

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКА ДЕРЖАВНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

ДИШКАНТЮК Оксана Володимирівна

УДК 573.6 : 661.733.2 : 664.769

**БІОТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ
І ЇЇ СОЛЕЙ НА ОСНОВІ ВТОРИННИХ ПРОДУКТІВ
ПЕРЕРОБКИ ЗЕРНА**

Спеціальність 03.00.20 – біотехнологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук

1

Одеса - 2000

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Одеській державній академії харчових технологій,
Міністерство освіти і науки України

Науковий керівник: доктор технічних наук, професор
Капрельянц Леонід Вікторович,
Одеська державна академія харчових технологій,
завідуючий кафедрою біохімії та мікробіології

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор
Безусов Анатолій Тимофійович,
Одеська державна академія харчових технологій,
завідуючий кафедрою технології консервування;

кандидат хімічних наук, доцент
Юкало Володимир Глібович,
Тернопільський державний технічний університет ім. Івана

Пулюя,

завідуючий кафедрою харчової біотехнології і хімії.

Провідна установа: Український державний університет харчових технологій,
проблемна науково-дослідна лабораторія, Міністерство освіти і
науки України, м. Київ.

Захист відбудеться “ 25 ” _____січня_____ 2000 року о 11 годині на засіданні
спеціалізованої вченої ради Д 41.088.02 Одеської державної академії харчових технологій (65039,
м. Одеса, вул.

Канатна, 112).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеської державної академії харчових
технологій. Україна, м. Одеса, вул. Канатна, 112.

Автореферат розісланий “ 23 ” _____грудня_ 2000 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Віннікова Л.Г.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Новітні наукові розробки в галузі харчових технологій пов'язані зі створенням “здорових” продуктів харчування. Такі продукти повинні містити компоненти, що виявляють специфічну фізіологічну активність, яка доповнює їх сенсорні і поживні властивості. Ці продукти отримали назву фізіологічно - функціональних. Вони повинні містити в достатній кількості і збалансованому співвідношенні білки, жири, вуглеводи, набір макро- і мікроелементів, вітамінів та інших біологічно активних речовин.

Останнім часом велику увагу вчених привертають солі молочної кислоти - лактати магнію, кальцію, заліза, як джерела мінеральних елементів, що легко засвоюються організмом людини.

Треба відзначити, що поряд із високим засвоєнням, лактати володіють низкою функціональних властивостей. У той же час сама молочна кислота, володіючи бактерицидними, фунгіцидними, і рядом інших властивостей широко використовується в харчовій промисловості, зокрема консервній, м'ясній, молочній, кондитерській .

Водночас виробництво лактатів на Україні не організовано, а сама молочна кислота виробляється на основі цінної сировини – бурякового цукру. Тому розробка технології одержання цих продуктів мікробіологічним синтезом на основі дешевої і доступної сировини є актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота відповідає тематиці міжвузівської програми науково-дослідної роботи №31”Будова, склад, властивості і перетворення компонентів рослинної сировини як основи створення поліфункціональних добавок, збагачувачів і модулів для одержання продуктів з новими властивостями, які забезпечують продовольчу безпеку населення України”, затвердженої наказом Міністерства освіти України №271 від 15.08.96, зокрема, темі досліджень проблемної лабораторії Одеської державної академії харчових технологій 2/97-П “Розробка наукових основ і технології виробництва харчових речовин та функціональних продуктів харчування на основі біотехнологічних методів переробки рослинної сировини, біомаси мікроорганізмів та екзометаболітів” (№ держреєстрування 0197016054).

Мета і задачі досліджень. Метою роботи є розробка способу отримання молочної кислоти і її солей на основі вторинних продуктів переробки зерна.

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі задачі:

- провести скринінг культур молочнокислих бактерій - посиленних продуцентів молочної кислоти;
- розробити режими ферментативного гідролізу зернових мучок;
- на основі отриманих гідролізатів розробити середовище для біосинтезу молочної кислоти;
- вивчити особливості культивування молочнокислих бактерій на нових живильних середовищах;
- розробити технологічні основи одержання лактатів;
- створити біологічно-активну добавку на основі лактатів;
- вивчити технологічні основи застосування лактату кальцію в хлібопеченні;
- розробити проектну нормативно-технічну документацію;
- провести апробацію основних результатів досліджень у виробничих умовах.

Наукова новизна отриманих результатів. Показано, що з 15 досліджуваних штамів молочнокислих бактерій, перспективними у відношенні біосинтезу молочної кислоти є *Lactobacillus plantarum* K і *Lactobacillus acidophilus* 317/402, що пропонуються як продуценти цільового продукту. Запропоновано використовувати вторинні продукти переробки зерна – мучки: ячмінна, пшенична, вівсяна, та їх суміші, в якості субстрату для отримання молочної кислоти. Пропонується використовувати для гідролізу мучок та їх сумішей власні ферментні системи. Розроблені рецептури нових живильних середовищ і визначені умови культивування продуцента. Досліджена динаміка росту молочнокислих бактерій на гідролізатах зернових мучок. Вивчено кінетичні закономірності процесу ферментації і встановлена математична модель залежності біосинтетичної активності культур від концентрації глюкози.

Розроблено технологічні основи отримання лактатів кальцію, магнію і заліза.

Розроблено оригінальну біологічно - активну добавку на основі лактатів кальцію і заліза.

Показано можливість успішного використання лактату кальцію в технології хлібопечення.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі проведених експериментальних і теоретичних досліджень розроблена технологія виробництва молочної кислоти і її солей на основі вторинних продуктів переробки зерна. Запропонована технологія апробована на “Одеському підприємстві по виробництву бактерійних препаратів”. Отримані дані ввійшли в основу розроблених проектів нормативно-технічної документації на виробництво лактату кальцію, лактату заліза, лактату магнію.

Розроблено рецептуру і технологію виробництва хліба, збагаченого лактатом кальцію. Запропонована технологія апробована на ВАТ “Тулчинський хлібокомбінат”.

