

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ УКРАЇНИ  
УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

На правах рукопису

МАРИНЧЕНКО ЛОЛІТА ВІКТОРІВНА

УДК 664.164.2:663.14

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ  
ІНВЕРТАЗИ З ВИКОРИСТАННЯМ ДЕЗІНТЕГРАТОРІВ

Спеціальність - 05.18.19

Процеси біологічної переробки харчових продуктів

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття вченого ступеня  
кандидата технічних наук

Київ - 1996

AB 34.978

Робота виконана в Українському науково-дослідному інституті спирту та біотехнології продовольчих продуктів і в Українському державному університеті харчових технологій.

Наукові керівники: доктор технічних наук, професор, акад. МІА та АІН України Г.О.НІКІТІН  
доктор технічних наук, акад. УТА, чл.-кор. УААН В.К.ЯНЧЕВСЬКИЙ

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор, чл.-кор. НАН України В.С.ПІДГОРСЬКИЙ  
кандидат технічних наук, провідний науковий співробітник Т.Л.БАЛЕНКО

Провідна організація: інститут колоїдної хімії та хімії води НАН України

Захист відбудеться *26 червня* 1996 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої Ради Д 01.15.01. Українського державного університету харчових технологій, аудиторія А - 311.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці університету.

Автореферат розіслано *22 травня* 1996 р.

Запрошуємо Вас взяти участь у засіданні спеціалізованої Ради або надіслати відгук у двох примірниках, затверджений печаткою організації, за адресою: 252017, Київ - 17, вул.Володимирська, 68.

Вчений секретар спеціалізованої Ради, к.т.н., доцент

*О.І.Семенова* О.І.СЕМЕНОВА

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00760322 (К)

ЛННБ України ім.В.Стефаніка

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У проблемі поліпшення структури харчування людини важливе значення має ефективне використання вуглеводного компонента їжі. Відомо, що споживання сахарози на середньостатистичну душу населення у промислово розвинених країнах становить більше, ніж 120 г на добу. Велика кількість сахарози у харчовому раціоні порушує обмін холестерину та деяких жирних кислот в організмі. Це, прямо чи побічно, сприяє виникненню та розвитку атеросклерозу кровоносних судин, що призводить до збільшення смертності від цього захворювання у 10 разів порівняно з країнами з низьким споживанням сахарози. Надлишок сахарози в раціоні харчування сприяє виникненню та розвитку алергічних станів, істинного діабету, знижує ефективність або змінює характер дії деяких ліків, є однією з причин нервового перезбудження, викликає карієс зубів.

Частину сахарози доцільно замінювати фруктозою. Вона заповується повільніше і без допомоги інсуліну, легше втягується в обмінні процеси, швидше залишає кровотік, тому в меншій мірі стає причиною надлишкового накопичення жиру організмом. Використання глюкозо-фруктозних сиропів, солодкість яких у 1,4 рази вище, ніж сахарози, дає змогу відповідно знизити витрати цукру.

Застосування інвертних цукрових сиропів в кондитерській та хлібопекарській промисловості дозволить зменшити гігроскопічність та підвищити стійкість при зберіганні кондитерських виробів, поліпшити пористість і смак хлібобулочних виробів.

В нашій країні виробництво фруктози й інвертних сиропів не налагоджене. Однією з причин цього є відсутність виробництва фермента  $\beta$ -фруктофуранозідази /інвертази/, що зумовлено недос-

коналість наявної технології виділення цього фермента з клітин.

Метою роботи є: розробка наукових основ технології інвертази із дріжджів, яка включає дезінтеграцію дріжджової суспензії, розділення продуктів дезінтеграції з виділенням ферментного препарату інвертази, його очистки і концентрування; дослідження умов та терміну зберігання рідких та висушених препаратів інвертази.

Для досягнення мети були поставлені такі завдання:

вивчення інвертазної активності дріжджів роду *Saccharomyces*, які вирощені із чистих культур в лабораторних умовах та дріжджів, які отримують і використовують у промисловості;

створення експериментальних установок для отримання ферментного препарату інвертази із дріжджів;

визначення критеріїв ступеня дезінтеграції та розробка способів дезінтеграції, які забезпечують високий вихід інвертази в середовище з найменшими втратами активності;

розробка способів та режимів ультрафільтраційної очистки і концентрування препаратів інвертази;

визначення умов та тривалості зберігання рідких і висушених ферментних препаратів інвертази;

дослідження хімічного складу одержаних препаратів інвертази та відходів її виробництва;

випробування отриманого препарату інвертази для процесу інверсії, що застосовується в різних галузях харчової промисловості;

розробка технології і апаратурно-технологічної схеми установки для виробництва ферментних препаратів інвертази.

Наукова новизна роботи полягає в тому, що:

розроблено науково обгрунтовану безвідходну технологію

ферментного препарату інвертази із дріжджів роду *Saccharomyces* з використанням дезінтеграторів ударної дії та із застосуванням методів ультрафільтраційної очистки і концентрування /заявка на патент України № 94076042 від 04.07.1994 р./;

показано можливість ефективного використання дріжджів спиртового виробництва та надлишкових пивних дріжджів в технології ферментного препарату інвертази;

доведено можливість руйнування клітинних стінок дріжджів та виділення інвертази в середовище в промислових зразках дезінтеграторів ударної дії, які до цього не використовувались для дезінтегрування мікроорганізмів;

запропоновано визначення ступеня дезінтеграції за вмістом нуклеїнових кислот в супернатанті дезінтеграту;

рекомендовано варіанти використання та підбірано із застосуванням математичних методів умови і дозування одержаних препаратів інвертази для гідролізу сахарози в безалкогольній і кондитерській промисловості, а також у виробництві фруктози із меляси.

