TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED

ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА

СЕРИЯ А № 273

СБОРНИК СТАТЕЙ

ПО ХИМИИ И ХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ XXI

(Технология пищевых производств I)

ТАЛЛИН 1969

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 541.183

СБОРНИК СТАТЕЙ

ПО ХИМИИ И ХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ XXI

(Технология пищевых производств I)

ТАЛЛИН 1969

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 577.152.001.5+637.147

Т. Л. Либерт, К. А. Каск, А. И. Кёстнер

ПОЛУЧЕНИЕ БИОПРЕПАРАТА ВЫРАЩИВАНИЕМ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ РОДА ASPERGILLUS ГЛУБИННЫМ СПОСОБОМ НА ОБЕЗЖИРЕННОМ МОЛОКЕ

Сообщение I

Некоторые гидролазы (амилазы, протеазы и др.) найдут разностороннее применение в пищевых производствах. Их прибавка к хлебному тесту, мясным продуктам и т. д. повышает качество продукции. При производстве ферментных препаратов значительные затруднения вызывает процесс их выделения из культуры триба. Поэтому можно считать весьма целесообразным разработку технологического процесса производства ферментных препаратов, позволяющего применять в качестве препарата культуральную жидкость.

С другой стороны, снабжение населения незаменимыми аминокислотами часто не соответствует физиологическим нормам. Наиболее доступным и дешевым источником незаменимых аминокислот являются обезжиренные молочные продукты, преимущественно обезжиренное молоко (обрат). В частности, прибавка молочных белков целесообразно при производстве разных сортов хлеба.

Исходя из вышеупомянутого, нами предложен метод получения биопрепарата выращиванием продуцентов ферментов на обезжиренном молоке. Получаемый препарат должен иметь необходимую ферментативную активность и в то же время содержать значительное количество ценных незаменимых аминокислот. Такого типа амилолитический препарат может быть применен в хлебопечении, а протеолитический в производстве колбасных изделий.

Выбор молочных белков в качестве среды для производства ферментов весьма перспективен в условиях Эстонской ССР. В настоящее время в республике при производстве жирных молочных продуктов в составе отходов (обрата, пахты и

сыворотки) остается свыше 20 тыс. т молочных белков. Из них только 23% используется для питания населения. Остальное количество используется как корм сельскохозяйственных животных.

Состав, особенно ферментативная активность получаемого препарата, сильно зависит от видовых особенностей продуцента и условий выращивания. Подбором условий в принципе можно направлять синтез ферментов и получить препарат с необходимой специфичностью.

За последние годы появились работы, в которых приводятся попытки выяснения закономерностей образования ферментов грибами в зависимости от состава питательной среды и условий культивирования. Наиболее важными компонентами, влияющими на рост грибов и образование ими ферментов, являются источники углерода и азота.

Большинство плесневых грибов хорошо растет на средах, содержащих органический азот. Многие виды плесеней способны легко усваивать минеральный азот, как в окисленной, так и в восстановленной форме.

Относительно влияния азотных соединений на образование грибами протеолитических ферментов мнения исследователей расходятся. Часть авторов [1—3] считает органические соединения азота единственным благоприятным его источником.

Однако имеются указания, что повышение концентрации органического белка тормозит синтез протеаз [4, 5].

Наиболее пригодными источниками азота для образования амилазы являются азотнокислый натрий и сернокислый аммоний.

Оптимальной средой для образования амилазы аспергиллами является среда с азотнокислым натрием и водной вытяжкой из солодовых ростков. Солодовые ростки резко изменяют локализацию амилазы. Весь фермент обнаруживается в культуральной жидкости. Сернокислый аммоний обеспечивает большое накопление биомассы гриба, но образование амилазы было более высоким на среде с нитратом [6].

Однако имеются данные, что неорганические источники азота уступают органическим формам азота в виде аминокислот [7]. Эти данные говорят в пользу применения в производстве естественных питательных сред.

В литературе приводятся также сведения о том, что биосинтез ферментов происходит только при наличии необходимого комплекса аминокислот и что недостаток той или иной аминокислоты приводит к резкому снижению биосинтеза ферментов.

При глубинном культивировании гриба Asp. oryzae

3—9—15 на синтетических средах, как доказали Р. В. Фениксова и Е. А. Двадцатова [6], водный экстракт из солодовых ростков содержит аминокислоты и стимулирует образование α-амилазы. Характерной особенностью декстриназы Asp. oryzae 3—9—15 оказалось то, что синтез ее протекает интенсивно и без добавления аминокислот.

Углеродсодержащие вещества влияют на синтез амилолитических ферментов по-разному. Из литературных данных известно, что глюкоза и другие легко доступные источники углерода и энергии оказывают резкое ингибирующее действие при образовании α-амилазы [8].

При глубинном культивировании гриба Asp. awamori наивысшая активность всех ферментов наблюдалась только на среде с мальтозой [9]. На среде с лактозой наблюдается очень слабый рост гриба, но несмотря на это α-амилаза достигала почти того же уровня, как и на мальтозе.

При культивировании гриба Asp. oryzae 3—9—15 на средах с различным источником углерода наблюдалась самая высокая активность декстриназы на средах, содержащих крахмал, декстриназы и мальтозу. Однако сравнительно высокая активность декстриназы обнаружена при выращивании культуры на среде с лактозой, в то время как активность α-амилазы и β-амилазы почти отсутствует [10].

Экспериментальная часть

Во всех опытах используемое обезжиренное молоко имело в среднем следующие показатели:

сухие вещества	— 8,2 %,
белок по Лоури	— 3,70 *мгN* на *мл*,
неосаждаемый ТХУ азот	— 0,13 *мгN* на *мл*,
аминный азот	— 0,04 *мгN* на *мл*,
непосредственно редуцирующие вещества (по лактозе)	— 4,75 %,
pH	— 6,65,
степень гидролиза белков	— 3,5 %,
глубина гидролиза белков	— 1,1 %.

Чистые культуры микроорганизмов поддерживались на 2%-м сусловом агаре. Посевным материалом служила водная суспензия конидий в количестве 3 *мл* на 100 *мл* среды. Среда разливалась по 100 *мл* в колбы Эрленмейера емкостью 500 *мл* и стерилизовалась в автоклаве под давлением 0,6 *ати* в течение 30 минут.

Выращивание гриба проводилось на качалке при 140—160 *об/мин* и при 28—30°С в течение трех-четырех суток.

По окончании выращивания определяли вес выросшего мицелия, активность амилолитических и протеолитических ферментов, аминный азот, растворимый белок, трихлоруксусной кислотой (ТХУ) неосаждаемый азот, непосредственно редуцирующие сахара и pH среды. Во всех опытах проводился микроскопический контроль отсутствия посторонних микроорганизмов.

За единицу амилолитической активности (АЕ) принято количество фермента, которое в определенных условиях (pH=4,7, темп. 30°, концентрация крахмала 1%) за одну минуту катализирует гидролиз 1 минроэквивалента гликозидных связей.

За единицу протеолитической активности (ПЕ) принято такое количество фермента, которое образует в течение одной минуты не осаждаемые ТХУ продукты протеолиза, содержащие 1 микроэквивалент тирозина [11].

Содержание белка определяли по методу Лоури [12]. Калибровочная кривая построена по раствору сывороточного бычьего альбумина. В растворе был определен азот по Кьелдалю. Азот, неосаждаемый ТХУ, определяли по методу Лоури после осаждения белка 5%-ного раствора ТХУ. Аминный азот определили медным способом [13].

Непосредственно редуцирующие сахара определяли по методу Бертрана [14] и вычислялись по лактозе.

Глубина и степень гидролиза белка характеризует приблизительно действие протеолитических ферментов, т. к. часть азота используется грибом в процессе культивирований.

Глубина гидролиза белка определяется по отношению аминного азота к общему, а степень гидролиза по отношению азота, неосаждаемого ТХУ, к общему и выражается в процентах.

Нижеприведенные данные являются средними из трех опытов.

Пользуясь методами математической статистики [15] на основании 8 опытов установлены отклонения от значений основных показателей с вероятностью 95 и 99%:

амилолитическая активность, АЕ на 100 *мл*	± 53	± 69,
протеолитическая активность, ПЕ на 100 *мл*	±0,05	±0,07,
белок по Лоури, *мгN* на *мл*	±0,10	±0,13,
неосаждаемый ТХУ белок, *мгN* на *мл*	±0,08	±0,11,
аминный азот, *мгN* на *мл*	±0,04	±0,05,
непосредственно редуцирующие сахара, %	±0,09	±0,12,
биомасса гриба, *г* на 100 *мл*	±0,09	±0,12.

Результаты

В поисках активного продуцента амилолитических и протеолитических ферментов исследовали ряд микроорганизмов, полученных из Московского технологического института пищевой промышленности и из Всесоюзного научно-исследовательского института ферментной и спиртовой промышленности, обладающих амилолитической и протеолитической активностью.

В предварительных опытах выяснилось, что непосредственный посев конидиями в обезжиренное молоко не дает положительных результатов. Микроорганизмы росли хило и синтез ферментов был невелик.

В следующих опытах выращивание проводилось двумя ступенями. В первой ступени получали мицелий, который во второй ступени использовали в качестве посевного материала.

Выращивание плесневых грибов рода Aspergillus проводилось в первой ступени на сусле ($d=1{,}030$), а выращивание дрожжей на 4% отваре пшеничных отрубей [16].

Время выращивания 24 часа. Во второй ступени пересеивали 5 *мл* мицелий на 100 *мл* обезжиренного молока.

Из опытных данных (табл. 1) видно, что лучшими продуцентами амилолитических ферментов являются Asp. oryzae 3—9—15 и Asp. oryzae 8F1.

В большинстве случаев активность амилазы достигает максимума уже во вторые сутки выращивания, а в дальнейшем уменьшается.

Судя по накоплениям неосаждаемого ТХУ азота лучшими продуцентами протеаз являются Asp. oryzae 3—9—15, Mucor 219 и Asp. oryzae 8F1.

Наиболее интенсивный гидролиз молочных белков наблюдается на первые—вторые сутки культивирования.

Исходя из полученных данных для дальнейших исследований выбран штамм гриба Asp. oryzae 3—9—15, как наиболее эффективный продуцент амилазы и протеазы. Время выращивания в следующих опытах — трое суток, т. к. в дальнейшем амилолитическая активность снижается, а степень гидролиза белков возрастает несущественно.

В следующих опытах сравнивались разные питательные среды для первой ступени.

При составлении сред использовались: пивное сусло с уд. весом 1,03, 10% вытяжка из солодовых ростков, 4% вытяжка из пшеничных отрубей, а также минеральные соли (табл. 2).

После 24 часов выращивания пересеивали 5 *мл* полученной мицелии на 100 *мл* обезжиренного молока.

На основе приведенных в табл. 3 данных можно сделать

Таблица 1

Сравнение результатов выращивания различных микроорганизмов

Вид микроорганизма	Время выращивания, в часах	Амилолитическая активность АЕ на 100 *мм*	ТХУ неосаждаемый азот, *мгN* на *мл*
Asp. oryzae 3—9—15	24	880	1,00
	48	1020	1,68
	72	1000	1,77
	90	980	1,70
Asp. oryzae 8 F 1	24	650	0,46
	48	930	0,75
	72	920	1,07
	90	850	1,21
Asp. oryzae 17	24	340	0,28
	48	660	0,48
	72	820	0,69
	90	730	0,79
Asp. terricola Попова	24	следы	0,35
	48	следы	0,64
	72	следы	0,80
	90	следы	0,98
Mucor кафедры	24	300	0,50
	48	380	0,63
	72	400	0,71
	90	400	0,68
Mucor 219	24	260	0,70
	48	420	1,20
	72	390	1,33
	90	340	1,30
Endomycopsis 20—9	24	210	0,15
	48	240	0,19
	72	290	0,20
	90	300	0,20
Endomycopsis fibuliger	24	290	0,14
	48	340	0.16
	72	370	0,16
	90	370	0,16
Endomycopsis fibuliger (Японский)	24	200	0,17
	48	240	0,20
	72	210	0,20
	90	200	0,18

заключение, что условия выращивания посевного материала заметно влияют на образование ферментов во второй ступени.

Прибавка к пивному суслу 10% вытяжки из солодовых

Таблица 2

Характеристика питательных сред, использованных в первой ступени выращивания

Номера опытов	Характеристика среды	Биомасса гриба, в *г* сухого мицелия после 24 *ч* выращивания
1	Пивное сусло + 10% водной вытяжки из солодовых ростков	1,00
2	Пивное сусло + 10% водной вытяжки из солодовых ростков + $NaNO_3$ (0,15% по азоту)	0,93
3	Пивное сусло + 10% водной вытяжки из солодовых растков + $(NH_4)_2SO_4$ (0,15% по азоту)	0,95
4	Отвар из пшеничных отрубей + 10% водной вытяжки из солодовых ростков	0,57
5	Пивное сусло + 0,4% $NH_4H_2PO_4$	0,79
6	Пивное сусло	0,74
7	Видоизмененная среда Чапека [9]	1,09

ростков повышает активность амилолитических ферментов приблизительно на 15%.

Содержание неосаждаемого ТХУ белка и аминного азота в процессе роста гриба увеличивается.

В опыте 4 на третьи сутки культивирования степень гидролиза молочных белков достигает 87%. Это в 25 раз больше, чем в свежем обезжиренном молоке. Содержание аминного азота и соответственно глубина гидролиза белков достигает в то же время 45%, что по сравнению с обезжиренным молоком в 40 раз больше.

Интересно отметить, что при выращивании гриба Asp. oryzae 3—9—15 в глубинных условиях на среде Чапека синтез протеолитических ферментов отсутствует [6].

Содержание белка, определяемого по Лоури и непосредственно редуцирующих сахаров, в ходе роста гриба уменьшается, т. к. гриб использует их в качестве источника азота и углерода.

Биомасса во всех опытах во время культивирования увеличивается. Наивысшее содержание биомассы наблюдается в опыте 7, хотя этому не соответствует высокий синтез ферментов.

Таблица 3

Результаты выращивания глубинной культуры Asp. oryzae 3—9—15 на различных питательных средах в первой ступени

Показатели	Время выращивания, в часах	Номера опытов						
		1	2	3	4	5	6	7
Амилолитическая активность, АЕ на 100 *мл*	24	1220	1200	1230	290	1000	880	965
	48	1320	1300	1330	410	1080	1020	1140
	72	1210	1200	1240	530	1040	1000	1060
Белок по Лоури, *мгN* на *мл*	24	3,30	3,41	3,26	3,55	3,37	3,24	3,27
	48	2,70	2,90	2,83	2,91	2,66	2,69	2,53
	72	2,30	2,13	2,27	2,60	2,37	2,14	2,04
Неосаждаемый ТХУ азот, *мгN* на *мл*	24	1,10	1,23	1,17	1,72	1,09	1,00	1,40
	48	1,83	1,91	1,54	2,27	1,53	1,68	1,57
	72	1,70	1,89	1,72	2,25	1,59	1,77	1,83
Аминный азот, *мгN* на *мл*	24	0,47	0,31	0,40	0,56	0,29	0,39	0,45
	48	0,96	0,57	0,79	0,97	0,55	0,57	0,67
	72	1,04	0,73	0,91	1,19	0,77	0,86	0,84
Непосредственно редуцирующие сахара, %	25	4,60	4,50	4,60	4,57	4,55	4,47	4,32
	48	4,35	4,40	4,30	4,39	4,35	4,35	4,15
	72	4,20	4,22	4,23	4,30	4,21	4,20	3,96
Биомасса гриба в *г* на 100 *мл* среды	24	0,92	0,87	1,11	0,54	1,08	1,07	1,33
	48	1,13	0,92	1,20	0,71	1,17	1,21	1,57
	72	1,22	1,21	1,27	0,80	1,33	1,30	1,83
pH среды	24	7,60	7,60	7,40	7,70	7,70	7,63	7,35
	48	7,95	7,80	7,65	7,95	8,00	7,95	8,15
	72	8,10	8,10	7,90	8,10	8,10	8,10	8,20

Выводы

1. Показано, что при выращивании плесневых грибов на обезжиренном молоке можно получить препарат амилолитической и протеолитической активностями.

2. Выяснено, что наиболее эффективным продуцентом амилолитических ферментов при выращивании микроорганизмов на обезжиренном молоке является гриб Asp. oryzae 3—9—15.

3. Выращивание микроорганизмов целесообразно проводить двумя ступенями.

4. Условия выращивания посевного материала в первой

ступени заметно влияют на синтез ферментов во второй ступени.

5. Используя в качестве питательной среды пивное сусло с прибавлением 10% вытяжки из солодовых ростков, можно повысить эффективность синтеза амилолитических ферментов.

6. Используя в качестве питательной среды 4% экстракт из пшеничных отрубей, при добавлении 10% вытяжки из солодовых ростков можно направлять синтез в сторону протеолитических ферментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Полянская. Протеолитические ферменты плесневых грибов Aspergillus oryzae. Дис. ВНИИ спиртовой и ликеро-водочной промышленности. М. 1954.

2. В. Г. Бабакина, А. Д. Замыслов. Ферментные препараты из Aspergillus oryzae в кожевенной промышленности. Биохимия, 1939, **4**, 316.

3. В. В. Дорохов, С. А. Коновалов. Условия биосинтеза кислой протеиназы. Микробиологический синтез, 1967, № 8, 15.

4. Э. И. Халупка. Образование и выделение протеазы Streptomyees griseus. Микробиология, 1958, **27**, 422.