Особистий внесок здобувача складається в забезпеченні методичного оформлення роботи, участі у виконанні аналітичної й експериментальної роботи, аналізі й узагальненні отриманих даних, формуванні висновків і рекомендацій, підготуванні матеріалів досліджень до публікації, підготуванні заявки на винахід, розробці нормативно-технічної документації, промислової апробації розробленої технології. Особистий внесок здобувача підтверджується поданими документами і науковими публікаціями.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень повідомлені на наукових конференціях Одеської державної академії харчових технологій (Одеса 1999 р., 2000 р.), науково-практичній конференції “Хлібопродукти 2000” (Одеса 2000 р.), міжнародній конференції молодих учених “Хімія і біотехнологія харчових речовин. Екологічно безпечні технології на основі поновлюваних природних ресурсів” (Москва, 2000 р.), Другому Установчому Українському мікробіологічному з’їзді (Чернігів, 2000 р).

Публікації. Результати дисертації опубліковані в 6 наукових роботах, включаючи : одну статтю в науковому журналі, три статті в збірниках наукових праць, позитивне рішення на видачу патенту за заявкою, тезах доповіді на мікробіологічному з’їзді.

Структура і обсяг роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел і додатків. Повний обсяг дисертації (185 стор.) включає 26 рисунків (5 стор.), 43 таблиці (11 стор), 11 додатків (33 стор), список використаних джерел зі 162 найменувань (15 стор).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обгрунтовано актуальність дисертаційної роботи, сформульовано мету та задачі досліджень, показано наукову новизну, практичну цінність роботи, наведено відомості про особистий внесок здобувача, апробацію, структуру та обсяг роботи.

У першому розділі, що являє собою аналітичний огляд літератури, наводяться фізико-хімічні характеристики молочної кислоти та її солей, показано галузі їх використання. Проаналізовані сучасні тенденції розвитку технології виробництва молочної кислоти та лактатів мікробіологічним способом. Наведено дані про види субстратів і молочнокислих бактерій, що використовуються для біосинтезу молочної кислоти в Україні та за кордоном.

Наведено сучасні уявлення про роль та засвоєння молочної кислоти і її солей організмом людини.

Узагальнюючи дані про стан виробництва молочної кислоти та її солей в Україні, можна зробити висновок про доцільність розробки економічно ефективної технології виробництва молочної кислоти та її солей – джерел добре засвоюваних організмом людини мінеральних елементів.

У другому розділі “Матеріали та методи досліджень” надаються науково-методичні основи проведення досліджень, експериментальна база та об’єкти дослідження. Розроблено програму проведення досліджень (рис. 1). Як біологічні агенти дослідження вибрані гомоферментативні молочнокислі бактерії колекції кафедри біохімії та мікробіології ОДАХТ та виділені з житніх заквасок та заквасок для сиру. Як об’єкти досліджень також використані зернові мучки – вівсяна, ячмінна, пшенична з зерна урожаїв 1998-1999 р, (одержані на Новоукраїнському комбінаті хлібопродуктів), їх власні ферментні системи, а також амілолітичні ферментні препарати (амілосуб-тилінГ10Х, амілоризин П 10 Х), ячмінний солод.

Основну частину досліджень проведено в лабораторіях кафедри біохімії та мікробіології ОДАХТ ; окремі дослідження було виконано на Центральній санітарно-епідеміологічній станції водного транспорту України.

В роботі використано загальновідомі та спеціальні методи, серед яких такі сучасні методи, як атомно-емісійна спектроскопія (мікро- та макроелементи), високоефективна рідинна хроматографія, аналізатор амінокислот.

Мікробіологічні та біотехнологічні дослідження здійснювали у відповідності з загальними вимогами до проведення мікробіологічного аналізу та за загальноприйнятими методиками. Ідентифікація культур здійснена за визначником Bergey.

Результати досліджень обробляли методами математичної статистики. Розрахунки проводили на EOM IBM PC AT в середовищі програмного продукту STATISTICA® 5.XX for Windows (StatSoft Inc., США).

В третьому розділі “Дослідження біосинтетичної активності лактобацил” представлені результати дослідження активності кислотоутворення 15 штамів лактобацил при використанні середовищ різноманітного походження: капустяне середовище, сироватка та їх суміші. Найбільшою активністю кислотоутворення характеризувались культури *Lactobacillus plantarum* K,

Lactobacillus acidophilus 317/402, *Lactobacillus bulgaricus* 350, які і були використані в ході подальших досліджень.

Досліджуючи активність кислотоутворення штамів *L. plantarum* K, *L. acidophilus* 317/402, *L. bulgaricus* 350 та їх комбінацій на середовищах різного походження, встановлено, що сумісне культивування культур *L. plantarum* K та *L. acidophilus* 317/402 приводить до посилення росту та кислотоутворення. Причому таке явище спостерігається тільки на середовищах рослинного походження. При проведенні такого ж експерименту на сироватці, інтенсифікації кислотоутворення ми не спостерігали. Отримані результати дозволяють зробити припущення, що ефект посилення активності кислотоутворення при сумісному культивуванні культур *L. plantarum* K, *L. acidophilus* 317/402 пов'язаний скоріш за все з хімічним складом середовища і підтверджує той факт, що молочнокислі бактерії є типовими суловими культурами і не розвиваються на синтетичному середовищі. При дослідженні активності біосинтезу нецільові органічні кислоти виявлені не були. Основним продуктом ферментації була молочна кислота.

Встановлено, що вищеназвані штами в найбільшій мірі зброжують глюкозу. Це можна пояснити тим, що глюкоза є основним субстратом процесу гліколізу, який лежить в основі молочнокислого бродіння, і для включення в цей процес дисахаридів: лактози, мальтози, сахарози, мікроорганізмам необхідні ферменти, які б розщепляли дисахариди до моносахаридів. І, очевидно, що збродження дисахаридів лактобактеріями в значній мірі залежить від наявності та активності вказаних ферментів. Слід відмітити, що досліджувані культури достатньо активно використовують мальтозу в якості єдиного джерела вуглеводів.

Досліджуючи кінетичні параметри переходу культур в стаціонарний стан при різних концентраціях глюкози, визначали біосинтетичну здатність клітин в стаціонарному стані та економічні коефіцієнти анаболізму. Встановлено, що величина, яка характеризує біосинтетичну активність культури найбільша при концентрації глюкози 80 г/л, але більш повно утилізується глюкоза при її початковій концентрації в середовищі – 40 г/л. Подальше збільшення концентрації глюкози до 150 г/л веде до зниження концентрації молочної кислоти, що очевидно пов'язано зі збільшенням осмотичного тиску глюкози порівняно з її значенням в клітині і негативним впливом цього фактору на біосинтетичну активність клітин.

