

Украинская академия аграрных наук
ИНСТИТУТ ВИНОГРАДА И ВИНА "МАГАРАЧ"

На правах рукописи

РОМАНОВСКАЯ ТАТЬЯНА ИВАНОВНА

УДК: 663.14.031.232:664.292

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ДРОЖЖЕВОЙ БИОМАССЫ
НА ОТХОДАХ ПРОИЗВОДСТВА ЯБЛОЧНОГО ПЕКТИНА

03.00.23 - биотехнология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Ялта 1994



00755896 (/)

AB 31.482

Результат вивчення в Інституті виноградарства і виноградарства "Магарач".

Научные руководители: доктор технічних наук,
член-корреспондент УААН,
професор
Ежов В.Н.

доктор технічних наук
Луканин А.С.

Официальные оппоненты: доктор технічних наук
Цыганков С.П.

кандидат технічних наук
Скорикова Т.К.

Ведущая организация: Крымхлебобъединение

Защита состоится 27 декабря 1994 г. в 13 часов на заседании
специализированного совета Д.020.58.02 при Институте виноградарства и
вина "Магарач" по адресу: 334200, Крым, г.Ялта, ул.Кирова, 31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИВиВ
"Магарач".

Автореферат разослан 25 ноября 1994 г.

Ученый секретарь специализированного
совета к. т. н., ст. н. сотр.

Л.И.Журавлева

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Рациональное использование ежегодно возобновляемых отходов растительного происхождения является актуальной проблемой современной перерабатывающей отрасли. При переработке яблок на соки и вина накапливается яблочная выжимка, которая практически не перерабатывается из-за отсутствия экологически чистой и по возможности безотходной технологии переработки яблочной выжимки в местах ее скопления, разобщенности перерабатывающих заводов и производителей пектина, дефицита энергоносителей и сезонности переработки плодов.

Работами ИВиВ "Магарач" в 1991-1993 гг. сформулирована концепция поэтапной переработки яблочной выжимки, привязанной к условиям перерабатывающих заводов, с получением пектината кальция (пектина) и пищевого белка в виде плодовых тел съедобных грибов (Ежов, Луканин и др.). По ходу реализации этой технологии, на первом этапе процесса накапливается промывная вода, получаемая при удалении низкомолекулярных веществ из исходной яблочной выжимки. При производстве пектиновых веществ из яблочной выжимки удаление углеводов обязательно, и сколько они ухудшают качество пектина; в тоже время, они являются одним из перспективных субстратов для синтеза дрожжевой биомассы. Таким образом, переработка промывной воды с получением биомассы кормовых либо пищевых дрожжей представляет практический и научный интерес, в особенности для получения хлебопекарных дрожжей в условиях Крыма.

Традиционная схема получения хлебопекарных дрожжей предусматривает использование в качестве сырья мелассы - отход сахарного производства. Учитывая, что потребность в мелассе с каждым годом растет и в связи с отсутствием сахарного производства в Крыму,

возраста т необходимость и целесообразность переработки нетрадиционных, местных сырьевых ресурсов.

Работы Н.М.Семихатовой, С.А.Коновалова, И.Л.Работновой, А.Г.Забродского, О.А.Бакушинской, Н.К.Палагиной, В.И.Кудрявцева, Р.И.Квасникова, К.В.Косикова, Уайта, Ванга, Крегер-ван Рая и др. явились биотехнологической основой для усовершенствования существующих технологических схем дрожжевого производства. Однако, применение новой питательной среды для выращивания биомассы пищевых дрожжей повлекло необходимость обоснования технологических режимов данного производства.

Цель и задачи исследований. Цель исследования заключалась в создании технологии выращивания дрожжей на сахаросодержащем водном экстракте яблочной выжимки.

Для достижения поставленной цели необходимо было:

- 1) изучить состав яблочной выжимки, получаемой в Крыму, т.е. сырьевую базу в районах предположительного внедрения технологии;
- 2) изучить химический состав получаемого при производстве пектина сахаросодержащего водного экстракта яблочной выжимки;
- 3) оптимизировать состав и параметры выращивания биомассы дрожжей;
- 4) обосновать применение эффективного для данной технологии штамма дрожжей;
- 5) провести производственную апробацию технологии и подготовить нормативно-техническую документацию, необходимую для ее освоения.

Научная новизна. Экспериментально установлена возможность культивирования дрожжевой биомассы на сахаросодержащем водном

экстракте яблочной выжимки.

Оптимизирован состав питательной среды для выращивания пищевых дрожжей рода *Saccharomyces*. Выявлены факторы, лимитирующие и ингибирующие процесс накопления дрожевой биомассы. Подобраны штаммы хлебопекарных дрожжей для культивирования на оптимизированном питательном субстрате.

Научно обоснована биотехнология получения хлебопекарных дрожжей на сахаросодержащем водном экстракте яблочной выжимки.