5. Н. В. Попова. Влияние источников азотного питания на биосинтез протеолитических ферментов Aspergillus terricola. Прикл. биохим. и микробиол., 1965, **1**, 481.

6. Р. В. Фениксова, Е. А. Двадцатова. Получение концентрированных препаратов амилолитических ферментов из глубинной культуры гриба Aspergillus oryzae 3—9—15. Труды ВНИИСПа, 1961, **11**, 185.

7. Е. Я. Калашников. Биохимические и физиологические особенности гриба Aspergillus oryzae и влияние условий его культивирования в производстве на образование амилолитических ферментов. Труды Института микробиологии АН СССР, 1959, **6**, 132.

8. А. С. Тихомирова, А. К. Куликова. Торможение глюкозой индуцированного синтеза амилазы Aspergillus oryzae. Микробиология, 1963. 32, 577.

9. Р. В. Фениксова, Т. И. Мусаева. Влияние моно- и дисахаридов как источников углерода на образование грибов Aspergillus awamori при глубинных условиях выращивания. Труды ВНИИФСПа, 1967, **17**, 6.

10. Е. А. Двадцатова, Г. И. Комарова, П. А. Соболева. Условия культивирования, способствующие образованию декстриназы грибом Asp. oryzae 3—9—15. Труды ВНИИФСПа, 1967, **17**, 3.

11. И. С. Петрова, М. М. Винцюнайте. Определение протеолитической активности ферментных препаратов микробиологического происхождения. Прикл. биохим. и микробиол., 1966, **2**, 322.

12. H. O. Lowry, J. N. Rosebrough, A. L. Farr, J. R. Randall. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 1951, **193**, 265.

13. А. Н. Белозерский, Н. И. Проскуряков. Практическое руководство по биохимии растений. Сов. наука, М. 1951.

14. А. И. Бурштейн. Методы исследования пищевых продуктов. Медиздат, Киев 1963.

15. И. Ф. Петерсен. Планирование экспериментов. (На эстонском языке). Валгус, Таллин 1966.

16. А. И. Садова. Морфологическая характеристика и ферментативный комплекс Endomycopsis шт. 20—9, активного продуцента глюкоамилазы. Тезисы докладов на межвузовской научной конференции по вопросам применения ферментных препаратов в бродильной промышленности. Воронеж 1967.

T. Liebert, K. Kask, A. Köstner

Production of a Biopreparation by Means of Submerged Cultivation of Aspergillus Fungi in Skim Milk. Part 1

Summary

The synthesis of amylases and proteases by different species of mould fungi in their submerged culture in skim milk has been studied. Aspergillus oryzae strain 3-9-15 has the highest productivity and has been chosen for further investigation. The advantages of two-stage cultivation have been proved. The direction and rate of the enzyme synthesis can be regulated by changing the composition of the medium for the first stage.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 577.152.001.5+637.147

Т. Л. Либерт, К. А. Каск

ПОЛУЧЕНИЕ БИОПРЕПАРАТА ВЫРАЩИВАНИЕМ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ РОДА ASPERGILLUS ГЛУБИННЫМ СПОСОБОМ НА ОБЕЗЖИРЕННОМ МОЛОКЕ

(Сообщение II)

При культивировании плесневых грибов глубинным способом предварительно выращивают мицелий (первая ступень выращивания), затем ими засевают производственные среды.

В литературе приводятся сведения о том, что при глубинном культивировании гриба Asp. niger для накопления пектолитических ферментов возраст и количество посевного материала влияют на синтез ферментов. Установлено, что целесообразно использовать в качестве посевного материала мицелий 36—42-часового возраста в количестве от 2 до 10% [1].

Смирнова и Беккер [2] изучали возрастные изменения гриба Asp. niger при глубинном выращивании. Пользуясь цитологическими методами окраски мицелия, они уточнили момент пересева мицелия, наиболее выгодный для накопления амилолитических ферментов и срока выращивания в производственных ферментерах. Показано, что максимальное накопление ферментов получается при посеве мицелием 30—36-часового возраста.

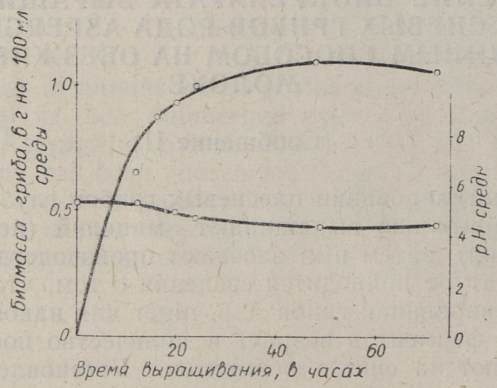
Экспериментальная часть

В наших нижеописанных опытах изучалось влияние возраста посевного материала на синтез ферментов при глубинном выращивании гриба Asp. oryzae 3—9—15 на обезжиренном молоке. Питательной средой на первой ступени служило пивное сусло с прибавлением 10% вытяжки из солодовых ростков. При засеве в 100 *мл* питательной среды вносилось 3 *мл* суспензии конидий (содержащих около $22 \cdot 10^6$ конидий).

Методики выращивания и определения исследуемых показателей описаны в предыдущей статье [3].

После различной длительности выращивания в первой ступени на пивном сусле с прибавлением 10% экстракта из солодовых ростков 5 *мл* мицелия пересеивали в 100 *мл* обезжиренного молока.

Динамика накопления биомассы изображена на фиг. 1. В первые сутки наблюдается особенно быстрый рост биомассы гриба, который достигает максимума во вторые сутки. В дальнейшем рост гриба уже приостанавливается.



Фиг. 1. Накапливание биомассы и изменение pH среды в процессе культивирования

pH культуральной жидкости в первые сутки культивирования снижается, а в дальнейшем не изменяется.

Как видно из данных табл. 1, при возрасте посевного материала в пределах от 20 до 48 часов полученные показатели практически постоянны (отклонения в пределах погрешностей опытов).

При посеве мицелия слишком молодого возраста биомасса гриба накапливается медленно и соответственно синтез ферментов снижается, в то же время усваивание грибом сахара усиливается.

При посеве мицелия 72-часового возраста наблюдалось замедление как роста мицелия, так и накопления ферментов.

Исходя из вышеприведенного, в дальнейшем использовали посевной материал 20-часового возраста.

Исследовалось влияние количества посевного материала на синтез ферментов во второй ступени на обезжиренном молоке. Амилолитическая активность культуральной жидкости

Таблица 1

Влияние различного возраста посевного материала на результаты выращивания глубинной культуры Asp. oryzae 3—9—15

Показатели	Время выращивания, *ч*	Возраст посевного материала, *ч*				
		16	20	24	48	72
Амилолитическая активность, АЕ на 100 *мл*	24	970	1240	1220	1250	860
	48	1140	1350	1320	1360	1050
	72	1160	1210	1200	1230	1130
Степень гидролиза, %	24	31,2	30,4	33,4	35,2	12,7
	48	47,6	62,2	67,8	60,9	39,5
	72	59,4	71,3	74,0	70,2	58,4
Глубина гидролиза, %	24	9,7	12,9	14,3	13,7	8,6
	48	21,3	34,5	35,6	37,0	14,7
	72	39,7	43,7	45,2	46,9	29,1
Непосредственно редуцирующие сахара, %	24	4,25	4,55	4,60	4,57	4,60
	48	4,09	4,35	4,35	4,32	4,52
	72	3,93	4,23	4,20	4,25	4,31
Биомасса гриба, в *г* на 100 *мл* среды	24	0,69	0,90	0,92	1,04	0,57
	48	0,87	1,10	1,13	1,16	0,76
	72	1,02	1,27	1,22	1,20	0,91

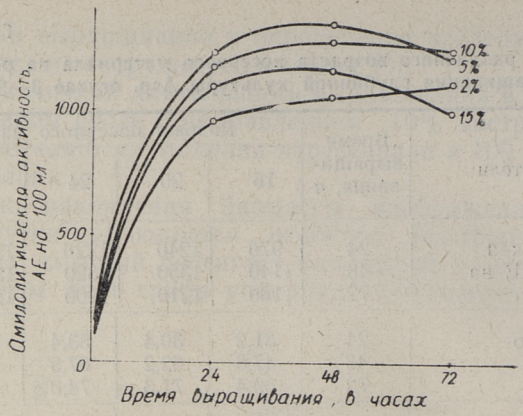
(фиг. 2) достигает максимума после двухсуточного культивирования с использованием посевного материала в пределах от 5 до 10%.

При 2% количестве посевного материала синтез амилолитических ферментов замедляется и при трехсуточном выращивании амилолитическая активность культуральной жидкости все время постепенно возрастает.

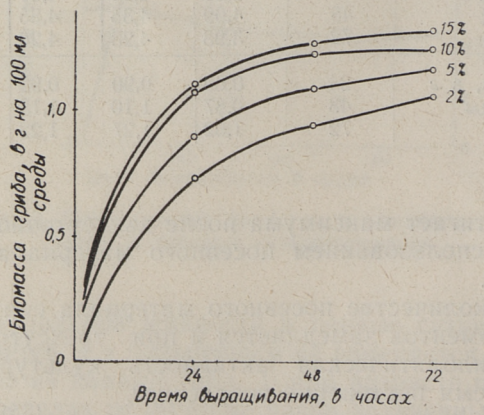
Исходя из вышеприведенного, в следующих опытах был использован посевной материал в количестве 5%.

Как видно из фиг. 3, при увеличении количества посевного материала скорость прироста биомассы возрастает. Особенно сильный прирост мицелия гриба наблюдается в первые сутки выращивания.

Гидролиз молочных белков протекает интенсивно в первые-вторые сутки культивирования (фиг. 4). Наивысшее содержание азота неосаждаемого ТХУ и аминного азота наблюдается при использовании от 5 до 10% посевного материала. Следует отметить, что в процессе культивирования гриб использует продукты гидролиза молочных белков в качестве источника азота. Возможно, что этим обстоятельством



Фиг. 2. Синтез амилолитических ферментов в зависимости от количества посевного материала



Фиг. 3. Накопление биомассы в зависимости от количества посевного материала

можно объяснить наименьшее содержание продуктов гидролиза при самом высоком количестве биомассы гриба.

Между активностью амилазы и количеством мицелия гриба существует корреляция (коэффициент корреляции 0,86).

Как известно, интенсивность аэрации сильно влияет на жизнедеятельность микроорганизмов [4, 5].

Имеются данные и о том, что активная кислотность среды влияет на синтез и локализацию ферментов [6, 7, 8].

Таблица 2

Влияние олеиновой кислоты на синтез и распределение ферментов Asp. oryzae 3—9—15

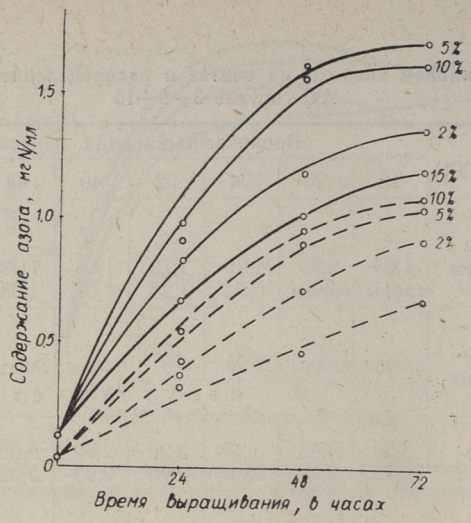
Показатели (контроль 0,1% ОК)	Время выращивания, в часах							
	16	20	24	32	40	48	54	72
Протеолитическая активность, ПЕ на 100 *мл*	1,65 следы	2,25 следы	1,70 0,93	1,70 1,23	1,65 1,01	1,49 1,03	1,31 следы	1,21 следы
Протеолитическая активность в мицелии, ПЕ	следы	следы	0,23	0,31	следы	следы	следы	следы
	отсутствует							
Белок по Лоури, *мгN* на *мл*	3,58 2,10	3,43 2,42	3,23 2,68	3,20 2,70	2,90 2,93	2,60 2,98	2,43 2,80	2,41 2,72
Неосаждаемый ТХУ азот, *мгN* на *мл*	0,67 0,50	0,81 0,52	0,98 0,60	1,23 0,85	1,41 1,03	1,62 1,24	1,63 1,27	1,72 1,48
Аминный азот, *мгN* на *мл*	0,41 0,28	0,47 0,33	0,53 0,45	0,69 0,49	0,84 0,56	0,90 0,71	0,90 0,72	1,05 0,80
pH среды	7,35 6,50	7,50 6,60	7,55 6,70	7,65 6,75	7,72 7,25	7,77 7,50	8,05 7,75	8,15 8,00

При выращивании Asp. oryzae 3—9—15 на обезжиренном молоке наблюдается сильное вспенивание среды, вследствие чего ухудшаются аэрационные условия.

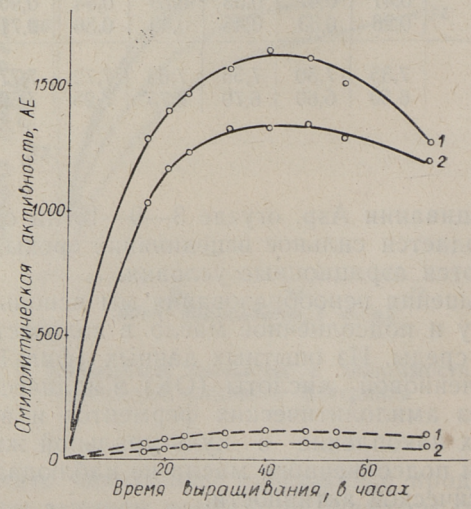
Для уменьшения пенообразования мы использовали олеиновую кислоту и подсолнечное масло в количестве от 0,1 до 0,8% от веса среды. Из опытных данных (фиг. 5) видно, что добавление олеиновой кислоты (ОК) в количестве 0,1% повышает синтез амилолитических ферментов и влияет благоприятно на их накопление в культуральной жидкости. При использовании подсолнечного масла не наблюдалось повышения амилолитической активности.

Наоборот, олеиновая кислота замедляет синтез протеолитических ферментов (табл. 2). В присутствии олеиновой кислоты молочные белки в начале коагулируются, но переходят вновь в растворимые формы в процессе выращивания.

Добавление олеиновой кислоты снижает pH среды, которое в процессе выращивания постепенно возрастает.



Фиг. 4. Накопление неосаждаемого ТХУ азота /—/ и аминного азота /———/ в зависимости от количества посевного материала



Фиг. 5. Влияние олеиновой кислоты на накопление амилолитических ферментов и на их распределение:

1 — добавлено 0,1% ОК; *2* — контрольный опыт. — амилолитическая активность на 100 *мл* культуральной жидкости; — — — амилолитическая активность в мицелии гриба

Выводы

1. Исследовалось влияние возраста и количества посевного материала при выращивании глубинной культуры Asp. oryzae 3—9—15 на обезжиренном молоке. Установлено, что целесообразно применять посевной материал 20-часового возраста в количестве 5% от веса обезжиренного молока.

2. Максимальная активность амилазы наблюдается к 40 часам культивирования.

3. Добавление олеиновой кислоты повышает амилазную активность культуральной жидкости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. А. Херсонова. Применение мицелия в качестве посевного материала при глубинном культивировании плесневых грибов для накопления пектолитических ферментов. Ферм. и спирт. пром., 1967, № 1, 10.

2. А. П. Смирнова, З. Э. Беккер. Возрастные изменения гриба Asp. niger при глубинном выращивании. Труды ВНИИСПа 1954, № 3, 82.

3. Т. Л. Либерт, К. А. Каск, А. И. Кёстнер. Получение биопрепарата выращиванием плесневых грибов рода Aspergillus глубинным способом на обезжиренном молоке. Сообщение 1 (в настоящем сборнике).

4. В. В. Вяткин. Условия роста мицелия и накопления амилолитических ферментов при глубинном выращивании гриба Asp. niger. Труды ВНИИСП-а, 1954, № 3.

5. И. А. Хмель, И. С. Коршунов. Влияние аэрации на жизнедеятельность микроорганизмов. Прикл. биохим. и микробиол., 1966, 2, 714.

6. Л. С. Смирнова. Влияние окисленной и восстановленной формы азота в среде на выделение амилазы из мицелия. Микробиология, 1956, 25, 423.

7. K. Tonomura, O. Tanabe. Localisation of cell-bound α-amylase in Aspergillus oryzae demonstrated by fluorestsent technique. J. Bacteriol. 1964, 87, 226.

8. Р. В. Фениксова, А. С. Тихомирова, А. К. Куликова. Влияние состава питательной среды на локализацию амилазы Aspergillus oryzae. Прикл. биохим. и микробиол., 1967, 3, 394.

T. Liebert, K. Kask

Production of a Biopreparation by Means of Submerged Cultivation of Aspergillus Fungi in Skim Milk. Part 2

Summary

The effect of the age and quantity of inoculum on the enzyme activity has been studied. For obtaining the highest amylase activity it is necessary to use 5 per cent from the inoculum in the age of 20 hours.

For the second stage the optimal cultivating time is about 40 hours.

By adding 0,1 per cent oleic acid to the second stage medium the biosynthesis of amylase increases.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 577.152.001.5+637.147

Т. Л. Либерт, К. А. Каск

ПОЛУЧЕНИЕ БИОПРЕПАРАТА ВЫРАЩИВАНИЕМ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ РОДА ASPERGILLUS ГЛУБИННЫМ СПОСОБОМ НА ОБЕЗЖИРЕННОМ МОЛОКЕ

Сообщение 3

В настоящей статье приведены результаты опытов по изучению влияния различных условий на активность комплекса амилолитических и протеолитических ферментов в биопрепарате.