Показано, що підтримання рН середовища в процесі бродіння на рівні 5,5 сприяє найбільшому накопиченню молочної кислоти.

В четвертому розділі “Розробка живильного середовища на основі ферментолізатів зернових мучок для культивування молочнокислих бактерій” зроблено аналіз хімічного складу зернових мучок, який показав можливість використання останніх та їх сумішей в якості вуглеводного субстрату для біосинтезу молочної кислоти лактобацилами, так як містять практично всі необхідні для їхнього росту речовини. Використання сумішей мучок мотивоване тим, що дає змогу збалансувати хімічний склад за сахарами та вітамінами. Так суміш ячмінної та пшеничної мучок (1: 1) має більшу концентрацію засвоюваних вуглеводів (41,2%), порівняно зі значенням в пшеничній мучці (27%). З іншої сторони, пшенична мучка збагачує суміш кальцієм та фосфором, так як має їх у більшій кількості, чим ячмінна мучка. Більш високий вміст вітаміну В₂ у пшеничної мучки (92,5 мкг/г) у порівнянні з ячмінною (51,8 мкг/г) поряд з більш високим вмістом вітаміну В₁ у ячмінної мучки (56,0 мкг/г), порівняно з 35,1 мкг/г у пшеничної, показує доцільність

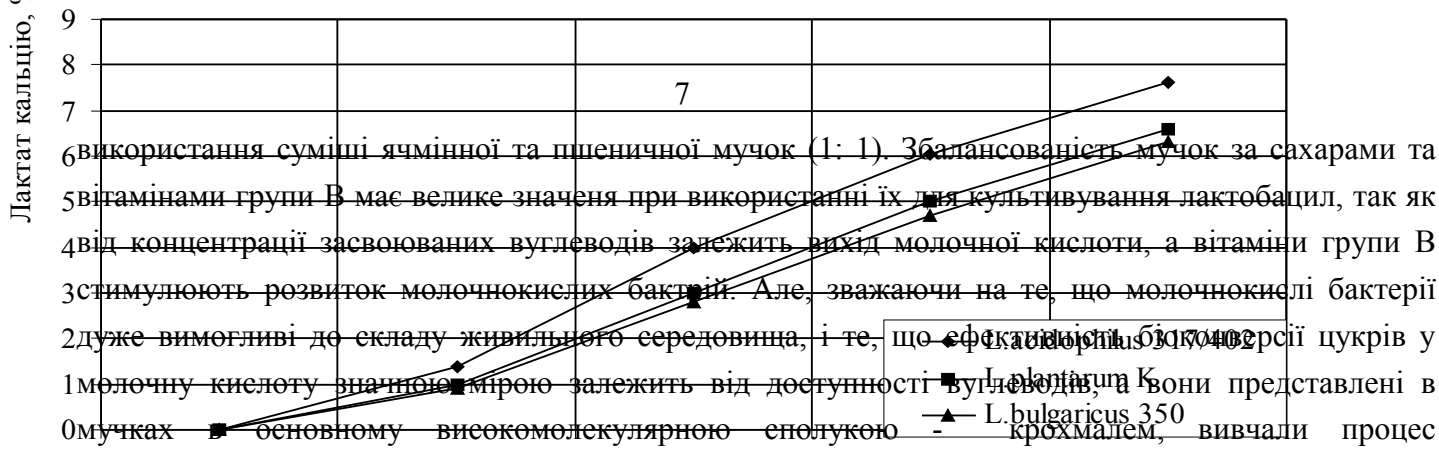


Рис. 2. Динаміка накопичення лактату кальцію на ферментолізаті суміші ячмінної та пшеничної

використання суміші ячмінної та пшеничної мучок (1: 1). Збалансованість мучок за сахарами та вітамінами групи В має велике значення при використанні їх для культивування лактобацил, так як від концентрації засвоєваних вуглеводів залежить вихід молочної кислоти, а вітаміни групи В стимулюють розвиток молочнокислих бактерій. Але, зважаючи на те, що молочнокислі бактерії дуже вимогливі до складу живильного середовища, і те, що ефективність біоконверсії цукрів у молочну кислоту значною мірою залежить від доступності вуглеводів, вони представлені в мучках основному високомолекулярною сполукою крохмалем, вивчали процес ферментативного гідролізу крохмалу зернових мучок та їх сумішей власними ферментними системами та амілазами : амілосубтиліном Г10Х, амілоризинном П10Х та ячмінним солодом.

Дослідження амілолітичної активності власних ферментних систем мучок показали, що вона в середньому складає 8 – 10 од АС. До того слід додати, що ферментні системи мучок володіють також і целюлолітичною та протеолітичною активністю, тому при використанні в процесі гідролізу власних ферментних систем, ферментолізати збагачуються додатковими продуктами, що позитивно впливає на подальший процес біосинтезу молочної кислоти. Дослідженнями встановлено, що при гідролізі суміші пшеничної та ячмінної мучок з використанням на першому етапі гідролізу власних ферментних систем, ефективним є використання технологічного режиму з трьома температурними паузами по 25 хв : при 40 – 45°С – для дії целюлолітичних ферментів, при 60°С – для рівномірної клейстеризації і дії β – амілази і при 70°С – для дії α – амілази, гідромодуль - 1:5, концентрація ферменту – 0,8од АС/г, рН середовища – 6,0. Вказаний температурний режим дозволяє зменшити в'язкість суспензії і тим самим забезпечує більш ефективне використання власних ферментних систем мучок.

В ході досліджень встановлено, що процес гідролізу на першій стадії можна проводити без додавання ферментного препарату. Це дозволить скоротити питомі витрати останнього на 15 – 20% у порівнянні з традиційними технологіями.

Досліджені процеси культивування молочнокислих бактерій на зернових гідролізатах, зокрема здатність культур зброджувати гідролізати крохмалю зернових мучок та динаміка росту лактобацил на зернових ферментолізатах.