Практична цінність та реалізація результатів. Застосування ферментного препарату інвертази дасть змогу: в безалкогольній промисловості – зменшити витрати цукру і цитринової кислоти; в кондитерській промисловості – збільшити термін зберігання та покращити якісні показники хлібобулочних та кондитерських виробів; розробити технологію фруктози із меляси або із сахарози та створити продукти лікувально-профілактичного призначення з використанням фруктози для людей, хворих на цукровий діабет. Таким чином, створення виробництва ферментного препарату інвертази матиме соціальний ефект.

Економічний ефект від використання ферментолізу в безалкогольній промисловості оцінюється 24,1 млн крб на 1000 дал напоїв /в цінах 1995 р./.

На базі результатів проведених дослідів розроблено дослідно-промислової із дріжджів спиртового бродіння, вироблених за двопродуктовою схемою виробництва/ та технологічний тимчасовий із надлишкових дріжджів пивоварного виробництва/ регламенти одержання ферментного препарату інвертази. Видане завдання на проектування дослідно-промислової установки для виробництва ферментного препарату інвертази на Попівському експериментальному заводі.

Результати досліджень дисертаційної роботи використані в проекті цеху по виробництву фруктози потужністю 20 т на добу.

Апробація роботи. Основні положення дисертаційної роботи доповідались та були обговорені на засіданнях Вченої ради УкрНДІспиртбіопроду в 1991–1995 роках, Всесоюзній конференції "Химические превращения пищевых полимеров" /м.Світлогорськ, 1991 р./, Республіканській науково-технічній конференції "Разработка и внедрение высокоэффективных ресурсосберегающих технологий, оборудования и новых видов пищевых продуктов в пищевую и перерабатывающие отрасли АПК" /м.Київ, 1991 р./, VIII Всесоюзному семінарі по дезінтеграторній технології /м.Київ, 1991 р./, II Республіканській конференції "Мембраны и мембранная технология" /м.Київ, 1991 р./, Міжнародній науково-технічній конференції "Разработка та впровадження нових технологій і обладнання у харчову та переробну галузі АПК" /м.Київ, 1993 р./.

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом науково-дослідних робіт УкрНДІспиртбіопроду "Розробити теоретичні основи одержання бета-фруктофуранозідази /інвертази/ із дріжджів сахароміцетів" по завданню Української Академії аграрних наук.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 друкованих праць, в тому числі одержано 1 авторське свідоцтво на винаходи, 1 патент і 1 заявка на патент України.

Обсяг роботи. Дисертаційна робота складається із вступу, 6 розділів, висновків, списку літератури /202 найменування, в тому числі 122 зарубіжних/ та 6 додатків. Робота викладена на сторінках машинопису, містить 34 таблиці та 16 рисунків.

Особистий внесок автора полягає в організації та проведенні наукових дослідів в лабораторних та промислових умовах, узагальненні, обробці та усвідомленні їх результатів, розробці регламентів, написанні наукових статей і підготовці заявок на винаходи.

## З М І С Т   Р О Б О Т И

У вступі обгрунтовано актуальність теми, викладено мету і завдання досліджень, основні наукові та практичні результати дисертаційної роботи.

У першому розділі, що являє собою огляд літератури за темою досліджень, розглянуто сучасний стан виробництва та застосування ферментного препарату в світі, перелічено виявлених продуцентів цього ферменту, ґрунтовно описано біосинтез, локалізацію в клітинах, структуру та властивості  $\beta$ -фруктофуранозідази.

Особливу увагу приділено опособам руйнування клітинних стінок та одержання ферментного препарату інвертази. Наведено основні методи визначення  $\beta$ -фруктофуранозідазної активності.

На основі даних огляду літератури зроблено висновок про доцільність розробки технології ферментного препарату інвертази.

У другому розділі "Об'єкти, методи досліджень та експериментальні установки" наведено перелік та характеристики об'єктів дослідження і нестандартних апаратів, що були використані у дослідженнях, викладено методику проведення дослідів, подане схеми експериментальних установок.

У третьому розділі "Дослідження щодо виділення  $\beta$ -фруктофуранозідази із дріжджів" проаналізовано інвертазну активність біомаси дріжджів, що були вирощені із чистих культур, в тому числі і нових штамів, на один із яких нами було отримане Авторське свідоцтво СРСР № І55І734.

Керуючись метою економічності технології інвертази, було запропоновано використовувати дріжджі, що випускаються заводами по виробництву спирту, а також дріжджі пивоварних заводів, які на цей час майже не знаходять застосування. Визначено, що інвертазна активність дріжджів Попівського експериментального заводу штамів У - І330 і У - 563 складає 250-350 од/г, пивних дріжджів раси ПІ-800-ПІ00 од/г.

Крім того, було досліджено зміни інвертазної активності на всіх стадіях виробництва дріжджів за двопродуктовою схемою виробництва спирту. Визначено, що відносно висока /близько 7 од/мл/ активність відзначалась у дріжджогенераторах та у перших двох апаратах бродильної батареї, потім інвертазна активність поступово знижувалась до І-3 од/мл в останніх апаратах.

Визначено також, що на стадії виділення дріжджів можна використовувати промивні води після другого ступеня сепарації, що мали інвертазну активність 0,60 од/мл, за умови їх концентрування на баромембранній установці. Найбільш прийнятною сировиною для технології інвертази з точки зору активності інвертази та концентрації дріжджів, що призначені для дезінтеграції, є дріжджова суспензія після ІУ-У ступенів сепарації, що характеризувалась активністю інвертази 60-80 од/мл.