Практическая значимость. Сформулированы требования к составу питательной среды на сахаросодержащем водном экстракте яблочной выжимки, определены основные технологические параметры культивирования. На основании полученных экспериментальных данных разработана технологическая инструкция на производство хлебопекарных дрожжей.

Экономический эффект от применения новой питательной среды для получения хлебопекарных дрожжей на сахаросодержащем водном экстракте составляет 1977 тыс. руб. на каждую тонну прессованных дрожжей в ценах на сентябрь 1994 г.

Апробация работы. В производственных условиях наработана партия хлебопекарных дрожжей, которая прошла апробацию посредством выпечки хлеба и получила положительную оценку. Проведены приемочные испытания биотехнологии производства хлебопекарных дрожжей на сахаросодержащем оттоке пектинового производства, по результатам которых выдано техническое задание на опытно-промышленный участок по комплексной переработке яблочной выжимки в части производства дрожжей.

Основные положения и результаты работы доложены на заседаниях секции Ученого Совета по виноделию ИВиВ "Магарач" (Ялта, 1991-

94 гг.) и научных конференциях (Сумы 1990 г., Киев 1991 г. и 1993 г., Черновцы 1991 г., Ялта 1993 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, в т.ч. получено I авторское свидетельство на изобретение "Способ безотходной переработки яблочных выжимок" (а.с. I785639).

Структура и объем диссертации. Основное содержание диссертации изложено на 105 страницах машинописного текста, содержит 12 таблиц и 10 рисунков. В диссертации 10 приложений.

На защиту выносятся следующие основные положения:

1. Оптимизированный состав питательной среды и режимы культивирования дрожжей рода *Saccharomyces* на сахаросодержащем водном экстракте яблочной выжимки.
2. Результаты скрининга штаммов хлебопекарных дрожжей вида *Sacch. cerevisiae*, накапливающих наибольшее количество биомассы и обладающих высокой ферментативной активностью.
3. Технология получения биомассы дрожжей рода *Saccharomyces* на сахаросодержащем водном экстракте яблочной выжимки.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Объекты и методы исследований

Для проверки правильности привязки разрабатываемой технологии к пектиновому производству проводили изучение сырьевой базы Крыма путем отбора яблок в разных природноклиматических зонах. Отбор яблок урожая 1990 г. по сортам проводили на винодельческих предприятиях в середине сентября - начале октября. Из яблок получали густую выжимку.

Объектами исследований в дальнейшем служили дрожжи рода *Sac-*

сагопусев и сахаросодержащий водный экстракт яблочной выжимки.

В качестве исследуемых были выбраны дрожжи вида *Sacch. cerevisiae*, *Sacch. vini*, содержащиеся в Национальной коллекции культур дрожжей для виноделия Института "Агарач" и штаммы хлебопекарных дрожжей, хранящиеся в музее чистых культур Киевского дрожжевого завода. Также выделены чистые культуры из хлебопекарных прессованных дрожжей.

Сахаросодержащий водный экстракт яблочной выжимки получали согласно режимам промывки выжимки для пектинового производства (Ежов, Луканин и др., 1992 г.). Сушеную выжимку с влажностью 8 % экстрагировали питьевой водой при гидромодуле 10 и температуре от 10 °C до 25 °C 15 мин в условиях интенсивного перемешивания. При использовании свежотпрессованной выжимки с влажностью 75 % гидромодуль уменьшали до 3.

Поскольку учесть наличие и усваиваемость для данного штамма дрожжей каждого компонента естественного субстрата весьма проблематично, изучение состава среды проводили путем составления материального баланса жизненно необходимых элементов, таких как азот и фосфор, в процессе биоконверсии углеводов экстракта. Для этого определяли массовую концентрацию углеводов, азота, фосфора в исходной питательной среде и культуральной жидкости, а также в сахаросодержащем водном экстракте и биомассе дрожжей после культивирования.

Эксперименты по биоконверсии проводились в периодическом режиме. Периодическое культивирование осуществляли на термостатируемой качалке при оборотах ротора 150 мин^{-1} , в конических колбах, закрытых ватно-марлевыми пробками. Все эксперименты для уменьшения влияния неучтенных факторов проводили в стерильных условиях.

При установлении оптимальных режимов культивирования дрожжей ограничились оптимизацией состава питательной среды. Что касается других факторов, тесно сопряженных с конструкцией дрожжерастильных аппаратов, их значения были выбраны исходя из многочисленных литературных данных: интенсивная аэрация среды, температурный режим 28-30 °С, позволяющий при высокой скорости роста биомассы получать дрожжи с высокой активностью ферментов.

Наращивание посевного материала осуществляли путем постепенного увеличения объемов питательной среды, с таким расчетом, чтобы вносимый объем составлял 10 % от первоначального. Схема увеличения объема посевного материала представляется следующей: рабочая пробирка чистой культуры → тиражные пробирки → качалочные колбы → баллоны с системой аэрации. Засев из рабочей музейной пробирки в тиражные пробирки осуществляли петлей.

