

Автореф.

Б 43

ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

МАР

На правах рукописи

БЕЛХАНТ Салех



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВТОРИЧНОГО СЫРЬЯ КОНСЕРВНОГО
И МАСЛО-ЖИРОВОГО ПРОИЗВОДСТВА В БИОСИНТЕЗЕ ЛИПИДОВ

Специальность 05.18.13 - Технология консервированных
пищевых продуктов

03.00.23 - Биотехнология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Одесса - 1991

Работа выполнена в Одесском технологическом институте
пищевой промышленности им. М.В. Ломоносова.

Научные руководители: доктор химических наук, профессор
Голубев В.Н.,

кандидат химических наук, доцент
Капрельянц Л.В.

Официальные оппоненты: доктор технических наук, доцент
Чагаровский А.П.,

кандидат биологических наук, доцент
Тырсин Ю.А.

Ведущая организация: Одесский опытно-экспериментальный
консервный завод имени В.И. Ленина

Защита диссертации состоится "26" Апреля 1991г. в
13 часов на заседании специализированного совета Д 068.35.01
при Одесском технологическом институте пищевой промышленности
им. М.В. Ломоносова (270039, г. Одесса, ул. Свердлова, 112).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Одесского
технологического института пищевой промышленности им. М.В. Ло-
моносова.

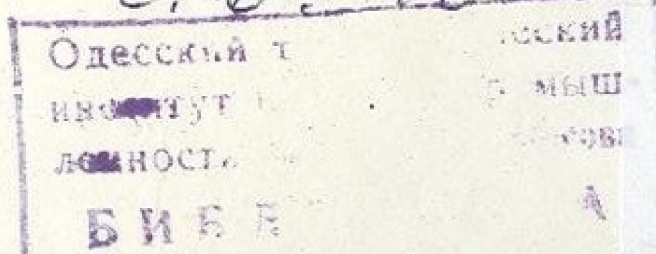
Автореферат разослан "26" марта 1991 г.

Ученый секретарь
специализированного совета
к.т.н., доцент

Б.В. Егоров

V 016868

~~016868~~



ОНАХТ

18.11.1

Использование вторич



v016868

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Одним из возможных путей использования отходов консервных заводов, выжимок плодово-ягодного сырья, образующихся в больших количествах при производстве сока, является выращивание дрожжей.

Для перевода питательных веществ выжимок в состояние, пригодное для утилизации дрожжами, необходимо перевести их в растворимое состояние методами кислотного или ферментативного гидролиза. В связи с известными недостатками методов кислотного гидролиза актуальной является разработка условий проведения ферментативного гидролиза выжимок. Ферментоллизаты выжимок могут служить наряду с соапстоком - отходом масло-жировой промышленности, в качестве дешевых источников углерода и азота при производстве микробных метаболитов, в частности, липидов. Известно, что дрожжи способны накапливать в клетках липиды, количество и фракционный состав которых изменяется в широких пределах в зависимости от штамма микроорганизма, условий роста и возраста культуры. Изучение возможности замены растительных масел липидами, полученными с помощью микроорганизмов, имеет большое практическое значение.

Поэтому поиск дешевых и полноценных питательных сред из отходов пищевой промышленности и разработка на их основе простых и эффективных способов биосинтеза липидов - актуальная задача.

Цель и задачи исследования. Цель исследования - разработка биотехнологии утилизации многотоннажных отходов консервного производства с целью получения заменителей растительных масел путем культивирования дрожжей.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие основные задачи исследования:

- исследовать химический состав плодово-ягодных отходов консервного производства;
- подобрать условия ферментоллиза выжимок и изучить химический состав ферментоллизатов;
- подобрать штаммы дрожжей - липидообразователей, способных усваивать, наряду с углеводами ферментоллизатов выжимок, высокомолекулярные жирные кислоты соапстока;
- экспериментально определить оптимальные условия культивирования дрожжей, обеспечивающие максимальное накопление липидов;
- изучить групповой и жирнокислотный состав липидов дрожжей в зависимости от условий культивирования;

- научно обосновать выбор экстрагентов для извлечения липидов;
- разработать технологию и технологическую схему рафинации дрожжевых липидов.

Научная новизна. Подобраны условия ферментализации выжимок плодово-ягодного сырья ферментным препаратом Пектофетидин П-10Х, изучен химический состав ферментализатов; показано, что основным моносахаридом является глюкоза.

Установлено, что лучшими из дрожжей-липидообразователей, способных в качестве источника углерода использовать жирные кислоты соапстока, являются штаммы *Lipolyces Starkeyi* Y-1414, *Cryptococcus terricolus* Y-2033, *Rhodotorula gracilis* Y-329 и *Rhodosporidium toruloides* Y-335.

