

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет технології виробництва і переробки продукції тваринництва,
стандартизації та біотехнології

Кафедра генетики, годівлі тварин та біотехнології

ПРОМИСЛОВА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Методичні рекомендації

для виконання лабораторно-практичних занять для здобувачів
ступеня вищої освіти «бакалавр» спеціальності 162
«Біотехнологія та біоінженерія» денної форми навчання

МИКОЛАЇВ

2016

УДК 631.147
ББК 30.16
Л 65

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету технології виробництва і переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології від 21 квітня 2016 р., протокол № 8

Укладачі:

А. В. Лихач – канд. с.-г. наук, доцент кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології, Миколаївський національний аграрний університет.

Рецензенти:

І. Ю. Горбатенко – д-р біол. наук, професор, професор кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології, Миколаївський національний аграрний університет;

Т. О. Куценко – начальник виробничої лабораторії та мікробіологічного відділу, ТОВ «Миколаїврибпром».

© Миколаївський національний
аграрний університет, 2016

З М І С Т

	стор.
Вступ	4
Загальні правила техніки безпеки в лабораторії на заняттях з промислової біотехнології	5
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 1. Значення промислової біотехнології як науки	11
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 2. Складові елементи біотехнологічних процесів	17
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 3. Класифікація продуктів мікробного синтезу	32
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 4. Характеристика пеніциліну	34
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 5. Промислове виробництво амінокислот	51
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 6. Промислове виробництво пробіотиків	55
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 7. Промислове виробництво хлібопекарських дріжджів	63
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 8. Промислове виробництво цукрових кондитерських виробів	70
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 9. Промислове виробництво борошняних кондитерських виробів	77
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 10. Промислове виробництво макаронних виробів	81
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 11. Технологія бродильних виробництв. Технологія солоду	84
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 12. Технологія бродильних виробництв. Технологія пива	89
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 13. Технологія бродильних виробництв. Технологія вина	93
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 14. Технологія бродильних виробництв. Технологія спирту	97
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 15. Технологія бродильних виробництв. Технологія горілки і лікero-горілочаних виробів	100
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 16. Технологія виробництва безалкогольних напоїв	103
ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНА РОБОТА № 17. Технологія виробництва рибних консервів	106
Список використаної літератури	112

ВСТУП

Промислова біотехнологія є однією з основних розділів біотехнології, інтегральною областю науки і техніки, яка спирається на теоретичні та методичні положення молекулярної біології і генетики, мікробіології, біохімії, фізіології і цитології, а також використовує прогресивні хімічні технології.

Предметом промислової біотехнології та об'єктами є високопродуктивні штами мікроорганізмів – продуцентів (представники різних фізіологічних і таксономічних груп, які відрізняються як за типом метаболізму, так і за типом живлення), а також загальні принципи біотехнологічних процесів.

Незважаючи на велику різноманітність агентів, що здійснюють біотехнологічні маніпуляції, основними об'єктами біотехнології в наш час є мікроорганізми. Мікроорганізми використовуються для біосинтезу важливих метаболітів (амінокислот, органічних кислот, ферментів, екзополісахаридів, лектинів, поверхнево-активних речовин, вітамінів, стимуляторів росту, гормонів); одержання білкових продуктів, пробіотиків, добрив (препарати на основі біомаси); одержання біогазу; вилюговування металів із руд; трансформації речовин (синтез стероїдів, ефедрину, виробництво напівсинтетичних пеніцилінів).

Метою вивчення дисципліни є оволодіння студентами знанням та умінням про основні біотехнологічні процеси, що використовуються для отримання різних біологічно-активних сполук, про принципи та методи конструювання об'єктів біотехнології, культивування окремих штамів промислових мікроорганізмів, методами підбору біологічних агентів для отримання окремих продуктів, основ управління процесами культивування мікроорганізмів, контролю якості отриманого продукту, напрямків застосування продуктів біотехнології, визначення їх екологічної безпеки, особливо створених на основі генетично модифікованих мікроорганізмів.

В результаті вивчення дисципліни студент повинен знати: основні терміни промислової біотехнології; історію, сутність, значення, проблеми і перспективи розвитку промислової біотехнології; типову схему біотехнологічного виробництва, способи культивування продуцентів; методи і умови культивування ізолюваних тканин і клітин рослин для отримання біологічно-активних речовин рослинного походження; принципи дії і конструкції біореакторів; принципи біосинтезу ферментних, бактеріальних препаратів для захисту рослин, бактеріальних добрив і антибіотиків.

ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ В ЛАБОРАТОРІЇ НА ЗАНЯТТЯХ З ПРОМИСЛОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

1. Працювати в лабораторії необхідно в халаті, захищаючи одяг і шкіру від попадання і роз'їдання реактивами та обсіменіння мікроорганізмами.
2. Кожен повинен працювати на закріпленому за ним робочому місці. Перехід на інше місце без дозволу викладача не допускається.
3. Робоче місце слід підтримувати в чистоті, не обтяжувати його посудом і побічними речами.
4. Студентам забороняється працювати в лабораторії без присутності викладача або лаборанта, а також у невстановлений час без дозволу викладача.
5. До виконання кожної лабораторної роботи можна приступити тільки після отримання інструктажу з техніки безпеки і дозволу викладача.
6. Приступаючи до роботи, необхідно: усвідомити методику роботи, правила її безпечного виконання; перевірити відповідність взятих речовин тим речовинам, які вказані у методиці роботи.
7. Дослід необхідно проводити в точній відповідності з його описом в методичних вказівках, особливо дотримуватися черговості додавання реактивів.
8. Для виконання досліду користуватися тільки чистим, сухим лабораторним посудом; для відмірювання кожного реактиву потрібно мати мірний посуд (піпетки, бюретки, мензурку, мірний циліндр або мірний стакан); не слід виливати надлишок налитого в пробірку реактиву назад у тару, щоб не зіпсувати реактив.
9. Якщо в ході досліду потрібно нагрівання реакційної суміші, треба слідувати передбаченим методичним вказівкам способу нагрівання: на водяній бані, на електроплитці або на газовому пальнику тощо. Леткі горючі речовини небезпечно нагрівати на відкритому вогні.
10. Пролиті на підлогу і стіл хімічні речовини знешкоджують і прибирають під керівництвом лаборанта (викладача) у відповідності з правилами.
11. При роботі в лабораторії слід дотримуватися таких вимог: виконувати роботу потрібно акуратно, сумлінно, уважно, економно, бути спостережливим, раціонально і правильно використовувати час, відведений для роботи.
12. По закінченні роботи слід привести в порядок своє робоче місце: помити посуд, протерти поверхню робочого лабораторного столу, закрити водопровідні крани, вимкнути електричні прилади.

Правила техніки безпеки в лабораторії при роботі з кислотами і лугами

1. Кислоти і луги в більшості відносяться до речовин підвищеного

класу небезпеки і здатні викликати хімічні опіки та отруєння. Тому необхідно уважно стежити за тим, щоб реактиви не потрапляли на обличчя, руки та одяг.

2. Не ходити по лабораторії з концентрованими кислотами і лугами, а наливати їх тільки у відведеному для цього місці.

3. Розливати концентровану азотну, сірчану і соляну кислоти слід тільки при включеній вентиляції у витяжній шафі.

4. Забороняється набирати кислоти і луги у піпетку ротом. Для цього слід застосовувати гумову грушу та інше обладнання для відбору проб.

5. Для приготування розчинів сірчаної, азотної та інших кислот необхідно їх доливати до води тонким струменем при безперервному перемішуванні, а не навпаки. Приливати воду в кислоти забороняється!

6. Розчиняти тверді луги слід шляхом повільного додавання їх невеликими шматочками до води при безперервному перемішуванні. Шматочки лугу потрібно брати тільки щипцями.

7. При змішуванні речовин, яке супроводжується виділенням тепла, необхідно користуватися термостійким товстостінним скляним або фарфоровим посудом.

8. Розлиті кислоти або луги необхідно негайно засипати піском, нейтралізувати, і тільки після цього проводити прибирання.

9. При попаданні на шкіру або одяг кислоти, треба змити її великою кількістю води, а потім 3-5% розчином питної соди або розведеним розчином аміаку.

10. При попаданні на шкіру або одяг лугу, після змивання її великою кількістю води, потрібно провести обробку 2-3% розчином борної, лимонної або оцтової кислоти.

11. Речовини, фільтри, папір, використані при роботі, слід викидати в спеціальне відро, концентровані розчини кислот і лугів також зливати в спеціальний посуд.

Правила техніки безпеки в лабораторії з легкозаймистими і горючими рідинами (ЛЗР та ГР)

1. Всі роботи з ЛЗР і ГР повинні здійснюватися у витяжній шафі при включеній вентиляції, відключених газових проводках і електронагрівальних приладів.

2. Забороняється нагрівати на водяних банях речовини, які можуть вступати між собою в реакцію, що супроводжується вибухом або виділенням парів і газів.

3. При випадковому проливанні ЛЗР (сірковуглець, бензин, діетиловий ефір тощо), а також при втратах горючих газів необхідно негайно відключити всі джерела відкритого вогню, електронагрівальні прилади.

4. Посудини, в яких проводилися роботи з ЛЗР та ГР, після закінчення досліджень повинні бути негайно звільнені від решти рідини і промиті.

5. Досліди з отруйними речовинами та речовинами, які мають сильно

виражений запах, можна проводити тільки у витяжній шафі.

6. При гасінні бензину, спирту, ефіру, користуватися піском, яким слід засипати на спалахнуле полум'я.

7. При розпізнаванні газу за запахом, що виділяється, нюхати газ потрібно тільки на певній відстані, направляючи його струмінь рухом руки від судини до себе.

Правила техніки безпеки в лабораторії з побутовим газом, спиртівкою і сухим пальником

1. У зв'язку з небезпекою вибуху газоповітряної суміші, застосування побутового газу для нагріву в лабораторіях допускається в крайніх випадках, коли відсутні електронагрівальні прилади.

2. Перед запалюванням спиртівки потрібно переконатися, що корпус її виправлений, гніт випущений на потрібну висоту і розгорнутий, а горловина і держак гніта сухі.

3. Запалену спиртівку не переносити з місця на місце; не можна запалювати одну спиртівку від іншої.

4. Гасити спиртівку треба накриваючи полум'я ковпачком. Задувати полум'я забороняється.

5. У спиртівці використовується тільки етиловий спирт; користуватися бензином або іншими горючими рідинами забороняється.

6. Брикети (таблетки) сухого пального іноді можуть використовуватися для нагріву. Запалювати їх слід на керамічних пластинках, гасити - ковпачками для спиртівок або керамічними тиглями. Брикети, які не догоріли, після гасіння треба прибрати у витяжну шафу.

7. Нагрівання реакційних сумішей в пробірках та інших скляних посудинах потрібно проводити обережно, попередньо насухо витерти зовнішні стінки судини і, не допускаючи розбризкування суміші з посудини. Горловина посудини повинна бути спрямована в бік, як від себе, так і від тих, хто працює поруч. Пробірку слід тримати під нахилом. Не можна нахилитися над рідиною, яка нагрівається, тому що іноді вона може википати з посудини. При нагріванні пробірки над спиртівкою необхідно використовувати спеціальний тримач для пробірок.

8. При виникненні пожежі, насамперед треба вимкнути усі нагрівальні прилади, потім гасити полум'я. Його не можна задувати. Якщо горять органічні речовини, не слід заливати полум'я водою. Використовуйте пісок, пожежні ковдри, вогнегасники (краще вуглекислотні).

9. При незначних опіках (гарячими предметами, речовинами або парою) місце опіку необхідно обробити спиртом або міцним розчином перманганату калію, а при більш тяжких опіках слід негайно звернутися до лікаря.

Правила техніки безпеки в лабораторії з хімічним посудом

1. Основним травматичним фактором, який пов'язаний з

використанням скляного посуду, апаратів і приладів, є гострі осколки скла, що здатні викликати порізи тіла працюючого, а також опіки рук при необережному поводженні з нагрітими до високої температури частинами скляного посуду.

2. Розмішувати реакційну суміш в посудині скляною паличкою або шпателем треба обережно, не допускаючи розлому судини. Тримати посудину при цьому необхідно за її горловину.

3. Переносячи посудини з гарячою рідиною, треба тримати їх двома руками: однією - за дно, іншою - за горловину, використовуючи при цьому рушник (щоб уникнути опіків кистей і пальців рук).

4. При закриванні товстостінної посудини пробкою слід тримати її за верхню частину горловини. Нагрітий посуд не можна закривати притертою пробкою поки він не охолоне.

5. У дослідах з нагріванням необхідно користуватися посудом, яка має відповідне маркування.

6. У разі порізу склом потрібно спочатку уважно оглянути рану і витягти з неї осколки скла, якщо вони є, а потім обмити поранене місце 2% розчином перманганату калію, змастити йодом і зав'язати бинтом або заклеїти лейкопластиром.

Правила техніки безпеки в лабораторії з електрообладнанням та електроприладами

1. Хімічні лабораторії (включаючи біохімічні та мікробіологічні) згідно зі ступенем небезпеки ураження електричним струмом відносяться до приміщень з підвищеною або особливою небезпекою, яка обумовлена можливістю впливу на електрообладнання хімічно активних середовищ.

2. Усі роботи, пов'язані із застосуванням електроприладів повинні проходити під наглядом викладача (лаборанта).

3. При роботі з водяною лазнею не можна пробувати ступінь нагріву води рукою.

4. При несправності в роботі електроприладу (наприклад, підсвічування в мікроскопі) необхідно звернутися до викладача. Лагодити самостійно прилади забороняється.

5. При ураженні електричним струмом, якщо потерпілий залишається в зіткненні з струмоведучими частинами, необхідно негайно вимкнути струм за допомогою пускача або вивернути охоронну пробку або перерубати струмопровідний провід ізольованим інструментом. До постраждалого, поки він знаходиться під струмом, не можна торкатися незахищеними руками (без гумових рукавичок). Якщо потерпілий втратив свідомість, після вимикання струму потрібно негайно, не чекаючи лікаря, робити штучне дихання.

Правила техніки безпеки в лабораторії при роботі з реактивами

1. Якщо до роботи не надано вказівок щодо дозування реактивів, то

брати їх для проведення дослідів необхідно в можливо меншій кількості (економія матеріалів і часу, який витрачається на дослід).

2. Надлишок реактиву можна висипати і виливати назад в посудину, з якої він був узятий.

3. Після витрачання реактиву банку або склянку необхідно відразу закрити пробкою і поставити на місце.

4. Сухі реактиви брати з допомогою лопаток, пластмасових або металевих шпатель. Шпатель повинен бути завжди сухим і чистим. Після використання слід його ретельно обтерти.

5. Коли реактив відбирається піпеткою, ні в якому разі не можна тією ж піпеткою, не вимивши її, брати реактив з іншої ємності.

6. При наливанні реактивів не можна нахилятися над посудиною, запобігаючи потрапляння бризок на обличчя або одяг.

7. Не можна тримати банку або склянку з реактивом, яку потрібно відкрити, тримаючи в руках, її треба поставити на лабораторний стіл і тільки після цього відкривати.

Правила техніки безпеки в лабораторії при роботі з біооб'єктами

1. Необхідно чітко виконувати інструкції до лабораторних занять.
2. У лабораторії забороняється приймати їжу, пити воду.
3. Роботу з біологічним матеріалом проводити тільки інструментами.
4. При випадковому потрапленні біологічного матеріалу (особливо мікроорганізмів) на стіл, руки, потрібно провести обробку дезінфекційним розчином (наприклад, хлораміном).
5. Після роботи необхідно ретельно вимити руки з використанням дезінфекційних засобів (детергентів).

Заходи першої допомоги при отруєннях неорганічними речовинами:

Азотною кислотою. Свіже повітря, спокій, тепло. Вдихання кисню. Сульфадимезін чи інший сульфаніламідний препарат (2 г), аскорбінова кислота (0,5 г), кодеїн (0,015 г). Штучне дихання. Консультація лікаря.

Сірчаною кислотою. Свіже повітря. Промити верхні дихальні шляхи 2% розчином питної соди. У ніс - 2-3 краплі 2% розчину ефедрину. Тепле молоко з содою, кодеїн (0,015 г) або діонін (0,01 г). При попаданні в органи травлення змастити слизову рота 2% розчином дикаїну. Промивання шлунка великою кількістю води. Всередину прийняти: столову ложку оксиду магнію на склянку води кожні 5 хвилин, яєчний білок, молоко, крохмальний клейстер, шматочки вершкового несолоного масла, шматочки льоду. Не можна викликати блювоту і застосовувати карбонати. Консультація лікаря.

Лугами. Вдихання теплої водяної пари (у воду додати трохи лимонної кислоти). Всередину – тепле молоко з медом, кодеїн (0,015 г) або діонін (0,01 г). Гірчичники. При попаданні в органи травлення змастити слизові оболонки рота і горла 1% розчином новокаїну. Всередину - по столовій ложці 1%

розчину лимонної кислоти кожні 3-5 хвилин, крохмальний клейстер з додаванням лимонної або оцтової кислоти, 2-3 столові ложки рослинної олії, шматочки льоду. Консультація лікаря.

Заходи першої допомоги при отруєннях органічними речовинами:
Ефіром, хлороформом, спиртом. Свіже повітря. Всередину 0,03 г фенаміну або 0,1 г коразол, або 30 крапель кордіаміну, або 0,5 г камфори. Штучне дихання і вдихання кисню.

Лабораторна робота № 1

Значення промислової біотехнології як науки

Промислова біотехнологія - наука про наукові і прикладні принципи застосування мікроорганізмів або рослинних чи тваринних клітин для створення корисних продуктів або процесів. Мікроорганізми, що використовують для цієї мети можуть бути природними ізолятами, селекційними мутантами, отриманими в лабораторії або генетично модифікованими за допомогою методу рекомбінантних ДНК. Поняття «Промислова біотехнологія» та «промислова мікробіологія» часто вживаються однаково.

Основні властивості, які дозволяють використовувати мікроорганізми в промисловій біотехнології:

- *малі розміри* (розміри мікроорганізмів вимірюються в мкм, $1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м}$, нм, $1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м}$);

- *висока швидкість обмінних процесів*. Це пов'язано з великим відношенням поверхні обміну до об'єму клітини. Для мікроорганізмів вся поверхня клітини є поверхнею обміну. Оскільки клітини бактерій мають найменші розміри порівняно з дріжджами та іншими грибами, вони ростуть і розвиваються швидше. У свою чергу, швидкість обмінних процесів у мікроорганізмів в десятки і сотні тисяч разів вищі, ніж у тварин.

- *пластичність обміну* – висока здатність до адаптації (приспосовуванню до нових умов існування). Велика гнучкість обмінних процесів у мікроорганізмів пояснюється їх здатністю синтезувати адаптивні ферменти, тобто ферменти, які утворюються в клітині тільки за наявності в середовищі відповідних речовин;

- *високий ступінь мінливості*. Вищий ступінь мінливості мікроорганізмів в порівнянні з макроорганізмами пов'язаний з тим, що більшість мікроорганізмів є одноклітинними організмами. На окрему клітину впливати легше, ніж на організм, що складається з безлічі клітин.

Високий ступінь мінливості, швидкий ріст і розвиток, висока швидкість обмінних процесів, утворення численного потомства – всі ці властивості мікроорганізмів роблять їх надзвичайно зручними об'єктами для промислової біотехнології.

Завдання, які вирішують розуміння біотехнологічних виробництв:

1. Знання властивостей мікроорганізмів дозволяє своєчасно вживати заходи, направлені на *запобігання росту і розвитку патогенних мікроорганізмів* при виробництві, транспортуванні харчових продуктів. Це створює передумови для підвищення біологічної стійкості харчової продукції в процесі зберігання.

2. Виділення чистих культур з різних об'єктів навколишнього середовища, їх селекція, отримання високопродуктивних мутагенних штамів, оптимізація основних параметрів культивування мікроорганізмів дозволяють *інтенсифікувати технологічні процеси*, засновані на життєдіяльності

корисної мікрофлори. У свою чергу, підвищення активності технічно корисних мікроорганізмів сприяє пригніченню шкідливої мікрофлори і поліпшенню якості харчових продуктів.

3. Одним з основних завдань біотехнологічних виробництв є забезпечення *випуску продуктів харчування, безпечних для здоров'я споживачів*. Для цього необхідно знати мікробіологічні критерії безпеки різних груп харчових продуктів і уміти проводити мікробіологічний контроль відповідно до санітарно-епідеміологічних правил і нормативів.

Завдяки вивченню властивостей мікроорганізмів стало можливим *створення* технологічних процесів, які дозволяють отримати невелику кількість відходів (*безвідходні технології*), або в основі яких лежать замкнуті цикли, коли всі відходи повністю переробляються або використовуються на подальших стадіях виробництва.

Таким чином, за допомогою промислової біотехнології успішно розв'язуються питання, пов'язані з охороною навколишнього середовища.

Практичне впровадження здобутків промислової біотехнології

Біотехнологічні напрями мають на меті створення і практичне впровадження (тобто практичне використання):

- нових біологічно активних речовин і лікарських препаратів, що використовуються в охороні здоров'я для діагностики, профілактики і лікування різних захворювань;
- біологічних засобів захисту сільськогосподарських рослин від збудників захворювань і шкідників, бактерійних добрив і регуляторів зростання рослин і тварин; нових сортів рослин, стійких різного роду несприятливим діям (чинникам зовнішнього середовища); нових порід тварин з корисними властивостями (трансгенні тварини);
- цінних кормових добавок для підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин (кормового білка, амінокислот, вітамінів, ферментів, сприяючих підвищенню засвоюваності кормів, і т. п.);
- нових біоінженерних методів для отримання високоефективних препаратів різного призначення, використовуваних в сільському господарстві і ветеринарії;
- нових технологій створення і отримання господарсько-цінних продуктів для харчової, хімічної і мікробіологічної промисловості;
- ефективних технологій переробки сільськогосподарських, промислових та побутових відходів для отримання продуктів, які можуть використовуватися в інших галузях господарської діяльності людини (наприклад, біогазу, добрив, палива для автомобілів і т.п.).
- ефективних технологій переробки сільськогосподарських, промислових і побутових відходів для отримання продуктів, які можуть використовуватися в інших галузях господарської діяльності людини (наприклад, біогазу, добрив, палива для автомобілів і т.п.).

Саме собою зрозуміло, що такі комплексні завдання вимагають

інтеграції різних галузей наукових і технічних знань і характеризують біотехнологію як ряд перспективних технологій, які знайдуть застосування в найрізноманітніших індустріальних напрямках.

Інтеграція біології, хімії і інженерних прийомів в біотехнології здійснюється таким шляхом, щоб забезпечити максимальне використання потенційних можливостей всіх вхідних в неї областей знань. Та все ж, не дивлячись на комплексність біотехнології, її не можна розглядати як щось єдине ціле, на зразок мікроелектроніки. Швидше вона повинна розглядатися як ряд перспективних технологій, поєднання яких постійно варіюватимуться залежно від конкретних практичних завдань.

Біотехнологія – міждисциплінарна область науково-технічного прогресу, що виникла на стику біологічних, хімічних і технічних знань і покликана до створення нових біотехнологічних процесів, які в більшості випадків здійснюватимуться при низьких температурах, вимагають невеликої кількості енергії і базуються переважно на дешевих субстратах, що використовуються як первинна сировина.

Цілком обґрунтовано припускати, що швидкість практичного використання біотехнологічних досягнень у меншій мірі визначатиметься науковими і технічними умовами, а більше залежатиме від таких чинників, як капіталовкладення зацікавлених галузей промисловості, поліпшення технологічних схем, ринкових ситуацій і економічності нових методів в порівнянні з недавно впровадженими технологіями іншого типу.

Галузі промисловості, з якими конкуруватиме біотехнологія, включають виготовлення їжі для людей і тварин, створення і виробництво нових матеріалів, покликаних замінити ті, що виготовляються за допомогою нафтохімії, створення альтернативних джерел енергії, розробку технології безвідходних виробництв, контроль і усунення забруднень і сільське господарство. Звичайно, біотехнологія революціонізувала і багато розділів медицини, ветеринарії і фармацевтичної промисловості.

Наступним чинником, що сприяє ріст інтересу до біотехнології, є сучасний світовий спад в хімічних та інженерних напрямках, обумовлений частковим виснаженням джерел енергії. Через це біотехнологія розглядається як один з найважливіших засобів *рестимуляції* (оновлення) економіки на основі нових методів, нової технології і нових сировинних матеріалів. Фактично, індустріальний бум 1950-х і 1960-х років був обумовлений дешевою нафтою, так само як успіхи в інформаційній технології зумовили в 1970-х і 1980-х роках розвиток мікроелектроніки. І є підстави вважати, що 2000-і роки стали епохою біотехнології. В усякому разі, в світі наголошується істотний підйом досліджень у області молекулярної біології, виникнення нових біотехнологічних компаній, збільшення інвестицій в біотехнологічні галузі промисловості (як національними компаніями, так і окремими особами), а також зростання фундаментальних знань, збільшення кількості джерел інформації і засобів інформатики.

В даний час біотехнологія є біоіндустрією, яка включає, з одного боку, галузі, в яких біотехнологічні методи можуть з успіхом замінити традиційні

методи, що широко використовуються, а з іншою – галузі, в яких біотехнологія грає провідну роль.

Розробка біотехнологічних процесів пов'язана з великими капіталовкладеннями. Впровадження новітніх біотехнологій є доцільним і перспективним у разі, якщо цільовий продукт не може бути одержаний іншими способами або може бути одержаний у недостатніх кількостях, за вищою ціною. Дослідження в цьому напрямку в основному зосереджені на виробництві фармакологічних препаратів, діагностиків.

В Україні найбільший сегмент ринку займають пробіотики, вакцини і сироватки, а далі — білки крові, антибіотики, ферменти і потім генно-інженерні препарати. Слід зазначити, що нині в Україні розвиток сучасних фармацевтичних біотехнологій тільки починається, хоча традиційні біотехнології використовуються у виробництві лікарських препаратів понад 20 років. Пробіотики в Україні виробляють ЗАТ «Біофарма» (Київ), ЗАТ «Біолек» та «Лекхім» (Харків), ВАТ «Дніпрофарм» (Дніпропетровськ). Серед генно-інженерних препаратів фармацевтичного призначення, що виготовляються в Україні, можна виділити «Лаферон» (НПК «Фармбіотек», Київ) та препарат інсуліну «Хумодар РБ» («Індар», Київ).

В Україні достатньо велика кількість підприємств випускає біотехнологічну продукцію фармацевтичного призначення: «Біофарма», «Індар» та «Фармбіотек» (Київ), «Біолек» та «Лекхім» (Харків), «Дніпрофарм» (Дніпропетровськ), «Біостимулятор» (Одеса).

Також серед прикладів підприємств промислової біотехнології в Україні можна назвати наступні (табл. 1).

Крім того, біотехнологічними розробками Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного Національної академії наук України серед препаратів для медицини є, наприклад, **СУБАЛІН** - біопрепарат, створений на основі рекомбінантного штаму аеробних спороутворюючих бактерій, здатного синтезувати інтерферони людини; специфічні імуноглобуліни людини, діючою основою яких є імуноглобуліни, які містять підвищену кількість специфічних IgG. Їх специфічна активність обумовлена нейтралізуючою дією антитіл, а також імуномодуючим ефектом, що діє на різні ланки імунної системи людини та підвищує неспецифічну резистентність організму. Серед препаратів для сільського господарства - **НІТРАГІН** (препарат на основі живих культур вискоєфективних бульбочкових бактерій – симбіонтів бобових рослин: сої, гороху, люцерни, люпину, козлятнику, лядвенцю, буркуна), **АВЕРКОМ** - перший вітчизняний комплексний поліфункціональний препарат нематоцидної та фітостимулюючої дії.

Продуцент комплексу біологічно активних речовин – стрептоміцет *Streptomyces avermitilis*. Серед препаратів для промисловості - **ЕПАА** (сополімер на основі екзополісахаридів. Клей на основі сополімеру призначений для сільського господарства (поліпшення фізичних і біологічних властивостей ґрунту, носій пестицидів, бульбочкових бактерій і фагів, засіб для закріплення пісків), текстильної промисловості (шліхтування

ниток, фарбування тканин), деревообробної та мікробіологічної промисловості, а також побутових потреб), закваска ГЕРОСАН (композиція молочнокислих бактерій, селекціонованих в інституті, підібрана за спектром антагоністичної активності до патогенної мікрофлори травного тракту людини, адгезивною активністю до ентероцитів кишечника).

Таблиця 1

Продукція промислової біотехнології

ДП «Ензим» (м. Ладижин, Вінницька область).	Ферментні препарати для різних галузей промисловості; біологічні засоби захисту рослин; пробіотичні препарати; препарати для очищення води і ґрунту; готові лікарські форми і медичні субстанції; ферментні препарати для сільського господарства; ферментні комплекси для годівлі сільськогосподарських тварин
Обухівський ВАТ «Стиролбіотех» (Київська область).	Продукція мікробіологічної промисловості; концентрат кормовий лізину, лізин кристалічний.
Новоград-Волинський завод кормових добавок (Житомирська обл.).	Антибіотики кормові, антибіотики для тварин
ЗАТ «Запоріжбіосинтез» (м. Запоріжжя).	Ветеринарні антибіотики, одержані методом мікробіологічного синтезу, наприклад тетрациклін і окситетрациклін; біовіт
Запорізький дослідний біохімічний завод концерну «Укрмедпром» (м. Запоріжжя).	Антибіотики немедичного призначення; вітаміни кормові; продукція мікробіологічної промисловості, біовіт.
Біомедпрепарати	
ЗАТ «Технолог» (м. Умань).	Ферментні препарати: панкреазим, панкреатин, креазими, солізим Форте.
ТОВ «Біостимулятор» (м. Одеса)	Біогенні стимулятори.
ДП Межиріцький вітамінний завод ДАК «Укрмедпром», (с. Межирічка, Кіровоградська обл.)	Гормональні й ендокринні препарати, витяжки з органів.

Серед розробок природоохоронних технологій - РОДОЙЛ (препарат для біологічної рекультивації земель і очищення прісної і морської води від нафти і нафтопродуктів. Препарат включає активні бактеріальні штами-деструктори вуглеводнів *Acinetobacter calcoaceticus*, *Gordonia rubropertinctus*, *Rhodococcus erythropolis*, мінеральні компоненти і нейтральний сорбент, який здатний поглинати вуглеводні нафти і сприяти відновленню структури ґрунту).

Біотехнологічними напрямками досліджень Інституту сільськогосподарської мікробіології є вивчення механізмів біологічної трансформації азоту і фосфору, пошуку шляхів активізації цих процесів, у розробці і впровадженні мікробіологічних засобів підвищення родючості ґрунтів за використання азотфіксуючих і фосфатмобілізуєчих бактеріальних препаратів, а також технологій їхнього виробництва і застосування. В Інституті розробляються біотехнологічні методи оздоровлення сільськогосподарських рослин від вірусних хвороб і створення сучасних тест-систем діагностики вірусів; біологічні препарати для захисту рослин від хвороб і шкідників.

Ученими Інституту здійснюються дослідження з проблеми імунології в області ветеринарної вірусології та мікробіології. Наприклад, біодобриво ПОЛІМІКСОБАКТЕРИН, внесений до «Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні». Препарат застосовується для бактеризації насіння пшениці ярої та озимої, цукрових буряків, кукурудзи, соняшнику з метою покращення фосфорного живлення рослин, підвищення продуктивності та захисту рослин від фітопатогенних грибів.

Контрольні питання:

1. Вкажіть основні властивості мікроорганізмів, які дозволяють їх використовувати у промисловій біотехнології.
2. Охарактеризуйте завдання, які вирішують розуміння біотехнологічних виробництв.
3. Охарактеризуйте основні біотехнологічні напрямки використання промислової біотехнології.
4. Охарактеризуйте основні періоди становлення і розвитку промислової біотехнології.
5. Який внесок у розвиток біотехнології зробили вітчизняні вчені?
6. Чим новітня біотехнологія відрізняється від традиційної?
7. Яка біотехнологічна продукція використовується у народному господарстві?
8. Охарактеризуйте український ринок біотехнологічної продукції.

Лабораторна робота № 2

Складові елементи біотехнологічних процесів

Основними складовими елементами біотехнологічного процесу є: біологічний агент; субстрат; цільовий продукт; апаратура; сукупність методів для керування процесом.

2.1 Біологічні агенти.

Номенклатура біологічних агентів, що використовуються в біотехнології, постійно розширюється:

- клітини мікроорганізмів (бактерії, у тому числі актиноміцети, гриби, у тому числі дріжджі, найпростіші), тварин, рослин, у тому числі одержані методами генної та клітинної інженерії;
- віруси, у тому числі бактеріофаги;
- компоненти клітин: протопласти, мембрани, мітохондрії, хлоропласти, внутрішньоклітинні ферменти тощо;
- позаклітинні продукти (ферменти);
- іммобілізовані клітини мікроорганізмів, тварин, рослин, їх компоненти та позаклітинні продукти.

Найважливіше місце серед біологічних агентів займають традиційні з них — **клітини мікроорганізмів**.

Загальна характеристика мікроорганізмів-продуцентів.

Мікроорганізми, які використовуються у біотехнології, належать до різних фізіологічних і таксономічних груп та істотно відрізняються одні від одних за морфолого-культуральними та фізіолого-біохімічними ознаками.

З більш як 100 000 відомих видів мікроорганізмів у промисловості використовують відносно мало – близько 100 видів, до яких належать кілька тисяч штамів.

За визначенням Л.І. Воробйової (1987), промисловий штам повинен відповідати таким вимогам:

- рости на дешевих і доступних субстратах;
- характеризуватися високою швидкістю росту і синтезу цільового продукту;
- синтезувати максимум цільового продукту за мінімального утворення побічних;
- бути генетично й фізіологічно стабільним, стійким до фагів і сторонньої мікрофлори, нешкідливим (непатогенним) для людей і навколишнього середовища;
- бажано, щоб продуценти були термофільними, ацидофільними (або алкалофільними), оскільки у цьому разі знижується можливість контамінації сторонньою мікрофлорою;
- технологія продуктів мікробного синтезу повинна бути економічно

доцільною.

Надсинтез, тобто здатність мікроорганізму синтезувати певний продукт у кількостях, що перевищують фізіологічні потреби, досить часто зустрічається в природі. Часто той або інший продукт обміну речовин (органічні кислоти, спирти, антибактеріальні речовини), що виділяється мікроорганізмом у навколишнє середовище, є токсичним для інших видів і забезпечує продуцентів успіх у конкурентній боротьбі за джерела живлення. Саме мікроорганізми з такими властивостями були першими використані у господарській діяльності людини тисячоліття тому, тоді ж було здійснено стихійний відбір найпродуктивніших форм.