Биопрепарат получен выращиванием глубинной культуры Asp. oryzae 3—9—15 на обезжиренном молоке с прибавлением 0,1% олеиновой кислоты [1]. Время культивирования 40 часов.

Методика определения исследуемых показателей приведена в нашей предыдущей статье [2].

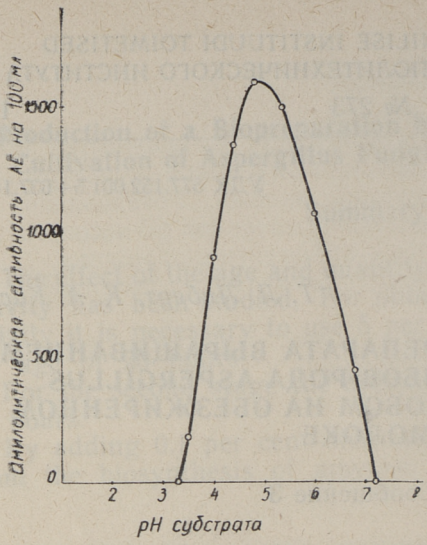
Действие амилолитических ферментов проявляется в интервале pH раствора крахмала от 3,3 до 7,2. Оптимум действия лежит при pH 4,8 (фиг. 1).

Далее исследовалась устойчивость амилолитического комплекса в зависимости от температуры. Как видно из фиг. 2, при pH среды в пределах 4,8÷6,2 амилолитический комплекс ферментов вполне устойчив до температур 40°C, причем наибольшая устойчивость наблюдается при оптимальном pH, с точки зрения амилолитической активности.

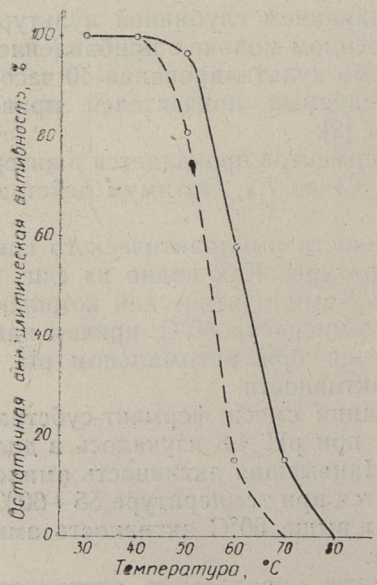
Влияние температуры инкубации смеси фермент-субстрат на степень гидролиза субстрата при pH 4,8 изучалось в диапазоне от 25 до 80° C (фиг. 3). Наивысшая активность амилолитических ферментов наблюдается при температуре 55—60°C.

При повышении температуры выше 60°C активность амилолитического комплекса падает.

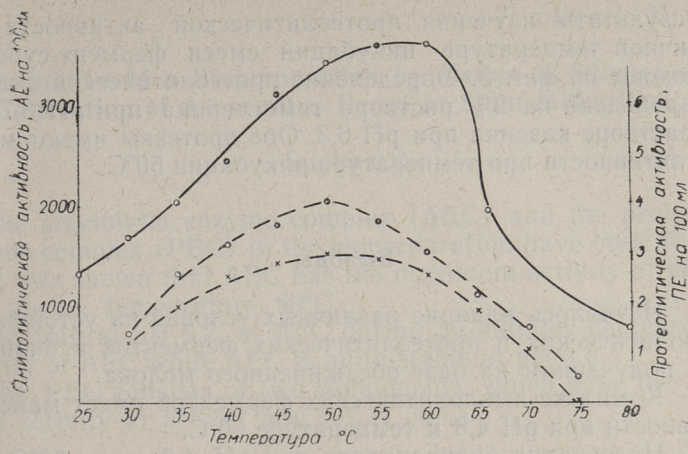
На фиг. 4 приведены результаты определения активности протеолитических ферментов при различных pH субстрата. В качестве субстрата использовали 2% раствор гемоглобина в фосфатно-цитратном буфере при pH 1,5 до 4,7 и 2% раствор



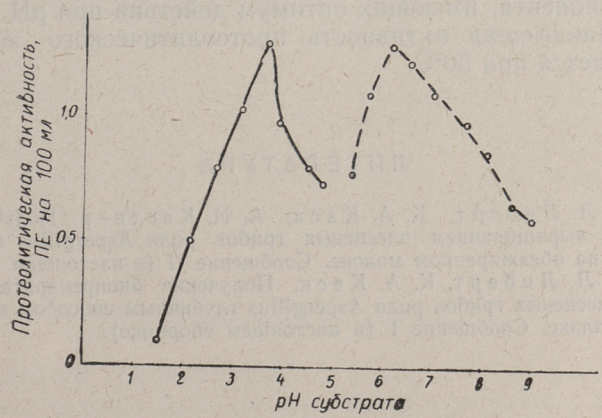
Фиг. 1. Влияние pH на активность амилолитических ферментов



Фиг. 2. Влияние температуры на устойчивость амилолитических ферментов при различных pH среды: — pH 4,8, ——— pH 6,2



Фиг. 3. Влияние температуры инкубации на активность амилолитических и протеолитических ферментов: — активность амилолитического комплекса; ——— активность нейтральной протеазы; —x— активность кислой протеазы



Фиг. 4. Влияние pH на активность протеолитического комплекса: — на 2% растворе гемоглобина; ——— на 2% растворе казеина

казеина в фосфатном буфере при pH 5,3 до 9,0. Время инкубаций 1 час. Как видно из фигуры, протеолитический комплекс имеет два максимума активности. Первый максимум наблюдается в кислой области при pH 3,7, а другой в нейтральной — при pH 6,3.

Результаты изучения протеолитической активности при различной температуре инкубации смеси фермент-субстрат приведены на фиг. 3. Определение протеолитической активности проведено на 2% растворе гемоглобина при pH 3,7 и на 2% растворе казеина при pH 6,3. Обе протеазы имеют максимум активности при температуре инкубации 50°С.

Выводы

1. Изучалось влияние различных условий на устойчивость амилолитических и протеолитических ферментов в биопрепарате, полученном на базе обезжиренного молока.
2. Комплекс амилолитических ферментов имеет максимум активности при pH 4,8 и температуре 60°С.
3. Нагревание биопрепарата при pH 4,8 выше 50°С в течение 30 минут вызывает инактивацию амилолитических ферментов. Нагревание при pH 6,2 вызывает падание активности уже выше 40°С.
4. Протеолитический комплекс в биопрепарате содержит два компонента, имеющих оптимум действия при pH 3,7 и 6,3.
5. Наивысшая активность протеолитического комплекса наблюдается при 50°С.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. Л. Либерт, К. А. Каск, А. И. Кестнер. Получение биопрепарата выращиванием плесневых грибов рода Aspergillus глубинным способом на обезжиренном молоке. Сообщение II (в настоящем сборнике).
2. Т. Л. Либерт, К. А. Каск. Получение биопрепарата выращиванием плесневых грибов рода Aspergillus глубинным способом на обезжиренном молоке. Сообщение I (в настоящем сборнике).

T. Liebert, K. Kask

Production of a Biopreparation by Means of Submerged Cultivation of Aspergillus Fungi in Skim Milk. Part 3

Summary

The amylolytic enzyme complex (AEC) and the proteolytic enzyme complex (PEC) in the biopreparation have been studied.

It was shown that AEC has the maximum activity at pH 4.8 and at the temperature 60°C.

Heating at pH 6.2, at 40°C during 30 minutes decreases the activity of AEC while AEC is quite stable at pH 4.8.

The PEC consists of two components, which have the maximum activity at pH 3.7 and 6.3 at 50°C.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 577.154.35.07.:582.292.123.4

А. Г. Канн, К. К. Рая, А. И. Кестнер

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ГРИБОМ ASPERGILLUS AWAMORI

В предыдущей работе [1] нами были исследованы возможности получения пектолитических ферментов выращиванием гриба Asp. niger П в среде, полученной на базе дешевого местного сырья — отходов производства яблочного сока. Но с 1967 года гриб Asp. niger П в промышленности применять не разрешается. Поэтому вопрос о выборе новых продуцентов пектолитических ферментов, об определении подходящих им питательных сред и условий выращивания приобрел большую актуальность.

В настоящей работе исследовалось выращивание грибов Aspergillus awamori 16 и Aspergillus awamori 22, полученных из Всесоюзного научно-исследовательского института ферментной и спиртовой промышленности, на различных питательных средах, обратив внимание на возможность применения отходов производства яблочного сока.

Экспериментальная часть

Выращивание гриба Aspergillus awamori 22 на различных питательных средах, составленных по литературным данным [2, 3] и по данным предыдущей работы [1], глубинным методом не дало желаемых результатов, так как пектолитическая активность культуральной жидкости оставалась сравнительно низкой. Более высокие активности были получены выращивая Asp. awamori 22 поверхностным методом на различных питательных средах. При выборе состава и влажности питательной среды, продолжительности и температуры выращивания поверхностным методом руководствовались литературными данными [4, 5, 6, 7].

Среды были составлены на основе пшеничных отрубей.

Таблица 1

Выращивание Asp. awamori 22 поверхностным методом

№ опыта	Прибавки к пшеничным отрубям		Время выращивания, *час*	Пектолитическая активность, *ед/г*
	Питательные вещества	вода, %		
1	2% пектина	40	120	64,5
2	2% пектина	60	120	65,5
3	2% пектина и 0,5% $NH_4H_2PO_4$	50	96	83,4
4	2% пектина и 0,5% $NH_4H_2PO_4$	50	120	75,1
5	20% яблочной мезги	50	96	13,6
6	40% яблочной мезги	50	96	10,5
7	40% яблочной мезги	50	120	18,15

Условия выращивания и полученные результаты приведены в табл. 1. Активность культуры выражена в единицах на *г* сухих веществ.

По результатам опытов видно, что на средах, составленных из пектина и пшеничных отрубей, культура Asp. awamori 22 дает довольно высокую активность. Прибавкой $NH_4H_2PO_4$ достигается дополнительное повышение активности. Яблочная мезга не может служить источником пектина в среде. Среды, составленные с прибавкой яблочной мезги, дают активность в несколько раз ниже контроля.

Кроме того, глубинный метод выращивания имеет ряд преимуществ по сравнению с поверхностным методом, и целью нашей работы был подбор продуцентов и питательных сред именно для глубинного выращивания. На основании вышеизложенного применение культуры Asp. awamori 22 считали нецелесообразным и дальнейшие исследования проводились с культурой Asp. awamori 16.

Asp. awamori 16 выращивали глубинным методом в двух стадиях: в I стадии получали посевной материал, во II стадии накапливались пектолитические ферменты. Для пересевов чистой культуры Asp. awamori 16 пользовались морковным агаром, приготовленным следующим образом: к 1 *кг* очищенной моркови добавляли до 2 литров воды, кипятили 1 час, охлаждали, доводили объем до 2 литров, отфильтровывали и добавляли компоненты среды Роллена: глюкозы — 1%, NH_4NO_3 — 0,3%, KH_2PO_4 — 0,1%, $MgSO_4$ — 0,1%, $FeSO_4$ — следы. После

добавления 2% агара среду стерилизовали. На морковном агаре получали споры Asp. awamori 16, которые пересеивали в среду для выращивания посевного материала.

При выращивании культуры Asp. awamori 16 в первую очередь исследовалось влияние состава среды первой стадии на конечную активность. Полученные данные приведены в табл. 2.

Таблица 2

Выращивание посевного материала Asp. awamori 16 на различных питательных средах

№ опыта	Питательная среда	Время выращивания, *час*	Пектолитическая активность, *ед/мл*	pH в конце опыта	Биомасса, *г/100мл*
1	Экстракт моркови + компоненты среды Роллена	46	6,82	3,30	1,45
2	Экстракт пшеничных отрубей + компоненты среды Роллена	46	2,28	2,47	0,99
3	Пивное сусло + 0,4% $(NH_4)H_2PO_4$	46	4,59	3,17	2,08
4	Среда Чапека с 2% пектина	46	9,32	4,29	0,22
5	Экстракт пшеничных отрубей + компоненты среды Роллена	70	5,28	2,94	0,97
6	Пивное сусло + 0,4% $(NH_4)H_2PO_4$	70	4,78	2,75	0,72
7	Среда Чапека с 2% пектина	70	7,0	6,29	0,23

Из таблицы 2 видно, что наивысшая пектолитическая активность была в среде Чапека с 2% пектина, но при этом биомасса мицелия, необходимая для пересеивания, оставалась незначительной. Для дальнейших исследований были выбраны среды из экстрактов моркови и пшеничных отрубей, обе с прибавкой солей Роллена, а также пивное сусло. Названные среды были использованы в I стадии. Рядом опытов установили, что в I стадии достаточна продолжительность в 24 часа.

С целью выяснения влияния состава среды I стадии на конечную активность II стадии, а также для определения оптимальной продолжительности выращивания во II стадии, был проведен ряд опытов, основные результаты которых приведены в табл. 3. Средой во второй стадии служила среда Чапека с 2% пектина.

Таблица 3

Выращивание Aspergillus awamori 16

№ опыта	Питательная среда в I стадии	pH среды во II стадии		Время выращивания во II стадии, час	Биомасса во II стадии, г/100 мл	Пектолитическая активность, Е/мл
		начальная	конечная			
1	Морковный экстракт + компоненты среды Роллена	3,20	2,90	24	0,16	4,61
2	Экстракт пшеничных отрубей + компоненты среды Роллена	3,20	2,92	24	0,36	8,67
3	Пивное сусло + 0,4% $NH_4H_2PO_4$	3,20	3,09	24	1,01	4,09
4	Морковный экстракт + компоненты среды Роллена	3,20	5,78	47	0,56	9,81
5	Экстракт пшеничных отрубей + компоненты среды Роллена	3,20	4,26	47	0,38	11,37
6	Пивное сусло + 0,4% $NH_4H_2PO_4$	3,20	7,51	47	1,39	1,27
7	Морковный экстракт + компоненты среды Роллена	3,20	6,96	66	0,52	1,63
8	Экстракт пшеничных отрубей + компоненты среды Роллена	3,20	5,74	66	0,42	10,08
9	Пивное сусло + 0,4% $NH_4H_2PO_4$	3,20	7,67	66	1,20	0,40

Из таблицы 3 видно, что самую высокую активность пектолитических ферментов — 11,37 *ед/мл* — получали при применении в первой стадии экстракта пшеничных отрубей с солями среды Роллена и при выращивании культуры во второй стадии в течение 47 часов.

При сравнивании количества биомассы и пектолитической активности можно заметить, что между ними нет прямой зависимости. Самой высокой биомассе — 1,39 *г*/100 *мл* — отвечает сравнительно низкая пектолитическая активность. Кроме того, с увеличением биомассы не всегда увеличивается пектолитическая активность даже в одной и той же среде (опыты 5 и 8).

В дальнейшем были исследованы возможности применения яблочной мезги в составе среды II стадии.

Для выращивания посевного материала применяли экстракт пшеничных отрубей с солями среды Роллена; выращи-

Таблица 4

Выращивание Asp. awamori 16 на различных питательных средах

№ опыта	Питательная среда во II стадии	Продолжительность выращивания во II стадии, *час*	pH среды во II стадии		Пектолитическая активность, *Е/мл*
			начальная	конечная	
1	Среда Чапека с 2% пектина	46	3,14	4,23	7,5
2	Среда Чапека с 10% яблочной мезги	46	3,47	7,80	0
3	Среда Чапека с 2% пектина	48	3,27	3,37	8,15
4	Среда Чапека с 10% яблочной мезги	48	3,76	6,75	0,84
5	Среда Чапека с 2% пектина	66	3,27	3,89	13,2
6	Среда Чапека с 10% яблочной мезги	66	3,76	6,61	0,56
7	Среда Чапека с 2% пектина	78	3,27	4,56	10,95
8	Среда Чапека с 10% яблочной мезги	78	3,76	7,15	0,58

Таблица 5

Выращивание Asp. awamori 16 на средах с различным содержанием пектина

№ опыта	Среда во II стадии: среда Чапека +		pH в конце опыта	Пектолитическая активность, *Е/мл*
	яблочная мезга, *г*/100 *мл*	пектин, *г*/100 *мл*		
1	10	0,3	7,91	0,70
2	10	0,5	7,78	3,24
3	10	1,0	7,04	4,80
4	10	2,0	7,00	7,05
5	—	2,0	3,75	6,77

вание продолжалось 24 часа. Во второй стадии контрольной средой служила среда Чапека с 2% пектина и опытной средой — среда Чапека с 10% яблочной мезги. Продолжительность выращивания варьировали от 46 до 78 часов (табл. 4).

Из данных табл. 4 вытекает, что нормальная пектолитическая активность получена лишь при использовании во второй стадии среды Чапека с 2% пектина. На среде Чапека с яблоч-

ной мезгой пектолитическая активность является незначительной.

В следующей серии опытов к среде Чапека с 10% яблочной мезги добавляли 0,5% пектина. Пектолитическая активность в этом случае увеличивалась до 7,06 *ед/мл* после 48 часов выращивания. Полученные данные свидетельствуют о том, что в среде Чапека с 10% яблочной мезги для биосинтеза пектолитических ферментов пектина недостаточно. Для выяснения влияния количества пектина на интенсивность образования пектолитических ферментов были приготовлены питательные среды с применением различных количеств пектина. В первой стадии пользовались экстрактом из пшеничных отрубей с солями Роллена. Результаты приведены в табл. 5.