Определено оптимальное время выращивания, соотношение азота и углерода, установлены области температур и pH, в пределах которых энергетический коэффициент липидообразования и выход биомассы практически не зависят от этих факторов. Размер и границы области зависят от специфических свойств каждой культуры. Полученные данные представляют большой интерес с технологической точки зрения, поскольку указывает область оптимальных параметров культивирования дрожжей.

Изучение группового состава липидов показало преобладание во всех случаях фракции триацилглицеринов, что свидетельствует о возможности их использования в качестве заменителей масел. Дрожжи *Cr. terricolus* Y-2033 и *Rh. toruloides* Y-335 синтезируют повышенное количество полярных липидов, в том числе фосфолипидов. В составе жирных кислот преобладает олеиновая кислота. При двухстадийном культивировании с использованием на второй стадии в качестве источника углерода жирных кислот соапстока значительно возрастает количество линолевой кислоты, повышается индекс ненасыщенности, и в тем большей степени, чем ниже соотношение азота и углерода.

В качестве экстрагентов липидов рекомендуется использование гексана при необходимости извлечения преимущественно нейтральных липидов и *n*-бутанола при комплексной переработке биомассы с целью получения фосфатидных концентратов и нейтральных липидов.

Достоверность полученных результатов подтверждена многочисленными анализами в трех и более повторностях и результатами математической обработки.

Практическая значимость работы. Разработана технология получения дрожжевых липидов, включающая стадию культивирования дрожжей

на ферментализатах выжимок и соапстоке, выделения липидов и рафинации масел.

Показана необходимость использования в качестве эмульгента липидов гексана или н-бутанола в зависимости от желаемого состава конечного продукта.

Определены оптимальные условия культивирования дрожжей, показана возможность их корректировки с целью получения продукта с заданными свойствами.

Ожидаемый экономический эффект от внедрения разработанной технологии получения дрожжевых масел составит 305...403 руб. на 1 т масла по сравнению с подсолнечным.

Апробация работы. Материалы исследований были доложены на Всесоюзной конференции "Лимитирование и ингибирование роста микроорганизмов" в г.Пушино, 2-й Всесоюзной научной конференции "Проблемы индустриализации общественного питания страны" в г.Харькове, областной межвузовской научно-практической конференции "Социально-экономические и научно-практические проблемы агропромышленного комплекса" в г.Одессе.

По материалам диссертации опубликовано 4 работы.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, трех глав, основных выводов, списка литературы и приложений, изложена на 168 страницах машинописного текста, содержит 26 рисунков и 24 таблицы. Список литературы включает 169 наименований, из них 30 иностранных авторов.

На защиту выносятся следующие основные положения:

- разработка условий ферментализа выжимок - отходов консервного производства;
- подбор штаммов дрожжей-липидообразователей и экспериментальные данные по определению оптимальных условий их культивирования;
- обоснование режимов двухстадийного культивирования дрожжей с использованием на второй стадии в качестве источников углерода высокомолекулярных жирных кислот соапстока;
- технология получения дрожжевых липидов.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Объект и методы исследования

Для определения выхода и характеристики биомассы и липидов исследовали методы анализов, основанные на принципах гравиметрии,

экстракции, тонкослойной и газожидкостной хроматографии, спектрофотометрии, описанные в специальной литературе (М. Кейтс, 1975; Малхасьян С.С. и др., 1982; Арутюнян Н.С. и др., 1986; Дедюхина Э.Г. и др., 1980; Безруков М.Г. и др., 1986; Мартовчук В.И. и др., 1986; Рахимов М.М. и др., 1982; Гусакова С.Д. и др., 1981) и в соответствующих стандартах.

Выращивание дрожжей вели методом одно- и двухстадийного культивирования с использованием на второй стадии в качестве источника углерода жирных кислот соапстока; соотношение азот-углерод устанавливали равным 1:15, 1:45, 1:60, 1:90; температура выращивания варьировала в пределах 20...30 °С, величина рН регулировалась в пределах 4,5...9,0; время культивирования, определенное методом симплекс-планирования эксперимента, составляло 84...108 часов.

Экспериментальные данные обрабатывали методами математической статистики согласно ГОСТ 8.207-76 "Прямые измерения с многократными наблюдениями. Методы обработки результатов наблюдения".

2.2. Результаты исследований

2.2.1. Ферментолизаты выжимок получали с помощью ферментного препарата Пектофоеитидина П 10Х при температуре 50 ± 10 °С; время ферментации 5...8 часов, рН 3,5...3,7.