У наш час такі природні штами мікроорганізмів, іноді після свідомого відбору, використовують для виробництва мікробної біомаси (мікробного білка), бактеріальних азотних добрив, біопестицидів, у виробництві харчових продуктів та інших галузях. Проте більшість промислових мікроорганізмів представлено штучно селекціонованими штамми.

Отже, у промисловості застосовують три типи штамів: природні штами, вдосконалені природним або штучним відбором; змінені в результаті індукованих мутацій; одержані методами генної або клітинної інженерії.

2.2. Сировина (субстрати)

Субстрати, що використовуються в біотехнології досить різноманітні. До них належать:

- меляса, сік цукрової тростини, гідролізати рослинних полімерів;
- цукри, спирти, органічні кислоти та інші чисті речовини;
- продукти переробки нафти (парафіни);
- напівпродукти — попередники біотрансформації;
- природний газ, водень;
- відходи сільського господарства та легкої промисловості;
- відходи промисловості і тваринництва, у тому числі відходи від переробки фруктів та овочів;
- побутові відходи, стічні води;
- сироватка (молочна);
- картопля, зерно та інші крохмалевмісні продукти;
- рослинні залишки (гичка, зелене листя);
- руда, нафта;
- середовища для культивування клітин тварин і рослин.

Основним субстратом для мікробного синтезу є вуглецевмісна сировина (джерело вуглецю та енергії).

2.3. Продукти біотехнологічних виробництв

За допомогою біотехнології в наш час одержують три групи продукції:
медичну — антибіотики, гормони, вітаміни, лізоцим, інтерферон, інсулін, інтерлейкіни, фактори росту, моноклональні тіла, напівсинтетичні вакцини, живі вакцини тощо;

промислову — розчинники, бактеріальні добрива, пестициди, рідке та

газоподібне паливо, речовини для біоконверсії рослинної та тваринної сировини, очищення стічних вод тощо;

продовольчу — мікробний білок, незамінні амінокислоти, пептиди, цукрозамінники, нуклеотиди, нуклеозиди, ферменти, органічні кислоти, спирти, полісахариди, харчові продукти.

3. Етапи біотехнологічних процесів

Мета будь-якої біотехнології, — базуючись на знанні біохімічних і фізіологічних процесів, у межах генетично детермінованих властивостей конкретного продуцента одержати максимальний вихід цільового продукту за мінімальних затрат. Незважаючи на різноманітність біологічних агентів (відповідно – режимів), біотехнологічні процеси можна уявити у вигляді узагальненої схеми (рис. 1), яка охоплює перед ферментаційні процеси, процес ферментації (виробничого біосинтезу), одержання продуктів.

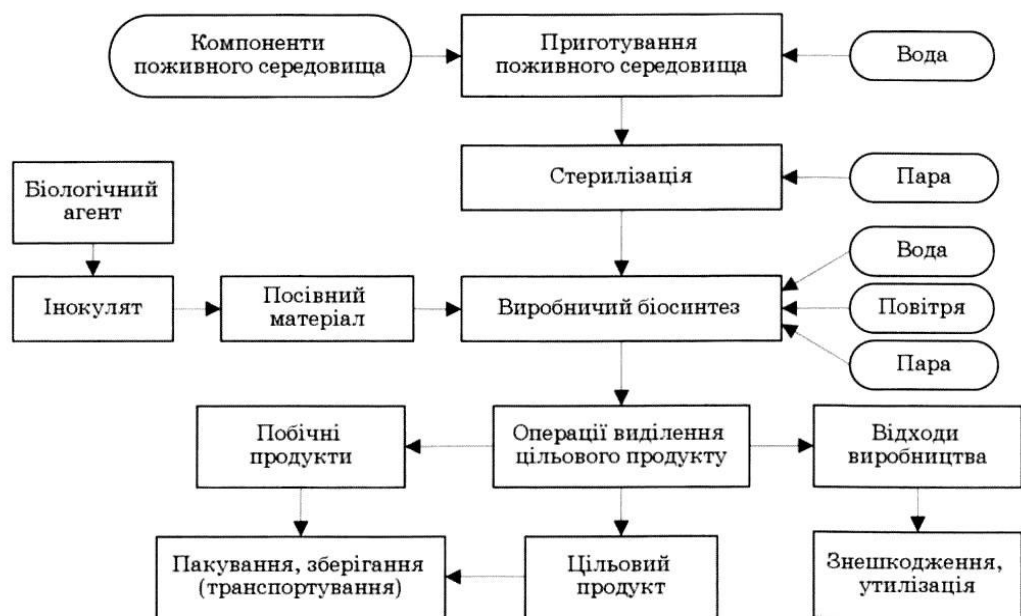


Рис. 1. Узагальнена схема біотехнологічного процесу
(за Пиріг Т. П. , Ігнатова О.А., 2009)

3.1. Передферментаційні процеси.

Передферментаційні процеси складаються з підготовки поживного середовища, повітря, біологічного агента, апаратури та комунікацій.

3.1.1. Підготовка поживного середовища

3.1.1.1. Стерилізація поживних середовищ.

3.1.2. Підготовка стерильного стисненого повітря

3.1.2.1. Способи очищення повітря.

3.1.2.2. Характеристика фільтрувальних матеріалів.

3.1.2.3. Технологічна схема стиснення й очищення повітря.

3.1.2.4. Очищення відпрацьованого повітря.

3.1.3. Підготовка біологічного агента

3.1.3.1. Зберігання вихідних штамів продуцентів.

3.1.3.2. Одержання посівного матеріалу.

3.1.3.3. Дозування і фізіологічний стан посівного матеріалу.

3.1.4. Підготовка апаратури та комунікацій

3.2. Процес ферментації

Розрізняють два принципово різні процеси одержання мікробних метаболітів.

Перший – *ферментація*, у процесі якої певні метаболіти утворюються безпосередньо під час культивування мікроорганізмів-продуцентів. Другий – *ферментативний каталіз*, який здійснюють виділені із природних об'єктів (частіше мікроорганізмів) ферменти або клітини мікроорганізмів з необхідними ферментними системами. У промислових або напівпромислових установках мікроорганізми часто використовуються у вигляді іммобілізованих клітин, фіксованих на полімерних носіях у спеціально підготовлених скляних кульках або включених у полімерні гелі. Серед продуктів мікробного синтезу найпомітніше місце за обсягами виробництва займають вторинні метаболіти (наприклад, антибіотики).

Технічне оснащення біотехнології базується на загальних положеннях технічної біохімії і харчової технології, проте має свою специфіку. Принципова відмінність біотехнологічних процесів від чисто хімічних полягає в наступному:

- чутливість біологічних агентів до фізико-механічних дій;
- наявність міжфазового перенесення речовин (по типу «рідина – клітини», «газ – рідина – клітини»);
- вимоги умов асептики;
- низькі швидкості протікання багатьох процесів в цілому;
- нестабільність цільових продуктів;
- піноутворення;
- складність механізмів регуляції росту і біосинтезу.

3.2.1. Основні варіанти культивування біологічних агентів

Розрізняють такі види аеробного й анаеробного культивування: періодичне, безперервне; глибинне та поверхнєве (на рідких і щільних середовищах); стерильне та умовно-стерильне; з використанням біокаталітичних реакцій (реактор повного перемішування); іммобілізовані системи (ферменти, біомаса та ін.); культивування рослинних і тваринних тканинних клітин.

3.2.2. Іммобілізація

Для здійснення хімічних процесів за допомогою іммобілізованих ферментів застосовують колонні, трубчаті, пластинчаті й танкерні реактори різного об'єму й продуктивності. Іммобілізовані ферментні системи

функціонують у біореакторі у вигляді нерухомої фази, через яку проходить середовище із субстратом, що підлягає хімічному перетворенню (гетерогенний каталіз). У таких реакторах поряд з безперервним режимом використовується й періодичний.



Рис. 2. Варіанти ферментації
(за Пиріг Т. П., Ігнатова О.А., 2009)

3.2.3. Піногасники

Процеси піноутворення і піногасіння відіграють важливу роль під час аеробного глибинного культивування мікроорганізмів. За збалансованих пінних режимів збільшується міжфазна контактна поверхня і досягається інтенсивний масобмін між середовищем і аеруючим повітрям. Спінювання поживного середовища, стійкість піни та її реологічні властивості (поверхневий натяг, поверхнева в'язкість) залежать від складу середовища (вмісту вуглеводів, ліпідів, білків, структуроутворюючих солей), режимів стерилізації та аерації середовища тощо. Для створення стійких режимів піноутворення застосовують механічні й хімічні піногасники, а також їхні комбінації.

3.2.4. Флокулянти

У деяких мікробіологічних процесах доцільно стимулювати флокуляцію (конгломеризацію) клітин продуцента, наприклад, для ефективнішого фракціонування або з метою утримання клітин в умовах неперервної ферментації. Застосовують хімічні неорганічні флокулянти (хлорид кальцію, солі фосфорної кислоти) та органічні синтетичні аніонні, катіонні чи неіоногенні поліелектроліти.

3.2.5. Ріст і розвиток клітинних популяцій

Поняття «ріст» означає збільшення кількості клітин, «клітинна

популяція» - популяція будь-яких клітин, що використовуються у біотехнології (як бактеріальних, так і еукаріотичних, наприклад клітин рослин і тварин), «клітинна культура» - ізолювана культура клітин еукаріотичних організмів (рослин, тварин, людини).

3.2.5.1. *Крива росту клітинної популяції.* При внесенні у поживне середовище клітини ростуть доти, доки вміст будь-якого необхідного компоненту не стане мінімальним або не вичерпається, після чого ріст припиняється. Якщо впродовж усього цього часу в середовище не вносити ніяких поживних речовин і не виводити продукти метаболізму, то одержимо так звану періодичну культуру (популяцію клітин в обмеженому життєвому просторі).

Крива, що описує залежність логарифму кількості живих клітин від тривалості культивування, називається *кривою росту* (рис. 3).

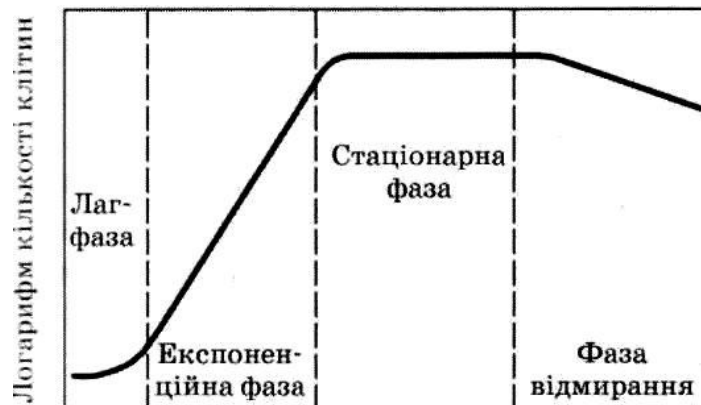


Рис. 3. Крива росту клітинної популяції.

Фази росту: I — лаг-фаза; II — експоненційна; III — сповільненого росту; IV — стаціонарна; V — відмирання; VI — виживання

Така крива має S-подібну форму, на ній можна виділити кілька основних фаз росту: початкову (лаг-фазу), експоненційну, стаціонарну та відмирання. Крива росту є практично однаковою як для бактеріальної популяції, так і для популяції еукаріотичних клітин.

Незначні відмінності стосуються кількості фаз (часто на кривій росту виділяють не чотири, а п'ять чи шість фаз) та їх назви. Так, перша фаза росту називається лаг-фазою (найчастіше), латентною фазою або індукційним періодом. На кривій росту клітинної культури між фазами експоненційного і сповільненого росту виділяють фазу лінійного росту.

Ляг-фаза. Починається з моменту посіву клітин у свіже поживне середовище. У цей період клітини адаптуються до даних умов культивування. Тривалість лаг-фази залежить від передісторії інокуляту та його віку, а також від того, наскільки придатним для росту є дане середовище і умови культивування (рН, температура, концентрація розчиненого кисню).

Наприклад, якщо джерело вуглецю та енергії в новому середовищі відрізняються від тих, які були в середовищі під час одержання посівного матеріалу, то адаптація до нових умов передбачає синтез нових ферментів, які раніше були не потрібні і тому не синтезувались. Утворення нових ферментів індукується новим субстратом. Прикладом впливу субстрату на синтез ферментів є дияуксія. Це явище послідовного використання двох субстратів, або явище двофазного росту. Із суміші глюкози та сорбітолу бактерії спочатку споживають глюкозу. Ферменти метаболізму сорбітолу утворюються тільки після повного вичерпання глюкози.

Експоненційна фаза. Ця фаза характеризується максимальною швидкістю поділу клітин. У цій фазі процеси росту проходять збалансовано (тобто подвоєння біомаси супроводжується подвоєнням кількості білка, ДНК, РНК та ін.). Можна сказати, що культура в експоненційній фазі складається із «стандартних» клітин. Але треба мати на увазі, що і в експоненційній фазі клітини періодичної культури зазнають змін, оскільки постійно змінюється середовище — зменшується концентрація субстрату, збільшується густина клітинної суспензії, накопичуються продукти обміну. У зв'язку з тим що в цій фазі швидкість поділу відносно постійна, вона найзручніша для визначення швидкості поділу та швидкості росту.

Фаза сповільненого росту. Настання цієї фази зумовлене якісними змінами поживного середовища (споживання поживних речовин, накопичення продуктів метаболізму, дефіцит кисню, зміна рН).

Стаціонарна фаза. Вона настає тоді, коли кількість клітин перестає збільшуватись, тобто характеризується рівновагою між клітинами, що утворюються, та клітинами, що гинуть. У стаціонарній фазі спостерігається максимальна біомаса і максимальна сумарна кількість клітин.

Фаза відмирання. Характеризується зниженням кількості живих клітин, підвищенням гетерогенності популяції. Іноді клітини лізуються під дією своїх власних ферментів (автоліз).

Фаза виживання. Характеризується наявністю окремих життєздатних клітин в умовах загибелі більшості клітин популяції. Якщо такі клітини пересіяти в свіже поживне середовище, вони починають активно рости та ділитися. Такі клітини, що вижили характеризуються низькою інтенсивністю процесів метаболізму.

3.2.5.2. Параметри росту періодичної культури. Параметрами кривої росту є біомаса, швидкість росту та тривалість лаг-фази (у разі, якщо ріст періодичної культури аналізують за збільшенням біомаси, а не за кількістю клітин).

Біомаса — це різниця між максимальною та вихідною біомасою бактерій.

Швидкість експоненційного росту — це міра швидкості росту клітин в експоненційній фазі.

3.2.5.3. Ріст у безперервній культурі .

Ріст у хемостаті. Теорія і практика безперервного культивування розроблена для мікробних культур, зокрема бактеріальної популяції.

Швидкість росту бактерій може змінюватися за зміни складу поживного середовища, наприклад у відповідь на зміну концентрації субстрату. Цю властивість бактерій наочно ілюструє хемостатна культура. У процесі безперервного хемостатного культивування, на відміну від періодичного, у культиватор (ферментатор) постійно подається свіже поживне середовище і концентрація одного з субстратів підтримується на рівні, що лімітує ріст. Одночасно відбувається постійний відтік культури, так що її об'єм у культиваторі не змінюється.

Ріст у турбідостаті. Культивування у турбідостаті базується на автоматизованому підтриманні постійної заданої концентрації клітин регулюванням швидкості подавання свіжого середовища відповідно до зміни густини культури. Всі субстрати при цьому містяться в культиваторі у надлишку.

3.2.5.4. *Напівбезперервне культивування.* Цей спосіб культивування інакше називається *періодичним культивуванням з підживленням*. Суть його полягає у тому, що в періодичну культуру безперервно добавляють основний субстрат, експоненційно збільшуючи швидкість його подавання. Це дає змогу подовжити експоненційну фазу росту, щоб можна було періодично відбирати частину культури для її використання. Напівбезперервне культивування застосовують, наприклад, у тому разі, якщо субстрат за високих концентрацій є токсичним. За такого способу вдається одержати вищу біомасу або вихід продукту, ніж за умов звичайного періодичного культивування, і це не потребує великої кількості додаткового обладнання. Отже, забезпечуючи культуру основними поживними речовинами у кількості, що постійно збільшується відповідно до потреб організму, але не створюючи їх надлишку, у періодичній культурі можна досягти дуже високої концентрації біомаси.

3.2.5.5. *Принципові відмінності між періодичною та безперервною культурами.* Періодичну культуру можна розглядати як замкнуту систему (якоюсь мірою подібну до багатоклітинного організму), яка в своєму розвитку проходить кілька фаз (лаг-фаза, експоненційна та ін.). Умови існування у всіх цих фазах різні. Автоматичне регулювання в періодичній культурі навряд чи можливе.

Безперервна культура — це відкрита система, яка намагається досягти динамічної рівноваги. Фактор часу певною мірою виключається. Для організмів створюються незмінні умови середовища. Легко піддається автоматичному регулюванню.

3.2.5.6. *Синхронні культури.* Для вивчення синтезу окремих компонентів клітини в процесі її поділу, проведення цитогенетичних і генетичних досліджень використовують синхронні культури. Це культури, в

яких певний час всі клітини діляться одночасно (синхронно) за рахунок однакової готовності до росту та поділу окремих особин. Синхронізація культури досягається фізичними та хіміко-біологічними методами:

фізичні — температурна дія, диференційне центрифугування, диференційне фільтрування, чергування світлових і темнових режимів у фотосинтезуючих бактерій.

За диференційного центрифугування або фільтрування можна відділити клітини легкої фракції (менших розмірів), які діляться синхронно впродовж кількох перших генерацій. Ці два методи синхронізації культур найбільш м'які;

хіміко-біологічні — вирощування бактерій на неповноцінних поживних середовищах з наступним перенесенням їх у повноцінні середовища, вимушене голодування бактерій.

3.2.6. Вплив умов культивування на ріст мікроорганізмів. Ріст мікроорганізмів залежить від температури, рН, редокс-потенціалу та інших факторів. Негативні фактори затримують ріст і утворення цільового продукту, і навіть спричиняють відмирання частини клітин.

У промисловості в основному використовують мікроорганізми-мезофіли, що мають оптимальну температуру близько 30 °С. Останнім часом підвищений інтерес викликають термофільні мікроорганізми, які менш чутливі до контамінації й мають вищі кінетичні характеристики. Крім того, термофіли продукують термостабільні речовини, наприклад ферменти, для яких сфери практичного застосування значно ширші.

Істотний вплив на ріст культури й утворення продукту має кислотно-лужна реакція середовища. Найчастіше промислові мікроорганізми культивують за рН 4—8. Деякі дріжджі й мікроскопічні гриби краще ростуть у кислому середовищі при рН 3-4, і цю властивість можна використовувати для пригнічення бактеріальної інфекції.

3.2.7. Механізм регуляції біосинтезу продуктів, синтезованих у другій фазі. Багато промислово важливих продуктів фотосинтезу накопичуються після споживання основних компонентів середовища і зниження швидкості росту, тобто у другу фазу. Поняття про двофазність мікробіологічного синтезу було уперше сформульовано на прикладі едетоно-бутилового бродіння. Пізніше було запропоновано фазу росту називати *трофофазою*, а другу (продуктивну) — *ідіофазою*.

Трофофаза відповідає періоду молодості культури, друга — періоду зрілості. Упродовж трофофази спостерігається швидкий ріст і розмноження міцелію або бактеріальних клітин. Культуральна рідина в цей період багата на вуглеводи, азот і неорганічний фосфор. Продуктів метаболізму мікроорганізмів немає або вони містяться у вкрай незначних кількостях. Упродовж цієї фази утворюються переважно окиснені продукти.

Ідіофаза починається з моменту сповільнення росту мікроорганізму. У цей період культуральна рідина збагачена продуктами метаболізму, у ній

практично немає вуглеводів і неорганічного фосфору. На початку цієї фази клітини характеризуються максимальною здатністю до синтезу цільового продукту. У мікробних клітинах переважають відновлювальні біохімічні процеси. Після завершення фази, коли рівень біомаси не змінюється, починається автоліз. Як правило, процес промислової ферментації практично закінчується на початку — всередині ідіофази, оскільки під час автолізу цільовий продукт може зазнавати ферментативної деградації, а також відбувається розпад біомаси, що суттєво ускладнює її відділення фільтрацією або іншим способом видалення. Збільшення тривалості першої фази й скорочення другої, якими б причинами це не було зумовлено, веде до зниження кількості синтезованого продукту. Сприятливим фактором переходу культури в другу фазу є практично повне використання з середовища фосфору.

Особливості двофазності процесу досліджено для деяких типів бродінь і біосинтезу вторинних метаболітів, зокрема антибіотиків. В основі такої двофазності лежать механізми регуляції, за допомогою яких ферменти синтезу антибіотиків починають функціонувати в клітині тільки наприкінці трофофази. До настання цього часу ділянки генів (оперони), що контролюють синтез ферментів ідіофази, перебувають у репресованому стані, внаслідок чого не відбувається зчитування необхідної для синтезу інформації, тобто не здійснюється транскрипція. Після дерепресії починається синтез ферментів, необхідних для утворення метаболітів ідіофази.

3.2.8. Попередники вторинних метаболітів. Розшифровка шляхів біогенезу багатьох практично важливих мікробних метаболітів дала змогу використовувати під час ферментації технологічний прийом, відомий як введення попередників. При цьому в середовище вносять попередники — сполуки, близькі за структурою до певних фрагментів молекули цільового продукту. Цей прийом може використовуватися на етапах біогенезу, які здійснюють ферменти з низькою специфічністю. Найкраще розроблено такий прийом у виробництві пеніциліну.

3.2.9. Апаратурне оформлення біотехнологічного процесу.

Біореактори.

Найважливішим завданням будь-якого біотехнологічного процесу є розробка і оптимізація науково-обґрунтованої технології і апаратури для нього. При організації біотехнологічних виробництв частково був запозичений досвід розвиненої на той час хімічної технології. Проте біотехнологічні процеси мають істотну відмінність від хімічних внаслідок того, що в біотехнології використовують складнішу організацію матерії — біологічну. Кожен біологічний об'єкт (клітина, фермент і т. д.) — це автономна саморегульована система. Природа біологічних процесів складна і далеко не з'ясована остаточно. Для мікробних популяцій, наприклад, характерна істотна гетерогенність за рядом ознак — вік, фізіологічна

активність, стійкість до дії несприятливих чинників середовища. Вони також схильні до випадкових мутацій, частота яких складає від 10^{-4} до 10^{-8} . Гетерогенність також може бути обумовлена наявністю поверхні розділу фаз і неоднорідністю умов середовища.

Промислове виробництво біопрепаратів — складний комплекс взаємопов'язаних фізичних, хімічних, біофізичних, біохімічних, фізико-хімічних процесів, який потребує використання великої кількості устаткування різного типу, пов'язаного між собою матеріальними і енергетичними потоками, що утворюють технологічні лінії.

Основним апаратним елементом біотехнологічного процесу є біореактор — ферментер (рис. 4). Біореактори призначені для культивування мікроорганізмів, накопичення біомаси, синтезу цільового продукту. Біореактори виготовляють із високолегованих марок сталі, іноді з титану.

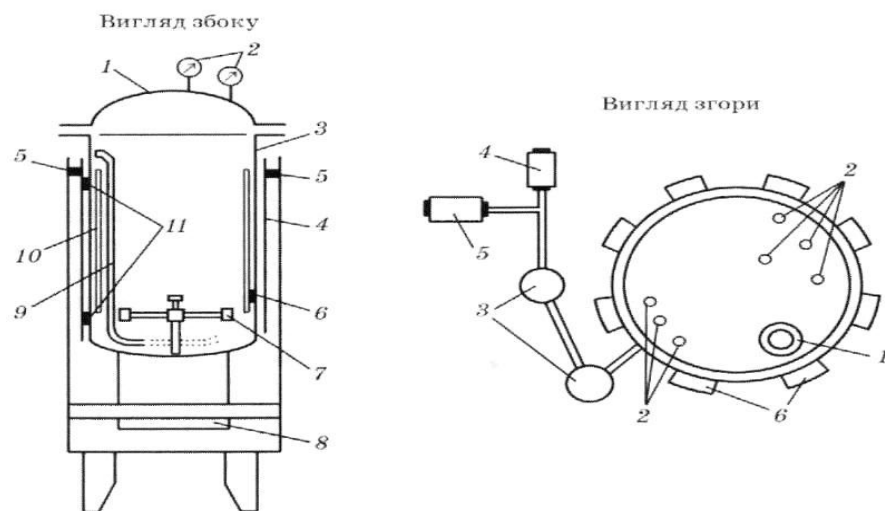


Рис. 4 Схема біореактора
(за А. Я. Самуйленко, Е. А. Рубану):

вигляд збоку: 1 — кришка; 2 — манометри паровий і повітряний; 3 — місткість; 4 — парова сорочка; 5 — вузол кріплення і повороту біореактора; 6 — датчик температури; 7 — турбінна лопатева мішалка; 8 — двигун з магнітним приводом; 9 — газорозподільний барботер; 10 — перегородка відбійники; 11 — вхід і вихід теплоносіїв з парової сорочки;

вигляд згори: 1 — оглядове вікно; 2 — штуцери із заглушками для дробного введення інгредієнтів; 3 — вхідний і вихідний стерилізувальні повітряні фільтри; 4 — клапан для виходу повітря з біореактора; 5 — запобіжний клапан; 6 — замочні пристосування

Біореактори поділяють на три основні групи:

- 1) реактори з механічним перемішуванням;
- 2) барботажні колони, через які для перемішування середовища пропускають повітря;
- 3) ерліфтні реактори з внутрішньою або зовнішньою циркуляцією.

3.3. Виділення продуктів мікробного синтезу

Кінцевим продуктом мікробного синтезу може бути біомаса клітин або певний метаболіт. Залежно від місця переважного накопичення цільового продукту відходом виробництва є культуральна рідина або клітини продуцента.

Культуральна рідина — це суміш клітин, розчинних продуктів їх метаболізму, нерозчинних компонентів, утворених після автолізу частини мікробних клітин, а також залишки компонентів поживного середовища. Характеристику культуральної рідини (концентрація клітин і продуктів метаболізму, в'язкість, морфологія клітин і клітинних елементів) обов'язково враховують під час вибору способу відділення біомаси клітин від рідкої фази.

Способи виділення цільового продукту

Клітини	Розчинний метаболіт
Седиментація і декантація	Екстракція
Фільтрування	Сорбція
Центрифугування	Осадження
Відстоювання	Хроматографія
Флотація	Виділення за допомогою мембран

3.3.1. Відділення біомаси

Вихідним матеріалом для виділення продуктів мікробіологічного біосинтезу є культуральна рідина. Незалежно від локалізації продукту (позаклітинний чи внутрішньоклітинний метаболіт) першою стадією підготовки культуральної рідини для подальшої переробки є відділення біомаси. Фракціонуванням на біомасу та рідку частину (фугат) отримують живу (хлібні дріжджі, бактеріальні добрива та інші), ослаблену (вакцини) або інактивовану (кормовий білок) клітинну масу і продукти різного ступеня очищення від фугату.

Центрифугування — примусове осадження часток (речовин) за рахунок збільшення швидкості відцентрових сил. У технологіях мікробного синтезу використовують різні типи центрифуг: осаджувальні, шнекові, безперервної дії з вивантаженням осаду через сопла, саморозвантажні сепаратори тощо. Центрифугування дає змогу виділяти з культуральних рідин біомасу бактерій, дріжджів, міцеліальних грибів.

Високов'язкі культуральні рідини попередньо розбавляють водою (іноді теплою або гарячою) у кілька разів, після чого здійснюють центрифугування — сепарування. Утворення високов'язкої культуральної рідини характерне під час біосинтезу екзополісахаридів (ксантан, пулулан та ін.).

Сепарування має такі переваги перед фільтруванням та іншими методами:

— немає потреби в застосуванні фільтрувальних елементів, що дає

змогу непотрібну для подальшої переробки фракцію використовувати як кормову добавку;

- матеріал обробляється з найменшими втратами активної речовини;
- процес легше піддається автоматизації, агрегати займають менше місця, легше мити устаткування.

Сепарування використовується у процесі одержання хлібопекарських і кормових дріжджів, медичних антибіотиків, етилового спирту, ферментів, амінокислот, продуктів із зелених водоростей, вакцин, вітаміну В₁₂, стимуляторів росту і засобів захисту рослин, а також багатьох інших продуктів хіміко-фармацевтичної, медичної, мікробіологічної і харчової промисловості.

Фільтрування менш енергоємний, проте одночасно і менш ефективний процес порівняно з сепарацією. Фільтруванню піддаються далеко не всі культуральні рідини; багато які з них характеризуються здатністю до засмічення пор фільтрувального матеріалу. Іноді спеціально змінюють мікроорганізм-продуцент, щоб культуральна рідина піддавалася фракціонуванню фільтруванням. Фільтрувати малі об'єми культуральної рідини можна на рамних фільтрах, великі об'єми — на барабанних вакуум-фільтрах.

Процес фільтрування можна істотно прискорити (у 10-100 разів), якщо культуральну рідину піддати попередній тепловій обробці, додати флокулянти (глинозем, хлорид кальцію, поліелектроліти тощо). Якщо біомаса клітин чинить виражений опір фільтруванню, то використовують фільтрувальний шар на підкладці. Осад мікробних клітин здатний до ущільнення, тому з часом швидкість фільтрування знижується. Для уникнення перепадів у швидкості фільтрування шар клітинної маси (наприклад міцелію) зрізують ножом. Для фільтрування використовують фільтрпреси різної конструкції, барабанні вакуумні фільтри, стрічкові фільтрпреси та інші конструкції.

Седиментація (осадження) відбувається в полі гравітаційних сил. Її використовують для відділення конгломератів типу «кефірних зерен» у деяких процесах молочнокислого чи змішаного бродіння (молочнокислого і спиртового), а також під час біологічної обробки відходів активним мулом.

Мікробні клітини легко коагулюють під впливом екзогенних полікатіонів чи полімерів. Утворювані пластівці разом із клітинами досить легко відокремлюються седиментацією. Відомі виробничі штами дріжджів здатні до флокуляції та утворення осадів.

Декантацію, чи злив, надосадової рідини (декантат, супернатант) можна замінити вакуум-відсмоктуванням.

Відстоювання реалізують у традиційних процесах бродіння, а також у великомасштабних процесах переробки відходів. Це, так би мовити, продовження процесу седиментації.

Флотацію (від англ. *floatation* — спливання) використовують, наприклад, для концентрування мікобактерій туберкульозу з патологічного матеріалу в діагностичних цілях. У технологіях мікробного синтезу флотацію

застосовують у виробництві білка деяких одноклітинних мікроорганізмів, а також у пивоварінні. Пінна флотація відповідальна за утворення стійкої піни на пиві за рахунок концентрування розчинених білків на межі поділу «повітря-рідина».

3.3.2. Виділення цільового продукту

3.3.2.1. *Попередня обробка культуральної рідини.* Одержані після відділення біомаси фільтрати містять разом з цільовим продуктом органічні і неорганічні речовини, білки як у розчиненому, так і в колоїдному стані. Власне кажучи, культуральна рідина — це колоїдна система, коагуляцію якої можна спричинити додаванням електролітів і неелектролітів, зміною температури, механічним впливом і дією акустичного поля. Колоїдні і зважені частки мають негативний заряд, їм притаманна електрофоретична рухомість, тому ефективним способом коагуляції колоїду може бути обробка його катіоногенними коагулянтами.

Для виділення, очищення й фракціонування біологічно активних речовин, наприклад антибіотиків, усе частіше використовують полімерні реагенти-флокулянти.

3.3.2.2. *Виділення цільового продукту з біомаси.* Якщо цільові продукти містяться в біомасі (внутрішньоклітинні метаболіти), необхідною технологічною операцією є її дезінтеграція. Методи дезінтеграції мікробних клітин можна поділити на фізичні (механічні), хіміко-екстрактивні, фізіолого-біохімічні. Дезінтеграція може бути одно- і багатоопераційною.

3.3.2.3. *Одержання концентратів.* Однією з перспективних товарних форм продуктів біотехнології є концентрати. Для одержання мікробних концентратів культуральну рідину зневоднюють. У вигляді концентратів випускаються ферменти, амінокислоти, вітаміни тощо. Основною особливістю концентратів є наявність у них, крім цільового продукту, ряду супутніх речовин — залишків поживного середовища, агентів регулювання рН і піногасіння, водорозчинних побічних метаболітів та ін.

Концентрати можуть бути рідкі, порошкоподібні та у вигляді сумішей із наповнювачами.

3.3.2.4. *Процеси очищення та концентрування цільового продукту.* Основні процеси очищення і концентрування продуктів технології: вакуум-випарювання, виморожування, осадження, мембранні процеси, сорбція, кристалізація і сушіння.

Контрольні питання:

1. Які процеси називаються передферментаційними?
2. Як проводиться підготовка поживного середовища для культивування мікроорганізмів?

3. Які види стерилізації використовують для поживних середовищ?
4. Назвіть способи очищення повітря.
5. Охарактеризуйте основні варіанти культивування.
6. Які піногасники застосовують під час культивування мікроорганізмів?
7. Що таке флокулянти та для чого вони застосовуються?
8. Як Ви розумієте поняття «ріст», «клітинна популяція», «клітинна культура»?
9. Охарактеризуйте чотири основні фази клітинного циклу еукаріотичних клітин.
10. Що таке періодична культура?
11. Охарактеризуйте фази росту періодичної культури.
12. Що таке діауксія?
13. Чим зумовлене настання стаціонарної фази росту?
14. Назвіть параметри кривої росту.
15. У чому полягає суть безперервного культивування?
16. Які є режими безперервного культивування?
17. Які особливості притаманні хемостатній культурі?
18. Що таке швидкість потоку і швидкість розбавлення?
19. Назвіть переваги хемостатного культивування.
20. Охарактеризуйте напівбезперервне культивування.
21. Назвіть принципові відмінності між періодичною та безперервною культурами.
22. Які культури називаються синхронними?
23. Які фактори визначають ріст і біосинтетичну здатність продуцентів?
24. За якими показниками оцінюється ферментаційний процес?
25. На чому базується регуляція технологічних процесів мікробіологічного синтезу?
26. Що таке попередники вторинних метаболітів? Для чого вони використовуються?
27. Що таке культуральна рідина?
28. Які методи відділення біомаси вам відомі? Охарактеризуйте ці методи.
29. Що таке флотація?
30. Як здійснюється попередня обробка культуральної рідини?
31. Охарактеризуйте методи виділення цільового продукту з біомаси.
32. Як одержують концентрати?
33. Охарактеризуйте основні процеси очищення та концентрації цільового продукту.
34. Як здійснюється сублімаційне висушування?
35. Охарактеризуйте апаратне оформлення біотехнологічних процесів.

Лабораторна робота № 3

Класифікація продуктів мікробного синтезу

Препарати на основі біомаси мікроорганізмів. До них належать вакцини, пробіотики, бактеріальні добрива, хлібопекарські дріжджі, білкові продукти.

