

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**Кафедра фізіології, біохімії рослин та біоенергетики**

**ОБ'ЄКТИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ  
ВИРОБНИЦТВ**

**Короткий курс лекцій для  
студентів ОС «Бакалавр» денної форми навчання аграрних вузів  
III - IV рівня акредитації  
спеціальності 162 «Біотехнологія та біоінженерія»**

**Київ-2017**

## **УДК 581.1**

Наведено короткий конспект лекцій із курсу «Об'єкти біотехнологічних виробництв» для студентів ОС «Бакалавр» денної форми навчання аграрних вузів III – IV рівня акредитації спеціальності 162 «Біотехнологія та біоінженерія».

Рекомендовано вченою радою факультету захисту рослин, біотехнологій та екології Національного університету біоресурсів і природокористування України протокол № 2 від 21 вересня 2017 р.

### **Укладачі:**

Старший викладач кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики, кандидат біологічних наук Бабицький Андрій Ігорович

Старший викладач кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики, кандидат історичних наук Дрозд Петро Юрійович

### **Рецензенти:**

Професор кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України Григорюк Іван Панасович

Професор кафедри молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки доктор сільськогосподарських наук, професор Лісовий Микола Михайлович

## **Навчальне видання**

### **ОБ'ЄКТИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ВИРОБНИЦТВ**

Короткий курс лекцій  
студентів ОС «Бакалавр» денної форми навчання аграрних вузів  
III – IV рівня акредитації  
спеціальності 162 «Біотехнологія та біоінженерія»

**Укладачі:** БАБИЦЬКИЙ Андрій Ігорович, ДРОЗД Петро Юрійович

## ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА .....	4
<b>Змістовий модуль 1. Процеси та апарати виробництва мікробіопрепаратів.....</b>	<b>8</b>
<u>Лекція 1. МЕТА І ЗАВДАННЯ ПРЕДМЕТУ ПРОЦЕСИ І АПАРАТИ. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ КУРСУ. ЗАГАЛЬНЕ ПОНЯТТЯ ПРО ПРОЦЕСИ У БІОТЕХНОЛОГІЇ.....</u>	8
<u>Лекція 2. ПРИНЦИПИ ВІДБОРУ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ.....</u>	14
<u>Лекція 3. СИНТЕЗ БІЛКА І ФЕРМЕНТАТИВНИЙ КАТАЛІЗ...</u>	19
<u>Лекція 4. КУЛЬТИВУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ.....</u>	25
<u>Лекція 5. СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ФЕРМЕНТАТИВНІ ПРОЦЕСИ ТА ТЕХНОЛОГІЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ТВАРИННИХ КЛІТИН.....</u>	31
<u>Лекція 6. ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ ГРИБІВ І ГРИБОПОДІБНИХ ОРГАНІЗМІВ.....</u>	37
<b>Змістовий модуль 2. Особливості протікання енергетичних процесів у клітинах мікроорганізмів.....</b>	<b>42</b>
<u>Лекція 7. МОЛОЧНОКИСЛЕ БРОДІННЯ.....</u>	42
<u>Лекція 8. СПИРТОВЕ БРОДІННЯ.....</u>	54
<u>Лекція 9. МАСЛЯНОКИСЛЕ БРОДІННЯ.....</u>	57
<u>Лекція 10. ПРОПІОНОВОКИСЛЕ БРОДІННЯ.....</u>	65
<u>Лекція 11. ОЦТОВОКИСЛЕ, ЛИМОННОКИСЛЕ ТА МЕТАНОВЕ БРОДІННЯ.....</u>	71
<b>Змістовий модуль 3. Процеси та апарати біотехнологічних виробництв у харчовій промисловості.....</b>	<b>75</b>
<u>Лекція 12. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА КЛАСИФІКАЦІЯ ХАРЧОВИХ ВИРОБНИЦТВ.....</u>	75
<u>Лекція 13. ТЕХНОЛОГІЯ ПЕРЕРОБКИ РОСЛИННИХ ЖИРІВ.....</u>	80
<u>Лекція 14. ТЕХНОЛОГІЯ МОЛОЧНИХ ВИРОБІВ.....</u>	86
<u>Лекція 15. ВИКОРИСТАННЯ СПИРТОВОГО БРОДІННЯ У ВИРОБНИЦТВІ АЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ.....</u>	103

## ПЕРЕДМОВА

В епоху перетворення науки в безпосередню продуктивну силу, біотехнологія є найбільш перспективною сферою діяльності, розвиток її тісно пов'язаний з вирішенням соціальних, енергетичних, сировинних, продовольчих, агроекологічних завдань. Цей напрямок сформувався за останні два десятиліття років і вже зараз отримав потужний розвиток. В біотехнології використовуються біологічні системи, живі організми чи їх похідні виробництва енергоносіїв, промислових продуктів та продуктів харчування, переробки відходів тощо. Особливо актуальним в останні десятиліття стало питання забезпечення держави енергоресурсами, адже за прогнозами вчених, розвіданих світових запасів нафти вистачить на 50-100 років добування, природного газу - 150-200 років. В той же час, Україна не може повністю забезпечити себе власними мінеральними енергоносіями. Доля нафти і газу власного видобутку в загальній структурі їх споживання становить приблизно 20%. Тому гостро стоїть питання про впровадження альтернативних джерел енергії. Одним із таких джерел може слугувати біоенергетика.

Для впровадження біотехнологій в практику будуються сучасні підприємства, які оснащені сучасною технічною базою. Виробництво якісної продукції на них забезпечується новітніми технологіями біотехнологічних виробництв.

Сучасна біотехнологія нараховує безліч різноманітних підприємств, які дуже відрізняються хімічною природою і фізичними якостями початкових речовин, проміжних та кінцевих продуктів, а також характером і умовами протікання процесів. Не дивлячись на перераховані різноманітності, рахунок елементарних процесів, які повторюються в різних співвідношеннях у всіх біотехнологічних підприємствах досягає лише двадцяти. Із цього числа елементарних процесів, чи з деякої їх частини, тільки в різній послідовності і при різних робочих умовах, будується технологія будь-якого біотехнологічного підприємства.

Вивчення закономірностей, вказаних елементарних процесів, методів їх раціонального апаратурно-технічного оформлення та інженерних розрахунків складає предмет курсу «Об'єкти біотехнологічних виробництв». Курс розглядає різноманітні біотехнологічні об'єкти, а також біологічні процеси, що протікають під час біотехнологічного виробництва цільових продуктів. Особлива увага звернена на біохімічні перетворення субстратів на продукти, одержання яких є ціллю біотехнолога.

Знання курсу дають можливість раціонально вибрати або

розробити конструкцію апарата для виконання даного процесу, розрахувати даний процес та знайти оптимальний режим його проведення, тобто забезпечує максимальну продуктивність. Курс процесів та апаратів також є основою курсового проектування. Одержані знання знаходять безпосереднє застосування в виробничій діяльності кожного бакалавра біотехнолога.

## СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Анштейн В.Г. Общий курс процессов и аппаратов химической технологии / В.Г. Анштейн, М.К. Захаров, Г.А. Носов и др. - М.: Высшая школа, 2002. - 912 с.
2. Беккер М.Е. Введение в биотехнологию / М.Е. Беккер. - М.: Пищ. Промышленность, 1978. -430 с.
3. Великий тлумачний словник сучасної української мови (з дод. і допов.) / Уклад. і голов. ред. В. Т. Бусел. – К. ; Ірпінь : ВТФ «Перун», 2005. – 1728 с.
4. Гапонов К.П. Процессы и аппараты микробиологических производств / К.П. Гапонов. - М.: Легк. и пищ. пром-сть, 1981, - 240 с.
5. Довідник офіційного опонента. Збірник нормативних документів та інформаційних матеріалів з питань експертизи дисертаційних досліджень / Упор. Ю. І. Цеков. – К. : Толока, 2010. – 64 с.
6. Кантере В.М. Основы проектирования предприятий микробиологической промышленности / В.М. Кантере, М.С. Мосичев, М.И. Дорошенко и др. - М.: ВО "Агропромиздат", 1990.-304с.
7. Касаткін А.Г. Основні процеси та апарати хімічної технології / А.Г. Касаткін. - М.: Хімія, 1973. - 754 с.
8. Ковальская Л.П. Технология пищевых производств / Л.П. Ковальская, И.С. Шуб, Г.М. Мелькина и др. - М.: Колос, 1997. - 752 с.
9. Кондратьева Е.Н. Молекулярный водород в метаболизме микроорганизмов / Е.Н. Кондратьева, И.Н. Гоготов - М.: Наука, 1981. - 342 с.
10. Лисовская Д.П. Гигроскопические и теплофизические свойства пищевых продуктов / Д.П. Лисовская, Л.А. Галун. - М.: Логос, 1986. - 204 с.
11. Малогабаритні біогазові установки. Бюлетень «Новітні технології в сфері нетрадиційних і відновлюваних джерел енергії». - 1999. - №2. - 83 с.
12. Мосычев М.С. Общая технология микробиологических производств / М.С. Мосычев, А.А. Складиев, В.Б, Котов. - М.: Мир, 1987. - 454 с.
13. Никитан Г.А. Метановое брожение в биотехнологии / Г.А. Никитан - К.: Выщ. Школа, 1990. - 207 с.
14. Окоча А.І. Паливно-мастильні та інші експлуатаційні матеріали / А.І. Окоча, Я.Ю. Білоконь - К.: Центр духовної культури, 2004. - 448 с.

15. Пономаренко Л. А. Як підготувати і захистити дисертацію на здобуття наукового ступеня. Методичні поради / Л. А. Пономаренко. – К. : Толока, 2011. – 79 с.
16. Попырин Л.С. Математическое моделирование и оптимизация теплоэнергетических установок / Л.С. Попырин. - М.: Энергия, 1978. - 416 с.
17. Раптунович Е.С. Искусственное выращивание съедобных грибов / Е.С. Раптунович, Н.И. Федоров. - М.: Выш. школа, 1994. - 206 с.
18. Ратушняк Г.С. Енергозбереження в системах біоконверсії / Г.С. Ратушняк, В.В. Джеджула. - Вінниця: ВНТУ, 2006. - 83 с.
19. Ржетовский Р.И. Напрерывное культивирование микроорганизмов. Теоретические и методологические основы / Р.И. Ржетовский - М.: Пищ. пром-сть, 1968. - 359 с.
20. Семененко И.В. Проектирование биогазовых установок. - К.: Техника, 1992.-346 с.
21. Сидоров Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної промисловості / Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков. - Львів: НУ "Львівська політехніка", 2004.-410 с.
22. Сидоров Ю.І. Процеси і апарати мікробіологічної та фармацевтичної промисловості / Ю.І. Сидоров, Р.Й. Влязло, В.П. Новіков. - Львів: Інтеллект-Захід, 2008. - 736 с.
23. Цыганков А.А. Лабораторные фотобиореакторы / А.А. Цыганков // Приклад, биохим. и микробиол. - 2001. - 37, №4. - С. 387-397.
24. European Biodiesel Board, 2007. <http://www.ebb-eu.org>

**ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1.**  
**ПРОЦЕСИ ТА АПАРАТИ ВИРОБНИЦТВА**  
**МІКРОБІОПРЕПАРАТІВ.**

Лекція 1. МЕТА І ЗАВДАННЯ ПРЕДМЕТУ ПРОЦЕСИ І АПАРАТИ. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ КУРСУ. ЗАГАЛЬНЕ ПОНЯТТЯ ПРО ПРОЦЕСИ У БІОТЕХНОЛОГІЇ.

План

1. Об'єкт і предмет курсу.
2. Історія розвитку вчення.
3. Структура курсу і загальне поняття про процеси у біотехнології.

**1. Об'єкт і предмет курсу.**

Сучасна біотехнологія нараховує безліч різноманітних процесів, які дуже відрізняються хімічною природою і фізичними якостями початкових речовин, проміжних та кінцевих продуктів, що обумовлює застосування для їхнього протікання необхідних спеціалізованих апаратів. Вивчення закономірностей, елементарних процесів, методів їхнього раціонального апаратурно-технічного оформлення та інженерних розрахунків складає предмет курсу “Об'єкти біотехнологічних виробництв”.

Цей курс складається з теоретичних та практичних обґрунтовувань технологічних процесів, методів їхніх розрахунків, а також набуття знань про типові апарати та машини, в яких ці процеси відбуваються. Знання курсу дає можливість раціонально вибрати або розробити конструкцію апарата для забезпечення протікання певного процесу, розрахувати цей процес та знайти оптимальний режим для одержання максимальної його продуктивності.

Об'єктом курсу є ті *хіміко-біологічні процеси*, які використовуються при виробництві продукції біотехнологічними методами. Переважаючою частиною сучасного біотехнологічного виробництва є мікробіологічний синтез, тобто синтез різноманітних речовин за допомогою мікроорганізмів. Для реалізації біотехнологічних процесів важливими параметрами є чистота, швидкість розмноження клітин і репродукції вірусних частин, активність і стабільність біомолекул або біосистем.

Курс “Об'єкти біотехнологічних виробництв” також передбачає ознайомлення з основними методами біотехнології.

Курс зв'язує між собою загально-наукові, загально-хімічні, дисципліни та промислові курси біотехнології.

Розвиток вчення про “Об'єкти біотехнологічних виробництв” тісно пов'язаний зі становленням науки біотехнології. Тому на



розвиток цього вчення суттєво вплинули ті відкриття, які дали поштовх для розвитку цієї науки. А саме:

- доведення ролі нуклеїнових кислот у збереженні та передачі спадкової інформації в організмів;
- розшифрування універсального для усіх живих організмів генетичного коду;
- встановлення механізмів регуляції функціонування генів в процесі онтогенезу;
- розробка та удосконалення методів і технологій культивування мікроорганізмів, окремих клітин і тканин;
- розробка і розвиток методів генної та клітинної інженерії.

## **2. Історія розвитку вчення про процеси і апарати.**

Основи вчення про “Об’єкти біотехнологічних виробництв” заклались здавна, відтоді, як люди почали використовувати різноманітні процеси для виробництва різних продуктів харчування (виноробство, випікання хліба, одержання кисломолочних продуктів, квашеної капусти, медових алкогольних напоїв, силосування кормів тощо).

Значного розвитку вчення про процеси і апарати набуло після досліджень Луї Пастера (1822 – 1895) – основоположника наукової мікробіології. Він розкрив мікробну природу бродіння і запропонував метод стерилізації, що названий на його честь (пастеризація). Це відкриття дало поштовх для інтенсивного впровадження у виробництво герметичного обладнання, яке забезпечувало протікання процесів в стерильних умовах. Особливо потужний поштовх у розвитку промислового біотехнологічного обладнання був відмічений у період становлення виробництва антибіотиків (період Другої Світової Війни 1939 – 1945 рр., коли виникла гостра потреба у протимікробних препаратах для лікування хворих з інфікованими ранами). У цей час були вирішені основні завдання з конструювання, створення і впровадження у практику біореакторів, які використовуються й сьогодні.

Після появи фундаментальної праці Ф.Кріка і Дж. Уотсона у 1953 р. про встановлення структури ДНК та з’ясування механізмів його функціонування привело до формування нового наукового підходу до розробки біотехнологічних процесів на основі генно-інженерних робіт. У цей період були одержані суперпродуценти антибіотиків, ферментів, амінокислот, вітамінів; розроблена і впроваджена в практику спеціальна апаратура, здійснена автоматизація і комп’ютеризація біотехнологічних процесів.

Вчення про “Об’єкти біотехнологічних виробництв“, як окремих курс, вперше виокремилось із хімічної технології і було сформульовано професором Петербурзького технологічного інституту А.К.Крупським (дев’яності роки XIX століття), після чого цей курс набув інтенсивного розвитку, завдяки працям професора Московського вищого технічного училища І.А.Тищенко (на початку XX ст.). Ідеї загального апаратного курсу А.К.Крупський виклав у своїй праці “Окремі розділи про прийоми та знаряддя хімічного заводського господарства”, що вийшла 1885 року. Під такою назвою і читався цей курс в деяких навчальних закладах до 1912 р. В 1912 р. професор І.А.Тищенко змінив його назву на “Процеси та апарати хімічної технології“ і викладав цей предмет у Московському технічному училищі. В 1913 р. І.А.Тищенко видав перший друкований підручник по цьому курсу.

В результаті успішної педагогічної діяльності, з глибокою різнобічною науково-педагогічною роботою у вищих учбових закладах Радянського союзу сформувались такі школи: професора А.Г.Касаткіна, професора А.К.Плановського, чл.-кор. АН СРСР П.Г.Романкова, які по-різному підходять до методичної побудови курсу і визначенню його обсягу.

Отже, в історії розвитку вчення про біотехнологічні процеси і апарати можна виділити такі етапи:

1. Початковий (від початку виробництва людьми продуктів біотехнологічних перетворень до другої половини XIX ст. – досліджень Пастера).
2. Етап «пастеризації» (від другої половини XIX ст. до 1939 р. – початку Другої Світової Війни).
3. Етап «пеніциліну» (від 1939 р. до 1953 р. – відкриття Кріка).
4. Сучасний етап «генної інженерії» (від 1953 р. до сьогодні).

### **3. Структура курсу і загальне поняття про процеси у біотехнології.**

Сучасний курс “Об’єкти біотехнологічних виробництв“ є широкопрофільною дисципліною і складається з 3 модулів. Перший модуль присвячений вивченню процесів і апаратів у мікробіологічному виробництві, другий – у харчовій промисловості, а третій – у біотехнології виробництва біопалива. Усі модульні теми ґрунтуються на 5 типах процесів.

- гідродинамічні процеси переміщення рідин та газів, перемішування в рідинних (тістоподібних) та газових середовищах,

розділення рідинних та газових неоднорідних систем (відстоювання, фільтрування, електроочищення, центрифугування);

- теплові процеси теплопередачі, процеси нагрівання, охолодження, конденсації, розплавлення, випарювання та інші;
- масообмінні процеси – абсорбція, адсорбція, дистиляція, ректифікація, екстракція, сушка, кристалізація;
- механічні процеси – роздроблювання, перемішування, дозування та переміщення твердих матеріалів;
- холодильні процеси – помірне та глибоке охолодження.

За способом організації процеси бувають періодичні, безперервні та комбіновані. *Періодичні процеси* характеризуються одним місцем протікання їхніх окремих стадій, але різними часовими інтервалами, тобто окремі стадії процесів або операції виконуються в одному місці (апарата, машини) але в різний час. Недолік періодичних процесів полягає у їхній громіздкості, малій продуктивності, великій затраті часу, енергії та продукту. Виробничий цикл періодичних процесів складається з таких етапів: завантаження - пуск - процес - зупинка - вивантаження.

Безперервні процеси характеризуються спільністю часу протікання їхніх окремих етапів, але в різних місцях (апарату, машини), загрузка та вигрузка у них безперервні. Перевагами безперервних процесів є те, що вони вигідніші, легше контролюються і забезпечують вищу якість продукції; можливість застосування механізації та автоматизації.

Комбіновані процеси – це безперервні процеси, окремі стадії яких проводяться періодично; або це такі процеси, в яких одна або більше стадій безперервні.

Вибір процесу визначається в кожному конкретному випадку в залежності від об'єму виробництва та досконалості його технології.

Біотехнологічні процеси можуть бути засновані на періодичному або безперервному культивуванні. Періодичне культивування подібне до загальноприйнятого проведення польових сільськогосподарських робіт, що починаються весняним засівом полів і закінчуються збором врожаю, в той час як безперервне культивування нагадує ріст рослин в оранжереї, коли вегетація і плодоношення тривають необмежено довго в будь-який час року.

Періодичне культивування відбувається у такій послідовності:

- а) стерилізація середовищ, біореактора і допоміжного устаткування;
- б) завантаження апарату поживним середовищем;
- в) внесення посівного матеріалу (клітин чи спор);

г) зростання культури, який може збігатися у часі з наступним етапом або передувати йому;

д) синтез цільового продукту;

е) відділення та очищення готового продукту, очищення біореактора і його підготовка до нового циклу.

У свою чергу етап зростання культури включає:

а) лаг-фазу – порівняно повільне зростання внесеної культури, що освоює нове середовище зростання всередині біореактора;

б) експонентну фазу – інтенсивний поділ клітин, збалансований ріст культури;

в) фазу уповільнення зростання, пов'язаного з вичерпанням поживного субстрату і накопиченням токсичних продуктів метаболізму;

г) стаціонарну фазу – приріст клітин дорівнює їхньому відмиранню;

д) фазу відмирання – поступове зниження кількості життєздатних клітин.

Невід'ємною частиною вчення про процеси і апарати в біотехнології є інженерна ензимологія, що займається розробкою методів штучного отримання ферментів, які каталізують різноманітні біохімічні перетворення. Досягнення у цій сфері дозволяють спрямовано модифікувати білки різного ступеню складності та специфічності і створювати потужні каталізатори промислово цінних реакцій за допомогою високо стабілізованих іммобілізованих ферментів.

Багато біотехнологічних процесів мають три головних стрижневих компоненти:

1. Отримання найоптимальніших каталізаторів специфічних процесів.

2. Забезпечення якомога оптимальніших умов для здійснення необхідного каталітичного процесу;

3. Відділення і очищення цільового продукту або продуктів з ферментаційної суміші.

У більшості випадків найефективнішими, найстабільнішими і найзручнішими для каталізу біотехнологічних процесів є цілі організми, а не окремі їхні клітини, тому в біотехнології широко використовуються мікробіологічні процеси. Звичайно, це не виключає використання вищих організмів (зокрема, культур рослинних і тварин клітин).

Мікроорганізми володіють величезним генетичним пулом (фондом), що дозволяє їм здійснювати практично необмежену

біосинтетичну діяльність. Крім того, мікроорганізмам притаманний швидкий ріст, що набагато перевищує швидкість росту вищих організмів. Ця властивість дозволяє за короткий проміжок часу здійснити синтез великих об'ємів необхідного продукту в контрольованих умовах.

Суттєвою складовою першого компонента біотехнологічного виробництва є селекція та поліпшення його об'єкта за допомогою різних генетичних методів, а останнім часом також і з використанням високоефективних прийомів молекулярної біології, які здатні забезпечити конструювання організмів з новими біохімічними можливостями.

Другий компонент біотехнологічного виробництва пов'язаний з виготовленням систем, що забезпечують оптимальне функціонування організмів-продуцентів або чистих ферментів. На цьому етапі важливим є знання хімічної природи процесів, що протікають, а також добір інженерного забезпечення, конструювання та виготовлення систем, які б забезпечували їхнє протікання.

Третій компонент, а саме виділення та очищення цільового продукту, є найскладнішим і найдорожчим етапом біотехнологічного процесу та може істотно збільшувати вартість всього процесу (до 70 % вартості готового комерційного препарату).

Багатоетапність біотехнологічних процесів визначає необхідність залучення до їхнього здійснення фахівців різних галузей: генетиків і молекулярних біологів, біохіміків, вірусологів, мікробіологів і клітинних фізіологів, інженерів-технологів, конструкторів біотехнологічного обладнання і т. п. Проте, усім їм для успішного здійснення біотехнологічних перетворень необхідні знання про особливості процесів, що протікають при цих перетвореннях і про апарати, які їх забезпечують.

### **Контрольні питання**

1. Які особливості протікання періодичного культивування мікроорганізмів?
2. Які особливості протікання безперервного культивування мікроорганізмів?
3. Які особливості протікання комбінованого культивування мікроорганізмів?
4. Назвіть послідовність етапів періодичного культивування мікроорганізмів.
5. Що таке інженерна ензимологія?

## Лекція 2. ПРИНЦИПИ ВІДБОРУ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ.

### План

1. Поняття про об'єкти біотехнологічного виробництва.
2. Селекція мікроорганізмів.

#### **1. Поняття про об'єкти біотехнологічного виробництва**

Перш ніж обирати необхідні для того чи іншого біотехнологічного виробництва апарати, що забезпечуватимуть протікання конкретних процесів, біотехнолог мусить визначитись із певними організмами чи субстратами, що стануть об'єктами цього виробництва. Головною ланкою біотехнологічного процесу, що визначає його суть, здатний забезпечити необхідну його модифікацію для отримання необхідної сировини є його об'єкт. Об'єктами біотехнологічного виробництва можуть бути клітини мікроорганізмів, тварин чи рослин, трансгенні тварини чи рослини, а також багатофакторні системи клітин та окремі ферменти.

Основою більшості сучасних біотехнологічних виробництв є мікробний синтез, тобто синтез біологічно активних речовин за допомогою мікроорганізмів. На відміну від мікроорганізмів, об'єкти тваринного та рослинного походження, через низку причин, не набули такого широкого застосування в біотехнології. Та не залежно від природи об'єкта, першим етапом розробки будь-якого біотехнологічного процесу є одержання чистої культури організмів (якщо це мікроби) або клітин чи тканин (якщо це багатоклітинні організми). Усі наступні етапи подальших маніпуляцій з об'єктами тваринного або рослинного походження, по суті є аналогічними принципам і методам, що використовується в мікробіологічних виробництвах. Тобто з методичної точки зору, культивування тканин рослин чи тварин практично не відрізняється від культивування мікроорганізмів. Тому особливості об'єктів біотехнології розглянемо на прикладі мікробіологічного виробництва.

На сьогодні описано понад 100 тисяч видів різних мікроорганізмів. Загалом, термін «мікроорганізми» не є систематичним і об'єднує багато різних груп організмів. До них належать прокаріоти (бактерії, актиноміцети, рикетсії (*грам-негативні бактерії*), ціанобактерії) та еукаріоти (дріжджі, нитчасті гриби, окремі найпростіші та водорості). При такому широкому асортименті об'єктів, правильний вибір того з них, що здатен забезпечити отримання потрібного продукту, часто стає складною проблемою. Тому біотехнологами прийнято усі мікроорганізми за їхнім застосуванням у виробництві поділяти на дві групи:

- промислові;
- непромислові.

До промислових належить група добре вивчених мікроорганізмів, що слугують об'єктами для дослідження фундаментальних біологічних процесів, це такі як кишкова паличка (*Escherichia coli*), сінна паличка (*Bacillus subtilis*) та пекарські дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*). До непромислових – усі інші, що не вивчались взагалі або слабо вивчались генетиками чи молекулярними біологами.

У багатьох біотехнологічних процесах використовується обмежена кількість мікроорганізмів, що позиціонуються як GRAS (generally recognized as safe), тобто визнані безпечними. До них належать *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, деякі інші види бацил і лактобацил, види роду *Streptomyces*; також окремі гриби – представники родів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* та дріжджі – види *Saccharomyces*. GRAS-організми є непатогенними, нетоксичними, і в основному не продукують антибіотиків, тому при розробці нового біотехнологічного процесу слід орієнтуватись на мікроорганізми з цієї групи, як базові об'єкти.

На сьогодні мікробіологія користується тисячами штамів із сотень видів мікроорганізмів, що первинно були виділеними з природного середовища на основі їхніх корисних якостей, а потім покращені за допомогою різних методів селекції.

Найкраще, звичайно, підбирати необхідних продуцентів з колекцій уже відомих і добре вивчених штамів, що дозволяє елімінувати необхідність виконання низки складних і трудомістких операцій.

Проте не завжди існуючі вже штами мікроорганізмів володіють необхідними для потрібного біотехнологічного виробництва якостями. Тому часто приходиться вдаватися до класичних методів виділення мікроорганізмів з природи. Для цього з середовища існування потенційного продуцента беруть проби матеріалу і здійснюють посів в елективне середовище, що забезпечує розвиток потрібного мікроорганізму, тобто отримують так звані накопичувальні культури. Наступним етапом є виділення чистої культури з подальшим диференційно-діагностичним вивченням ізольованого мікроорганізму з метою ідентифікації його продукційної здатності.

Основним критерієм відбору мікроорганізмів є, безумовно, їхня здатність синтезувати необхідний продукт. Проте обираючи об'єкт

біотехнологічного виробництва керуватись потрібно ще й іншими критеріями:

- висока швидкість росту;
- вартість субстратів, на яких розвивається штам;
- висока конкурентна здатність (резистентність до адвентивної мікрофлори).

Усі ці особливості забезпечують зниження затрат на отримання цільового продукту, а отже і його вартість.

Найпоширеніші на сьогодні об'єкти біотехнологічних виробництв можна об'єднати в такі групи:

1. Оліготрофи – організми, які розвиваються дуже повільно, але здатні синтезувати, хоча і в незначній кількості, проте дуже цінні речовини.
2. Фотосинтезуючі мікроорганізми – ціанобактерії та фотосинтезуючі еукаріоти, вони є перспективними продуцентами аміаку, водню, білку та низки інших органічних речовин. Обмежує використання організмів з цієї групи в біотехнологічному виробництві відсутність достатніх даних про їхню генетичну організацію та молекулярно-біологічні особливості життєдіяльності.
3. Термофільні мікроорганізми – зростають за умов підвищеної температури (60 – 80 °С). Ця їхня здатність є практично нездоланим бар'єром для розвитку адвентивної мікрофлори за умов відносно нестерильного культивування, що знижує собівартість цільових продуктів. До цієї групи належать продуценти спиртів, амінокислот, ферментів, молекулярного водню. Крім того, швидкість росту термофілів, а також їхня метаболічна активність у 1,5 – 2 рази перевищує ці показники у мезофілів.

## **2. Селекція мікроорганізмів.**

Для отримання високопродуктивних штамів мікроорганізмів зазвичай вдаються до селекції.

*Селекція* (від лат. Selectio – вибір, добір) – сукупність методів створення штамів мікроорганізмів з потрібними людині якостями на основі їхнього відбору.

Сьогодні частіше за класичні селекційні методи відбору і подальшого культивування найпродуктивніших штамів, отриманих з чистих культур, користуються методами створення цих штамів, що ґрунтуються на генній інженерії. Ці методи застосовують на кожному етапі селекції *для штучного конструювання геномів* майбутнього



високопродуктивного штаму. Також високоефективним є *відбір штамів, що характеризуються виникненням спонтанних мутацій*, а саме тих, які підвищують продукційну здатність штаму.

Процес селекції найактивніших продуцентів значно пришвидшується з використанням методу індукованого мутагенезу. Як *мутагени*, часто застосовують опромінення ультрафіолетовими, рентгенівськими та гама-променями, обробку хімічними препаратами тощо. Недоліком цього методу є трудомісткість, а також відсутність даних про характер змін, оскільки експериментатор веде відбір за кінцевим результатом.

Селекція мікроорганізмів для біотехнологічних виробництв для створення нових штамів пов'язана зі зміною регуляційних процесів у клітині. Як відомо, змінити швидкість протікання біохімічних реакцій можна двома способами. Перший, дуже швидкий (реалізується впродовж кількох секунд чи хвилин), ґрунтується на *зміні каталітичної активності молекул ферментів*. Другий, повільніший, полягає у *зміні швидкості синтезу ферментів*. В обох випадках використовується принцип зворотного зв'язку.

Існують й *інші* механізми регуляції активності метаболізму клітини. Найпростіший з них ґрунтується на регулюванні кількості доступного для культур субстрату або наявності ферменту. Збільшення концентрації ферментів може досягатись ампліфікацією генів (методом збільшення кількості необхідних фрагментів ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) або молекулярного клонування), що контролюють їхній синтез.

Найпоширенішим способом регуляції активності метаболічних реакцій в клітині є ретроінгібування, що ґрунтується на *інгібуючій дії кінцевого продукту на активність ферменту, що каталізує його синтез*. (кінцевий продукт є інгібітором власного синтезу) В основі цього процесу лежить метаболіт (кінцевий продукт синтезу), який є *інгібітором*, що здатний зв'язуватись із специфічною ділянкою молекули фермента, яка володіє високим ступенем спорідненості до цього інгібітора і відмінною від *активного центру* фермента. Ця ділянка називається *алостеричним центром*, а ферменти, що містять такі ділянки – *алостеричними ферментами*. При взаємодії такого фермента з інгібітором, змінюється конформація його молекули, від чого активний центр також змінюється і молекула втрачає свою каталітичну здатність. *Для елімінування ретроінгібування з метою безперешкодного та постійного отримання цільового продукту застосовують мутаційну зміну алостеричного центру молекули фермента, що робить її нечутливою до інгібуючої дії метаболіта*.

Знаючи механізм регуляції синтезу цільового продукту можна сконструювати його активнішого продуцента. Для відбору таких продуцентів використовують структурні аналоги метаболітів, по відношенню до яких і відбирають стійкі варіанти.

Якщо ж необхідно отримати накопичення якогось проміжного продукту біосинтетичного шляху, то слід отримати мутований штам у якого увесь цикл наступних після синтезу цього продукту реакцій буде заблокований мутацією. Але такий штам буде залежним від наявності в середовищі тієї речовини, синтез якої перерваний на етапі утворення цільового продукту, а отже для підтримання життєдіяльності штаму необхідним стає внесення цієї речовини у середовище.

Усім клітинам, що ростуть і розвиваються, характерна наявність двох типів ферментів, а саме:

- *конститутивних* – що синтезуються клітинами постійно і незалежно від складу середовища;
- *адаптивних (індуцибельних)* – що синтезуються лише тоді, коли в середовищі з'являється необхідний субстрат.

Активність ферментів другої групи регулюється надходженням субстрату, перетворення якого вони каталізують. При збільшенні концентрації певного субстрату в середовищі, підвищується активність відповідного ферменту. Це явище називається індукцією фермента. Добрими індукторами виступають неутілізовані аналоги субстратів. З іншої сторони, не завжди субстрат є індуктором синтезу відповідного ферменту. В такому випадку синтез ферментів регулюється генетично. Механізм генетичної регуляції процесу індукції ферментів отримав назву «модель оперона». Згідно цієї моделі, система регуляції складається з 4 компонентів: структурних генів, гена-регулятора, оператора і промотора. Ген-регулятор кодує білок-репресор, який здатний зв'язуватись з оператором, котрий, в свою чергу, контролює функціонування структурних генів, що прилягають до нього. Промотор – це ділянка ДНК, здатна зв'язуватись з ферментом транскрипції РНК-полімеразою і тому коли білок-репресор зв'язаний з оператором, то РНК-полімераза не може переміститись на промотор і тому синтез інформаційної РНК, що каталізується цим ферментом, не може відбуватись. Таким чином, безперешкодний синтез ферменту, що регулюється таким генетичним механізмом, потребує викликання мутацій, які б вивели з ладу синтез повноцінного репресора, або порушили здатність оператора зв'язуватись з цим білком. В обох випадках, потреба в індукторі синтезу і-РНК, а отже й відповідних ферментів, відпадає. Такі мутації

(і мутанти, яким вони характерні) називаються конститутивні, адже в них синтез цих ферментів відбувається постійно. Отримання конститутивних мутантів відіграє важливу роль у селекції високопродуктивних мікроорганізмів.

Також перспективним напрямком в селекції мікроорганізмів є застосування генної інженерії, методи якої дозволяють замінювати регуляційні ділянки оперонів на значно ефективніші промотори, що підвищать синтез клітинами цільових продуктів.

### Контрольні питання

1. Які два типи ферментів характерні для культур клітин, що ростуть і розвиваються?
2. Що таке конститутивні ферменти? Опишіть їхні властивості.
3. Що таке індукцйбельні ферменти? Опишіть їхні властивості.
4. Що таке ретроінгібування і де воно використовується?
5. На чому ґрунтується принцип зворотного зв'язку у регуляції процесів у клітині?

## Лекція 3. СИНТЕЗ БІЛКА І ФЕРМЕНТАТИВНИЙ КАТАЛІЗ

### План

1. Білки. Їхня будова, структура та синтез.
2. Ферменти. Класифікація ферментів.
3. Ферментативний каталіз.
4. Регуляція матричних синтезів.

### **1. Білки. Їхня будова, структура та синтез.**

Серед органічних речовин у клітині найбільшу частину становлять білки – 10-20% сирової маси або 50-80% сухого залишку. Білки – це біополімери, мономерами яких є амінокислоти. Існує 20 амінокислот, що входять до складу білків. Амінокислоти мають дві функціональні групи – карбоксильну (-COOH) та аміногрупу (-NH<sub>2</sub>). Амінокислоти з'єднуються в білкові молекули за допомогою пептидних зв'язків.

За хімічною будовою білки є поліпептидами. Внаслідок взаємодії функціональних груп поліпептиду між собою і навколишнім середовищем він набуває специфічної конфігурації. Тільки у цій формі він є біологічно активним. Для спрощення опису просторової форми білкових молекул користуються поняттям про рівні структурної організації.

Існують такі рівні структурної організації білків:

- I. Первинний – послідовність кислотних залишків у поліпептидному ланцюзі.
- II. Вторинний – просторове розміщення поліпептидного ланцюга у вигляді спіралі.
- III. Третинний – просторове розміщення вторинної структури білкової молекули у вигляді клубків певної форми – глобул.
- IV. Четвертинний – об'єднання кількох поліпептидних ланцюгів з утворенням надмолекулярного комплексу. Білки з такою структурою просторової організації називаються олігомерами.