Изучение химического состава ферментолизатов виноградных, абрикосовых и сливовых выжимок показало, что основную массу сухих веществ составляют углеводы, преимущественно глюкоза - продукт деструкции, главным образом, клетчатки. Наличие ксилозы, маннозы, арабинозы и уроновых кислот свидетельствует о биоконверсии пектиновых веществ и гемицеллюлоз. В ферментолізатах присутствует заметное количество фосфора и азота, являющихся необходимыми компонентами при выращивании микроорганизмов.

Исследованные образцы соапстоков, образующихся при нейтрализации подсолнечного масла, содержат жирные кислоты $C_{14} \dots C_{18}$ ряда нормального строения - преобладанием олеиновой, линолевой и пальмитиновой кислот.

В соответствии с имеющимися в литературе сведениями, данные субстраты могут использоваться в качестве источника углерода при культивировании дрожжей.

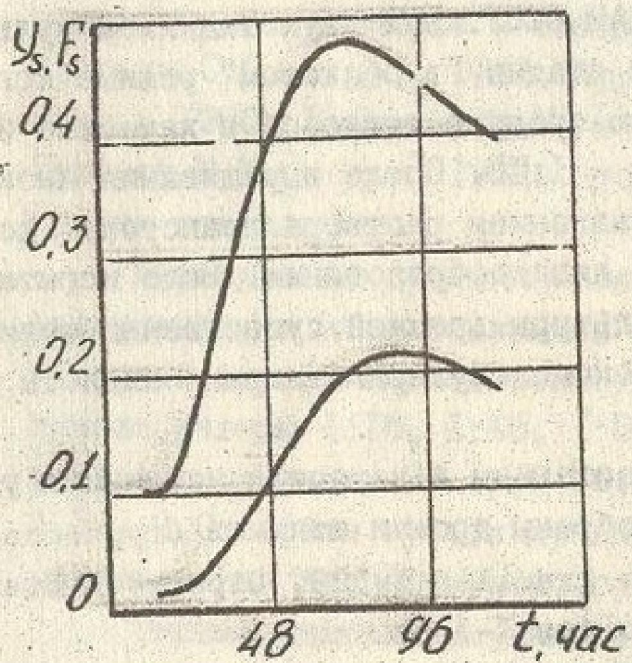
Выбор дрожжей - продуцентов липидов произведен среди представителей трех классов высших грибов: аскомицетов, базидомицетов и несовершенных грибов. Культуры дрожжей получены из от-

делг дрожжей Всесоюзной коллекции микроорганизмов Института физиологии и биохимии микроорганизмов АН СССР. При двухстадийном культивировании для проведения первой стадии "в белковом" режиме использовали синтетическую питательную среду с глюкозой в качестве источника углерода, соотношение N:C = 1:15. После выращивания инокулята это соотношение сдвигали добавлением раствора соапстока до 1:45, что интенсифицирует процесс липидообразования. Было испытано 35 штаммов дрожжей. Испытанные культуры дрожжей существенно отличаются по способности усваивать высокомолекулярные жирные кислоты соапстока.

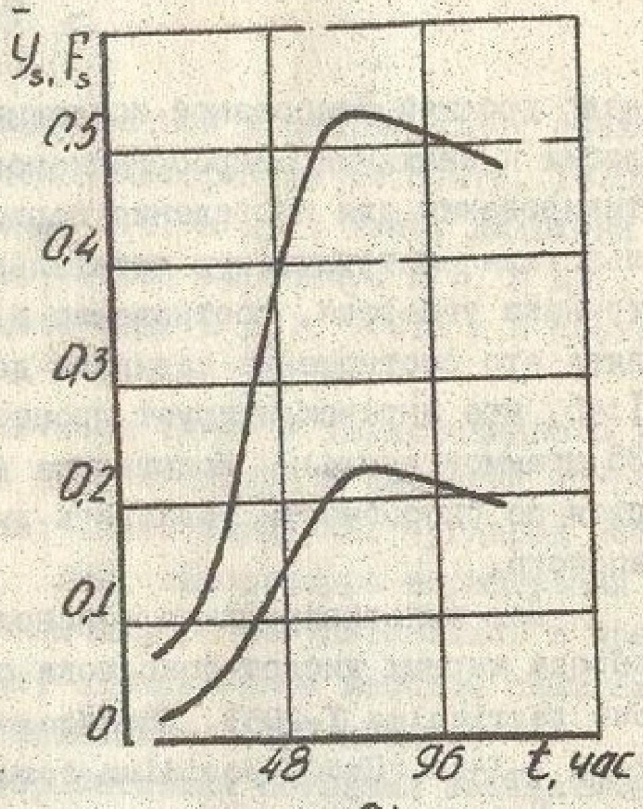
Для культивирования с использованием в качестве источника углерода жирных кислот соапстока отобраны дрожжи штаммов *Cryptococcus terricolus* Y-2033, *Rhodotorula gracilis* Y-329, *Lipomyces Starkeyi* Y-1414, *Rhodospiridium toruloides* Y-335.