На основании данных табл. 5 можно сделать вывод, что для получения высокой пектолитической активности содержание пектина в среде должно быть не менее 1,5—2%.

Содержание пектина в сухом веществе яблочной мезги составляет 8%, т. е. среда с 10% яблочной мезги (20% сухого вещества) содержит только 0,16% пектина, что явно недостаточно для накопления пектолитических ферментов грибом Asp. awamori 16. Приготовление же питательной среды с большей концентрацией яблочной мезги нецелесообразно, так как среда становится слишком густой и не позволяет проводить аэрацию и перемешивание в нужной степени.

Выводы

1. Культуру гриба Asp. awamori 22 целесообразно применять для получения пектолитических ферментов только при поверхностном методе выращивания.

2. При глубинном выращивании Asp. awamori 16 была получена высокая пектолитическая активность при следующих условиях: среда в I стадии — экстракт пшеничных отрубей, продолжительность выращивания — 24 часа; среда во II стадии — среда Чапека с 2% пектина, продолжительность выращивания — 46—66 часов.

3. Питательную среду, приготовленную на базе яблочной мезги, нецелесообразно применять для выращивания гриба Asp. awamori 16 с целью накопления пектолитических ферментов из-за низкого содержания пектина.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Г. Канн, К. К. Рая. См. наст. сборник.
2. D. Deese,, M. Stahmann. Pectic enzymes and cellulose formation by Fusarium oxysporum f. cubense on stem tissues from resistant and suseptible banana plants. Phythopathology 52, 247, 1962.
3. Л. А. Херсонова, К. А. Калуянц. Производство пектолитических ферментных препаратов методом глубинного культивирования продуцента. Ферментная и спиртовая промышленность, 8, 11, 1964.
4. W. Ashour. Trans. Brit. Mycol. Soc. 37, 343, 1954.
5. R. Tutobello, P. Mill. The pectic enzymes of Aspergillus niger Biochem. J. 79, 1, 51, 1961.
6. А. Ф. Кувикова. Применение очищенных препаратов пектиназы для осветления плодовоягодных соков. Внедрение ферментных препаратов. Сборник докладов на Всесоюзной конференции, ч. II, 24, 1961. Цинтипищепром.
7. В. В. Фремель. Основы микробиологии. Цинтипищепром, М. 1964.

A. Kann, K. Raja, A. Köstner

Der Einfluß der Zusammensetzung des Nährbodens auf die Bildung der pektolytischen Enzymen des Pilzes Aspergillus awamori

Zusammenfassung

Die Züchtung des Pilzes Aspergillus awamori 16 auf den verschiedenen Nährböden wurde untersucht. Bei der Züchtung in der Tiefkultur wurden bei den untergenannten Bedingungen die besten Ergebnisse erzielt:

In dem I Züchtungsstadium als Nährboden der Extrakt der Weizenkleien, die Dauer der Züchtung — 24 Stunden.

Als Nährboden für das II Züchtungsstadium diente Tschapec-Boden mit 2% Pektin, die Dauer des Züchtung 46—66 Stunden.

3 Заказ № 3562

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 663.13

Ю. М. Канн, К. А. Каск, А. И. Кёстнер,
А. А. Талвари, А. Э. Мюлинг

ДЕСТРУКЦИЯ КЛЕТОК ПИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ В КОЛЛОЙДНОЙ МЕЛЬНИЦЕ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТА β-ФРУКТОФУРАНОЗИДАЗЫ

При получении ендоферментов из дрожжевых клеток необходима предварительная деструкция клеточных оболочек. Разрушение клеток можно осуществить при помощи автолиза в присутствии клеточных ядов, с использованием специальных растворителей, при повышенных температурах, с использованием механических методов деструкции и т. д.

Клеточная оболочка не является механическим барьером между внешней средой и протоплазмой, а исключительно активной физико-химической системой при обмене веществ в клетке.

Исследованиями ультратонких срезов клеточных оболочек на электронном микроскопе установлено, что клеточная оболочка дрожжей состоит по крайней мере из двух слоев [1].

Э. Бергандер [2] в своей монографии дает подробную характеристику дрожжевой клетки.

К эндоферментам относится и дрожжевая β-фруктофуранозидаза или инвертаза (а также сахараза). Она непосредственно прилегает к клеточной мембране, т. е. расположена у внутренней поверхности клетки в зоне от 500 до 1000 Å [3]. Идею о локализации инвертазы поддерживают Бест [4] и Мюрбегк [5]. Сама идея о локализации инвертазы у клеточной мембраны принадлежит Вилльстеттеру [6].

Бертло [7] впервые удалось выделить инвертазу из дрожжевой вытяжки. С тех пор многие исследователи занимались вопросами выделения инвертазы из дрожжевых клеток, предварительно подвергая дрожжи автолизу и с последующей очисткой инвертазы. В настоящее время известны лишь некоторые работы [5], где вместо автолиза использована механическая деструкция, в частности в мельнице «Виброген».

Проблемой разрушения клеточных оболочек микроорганизмов занимались многие исследователи, предлагая для этой

цели дезинтеграторы различных конструкций [8, 9, 10]. Общим недостатком предложенных установок является их непригодность для промышленного использования.

Учитывая вышеизложенное, в данной работе для деструкции дрожжевых клеток использована коллоидная мельница типа Л 202 (ГДР) с числом оборотов ротора 12 000.

Деструкция частиц в коллоидной мельнице происходит в жидкой среде, причем ротационная сердцевина вместе с лопастями является только переносчицей энергии в жидкость. Принцип работы мельницы состоит в том, что при движении относительно широких лопастей ротора с высокой скоростью через жидкую среду на противоположной стороне лопасти образуется вакуум. В следующий момент сквозь образующийся вакуум движется другая лопасть и частицы жидкости или суспензии сталкиваются с огромной энергией. Это постоянное отщепление частиц жидкости друг от друга и сталкивание вызывает в коллоидной мельнице высокий эффект деструкции.

Важным фактором является отвод образующегося тепла. Перестройка системы охлаждения мельницы на принудительную циркуляцию охлаждающей воды позволила поддерживать температуру в пределах 20—40°С.

Исходным сырьем в наших опытах служили пивные дрожжи Saccahromyces cerevisiae XI, полученные с пивоваренного завода «Саку». Дрожжи промывали трижды ледяной водой и центрифугировали до содержания сухих веществ 22—25%.

Инвертазную активность дрожжевой суспензии и центрифугата, полученного из обработанной в коллоидной мельнице дрожжевой суспензии, определяли по инверсии 4,75% раствора сахарозы в ацетатном буфере с pH 4,6 при температуре +30°С в течение 5 минут. Количество редуцирующих сахаров определяли феррицианидным методом [11]. Ошибка определения сахара по цианидному методу в наших опытах не превышала ±1,3%. Инвертазная активность выражена в *мг* инвертного сахара на 1 *г* сухих дрожжей.

В первых сериях опытов определяли оптимальную концентрацию и время обработки дрожжевой суспензии в коллоидной мельнице. Оптимальными условиями оказались:

а) время обработки 8—10 минут,

б) исходное количество дрожжевой суспензии 2 *кг*,

в) концентрация дрожжевой суспензии 33,3% (2 части воды и 1 часть отцентрифугированных дрожжей с содержанием сухих веществ 25%).

Температура дрожжевой суспензии при проведении опытов не превышала 50°С. pH среды оставалась в пределах 5,1—5,8.

Содержание инвертазы в исходных дрожжах определяли по следующей методике. В изготовленную суспензию (50% отцентрифугированных дрожжей и 50% дистиллированной воды) добавляли 10% $(NH_4)_2HPO_4$ (от веса дрожжей) и 5% бензола и проводили автолиз при 30°С до максимально проявленной активности. При этом не представлялось возможным учесть то количество инвертазы, которое образовалось добавочно во время проведения самого автолиза. Однако учитывая, что определенное количество фермента также инактивируется при автолизе, то в наших опытах содержание инвертазы в исходных дрожжах условно определялось по максимуму на кривой время — активность. Обычно оказалось достаточным уже 48-часового автолиза.

Дрожжевая суспензия, обработанная в коллоидной мельнице, дала в 1,65 раза меньшую активность по сравнению с автолизом. Степень деструкции дрожжевых клеток составляла в среднем 43%. Эти обстоятельства обусловили применение различных инертных веществ при деструкции дрожжевых клеток в коллоидной мельнице.

В табл. 1 приведены данные, полученные при обработке дрожжевой суспензии в коллоидной мельнице в присутствии кирпичного порошка.

Автолиз дрожжевой суспензии дал инвертазную активность суспензии 4240 и центрифугата 3090 *мг* инвертного сахара на 1 *г* сухих дрожжей. Степень деструкции дрожжевых клеток при использовании инертного вещества составляла уже более 80%.

Таблица 1

Деструкция дрожжевых клеток в коллоидной мельнице в присутствии кирпичного порошка*

№ п/п	Количество инертного вещества в дрожжевой суспензии, %	Температура среды в конце опыта, °С	pH среды	Инвертазная активность *мг* инверта 1 *г* сухих дрожжей		Количество освобожденной инвертазы, %
				в суспензии	в центрифугате	
1	0,0	35	5,1	2780	1080	39
2	2,2	41	5,1	4530	1680	37
3	4,4	46	5,2	4830	2182	45
4	6,7	47	5,2	4725	2175	46
5	8,9	43	5,3	5100	2250	44

* Дрожжевая суспензия содержала 33,3% отцентрифугированных дрожжей (22,5% сухого вещества).

Из приведенных данных явствует, что продолжительный автолиз дрожжевой суспензии можно с успехом заменить механической деструкцией дрожжевых клеток в коллоидной мельнице. Вопрос об освобождении инвертазы от осколков дрожжевых клеток требует дальнейшего, более тщательного изучения.

Выводы

1. Разработана методика деструкции дрожжевых клеток в коллоидной мельнице.

2. Степень деструкции дрожжевых клеток в коллоидной мельнице при применении инертного вещества составляет более 80%.

3. В определенных условиях продолжительный автолиз можно с успехом заменить механической деструкцией дрожжевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. H. D. Agar, H. H. Douglas. J. Bacteriol., **70**, 427 (1955).
2. E. Bergander. Biologie der Hefen. Eine Einführung. Leipzig, 1967.
3. J. W. Preiss. Arch. Biochem .and Biophys., **75**, 1, 186 (1958).
4. J. B. Best. Comp. Physiol., **46**, 29 (1955).
5. K. Myrbäck. Brauwissenschaft, **2**, 82 (1961).
6. R. Willstätter. Untersuchungen über Enzyme, 1, 535 (1928).
7. M. Berthelot. Compt. Rend. Acad. Sci., 50, 980 (1860).
8. D. E. Hughes. British J. Expt. Pathol., **32**, 97 (1951).
9. А. Х. Абдумаликов. Авторское свидетельство № 193689. Бюлл. изобретений, 7, 87 (1967).
10. А. Х. Абдумаликов, О. С. Полозков, Б. Н. Терлецкий. Микробиологический синтез, 7, 9 (1967).
11. СССР Государственные стандарты. Хлеб и хлебные изделия. Сборник. Изд. Стандартов, 1965, стр. 224.

Y. Kann, A. Kask, A. Köstner, A. Talvari

Destruction of Yeast Cells in a Colloid Mill for the Purpose to Liberate the Enzyme ß-fructofuranosidase

Summary

The process of grinding of yeast cells in a colloid mill has been optimisized. Adding of some inert solids into yeast slurry increases the effect on grinding. In this way more than 80 p. c. of yeast cells have been destructed.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 577.154.21.07:582.282.232

Ю. М. Канн, А. Э. Мюлинг, К. А. Каск, А. И. Кёстнер

ОБОГАЩЕНИЕ ПИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ ИНВЕРТАЗОЙ

Фермент инвертаза применяется в разных отраслях пищевой промышленности. В кондитерской промышленности можно заменить кислотную инверсию сахарозы ферментативной. Добавление инвертазы улучшает качество и замедляет старение помадных конфет. Инвертаза применяется и в производстве безалкогольных напитков и т. д.

Инвертаза содержится во многих растениях (в тростнике, фруктах, ягодах и т. д.) и микроорганизмах [1]. В наибольших количествах инвертаза содержится в дрожжах. При этом пивные дрожжи содержат инвертазу до 10 раз больше, чем пекарские [2].

Работы А. З. Бару [2] показали, что пекарские дрожжи более чувствительны к избытку сахарозы и к недостатку азотистых веществ в питательной среде, чем пивные. Для промышленного получения инвертазы более целесообразно применять пивные дрожжи.

Большая часть инвертазы остается внутри дрожжевых клеток и только незначительное количество фермента выделяется в окружающую среду [3].

Выращивая дрожжи при низких концентрациях сахарозы, можно увеличить содержание инвертазы в клетках в несколько раз. Эффект обогащения дрожжей инвертазой зависит от многих факторов: от расы, генерации и физиологического состояния дрожжевых клеток и от условий обогащения — количества прибавляемого сахара, длительности выращивания, химического состава питательной среды, pH среды, температуры, аэрации, освобождения от продуктов брожения и т. д.

При обогащении дрожжей инвертазой содержание других ферментов в клетках остается без изменения. Это облегчает выделение и отчистку инвертазы, так как других белков осаждается вместе с инвертазой сравнительно мало.

Процесс обогащения дрожжей инвертазой исследовали

Ейлер, Вильштаттер, Вайденгаген [2]. Из советских исследователей занимались этими вопросами Мильский и Бару с сотрудниками из Украинского научно-исследовательского института пищевой промышленности [2, 4].

Вильштаттер [4] получил наилучшие результаты при добавлении 10% сахара от веса дрожжей в час в течение 10 часов при температуре +30°С и pH 4,5—6,5. Среды сбраживания перемешивали механически. Для выделения продуктов брожения среды периодически переменяли. Вильштаттеру удалось достигать обогащения дрожжей инвертазой до 16 раз. При этом обогащение дрожжей, примененных в промышленности более 7 циклов, не дало хороших результатов.

Вайденгаген [4] получил наилучшие результаты при добавлении сахара в количестве 6% от веса дрожжей в час в течение 10 часов при pH 4,5—5,5. Вайденгаген считал аэрацию очень важным. Воздух продували 250—400 *л* в час на 100 *г* дрожжей. Если воздуха дали меньше 300 *л* в час, прирост инвертазы уменьшался. Чем лучше измельчался воздух, тем лучшие были результаты.

Мильский и Бару заменяли раствор чистой сахарозы мелассовым суслом [4]. Наилучшие результаты достигнуты добавлением мелассового сусла в течение 10 часов в количестве 8% сахара от веса дрожжей в течение первых часов выращивания и при постепенном уменьшении этого количества до 2% сахара в час в течение последних часов. При этом непрерывно продували воздух 300 *л* в час на 100 *г* дрожжей. Эффект обогащения увеличился до 10 раз.

В Украинском научно-исследовательском институте пищевой промышленности выработана технология обогащения дрожжей инвертазой, добавляя мелассовое сусло постепенно в количестве 4% сахара от веса дрожжей в час в течение 10 часов при температуре 30°С и непрерывной аэрации [5].

Целью настоящей работы являлось изучение возможностей обогащения инвертазой пивных дрожжей из пивзавода Саку, где используются дрожжи «Saccharomyces cerevisiae», раса 11.

Методика определения инвертазной активности дрожжей

Для выделения инвертазы из дрожжевых клеток применяли автолиз при температуре +30°С в течение 120 часов в присутствии бензола 5% от веса дрожжей. Дрожжи суспендировали в воде в отношении 1:1.

Инвертазная активность автолизата определяли по инвер-

сии 4,75% раствора сахарозы в ацетатном буфере pH 4,6 при температуре +30°С в течение 5 минут. Количество редуцирующих сахаров в инвертированном растворе определяли феррицианидным методом [6].

Инвертазная активность выражена в международных единицах [Е].

Методика обогащения

Для обогащения применяли засевные дрожжи с 2.—7. генерации. Дрожжи, полученные с завода, выделяли центрифугированием и промывали трижды холодной водопроводной водой. До выращивания дрожжи хранились в холодильнике в холодной воде и перед обогащением отцентрифугировали до содержания сухих веществ 25%.

Для обогащения инвертазой дрожжи выращивали в течение 8 и 10 часов при интенсивной аэрации 500 *л* воздуха в час на 100 *г* дрожжей при температуре +30°С. 100 *г* дрожжей суспендировали в 1400 *мл* раствора питательных солей. Состав раствора приведен в таблице 1.