Кожен білок володіє унікальною природною конформацією своєї молекули, що надає йому певних властивостей. Порушення такої конформації білкових молекул призводить до втрати їхньої функціональної активності і називається денатурацією. Денатурацію білків може спричинити підвищення чи зниження температури та зміна значення рН середовища. Так, більшість білків втрачають свою конформацію при температурі +50–60°C та –25°C, а при екстремальних значеннях рН вони денатурують внаслідок зміни заряду функціональних груп. Також денатуруючи дію на білки мають деякі речовини, що утворюють з ними солі (трихлороцтова та хлорна кислоти, катіони важких металів – Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> тощо).

При денатурації первинна структура білків не порушується і в деяких випадках денатурований білок відтворює свою природну конформацію, тобто відбувається ренатурація. Отже, денатурація білків буває *необоротна* і *оборотна*.

За будовою білки поділяють на:

1. Прості (*протеїни*) – побудовані виключно з амінокислот.
2. Складні (*протеїди*) – до складу яких, крім білкової частини, входить ще й небілкова – простетична група.
  - a. Глікопротеїди – небілкова частина представлена вуглеводами.
  - b. Ліпопротеїди – ліпідами.
  - c. Хромопротеїди – іонами металів.
  - d. Нуклеопротеїди – нуклеїновими кислотами.
  - e. Фосфопротеїди – залишком фосфорної кислоти.

За фізичними та хімічними властивостями рослинні білки поділяються:

1. Альбуміни – глобулярні (кулясті) добре розчинні у воді.
2. Глобуліни – глобулярні, нерозчинні у воді.
3. Протаміни – білки ядер.
4. Гістони – білки ядер

5. Проламіни – рослинні білки, добре розчинні у спирті.

Функції білків:

1. Каталітична (ферментативний каталіз) – здатність здійснювати чи прискорювати хімічні реакції.
2. Сигнальна – фактори зовнішнього середовища викликають зворотні зміни структури і властивостей білків клітини, завдяки яким настає відповідь клітини.
3. Скоротлива – забезпечують скоротливі білки мікротрубочок і мікрофіламентів.
4. Транспортна.
5. Захисна.
6. Структурна.

**Синтез білка.**

Синтез білка проходить у процесі трансляції. Трансляція – це синтез білка на інформаційній РНК-матриці (мРНК або іРНК). Трансляція відбувається за допомогою рибосом. Рибосоми складаються з двох субодиниць – великої (коефіцієнт седиментації Сведберга 60S) та малої (40S). У неактивному стані субодиниці рибосом роз'єднані, а з'єднуються лише під час синтезу білка. В процесі об'єднання субодиниць рибосом беруть участь йони магнію  $Mg^{2+}$ . Під час трансляції в рибосомі діють 2 активних центри – аміноацильний та пептидний.

Трансляція складається з 3 етапів:

1. Ініціація – утворення комплексу мРНК з малою субодиницею рибосоми і зв'язування першої аміноацил-тРНК, комплементарної ініціюючому кодону.

Процес приєднання рибосоми до мРНК забезпечується наявністю сигнальної ділянки на мРНК, яка з'єднується з комплементарною їй послідовністю на молекулі рРНК малої субодиниці рибосоми. Утворений комплекс з'єднується з великою субодиницею рибосоми, після чого розпочинається синтез поліпептидного ланцюга. За сигнальною ділянкою на молекулі мРНК розміщений ініціюючий кодон, який першим з'єднується з амінокислотою, доставленою тРНК.

Для того, щоб амінокислота могла приєднатися до тРНК, необхідна її активація, тобто перетворення на аміноацетиладенілат. Цей процес каталізує фермент аміноацетиладенілат-синтетаза. Потім утворена сполука, під впливом того ж ферменту, взаємодіє з відповідною тРНК з утворенням комплексу аміноацил-тРНК, який транспортується до рибосоми.

2. Елонгація (подовження) – це процес наростання поліпептидного ланцюга внаслідок приєднання нових амінокислот.

Перший комплекс аміноацил-тРНК приєднанується спершу до аміноацильного центру рибосоми (А-центру), після чого рибосома, поглинаючи енергію, яка постачається внаслідок дефосфорилювання ГТФ (гуанозинтрифосфат), переміщується на один кодон уперед, а комплекс аміноацил-тРНК переходить у пептидний центр рибосоми (П-центр). До звільненого А-центру приєднується новий комплекс аміноацил-тРНК, комплементарний кодону на мРНК. Між амінокислотами першого і другого комплексів виникає пептидний зв'язок, внаслідок чого амінокислота першого комплексу приєднується до амінокислоти другого, а перша тРНК від'єднується від рибосоми, звільняючи її П-центр. Після цього рибосома, отримуючи енергію ГТФ, знову переміщується на один кодон уперед, а комплекс аміноацил-тРНК, що складається з тРНК і двох амінокислот, з А-центру переходить на П-центр. До А-центру приєднується новий комплекс аміноацил-тРНК і процес повторюється. Процес пересування рибосоми по матричній РНК називається транслокацією.

3. Термінація – закінчення зчитування матриці мРНК і звільнення поліпептидного ланцюга.

Сигналом термінації служить беззмистовний кодон в послідовності мРНК, дійшовши до якого рибосома розпадається на субодиниці, а поліпептидний ланцюг звільняється.

## **2. Ферменти. Класифікація ферментів.**

У рослин переважна більшість реакцій відбувається за участю ферментів (або ензимів) – біологічних каталізаторів білкової природи.

Ферменти можуть бути простими білками (гідролази), або складатись з двох компонентів – білкового (апофермент) та небілкового (кофактор). Кофактори бувають простими (неорганічної природи – йони металів, наприклад  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  тощо) або складними (органічної природи), що називаються коферментами. Коферменти часто представлені вітамінами групи В. Кофактор і апофермент можуть бути міцно зв'язаними між собою, або легко відокремлюватись й існувати самостійно. Кофактор, який міцно зв'язаний з апоферментом називається простетичною групою.

### **Класифікація ферментів.**

Ферменти класифікують за характером перетворення ними субстратів. Комісією з ферментів Міжнародного біохімічного союзу (1961 р.) було розроблено таку класифікацію ферментів, що поділяє їх

на 6 класів за типом реакцій, які вони каталізують; ці класи, в свою чергу ділять на підкласи диференціюючи їх за типом субстратом, що перетворюється; а підкласи розділяють на під підкласи, що відрізняються коферментами або акцепторами груп. Класи ферментів:

- I. Оксидоредуктази – окисно-відновні реакції та процеси біологічного окиснення.
- II. Трансферази – реакції перенесення функціональних груп.
- III. Гідролази – реакції гідролізу.
- IV. Ліази – реакції по місцю подвійного зв'язку без участі води.
- V. Ізомерази – реакції ізомеризації.
- VI. Лігази – (реакції «зшивання») синтез біополімерів з активованих попередників.

### **3. Ферментативний каталіз.**

Ферменти – це глобулярні білки. Взаємодія між субстратом і ферментом під час каталізу відбувається в певній ділянці молекули – активному центрі. Ферментативний каталіз відбувається у кілька стадій:

1. На першій стадії фермент зв'язується з субстратом в активному центрі утворюючи фермент-субстратний комплекс.
2. На другій відбувається активація субстрату у складі цього комплексу. Сучасна модель відповідності субстрату і ферменту (модель “руки і рукавички”) пояснює протікання процесу активації фермент-субстратного комплексу так: фермент, зв'язаний з субстратом, деформується і пристосовується до нього, як рукавичка до руки. Внаслідок цього виникає індукована цим пристосуванням напруженість фермента, що передається субстратові викликаючи його активацію.
3. На третій активований субстрат в складі комплексу перетворюється на продукт.
4. На четвертій стадії продукти реакції вивільняються, а фермент може здійснювати новий цикл перетворень.

### **4. Регуляція матричних синтезів**

Активність синтезу білка регулюється двома взаємопротилежними процесами – репресією (пригніченням) та індукцією (активацією). Явища індукції і репресії білкового синтезу пояснюються моделлю оперона.

Оперон – це група генів, яка складається з таких компонентів: структурних генів, гена-регулятора та контрольної ділянки – оператора і промотора. Ген-регулятор кодує білок-репресор, який здатний перебувати у двох формах – активній і неактивній. В активній формі білок-репресор може зв'язуватися з оператором, котрий, в свою чергу, контролює функціонування структурних генів, що прилягають до нього. Структурні гени несуть інформацію про один чи кілька функціонально пов'язаних між собою білків-ферментів. Промотор – це ділянка ДНК, здатна зв'язуватись з ферментом транскрипції РНК-полімеразою і з якого вона розпочинає транскрипцію структурних генів синтезуючи мРНК відповідного ферменту. Але коли білок-репресор зв'язаний з оператором, то РНК-полімераза не може переміститись на промотор і тому синтез інформаційної РНК, що каталізується цим ферментом, не може відбутись.

Для того, щоб білок-репресор від'єднався від оператора і звільнив таким чином доступ РНК-полімеразі до промотора, потрібно щоб цей білок-репресор перейшов у неактивну форму. Ця форма утворюється при зв'язуванні білка-репресора зі специфічною молекулою, що називається індуктором. Часто індуктором виступає субстрат, який перетворюється закодованими в структурних генах ферментами. При появі індуктора, він зв'язується з білком-репресором утворюючи індуктор-репресорний комплекс і контрольна ділянка структурних генів вивільняється. РНК-полімераза поступає на промотор і відбувається синтез мРНК, яка, з'єднуючись з рибосомами, виконує синтез відповідних ферментів. Після перетворення усього субстрату, що є індуктором ферментного синтезу, білок-репресор знову повертається в активну форму й блокує промотор зв'язуючись з оператором.

Регуляція ферментативних синтезів може також здійснюватись шляхом блокування активності ферменту кінцевими продуктами тих реакцій, які він каталізує, тобто кінцевий продукт є інгібітором власного синтезу. Це явище отримало назву ретроінгібування. В основі цього процесу лежить метаболіт (кінцевий продукт синтезу), який є *інгібітором*, що здатний зв'язуватись із специфічною ділянкою молекули фермента, яка володіє високим ступенем спорідненості до цього інгібітора і відмінною від *активного центру* фермента. Ця ділянка називається *алостеричним центром*, а ферменти, що містять такі ділянки – *алостеричними ферментами*. При взаємодії такого ферменту з інгібітором, змінюється конформація його молекули, від чого активний центр також змінюється і молекула втрачає свою каталітичну здатність. Для *елімінування ретроінгібування з метою*



*безперешкодного та постійного отримання цільового продукту застосовують мутаційну зміну алостеричного центру молекули ферменту, що робить її нечутливою до інгібуючої дії метаболіту.*

### **Контрольні питання**

1. Охарактеризуйте особливості структури білкових молекул.
2. Як забезпечується регуляція матричних синтезів?
3. Що таке ретроінгібування? Яка його дія?
4. У які етапи протікає ферментативний каталіз?

### **Лекція 4. КУЛЬТИВУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ.**

#### **План**

1. Субстрати для культивування біологічних об'єктів.
2. Сировина природного походження.
3. Біотехнологічна утилізація відходів.
4. Середовища для культивування біотехнологічних об'єктів.

Безумовно, що головною задачею біотехнології є *повсякчасна інтенсифікація виробничих процесів, яка досягається, з одного боку, залученням нових високоефективних біологічних об'єктів (продуцентів), а з іншого – широким застосуванням ефективних технологічних прийомів, що, в свою чергу, базуються на тих чи інших процесах і потребують застосування спеціальних апаратів.* Ця мета ставить перед біотехнологами низку завдань:

1. Підбір найбільш рентабельної сировини (субстрату для вирощування продуцента).
2. Розробка найефективнішої конструкції біореактора.
3. Оптимізація умов культивування продуцента.
4. Забезпечення ефективного контролю за самим технологічним процесом.
5. Вдосконалення способів виділення та очищення цільового продукту.

#### **1. Субстрати для культивування біологічних об'єктів.**

Поживні середовища для культивування біологічних об'єктів (а саме продуцентів тих чи інших цільових речовин), поділяються на три основні типи:

1. Невизначеного складу.
2. Чітко встановленого складу.

3. Напіввстановленого складу (містять певні біогенні добавки – рослинного, тваринного або мікробного походження: м'ясний екстракт, кукурудзяну муку, морські водорості тощо).

Окрім біогенних, застосовуються також і середовища, що містять виключно хімічні сполуки в певних пропорціях. Такі середовища називають синтетичними. Компонентний склад та його пропорції в синтетичних середовищах визначаються потребами продуцента. За типом живлення, усі біологічні об'єкти біотехнологічного виробництва поділяють на:

1. Органоавтотрофи – органічні речовини, які вони споживають з середовища, слугують їм *джерелом енергії*.
2. Літогетеротрофи – органічні речовини, які вони споживають з середовища, слугують їм *джерелом вуглецю*.
3. Органогетеротрофи – органічні речовини, які вони споживають з середовища, слугують їм *джерелом енергії та вуглецю*.

Живильні середовища повинні забезпечувати не лише життєздатність, ріст і розвиток відповідних продуцентів, а й підтримувати синтез цільового продукту на максимально продуктивному рівні. Для виготовлення поживних середовищ у біотехнології використовують різноманітні субстрати, проте усі вони повинні відповідати певним критеріям. Субстрат – це перш за все *джерело цільового продукту і тому він повинен бути недефіцитним, дешевим і якомога легше доступним*. Таким вимогам, у першу чергу, відповідає рослинна і дещо в меншій мірі тваринна біомаса.

Біомаса – це *джерело вуглецю у біотехнологічному виробництві*. Прикладом її застосування є виробництво алкоголю з зерна і сиру з молока. Рослинна біомаса розглядається як практично невичерпний, відновлювальний ресурс. Первинна продукція фотосинтезу (ріст рослин за рахунок акумуляції вуглецю з вуглекислого газу з використанням енергії сонячних променів), на Землі становить  $2 \times 10^{11}$  тон сухої речовини (біомаси) на рік. Продукція ж сільського господарства становить всього 6 %, на долю якої припадає виробництво основної частини їжі для людей і тварин, а також велика кількість сировини для текстильної, паперової та ін. галузей промисловості. Використання енергії біологічних відходів промисловості має дві позитивні сторони: по-перше, це *економічно вигідна утилізація цих відходів*, а по-друге, це *підвищення економічного ефекту виробництва внаслідок повного використання сировини*. Загалом, значна частина традиційних продуктів сільського господарства може отримуватись шляхом застосування

біотехнологічного виробництва ґрунованого на утилізації біомаси, яка є відходами сільського та лісового господарств.

## **2. Сировина природного походження.**

Джерелом сировини природного походження для субстратів культивування біологічних об'єктів є сільське та лісове господарство. Відходи цих господарств є складними хімічними сполуками, до складу яких входять цукри, крохмаль, целюлоза, геміцелюлоза та лігнін. Найдоступнішим джерелом поживних субстратів є сировина цукрової промисловості – цукрові буряки і цукрова тростина. Оскільки у світі складається тенденція поступової заміни традиційного цукру ефективнішими та кориснішими для здоров'я людини заміниками, то згадана сировина невдовзі стане об'єктом застосування лише біотехнології. У Бразилії розроблено технологію отримання біопалива для двигунів внутрішнього згорання з цукрової тростини.

Також цінними для біотехнології є крохмалевмісні сільськогосподарські продукти, такі як кукурудза, рис, пшениця, картопля, різні коренеплоди тощо. Одним недоліком використання крохмалю для культивування біологічних об'єктів є те, що перед його безпосереднім застосуванням, крохмаль, що за хімічною природою є полісахаридом, повинен пройти процес гідролізу й розпастися до оліго- чи моносахаридів.

Суша рослинна біомаса, яка є відходами як сільського господарства і лісової промисловості, наполовину складається з целюлози. Це один із найпоширеніших у природі полісахаридів, що є цінним джерелом вуглецю та енергії. Застосування целюлози, як і крохмалю, в біотехнологічному виробництві ускладнюється необхідністю її гідролізу до простих розчинних у воді цукрів – глюкози чи целобіози. Проте, на відміну від гідролізу крохмалю, процес розпаду целюлози є значно складнішим. Найбільшою перешкодою утилізації відходів деревини є те, що у ній целюлоза входить до складу комплексів і поєднується з геміцелюлозою і лігніном. Лігніно-целюлозні комплекси є високо стійкими до природної біодеградації, саме ця їхня властивість забезпечує довголіття деревам, тканини яких побудовані, переважно, з лігніно-целюлози. Ця речовина є найпоширенішою у світі природною відновлюваною сировиною і є практично невичерпним потенційним джерелом енергії. Але щоб зробити її доступною для мікробіологічної деградації, а застосування її економічно вигідним, потрібно подолати певні технологічні труднощі. На сьогодні процес її попередньої

переробки є надто дорогим і робить це джерело енергії нерентабельним. Чиста целюлоза легко розпадається до водорозчинних цукрів шляхом хімічного чи ферментативного гідролізу, останні ж піддаються ферментації (процесу бродіння) з утворенням етанолу, бутанолу, ацетону, метану та інших енергетичних продуктів. На Землі за рік фіксується  $3,3 \times 10^{14}$  кг вуглекислого газу і близько 6 %, а саме 22 біліона ( $10^9$ ) тон його використовується на синтез целюлози, тобто на 1 людину в рік припадає по 24 тони целюлози. Проте більша частина целюлози знаходиться у комплексі з лігніном, що вберігає її від хімічного чи ферментативного гідролізу бо перешкоджає доступу до молекул целюлози реагентів і активно адсорбує гідролітичні ферменти. Крім того, лігнін є високо стійким до хімічних і біологічних впливів, тому виступає забруднювачем навколишнього середовища і потребує утилізації при виробництві паперу.

Також поширеним джерелом вуглецю та енергії для біологічних об'єктів є компоненти нафти і природного газу. Найкращими субстратами, що одержуються з нафти, є алкани з довжиною вуглецевих ланцюгів 10 – 20 атомів. Утилізувати алкани можуть більшість бактерій, а також дріжджі.

Проте запаси нафти і природного газу є вичерпними і тому орієнтуватись на це джерело не варто. Сучасний вектор біотехнології вказує на відновлювальні джерела енергії, а саме на використання різного роду рослинної сировини – плоди, соки, бульби, трав'яна маса та деревина. Застосовуються також різноманітні відходи сільського та лісового господарств, деревопереробної, паперової та харчової промисловості. Можливість використання таких відходів у біотехнології лежить в основі безвідходних виробництв. Можливе також застосування відходів одних біотехнологічних виробництв у якості субстратів для інших. Наприклад, *на відходах мікробіологічного виробництва етанолу можна успішно культивувати дріжджі.* Або ж на фільтрах реакторів, що використовуються для отримання біомаси шляхом вирощування дріжджів на субстратах з гідролізованої рослинної сировини, можна забезпечити здійснення біосинтезу грибного білку. Також на біомасі одного мікроорганізму можна культивувати інші види організмів.

### **3. Біотехнологічна утилізація відходів.**

Одним із основних завдань біотехнології є максимальне використання величезних об'ємів органічних відходів, що повсякчасно залишаються як побічні продукти світового виробництва.

Біотехнологічна утилізація цих відходів забезпечить подвійну вигоду: по-перше, це елімінація джерел забруднення навколишнього середовища, а по-друге, це перетворення відходів виробництва в корисні цільові продукти.

Кожен тип відходів повинен бути оцінений стосовно його придатності для біотехнологічної переробки. Лише у тому випадку, якщо продукт виробляється у великих кількостях, а також впродовж тривалого терміну (при масштабному виробництві), він може розглядатись як потенційний для біотехнологічної утилізації.

Двома широко поширеними типами відходів, які знайшли застосування в біотехнологічних процесах як сировина для ферментації, є меляса (чорна патока) і молочна сироватка. Меляса – це побічний продукт, що виникає при виробництві цукру і містить до 50 % низькомолекулярних вуглеводів. Меляса широко застосовується як поживний субстрат для ферментативних процесів при виробництві антибіотиків, органічних кислот, хлібопекарських дріжджів, а також у чистому вигляді використовується як добавка до кормів для тварин. На сьогодні попит на цей тип відходів перевищує її кількість, що утворюється під час виробництва.

Молочна сироватка, що утворюється при виготовленні сиру, також може використовуватись як живильний субстрат для ферментації.

Складніші відходи рослинного походження, такі як жом (побічний продукт цукрової промисловості) та солома, що також утворюються у великій кількості, отримують повноцінне застосування лише після розробки ефективних технологій розщеплення лігніно-целюлозних сполук.

Найбільша частка усіх відходів припадає на відходи тваринництва, сільського господарства, харчової промисловості та побуту. Утилізація багатьох компонентів цих відходів, особливо тваринного походження, не створює проблем за умов ведення традиційного сільського господарства, проте при масштабному вирощуванні тварин це викликає досить значні труднощі. У таких випадках актуальним є розробка промислових технологій виробництва біогазу на основі використання тваринних відходів.

#### **4. Середовища для культивування біотехнологічних об'єктів.**

Для культивування бактеріальних біотехнологічних об'єктів у якості субстрату використовують спеціальні середовища, які готуються відповідно вимогам того чи іншого виду бактерій.

У першу чергу, бактерії потребують азоту, вуглецю та водню для побудови власних білків. Водень і кисень для клітин постачає вода. Джерелом азоту виступають численні речовини, в основному, тваринного походження (м'ясо яловиче, риба, м'ясо-кісткова мука, казеїн (фосфопротеїд, складний білок, головний білковий компонент молока)), а також білкові гідролізати, пептиди, пептони. Можна використовувати й замінники м'яса – плаценту, кров'яні згустки, дріжджі. Отже, до складу середовищ повинні бути введені джерела живильних речовин і вода, а також ростові фактори (вітаміни групи В, ферменти). Універсальним їхнім джерелом слугують екстракти з білків тваринного й рослинного походження, білкові гідролізати.

Середовища повинні бути збалансованими за мікроелементним складом і містити іони заліза, міді, марганцю, цинку, кальцію, натрію, калію, мати у своєму складі неорганічні фосфати.

Допускається застосування речовин, які усувають дію інгібіторів росту і токсинування мікробів (окремі амінокислоти, активоване вугілля тощо). Важливим є стабілізація оптимуму рН середовища, його високої буферності та рівень окисно-відновного потенціалу.

Середовища повинні мати певну в'язкість, густину, вологість (до 20 % води), бути ізотонічними, прозорими й обов'язково стерильними.

Численні потреби мікроорганізмів зумовлюють велике розмаїття поживних середовищ, а для окремих видів бактерій існують спеціальні середовища. Частину їх готують у лабораторіях безпосередньо перед посівом, але з кожним роком з'являються все нові й нові універсальні середовища заводського виготовлення (сухі). Вони зберігаються тривалий час, мають стандартний склад.

Середовища поділяються на природні й штучні. Як природні використовують згорнуту сироватку, молоко, яйця, м'язову тканину. Штучні середовища створюють шляхом комбінування різноманітних субстратів, що забезпечують ті чи інші потреби мікроорганізмів.

Залежно від своєї густини, середовища поділяються на рідкі, напіврідкі та щільні. Напіврідкі та щільні середовища готуються з рідких, додаючи відповідно 0,3-0,7 % та 1,5-2,0 % агару. Агар – це волокнистий матеріал, який добувають з морських водоростей. Складається він з полісахаридів (70-75 %), білків (2-3 %), основними складниками є високомолекулярні агароза та агаропептин. Агар розчиняється у воді при підвищеній температурі, а, застигаючи, надає середовищу драглеподібної консистенції та стійкості до ферментних систем бактерій. Саме за ці властивості він набув широкого

розповсюдження у мікробіологічній практиці. Для створення щільних середовищ використовують також желатин (10-15 %), згорнуту сироватку крові.

Виділяють п'ять основних груп середовищ:

*Перша група* – універсальні (прості) середовища. До них належать м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) та м'ясо-пептонний агар (МПА). За своїм складом, наявністю поживних речовин вони придатні для культивування багатьох видів бактерій.

*Друга група* – спеціальні середовища. Вони використовуються в тих випадках, коли мікроорганізми не ростуть на простих. До них належить кров'яний, сироватковий агари, сироватковий бульйон, асцитичний бульйон, асцит-агар та інші.

*Третя група* – елективні середовища, на яких мікроорганізми певного виду ростуть швидше, більш інтенсивно, опереджають у своєму розвитку інші види бактерій.

*Четверта група* – селективні середовища, які завдяки додаванню певних компонентів (жовч, фарби, антибіотики та ін.) здатні пригнічувати розвиток одних видів мікроорганізмів, але не впливають на інші види. Додавання антибіотиків до складу середовищ робить їх селективними для грибів.

*П'ята група* – диференціально-діагностичні середовища. Це велика група середовищ, які дозволяють визначити певні біохімічні властивості мікроорганізмів і проводити їхню диференціацію. Вони поділяються на середовища для визначення протеолітичних, пептолітичних, цукролітичних, гемолітичних, ліполітичних, редукуючих властивостей (середовища Ендо, Левіна, Плоскірева, Гісса).

### **Контрольні питання**

1. Охарактеризуйте природні і штучні середовища.
2. На які групи поділяються живильні середовища залежно від їхньої густини?
3. Опишіть проблематику переробки лігніно-целюлозних комплексів.
4. Що таке меляса і в чому її біотехнологічна цінність?
5. Що таке жом і в чому його біотехнологічна цінність?

## Лекція 5. СПЕЦІАЛІЗОВАНІ ФЕРМЕНТАТИВНІ ПРОЦЕСИ ТА ТЕХНОЛОГІЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ТВАРИННИХ КЛІТИН

### План

1. Анаеробні процеси.
2. Твердофазні процеси
3. Газофазні процеси.
4. Технологія культивування тваринних клітин.

Більшість ферментативних процесів, які протікають у біореакторах, тісно пов'язані з добре аерованими рідкими середовищами, проте сьогодні існує ціла низка систем, які ґрунтуються на застосуванні твердих субстратів за умов повної відсутності води або її незначної кількості. Також не рідко ферментаційні технології передбачають протікання біохімічних реакцій в анаеробних умовах. Прикладом таких технологій може слугувати утилізація твердих відходів.

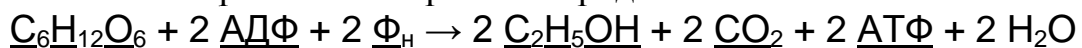
### 1. Анаеробні процеси.

До цієї групи належать усім відомі процеси бродіння, а саме: *спиртове, молочнокисле, маслянокисле та пропіоново-кисле*. Для таких процесів застосовуються біореактори, що не оснащені аераторами, але окремі анаеробні процеси потребують подачі тих чи інших газів (найчастіше водню або метану), тому такі ферментери можуть комплектуватись певними пристосуваннями для подачі газів у рідке середовище. Та не зважаючи на це, головним завданням при конструюванні реакторів для анаеробних процесів є забезпечення анаеробіозу.

Спиртове бродіння – це біохімічний ферментативний процес перетворення мікроорганізмами цукрів (глюкози і фруктози) на етиловий спирт і вуглекислий газ з виділенням енергії АТФ. Цей процес характерний для багатьох організмів, таких як гриби, водорості, найпростіші, бактерії, деякі рослини. У промислових масштабах як збудники цього процесу застосовуються дріжджі (*Saccharomyces cerevisiae*).

Спиртове бродіння здавна використовувалося людиною для хлібопекарства (спричиняє «сходження тіста») та виготовлення алкогольних напоїв. Однією із нових галузей застосування цього метаболічного шляху є виробництво етанолу як відновного і відносно недорогого біопалива.

Загальне рівняння спиртового бродіння:





Зв'язок спиртового бродіння з життєдіяльністю дріжджів було виявлено Луї Пастером у 1857 р. Важливим відкриттям також було виявлення явища т. зв. «безклітинного бродіння» – *тобто здатності «дріжджового соку», що не містить клітин дріжджів, перетворювати субстрат.* Таке відкриття навело вчених на думку, що дріжджі продукують певну активну речовину («фермент»), яка й здатна розкласти цукор. Подальшими дослідженнями було встановлено, що це не одна речовина, а комплекс ферментів.

Промислове застосування спиртового бродіння:

1. *Виробництво алкогольних напоїв.* Спиртове бродіння здавна використовується для виробництва алкогольних напоїв, таких як вино, пиво, ель. *Джерелом вуглеводів для цих процесів можуть слугувати різноманітні рослини.* Частина з них містять готові до зброджування моно- та олігосахариди: наприклад, *сахароза і фруктоза* у виноградному соку. В такому випадку ферментація може починатись без попередньої обробки. З іншого боку зернові, такі як пшениця, овес, рис тощо та інші продукти, що містять *крохмаль*, спочатку повинні пройти процес *гідролізу полісахаридів*. Продуктом гідролізу є *сусло*, яке вже містить цукри готові до зброджування.
2. *Хлібопекарство.* Дріжджі використовуються людьми для виготовлення хліба вже принаймні 4,5 тисячоліть, про що свідчать давньоєгипетські рисунки, на яких детально зображений цей процес, а також пекарня 2575 року до н. е. знайдена в районі некрополя Гізи. Оскільки під час вироблення хліба дріжджі *S. cerevisiae* вирощуються за аеробних умов, дихання переважає над спиртовим бродінням. Через це спостерігається посилене виділення вуглекислого газу та незначне утворення етанолу. Вуглекислий газ спричиняє «сходження» тіста та відповідає за легку пористу структуру хліба, а продукти бродіння надають йому характерного смаку.
3. *Виробництво біопалива.* Етанол, отриманий у процесі спиртового бродіння, може бути використаний як недороге і відновлюване джерело енергії. Як сировину для виробництва етанолового біопалива використовують рослинний матеріал, багатий на *сахарозу, крохмаль або целюлозу*: кукурудзу, пшеницю, цукровий буряк і тростину, солому, відходи деревообробної промисловості, побутові відходи рослинного походження тощо. Зазвичай сировину *хімічно обробляють з метою гідролізу полісахаридів до мономерів*, після чого до отриманої маси *додають витривалі штами дріжджів*.

4. *Виробництво гліцеролу.* Під час Другої світової війни Німеччина мала велику потребу у гліцеролі, для виготовлення вибухової речовини нітрогліцеролу. Імпорт гліцеролу був обмежений британською морською блокадою, тому здійснювались спроби налагодити власне виробництво. На той час було відомо, що гліцерол у невеликих кількостях утворюється під час спиртового бродіння за участі *S. cerevisiae*. Німецький вчений Карл Нойберг знайшов спосіб модифікувати процес таким чином, щоб вихід цієї речовини був значно вищим. Для цього він додав у середовище із дріжджами 3,5 % сульфату натрію при рН 7,0.

Молочнокисле бродіння – це процес анаеробного окислення вуглеводів, кінцевим продуктом при якому виступає молочна кислота. Збудниками цього процесу є молочнокислі бактерії (болгарська паличка (*Lactobacillus bulgaricus*), ацидофільна паличка (*Lactobacillus acidophilus*), дельбрюківська паличка (*Lactobacillus delbrii*), *Lactobacillus brevis* тощо). Також молочнокисле бродіння відбувається в тканинах тварин у відсутності кисню при великих навантаженнях.

Розрізняють 2 типи молочнокислого бродіння: гомоферментативне і гетероферментативне, що різняться продуктами, які виділяються, окрім молочної кислоти, а також їхнім співвідношенням. Бактерії, що спричиняють гомоферментативне молочнокисле бродіння утворюють переважно лише молочну кислоту, а побічних продуктів синтезується обмаль. Бактерії гетероферментативного молочнокислого бродіння разом із молочною кислотою, утворюють значну кількість інших речовин – етиловий спирт, вуглекислий газ, оцтову кислоту, ацетон, діацетил тощо.

Молочнокисле бродіння використовується для консервації продуктів харчування (за рахунок інгібування росту мікроорганізмів молочною кислотою і зниження рН) з метою тривалого збереження (приклад – квашення овочів, сирокочення), приготуванні кисломолочних продуктів (кефіру, ряжанки, йогурту, сметани), силосуванні рослинної маси, а також біотехнологічного способу виробництва молочної кислоти.

Пропіоново-кисле бродіння – це процес анаеробного перетворення вуглеводів та молочної кислоти у пропіонову та оцтову кислоту з виділенням вуглекислого газу. Збудниками цього типу бродіння є бактерії з родини *Propionibacteriaceae*. Окремі представники цих бактерій у процесі пропіоново-кислого бродіння

здатні синтезувати також і мурашину, бурштинову чи ізовалеріанову кислоти. Цей процес використовується при виготовленні швейцарських сортів сиру, а виділення різних кислот і газу його збудниками важливе для остаточного формування смаку та утворення «вічок» у цих сирах.

Маслянокисле бродіння – це процес перетворення вуглеводів у масляну кислоту, бутанол, ацетон, ізопропанол, етанол, оцтову кислоту, вуглекислий газ і водень, з виділенням енергії АТФ. Збудниками цього процесу є облигатно анаеробні бактерії з роду *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*. Маслянокисле бродіння відкрив Луї Пастер у 1861 році.

Використання маслянокислого бродіння у промислових масштабах почалось під час Першої світової війни. Британці потребували великої кількості органічних розчинників бутанолу (для виробництва штучної гуми) та ацетону (як розчинник нітроцелюлози у процесі виготовлення бездимного вибухового порошу кордиту). Ці речовини добували методом піролізу деревини, при чому на виготовлення однієї тони ацетону потрібно було витрати 80 – 100 т берези, буку або клену. У 1915 році молодий вчений Хаїм Вейцман розробив метод бродіння за допомогою бактерії *Clostridium acetobutylicum*, який дозволяв перетворювати 100 т меляси у 12 т ацетону та 24 т бутанолу. Пізніше він вдосконалив цей метод, знайшовши штам бактерій, що виділяв особливо багато потрібних розчинників. Ацетон та бутанол отримували шляхом маслянокислого бродіння до 1940 – 1950 років, коли цей метод був замінений дешевшим.

## **2. Твердофазні процеси.**

Велика кількість біотехнологічних процесів ґрунтуються на взаємодії речовин, що перебувають у трьох фазах: твердій, рідкій та газоподібній. Існують процеси, в яких роль рідкої фази мінімізована і полягає лише у зволоженні твердих поверхонь або повітря чи іншого газу. В залежності від переважаючої фази, в якій перебувають субстрати, що перетворюються, процеси та апарати, які забезпечують їхнє протікання, поділяються на *твердофазні* та *газофазні*.

Твердофазні процеси застосовують, як правило, для перетворення рослинної сировини, а як організми-трансформатори (продуценти цільового продукту) використовують гриби, дріжджі чи їхні комбінації. Розрізняють три типи твердофазних процесів:

1. Поверхневі – шар субстрату не перевищує 3 – 7 см («тонкий шар»). Як біореактори для протікання таких процесів застосовують великі (площею до кількох метрів квадратних) піддони або культуральні камери.
2. Глибинні – протікають в потужному шарі субстрату, який не перемішується («високий шар»). Як біореактори для протікання таких процесів застосовують глибокі відкриті посудини. Для аеробних твердофазних процесів розроблені пристосування, що забезпечують дифузний та конвекційний газообмін.
3. Процеси з перемішуванням – протікають у масі субстрату, яка перемішується і аерується. Субстрат може бути гомогенним (напіврідкої консистенції) або містити певну кількість твердих частинок, що знаходяться у зваженому стані в рідині (перехідний варіант від твердофазних до рідкофазних процесів). Для забезпечення протікання процесів з перемішуванням використовують біореактори з повільним перемішуванням.

Твердофазні процеси, стосовно рідкофазних, мають певні переваги:

- 1) вони потребують менше затрат на оснащення та дешевші в забезпеченні;
- 2) з таких субстратів легше виділяти та очищати цільовий продукт;
- 3) низький вміст води запобігає зараженню культури продуцента шкідливою мікрофлорою;
- 4) твердофазні процеси не вимагають очищення великої кількості стічної води, що зливається в навколишнє середовище.

Проте, існує також низка проблем, пов'язана з використанням твердофазних процесів. Однією з них є те, що внаслідок відсутності хорошого перемішування субстрату, продуцент часто виростає на ньому у вигляді окремих колоній, які повільно поширюються і поступово розростаються на поверхні субстрату. При цьому виникає локальна нестача поживних речовин, у той час як частина субстрату взагалі не використовується продуцентом. До інших проблем слід віднести недостатньо ефективний контроль за аерацією та деякі інші.

### **3. Газофазні процеси.**

Процеси цього типу здійснюються в апаратах, заповнених твердим наповнювачем, крізь який пропускають газ. У таких апаратах отримують спирт на основі дріжджів, а також їхню біомасу. Це відбувається таким чином. Дрібні агрегати клітин дріжджів, що попередньо були оброблені концентрованим поживним середовищем, «парять» під струменем газу, що подається під великим тиском через

сопло в днищі реактора. До складу газу, який виходить з апарату, входять продукти життєдіяльності дріжджів, в тому числі і спирт, які потім конденсуються у холодильнику. Цей процес може протікати як в анаеробних, так і в аеробних умовах, залежно від складу газу, що використовується.