Периодическое одностадийное культивирование дрожжей с использованием в качестве источника углерода ферментализатов жмыхов показало существование экспоненциального роста. В экспоненциальной фазе удельная скорость роста μ постоянна. Различия в значениях μ , определенные графическим способом по наклону линейного участка полулогарифмической зависимости концентрации биомассы от времени культивирования, в большей степени обусловлены различиями в способности различных штаммов дрожжей к утилизации редуцирующих веществ ферментализатов фруктовых жмыхов, чем происхождением источника углерода. Дрожжи *Cryptococcus terricolus* Y-2033 на первых стадиях выращивания накапливают значительно большее количество липидов, чем остальные. Выход по биомассе (Y_g) и по липидам (F_g) увеличивается в течение трех суток культивирования, что свидетельствует о параллельно проходящих процессах биосинтеза липидов и безлипидной массы дрожжами этого штамма. Максимальная эффективность биосинтеза липидов у других штаммов наблюдается через 84...96 часов культивирования, когда содержание безлипидной фракции стабилизируется. Способность к биосинтезу липидов на единицу использованного субстрата в это время увеличивается почти в два раза.

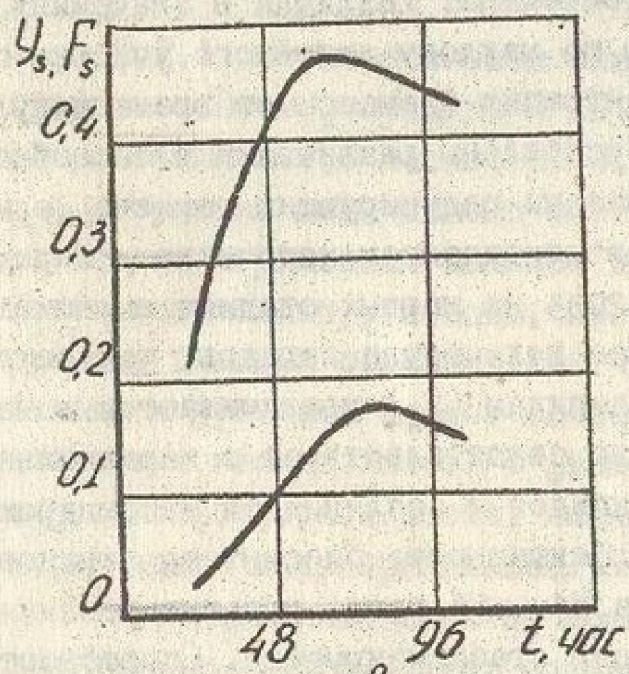
Если эффективность синтеза биомассы исследованных штаммов дрожжей различается значительно, то величина "жирового коэффициента" (F_g) в точке максимального накопления липидов колеблется в пределах 0,13...0,22, т.е. способность к биосинтезу липидов на единицу использованного субстрата (РВ ферментализатов жмыха) в условиях периодического культивирования различается почти в два раза (рис. I).



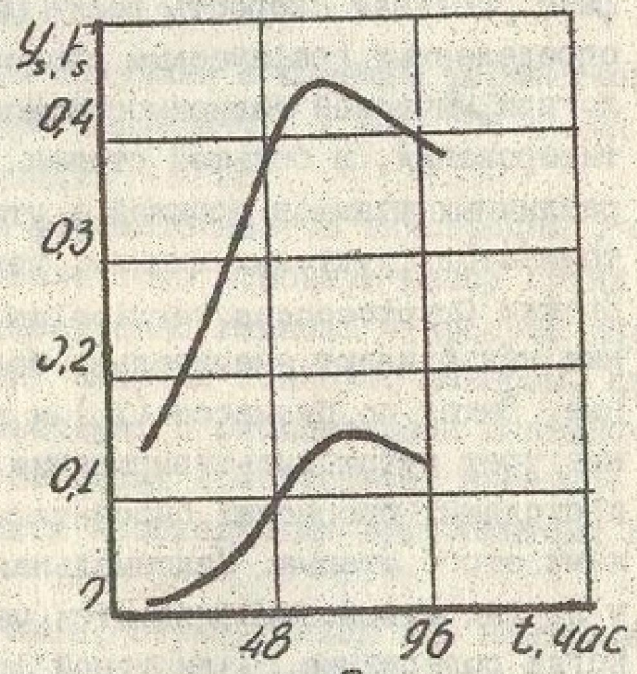
a



б



в



г

Рис. I. Эффективность синтеза липидов и биомассы в процессе роста дрожжей

- а - *L. Starkeyi* Y-1414;
- б - *Cr. terricolus* Y-2033;
- в - *Rh. toruloides* Y-335;
- г - *Rh. gracilis* Y-326.
- 1 - выход по биомассе (Y_s);
- 2 - выход по липидам (F_s).