Таблица 1

Состав раствора питательных солей

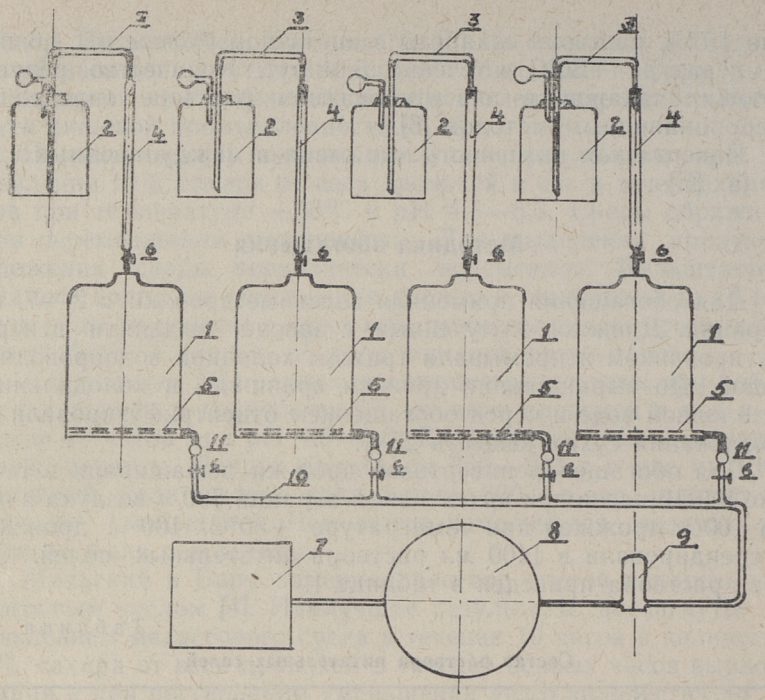
Компоненты	Количество, *г*
KH_2PO_4	1,8
$NH_4H_2PO_4$	1,8
$MgSO_4$	0,6
KNO_3	2,6
вода	1400

Источником сахара в среде служила меласса, которую разбавляли водой до 10% содержания сахара. Результаты анализа мелассы приведены в таблице 2.

Таблица 2

Анализ мелассы

Показатель	Содержание, %
Сбраживаемых сахаров	44,0
Общего азота	1,0
Аминного азота	0,22
Сухих веществ	75,0
Золы	8,7
Летучих кислот	0,67
pH	5,6



Фиг. 1. Схема экспериментальной установки

Опыты по обогащению дрожжей инвертазой провели по сериям, четыре опыта в каждой.

После выращивания дрожжи выделяли от среды центрифугированием, промывали трижды водопроводной водой и центрифугировали до 25% сухих веществ. Дрожжи, полученные таким образом, автолизировали.

Для обогащения дрожжей использовали установку, изображенную на фиг. 1. Дрожжи выращивали в 5-литровых стеклянных бутылках *(1)*. Раствор мелассы прибавляли из градуированной бутылки *(2)*, откуда через трубку *(3)* раствор тек в бюретку *(4)*. Приток раствора в сосуд выращивания регулировали нажимом *(6)*. На дне сосуда выращивания поместили кольцеобразные барбатеры *(5)* из поливинилхлоридовой трубки с отверстиями диаметром 0,5 *мм* через каждые 4—5 *мм*. Воздух продували компрессором *(7)* в ресивер *(8)* и дальше через стерильный ватный фильтр *(9)* по стеклянным и резиновым трубкам *(10)* в барботеры. Количество воздуха регулировали нажимом *(6)* и измеряли ротаметром *(11)*.

Перед использованием аппаратуры дезинфицировали раствором $KMnO_4$.

Исследовали влияние следующих факторов на процесс обогащения дрожжей инвертазой: длительность процесса обогащения, количество добавляемого сахара, качество исходных дрожжей, pH среды.

Для выяснения влияния длительности процесса обогащения провели серию опытов с продолжением 8, 10 и 12 часов при добавлении сахара 6 *г* в час на 100 *г* дрожжей. Результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние длительности обогащения на инвертазную активность

№№	Время обогащ. в *час*	Инвертазная акивность [E] на 1 *г* с. в. дрожжей		Коэффициент обогащения
		исходная	обогащенная	
1	8	247	373	1,51
2	10	247	394	1,59
3	12	247	381	1,54

Из полученных данных видно, что длительность обогащения 8 часов можно считать достаточной. Дальнейшее обогащение заметного повышения инвертазной активности не дает.

Для выяснения влияния количества добавляемого сахара на инвертазную активность, сахар добавили по разным графикам. В нескольких опытах добавили сахар в течение первых часов по 8 *г* в час на 100 *г* дрожжей и постепенно уменьшали количество добавляемого сахара до 2 *г* в час в течение последних часов обогащения. В параллельных опытах добавляли то же количество сахара равномерно 6 *г* в час в течение 8 часов.

Таблица 4

Влияние количества добавляемого сахара на инвертазную активность

№	Кол-во сахара, в *г* на 100 *г* дрожжей в час	Инвертазная активность [E] на 1 *г* с. в. дрожжей		Коэффициент обогащения
		исходная	обогащенная	
1	3	145	339	2,3
2	4	145	442	3,0
3	4	145	505	3,5
4	6	145	323	2,1
5	7	128	212	1,7
6	8	128	253	2,0

Результаты обогащения были практически одинаковы.

В других сериях сахар добавляли равномерно с 3 до 8 *г* в час на 100 *г* дрожжей. Результаты опытов приведены в таблице 4.

Исходя из полученных данных оптимальным количеством сахара можно считать 4 *г* в час на 100 *г* дрожжей.

Для обогащения применяли дрожжи с 2 до 7 генерации. В сделанных опытах ясно выраженной зависимости между инвертазной активностью и генерацией дрожжей не замечалось.

Содержание инвертазы исходных дрожжей колебалось с 60—260 [E] на 1 *г* сухих веществ дрожжей. Исходное содержание инвертазы сильно влияет на результаты обогащения. При исходном содержании инвертазы ниже 100 [E] эффект обогащения был до 5-кратным. При высоком исходном содержании инвертазы активность увеличилась лишь 2 раза или меньше. Данные приведены в таблице 5. Опыты сделаны при добавлении сахара 4 *г* в час на 100 *г* дрожжей в течение 8 часов.

Таблица 5

Влияние исходного содержания инвертазы на эффект обогащения

№	Инвертазная активность [E] на 1 *г* с. в. дрожжей		Коэффициент обогащения
	исходная	обогащенная	
1	79	391	5,0
2	183	238	1,3
3	79	246	3,0
4	166	276	1,6
5	60	115	2,0
6	148	227	1,5

Для выяснения влияния pH среды на инвертазную активность сделали параллельные опыты с pH среды 4,5—5,0 и 5,0—6,5. Зависимости между величиной pH в пределах от 4,5 до 6,5 и результатами обогащения не намечались.

При нормальном протекании процесса обогащения pH сбраживаемой среды уменьшается на 0,2—0,5 единиц.

Выводы

1. Количество добавляемого сахара сильно влияет на эффект обогащения. Оптимальным оказалось 4 *г* сахара в час на 100 г дрожжей.

2. Достаточной длительностью процесса обогащения дрожжей инвертазой можно считать 8 часов.

3. Инвертазная активность исходных дрожжей сильно влияет на эффект обогащения. Чем меньше исходная активность, тем больше эффект обогащения.

4. Зависимости между величиной pH среды в пределах от 4,5 до 6,5 и результатами обогащения не намечалось.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дж. Б. Самнер, Е. Ф. Сомерс. Химия ферментов и методы их исследования. Москва 1948.
2. А. З. Бару. Консультации по пищевой промышленности № 5, 1951.
3. В. В. Юркевич. ДАН XCIV № 2, 1954.
4. Мильский, А. З. Бару. Консультации пищевой промышленности 2 (27), 3, 1947.
5. А. А. Катаева, Н. И. Баер, А. Н. Мендельсон, А. И. Омарова. Способы получения фермента — фруктофуранозидазы и его применение. Москва 1966.
6. П. С. Бухарева, Е. Т. Подлубная. Журнал аналит. химии, т. V, № 5, 1950.

Y. Kann, A. Mühling, K. Kask, A. Köstner

Enrichment Beer Yeasts With Invertase

Summary

The invertase activity of yeasts Sacch. cerevisiae has been investigated. The content of the enzyme in yeasts has been increased by means of cultivating them in aerobic conditions during 8 hours. The coefficient of enrichment depends on the initial activity and may be up to 3,0—5,0.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 664.644.41

М. И. Креен, Т. Л. Либерт, К. А. Каск

ПРИМЕНЕНИЕ ПОБОЧНЫХ ПРОДУКТОВ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ В ХЛЕБОПЕЧЕНИИ

Из пищевого рациона населения Эстонской ССР зерновые продукты составляют 35—40%, однако белки зерна неполноценны, так как содержат слишком мало незаменимых аминокислот. В белках пшеницы, в первую очередь, очень мало лизина. При производстве сортовой муки много лизина уходит в состав отрубей и тем самым содержание лизина в муке еще снижается. Производство сортовой муки у нас непрестанно увеличивается и к 1970 году достигнет 81,4% [1].

Организм человека усваивает пищу тем лучше, чем полнее ее состав соответствует всем требованиям организма. Поэтому целесообразно добавлять в хлеб, особенно из пшеничной сортовой муки, полноценные белки.

В Эстонской ССР для хлеба наиболее целесообразными добавками, богатыми белками, являются побочные продукты молочной промышленности. В связи с высоким уровнем производства молока и масла в побочных продуктах — обезжиренном молоке, пахте и сыворотке — остается ежегодно свыше 20 000 тонн молочных белков, т. е. более 15 *кг* белков на душу населения. В настоящее время большинство побочных продуктов молочной промышленности используется в качестве корма животным. Однако было бы целесообразнее перерабатывать обезжиренное молоко в сухое обезжиренное молоко или в сгущенный обрат и применять последние в качестве богатых белками добавок к различным пищевым продуктам.

Для повышения пищевой ценности хлеба молочные продукты являются исключительно подходящими, так как молоко содержит много лизина и легко усваиваемого организмом кальция.

При добавлении молочных продуктов в хлеб ухудшаются его физические показатели — удельный объем и пористость

[2]. Поэтому целесообразно добавлять в тесто компоненты, улучшающие физические показатели хлеба.

В настоящей работе для повышения пищевой ценности пшеничного хлеба из сортовой муки применяли сгущенное обезжиренное молоко, а в качестве добавок, улучшающих физические свойства хлеба, — биопрепарат, полученный на базе обезжиренного молока [3], и пищевой гидролизат АУ-1 Пярнуского комбината молочных продуктов. Пищевой гидролизат производят выращиванием плесневых грибов Aspergillus oryzae и молочнокислых бактерий на обезжиренном молоке.

Экспериментальная часть

При выпечке хлеба применяли пшеничную муку высшего сорта со следующими показателями:

	безопарный способ	ускоренный способ
зола, %	0,37	0,41
белки, %	10,8	12,5
сырая клейковина, %	26,6	33,6
кислотность, °Н	2,5	3,2

Выпечку производили безопарным способом и ускоренным способом с дисперсной смесью по следующей рецептуре:

	безопарный способ	ускоренный способ
мука, *кг*	100,0	100,0
дрожжи, *кг*	3,0	5,0
соль, *кг*	1,7	1,7
маргарин, *кг*	3,5	3,5
сахар, *кг*	—	5,0

Воду добавляли с расчетом получения влажности теста в 43%.

Добавками применяли сгущенный обрат в количестве 21 *кг*, биопрепарат — 8,0—48 *кг* и пищевой гидролизат АУ-1 — 2,3—4,6 *кг* на 100 *кг* муки. В нескольких опытах жидкий пищевой гидролизат был заменен пищевым гидролизатом, полученным сублимационной сушкой.

Данные о примененных добавках приведены в таблице 1.

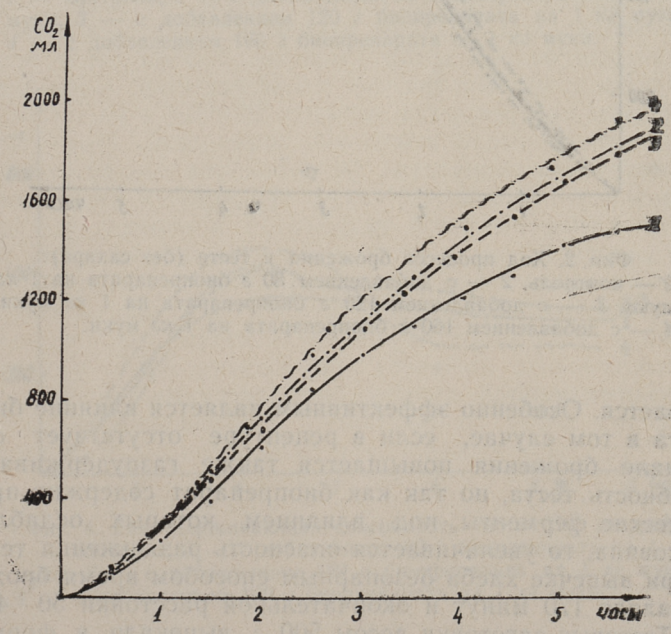
Интенсивность брожения теста и газоудерживающую способность исследовали методом Яго-Островского [4]. Тесто приготовляли согласно основной рецептуре с добавлением биопрепарата в количестве 80—160 *г/кг* муки.

Результаты опытов (фиг. 1, 2, 3, 4) показывают, что при добавлении биопрепарата интенсивность брожения теста уве-

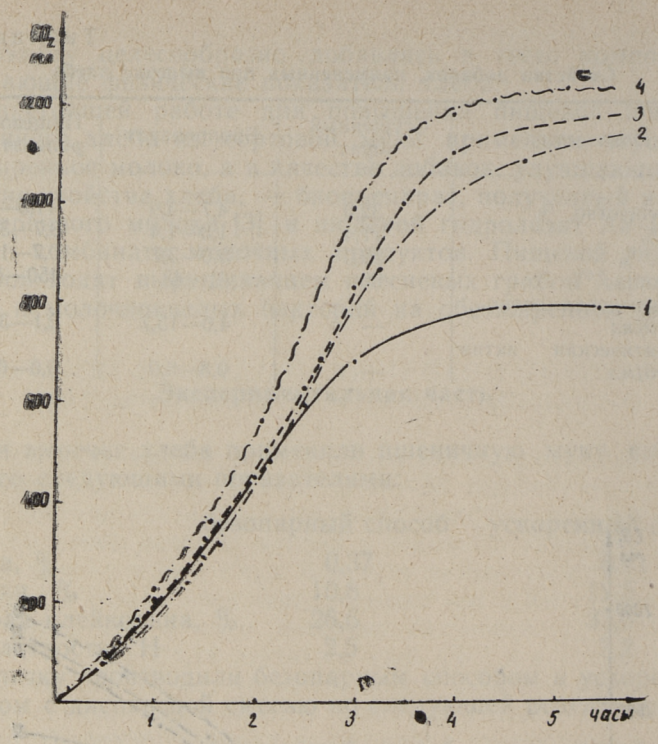
Таблица 1

Свойства добавок, примененных при выпечке хлеба

Показатели	Сгущенный обрат	Биопрепарат	Пищевой гидролизат АУ-1
Сухое вещество, %	32,0	4,7—4,9	11,3—12,6
Белки, %	11,4	1,3—1,4	3,7—3,8
Лактоза, %	20,0	3,0—3,1	0,7—1,2
Кислотность, °Т	60	41—43	450—476
Амилолитическая активность, *ед/мл*	—	4,0—15,7	2,1—3,6
Протеолитическая активность, *ед/мл*	—	0,8—6,0	0,0—0,1



Фиг. 1. Ход процесса брожения в тесте (5% сахара): *1* — контроль, *2* — с добавлением 80 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, *3* — с добавлением 120 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, *4* — с добавлением 160 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки.

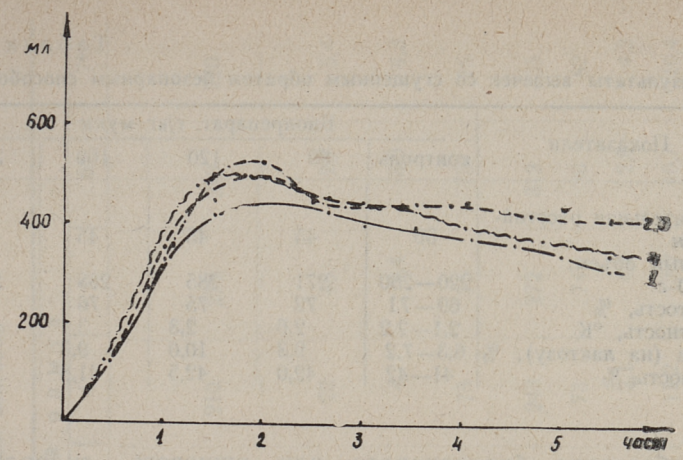


Фиг. 2. Ход процесса брожения в тесте (без сахара): 1 — контроль, 2 — с добавлением 80 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, 3 — с добавлением 120 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, 4 — с добавлением 160 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки.

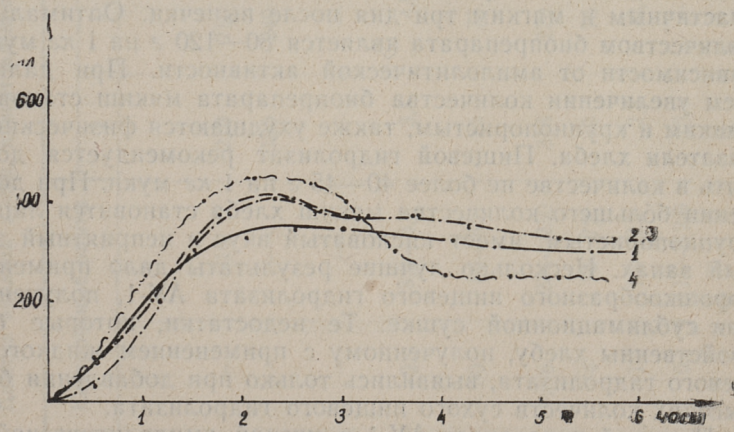
личивается. Особенно эффективным является влияние биопрепарата в том случае, если в рецептуре отсутствует сахар. В начале брожения повышается также газоудерживающая способность теста, но так как биопрепарат содержит протеолитические ферменты, под влиянием которых ослабляется клейковина, то увеличивается опасность разжижения теста.