#### **4. Технологія культивування тваринних клітин.**

Тваринні клітини здатні рости у вигляді суспензій, або кріпитись до щільних поверхонь. Такі клітини, як HeLa (клітини пухлин людини) можуть рости в будь-якому стані, клітини лімфобластів ростуть у суспензійних культурах, а інші диплоїдні тваринні клітини здатні рости лише будучи прикріпленими до твердої поверхні.

Продуктивність моношарового культивування тваринних клітин, головним чином, визначається доступністю поверхні для прикріплення цих клітин. Оскільки така особливість є лімітуючим фактором продуктивності культивування тваринних клітин, тому багато сучасних конструкторських розробок спрямовані на створення методів збільшення поверхонь для їхнього прикріплення. Раніше технології вирощування тваринних клітин базувались на використанні пробірок чи колб які оберталися з метою кращого забезпечення клітин поживними речовинами та киснем.

Сучасні системи культивування тваринних клітин ґрунтуються на використанні звернутих у вигляді «бухт» тефлонових трубочок, які є проникними для газів і поверхня кожної з яких дорівнює близько  $10\,000\text{ см}^2$ , а їхня загальна кількість у реакторі складає більше 20 шт. Такі умови підходять для культивування більшості типів тваринних клітин.

Ще один перспективний спосіб вирощування тваринних клітин ґрунтується на використанні невеликих кульок до яких кріпляться клітини. Ці кульки виготовляються із сефадексу, а їхня поверхня становить  $7\text{ см}^2$  на 1 мг. Вони здатні перебувати в суспензійному стані в живильному середовищі і за допомогою цього методу отримують людський інтерферон.

#### **Контрольні питання**

1. Яке значення спиртового бродіння у біотехнології?
2. Яке значення молочнокислого бродіння у біотехнології?
3. Яке значення маслянокислого бродіння у біотехнології?
4. Яке значення пропіоново-кислого бродіння у біотехнології?
5. Чим відрізняються твердофазні і газофазні процеси?

## Лекція 6. ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ ГРИБІВ І ГРИБОПОДІБНИХ ОРГАНІЗМІВ.

### План

1. Поверхнєве культивування цвілевих грибів.
2. Культивування дріжджів.

#### **1. Поверхнєве культивування цвілевих грибів**

Для забезпечення цього технологічного процесу необхідною є наявність двох компонентів: *поживного середовища* і *посівного матеріалу*.

##### Отримання поживного середовища

При поверхневому культивуванні цвілевих грибів користуються твердим поживним середовищем, яким слугують пшеничні висівки. Ця сировина містить в достатніх кількостях усі речовини, необхідні для живлення гриба. Найоптимальніша кількість крохмалю для росту цвілевих грибів в середовищі становить не менше 16%.

Для здешевлення поживного середовища, як його основу інколи використовують біошрот – відходи виробництва ферментів, що є нерозчинним залишком культури після екстрагування ферментів. Повноцінне поживне середовище з біошроту отримують після збагачення його крохмалем і іншими речовинами, необхідними для росту гриба, шляхом додавання картопляної мезги (відходів при виробництві крохмалю) і солодових проростків.

Основою поживного середовища також може слугувати пивна дробина, до якої додають розварену масу зерно-картопляної сировини.

##### Отримання посівного матеріалу

Посівний матеріал цвілевих грибів, що застосовують для інокулювання поживного середовища може бути трьох типів: спори, міцелій і спороносна культура.

1. Споровий матеріал готують шляхом поверхневого культивування гриба на твердому поживному середовищі в спеціальних апаратах з кюветами. Для цього гриб вирощують у пробірці на косому агарі до рясного утворення спор, які потім висівають у колби із стерильними пшеничними висівками і поміщають у спеціальний апарат. Після закінчення утворення спор в цьому апараті, їх відбирають за допомогою спеціального вібросепаратора та ретельної аспірації. Спори фасують в поліетиленові мішечки, скляні або дюралюмінієві банки, в яких вони можуть зберігатися при температурі від 8 до 24°C близько 1,5 років. Спори (конідії) володіють водовідштовхувальною здатністю і майже не змочуються водою. Ця властивість приводить до нерівномірності

засіву середовища а, отже, до неоднакової швидкості росту культури. *Змочуваність спор можна поліпшити*, якщо додати в їхню водну суспензію 25-50 міліграм поверхнево-активної речовини, наприклад алкилбензол-сульфату, на 1 г спорового матеріалу. При цьому схожість спор залишається без змін.

2. Міцелій отримують шляхом глибинного культивування гриба в 10-літрових колбах. Цей процес складається з двох операцій: 1) *вирощування спороносної культури гриба в пробірках на сусло-агарі*; 2) *засівання спорами пшеничних висівок в колбах і вирощування культури гриба*.
3. Спороносну культуру отримують шляхом приготування водної суспензії зі спор, зібраних в пробірці з косим агаром, яку потім засівають у рідке поживне середовище й вміщують у ростильний апарат. Після утворення *спороносної плівки*, з-під неї видаляють рідке середовище, а плівку підсушують, знімають з кювет, подрібнюють і упаковують. Готовий споровий матеріал не містить домішки середовища і володіє високою схожістю (90-95%), яка зберігається понад 3 роки.

## **2. Культивування макроміцетів**

На сьогодні існує ціла низка промислових видів грибів-макроміцетів, які вирощуються в умовах культури. Вирощування кожного виду має свою специфіку і відрізняється забезпеченням тих чи інших особливостей певного виду гриба. Проте, чи не найважливішим етапом вирощування грибів-макроміцетів є отримання їхнього міцелію. Цей процес складається з таких етапів:

### **1. Вибір сировини для субстрату.**

Найпоширенішою сировиною для субстрату є зерна жита. Також застосовують пшеницю, ячмінь та просо. У 60-х – 70-х рр. ХХ ст. використовували також перліт і керамзит, які *попередньо проварювали в поживному відварі з зерен пшениці*. Інколи у якості сировини для субстрату застосовують компост, а міцелій вирощений на такому субстраті називають *компостним*. Він застосовується для культивування печериці і використовується, як правило, лабораторіями при великих печеричницях, де є в надлишку готового компосту.

Для отримання міцелію печериці та шіітаке найпридатнішою є універсальна сировина – *жито, ячмінь, пшениця*. Для міцелію гливи найкраще підходить просо. Було встановлено, що міцелій печериці, вироблений на нейтральних субстратах (перліт, керамзит), погано

приживається на компості – суттєво зростає тривалість періоду розростання міцелію.

## 2. Підготовка носія для міцелію.

Цей етап складається з двох стадій:

- варіння зерна;
- розфасовки.

Для варіння зерна використовують варильні котли типу КПЕ-60 або потужніші. У котел заливають 25-30 л води і засипають 30 кг зерна. Варіння триває 30-35 хв. Воду після варіння зливають через решето, а зерно висушують «поверхнево», потім додають 360 г гіпсу і 90 г крейди для збалансування рН середовища.

Після цього зерно розфасовують для стерилізації у термостійкі ємкості (колби, банки, пакети тощо) ємкістю 1-3 л. Велике значення має спосіб закриття ємкостей. Найкращими вважаються літрові пляшки закриті ватно-марлевими пробками. У такі пляшки засипають підготовлене зерно на 4/5 їхнього обсягу. Пробку закривають на глибину 10-15 мм щоб запобігти випадковому попаданню всередину пляшки сторонніх мікроорганізмів.

## 3. Стерилізація.

Завантажені і закриті ємкості стерилізують в автоклавах при тиску 2 атмосфери впродовж 90 хвилин. Обов'язковими є продувки – тривалістю 15 хв до виходу на режим стерилізації і 1,5 хв після виходу на режим стерилізації.

## 4. Інокуляція.

Ємкості з простерилізованою сировиною заносять в інокуляційний бокс, що обладнаний бактерицидними й кварцовими лампами, стелажми і газовим пальником. Повітря, що подається в бокс, проходить через фільтри грубого і тонкого очищення. Для інокуляції використовують маточний міцелій, отриманий з лабораторії маточних культур. Посів маточного міцелію на стерилізований субстрат проводять над вогнем газового пальника без допомоги інструментів (ложок, шпателів, трубок тощо), а шляхом з'єднання отворів на шийках ємкостей і пересипання (переливання) міцелію на стерильний носій. Кількість інокулюючої речовини повинна складати 40-45 мл в кожен ємкість з субстратом. Після посіву ємкість струшують для перемішування маточного інокулюма з носієм і рівномірного його розподілу на субстраті. Потім ємкості підписують і поміщають у термостат де зберігають за температури 24-25 °С і вологості 60-65%, де відбувається обростання носія.

## 5. Інкубація.



При високій якості маточного інукулюма обростання носія міцелієм триває: у гливи – 5-6 днів, у печериці – 20-25 днів, у кільцевика – 11-12 днів. За характером росту гіфів можна визначити майбутню продуктивність усього міцелію. Наприклад, якісний міцелій печериці формує безліч міцеліальних тяжів, а міцелій гливи навпаки – утворення тяжів на міцелії свідчить про інфікування культури. Якісний міцелій кільцевика має ватоподібну структуру.

#### 6. Фасування міцелію.

Після повного обростання носія міцелієм, ємкості надходять у фасувальний бокс, що обладнаний так само, як й інокуляційний, за винятком газового пальника. Розфасовка полягає у перенесенні міцелію з ємкостей багаторазового використання (банки, пляшки, колби тощо) у поліетиленові пакети. Наповнені пакети запаюють або заклеюють скотчем і підписують. Пакети повинні бути забезпечені бактерицидними фільтрами для аерації міцелію. Розфасовка – це найуразливіший етап, на якому найчастіше відбувається зараження міцелію.

#### 7. Дорошування.

Після розфасовки, пакети з міцелієм поміщають на 2-3 дні у дорошу вальне приміщення, обладнане стелажми і установкою мікроклімату. Дорошування проводять при температурі 22-24 °С і вологості 70-75%. На цьому етапі контролюють якість фасування й стежать за появою інфекцій у пакетах.

#### 8. Контроль якості продукції.

Після дорошування міцелій відправляють на експертизу якості, яка проводиться чотирма методами:

- органолептична оцінка (здійснюється за допомогою органів чуття людини);
- оцінка чистоти посівного міцелію при висіві на поживне агаризоване або рідке середовище;
- оцінка енергії проростання;
- оцінка збереження генетичних характеристик сорту у виробничих умовах при отриманні плодових тіл.

#### 9. Зберігання міцелію.

Готовий міцелій зберігають в холодильній камері. Термін зберігання міцелію визначається такими факторами, як вид субстрату, температура, вологість, провітрювання. Зберігання не може проводитись за температури 20 °С і вище й вологості більше 60%, оскільки за цих умов триває ріст міцелію і він починає формувати примордії – зачатки плодових тіл.

### **Контрольні питання**

1. Які види дріжджів культивуються в біотехнологічному виробництві?
2. У яких галузях промисловості застосовуються дріжджі?
3. Які цвілеві гриби є корисними і для чого вони використовуються?
4. Охарактеризуйте процес отримання пеніциліну.
5. Які середовища застосовують для культивування грибів і грибоподібних організмів?

## ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2. **ОСОБЛИВОСТІ ПРОТІКАННЯ ЕНЕРГЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ У КЛІТИНАХ МІКРООРГАНІЗМІВ.**

### Лекція 7. МОЛОЧНОКИСЛЕ БРОДІННЯ.

#### План

1. Загальне поняття про молочнокисле бродіння.
2. Гомоферментативне молочнокисле бродіння.
3. Гетероферментативне молочнокисле бродіння.

#### **1. Загальне поняття про молочнокисле бродіння.**

Молочнокисле бродіння – це процес анаеробного окислення вуглеводів, кінцевим продуктом якого є молочна кислота. Назва походить від кінцевого продукту цього процесу – молочної кислоти. Для молочнокислих бактерій це є основним шляхом катаболізму вуглеводів і основним джерелом енергії у вигляді АТФ. Також молочнокисле бродіння відбувається в тканинах тварин у відсутності кисню при великих фізичних навантаженнях.

Збудниками цього процесу є молочнокислі бактерії (болгарська паличка (*Lactobacillus bulgaricus*), ацидофільна паличка (*Lactobacillus acidophilus*), дельбрюківська паличка (*Lactobacillus delbriiieckii*), *Lactobacillus brevis* тощо). Молочнокисле бродіння використовується для консервації продуктів харчування (за рахунок інгібування росту мікроорганізмів молочною кислотою і зниження рН) з метою тривалого збереження (приклад – квашення овочів, сирокочення), приготуванні кисломолочних продуктів (кефіру, ряжанки, йогурту, сметани), силосуванні рослинної маси, а також біотехнологічного способу виробництва молочної кислоти.

Розрізняють 2 типи молочнокислого бродіння: гомоферментативне і гетероферментативне, що різняться продуктами, які виділяються, окрім молочної кислоти, а також їхнім співвідношенням. Бактерії, що спричиняють гомоферментативне молочнокисле бродіння утворюють переважно лише молочну кислоту, а побічних продуктів синтезується обмаль. Бактерії гетероферментативного молочнокислого бродіння разом із молочною кислотою, утворюють значну кількість інших речовин – етиловий спирт, вуглекислий газ, оцтову кислоту, ацетон, диацетил тощо.

#### **2. Гомоферментативне молочнокисле бродіння.**

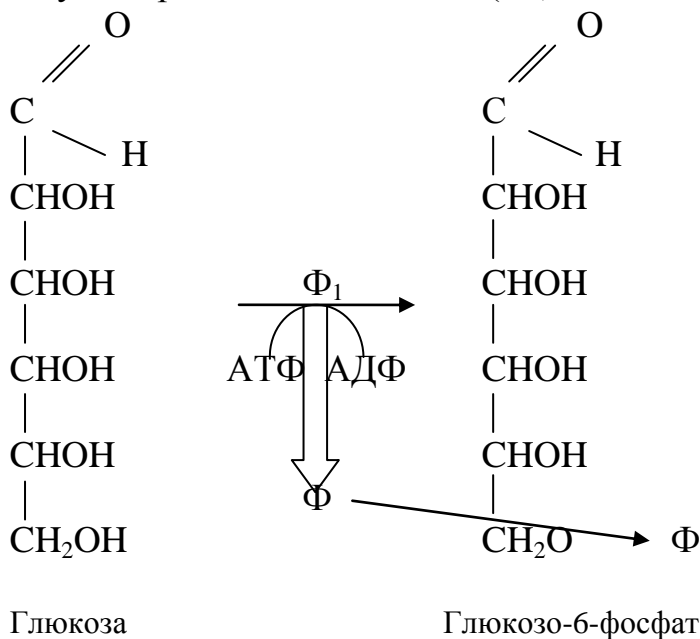
При гомоферментативному молочнокислому бродінні глюкоза спочатку окислюється до пірувату по гліколітичному шляху, а потім піруват відновлюється до молочної кислоти за реагуючи з

коферментом НАДН<sub>2</sub>, що синтезується під час дегідратації 3-фосфогліцеринового альдегіду в гліколізі. Продуктом гомоферментативного молочнокислого бродіння є молочна кислота, яка становить не менше 90% усіх продуктів бродіння. До гомоферментативних молочнокислих бактерій належать *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus* та *Streptococcus lactis*.

Хімізм гомоферментативного молочнокислого бродіння.

Розпочинається процес гомоферментативного бродіння з гліколітичного розщеплення молекули глюкози до піровиноградної кислоти.

Першою реакцією цього процесу є фосфорилування глюкози до глюкозо-6-фосфату за рахунок молекули АТФ. При цьому, АТФ у цій реакції виступає донором фосфору, а також енергії, необхідної для утворення фосфатного зв'язку в молекулі глюкозо-6-фосфату. Ця енергія звільняється внаслідок розриву макроергічного зв'язку АТФ. Каталізує цю реакцію гексокіназа (Ф<sub>1</sub>):

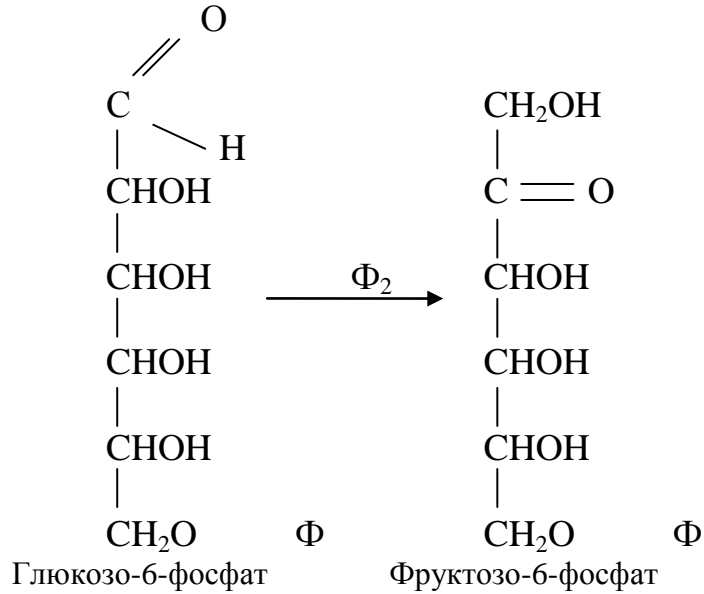


Далі глюкозо-6-фосфат, під впливом гексозофосфатізомерази (Ф<sub>2</sub>), ізомеризується до фруктозо-6-фосфату.

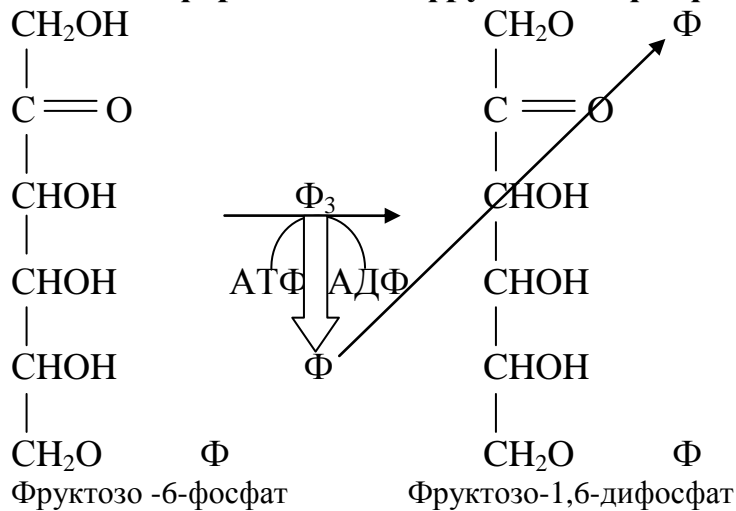
Утворений фруктозо-6-фосфат, під впливом фосфофруктокінази (Ф<sub>3</sub>), реагує з ще однією молекулою АТФ і фосфорилується до фруктозо-1,6-дифосфату.

Наступною реакцією є розпад дифосфогексози фруктозо-1,6-дифосфату на дві фосфотріози – дигідроацетонфосфат та 3-фосфогліцеринний альдегід. Каталізує реакцію фермент альдолаза (Ф<sub>4</sub>).

### Ізомеризація глюкозо-6-фосфату:

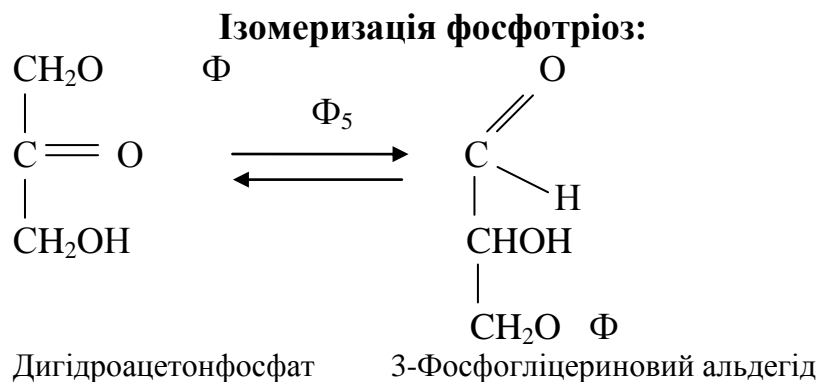
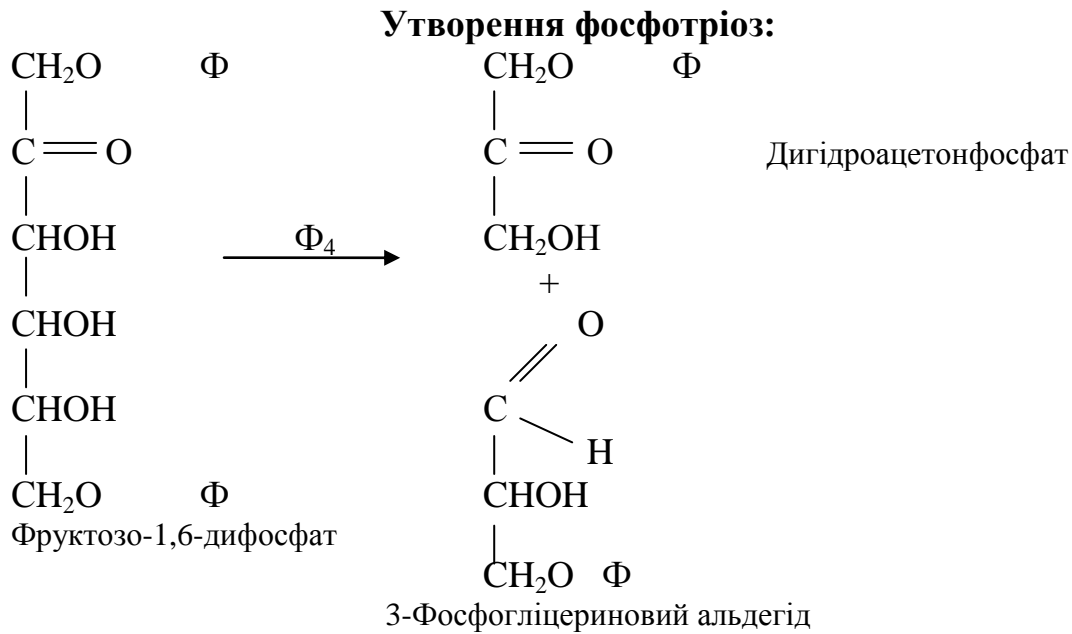


### Фосфорилювання фруктозо-6-фосфату:

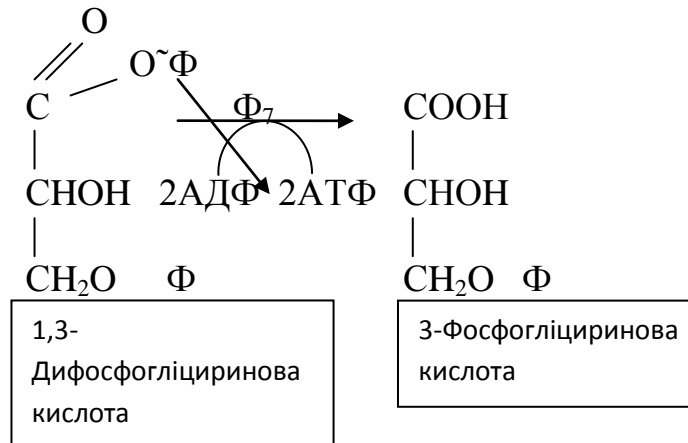


Утворені фосфотріози, під впливом тріозофосфатізомерази ( $\Phi_5$ ), легко ізомеризуються одна в одну.

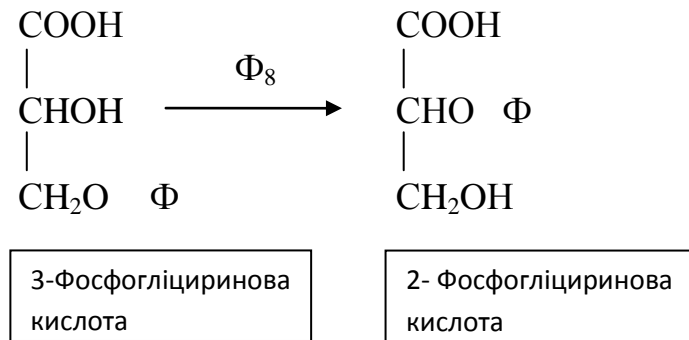
Далі 3-фосфогліцериновий альдегід перетворюється на 1,3-дифосфогліцеринову кислоту. У цій реакції бере участь складний ферментний комплекс гліцераальдегід-3-фосфат дегідрогеназа ( $\Phi_6$ ), що складається з 4 ідентичних субодиниць, містить SH-групи і кофермент НАД. Цей фермент окиснює альдегідну групу фосфогліцеринового альдегіду до карбоксильної. Окиснення супроводжується виділенням енергії, яка затрачається на утворення макроергічного зв'язку з неорганічним фосфором, а донором електронів під час окиснення альдегідної групи виступає кофермент НАД<sup>+</sup>, що відновлюється до НАД•Н<sub>2</sub> приєднуючи водень.



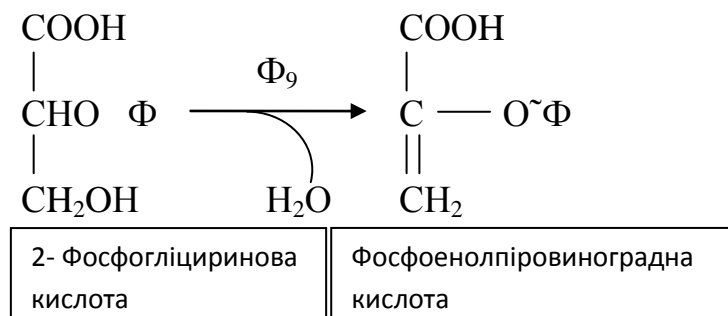
Утворена 1,3-дифосфогліцеринова кислота дефосфорилується до 3-фосфогліцеринової кислоти з утворенням молекули АТФ. Каталізує реакцію фермент фосфогліцераткіназа ( $\Phi_7$ ). У цій реакції відбувається перенесення фосфатного залишку від ацилфосфатної групи 1,3-дифосфогліцеринової кислоти на АДФ. Частина енергії, що виділяється під час розриву ацилфосфатного зв'язку ( $49,3 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ ) використовується на синтез АТФ ( $30,05 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ ), а частина її вивільняється ( $18,8 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ ). Ця реакція носить назву першого субстратного фосфорилування, тому що у ній відбувається фосфорилування АТФ безпосередньо за рахунок субстрату, що перетворюється (1,3-дифосфогліцеринової кислоти):



Далі 3-фосфогліциринова кислота під впливом ферменту фосфогліцератмутази ( $\Phi_8$ ) перетворюється на 2-фосфогліциринову кислоту:

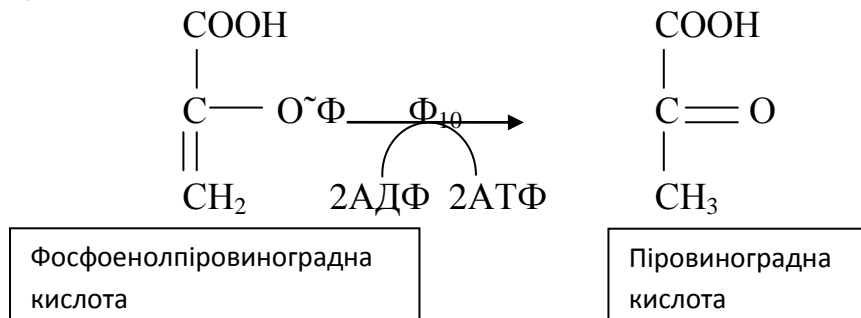


Утворена 2-фосфогліциринова кислота, під впливом енолази ( $\Phi_9$ ), перетворюється на фосфоенолпіровиноградну кислоту. У цій реакції відбувається дегідратація 2-фосфогліциринової кислоти. Цей процес супроводжується перерозподілом енергії всередині молекули, внаслідок чого виникає макроергічний зв'язок, що містить  $61,9 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ :

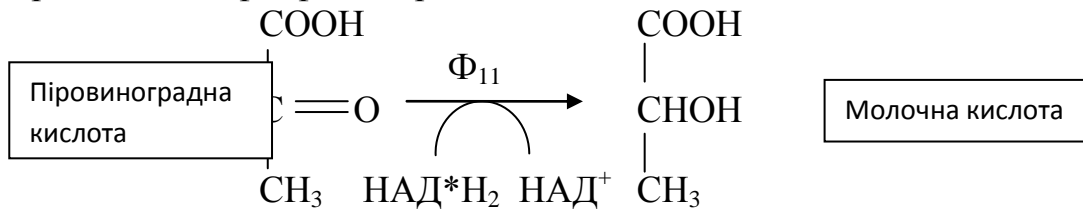


Наступною реакцією є друге субстратне фосфорилування, у якій відбувається дефосфорилування фосфоенолпіровиноградної кислоти і синтез 2 молекул АТФ. У цій реакції фосфатний залишок високоенергетичного енолфосфату переноситься на АДФ з

утворенням АТФ і енолпіровиноградної кислоти, яка перетворюється на піровиноградну кислоту. Каталізує реакцію фермент піруваткіназа ( $\Phi_{10}$ ):



На цьому гліколітичні реакції завершуються, а утворена піровиноградна кислота, під впливом лактатдегідрогенази ( $\Phi_{11}$ ) відновлюється коферментом НАДН<sub>2</sub>, який утворився під час утворення 1,3-дифосфогліцеринової кислоти, до молочної кислоти:



Отож, внаслідок розпаду молекули глюкози гомоферментативним типом молочнокислого бродіння, утворюється дві молекули молочної кислоти, а його енергетичний вихід становить 2 молекули АТФ. Відновлений НАДН<sub>2</sub>, що утворюється під час синтезу 1,3-дифосфогліцеринової кислоти, є еквівалентним 3 молекулам АТФ, але для їх утворення необхідне окиснення цього коферменту у дихальному електрон-транспортному ланцюгу, що відбувається лише в аеробних умовах, а за відсутності кисню, акцептором катіонів Н<sup>+</sup>, донором яких виступає НАДН<sub>2</sub>, стає піровиноградна кислота, що внаслідок їх приєднання, відновлюється до молочної кислоти.

### 3. Гетероферментативне молочнокисле бродіння.

На відміну від гомоферментативного молочнокислого бродіння, при гетероферментативному бродінні розпад глюкози проходить пентозофосфатним шляхом, в якому 3-фосфогліцеринний альдегід, що утворився з ксилулозо-5-фосфату, окислюється до молочної кислоти, а дигідроацетонфосфат відновлюється до етанолу (деякі гетероферментативні молочнокислі бактерії окислюють отриманий етанол частково або повністю до ацетату). Таким чином, при гетероферментативному молочнокислому бродінні утворюється



більше продуктів, а саме: молочна кислота, оцтова кислота, етанол, вуглекислий газ. До гетероферментативних молочнокислих бактерій належать *Lactobacillus fermentum*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* та *Oenococcus oeni*.

#### Хімізм гетероферментативного молочнокислого бродіння.

Початкові реакції гетероферментативного молочнокислого бродіння ідентичні пентозофосфатному шляху дихання до моменту утворення ксилулозо-5-фосфату.

Починається цей процес реакцією фосфорилювання глюкози до глюкозо-6-фосфату, аналогічною першій реакції гомоферментативного бродіння. Але утворений глюкозо-6-фосфат у цьому процесі не ізомеризується у фруктозо-6-фосфат, а під впливом глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази перетворюється на 6-фосфоглюколактон.

Утворений на 6-фосфоглюколактон є проміжною сполукою і під впливом 6-фосфоглюконолактонази перетворюється на 6-фосфоглюконат.

Далі 6-фосфоглюконат, під впливом 6-фосфоглюконат-дегідрогенази, декарбоксілюється (від нього відщеплюється карбон) і, реагуючи з НАД<sup>+</sup>, окислюється до рибулозо-5-фосфату. Продуктами реакції є відновлена форма коферменту НАДН<sub>2</sub> і молекула вуглекислого газу.

Утворена пентоза (рибулозо-5-фосфат), може ізомеризуватись або епімеризуватись у інші пентози. Під впливом пентозофосфат-ізомерази рибулозо-5-фосфат ізомеризується до рибозо-5-фосфату, а під впливом пентозофосфат-епімерази – перетворюється у ксилулозо-5-фосфат.

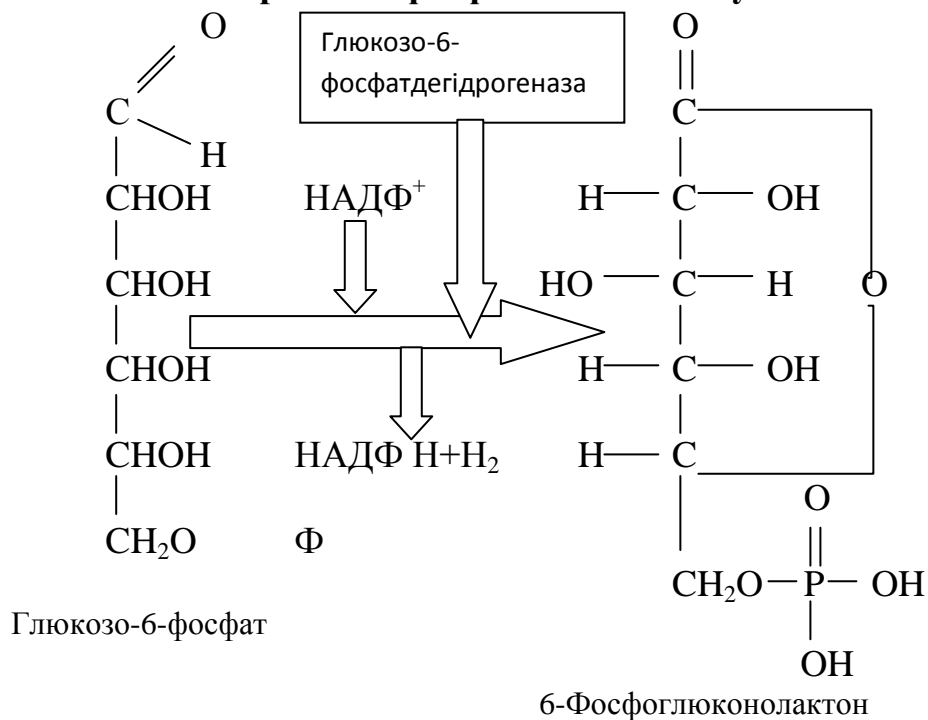
Подальше перетворення ксилулозо-5-фосфату залежить від умов і може протікати трьома шляхами. Перший шлях приводить до утворення молочної кислоти, другий – етанолу, а третій – оцтової кислоти.

Перший шлях починається з розпаду ксилулозо-5-фосфату на 3-фосфогліцериновий альдегід та ацетилфосфат. Каталізує цю реакцію фермент пентозофосфат-кетозаза.

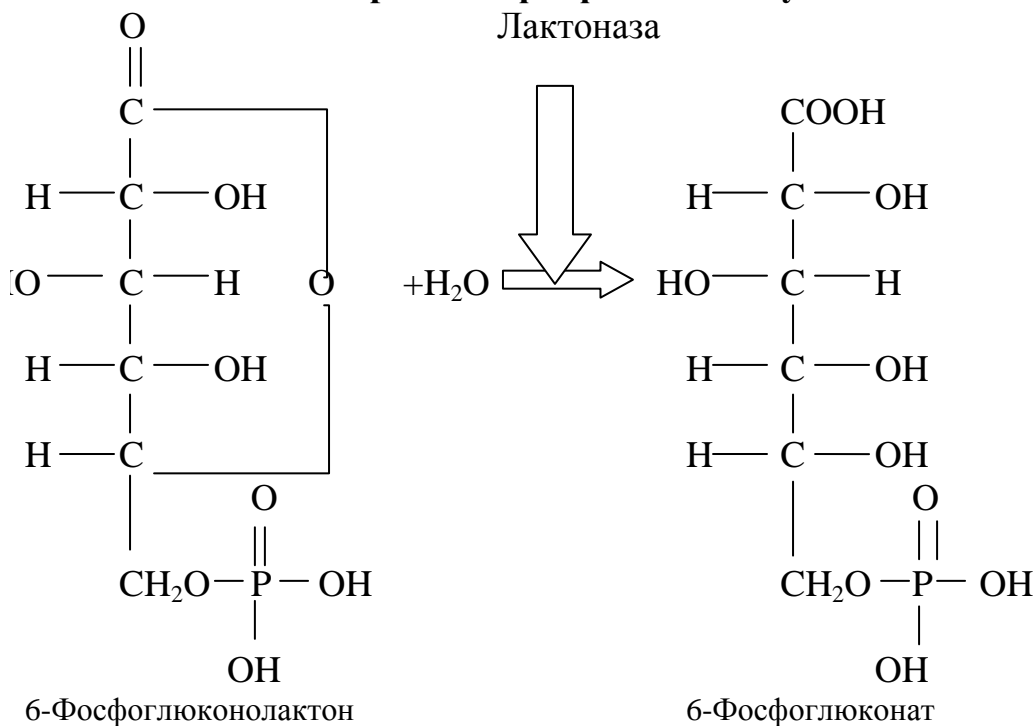
Далі процес протікає аналогічно гомоферментативному бродінню. 3-фосфогліцериновий альдегід під впливом гліцеральдигід-3-фосфат дегідрогенази, окислюється відновленим НАД<sup>+</sup> до 1,3-дифосфогліцеринової кислоти.