Полученный посевной материал из пробирок сливали в коническую стерильную колбу для получения однородной дрожжевой суспензии, которую контролировали на стерильность микроскопированием неокрашенного препарата и высевом на чашку Петри с 7 % солодовым сусло-агаром.

Для наращивания биомассы в десятилитровых баллонах питательную среду барботировали воздухом, который нагнетался компрессором и проходил стерилизацию через стерильные сухие ватные фильтры. Каждый баллон снабжался плотно закрывающейся резиновой пробкой с двумя отверстиями для входа и выхода воздуха.

Массовую долю влаги дрожжей определяли согласно ГОСТ 171-81, выжимки - ГОСТ 28561-90. Весовым методом определяли биомассу дрожжей в культуральной жидкости, посредством высушивания до постоянной массы осадка после 15 мин центрифугирования при 5000

мин⁻¹. Содержание сухих веществ в питательной среде и культуральной жидкости определяли рефрактометрически, а активную кислотность - потенциометрически. Массовую концентрацию сахаров определяли, используя метод Бертрана согласно ГОСТ 13192-73. Массовую концентрацию элементарного азота определяли по методу Кьельдаля, согласно указаниям ГОСТ 26889-86. Колориметрическое определение содержания общего фосфора осуществляли модифицированным методом Бриггса с аскорбиновой кислотой (Великая, Суходол, 1983 г.). Определение подъемной силы дрожжей исполняли по ГОСТ 171-81. Определение мальтазной активности проводили в гостированной форме (по инструкции от 25.10.88), зимазной - в микрогазомере Елецкого (по инструкции от 15.01.81).

2.2. Характеристика химического состава яблочной выжимки и ее сахаросодержащего водного экстракта

В зависимости от района произрастания яблочная выжимка характеризуется разным содержанием азота: для северных и северо-восточных районов Крыма оно выше (0,50-0,62 % в а.с.в.), чем в образцах из южных и западных районов (0,35-0,38 %). Содержание легкогидролизуемых полисахаридов (гемипеллелоз) в яблочной выжимке в два раза выше, чем в виноградной выжимке, на фоне меньших количеств лигнина.

Таблица I
Химический состав сахаросодержащего водного экстракта сухой яблочной выжимки и сахаросодержащий водный экстракт, полученный при опти-

Наименование, размерность	Величина	мального для пектино-
Истинные сухие вещества, %	3,74 ± 0,50	вого производства ре-
pH, ед	3,97 ± 0,20	жиме, характеризуется
Титруемая кислотность, г/дм ³	0,77 ± 0,10	составом, приведенным
Общий азот, г/дм ³	0,03 ± 0,02	в табл. I. Данные
Общий фосфор, г/дм ³	0,03 ± 0,02	
Редуцирующие вещества, г/дм ³	23,10 ± 7,00	
Фенольные вещества, г/дм ³	0,41 ± 0,10	
Зола, г/дм ³	0,94 ± 0,06	

свидетельствуют об удалении при водной экстракции-промывке в основном редуцирующих и фенольных веществ, органических кислот, которые ухудшают товарные свойства пектина. В то же время, сахаросодержащий экстракт является перспективным источником углеводов для производства дрожжевой биомассы.

2.3. Исследование потенциальной способности дрожжей к росту на водном сахаросодержащем экстракте

Предварительные опыты по биоконверсии исходного сахаросодержащего водного экстракта в условиях отсутствия солевых добавок дрожжами рода *Saccharomyces* выявили необходимость оптимизации его состава (табл. 2).

Таблица 2
Накопление биомассы винных дрожжей на исходном сахаросодержащем водном экстракте

Штамм	Биомасса 75 % W,3 г/дм ³	Коэф. экон. эффект.
Ленинградский	9,4	0,064
Феодосия I-19	9,0	0,062
Кахури	8,3	0,059

Исходя из полученных данных, представленных в табл. 1 и 2, можно констатировать, что сахаросодержащий экстракт является обедненной средой для выращивания дрожжей по содержанию минеральных веществ.

2.4. Оптимизация процесса культивирования дрожжей на сахаросодержащем водном экстракте яблочной выжимки

С целью оптимизации процесса культивирования дрожжей на сахаросодержащем водном экстракте яблочной выжимки осуществляли планирование эксперимента по пятифакторному пятиуровневому плану на основе латинских квадратов. Матрица спектра плана факторного эксперимента рандомизирована по строкам и каждый фактор находится на каждом уровне пять раз. Каждый опыт проводился в 3-5 повторностях.

Результаты эксперимента обрабатывали статистическими метода-

ми с использованием пакета SOPLOT.

В качестве исследуемых факторов, влияющих на рост биомассы, были выбраны соли, которые входят в состав многих синтетических сред: диаммонийфосфат ($0,1 - 0,9 \text{ г/дм}^3$), сульфат магния - ($0,01 - 0,57 \text{ г/дм}^3$), карбонат кальция - ($0,01 - 0,37 \text{ г/дм}^3$), фосфат калия однозамещенный - ($0,05 - 0,45 \text{ г/дм}^3$) и диаммонийсульфат ($0,1 - 0,5 \text{ г/дм}^3$). В этой серии исследований использовали штамм *Feodosia* I-19 вида *Sacch. vini*. В качестве критерия оптимизации избран показатель массовой концентрации биомассы в культуральной жидкости, определенный весовым методом.