Проведенные исследования свидетельствуют об эффективности использования в качестве источника углерода ферментализатов виноградных, сливовых и абрикосовых жмыхов.

При двухстадийном культивировании для проведения первой стадии использовали синтетическую среду с глюкозой в качестве источника углерода, а изменение соотношения N:C достигали добавлением соапстока. Поиск оптимальных условий культивирования проводили методом симплекс-планирования эксперимента по двум факторам: продолжительности культивирования и соотношению азота и углерода (N:C) при фиксированной температуре и pH.

Оптимальное соотношение N:C колеблется в пределах 1:45...1:60, время выращивания от 84 до 108 часов.

Температура культивирования и pH влияют на скорость клеточных реакций, природу метаболизма, состав и рост биомассы. Оптимизацию по этим параметрам проводили не только с целью биосинтеза максимального количества липидов, но и с целью получения продукта с заданными свойствами: с определенным интервалом значений критерия "условной ненасыщенности" (Ун), необходимым содержанием фракции триацилглицеринов (ТАГ) и фосфолипидов (ФЛ), максимальной экстрагируемостью.

Влияние различных температур и значения pH среды на величину энергетического коэффициента липидообразования представлено в табл. I. Из таблицы видно, что в некоторой области температур и pH энергетический коэффициент липидообразования и выход биомассы практически не зависят от этих факторов. Размер и границы области зависят от специфических свойств каждой культуры. Культивирование дрожжей при пониженной температуре приводит к росту индекса ненасыщенности жирных кислот, то есть к понижению точки плавления липидов; повышение pH среды приводит к такому же результату. Рост индекса ненасыщенности происходит преимущественно за счет снижения количества пальмитиновой кислоты и увеличения доли олеиновой и линолевой кислот. Варьируя условия выращивания дрожжей, можно до определенной степени управлять биосинтезом липидов. Поскольку на второй стадии культивирования выращивание дрожжей ведется в средах, в состав которых входят жирные кислоты соапстока, липиды этих дрожжей более близки к липидам растительного сырья, поступившего на маслозаводы, чем липиды дрожжей, которые в качестве источников углерода использовали углеводы. Введение соапстока в питательные среды в достаточной мере обеспечивает микроорганизм - продуцент источником углерода

Таблице 1

Влияние различных температур и значений pH среды на величину энергетического коэффициента липидообразования (η) при культивировании дрожжей (соотношение N:C = 1:45)

Температура, °C	pH						
	3	4	5	6	7	8	9
<i>Lipomyces Starkeyi</i> Y-1414							
15	-	0,31	0,35	0,35	0,33	0,29	0,20
20	0,25	0,40	0,42	0,43	0,42	0,33	0,24
25	0,27	0,45	0,46	0,46	0,45	0,35	0,30
30	0,30	0,45	0,45	0,45	0,43	0,35	0,29
35	0,24	0,36	0,30	0,31	0,30	0,24	0,21
<i>Rhodotorula gracilis</i> Y-329							
15	-	0,08	0,14	0,15	0,13	-	-
20	-	0,12	0,22	0,22	0,17	0,09	-
25	0,25	0,36	0,44	0,45	0,31	0,24	0,05
30	0,25	0,29	0,34	0,35	0,29	0,20	0,03
35	0,25	0,29	0,34	0,35	0,29	0,20	0,03
<i>Cryptococcus terricolus</i> Y-2033							
15	0,20	0,32	0,34	0,33	0,30	0,28	0,21
20	0,26	0,42	0,46	0,46	0,44	0,38	0,35
25	0,30	0,44	0,46	0,45	0,44	0,40	0,37
30	0,30	0,40	0,44	0,43	0,43	0,48	0,30
35	0,28	0,36	0,32	0,30	0,30	0,30	0,38
<i>Rhodospiridium toruloides</i> Y-335							
15	-	0,24	0,24	0,25	0,25	0,22	0,12
20	0,12	0,43	0,47	0,48	0,47	0,42	0,25
25	0,25	0,43	0,47	0,46	0,47	0,44	0,24
30	0,28	0,30	0,40	0,41	0,41	0,41	0,23
35	0,07	0,11	0,20	0,22	0,20	0,18	