При дослідженні динаміки накопичення лактату кальцію (рис. 2) і динаміки росту 7 лактобацил (рис. 3) на гідролізатах крохмалевмісної сировини встановлено, що найбільш інтенсивно утилізує гідролізати зернових ацидофільна паличка. Лаг-фаза *L. acidophilus* 317/402, *L. plantarum* K, *L. bulgaricus* 350 склала 4 години, експонентна фаза *L. acidophilus* 317/402 – 9год, *L. plantarum* K, – 6год, *L. bulgaricus* – 8год .

$$\mu_1 = 2,3 \cdot (\lg 5,0 - \lg 0,9) / (9-4) = 0,343 \text{ год}^{-1}; \mu_2 = 2,3 \cdot (\lg 4,9 - \lg 0,7) / (10-4) = 0,324 \text{ год}^{-1};$$

$$\mu_3 = 2,3 \cdot (\lg 4,3 - \lg 0,5) / (12-4) = 0,343 \text{ год}^{-1}$$

де μ_1, μ_2, μ_3 - питомі швидкості росту *L. acidophilus* 317/402, *L. plantarum* K, *L. bulgaricus* 350 відповідно.

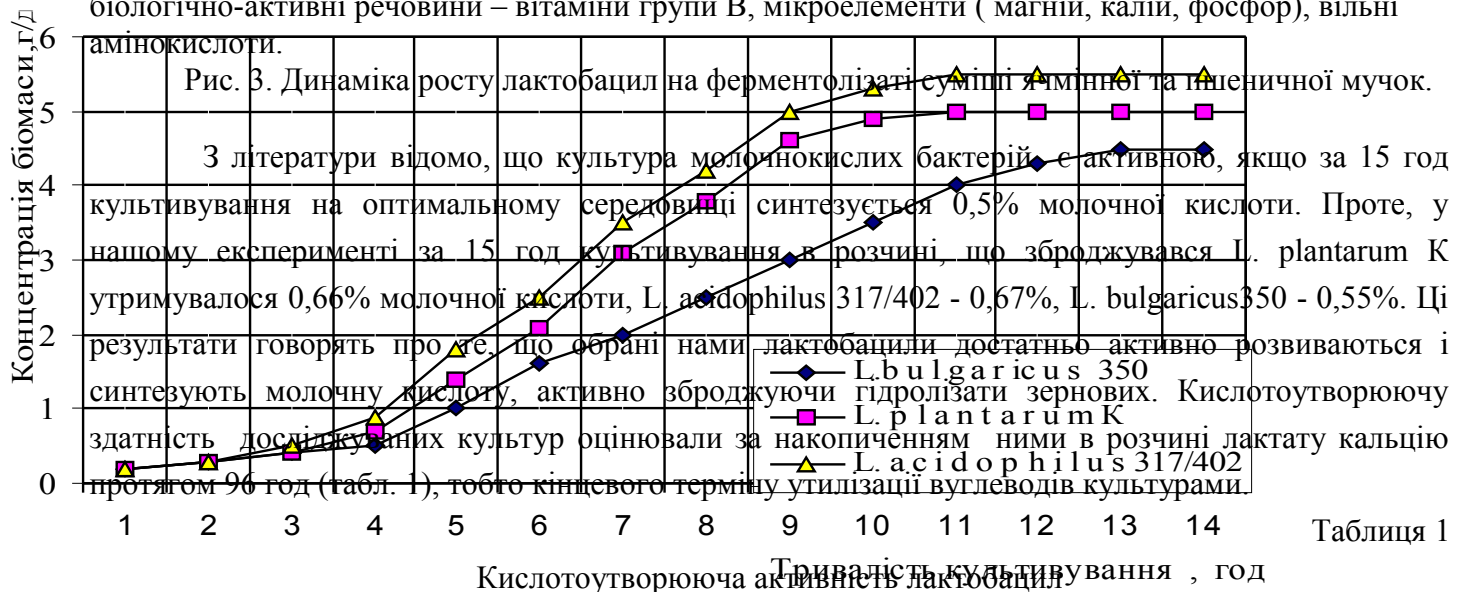
Час генерації *L. acidophilus* 350, *L. plantarum* K, *L. bulgaricus* 350 (g_1, g_2, g_3) відповідно складає

$$g_1 = 0,693 / 0,343 = 2,02 \text{ год}; g_2 = 0,693 / 0,324 = 2,139 \text{ год}; g_3 = 0,693 / 0,269 = 2,576 \text{ год}$$

Рис. 2. Динаміка накопичення лактату кальцію на ферментолізаті суміші ячмінної та пшеничної

мучок.

Звертає на себе увагу те, що рівень синтезу молочної кислоти всіма культурами був найбільшим на ферментолізатах, отриманих з допомогою ячмінного солоду. Це можна пояснити тим, що солод являє собою поліферментний препарат і побічні продукти гідролізу мучок містять крім вуглеводів і інші речовини, стимулюючи розвиток молочнокислих бактерій і біосинтез молочної кислоти ними. Ферментний комплекс солоду включає: амілолітичні ферменти (α – амілазу, β – амілазу, α -глюкозидазу, пулуназу, насичену декстриназу), β – фруктофуранозидазу, целюлолітичні ферменти (ендо – і екзо – глюканази, целобіазу), геміцелюлази (ендо – β – 1,3 – глюканазу, ендо – і екзо – ксиланази, ксилобіазу, арабінозидазу), протеази ендо – та екзо – типів, ліпази, фосфатази, окислювально – відновні ферменти (каталазу, пероксидазу, о-дифенолоксидазу). Солод містить речовини, необхідні для життєдіяльності молочнокислих бактерій, серед яких можна виділити біологічно-активні речовини – вітаміни групи В, мікроелементи (магній, калій, фосфор), вільні



Штам лактобацил	Вміст лактату, %	Активність кислотоутворення, г/л год
<i>L. acidophilus</i> 317/402	76,3	0,65
<i>L. bulgaricus</i> 350	65,9	0,57
<i>L. plantarum</i> К	63,0	0,54

При визначенні оптичної форми молочної кислоти, синтезованої вказаними штамми, ензиматичним методом встановлено, що *L. plantarum* К синтезує L(+) – молочну кислоту, яка на відміну від D (-) – форми не здійснює негативного впливу на організм людини. Культура *L. acidophilus* 317/402 синтезує оптично недіяльну молочну кислоту.

Проведено оптимізацію складу живильного середовища. Показано (табл. 2), що в найбільшій мірі стимулюють біосинтетичну активність лактобацил сульфат марганцю, гідрофосфат калію, цитрат амонію. Концентрацію цих складових було закладено як вхідні параметри при оптимізації живильного середовища.