С помощью математической обработки экспериментальных данных статистическими методами установлена однородность дисперсий (воспроизводимость опытов) и значимость полученных средних значений откликов факторов (содержания биомассы дрожжей в культуральной жидкости) при уровне значимости $0,05$.

Апроксимация уравнений, описывающих зависимости между количеством накопленной биомассы в культуральной жидкости и внесенными количествами азота и фосфора, показала линейную зависимость между данными переменными. Графическое изображение уравнения, описывающего влияние внесения азота на накопление биомассы дрожжей, с нанесенными в виде точек экспериментальными данными показывает небольшие и отклонения от рассматриваемой зависимости (рис. 1). Исследуемый интервал внесения диаммонийфосфата и диаммонийсульфата в дальнейших исследованиях расширен в сторону увеличения концентрации солей, т.к. оптимальный уровень этих факторов соответствует крайней концентрации, исследованной в эксперименте.

Апроксимация зависимостей накопления биомассы от внесения

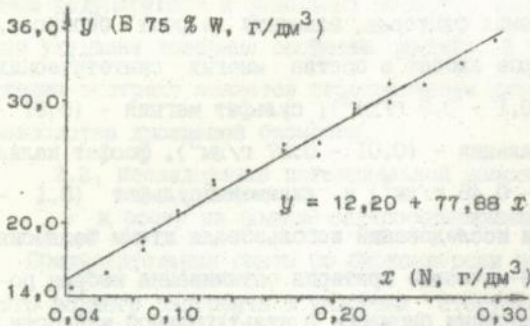


Рис. 1. Зависимость выхода биомассы дрожжей от внесенного в питательную среду количества азота

калия, кальция, магния, серы выявила скачущий характер влияния изученных факторов на процесс.

Для выявления оптимальных параметров культивирования биомассы два исследуемых ранее фактора

взяты в расширенном диапазоне (внесенное количество аммонийфосфата от 1 до 9 г/дм³ с шагом 2 г/дм³ и калийфосфата однозамещенного от 0 до 1,6 г/дм³ с шагом 0,4 г/дм³) и дополнены новыми: активной кислотностью среды культивирования (от 2 до 6 ед. с шагом 1 ед.), начальным содержанием углеводов (от 1 до 5 г/100 см³ с шагом 1 г/100 см³) и временем культивирования (от 24 до 120 ч с шагом 24 ч).

Полученные средние отклики на каждом уровне каждого фактора аппроксимировались уравнениями. С помощью регрессионного анализа установлено, что зависимость накопления биомассы от внесения азотосодержащей соли описывается логарифмическим уравнением первого порядка, которое объясняет 79 % экспериментальных данных; связь биомассы с внесением фосфоросодержащей соли - линейным уравнением с объяснением 83 % данных; аналогичное влияние начального содержания углеводов в питательной среде - линейным уравнением (74 %), влияние активной кислотности среды - уравнением второго порядка (99 %) и влияние длительности культивирования - уравнением второго порядка (61 %).

Аддитивно-нелинейное уравнение, описывающее рассматриваемый эксперимент, имеет следующий вид:

$$y = \{ 10^{(1,1823+0,4405 \cdot \lg x_1)} + 26,1458 - 0,7046 \cdot x_2 + 20,4194 + 1,2042 \cdot x_3 - 19,3804 + 26,2848 \cdot x_4 - 3,222 \cdot x_4^2 + 9,0168 + 10,2720 \cdot x_5 - 1,4364 \cdot x_5^2 \} : 5$$

где, x_1 - внесенное количество азота,

x_2 - количество внесенной фосфоросодержащей соли,

x_3 - начальное количество сахара,

x_4 - активная кислотность питательной среды,

x_5 - продолжительность культивирования.

Все переменные имеют формализованные значения, что позволяет сравнивать их влияние в рассматриваемом диапазоне.

По полученным аппроксимирующим уравнениям установлено, что наибольшее влияние на выход биомассы оказывает pH среды, далее по мере убывания - концентрация вводимого азота, длительность культивирования и концентрация сахара. Введение в среду фосфора исследовалось на фоне параллельного внесения азота, посредством задачи аммонийфосфата. Выявлено, что потребность в фосфоре ниже, чем его вводится с этой солью, поэтому в уравнении регрессии перед соответствующим членом стоит знак (-).

Первая производная аддитивно-нелинейной функции выхода биомассы:

$$y' = 1,3405 \cdot \frac{1}{x_1^{0,5595}} - 1,2882x_4 - 0,5746x_5 + 7,4113$$

позволяет найти оптимальные параметры культивирования дрожжей.