Доведено, що для одержання ферментного препарату інвертази можна використовувати відпрацьовані дріжджі пивоварного виробництва, відібрані з будь-якої генерації, оскільки їх активність залишається достатньо високою /8ІІ - ІІ27 од/г/. Дріжджі із лагерного

відділення мають суттєво нижчу активність /2II од/г/, але після механічної обробки та витримування також можуть бути джерелом інвертази.

Одним із головних завдань технології інвертази із дріжджів є руйнування клітинної оболонки з метою виділення ферменту в середовище. Проблема полягає у виборі апарату, в якому можна ефективно дезінтегрувати дріжджові клітини, не пошкоджуючи структури і не знижуючи активності ферменту інвертази, а також який має достатню продуктивність для промислового впровадження.

Для характеристики процесу дезінтеграції були обрані такі параметри: ступінь дезінтеграції Д / % / та ступінь повного руйнування Р / % /, що визначались методами мікроскопування, вмістом нуклеїнових кислот у супернатанті, який корелював зі ступенем дезінтеграції /табл. I/. Якість отримуваних препаратів оцінювали за величиною інвертазної активності, а також питомою активністю, віднесеною на міліграм білка.

Таблиця I

Залежність вмісту нуклеїнових кислот в супернатанті від ступеня дезінтеграції /балістична дезінтеграція/

Тривалість дезінтеграції, хв	Д, %	Р, %	Вміст нуклеїнових кислот в супернатанті, г/л	К, розрахунковий коефіцієнт
необроблена суспензія	-	-	0,1±0,01	-
0,5	11±2	6±1	0,8±0,04	15,71
1,0	23±2	11±1	1,5±0,08	16,43
1,5	32±3	15±2	1,9±0,10	17,78
2,0	37±3	17±2	2,3±0,12	16,82
3,0	52±3	25±2	3,7±0,19	14,44
4,0	67±3	34±3	4,0±0,20	17,18
5,0	83±4	41±3	5,5±0,28	15,37

Одним із вивчених способів дезінтеграції був ферментоліз. Серед використаних ферментних препаратів /Протосубтілін Г3х і Г20х, Лізосубтілін П0х, Дріжджолітин П0х, Амілосубтілін Г3х та Лізоцим/ найбільш придатним виявився Дріжджолітин П0х, який, розщеплюючи клітинну оболонку, не руйнував самого ферменту, що складається із білкової та вуглеводної частини, і сам є субстратом для протеолітичних та амілолітичних ферментів. Активність інвертази в супернатанті після інкубації дріжджової суспензії протягом 4 год при температурі 40°С із ферментним препаратом Дріжджолітин П0х збільшувалась в 5,8 рази. Позитивний результат виявився також при поєднанні ферментолізу з механічною дезінтеграцією.

Безумовно заслуговує на увагу також метод криогенного руйнування клітинних оболонок, який виявився достатньо ефективним /ступінь руйнування Р дорівнював 95-100 %, інвертазна активність в дезінтеграті збільшувалась в 1,1, а в супернатанті в 11,4 разів/. Але суттєвий недолік – відсутність промислових зразків криогенних апаратів, що поєднували б заморожування біомаси до температури рідкого азоту та механічне її руйнування.

Цей недолік відсутній для роторно-пульсаційних апаратів, які вже використовуються на підприємствах харчової промисловості. Сутність їх роботи полягає у виникненні гідроакустичних і кавітаційних ударів, в результаті яких пошкоджується клітинна оболонка дріжджів, де, за літературними джерелами, локалізована інвертаза. На Київському пивоварному заводі № 1 була змонтована установка з РПА для обробки пивних дріжджів з метою виділення цього ферменту.

Встановлено, що при обробці дріжджової суспензії в РПА протягом 30 хв відбувається помітне збільшення /в 2 - 3 рази/ інвертазної активності в супернатанті. Оптимальною концентрацією дріжджової суспензії виявилась концентрація 60 - 90 г/л. При подаль-

шому збільшенні тривалості обробки суспензії до 45 хв виділення інвертази в середовище виявилось недостатньо інтенсивним, тому доцільно рекомендувати дезінтегрування протягом 30 хв, що на випробуваному апараті складало 180 циклів обробки. Таким чином, гідроакустичні апарати /РПА/ можуть використовуватись в технології інвертази на стадії виділення цього ферменту із дріжджових клітин.

Досить сильному впливу дріжджові клітини піддаються у вихровому апараті ABC-100. Принцип його дії полягає в тому, що ферромагнітні частинки у магнітному полі, що обертається, утворюють вихровий шар, в якому сировина піддається інтенсивному перемішуванню з одночасним впливом на неї електромагнітного поля, а також ударній дії з боку ферромагнітних частинок і акустичним коливанням. При тривалості обробки суспензії 30 с збільшення інвертазної активності супернатанту становило 2,0 - 2,6 рази, при дезінтеграції протягом 1 хв /два цикли/ - в 4,8 рази, але суспензія розігрівалась до 40°C. Це свідчить про конструктивний недолік апарату, непостійність його експлуатаційних характеристик, наприклад, зміни кількості та якості ферромагнітних частинок, що ускладнює його впровадження у виробництво інвертазних препаратів.

Обробка дріжджової суспензії в проточно-кавітаційному змішувачі пов'язана з фізико-механічними ефектами /ударні хвилі, кумуляція, автоколивання, вібротурбулізація/, що виникають при колапсі кавітаційних бульбашок. Фактор збільшення інвертазної активності супернатантів при тривалості обробки дріжджової суспензії 30 хв становив 2,6 для хлібопекарських і 1,9 для пивних дріжджів. Але суспензія в цьому випадку розігрівалась, що неприйнятно для виділення інвертази. Треба відзначити, що проточно-кавітаційні змішувачі існують лише як дослідно-промислові зразки, а низька інтенсивність процесу потребує його суміщення з іншими методами, наприклад, з ферментолізом.