Не спостерігали збільшення активності лактобацил при додаванні ячмінних ростків та дріжджового автолізату. Очевидно це пов'язано з тим, що гідролізати зернових мучок самі по собі багаті ростовими речовинами і додаткове введення вітамінів та вільних амінокислот, джерелами яких є дріжджовий екстракт та ячмінні ростки, не має великого значення.

Таблиця 2

Стимуляція біосинтетичної активності лактобацил

Добавка	Концентрація	Середньодобове накопичення	Кількість
---------	--------------	----------------------------	-----------

	добавки, мг/мл	молочної кислоти, %	клітин
Контроль	-	0,66	$1,88 \times 10^7$
Пептон	10	0,96	$3,75 \times 10^7$
Ячмінні ростки	1,5	0,66	$4,13 \times 10^7$
Дріжджевий автолізат	50 мл	0,66	$6,75 \times 10^7$
Цитрат амонію	2	0,95	$6,00 \times 10^7$
Гідрофосфат калію	2	0,86	$1,88 \times 10^7$
Ацетат натрію	5	1,00	$1,13 \times 10^8$
Сульфат марганцю	0,05	1,10	$3,11 \times 10^8$

Стимулюючий ефект сульфату марганцю, гідрофосфату калію та цитрату амонію можна пояснити активізуючою дією вищевказаних солей на комплекс ферментів гліколізу. Зокрема іони марганцю необхідні для ферменту фосфогліцераткінази, фосфопіруватгідратази, піруваткінази. Остання потребує для проявлення своєї активності іонів калію. Солі фосфорної кислоти необхідні для утворення АТФ, яка забезпечує енергетичний баланс циклу гліколізу. Цитрати підтримують буферність середовища.

Концентрації мінеральних солей, забезпечуючих максимальний вихід лактату кальцію, слідує: сульфат марганцю - 0,005%, гідрофосфат калію - 0,3%, цитрат амонію - 2,8%.

При культивуванні культури *L. acidophilus* 317/402 на гідролізатах мучок вихід молочної кислоти збільшується до 12 – 14% у порівнянні з існуючою технологією одержання молочної кислоти на Україні (Технологічна інструкція по виробництву молочної кислоти, 1983).

В п'ятому розділі “Технологія отримання молочної кислоти та її солей” наведено технологічну та процесно-апаратурну схеми виробництва харчової молочної кислоти та лактатів кальцію, заліза, магнію, цинку, описання технологічних процесів отримання молочної кислоти та лактатів, схему технохімічного контролю, відомості про виробничу апробацію розробленої технології.

Технологічний процес виробництва молочної кислоти і лактату кальцію включає велику кількість стадій, проте уявляється, що з позицій впливу на властивості готового продукту його можна розділити на такі етапи: одержання субстрату для молочнокислого бродіння шляхом ферментативного гідролізу зернових мучок; підготування посівного матеріалу, отримання лактату кальцію; отримання молочної кислоти із кристалічного лактату кальцію.

На рис.4 . наведена комплексна апаратурно- технічна схема отримання молочної кислоти та лактату кальцію, що включає вищеперечислені стадії. Одержання субстрату передбачає гідроліз суміші ячмінної та пшеничної мучок(1:1), який протікає в два етапи. Оригінальним в даній технології є те, що вона передбачає використання на першому етапі гідролізу власної ферментної системи мучок. Технологічний режим на цьому етапі має три температурні паузи по 25 хв : при 40 – 45°C – для дії целюлолітичних ферментів, при 60°C – для рівномірної клейстеризації і дії β – амілази і при 70°C – для дії α – амілази.

На другий стадії добавляють амілосубтилін Г10Х чи амілоризин П10Х концентрацією 0,8 од. АС /г і проводять гідроліз на протязі 180 хв; або солод у кількості 18% і проводять оцукрювання на протязі 140 хв при температурі 65 °С і рН= 6,0.

Середовище для культивування молочнокислих бактерій готують на основі водорозчинної фракції отриманих гідролізатів та добавки мінеральних солей, які підвищують вихід молочної кислоти.

В середовище, що призначене для культивування, вносять 15 –20 % закваски з маточника. Кожні 6 год в ферментер додають крейдове молоко для підтримання вмісту вільної кислоти в суслі в процесі бродіння не більше 0,6%. Після закінчення процесу бродіння сусло нейтралізується так, щоб вміст молочної кислоти в ньому рівнявся 0,1%. Потім сусло фільтрується, змішується з активованим вугіллям, знову фільтрується і направляється на кристалізацію. Лактат кальцію кристалізується на протязі 10...15 год за температури 10..15°C і центрифугується для відділення кристалів. Кристали лактату кальцію висушують та фасують. Для одержання молочної кислоти використовують неочищений лактат кальцію, що отримують в результаті упарювання звільненого від білків і освітленого середовища перед кристалізацією. Концентрований лактат кальцію змішують з сірчаною кислотою до кислої реакції та через вакуум-фільтр видаляють з розчину осадок сульфата кальцію. Молочну кислоту концентрують в вакуум-випарному апараті до концентрації 42..50% та фасують.

Відповідно до розробленої нами технології, одержання лактату цинку передбачає наступні операції: змішування лактату цинку та лактату кальцію на протязі 2 год за температури 95 - 98°C, фільтрування, очищення активованим вугіллям, фільтрування, кристалізацію за температури 10 – 15 °C на протязі 10 – 12 год, потім центрифугування при 3000g 20 хв для відділення кристалів. Кристали промиваються і висушуються в тунельній сушарці за температури сушильного агента 60° C на протязі 2 год, потім фасуються і упаковуються .

Одержання лактату магнію здійснюється в такий спосіб.

50%- молочна кислота і карбонат магнію через дозатори, подаються в змішувач, оснащений паровою сорочкою і мішалкою. Перемішування здійснюється 20 хв. при температури 40°C. Розчин пропускається через фільтр - прес у чисту ємкість і добавляють до розчину активне вугілля , суміш старанно перемішується і відстоюється. Прозора відстоюана рідина пропускається через фільтр-прес і подається в кристалізатор, де відбувається кристалізація лактату магнію протягом 10 год за температури 10-12°C. Кристали центрифугують при 3000g 20 хв, промивають і висушують у тунельній сушарці за температури сушильного агента 60°C, потім фасують і упаковують Лактат заліза одержують за аналогічною схемою, змішуючи розчини хлориду заліза (2) і лактату кальцію.