Поскольку графическое изображение производной функции в зависимости от трех факторов затруднительно, представление полученных данных проводили, рассматривая производные по каждому фактору попарно. По полученным трем уравнениям рассчитывали значения ва-

зависимой переменной от заданных значений аргументов. Графическое

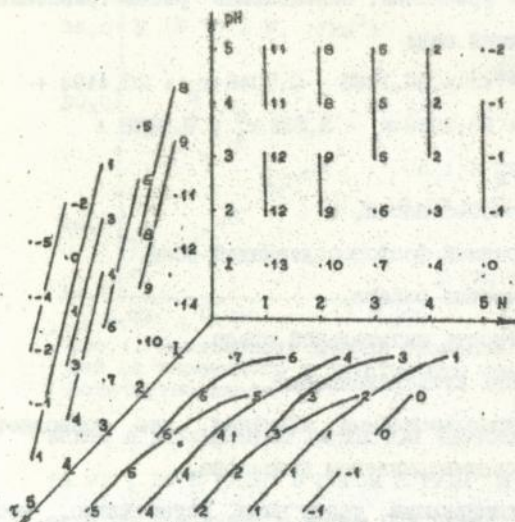


Рис. 2. Линии равного выхода оптимизационной функции накопления биомассы при попарном рассмотрении факторов

изображение полученных значений позволяет по кривым равного выхода представить плоскость сечения поверхности производной функции и найти градиенты изменения факторов (рис. 2). Для отыскания оптимума производную приравняют к нулю. В данном случае оптимальное значение pH 5, количество внесенного аммо-

нийфосфата 9 г/дм^3 , продолжительность культивирования в данных условиях 48 и 72 ч. Последовательность рассмотрения факторов проводили в порядке убывания степени влияния факторов на процесс. Следует отметить, что попарное рассмотрение факторов дает возможность обнаружить оптимальное значение лишь в плоскости сечения, а не в пространстве, что может сопутствовать двум и более критическим точкам. Так, на плоскости pH-азот, первому формализованному значению pH также соответствует критическое значение производной. Чтобы устранить такие разночтения поверхности производной функции, обратимся к результатам эксперимента.

Данные по каждому опыту, характеризующие влияние на накопление биомассы pH питательной среды, количества внесенного азота

позволяют утверждать, что концентрация азота на уровне 0,4-0,8 г/атом/дм³ достаточна для накопления максимального количества биомассы. Установлено, что оптимальные исходные значения pH находятся в области 5,0-6,0 ед., причем pH 5,0 более предпочтительно. Продолжительность культивирования должна быть не менее 48 ч. Интересно отметить, что все опыты, давшие выход биомассы ниже 30 г/дм³, соответствовали неблагоприятному воздействию одного либо двух из перечисленных факторов.

Анализ экспериментальных данных и аппроксимирующих их уравнений позволяет выявить наилучшие сочетания факторов, при которых накопление биомассы 75 % влажности достигает 42 г/дм³. Оптимальные режимы ведения процесса культивирования выглядят следующим образом: предусматривается внесение в сахаросодержащий водный экстракт азотосодержащих и фосфоросодержащих солей до массовой концентрации азота и фосфора на уровне 0,4-0,8 г/дм³. Вслед за этим проводится коррекция pH питательной среды до 5,0 ед.

Что касается оптимальной концентрации сахара в питательной среде, установлено, что с разбавлением сахаросодержащего экстракта до содержания сахара 1 г/100 см³ экономический коэффициент биотрансформации углеводов в биомассу дрожжей повышается. Так, выход биомассы 75 % влажности составил в этом случае 34,83-33,89 г/дм³, но при экономической эффективности 0,71, тогда как в случае накопления максимальной биомассы (около 42 г/дм³) этот коэффициент был равен лишь 0,25. При использовании экстракта без коррекции содержания углеводов, т.е. при их содержании на уровне 2,0 г/100 см³ коэффициент экономической эффективности равен 0,41.

2.5. Отбор штаммов хлебопекарных дрожжей

по эффективности роста на оптимизированном экстракте

На следующем этапе исследований проведено изучение штаммов хлебопекарных дрожжей по эффективности роста на питательной среде на основе сахаросодержащего экстракта яблочной выжимки. В опытах использовали выявленные оптимальные режимы процесса культивирования. Отбор штаммов дрожжей вида *Sacch. cerevisiae* осуществлен из национальной коллекции микроорганизмов для виноделия при ИВиВ "Магарач". Результаты исследований приведены в табл. 3.