Для дезінтеграції мікроорганізмів в СКТБ Біологічного центру в Пушино був створений балістичний дезінтегратор ФУТ-І, при обробці в якому можна досягти практично будь-якого ступеня дезінтеграції. Тому дослідженням процесу дезінтеграції в цьому апараті було приділено особливу увагу. Принцип дії балістичного дезінтегратора полягає в інтенсивному перемішуванні дріжджової суспензії з полімерними кульками, що рухаються в потужному полі відцентрових сил /до 1000 /g. Якщо мікробна клітина потрапляє у зону контакту двох подрібнюючих тіл, то вони одночасно впливають на поверхню клітини, і при взаємному проскакуванні мікрокульок клітинна стінка розривається зрізючими зусиллями.

Перш за все, було виявлено, що достатнім ступенем дезінтеграції дріжджової суспензії з метою виділення інвертази в середовищі є 40-60 %. Подальше збільшення ступеня дезінтеграції нецільне, оскільки призводило до інактивації ферменту та погіршення якості /питомої активності/ одержуваного ферментного препарату. Для інтенсифікації процесу були вибрані максимальні параметри балістичної дезінтеграції в даному апараті: швидкість потоку суспензії - близько 2 л/хв, насипний об'єм мікрокульок - 100 мл, частота обертів ротора - 3000 хв<sup>-1</sup>.

Для відпрацювання режимів дезінтеграції у виробничих умовах дріжджову суспензію концентрацією 4-10 % СР, що була одержана за двопродуктовою схемою виробництва спирту на Попівському експериментальному заводі, обробляли в балістичному дезінтеграторі протягом 2, 3, 4 і 5 хв /табл. 2/.

Встановлені оптимальні режими: для 4 %-ної суспензії тривалість дезінтеграції становила 1,0-1,5 хв, для 5 %-ної - 1,5-2,0 хв, для 6 %-ної - 4-5 хв.

Незважаючи на ефективність балістичних методів дезінтеграції, вони мають суттєвий недолік - недостатню для промислового

Таблиця 2

Зміна інвертазної активності дезінтегратів при різних концентраціях і тривалості дезінтеграції /штам У-563/

Концентрація суспензії, % СР	Інвертазна активність, од/мл, при тривалості обробки, хв				
	початкова	2	3	4	5
3,8	42,5	45,0	42,8	38,8	37,0
4,9	60,0	86,8	82,5	76,5	53,5
6,1	77,3	95,0	89,8	80,3	77,3
10,0	85,0	94,8	98,8	101,0	104,0

впровадження продуктивність. Це спонукало нас до досліджень можливості дезінтеграції дріжджової суспензії на дослідних зразках дезінтеграторів ударної дії ДУ-2І та ДУ-95, принцип дії яких полягає в ударах частинок матеріалу, що обробляється, з пальцями дисків роторів, які закріплені на валах електродвигунів. Відносна швидкість пальців дисків, що обертаються у протилежних напрямках, — до 400 м/с. Позитивні результати досліджень /ступінь збільшення активності супернатантів суспензії хлібопекарських і пивних дріжджів становив відповідно 10 та 6,5/ дали підстави для проведення дослідно-промислових випробувань дезінтегратора ударної дії ДЕСІ-42МІ-І, подібного за конструкцією до апаратів ДУ, в умовах Одеського комбінату "Чорномор". Досліджено вплив тривалості обробки суспензії пивних дріжджів на інвертазну активність в супернатанті /табл. 3/. Швидкість потоку суспензії становила 20 л/хв.

Із результатів досліджень випливає, що кількість циклів обробки дріжджової суспензії не повинна перевищувати 3, оскільки при подальшому збільшенні тривалості обробки інвертазна активність супернатанту зменшувалась.

Продуктивність апаратів такого типу /до 80 л/хв/, а також

Таблиця 3

Вплив кількості циклів обробки дріжджової суспензії в апараті ДЕЗІ-42МІ-І та витримування дезінтеграту на інвертазну активність супернатанту

Досліджува- на дріжджо- ва суспензія	Концен- трація дріждж- ів, г/л	Інвертазна активність у супернатанті, од/мл				
		до об- робки	після обробки, кількість циклів			після дез- інтеграції та витри- мування
			І	3	5	
після 3 генерації	260	20,0±0,9	40,2±2,0	65,4±3,1	60,5±2,9	90,0±4,5
після II генерації	275	6,9±0,5	24,3±1,2	43,2±2,0	36,0±1,6	83,0±4,0
із лагерного відділення	400	6,5±0,3	21,1±1,0	24,3±1,0	23,9±0,9	48,0±2,5

ефективність дезінтеграції дріжджової суспензії з метов виділення інвертази в середовище /збільшення активності в супернатанті становило 3,3-6,3 рази/ дозволяє рекомендувати дезінтегратори ударної дії для промислової технології ферментного препарату інвертази.

З метов інтенсифікації процесу виділення інвертази із дріжджів пропонується також застосовувати разом із дезінтеграцією витримування обробленої суспензії при кімнатній температурі в апараті з активним перемішуванням протягом 24 годин. Активність інвертази в супернатанті в цьому випадку суттєво збільшувалась /в експерименті з обробкою в РПА - в середньому в 8 разів/.