Таблиця 2

Класифікація продуктів мікробного синтезу

(за Пиріг Т. П., Ігнатова О.А., 2009)

Група препаратів	Назва препаратів	Характеристика мікроорганізмів		
		представники	тип метаболізму	тип живлення
Пробіотики	біоспорин, субалін, бактерин SL, ендоспорин	бактерії роду <i>bacillus</i>	окиснювальний	гетеротрофи, хемоорганотрофи
	біфідумбактерин, біфілонг	бактерії роду <i>bifidobacterium</i>	бродильний	те саме
	колібактерин	<i>escherichia coli</i>	окиснювальний	те саме
	лактобактерин, лактосан, лактин-К	бактерії роду <i>lactobacillus</i>	бродильний	те саме
Бактеріальні добрива	ризобін, ризоторфін (нітрагін)	симбіотичні азотфіксувальні бактерії роду <i>rhizobium</i>	окиснювальний	те саме
	азотбактерин	вільноіснуючі, азотфіксуючі бактерії роду <i>azotobacter</i>	окиснювальний	те саме
	фосфобактерин	бактерії роду <i>bacillus</i>	окиснювальний	те саме
Хлібопекарські дріжджі	хлібопекарські дріжджі	дріжджі <i>saccharomyces cerevisiae</i>	окиснювальний	те саме
Білкові продукти	гапрін	метаноокиснювальні бактерії роду <i>methylococcus</i>	окиснювальний	те саме
	кормові дріжджі	<i>saccharomyces, candida, rhodotorula, trichosporon</i>	окиснювальний	те саме
	спіруліна	Ціанобактерії <i>spirulina platensis</i>	окиснювальний	автотрофи

Продукти метаболізму мікроорганізмів можна поділити на такі групи: первинні метаболіти (амінокислоти, органічні кислоти, вітаміни); вторинні метаболіти (антибіотики, екзополісахариди, поверхнево-активні речовини тощо); продукти бродіння (спирти, кетони); ферменти.

Продукти первинних метаболітів є хемоорганотрофами і характеризуються окиснювальним типом метаболізму.

Таблиця 3

Найважливіші первинні метаболіти мікроорганізмів (за Пиріг Т. П., Ігнатова О.А., 2009)

Група метаболітів	Назва	Продуцент
Аміно-кислоти	Лізин	<i>Brevibacterium flavum</i>
	Глутамінова кислота	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
	Пролін	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
	Лейцин	<i>Brevibacterium flavum</i>
	Триптофан	<i>Bacillus subtilis</i>
Органічні кислоти	Лимонна кислота	<i>Aspergillus niger</i>
	Оцтова кислота	<i>Acetobacter suboxydans</i>
	Ітаконова кислота	<i>Aspergillus terreus</i>
	Глюконова кислота	<i>Aspergillus niger</i>
Вітаміни	Ціанкобаламін (В ₁₂)	<i>Propionibacterium shermanii</i>
	Рибофлавін (В ₂)	<i>Eremothecium ashbyii</i>
	β-каротин (попередник вітаміну А)	<i>Blakeslea trispora</i>
	Ергостерин (вихідний продукт для одержання вітаміну D ₂)	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>
	Аскорбінова кислота	<i>Acetobacter suboxydans</i> (здійснює перетворення D-сорбіту на L-сорбозу)

Таблиця 4

Найважливіші вторинні метаболіти мікроорганізмів (за Пиріг Т. П., Ігнатова О.А., 2009)

Група метаболітів	Назва	Продуцент
Антибіотики	Пеніцилін	<i>Penicillium chrysogenum</i>
	Цефалоспорин	<i>Cephalosporium acremonium</i>
	Грамідидин	<i>Bacillus brevis</i>
	Тетрациклін	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
	Еритроміцин	<i>Streptomyces erythreus</i>
	Стрептоміцин	<i>Streptomyces griseus</i>
	Поліміксин	<i>Bacillus polymyxa</i>
	Гентаміцин	<i>Micromonospora echinospora</i>
Екзополісахариди	Декстран	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	Пулулан	<i>Aureobasidium pullulans</i>
	Склероглюкан	<i>Sclerotium rolfsii</i>
	Курдлан	<i>Alcaligenes faecalis</i>
	Ксантан	<i>Xanthomonas campestris</i>
	Гелан	<i>Pseudomonas elodea</i>
	Альгінат	<i>Azotobacter vinelandii</i>
	Етаполан	<i>Acinetobacter</i> sp.
Поверхнево-активні речовини (біосурфактанти)	Рамноліпіди	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Трегалозоліпіди	<i>Rhodococcus erythropolis</i>
	Сурфактин	<i>Bacillus subtilis</i>
	Фосфоліпіди	<i>Acinetobacter</i> spp.
	Емульсан RAG-1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> RAG-1
	Емульсан BD4	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> BD413
	Біодисперсан	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> A2
	Алазан	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> KA53
	Емульсан 378	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	Ліпозан	<i>Candida lipolytica</i>

Домашнє завдання

По продуктам мікробного синтезу, первинним та вторинним метаболітам слід написати рукописний реферат об'ємом 10-15 сторінок та створити презентацію власноруч написанного матеріалу в режимі «Power point».

Лабораторна робота № 4

Характеристика пеніциліну - продукту мікробного синтезу

Мікробіологічний синтез - промисловий спосіб отримання хімічних сполук і продуктів (наприклад, дріжджів кормових), що здійснюється завдяки життєдіяльності мікробних клітин. Іноді до мікробіологічного синтезу відносять також промислові процеси, які засновані на використанні іммобілізованих клітин.

Деякі продукти мікробіологічного синтезу, наприклад, пекарські дріжджі, давно використовувалися людиною, проте широке застосування мікробіологічного синтезу почалося в 40-50х роках 20 століття у зв'язку з освоєнням виробництва пеніциліну. До цього ж часу належить виникнення нової галузі народного господарства - *мікробіологічної промисловості*.

У мікробіологічному синтезі складні речовини утворюються з простіших в результаті функціонування ферментних систем мікробної клітини. Цим він відрізняється від бродіння в результаті якого також утворюються різні продукти обміну речовин мікроорганізмів (спирти, органічні кислоти та ін.), але переважно в результаті ферментативного розпаду органічних речовин.

Мікробіологічний синтез використовує здатність деяких організмів розмножуватися з великою швидкістю (виділені бактерії і дріжджі, біомаса яких збільшується в 500 разів швидше, ніж у найурожайніших сільськогосподарських культур) і до «зверх синтезу» - надмірному утворенню продуктів обміну речовин (амінокислот, вітамінів тощо), що перевищує потреби мікробної клітини. Для мікробіологічного синтезу органічних сполук в якості сировини застосовують найбільш дешеві джерела азоту (наприклад, нітрати або солі амонію) і вуглецю (наприклад, вуглеводи, органічні кислоти, спирти, жири, вуглеводні, у тому числі газоподібні).

Мікробіологічний синтез включає ряд послідовних стадій. Головні з них - підготовка необхідної культури мікроорганізму - продуцента, вирощування продуцента, культивування продуцента в заданих умовах, в ході якого і здійснюється мікробіологічний синтез (цю стадію часто називають ферментацією), фільтрація і відділення біомаси, виділення і очистка необхідного продукту (якщо це необхідно), сушка. Ферментацію проводять у спеціальних реакторах (ферментерах), забезпечених пристроями для перемішування середовища та подання стерильного повітря. Управління процесом може здійснюватися за допомогою електроніки. Найбільш зручно ферментацію здійснювати безперервним способом - при постійній подачі живильного середовища і виведенні продуктів мікробіологічного синтезу. Так виробляють, наприклад, кормові дріжджі. Однак більшість метаболітів отримують періодичним способом - з виведенням продукту в кінці процесу. Найбільш важливі продукти мікробіологічного синтезу:

Антибіотики. Антибіотики – специфічні продукти життєдіяльності різних груп мікроорганізмів, нижчих та вищих рослин і тварин або їх

модифікації, що володіють високою фізіологічною активністю по відношенню до певних груп мікроорганізмів або злоякісних пухлин, вибірково затримують їх ріст або пригнічують розвиток.

Утворення антибіотиків – спадково закріплена особливість метаболізму організмів. Це проявляється в тому, що кожний вид (або навіть штам) здатний утворювати один або декілька визначених, строго специфічних для нього антибіотичних речовин. Метаболіти є проміжними продуктами обміну речовин, результатом катаболічних і анаболічних реакцій, кінцевий продукт обміну – антибіотики – синтезуються із первинних метаболітів. Разом з тим, один вид антибіотиків може синтезуватися декількома видами організмів. Утворення антибіотиків зумовлено визначеним характером обміну речовин, що виник та закріпився в процесі еволюції організму.

Утворення антибіотиків – біологічний фактор, що має адаптаційне значення. Для продуцента здатність до продукції антибіотиків важливо не постійно, а лише в несприятливих умовах, наприклад, у разі нестачі поживних речовин, або у випадку контакту із специфічними продуктами життєдіяльності іншого організму.

Специфічність антибіотиків характеризується:

- високою біологічною активністю по відношенню до чутливих до них організмів, тобто здатність проявляти ефект навіть за низьких концентрацій;
- вибірковістю дії, тобто здатністю конкретного антибіотику проявляти свою дію лише по відношенню до визначених організмів або їх груп, не впливаючи на інші форми живих істот.

Величину біологічної активності антибіотиків виражають в умовних одиницях, що містяться в 1 мл (од/мл) або в 1 мг (од/мг) препарату. За *одиницю антибіотичної активності* приймають мінімальну кількість антибіотику, що здатна пригнічити або зупинити ріст визначеного числа клітин стандартного штаму тест-організму в одиниці об'єму поживного середовища. За одиницю активності пеніциліну прийнято мінімальну кількість препарату, здатного затримати ріст золотистого стафілококу (штам 209) в 50 мл. живильного бульйону.

Пригнічення росту мікроорганізмів антибіотиками може здійснюватися тільки за наявності трьох умов:

- біологічно-важлива для життєдіяльності бактерій система повинна реагувати на дію низьких концентрацій препарату через визначену точку впливу;
- препарати повинні володіти властивістю проникати в бактеріальну клітину і впливати на точку впливу;
- препарат не повинний інактивуватися раніше, ніж вступить у взаємодію з біологічно активною системою бактерій.

Класифікація антибіотиків може проходити за різними критеріями:

1. Класифікація антибіотиків за біологічним походженням:

а) антибіотики, продуковані мікроорганізмами, що належать до еубактерій;

б) антибіотики, продуковані мікроорганізмами, що належать до ряду

Actinomycetales;

- в) антибіотики, утворені ціанобактеріями;
- г) антибіотики, утворені недосконалими грибами;
- д) антибіотики, утворені грибами, що належать до класів базидоміцетів і аскоміцетів;
- е) антибіотики, утворені лишайниками, водоростями і нижчими рослинами;
- є) антибіотики, утворені вищими рослинами;
- ж) антибіотики тваринного походження.

2. Класифікація за спектром біологічної дії:

- а) протибактеріальні антибіотики вузького спектра дії, активні переважно по відношенню до грампозитивних мікроорганізмів;
- б) протибактеріальні антибіотики широкого спектра дії;
- в) протитуберкульозні антибіотики;
- г) протигрибкові антибіотики;
- д) протипухлинні антибіотики.

3. Класифікація антибіотиків за хімічною будовою:

- а) антибіотики ациклічної будови;
- б) антибіотики аліциклічної будови;
- в) тетрацикліни;
- г) ароматичні антибіотики;
- д) антибіотики-хінони;
- е) антибіотики-кисневмісні гетероциклічні сполуки;
- є) антибіотики-азотовмісні гетероциклічні сполуки;
- ж) антибіотики-аміноглікозиди;
- з) металовмісні антибіотики.

Тип дії антибіотиків може бути цидним (бактеріоцидним, фунгіцидним, віріоцидним, протозоацидним), під цим розуміється невідворотне порушення життєдіяльності інфекційного агенту, і статичним (бактеріостатичним, фунгістатичним, віріостатичним, протозоастатичним), що спричиняє призупинення життєдіяльності і розмноження збудника.

Антибіотики повинні володіти високою вибірковою токсичністю, тобто вони повинні бути токсичними по відношенню до мікробних клітин і нешкідливими до клітин організму хворого.

Залежно від точки впливу і механізму біологічної дії, антибіотики поділяють на:

1. Специфічні інгібітори біосинтезу клітинної стінки: пеніциліни, цефалоспорини, цефаміцини, ванкоміцин, ристоміцин, циклосерин.
2. Препарати, що порушують молекулярну організацію та функціонування біологічних мембран: поліміксини, полієни.
3. Препарати, що пригнічують синтез білку на рівні рибосом: макроліди, лінкоїцини, аміноглікозиди, тетрацикліни, левоміцетин, фузидин.

4. Інгібітори синтезу РНК на рівні РНК-полімерази та інгібітори, що діють на метаболізм фолієвої кислоти: рифампіцини.

5. Інгібітори синтезу РНК на рівні ДНК-матриці: актиноміцини, антибіотики групи аурелової кислоти.

6. Інгібітори синтезу ДНК на рівні ДНК-матриці: мітоміцин С, антрацикліни.

Промисловий процес виготовлення антибіотиків проходить за наступними етапами:

1. Стадії біосинтезу (утворення) антибіотика. Це основна біологічна стадія складного процесу одержання антибіотичної речовини. Головне завдання на цій стадії – створення оптимальних умов для розвитку продуцента й максимально можливого біосинтезу антибіотика. Висока результативність стадії залежить від рівня біосинтетичної активності продуцента антибіотика, часу його максимального накопичення, складу поживних середовищ для культивування організму, у тому числі вмісту застосовуваних попередників, а також загальних енергетичних витрат на процеси, пов'язані з розвитком продуцента антибіотичної речовини.

2. Стадії попередньої обробки культуральної рідини, клітин (міцелію) мікроорганізму й фільтрації (відділення культуральної рідини від біомаси продуцента). Ефективність стадії багато в чому визначається складом середовища для вирощування продуцента антибіотика, характером його росту, місцем основного нагромадження біологічно активної речовини (у культуральній рідині або всередині клітини).

3. Стадія виділення й очищення антибіотика. На цій стадії, залежно від властивостей антибіотика, його хімічної будови й основного місця нагромадження антибіотичної речовини, застосовують різні методи виділення й очищення. У якості основних методів використовуються екстракція, осадження, сорбція на іонообмінних матеріалах, розпарювання, сушіння.

Особливість цієї технологічної стадії визначається тим, що на першій стадії мають справу з невеликою концентрацією (~1%) антибіотика в оброблюваному розчині, тоді як на наступних етапах його концентрація збільшується до 20-30%. Усе це вимагає застосування різних місткостей і об'ємів використовуваних реагентів.

4. Стадії одержання готової продукції, виготовлення лікарських форм, розфасовки. Особливість стадії обумовлюється дуже високим вимогам до якості кінцевого продукту. У випадку випуску антибіотиків, призначених для ін'єкцій, препарати повинні бути стерильними; одержання таких антибіотичних препаратів, готування різних лікарських форм, дозування (розфасовка) і пакування повинні здійснюватися в асептичних умовах. Для максимального виходу антибіотика при культивуванні продуцента використовують комплекс заходів, що включають підбір найбільш сприятливих для цих цілей поживних середовищ, режимів культивування організму. Весь цей комплекс заходів включається в поняття «керований біосинтез».

У промислових умовах керований біосинтез вимагає суворого дотримання технологічного процесу як на стадії підготовки інокуляту, так і на стадії біосинтезу. На стадії підготовки інокуляту особливу увагу звертають на склад середовища, на якому вирощується організм, на вік клітин або міцелію. На стадії біосинтезу, крім складу середовища, велику роль відіграють швидкість споживання тих або інших компонентів, вміст попередників, регуляція процесу аерації культури, підтримка відповідних температури й рН середовища й інших показників режиму культивування.

У сучасних умовах виробництва вживають заходів для максимального зниження собівартості препаратів шляхом інтенсифікації всіх стадій технологічного процесу й, насамперед, підвищенням ефективності першої стадії – біосинтезу антибіотичної речовини.

Для цього необхідно:

- а) впровадження у виробництво найбільш високопродуктивних штамів мікроорганізмів-продуцентів антибіотиків;
- б) створення й забезпечення найсприятливіших умов розвитку продуцента антибіотика на відносно дешевих середовищах;
- в) широке використання математичних методів планування процесу розвитку організму й електронно-обчислювальної техніки з метою оптимізації й моделювання умов його культивування, що забезпечують максимальний вихід антибіотика;
- г) застосування сучасного обладнання на всіх стадіях технологічного процесу з автоматизованими системами, що контролюють основні параметри розвитку організму і стадій біосинтезу антибіотика.

Біотехнологічний процес одержання антибіотиків можна зобразити у вигляді наступної схеми (рис. 5) Більшість антибіотиків накопичується поза клітинами мікроорганізму-продуцента, якими в основному є актиноміцети, деякі гриби і бактерії (головним чином їх мутантні форми). Антибіотики, що вживаються переважно в медицині, піддаються високому ступені очищення. Антибіотики для лікування сільськогосподарських тварин мають специфічну активність щодо найбільш поширених для них захворювань, наприклад гельмінтозів, кокцидіозів та ін. Для добавки в корми зазвичай випускають концентрат середовища після вирощування в ній продуцента, іноді разом з біомасою, що містить значну кількість інших продуктів обміну речовин продуцента, в т.ч. вітаміни, амінокислоти, нуклеотиди та ін.

В 1871 р. В.А. Манасеїним було встановлено, що зелена цвіль *Penicillium glaucum* знищує бактерії, що потрапляють у культуральне середовище. Ця властивість *Penicillium* була тоді ж використана лікарем А. Г. Полотебневим, що використовував змочені цієї цвільлю пов'язки для лікування гнійних ран і виразок.

Видатне відкриття російських учених не одержало широкого розповсюдження, і в 1928 р. англієць Олександр Флемінг удруге виявив здатність цвілевого грибка *Penicillium* пригнічувати ріст мікроорганізмів. Було показано, що загибель мікробів обумовлена невідомою органічною речовиною, названою пеніциліном. Однак виділення пеніциліну в чистому

вигляді в той же час не було здійснене, у зв'язку із його термолабільністю, і недосконалістю методів виділення та очищення.

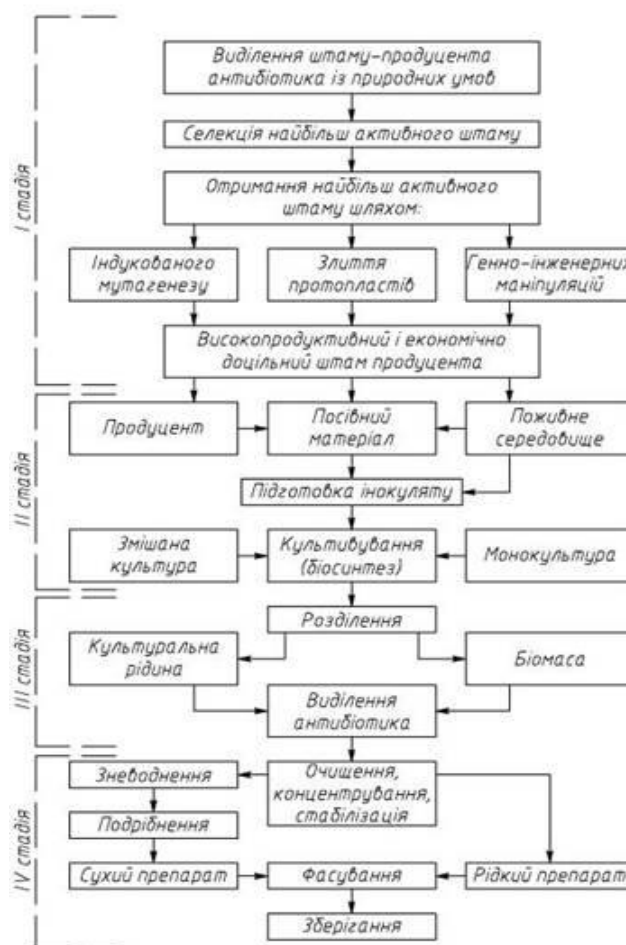


Рис. 5. Схема виробництва антибіотиків в процесі мікробіологічного синтезу

У роки Другої Світової Війни величезна практична потреба в ефективних антибактеріальних препаратах привернула до пеніциліну увагу широкого кола фахівців, і приблизно з 1939 р. почався період інтенсивних досліджень. Завдяки цьому у відносно короткий термін (3-5 років) англійцями Х. Флорі й А. Четтенем (1940) були розроблені способи промислового одержання й очищення пеніциліну, вивчені його лікувальні властивості й методи клінічного застосування, а також встановлена його хімічна структура. До пеніцилінів відноситься група близьких по хімічних властивостях сполук, що містять у своїй структурі β -лактамне й тіазолідинове кільця (рис. 6).

Спочатку його отримували методом поверхневого культивування. Технологія була досить примітивною – продуцент культивували в колбах або пляшках. Потреба в пеніциліні була дуже велика і об'єм його виробництва, хоч і в примітивних умовах, швидко збільшувався. Для культивування продуцента використовувались навіть пляшки з-під молока, оскільки були наявності машини для їх миття та обробки. В кожену пляшку наливали

поживне середовище товщиною 1 – 4 см, що забезпечувало необхідні умови аерації. Пляшки поміщали в спеціальні кошики, стерилізували, а потім охолоджували. Сухі спори або їх водну суспензію вносили в пляшки пульверизаторами або піпетками і ферментували протягом 5 – 10 діб за температури 24°C.

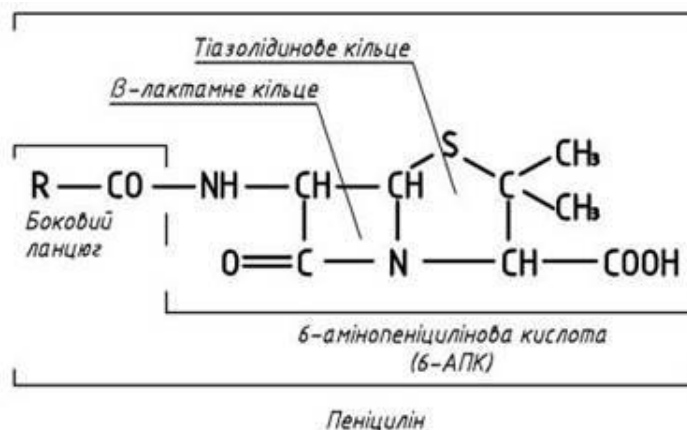


Рис. 6. Структурна формула пеніциліну

На сьогоднішній день у всьому світі пеніцилін отримують так, як і решту антибіотиків, методом глибинного культивування.

Більшість пеніцилінів виготовляють у вигляді натрієвих або калієвих солей. Новокаїнові і бензатинові солі є основою пролонгованих препаратів пеніциліну для внутрішньо-м'язового введення.

В сухій кристалічній формі пеніцилінові солі досить стабільні протягом тривалого терміну за температури 4°C.

На сьогоднішній день бензилпеніцилін необхідний не тільки як медичний препарат, але і як речовина, що є вихідним продуктом для отримання 6-АПК (амінопеніциланова кислота) і в подальшому напівсинтетичних пеніцилінів. Із загальної кількості природних пеніцилінів приблизно 35% використовуються як медичні препарати, а 65% – для отримання 6-АПК.

Характеристика продуцента

В якості продуцента широко використовують культури *Penicillium chrisogenum*, види *Penicillium* утворюють спори (конідії).

До роду *Penicillium* входять гіфальні мікроорганізми із септованим міцелієм, що утворює конідіальні китиці на септованих конідієносах. Конідії одноклітинні, круглі або овальні і переважно зеленого кольору (рис. 7).

Рід *Penicillium* нараховує близько 900 описаних видів, систематика яких значною мірою базується на особливостях формування китиць (одномутовчасті, двохмутовчасті, неправильні). Рід поділяється на підроди: *Eupenicillium*, *Gliocladium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces*, *Citromyces*.

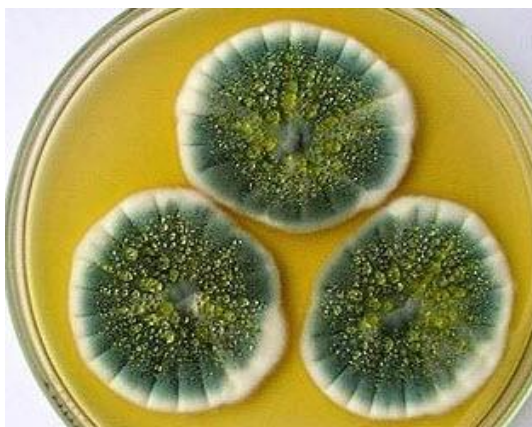


Рис. 7. Вигляд колонії пеніциліну

Під час вивчення пеніциліну встановлено, що серед продуктів його кислотного гідролізу завжди присутня β -диметилцистеїн.

Прийнято вважати, що бензилпеніцилінова кислота синтезується із L-цистина, фенілоцтової кислоти і диметилпіровиноградної кислоти.

Для отримання пеніциліну спочатку розмножують спори. Їх можна вирощувати на агаризованих середовищах, до складу яких входить 0,5% м'яси, 0,5% пептону, 0,4% повареної солі, 0,01% однозаміщеного фосфату калію і 0,005% сульфату магнію. Спори вирощують за температури 25 – 27°C протягом 4 – 5 діб.

В промисловості спори часто отримують, вирощуючи міцелій в скляних флаконах на просіяному середовищі. Висушений споровий матеріал можна зберігати навіть за кімнатної температури.

Отриманий споровий матеріал використовують для засіву інокуляторів (1 – 3 флакони на апарат, де міцелій розмножують до кількості 5 – 10% від об'єму посівних ферментерів).

Промислові штами під час селекції дають невелику кількість варіантів, із яких відбирають найбільш активні і стабільні для подальшого використання.

Підготовка посівного матеріалу

Підготовка посівного матеріалу – одна з найвідповідальніших операцій у циклі біотехнологічного способу одержання антибіотиків. Від кількості і якості посівного матеріалу залежить як розвиток культури у ферментері, так і біосинтез антибіотика. Продуцент зазвичай вирощують на багатих за складом натуральних середовищах, здатних забезпечити найвищу фізіологічну активність мікроорганізмів. Підготовка посівного матеріалу – процес багатоступеневий (рис. 8).

Мікроорганізм попередньо вирощують на агаризованому середовищі в пробірці (1, 2), потім із пробірки роблять висів у колби з рідким поживним середовищем, проводять дві генерації методом глибинного вирощування на качалках протягом двох-трьох діб для кожної генерації (3а й 3б). Із другої генерації культури в колбі роблять посів у невеликий (10 л) інокулятор 4, після чого добре розвинену культуру переносять у більший інокулятор 5 (100 – 500 л), звідки й роблять посів в основний ферментер 6. Для посіву в

основний ферментер використовують від 5 до 10% посівного матеріалу (інокуляту).

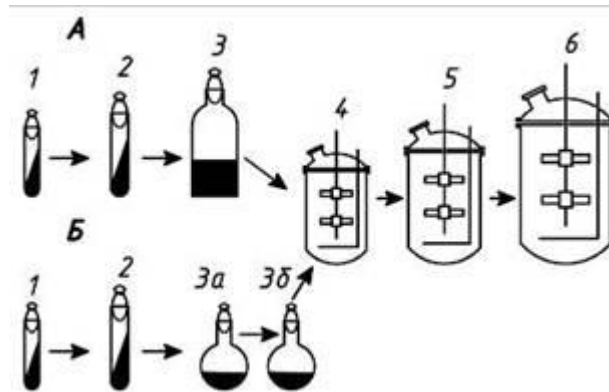


Рис. 8. Схема багатоступеневого приготування посівного матеріалу
 А – вирощування у флаконах, Б – вирощування у колбах на качалках: 1 – законсервований вихідний матеріал; 2 – спорова генерація на скошеному агарі в пробірці; 3 – II спорова генерація на твердому середовищі; 3а і 3б – I і II генерації на рідкому середовищі в колбі; 4 – ферментер попереднього інокулювання; 5 – ферментер інокулювання; 6 – основний ферментер.

Характеристика поживного середовища

Для промислового виробництва антибіотика використовують середовище, що містить кукурудзяний екстракт, гідрол, лактозу і мінеральні солі. Замість кукурудзяного екстракту можуть використовуватися арахісове борошно, вичавки, борошно із бавовняного насіння та інші джерела поживних речовин. Можливість широкого використання продуктів рослинного походження обумовлена тим, що продуцент має сильні протеолітичні ферменти. В якості вуглеводів часто використовують цукрозу або суміш лактози із глюкозою у співвідношенні 1:1. Глюкоза може знижувати біосинтез антибіотика; на середовищах, що містять лактозу або цукрозу (в умовах депресії), біосинтез антибіотика іде активніше. Важливу роль в процесі біосинтезу пеніциліну відіграє сірка, що міститься в структурі антибіотику. В якості джерела сірки використовують сульфат або тіосульфат натрію. Надлишок іонів міді не впливає на ріст гриба, але пригнічує синтез пеніциліну. Ефект пригнічення біосинтезу знімається за рахунок додавання в середовище іонів заліза. Продуцент в якості джерела фосфору може використовувати не тільки фосфати, але й фітати (солі інозитфосфорних кислот): *Penicillium chrisogenum* містить фермент, що руйнує фітин з вивільненням неорганічного фосфору.

В посівних ферментерах міцелій вирощують 12 – 18 год, 12 – 15% об'єму культуральної рідини використовують для початку основної ферментації. Поживне середовище для вирощування міцелію і біосинтезу пеніциліну готують зазвичай із кукурудзяного екстракту, лактози, глюкози, мінеральних речовин і декількох препаратів фенілоцтової кислоти – попередників антибіотиків.

Синтез того чи іншого пеніциліну залежить від наявності специфічної речовини в середовищі, інакше кажучи, попередника, якого мікроорганізм

включає в молекулу антибіотика без попереднього розщеплення. Варто відзначити, що попередники біосинтезу пеніциліну (фенілоцтова кислота, фенілацетамід, феноксиоцтова кислота) за визначених концентрацій та значень рН середовища проявляють токсичну дію на продуцента. Фенілоцтова кислота найменш токсична. Додавання її в середовище в концентрації більше 500 мкг/мл пригнічує ріст міцелію, особливо в перші 24 год його розвитку. Фенілоцтова кислота додається в концентрації від 100 до 500 мкг/мл через 24 год розвитку продуцента. За таких умов забезпечується найбільший вихід бензилпеніциліну, концентрацію якого через 72 год розвитку може досягнути 500 – 1000 мкг/мл.

Під час розвитку гриба без внесення попередника утворюється близько 45% бензилпеніциліну і близько 53% пеніциліну К. У разі додавання в поживне середовище фенілоцтової кислоти змінюється співвідношення утворюваних компонентів в бік різкого збільшення бензилпеніциліну, кількість якого залежно від віку досягає 75 – 95% від суміші пеніцилінів. В процесі культивування *Penicillium chrisogenum* в середовищі, що не містить фенілоцтової кислоти, в ньому накопичуються сірковмісні сполуки не β -лактамної природи, наближені до цистеїну та метіоніну. Додавання в середовище фенілоцтової кислоти сприяє більш швидкому метаболізму сірковмісних компонентів та сполуки β -лактамної природи.

Стерилізація поживного середовища

Для кожного продуцента антибіотика розробляється оптимальне живильне середовище. Середовище повинне відповідати певним вимогам:

- а) забезпечувати максимальний вихід антибіотика;
- б) складатися з відносно дешевих компонентів;
- в) мати гарну фільтруючу здатність;
- г) забезпечувати застосування найбільш економічних прийомів виділення й очищення антибіотиків.

Стерилізація поживних середовищ у промислових умовах здійснюється двома методами: періодичним і безперервним.

Періодичний метод стерилізації застосовується у разі використання невеликих об'ємів середовища й полягає в тому, що середовище нагрівається до температури 120 – 130°C безпосередньо у ферментерах або в спеціальних казанах-стерилізаторах, витримується при цій температурі протягом 30 – 60 хвилин (залежно від об'єму середовища і його складу), після чого охолоджується до 27 – 30°C.

За час, затрачений на нагрівання середовища до температури, необхідної для стерилізації, і її охолодження, знищується значне число мікроорганізмів. Ефект стерилізації й збереження термолабільних речовин досягаються в тому випадку, якщо стерилізацію проводять за більш високої температури і за коротший проміжок час. Безперервний метод стерилізації доцільно застосовувати при використанні більших об'ємів середовища. Приготовлене середовище зі спеціальної посудини за допомогою насоса подається в стерилізаційну колону, через яку пропускають гостру пару (тиск

пари близько 505 Па). Пару подають зверху по внутрішній трубі, що має щілиноподібні прорізи, завдяки чому він надходить у середовище, швидко її нагріваючи. Середовище в колону подається знизу й рухається по спіралі навколо внутрішньої труби.

Середовище, нагріте в колоні до необхідної для стерилізації температури ($\sim 130^{\circ}\text{C}$), надходить у спеціальний апарат, де воно витримується певний час при температурі $125 - 130^{\circ}\text{C}$. Час витримки залежить від складу середовища й триває $5 - 10$ хвилин. Звідси стерильне середовище надходить у змієвиковий холодильник, охолоджується до $30 - 35^{\circ}\text{C}$ (на виході) і надходить у ферментер.

Безперервний метод стерилізації має ряд переваг: можливість автоматичного регулювання процесу, швидке й рівномірне нагрівання середовища, забезпечення більш повної стерильності середовища й ін.

У процесі підготовки поживного середовища для отримання бензилпеніциліну приготовлене середовище піддають стерилізації. Процес ведуть у колонах безперервної дії. Далі середовище надходить у витримувач, де охолоджується протягом певного часу до температури $23 - 25^{\circ}\text{C}$.

Особливості перебігу процесу ферментації

У сучасних умовах найбільш перспективним методом вирощування мікроорганізмів-продуцентів антибіотиків визнаний метод глибинного культивування. Метод полягає в тому, що мікроорганізми розвиваються в товщі рідкого поживного середовища, через яке безупинно подається стерильне повітря, і за постійного перемішування.

Існують чотири основні модифікації глибинного способу вирощування мікроорганізмів:

1. **Періодичне культивування.** У цьому способі весь процес розвитку мікроорганізмів повністю завершується в одному ферментері, після чого ферментер звільняється від культуральної рідини, ретельно промивається, стерилізується й знову заповнюється свіжим поживним середовищем. Середовище засівається продуцентом, і процес відновляється.

2. **Метод відбору.** Культивування мікроорганізмів здійснюється у ферментерах з періодичним відбором частини об'єму культуральної рідини і доведенням свіжим поживним середовищем до попереднього рівня.