и энергии при направленном биосинтезе липидов. При этом использование дешевого, доступного и достаточно эффективного сырья существенно понижает их себестоимость. В случае необходимости получения максимального количества нейтральных липидов, в том числе ТАГ, рекомендуются дрожжи *Liposuces Starkeyi* Y-1414 и *Rhodotorula gracilis* Y-326. Оптимальные условия культивирования: pH 5,5...7,0; температура 20...26 °C; соотношение N:C = 1:45...1:60. При этом получены масла с индексом ненасыщенности 0,90...0,94 в случае культивирования дрожжей штамма *Liposuces Starkeyi* Y-1414 и 1,07...1,12 в случае *Rhodotorula gracilis* Y-326. С целью максимального биосинтеза фосфолипидов, обладающих фармакологическими свойствами, можно использовать дрожжи штаммов *Cr. terricolus* Y-2033 и *Rh. toruloides* Y-335. Выращивание ведется при повышенном значении pH (>7), температуре 26 °C и соотношении N:C = 1:45.

В табл.2 приведены данные о липидной продуктивности дрожжей при двухстадийном глубинном культивировании с использованием в качестве источника углерода на первой стадии редуцирующих веществ ферментализатов виноградных выжимок, а на второй - жирных кислот соапстока.

Таблица 2

Липидная продуктивность дрожжей при двухстадийном
глубинном культивировании в оптимальных условиях

Штамм и условия культивирования	СЕМ, г/дм ³	Липиды, г/г СЕМ	У _с	Ф _с	Ун
I стадия					
<i>L. Starkeyi</i> Y-1414 pH 5,5; 25°C; N:C 1:45	8,6	0,26	0,38	0,10	0,97
<i>Rh. gracilis</i> Y-326 pH 5,5; 25°C; N:C 1:45	9,0	0,24	0,38	0,09	1,15
<i>Cr. terricolus</i> Y-2033 pH 7; 25°C; N:C 1:60	8,3	0,31	0,38	0,12	1,12
<i>Rh. toruloides</i> Y-335 pH 7; 25°C; N:C 1:45	8,0	0,38	0,40	0,11	1,11
2 стадия					
<i>L. Starkeyi</i> Y-1414 pH 5,5; 25°C; N:C 1:45	4,4	0,74	0,72	0,53	0,90
<i>Rh. gracilis</i> Y-326 pH 5,5; 25°C; N:C 1:45	6,8	0,82	0,70	0,57	1,09
<i>Cr. terricolus</i> Y-2033 pH 5,5; 25°C; N:C 1:60	5,0	0,72	0,74	0,53	1,00
<i>Rh. toruloides</i> Y-335 pH 7; 25°C; N:C 1:45	6,1	0,78	0,79	0,61	1,02

На первой стадии культивирования (белковый режим) накопление биомассы происходит более интенсивно, чем на второй. Однако на второй стадии резко увеличивается биосинтез липидов. Экономический коэффициент использования углеводов значительно ниже, чем использования высокомолекулярных жирных кислот, по-видимому, в силу того, что возможно прямое включение жирных кислот в состав липидов дрожжей без затрат дополнительной энергии на их деструкцию, в соответствии с этим на второй стадии биосинтеза значительно выше жировой коэффициент.

2.2.2. Разработка способов выделения липидов из биомассы дрожжей

Применение микробных липидов в качестве пищевого продукта требует помимо отделения их от других клеточных компонентов возможно более тщательной очистки для того, чтобы избежать возникновения токсичных полимерных продуктов в результате реакций между липидами и различными функциональными группами других соединений.

Отделение биомассы от культуральной жидкости проводили на мембранных установках с использованием листовых ацетатцеллюлозных мембран фирмы "Аликон" с размерами пор до 10 мкм. Выделение липидов из предварительно высушенных и разрушенных с помощью вибраторов фирмы "Хеман" в пилотных реакторах дрожжевых клеток проводили твердо-жидкостной экстракцией. Сравнительные данные экстракционной эффективности гексана и n-бутанола приведены в табл.3.

