

ЗИНИНА Оксана Владимировна, НЕВЕРОВА Ольга Петровна,
ГОРЕЛИК Ольга Васильевна, РАЖИНА Ева Валерьевна,
ШАРАВЬЕВ Павел Викторович

БИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Редактор *А. В. Ерофеева*
Дизайнер-верстальщик *А. Ю. Тюменцева*

На обложке использовано изображение: Freepik.com

Подписано в печать 24.11.2023. Формат 60×84/16. Бумага офсетная. Гарнитура Alegreya, Alegreya Sans.
Уч.-изд. л. 8,33. Усл. печ. л. 7,90. Тираж 500 экз. Заказ 24/11

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный аграрный университет». 620075, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42

Отпечатано в Издательском доме «Ажур»
620075, Екатеринбург, ул. Восточная, 54. Тел.: +7 (343) 350-78-28, +7 (343) 350-78-49. Эл. почта: azhurek@mail.ru

Оригинал-макет подготовлен в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении
высшего образования «Уральский государственный аграрный университет».
620075, Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 4