При выпечке хлеба безопарным способом время брожения составляло 170 минут и окончательной расстойки 50—45 минут. Тестовые заготовки весом 500 *г* выпекали в формах в электрической печи ШК-2 при температуре 230°С.

При ускоренном методе от $^1/_5$ до $^1/_3$ муки и другие компоненты диспергировали в сбивалке «Воронеж» и добавляли при смешивании остальную часть муки. После формовки тестовые заготовки оставляли бродить в течение 75—80 минут и затем выпекали в электрической печи.



Фиг. 3. Газоудерживающая способность теста (5% сахара): *1* — контроль, *2* — с добавлением 80 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, *3* — с добавлением 120 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, *4* — с добавлением 160 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки.



Фиг. 4. Газоудерживающая способность теста (без сахара): *1* — контроль, *2* — с добавлением 80 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, *3* — с добавлением 120 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки, *4* — с добавлением 160 *г* биопрепарата на 1 *кг* муки.

В табл. 2 и 3 приведены данные анализа выпеченного хлеба. Контрольные опыты показали, что добавление сгущенного обрата улучшает вкусовые качества и аромат хлеба, а также увеличивает выход хлеба, однако объем хлеба уменьшается и хлеб получается более твердый.

Таблица 2

Результаты выпечек со сгущенным обратом безопарным способом

Показатели	Биопрепарат, г/кг муки				
	контроль	80	120	160	240
Окончательная расстойка, *мин*	50	45	45	45	45
Удельный объем, *см³/100 г*	220—250	271	285	288	264
Пористость, %	69—71	72	75	76	73
Кислотность, °К	2,1—2,2	2,6	2,3	3,1	3,1
Сахара (на лактозу), %	6,3—7,2	9,3	10,0	9,3	9,5
Влажность, %	41—42	42,0	42,5	41,8	40,8

Добавление биопрепарата или пищевого гидролизата АУ-1 улучшает физические показатели хлеба, его вкусовые качества, аромат и замедляет черствение. Хлеб получается с коричневой коркой, сладким вкусом и приятным ароматом, свойственным белому хлебу с маслом. Мякиш хлеба остается эластичным и мягким три дня после выпечки. Оптимальным количеством биопрепарата является 80—120 *г* на 1 *кг* муки, в зависимости от амилолитической активности. При дальнейшем увеличении количества биопрепарата мякиш становится липким и крупнопористым, также ухудшаются физические показатели хлеба. Пищевой гидролизат рекомендуется добавлять в количестве не более 40—45 *г* на 1 *кг* муки. При добавлении бо́льшего количества мякиш хлеба становится липким, крупнопористым, имеет кисловатый вкус и неприятный затхлый запах. Несколько лучшие результаты дало применение порошкообразного пищевого гидролизата АУ-1, полученного при сублимационной сушке. Те недостатки, которые были свойственны хлебу, полученному с применением жидкого пищевого гидролизата, выявились только при добавлении более высоких количеств сухого пищевого гидролизата.

Пищевой гидролизат АУ-1 с низкой амилолитической активностью улучшает свойства хлеба, главным образом благодаря созданию благоприятной среды для развития дрожжей в тесте. Биопрепарат имеет более низкую кислотность, однако достаточно высокую амилолитическую активность, чтобы ускорить брожение теста.

При выпечке хлеба ускоренным методом весьма важным является качество применяемых дрожжей и время диспергирования исходных компонентов теста. Хорошие результаты были получены только с применением свежих дрожжей, подъемная сила которых соответствует государственному стан-

Таблица 3

Данные анализа хлеба, приготовленного ускоренным способом

	Контрольные опыты		№ опыта						
			1	1	3	4	5	6*	7*
В рецептуре теста, *г/кг муки:*									
егущенный обрат	—	210	210	210	210	210	210	210	210
биопрепарат	—	—	120	240	320	—	—	—	—
пищевой гидролизат АУ-1	—	—	—	—	—	23	46	2,7	5,4
Начальная кислотность теста	2,9	3,2—3,6	3,8	4,2	4,9	4	4,4	3,9	4,3
Окончательная расстойка, *мин*	80	80—85	75	75	75	75	75	75	75
Удельный объем, *см³/100 г*	276	234—250	316	270	276	243	272	312	335
Пористость, %	74	70—72	79	75	76	73	74	80	82
Кислотность, °К	1,7	1,8—2,1	2,8	2,5	3,4	2,1	4,3	2,0	4,2
Сахара (на лактозу), %	6,1	11—12,6	16,8	—	16,5	11,2	12,2	10,7	10,4

* В опытах 6 и 7 применяли пищевой гидролизат АУ-1, полученный сублимационной сушкой.

дарту. При приготовлении дисперсной смеси желательно добавлять не более 20—25% муки, предусмотренной рецептурой, и смешивать до 2 минут.

При добавлении побочных продуктов молочной промышленности повышается пищевая ценность хлеба. В белках пшеницы соотношение важнейших незаменимых аминокислот не является оптимальным. По данным Покровского [5] оптимальное соотношение триптофана и лизина составляет 1:3,2, однако в пшеничной муке высшего сорта это соотношение равно 1:1,9. При добавлении в тесто на 1 *кг* муки 210 *г* обезжиренного обрата и 120 *г* биопрепарата увеличивается выход хлеба, хлеб обогащается белками и одновременно заметно улучшается соотношение важнейших незаменимых аминокислот.

Таблица 4

Сравнительная оценка пищевой ценности хлеба, обогащенного молочными продуктами, и контрольного хлеба

	Контрольный хлеб	Хлеб с добавлением сгущенного обрата и биопрепарата
Выход хлеба, *кг/кг*	1,53	1,65
Белки, %	7,5	8,3
Аминокислоты, *г/кг:*		
триптофан	0,92	1,09
лизин	1,83	3,06
метионин	1,0	1,43
Соотношение аминокислот	1:2:1,1	1:2,9:1,3

Выводы

1. Проведены опыты выпечки хлеба из пшеничной муки высшего сорта безопарным и ускоренным способами, добавляя компоненты, улучшающие физические свойства и пищевую ценность хлеба, — сгущенный обрат, биопрепарат, полученный на базе обезжиренного молока, и пищевой гидролизат АУ-1.

2. Установлено, что хотя добавление сгущенного обрата улучшает вкусовые качества хлеба, его удельный объем и пористость при этом ухудшаются. При добавлении биопрепарата или пищевого гидролизата АУ-1 существенно улучшаются физические показатели хлеба, его вкусовые качества и аромат, особенно же замедляется черствение хлеба. Ускоряется процесс брожения. Оптимальным количеством добавки

биопрепарата является 120 *мл* на 1 *кг* муки. Количество добавки пищевого гидролизата ограничивается появлением неприятного запаха и привкуса. Лучшие результаты получены с пищевым гидролизатом, высушенным сублимацией.

3. При добавлении побочных продуктов молочной промышленности увеличивается выход и пищевая ценность хлеба. Содержание белков в хлебе увеличивается с 7,5 до 8,3%. Содержание лизина повышается на 67%, триптофана на 19% и метионина на 43%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пищевая промышленность СССР. Изд. Пищ. пром., М. 1967, стр. 308.
2. A. M. Swanson et al. Milk studies involving sponge- and -dough and liquid-ferment procedures. Cereal Sci. Today, 1966, 11, 9, 398.
3. См. наст. сборник.
4. Л. И. Пучкова. Лабораторный практикум по технологии хлебопечения. Изд. Пищ. пром., М. 1964, стр. 6.
5. А. А. Покровский. К вопросу о потребностях различных групп населения в энергии и основных пищевых веществах. Вестник Акад. мед. наук, 1966, № 10, стр. 3.

M. Kreen, T. Liebert, K. Kask

Über die Verwendung von Nebenerzeugnissen der Molkereiindustrie beim Weißbrotbacken

Zusammenfassung

Es wurden Versuche über das Weißbrotbacken aus dem feinsten Weizenmehl durchgeführt. Als Zusatz zur Verbesserung des Nahrwertes wurde Magermilch und zur Verbesserung der physikalischen Eigenschaften das Biopräparat und das Nahrungshydrolyzat AU-1 verwendet. Die beiden letzten wurden aus der entrahmten Milch hergestellt.

Die optimalen Zusätze des Biopräparates und des Nahrungshydrolysates AU-1 pro 1 Kilo Weizenmehl waren entsprechend 120 und 50 ml.

Durch die Wirkung der Zusätze wurde die Beschleunigung des Gärvorganges und die Verbesserung des Nährwertes, des Geschmacks, des Aromas und besonders die der Haltbarkeit des Weißbrotes erzielt.

TALLINNA POLUTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 664.15

К. А. Каск, А. И. Кёстнер, Х. Я. Киппер,
А. Г. Канн, Ю. М. Канн, А. Г. Силдник

О ПРОИЗВОДСТВЕ ПАТОКИ ИЗ КАРТОФЕЛЯ

Сообщение 1

Патоку производят из картофельного или кукурузного крахмала методом кислотного, ферментативного или комбинированного гидролиза. Длительное время в производстве патоки преобладал кислотный метод гидролиза. С пятидесятых годов все шире внедряются ферментативный и комбинированный методы, которые позволяют выпускать патоку более высокого качества. Для гидролиза крахмала применяются амилолитические ферменты. В случае комбинированного метода первая ступень гидролиза — разжижение — проводится под действием минеральных кислот.

В зависимости от глубины гидролиза крахмала получаются карамельные, мальтозные или глюкозные патоки. Из последних иногда выделяют кристаллическую глюкозу. Патоки в зависимости от их состава применяются для производства кондитерских изделий, в качестве прибавки к хлебу, вареньям, джемам, сокам и детским консервам, а также при производстве пива и мороженого.

Физиологические нормы питания оценивают потребность человека в крахмальной патоке на уровне 4—5 *кг*, а потребность в глюкозе — 2 *кг* в год. Учитывая высокий уровень кондитерской промышленности в Эстонской ССР (производится 22,6 *кг* изделий на душу населения в год), потребность республики в патоке и глюкозе можно оценить свыше 10 000 *т* в год. Производство патоки в настоящее время не удовлетворяет спрос населения республики.

Картофелеводство широко распространено в ЭССР. В последние годы урожай картофеля составляет 1,0—1,1 *т* на душу населения в год. Среди выращиваемых в республике сортов картофеля «Олев» и «Сулев» характеризуются высо-

ким содержанием крахмала и могут служить сырьем для промышленного производства крахмала (см. табл. I).

Таблица 1

Химический состав некоторых сортов картофеля, выращиваемых в ЭССР, по Аннуку [I]

Сорт	Сухие вещества, %	Крахмал, %	Сырой протеин, %	Сырой жир, %	Сырая клетчатка, %	Зола, %	Урожай крахмала, ц/га
Йыгева коллане	21,80	14,53	1,87	0,14	0,70	1,25	28,05
Остботе	22 80	15,04	2,03	0,13	0,74	1,18	31,23
Сулев	23,70	16,88	1,78	0,08	0,55	1,07	52,09
Олев	22,90	17,33	2,10	0,10	0,52	1,05	44,18

В картофеле крахмальные зерна находятся внутри клеток паренхима клубней. При производстве крахмала клетки необходимо разорвать, что достигается измельчением клубней на картофелетерке. Из полученной тертой массы (кашки) крахмал вымывается водой на ситах и выделяется из крахмального молока центрифугированием. Выход крахмала составляет 85—87% от содержания его в клубнях.

Обычно патока производится путем гидролиза крахмального молока. Целесообразнее было бы производство патоки без предварительного выделения крахмала. Этим можно упростить технологический процесс и уменьшить потери крахмала с мезгой и в промывных водах.

Непосредственный гидролиз картофельной кашки возможен только ферментативным способом. Тем не менее, с целью получения высококачественной патоки картофельную кашку необходимо очистить, в частности от азотистых веществ и минеральных солей. Азотистые вещества картофеля состоят из белков, аминокислот и др. соединений. Белки и аминокислоты при реакции с сахарами могут дать темноокрашенные меланоидные соединения, которые придают патоке нежелательный темный цвет. Поэтому белковые вещества необходимо выделить.

Большинство белковых веществ и минеральных солей картофеля растворено в клеточном соке. Поэтому выделение большинства нежелательных примесей достигается промывкой кашки водой в подходящих условиях.

Для производства патоки гидролизом картофельной кашки возможны два пути. Первый вариант предусматривает выделение примесей промывкой водой и гидролиз крахмала сво-

бодным от протеаз амилолитическим ферментным препаратом. Другой вариант предусматривает гидролиз белков картофеля при помощи протеолитических ферментов, вымывку полученных продуктов водой и гидролиз крахмала амилолитическим препаратом. В обоих случаях клетчатка не гидролизуется и легко отделяется от раствора продуктов гидролиза крахмала. Несмотря на выбор метода, из картофельной кашки целесообразно выделить центрифугированием сок, который может быть применен в качестве биологически активной прибавки к средам для выращивания дрожжей или других микроорганизмов.

Процесс гидролиза крахмала амилолитическими препаратами исследован многими авторами. В литературе встречается немало данных о проведении процесса периодически или непрерывно [2—13].

Нам неизвестны работы, касающиеся производства патоки из картофельной массы без предварительного выделения крахмала. Однако в литературе имеются данные о производстве глюкозной патоки или глюкозы ферментативным гидролизом высококрахмалистого сырья [14—19]. Кройэр [18] утверждает, что производство патоки или глюкозы из кукурузной муки на 25—50% дешевле производства тех же продуктов из кукурузного крахмала.

Целью серии работ, проводимых в отраслевой лаборатории фермнетной промышленности ТПИ, является изучение возможностей производства разных видов патоки из картофельной массы без предварительного выделения крахмала. В настоящем сообщении описываются опыты по очистке картофельной кашки от нежелательных примесей.

Экспериментальная часть

При первом опыте исходили из картофеля сорта «Олев» (урожая 1965 г.), из которого приготовили кашку лабораторным способом. При остальных опытах применяли картофельную кашку из крахмального завода колхоза Куусалу. По данным завода коэффициент измельчения кашки составляет не менее 85%.

Из картофельной кашки выделяли сок фильтрованием (опыт № 1) или центрифугированием (остальные опыты). Кашку промывали водой или разбавленным раствором едкого натра. Щелочные растворы лучше растворяют белки картофеля и способствуют их последующему ферментативному гидролизу. Промывной раствор отделяли центрифугирова-

нием. В опытах 2, 3 и 4 к кашке прибавляли ферментный препарат оризин ПК с протеолитической активностью 450 *Ед/г* и нулевой амилолитической активностью (по данным завода-изготовителя) в количестве 0,2% от сухих веществ кашки. Препарат добавляли в виде водного раствора. Кашку выдерживали при 40°С в течение 1,5 часа. Водную фазу отделяли центрифугированием и полученную рафинированную кашку подвергали гидролизу с целью получения патоки.

В ходе извлечения примесей в ряде продуктов определяли содержание азота по Кьельдалю, содержание сухих веществ и зольность. Результаты опытов приведены в табл. 2 и 3.

По данным табл. 2 и 3 видно, что вымывка растворенных веществ проходит по общеизвестным принципам экстракции. Полнота извлечения примесей повышается с увеличением количества промывной воды, кратности промывок и полноты отделения водной фазы. Опыты доказывают преимущества центрифугирования перед фильтрованием.

Центрифугирование позволяет из исходной картофельной кашки выделять сок с выходом около 70%. Вместе с соком выделяется 60—67% содержащихся в картофеле азотистых веществ. Содержание сухих веществ в соке 5,1—5,2% (в них азота 7,2—8,6%), золы — 1%.

Промывкой кашки водой выделяется дополнительно 12% азотистых веществ. Применяя вместо воды щелочный раствор (едкого натра 3% от веса кашки) выделяется 17—18% азотистых веществ. В то же время увеличиваются потери сухих веществ. Вторая промывка кашки позволяет выделить азотистых соединений еще 4,3—4,5% от их начального содержания. Третья промывка раствором протеолитических ферментов уменьшает содержание азотистых соединений в кашке только на 1,2—1,8% (от исходного), что указывает на малую эффективность протеолитического фермента в отношении находящихся в кашке нерастворимых азотистых соединений. Но в то же время обработка ферментным раствором увеличивает потери сухих веществ, что вероятно обусловлено действием следов амилолитических ферментов в применяемом препарате. При многократной промывке степень очистки повышается, но, по-видимому, промывки после второй дадут уже незначительный эффект.

В общей сложности трехкратная промывка картофельной кашки водой (всего 200% от исходной кашки) позволяет извлекать 86% всех азотистых веществ и 80% золы. Прибавка щелочи повышает степень выделения азота до 93%. Потери нерастворимых сухих веществ (крахмала и клетчатки) не превышают 5%.