Наступною є реакція дефосфорилування 1,3-дифосфогліцеринової кислоти і синтезу АТФ. Каталізує реакцію фосфогліцераткіназа.

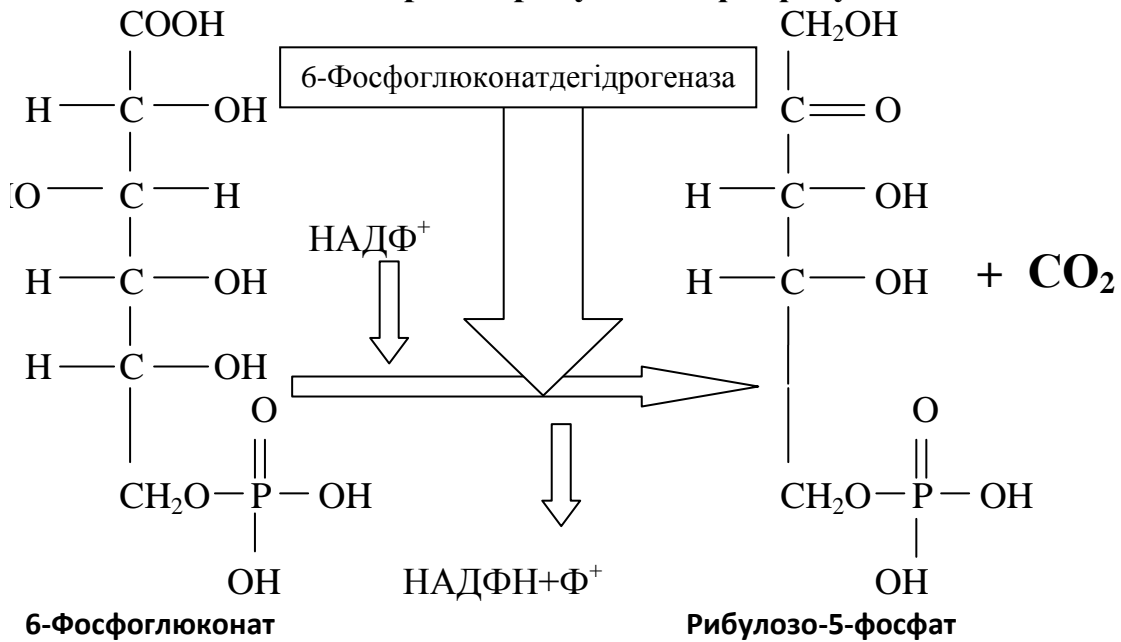
**Утворення 6-фосфоглюколактону:**



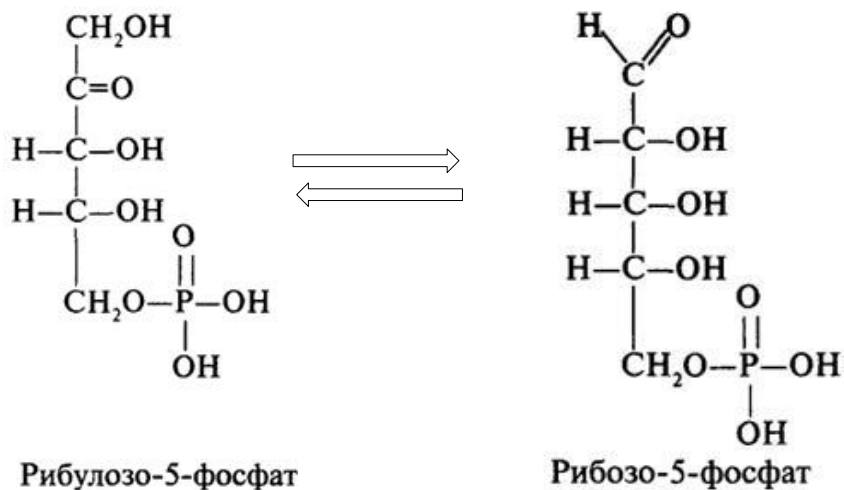
**Утворення 6-фосфоглюконату:**



### Утворення рибулозо-5-фосфату:



### Утворення рибозо-5-фосфату



Далі слідує перетворення 3-фосфогліцеинової кислоти на 2-фосфогліцеинову кислоту під впливом фосфогліцеромутази.

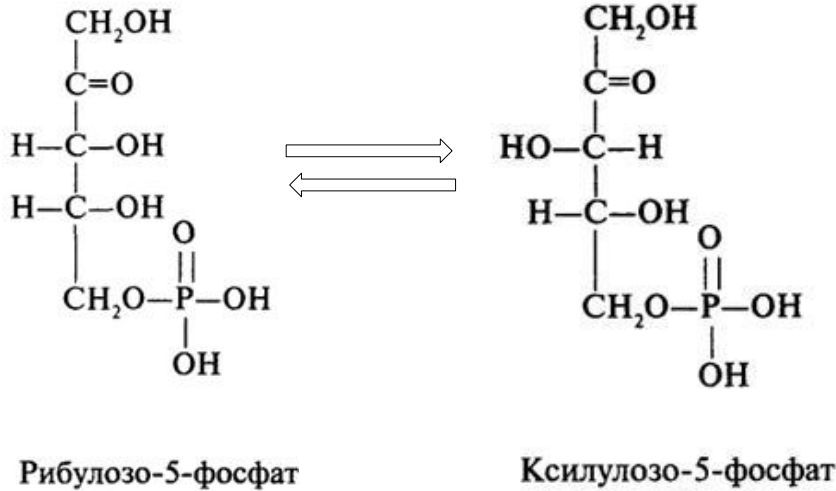
Потім 2-фосфогліцеинова кислота, під впливом ферменту енолази, дегідратується до фосфоенолпірвіиноградної кислоти.

Наступною є реакція дефосфорилування фосфоенолпірвіиноградної кислоти і синтез 2 молекул АТФ. Каталізує її фермент пірваткіназа.

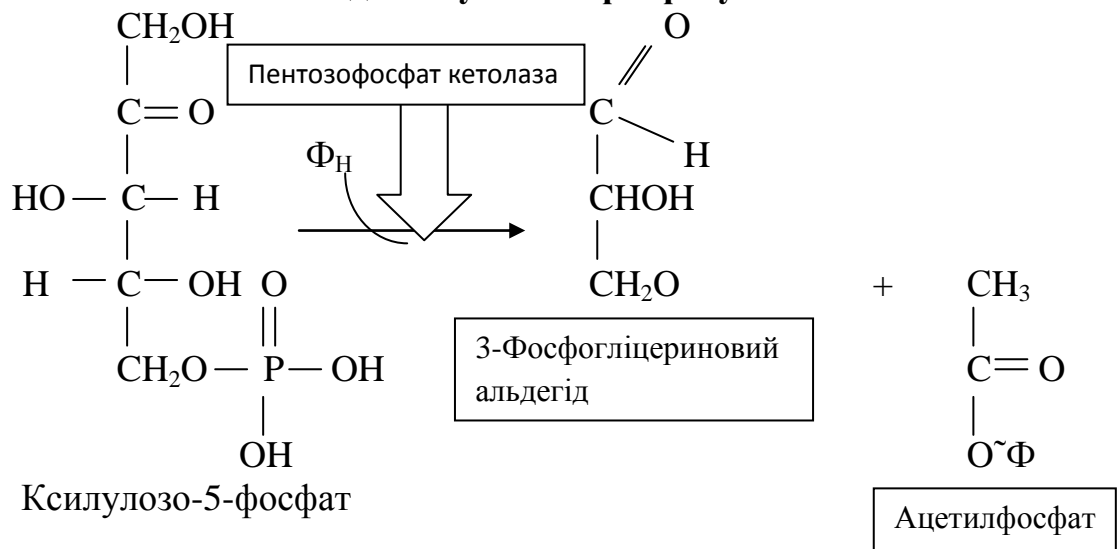
На цьому гліколітичні реакції завершуються, а утворена пірвіиноградна кислота, під впливом лактатдегідрогенази відновлюється коферментом НАДН<sub>2</sub>, який утворився під час утворення 1,3-дифосфогліцеинової кислоти, до молочної кислоти.

Другий шлях перетворення ксилулозо-5-фосфату починається з перетворення похідного пентози ацетилфосфату на ацетальдегід. Каталізує цю реакцію фермент ацетальдегіддегідрогеназа.

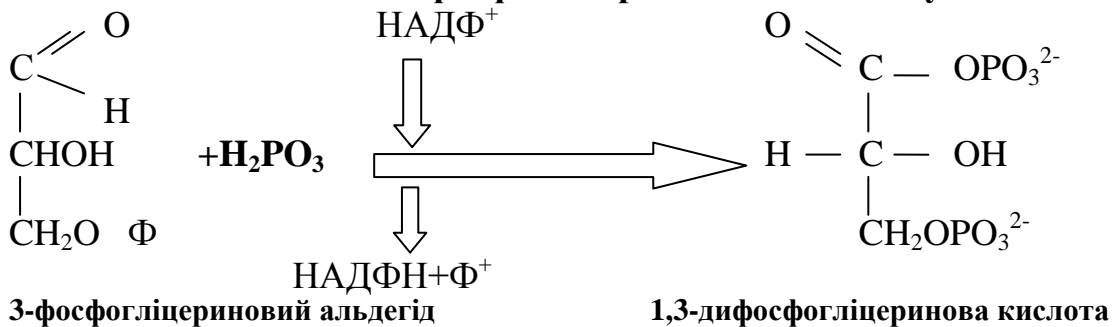
### Утворення ксилулозо-5-фосфату



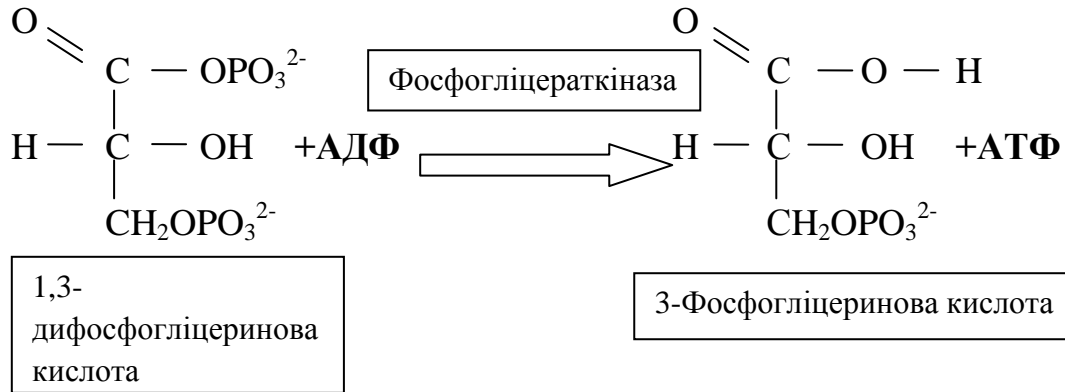
### Розпад ксилулозо-5-фосфату



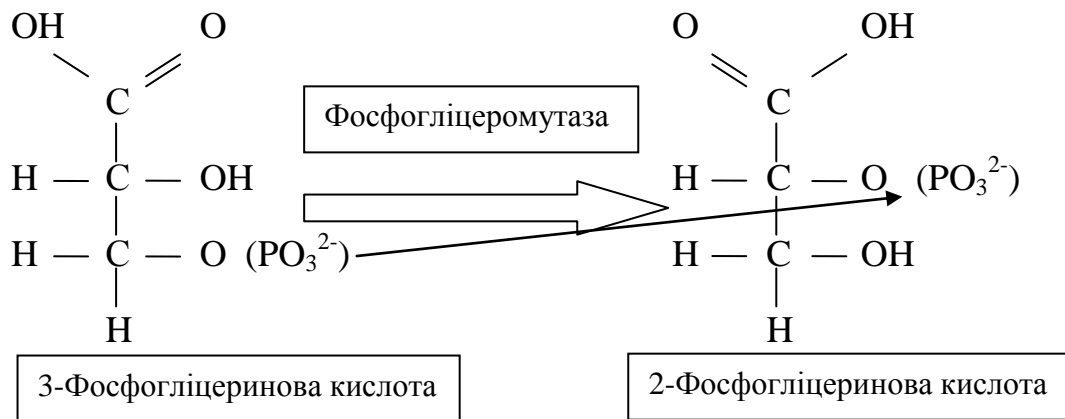
### Окиснення 3-фосфогліцеринового альдегіду:



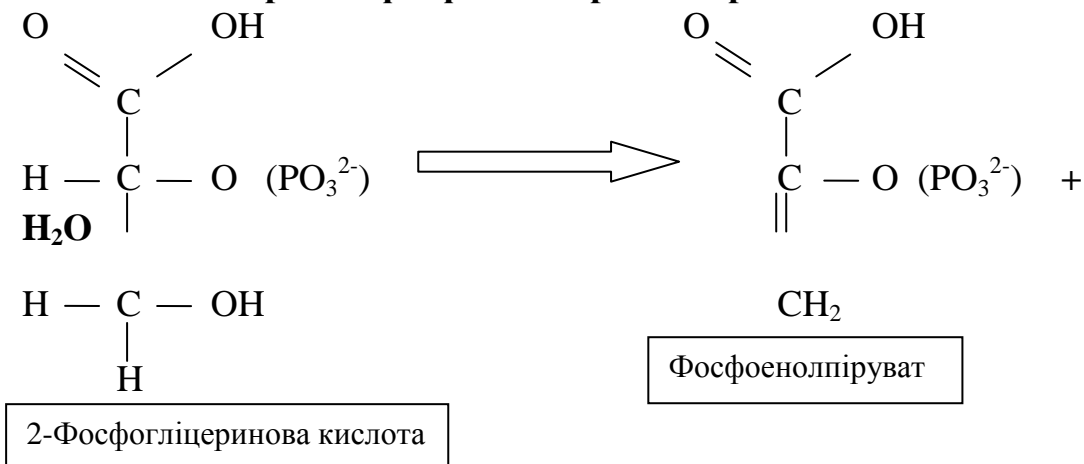
**Дефосфорилювання 1,3-дифосфогліцеинової кислоти:**



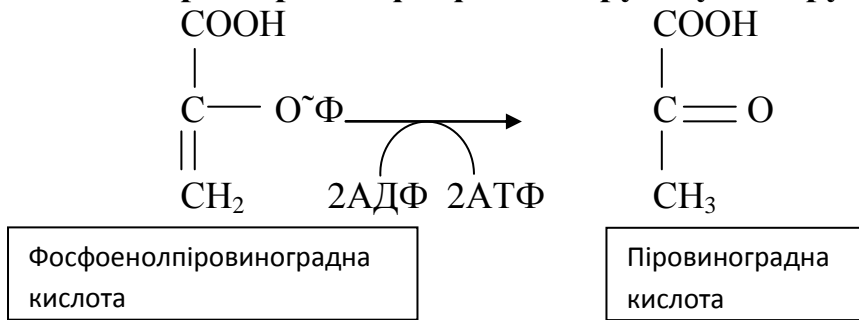
**Утворення 2-фосфогліцеинової кислоти:**



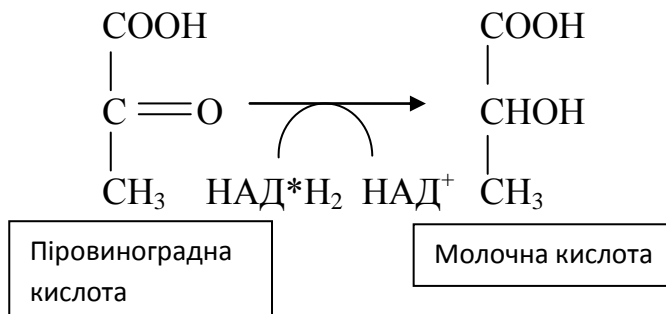
**Утворення фосфоенолпірвіиноградної кислоти:**



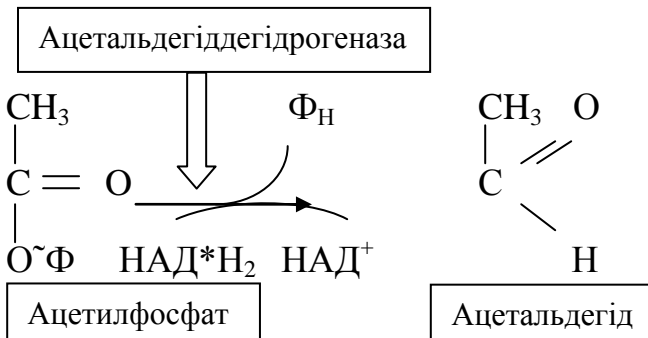
**Перетворення фосфоенолпірувату на піруват:**



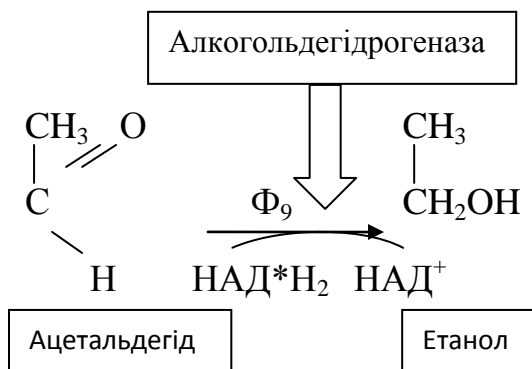
**Синтез молочної кислоти:**



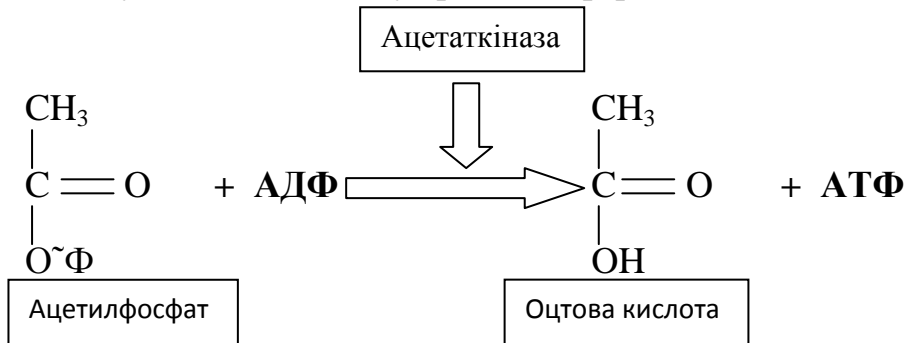
**Перетворення похідного пентози ацетилфосфату на ацетальдегід:**



Другою і завершальною реакцією шляху є утворення етанолу внаслідок перетворення ацетальдегіду алкогольдегідрогеназою:



У третій шлях перетворення ксилулозо-5-фосфату вступає також ацетилфосфат і протікає цей шлях в одну реакцію, в якій ацетилфосфат дефосфорилується й перетворюється на оцтову кислоту. Енергія, що виділяється під час дефосфорилування, використовується на утворення макроергічного фосфатного зв'язку в молекулі АТФ. Каталізує реакцію фермент ацетаткіназа:



### Контрольні питання

1. Які види мікроорганізмів викликають гомоферментативне молочнокисле бродіння?
2. Які види мікроорганізмів викликають гетероферментативне молочнокисле бродіння?
3. Чим відрізняється хімізм гомо- і гетероферментативного типів молочнокислого бродіння?
4. Охарактеризуйте особливості протікання гетероферментативного молочнокислого бродіння.
5. Охарактеризуйте особливості протікання гомоферментативного молочнокислого бродіння.

### Лекція 8. СПИРТОВЕ БРОДІННЯ.

#### План

1. Загальне поняття про спиртове бродіння.
2. Хімізм спиртового бродіння.
3. Використання спиртового бродіння.

#### **1. Загальне поняття про спиртове бродіння.**

Спиртове бродіння – це ферментативний біохімічний процес, при якому моносахариди глюкоза і фруктоза розкладаються під дією ферментів до етилового спирту та вуглекислого газу. Процес супроводжується виділенням енергії.

Цей метаболічний шлях катаболізму цукрів характерний для

багатьох грибів (різні види дріжджів – *Saccharomyces cerevisiae*, *S. carlsbergensis*, *S. ellipsoideus*), водоростей, найпростіших та деяких бактерій (*Zyotomonas mobilis*).

## 2. Хімізм спиртового бродіння.

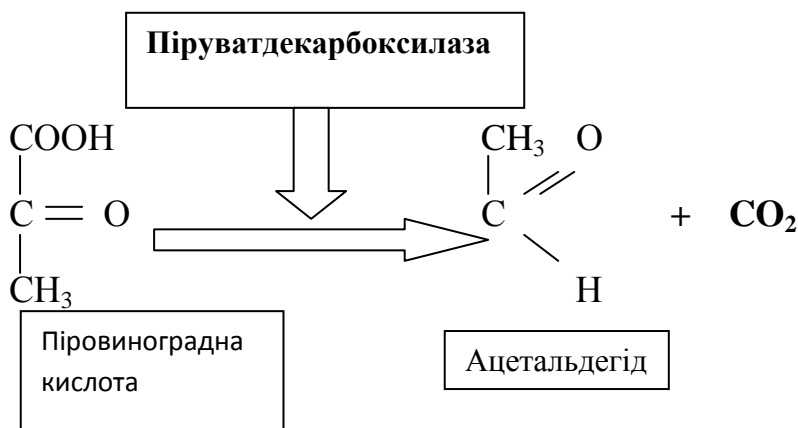
Спиртове бродіння, як і гомоферментативний тип молочнокислого бродіння, розпочинається з гліколітичного розщеплення глюкози.

У гліколітичних реакціях глюкоза розщеплюється і окиснюється до двох молекул пірувату, відбувається субстратне фосфорилування двох молекул АДФ із утворенням АТФ, а також дві молекули НАД<sup>+</sup> відновлюються до НАДН<sub>2</sub>. За аеробних умов НАДН<sub>2</sub> знову окиснюється віддаючи електрони і катіони Н<sub>2</sub> у дихальному електрон-транспортному ланцюгу через низку посередників на молекулярний кисень, і тоді знову може бути використаний у процесі гліколізу. В анаеробних умовах окиснення НАДН<sub>2</sub> до НАД<sup>+</sup> протікає у кінцевій реакції бродіння, але у ній акцептором електронів і катіонів Н<sub>2</sub> виступає не молекулярний кисень, а, у випадку молочнокислого бродіння, пірувіноградна кислота, що відновлюється до молочної кислоти, або похідне пірувату, як у спиртовому бродінні, – ацетальдегід.

Ацетальдегід утворюється із пірувату шляхом його декарбоксілювання, яке каталізується піруватдекарбоксілазою. Цей фермент потребує присутності іонів Mg<sup>2+</sup> та містить ковалентно приєднаний кофермент тіамініпрофосфат.

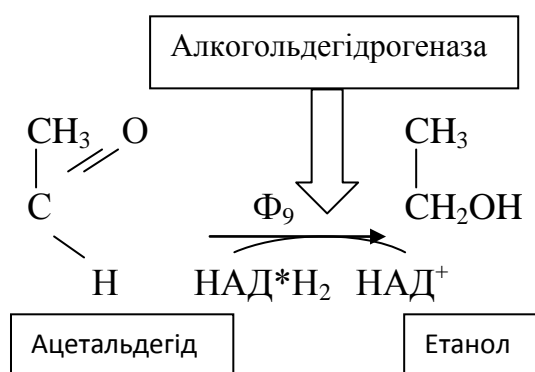
Наступною реакцією є відновлення ацетальдегіду до етилового спирту завдяки перенесенню гідрид іона із НАДН<sub>2</sub>, утвореного у процесі гліколізу. Реакція відбувається за участі ферменту алкогольдегідрогенази, що містить в активному центрі іон цинку, який поляризує карбонільну групу субстрату полегшуючи приєднання гідриду.

### Утворення ацетальдегіду:





## Утворення етилового спирту:



Енергетичний вихід спиртового бродіння складає 2 молекули АТФ внаслідок зброджування 1 молекули глюкози.

## 2. Використання спиртового бродіння.

### Виробництво алкогольних напоїв.

Спиртове бродіння здавна використовується для виробництва алкогольних напоїв, таких як вино, пиво, ель. *Джерелом вуглеводів для цих процесів можуть слугувати різноманітні рослини.* Частина з них містять готові до зброджування *моно- та олігосахариди:* наприклад, *сахароза і фруктоза* у виноградному соку. В такому випадку ферментація може починатись без попередньої обробки. З іншого боку зернові, такі як пшениця, овес, рис тощо та інші продукти, що містять *крохмаль*, спочатку повинні пройти процес *гідролізу полісахаридів*. Продуктом гідролізу є *сусло*, яке вже містить цукри готові до зброджування.

### Хлібопекарство.

Дріжджі використовуються людьми для виготовлення хліба вже принаймні 4,5 тисячоліть, про що свідчать давньоєгипетські рисунки, на яких детально зображений цей процес, а також пекарня 2575 року до н. е. знайдена в районі некрополя Гізи. Оскільки під час вироблення хліба дріжджі *S. cerevisiae* вирощуються за аеробних умов, дихання переважає над спиртовим бродінням. Через це спостерігається посилене виділення вуглекислого газу та незначне утворення етанолу. Вуглекислий газ спричиняє «сходження» тіста та відповідає за легку пористу структуру хліба, а продукти бродіння надають йому характерного смаку.

### Виробництво біопалива.

Етанол, отриманий у процесі спиртового бродіння, може бути використаний як недороге і відновлюване джерело енергії. Як сировину для виробництва етанолового біопалива використовують

рослинний матеріал, багатий на *сахарозу, крохмаль або целюлозу*: кукурудзу, пшеницю, цукровий буряк і тростину, соломку, відходи деревообробної промисловості, побутові відходи рослинного походження тощо. Зазвичай *сировину хімічно обробляють з метою гідролізу полісахаридів до мономерів*, після чого до отриманої маси додають *виривалі штами дріжджів*.

#### Виробництво гліцеролу.

Під час Другої світової війни Німеччина мала велику потребу у гліцеролі, для виготовлення вибухової речовини нітрогліцеролу. Імпорт гліцеролу був обмежений британською морською блокадою, тому здійснювались спроби налагодити власне виробництво. На той час було відомо, що гліцерол у невеликих кількостях утворюється під час спиртового бродіння за участі *S. cerevisiae*. Німецький вчений Карл Нойберг знайшов спосіб модифікувати процес таким чином, щоб вихід цієї речовини був значно вищим. Для цього він додав у середовище із дріжджами 3,5 % сульфату натрію при рН 7,0.

#### **Контрольні питання**

1. Які групи організмів збуджують спиртове бродіння?
2. Опишіть особливості хімізму спиртового бродіння.
3. Яка енергетика цього процесу? На яких його етапах утворюється АТФ?
4. Яка роль спиртового бродіння для біотехнологічних виробництв?

#### Лекція 9. МАСЛЯНОКИСЛЕ БРОДІННЯ

##### План

1. Загальне поняття про маслянокисле бродіння.
2. Хімізм маслянокислого бродіння.
3. Застосування маслянокислого бродіння в біотехнологічних виробництвах.

#### **1. Загальне поняття про маслянокисле бродіння.**

Маслянокисле бродіння – це метаболічний шлях перетворення глюкози та її похідних, кінцевими продуктами якого є масляна кислота, бутанол, ацетон, ізопропанол, етанол, оцтова кислота, вуглекислий газ і водень, що супроводжується виділенням енергії, яка запасується у формі макроергічних зв'язків АТФ. Маслянокисле бродіння було відкрите у 1861 році Луї Пастером. Збудниками цього типу бродіння є облигатно анаеробні бактерії роду *Clostridium* (*C. pasteurianum*, *C. butyricum*, *C. acetobutylicum*, *C. pectinovorum*), а

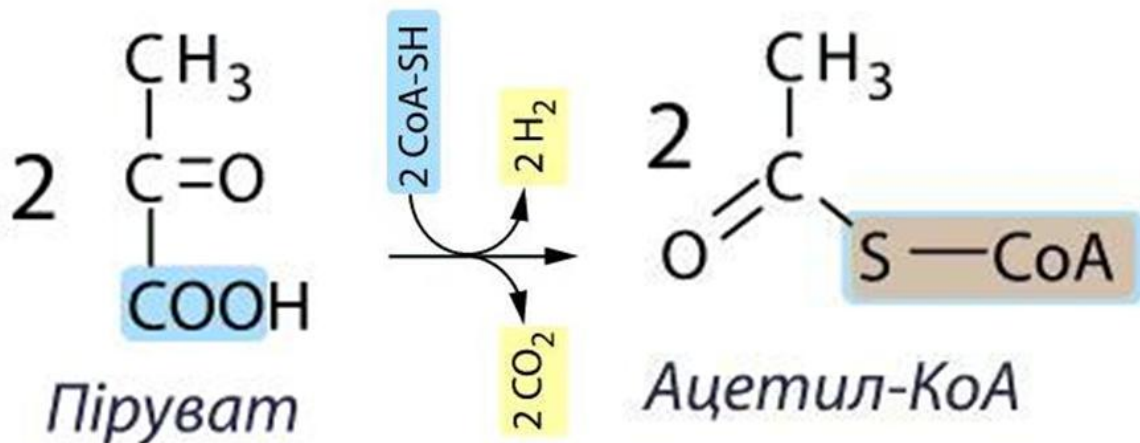
також бактерії мікрофлори рубця жуйних тварин *Butyrivibrio* та кишківника людини *Eubacterium* і *Fusobacterium*.

## 2. Хімізм маслянокислого бродіння.

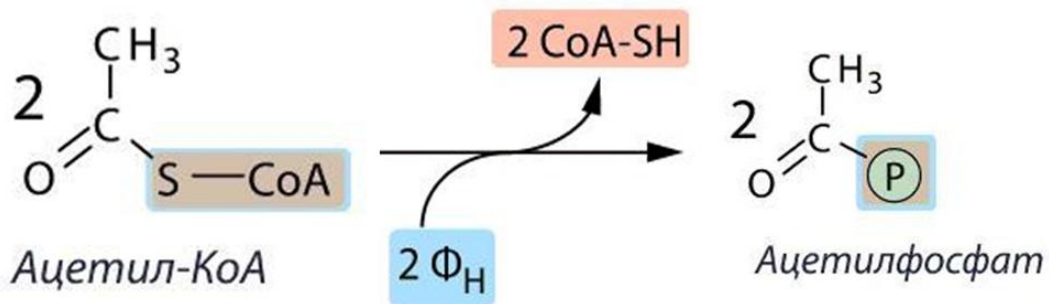
Маслянокисле бродіння розпочинається з гліколітичного розщеплення глюкози до пірвіноградної кислоти, тому перша серія його реакцій є такими ж як у гомоферментативного молочнокислого та спиртового типів бродіння.

Утворені молекули пірвіноградної кислоти, залежно від умов середовища, можуть перетворюватись шістьма різними способами, внаслідок чого утворюються різні кінцеві продукти – оцтова кислота, масляна кислота, ацетон, ізопропанол, бутанол або етиловий спирт.

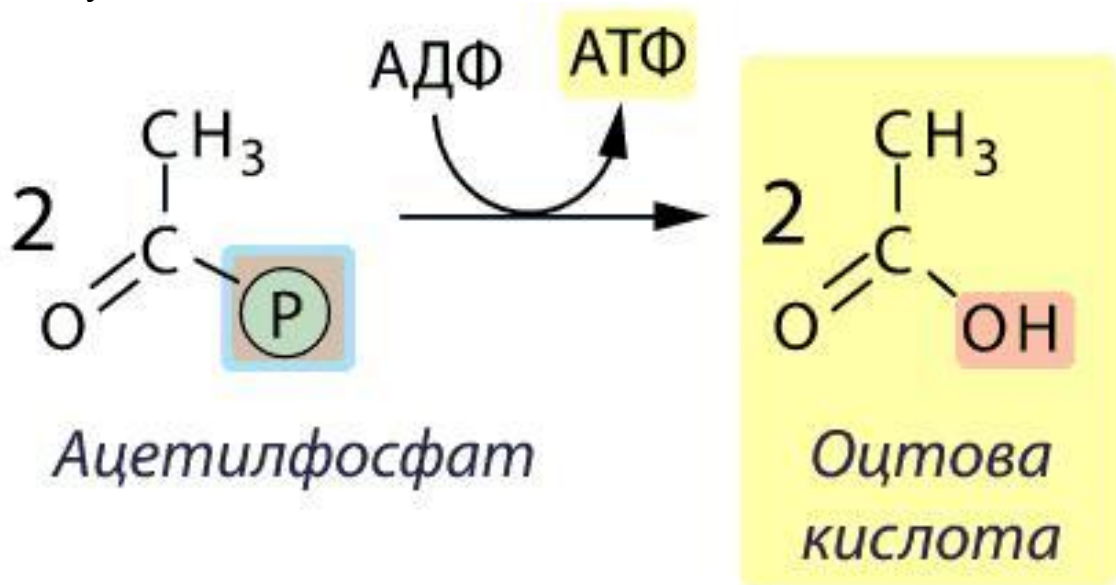
Перший метаболічний шлях маслянокислого бродіння, що веде до утворення оцтової кислоти, розпочинається з декарбоксілювання пірвіноградної кислоти до ацетил-КоА. Цей процес супроводжується виділенням вуглекислого газу та відновленням ферредоксину, який взаємодіє із гідрогеназою, внаслідок чого утворюється водень:



Ацетил-КоА є високоенергетичною сполукою, оскільки містить макроергічний тіоефірний зв'язок між коферментом А і ацетильною групою, що є похідним пірвіноградної кислоти, тому його енергії достатньо для фосфорилування АДФ. У частині молекул ацетил-КоА залишок коферменту А замінюється на фосфатну групу, внаслідок чого синтезується ацетилфосфат:



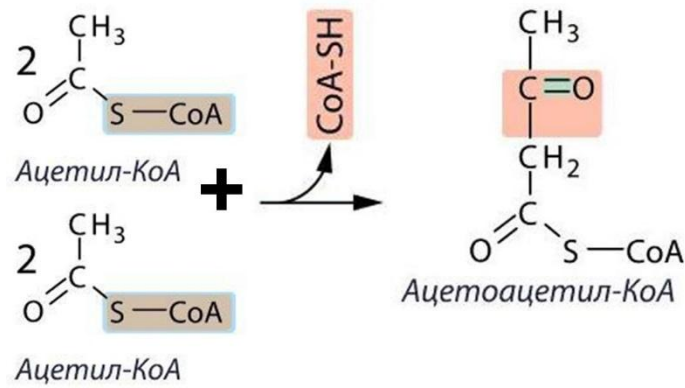
Далі фосфатна група з ацетилфосфату переноситься на АДФ, забезпечуючи синтез АТФ:



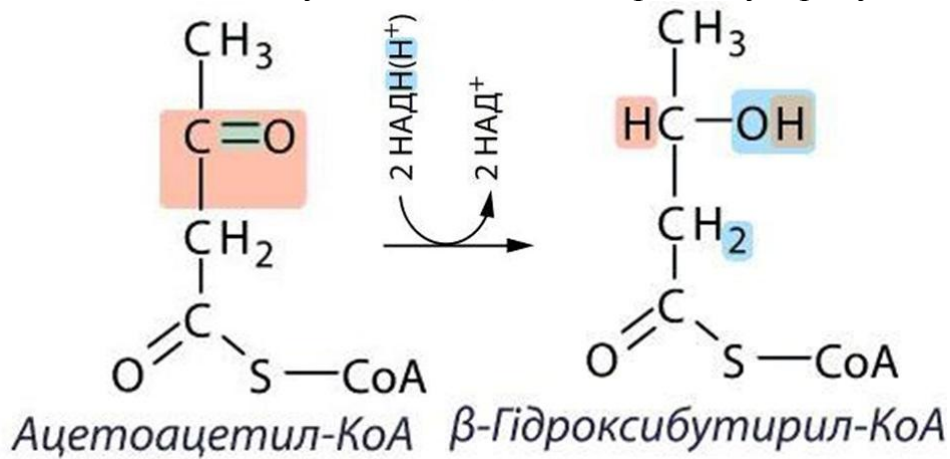
Ця гілка маслянокислого бродіння є енергетично вигідна, оскільки дозволяє отримати 4 молекули АТФ з 1 молекули глюкози (2 – в реакціях гліколізу, і ще 2 – при утворення оцтової кислоти з ацетилфосфату), проте вона має два суттєві недоліки:

- по-перше, метаболізм глюкози цим шляхом призводить до дуже різкого закисання середовища, внаслідок чого ріст бактерій може пригнічуватись;
- по-друге, цей шлях не дозволяє клітині окиснити відновлені переносники електронів НАДН, що утворились в процесі гліколізу.