Таблица 3
Сравнение экстракционной эффективности гексана и n-бутанола

Штамм дрожжей	: Хлороформ: : метанол: 1:2	Гексан		n-Бутанол	
		липиды		липиды	
		% СВМ	% извлечения	% СВМ	% извлечения
<i>L. Starkeyi</i> Y-1414	40,6	32,8	80,8	39,9	98,2
<i>Rh. gracilis</i> Y-326	42,1	34,1	81,0	40,5	96,2
<i>Cr. terricolus</i> Y-2033	46,4	32,7	70,6	44,0	94,8
<i>Rh. toruloides</i> Y-339	56,4	41,2	73,0	54,1	95,9

Гексан, как вещество, имеющее низкую относительную плотность (ρ) и динамическую вязкость (η) наиболее легко и быстро должен проникать в капилляры клеточной массы. Однако сравнение значений электрических дипольных моментов (μ) гексана и воды показывает, что гексан не способен преодолеть силы гидратации комплексов липид-белок и разрушить их. Этот растворитель может извлекать преимущественно нейтральные свободные липиды.

н-Бутанол имеет большую вязкость (η), отличается большим поперечным натяжением и меньшей диэлектрической проницаемостью, чем другие спирты. Он имеет дипольный момент, близкий к μ воды, но ограниченно смешивается с ней. Это приводит к ускорению разрыва плазматической и внутриклеточной мембран и разрушению комплекса липид-белок. Поэтому при экстрагировании дрожжей н-бутанолом степень извлечения липидов выше. При этом извлекаются полярные липиды, в том числе фосфолипиды.

Таким образом, технологическая схема переработки дрожжей биомассы с целью получения липидов выбирается в зависимости от требований к конечному продукту. Если стоит задача получения нейтральных липидов, то целесообразно в качестве экстрагента использовать гексан; при комплексной переработке биомассы с целью получения ценных фосфатидных концентратов и нейтральных липидов в качестве экстрагента нужно применять н-бутанол или другие спирты.

Для разделения липидов на нейтральную фракцию и фракцию фосфолипидов проводили их гидратацию водой. Выделенные фосфолипиды содержали фосфатидилхолины (ФХ), фосфатидилинозитолы (ФИ), фосфатидилсерин, фосфатидилэтанолами, фосфатидилглицерин, фосфатидные кислоты и два класса неидентифицированных соединений. Массовая доля фосфолипидов, экстрагированных н-бутанолом из дрожжей штаммов *Rh. toruloides* Y-326 и *Cr. terricolus* Y-2033 (20...25%) на два порядка выше, чем в маслах растительного происхождения, что делает весьма перспективным использование биомассы исследованных штаммов дрожжей для получения фосфатидов.

С целью снижения содержания в масле свободных жирных кислот применяли щелочную нейтрализацию. Групповой состав и некоторые физико-химические свойства очищенных масел приведены в табл. 4. Как видно из таблицы, липиды дрожжей *L. Starkeyi* Y-1414 и *Rh. gracilis* Y-326 после очистки содержат более 90% триацилглицеринов (ТАГ), тогда как у липидов дрожжей *Rh. toruloides* Y-335 и особенно *Cr. terricolus* Y-2033 фракция ТАГ меньше в основном за счет значительного количества эфиров стерина и углеводов (ЭС + углеводороды).

При получении из них масел проводили дополнительную обработку холодом (температура 10...12 °С, время 4 часа при непрерывном перемешивании).

После отделения осадка центрифугированием содержание фракции ТАГ повысилось до 90,2 и 88,5 %, соответственно, а фракции ЭС + углеводороды понизилось до 1,2 и 1,4 % при незначительном изменении соотношения других фракций.

Таблица 4

Групповой состав и некоторые физико-химические свойства очищенных масел

Фракционный состав и физико-химические свойства	Штаммы дрожжей			
	L. Starkeyi Y-1414	Rh. toruloides Y-335	Rh. gracilis Y-326	Cr. terricolus Y-2033
ПОЛ + МГ, % от суммы липидов	0,12	0,32	0,17	0,40
ДАГ то же	4,12	0,71	1,24	2,85
С - " -	1,92	5,40	2,80	6,20
ЖК - " -	1,95	1,20	1,56	0,89
ТАГ - " -	91,93	85,47	90,03	79,06
ЭС + углеводороды - " -	0,96	6,9	2,15	10,6
Иодное число, % I ₂	73,7	82,9	85,4	70,9
Кислотное число, мг КОН/г	3,90	2,46	2,93	1,82

На основании проведенных исследований и выработанных режимов предложена принципиальная технологическая схема переработки отходов консервного производства биотехнологическим путем.

ВЫВОДЫ

1. Изучен химический состав фруктовых выжимок: виноградных, абрикосовых и сливовых отходов консервного производства; показана перспективность их применения для выращивания дрожжей - липидообразователей после перевода высокомолекулярных соединений в усвояемые для дрожжей формы с помощью ферментных препаратов.