3. **Батарейний спосіб.** Мікроорганізми розвиваються в ряду послідовно з'єднаних ферментерів. Культуральна рідина на певній стадії розвитку мікроорганізму перекачується з першого ферментера в другий, потім із другого в третій і т.д. Звільнений ферментер відразу заповнюється свіжим поживним середовищем, засіяним продуцентом. У цьому способі вирощування мікроорганізмів використовуються більш раціонально.

4. **Безперервне культивування.** В основі методу лежить принцип безперервного потоку поживного середовища, що дозволяє підтримувати розвиток мікроорганізму на певній стадії його росту. Стадія розвитку мікроорганізму визначається тим, що в цей період відбувається максимальний біосинтез антибіотика або іншої біологічно активної сполуки.

Встановлено, що в умовах безперервного процесу біосинтезу деяких антибіотиків можна одержати чудові результати, якщо процес вести у дві стадії. У першому апараті батареї підтримують високу швидкість потоку, що забезпечує більшу швидкість росту продуцента антибіотика, для того, щоб одержати високоактивну біомасу, а в другому апараті – забезпечують низьку швидкість потоку й відповідно невелику швидкість росту. Процес безперервного культивування – перспективний напрямок сучасної біотехнології.

Розвиток мікроорганізму у ферментерах проходить за суворого контролю всіх його стадій і точного виконанням регламенту умов розвитку. Велику увагу приділяють підтримці заданої температури культивування, активної кислотності середовища (pH), ступеня аерації й швидкості роботи мішалки. У процесі розвитку організму здійснюють біологічний контроль, враховують споживання організмом основних компонентів субстрату (джерела вуглецю, азоту, фосфору), уважно стежать за утворенням антибіотика. Проводити біологічний контроль на досить високому рівні дозволяє використання сучасного комп'ютерного забезпечення та автоматизованих систем управління.

Велике значення для утворення пеніциліну має аерація культури. Максимальне накопичення пеніциліну відбувається за інтенсивності аерації, що дорівнює 1 од. об'єму повітря за 1 хв. на 1 од. об'єму середовища. Зменшення інтенсивності аерації або надмірне збільшення призводять до зниження біосинтезу пеніциліну. Важливу роль при цьому відіграє перемішування культури. Так, із збільшенням потужності, що витрачається на обертання мішалки у ферментері об'ємом 7500 л, швидкість споживання лактози збільшується і біосинтез антибіотика зростає (рис. 9). Від способу перемішування культуральної рідини залежить форма і величина глибинних колоній, стан яких визначає міру здатності міцелію до синтезу пеніциліну.

Велику увагу в процесі розвитку продуцента у ферментерах звертають на процес піногасіння. Під час продування повітря через культуру мікроорганізму утворюється піна, яка суттєво порушує процес розвитку продуцента антибіотика у ферментері. Поява великої кількості піни обумовлена білковими речовинами, що знаходяться у середовищі, і її високою в'язкістю, що пов'язано з інтенсивним накопиченням біомаси.

Для боротьби з піною у ферментерах використовують поверхнево активні речовини: рослинні олії (соєву, соняшникову), тваринний жир (лярд, китовий жир), а іноді мінеральні олії (вазелінову, парафінову), спирти й вищі жирні кислоти. Нерідко в якості піногасників використовують спеціально синтезовані речовини (силікони, діазобутананкарбаміл та ін.).

Багато речовин (олії, жири, спирти й ін.), що використовуються в якості піногасників, споживаються продуцентами антибіотиків як додаткові джерела вуглецевого живлення. При цьому часто спостерігається підвищення виходу антибіотика. Однак внесення піногасника може знижувати швидкість розчинення кисню, що, у свою чергу, негативно позначається на розвитку мікроорганізму і його біосинтетичну активність.

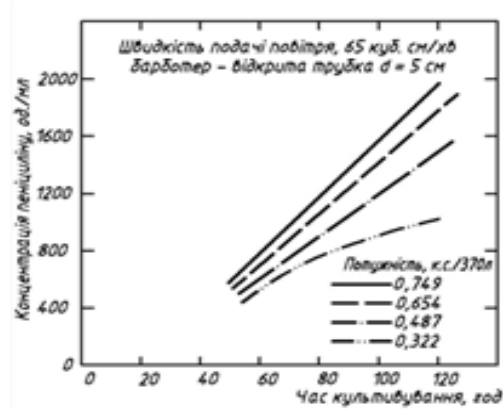


Рис. 9. Графік залежності накопичення пеніциліну від інтенсивності перемішування

Іноді використовуються механічні способи піногасіння (відсмоктування піни через спеціальні труби, руйнування пухирців піни сильними струменями рідини, пари або газу).

Загальна схема виробництва антибіотиків до стадії виділення й хімічного очищення представлена на рис. 10.

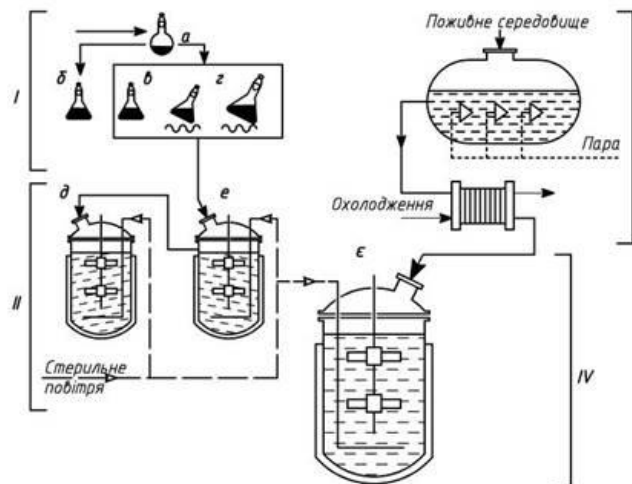


Рис. 10. Схема виробництва антибіотиків:

I – приготування посівного матеріалу; II – інокулятори для нарощування посівного матеріалу; III – стерилізатор середовища для великого ферментера; IV – установка для біосинтезу антибіотика; а – стерилізація середовища в колбах; б – охолодження й посів культури продуцента в колбу; в – ріст культури в стані спокою; г – ріст культури в качалці; д – інокулятор зі стерильним середовищем; е – інокулятор із середовищем, засіяним культурою продуцента; ε – ферментер;

Перша стадія процесу – вирощування стандартної колонії штамів плісняви *Penicillium chrysogenum* – проводиться в інокуляторах на поживному середовищі де процес іде ~30 годин. Підготовлений інокулят переносять у посівний апарат, об'єм якого ~ в 10 раз більше об'єму інокулятора. У посівному апараті знаходиться також стерилізоване поживне середовище. Процес росту тут іде ~15-20 годин, і далі посівний матеріал подається на ферментацію в більші реактори – ферментери об'ємом до 100

м³. Процес ферментації триває ~70 годин за температури 23 – 24°C, рН середовища 6 – 6,5 і за інтенсивної аерації (1 од. об'єму повітря за 1 хв на 1 од. об'єму середовища).

Для стабілізації реакції середовища використовують крейду. Коли кількість пеніциліну досягає максимуму ферментацію припиняють.

Особливості процесу виділення і очистки пеніциліну

Більшість продуцентів у процесі біосинтезу виділяють антибіотик у водну фазу, тому процес виділення антибіотика починається з розділення твердої й рідкої фаз.

Тверда фаза, крім маси міцелію, містить значну кількість колоїдних домішок, що ускладнюють фільтрування, тому культуральну масу попередньо піддають різним типам коагуляції (електролітична, теплова, кислотна і т.д.). Найбільш ефективним методом коагуляції культуральної маси є її обробка флокулянтами (високомолекулярними поліелектролітами), наприклад, полі-(4-вініл)-N-Бензилтриметиламонійхлоридом. Коагульований міцелій відділяють сепарацією або фільтрацією (частіш за все у вакуум-фільтрах циліндричного типу).

Після відділення міцелію в фільтраті міститься 3 – 6% сухих речовин, із яких 30 – 40% складають мінеральні речовини, а 15 – 30% пеніцилін. Вміст редуруючих речовин за Бертраном в нативному розчині зазвичай складає 0,1 – 0,4%. Крім того, в ньому міститься 50 – 200 мг/100 г, а іноді навіть до 700 мг білку на 100 г розчину, що дуже ускладнює виділення пеніциліну. Білкові домішки видаляють, використовуючи різні методи попередньої обробки, наприклад, осадження солями полівалентних металів (Al, Fe, Zn), коагуляція таніном або високою температурою (60 – 70°C) за рН середовища 5,5 – 6,0. В цих процесах втрати пеніциліну становлять 5 – 15%. Після цього пеніцилін екстрагують органічними розчинниками (бутилацетат, амілацетат), які не змішуються із водою. На даному етапі важливо витримати рН середовища в межах 1,9 – 2,0. В результаті екстрагування чистота продукту збільшується в 4 – 6 рази. Потім пеніцилін із бутилацетатного екстракту за допомогою розчину дикарбонату натрію (рН середовища 6,6 – 7,2) розчиняють у воді, отримуючи розчин із 5 – 7% вмістом сухих речовин і активністю 30000 – 50000 од./мл. Для очищення пеніциліну його знову екстрагують органічним розчинником (бутилацетатом). Під час екстрагування співвідношення фаз 1:0,5 – 1:1, активність екстракту 50000 – 70000 од./мл. Вихід пеніциліну складає приблизно 86 % від його кількості в культуральній рідині.

Широко застосовуються сорбційні методи виділення й очищення антибіотиків. У якості сорбентів широко використовуються синтетичні іонообмінні смоли.

Після виділення й хімічного очищення антибіотика його необхідно висушити, тобто вилучити із препарату вільну і зв'язану воду.

Оскільки більшість антибіотиків тією чи іншою мірою термолабільні, для їхнього висушування застосовують методи, що не приводять до втрати

біологічної активності та хімічної структури препарату. На сучасному етапі промислового одержання антибіотиків використовують наступні методи зневоднювання. Це:

- ліофілізація антибіотиків – широкопоширений метод, проводиться за порівняно низьких температурах ($-8 - -12^{\circ}\text{C}$).

- висушування із застосуванням розпилювальної сушарки – прогресивний метод при роботі з великими кількостями антибіотика. Розчин антибіотика пневматично розпилюється у камері з протитоком нагрітого повітря. Процес висушування антибіотиків триває кілька секунд, при цьому навіть термолабільні препарати не змінюють свої властивості.

- Метод псевдокиплячого шару (або сушіння у вакуум-сушильних шафах) застосовується для висушування зернистих і пастоподібних антибіотичних препаратів.

Розфасовка й пакування антибіотика – завершальний етап роботи. Розфасований і упакований антибіотик із зазначенням показника біологічної активності, дати випуску й терміну придатності надходить у продаж.

Контроль якості отриманого антибіотика

Готовий антибіотик піддається ретельному контролю: біологічному й фармакологічному.

1. Під час біологічного контролю ставиться задача підтвердження стерильності готового препарату. Для цього зазвичай використовують два методи.

Перший пов'язаний з інактивацією антибіотика та висівом його у відповідне поживне середовище. Наприклад, біологічний контроль бензилпеніциліну і напівсинтетичних препаратів, отриманих на його основі, проводиться в такий спосіб. У пробірки, що містять тіогліколеве середовище, вносять фермент пеніцилазу в кількості, що здатна повністю інактивувати пеніцилін. Пробірки з пеніцилазою витримують дві – три доби за температури 37°C для контролю стерильності ферменту, потім у них вносять розчин пеніциліну. Пробірки розділяють на дві групи: одну витримують за 37°C , а іншу – за 24°C протягом п'яти діб. Проводять щоденне спостереження за можливим розвитком мікроорганізму.

Другий метод з'ясування стерильності антибіотиків полягає у тому, що для більшості цих сполук не існує інактиваторів їх біологічної активності. Тому в досліджуваних препаратах виявляють стійкі до них форми мікроорганізмів, а також визначають можливу присутність чутливої мікрофлори. Для визначення можливої присутності в таких препаратах чутливої до них мікрофлори розчин антибіотика пропускають через мембранні фільтри з діаметром пор не більш $0,75\text{ мкм}$.

2. До антибіотичних речовин, використовуваних у медичній практиці, відповідно до Державної Фармакопії України висуваються дуже суворі вимоги. Кожний новий лікарський препарат, перш ніж він буде дозволений до практичного застосування, повинен пройти всебічні випробування на токсичність, пірогенність і інші властивості, життєво важливі для організму.

Препарат випробовують на різних видах тварин по відношенню до його гострої й хронічної токсичності (вплив на кров, ЦНС, дихання і т.д.). Показники гострої токсичності – один із критеріїв якості антибіотичної речовини. Встановлюють максимально допустиму дозу (МДД) антибіотика; дозу, що викликає загибель 50 % піддослідних тварин (LD50) і смертельну дозу (LD100). Тільки після всебічного й ретельного вивчення препарату він може бути рекомендований до практичного застосування.

Отже, промисловий процес виготовлення бензилпеніциліну проходить за наступними етапами:

1. Селекція високопродуктивного штаму продуцента.
2. Підготовка посівного матеріалу та поживного середовища.
3. Стадія біосинтезу.
4. Стадія попередньої обробки культуральної рідини.
5. Стадія виділення й очищення антибіотика.
6. Стадія одержання готової продукції.
7. Контроль якості готового продукту.

В процесі виготовлення бензилпеніциліну особливу увагу приділяють внесенню в поживне середовище речовин-попередників, тобто сполук, які продуцент буде використовувати для синтезу бензилпеніциліну. До них належать фенілоцтова кислота, фенілацетамід, феноксидоцтова кислота.

У сучасних умовах виробництва вживають заходів для максимального зниження собівартості препаратів шляхом інтенсифікації всіх стадій технологічного процесу й, насамперед, підвищенням ефективності першої стадії – біосинтезу антибіотичної речовини.

Для цього необхідно:

- а) впровадження у виробництво найбільш високопродуктивних штамів мікроорганізмів-продуцентів антибіотиків;
- б) створення й забезпечення найсприятливіших умов розвитку продуцента антибіотика на відносно дешевих середовищах;
- в) широке використання математичних методів планування процесу розвитку організму й електронно-обчислювальної техніки з метою оптимізації й моделювання умов його культивування, що забезпечують максимальний вихід антибіотика;
- г) застосування сучасного обладнання на всіх стадіях технологічного процесу з автоматизованими системами, що контролюють основні параметри розвитку організму і стадій біосинтезу антибіотика.

Контрольні питання

1. Що таке мікробіологічний синтез?
2. Чим мікробіологічний синтез відрізняється від бродіння?
3. Вкажіть стадії мікробіологічного синтезу.
4. Що таке антибіотики?
5. Що таке утворення антибіотиків?
6. Характеристика специфічності антибіотиків.

7. Яким чином виражається величина біологічної активності антибіотика?
8. Вкажіть три умови пригнічення росту мікроорганізмів антибіотиками.
9. Класифікація антибіотиків
10. Вкажіть типи дії антибіотиків.
11. Види антибіотиків залежно від точки впливу і механізму біологічної дії.
12. Характеристика етапів промислового виробництва антибіотиків.
13. Яким чином здійснюється контроль якості отриманого антибіотика?

Лабораторна робота № 5

Промислове виробництво амінокислот – первинного метаболіту продуктів мікробного синтезу



Рис. 11. Методи отримання амінокислот у промисловості

Виробництво амінокислот у світі постійно зростає і нині становить близько 400 тис. тонн за рік, хоча потреба в них оцінюється набагато вище. Як уже зазначалося, нестача в раціоні амінокислот (особливо, незамінних) негативно позначається на рості та розвитку. Так, добавка до кормів тварин декількох часток % дефіцитної кислоти може підвищити кормову цінність білка більше ніж у два рази. З усіх можливих способів отримання амінокислот (хімічним шляхом, мікробіологічним тощо) перевага віддається мікробіологічному: хоча організацію мікробного виробництва не можна назвати простою, її перевага полягає в синтезі оптично чистих (L-амінокислот), тоді як при хімічному синтезі виходить рацемічна суміш L- і D-амінокислот, яку важко розділити.

Мікробний синтез амінокислот заснований на культивуванні суворопевного продуцента цільової кислоти в середовищі заданого складу при суворовизначених параметрах ферментації. Продуцентами є штами бактерій, отримані мутантною селекцією або за допомогою методів генної інженерії. Бактерії-мутанти, з одного боку, втратили здатність самостійно синтезувати деякі речовини, а з іншого боку, придбали здатність до зверхсинтезу цільової амінокислоти.

Вже до 70-х років минулого століття були отримані мікробіосуперпродуценти родів *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, за допомогою яких можливо синтезувати всі відомі амінокислоти. В даний час є суперпродуценти, у яких кількість синтезованого специфічного білку досягає 10-50% (тут найважливішу роль відіграють плазміді, що несуть вбудовані гени). Технологія отримання амінокислот базується на принципах ферментації продуцентів і виділення первинних метаболітів, тобто

розмножують маткову культуру спочатку на агаризованому середовищі в пробірках, потім - на рідкому середовищі в колбах, інокуляторах і посівних апаратах, а потім - в основних ферментаторах. Якщо амінокислота передбачена в якості добавки до кормів, то біотехнологічний процес кормового продукту включає наступні стадії: ферментацію, стабілізацію амінокислоти в культуральній рідині перед випарюванням, вакуум-упарення, стандартизацію упареного розчину при додаванні наповнювача, висушування і упаковку готового продукту, в якому повинно міститися не більше 10% основної речовини. Якщо ж амінокислота використовується в якості лікарського препарату, в цьому випадку отримують ізольовані чисті кристали, які висушують під вакуумом і упаковують. Наприклад, у промисловості виготовляють сухий кормовий і рідкий кормовий концентрати лізину поряд з кристалічним лізином (рис. 12).

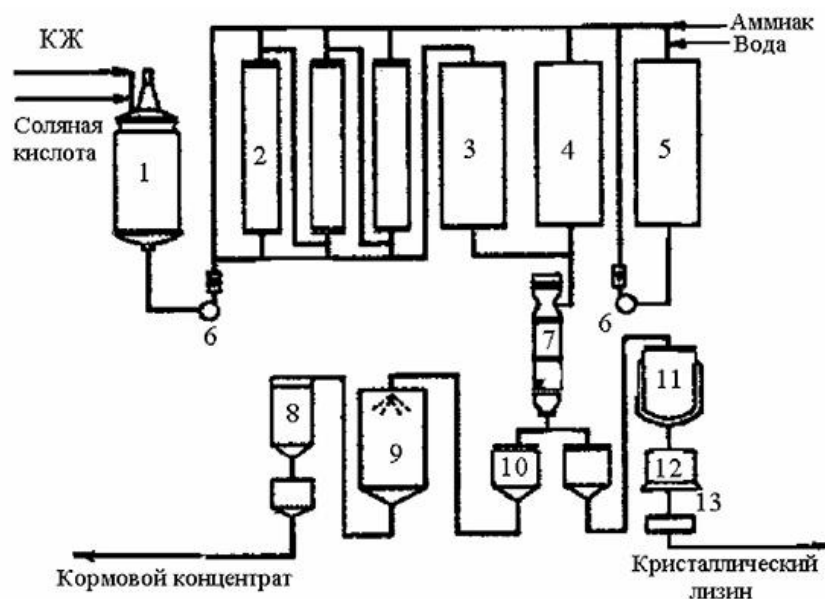


Рис. 12. Технологічна схема отримання лізину:

1 - ємність для культуральної рідини (КР (КЖ)); 2 - іонообмінні колони; 3 - збірник елюату (розчину, що виділяється із хроматографічної колони); 4 - збір фільтрату; 5 - ємність для елюату; 6 - насос; 7 - вакуум-випарювальний апарат; 8 - циклон; 9 - сушарка кормового концентрату; 10 - збір; 11 - реактор-кристалізатор; 12 - центрифуга; 13 - сушарка

Відомо два способи отримання амінокислот: одноступінчатий і двоступінчатий. Відповідно до першого способу, наприклад, мутантний штам - продуцент амінокислоти - культивують на оптимальному для біосинтезу середовищі. Цільовий продукт накопичується в культуральній рідині, з якої його виділяють згідно зі схемою на рис. 13.

Якщо ферменти біосинтезу амінокислоти накопичуються внутрішньоклітинно, то після 1-го ступеня клітини сепарують, дезінтегрується і застосовують клітинний сік. В інших випадках для цілей біосинтезу цільових продуктів застосовують безпосередньо клітини.

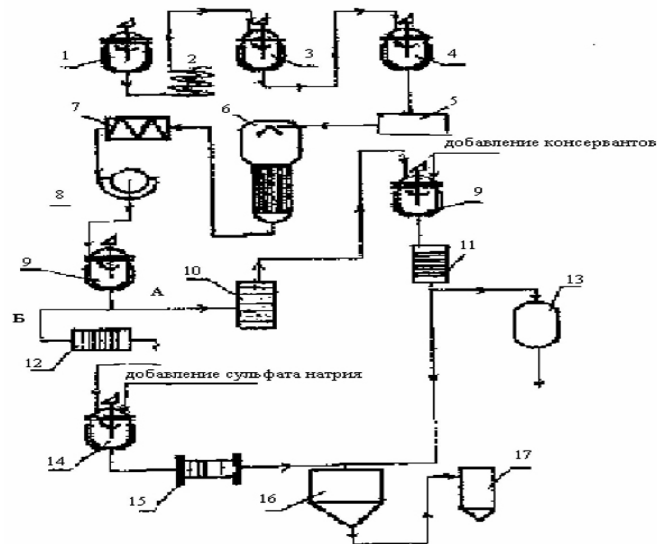
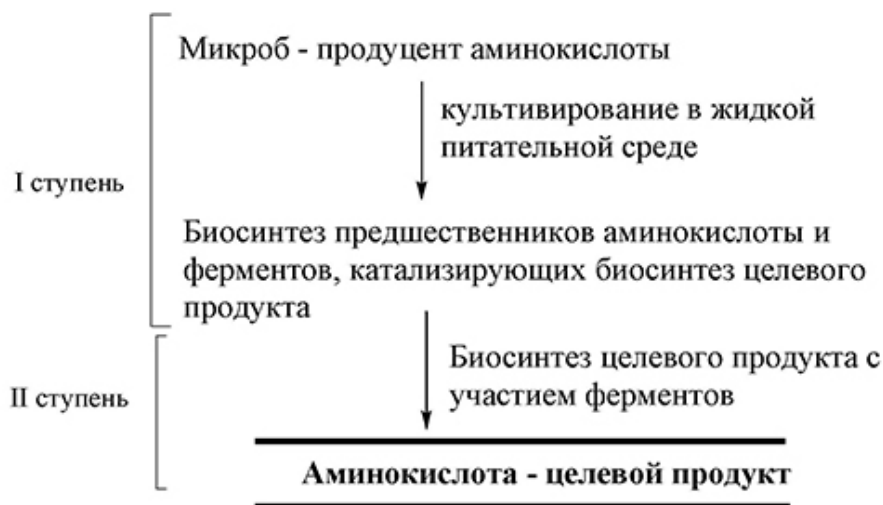


Рис. 13. Орієнтовна технологічна схема отримання амінокислоти:

1 – ферментатор; 2 – охолоджувач; 3, 9 – рефрижератори; 4 – ємність для попередньої обробки; 5 – центрифуга; 6 – вакуум-упаровувач; 7 – апарат прямої перед обробки амінокислоти; 8 – барабанний фільтр; А, Б – шляхи (при необхідності змикаються); 10 – апарат для ультрафільтрації; 11 – ємність для консервації розчину амінокислоти; 12 – мембранний фільтр; 13 – накопичувач рідкого концентрату; 14 – ємність для осадження амінокислоти; 15 – фільтр-прес; 16 – розпилювальна сушарка; 17 – накопичувач сухого концентрату

У двоступеневому способі мікроб-продуцент культивують в середовищі, де він отримує і синтезує всі необхідні інгредієнти для подальшого синтезу цільового продукту. Схема двоступеневого процесу може бути представлена в наступному вигляді:



Контрольні питання:

1. Яке значення амінокислот у тваринництві та їх виробництво в Україні та світі?
2. Вкажіть способи отримання амінокислот.
3. Вкажіть суть мікробного синтезу амінокислот.
4. На яких принципах базується технологія отримання амінокислот?
5. Надайте стадії біотехнологічного процесу кормового продукту.
6. Охарактеризуйте 2 способи отримання амінокислот.
7. Опишіть схему двоступеневого процесу отримання амінокислот.

Лабораторна робота № 6

Промислове виробництво пробіотиків – одного з продуктів мікробного синтезу

Пробіотики - це бактерії, але це можуть бути й інші організми, такі як дріжджі. У деяких випадках вони схожі на «хороші», що населяють організм людини бактерії або є тими ж самими бактеріями, що мешкають у людей, найчастіше в кишечнику. Більшість пробіотиків-бактерій відносяться до двох родів: лактобактерії (лат. *Lactobacillus*) і біфідобактерії (лат. *Bifidobacterium*), хоча важливо пам'ятати, що існує багато інших видів бактерій-пробіотиків. Кожен рід бактерій містить значну кількість видів, у кожного виду є різні штами. Пробіотики можуть: підвищувати ефективність імунної системи, секретуючи антитіла до певних вірусів, запобігати прикріплення до стінки кишечника шкідливих для людини бактерій і гальмувати їх ріст, стимулювати зміцнення слизового шару в кишечнику в якості бар'єру проти інфекцій, гальмувати секрецію або руйнувати токсини, що виділяються деякими "поганими" для людського організму бактеріями, продукувати вітаміни групи В, необхідні для метаболізму їжі, запобігання анемії, яка виникає при нестачі вітамінів В₆ і В₁₂, а також підтримки здоров'я шкіри та нервової системи.

На сучасному етапі до пробіотиків належать наступні види мікроорганізмів:

- Лактобактерії (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. jonsonii*, *L. gassed*);
- Біфідобактерії (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve*, *B. adolescents*);
- Непатогенні різновиди *Escherichia Coli*;
- Непатогенні різновиди *Bacillus* (*B. subtilis*);
- Непатогенні різновиди *Enterococcus* (*Enterococci faecium*, *E. salivarius*);
- Молочнокислий стрептокок (*Str. thermophilus*);
- Дріжджові грибки *Saccharomyces boulardii*.

В свою чергу, **пребіотиками** називаються речовини, які не всмоктуються в тонкій кишці, але створюють сприятливі умови і стимулюють ріст нормальної мікрофлори товстого кишечника. Тобто, пребіотики, на відміну від пробіотиків - це хімічні речовини, які містяться в досить широкому спектрі продуктів харчування. Найбільша кількість пребіотиків міститься в молочних продуктах, кукурудзі, крупах, хлібі, цибулі, часнику, квасолі, гороху, артишоку, бананах тощо. Власне до пребіотиків належать наступні органічні сполуки і компоненти їжі: Олігофруктоза; Інулін; Галактоолігосахариди; Параамінобензойна кислота; Пантотенат кальцію; Лактулоза; Лактітол; Олігосахариди грудного молока; Харчові волокна (клітковина); Екстракти водоростей, дріжджів, моркви,

картоплі, кукурудзи, рису, гарбуза і часнику; Ксиліт; Рафіноза; Сорбіт; Ксилобіоза; Пектини; Декстрин; Хітозан; Валін; Аргінін; Глутамінова кислота; Глутатіон; Убіхінон; Каротиноїди; Вітаміни А, Е і С; Селен; Лектини.

Для отримання препаратів пробіотиків необхідно мати штами мікроорганізму симбіонту. Їх виділяють з кишкового вмісту здорових дітей і дорослих. Ці штами повинні володіти такими властивостями:

1. Наявність корисної дії на організм господаря, підтверджений лабораторними та клінічними дослідженнями;
2. Штами повинні бути ідентифіковані з урахуванням генетичних ознак, оскільки для отримання пробіотиків дозволені штами тільки певних видів мікроорганізмів;
3. При тривалому використанні вони не повинні викликати побічних ефектів.
4. Наявність потенціалу колонізації, тобто збереження в травному тракті до досягнення максимальної позитивної дії (повинні бути стійкі до низьких значень рН, жовчних кислот, антимікробних субстанцій);
5. Наявність вираженої активності антагоніста по відношенню до патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів;
6. Наявність стабільних характеристик як в клінічному, так і в технологічному плані;
7. Наявність високої швидкості росту і розмноження в умовах, близьких до таких як у кишковому тракті;
8. Штами молочнокислих паличок повинні виробляти переважно L (\pm) - ізомер молочної кислоти;
9. При введенні у великих кількостях вони повинні мати мінімальну здатність до транслокації з просвіту травного тракту у внутрішнє середовище макроорганізму;
10. Наявність чіткого фізіолого-біохімічного та генетичного маркування як для виключення фальсифікації, так і для періодичного контролю ідентичності властивостей вихідних і виробничих культур.

Задовольняючи всі дані вимоги штами надходять в контрольний інститут, звідки їх передають у фармацевтичне виробництво з відповідними документами, що відображають їх характеристики.

Біфідобактерії та ентерококи - це ауксотрофи. Вони не можуть самі синтезувати амінокислоти, пуринові і піримідинові основи, вітаміни, тому їх повинно містити поживне середовище, в якому вони вирощуються. Для культивування цих бактерій використовується сировина, дозволена в харчовій промисловості, оскільки препарат, вирощений на цих середовищах, використовується для внутрішнього вживання.

Ефективна закваска повинна проявляти найбільшу активність не пізніше ніж після другої пересадки. При цьому культивування заквасок необхідно зупинити в кінці логарифмічної фази для більшості заквасок при рН 5,5-5,3 або кислотності 78-80°Т.

Для отримання материнської закваски *Enterococcus faecium* (рис. 14)

одну порцію сухої закваски вносять в 2 л стерилізованого молока і термостатують при 26°C протягом 12-16 год. Для приготування вторинної (проміжної) закваски в стерилізоване молоко вносять 0,5-1% материнської закваски і культивують посіви 10-12 год. Виробничу закваску *Enterococcus faecium* отримують посівом в пастеризоване молоко 0,5-1% або 2-3% вторинної виробничої закваски і вирощуванням посівів також протягом 10-12 годин або 12-14 годин.

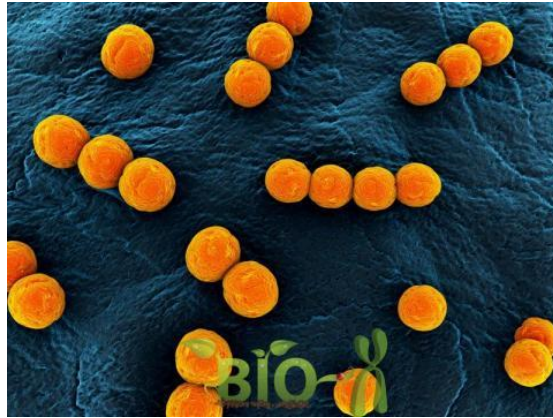


Рис. 14. Вигляд культури Enterococcus faecium

Материнську закваску *Bifidobacterium longum* (рис. 15) отримують внесенням однієї порції сухої закваски в 100 см³ стерилізованого молока. Посіви культивують при температурі 38°C протягом 5-5,5 години. Для приготування виробничої закваски посівний матеріал вносять у молоко у кількості 1% і заквашують його протягом 3 год. Контрольні посіви інкубують при температурі 22±2°C протягом 20 годин. При цьому отримують біфідобактерії першої генерації.

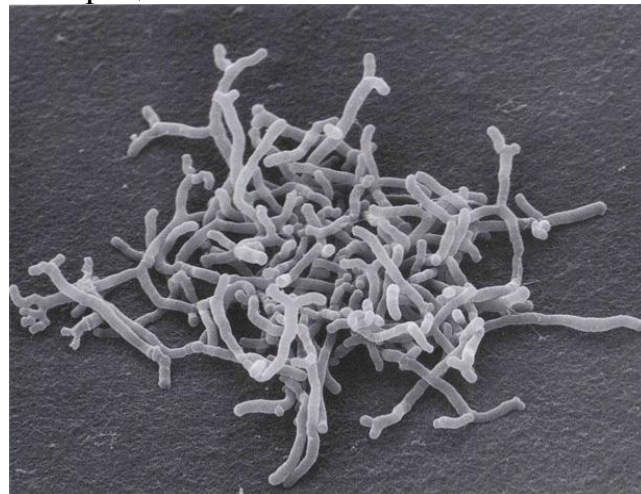


Рис. 15. Вигляд культури Bifidobacterium longum

Наступний етап - отримання біфідобактерій другого покоління. Засіявши культури проводять з розрахунку 10% від обсягу середовища. Культура біфідобактерій і контрольні посіви інкубують при тій же температурі, що і для посіву першого покоління. Загальний час також

аналогічний часу для посівів першого покоління. Контроль посівної культури проводиться при посіві біфідобактерій другої генерації в пробірки з глюкозою, середовищем Сабура і приготуванні мазка, пофарбованого за Грамом.

При відсутності росту в контрольних пробірках і наявності типового росту біфідобактерій у вигляді пухкого зернистого осаду, отриману культуру використовують для посіву в біореактор.

Процес приготування сухого бактеріального препарату Біфіформ включає наступні основні етапи: вирощування заквасочних мікроорганізмів, бактофугування отриманої культури, висушування суспензії клітин, фасування бакконцентрата. Принципова технологічна схема отримання пробіотичного препарату Біфіформ наведена на рис. 16. Культивування бактерій проводять в біореакторах. Після перевірки на герметичність і обробки фільтрів біореактор стерилізують при температурі 130°C протягом 90 хв. Потім у нього вводять гідролізатно-молочне середовище або азідно-глюкозний бульйон. Стерилізація та охолодження живильного середовища, а також нарощування клітин молочнокислих бактерій здійснюються в ферментері, що має мішалку, в якому автоматично регулюються температура і рН на заданому рівні. У підготовлене стерильне середовище, охолоджене до оптимальної температури розвитку (*Enterococcus faecium* - 37°C, *Bifidobacterium longum* - 38°C, подають закваску в кількості 5-8%. Посів живильного середовища проводять біфідобактеріями 2-3-ої генерації. Нарощування клітин *Enterococcus faecium* ведуть в ферментері при температурі 37°C протягом 20-22 год, *Bifidobacterium longum* - при 38°C протягом 16-17 год при автоматичній підтримці рН. При цьому рН культуральної рідини досягає для ентерококів 6,0, для біфідобактерій 6,7-6,8. Після культивування проводять контроль біомаси. Біологічна концентрація біфідобактерій має бути не менше 10⁸ клітин/мл, стороння мікрофлора повинна бути відсутня, рН має бути на заданому рівні. Після цього культуру охолоджують до 3-8°C і направляють на Бактофугування для отримання бактеріальної маси. Відділення клітин від середовища здійснюють наприкінці логарифмічної фази росту, коли в культуральній рідині (в 1 см³) містяться сотні мільйонів - одиниці мільярдів активних клітин. Бактеріальну масу з культуральної рідини виділяють на бактофузи. Для цієї мети можна використовувати центрифугу і молокоочисник. Бактеріальна маса після бактофугування містить сотні мільярдів клітин в 1 см³, вихід біомаси складає 0,5-0,8%. Отриману бактеріальну масу змішують із захисним середовищем у співвідношенні 1: 2 - 1: 4.