Таблица 2

Материальный баланс опытов по очистке кашки

№ опыта	Исходное		Добавлено		Операция	Получено	
	наименование	%	наименование	%		наименование	%
1	2	3	4	5	6	7	8
1	кашка	100,0	—	—	фильтрование	сок кашка I	25,3 70,6
	кашка I	70,6	вода	45,7	фильтрование	промывная вода кашка II	47,8 64,0
2	кашка	100,0	—		центрифугирование	сок кашка I	54,1 44,7
	кашка I	44,7	вода	66,8	„	промывная вода I кашка II	61,5 47,3
	кашка II	47,3	вода	96,6	„	промывная вода II кашка III	93,5 47,0
	кашка III	47,0	ферментный р-р	47,3	„	промывная вода III кашка IV	48,5 45,8
3	кашка	100,0	—	—	„	сок кашка I	54,1 44,7
	кашка I	44,7	2% р-р щелочи	68,2	„	промывная вода I кашка II	62,6 49,9
	кашка II	49,9	вода	99,0	„	промывная вода II кашка III	86,4 53,6
	кашка III	53,6	ферментный р-р	40,8	„	промывная вода III кашка IV	44,7 46,4

1	2	3	4	5	6	7	8
4	кашка	100,0	—	—	центрифугирование	сок кашка I	57,1 41,5
	кашка I	41,5	0,8% р-р щелочи	62,3	„	промывная вода I кашка II	59 7 42,7
	кашка II	42,7	вода	62.3	„	промывная вода II кашка III	53,2 47,2
	кашка III	47,2	ферментный р-р	62,3	„	промывная вода III кашка IV	61,2 47,4

Таблица 3

Результаты анализов продуктов очистки картофельной кашки

№ опыта	Название продукта	Сухие вещества, %	Белки, %	Зола, %	Выделенно азота, % исх.	Содержание в кашке, % от исходного		
						Азот	Зола	Сухие вещества
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	кашка	26,7	1,07	1,32	—	100,0	100,0	100,0
	сок	6,0	8,57	1,02	45,6	—	—	—
	кашка I	35,4	0,61	—	—	53,2	81,5	93,6
	промывная вода	2,62	4,51	0,48	19,8	—	—	—
	кашка II	37,0	0,418	1,18	—	33 2	57,3	88,7
2	кашка	22,5	1,49	0 90	—	100,0	100,0	100,0
	сок	5,15	7,15	1,04	59,2	—	—	—
	кашка I	42,5	0,645	0,78	—	36,6	63,2	84,5
	промывная вода I	1,20	5,30	—	11,5	—	—	—
	кашка II	39,2	0,351	—	—	19,4	—	83,4
	промывная вода II	0,30	5,13	—	4,3	—	—	—
	кашка III	38,7	0,310	—	—	16,3	—	80,9
	промывная вода III	0,61	1,44	—	1,2	—	—	—
	кашка IV	39,0	0,254	0,22	—	13,5	19,7	79,4

1	2	4	3	5	6	7	8	9
3	кашка	22,5	1,49	0,90	—	100,0	100,0	100,0
	сок	5,15	7,15	1,04	59,2	—	—	—
	кашка I	42,5	0,645	0,78	—	36,6	63,2	84,5
	промывная вода I	1,72	5,50	—	17,6	—	—	—
	кашка II	35,5	0,176	—	—	9,4	—	79,5
	промывная вода II	0,44	3,97		4,50	—	—	—
	кашка III	32,5	0,145	—	—	7,6	—	77,2
	промывная вода III	0,77	1,72	—	1,8	—	—	—
	кашка IV	36,6	0,112	0,33	—	5,7	17,0	75,5
4	кашка	19,8	1,37	—	—	—	—	—
	сок	5,14	6,22	—	67,1	—	—	—
	кашка I	40,6	0,56	—	—	34,2	—	85,2
	промывная вода I	1,63	5,00	—	18,0	—	—	—
	кашка II	—	—	—	—	—	—	—
	промывная вода II	0,85	2,34	—	4,3	—	—	—
	кашка III	—	—	—	—	—	—	—
	промывная вода III	0,47	1,31	—	1,4	—	—	—
	кашка IV	31,3	0,12	—	—	6,5	—	74,7

Ферментативным гидролизом очищенной картофельной массы получена высококачественная патока. Опыты по получению патоки будут описаны в последующих наших сообщениях.

Выводы

1. Предложен метод получения патоки из протертой картофельной массы (кашки) без предварительного выделения крахмала.

2. Исследовалось выделение из кашки азотистых и минеральных соединений с целью повышения качества патоки. Выделением сока на центрифуге и последующими тремя промывками водой извлечено 86% азотистых соединений и 80% золы.

3. Применение протеолитического препарата оризин ПК не повышает извлекаемость азотистых веществ.

5 Заказ № 3562

4. Промывка кашки разбавленной щелочью повышает выделяемость азотистых веществ до 94%.

5. Выход нерастворимых сухих веществ в очищенной кашке достигает 95—100%.

ЛИТЕРАТУРА

1. К. Х. Аннук. Качество продовольственного и технического картофеля и анатомические и биохимические показатели крахмала районированных и перспективных сортов и гибридов картофеля Эстонской ССР. Автореферат на соиск. уч. степ. канд. сельхоз. наук. Ленинград, 1962.
2. Т. А. Ладур, Г. В. Галкина. Тр. Всесоюзн. ин-та крахмалопродуктов, 1964, вып. 7.
3. Г. В. Галкина. ЦИНТИ Пищепром. Сахарная и крахмало-пат. пром-сть. Научно-техн. информ. 1966, вып. 8.
4. В. И. Родзевич, С. Н. Бугова. Сб. трудов ВНИИФС-а, Пищевая пром-сть, М., 1965, вып. XVI, стр. 10.
5. Г. М. Добролинская, В. И. Родзевич. Там же, стр. 12.
6. Франц. пат. № 1359382, 16 03 64.
7. Пат. США № 3149049. 21 05 62.
8. G. Taylor, H. Karel. Food Process, 1965, **26**, 7.
9. D. Langlois. Candy Ind. 1965, **125**, No. 9, 16.
10. Японск. пат. № 21197, 31 07 61.
11. F. Schierbaum. Lebensmittelindustrie, 1966, No. 6, 223.
12. L. Barrett. Stärke, 1964, **16**, 359.
13. М. Ю. Сидорова, Л. С. Кузнецова. Хлебопекарн. и кондит. пром-сть, 1967, № 5, 23.
14. Пат. США № 3249512, 28 05 63.
15. Франц. пат. № 1359382, 28 03 63.
16. Авт. св. СССР 127632, 12 04 60.
17. К. М. Шаройко, Н. В. Калитвянская. Сб. трудов Укр. н.-и. ин-та пищ. пром-сти, вып. 3, 1965, стр. 125.
18. K. Kroyer. Stärke, 1966, **18**, No. 10, S. 311.
19. M. Tollier. Stärke, 1966, **18**, No. 10, S. 305.

K. Kask, A. Köstner, H. Kipper
A. Kann, J. Kann, A. Sildnik

Über die Gewinnung von Stärkesirup aus Kartoffeln. 1. Mitteilung

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit behandelt eine Methode der Gewinnung von Stärkesirup aus der Reibemasse von Kartoffeln. Dieser Methode nach ist die Gewinnung des Sirups möglich ohne vorhergehende Gewinnung der Stärke.

Die Entfernung von Stickstoffverbindungen und Mineralsalzen aus der Reibemasse der Kartoffeln wurde untersucht. Durch Zentrifugieren und nachfolgendes Waschen der Reibemasse ist es möglich, 86% der Stickstoffverbindungen und 80% der Mineralsalze zu entfernen. Beim Waschen mit wäßriger Natriumlauge wurde der Entfernungsgrad der Stickstoffverbindungen auf 94% gesteigert.

Die Verwendung von proteolytischen Euzymen bei der Hydrolyse von Eiweißstoffen hat keinen nennenswerten Effekt gegeben.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 664.15

Х. Я. Киппер, А. Г. Силдник, К. А. Каск, А. И. Кёстнер

ПРОИЗВОДСТВО ПАТОКИ ИЗ КАРТОФЕЛЯ

Сообщение 2

При производстве патоки из картофеля без предварительного выделения крахмала необходимо выделить из картофельной кашки белковые вещества. В нашем предыдущем сообщении [1] показано, что из картофельной кашки белки лучше всего выделяются разбавленным раствором щелочи. В настоящем сообщении описаны опыты, уточняющие условия вымывки белков щелочными растворами.

Экспериментальная часть

В опытах исходили из картофеля смешанного сорта («Олев», «Сулев», «Остботе», «Йыгева коллане»). Картофель был протерт в кашку в лабораторных условиях на быстро вращающемся абразивном диске. Степень измельчения клеток превышала 95%. Из 1—1,2 *кг* свежей кашки выделяли сок на центрифуге ЦЛР-1 при 3000 *об/мин.* 5—7 *г* полученного осадка переводили в стакан и взбалтывали в течение 10 минут 50 *мл* экстрагирующего раствора. Суспензию переводили на беззольный фильтр и промывали дважды по 25 *мл* дистиллированной водой. Осадок высушивали при 105°С до постоянного веса и в нем определяли содержание азота. Фильтраты упаривались досуха и также анализировались. Результаты опытов приведены в табл. 1 и 2.

Данные табл. 1 показывают, что картофельный сок довольно богат азотистыми веществами. Содержание азота составляет до 7,38% от сухих веществ, что в пересчете дает до 46% белков. Вместе с соком выделяется 9,5—11,5% сухих веществ картофеля, при этом 50—53% белков.

Данные табл. 2 показывают, что промывкой водой из отцентрифугированного остатка выделяется еще 70% азота,

Таблица 1

Результаты центрифугирования картофельной кашки

Серия	Сок				Осадок				Выделение азота с соком, % от исходного
	выход, % от кашки	содержание сухих веществ, %	азот, % от сухих веществ	pH	выход, % от кашки	содержание сухих веществ, %	азот, % от сухих веществ	крахмал, % от сухих веществ	
I	41,5	6,91	5,76	5,95	58,5	37,6	0,74	81,9	50,2
II	36,8	7,38	7,38	5,95	63,2	40,8	0,70	83,7	52,5

Таблица 2

Экстракция отцентрифугированного осадка

Серия	№ опыта	Реагент	Свойства остатка		Остаточный азот, % от содержания в осадке	Расход реагента, % от кашки
			сухой остаток, % от исходного	азот, % от сухих веществ		
I		Отцентрифугированный осадок	100,0	0.74	100,0	—
	1	Вода	91,7	0,24	29,8	—
	2	0,02 м NaOH	89,3	0,015	1,82	0,7
	3	0,01 м Na_2CO_3	90.2	0,13	15,9	0.94
	4	0,02 м Na_2CO_3	89,0	0,15	18,1	1,9
	5	0,02 м HCl	91,0	0.24	29,5	0,63
	6	0,02 м NaCl	90,0	0,20	24,4	0,43
II		Отцентрифугированный осадок	100,0	0,70	100,0	—
	7	Вода	91,0	0,21	27,5	
	8	0,05 м NaOH	90,2	0,084	10,8	1,3
	9	0,025 м NaOH	90,6	0,062	8,03	0,65
	10	0,013 м NaOH	90,0	0,108	13,9	0,33
	11	0,025 м $Ca(OH)_2$	93,2	0,18	24,4	1,2
	12	0,013 м $Ca(OH)_2$	94,0	0,23	31,2	0,6

т. е. промытый водой остаток содержит азота 13—15% от исходного количества. Еще полнее выделяются азотистые вещества промывкой растворами едкого натра — в среднем 95% от исходного. Достигнута даже степень выделения белков,

равная 99%. Расход едкого натра в наших опытах составлял 0,3—1,3% от веса кашки. При проведении многоступенчатой экстракции возможно уменьшение расхода реагента. Заметный эффект (степень выделения до 90%) достигнут также углекислым натрием. Соляная кислота, хлористый натрий и гидроокись кальция в примененных концентрациях заметного эффекта не дали.

Потери сухих веществ при дополнительной промывке не зависят от примененного реагента и составляют в среднем 9% от исходного. Таким образом, в процессе очистки выделяется всего 18—20% от содержащихся в картофеле сухих веществ.

Ферментативным гидролизом промытой раствором едкого натра картофельной кашки получена совершенно прозрачная очень светлая высококачественная патока.

Выводы

1. Отцентрифугированием можно выделить из картофельной кашки 40% сока, который содержит 7—11% исходных сухих веществ и около 50% азота. Промывка остатка водой позволяет выделить еще 35% азота. Общая потеря сухих веществ составляет 18—20%.

2. Промывка остатка разбавленным раствором щелочи позволяет выделить 95—99% азота. Потери сухих веществ при этом не увеличиваются. Расход едкого натра составляет 0,3—1,3% от веса картофельной кашки.

3. Экстракция раствором углекислого кальция позволяет выделить до 90% азота. Разбавленные растворы соляной кислоты, хлористого натрия и гидроокиси кальция заметного эффекта не дают.

ЛИТЕРАТУРА

1. К. А. Каск, А. И. Кёстнер, Х. Я. Киппер, А. Г. Канн, Ю. М. Канн, А. Г. Силдник. См. настоящий сборник, стр 59.

H. Kipper, A. Sildnik
K. Kask, A. Köstner

Über die Gewinnung von Stärkesirup aus Kartoffeln. 2. Mitteilung

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Trennungsmethode der Stickstoffverbindungen aus der Reibemasse der Kartoffeln bei der Gewinnung von Stärkesirup eingehend untersucht.

Durch Behandlung der Reibemasse mit wäßriger Natriumlauge nach der Zentrifugierung konnte 95—99% der in den Kartoffeln vorhandenen Stickstoffverbindungen entfernt werden. Zu vollkommen befriedigenden Ergebnissen sind die Autoren bei der Extraktion mit Sodalösung gekommen. Die Verwendung von $Ca(OH)_2$, NaCl und HCl Lösungen führte zu unbefriedigenden Ergebnissen.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 663.8

К. А. Каск, А. И. Кёстнер,
А. Г. Силдник, А. А. Талвари

ПРОМЫШЛЕННЫЕ ОПЫТЫ ПРОИЗВОДСТВА ПЛОДО-ЯГОДНЫХ СОКОВ ПРИ ПОМОЩИ ПЕКТИНАЗНОГО ПРЕПАРАТА АВАМОРИН ПК

При производстве плодо-ягодных соков с успехом применяются пектинолитические ферментные препараты. Выдержкой мезги с прибавкой пектиназы достигается гидролиз пектина, что обуславливает увеличение выхода сока, уменьшение в нем осадков и улучшение вкуса и цвета продукции.

Рекомендуемый в литературе [1, 2, 3] технологический процесс заключается в следующем. Сырье измельчается, мезга нагревается кратковременно до температуры 70—90°, быстро охлаждается до 40—50°, прибавляется ферментный препарат и мезга выдерживается 2—4 часа. Сок выделяется из мезги прессованием. Весьма важной стадией является предварительное нагревание мезги, чем достигается выделение растворенного кислорода и уменьшение окислительных процессов (особенно потерь витаминов). Вместе с тем в значительной мере инактивируется содержащаяся в сырье пектинэстераза, что замедляет образование метилового спирта в материале [3]. Предварительное нагревание должно быть кратковременным и охлаждение быстрым. В противном случае образуется оксиметилфурфурол, который придает продукции нежелательный привкус [4].

Проведенные нами лабораторные опыты показали, что прибавка пектиназы увеличивает выход сока, а также выход сухих веществ в соку [5]. На основе лабораторных опытов летом 1967 г. нами проведены промышленные опыты на Тартуском консервном заводе и в консервном цехе Пыльтсамааского сельхозкомбината. В опытах применяли пектиназный препарат Аваморин ПК с активностью 3000 *ед/г*.

Опыты проводились по следующей схеме. Сырье в количестве 180—300 *кг* пропускали дважды через измельчитель, мезгу нагревали в котле с паровой рубашкой до 70°, охлаж-

Таблица 1

Условия проведения опытов и свойства полученных соков

№ опыта	Сырье	Предварительный нагрев до °С	Условия ферментирования			Выход сока, %	Выход сухих веществ в соке, %	Показатели сока			
			препарата, %	температура, °С	время, *час*			сухие вещества, %	кислотность, %	вязкость, *сп*	аскорбиновая к-та, *мг*/%
1	Черная смородина	70	—	45	4	50,2	8,4	17,8	3,1	2,79	110
2	„	70	0,05	43	4	67,0	11,0	16,4	2,7	2,09	100
3	„	70	0,05	45	4	70,0	11,6	15,1	2,6	1,99	120
4	„	70	0,05	46	4	68,5	8,5	12,4	3,3	1,43	119
5	„	—	0,05	46	4	78,3	9,3	11,8	3,5	1,36	132
6	„	—	0,05	22	8	80,2	8,9	11,2	3,1	1,50	122
7	Крыжовник	70	—	45	4	57,7	7,1	12,3	1,56	8,53	7,9
8	„	70	0,05	45	4	84,0	9,8	11,7	1,41	2,02	7,2
9	„	—	0,05	45	4	70,1	8,3	11,8	1,34	2,26	6,1
10	„	—	—	45	4	60,5	8,35	13,8	1,31	9,61	8,9
11	„	—	0,05	45	4	80,3	9,3	11,6	1,59	1,49	8,5

дали в ванне до 45°, прибавляли растворенный в небольшом количестве воды ферментный препарат, перемешивали тщательно и выдерживали при данной температуре. Сок выделяли из мезги на пакпрессе. Часть опытов проводили без предварительного нагревания до 70°. Один опыт с черной смородиной проводили при комнатной температуре, выдерживая мезгу с ферментом до следующего дня.

Образцы полученных соков нагревали до 70°, наливали в стеклянную тару, прибавляли 0,05—0,06% сорбиновой кислоты в виде калиевой соли и тару закрывали. При хранении продукции даже при комнатной температуре ни в одном случае признаков брожения не обнаружили. Осветленные отстаиванием соки были проанализированы.