Таблица 3
Состав питательной среды и культуральной жидкости после роста и отделения биомассы сахаромисцетов

Штамм дрожжей	Накопление биомассы 75 % W ₁₃ г/дм ³	Сухие в-ва, % мас.	рН	Массовая концентрация		
				азота	фосфора	сахара
				г/дм ³		г/100см ³
Питательная среда	-	4,3	4,6	0,85	1,80	1,910
Fleischman	37,06	1,9	2,7	0,26	1,57	0,143
Московские х/п	28,35	2,0	3,1	0,42	1,62	0,134
Ленинградские х/п	35,40	1,8	2,7	0,28	1,43	0,146
I4	40,08	1,8	2,7	0,27	1,59	0,123
XII	29,56	2,2	2,8	0,38	1,62	0,150

Установлено, что все исследуемые дрожжи рода *Sacch. cerevisiae* достаточно энергично утилизируют компоненты сахаросодержащего экстракта, с накоплением биомассы на уровне 28-40 г/дм³ влажностью 75 %. В результате биоконверсии сахаросодержащего водного экстракта яблочной выжимки с оптимизированным составом выявлен штамм I4, позволяющий максимально накопить биомассу на фоне более полной утилизации сахаров питательного субстрата, а также усвоения азота и фосфора. Массовая концентрация в культуральной жидкости биомассы дрожжей расы I4 (75 % влажности) составила 40,08 г/дм³, что соответствует 10,02 г/дм³ а.с.в.

2.6. Кинетика роста и потребления основных источников питания дрожжей рода *Saccharomyces*

Кинетика роста дрожжей вида *Sacch. vini* штамма Феодосия I-19

и вида *Sacch. cerevisiae* штамма I4 была исследована в стерильных условиях при периодическом культивировании с использованием оптимизированной среды.

Анализ полученной на сахаросодержащем экстракте биомассы дрожжей вида *Sacch. vini* штамма Феодосия I-19 показал, что массовая доля сырого протеина в них составляет 21,69 % в единице а.с.в., массовая концентрация азота 34,74 мг/г а.с.г., фосфора - 31,55 мг/г а.с.в.

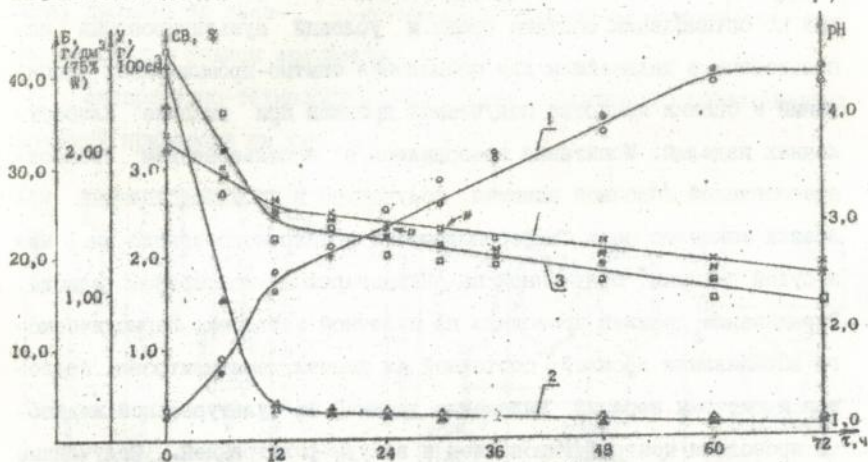


Рис. 3. Кинетика роста биомассы дрожжей рода *Saccharomycetes* и потребления углеводов водного экстракта яблочной выжимки и содержание в культуральной жидкости: 1 - биомассы (о - *S. cerevisiae*, * - *S. vini*), 2 - углеводов (Δ - *S. cerevisiae*, * - *S. vini*), 3 - сухих веществ (□ - *S. cerevisiae*, ■ - *S. vini*); 4 - активная кислотность культуральной среды (x - *S. cerevisiae*, * - *S. vini*)

На рис. 3 графически представлено изменение содержания компонентов в культуральной жидкости во время культивирования дрожжей сахаромикетов. В первые 6-12 ч происходит интенсивное потребление углеводов субстрата с максимальной удельной скоростью размножения культуры, которая достигает $0,16 \cdot \text{ч}^{-1}$. В последующие часы культивирования наблюдается торможение роста биомассы, причем со-

держание углеводов приближается к значениям остаточных количеств сахара в конце процесса. Замедление роста культуры связано, по-видимому, с недостаточной обеспеченностью дрожжевых клеток кислородом воздуха в конических качалочных колбах. Вследствие этого проявляется эффект Кребтри.

2.7. Разработка и апробация технологии производства дрожжей

Штамм I4 расы хлебопекарных дрожжей и результаты экспериментов по оптимизации состава среды и условий культивирования использованы в дальнейшем для проведения опытно-промышленных испытаний и оценки качества полученных дрожжей при выпечке хлебобулочных изделий. Испытания проводились с использованием свежотпрессованной яблочной выжимки, полученной в производственных условиях сокового цеха Симферопольского консервного завода им. I Мая и сухой выжимки, полученной на Нижнегорском консервном заводе. Выращивание дрожжей проводили на пилотной установке периодического выращивания дрожжей, состоящей из десяти десятилитровых баллонов и системы аэрации. Выделение дрожжей из культуральной жидкости проводили центрифугированием и вакуум-фильтрацией. Полученные дрожжи были направлены для контроля качества их хлебопекарных свойств на Симферопольский хлебокомбинат № I и в Крымхлебобъединение. В табл. 4. приведена характеристика полученной дрожжевой биомассы, из которой следует, что дрожжи удовлетворяют требованиям ГОСТ I7I-8I по всем показателям. Материалы испытаний оформлены в виде программы и методики, актов и протоколов, утвержденных в Минсельхозпроду Крыма. По результатам приемочных испытаний утверждена технологическая инструкция по производству хлебопекарных дрожжей на сахаросодержащем оттоке пектинового производства. Раз-

работано техническое задание на цех комплексной переработки яблочной выжимки мощностью 800 т сухой выжимки в год, в части узла по производству дрожжей на сахаросодержащем водном экстракте.