До складу захисного середовища для *Enterococcus faecium* входять знежирене молоко з вмістом 16% сухих речовин, 30 і 70% водного розчину, що містить сахарозу (5%), желатинозу (5%), цитрат натрію (5%), глутамат натрію (2%). До складу захисного середовища для *Bifidobacterium longum* замість цитрату натрію вносять 5% оцтовокислого натрію. Желатинози це желатин після стерилізації під тиском 0,15 МПа протягом 2,5-3,0 години. Після стерилізації желатин втрачає здатність утворювати гель. Біомасу з

середовищем перемішують $3 \pm 0,5$ хв механічною мішалкою, розливають у стерильні ємності і передають на ділянку розливу в ампули по 2 см^3 або розливають в лотки шаром 6-8 мм.

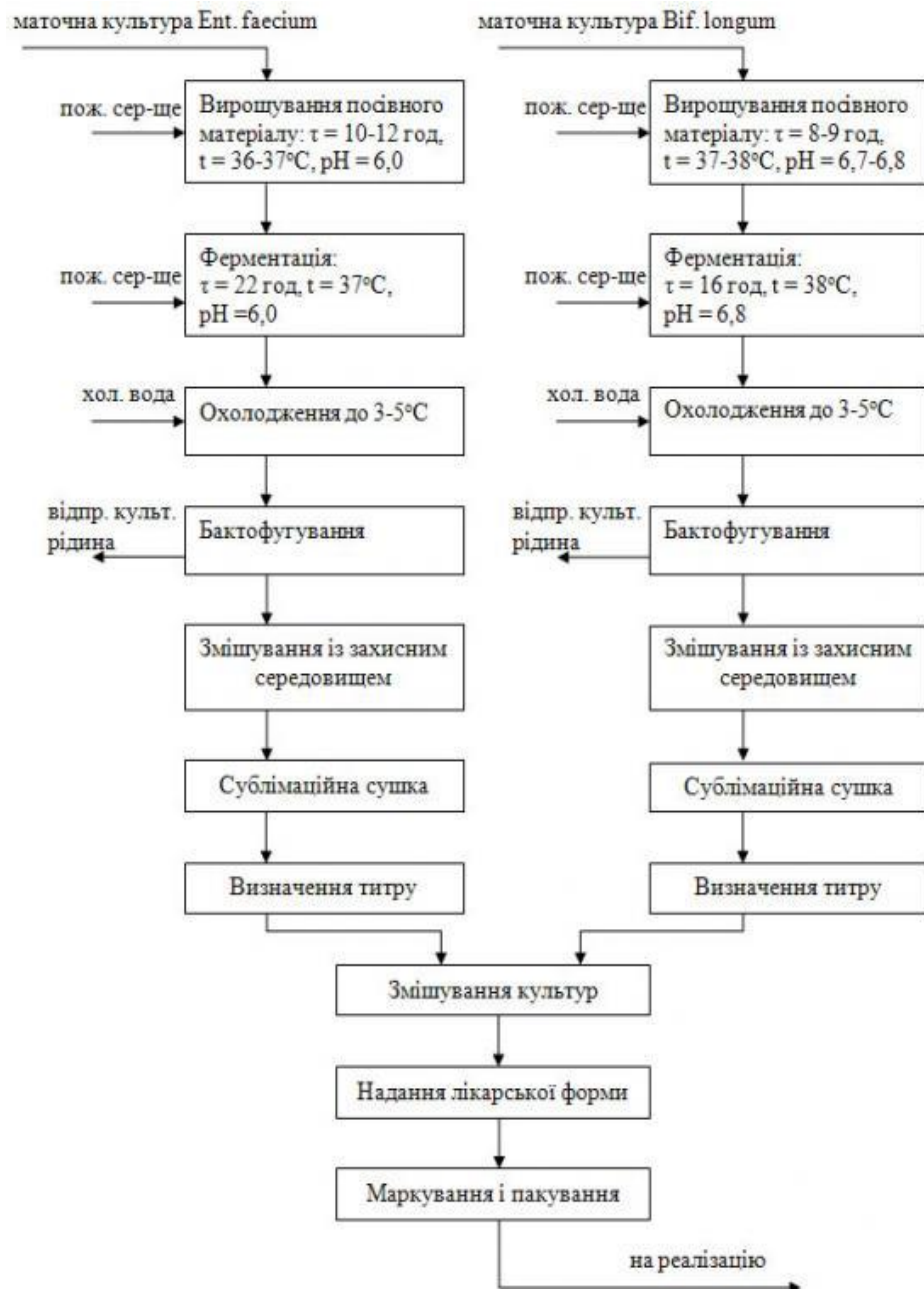


Рис. 16. Технологічна схема отримання пробіотичного препарату «Біфіформ»

Розлив біомаси в ампули проводиться при постійному перемішуванні. На початку, середині і наприкінці розливу відбирають проби для визначення сторонньої мікрофлори та життєздатності біфідобактерій, рівномірності і точності розливу. Заповнену ампулами касету прикривають декількома шарами стерильної марлі, металевою кришкою і передають для заморожування в низькотемпературну установку, де витримують препарат при температурі $-40 \pm 2^\circ\text{C}$ протягом 48 ± 2 години.

Висушування проводять при тиску $13,3 \pm 0,13$ Па, температурі $30 \pm 4^{\circ}\text{C}$ протягом 24 ± 2 год, далі температуру підвищують до $+ 38 \pm 2^{\circ}\text{C}$ протягом 16 ± 2 год і витримують 20 ± 2 години. Тривалість сушіння суспензії на лотках 6-12 год. Після закінчення процесу сушіння проводиться запаювання ампул. Герметизацію ампул здійснюють не пізніше 72 годин після закінчення ліофілізації на автоматі для запаювання ампул в атмосфері азоту.

Сухий бактеріальний концентрат, висушений на лотках, подрібнюють і визначають титр. Концентрат повинен містити від 150 до 300 млрд клітин в 1 м. Масова частка вологи в ньому не повинна перевищувати 3,5%. Допускається наявність сторонньої непатогенної мікрофлори не більше 10 клітин в 1 г. Після цього культури *Bifidobacterium longum* і *Enterococcus faecium* змішують і фасують в капсули порціями.

Закупорка сухих біопрепаратів з причини їх гігроскопічності проводять під вакуумом або в струмі інертного газу.

У приміщенні контролю проводять перевірку герметичності капсул і візуальний контроль. Капсули, що пройшли контроль і огляд, відправляють на маркувальну машину, потім укладають по 30 штук в пачки з картону. У кожену пачку укладається інструкція із застосування препарату. На кожній одиниці споживчої тари нанесено маркування із зазначенням таких інформаційних даних: найменування підприємства-виробника, його адресу, товарний знак, найменування продукту; масова частка жиру у відсотках; склад продукту, маса нетто в грамах, умови зберігання, термін придатності, дата виготовлення; позначення ТУ; харчова та енергетична цінність продукту; штрих-код, вміст у продукті живих біфідобактерій не менше 10^7 клітин в 1 см^3 на кінець терміну придатності; загальний вміст в продукті молочнокислих мікроорганізмів на кінець терміну придатності - не менше 10^7 клітин в 1 см^3 ; інформація про сертифікацію.

Тара і пакувальні матеріали, що застосовуються для розливу та упаковки, які відповідають вимогам чинних стандартів. Упакований в транспортну тару продукт доохолоджується в холодильній камері до температури не більше 6°C , після чого технологічний процес вважається закінченим.

Після охолодження в камері продукт вважається готовим. Термін зберігання готового продукту при температурі $3-10^{\circ}\text{C}$ 8 місяців з дня виготовлення. Нарощування клітин в умовах безперервного культивування передбачає постійний приплив живильного середовища і одночасне видалення продуктів життєдіяльності.

В результаті цього мікроорганізми набувають здатність до продуктивної незгасаючого в часі росту, що дає можливість отримати закваску і бактеріальний концентрат більш активні, а також збільшити вихід продукції з існуючого обладнання.

Види пробіотиків на ринку України

«Біогая» (дитячий пробіотик), "ТуПек АБ", Швеція, 5мл	
«Біфідумбактерін-Біофарма», ОАО "Біофарма", Україна, 10 флаконів по 5 доз.	
«Біфіформ бебі» (дитячий пробіотик), "Ферросан А/С", Данія, 7мл.	
«Біфіформ», "Ферросан А/С", Данія, 30 капсул	
«Лактомун Екоłodжик Панда», "Winlove Bio Industries bv", Нідерланди, 14 саше	
«Лактовіт форте», для "Міллі Хелскере Лімітед", Великобританія, 30 капсул	
«Лациум», "Winlove Bio Industries bv", Нідерланди, 14 саше.	
«Лінекс», "Лек фармацевтична компанія д.д", Словенія, 16 капсул.	
«Сімбітер ацидофільний», ООО фірма "О.Д. Пролісок", Україна, 10 пакетиків	
«Ентерожерміна», "Лабораторії Юнтер", Франція, 10 флаконів по 5мл.	
«Лактіале», ПАТ «Фармак», Україна (сучасний симбіотик – пробіотик+пребіотик).	

Контрольні питання:

1. Що таке пробіотики?
2. Які бактерії належать до пробіотиків?
3. Вкажіть значення пробіотиків.
4. Вкажіть, які види мікроорганізмів належать до пробіотиків?
5. Дайте визначення терміну пребіотики.
6. В яких продуктах містяться пребіотики?
7. В яких органічних сполуках і компонентах їжі знаходяться пребіотики?
8. Охарактеризуйте властивості штамів для отримання препаратів пробіотиків.
9. Вкажіть умови отримання материнської закваски *Enterococcus faecium*.
10. Вкажіть умови отримання материнської закваски *Bifidobacterium longum*.
11. Яким чином отримують біфідобактерії II покоління?
12. Охарактеризуйте технологічний процес приготування сухого бактеріального препарату «Біфіформ».
13. Наведіть приклади пробіотичних препаратів на ринку України.

Лабораторна робота № 7

Промислове виробництво хлібопекарських дріжджів – одного з продуктів мікробного синтезу та технологія виготовлення хліба

1. Загальні відомості про дріжджову клітину, виробництво та асортимент хлібобулочної продукції

Дріжджі – одноклітинні мікроорганізми, які належать до класу грибів-цукроміцетів. Дріжджі – факультативні анаероби. У хлібопеченні дріжджі використовують як збудник спиртового бродіння і розпушування тіста. У середовищі без кисню дріжджі зброджують цукор у спирт і діоксид вуглеводню. При аерації дріжджі окислюють цукор до води і діоксиду вуглеводню за схемою:



Біосинтез білкових і безазотистих речовин пов'язаний з проникненням у мікробну клітину поживних речовин середовища. Усередині клітини глюкоза проходить крізь ланку проміжних операцій і відтворюється у піровиноградну кислоту, далі в анаеробних умовах йде перетворення в оцтовий альдегід і потім етиловий спирт, у аеробних умовах - піровиноградна кислота окислюється до діоксиду вуглеводню (CO_2) і води (H_2O). Теоретичний вихід біомаси дріжджів зі вмістом води 75% лежить у межах 96,6..116,8% за масою м'яса (СР=46%). У заводських умовах вихід дріжджів складає 68..92%.

Дріжджі суттєво впливають на смак і аромат хліба, підвищують його харчову цінність. На дріжджових заводах виробляють пресовані і сушені дріжджі, дріжджове молочко; на м'ясно-спиртових заводах – тільки пресовані дріжджі.

При виробництві вітамінів їх використовують як джерело вітамінів групи *B* і *D*₂. Використовують дріжджі також у виробництві квасу, пива тощо.

Хліб - найважливіший продукт харчування. Для його приготування використовують борошно, дріжджі, сіль, воду й іншу сировину. Виробництво доброякісного печеного хліба - складний біологічний і фізико-хімічний процес. При приготуванні тіста біологічним способом втрачається 2...3% сухих речовин борошна, які споживаються мікроорганізмами. У містах хліб випікають на хлібозаводах продуктивністю від декількох десятків до сотень тонн за добу. У сільській місцевості можуть бути створені невеличкі пекарні. На великих хлібозаводах створено потокові лінії, оснащені дозаторами для борошна, води й іншої сировини, тістомісильними апаратами та машинами-агрегатами, печами різних систем. Рівень механізації на дрібних підприємствах може бути різним.

Асортимент хлібобулочних виробів, що вироблюються у нашій країні, складає кілька сотень різних за зовнішнім виглядом, смаком і поживністю сортів. **Хлібобулочні вироби** поділяються на такі основні групи:

- хліб з житнього борошна різних виходів;
- хліб із суміші житнього і пшеничного борошна;

- хліб із пшеничного борошна різних виходів і сортів;
- булочні і здобні вироби з пшеничного борошна (штучні);
- бубличні вироби (бублики, сушка).

Хлібом називають вироби масою більше 500 г; булочними виробами - масою 500 г і менше, що випікаються з пшеничного борошна; дрібні булочні вироби мають масу 200 г і менше.

Технологічний процес виробництва хліба постійно удосконалюється. Це дозволяє більш ощадливо витрачати сировину, скорочувати терміни окремих етапів приготування хліба.

2. Принципова технологічна схема одержання дріжджів на дріжджових заводах, особливості процесів на окремих стадіях виробництва.

Процес одержання хлібопекарських дріжджів на дріжджових заводах складається з таких етапів:

- підготовка живильного середовища;
- вирощування дріжджів;
- видалення дріжджів із бражки;
- формування;
- пакування дріжджів;
- сушіння (при необхідності).

Живильним середовищем для хлібопекарських дріжджів є меляса. При *підготуванні* меляси до виробництва її освітлюють (у центрифугах) та розводять питною водою у пропорції 1:1-1:3, додають ростові елементи - сульфат амонію, карбамід, діамонійфосфат, ортофосфатну кислоту тощо.

Вирощування дріжджів передбачає нарощування біомаси дріжджів у три стадії – генерація А (маточні дріжджі ЧК та ІЧК), генерація Б – засівні дріжджі, генерація В – товарні дріжджі. Товарні дріжджі видаляють з дріжджової бражки, промивають водою, пресують і формують (рис. 17).

Видалення дріжджів з бражки проходить на сепараторах за триступеневою схемою до концентрації дріжджової суспензії 400...600 г/л.

Формують дріжджі на фільтр-пресах, після формовочної машини брикети йдуть на пакувальну машину і охолоджуються до температури 0..4°C (рис. 18).

Отримання дріжджів із спиртової бражки на спиртових заводах складається із таких етапів:

- видалення дріжджів з бражки;
- промивання і концентрування дріжджової суспензії;
- дозрівання дріжджів;
- кінцеве промивання і концентрування дріжджів;
- пресування;
- формування, пакування дріжджів.

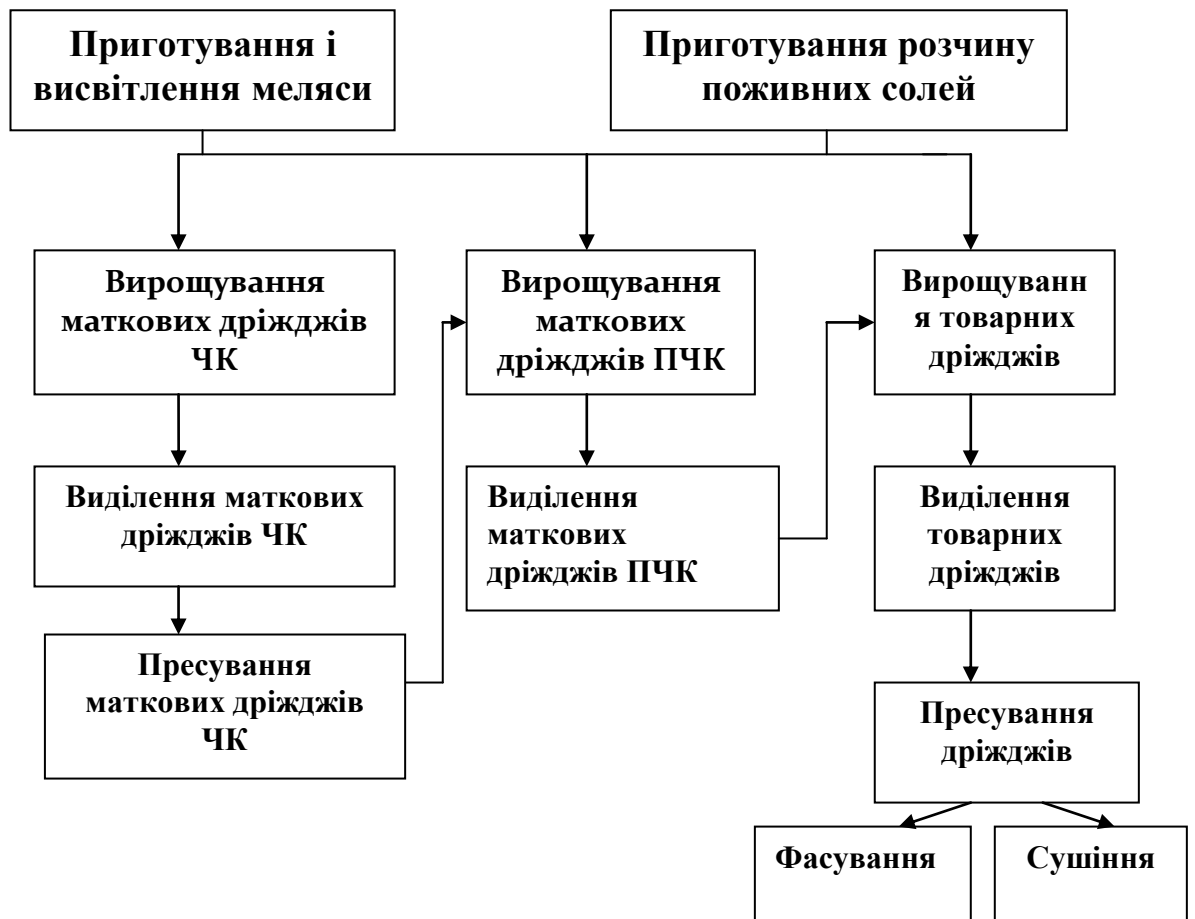


Рис. 17. Блок-схема виробництва хлібопекарських дріжджів

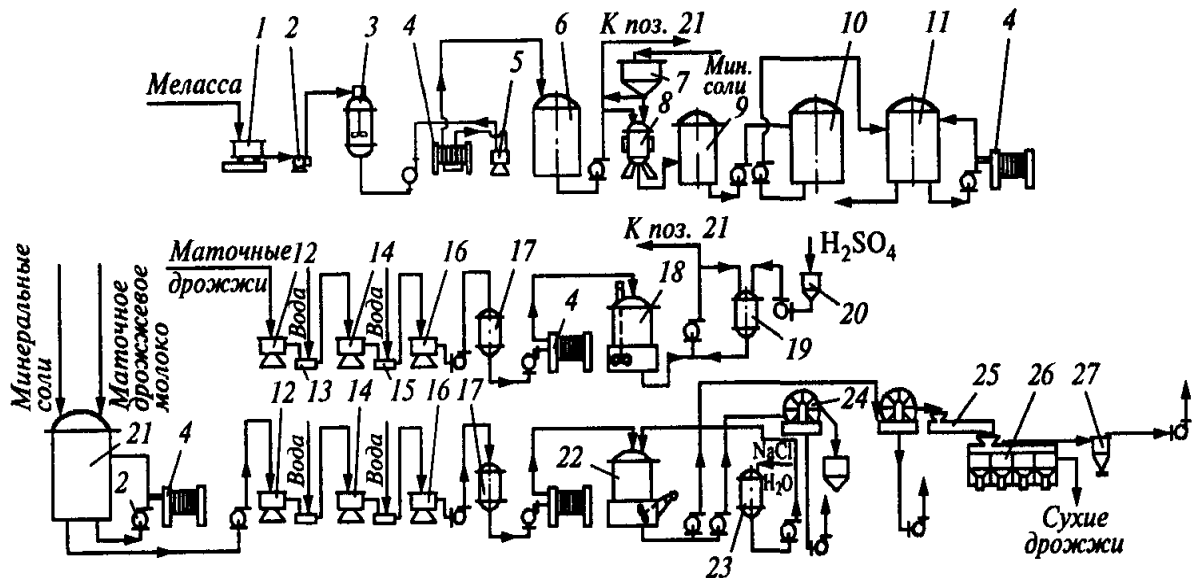


Рис. 18. Машинно-апаратна схема лінії виробництва хлібопекарських дріжджів: збірник меляси 1, насос 2, розсіропник 3, пластинчастий теплообмінник 4, тарифікатор 5, приточний збірник 6, бачок для розчинення мінеральних солей 7, дріжджоростильні апарати (8 — попередній дріжджоростильний апарат; 9, 10, 11 — дріжджоростильні апарати відповідно I, II та III стадії маточних дріжджів), сепаратори 12, 14, 16, промивні бачки 13 і 15, збірник сірчаної кислоти 19, мірник 20, товарний апарат для розмноження дріжджів 21, пластинчастий теплообмінник 22, збірник розчину солі 23, вакуум-фільтр 24, шнек 25, сушилка для дріжджів 26, циклон 27.

Особливістю одержання дріжджів на спиртових заводах є те, що бражка містить спирт, тому після сепарації відтоки I та II ступені направляють на перегонку спирту, а дріжджі промивають в 5..7 ступенях. При цьому використовують принцип протитоку промивних вод та дріжджової суспензії.

3. Сировина та способи виробництва пшеничного і житнього тіста.

Сировина, що використовується у хлібопеченні, дуже різноманітна. Її поділяють на дві групи: основну і додаткову. **Основна** сировина - це все те, що необхідно для одержання тіста і хліба: борошно, вода, розпушувачі (дріжджі, закваски) і сіль.

Додаткову сировину вводять у рецептуру для підвищення харчових якостей хліба: молоко, жири, цукор, патоку, яйця, вітаміни, насіння ефіроолійних рослин, корицю, ванілін, шафран і ін. Велику частину додаткової сировини вводять у дозріле тісто, у якому добре розвинуті дріжджі.

Борошно - основна сировина, від якої залежить сорт і якість хліба. Хлібопекарські властивості борошна визначаються його вуглеводно-амілазним і білково-протеїназним комплексами. Перший характеризується вмістом крохмалю й інших вуглеводів, активністю амілолітичних ферментів, другий - кількістю і якістю клейковини, активністю протеолітичних ферментів і активаторів протеолізу. Хлібопекарські властивості пшеничного і житнього борошна істотно розрізняються, що пояснює розходження у технології хліба пшеничного і житнього.

Хлібопекарські дріжджі - одноклітинні мікроорганізми, що належать до класу грибів. Вони є факультативними анаеробами. При наявності кисню вони розщеплюють *цукор* з утворенням вуглекислого газу і води, а за його відсутності утворюють діоксид вуглеводню і етанол. Хлібопекарські властивості дріжджів визначаються їхньою підйомною силою й осмочутливістю.

Строгі вимоги пред'являються до *води*. Вона повинна відповідати показникам і нормам за вмістом бактерій, так як багато з них зберігаються при випіканні. Якість води для потреб хлібопечення і можливість використання того чи іншого джерела визначають органи санітарної інспекції.

Сіль також повинна відповідати вимогам стандарту харчових цілей.

Способи виробництва тісту пшеничного і житнього розрізняються між собою. Для пшеничного тіста поширені два основних способи приготування - *безопарний* і *опарний*. При безопарному способі усі компоненти, що входять у рецептуру тіста, у повному обсязі вносяться одночасно. В результаті замісу одержують тісто густої консистенції. Розвиток дріжджів у такому тесті проходить у менш сприятливих умовах і тому норма введення дріжджів досить велика (1,5%). Тривалість бродіння 3...3,5 год.

Опарний спосіб здійснюють у два прийоми: спочатку одержують опару, у яку вводять 65-75% води, що передбачена рецептурою, і 40-50%

борошна. Повністю вносять усі дріжджі, причому їх потрібно в два рази менше - 0,75% ніж при безопарному способі.

При опарному способі потрібно більше устаткування. Для готування житнього тіста застосовують багатоступінчасте шумування із загальним тривалим терміном дозрівання. Тісто готують на заквасках, що представляють комплекс молочнокислих бактерій і дріжджів. Загальний час готування житнього тіста 10...12 год.

4. Принципова технологічна схема одержання хлібобулочних виробів. Збереження хліба. Основні якісні характеристики.

Схема виробництва хліба і хлібобулочних виробів включає такі стадії (рис. 19):

- підготовка сировини до виробництва,
- готування опари;
- готування тіста спеціальними обробками (обминання, обробка на шматки, округлення);
- попереднє розстоювання;
- формування виробів;
- остаточне розстоювання);
- випікання виробів.

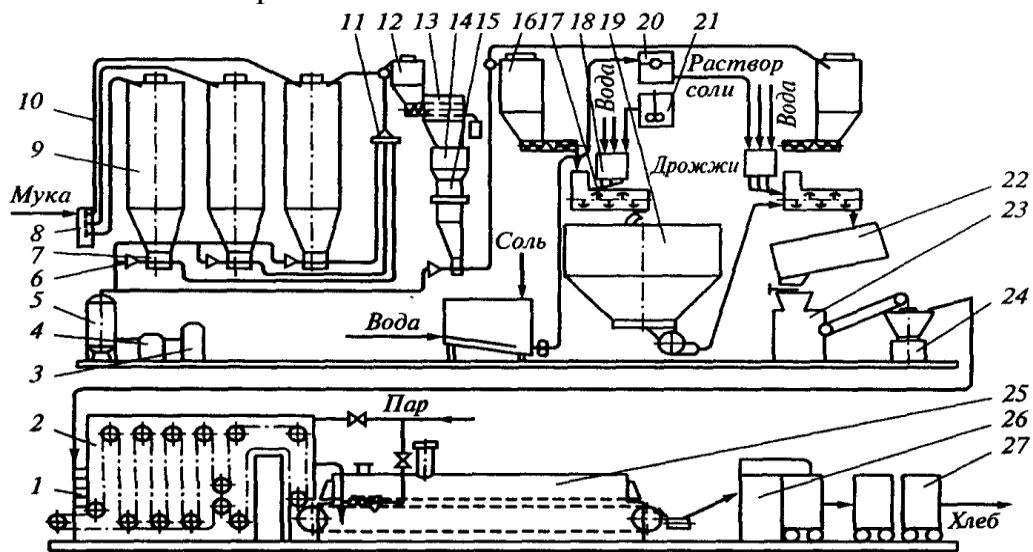


Рис. 19. Машинно-апаратурна схема лінії виробництва хліба:

маятниковий укладальник 1, розстойна шафа 2, повітряний фільтр 3, компресор 4, ресивер 5, ультразвукові сопла 6, роторний живильник 7, прийомний щиток 8, силоси 9, сурми 10, перемикачі 11, бункер 12, просіювач 13 з магнітним уловлювачем, проміжний бункер 14, автоматичні ваги 15, виробничі силоси 16, тістоміси 17, дозувальна станція 18, шестисекційний бункерний агрегат 19, ємність для розчину солі 20, ємність для дріжджової емульсії 21, ємність для бродіння 22, прийомна воронка тістомісу 23, округлювач 24, піч 25, укладальник 26, контейнери 27.

Підготовка борошна включає операції просіювання, пропускання через магнітні сепаратори і змішування декількох партій борошна. Воду підігрівають у казанах-бойлерах. Температуру води на заміс визначають з

огляду на температуру борошна і її питому теплоємність за спеціальними формулами.

Сіль попередньо розчиняють і фільтрують. Дріжджі переводять у стан суспензії в теплій воді. Замішування опари і тіста повинне забезпечити рівномірний розподіл у цих напівфабрикатах рецептурних компонентів і одержання їх з визначеними структурно-механічними властивостями. Ступінь зрілості тіста визначають за його розпушеністю і визначеним значенням кислотності. При шумуванні проводять обминання, головною метою яких є переміщення дріжджів на нові місця у живильному середовищі і видалення великих пухирців CO_2 з тіста.

Після формування виробів проводять розстоювання у спеціальних камерах при температурі $35-40^\circ\text{C}$ і вологості повітря 80-85%. Тривалість розстоювання залежить від маси тістової заготівки, рецептури хліба, якості борошна.

Випікання виробів проводиться у спеціальних печах при температурі $210-280^\circ\text{C}$. Тривалість випікання залежить від розмірів виробів. У ході випікання формується м'якушка, а на поверхні виробів – скоринка, яка забарвлюється в коричневі тони за рахунок реакції меланоїдиноутворення, при цьому утворюються речовини, що додають хлібові специфічний запах. При випіканні хліба відбувається втрата маси виробів, що складає 6-14%.

Охолодження хліба проходить в експедиції хлібозаводу. У процесі остигання частина вологи з м'якушки переходить у скоринку і випаровується. Розміри усушки залежать від вологості і маси хліба, температури і вологості повітря у сховищі. У торгову мережу хлібобулочні вироби транспортують так, щоб не було їхньої деформації і великої усушки. Використовують спеціальні автофургони з висувними стелажми.

Основним процесом, що відбувається при зберіганні хліба є черствіння, що виявляється через 10-12 год. після випікання. В основі черствіння лежать зміни гідрофільних властивостей крохмалю і білків, ретроградація оклейстеризованого крохмалю призводить до стискання і зменшення обсягу крохмальних зерен, переходом частини зв'язаної води у вільний стан. Частина цієї води утримується білками м'якушки.

Під виходом хліба розуміють масу готових виробів, виражену в відсотках до маси витраченого борошна. Вихід хліба нормований для кожного сорту і знаходиться в межах 120-150%.

Дефекти хліба можуть бути пов'язані з порушенням технології окремих стадій виробництва, особливо якщо при цьому не враховується якість борошна. Серед хвороб хліба, що найчастіше виникають, є картопляна хвороба, викликана бактеріями картопляної палички, а також пліснявіння, що виникає через неправильне зберігання хліба. В останньому випадку розвиваються різні види плісняв. При розвитку в хлібі мікроорганізмів утворюються речовини, шкідливі для здоров'я, тому така продукція не допускається до продажу чи переробки на харчові цілі.

Контрольні питання:

1. Охарактеризуйте сутність біосинтезу глюкози, що відбувається у дріжджовій клітині.
2. Охарактеризувати призначення та апаратурне оснащення, технологічні параметри та їх вплив на процеси, що мають місце на основних стадіях виробництва дріжджів на дріжджових заводах.
3. Охарактеризувати технологічний процес отримання дріжджів на спиртових заводах.
4. Сутність технологічних режимів і регулювання процесів на основних стадіях виробництва пшеничного та житнього хлібу.
5. Охарактеризувати призначення та апаратурне оснащення, технологічні параметри та їх вплив на процеси, що мають місце на основних стадіях виробництва хліба.

Лабораторна робота № 8

Промислове виробництво цукрових кондитерських виробів

1. Загальні відомості про виробництво та асортимент кондитерської продукції.

Характерні особливості кондитерських виробів обумовлені співвідношенням компонентів сировини, які встановлені рецептурами. Застосування єдиних уніфікованих рецептур дозволяє випускати на різних підприємствах однакові гатунки кондитерських виробів, полегшує планування та створення преїскурантів.

Кондитерські вироби залежно від технологічного процесу та виду сировини поділяють на дві групи – цукрові та борошняні.

2. Сировина та технологія виробництва цукрових кондитерських виробів: карамелі, шоколаду, цукерок

Сировиною для одержання карамелі є цукор, патока, кислоти, ароматичні речовини і барвники. Для приготування начинок використовують фруктові-ягідні напівфабрикати, жири, молочні продукти, горіхові ядра, какао-продукти, мед, яєчний білок та інше. Патока застосовується в якості антикристалізатора. Для заміни патоки можна використовувати інвертний цукор у готовому вигляді, або проводити часткову інверсію сахарози в процесі готування карамельного сиропу (рис. 20).

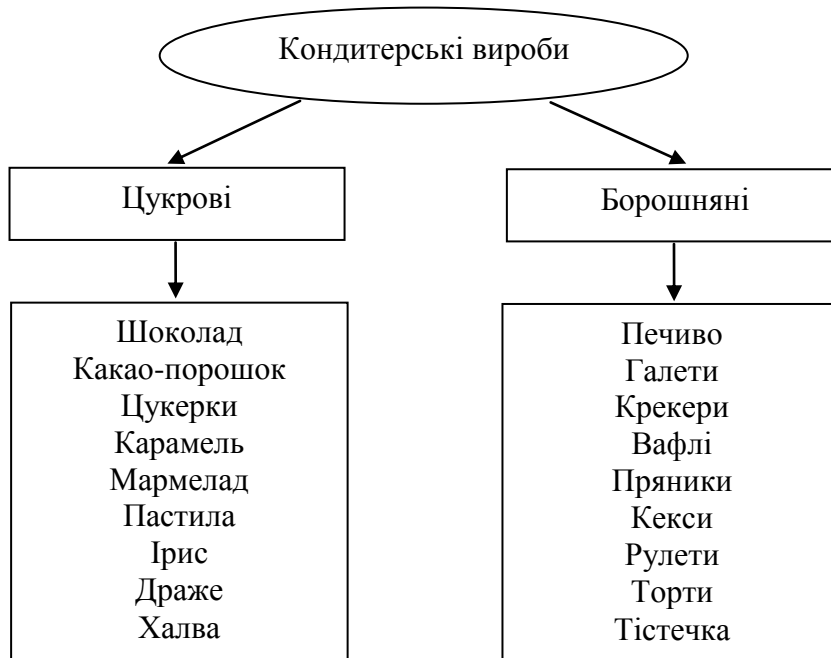


Рис. 20. Класифікація кондитерських виробів

Карамель - це кондитерські вироби, що складаються в основному з карамельної маси. Вона являє собою тверду аморфну речовину. Виробляють дві групи карамелі: льодяникову і з начинкою. За зовнішнім виглядом

карамель буває відкрита і в обгортках. Карамельна маса складається в основному із сахарози (60-80%), декстринів (18-20%) і різних моноцукрів у малих кількостях. При температурі вищій ніж 110°C ця маса являє собою рідину, а при $40-45^{\circ}\text{C}$ ця маса переходить в аморфний склоподібний стан (рис. 21).