У виробничих умовах дріжджову суспензію, що була попередньо оброблена в дезінтеграторі ударної дії, витримували в збірнику з лопатковою мішалкою з частотою обертання 400 хв<sup>-1</sup> при кімнатній температурі протягом 6 годин /табл. 3/.

Таким чином, у виробничих умовах було підтверджено, що витримування протягом 6 годин продезінтегрованої дріжджової суспен-

зі впливає на інвертазну активність супернатанту: в порівнянні із супернатантом обробленої суспензії збільшення активності становило 1,4-2,0 рази, а в порівнянні із супернатантом необробленої суспензії - в 4,5-12,0 разів в залежності від фізіологічного стану дріжджів.

У четвертому розділі "Очищення та концентрування препаратів інвертази" було обгрунтовано вибір типу установки - плоскорамна, а також типу концентрування - ультрафільтраційне. Було виявлено, що, ймовірно, молекули інвертази, всупереч проведеній дезінтеграції, залишилися зв'язаними з уламками клітинних стінок, тому затримувалися найбільш широкопористими мембранами. Було доведено, таким чином, що очищення інвертази можливе лише в концентраті. Досліджено широкий набір мембран різної пористості і продуктивності в залежності від обраного матеріалу. Показано, що із застосованих мембран /УПМ-50, УПМ-55П, ПА-20, ПАН-20, РЦ-100, РЦ-300, АЦ-50, ВПУ-15ПА/ принципово всі відповідають висунутим вимогам. При концентруванні супернатанту дезінтеграту по об'єму в 5-6 разів інвертазна активність в концентраті збільшувалась в 3-4 рази незалежно від типу застосованої мембрани, а втрати з пермеатом не перевищували 0,6 %.

Отже, єдиним чинником для вибору конкретного типу мембрани залишалась вимога якнайбільшої продуктивності, яка характеризує також здатність мембрани взаємодіяти з компонентами суміші, що розділяється. Проведені дослідження показали, що мембрани, продуктивність яких при сталій концентрації суспензії знижувалась поступово /ПА, ПАН, ПС, ПСА/, адсорбують на поверхні та в порах компоненти розчину. Після короткотермінового промивання системи дистильованою водою їх продуктивність відновлювалась лише на 50-70 %, тоді як продуктивність мембран типу РЦ - на 98-100 %. Цей факт, а також найвищий серед досліджуваних мембран рівень продуктивності,

дали підстави обрати для технології інвертази мембрани типу РЦ.

Суттєвий вплив на процес ультрафільтрації справляє обраний робочий тиск. Доведено /рис. 1/, що збільшення робочого тиску оупроводжувалось зростанням продуктивності процесу тільки в певному інтервалі його значень, потім продуктивність набувала стаціонарного значення чи навіть знижувалась, що свідчить про досягнення концентрації гелеутворення, і при подальшому збільшенні робочого тиску він компенсувався збільшенням гідравлічного опору гелевого шару. На основі результатів досліджень обрані такі параметри: на початку процесу тиск має бути 0,1 МПа, при концентруванні у 2 рази його необхідно знизити до 0,075 МПа, при ступенях концентрування більше 4 тиск не повинен перевищувати 0,04 МПа.

Для досліджень процесу діалізації ми використовували мембрану РЦ-100 у порівнянні з мембраною ПС-100 тієї ж пористості. З'ясовано, що при однакових умовах питомий гідравлічний опір шару, що формується на поверхні мембрани ПС-100, дещо вищий, ніж у випадку використання мембрани РЦ-100, тобто щільність утвореного осаду нижча для мембрани із регенованої целюлози. Виходячи з попередніх висновків про те, що мембрана ПС-100 характеризується незворотною сорбцією компонентів розділюваної суміші, для процесу діалізації ми також рекомендуємо мембрану РЦ-100.

Для інтенсифікації процесу очищення препарату від низькомолекулярних домішок було запропоновано спочатку проводити діалізацію незконцентрованих розчинів, а потім ультрафільтраційне концентрування.

Було доведено /табл. 4/, що даний метод забезпечував більш високу продуктивність процесу, що пояснюється фільтрацією менш концентрованих розчинів, внаслідок чого гелеві шари, які формуються на поверхні мембрани, чинять менший гідродинамічний опір потоку. При цьому процес закінчується на 40 хв раніше, ніж діаліза-

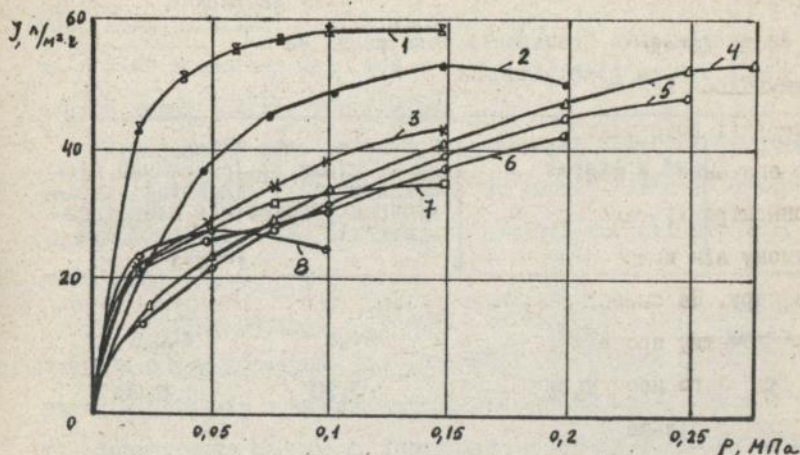


Рис. 1. Залежність продуктивності процесу ультрафільтрації із сталою концентрацією суспензії /2,6 % СР/ від тиску для мембрани РЦ-300 /1/, РЦ-100 /2/, УПМ-50 /3/, ПАН-20 /4/, ПА-20 /5/, ПС-100 /6/, ПАН-100 /7/, ПА-100 /8/.