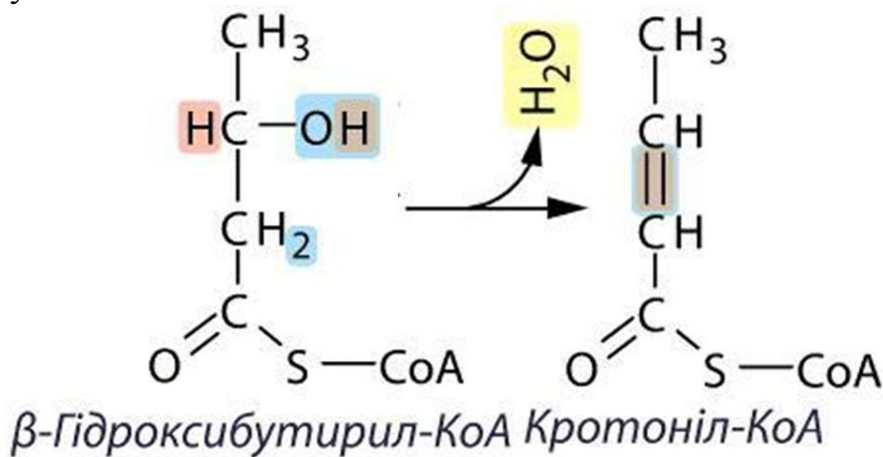
Другий метаболічний шлях маслянокислого бродіння, що призводить до утворення масляної кислоти, аналогічно першому, починається з декарбоксілювання піровиноградної кислоти до ацетил-КоА, але подальший метаболізм цієї сполуки відмінний. Наступною реакцією цього шляху є конденсація двох молекул ацетил-КоА внаслідок чого утворюється ацетоацетил-КоА:



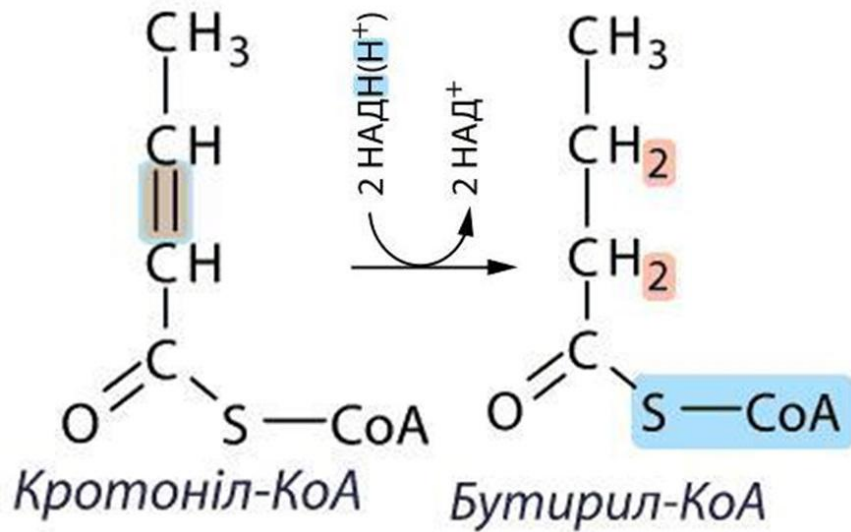
Синтезований ацетоацетил-КоА після серії реакцій перетворюється на бутирил-КоА. Починається цей процес з відновлення ацетоацетилю-КоА НАДН<sub>2</sub> до гідроксибутирилу-КоА:



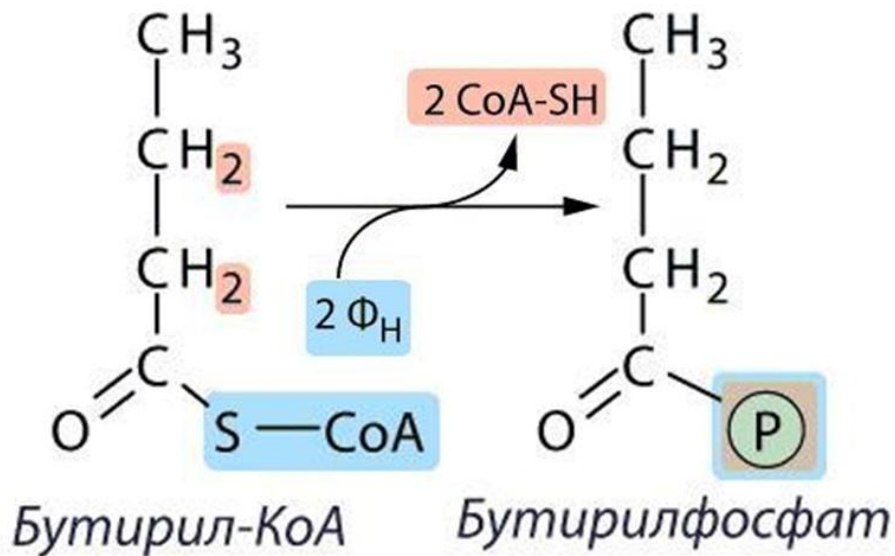
Потім гідроксибутирил-КоА дегідратується з утворенням кротоноілу-КоА:



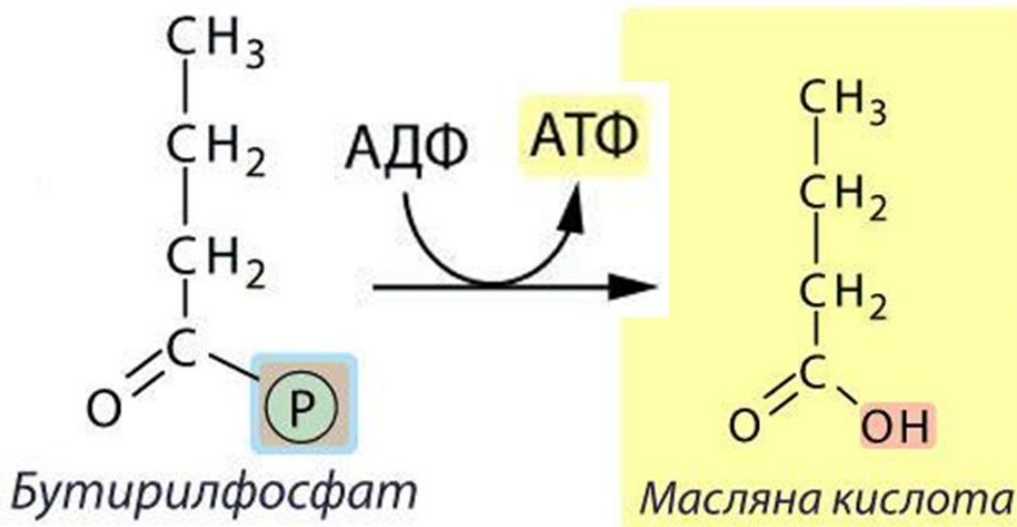
А кротоноіл-КоА відновлюється ще однією молекулою НАДН<sub>2</sub> до бутирилу-КоА:



Бутирил-КоА має достатньо енергії для утворення макроергічного зв'язку з фосфором, тому залишок коферменту А в ньому може замінюватись на фосфатну групу з утворенням бутирилфосфату:



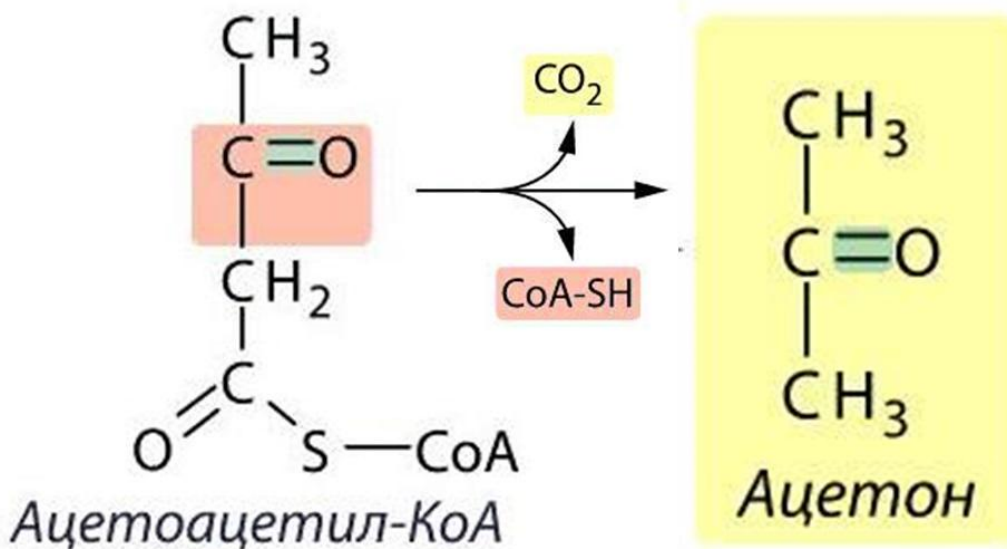
Фосфатна група у молекулі бутрилфосфату використовується у реакції субстратного фосфорилування АДФ, продуктами якої є АТФ і масляна кислота:



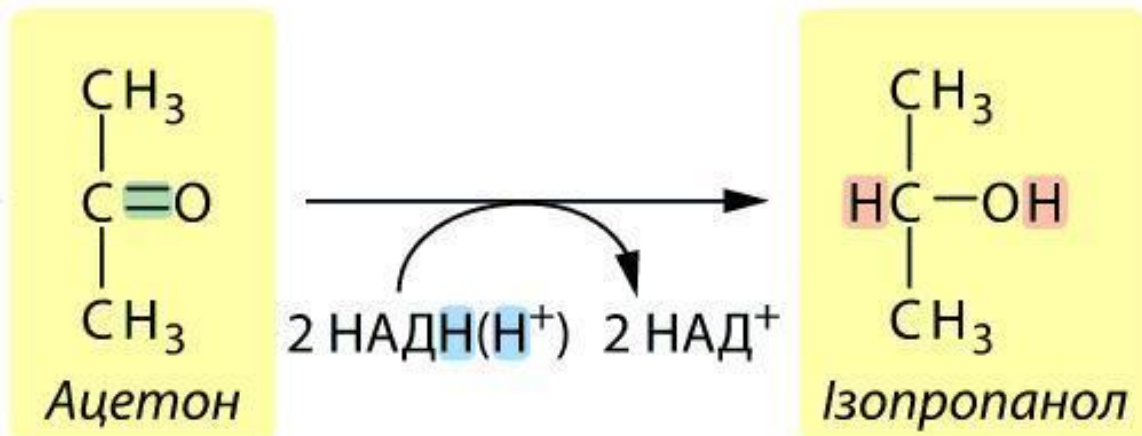
Кінцевим продуктом цієї гілки маслянокислого бродіння є масляна кислота. Порівняно з першим метаболічним шляхом, другий уповільнює процес закисання середовища, оскільки з однієї молекули глюкози утворюється лише одна молекула кислоти (на відміну від першого шляху, у якому синтезується дві молекули оцтової кислоти). Також позитивною особливістю цього шляху є окиснення відновленого НАДН<sub>2</sub>, та енергетичний вихід другого шляху є нижчим – з однієї молекули глюкози утворюється лише три молекули АТФ.

Якщо середовище протікання маслянокислого бродіння сильно закисає і значення його рН падає нижче 4,4, то у бактерій активуються інші шляхи метаболізму, вторинними метаболітами яких виступають не кислоти, а інші органічні речовини, такі як ацетон, ізопропанол, бутанол або етиловий спирт. Кожен з цих шляхів утилізує відновлений кофермент НАДН<sub>2</sub>, але їхній енергетичний вихід не перевищує двох молекул АТФ на одну молекулу глюкози.

Третій метаболічний шлях маслянокислого бродіння, що синтезує ацетон, розпочинається аналогічно другому з утворення ацетил-КоА і конденсації його двох молекул до ацетоацетил-КоА. Але на відміну від другого метаболічного шляху, утворена сполука не відновлюється НАДН<sub>2</sub> до гідроксибутирилу-КоА, а перетворюється на ацетон:

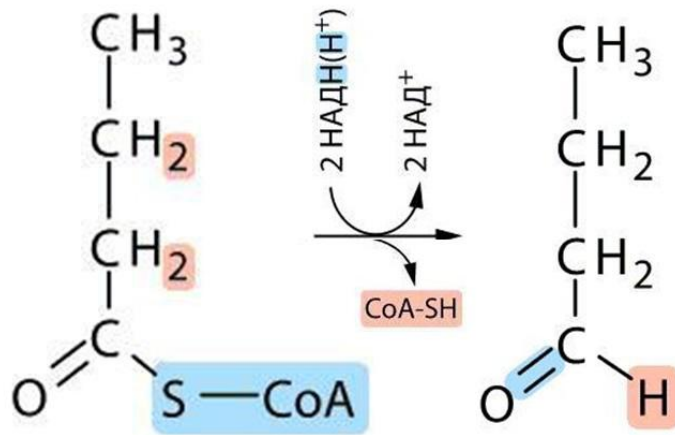


Четвертий метаболічний шлях маслянокислого бродіння протікає якщо третій шлях не закінчується утворенням ацетону. Тоді утворена молекула ацетону відновлюється молекулою НАДН<sub>2</sub> до ізопропанолу:



П'ятий метаболічний шлях маслянокислого бродіння, що призводить до утворення бутанолу, протікає за умов підвищеної кислотності середовища (рН нижче 4,4) і є відгалуженням другого метаболічного шляху на етапі перетворення бутирил-КоА. В таких умовах, утворена з кротонілу-КоА молекула бутирилу-КоА не перетворюється на фосфат, а реагує з відновленою формою коферменту НАДН<sub>2</sub>, втрачаючи ферментну групу (кофермент А). Продуктом реакції є масляний альдегід, а відновлений НАДН<sub>2</sub> окиснюється до НАД<sup>+</sup>:

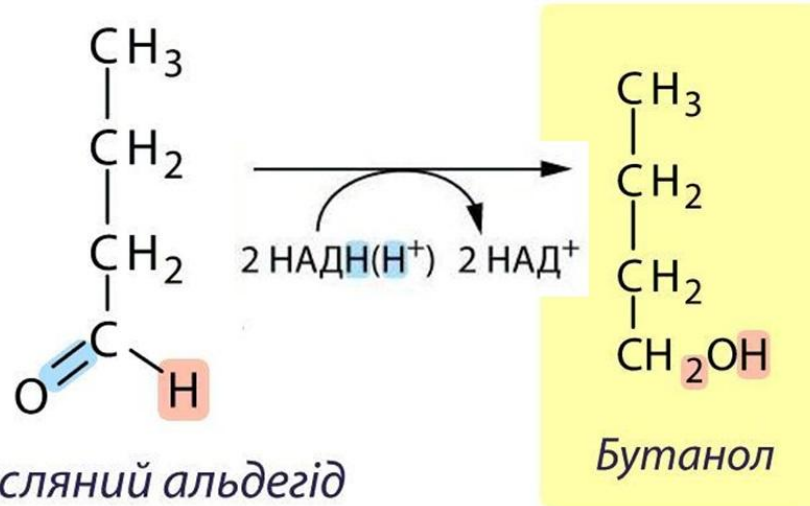




Бутирил-КоА

Масляний альдегід

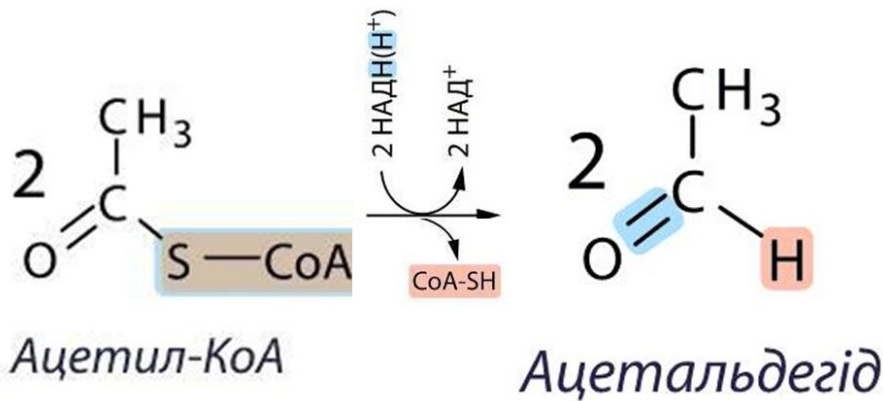
Далі молекула масляного альдегіду реагує ще з однією молекулою коферменту НАДН<sub>2</sub> і відновлюється до бутанолу:



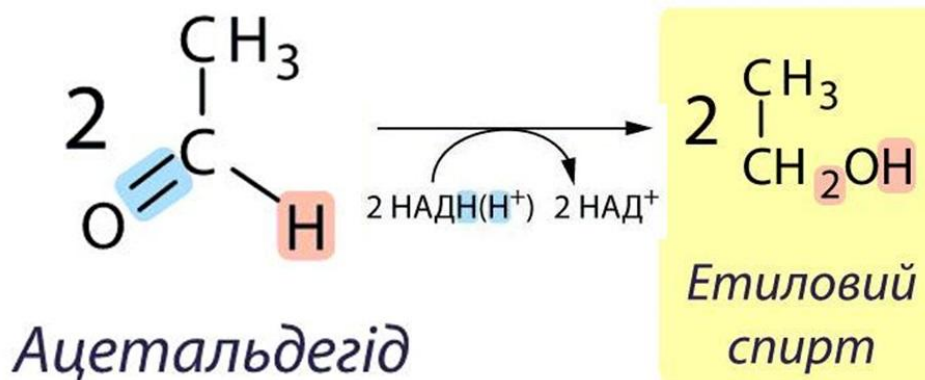
Масляний альдегід

Бутанол

Шостий метаболічний шлях маслянокислого бродіння, що призводить до утворення етилового спирту, протікає за умов підвищеної кислотності, коли значення рН опускається до 4,4 і нижче. У таких умовах ацетил-КоА, що утворюється з молекули пірвовиноградної кислоти, не перетворюється на фосфат, як у першому метаболічному шляху, не конденсується з іншою молекулою ацетилю-КоА, (що веде до утворення ацетоацетилю-КоА), як у другому метаболічному шляху, а реагує з відновленою формою коферменту НАДН<sub>2</sub>, втрачає ферментну групу (кофермент А) й перетворюється на ацетальдегід:



Потім утворений ацетальдегід реагує ще з однією молекулою НАДН<sub>2</sub> і відновлюється до етилового спирту:



### 3. Застосування маслянокислого бродіння в біотехнологічних виробництвах.



Рис. 1. Хаїм Вейцман (1884–1952) – ізраїльський учений-хімік, перший президент

Використання маслянокислого бродіння у промислових масштабах почалось під час Першої світової війни. Британці потребували великої кількості органічних розчинників бутанолу (для виробництва штучної гуми) та ацетону (як розчинник нітроцелюлози у процесі виготовлення бездимного вибухового порошу кордиту). Ці речовини добували методом піролізу деревини, при чому на виготовлення однієї тони ацетону потрібно було витрати 80 – 100 тон берези, бука або клена. У 1915 році молодий вчений Хаїм Вейцман (рис. 1) розробив метод бродіння за допомогою бакетрії *Clostridium acetobutylicum*, який дозволяв перетворювати 100 т меляси у 12 т ацетону та 24 т бутанолу. Пізніше він вдосконалив цей метод, знайшовши штам бактерій, що виділяв особливо багато потрібних

розчинників. Ацетон та бутанол отримували шляхом маслянокислого бродіння до 1950 – 1940 років, коли цей метод був замінений дешевшим.

Гілки маслянокислого бродіння, що призводять до утворення ацетону та бутанолу, по іншому ще називають ацетоно-бутиловим бродінням.

У харчовій промисловості маслянокисле бродіння використовується для промислового отримання масляної кислоти, ефіри якої мають приємний фруктовий аромат і використовуються в кондитерській, безалкогольній та парфумерній промисловості.

Маслянокисле бродіння може мати й негативне значення, оскільки призводить до утворення масляної кислоти, що має неприємний запах прогірклого масла і її поява псує харчові якості молока та інших продуктів. Також може спричинювати бомбаж консервів.

### **Контрольні питання**

1. Які групи організмів збуджують маслянокисле бродіння?
2. Опишіть особливості протікання першого метаболічного шляху маслянокислого бродіння.
3. Опишіть особливості протікання другого метаболічного шляху маслянокислого бродіння.
4. Опишіть особливості протікання третього і четвертого метаболічних шляхів маслянокислого бродіння.
5. Опишіть особливості протікання п'ятого метаболічного шляху маслянокислого бродіння.
6. Опишіть особливості протікання шостого метаболічного шляху маслянокислого бродіння.
7. Яке значення маслянокислого бродіння для біотехнологічних виробництв?

## **Лекція 10. ПРОПІОНОВОКИСЛЕ БРОДІННЯ**

### **План**

1. Загальне поняття про пропіоновокисле бродіння.
2. Хімізм пропіоновокислого бродіння.
3. Застосування пропіоновокислого бродіння в біотехнологічних виробництвах.

### **1. Загальне поняття про пропіоновокисле бродіння.**

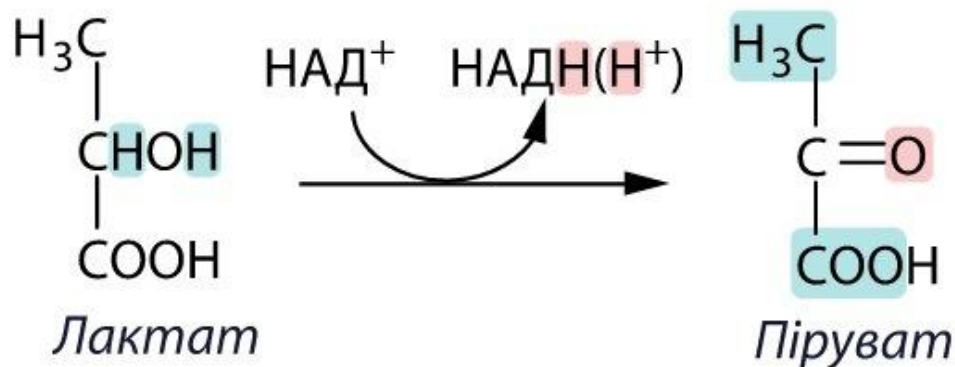
Пропіоновокисле бродіння – це метаболічний шлях анаеробного

перетворення вуглеводів (глюкоза, лактоза та ін.), деяких спиртів та молочної кислоти, в результаті чого виділяється енергія. Кінцевими продуктами цього типу бродіння є пропіонова та оцтова кислоти і вуглекислий газ. Пропіоновокисле бродіння характерне для бактерій з родини *Propionibacteriaceae*, що розвиваються як в аеробних, так і в анаеробних умовах і входять до складу мікрофлори рубця і кишківника жуйних тварин, а також наявні в молочнокислих продуктах. В окремих представників виявлена здатність до азотфіксації.

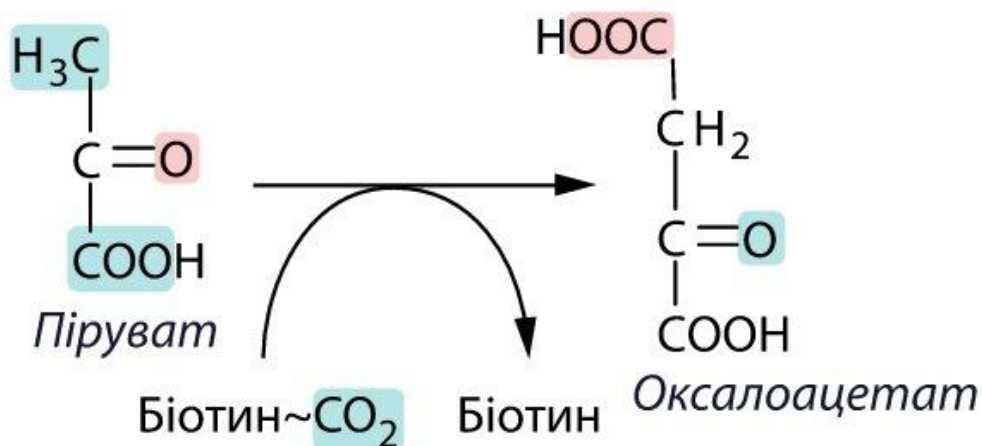
## 2. Хімізм пропіоновокислого бродіння.

Хімізм пропіоновокислого бродіння сильно змінюється в залежності від умов. Очевидно, це пов'язано зі здатністю пропіоновокислих бактерій корелювати протікання свого обміну речовин з наявністю кисню у середовищі. В аеробних умовах, ці бактерії окиснюють гексози, а в анаеробних розщеплюють їх шляхом бродіння. Ці мікроорганізми здатні фіксувати вуглекислий газ, акцептором якого виступає пірвіноградна кислота, що, карбоксилуючись, перетворюється у щавелевооцтову кислоту.

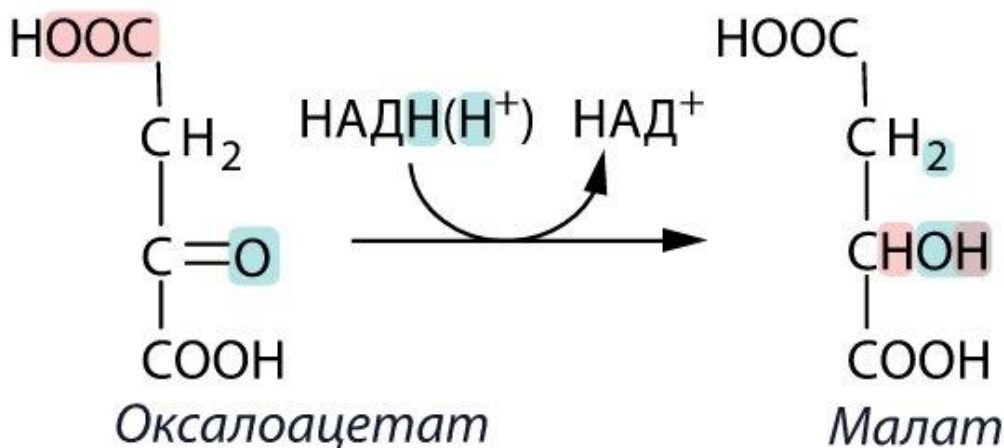
Починається пропіоновокисле бродіння після молочнокислого, коли в середовищі утворюється велика кількість молочної кислоти. Першою реакцією цього типу бродіння є окиснення молекули молочної кислоти (лактату) коферментом НАД<sup>+</sup>, що виступає акцептором водню і відновлюється до НАДН<sub>2</sub>, до пірвіноградної кислоти:



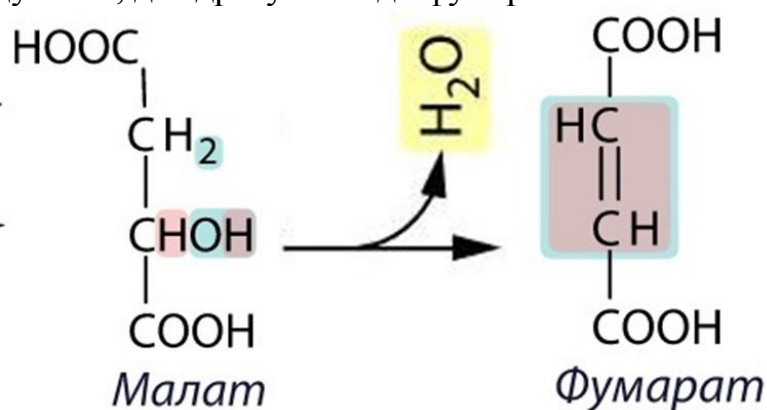
Утворена молекула пірвіноградної кислоти у наступній реакції транскарбоксилювання виступає акцептором вуглекислого газу, донором якого слугує метилмалонін-КоА, а переносником – біотин. Продуктом реакції є щавелевооцтова кислота (оксалоацетат):



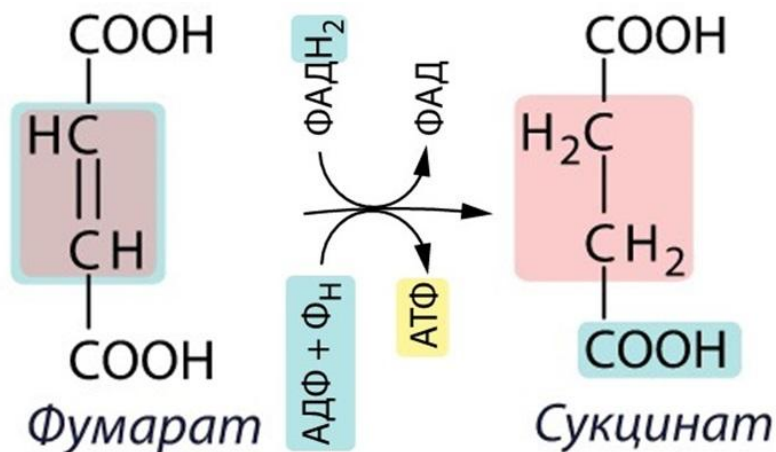
Далі щавелевооцтова кислота, під впливом ферменту малатдегідрогенази, відновлюється коферментом НАДН<sub>2</sub> до яблучної кислоти (малату):



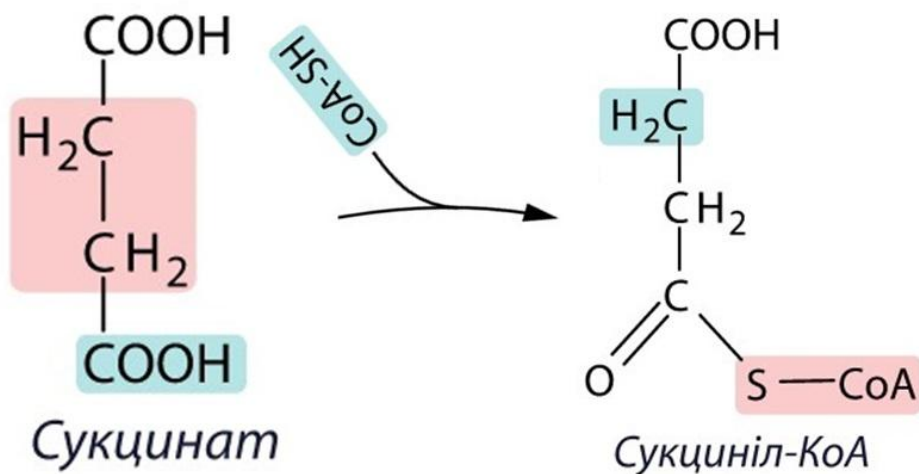
Утворена молекула яблучної кислоти, під впливом ферменту фумаратредуктази, дегідратується до фумарової кислоти:



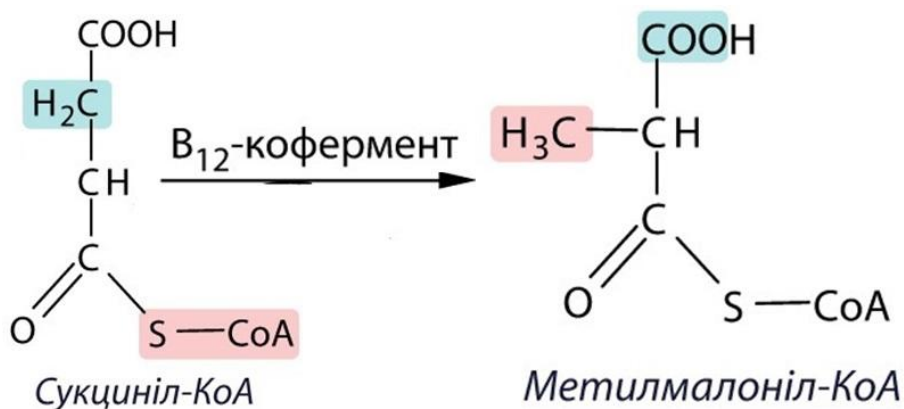
Далі фумарова кислота, під впливом ферменту сукцинатдегідрогенази, відновлюється відновленою формою коферменту ФАДН<sub>2</sub> (флавінаденіндинуклеотид). З переносом електронів у цій реакції сполучене фосфорилування АДФ до АТФ. Продуктом реакції є бурштинова кислота (сукцинат):



У наступній реакції бурштинова кислота реагує з коферментом А перетворюючись на сукциніл-КоА. :

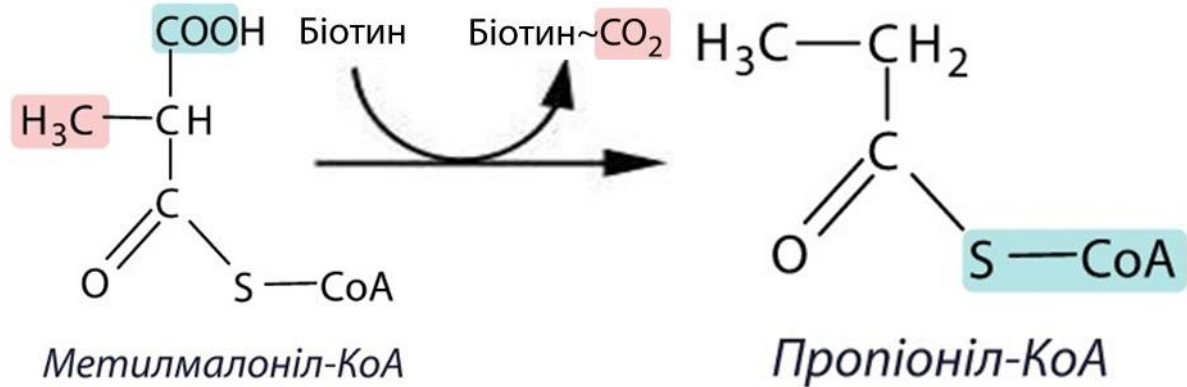


Потім в молекулі сукциніл-КоА, під впливом метилмалоніл-КоА-мутази, що містить кофермент В<sub>12</sub>, відбувається перегрупування атомів внаслідок чого утворюється його стереоізомер (R)-метилмалоніл-КоА:

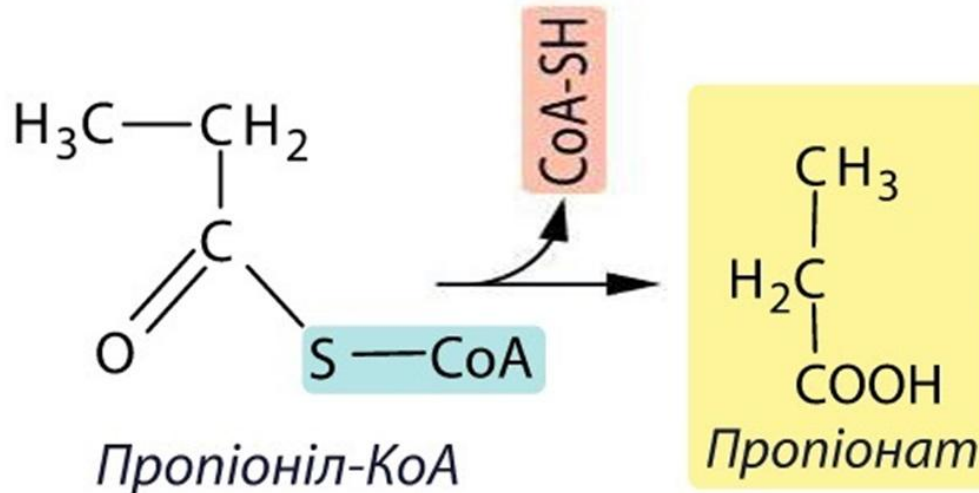


Наступною є реакція декарбоксілювання метилмалонілу-КоА до пропіонілу-КоА. Акцептором вуглекислого газу у цій реакції виступає

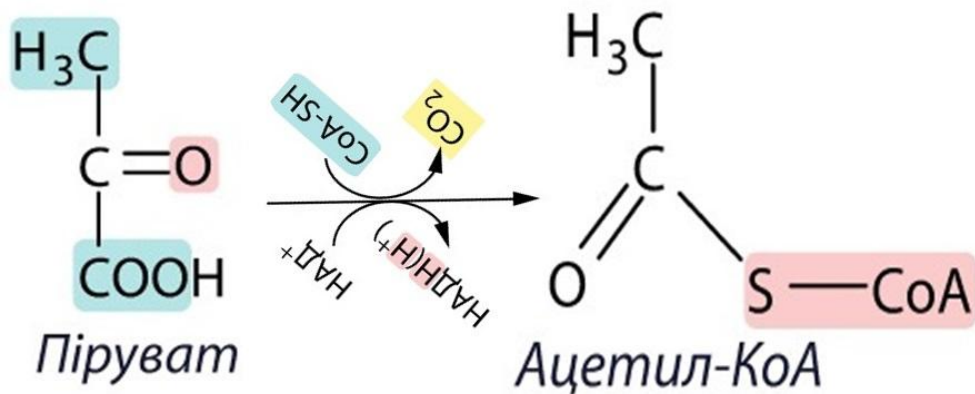
піруват, а переносником біотин (див. другу реакцію цього циклу):



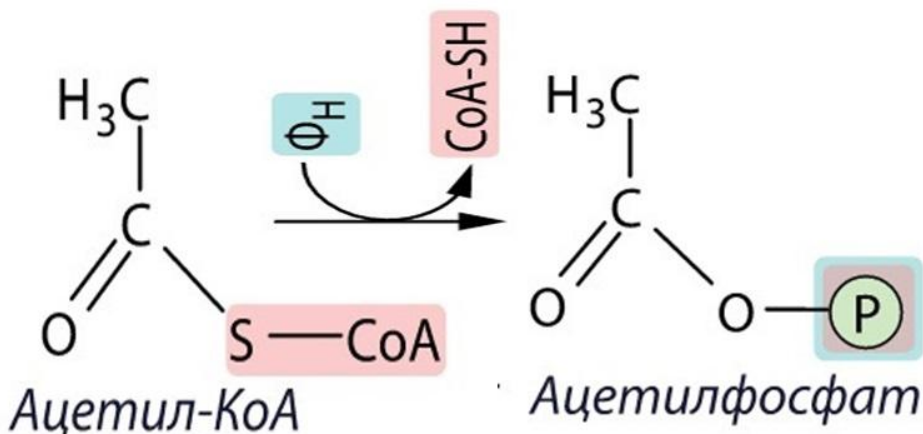
Далі пропіоніл-КоА роз'єднується з коферментом А, котрий звільняється і знову переноситься на сукцинат (бурштинову кислоту), а продуктом реакції є один з кінцевих продуктів пропіоновокислого бродіння – пропіонова кислота (пропіонат):



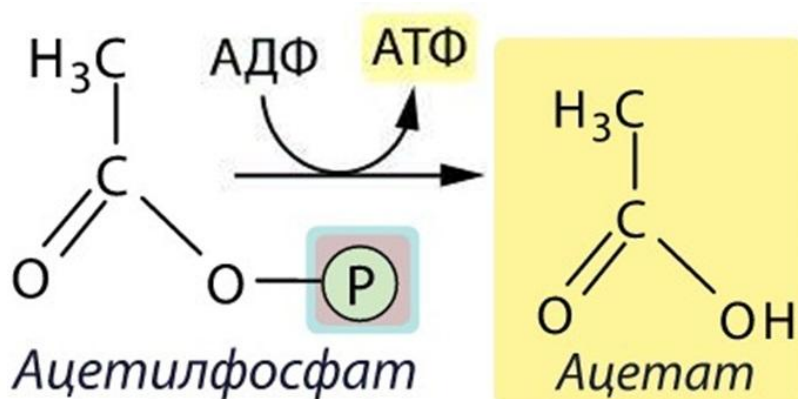
Проте це не єдиний метаболічний шлях у пропіонокислому бродінні. Перетворення утвореного з молочної кислоти пірувату може протікати іншим шляхом. Замість карбоксилювання з утворенням оксалоацетату, піровиноградна кислота може декарбоксилюватись, реагуючи з коферментом А й з окисненою формою коферменту НАД<sup>+</sup>. У випадку цієї реакції продуктами будуть відновлений НАДН<sub>2</sub>, вуглекислий газ та синтезований ацетил-КоА:



Синтезована молекула ацетил-КоА є енергетичною сполукою, оскільки містить макроергічний тіоефірний зв'язок між коферментом А та ацитильною групою, що була приєднана до коферменту з піровиноградної кислоти. Ця сполука здатна переносити ацетильну групу на інші акцептори, внаслідок чого продовжуються їхні вуглецеві ланцюги, або під впливом ферменту фосфотрансацетилази, замінювати її на фосфатну групу:



Далі фосфатна група у молекулі ацетилфосфату використовується у реакції субстратного фосфорилування АДФ, продуктами якої є АТФ і ацетат. Каталізує реакцію фермент ацетилкіназа:



Отож, енергетичний вихід перетворення однієї молекули



молочної кислоти у процесі пропіоновокислого бродіння складає 1 молекула АТФ (під час відновлення фумарату коферментом ФАДН<sub>2</sub> або внаслідок субстратного фосфорилування в реакції дефосфорилування ацетилфосфату до ацетату). Відновлений кофермент НАДН<sub>2</sub>, що утворюється внаслідок окиснення лактату до пірувату, знову окиснюється в реакції відновлення оксалоацетату до малату, або під час синтезу ацетил-КоА з пірвіноградної кислоти.