Розроблені технології виробництва, відповідні технологічні режими на окремих операціях, виконання технохімічного контролю виробництва опробувані при виробництві харчової молочної кислоти, лактату кальцію, лактату заліза на “Одеському підприємстві по виробництву бактерійних препаратів”. Отримана молочна кислота мала наступні характеристики : масова доля загальної молочної кислоти – 40%, прямо титруєма молочна кислота – 39%, ангідриди – 1%, кольоровість – 5,5°, масова доля золи – 0,5%, масова доля редукуючих речовин – 0,5%. Всі отримані продукти відповідали токсикологічним, мікробіологічним вимогам, що висуваються до харчових добавок та сировини. Розрахована собівартість отриманої молочної кислоти складає 2,10 грн/кг у цінах 2000р. Собівартість молочної кислоти, що виробляється на заводі молочної кислоти складає 2,60 грн/кг.

Досліджені фізико-хімічні характеристики лактатів, зокрема розчинність. З експериментальних даних очевидно, що розчинність лактатів зростає зі збільшенням температури. Потрібно відзначити, що всі лактати утворювали стійко пересичені розчини.

Наведені результати експериментів по збагаченню лактатом кальцію хлібобулочних виробів, розроблена біологічно активна добавка на основі лактатів.

Нами розроблений препарат “Мінелакт”, у його склад входять лактат кальцію, лактат магнію, вітамін В₆, цукрозамінники - цикламат і сахарин.

Одна таблетка містить 1088 мг лактату кальцію і 614,815 мг лактату магнію, що забезпечує співвідношення кальцію і магнію в препараті 1:0,5. Це співвідношення є оптимальним для

Рис. 4. Процесно – апаратурна схема отримання молочної кислоти та лактату кальцію

1–просіювач; 2 – ваги автоматичні; 3 – розвідний чан; 4,16,26 – змішувач; 5, 6, 15 – ферментер; 7 – центрифуга; 8 – збірник-стерилізатор; 9,10,11 – засівна культура; 12,13,14 – дозатори мінеральних солей; 17,18 – вакуум-фільтр; 19 – кристалізатор; 20,27 – вакуум-випарний апарат; 22 – центрифуга; 23 –тунельна сушарка; 24 – фасувальний апарат; 25 – коробки.

Склад біологічно- активної добавки “МінеЛакт”

Компоненти	Добова доза, мг	Вміст в одній таблетці, мг
Лактат кальцію	4352	1088
Лактат магнію	2459,26	614,815
Пиридоксина гідрохлорид (В ₆)	2,0	0,5
Холекальциферол (Д ₃)	0,2	0,05
Замінник	100	25

засвоєння людським організмом. До складу добавки входять холекальциферол та пиридоксина гідрохлорид, які сприяють засвоєнню кальцію та магнію.

Чотири таблетки препарату дозволяють цілком задовольнити добову потребу організму в кальції і магнії. Вітамін В₆ сприяє асиміляції магнію. Підсолоджувачі надають приємний смак препарату.

З метою збагачення хлібу кальцієм, вивчали вплив лактату кальцію на процес тістоведення і якість пшеничного хліба (табл 4). Додавання лактату кальцію призводить до деякого поліпшення ступеня цілісності структурно-механічних властивостей м'якушки хліба в процесі збереження на фоні більш високого загального їхнього рівня в хліба з добавкою лактату кальцію. Особливо добре це помітно в зразку з добавкою 0,5% лактату кальцію.

При цьому в результаті пластифікації тіста лактатом кальцію поліпшуються показники якості хліба. Згідно з отриманими даними найкращими показниками якості володіли зразки з добавкою 0,5 - 0,75% лактату кальцію.

Таблиця 4

Вплив лактату кальцію на якість пшеничного хлібу

Показники	Витрати лактату кальцію, %				
	0	0,25	0,50	0,75	1,0
Питомий об'єм, см ³ /г	2,86	3,47	3,86	4,18	4,12
Вологість, %	43,2	43,0	43,1	43,2	43,0
Кислотність, °Н	3,1	3,1	3,2	3,1	3,2
Пористість, %	74	80	83	82	81
Формостійкість, Н/Д	0,46	0,49	0,54	0,47	0,47

13

На основі експериментальних досліджень розроблений проект технологічних рекомендацій по застосуванню лактату кальцію при виробництві виробів із сортового пшеничного борошна. Запропонований спосіб використання лактату кальцію апробований на ВАТ “Тульчинський хлібокомбінат” при виробітку хлібу “Здоров'я” з борошна вищого сорту. Виробничі іспити підтвердили результати лабораторних досліджень. У результаті проведених досліджень була відпрацьована рецептура хлібу “Здоров'я” з борошна вищого сорту. Подані на дегустацію зразки виробів мали гарний зовнішній вигляд, ясно-коричневого кольору шкоринку, добре роз-пушену м'якушку з дрібною рівномірною тонкостінною пористістю, властивою виробам, смак і пахощі без стороннього присмаку і запаху.

ВИСНОВКИ

Виконана робота є довершеною науковою працею, в якій на основі проведених досліджень розроблено ефективну технологію отримання молочної кислоти та її солей на основі вторинних продуктів переробки зерна.

1. Проведено дослідження 15 штамів молочнокислих бактерій. Встановлено, що найбільш високою кислотоутворюючою активністю володіють штами *L. plantarum* К, *L. acidophilus* 317/402, *L. bulgaricus* 350, тому для подальших дослідів використали саме ці штами. Показано, що ці штами в найбільшій мірі зброджують глюкозу, але також достатньо активно використовують як джерело вуглеводів. Експериментальними дослідженнями показано, що процес молочнокислого зброджування варто проводити за таких умов: кількість засівної культури 15 -20 %; рН середовища -5,5; концентрація глюкози - 40 г/л.

2. Аналіз хімічного складу зернових мучок показав можливість застосування їх у якості вуглеводного субстрату для біосинтезу молочної кислоти лактобацилами. Показано доцільність використання суміші ячмінної та пшеничної мучок, яка є більш збалансованою за сахарами та вітамінами група В, порівняно з вихідними мучками. Вивчено процес ферментативної біоконверсії полісахаридів зернових мучок та їх сумішей власними ферментними системами та амілазами : амілосубтиліном Г10Х, амілоризином П10Х та ячмінним солодом.