трація попередньо зконцентрованих препаратів, а питома інвертазна активність майже на 20 % більша, що, звичайно, надає цьому методу суттєвих переваг.

Отже, ми пропонуємо спочатку проводити процес ультрафільтраційного очищення в режимі безперервної діафільтрації 0,5, а потім концентрувати одержаний розчин на тій же установці до 1/20 від початкового об'єму супернатанта.

Отримані таким чином препарати інвертази закладали на зберігання при температурах + 4° та - 10°С. З'ясовано, що через 3 місяці зберігання концентратів при температурі +4°С вони втрачали до 10 % активності, в замороженому вигляді втрати 12 - 20 % активності спостерігалися через 1 рік зберігання. Виявилось також, що препарати інвертази, які були висушені на розпилючій сушарці при

Таблиця 4

Характеристика препаратів, одержаних за двома типами діафільтрації

Показники	Вихідний ферментний препарат	Препарат, одержаний після діафільтрації зконцентрованої суспензії	Препарат, одержаний після діафільтрації незконцентрованої суспензії
Активність інвертази, од/мл	18,0	364,8	446,9
Вміст СР, %	3,85	7,90	8,20
Розчинний білок, мг/мл	15,1	65,0	65,0
Питома активність, од/мг <sub>с</sub>	1,19	5,61	6,88

м'яких режимах, через рік втрачали 15 - 20 % активності, тому рекомендований термін зберігання для висушених препаратів, а також для заморожених концентратів, становить 1 рік, для рідких препаратів, що зберігаються при температурі + 4°С, - не більше 3 місяців.

У п'ятому розділі "Застосування ферментних препаратів інвертази для інверсії сахарози в харчових виробництвах" проілюстрована можливість використання одержаних за пропонованою технологією ферментних препаратів інвертази в безалкогольній і кондитерській промисловості та у виробництві фруктози із меляси. З'ясовано, що повна інверсія 65-67 %-ного розчину сахарози при температурі 52-54°С досягалась за 24 години при питомій витраті ферменту 13-14 од/г сахарози, 76 %-ного розчину - за 96 годин при витраті ферменту 20 од/г сахарози.

Крім того, дослідні, проведені з використанням препарату ін-

вертази в приготуванні помадних цукерок, показали, що за 30 діб зберігання дослідні зразки втратили лише 4,9 % маси, тоді як таке ж саме зменшення маси для контрольних продуктів було відзначене вже через 6,5 діб зберігання.

При дослідженні інверсії сахарози малясового розчину з 25 %-ною концентрацією цукру виявлено, що повний гідроліз сахарози досягався протягом 18-24 годин при питомій витраті ферменту 3-5 од/г сахарози.

У шостому розділі "Розробка технології і апаратурно-технологічна схема установки для одержання ферментних препаратів інвертази із дріжджів з використанням дезінтеграторів" описана технологія ферментного препарату інвертази із дріжджів спиртового бродіння, одержаних за двопродуктовою схемою, та із надлишкових дріжджів пивоварного виробництва. За даними технологіями складено дослідно-промисловий і технологічний регламенти.

Виробництво ферментного препарату інвертази включає такі основні стадії: приготування дріжджової суспензії; обробка дріжджової суспензії в дезінтеграторі ударної дії; витримування дріжджового дезінтеграту; відділення супернатанту дезінтеграту від осадку зруйнованих дріжджів; діафільтраційне очищення та ультрафільтраційне концентрування супернатанту дезінтеграту; розфасовування препаратів інвертази /рис. 2/.

Кінцевий продукт має активність інвертази не менше 500 од/мл. Його хімічний склад відповідає таким вимогам /в перерахунку на АСР/: для препарату із дріжджів спиртового бродіння: білок - не менше 40, вуглеводи - не менше 15, зола - не більше 7 %; для препарату із дріжджів пивоварного виробництва: білок - не менше 45, вуглеводи - не менше 15, зола - не більше 15 %.

Відхід виробництва - дріжджова паста - може бути використана як сировина для одержання харчових білкових концентратів /за тех-

ІІІБ ім. В. Стефаніка  
АН України

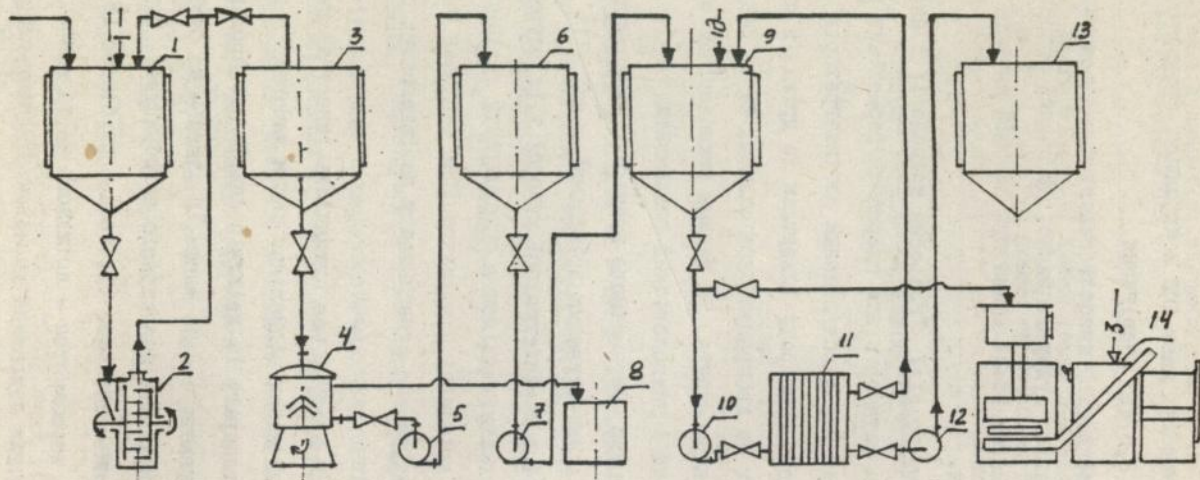


Рис. 2 Апаратурно-технологічна схема установки для виробництва інвертази: збірники дріжджової суспензії /1/, дезінтегратор /2/, сепаратор /4/, насоси /5, 7, 10, 12/, ультрафільтраційна установка /11/, фасувальний автомат /14/.