### **3. Застосування пропіоновокислого бродіння в біотехнологічних виробництвах.**

Бактерії, що збуджують пропіоновокисле бродіння, використовуються для виробництва швейцарських сортів сиру. Виділення кислот і газу цими мікроорганізмами важливе для остаточного формування смаку та утворення “вічок” у цих сортах сиру.

Основна роль пропіоновокислих бактерій у дозріванні сирів полягає у використанні лактатів, утворених молочнокислими бактеріями при зброджуванні лактози молока, при цьому лактати перетворюються в пропіонову і оцтову кислоти та вуглекислий газ. Кислоти забезпечують гострий смак сирів і беруть участь у консервації молочного білка казеїну та гідролітичному розщепленні ліпідів з утворенням жирних кислот, що є важливим для розвитку органолептичних властивостей сиру. Окремі леткі речовини (ацетон, диацетил, диметилсульфід, ацетальдегід), що також утворюються в процесі пропіоновокислого бродіння, беруть участь у формуванні ароматів певних сортів сиру. Виділення вуглекислого газу забезпечує утворення “вічок”, що формують особливий малюнок сиру.

Пропіоновокисле бродіння також широко застосовують для мікробіологічного синтезу вітаміну В<sub>12</sub>.

#### **Контрольні питання**

1. Які групи організмів збуджують пропіоновокисле бродіння?
2. Опишіть особливості хімізму та енергетики пропіоновокислого бродіння.
3. Яке значення пропіоновокислого бродіння для біотехнологічних виробництв?

## Лекція 11. ОЦТОВОКИСЛЕ, ЛИМОННОКИСЛЕ ТА МЕТАНОВЕ БРОДІННЯ

### План

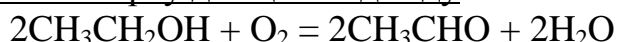
1. Особливості протікання оцтовокислого бродіння та його значення для біотехнологічних виробництв.
2. Особливості протікання лимоннокислого бродіння та його значення для біотехнологічних виробництв.
3. Особливості протікання метанового бродіння та його значення для біотехнологічних виробництв

#### **1. Особливості протікання оцтовокислого бродіння та його значення для біотехнологічних виробництв.**

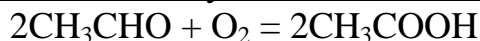
Оцтовокисле бродіння – це процес окиснення етилового спирту до оцтової кислоти. Збудниками є оцтовокислі бактерії (*Bacterium aceti*, *B. pasteurianum*, *B. xylinum* та ін.). Мікробіологічна природа цього процесу була встановлена Луї Пастером у 1862 р. Енергетичний вихід складає 117 ккал.

Оцтовокисле бродіння протікає у дві стадії:

1. Окиснення спирту до ацетальдегіду:



2. Окиснення ацетальдегіду до оцтової кислоти:



Реакції оцтовокислого бродіння протікають в аеробних умовах, при цьому кисень виступає акцептором водню. В анаеробних умовах оцтовокислі бактерії для живлення використовують також спирт, але оцтової кислоти при цьому не синтезують.

Оцтовокислі бактерії широко поширені в природі і розвиваються на зрілих ягодах, плодах, у вині, пиві, квасі, квашених овочах тощо. На поверхні субстрату (найчастіше вина або пива) утворюють плівки і окиснюють його спирт до оцтової кислоти. Вони здатні витримувати 10–12% концентрацію спирту і утворюють в середовищі від 6 до 11,5% оцтової кислоти. Харчові продукти після оцтового бродіння набувають характерного оцтового запаху, стають мутними і навіть ослизнюються.

Оцтовокислі бактерії здатні зброджувати не тільки етиловий спирт, а й інші первинні спирти, перетворюючи їх у відповідні кислоти. Вони здатні також окислювати вторинні спирти в кетони.

У біотехнологічному виробництві використовується для отримання харчового оцту. Вихідним субстратом для отримання цього продукту слугує виноградне або плодово-ягідне вино, а найчастіше – підкислений оцтом розчин, що містить спирт. У такий розчин додають

також необхідні для бактерій мінеральні солі та інші поживні речовини.

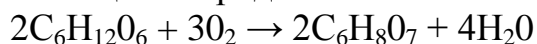
Після бродіння вміст оцтової кислоти в субстраті може доходити до 9%. Такий оцет розбавляють до 4,5–6% оцтової кислоти, а потім направляють у продаж.

Промислове значення також має окиснення шестиатомного спирту сорбіту в сорбозу, яка потім використовується для одержання аскорбінової кислоти (вітаміну С). Вихід сорбози складає 80–90% від вихідного об'єму сировини.

## **2. Особливості протікання лимоннокислого бродіння та його значення для біотехнологічних виробництв.**

Лимоннокисле бродіння – це аеробний процес окиснення моносахаридів, деяких спиртів і органічних кислот до лимонної кислоти. Збудниками цього процесу є цвілеві гриби з родів *Aspergillus* і *Penicillium*.

Сумарне рівняння цього бродіння:



Хімізм лимоннокислого бродіння протікає таким чином: спочатку з вуглеводів гриб утворює пірвіноградну кислоту, яка потім перетворюється на щавлевооцетову кислоту; остання за участю ферменту цитратсинтази конденсується з ацетатом за участю коферменту А з утворенням лимонної кислоти.

Окрім лимонної кислоти, при лимоннокислому бродінні утворюються невелика кількість глюконової, оцтової, бурштинової, фумарової, яблучної і щавлевої кислот.

У біотехнологічних виробництвах лимоннокисле бродіння використовують для промислового отримання лимонної кислоти за технологією В.С. Буткевича і С.П. Костичева. Ця технологія полягає у збродженні меляси (чорної патоки), яка містить близько 15% цукрів, цвілевими грибами, найчастіше виду *Aspergillus niger*, який утворює переважно лимонну кислоту і лише в невеликій кількості інші кислоти. Процес триває 6–8 днів, а вихід лимонної кислоти досягає 60–70% від витрат цукрів. Ця технологія отримання лимонної кислоти є набагато ефективнішою ніж дорогий спосіб одержання її з плодів, що використовувався раніше, адже вміст лимонної кислоти в плодах не перевищує 7–9%.

## **3. Особливості протікання метанового бродіння та його значення для біотехнологічних виробництв.**

Метанове бродіння – це біотехнологічний метод, який полягає у

ферментативному перетворенні в анаеробних умовах органічних полімерних сполук на метан і вуглекислий газ.

Для біотехнологічної анаеробної ферментації використовують герметичні резервуари – метантенки (від англ. *methane tank* – метанний бак). У метантенки заселяється біоценоз, що складається з різних мікроорганізмів, які комплексно забезпечують перетворення субстрату на біогаз. У якості субстратів для метанового бродіння використовуються відходи сільського господарства, стоки переробних підприємств, що містять цукор, побутові відходи, стічні води міст, спиртових заводів тощо.

Мікроорганізми біоценозів метантенків за харчовими потребами поділяються на три типи:

1. Гідролізні або ацетогенні – це протеолітичні, целюлозолітичні, облігатні та факультативні анаероби.
2. Гомоацетатні бактерії.
3. Метаногенні бактерії – хемолітотрофи, що переробляють оксид вуглецю і водень на метан і воду, а також ниткоподібні палички, кокита ланцетоподібні бактерії, що переробляють мурашину і оцтову кислоти та метанол на метан і оксид вуглецю.

Сумарне рівняння метанового бродіння:

Органічні сполуки +  $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2 + \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + \text{NH}_4 + \text{HCO}_3$ .

Процес метанового бродіння складається з чотирьох етапів:

- I. Гідроліз – це розщеплення спеціалізованими бактеріями полімерних органічних сполук на прості розчинні сполуки, доступні іншим мікроорганізмам (деполімеризація): вуглеводів – на цукри, жирів – на жирні кислоти, білків – на амінокислоти.
- II. Ацидогенез – перетворення цукрів та амінокислот на вуглекислий газ, водень, аміак і органічні кислоти.
- III. Ацетогенез – перетворення органічних кислот на оцтову кислоту, аміак, водень, та вуглекислий газ.
- IV. Метаногенез – перетворення цих продуктів на метан і вуглекислий газ археями-метаногенами.

Метанове бродіння в біотехнологічних виробництвах використовується для перероблення різних органічних відходів та отримання з них палива. Це один з ефективних методів очищення стічних вод, обробки осадів первинних відстійників і надлишкового активного мулу очисних споруд каналізації.

### **Контрольні питання**

1. Які особливості протікання оцтовокислого бродіння та яке його значення для біотехнологічних виробництв?
2. Які особливості протікання лимоннокислого бродіння та яке його значення для біотехнологічних виробництв.
3. Які особливості протікання метанового бродіння та яке його значення для біотехнологічних виробництв?

**ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3.**  
**ПРОЦЕСИ ТА АПАРАТИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ**  
**ВИРОБНИЦТВ У ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВОСТІ.**

**Лекція 12. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА КЛАСИФІКАЦІЯ**  
**ХАРЧОВИХ ВИРОБНИЦТВ**

План

1. Основні компоненти харчових продуктів.
2. Сировина та асортимент харчових продуктів.
3. Класифікація харчових виробництв.
4. Використання відходів в харчовій промисловості.

**1. Основні компоненти харчових продуктів.**

Харчування є основною умовою існування людей, оскільки з їжею організм людини отримує все необхідне для побудови всіх клітин та тканин організму, а також поповнює витрати енергії на виконання всіх видів життєдіяльності. Крім того з харчами в організм людини надходять регулятори життєдіяльності та резервні матеріали. В зв'язку з цим нормальне харчування повинно забезпечити необхідну кількість енергії та матеріалу для відновлення структури організму. *Харчі повинні бути повноцінними і містити в своєму складі білки, жири, вуглеводи, вітаміни, мінеральні речовини та воду.* Основні компоненти їжі – білки, жири та вуглеводи – повинні надходити в організм у добовій нормі: 100, 100 та 400 г відповідно. При окисленні 1 г білка виділяється 16,7, жиру – 37,7, а вуглеводів – 15,7 джоулів енергії.

Біологічна цінність їжі визначається наявністю в ній "незамінних" амінокислот, які не синтезуються в організмі людини і повинні надходити з харчами. Це такі амінокислоти: триптофан, лейцин, ізолейцин, валін, треонін, лізин, метіонін та фенілаланін. Вони надходять в організм у складі білкових молекул.

Для біотехнології виготовлення харчових продуктів найбільшого значення мають такі властивості білків, як здатність до денатурації, набухання (набрякання) та піноутворення.

Незамінними компонентами продуктів харчування є ліпіди. Їх поділяють на прості (жири) і складні (жироподібні речовини, або ліпоїди). За хімічною природою, *жири – це тригліцериди, тобто сполучення гліцерину з трьома жирними кислотами.* Властивості жирів визначаються складом жирних кислот і поділяються на насичені та ненасичені. При температурі тіла, насичені жирні кислоти знаходяться у твердому воскоподібному стані, а ненасичені – у рідкому.

Ненасичені жирні кислоти, на відміну від насичених, є легко розчинними і тому протидіють відкладанню холестерину на стінках кровоносних судин та інших утворень ліпоїдної природи. Поліненасичені жирні кислоти в організмі не синтезуються і повинні поступати з їжею, їхнім основним джерелом є рослинні олії.

Жироподібні речовини або ліпоїди близькі за складом і властивостями до жирів, але мають в складі своєї молекули деякі додаткові групи атомів (фосфоліпіди, гліколіпіди, сульфоліпіди тощо).

Властивості жироподібних речовин та жирів використовуються в харчовій промисловості як емульгатори, тобто речовини, які сприяють утворенню і підвищенню стійкості емульсіям (суміш, що складається з двох взаємно нерозчинних рідин, одна з яких рівномірно розподілена в іншій у вигляді найдрібніших крапель).

Ненасичені жирні кислоти мають властивість приєднувати до своєї молекули водень та інші елементи. Насичення подвійних зв'язків воднем у ненасичених жирних кислотах (гідрогенізація), використовують в промисловості для перетворення рідинних олій у тверді сполуки, наприклад у гідрований жир, який використовують як складову частину маргарину.

Вуглеводи – це джерело енергії та вуглецю для побудови біомолекул в організмі. Це найпоширеніші в природі органічні сполуки. Вони поділяються на:

- моносахариди (прості цукри) – мономери (глюкоза, фруктоза, галактоза, маноза тощо);
- олігосахариди (ди-, три- і тетрасахариди) – полімери, що складаються з невеликої кількості мономерів (2-ох, 3-ох і 4-ох відповідно, наприклад сахароза (буряковий та тростинний цукор), мальтоза (крохмальний цукор), лактоза (молочний цукор) тощо);
- полісахариди – полімери, що складаються із сотень й тисяч моносахаридів (крохмаль, целюлоза, глікоген, пектинові речовини тощо).

Джерелом вуглеводів є продукти рослинного походження – хліб, крупа, картопля, овочі, фрукти, ягоди. Моносахариди легко засвоюються організмом. Вони солодкі на смак і розчинні у воді. Якщо солодкість сахароз (звичайного цукру) прийняти за 1, то солодкість фруктози – 1,73, глюкози – 0,74, галактози – 0,23, лактози – 0,16. Глюкоза, фруктоза та сахароза у вільному стані містяться в плодах та овочах.

Найважливішим полісахаридом для людини є крохмаль. Він міститься у вигляді крохмальних зерен і поділяється на клубневий

(отримується з бульб картоплі) та зерновий (з зернових). Крохмаль має властивість клейстеризації (набрякання у воді і склеюванні), яка використовується в промисловості для вироблення киселів, соусів, пюре тощо.

## **2. Сировина та асортимент харчових продуктів.**

Первинна сировина, з якої отримують продукти харчування, включає сировину рослинного та тваринного походження, а також мінеральні речовини (сіль, сода, синтетичні барвники). У якості вторинної сировини використовуються борошно, цукор, вершкове масло, виноматеріали, дріжджі і т. д.

Сировину для виробництва харчів класифікують за різними ознаками. Найпоширеніші класифікації:

### 1. За вмістом певних харчових речовин:

- вуглеводова;
- жирова;
- білкова;
- мінеральна;
- ефіромасляна.

### 2. За походженням:

- первинного (наприклад, зерно);
- вторинного (наприклад, борошно).

Асортимент харчових продуктів промислового виробництва дуже широкий. Окрім звичайних харчових продуктів, випускаються також продукти спеціального призначення – дитячого, профілактичного, лікувального, призначені для працюючих у суворих кліматичних і складних екологічних умовах тощо.

Згідно потреб населення, основними типами харчових продуктів в Україні є:

- м'ясо та м'ясопродукти (4 200 000 т.)
- риба та рибодукти (1 050 000 т.)
- молоко та молочні продукти (19 500 000 л.)
- яйця (14 млрд. шт.)
- картопля (6 500 000 т.)
- горошина та баштанна продукція (7 700 000 т.)
- фрукти та ягоди (4 300 000 т.)
- цукор (1 900 000 т.)
- олія (632 000 т.)
- хлібопродукти (5 200 000 т.)



### 3. Класифікація харчових виробництв.

За засобами отримання кінцевого продукту виробництва поділяються на:

1. Виробництва, які виробляють продукцію з початкової сировини (цукрова, борошномельна, круп'яна, олійна, виробництво згущеного та сухого молока).
2. Виробництва, які підвищують концентрацію корисного компонента в харчовому продукті (сушильна).
3. Виробництва, які виготовляють продукти з різних складових частин або відходів сировини (консервна, комбікормова).
4. Виробництва, які виготовляють продукти із вторинних продуктів харчових виробництв (хлібопекарська, макаронна).

Виробництво у кожній з перелічених груп технологічних ліній включає три стадії: підготовчу, основну та заключну. На підготовчій стадії сировину чистять, миють, ріжуть, подрібнюють, сортують. На основній стадії сировина проходить всі перетворення, необхідні для виготовлення кінцевого продукту, а на заключній – продукції надають товарного вигляду.

За технологічними підходами до отримання сировини, виробництва поділяють на 3 групи:

- I. Першу групу складають виробництва, продукцію яких одержують шляхом переробки багатокомпонентної суміші сировини. Деякі із складників цієї суміші повністю залучаються до складу кінцевого продукту (хлібопекарське та кондитерське виробництво). У структурі технологічної лінії такого виробництва наявна певна кількість паралельних потоків на підготовчій стадії, які потім, на основній стадії, об'єднуються в один потік. Паралельні потоки на основній стадії використовують лише для збільшення потужності ліній, або для випуску інших сортів продукції.
- II. До другої групи належать виробництва, технологічним лініям яких характерне послідовне проведення технологічних операцій, а продукція за складом речовин не відрізняється від сировини (консервування городини, садовини за допомогою сушіння, заморожування, стерилізації тощо). Паралельні потоки використовують, як і в попередньому випадку, для збільшення потужності та випуску інших сортів продукції.
- III. В третю групу об'єднані виробництва, кінцевий продукт яких отримують одним або кількома технологічними прийомами (екстракція, фільтрування, сортування) із початкової сировини. Сюди належать цукрова, крохмальна, борошномельна та інші промисловості. Технологічні лінії цих виробництв забезпечують

утворення продукції внаслідок багаторазового повторення операцій, що здійснюються в однотипних апаратах та машинах.

#### 4. Використання відходів в харчовій промисловості

Під час технологічного процесу у різних галузях харчової промисловості утворюються різноманітні відходи, що знайшли те чи інше застосування в інших галузях виробництва. Нижче наведені основні типи відходів і типи продукції, що отримується шляхом їх переробки.

<b>Промисловість</b>	<b>Основні відходи виробництва</b>	<b>Частка використання, %</b>	<b>Основні види продукції, одержанні з відходів, або можливий напрямок використання</b>
Спиртова	Післяспиртова масляна барда	98,8	Кормові дріжджі
		51,6	Кормовий концентрат вітаміну В12, бардяний жом, бетаїн, глотамін натрію, глотамінова кислота, гранульовані органічні і мінеральні добрива
	Вуглекислий газ	38,8	Зріджений вуглекислий газ
	Відпрацьовані дріжджі	100	Хлібопекарські дріжджі
	Зернокартопляна барда	100	На корми
Цукробурякова	Буряковий жом	100	На корми
	Меляса	100	Етиловий спирт, харчові кислоти, лізин, кормові домішки, дріжджі
	Дефекаційний шлак (дефекат)	30...40	Кормові домішки, добрива для кислих ґрунтів
	Жомопресова вода	15	Кормові домішки, пектиновий клей
	Дифузійна вода	10	Повернення в основне виробництво
Цукрорафінадне виробництво	Рафінадна патока	100	Молочна кислота, домішки в хлібопекарському та кондитерському виробництвах

Масложирова	Макуха	75	На корми, домішки в галузях харчової промисловості
	Шрот	75	На корми, домішки в галузях харчової промисловості
	Соняшникове лущиння	100 (в т.ч. близько 70 спалюється)	Кормові дріжджі і домішки, спирт, фурбурол, будівельні плити, технологічне паливо
	Фосфатидний концентрат	100	Кормові та харчові домішки, емульгатор в маргариновому виробництві
	Фузи масел	60	Фосфатидний концентрат, сухі харчові фосфати, корми для худоби
	Соняшниковий соапстік	100	Мило, гліцерин, лаки, фарби, спирт-денатурат
Крохмале-патокове, картопле-крохмальне виробництво	Картопляна мезга	100	На корми, етиловий спирт, добрива та ін.

### **Контрольні питання**

1. Що таке харчова цінність їжі?
2. Білки, жири, вуглеводи в продуктах.
3. Вітаміни та мікроелементи в їжі.
4. Фізіологічні норми споживання продуктів.
5. Відходи харчових виробництв і їхнє використання.

### **Лекція 13. ТЕХНОЛОГІЯ ПЕРЕРОБКИ РОСЛИННИХ ЖИРІВ.**

#### План

1. Сировина для виготовлення олії.
2. Технологічна схема виробництва олії.
3. Рафінація олії.
4. Гідрогенізація жирів і технологія одержання маргарину.

#### **1. Сировина для виготовлення олії.**

Основою сировиною для одержання олії є жиромісні рослини: соняшник, кунжут, насіння бавовни, лепехи, льону, сої, рицини, зародки кукурудзи, пшениці, насіння гарбузів, коноплі, кісточок фруктів, маслин, овочів, горіхів і т.д.

Основна олійна культура на Україні – соняшник. Із нього виробляють значну частку загального обсягу виробництва рослинної олії. Кращі сорти соняшника відзначаються високою врожайністю (до 35...40 ц/ га) та олійністю (до 52...60%). Вміст плодової оболонки та лушпинність – 20% і нижче.

Бавовник – друга за значенням олійна культура в світі. Олійність насіння бавовнику складає 22...24%, а лушпинність – (40...44%).

Інші олійні культури переробляють у значно менших об'ємах. Найбільшу роль серед них відіграють льон, соя, рицина, а в останні роки – також і ріпак. Так, насіння льону має олійність 46...48%; сої – 19...22%, рицини – 54...56%.

За способом обробки олія поділяється на:

- I. **Нерафінована олія** – може мати слабке помутніння або "сітку" з воску та воскоподібних речовин.
  - *Вищого сорту* повинна мати смак і запах, властивий для соняшникової олії, без стороннього запаху, присмаку та гіркоти.
  - *I сорту* повинна мати смак і запах, властивий для соняшникової олії, без стороннього запаху, присмаку та гіркоти.
  - *II сорту* може мати трохи затхлий запах чи присмак легкої гіркоти.
- II. **Рафінована олія** повинна бути прозорою і не містити осаду, у ній не повинно бути відстою, фосфоромістких речовин та мила.
  1. Дезодорована – призначається для громадського харчування. Повинна мати позбавлений індивідуальності смак і не мати запаху.
    - *Вищого сорту*.
    - *I сорту*.
    - *II сорту*.
  2. Недезодорована олія повинна мати смак і запах, властивий для соняшникової олії, без стороннього запаху, присмаку та гіркоти.
    - *Вищого сорту*.
    - *I сорту*.
    - *II сорту*.
- III. **Гідратована.**
  - *Вищого сорту* – повинна бути прозорою і не містити осаду, повинна мати смак і запах, властивий для соняшникової олії, без стороннього запаху, присмаку та гіркоти.
  - *I сорту* – повинна бути прозорою і не містити осаду, повинна мати смак і запах, властивий для соняшникової олії, без стороннього запаху, присмаку та гіркоти.

- *II сорту* – може мати слабе помутніння або "сітку" з воску та воскоподібних речовин та трохи затхлий запах чи присмак легкої гіркоти.

## 2. Технологічна схема виробництва олії.

Виробництво рослинної олії складається з таких операцій:

1. Вилучення домішок, підсушування та подрібнення зерна. Кількісний і якісний міст олії в різних частинах плодів олійних культур відрізняється. Основний запас олії міститься у т. зв. ядрі насінини – в зародкові та ендоспермі. Плодова та насінна оболонки містять невелику кількість олії, що має гірший в порівнянні з ядром, ліпідний склад. Тому ці оболонки відокремлюють від ядра за допомогою операції їх руйнування (обрушення) відцентровими облущувальними машинами з отриманням *рушанки* (суміші лушпиння та ядер). Якість рушанки оцінюється вмістом у ній небажаних фракцій: *недорушу* (неповністю очищених ядер), *січки* (зруйнованих ядер) та *олійного пилу*.
2. Відвіювання лузки (лушпиння) від ядер. Здійснюється в аспіраційній камері, що розділяє рушанку на чотири фракції: ядра, недоруш, перевій та лушпиння. *Ядра* поступають для подальшої переробки; *недоруш* направляють у повітряно-ситовий сепаратор, у якому з нього видаляють крупну лузгу, а збагачений недоруш (з меншим вмістом лушпиння) іде на повторне обрушення; *перевій* повторно розділяють на фракції під час контрольної війки; *лушпиння* виводять з цеху.
3. Плющення ядер. Здійснюється на вальцьових верстатах з одержанням м'ятки. Внаслідок подрібнення ядер, олія з клітин виходить й адсорбується на поверхні часток м'ятки.
4. Зволоження, підігрівання, підсушування м'ятки. Олія, адсорбована у вигляді плівок на поверхні часток подрібнених ядер, утримується значними поверхневими силами (когезією та адгезією). Для ефективного екстрагування олії необхідно цей зв'язок послабити. Для цього використовують гідротермічну обробку м'ятки – *прожарювання*. При зволоженні та тепловій обробці м'ятки послаблюється зв'язок ліпідів з неліпідною частиною насіння – білками та вуглеводами, і олія переходить у відносно вільний стан. Потім м'ятку нагрівають вищої температури, її вологість при цьому зменшується, і одночасно відбувається часткова денатурація білків, яка змінює пластичні властивості м'ятки. Так під дією вологи та теплоти м'ятка змінює свої фізико-хімічні властивості і перетворюється на *мезгу*.

5. Пресування м'ятки. Мезгу завантажують у преси і ущільнюють отримуючи *макуху*. Макуха проходить подвійне пресування у шнек-пресах: попереднє (*неглибоке*) зняття олії у фор-пресах та остаточне (*глибоке*) зняття олії.
6. Фільтрування олії. Забезпечує її очищення від механічних домішок і важких жирів, а також парафінів.

Пресовим способом неможливо досягти повного знежирення мезги, тому для цього користуються екстракційним способом. Форпресову макуху, перед надходженням на екстракцію, піддають обробці надаючи їй структури крупки чи гранул, які забезпечують максимальне вилучення олії органічними розчинниками. Як розчинник для екстракції олії застосовують *бензин* або *гексан*. Екстракція проводиться двома шляхами: занурюванням макухи у розчинник і способом ступеневого зрошення. При екстракції занурюванням одержання олії з макухи здійснюється проходження її через розчинник, при чому розчинник і структурні частинки макухи безперервно пересуваються один відносно одного. Перевага цього способу полягає у високій швидкості екстракції та незначній тривалості процесу знежирювання, простоті конструкції екстракційного апарату, високому коефіцієнтові використання його геометричного об'єму (до 98%). При екстракції ступеневим зрошенням безперервно переміщується тільки розчинник, а макуха залишається у стані спокою в окремій ємкості (ковші, камері тощо). Після проходження макухи через розчинник, отримують місцели – суміші розчинника та олії. Розділення місцели на олію і розчинник здійснюють шляхом відгонки легколеткого розчинника від нелеткої олії. Місцела, що виходить з екстрактора, містить від 10... 15 до 30...35% олії. Доки концентрація місцели значна, відгонка розчинника зводиться до звичайного процесу випарювання.

Після відгонки місцели отримують олію та шрот, що містить від 20 до 30% розчинника, який виводиться нагріванням в апаратах-виварювачах (тостерах) і регенерується конденсацією в теплообмінниках-конденсаторах.

### **3. Рафінація олії.**

Рафінація – це очищення масел від супутніх речовин. Сучасні методи рафінації жирів та масел підрозділяють на фізичні (відстоювання, центрифугування, фільтрування), хімічні (гідратація, лужна рафінація) та фізико-хімічні (адсорбційна рафінація, дезодорація).

Відстоювання – забезпечує вилучення з олії твердих домішок: часток мезги, шроту та макухи і проводиться у відстійниках за допомогою осаджувальних центрифуг безперервної дії, а також фільтруванням на рамкових фільтрпресах.

Центрифугування – розрізняють розподільчі (вживаються для відокремлення води від олії) та освітлюючі (використовуються для вилучення механічних домішок) центрифуги.

Фільтрування – це пропускання олії крізь фільтри для очистки її від механічних домішок і важких жирів, а також парафінів.

Хімічні методи рафінації застосовуються для виведення вільних жирних кислот, фосфоліпідів, білків, слизей та деяких інших сполук.

Гідратація – це вилучення домішок за допомогою води. Цей метод дає змогу виділити з олії речовини з гідрофільними властивостями, в першу чергу фосфоліпиди. Ці сполуки, незважаючи на свою харчову та біологічну цінність, при зберіганні олії випадають у вигляді осаду, що легко розкладається, тому їх необхідно видаляти. При гідратації олію обробляють водою в струменевому змішувачі (ежекторі), де забезпечується інтенсивне змішування олії та води. Суміш олії та води поступає в коагулятор, де відбувається формування гідратійного осаду, що відокремлюється у відстійнику. Гідратована олію для зневоднення надходить у сушильно-деаераційний апарат, де розсіюється за допомогою форсунок у вакуумі. Волога випаровується, а краплини висушеної олії попадають на контактні поверхні, де олія додатково зневоднюється.

Лугова рафінація – це обробка олії лугами для нейтралізації вільних жирних кислот. Внаслідок цього процесу утворюються нерозчинні в олії солі (мила), які випадають в осад, частково захоплюючи разом з собою різноманітні домішки (барвники, білки, слизи). Осад, утворений після лугової рафінації, називається *соапстоком*.

Адсорбційна рафінація або відбілювання олії – це процес знебарвлення олії після лужної рафінації. Для цього отримують суспензію з олії та активізованої кислотною обробкою бентонітової глини.

Дезодорація – це виведення речовин, які надають олії специфічного смаку та запаху (ненасичених вуглеводнів, низькомолекулярних кислот, альдегідів, кетонів, природних ефірних масел тощо), водяною парою при високій температурі та низькому тиску.

#### 4. Гідрогенізація жирів і технологія одержання маргарину.

Гідрогенізація жирів – це процес зниження ненасиченості жирних кислот, що входять до складу тригліцеридів, тобто приєднання водню до їхніх ненасичених (подвійних) зв'язків. Гідрування жирів супроводжується процесом переетерифікації (обміном радикалів), а також веде до зниження вмісту в саламасі вітамінів А і D, але практично не впливає на вміст вітаміну Е.

Гідрування жирів здійснюється за участю каталізаторів. Водень для гідрогенізації отримують різними шляхами, найпоширенішим серед яких є електролітичний, при якому електролізу підлягають слабкі водні розчини лугів та кислот. На гідрування надходять ретельно відрафінована олія.

Спершу олія надходить у перший автоклав трьохавтоклавної батареї куди також подають каталізатор. Водень надходить до автоклаву через барботер. Після першого автоклавування, частково гідрогенізована олія передається до другого автоклава, а потім – до третього. З третього автоклава готове гідрогенізоване масло надходить до відстійників, а звідти – на фільтрування.

Маргарин – це харчовий жир; високодисперсна жироводяна система, до складу якої входять харчові жири, молоко, сіль, цукор, емульгатори, інші компоненти. Основою маргаринів слугують гідрогенізовані рослинні олії та/або рідкі жири риб і тварин.

Сировину для виробництва маргарину підрозділяють на *жирову* та *нежирову*. Жирова частина представлена гідрогенізованими рослинними (соняшникова та бавовняна олія, соєве, кокосове, арахісове масло тощо) або тваринними жирами. Нежирова сировина призначена для поліпшення смаку та запаху маргарину і його біологічної цінності. Основним компонентом нежирової частини маргарину є коров'яче молоко. Кухонну сіль додають для поліпшення смаку та як консервувальний засіб. Цукор-пісок поліпшує смак і сприяє утворенню бурої плівки на підсмажених продуктах. Для надання маргарину світло-жовтого кольору, як у вершкового масла, до нього додають жиророзчинні харчові природні барвники (масляний розчин каротину). Для підвищення біологічної цінності маргарин збагачують жиророзчинними вітамінами А і D, як ароматизатори використовують сполуки діацетилу, як консерванти – аскорбінову, цитринову та бензойну кислоти.



### Контрольні питання

1. Технологія вилучення соняшникової олії.
2. Технологія вилучення олії екстрактивним способом.
3. Гідрогенізація олії та рафінування олії.
4. Виробництво маргарину.
5. Регенерація розчинника при екстрагуванні олії.

## ЛЕКЦІЯ 14 ТЕХНОЛОГІЯ МОЛОЧНИХ ВИРОБІВ.

### План

1. Склад та властивості молока.
2. Процеси переробки молока.
3. Виробництво морозива.
4. Технологія сиру.

Сировиною для всіх молочних виробів є натуральний продукт-молоко тварин: корів, кіз, овець, верблюдів, кобилиць т. і. Але найбільше молока отримують від корів. Тому вся молочна промисловість саме і призначена для переробки коров'ячого молока. Хоча свіже або парне молоко саме є найбільш цінним харчовим продуктом, але умови його зберігання диктують технологічні засоби обробки для того, щоб цей продукт дійшов до споживача. З молока готують цілий ряд молочних продуктів-молоко пастеризоване, молоко стерилізоване, вершки, кефір, сметану, сир м'який (творог), сири тверді, вершкове масло, молоко згущене та сухе, та цілий ряд інших продуктів. Заводи для виготовлення нестійких продуктів (молоко пастеризоване, кефір, простокваша (кисле молоко), вершки та ін.) розташовані головним чином в місцях споживання (міські молочні заводи), заводи по виготовленню вершкового масла, молочних консервів, твердих сирів та ін., головним чином - в місцях виробництва молока.