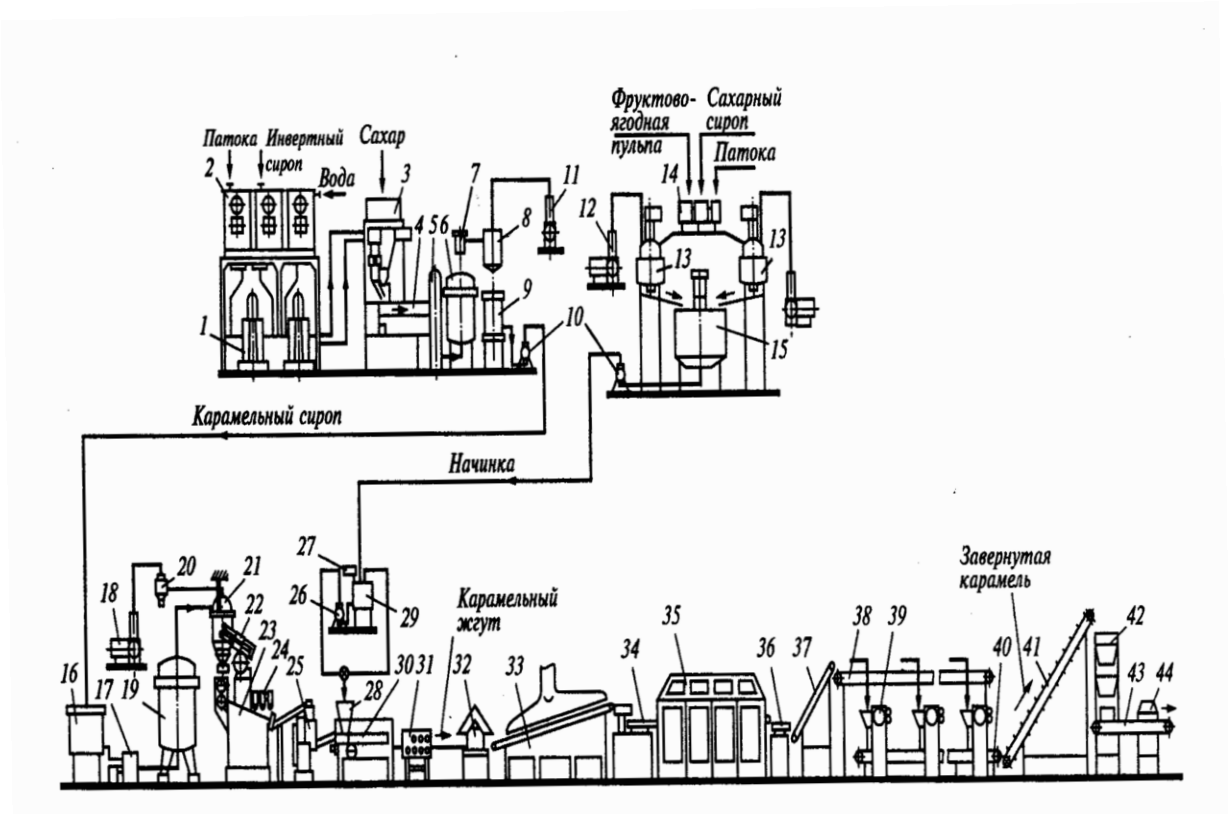


Рис. 21. Машинно-апаратурна схема виробництва карамелі:

насос 1, збірник для патоки 2, збірник з дозатором цукру 3, змішувач 4, плунжерний насос 5, змієвикова варочна колонка 6, розширювач 7, паровідокремлювач 8, збірник готового сиропу 9, насос 10, вентилятор 11, вологоповітряний вакуум-насос 12 і 18, начинковий вакуум-апарат 13, блок рецептурних збірників 14, прийомний збірник начинки 15, сиропний бак 16, насос-дозатор 17, вакуум-насос 18, змієвик колонки 19, сепаратор-пастка 20, вакуум-камера 21, розвантажувальний пристрій 22, охолоджувальна машина 23, дозатор барвників, кислот та есенцій 24, розтягувальна машина 25, насос 26, дозуючий пристрій 27, начинконоповнювач 28, темперируюча машина 29, карамелеобкачувальна машина 30, жгутовитягувальна машина 31, карамелештампуюча машина 32, охолоджуючий конвеєр 33, завантажувальний 34 і відводний 36 вібролоток, охолоджуюча шафа 35, вібролоток 36 проміжний конвеєр 37, розподілюючий конвеєр 38, загортувальна машина 39, збірний конвеєр 40, проміжний конвеєр 41, дозуючий пристрій 42, конвеєр 43, бандерулююча машина 44.

Структурно-механічні властивості цієї маси впливають на процеси обробки. В'язкість і пластичність карамельної маси залежить від температури, вмісту сухих речовин, рецептури, якісного складу сировини, що використовується у виробництві. При високій температурі обробки цукри піддаються хімічним змінам. Продукти, що утворюються при цьому, погіршують якість карамелі, підвищують її кольоровість і гігроскопічність.

Одержання карамельної маси пов'язане з руйнуванням кристалічних ґраток сахарози. Цей процес протікає при високій температурі.

Принципова технологічна схема виробництва *карамелі* включає такі операції: підготовка сировини, готування сиропу, варіння карамельної маси, обробка (оброблення) карамельної маси, формування карамелі, охолодження, загортання, розфасовування, упакування.

Шоколадні вироби складаються з шоколадної маси, яка є колоїдною системою, а дисперсним середовищем в ній є какао. Шоколадну масу для одержання натурального шоколаду готують з цукрової пудри, какао-масла і какао тертого (рис. 22, 23).

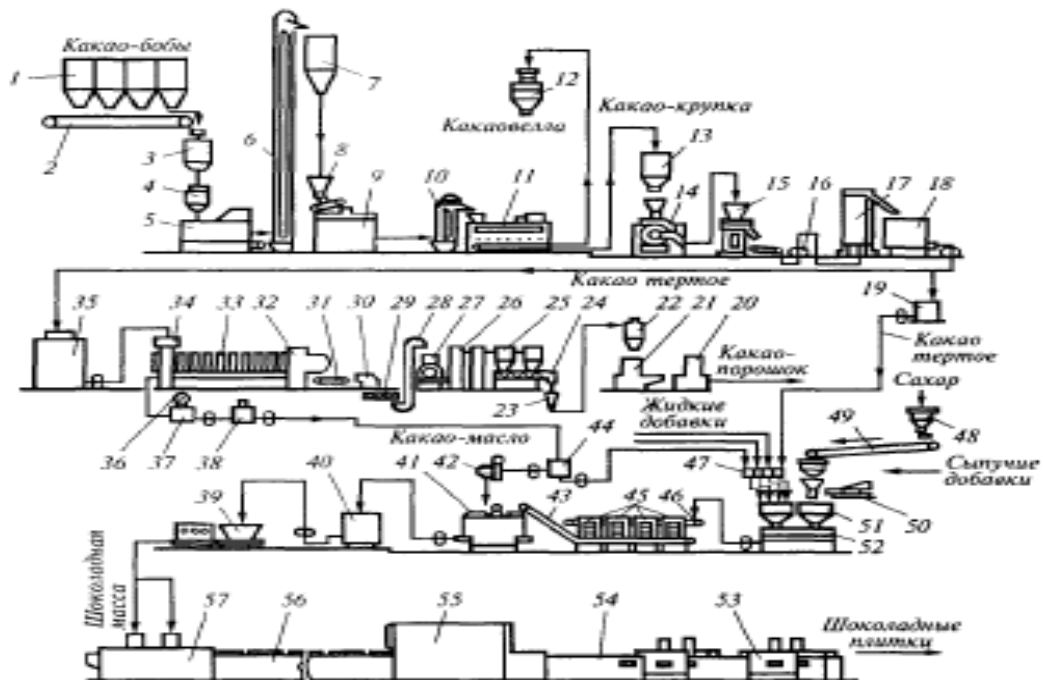


Рис. 22. Машинно-апаратурна схема виробництва какао-порошку та шоколаду:

бункер 1, 13, 22, 37, 44, 48; конвейєр 2, 31, 43, 46, 49; автоматичні ваги 3, 36; бункер-живильник 4, 8, 54; очищувач-сортирувальник 5, фєроочищувач 6, проміжний бункер 7, обсмажувальний апарат 9, норія 10, 28; очищувально-сортувально-дробильна машина 11, циклон 12, 25; млин штифтовий 13, млин дисковий 14, 27, 51; млин дисковий 15, валковий млин 17, 45; темперувальний збірник 18, 19, 35; пакувальна машина 20, фасувальна машина 21, класифікатор 23, шнек 24, 29; жмихобдобрарка 30, гідровлічний прес 32, бак з

дозатором 34, фільтр 38, темперувальні машини 39,40; коншмашина 41, дозатори 42, 47, 50; рецептурно-змішувальна установка 52, загортальна машина 53, конвеєр-охолоджувач 55, відливна машина 57.

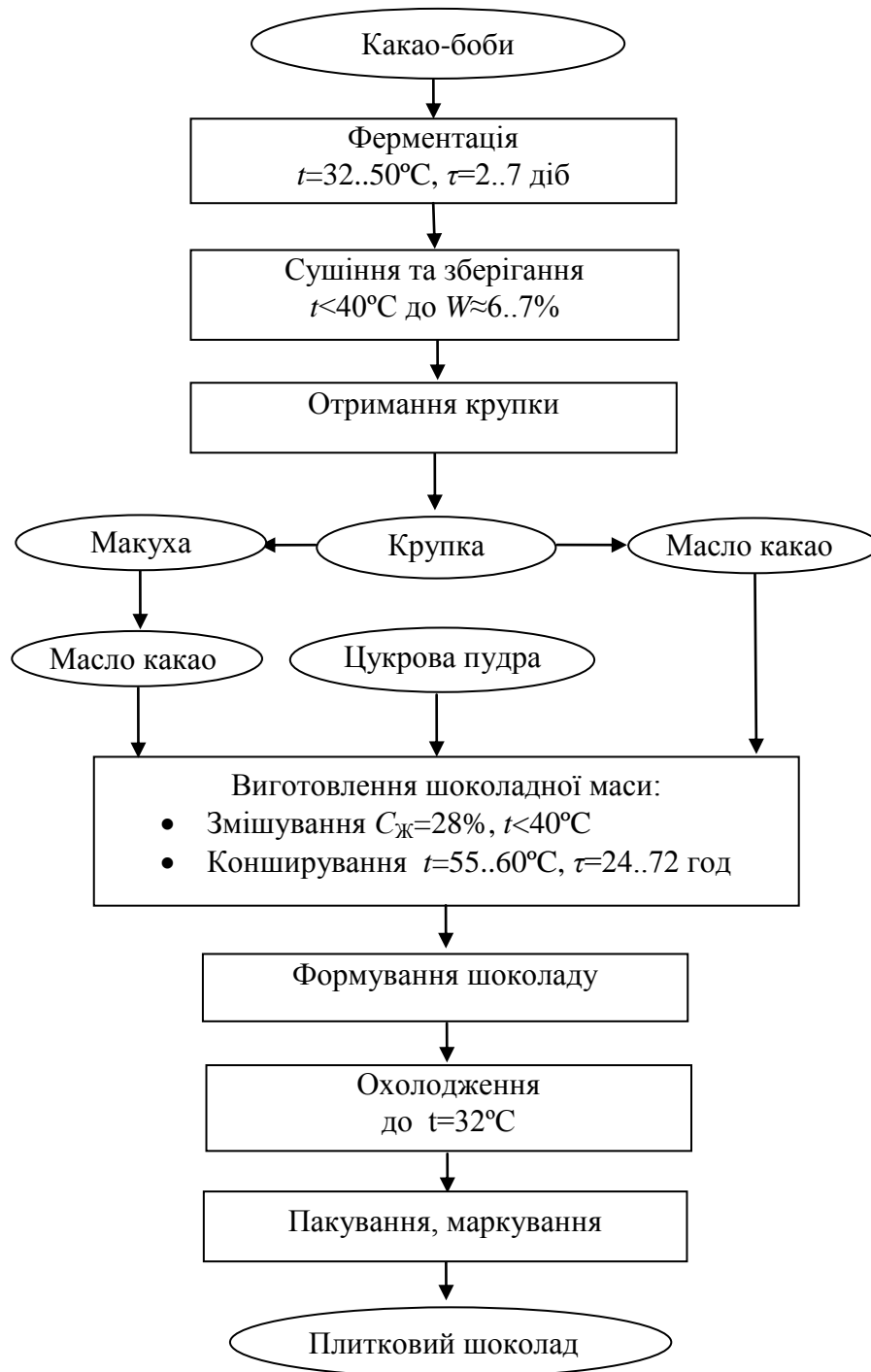


Рис. 23. Блок-схема отримання шоколаду

Цукерками називають кондитерські вироби, які отримують з однієї чи декількох цукерних мас. Залежно від способу виготовлення та оздоблення

цукерки поділяють на глазуровані, неглазуровані та шоколадні (рис. 24). Вироби, які поступають на глазурування після формування, прийнято називати корпусами цукерок. Загальні технологічні стадії виробництва цукерок:

- Приготування цукерної маси;
- Формування корпусів;
- Охолодження (вистоєння);
- Глазурування;
- Пакування.

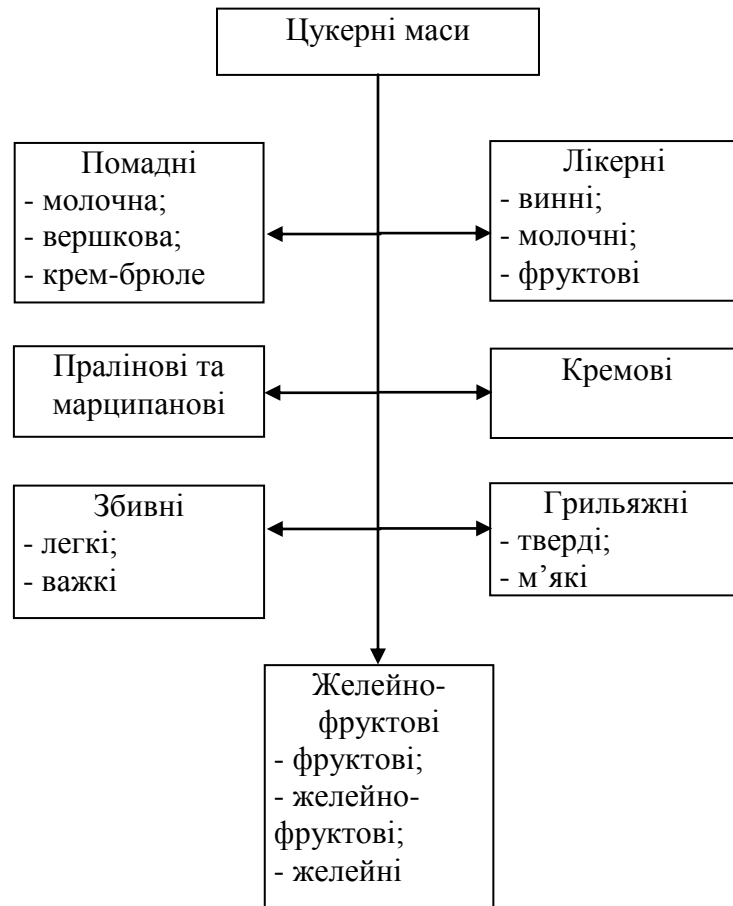


Рис. 24. Класифікація цукерних мас

3. Принципова технологічна схема халви, пастильних виробів та мармеладу.

Халва – кондитерський виріб, що готується з обсмажених подрібнених ядер горіхів чи олійного насіння шляхом перемішування з карамельною масою, збитою з піноутворюючою речовиною, що обумовлює шароволокнисту структуру халви.

Залежно від виду олійного насіння чи ядер, з яких виготовляють халву, вона поділяється на соняшникову, арахісову, соєву та тахінну (кунжут).

Процес одержання халви складається з таких стадій:

- Приготування тертих мас;
- Отримання карамельної маси;

- Приготування екстракту мильного коріння;
- Збивання карамельної маси з екстрактом мильного коріння;
- Вимішування халви;
- Фасування та пакування.

До групи *мармеладно-пастильних виробів* відносять мармелад (фруктовий, желейний), пастилу та зефір.

Основний процес у виробництві *мармеладно-пастильних виробів* – процес драглеутворення, який обумовлений властивостями пектинових та інших драглеутворюючих речовин. Драглеутворювачем для фруктово-ягідного мармеладу є пектин, що міститься у яблучному пюре, абрикосовому та сливовому пюре. При виробництві желейного мармеладу використовують драглеутворювачі: агар, агароїд, фулцеллоран, пектин тощо (рис. 25).

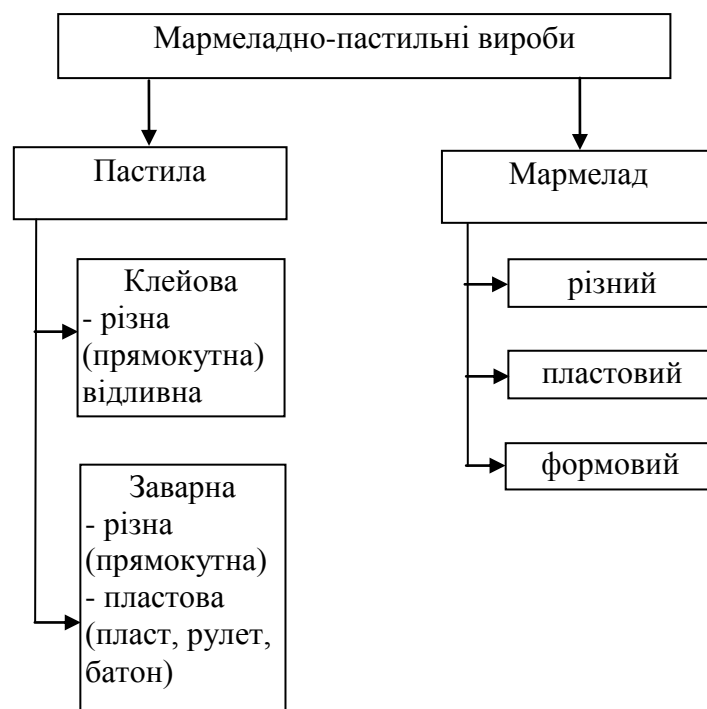


Рис. 25. Класифікація мармеладно-пастильних виробів

Процес одержання *мармеладу* складається з таких стадій: підготовка сировини, приготування рецептурної суміші, уварювання мармеладної маси, розподіл, відливання, сушіння, вистоювання та пакування.

Пастилу виробляють шляхом збивання суміші фруктового пюре з цукром-піском та яєчним білком. З метою закріплення пінної структури у збиті масу додають гарячий цукрово-агаро-паточний сироп (клей) чи гарячу фруктово-ягідну мармеладну масу.

Виробництво *зефіру* відрізняється тим, що рецептура зефірної маси вміщує менше яблучного пюре і більше агару. Цукрово-агаро-паточний сироп уварюють до вмісту сухих речовин 84..85%, яєчного білка вносять у три рази більше, ніж у пастильну масу, масу збивають до меншої щільності.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Надайте класифікацію кондитерським виробам.
2. Які інгредієнти слугують для одержання карамелі, приготування начинок?
3. Що таке карамель, її характеристика, технологія виробництва?
4. Склад шоколадних виробів, технологія виробництва та отримання шоколаду.
5. Що таке цукерки? Стадії виробництва цукерок, їх класифікація.
6. Що таке халва? Стадії одержання халви.
7. Що відноситься до групи мармеладно-пастильних виробів, їх класифікація?
8. Вкажіть сутність та призначення основних стадій виробництва приготування зефіру.

Лабораторна робота № 9

Промислове виробництво борошняних кондитерських виробів

1. Сировина та асортимент борошняних кондитерських виробів.

Залежно від технологічного процесу борошняні кондитерські вироби поділяються на групи:

- Печиво (цукрове, зтяжне, здобне);
- Пряники (сирцеві, заварні);
- Галети (прості, покращені);
- Крекер (з жиром чи без нього);
- Вафлі (з жировими, праліновими, фруктовими та помадними начинками);
- Кекси, рулети (на дріжджах та хімічних розпушувачах);
- Торти, тістечка (бісквітні, пісочні, заварні, вафельні, білково-збивні, мигдально-горіхові тощо).

2. Принципова технологічна схема одержання борошняних кондитерських виробів.

Печиво – найбільш розповсюджений вид борошняних кондитерських виробів з великим вмістом цукру та жиру, низьким вмістом вологи, різноманітної форми.

Цукрове печиво виготовляють з високопластичного тіста, готові вироби відрізняються доброю пористістю, набряканням, високою крихкістю. *Зтяжне печиво* виробляють з пружно - пластичного тіста, а вироби характеризуються шаристістю, меншою крихкістю та набряканням. *Здобне печиво* виробляють з декількох видів тіста (пісочного, збивного, мигдального тощо), в рецептуру якого входить велика кількість цукру, жиру, яйце продуктів (рис. 26).

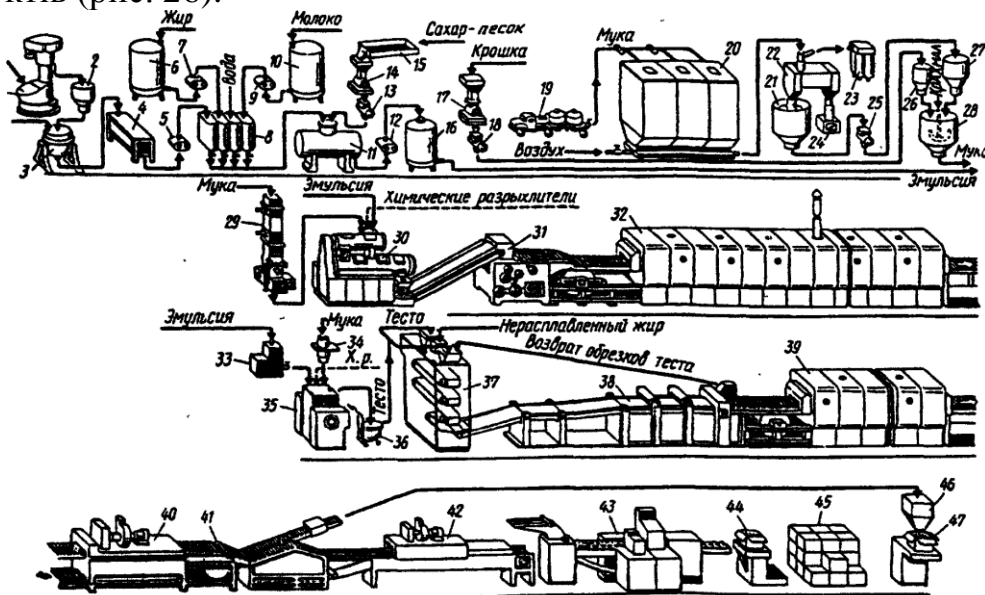


Рис. 26. Апаратурно-технологічна схема механізованої поточної лінії виробництва цукрового і зтяжного печива:

просіювач 1, проміжний збірник 2, котел 3, збірник 4, насос 5, цистерна з жиром 6,

насоси 7,9, 12, збірник-дозатор 8, молочна цистерна 10, змішувач-емульсатор 11, дозатор 13, 25, цукрова дробарка 14, 17, сито 15, пневматичний роторний забезпечувач 18, автомуковоз 19, бункер 20, виробничий силос 21, розсіва 22, рукавні фільтри 23, збірник відходів 24, проміжний збірник 26,27, змішувач 28, дозатор 29, 33, тістомісильна машина 30, 35, ротаційна формуюча машина 31, однострічкова газова піч 32, автоборошномір 34, рухлива ємність 36, тістопрокатна машина-ламінатор 37, штампувально-ріжучий апарат 38, піч 39, охолоджувач 40, 42, стекер 41, пакувальна машина 43, короби 44,47, штабеля 45, ваги 46.

Пряники – борошняні кондитерські вироби різноманітної форми, що вміщують значну кількість цукристих речовин і пряностей. Розрізняють такі види пряників – заварні і сирцеві, з начинкою та без неї. Для оздоблення використовують цукровий сироп, шоколадну глазур, мак тощо.

Технологічна схема виробництва *сирцевих пряників* складається з таких операцій:

- Підготування сировини;
- Заміс тіста у визначеній послідовності (цукор, вода, мед, патока, інвертний сироп, меланж, есенція, хімічні розпушувачі, борошно);
- Формування виробів;
- Випікання;
- Охолодження;
- Оздоблення;
- Пакування.

У виробництві *заварних пряників* замісу тіста передуює стадія приготування і охолодження заварки (борошно заварюється у цукрово-медовому, цукрово - паточному чи цукрово-паточно-медовому сиропі).

Вафлі – вироби, що є високопористими листками з начинкою чи без неї. Їх випускають прямокутними, круглими, фігурними і т.д. Вони можуть бути повністю чи частково покриті шоколадною глазур'ю. Технологічна схема виробництва вафель складається з таких операцій:

- Заміс тіста (концентрована емульсія – жовток чи меланж, фосфатиди, олія, сіль, сода);
- Випікання вафельних листів;
- Охолодження;
- Приготування начинки;
- Шарування пластів начинкою та їх охолодження;
- Нарізка пластів;
- Обгортання та пакування.

Торти та тістечка – вироби різноманітної форми і розмірів з гарним зовнішнім виглядом та високою калорійністю (рис. 27).

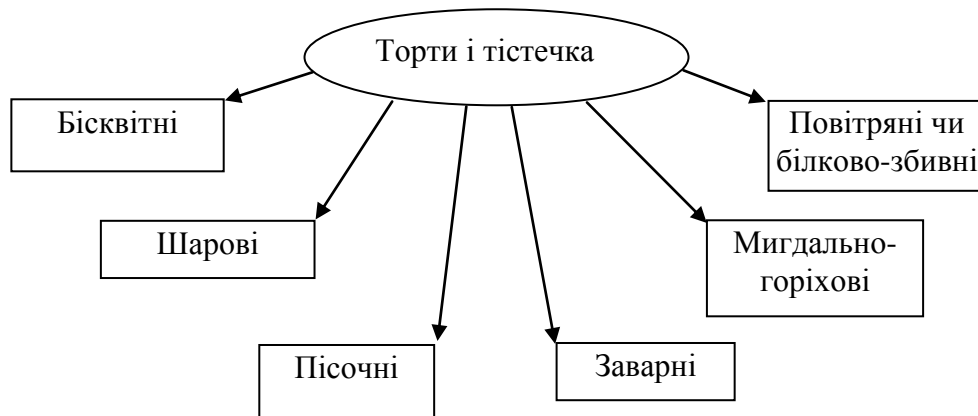


Рис. 27. Класифікація різновидів тортів і тістечок

Технологічний процес приготування тортів та тістечок складається з таких стадій: отримання випечених напівфабрикатів (бісквітний, пісочний, мигдально-горіховий, заварний тощо), виготовлення напівфабрикатів для оздоблення виробів (креми, глазури, сиропи, цукати, желе, помадки тощо), оздоблення виробів.

3. Основні якісні характеристики кондитерських виробів

Основними якісними характеристиками кондитерських виробів є органолептичні, фізико-хімічні та мікробіологічні показники. Якісні характеристики кондитерських виробів повністю залежать від терміну та умов їх зберігання, тому необхідно суворо дотримуватися вимог до зберігання окремих видів цієї продукції (табл. 6).

Таблиця 6

Умови зберігання кондитерських виробів

Назва виробу	Умови зберігання
Халва	$t < 18^{\circ}\text{C}$, $\tau = 1,5..2$ місяця, $W=70\%$
Цукерки	$t < 18^{\circ}\text{C}$; $W < 75\%$
Зефір, пастила, мармелад	$t < 18^{\circ}\text{C}$, $\tau = 1,5...3$ місяця, $W=75..80\%$
Печиво - цукрове; - крекер, галети; - здобне	$t < 18^{\circ}\text{C}$, $\tau = 3$ місяця, $W=70..75\%$ $t < 18^{\circ}\text{C}$, $\tau = 1..6$ місяця, $W=70..75\%$ $t < 18^{\circ}\text{C}$, $\tau = 10..45$ діб., $W=70..75\%$
Пряники	$t = 18^{\circ}\text{C}$, $\tau = 10..45$ діб.
Торти і тістечка	$t = 0..6^{\circ}\text{C}$, $\tau = 6..72$ год.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Перерахуйте відомі Вам технологічні властивості тіста цукрового, зтяжного та здобного печива та особливості їх формування.
2. Що таке вафельне тісто? В чому полягає виробництво вафель?

3. Охарактеризуйте принципову схему виробництва тортів бісквітних, пісочних та шарових.

4. Сутність та призначення основних стадій виробництва приготування білково-збивних та мигдально-горіхових напівфабрикатів для тортів та тістечок.

5. Охарактеризувати технологічні режими стадії зберігання борошняних кондвиробів, їх вплив на процеси, що мають місце при цьому.

Лабораторна робота № 10

Промислове виробництво макаронних виробів

1. Загальні відомості про виробництво.

Макаронні вироби є кулінарним напівфабрикатом, виготовленим з борошна і води, іноді з додаванням білкових збагачувачів і смакових приправ. Сучасна тенденція розвитку макаронної промисловості характеризується високим ступенем концентрації виробництва, комплексною механізацією процесів з безупинно діючими поточковими лініями, з автоматичним контролем і регулюванням технологічних режимів. Разом з тим широко представлені підприємства малої потужності, що випускають макаронну продукцію невеликими партіями, але в широкому асортименті. Для підприємств подібного типу розроблено малогабаритне устаткування

Макаронна продукція дуже різноманітна. Розрізняють гатунки, типи, види і різновиди макаронів. Останнім часом стали популярними фігурні вироби різних форм. Застосування добавок дозволяє підвищувати харчову цінність продукції, одержувати вироби різних кольорів.

2. Сировина та способи виробництва макаронного тіста

Для виробництва макаронної продукції використовують борошно, воду і різні збагачувачі (рис. 28). До борошна пред'являють специфічні вимоги. Воно повинно мати крупчасту структуру, високий вміст білка (клейковини повинно бути до 28-32%). Макаронне борошно одержують із твердих гатунків пшениці високоскловидної чи м'якої (відповідно борошно називають "семоліна" і "фарина"). Вода, яка використовується у виробництві макаронних виробів, повинна задовольняти вимогам, що пред'являються до питної води. У числі збагачувальних добавок використовують ті, які підвищують харчову цінність (яйцепродукти, молочні продукти, білкові ізоляти), смакові й ароматичні речовини, покращувачі властивостей тіста, біологічно активні речовини.

У виробничих рецептурах макаронного тіста вказується:

- склад суміші борошна;
- похвилинні витрати борошна і води (і відповідні до них показники дозаторів борошна і води);
- витрати збагачувача,
- температура води;
- температура і вологість тіста.

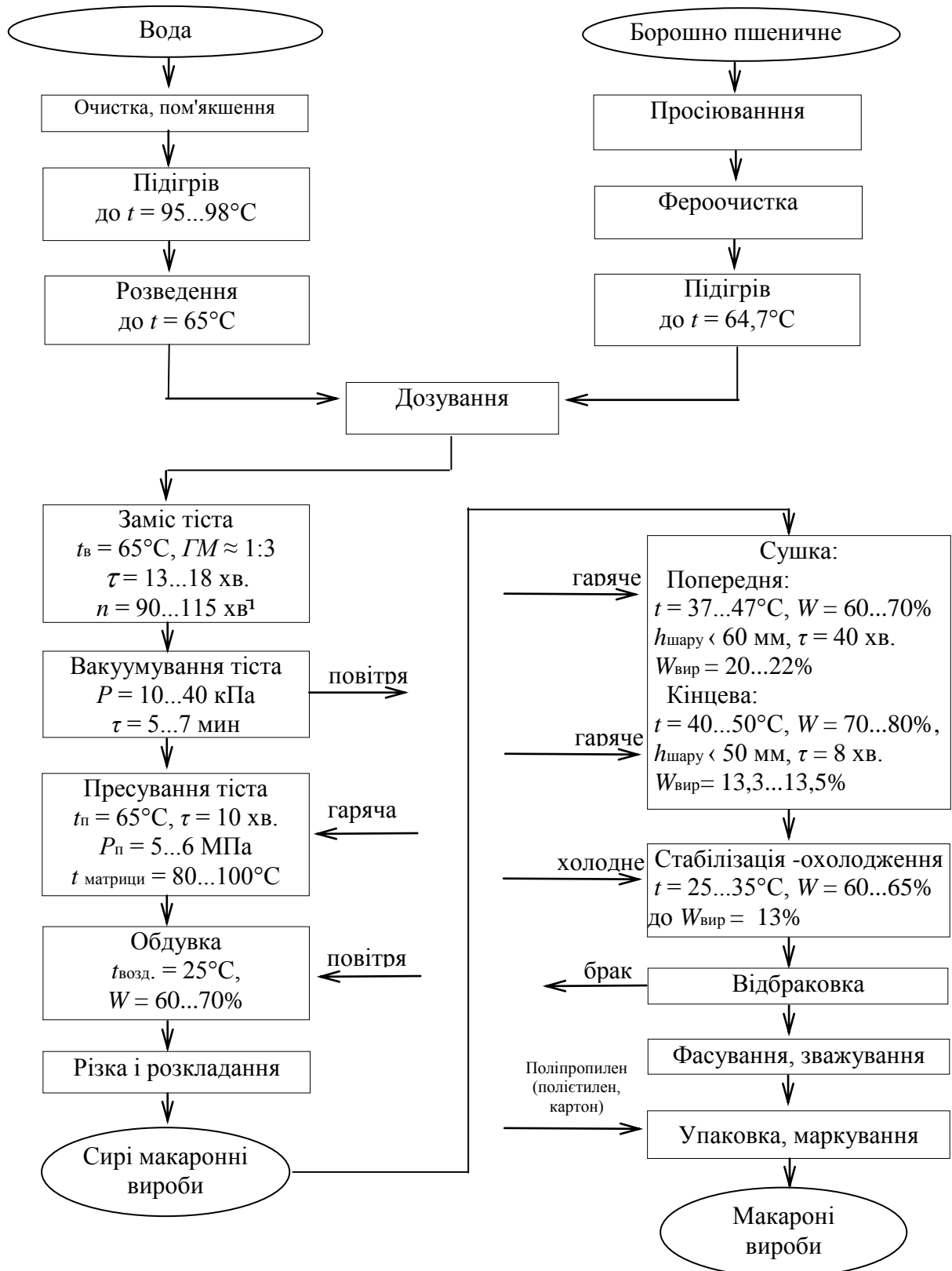


Рис. 28. Функціональна схема виробництва макаронних виробів

Витрата води на заміс макаронного тіста залежить від вологості, кількості і якості клейковини борошна. Вологість макаронного тіста знаходиться в інтервалі значень 28,0-32,5%.

Кількість води для виготовлення тіста спочатку визначають за формулою змішування, а потім корегують на основі пробних лабораторних замісів. При використанні добавок вводять виправлення, враховуючи кількість води, що міститься в них. Витрату борошна уточнюють, приймаючи до уваги втрати при різних способах його збереження.