2. Поиск лучших продуцентов липидов, произведенный среди представителей трех классов высших грибных микроорганизмов, показал перспективность использования для этих целей дрожжей штаммов L. Starkeyi Y-1414, Rh. gracilis Y-329, Cr. terricolus Y-2033, Rh. toruloides Y-335.

3. Использование в качестве источников углерода и энергии ферментолизатов фруктовых выжимок при культивировании дрожжей показало, что лучший результат достигнут при использовании ферментолизатов виноградных выжимок. При этом наибольшая удельная скорость роста наблюдается у дрожжей *Rh. gracilis* Y-329.

4. Изучено одновременное влияние pH и температуры культивирования на процесс выращивания дрожжей-липидообразователей. Определены размер и границы областей, зависящие от специфических свойств каждого штамма, в пределах которых энергетический коэффициент липидообразования и выход биомассы практически не зависят от этих факторов, тогда как за пределами этой области имеется резкое снижение выхода биомассы, а также энергетического коэффициента. Оптимальное соотношение азот-углерод колеблется в пределах 1:45...1:60.

5. Катаболическая активность дрожжей и групповой состав липидов в значительной мере обусловлены систематическим положением микроорганизма-продуцента липидов. Липиды штаммов *L. Starkeyi* Y-1414 и *Rh. gracilis* Y-326 характеризуются высоким содержанием триацилглицеринов (ТАГ) (до 79 %) при сравнительно низком количестве полярных липидов. Дрожжи штаммов *Cr. terricolus* Y-2033 и *Rh. toruloides* Y-355 при меньшей фракции ТАГ образуют примерно в два раза больше полярных липидов (около 20 %).

6. При двухстадийном культивировании с использованием на второй стадии выращивания соапстока возрастает количество линолевой кислоты и в тем большей степени, чем больше добавлено соапстока. Наиболее высокий индекс ненасыщенности (Ун) получен при соотношении N:C = 1:60. Культивирование дрожжей при более низкой температуре и более высокой pH (в пределах области их оптимальных значений) также повышает Ун. Варьируя условия выращивания дрожжей, можно до определенной степени управлять биосинтезом липидов, получая продукт с заданными свойствами.

7. Максимальное количество нейтральных липидов получено при культивировании дрожжей штаммов *L. Starkeyi* Y-1414 и *Rh. gracilis* Y-326 при температуре 20...26 °C, pH 5,5...7,0 и соотношении N:C = 1:60. Выращивание дрожжей штаммов *Cr. terricolus* Y-2033 и *Rh. toruloides* Y-355 с целью получения максимального количества фосфолипидов проводится при повышенной температуре (25...30 °C) и значении pH (около 7).

8. Липидная продуктивность дрожжей (F_s) на второй стадии выращивания (после добавления соапстока) в 5...6 раз выше, чем на первой.

9. Для промышленного получения дрожжевых масел на первой стадии выращивания рекомендуется использовать ферментолизаты (или гидролизаты) выжиго: - отходов консервного производства, а на второй стадии - соапсток.

10. Для извлечения нейтральных липидов из высушенной биомассы целесообразно использовать гексан. При комплексной переработке биомассы с получением фосфатидных концентратов и нейтральных липидов в качестве экстрагента рекомендуется использовать н-бутанол. Для более полного извлечения липидов производится дезинтеграция дрожжевых клеток или обработка ферментным препаратом в сочетании с дезинтеграцией.

11. Очистку (рафинацию) микробных масел можно проводить методами, принятыми в масло-жировой промышленности.

12. Ожидаемый экономический эффект при выработке 1 т микробного масла по сравнению с подсолнечным составляет 305...403 руб.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации:

1. В.Н.Голубев, Я.Б.Паулина, С.Белхаит. Оптимизация состава питательной среды при биосинтезе липидов дрожжами // Тезисы докладов Всесоюз. конф. "Лимитирование и ингибирование роста микроорганизмов". - Пушино, 1989. - С.22-23.
2. В.Н.Голубев, А.А.Колесник, Т.С.Белхаит. Биотехнология получения липидных веществ микробным синтезом на основе утилизации промышленных соапстоков // Тезисы докладов 2-й Всесоюз. научн. конф. "Проблемы индустриализации общественного питания страны". - Харьков, 1989. - С.247-248.
3. С.Белхаит, Я.Б.Паулина. Биосинтез липидов из вторичного сырья // Тезисы докладов областной межвузовской научно-практической конференции "Социально-экономические и научно-практические проблемы агропромышленного комплекса". - Одесса, 1989. - С.117.
4. В.Н.Голубев, С.Белхаит. Утилизация отходов пищевой промышленности микроорганизмами-жирообразователями // Пищевая промышленность. № 8, стр. 26 октябрь 1991.