1. СКЛАД МОЛОКА ТА ВЛАСТИВОСТІ МОЛОКА. Молоко утворюється в молочній залозі тварин і містить: води - (87...89)%, сухих речовин - (11...13)% в числі яких жиру - (2,8...6,0)%, білків - (2,5...4,8)%, цукру (лактоза) - (4,0...4,6)% та мінеральних речовин (солей) - (0,6...0,9)%. У молоці містяться також ферменти, вітаміни, пігменти. Молоко - слабо-кислий розчин (рН=6,6) і звертається під дією сичужного ферменту, хлористого кальцію, пепсину та інших речовин. Температура кипіння молока 100,2 °С і замерзання - біля -0,6 °С. В'язкість, поверхневий натяг та теплоємність при 20 °С складають 1,75 Па , 43,5 Н/м, 3,89 Дж/(кг ) відповідно.

Вмістом білків, жиру, лактози, мінеральних речовин і вітамінів обумовлено харчову цінність молока. Всі складові частини в ньому знаходяться в легкозасвоюємій формі. Академік І.П. Павлов, вивчаючи харчову цінність молока та властивості його щодо засвоєння в порівнянні з іншими харчовими продуктами, прийшов до висновку про те, що молоко — це їжа, виготовлена самою природою, і відрізняється від інших харчових продуктів. Молоко і молочні продукти повинні складати одну третину добової потреби людини в їжі. Із цих розрахунків людина щодоби повинна споживати молока і молочних продуктів в перерахунку на молоко біля 1,5 л.

Молоко не тільки забезпечує організм білками, жирами, вуглеводами, вітамінами, мінеральними солями, але і покращує засвоєння організмом, білків, жирів, і мінеральних речовин рослинного походження. Крім цього, з молоком і молочними продуктами в організм людини надходять мікроелементи, що необхідні для нормального обміну речовин (цинк, йод, фтор, кобальт, залізо, мідь і інші). Склад молока залежить в основному від породи і віку тварини, стадії лактаційного періоду, кормління та умов утримання. В сухому залишку молока, вміст якого (11... 13)%, знаходяться всі складові частини молока — білки, жир, молочний цукор (лактоза), мінеральні речовини.

**БІЛКИ МОЛОКА** уявляють собою складні органічні сполуки, які включають в себе різні амінокислоти. В молоці білки знаходяться в колоїдному стані і можуть бути відокремлені в вигляді осадку, згустку. Всього в молоці нараховують біля 16 різних білкових речовин, з яких головними є казеїн (декілька фракцій — біля 80% загальної кількості білків), білки сироватки (альбуміни, глобуліни — біля 16%), низькомолекулярні білки (протеази, пеп-тони, поліпептиди, захисні речовини, тощо), білки оболонки, жирових кульок і ферментів.

**КАЗЕЇН** присутній в молоці в вигляді казеїнаткальцію фосфатного комплексу і є сумішшю декількох фракцій, в тому числі альфа (а), бета (ф), гама (у). Кожна фракція відрізняється одна від одної за складом та властивостями.

Під дією кислот або сичужного ферменту казеїн осідає. Цю властивість казеїну використовують при виробництві різних молочних продуктів (кисломолочний сир (творог), сир, рідкі кисломолочні продукти та ін.). При нагріванні до 90 °С та навіть при кип'ятінні молока казеїн практично не змінюється. Під дією протеолітичних ферментів, наприклад в сироварінні, казеїн, як інші білки, розщеплюється на складові частини.

Альбумін присутній в молоці в основному у вигляді альфа

лактоальбуміну. Він розчинюється в воді та не осаджується кислотою та сичужним ферментом. При нагріванні до (70...75) °С альбумін випадає в осадок.

Глобулін — знаходиться в молоці в основному в виді беталактоглобуліну. Він також розчинюється у воді і осаджується кислотою та сичужним ферментом. При нагріванні підкисленого розчину до 80 °С глобулін випадає в осадок.

Низькомолекулярні білки присутні в молоці в незначній кількості у вигляді протеаз, пептонів, поліпептидів, захисних речовин та антитіл.

Білки оболонки жирових кульок складають 0,1 г на 100 г жиру. Вони не звертаються при нагріванні.

Молочний жир являє собою складний ефір гліцерину та різних жирних кислот (більше 60%). Жир в молоці знаходиться у вигляді дрібненьких жирових кульок розміром (2...5) мкм. В 1 мл молока міститься біля 4 млрд. жирових кульок. Білкова оболонка, яка оточує жирові кульки, стабілізує їх, тому в молоці вони не злипаються. У свіжому молоці молочний жир знаходиться в рідкому стані, в охолодженому — в твердому. Молочний жир легко піддається дії ферменту ліпази, променів світла, розчинів кислот і лугів. Всі зміни молочного жиру можна згрупувати таким чином: гідроліз (розщеплення на гліцерин та жирні кислоти), окислення (ненасичених жирних кислот), згіркнення з утворенням легких (масляної, капронової та ін.) жирних кислот.

В молочному жирі в розчиненому вигляді містяться також фосфатиди, стерини, пігменти та вітаміни.

Молочний цукор (лактоза) - C H O складається із глюкози та галактози. В молоці вона знаходиться у двох формах, альфа і бета в визначеному співвідношенні. Обидві форми можуть переходити одна в одну. Розчинність лактози у воді залежить в першу чергу від температури і з її підвищенням розчинність теж підвищується.

Лактоза відіграє велику роль в технологічних процесах виробництва ряду молочних продуктів. У процесі життєдіяльності мікроорганізмів проходить зброджування молочного цукру до молочної кислоти, яка переводить молоко з рідкого стану в гелеподібний з властивим кисломолочним смаком і запахом. Утворення згустку пов'язано з порушенням колоїдного стану молока. Ця властивість використовується у виробництві кисломолочних продуктів і деяких видів сирів. Молочна кислота утворюється при збродженні молочного цукру, гальмує ріст гнилістних бактерій.

Нагрівання до температури кипіння і довгочасне витримання

молока при цій температурі викликає його побуріння. Це проходить в результаті взаємодії лактози з білками молока та утворення меланоїдінових сполук. Цими властивостями користуються при виготовленні топленого молока і рідких дієтичних молочних продуктів з особливим присмаком (ряжанка тощо).

Мінеральні речовини (солі) в молоці містяться у незначній кількості, але відіграють виключну роль в виробництві молочних продуктів. В молоці містяться солі органічних та неорганічних кислот (кальцію, калію та фосфору, магнію). Мідь, марганець, кобальт, йод, цинк, залізо, та інші мікроелементи (більше 15) молока відіграють визначну роль в життєдіяльності організму. Солі молока, які знаходяться в розчиненому стані, впливають на термостабільність молока при виробленні стерилізованого молока, дії сичужного ферменту в сироварінні, згущенні молока з цукром та інших.

Вітаміни. Молоко є важливим джерелом вітамінів. В ньому присутні жиророзчинні вітаміни А, групи Д, Е і водорозчинні вітаміни групи В, РР, С та ін. Вміст їх в молоці і молочних продуктах змінюється в залежності від періоду лактації, кормового раціону тварин, засобів теплової обробки молока і умов його зберігання.

Ферменти — це хімічні речовини білкової природи, які прискорюють процес обміну речовин у живому організмі. В сирому молоці знаходяться такі ферменти: ліпаза, пероксидаза, каталаза, фосфотаза, редуктаза. Ферменти відіграють велику роль у процесі обробки молока і переробки його на молочні продукти.

Ліпаза — фермент, який розщепляє жир до гліцерину та жирних кислот. В молоко вона попадає з молочної залози або утворюється в процесі життєдіяльності ряду мікробів. При пастеризації молока ліпаза руйнується. В процесі зберігання пастеризованого молока навіть при низьких температурах протягом (24.. .30) годин збільшується активність ферментів. Наявність фермента в маслі, сирі, сухому незбираному молоці визиває їх швидке псування.

Пероксидаза — фермент, який прискорює окислювальні процеси. В молоко вона потрапляє з молочної залози. При пастеризації молока пероксидаза руйнується. На цій властивості і заснована проба на пастеризацію молока.

Каталаза — фермент, який прискорює розклад перекису водню. Активність цього ферменту підвищується в молоці тварин, хворих маститом. Проба на каталазу дозволяє виявити цю хворобу.

Фосфотаза — фермент, який каталізує розпад ефірів до фосфорної кислоти. В молоко вона потрапляє теж з молочної залози. Теплова обробка молока повністю інактивує фосфотазу. На цій її

властивості засновано пробу на пастеризацію молока.

Редуктаза — відновлюючий фермент, здатний знебарвлювати метиленову синьку, добавлену в молоко. Ця властивість фермента використовується для визначення загальної кількості мікроорганізмів в молоці, оскільки бактерії в процесі своєї життєдіяльності виділяють велику кількість редуктази. Підвищення швидкості знебарвлення метиленової синьки знаходиться в прямій залежності від кількості мікроорганізмів в молоці.

Властивості молока. Кислотність обумовлена наявністю в молоці білків, фосфорнокислих солей, молочної і лимонної кислот. Визначають активну і загальну кислотність.

Активна (істинна) кислотність виражається величиною рН, яка у свіжого (парного) незбираного натурального молока коров'ячого дорівнює  $\text{pH} = (6,7 \dots 6,64)$ . Ця відносна стабільна величина, що обумовлена буферністю молока.

Загальна (титруєма) кислотність обумовлена наявністю в свіжій молоці газів, білкових речовин та солей органічних та неорганічних кислот. Загальну кислотність визначають титруванням молота лугом у присутності індикатора (Імл розчину лугу, який пішов на нейтралізацію кислоти, відповідає одному градусу кислотності за Тернером). Титруєма кислотність свіжевидоїного незбираного молока відповідає  $(16 \dots 18) \text{ } ^\circ \text{T}$ .

Складові частини молока впливають на кислотність свіжевидоїного коров'ячого молока. Білки обумовлюють  $(4 \dots 5) \text{ } ^\circ \text{T}$ , однозамінні фосфорнокислі та лимонні солі —  $(10 \dots 11) \text{ } ^\circ \text{T}$ , молочна, лимонна кислоти та гази —  $(2 \dots 3) \text{ } ^\circ \text{T}$ . Кислотність свіжого молока залежить від умов відгодівлі скотини: кислі трави підвищують кислотність. Молоко підвищеної кислотності  $(24 \dots 25) \text{ } ^\circ \text{T}$  звертається при нагріванні до  $(30 \dots 95) \text{ } ^\circ \text{C}$  та не може бути використане у виробництві.

Оскільки складові частини молока знаходяться в ньому в різному фізичному стані, що ці особливості використовують при його переробці: сепарування, фільтрування, тощо.

Фізичні властивості молока впливають на вибір ступенів нагрівання, охолодження, заморожування, сквашування.

Густина молока залежить від густини його складових частин. Зі збільшенням вмісту білків, вуглеводів та солей, густина молока підвищується. В'язкість молока обумовлена присутністю в ньому сухих речовин. Зміна колоїдного стану у першу чергу змінює величину в'язкості молока. Теплові властивості молока також залежать від вмісту в ньому сухих речовин та фізичного стану жиру.

Бактерицидні властивості. Свіжевидоєне (парне) молоко містить бактерицидні речовини білкової природи та має бактерицидні властивості. Живі клітини (мікроорганізми), потрапляючи у таке молоко, не тільки не розмножуються, але навіть поступово гинуть в ньому. Період, протягом якого у свіжевидоєному молоці не розвиваються мікроорганізми, називається бактерицидним. Довгочасність бактерицидної фази молока залежить від санітарно — гігієнічних умов одержання молока та температури його зберігання.

При підвищенні температури парного молока довгочасність бактерицидної фази різко знижується, а при нагріванні його до 70 °С бактерицидні властивості молока зникають. Миттєво профільтроване охолоджене молоко (до 1...3) °С може зберігатися практично без зміни його хімічних та фізичних властивостей До 48 годин з моменту доїння.

## 2 ПРОЦЕСИ ОБРОБКИ МОЛОКА

Очищення Від механічних залишків молоко очищають фільтруванням під тиском через бавовнопаперову тканину, а також в молокоочищувачах. При фільтруванні через бавовнопаперову тканину молоко проходить через фільтрувальну перегородку, а тверді слизові частини залишаються на його внутрішній поверхні. Фільтри з вставкою із такої тканини недосконалі і складні в регенерації.

Більш досконалим вважають очищення молока в сепараторах — молокоочищувачах, барабан яких побудований таким чином, що безперервний процес очищення може продовжуватися (3...4) години, а після зупинки барабан розбирають і миють. Схему такого сепаратора було розглянуто раніше.

Крім сепараторів — молокоочищувачів періодичної дії використовують розвантажувальні сепаратори - маслоочищувачі. Особливість конструкції маслоочищувача періодичної дії складається в тому, що за допомогою рухомого барабану (здатність його здійснювати обернено поступальний рух), спірального клапанного пристрою для подачі і відокремлення буферної рідини та вивантажувальних отворів. Осадок виводиться із порожнини барабану. Найбільший ефект очищення в сепараторах при обробці підігрітого молока до (35...45) °С.

Охолодження молока. Молоко охолоджують до (4...6) °С в тому випадку, якщо при прийманні температура його перевищує 10 °С, а також якщо перед резервуванням його очищали при (35...45) °С. Для швидкого, тонкошарового, безперервного охолодження молока в закритій мережі використовують пластинчасті охолоджувальні установки продуктивністю 3000, 5000, 10000 і 25000 л/год.

Збереження молока. Для забезпечення безперервної роботи машин і апаратів на підприємстві повинен бути певний запас молока. Тривалість його збереження залежить від температури:

Довге збереження молока (більш 24 год.) в умовах молочного заводу не рекомендується, бо можлива зміна його фізико-хімічних показників. Молоко зберігають в спеціальних резервуарах, які уявляють собою вертикальний чи горизонтальний циліндр із алюмінію або сталі. Корпус його покритий термоізоляцією і захисним сталевим кожухом. Резервуар має мішалку, яка забезпечує перемішування молока з метою попередження відстою жиру.

Заморожування молока. В ряді районів на низових молочних заводах молоко заморожується в блоках по (10...12) кг для збереження його протягом (5...30) днів до переробки його на цільномолочні продукти. Молоко заморожують в спеціальних тазиках, які розміщують на стелажах під покриттям на відкритому повітрі при температурі нижче  $-25^{\circ}\text{C}$ . Застосовують пошарове заморожування (в форми наливають (2...3) л молока), після його замерзання знову наливають (2...3) л молока і т. д.) і заморожування з перемішуванням (в форми наливають (10... 12) л молока і через кожну годину його перемішують до повного замерзання). Заморожене в блоках молоко при  $-25^{\circ}\text{C}$  залишають на повітрі ще протягом (3...4) годин для загартування. Потім форми на кілька секунд опускають в гарячу воду і викладають блок молока на чистий стіл. Блоки зберігають в чистому приміщенні, підлогу і стіни якого покривають шаром льоду, при температурі  $-25^{\circ}\text{C}$ .

Механічна обробка молока складається із очищення молока від можливих механічних домішок, сепарування молока для відокремлення частини мікроорганізмів (особливо спорових форм) і його гомогенізацію. Очищення молока фільтрацією і на сепараторах — молокоочишувачах розглянуто раніше.

Сепаруванням або нормалізацією називають поділ молока на вершки і знежирене молоко. У сепаратора з верхньою подачею молока барабан відкритого типу, з нижньою — герметичний, коли вхід молока і вихід знежиреного молока та вершків здійснюється під тиском.

Крім розділення молока на вершки і знежирене молоко сепаратор виконує функцію і очищувача. Механічні залишки, які більш важкі, відкидаються до периферійного барабану і збираються в грязевому просторі. Безперервний процес сепарування не перевищує 2-х, годин на закінченні яких сепаратор зупиняють для очищення.

При переробці молока вихід основного відходу - сироватки

складає біля 90% від загального об'єму молока. В сироватку при переробці молока переходить до 50% сухих речовин (СР), яких вона містить (4,2...7,5)%. Густина сироватки складає (1018... 1027) кг/м. Сироватка містить лактозу, мінеральні речовини і молочний жир. Сироватку в залежності від продукту що виготовляється називають підсирною (солодкою), творожною (кислою), казеїною.

Сироватку використовують поки що для виробництва лимонної кислоти (32,4 кг із 1 т сироватки), кровозамінювачів, лікарських препаратів, продуктів дитячого харчування, морозива, напоїв, молочно-білкових концентратів, сиропів тощо. Перелічені продукти готують на основі молочно-білкових концентратів, одержаних із сироватки методами мембранної технології (ультра і діалізація, електродіаліз). Молочно-білкові концентрати одержують в рідкому (9,0...19)% СР та сухому (95% СР) вигляді. Електролізна обробка сироватки дає змогу значно демінералізувати її і одержати знесоленій розчин лактози, переробка якого дозволяє одержати молочний цукор підвищеної чистоти. Крім того, відокремлення солей натрію, калію, магнію та фосфору дає змогу одержати продукти - аналога жіночого молока. Неперероблену сироватку використовують для виготовлення кормів, при виробництві деяких сортів хліба, тощо.

Молоко класифікують за такими ознаками: за жирністю, за способом термічною обробки, за призначенням.

В залежності від особливостей термообробки молоко буває пастеризоване, стерилізоване та пряжане.

Пастеризоване молоко виробляють в такому асортименті.

Незбиране — молоко нормалізоване або відновлене до певної кількості жиру: 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,2; 3,5%.

Відновлене — молоко, яке виготовлене повністю або частково з молочних консервів. Для отримання відновленого молока сухе незбиране молоко розпилювального сушіння розчиняють у теплій воді при температурі (60...65) °С, отримують суміш ретельним перемішуванням до повного розчинення, охолоджують і витримують не менше (3...4) годин для найбільшого набрякання білків, усунення водяного смаку, а також досягнення нормальної щільності та в'язкості. Потім суміш очищають, гомогенізують при тиску (0,1... 1,2) МПа пастеризують, охолоджують при температурі (2...4) °С протягом (6...8) год. і розливають.

Молоко підвищеної жирності готують з нормалізованого молока з вмістом

6-% жиру, яке піддають гомогенізації. Воно має вищу калорійність, рекомендується тим, хто займається важкою фізичною



працею, спортсменам та іншим людям, які в процесі життєдіяльності витрачають багато енергії.

Нежирне — молоко, що містить не більше 0,05% жиру. Це пастеризована знежирена частина молока, яку отримують шляхом сепарування.

Вітамінізоване — молоко готують з незбираного або нежирного, збагаченого вітамінами А, С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>. Найчастіше молоко збагачують аскорбіновою кислотою, яку додають у молоко після його пастеризації з розрахунку вмісту його в готовому продукті не менше як 10 мг у 100 г молока. При споживанні 0,5 л даного молока на добу, потреба у вітаміні С задовольняється більш ніж на 50%. Таке молоко вживають в їжу без кип'ятіння. Це пов'язано з підвищеною кислотністю вітамінізованого молока, що є причиною швидкого зсідання, крім того високотемпературна обробка призводить до руйнування частини аскорбінової кислоти.

Білкове — молоко містить підвищений вміст СМЗМ (сухого знежиреного молочного залишку). Виготовляють його з молока, нормалізованого за вмістом жиру, з додаванням сухого або згущеного молока. Білкове молоко буває 2,5%-ної жирності та напівзнежирене з вмістом жиру 1%. У зв'язку з підвищеним вмістом СМЗМ білкове молоко характеризується підвищеною кислотністю та густиною в порівнянні з іншими видами пастеризованого молока. Через підвищений вміст лактози даний вид молока має більш виражену солодкість.

Дитяче молоко застосовують для штучного годування дітей. Його виготовляють з високоякісного коров'ячого молока, на спеціальному обладнанні. При виготовленні заміників материнського молока проводять коригування хімічного складу коров'ячого молока з метою максимального його наближення до материнського. Останнє відрізняється від коров'ячого більшим вмістом лактози (6%), альбуміну та глобуліну, меншим вмістом казеїну. Відчутна різниця у співвідношенні окремих білків материнського молока призводить до того, що сироваткові білки (альбумін та глобулін) в шлунково-кишковому тракті грудних дітей утворюють ніжний згусток, який легко засвоюється, застосування ж коров'ячого молока може викликати серйозні порушення процесів травлення. В Україні основним рідким молочним продуктом для дитячого харчування є "Віталакт".

Солодове — молоко, що має солодкий смак з присмаком солоду. Виготовляють з додаванням солодового екстракту, який отримують уварюванням під вакуумом водного екстракту з пророслих зерен

ячменю. Додавання солоду збагачує молоко цукрами, вільними амінокислотами, вітамінами, мінеральними речовинами та ферментами.

Молоко з какао готують додаванням до пастеризованого молока какао та цукру у вигляді сиропоподібної суміші. Щоб запобігти випаданню осаду какао, необхідно збільшити в'язкість молока, для чого в молоко додають 0,1% агару. З підвищенням в'язкості молока порошок какао підтримують в завислому стані. Вміст какао не менше 2,5%, цукру — 12%.

Молоко з кавою готують додаванням до пастеризованого молока кави (у вигляді екстракту) та цукру. Вміст кави не менше 2%, цукру — 7%.

Молоко з какао чи кавою має виражений присмак відповідно какао чи кави, консистенція однорідна, в міру в'язка, колір рівномірний, зумовлений кольором наповнювача. В залежності від вмісту жиру таке молоко буває жирне 3,2%-ної жирності та напівзнежирене із вмістом жиру 1%. Молоко з какао чи кавою можна вживати холодним або підігрітим.

Із свіжого холодного молока виготовляють, додаючи фруктові соки або джем, молочні прохолодні напої, які мають приємний освіжаючий смак.

Пряжане молоко виготовляють обробкою молока спеціальним різновидом пастеризації — томлінням. Така термообробка проводиться при температурі не нижче 95 °C протягом (3...4) годин. Вказана температура спричиняє часткову карамелізацію цукрів молока з утворенням сполук, що формують кремуватий відтінок, характерний присмак та запах. Таке молоко має дещо обмежену харчову цінність через тривалу термообробку, результатом якої є часткова денатурація цукрів та руйнація вітамінів. Пряжане молоко виготовляють 1,0; 4,0 та 6,0%-ної жирності, а також знежирене.

Значним попитом у споживачів користується молоко, яке минаючи молокопереробні підприємства, реалізується населенню на розлив без попередньої термічної обробки. Таке молоко має максимальну харчову цінність, бо є виключно свіжим, проте потребує обов'язкового кип'ятіння.

Гомогенізація молока — це інтенсивна механічна обробка молока (вершків) з метою подрібнення жирових кульок на більш дрібні. В результаті покращується якість і більш повно засвоюється організмом людини складові частини молочних продуктів.

Теплова обробка молока. Пастеризація молока — теплова обробка його з метою знищення хвороботворних мікроорганізмів і

знищення загальної кількості мікроорганізмів. При пастеризації молока знищується 99,98% вегетативних клітин мікроорганізмів. Якщо молоко повторно не обсмінюється бактеріями і зберігається при низькій (2...4) °С температурі, то його збереженість у порівнянні зі свіжим молоком підвищується в 2 рази. В результаті пастеризації не повинно проходити глибоких змін складових ча-стин молока.

В молочній промисловості прийнято такі режими пастеризації: довгочасна, короткочасна та миттєва. Довгочасна пастеризація протягом 30 хв. при температурі 60 °С гарантує надійне знищення бактерій. При довгочасній пастеризації фізико-хімічні властивості молока змінюються менше, ніж при короткочасній і миттєвій. І в той же час забезпечується практично повне знищення всіх негативних форм мікроорганізмів в результаті повільного нагрівання і наступного охолодження.

Згущення молока. Молоко згущують у вакуум-апаратах, в яких у результаті розрідження в системі воно кипить при (50...60) °С. Внаслідок випарування вологи відбувається концентрація всіх його складових частин. Вакуум-апарати, які застосовують, різні за принципом випаровування (циркуляційні, плівкові), продуктивністю, конструкції (періодичні і безперервні з вертикальними і нахиленими колоризаторами, пластинчасті поверхневого нагрівання) та використанням вторинної пари.

Стандартизація згущеного молока. Якщо вивантаження згущеного молока із вакуум-апарата затримується, то готовий продукт одержують нестандартним за вмістом жиру або концентрацією сухих речовин. У таких випадках до охолодження і кристалізації лактози згущене молоко з цукром стандартизують. Компоненти, необхідні для стандартизації, треба пропастеризувати і охолодити до температури згущення молока.

Охолодження згущеного молока і кристалізація молочного цукру (лактози). У згущеному молоці з цукром після вивантаження його з вакуум-апарата лактоза перебуває в стані насиченого розчину. При нерегульованому охолодженні утворюються кристали лактози значних розмірів, внаслідок чого згущене молоко набуває піскуватої і борошнистої консистенції. Щоб запобігти цьому, необхідно створити умови, при яких лактоза в продукті утворює спочатку невеликі кристали, а потім повністю переходить у кристалічний стан.

Сушіння молока. Для виробництва сухих молочних консервів використовують згущену стандартизовану суміш молока, цукру та ін. Сушіння частково зневодженого молока можна здійснювати як холодом, так і теплотою. При використанні холоду молоко висушують

двома засобами: виморожуванням та сублімацією (возгонкою). При заморожуванні молока помішуванням утворюються дрібні льодові кристали чистої води, які відокремлюють від основної маси центрифугуванням. При цьому способі не можна довести вміст вологи в продукті до тієї нижньої межі, якої досягають при інших способах сушіння, але цей спосіб менш енергоємкий.

#### Виробництво морозива

Морозиво — це продукт, який одержують заморожуванням і збиванням суміші натурального молока, вершків, згущеного або сухого незбираного та знежиреного молока, різних смакових і ароматичних речовин та стабілізатора. Добрі смакові якості морозива доповнюються його високою поживною цінністю.

Складові частини морозива в процесі виробництва практично не змінюються, тому воно засвоюється на (95...98)%. Морозиво на молочній основі, містять молочний жир — до 15%, білки (3...6)%, цукри від 14 до 32%, мінеральні речовини, вітаміни А, групи В, Д, К. Плодово-ягідне морозиво і морозиво з плодово-ягідними наповнювачами багате на вітамін С.

З усіх харчових жирів молочний жир є найбільш корисним. Він унікальний за складом, відрізняється особливим смаком та високою засвоєністю. До його складу входять більше 60 різних жирних кислот. Білки в морозиві на молочній основі представлені окрім білків оболонки жирових кульок в основному казеїном, оскільки сироваткові білки, альбумін та глобулін, коагулюють при пастеризації суміші. Білки морозива є повноцінними та засвоюються краще інших харчових білків.

Вуглеводи в морозиві представлені сахарозою і молочним цукром, вони є суттєвими джерелами енергії для організму людини. Молочний цукор, що міститься в морозиві на молочній основі у кількості 5%, для більшості людей вживається найбільш корисним та необхідним.

Суттєво підвищують харчову цінність морозива мінеральні речовини, що переходять до його складу з молочних продуктів. Морозиво містить такі важливі макроелементи як натрій, калій, кальцій, фосфор, магній, залізо та інші.

В основі виробництва морозива лежать такі процеси, як фризування суміші та загартування готового продукту.

Фризуванням називають процес часткового заморожування води і одночасного збивання суміші. При цьому утворюється структура морозива, яка остаточно формується в процесі його загартування. Структура морозива визначається розмірами кристалів.

При фризуванні суміші необхідно одержувати невеликі кристалики льоду — не більше 10 мкм. Кристали льоду більших розмірів надають морозиву грубої консистенції. Утворенню невеликих кристалів сприяє підвищений вміст жиру та сухих речовин в суміші, її гомогенізація, правильно проведений процес фізичного визрівання, введення якісних стабілізаторів у суміш для морозива. Невеликі повітряні пухирці повітря, які пронизують суміш, перешкоджають утворенню великих кристалів льоду. Фризування закінчують після досягнення сумішшю морозива температури (-4,5...-6) °С. При цьому близько 50% води перетворюється у лід.

Крім величин кристалів льоду, на якість морозива впливає ступінь його збивання. Недостатнє збивання суміші спричиняє утворення щільної консистенції готового продукту, а надто високе призводить до утворення пухкої снігоподібної структури. Збитість суміші зростає у результаті підвищення в її складі вмісту сухих речовин та наявності стабілізаторів, знижується — від збільшення вмісту жиру та цукру. Гомогенізація та фізичне визрівання суміші в свою чергу сприяє підвищенню збивання морозива.

Збитість молочного морозива повинна досягати не менше 50%, вершкового і пломбіру—не менше 60%.

Загартуванням називається заморожування води з метою досягнення достатньої твердості морозива і його стійкості останній при зберіганні. При загартуванні температура морозива знижується до -(12... 15) °С і близько 25% вологи перетворюється в кристали льоду. Для одержання невеликих кристалів загартування необхідно провести у відносно короткий строк при температурі (-28...-40) °С залежно від типу апаратів (гартувальних камер).

Середній розмір кристалів у морозиві не повинен перевищувати (60...80) мкм.

Сировина, яку використовують для виробництва морозива, повинна відповідати вимогам діючих стандартів і технічних умов.

Молоко і молочні продукти. При виготовленні морозива, використовують молоко коров'яче незбиране, вершки, молоко згущене незбиране з цукром, молоко знежирене згущене з цукром, какао та каву із згущеним молоком, сухе незбиране і знежирене молоко, вершки згущені з цукром, вершки сухі з цукром та без цукру, масло коров'яче.

Цукор і цукристі речовини. Для надання морозиву солодкого смаку і забезпечення ніжної структури та пониження температури замерзання використовують в основному цукор-пісок, в якому

повинно бути не менше 99,75% сахарози і не більше 0,15%

вологи.

Буряковий цукор частково може бути замінений кукурудзяним цукром (глюкоза), медом, декстрозою, карамельною патокою тощо. Повна заміна бурякового цукру наведеними цукристими речовинами небажана, оскільки і глюкоза і мед значно знижують температуру замерзання морозива, що негативно впливає на консистенцію готового продукту.

Яйця та яечні продукти. У виробництві морозива з метою підвищення поживної цінності продукту, поліпшення його структури та консистенції використовують курячі яйця та яечний порошок (суміш жовтка і білка). До складу яєчного порошку входить 45% білка, 35% — жиру і близько 3,4% мінеральних речовин. Він повинен бути світло-жовтим, порошкоподібним, із притаманним для яйця смаком і запахом.

Стабілізатори. Для поліпшення консистенції морозива і підвищення його опірності проти таяння застосовують стабілізатори. Вони здатні зв'язувати вільну вологу і підвищувати в'язкість суміші морозива. Стабілізатори зумовлюють підвищену збитість морозива й запобігають утворенню кристалів льоду великих розмірів. Як стабілізатори використовують желатин, агар і агароїд, крохмаль, борошно пшеничне, метилцелюлозу, казеїнат натрію.

Желатин — продукт тваринного походження, який випускають у вигляді прозорих аркушків, пластинок або порошку. Характеризується високою здатністю набухати при температурі (16...20) °С, він поглинає 12...15-кратну кількість води і перетворюється в холодець.

Агар і агароїд харчові — продукти рослинного походження, які одержують із морських водоростей у вигляді порослих пластинок, плівок, крупок, пластівців або порошку. Вони набухають у воді, зв'язуючи її 6...10-кратну кількість.

Метилцелюлоза — синтетичний стабілізатор у вигляді волокнистої маси білого кольору, яка характеризується високою желеутворюючою здатністю. У результаті застосування метилцелюлози можна одержати практично будь-яку збитість морозива.

Крохмаль харчовий (желатинізуючий) та пшеничне борошно мають меншу драглеутворюючу здатність і значно поступаються іншим стабілізаторам.

Казеїновий натрій — розчинна сіль казеїну у вигляді порошку білого кольору, яку широко застосовують у виробництві морозива через значний вплив на підвищення збитості суміші.

Смакові та ароматичні речовини. Ці речовини вносять у суміш морозива для надання готовому продукту характерних смаку та аромату.

Ванілін — тверда кристалічна речовина з міцним запахом. Його вносять у суміш для морозива в дуже малих кількостях, щоб надати готовому продукту характерного аромату.

Какао-порошок— продукт, одержаний із какао-бобів, яких попередньо піддали ферментації, потім обсмажили і дрібно змололи, його використовують у виробництві шоколадного морозива. Цей порошок не повинен мати крупинок, а також гіркого або пліснявого присмаку.

Горіхи на виробництві морозива використовують такі: фундук, волоський, земляний, фісташки та ін. Вони надають готовому продукту приємного смаку і запаху, підвищують поживну цінність, оскільки багаті на жир і білок.

Плоди та ягоди надають морозиву приємного смаку та аромату, збагачуючи його вуглеводами і вітамінами. В основному застосовують свіжі, заморожені та іноді сухі фрукти і ягоди (яблука, груші, айву, горобину, шипшину, персики, сливи, аличу, вишні, плоди цитрусових тощо). Вони повинні бути зрілими, без гнилі та плісняви. Часто використовують свіжовиготовлене або консервоване плодове пюре, в якому міститься до 20% сухих речовин. Схему виробництва морозива наведено на рис. 14.3.

#### Класифікація та асортимент морозива

Морозиво класифікується за такими ознаками: термічний стан; вид основної сировини; види добавок та їх співвідношення; вміст жиру, цукру, сухих речовин; наявність або відсутність глазури; вид глазури (в глазурованому); призначення.

В залежності від особливостей глазури морозиво буває шоколадне, шоколадно-горіхове, вершково-кремове, помадне та інші.

За термічним станом морозиво поділяється на загартоване, м'яке і домашнє. В залежності від складу загартоване морозиво ділять на основні та любительські види.

Основні види. До основних видів відноситься морозиво на молочній основі, плодово-ягідне та ароматизоване.

Морозиво на молочній основі ділять на молочне, вершкове та пломбір. Вони відрізняються вмістом жиру та сухих речовин. Виготовляють морозиво на молочній основі без наповнювачів та з наповнювачами чи добавками. Наповнювачі, на відміну від добавок, утворюють з основними складовими однорідну масу (сиропи, шоколад, кава). До різновидів морозива з наповнювачами відносять

шоколадне, кавове, горіхове, крем-брюле, з плодами та ягодами, з карамеллю, з цукатами, з ізюмом. В окрему підгрупу морозива на молочній основі виділяють "Ескімо", яке виробляють на паличці у вигляді циліндра, зрізаного конуса або паралелепіпеда.

Плодово-ягідне морозиво виготовляють з плодів та ягід або продуктів їх переробки. Залежно від особливостей сировини воно буває вишневе, полуничне, малинове, яблучне тощо.

Ароматизоване морозиво виробляють на основі цукрового сиропу з додаванням харчових ароматичних есенцій та олій, органічних кислот, барвників та стабілізаторів. Воно отримує назву в залежності від харчової ароматичної есенції, що застосовується: лимонне, вишневе, полуничне та інші.

М'яке морозиво є різновидністю основних видів. На відміну від твердого воно має більш багаті смакові якості, ніжну консистенцію, схожу на збиті солодкі вершки. Його виготовляють безпосередньо в місцях споживання (кафетеріях, барах, ресторанах) з попередньо підготовлених сумішей. Після фризування продукт не загартовують, а реалізують при температурі (-5,5...-6,5) °С. Ступінь збивання морозива біля 50%. У замороженому стані є тільки від 50 до 60% води.

До м'якого морозива належить молочне, вершкове, вершково-шоколадне. Вміст цукру в м'якому морозиві складає до 15%. Його реалізують переважно з добавками ягід, горіхів, шоколаду тощо. Кількість добавок становить (10.. .40)% від маси морозива.

Любительські види морозива виготовляються в незначних обсягах. До них відносяться спеціальні різновиди морозива, які за набором сировини та хімічним складом відрізняються від основних видів. Воно буває на молочній та плодово-ягідній основах; з додаванням білків курячих яєць; спеціального призначення; торти та тістечка. До морозива на молочній основі належать: "Сніжинка", яке виготовляють з додаванням кукурудзяного крохмалю; "Холодок" — додають молочну сироватку та кукурудзяний сироп; "Аромат чаю" — виготовляють з додаванням екстракту чаю; "Кава з вершками" — застосовують значну кількість кави для екстракту.

#### 4 ТЕХНОЛОГІЯ СИРУ

##### Класифікація сирів

Сир — високоцінний молочно-білковий продукт, в якому міститься значна кількість легкозасвоюємих білків (до 25%), жиру (до 27,5%), мінеральних речовин (кальцій, фтор), вітамінів (А, тіамін, рибофлавін і інші). В його склад входять також незамінні амінокислоти (триптофан, фенілаланін, метіонін), продукти розкладу білкових речовин, лактози і частини жиру. Всі вони надають продукту



специфічний смак та аромат, які характерні для цього виду молочних продуктів.