Таблица 4
Характеристика дрожжевой биомассы, выращенной на промышленном оттоке

Показатели, ед. изм.	Величина
Влажность, % мас	74,0
Подъемная сила, мин	70
α -глюкозидазная активность, мин	75
Зимазная активность, мин	40
Общий азот, мг/г а.с.в.	34,7
Фосфор, мг/г а.с.в.	31,6
Кислотность, г/100 г	0,12
Сола, г/г а.с.в.	0,11

Аппаратурно-технологическая схема получения хлебопекарных дрожжей приведена на рис. 4.

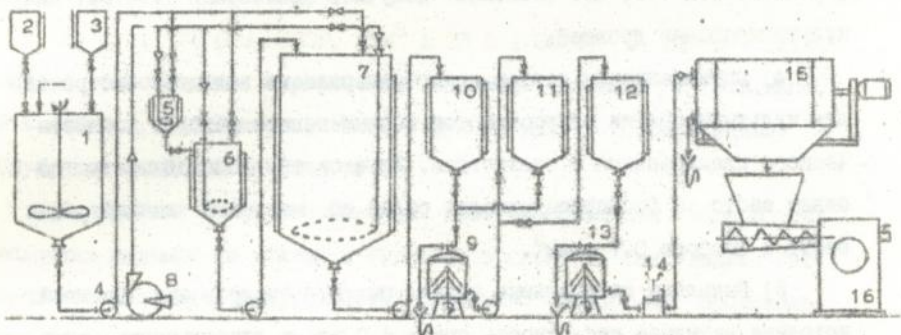


Рис. 4. Аппаратурно-технологическая схема получения хлебопекарных дрожжей на сахаросодержащем оттоке пектинового производства: 1 - емкость для приготовления питательной среды, 2 и 3 - мерники для кислоты и щелочи, 4 - центробежный насос, 5 - дрожжанка, 6 - дрожжегенератор, 7 - дрожжерастильный аппарат, 8 - компрессор, 9 - сепаратор первой и второй ступеней, 10, 11, 12 - напорные емкости для каждой ступени сепарации, 13 - сепаратор третьей ступени, 14 - поршневой насос, 15 - рамный фильтр-пресс, 16 - формовочно-упаковочная машина

3. ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

1) первые показана возможность эффективного культивирования дрожжей сахаромикетов на отходах пектинового производства. Прове-

дене исследования по подбору штаммов и оптимизации основных технологических режимов с целью разработки биотехнологии переработки отхода пектинового производства - сахаросодержащего водного экстракта в дрожжевую биомассу.

2) Осуществлен развернутый анализ яблочной выжимки из различных районов Крыма. Установлено, что содержание в ней азота зависит от места произрастания, а не от сорта яблок. По содержанию общего азота яблочная выжимка уступает виноградной и при последующем культивировании микроорганизмов требует дополнительного ввода в среду питательных азото- и фосфоросодержащих солей.

3) Показано, что при водном экстрагировании яблочной выжимки достигается извлечение редуцирующих сахаров, органических кислот, фенольных веществ, что позволяет получить приемлемый субстрат для культивирования дрожжей.

4) Оптимизирован состав сахаросодержащего водного экстракта для культивирования сахаромецетов с применением методов математического планирования и статистики. Установлена необходимость добавки азото- и фосфоросодержащих солей до массовой концентрации азота и фосфора $0,7 \text{ г/дм}^3$.

5) Выявлены оптимальные параметры культивирования дрожжей: исходная активная кислотность среды 5,0 ед. и длительность культивирования 48-72 ч. Установлено, что наибольшее влияние на накопление биомассы дрожжей оказывает величина pH питательной среды.

6) Впервые показана возможность культивирования пищевых хлебопекарных дрожжей вида *Sacch. cerevisiae* на сахаросодержащем экстракте яблочной выжимки. Наилучшие результаты получены при использовании расы I4.

7) Ожидаемый экономический эффект от замены сырья дрожжевого производства с мелассы на сахаросодержащий водный экстракт составит 1977 тыс. крб. на каждой тонне прессованных хлебопекарных дрожжей.

8) Полученные экспериментальные данные использованы для разработки технического задания на цех комплексной переработки яблочной выжимки мощностью 800 т сухой выжимки в год, в части узла по производству дрожжей на сахаросодержащем водном экстракте.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации

1. Романовская Т.И., Луканин А.С. Получение хлебопекарных дрожжей при переработке яблок.- Деп. в ГНТБ Украины 18.II.93, № 2305 - Ук 93. - 3 с. - Рус.