3. Принципова технологічна схема одержання макаронних виробів.

Технологічна схема одержання макаронних виробів включає такі стадії підготовки сировини: заміс тіста, підготовка тіста до формування, формування, сушіння, упакування виробів. Підготовка борошна включає просіювання і видалення феромагнітних домішок. Воду підігрівають у залежності від виду замісу. При холодному замісі температура води становить 20°C, при теплом - 40-60°C, при гарячому - 90°C. Збагачувальні добавки перед дозуванням змішують з водою в спеціальній ємності.

Заміс тіста здійснюється механізованими місильними апаратами. Дозування сировини ведеться безупинно і повинно бути дуже точним. Підготовка тіста до формування - це його ретельна проминка для додання пластичних властивостей, однорідності, видалення пухирців повітря. Під дією ферментів борошна відбувається "дозрівання тіста". Формування виробів частіше проводять шляхом випресовування тіста через матриці з отворами визначеного профілю і наступним різанням. Поширено також штампування виробів з тонких випресовуваних листів тіста. Сушіння макаронної продукції проводять у сушарках різних типів: камерних, шафових, конвеєрних. Температура і тривалість сушіння залежать від видів і розмірів виробів (короткорізані 2-3 год. при 50--55°C, трубчасті та довгі - при температурі 30-40°C протягом 20-24 год.).

Упаковують вироби в коробки, пакети (0,1-1 кг) і розважують у крафт-мішки (до 32кг).

4. Зберігання готових виробів. Основні якісні характеристики

Зберігання макаронної продукції необхідно проводити при постійній температурі і вологості не більше 70%. Краще зберігаються вироби з твердих сортів пшениці без обігрівачів. Для продукції з додаванням яйцепродуктів терміни зберігання складають до 1-2 місяців. У будь-яких виробів при зберіганні протягом 6-9 місяців змінюються показники якості.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Охарактеризувати принципову схему виробництва макаронних виробів.
2. Сутність технологічних режимів і регулювання процесів на основних стадіях виробництва макаронних виробів.
3. Наведіть основні якісні характеристики макаронних виробів.

Лабораторна робота № 11

Технологія бродильних виробництв. Технологія солоду

1. Загальні дані про виробництво

Солод — це пророщене та особливим способом висушене зерно злакових культур. Метою солодоращення є нагромадження в зерні гідролітичних ферментів і розпушення ендосперму. У найбільших обсягах одержують ячмінний і житній солоди. **Пивоварний солод** — це пророщене в штучних умовах і висушене зерно різних видів зернових і бобових культур. Під час пророщування солод збагачується активними ферментами та іншими біологічно активними речовинами. Застосовується солод в основному при виробництві пива, хлібного квасу, спирту, зерносолодових концентратів, хлібобулочних виробів, безалкогольних напоїв та продуктів лікувально-профілактичного призначення.

Ячмінний солод використовують як основну сировину у виробництві пива і як оцукрюючий засіб у технології спирту.

Житній солод застосовують при виробництві квасу.

Одержують солод на великих спеціалізованих заводах чи цехах спиртових і пивоварних підприємств. Потужність спеціалізованих солодових заводів може складати 10-40 тис. тон солоду на рік. Солодове виробництво оснащено досить складним, різноманітним високомеханізованим устаткуванням. Зі свіжопророщеного ячмінного солоду одержують **карамельний і меланоїдиновий солод**. Шляхом багаторазового обприскування збільшують вологість свіжопророщеного солоду до 50 - 60%, нагрівають до 70°C з витримкою 40 - 50 хв. (проходить оцукрювання), а потім прожарюють продукт при високих температурах (110 - 170°C). При цьому одержують різновиди вищезазначених солодів.

Із сухого солоду одержують паленку пивоварну. Технологія цього виду продукту включає зволоження і наступне східчає нагрівання до 220°C.

Для приготування житнього солоду характерною є додаткова стадія «томління» перед сушінням. На цій стадії поглиблено протікають процеси гідролізу біополімерів зерна.

2. Вимоги до сировини та способи виробництва ячмінного солоду та спеціальних видів солоду

Для виробництва солоду використовуються дозрілі, очищені і відсортовані зернові культури, які перед замочуванням обов'язково промиваються водою із застосуванням дезінфікуючих засобів (хлорне вапно, гідроксид натрію, пероксид водню та ін.). Метою миття зерна є видалення з його поверхні органічних і неорганічних забруднень, які можуть створити сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів.

В результаті замочування зерна з'являється вегетаційна вода, яка розчиняє прості речовини (мінеральні, цукри, амінокислоти, пептиди), що

сприяють пробудженню до активної життєдіяльності. При замочуванні у зерно надходить вода та під дією ферментів здійснюється біохімічний процес гідролізу високомолекулярних сполук (крохмалю, білка та ін.). Вегетаційна вода у зерні зумовлює появу перших ознак його життя. Гормоноподібні речовини, що нагромаджуються у щитку, мігрують до алейронового шару і створюють біологічні умови для активізації існуючих та утворення нових ферментів.

Для забезпечення достатнього обміну речовин у зерні необхідна вегетаційна волога, вміст якої повинен бути не менше 45%. Визначеної межі між замочуванням і пророщуванням зерна не існує. Так, за вологості зерна 30...35% починаються біохімічні процеси, необхідні для його пророщування, тобто інтенсивне дихання і обмін речовин, що потребують відповідної кількості кисню з відповідним збільшенням виділення діоксиду вуглецю.

До зерна для солодоращення висуваються особливі вимоги: висока здатність до проростання і екстрактивність. Екстрактивність — це здатність речовин зерна переходити в розчин при затиранні.

Для забезпечення тривалого зберігання основною є величина вологості зерна (вона повинна бути не більше 14,5 - 15%). Солодовий завод повинен мати 9-ти місячний запас ячменю, тому технологічна схема включає як обов'язковий елемент зберігання зерна з попереднім очищенням, що називають первинним. Ячмінь звільняють від грубих домішок просіванням і вивітрюванням на повітряно-ситових сепараторах.

3. Принципова технологічна схема виробництва ячмінного солоду. Процеси окремих стадій виробництва

Основними стадіями виробництва солоду є: вторинне очищення ячменю, сортування, мийка і дезінфекція, замочування, пророщення зерна, сушіння свіжопророщеного солоду, відділення від нього паростків, збереження сухого солоду (рис.29).

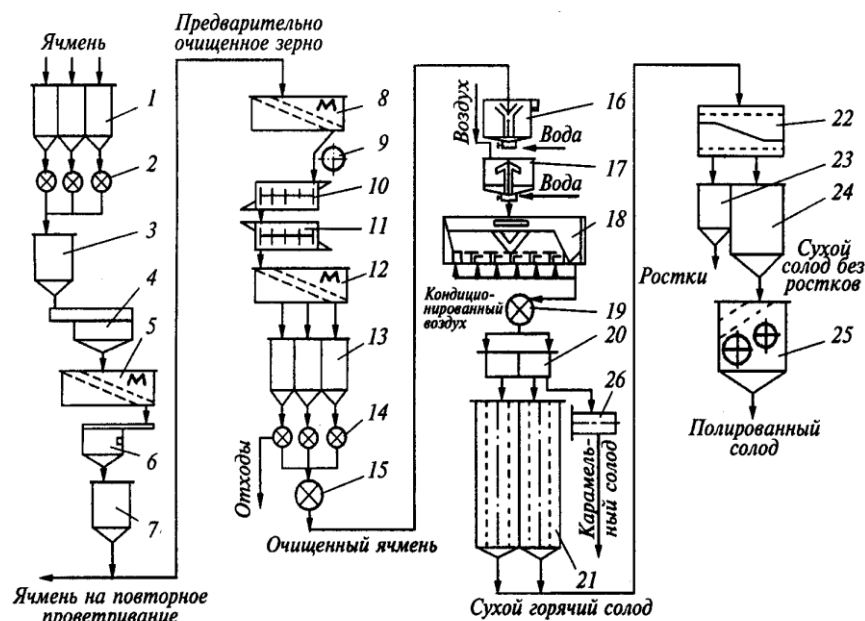


Рис. 29. Машинно-апаратурна схема виробництва солоду:

бункер зберігання 1, перемикач потоку 2, проміжний бункер 3, ваги 4, 6, повітряно-ситовий сепаратор 5, 8, силоси 7, магнітний сепаратор 9, трієри 10,11, ситова машина 12, бункер 13, розподільувач потоку 14, дозатор 15, замочний чан 16, 17, апарат солододорощення 18, живильник 19, камера підв'ялювання 20, сушилка 21, паростковідбойна машина 22, паростковий бункер 23, силоси 24, полірувальна машина 25, обсмажуючий барабан 26.

4. Технологія спеціальних видів солодів

У пивоварінні при виготовленні темних, спеціальних, а також деяких світлих сортів пива із солоду з частковою заміною його несолодженим матеріалом виникає потреба у використанні солоду підвищеної барвної здатності. Основним джерелом утворення барвників — меланоїдинів є вуглеводи і проміжні продукти розкладу білкових речовин.

Меланоїдиноутворення і структура зерен готового барвного солоду значною мірою залежать від досягнення повного розчинення ендосперму солоду, в результаті чого створюються сприятливі умови для кращого контакту і взаємодії молекул амінокислот із молекулами цукрів. Розчинення ендосперму сприяє також утворенню склоподібної структури готового *карамельного солоду*, що високо цініться у пивоварінні, оскільки вважається показником його якості.

Оптимальний технологічний режим приготування карамельного солоду повинен забезпечити глибоке розщеплення органічних сполук високобілкового ячменю, нагромадження максимально можливої кількості цукрів, амінокислот і пептидів як вихідних речовин меланоїдинової реакції. Режим сушіння і термічної обробки солоду має сприяти накопиченню значної кількості меланоїдинів, а також досягненню необхідних структурно-механічних властивостей солоду.

Карамельний солод виробляють із свіжопророслого високобілкового ячменю, в якому до четвертої доби пророщування в основному закінчуються утворення та активізація ферментів, що беруть участь у гідролізі вуглеводів і білків. Використання свіжопророслого солоду порівняно із сухим дає змогу знизити питомі енерговитрати, зменшити втрати сухої речовини на дихання й ріст корінців, поліпшити якість цільового продукту і підвищити коефіцієнт використання виробничих площ та обладнання.

Темний солод використовується для виробництва темних сортів пива (Мартівське, Оксамитове, Портер та ін.). Він повинен мати пористе борошнисте тіло з коричнюватого-жовтим відтінком, оболонку рівномірно бурого-жовтого кольору. Вихідними сполуками для утворення ароматичних, смакових і барвних речовин темного солоду є низькомолекулярні продукти розпаду білків (амінокислоти та пептиди), а також прості цукри.

Житний солод є основною сировиною для виробництва концентрату квасного суслу і хлібного квасу, а також добавкою до хлібобулочних виробів.

Головним завданням технології *солоду сої* є її екологічне спрямування, тобто створення нового продукту, не тільки багатого біологічно активними

речовинами, а й гігієнічно нешкідливого для харчування людини. За всіма показниками продукти із солоду сої мають перевагу над продуктами із самої сої. Солодування сої сприяє активізації різних ферментних систем зерна, а саме ліполітичних ферментів, каталітична дія яких може впливати на якість ліпідів сої внаслідок утворення продуктів їх окислення. Тому ліпіди сої становлять потенційну небезпеку, і дослідження біохімічних перетворень їх на різних стадіях процесу солодування мають велике значення для якісних показників кінцевих продуктів. Результати досліджень щодо впливу процесів солодування на показники якості ліпідів сої характеризуються зниженням кислотних чисел (КЧ) на 50%.

Встановлено також радіозахисні властивості солоду сої, в якому міститься: білків близько 40, 6%, жирів — 17,3, вуглеводів — 92, харчових волокон — 4%, багато мінеральних речовин (Na — 6, К — 1607, Са — 348, Р — 603, Fe — 15 мг на 100 г СР) та вітамінів (В₁ — 1,14, В₂ — 0,33 і РР — 3,3 мг на 100 г СР). В результаті досліджень встановлено значне зниження вмісту цезію-137 у піддослідних шурів, які одержували щодня солод сої.

Солод сої, призначений для приготування дитячого харчування, а також страв у домашніх умовах, виробляють із сої великої та середньої фракцій.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Охарактеризувати процес солодоращення.
2. В чому полягає сутність технологічних режимів і регулювання процесів на основних стадіях виробництва солоду?
3. Охарактеризувати призначення та апаратне оснащення, технологічні параметри та їх вплив на процеси, що мають місце на основних стадіях виробництва пива.
4. Розкрити сутність технологічних режимів і регулювання процесів отримання карамельного, житнього та соєвого солоду.

Лабораторна робота № 12

Технологія бродильних виробництв. Технологія пива

1. Загальні відомості про виробництво пива

Пиво — це слабоалкогольний напій, який одержують із солоду і непророщених зернових культур (ячмінь, пшениця, кукурудза, рис, тритикале та ін.) спиртовим зброджуванням охмеленого сусла пивними дріжджами. Воно не тільки втамовує спрагу, а й підвищує тонус організму, поліпшує обмін речовин та засвоюваність їжі. Пиво являє собою досить складну систему органічних і неорганічних кристалоїдів і колоїдів у слабкому водно-спиртовому розчині. До його складу входять понад 400 сполук, що визначають високу якість і необхідність для людини цього продукту. *Темне пиво* — оригінальний незамінний продукт пивоваріння, характерними особливостями якого є порівняно низький вміст спирту, рубіновий колір, приємний ячмінно-солодовий смак і аромат, яких надають йому барвні речовини, що утворюються в результаті спеціальної обробки ячмінного солоду. Сортіві відмінності пива і його смакові особливості зумовлюються типом використововуваного солоду.

Якість пива — смак і аромат, хмелева приємна гіркота та колір, пінистість, стійкість піни та самого напою під час зберігання — в ринкових умовах повинна повністю задовольнити вимоги споживача. Найціннішими у пиві є гіркі речовини — ефірна олія та поліфеноли хмелю, що надають йому своєрідної приємної гіркоти, аромат і смак, сприяють піноутворенню та біологічній стійкості.

Встановлено, що в результаті споживання невеликої кількості пива зникає гастрит і виділяється соляна кислота шлункового соку, які поліпшують травлення та підвищують апетит, виявляють сечогінну дію. Пиво - цінний напій для здорових людей літнього віку: фізіологічно воно діє заспокійливо, судинорозширювально, сечогінно та снотворно; психологічно — поліпшує загальний стан.

Японські вчені з університету префектури Окаяма дійшли висновку, що цей напій послаблює дію на людський організм канцерогенних речовин, що містяться у підгорілих продуктах і задимленому повітрі. Отже, за помірного вживання пиво запобігає раковим захворюванням.

Пиво містить понад 30 мінеральних речовин і мікроелементів, які в основному солодового походження. Вміст спирту в пиві не перевищує 10% об., екстрактивних речовин — від 3 до 10%, з яких 80% становлять вуглеводи, а 70% із них — декстрини. Поряд із декстринами пиво містить невелику кількість мальтози і зовсім мало глюкози. Значну кількість екстрактивних речовин становлять білкові сполуки і продукти їхнього гідролізу: альбумози, пептиди, аміді та амінокислоти. У пиві містяться гіркі, дубильні та барвні речовини, а також органічні кислоти — молочна, янтарна, щавлева, яблучна.

Оцінку якості пива ведуть за фізико-хімічними і органолептичними показниками. З фізико-хімічних показників - вміст CO_2 , кольоровість, кислотність, кількість побічних продуктів.

При проведенні дегустації пива визначають: прозорість, колір пива, його аромат і смак, гіркоту, піноутворення і піностійкість. На дегустацію подають напій з температурою 12°C и оцінюють його якості за 25- бальною шкалою.

2. Вимоги до сировини у виробництві пива

Основною сировиною для виробництва пива є **солод**, виготовлений із пророщеного і висушеного у спеціальних умовах ячменю. Крім солоду, використовують воду, хміль, різні зернові культури (ячмінь, пшеницю, кукурудзу, рис, тритикале), дріжджі, концентрати із пророслого зерна, ферментні препарати, цукор. Пивоварний ячмінь у порівнянні з іншими зерновими культурами, які використовуються у пивоварінні, має суттєві переваги: росте практично повсюди, невибагливий до ґрунтового-кліматичних умов, легко переробляється для одержання солоду, оболонки подрібненого ячмінного солоду розпушують шар дробини, що забезпечує добре фільтрування сусла при розділенні затору. Склад ячмінного солоду та його ферменти дають можливість одержати пиво з найкращими якісними показниками.

Одним із важливих компонентів пива є **хміль**. Гіркота та антисептичні властивості хмелю зумовлені хмелевими кислотами. Нарівні з водою та солодом хміль є основним видом сировини для виробництва пива. Завдяки вмісту гірких речовин, ефірної олії, поліфенолів він — незамінна сировина для виробництва пива. Саме хміль найбільшою мірою зумовлює характерні специфічні властивості пива: поряд із неповторними смаковими та ароматичними якостями воно набуває здатності протистояти помутнінню в процесі зберігання, поліпшуються піноутворення і піностійкість напою. Пиво містить значний набір поліфенолів. Неабияке значення мають дубильні речовини, антоціаногени, власне флавоноїди та кислоти дубильних сполук. Представниками групи фенольних сполук є кверцетини, катехіни, кислоти дубильних речовин та ін. Всі ці речовини корисні для людського організму, оскільки виявляють значну антирадіаційну дію. Але використання нестандартної сировини або порушення технології може надати пиву канцерогенних і токсичних властивостей, шкідливих для організму.

3. Принципова технологічна схема одержання пива. Процеси окремих стадій виробництва

Основною сировиною у виробництві пива є ячмінний солод. З метою економії дорогого солоду для надання певним сортам пива характерного смаку використовують несолоджену сировину - ячмінь, рисову січку, рисове борошно, пшеницю й ін. При використанні несолодженої сировини в підвищених кількостях застосовують ферментні препарати мікробного походження. Надання специфічного смаку й аромату пива забезпечує хміль,

який вносять при кип'ятінні сусла. Для охмеління пива використовують жіночі суцвіття — шишки хмелю, висушені спеціальним чином. В останні роки розширилося використання екстрактів і концентратів із шишок хмелю. У виробництві пива важливе значення має якість води, у першу чергу необхідною умовою є низька жорсткість води, що забезпечує краще протікання екстракційних процесів, сприяє пом'якшенню смаку напою.

Готування пива досить тривалий процес, який складається з багатьох стадій і операцій. Технологія виробництва пива включає такі стадії: очищення солоду від домішок, дроблення солоду і несолоджених матеріалів, затирання зернового затору, кип'ятіння сусла близько 15 хв, охолодження й освітлення сусла, шумування, дображування, освітлення пива і його витримка, розлив напою (рис. 30).

4. Механізм спиртового бродіння, характеристика пивних дріжджів

Механізм спиртового бродіння в анаеробних умовах являє собою складний біохімічний процес перетворення вуглеводів у результаті метаболізму дріжджів і дії їх ферментів на спирт та діоксид вуглецю і виражається рівнянням



Із 180 г глюкози теоретично можна одержати 92 г спирту, 88 г діоксиду вуглецю, ряд побічних та вторинних продуктів (гліцерин, янтарну кислоту, вищі спирти (близько 50), альдегіди та ін.). Під час аеробного бродіння з повним окисненням вуглеводів утворюється вода, діоксид вуглецю і великий приріст біомаси. Під час бродіння сусла пиво насичується діоксидом вуглецю до 0,2% і після витримання у відділенні дображування при температурі близько 0°C і тиску до 0,13 МПа кількість CO_2 збільшується до 0,3—0,40% мас.

Дріжджі містять 75% води і 25% сухої речовини, до якої належать азотовмісні речовини, безазотисті екстрактивні речовини, жири та мінеральні речовини. До складу дріжджів входять також вітаміни В₁, В₂, В₆, С, Е, Д₂, а також внутрішньоклітинні і позаклітинні ферменти. Розмноження і ріст дріжджів здійснюється завдяки асиміляції розчинних у суслі поживних речовин, а хімічна енергія для цього виробляється у клітині. Одночасно з асиміляцією в організмі клітини відбуваються процеси дисиміляції, тобто розпад речовин, що супроводжується виділенням енергії, яка використовується для синтезу з метою підтримання життя клітини. Отже, обидва процеси — асиміляція і дисиміляція — взаємопов'язані й здійснюються у клітині одночасно. Дріжджі протягом усього періоду розмноження одночасно зі зброджуванням цукрів асимілюють з амінокислот близько 45% азоту, органічних і неорганічних амонійних солей з утворенням і виділенням азотистих речовин, летких і нелетких кислот.

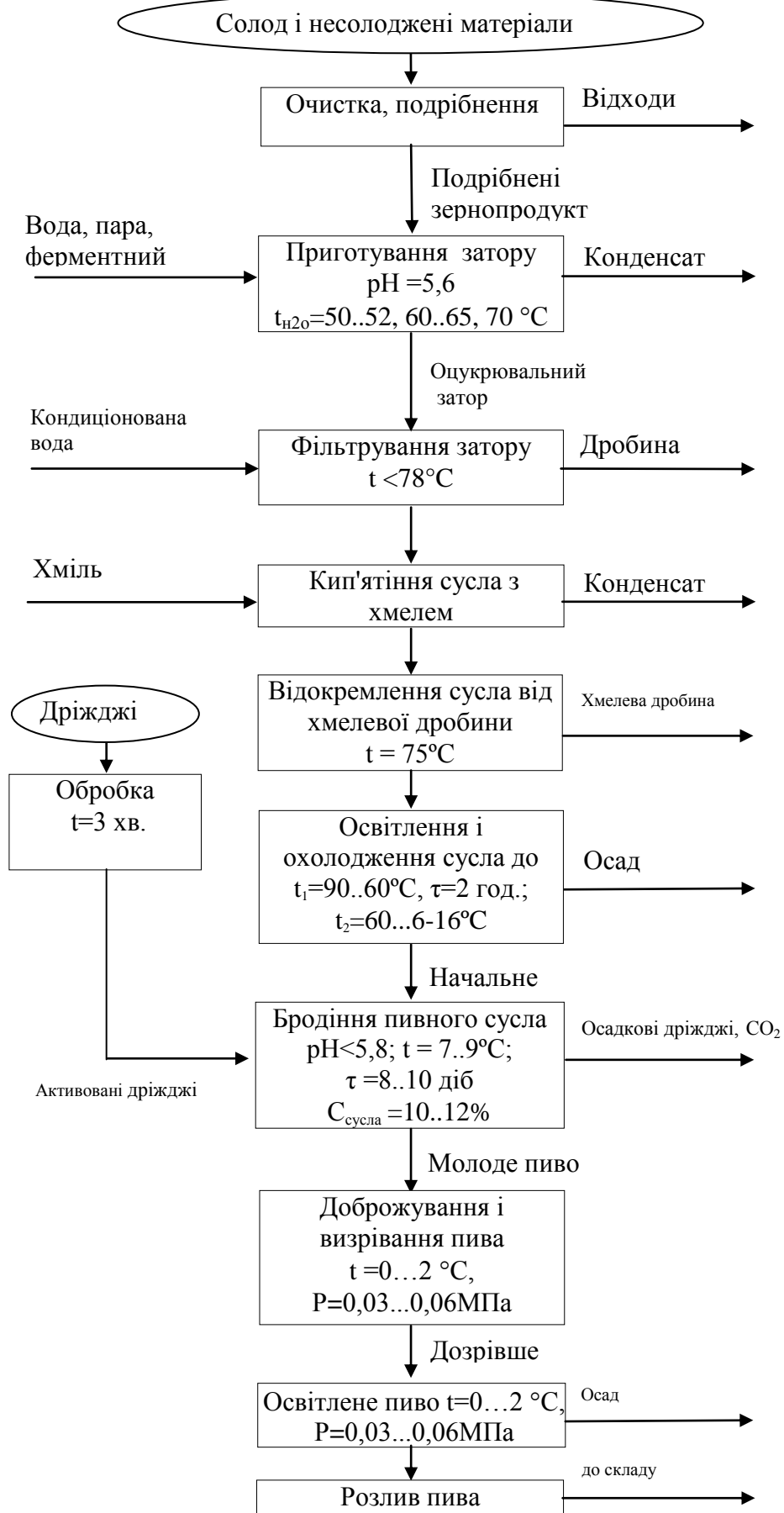


Рис. 30. Функціональна схема виробництва пива

Розмноження дріжджових клітин брунькуванням — основний шлях їх нагромадження за нормальних умов у бродильному апараті. Спочатку на материнській клітині в аеробних умовах утворюється маленька дочірня брунька, яка, досягнувши відповідної величини, відокремлюється від материнської клітини і веде самостійне життя, асимілює поживні речовини й розмножується. Період часу від початку брунькування материнської клітини до брунькування дочірньої називають тривалістю генерації.

Культивування (розмноження) дріжджів у пивоварінні проводять періодичним і напівбезперервним способами.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Надайте характеристику пива та назвіть основні якісні характеристики цієї продукції.
2. Сутність технологічних режимів і регулювання процесів на основних стадіях виробництва пива.
3. Охарактеризуйте способи культивування (розмноження) дріжджів у пивоварінні.
4. Надайте характеристику пивних дріжджів та розкрийте особливості формування якості пива.
5. Охарактеризуйте механізм спиртового бродіння та розкрийте його особливості.
6. Охарактеризуйте основні вимоги до пивної сировини.

Лабораторна робота № 13

Технологія бродильних виробництв. Технологія вина

1. Загальні відомості про виробництво та характеристика винограджних вин

Виноградарство та виноробство найдревніший напрямок діяльності людини. Сьогодні – це одна з провідних галузей харчової індустрії.

Виноградне вино – напій, який отримано в результаті спиртового бродіння. За прийнятою класифікацією вина поділяють на два типи: тихі вина та вина, які вміщують CO_2 . *Столові вина* – напої, які отримані в результаті бродіння свіжого виноградного соку без додавання спирту. *Кріплені вина* отримують шляхом неповного зброджування соку при перериванні бродіння з додаванням ректифікованого спирту.

Залежно від якості виноградні вина поділяють на *ординарні*, які випускають без витримки (3 міс.) та *марочні* з витримкою від 1,5 до 4 років. Вина випускають також *сортіві* (один сорт винограду, домішок не більше 15%) та *купажні* (декілька сортів винограду) (табл.7).

Таблиця 7

Класифікація вин

Типи вин	Показники
Тихі вина	
Сухі	$C_{\text{спирту}} = 9 \dots 14 \text{ об. \%}; C_{\text{цукру}} < 0,3 \text{ г/100 см}^3$
Напівсухі	$C_{\text{спирту}} = 9 \dots 12 \text{ об. \%}; C_{\text{цукру}} < 2,5 \text{ г/100 см}^3$
Напівсолодкі	$C_{\text{спирту}} = 9 \dots 12 \text{ об. \%}; C_{\text{цукру}} < 8 \text{ г/100 см}^3$
Спеціального типу	$C_{\text{спирту}} = 10,5 \dots 16 \text{ об. \%}; C_{\text{цукру}} < 0,3 \text{ г/100 см}^3$
Кріплені вина	
Спеціального типу	
Десертні	
Ароматизовані вина	
Міцні	
Десертні	
Вина, що вміщують CO_2	
Советское шампанське (брют, сухе, напівсухе, напівсолодке, солодке)	$C_{\text{спирту}} = 10,5 \dots 12,5 \text{ об. \%}; C_{\text{цукру}} = 0,3 \dots 10 \text{ г/100 см}^3$
Шипучі	$C_{\text{спирту}} = 9 \dots 12 \text{ об. \%}; C_{\text{цукру}} = 3 \dots 8 \text{ г/100 см}^3$
Ігристі (білі, рожеві, червоні, мускатні)	$C_{\text{спирту}} = 9 \dots 13,5 \text{ об. \%}; C_{\text{цукру}} = 6 \dots 12 \text{ г/100 см}^3$

2. Принципова технологічна схема одержання тихих вин

Технологічна схема виробництва білих столових вин включає такі стадії: подрібнення винограду, відокремлення гребенів, стікання та пресування мезги, освітлення соку, бродіння, зняття з осаду, обробка і

витримка вина (рис. 31).

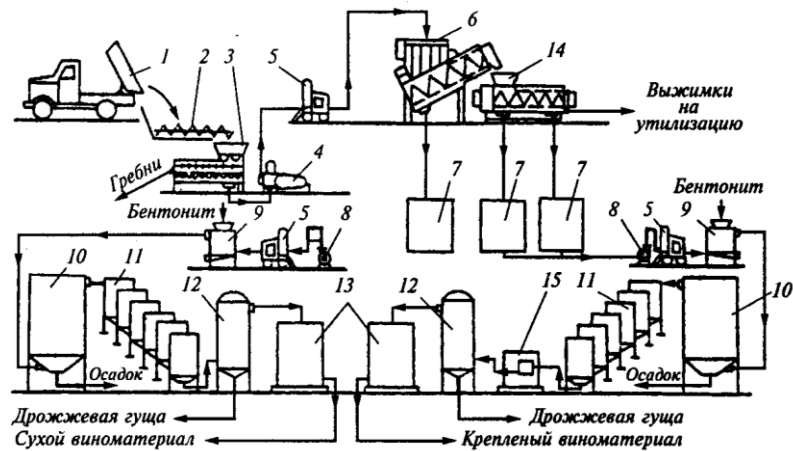


Рис. 31. Машинно-аппаратурна схема виробництва білих виноматеріалів: автотранспортер 1, шнековий живильник 2, дробарки-гребневідокремлювачі 3, насос 4, сульфитатор 5, стікач 6, збірник сусли 7, насос 8, апарат для обробки бентонітом 9, освітлювач безперервної дії 10, установка безперервного бродіння 11, ємності для освітлення 12, резервуари для зберігання 13, спиртодозатори 15.

Технологічна схема виробництва червоних столових вин включає такі стадії: подрібнення винограду, відокремлення гребенів, змішування в потоці, бродіння під «шапкою», обробка і витримка вина (рис.32).

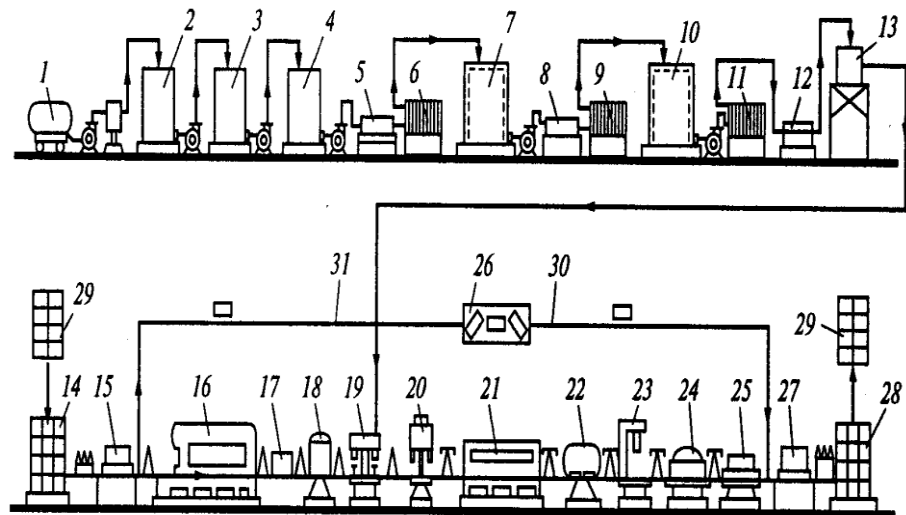


Рис. 32. Машинно-аппаратурна схема виробництва червоних столових вин:

транспортер виноматеріалів 1, ємності для відпочинку купажу 2,3, оклійки 4, фільтри 5,8,12, пластинчасті теплообмінники 6,9,11, термоцистерни 7,10, напорний резервуар 13, машина для розформування пакетів з ящиків 14, машина для виймання пляшок з ящиків 15, пляшкомийна машина 16,

пристрій для інспекції порожніх пляшок 17, апарат для стерилізації пляшок 18, машини: фасувальна 19, укупорочна 20, апарат пастерізації 21, інспекційна машина 22, для відділення шийок пляшок 23, етикетувальна машина 24, пристрій для обгортання пляшок у папір 25, пристрій для санітарної обробки ящиків 26, укладка пляшок в ящики 27, формування пакетів з ящиків 28, пристрій для міжетажного транспортування пакетів з ящиків 29, конвеєри для ящиків 30, 31.

До кріплених вин належать «Портвейн», «Мадера», «Херес», «Мускат», «Токай», «Кагор» тощо. *Технологічна схема* виробництва портвейну включає такі стадії: інтенсивне подрібнення винограду (мезги), купажування виноматеріалів декількох сортів винограду, теплова обробка виноматеріалів на сонячних площадках (термокамерах) протягом 1-2 літніх сезонів. Для одержання вин типу «Мускат» використовують ароматичні сорти винограду з високою цукристістю в стадії повної фізіологічної зрілості та легкого підв'ялення. Технологія приготування «Хересу» має цілу низку особливостей. Хересний матеріал отримують за технологією білих вин, потім його підспиртовують до міцності 15..16%об. і витримують під солерою (плівка спеціально вирощених хересних дріжджів).

3. Принципова технологічна схема одержання вин насичених діоксидом вуглецю

Процес виготовлення шампанського складається з двох етапів – отримання виноматеріалів та шампанізації. *Процес шампанізації* складається з природного насичення вина діоксидом вуглецю шляхом другого алкогольного бродіння та впливу на складові частини вина ферментативних, фізико-хімічних та хімічних процесів, що розвиваються у вині.

Технологічна схема виробництва шампанського пляшковим способом включає такі стадії: приготування тиражної суміші, розливу тиражної суміші у пляшки (тираж), витримка, переведення осаду на пробку (ремюаж), видалення осаду (дегортаж), введення експедиційного лікеру і укупорювання, витримка і оформлення пляшок.

Шампанізація в потоці дозволяє знизити тривалість технологічного циклу з 3 років до 3 тижнів. *Советское шампанське* - це вино, яке отримане з шампанських виноматеріалів шляхом другого алкогольного бродіння в герметичних ємностях під тиском.

Ігристі вина отримують шляхом другого алкогольного бродіння сухих і кріплених виноматеріалів в герметично закритих ємностях за технологіями, затвердженими для кожного виду окремо. Купаж отримують змішуванням спиртованого виноматеріалу (містелю) з шампанським виноматеріалом. Процес шампанізації проводять періодичним методом при температурі 18°C.

4. Технологічна схема виробництва коньяків

Коньяк – міцний алкогольний напій із специфічним кольором, букетом та смаком, що отримують шляхом перегонки молодих виноградних вин та витримкою протягом 3 та більше років. Залежно від терміну витримки та

якості коньяки поділяються на ординарні, марочні та колекційні. Ординарні коньяки – 40..42 об.%, витримка 3..5 років; марочні - 40..57об.%, витримка 6 років і більше; колекційні готуються з марочних додатково витриманих у дубових бутах.