Оптимальні умови ферментативного гідролізу суміші ячмінної та пшеничної мучок (1:1) амілосубтиліном Г10Х та амілоризином П10Х: тривалість 1 етапу гідролізу - 75 хв., другого етапу – 160 хв. Технологічний режим на 1 етапі гідролізу власними ферментними системами має три температурні паузи по 25 хв : при 40 – 45°C – для дії целюлолітичних ферментів, при 60°C – для рівномірної клейстеризації і дії β – амілази і при 70°C – для дії α – амілази, гідромодуль - 1:5, концентрація ферменту – 0,8од АС/г, рН середовища – 6,0;

Оптимальні умови ферментативного гідролізу ячмінної мучки ячмінним солодом: гідромодуль -1:5, кількість солоду, внесена на стадії оцукрювання - 18%, тривалість розрідження - 15 хв, тривалість оцукрювання -140 хв, температура-65°C, рН середовища - 6,0.

3. Досліджена динаміка накопичення молочної кислоти і клітин лактобацил при використанні в якості субстрату молочнокислого бродіння - ферментолізатів зернових мучок. Молочнокислі бактерії добре ростуть і розвиваються на ферментолізатах мучок, про це свідчить висока питома швидкість росту бактерій, що складає для культур *L. acidophilus* 317/402, *L. bulgaricus* 350, *L. plantarum* К - 0,343 год⁻¹; 0,343 год⁻¹; 0,324 год⁻¹ і висока активність кислотоутворення культур, що склала відповідно 0,65; 0,57 і 0,54 кг/л год.

4. На основі ферментолізатів зернових мучок розроблене й оптимізоване нове живильне середовище для культивування лактобактерій і продукування молочної кислоти: основа - гідролізат суміші ячмінної та пшеничної мучок (1:1) з концентрацією редуруючих речовин - 4%, сульфат марганцю - 0,005%, гідрофосфат калію - 0,3%, цитрат амонію - 2,8%. Використання запропонованого середовища призводить до збільшення виходу цільового продукту до 12 – 14%, порівняно з традиційною технологією одержання молочної кислоти на Україні, і підвищенню його якості за рахунок одержання оптично недіяльної форми молочної кислоти при використанні штаму *L. acidophilus* 317/402 і правосторонньої молочної кислоти при використанні штаму *L. plantarum* К.

5. Розроблено технологію отримання молочної кислоти і лактату кальцію, що передбачає збродження ферментолізатів зернових мучок (пшеничної, вівсяної, ячмінної) молочнокислими бактеріями *L. acidophilus* 317/402 або *L. plantarum* K, періодичну нейтралізацію синтезованої кислоти карбонатом кальцію і наступне її виділення. Спосіб захищений патентом України.
6. Розроблено технології одержання лактатів заліза, магнію, цинку. На їхній основі створена біологічно активна добавка “МінеЛакт”, що включає лактат кальцію, лактат магнію, у співвідношеннях 1: 0,5, обумовлених фізіологічними потребами організму дорослої людини, та вітаміни B₆ і D₃.
7. Показано можливість застосування лактату кальцію в хлібопеченні. Збагачення хлібу лактатом кальцію підвищує якість хліба, сприяє збільшенню обсягу виробів на 35 %, зменшує черствіння м'якушки хлібу. Оптимальним є додавання лактату кальцію в кількості 0,5% до маси борошна. Розроблено рецептуру хліба “Здоров'я”, збагаченого кальцієм і технологія його одержання, що пройшла апробацію на ВАТ “Тулчинський хлібокомбінат”.
8. Розроблено проекти нормативно-технічної документації на отримання солей молочної кислоти, лактатів кальцію, заліза, магнію, цинку.
9. Проведено промислово апробацію розроблених технологій на “Одеському підприємстві по виробництву бактерійних препаратів”. Розрахована собівартість отриманої молочної кислоти складає 2,10 грн/кг у цінах 2000р. Собівартість молочної кислоти, що виробляється на заводі молочної кислоти складає 2,60 грн/кг.

Основний зміст роботи викладено в наступних публікаціях:

1. Кириленко О.Я., Черватюк О.В. Біосинтез молочної кислоти.// Наукові праці ОДАХТ. – Одеса: ОДАХТ, 1999. Вип.19. – С. 119-123.
2. Капрельянц Л.В., Дишкантюк О.В., Кириленко О.Я. Біосинтез молочної кислоти та її солей на вторинних продуктах переробки зерна // Наукові праці ОДАХТ. – Одеса: ОДАХТ, 1999. Вип.20. – С. 129-133.
3. Дишкантюк О.В. Отримання лактату кальцію на основі вторинних продуктів переробки зерна.// Зб. наук. пр. – Харків, 1999. – С.183-186.
4. Дишкантюк О.В., Капрельянц Л.В. Біотехнологія отримання молочної кислоти /Бюлетень інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, 2000. – №7. – С. 29-30.
5. Капрельянц Л., Дишкантюк О., Шевченко Р. Использование лактата кальция в хлебопекарном производстве.// Хлебопродукты. – 2000. – №8. – С. 26-27.
6. Позитивне рішення НДЦПЕ України від 04.04.2000р на видачу патенту за заявкою № 99105548. Спосіб отримання молочної кислоти / Капрельянц Л.В., Дишкантюк О.В.; Заявлено 12.10.1999.-6с.

АННОТАЦІЯ

Дишкантюк О.В.

Биотехнология получения молочной кислоты и ее солей на основе вторичных продуктов

переработки зерна - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20. - биотехнология. - Одесская государственная академия пищевых технологий, Одесса, 2000.

Диссертация посвящена разработке биотехнологии получения молочной кислоты и ее солей микробиологическим синтезом на основе вторичных продуктов переработки зерновых – мучек (пшеничной, ячменной, овсяной).

Основными задачами работы были - подбор культуры молочнокислых бактерий - усиленных продуцентов молочной кислоты; разработка режимов ферментативного гидролиза зерновых мучок с использованием собственных ферментных систем; разработка на основе полученных гидролизатов среды для биосинтеза молочной кислоты; изучение особенностей культивирования молочнокислых бактерий на новых питательных средах; разработка технологических основ получения лактатов; создание биологически-активной добавки на основе лактатов; изучение технологических основ применения лактата кальция в хлебопечении.