Основні операції при виробленні натуральних сирів такі: згортання (скипання, зсідання) молока, обробка згустку, отримання сирної маси, її дозрівання. Різноманітність сирів обумовлює їх різну технологію. Починаючи з підготовки молока до згортання і закінчуючи кінцевою операцією вироблення сиру — доглядом за ним в процесі дозрівання. Різні режими обробки молока і сирної маси, неоднакові режими дозрівання сирів впливають на утворення визначених смакових властивостей сиру.

В процесі згортання молока сичужним ферментом відбувається утворення згустку (гель), який потім обробляють з метою його зневодження, накопичення мікроорганізмами і отримання сирних зерен.

При згортанні молока одночасно здійснюються два процеси: утворення параназеїна та утворення структурного згустку за рахунок коагуляції параназеїну під впливом солі кальцію.

Під дією сичужного фермента здійснюється розрив фосфоамідних зв'язків в казеїноткальцій - фосфоліпідному комплексі молока, в результаті чого звільняється ОН - група білкової молекули і утворюється параназеїн. Ці групи здатні реагувати з іонами кальцію і через них ніби через містки між частинками білку утворюють структуровану систему. Згортання молока дозволяє отримати згусток, який потім після теплової і механічної обробки розділяється на тверду фазу, яка містить в основному білок, жир і мінеральні речовини та рідину, в якій містяться розчинні білки (альбуміни і глобуліни), молочний цукор і солі молока. Із твердої фази потім отримують сирну масу.

Дозрівання сирної маси уявляє комплекс складних послідовних біохімічних перетворень речовин. Ці перетворення ідуть частково під впливом сичужного ферменту і в основному під впливом ферментів мікробного походження. Обробка сирної маси після згортання спрямована на її зневодження і інтенсивний ріст клітин мікроорганізмів. Зміни (перетворення) терплять всі складові частини молока, із яких білки, лактоза і солі — в більший мірі, а жир — в меншій.

Розщеплення білків в процесі дозрівання веде до накопичення значної кількості різних речовин, їх складових, навіть до утворення амінокислот у вільному вигляді. При зброджуванні лактози проходить утворення молочної кислоти, яка потім в процесі дозрівання також піддається значним перетворенням.

Накопичення в сирі продуктів розпаду білків і лактози обумовлює створення специфічних органолептичних властивостей готового продукту. Крім того, накопичення розчинених речовин в сирній масі приводить до зміни її консистенції та підвищенню еластичності сирної маси.

Сири поділяються на такі основні групи:

- тверді пресовані з низькою температурною другого нагрівання (голандський брусковий і голандський круглий, костромський, ярославський, степовий, пешехонський, вугличський, естонський, дністровський, станіславський та інші);

- тверді пресовані з низькою температурою другого нагрівання і підвищеним рівнем молочнокислого процесу (російський, чеддер);

- тверді самопресовані з низькою температурою другого нагрівання, які дозрівають за участю мікрофлори сирної слизи (латвійській, пікантний);

- тверді пресовані з високою температурою другого нагрівання (радянський, швейцарський, алтайський, український, карпатський);

- м'які, які дозрівають під впливом молочнокислих і слизоутворюючих бактерій (дорогобужський, дорожний);

- м'які які утворюються під впливом молочнокислих, слизоутворюючих бактерій і плісень (закусочний, любительський, смоленський і ін.). М'які, які утворюються під впливом молочнокислих бактерій і плісень (рокфор, російський каламбер, десертний білий та ін.);

- розсольні (чанан, тушинській, кобійський, бринза, осетинський);

- кисломолочні витримані (зелений), свіжі (чайний, кавовий, плинковий, та ін.);

- плавлені.

### **Контрольні питання**

1. Основні технологічні операції при первинній обробці молока.
2. Основні технологічні операції при виробленні молочних консервів.
3. Основне устаткування заводів по виготовленню молочних консервів.
4. Основні технологічні операції при виготовленні сиру і творогу.
5. Технологічні процеси виготовлення вершкового масла.

## Лекція 15. ВИКОРИСТАННЯ СПИРТОВОГО БРОДІННЯ У ВИРОБНИЦТВІ АЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ.

### План

1. Використання спиртового бродіння у виробництві алкогольних напоїв.
2. Сировина для виробництва пива, показники якості сировини і готової продукції.
3. Процес виробництва пива.
4. Сировина та процес виробництва виноградних вин.
5. Особливості виробництва коньяку.

### **1. Використання спиртового бродіння у виробництві алкогольних напоїв**

Етиловий спирт - один з найважливіших продуктів, які використовуються в харчовій хімічній, електротехнічній, парфумерній, і інших галузях промисловості. Етиловий спирт використовується, як паливо для у двигунів в лабораторіях і як антифриз. В медицині він споживається як дезинфікуючий засіб. Етиловий спирт використовується як основа для виготовлення напоїв (горілки, настойки, лікери) і для підвищення міцності виноградних вин, а також міститься в коньяках, вині, пиві, наливках і інших напоях.

Етиловий спирт одержують із зернових культур, картоплі, буряків і меляси, а також з відходів сульфітно-целюлозного виробництва і продуктів гідролізу деревини. Синтетичний спирт одержують із природних газів та продуктів переробки нафти.

Етиловий спирт — прозора безкольорова рідина з пекучим смаком і характерним запахом. Температура кипіння його при нормальному тиску 78.35 °С, а густина — 789,27 кг/м<sup>3</sup>. Змішується з водою в будь яких співвідношеннях і є добрим розчинником. Існує два шляхи одержання спирту — бродіння (розклад) цукрів під дією ферментів дріжджів (біохімічний метод) і приєднання до етилену води в присутності каталізаторів (хімічний або синтетичний метод).

Для виробництва спирту біохімічним методом використовують різноманітну сировину, яку можна розділити на три види:

1. Цукровмісні (цукрова патока або меляса, буряк, фрукти, ягоди, виноград та ін.);
2. Крохмалевмісні (картопля, жито, овес, ячмінь, кукурудза, пшениця та ін.);
3. Матеріали, що містять клітковину (деревина, тріски,

сульфітні луги, солома, плівки злакових культур і інші відходи рослин).

Не дивлячись на різноманітну сировину, технологічний процес виробництва спирту можна представити трьома стадіями: підготовка сировини до бродіння; бродіння; вилучення з одержаної бражки спирту.

Найбільш простою є підготовча стадія при переробці на спирт цукровмісних матеріалів. Наприклад, при переробці меляси її розбавляють водою до (21...22)% сухих речовин, підкислюють соляною чи сірчаною кислотою і додають поживні речовини, що містять азот і фосфор (6...7) кг на 1 т. сировини). Підготовлений ніким чином субстрат зброджуючі, дріжджами і одержують гак звану зрілу бражку, що містить (8...9)° о спирту. Спирт вилучають із бражки відгоном на брагоректифікаційних апаратах. Одержаний спирт-сирець при 90° об'ємних містить легкі домішки (ефіри, альдегіди, кислоти) і менше леткі - сивушні масла. Повторною відгонкою ректифікацією одержують спирт-ректифікат.

Більш складною є технологія спирту при використанні крохмалевмісної сировини, що зв'язано з попереднім перетворенням крохмалю в цукор (оцукрювання). Перетворення проходить гідролізом - приєднанням води до крохмалю. Хімічна реакція гідролізу крохмалю може бути схематично представлена рівнянням:

Для оцукрювання крохмалевмісної сировини її очищують, миють, подрібнюють. Оскільки крохмаль, що міститься в рослинних клітинах важкодоступний для оцукрювання ферментів, сировину піддають ще розварюванню насиченою парою під тиском біля 0,5 МПа.

Джерелом ферментів є пророщене зерно — солод. Крохмаль при виробництві спирту гідролізується до мальтози і в результаті одержують солодкий затор. Наступні стадії— бродіння і очищення спирту такі ж самі і як при використанні цукровмісної сировини.

Другою стадією виробництва спирту є бродіння — процес, який може проходити в органічному субстраті під дією мікроорганізмів. В результаті цього процесу в субстраті проходять зміни, які використовують для одержання тих чи інших продуктів. Ці зміни проходять в присутності біологічних каталізаторів — ферментів (мікроорганізмів, тло мають білкову структуру).

Під дією ферментів проходять глибокі перетворення складних органічних (переважно цукрів) з'єднань. Клітини мікроорганізмів виробляють різноманітні ферменти, які можуть бути розподілені на екзоферменти і ендоферменти. Екзоферменти виробляються

мікроорганізмами у поживному середовищі і діють поза клітинами мікроорганізму на органічні речовини середовища (вуглеводи, білки і жири). Ендоферменти виробляються клітинами і залишаються в них. Зміна поживних речовин середовища проходить всередині клітин, куди вони надходять через кліткову цитоплазму. Продукти розпаду вилучаються в середовище. Вид продуктів розпаду пов'язаний з типом, видом та расами мікроорганізмів. Одні організми утворюють спирт (спиртове бродіння), інші - кислоти (кислотне бродіння) і т.д. Дріжджі, бактерії, гриби, плісняву поділяють за розмірами, способом, розмноження, реакцією з вільним киснем, але загальним для них є вміст ферментів, які каталізують названі реакції.

Відрізняють два типи бродіння - анаеробне і аеробне. При анаеробному бродінні використовують мікроорганізми, які можуть здійснювати обмін речовин і розмножуватись при відсутності в середовищі кисню. До анаеробного типу бродіння відносять спиртове, ацетонобутилове, молочнокисле т.і.

До аеробного типу відносять види бродіння, засновані на застосуванні і мікроорганізмів — аеробів в присутності атмосферного кисню.

До аеробного відносять оцтовокисле лимоннокисле бродіння. Процеси бродіння перебігають при порівнянне низькій температурі і в більшості у випадків при атмосферному тиску. Тому виробництва, що засновані на застосуванні бродіння, використовуються для одержання етилового спирту, пива, вина, квасу, хлібопекарських дріжджів, ацетону, гліцерину, бутилового спирту, оцтової і лимонної та інших органічних кислот. Для одержання цих продуктів використовують різноманітні види мікроорганізмів: дріжджі, бактерії, плісняви, гриби. Найбільше поширення в харчовій промисловості одержали дріжджі. На їх використанні засновані виробництва етилового спирту, виноробство, пивоваріння, виробництво хлібопекарських дріжджів, гліцерину. Бактерії застосовують при виробництві ацетону і бутану, оцту, молочної і масляної кислот. Плісняви використовуються при виробництві органічних кислот і антибіотиків.

Основним джерелом ферментів є солод, тобто пророщене зерно злакових культур, в якому міститься значна кількість амілолітичних ферментів, що здійснюють розщеплення (оцукрювання) крохмалю, перетворюючи його в прості цукри.

Для виробництва спирту здебільше використовують мелясу, картоплю та зернові культури. За допоміжні матеріали використовують оцукрюючі речовини (солод, ферментні препарати), антисептики (соляна і сірчана кислоти, сульфенол, формалін, хлорне

вапно, хміль) та інші поживні матеріали, які містять джерела азоту і фосфору, дріжджі і вода.

Зерно повинно відповідати стандартам: вологість - - не більше 15,5%; сміттєві домішки - не більше 5° о; схожість на 5-й день не менше 92° о.

При використанні картоплі вона повинна мати високий вміст крохмалю (20...22)%. Середній вміст крохмалю в кукурудзі — 70°/о; житі — 65° о; пшениці — 60° о; просі — 58,2° о; ячмені -- 55°; овесі — 45%.

Якість солоду оцінюють за зовнішнім виглядом, запахом, ферментативною активністю і оцукрюючою здатністю (ОЗ). За одиницю цієї здатності приймають таку кількість ферменту (амілази), яка каталізує 1 г. крохмалю в стандартних умовах досліду. ОЗ також виражається числом одиниць оцукрюючої активності в 1 г. солоду. Режим приготування солоду змінюється в залежності від його призначення. Наприклад, світлий солод, застосовують в основному для виробництва світлих сортів пива, темний — для виробництва темних сортів пива, червоний житній солод — для ви-робництва хлібного квасу, карамельний, горілий солод і ін.

Для оцукрювання сировини, що містить крохмаль, замість зернового солоду застосовують плісняві гриби та різні ферменти. Ферменти, які виробляються мікроорганізмами, можуть бути використані і в іншому вигляді - в формі ферментних препаратів, що одержані обробкою продуцентів того чи іншого ферменту. Ферментні препарати широко використовуються в ряді галузей промисловості для заміни солоду.

В процесі бродіння утворюється не тільки етиловий, але і метиловий, вищі спирти — пропіловий, бутиловий, аміловий

Зріла бражка містить також дріжджі, солі, незброджуемі вуглеводи, барвні речовини, гліцерин та ін. Летка частина бражки складається із води, етилового спирту і його домішок. Оскільки бражка складається в основному з етилового спирту і води, то її умовно називають бінарною сумішшю. Основний розподіл проводять ректифікацією на брагоперегонних чи брагоректифікаційних установках.

На спиртових заводах одержують неочищений від домішок спирт-сирець, який містить не менше 88° о об'ємної частки спирту, спирт першого сорту 96% і домішок — не менше 0,12 г/л, спирт вищої очистки - 96,2% об. і домішок 0,05 г/л, і ексіра (виготовляється тільки з кондиційного зерна — 96,5%, а домішок не більше 0,04 г/л). В спирті вищої очистки сурово контролюють вміст метилового спирту,

концентрація якого не повинна перебільшувати 0,13% об., а вміст фурфуролу неприпустимий взагалі. При комплексній переробці сировини крім спирту одержують ефіроальдегідну фракцію (ЕАФ), сивушні масла, хлібопекарські і кормові дріжджі, вуглекислоту. Вищі спирти одержують таких концентрацій: ізоаміловий — 60%, ізобутиловий (10...14)%, і пропілобій (3...5)%, Потужність спиртових заводів безперервної дії проєктують на (1000... 10000) декалітрів на добу.

Абсолютний спирт 100% одержують при зниженому тиску і використовують його як добавку до бензину, яка підвищує октанове число пального.

Вуглевод крохмаль є полімером глюкози і відноситься до групи полісахаридів. В клітинах рослин крохмаль міститься в вигляді зерен характерної для даної рослини форми. Розмір цих зерен змінюється від 2 до 150 мікронів. Зерно картопляного крохмалю еліптичної форми має розмір (15... 120) мк. Зерна крохмалю злаків мають менші розміри (2...35) мк. Переробка крохмалевмісної сировини в спирт проводиться в декілька стадій і підготовка сировини до переробки, розварювання, оцукрювання, зброджування суслу, вилучення спирту із бражки та його очищення. На деяких заводах одночасно проводять і допоміжні операції: одержання оцукрюючих матеріалів та культивування дріжджів.

Для того, щоб дріжджі змогли використовувати крохмаль, крохмалевмісну сировину необхідно піддати попередній обробці: звільнити її від оболонок механічним засобом із клітини рослин, піддати тепловій обробці і гідролізу під впливом ферментів. Кінцевою метою цієї обробки є перетворення крохмалю в цукри, які легко засвоюються дріжджами.

**Механічним подрібнюванням** вдається розкрити тільки частину клітини. Основна мета розварювання заключається в подальшому руйнуванні кліткової структури та розчиненні крохмалю. Розварювання проводять насиченою парою при температурі (135... 155) °С. Крім руйнування кліткових стінок в процесі розварювання відбувається ряд складних структурно-механічних і хімічних змін, які готують середовище до подальшої ферментативної обробки. Розварювання на сучасних спиртових заводах проводиться в апаратах безперервної дії.

**Оцукрювання** — ферментативний процес, який проходить за допомогою амілолітичних ферментів солоду чи плісневих грибів. Солод, який використовують на спиртових заводах, містить значну кількість амілолітичних ферментів, які мають оцукрюючу здатність.

При переробці крохмалистої сировини ферменти виробляються в спеціальних цехах заводу - солодовнях. Пророщене зерно ячменю чи інших культур підлягає подрібненню. В розбавленому водою вигляді цей продукт називається солодовим молоком. Солодове молоко направляють у розварену і охолоджену масу замісу.

Культури пліснявих грибів вирощують на пшеничних висівках, відходах спиртових заводів (барді) і картопляних лушпиннях. Плісневі гриби містять різноманітний комплекс ферментів та інтенсивно оцукровують крохмаль перетворюючи його у і цукри. Плісневі гриби культивують або на спеціальних підприємствах, або в окремих цехах спиртових заводів.

Оцукрювання крохмалевмістої сировини здійснюють безперервним способом при додаванні солодового молока чи ферментативних препаратів при певних умовах. В процесі оцукрювання коли 67% крохмалю перетворюється в цукри — мальтозу і 33% в продукти: розпаду молекули крохмалю — декстрини. Мальтоза — це зброджуємий дріжджами цукор. Декстрини при бродінні дооцукровуються ферментами середовища в збраджуємі цукри. Процес оцукрювання складається з ряду послідовних операцій — охолодження розвареної маси до необхідної температури, змішування охолодженої маси з солодовим молоком чи з культурою плісневих грибів, оцукрювання крохмалю, охолодження оцукреної маси до початкової температури бродіння, передача одержаного середовища (сусла) в бродильне відділення.

**Зброджування оцукреної маси.** При зброджуванні сусла цукор під дією дифузії проходить в дріжджову клітину. В результаті складних ферментативних процесів в клітині виробляється спирт і вуглекислота, які виводяться клітиною в навколишнє середовище.

Крім спирту і вуглекислоти продуктами життєдіяльності дріжджів є гліцерин, оцтовий альдегід, органічні кислоти, а також вищі спирти (сивушні масла) і т.д.

Тривалість бродіння при температурі (26...30) °С — біля 60 год. Зріла бражка містить (8... 10)% об. спирту, деяку кількість нерозчиненого крохмалю і незброджених цукрів. Вилучена при бродінні вуглекислота надходить до спиртоловушки, де спирт поглинається водою. Очищена вуглекислота надходить до вуглекислого цеху де її скраплюють. Всі апарати батареї з'єднані трубками, по яких перетікає бродяче сусло, подається вода та пара для стерилізації. Бражка надходить до ректифікаційного відділення заводу для вилучення з неї спирту.

**Вилучення спирту.** Склад зрілої бражки, що одержана при,



зброджуванні сусла, складний, але його можна розділити на дві частини — леткі та нелеткі компоненти. До легких відносять етиловий спирт, воду, органічні кислоти, ефіри, альдегіди, вищі спирти. Всього в бражці міститься більше 50 легких речовин. До нелетких компонентів відносять: дріжджі, солі, гліцерин та інші.

Завдання заключається в тому, щоб відокремити з цієї складної суміші леткі компоненти і одержати етиловий спирт належної міцності та чистоти. Домішки спирту при цьому вилучають із спирту і ділять на фракції. У відходи йде барда, як цінний кормовий препарат для годівлі худоби.

Вилучення спирту проводять за допомогою ректифікації, яка заснована на різній леткості спирту і його домішок. Леткість домішок змінюється в залежності від концентрації в середовищі етанолу.

Домішки спирту розділяють на 3 групи; головні, проміжні і хвостові.

До головних відносять ті, які мають коефіцієнт ректифікації більше за 1. Основні їх представники: оцтовий альдегід, масляний альдегід, оцтово-етиловий ефір та ін. Вони концентруються в парі при будь-якому вмісту спирту в рідкій фазі. У хвостових домішок леткість завжди менша леткості етанолу. До цієї групи відносять: воду, оцтову кислоту. Проміжні домішки мають подвійні властивості. При високих концентраціях спирту вони проявляють себе як хвостові домішки, а при низьких концентраціях — головними. Користуючись різницею в леткості компонентів ректифікація дозволяє вилучити етанол із домішок у будь-якій концентрації.

Ректифікаційні установки спиртових заводів — складні системи, які включають колони, теплообмінну апаратуру (дефлегматори, холодильники, кип'ятильники), контрольні-вимірювальні пристрої і автоматичні засоби управління.

Основними елементами ректифікаційної установки є колони, кількість яких змінюється в залежності від її типу. Колона - апарат протитечійний. В ній встановлені тарілки - контактні пристрої, які призначені для приведення в тісний контакт пари,

## **2. Сировина для виробництва пива, показники якості сировини і готової продукції.**

Пиво – слабоалкогольний напій, насичений вуглекислим газом, що має специфічний аромат та смак. Вміст в пиві вуглекислої гази пояснюється його здатністю втворювати спрагу. Гіркі речовини хмелю, що містяться в пиві, стимулюють травлення. Пиво, завдяки

присутності вуглеводів, білків, вітамінів і органічних кислот має певну поживну цінність. Так один літр світлого пива має калорійність (400...500) ккал (1700...2000 кДж). Темні сорти пива містять до 800 ккал (3400 кДж). Вміст алкоголю в пиві невеликий і змінюється в широких межах від 2,5 до 8% об. Показники якості пива визначаються лабораторним аналізом і оргаліптичними методами та повинні відповідати стандартам.

Основною сировиною для виробництва пива є ячмінний солод, хміль і несолоджені матеріали (кукурудзяне, ячмінне, рисове борошно тощо). В значній мірі визначає якість пива вода, вміст якої в пиві складає майже 90%. Тому до води використовуються такі вимоги як і до питної, у відповідності до стандарту. Не допускається вміст у воді заліза більше 5 мг/л; жорсткість води для виготовлення світлого пива не повинна перебільшувати 1,8 мг-екв/л. Для приготування темних сортів пива рекомендується вода, що має жорсткість (5,5...7,0) мг-екв/л. Воду забруднену тваринними відходами, які містять аміак, азотну, азотисту, фосфорну кислоти використовувати для приготування пива заборонено. Вода не повинна містити мікроорганізми, що утворюють плісені. Схема виробництва пива включає такі етапи: підготовка солоду і його заміників, готування пивного сусла, прояснення і охолодження сусла, головне бродіння, доброджування, віджимка, прояснення і розливання пива. Солод і несолоджений ячмінь для готування сусла попередньо піддають очищенню на полірувальних машинах і подрібненню.

Процес виробництва пива включає такі етапи: підготовка солоду і його заміників, готування пивного сусла, прояснення і охолодження сусла, головне бродіння, доброджування, віджимка, прояснення і розливання пива. Солод і несолоджений ячмінь для готування сусла попередньо піддають очищенню на полірувальних машинах і подрібненню.

Мета подрібнення: відкриття складових частин для дії ензимів з послідовним затиранням, оскільки вихід екстракту і швидкість фільтрування залежить від якості помолу.

Затирання — процес готування сусла для бродіння. Метою цього процесу є екстрагування розчинних речовин солоду і переведення в розчинний стан нерозчинених речовин. Цей перехід здійснюється дією на солод, ензимів (ферментів), що містяться в ньому. Змішаний з водою та подрібнений солод називається затором. Розчин, який одержують в процесі затирання називається суслom. Водорозчинні речовини солоду (цукор, продукти розпаду білків, деякі кислоти і інші), легко розчинюються у воді. Крохмаль, що міститься в

солоді такі як частина білкових речовин, у воді нерозчинені. Тому вони піддаються оцукрюванню, що проходить під дією ферментів амілази, яка міститься в солоді. Кінцевим продуктом розщеплення крохмалю є цукор (мальтоза) та декстрини, які є важливою складовою частиною сусла і готового пива. В процесі затирання в затор іде розщеплення складних білкових сполучень під дією протеолітичних ензимів.

Освітлення та охолодження сусла. При кип'ятінні сусла іде звертання білків. Для їх відокремлювання сусло піддають проясненню відстоюванням чи сепаруванням. Відстоювання проводиться в холодильних тарілках з великою площею. Тут сусло піддають аерації та охолодженню. Процес відстоювання, в результаті якого випадають в осадок білково-дубильні сполуки, протікає повільно. Тому для інтенсифікації процесу використовують відцентрові осаджувальні сепаратори.

Освітлене сусло направляється на охолодження в зрошувальні, пластинчаті і інші теплообмінники. Головне бродіння (шумування) сусла. Готове сусло направляється на бродіння, яке в пивоварному виробництві проводиться у дві стадії. В кожній стадії використовуються спеціальні раси дріжджів - так звані дріжджі низького бродіння. Ці дріжджі до кінця бродіння опускаються на дно бродильного посуду, завдяки чому сусло освітлюється.

#### 4. СИРОВИНА ТА ПРОЦЕС ВИРОБНИЦТВА ВИНОГРАДНИХ ВИН

Вином називають напій який одержують Внаслідок бродіння виноградного або плодово-ягідного соку. Вино є коштовним столовим напоєм, що містить цілий ряд вітамінів і мікроелементів. Воно має також лікувальні і дієтичні властивості, робить антисептичну й бактерицидну дію.

Основною сировиною у виноробстві є виноград, з якого у світі щорічно виробляється близько 35 млрд. л вина. Крім того, вино виробляють із фруктів і ягід.

Якість винограду визначається сортом, ступенем зрілості, смаковими властивостями, цукристістю, ступенем поразки хворобами й шкідниками, умовами вирощування, агротехнічними прийомами оброблення виноградників і ін. На якість вина вирішальний вплив робить хімічний склад ягід, що залежить від підбора сортів і кожного сорту.

Основні етапи процесу — переробка винограду й одержання виноматеріалів, їхня обробка, витримка і розливання. Технологічні

особливості переробки винограду і одержання виноматеріалів обумовлені структурою плодів винограду і їхнім хімічним складом. Плоди винограду мають вигляд грон, що складаються з основи (гребенів) і ягід на пій, що, у свою чергу, складаються з м'якоті, шкірочки, насін'я. Всі елементи грона розрізняються за хімічним складом. Так, гребінь, насіння і шкірочка містять багато дубильних і інших екстрактивних речовин; у шкірочці, крім того, є барвні й ароматичні речовини. Тому технологія переробки винограду передбачає використання різних частин грона для додання характерних рис і смаку різним типам вин.

Етап одержання виноматеріалів складається з таких технологічних операцій:

- зокрема гребенів від грон винограду на гребневідокремлюючих машинах;

- дроблення ягід на спеціальних дробарках. Ного викопують таким чином, щоб не зашкодити насінню і не перетерти шкірочку. У результаті одержують дрібнений продукт — мезгу. У деяких

випадках перші дві операції сполучають в одній дробильно — гребневідокремлюючій машині;

- вилучення соку (сусла) з мезги спочатку простим набряканням в апаратах-стікачах, а потім пресуванням на періодично або безперервно діючих пресах різних конструкцій. При пресуванні тверді частини мезги перетираються і в сік попадає надлишкова кількість дубильних речовин, "огрубляючих" вино. Тому для готування столових білих вин відбирають тільки самопливні і перші пресові фракції соку, приблизно (50...60 дал) з кожної тонни вино-граду. Із сусла наступних віджимів (до 26... 16 дал/т) готують кріплені вина зі значною кількістю екстрактивних речовин;

- прояснення сусла, тобто вилучення часток м'якоті, обривків гребенів, насін'я, шкірочки й ін. Цю операцію роблять на відцентрових апаратах, фільтрпресах або у відстійниках (декантаторах);

- шумування зброджування сусла, здійснюють періодичним способом у металевих або залізобетонних резервуарах. Останнім часом застосовують і безперервне шумування в потоці. До початку шумування в сусло вводять чисті культури спеціальних сортів винних дріжджів, що визначені для кожного типу вина.

У процесі шумування під дією комплексу вироблюваних дріжджами ферментів виноградний цукор розкладається на етиловий спирт і вуглекислий газ. Шумування протікає з утворенням багатьох вторинних продуктів, що впливають на смак і аромат вина. Найбільш важливу роль серед них грають гліцерин, бурштинова, оцтова і

піровиноградна кислоти, ізоамілол, ацетальдегід, ефіри. Кількість і склад вторинних продуктів, що утворюються в процесі шумування, залежать від складу сусла, раси дріжджів і режиму шумування.

Температура шумування білих столових вин складає (15... 18) °С. Червоні вина одержують шумуванням мезги, що відбувається при температурі (28...32) °С. Їх можна виробляти також нагріванням мезги до (60...65) °С з наступним відділенням сусла і сбразиванием "по білому способі", тобто при (15... 18) °С. Шумування проводять у спеціальних резервуарах, що забезпечують кращий витяг із твердих частин ягід барвних і дубильних речовин.

При виробленні сухих вин і коньячних виноматеріалів у результаті шумування повинно бути заброджене весь цукор винограду, а при виготовленні напівсухих і напівсолодких вин шумування штучно припиняють (тривалість шумування залежить від кондиції вин, що випускаються). При виробництві білих кріплених вин сік до віджимання настоюють твердих частинах ягід протягом визначеного для кожного типу часу. Іноді до віджиму в мезгу вводять дріжджі, у цьому випадку при пресуванні відокремлюється не сік, а сусло, що бродить. Після зброджування визначеної кількості цукру в заброджене сусло додають харчовий етиловий спирт-ректифікат у співвідношенні, що забезпечує кондицію готового вина за спиртом і цукром. При цьому повинно бути зброджено не менш 5% цукру при виробленні міцних вин і 2% — при виробленні десертних.

Кінцевим продуктом першого етапу є молоді виноматеріали. Цей етап сезонний і здійснюється на заводах первинного виноробства.

Вино у своєму розвитку проходить п'ять стадій: народження (шумування), формування, дозрівання старіння і відмирання. У результаті хімічних, біохімічних і фізичних процесів утворюються речовини, що випадають в осад. Помутніння вин, що надійшли в продаж, знижує їхню товарну вартість. Тому мета другого етапу технологічного процесу вироблення вина — додання йому стабільності, тобто здатність зберігати встановленні товарні показники якості протягом визначеного часу.

Основні технологічні операції на цьому етапі — деметалізація, термічна обробка (нагрівання, охолодження), обробка неорганічними й органічними речовинами і сорбентами (обклеювання), вилучення в результаті цих операцій зважених часток. Послідовність і технологічні режими цих операцій визначаються типом вина і його складом. При виготовленні оригінальних вин (херес, мадера, тощо) застосовують і специфічні технологічні засоби (нагрівання, спиртування, уварювання, тощо). Другий етап може проводитися на заводах як

первинного, так і вторинного виноробства.

Деметаллізація полягає у вилученні солей важких металів додаванням жовтої кров'яної солі або іонітів, що зв'язують іони металів і переводять їх у нерозчинні з'єднання, що випадають в осад. Ці технологічні операції роблять у змішувальних резервуарах, теплообмінниках, центрифугах і фільтрах. Дозують сорбенти за допомогою дозаторів відповідно до норм, розрахованими стосовно до складу вина кожного типу.

Третій етап технології вина - витримка, у процесі якої відбуваються складні фізико-хімічні процеси, що формують якісні показники вина. Витримку проводять у бочках або інших технологічних ємностях. На цьому етапі виконуються також визначені технологічні операції: доливання, переливання, термічна обробка (нагрівання, охолодження, пастеризація), очищення і прояснення, егалізація і купаж. Крім того, повторюються деякі технологічні операції другого етапу, але при інших режимах.

Доливання спрямоване на те, щоб постійно підтримувати заданий рівень рідини в ємності (бочці, резервуарі), що знижується в результаті випарювання (усушки) вина. Зі зростанням тривалості витримки терміни доливання збільшують (від двох разів у тиждень до одного переливання в (1 ...2) роки). Для доливання використовують вино того ж сорту і віку. Допускається застосування більш старого вина, але не більш молодого.

Переливання, являє собою відділення прозорого вина від осаду. Перше переливання (зняття з дріжджів) роблять звичайно після закінчення шумування, коли вино достатньо очиститься, тобто в грудні, другу — у лютому-березні, третю — у серпні вересні, останню четверту — у грудні. Терміни і кількість переливань точно не регламентуються і визначаються сортом, складом і станом вина. При переливаннях здійснюють окурювання ємностей або сульфатування вин.

Обклеюванням називають операцію прояснення вина за допомогою гідрофільних колоїдів (желатину, риб'ячого клею, яєчного білка, казеїну), що взаємодіють з колоїдами вина. У результаті коагуляції тверда фаза виділяється в осад. Для прояснення використовують також речовин-сорбенти: бентоніт, каолін, кізель-гур. Фільтрування або зняття обклеєного вина роблять після утворення осаду.

Охолодження і нагрівання вин застосовують як методи, що сприяють їх проясненню, а в деяких випадках — для знищення небажаної мікрофлори використовують (пастеризацію при

температурі (55...65) °С).

За тривалістю витримки і якістю вина підрозділяються на ординарні, марочні і колекційні. Вина, що призначені для реалізації в молодому віці, називаються ординарними. Вина, що піддаються витримці протягом (1...6) років, є марочними. Їх виробляють за спеціальними технологіями із кращих сортів винограду у визначених районах і навіть мікрорайонах. Для закладки на витримку відбирають тільки високоякісні вина. Мінімальний термін витримки встановлюється для кожного найменування вина відповідно до його типу за органолептичною оцінкою. Марочні вина повинні щорічно зберігати свої специфічні якісні показники.

Колекційні вина одержують з марочних вин особливо високої якості після закінчення терміну витримки у великих технологічних ємностях з наступним розливом у пляшки і додатковій витримці в них протягом не менш двох років.

Егалізацією називають змішування вин того самого типу. Вона спрямована на одержання однорідних за якістю партій і виправлення деяких недоліків вин. Егалізацію шампанських вино-матеріалів при першому переливанні називають асамбляжем. Змішування вин, виготовлених з винограду різних сортів і районів вирощування, років витримки і типів (сухих із солодкими й ін.) називають купажем.

Останній, заключний етап виробництва виноградних вин - розливання у пляшки. На цьому етапі виконуються такі технологічні операції: миття пляшок, дозування вина, наповнення у пляшки, закоркування їх і збереження. Миють пляшки в спеціальних пляшкомиїних машинах. Розливання (дозування) і закоркування пляшок переважно автоматизовані.

Після обробки і витримки перед розливанням ординарні і марочні вина перевіряють лабораторним аналізом на відповідність стандартам. Вина, які не стійкі до зброджування (напівсолодкого), піддають додатково пастеризації в пляшках. Для запобігання помутніння столові вина розливають у гарячому стані. Незначну частину ординарних вин розливають у бочки. Готові вина, що призначені для розливання у пляшки, зберігають при температурі (8...16) °С, а напівсолодкі і напівсухі — при нульовій температурі.

#### Особливості виробництва коньяку

Коньяк характеризується високим вмістом спирту (40..57 об.%) і своєрідними смаковими відмінностями, які якісно відрізняють його від лікєро-горілчанних виробів. Йому властивий золотистоянтарний колір, приємний аромат з легким ванільним чи квітковими тонами і гармонічним, злегка пекучим смаком. Коньяк отримують в результаті

довгочасної витримки коньячного спирту у дубових бочках, отриманого перегонкою молодих вин, які виробляють із спеціальних сортів винограду.

В процесі перегонки коньячний спирт збагачується альдегідами, ацеталами, складними ефірами, леткими кислотами, вищими спиртами, фурфуролом. Із дубової деревини він екстрагує лігнін, таніди, цукри, ароматичні альдегіди, тощо. Взаємні перетворення всіх цих речовин у процесі довгорічної витримки приводять до утворення нових сполук, які визначають специфічний смак і букет коньяку. В залежності від віку і якості коньячних спиртів, які ідуть на їх виготовлення, коньяки діляться на ординарні, марочні і колекційні.

Коньячні спирти для ординарних коньяків витримують три-п'ять років. Для марочних коньяків використовуються спирти не менш 6-річної витримки. Ординарні коньяки виготовляють 3-х назв: "Три зірочки", "Чотири зірочки", "П'ять зірочок". Кількість зірочок відповідає кількості років витримки коньячних спиртів, які використовують для їх виготовлення. Марочні коньяки випускаються декількох груп: коньяк витриманий ("КВ") із витриманих коньячних спиртів середнього віку від 6 до 7 років.

Коньяк витриманий вищої якості ("КВВЯ") із витриманих коньячних спиртів середнього віку від 8 до 10 років. Коньяк старий ("КС") із витриманих коньячних спиртів середнього віку.

Марочні коньяки виготовляються із коньячних спиртів виробництва окремих районів і мають привласнені їм назви.

Ці коньяки зберігають з року в рік специфічні особливості, які притаманні даній назві. Готові марочні коньяки особливо високої якості, які витримуються в бочках не менш 5 років, отримують назву колекційних.

У готовому коньяку цукор міститься від 0,7 до 2,5%, а вміст міді не повинна перевищувати 8 мг/л, олова — не більш 5 мг/л, заліза — 1 мг/л, метилового спирту — 0,1% об.

### **Контрольні питання**

1. Основні етапи виробництва пива. Устаткування пивоварних заводів.
2. Роль солоду і хмелю у виробництві пива.
3. Процеси, що проходять при бродінні пива.
4. Основні принципи управління пивоварним виробництвом.
5. Технічні операції при виробництві квасу.
6. Технологічні операції при виробництві безалкогольних напоїв.
7. Основні етапи виробництва виноградного вина.



8. Особливості виробництва шампанських вин.
9. Особливості виробництва коньяку.
10. Основні технологічні операції виготовлення вина.
11. Первинне та вторинне виноробство.