Технологічна схема виробництва *коньяків* включає такі стадії: приготування виноматеріалів, одержання і витримка коньячних спиртів, купаж, обробка і витримка коньяків.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Охарактеризуйте виноградарство та виноробство як напрямок діяльності людини.
2. Які температурні режими необхідно витримувати при одержанні виноматеріалів?
3. Вкажіть призначення основних стадій виробництва білих виноградних вин.
4. Вкажіть призначення основних стадій виробництва червоних виноградних вин.
5. Вкажіть призначення основних стадій виробництва кріплених вин.
6. Охарактеризуйте технологічні режими основних стадій виробництва шампанського пляшковим способом та Советского шампанського.
7. Дайте характеристику основних стадій виробництва ігристих вин.
8. Охарактеризуйте технологічні режими основних стадій виробництва коньяку, їх вплив на процеси, що мають місце при цьому.

Лабораторна робота № 14

Технологія бродильних виробництв. Технологія спирту

1. Загальні відомості про виробництво спирту

Етиловий спирт широко використовується в хімічній, електротехнічній, парфумерній, фармацевтичній та іншій галузях промисловості. В харчовій галузі він є основою для виготовлення алкогольних напоїв (горілки, настойок, лікерів).

Етиловий спирт - прозора безбарвна рідина, пекуча на смак і має характерний запах. Температура його кипіння 78,35°C.

Відомі два методи одержання спирту: біохімічний — шумування цукру дріжджами - і хімічний (синтетичний) — приєднання до етилену води в присутності каталізаторів. У харчовій промисловості спирт одержують із зернових культур, картоплі, буряка, меляси. В інших галузях промисловості спирт виробляють з відходів сульфітно-целюлозного виробництва і продуктів гідролізу деревини. Етиловий спирт одержують на спеціалізованих підприємствах, що, як правило, наближені до джерел сировини.

2. Сировина для виробництва

Для виробництва спирту найбільш широко застосовується така сировина: картопля, зернові культури і меляса. Допоміжними матеріалами є оцукрювані речовини (солод, ферментні препарати), антисептики (соляна, сірчана кислоти, сульфанол, формалін, хлорне вапно), речовини, які містять азот і фосфор, дріжджі і вода.

Найкращим технологічним вимогам спиртового виробництва відповідає картопля. При цьому відбирають ті сорти, які містять багато крохмалю. Серед зернових культур найкращою сировиною є кукурудза. Також для отримання спирту використовують пшеницю, овес, ячмінь, жито.

Для виробництва спирту також використовують мелясу – відходи цукрової галузі. Меляса – це густа рідина темно-коричневого кольору зі специфічним запахом карамелі. До складу меляси входять майже усі речовини, які необхідні для нормальної життєдіяльності дріжджів у процесі бродіння сусла.

3. Принципова технологічна схема одержання спирту

Незважаючи на розмаїття сировини *технологічний процес обов'язково включає три основні стадії*: підготовку сировини до шумування, шумування, виділення з отриманої бражки спирту (рис. 33).

4. Різновиди готової продукції. Основні якісні характеристики

Розрізняють три види етилового ректифікованого спирту: екстра, вищого очищення, 1 сорт. Спирт екстра виробляють з кондиційного зерна. Спирт вищого очищення і першого сорту одержують із зерна, картоплі, меляси.

Вміст етилового спирту в цих видах складає 96,5, 96,2 і 96,0% відповідно за обсягом. Помітно розрізняються вони за вмістом альдегідів, складних ефірів, вільних кислот, сивушних олій. Припустимий вміст домішок визначений відповідною нормативною документацією.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Дайте визначення поняттю «етиловий спирт». Вкажіть галузі його використання, методи одержання.
2. Основна та допоміжні речовини для виробництва спирту.
3. Охарактеризуйте основні стадії одержання спирту.
4. Вкажіть основні види готової продукції, їх якісні характеристики.

Лабораторна робота № 15

Технологія бродильних виробництв. Технологія горілки та лікero-горілчаних виробів

1. Загальні відомості про виробництво горілки та лікero-горілчаних виробів

Горілка — алкогольний напій, який готують обробкою активним вугіллям водно-спиртового розчину міцністю 38—56 % з додаванням у нього інгредієнтів (або без них) з наступним фільтруванням на спеціальних фільтрах. Внесені інгредієнти не повинні змінювати колір горілки. Горілка — це прозора безбарвна рідина без сторонніх включень і осаду з характерним горілчаным ароматом і смаком.

Залежно від якості спирту та інгредієнтів горілка поділяється на звичайну і особливу. Особлива горілка відрізняється специфічним ароматом і м'яким смаком, яких їй надають внесені інгредієнти — ароматні спирти, мед та ін.

Залежно від якості горілку готують, використовуючи спирт вищого очищення, "Екстра", "Люкс", "Пшенична сльоза", "Житня сльоза".

2. Вода в лікero-горілчаному виробництві

У лікero-горілчаному виробництві витрачається близько 9...12 дал.(декалітри, **1 дал. = 10 л**) води на 1 дал переробленого спирту в перерахунку на 100%. Із цієї кількості 1,5..2,0 дал витрачається на виготовлення горілки, напоїв, 5...6 дал — на миття посуду, близько 1 дал — на отримання пари і решта — на побутові потреби.

Поряд із спиртом вода є головною складовою частиною всіх алкогольних напоїв. Від складу її домішок значною мірою залежить прозорість, смак та стійкість алкогольних напоїв під час їх зберігання. Тому якості води в лікero-горілчаному виробництві приділяється велика увага. Залежно від хімічного складу вхідної води вибирають способи її пом'якшення. За наявності у воді підвищеної кількості заліза встановлюють додаткову установку для інтенсивної аерації з метою окиснення заліза та видалення його під час фільтрування.

3. Технологічна схема одержання горілки

Технологічна схема виробництва горілки складається з таких стадій (рис. 34):

- Прийом спирту ректифікату;
- Підготовка води;
- Приготування водно-спиртової суміші;
- Обробка водно-спиртової суміші активованим вугіллям;
- Фільтрування горілки;
- Додавання інших інгредієнтів;

- Контрольне фільтрування горілки;
- Фасування, пакування та оформлення готової продукції.

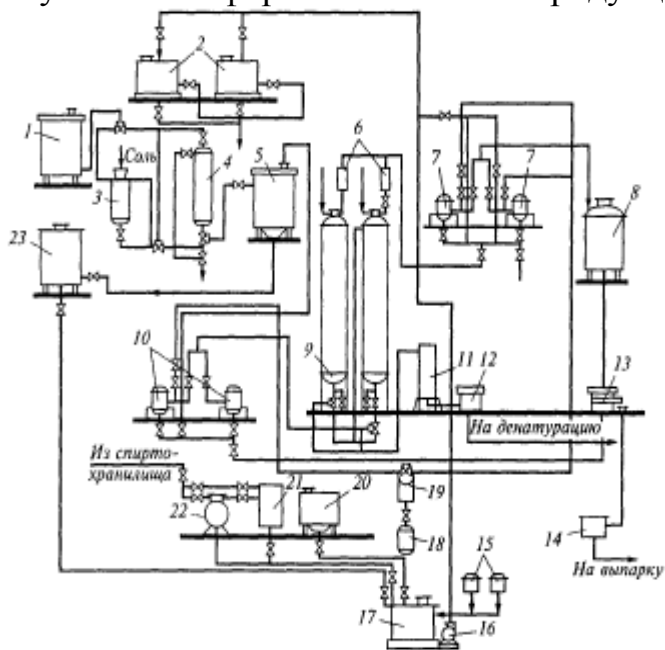


Рис. 34. Машинно-апаратурна схема виробництва горілки:

1, 2 – напорний бак, 3 – солерозчинник, 4, 10 – фільтр, 5 – збірник пом'якшеної води, 6 – ротаметр, 7 – піщаний фільтр, 8 – збірник горілки, 9 – вугільні колони, 11 – холодильник, 12 – ємність для конденсату, 13 – укупорювальна машина, 14 – збірник браку, 15, 20 – бак, 16 – насос, 17 – сортувальний бак, 18 – контрольний фільтр, 19 – бак для водно-спиртової рідини, 21, 22, 23 – мірники води.

Технологічна схема виробництва лікєро-горілочаних напоїв складається з таких стадій (рис. 35):

- Підготовка води, сировини та напівфабрикатів;
- Купажування;
- Фільтрування;
- Витримка;
- Розлив;
- Фасування;
- Пакування та оформлення готової продукції.

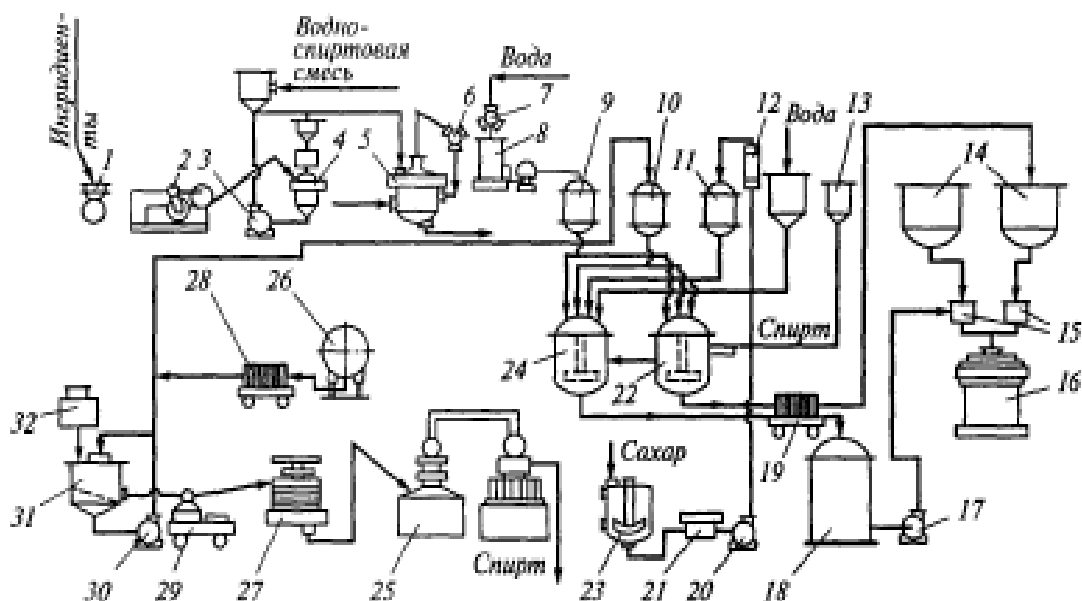


Рис. 35. Машинно-апаратурна схема виробництва лікерів та наливок:

1 – коренедробарка, 2 – траворізка, 3, 17, 20, 29, 30 – насос, 4 – екстракційний апарат, 5 – перегонний апарат, 6 – оглядовий ліхтар, 7 – дефлегматор, 8, 12 – холодильник, 9, 10, 11 – збірник, 13 – мірник, 14 – напорний бак, 15 – контрольний фільтр, 16 – розливний апарат, 18 – бак витримки, 19 – фільтр-прес, 21, 28 – фільтр, 22, 24 – купажні апарати, 25 – випарний апарат, 26 – ємність для зберігання, 27 – прес, 31 – настійний апарат, 32 – дробарка.

4. Актуальні проблеми лікєро-горілкової галузі

До актуальних проблем у лікєро-горілкової промисловості слід віднести такі:

- переоснащення галузі із застосуванням сучасних автоматичних ліній і комп'ютерної техніки;
- розроблення нових рецептур і технологій алкогольних напоїв профілактичного призначення;
- покращення якісних показників та оформлення лікєро-горілчанних виробів з метою їх експортування в інші країни світу.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Що таке горілка? Вкажіть її види.
2. Охарактеризуйте витрати води у лікєро-горілковому виробництві.
3. Охарактеризуйте технологічну схему одержання горілки.
4. Охарактеризуйте технологічну схему лікєро-горілчанних напоїв.
5. Які проблеми вирішує сьогодні лікєро-горілчана галузь?

Лабораторна робота № 16

Технологія виробництва безалкогольних напоїв

1. Загальні відомості про виробництво безалкогольних напоїв

Безалкогольні напої – насичені двоокисом вуглецю (газовані) і без нього (негазовані) водні розчини сумішей цукрового сиропу або цукрозамінників, плодовоовочевих соків натуральних або спиртованих, екстрактів плодово-ягідних, овочевих, з рослинної і зернової сировини, настоїв трав, прянощів, цитрусових, вин, есенцій, ароматизаторів, концентрованих основ для напоїв, барвників, харчових кислот, біологічно активних речовин та інших компонентів.

Безалкогольні напої класифікують:

- за зовнішнім виглядом: рідкі – прозорі і замутнені; концентрати – порошкоподібні суміші у споживчій тарі;
- за сировиною: ті, що мають у складі сік, - соки і лимонади; пряно-ароматичні; ароматичні; зернові; спеціальні – лікувальні, вітамінізовані і низькокалорійні;
- за ступенем насичення двоокисом вуглецю: газовані, середньогазовані, слабогазовані;
- за способом обробки: пастеризовані і непастеризовані; із застосуванням консервантів і без них; холодного і гарячого розливу; асептичного розливу.

2. Сировина та способи виробництва мінеральної води, що добувається з надр землі

Рецептури на безалкогольні напої повинні розраховуватися на кількість сировини в 100 дал готового напою. Сухі речовини спиртованих соків, екстрактів, морсів розраховують за показниками екстрактивних речовин, передбачених стандартами. Кількість цукру-піску в напоях визначають з розрахунку частки сухих речовин у ньому – 99,85%. При виробництві допускається заміна спиртового соку однойменним екстрактом або пастеризованим соком. Витрата двооксиду вуглецю визначається з розрахунку 19 кг на 100 дал напою.

Технологічна схема виробництва *мінеральної води, що добувається з надр землі* представлена на рис. 36.

Знезаражування води проводиться шляхом використання бактерицидного ефекту ультрафіолетових променів.

Фільтрація проводиться для видалення з води взвішених часточок, мікроорганізмів, гідроокислів.

Насичення води двооксидом вуглецю додає їй свіжості, оригінального смаку, робить воду прохолодною.

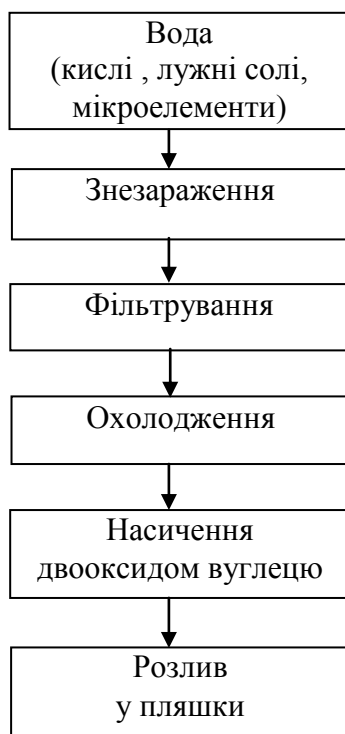


Рис. 36. Технологічна схема виробництва мінеральної води, що добувається з надр землі

Розлив мінеральних вод у пляшки проводять на машинах-автоматах, зв'язаних пластинчастим транспортером, така потокова лінія послідовно здійснює мийку пляшок, розлив мінеральних вод, укупорювання, етикетування.

Виробництво штучної мінеральної води здійснюється за технологічною схемою, що наведено на рис. 37.

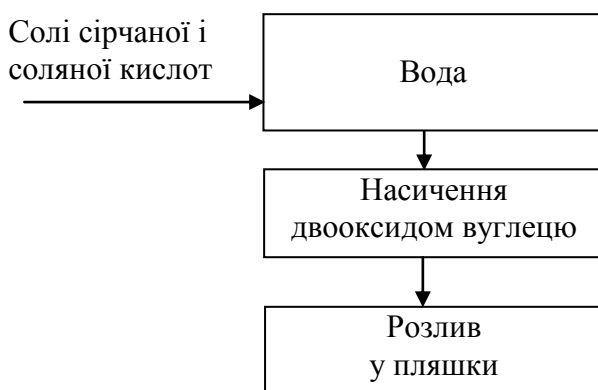


Рис. 37. Технологічна схема штучної мінеральної води

Мінеральними водами називаються води природних джерел, що витікають з надр землі - піднімальні води. Вони характеризуються підвищеним вмістом газів, хімічних елементів і радіоактивністю. Більшість мінеральних вод застосовується як лікувальний засіб, але деякі з них застосовуються і як столові напої.

3. Технологічна схема одержання фруктових газованих безалкогольних

напоїв

Технологічна схема виробництва фруктових газованих безалкогольних напоїв – багатостадійний процес із застосуванням машин і апаратів, який складається з операцій: виготовлення цукрового сиропу, виготовлення кольору та купажного сиропу, насичення двооксидом вуглецю, розлив у пляшки, бракераж, наклеювання етикетки, пакування, зберігання та транспортування продукції.

4. Основні якісні характеристики

Основні фізико-хімічні показники якості безалкогольних напоїв, що контролюються:

- вміст двоокису вуглецю,
- вміст солей для штучно мінералізованих вод,
- вміст сухих речовин,
- кислотність.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Що таке безалкогольні напої? Їх класифікація.
2. Вкажіть сировину та способи виробництва води, що добувається з надр землі.
3. Охарактеризуйте технологічну схему виробництва штучної мінеральної води.
4. Надайте визначення поняттю «мінеральні води».
5. Охарактеризуйте технологічну схему одержання фруктових газованих безалкогольних напоїв.
6. Вкажіть якісні характеристики безалкогольних напоїв.

Лабораторна робота № 17

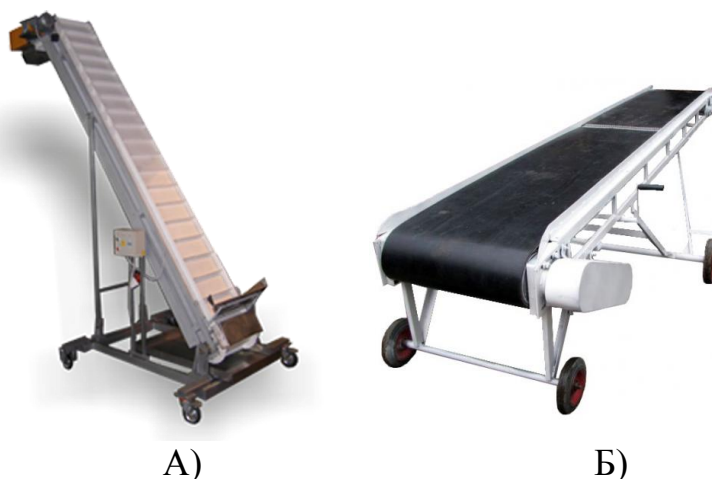
Технологія виробництва рибних консервних виробів

На переробний завод риба приймається згідно ДСТУ 4868:2007 «Риба заморожена. Технічні умови.

Основними технологічними операціями, які проходять в приймальному відділенні є розморожування риби у воді, очистка, миття, нарізання, витримування в сольовому розчині, стікання ропи.

Основним технологічним обладнанням приймального відділення є :

- пристрій голововідсікаючий V-подібний, використовується для відрізання голови риби;
- конвеєр скребковий похилий, який подає обезголовлену рибу на чистку (рис.38 А);
- конвеєр стрічковий, який направляє очищену рибу на мийку(рис. 38 Б);



А)

Б)

Рис. 38. Обладнання приймального відділення:
А) конвеєр скребковий похилий, Б) конвеєр стрічковий.

- обробний конвеєр, що подає на технологічну лінію цеху виробництва рибних консервів.

Цех переробки риби оснащений наступним обладнанням:

- рибонавантажувальна машина;
- електронавантажувач;
- закаточна машина(рис. 39);
- етикетувальна машина.

В цеху переробки вже підготовлену сировину піддають різноманітним способам теплової обробки, таким як:

1) Бланширування (варка) — здійснюють і у спеціальних банках або касетах (бланширувачах) гострим паром при температурі 95-98° С протягом 15-60 хв.

2) Обсмажування — рибу панірують (обвалюють) у борошні і потім обсмажують у рослинній олії при температурі 160° С.

3) Пропікання — обробка риби гарячим повітрям при температурі 110-130° С.

У результаті цього риба ущільнюється, зменшується в об'ємі і її калорійність підвищується



Рис. 39. Зображення закаточної машини.

Після термічної обробки рибу охолоджують до температури 30-40° С протягом не більше 1 год. і розфасовують у чисті бляшані банки за допомогою рибонаповнювальної машини і електронавантажувача. Банки негайно закривають, у вакуумі закаточної машини.

Закатані банки промивають гарячою водою і стерилізують при температурі 112-120° С протягом 85-130 хв., залежно від виду консервів.

Простерилізовані, охолоджені і висушені банки направляють на етикетувальну машину, для наклеювання етикетки підприємства з назвою продукції, складом, масою, споживчою цінністю продукту, термінами та умовами зберігання.

Для виробництва консервів використовують заморожену рибу. Різноманітні види консервів готують відповідно технологічним інструкціям, проте принципова схема виробництва, в основному, подібна.

Морожену рибу розморожують у воді при температурі не вище 20°С. При розбиранні риби відокремлюють неїстівні частини: голову, плавці, внутрішні органи, луску, а в крупних риб і кістки. Розібрану рибу зачищають від крові, чорної плівки в черевній порожнині і старанно промивають. Нарізану на шматки (порції) рибу помішають у сольовий або оцтово-сольовий розчин. У м'ясі риби повинно міститися 1,2-2 % солі. Для цього шматки риби кладуть у насичений розчин солі при температурі 10-12°С на 6-8 хв., залежно від їх розміру. Після цього рибу витримують для стікання ропи.

Сіль можна вносити безпосередньо в бочку або в соус. Залежно від виду консервів рибу перед укладкою в банки попередньо піддають різноманітним способам теплової обробки, спрямованої, в основному, для видалення зайвої вологи. У результаті цього риба ущільнюється, зменшується її об'єм і підвищується калорійність. Продукт набуває

специфічного смаку, запаху і вигляду. Застосовують наступні види термічної обробки риби.

Бланширування (варка) — рибу поміщають у воду, сольовий або оцтово-сольовий розчин при температурі 85-90° С на 2-10 хв. У рибі відбувається звернення білків і часткове побіління м'яса. У промислових умовах бланширування здійснюють і у спеціальних банках або касетах (бланширувачах) гострим паром при температурі 95-98° С протягом 15-60 хв. Для бланшируючої сировини у воді використовують скребкові або ковшові бланшировувачі, обладнані барботерами.

Обсмажування — рибу панірують (обвалюють) у борошні і потім обсмажують у рослинній олії при температурі 160°С. У результаті на поверхні риби утворюється золотаво-коричнева кірочка, що надає продукту гарного зовнішнього вигляду, приємний смаку і аромату. При обсмажуванні риба утрачає вологу й убирає 3-9 % Олії. Втрати маси риби складають 16-20%.

Пропікання — обробка риби гарячим повітрям при температурі 110-130° С. Риба повністю проварюється, шкіра стає сухою і злегка зморшкуватою.

Після термічної обробки рибу охолоджують до температури 30-40° С протягом не більше 1 год. і розфасовують у чисті бляшані або скляні банки різноманітної ємності. Банки негайно закривають (закатують), краще у вакуумі закаточних машин. У випадку відсутності таких машин видаляють повітря з банок методом їх прогрівання при температурі 90-98° С протягом 10-15 хв. або наповненням банок гарячим вмістом із температурою 75-85° С, або заливанням в банки соусу (олії) при температурі 75-85° С. При високих температурах розчинність газів у воді зменшується, вони виділяються, і в закупореній банці при остиганні утворюється певний вакуум.

Закатані банки промивають гарячою водою і стерилізують при температурі 112-120° С протягом 85-130 хв., залежно від виду консервів. При стерилізації знищується уся мікрофлора, здатна викликати псування продукту, інактивуються ферменти. У процесі стерилізації риба проварюється і розпушується, із неї виділяється бульйон, тому об'єм і маса шматків зменшуються. У консервах в томатному соусі попередньо обсмажена риба, навпаки, набухає.

Під час стерилізації відбувається денатурація і частковий гідроліз білків, що супроводжується накопиченням проміжних і кінцевих продуктів розпаду, у тому числі сірководню й аміаку. Після стерилізації консерви охолоджують, миють і сушать, наклеюють етикетку з назвою продукції та іншою супроводжуючою інформацією.

Дефекти консервів

При виробництві консервів використовується переважно металева тара. Кінці металевої тари в центральній частині плоскі або увігнуті. Якщо на один із кінців металевої тари натиснути пальцями, то інший кінець повинен залишитися плоским.

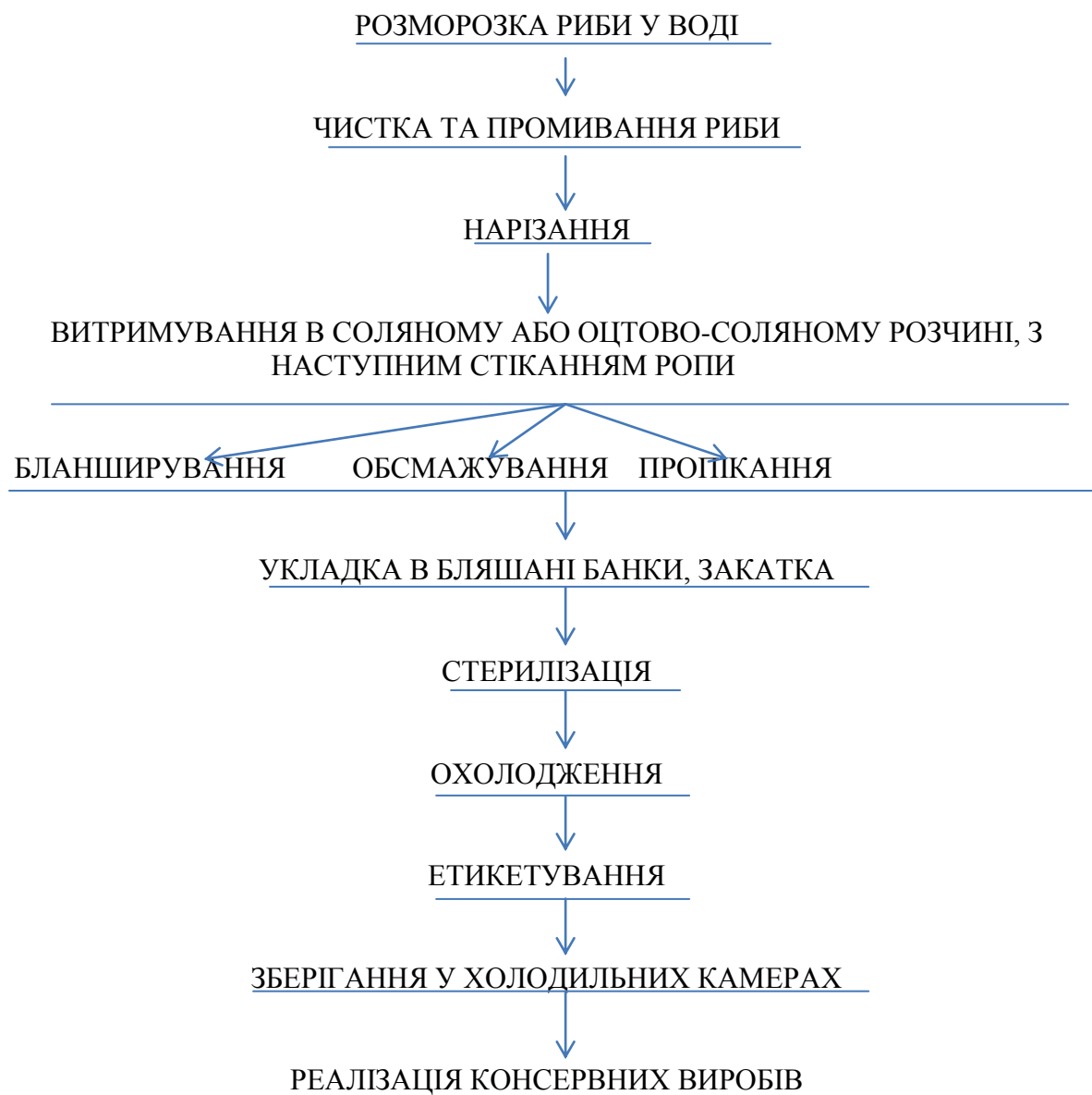


Рис. 40. Блок-схема технології виробництва рибних консервів.

До дефектів зовнішнього вигляду тари консервів відносять ознаки негерметичності, що виявляються не озброєним оком (тріщини, сліди продукту, що витікає з банки), бомбаж, хлопуші, банки з вібруючими кінцями, неправильно оформлений шов жерстяних банок (язички, зубці, підріз, фальшивий шов), іржу, деформацію корпусу, денця, фальців та поздовжнього шва жерстяних банок.

До консервів з вібруючими кінцями відносять нормальні за зовнішнім виглядом металеві банки, один з кінців яких вигинається при натисканні на протилежний кінець та повертається в нормальний стан. До консервів з вібруючими кінцями відносять також консерви у тому випадку, якщо тара злегка здута, але при натисканні пальцями здуття зникає і не утворюється знову. До вібруючих відносять консерви, що ледве здуються при

термостатуванні (або заморожуванні), але це здуття зникає після охолодження (нагрівання) консервів до кімнатної температури.

До хлопущ відносять консерви з постійною здутим кінцем або кришкою, що повертається в нормальне положення під натиском пальців руки, при цьому здувається протилежний кінець. Після зняття тиску банка набуває попередній стан, це супроводжується характерним звуком.

До бомбажних відносять консерви з постійно здутим кінцем або кришкою, що не змінює свого положення при натисканні на неї пальцями. У залежності від причин виникнення розрізняють такі види бомбажу, як справжній – *мікробіологічний* (внаслідок газовиділень в результаті діяльності мікроорганізмів, що залишилися життєздатними при порушенні правил стерилізації консервів), та несправжній: *механічний* (в результаті механічної деформації бляшанки), *фізичний* (внаслідок перегрівання або перемерзання вмісту консервної бляшанки), *тахімічний* (в результаті взаємодії вмісту банки з металевою поверхнею, яке супроводжується виділенням газів).

Зовнішня поверхня бляшаних консервів не повинна мати деформацій у вигляді ріжків біля бортиків бляшанки, закатні шви повинні бути гладенькими, денце і кришка – плоскими або увігнутими.

На кришці металевої консервної банки повинні бути виштампувані умовні позначки, які указують:

1-й ряд – дата виготовлення (число, місяць, рік);

2-й ряд:

- індекс рибної промисловості – буква «Р» (на бляшанках з літографічним малюнком букву не вибивають);
- асортиментний знак – від одного до трьох знаків (цифри та букви крім Р);
- номер підприємства-виробника – до трьох знаків (цифри і букви)

Визначення герметичності консервів

Визначення герметичності консервів проводиться за допомогою занурення консервної банки (а вона обов'язково має бути герметично закритою) з попередньо усуненою етикеткою в нагріту до 80°C воду на 5–7 хвилин та її поступовим перевертанням. Шар води над консервною банкою повинен бути завтовшки 3 см. Поява цівки бульбашок указує на негерметичність банки. Проте, слід відмітити, що виділення поодиноких бульбашок повітря, що з'являються на початку дослідження у різних місцях, ще не свідчить про порушення герметичності бляшанки.

Контрольні питання:

1. Вкажіть основні технологічні операції, які проходять у приймальному відділенні рибоконсервного підприємства.
2. Вкажіть основне технологічне обладнання приймального відділення рибопереробного підприємства, його призначення.
3. Вкажіть основне технологічне обладнання переробного відділення рибопереробного підприємства.

4. Вкажіть види теплової обробки підготовленої рибної сировини у рибопереробному підприємстві.
5. Охарактеризуйте стадії блок-схеми технології виробництва рибних консервів.
6. Вкажіть види дефектів рибних консервних виробів
7. яким чином відбувається визначення герметичності консервних виробів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Альбертс Б. Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, Д. Льюис. – М. : Мир, 1994. – 380 с.
2. Артамонов В. И. Занимательная физиология растений / В. И. Артамонов. – М. : Агропромиздат, 1991. – 336 с.
3. Безбородов А. М. Ферменты микроорганизмов и их применение / А. М. Безбородов. – М. : Наука, 1984. – 256 с.
4. Березин И. В. Иммобилизованные ферменты / И. В. Березин, Н. Л. Клячко, А. В. Левашев. – М. : Высшая школа, 1987. – 160 с.
5. Биотехнология - сельскому хозяйству / А. Г. Лобанок, М. В. Залашко, Н. И. Анисимова [и др]. – Минск: Урожай, 1988. – 199 с.
6. Бирюков В. С. Основы промышленной биотехнологии / В. С. Бирюков. – М. : Колос, 2004. – 296 с.
7. Варфоломеев С. Д. Биотехнология преобразования солнечной энергии. Современное состояние, проблемы, перспективы / С. Д. Варфоломеев, Е. С. Панцхава. – М. : Наука, 1984. – 202 с.
8. Голубовская Э. К. Биологические основы очистки воды / Э. К. Голубовская. – М. : Высшая школа, 1978. – 270 с.
9. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках / Н. С. Егоров. – М. : Высшая школа, 1986. – 448 с.
10. Каравайко Г. И. Биоготехнология металлов / Г. И. Каравайко. – М. : Наука, 1984. – 265 с.
11. Клесов А. А. Применение иммобилизованных ферментов в пищевой промышленности / А. А. Клесов. – М. : Наука, 2004. – 200 с.
12. Кочубей О.В. Загальна технологія харчових виробництв та технологія галузі / О. В. Кочубей. – К.: НУХТ, 2007. – 170 с
13. Мартинек К. Иммобилизованные ферменты / К. Мартинек. – М. : Наука, 2005. – 342 с.
14. Микробные ферменты и биотехнология / под ред. В. М. Фогарти; пер. с англ. – М. : Агропромиздат, 1986. – 405 с.

15. Промышленная биология и успехи генетической инженерии / под ред. Г. К. Скрыбина; пер. с англ. – М. : Мир, 1984. – 176 с.
16. Сельскохозяйственная биотехнология / под ред. В. С. Шевелухи. – М. : Высшая школа, 1998. – 416 с.
17. Харчові технології / Л. Л. Товажнянський, С. І. Бухкало, П. О. Капустенко [та ін.]. – К. : Центр учбової літератури, 2008. – 576 с.

Навчальне видання

ПРОМИСЛОВА БІОТЕХНОЛОГІЯ

Методичні рекомендації

Укладач: **Лихач** Анна Василівна

Формат 60x84 1/16. Ум. друк. арк. 7,1
Тираж 15 прим. Зам. № ____

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Паризької Комуни, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.