В диссертационной работе проведена сравнительная оценка кислотообразующей способности 15 штаммов молочнокислых бактерий. Установлены условия их культивирования на средах различного происхождения. Исследованы кинетические закономерности процесса ферментации и установлена математическая модель зависимости биосинтетической активности культур от концентрации глюкозы. Определены экономические коэффициенты анаболизма. Показана возможность применения зерновых мучек и их смесей, которые являются более сбалансированными по химическому составу, в качестве углеводного субстрата для биосинтеза молочной кислоты лактобациллами. Изучен процесс ферментативной биоконверсии полисахаридов зерновых мучек и их смесей собственными ферментными системами и ферментными препаратами : амилосубтилином Г10Х, амилоризином П10Х и ячменным солодом. Использование собственных ферментных систем мучек позволяет сократить удельный расход ферментного препарата на 15–20% по сравнению с традиционными технологиями. Исследована динамика накопления лактата кальция и клеток молочнокислых бактерий на ферментализатах зерновых. Установлено, что молочнокислые бактерии хорошо растут и развиваются на ферментализатах зерновых. Разработана и оптимизирована питательная среда для молочнокислых бактерий. В качестве стимуляторов молочнокислого брожения предлагаются минеральные соли – сульфат марганца, гидрофосфат калия, ацетат натрия. 16

Разработана технология получения молочной кислоты и лактата кальция, который предусматривает сбраживание ферментализатов зерновых мучек (пшеничной, овсяной, ячменной) молочнокислыми бактериями *L. acidophilus* 317/402 или *L. plantarum* К, периодическую нейтрализацию синтезированной кислоты карбонатом кальция и следующее ее выделение. Использование этой технологии повышает выход молочной кислоты в процессе брожения на 12-14% по сравнению с традиционной технологией получения молочной кислоты на Украине и повышению его качества за счет получения оптически неактивной формы молочной кислоты при использовании штамма *L. acidophilus* 317/402 и правовращающей формы при использовании штамма *L. plantarum* К. Разработаны технологии получения лактатов железа, магния, цинка. На их основе создана биологически - активная добавка “Минелакт”, включающая лактат кальция, лактат магния, витамины В₆ и Д₃, в соотношениях, обусловленных физиологическими потребностями организма взрослого

человека.

Разработаны проекты нормативно-технической документации на получение солей молочной кислоты лактатов кальция, железа, магния, цинка. Проведена промышленная апробация разработанных технологий на “Одесском предприятии по производству бактериальных препаратов”.

Показана возможность применения лактата кальция в хлебопечении. Обогащение хлеба лактатом кальция повышает качество хлеба, способствует увеличению объема изделий на 35 %, уменьшает черствение мякиша хлеба. Оптимальным является добавление лактата кальция в количестве 0,5% к массе муки. Разработана рецептура хлеба “Здоровье”, обогащенного кальцием и технология его получения, которые прошли апробацию на ОАО “Тулчинский хлебокомбинат”.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, ферментоллизаты зерновых мучек, собственные ферментные системы, молочная кислота, лактаты.

ANNOTATION

Dyshkantyuk O.V

Microbiological synthesis of a lactic acid and its salts on the basis of secondary products of the grain processing. - Manuscript.

Thesis on competition of a scientific degree of the candidate of engineering science in a specialty 03.00.20. - biotechnology. - Odessa state academy of food technologies, Odessa, 2000.

The thesis is devoted to development of a biotechnology of obtaining of lactic acid and its salts.

The evaluation of acid-developing activity of 15 samples of lactic acid bacteria was developed. The conditions of their cultivation in the medium of different origin were determined. The possibility of their application in the form of hydrogenous substrate for biosynthesis of lactic acid by lactobacillus was shown on the basis of chemical content of grain meals. The expediency of the barley and wheat meals using was proved their sugar and vitamin B balancing being better then in yielding meals. The process of enzyme bioconservation of polysaccharides of starch of grain meals and their mixture by there own enzyme systems and amilases: amilosubtilin DIOX, amilorizin SIOX and barley malt was investigated.

The dynamics of calcium lactate and the lactic acid bacteria cells storing over the enzyme-processed grain meals was investigated.

Technological and processing-apparatus schemes of lactic acid, calcium lactates, iron, magnum, zinc production were developed and physical-chemical properties of lactates were investigated. The application of all these products in food industry were investigated. The industrial testing of the developed technologies were conducted at the “Odessa plant of the bacteria products production”.

Key words: lactic acid bacteria, enzymes for grain meals fermentalization, own enzymes systems, lactic acid, lactates.

17

АНОТАЦІЯ

Дишкантюк О.В.

Біотехнологія отримання молочної кислоти та її солей на основі вторинних продуктів переробки зерна. – Рукопис.

Дисертація на здобуття ученого ступеня кандидата технічних наук за фахом 03.00.20. –

біотехнологія. – Одеська державна академія харчових технологій, Одеса, 2000.

Дисертація присвячена розробці біотехнології отримання молочної кислоти і її солей.

У дисертаційній роботі проведена порівняльна оцінка кислотоутворюючої активності 15 штамів молочнокислих бактерій. Встановлено умови їхнього культивування на середовищах різного походження. На основі аналізу хімічного складу зернових мучок показано можливість застосування їх у якості вуглеводного субстрату для біосинтезу молочної кислоти лактобацилами. Показано доцільність використання суміші ячмінної та пшеничної мучок, яка є більш збалансованою за сахарами та вітамінами група В, порівняно з вихідними мучками. Вивчено процес ферментативної біоконверсії полісахаридів крохмалю зернових мучок та їх сумішей власними ферментними системами та амілазами : амілосубтиліном Г10Х, амілоризинном П10Х та ячмінним солодом.

Досліджено динаміку накопичення лактату кальцію і клітин молочнокислих бактерій на ферментолізатах зернових мучок. Розроблене й оптимізоване живильне середовище для молочнокислих бактерій на основі ферментолігатів зернових мучок.

Розроблено технологічні і процесно-апаратні схеми виробництва молочної кислоти і лактатів кальцію, заліза, магнію, цинку і досліджені фізико-хімічні властивості лактатів. Досліджено застосування отриманих продуктів у харчовій промисловості. Проведено промислову апробацію розроблених технологій на “Одеському підприємстві по виробництву бактерійних препаратів”.

Ключові слова: молочнокислі бактерії, ферментолізати зернових мучок, власні ферментні системи, молочна кислота, лактати.