2. А.С. 1785639, СССР, МКИ³ А 23 L 1/0624; С 12 N 1/14. Способ безотходной переработки яблочных выжимок / В.Н.Ежов, В.В.Лебедев, А.С.Луканин, В.В.Петрушевский, Т.И.Романовская. - Опубликовано 07.01.93. Бюл. № 1.

3. Луканин А.С., Романовская Т.И. Безотходная переработка яблочных выжимок на пектин и белковый продукт // Тез. докл. Республиканской науч. конф.: Пути коренного улучшения продовольственного обеспечения в новых условиях хозяйствования.- Сумы, 1990 г.- С. 86-88.

4. Ресурсосберегающая технология переработки яблочной выжимки / В.Н.Ежов, А.С.Луканин, А.И.Полонская, Т.И.Романовская, Т.С.Строкова // Тез. докл. Республиканской науч.-техн. конф.: Разработка и внедрение высокоэффективных ресурсосберегающих технологий, оборудования и новых видов пищевых продуктов в пищевую и перерабатывающие отрасли АПК.- Киев, 1991.- С. 202.

5. Комплексная утилизация отходов пектинового производства

путем их биоконверсии / В.Н.Ежов, А.С.Луканин, А.К.Полонская, Т.И.Романовская, Т.С.Строкова // Тез. докл. Всесоюз. конф.: Достижения биотехнологии - агропромышленному комплексу.- Черновцы, 1991 г.- С. 87-88.

6. Получение пищевого и кормового белка путем биоконверсии яблочной выжимки / В.Н.Ежов, А.С.Луканин, А.К.Полонская, Т.И.Романовская, Т.С.Строкова // Тез. докл. Всесоюз. конф.: Достижения биотехнологии - агропромышленному комплексу.- Черновцы, 1991 г.- С. 190-191.

7. Ежов В.М., Луканин О.С., Романовська Т.І. Біоконверсія рідких цукровмісних відходів виробництва пектину // Тези доп. Міжнар. наук.-техн. конф.: Розробка та впровадження нових технологій і обладнання у харчову та переробні галузі АПК.- Київ, 1993 р.- С. II4-II5.

8. Романовская Т.И. Получение жидких кормовых дрожжей на основе яблочной выжимки // Тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф.: Вклад молодых ученых в развитие виноградарства и виноделия.- Ялта, 1993 г.- С. 64-65.

Annotation

Romanovskay T.I. The development biotechnology for the receive yeast biomass from production of the apple-pectin.

The thesis presented for an academic degree of a candidate of technical sciences, speciality 03.00.23 - A biotechnology.

Institute for Vine and Wine "Magarach", Yalta, 1994.

The defense of the thesis is based on 7 publications with the characteristics the technological conditions of the growth bakery's yeast. Composition of nutrient medium with use of the aqueous extract apple-pectin has been optimized. An industrial approbation the technology has been realized. The directions for the technology and the technical work quota an a department for the complex processing of the apple-husks with the capacity 800 tons of the dry apple-husks in a year, the part of knot. on the production of the yeast, have been developed.

The expectation economic effect from the replacement of the waste of beet-sugar factory on the aqueous extract apple-husks to make up 1,97 mln. ukraine roubles at each tons of the pressing yeast (in the prices of the september 1994).

Романовская Т.И. Разработка биотехнологии получения дрожжевой биомассы на отходах производства яблочного пектина.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.00.23 - биотехнология. 334200, Крым, г. Ялта, ул. Кирова, 31. ИВиВ "Магарач".

Защищается 7 научн. работ и 1 авт. свидетельство, которые содержат основные технологические режимы выращивания хлебопекарных дрожжей. Оптимизирован состав питательной среды на основе сахаросодержащего водного экстракта яблочной выжимки. Осуществлена производственная апробация технологии. Разработана технологическая инструкция на производство прессованных хлебопекарных дрожжей и техническое задание на цех комплексной переработки яблочной выжимки мощностью 800 т сухой выжимки в год, в части узла по производству дрожжей.

Ожидаемый экономический эффект от замены сырья дрожжевого производства с мелассы на сахаросодержащий водный экстракт составит 1977 тыс. руб. на каждой тонне прессованных дрожжей в ценах на сентябрь 1994 г.

Ключові слова: яблучний віджим (вичавка), хлібопекарські дріжджі, цукровмісний водний екстракт, поживне середовище, підйомна сила, культуральна рідина, культивування культури, біоконверсія, накопичення біомаси, питома швидкість росту, споживання компонентів, субстрат.

Подписано к печати 18. II. 94 г. Формат 60 · 84 / 16

Объем 1 печ.л. Заказ № 146 Тираж 100 экз.

Печатная группа ИВиВ "Магарач", г. Ялта, ул. Кирова, 31