нологією із дріжджів спиртового бродіння/. Пермеат після ультра-фільтрації може бути сировиною для одержання вітамінів групи В.

### ОСНОВНІ ВИСНОВКИ

Результатом виконаної роботи є розробка науково обгрунтованої технології ферментного препарату інвертази із дріжджів спиртового та пивоварного виробництва з використанням дезінтеграторів ударної дії. Основні результати /дезінтеграція дріжджової суспензії в балістичному дезінтеграторі ФУІ-І та в промислових зразках дезінтеграторів ударної дії/ підтвержені актами промислових випробувань на Попівському експериментальному заводі та на Одеському пиво-безалкогольному комбінаті "Чорномор".

Із одержаних результатів роботи можна зробити такі основні висновки:

1. Враховуючи високий рівень інвертазної активності хлібопекарських та пивних дріжджів, можливість достатньо ефективної їх дезінтеграції з метою вилучення інвертази в середовище, а також, виходячи з вимог створення безвідходних виробництв, як сировину в технології ферментного препарату інвертази доцільно використовувати дріжджі роду *Saccharomyces* спиртового виробництва штампів У-563 і У-1330, а також надлишкові пивні дріжджі після їх використання в основному виробництві.

2. Оптимальним ступенем дезінтеграції дріжджової суспензії в технології інвертази є 40-60 %. Цьому значенню при балістичній дезінтеграції відповідають такі величини: насипний об'єм мікрокульок - 100 мл, частота обертання ротора -  $3000 \text{ хв}^{-1}$ , швидкість потоку /максимальна/ - 1,5-2,0 л/хв, концентрація суспензії - 6-8 % СР, тривалість обробки - 2-4 хв. При дезінтеграції в апаратах ударної дії типу ДЕЗІ кількість циклів обробки дріжджової суспензії при частоті обертання роторів  $2880 \text{ хв}^{-1}$  не повинна пе-

ревищувати 3.

3. При витримуванні дріжджового дезінтеграту при кімнатній температурі інвертазну активність супернатанту в експерименті вдається збільшити в середньому у 4 рази за 24 години, у виробничих умовах – 1,4–2,0 рази за 6 годин.

4. Після ультрафільтраційної очистки та концентрування, які здійснюються в установці плоскорамного типу з мембраною РЦ-100 при робочому тиску від 0,1 до 0,04 МПа і з кратністю діалізації 0,5, інвертазна активність одержуваного препарату становить не менше, ніж 500 од/мл.

5. При зберіганні рідких концентрованих препаратів інвертази при температурі + 4°C термін зберігання складає не більше 3 місяців, в замороженому вигляді – до 1 року. При зберіганні висушених препаратів інвертази при температурі +4°C рекомендований термін зберігання – не більше 1 року.

6. При використанні одержаного препарату для повного гідролізу сахарозних розчинів необхідно 13–14 одиниць активності інвертази на 1 г сахарози при витримуванні суміші протягом 24 год при температурі 52–54°C для 65–67 %-ної концентрації сахарози; 20 од/г сахарози при тривалості інверсії 96 год для 76 %-ної концентрації сахарози; 3–5 од/г – при тривалості інверсії 18–24 год для 25 %-ної концентрації сахарози.

При зберіганні помадних дукерок, які виготовлені з використанням ферментного препарату інвертази, втрата маси, що спостерігається після 6–7 -добового зберігання контрольних зразків, відзначена після 30 діб.

На основі одержаних даних складений дослідно–промисловий /із дріжджів спиртового виробництва/ і технологічний /із надлишкових пивних дріжджів/ регламенти виробництва ферментного

препарату інвертази.

Видано завдання на проектування дослідно-промислової установки для виробництва ферментного препарату інвертази на Попівському експериментальному заводі.

Результати досліджень дисертаційної роботи використані в проекті цеху виробництва фруктози потужністю 20 т на добу.

Економічний ефект від впровадження ферментолізу для інверсії сахарози у виробництві безалкогольних напоїв складатиме 24,1 млн грн на 1000 дал напоїв / в цінах 1995 р./.

Основний зміст роботи викладено в таких публікаціях:

1. Получение ферментных препаратов инвертазы / Л.В.Маринченко, В.К.Янчевский, М.Т.Брык и др. // Химия и технология пищевых продуктов : Сб. науч. трудов ВНИИПЦД, вып. 4. - Киев, 1992. - С. 41 - 51.

2. Критерии степени дезинтеграции дрожжей / Л.В.Маринченко, Н.И.Смирнова, Е.К.Вовнянко и др. // Там же. - С. 132 - 135.

3. А.с. № 1551734 /СССР/, МКІ С 12 N 1/18 /С 12 R I:865/  
Штами дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, используемый для производства хлебопекарных дрожжей / Л.В.Кислая, Р.И.Чипчар, Л.В.Маринченко и др. - Оpubл. 22.II.1989.

4. Патент Украины № 5681, МКІ<sup>5</sup> С 12 P 25/00/. Способ получения рибофлавина / О.Н.Науменко, В.Н.Головченко, В.К. Янчевский, Л.В.Маринченко, В.В.Рудая. - Приоритет от 15.01.1990.

5. Заявка на патент Украины № 940276042 от 04.07.1994.  
МКІ<sup>5</sup> С 12 N 9/16. Способ получения ферментного препарата инвертазы / Л.В.Маринченко, Е.К.Вовнянко, В.К.Янчевский, Р.Р.Нигматуллин, М.Т.Брык.

6. Возможность получения технических препаратов инвертазы

из дрожжей-сахаромицетов / Л.В.Маринченко, В.П.Антонюк, Е.К.Вовнянко, В.К.Янчевский, С.В.Дворник // Химические превращения пищевых полимеров : Тез. докл. Всесоюз. конф., 21-23 апреля 1991 г., г. Светлогорск. - Светлогорск, 1991. - С.65.

7. Использование инвертазы пивных дрожжей для приготовления инвертных сахарных сиропов / Л.В.Маринченко, Т.А.Королюк, Л.В.Кислая // Разработка и внедрение высокоэффективных ресурсосберегающих технологий, оборудования и новых видов пищевых продуктов в пищевую и перерабатывающую отрасли АПК : Тез. докл. Респ. научно-техн. конф., 24-26 сент. 1991 г., г.Киев. - Киев, 1991.- С.168.

8. Использование баромембранных процессов в технологии комплексной переработки дрожжей-сахаромицетов / Е.К.Вовнянко, Л.В.Маринченко, В.П.Антонюк и др. // Там же. - С.132.

9. Дезинтеграторная технология в приготовлении инвертных сахарных сиропов / Л.В.Маринченко, Л.В.Кислая, Т.А.Королюк, В.М.Ушаков // Тез. докл. VIII Всесоюз. семинара по дезинтеграторной технологии, 1-3 окт. 1991 г., г.Киев. - Киев, 1991. - С.89.

10. Применение мембранной технологии в комплексной переработке дрожжей-сахаромицетов / В.К.Янчевский, В.П.Антонюк, Л.В.Маринченко и др. // Мембраны и мембранная технология : Тез. докл. II респ. конф., 25-27 ноября 1991 г., г.Киев. - Киев, 1991. - С. 113.

11. Использование мембранной технологии при получении препаратов бета-фруктофуранозидазы из дрожжей-сахаромицетов / Л.В.Маринченко, Е.К.Вовнянко, С.Н.Шалабанов, В.К.Янчевский // Там же. - С. 130.

12. Отримання рідкого препарату інвертази в відходів пивоварного виробництва / Л.В.Маринченко, Т.А.Королюк, О.В.Кисельова та ін. // Розробка та впровадження нових технологій і обладнання у харчову та переробну галузі АПК : Тез. доп. Міжн. наук.-

техн. конф., 19-21 жовтня 1993 р., м.Київ. - Київ, 1993. - С.186-187.

## А Н Н О Т А Ц И Я

Маринченко Л.В. Разработка технологии ферментного препарата инвертазы с применением дезинтеграторов.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.19 - Процессы биологической переработки пищевых продуктов. Украинский государственный университет пищевых технологий, Киев, 1996.

Защищается 12 научных работ, в том числе 1 авторское свидетельство СССР на изобретение, 1 Патент и 1 заявка на Патент Украины, которые содержат научные исследования процессов выделения инвертазы при дезинтеграции суспензии хлебопекарных и пивных дрожжей, ультрафильтрационной очистки и концентрирования супернатанта дезинтеграта, а также результаты экспериментальных исследований. Установлено, что в технологии ферментного препарата инвертазы целесообразно использовать дезинтеграторы ударного действия, дрожевой дезинтеграт выдерживать при перемешивании в течении 6 - 8 часов, а отделенный от осадка супернатант концентрировать и очищать в ультрафильтрационной установке плоскореального типа с использованием мембраны РЦ-100. Осуществлены промышленные испытания выделения инвертазы из клеток в аппаратах ударного действия. Разработан опытно-промышленный регламент технологии ферментного препарата инвертазы.

Ключевые слова: инвертаза, хлебопекарные и пивные дрожжи, дезинтеграторы ударного действия, ультрафильтрация, диафильтрация, инверсия.

LOLITA V. MARINCHENKO

THE WORKING OUT OF INVERTASE FERMENT PREPARATION TECHNOLOGY  
WITH APPLICATION OF DISINTEGRATORS.


The master's thesis by speciality 05.18.19 -Biological processing of food products. Ukrainian State University of Food Technology, Kyiv, 1996.

The thesis contain investigations on invertase isolation from baker's and brewer's yeast: disintegration, ultrafiltrative purification and concentration of disintegrate suspension supernatant. The exploitation of disintegrators of percussion action is determined as the best method for the invertase technology.

Proposed: to hold the disintegrate suspension in the 6-8 hours term with mixing; to use the flat-frame plant with RC-100 membrane for the ultrafiltrative purification and concentration.

The industrial test was carried out.

The key words: invertase, baker's and brewer's yeast, disintegrators of percussion action, ultrafiltration, diafiltration, inversion.



Підп. до друку 12.05.96. Формат 60x84/16. Папір друку. Друк. офс.  
Друк. офс. Умовн. друк. арк. 14. Обл.-вид. арк. 10. Тир. 100.  
Зам. 6-1363

Київська книжкова друкарня наукової книги. Київ, Б. Хмельницького, 19.



AB 34.918  
**AB 34.918**