Результаты экспериментальной работы приведены в табл. 1.

Промышленные опыты доказали, что ферментация мезги из крыжовника или черной смородины увеличивает выход соков до 17%. Вязкость соков, особенно в случае крыжовника, падает, чем ускоряется выпрессовывание сока и особенно чистка прессканей. Предварительное нагревание заметно не облегчает выделение сока, но повышает интенсивность его цвета. Действием ферментов при комнатной температуре (опыт № 6) достигнут высокий выход сока. Проведение ферментации при комнатной температуре упрощает технологический процесс, но может ухудшить качество сока из-за развития микроорганизмов в мезге.

Колебания содержания аскорбиновой кислоты в продукции обусловлены главным образом качеством сырья. Лежалое сырье дает сок с пониженным содержанием аскорбиновой кислоты.

Выводы

1. Проведены промышленные опыты производства сока из черной смородины и крыжовника, прибавляя в мезгу пектинолитический ферментный препарат «Аваморин ПК».

2. Установлено, что прибавка 0,05% «Аваморина ПК» (с активностью 3000 *ед/г*) повышает выход сока до 17% и снижает его вязкость, чем ускоряется выделение сока и повышается производительность труда при прессовании.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Н. Салманова. Технология и оборудование сокового производства. Изд. Пищевая пром-сть, М. 1966, стр. 19.

2. K. Wuchepfennig, Q. Betthauer, D. Ratschka. Einfluss des Reifegrades, Der Sorte und der Herkunft von schwarzen Johannisbeeren auf den Pektinabbau während der Maischefermentierung, Flüssiges Obst, 1966, 33, 10, S. 458.

3. B. Segal, D. Motoc. Ein neues Verfahren für die enzymatische Behandlung von Traubensäften, Flüssiges Obst, 1966, **33**, 10, S. 465.

4. J. Koch. Hüdroxymethylfurfurol in Fruchtsäften, technologische und lebensmittliche Bedeutung, Flüssiges Obst, 1966, **33**, 6, S. 267.

5. К. А. Каск, А. И. Кёстнер, А. Г. Сильдник, А. А. Талвари, А. Ю. Виркус. Получение плодоягодных соков при помощи ферментных препаратов. Труды Таллинского политехнич. и-та, серия А.

K. Kask, A. Köstner
A. Sildnik, A. Talvari

Industrielle Versuche zur Gewinnung von Beerensaft unter Verwendung des pektolytischen Enzympreparates Awamorin PK

Zusammenfassung

In Konservenfabriken wurden industrielle Versuche zur Gewinnung von Beerensaft durch Zusatz pektolytischen Enzympreparates Awamorin PK durchgeführt.

Beim Zusatz des Preparates 0,05% (Aktivität 3000 E/g) wurde die Ausbeute des Johannesbeeren- und Stachelbeerensaftes um 17% gesteigert. Infolge der Viskositätsverminderung konnte auch das Pressen des Beerenmaisches beschleunigt werden.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 633.253.4

А. Ю. Виркус, А. А. Тальвари

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАЛЫХ КОЛИЧЕСТВ МЕТАНОЛА В ПРИСУТСТВИИ ЭТАНОЛА

В плодо-ягодных соках и винах содержится в малом количестве метанол, который образуется при производстве соков вследствие гидролиза метоксильных групп, входящих в состав пектина. Метанол сильно токсичен и содержание его в плодо-ягодных напитках весьма нежелательно. Тем самым возникает необходимость точного определения метанола как в винах, так и в различных соках.

Сегал и Моток [1] показали, что содержание метанола в виноградных соках и винах зависит от активности пектинэстеразы в исходных виноградах. Чем выше активность названного фермента, тем больше образуется метанола при производстве соков. Для снижения содержания метанола Сегал и др. рекомендуют инактивировать пектинэстеразу кратковременным нагреванием мезги до 90°С.

Определение метанола в соках и винах химическими методами весьма сложно и точность результатов при этом очень невелика.

В настоящей работе исследовались возможности определения метанола в натуральных винах из черной смородины методом газожидкостной хроматографии.

Из литературных данных следует, что при определении метанола методом газожидкостной хроматографии в качестве жидкой фазы можно использовать высшие спирты [2] и полиэтиленгликоль [3]. Как показали опыты, наилучшие результаты были получены при использовании высших спиртов в сочетании с полиэтиленгликолем.

Экспериментальная часть

В качестве твердого носителя был использован хромосорб П со степенью измельчения 60—80 меш. Последний обрабатывали раствором полиэтиленгликоля — 4000 в ацетоне

(1% от веса носителя). Далее на хромосорб был нанесен дециловый спирт (15% по весу). После удаления растворителя колонку длиной 3,2 *м*, с внутренним диаметром 4 *мм* наполняли полученным материалом.

Условия анализа: температура колонки 50° ±1°С, скорость газа-носителя (гелий) 40 *мл/сек*, чувствительность прибора 1 или 25 *мв*, количество пробы 3—6 *мкл*.

Поскольку в ходе анализа чувствительность прибора изменили, то пришлось составить калибровочную кривую. Для этого составляли искусственные смеси из воды, метанола и освобожденного от метанола этанола. Полученная смесь перегонялась в ректификационной колонке с эффективностью примерно 10 теоретических тарелок. Приемником использовалась посуда, охлаждаемая льдом, в которую предварительно было взвешено точное количество чистого этанола. Перегонялось примерно $^2/_3$ от всего этанола, содержащегося в смеси.

Дистиллят вместе с ранее взятым этанолом взвешивался и анализировался на газовом хроматографе УХ-I. В начале анализа чувствительность прибора была 1 *мв*. После выхода пика метанола прибор переключался на 25 *мв* и получался пик этанола. Площадь пика измеряли планиметром. По полученной площади пика метанола от площади всей хроматограммы и действительному содержанию его в смесях построили калибровочные кривые.

Затем изложенным методом определяли содержание метанола в винах из сока черной смородины, полученного при помощи пектолитических ферментов. Содержание метанола в пробе составляло 140 *мг/литр*, в контрольной пробе 145 *мг/литр*. Как видно, разница находится в пределах точности определения и можно предполагать, что применение ферментных препаратов при производстве соков не вызывает увеличения содержания метанола.

Выводы

1. Предложен метод определения метанола в соках и винах в присутствии значительных количеств этанола. Определение проводится методом газо-жидкостной хроматографии при температуре 50°С на колонке с полиэтиленгликолем и дециловым спиртом.

2. Получение сока черной смородины при помощи пектинолитических ферментных препаратов не повышает содержания метанола в продукции.

ЛИТЕРАТУРА

1. B. Segal, D. Motoc. Flüssiges Obst. 1966, 33, 10, 465.
2. E. O. Smith. Anal. Chem. 1964, 36, 9, 1750.
3. В. П. Грязков, И. Г. Положенцева. Фермент. и спирт. промышленность, 1966, № 5, 7.

A. Virkus, A. Talvari

Determination of Small Quantities of Methanol in Presence of Ethanol

Summary

A method for determination of methanol in presence of ethanol by means of gas-liquid chromatography has been proposed: The production of fruit juices by means of adding pectolytic enzymes to raw material does not increase the content of methanol in wine.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 577.15

А. Г. Канн, И. А. Ганзурова, В. М. Тынсберг

ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА ПРЕССОВАННЫХ ДРОЖЖЕЙ НА РАСХОД УГЛЕВОДОВ ПРИ СБРАЖИВАНИИ И НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССА ТЕСТОВЕДЕНИЯ

Интенсивность брожения пшеничного теста и расход углеводов на сбраживание исследовались рядом авторов [1, 2]. Одним из способов интенсификации процесса тестоведения является применение повышенного количества прессованных дрожжей в опаре или тесте. Однако точные данные, сопоставляющие повышенные дозировки дрожжей с продолжительностью брожения, величиной расхода углеводов и качеством выработанного хлеба еще очень немногочисленны.

Целью настоящей работы являлось изучение интенсивности брожения пшеничного теста на последовательных этапах его приготовления опарным способом и определение расхода углеводов на сбраживание, которое имеет большое значение для оценки величины технологических потерь при выработке хлебобулочных изделий. Применение количественного учета продуктов брожения позволяет сделать вывод об экономичности того или иного способа выработки пшеничного хлеба.

Опыты были проведены на Таллинском хлебокомбинате. Выпекались нарезные батоны из муки I сорта опарным способом с добавлением 2,5% обезжиренного сухого молока и прессованных дрожжей в количестве 1, 3 и 5%.

Расход углеводов на брожение определялся по количеству этилового спирта, образовавшегося на разных стадиях брожения опары и теста. Для определения этилового спирта применялся метод Мартена в модификации Чижовой [3]. Наряду с этим определялось также образование углекислого газа манометрическим способом [4].

Количество образовавшегося этилового спирта определялось через определенные промежутки времени. Первая проба отбиралась сразу после замеса опары; вторая — перед заме-

сом теста; третья — после замеса теста; четвертая — перед посадкой в печь; пятая — в готовой продукции. Общая продолжительность брожения с 1% дрожжей составляла 5 часов 18 минут, с 3% дрожжей — 3 часа 40 минут и с 5% дрожжей — 2 часа 08 минут. Технологический режим пробных выпечек приведен в таблице 1.

Таблица 1

Технологический режим пробных выпечек

Показатели	1 % дрожжей		3 % дрожжей		5 % дрожжей	
	опара	тесто	опара	тесто	опара	тесто
1. Продолжительность брожения	3 ч. 10 м.	56 мин.	2 ч. 10 м.	30 мин.	1 час	15 мин.
2. Продолжительность замеса, мин.	—	7	—	7	—	7
3. Кислотность в °Н	3,0—3,5	2,5—3,0	3,0—3,5	2,5—3,0	3,0—3,5	2,5—3,0
4. Расстойка, мин.	—	47	—	35	—	28
5. Выпечка, мин.	—	18	—	18	—	18
6. Длительность всего процесса	5 час. 18 мин.		3 час. 40 мин.		2 час. 08 мин.	

Из таблицы 1 видно, что длительность процесса от замеса опары до выпечки батонов с 3% дрожжей короче в 1,5 раза и с 5% дрожжей в 2,5 раза по сравнению с 1% дрожжей.

Физико-химические показатели готовых изделий приведены в таблице 2.

Из таблицы 2 вытекает, что все физико-химические показатели готовой продукции отвечают требованиям государственного стандарта. Разница между отдельными показателями в зависимости от количества добавляемых дрожжей сравнительно небольшая. Наблюдалось увеличение пористости на 6% при применении 5% дрожжей по сравнению с 1% дрожжей.

Накопление этилового спирта при брожении опары и теста

Таблица 2

Физико-химические показатели готовой продукции

Вид продукции	Влажность мякиша, %	Кислотность, мякиша, %	Пористость, %
1. Батоны 1 с 0,4 *кг* с 1% дрожжей	41,5	2,5	68,0
2. Батоны 1 с 0,4 *кг* с 3% дрожжей	41,5	2,5	68,0
3. Батоны 1 с 0,4 *кг* с 5% дрожжей	41,0	2,5	74,0
4. ГОСТ 7127-54	43,0	3,0	68,0

Таблица 3

Накопление этилового спирта в тесте и в готовых изделиях

Точки отбора проб	Содержание этильного спирта					
	1 % дрожжей		3 % дрожжей		5 % дрожжей	
	вес, %	вес. % на сухое вещество	вес, %	вес, % на сухое вещество	вес, %	вес, % на сухое вещество
1. После замеса опары	0,02	0,04	0,045	0,09	0,046	0,09
2. Перед замесом опары	0,28	0,54	0,29	0,55	0,27	0,53
3. После замеса теста	0,19	0,32	0,19	0,33	0,24	0,40
4. Перед посадкой в печь	0,38	0,64	0,41	0,69	0,47	0,79
5. В готовых батонах	0,14	0,23	0,23	0,38	0,25	0,42

в батонах с разным количеством дрожжей представлено в таблице 3.

Из данных таблицы 1 и 3 видно, что брожение с добавлением 3 и 5% прессованных дрожжей идет более интенсивно, чем с 1% дрожжей, вследствие чего оказывается возможным получение качественного хлеба при сокращении периода брожения и расстойки. В то же время к моменту завершения расстойки тесто с различным количеством дрожжей содержало почти одинаковое количество спирта.

Общий расход углеводов при брожении и расстойке, определенный по образовавшемуся этиловому спирту, составляет

1,68 *г*/100 *г* сухих веществ при брожении теста с 1% дрожжей, 1,78 *г*/100 *г* сухих веществ при 3% дрожжей и 1,80 *г*/100 *г* — при 5% дрожжей (таблица 4).

Таблица 4

Расход углеводов при брожении и расстойке по этиловому спирту

Кол-во дрожжей, в % от веса муки	Общая продолжительность брожения и расстойки, *мин*	Расход углеводов, % на сухое вещество					Интенсивнось расхода углеводов, % в час
		после замеса опары	перед замесом теста	после замеса теста	перед посадкой в печь	суммарный расход	
1	300	0,08	1,06	0,63	1,25	1,68	0,346
2	202	0,17	1,08	0,65	1,35	1,78	0,530
3	110	0,17	1,03	0,78	1,55	1,80	0,982

Следовательно, расход углеводов во всех трех случаях был приблизительно на одном уровне, но интенсивность брожения в то же время заметно возрастала.

В проведенных опытах определялось количество углекислого газа, образованного во время расстойки теста. Расход углеводов на брожение по углекислому газу вычисляли из расчета, что 1 *мл* CO_2 соответствует 3,65 *мг* сброженной глюкозы [5]. Полученные данные приведены в таблице 5.

Таблица 5

Образование углекислого газа в тесте во время расстойки

Количество дрожжей, %	Продолжительность расстойки, в *мин*	Образование CO_2, в *мл* на 100 *г* теста	Расход углеводов, % на сухое вещество по CO_2	Интенсивность расхода углеводов во время расстойки, % в час	Влажность теста, %
1	47	182,0	1,13	1,44	41,0
2	35	189,0	1,16	1,99	41,0
3	28	216,0	1,33	1,85	41,0

Опыты показывают, что количество образовавшегося во время расстойки углекислого газа в тесте, а также расход углеводов, определенных по CO_2, различаются незначительно

в зависимости от количества дрожжей. В то же время интенсивность расхода углеводов во время расстойки заметно возрастает с увеличением количества дрожжей.

Полученные данные показывают, что за счет повышения количества добавляемых в опару дрожжей можно получить ускорение сбраживаемости без значительного увеличения расхода углеводов на брожение.

Выводы

1. При добавлении прессованных дрожжей в количестве 3 и 5% интенсивность сбраживания увеличивается соответственно в 1,5 и 2,5 раза по сравнению с 1% дрожжей.

2. Расход углеводов на сбраживание при добавлении 1, 3, 5% дрожжей остается практически на одном уровне.

3. Повышение количества прессованных дрожжей дает ускорение процесса тестоведения без увеличения расхода углеводов на брожение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. П. Козьмина, Н. Н. Творогова. Интенсивность брожения пшеничного теста при приготовлении на агрегатах ХТР. Изв. высших учебных зав. Пищевая технология, 3, 86, 1966.

2. Н. П. Козьмина, Т. Малышева. Расход углеводов при различных способах приготовления пшеничного теста. ЦИНТИ Пищепром, 1967.

3. И. Н. Маслов, К. Н. Чижова, Т. И. Шкваркина, Н. В. Запенина, Ф. И. Заглодина. Технохимический контроль хлебопекарного производства, стр. 270. Изд. Пищевая пром., 1966 Москва.

4. И. М. Ройтер, А. А. Михелев, К. А. Кирова. Краткий справочник технолога хлебопекарного производства. Гос. изд. техн. литературы УССР, Киев 1958.

5. Н. П. Козьмина. Биохимические основы улучшения качества зерна. Хлебоиздат, М. 1959.

A. Kann, J. Ganzurova, V. Tõnsberg

Der Einfluß der Menge der Preßhefen auf den Verbrauch der Kohlenhydrate bei der Gärung und auf die Intensität des Prozeßes der Teigherstellung

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Intensität des Gärungsprozeßes des Teiges aus dem Weizenmehl untersucht. Die Backmasse (der Teig) wurde nach der Vorteigmethode gemacht. Gleichzeitig wurde auch der Verbrauch der Kohlenhydrate bestimmt.

Bei dem Zusatz der Preßhefen in Mengen von 3 und 5% nimmt die Intensität der Gärung 1,5 und 2,5 mal zu (in Beziehung zu 1% Preßhefen). In derselben Zeit bleibt der Verbrauch der Kohlenhydrate auf demselben Niveau.

TALLINNA POLÜTEHNILISE INSTITUUDI TOIMETISED
ТРУДЫ ТАЛЛИНСКОГО ПОЛИТЕХНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
СЕРИЯ А № 273 1969

УДК 664.661.3

А. Г. Канн, И. А. Ганзурова, Э. А. Кюбар

ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КАРБОНИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА АРОМАТ И ВКУС БАТОНОВ ИЗ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ I СОРТА ПРИ УСКОРЕННОМ МЕТОДЕ ТЕСТОВЕДЕНИЯ

В целях повышения технического уровня предприятий все шире внедряются новые технологические схемы приготовления хлебобулочных изделий, основанные на интенсификации процессов созревания теста.

Это прежде всего приготовление теста с помощью интенсивной механической обработки и применения улучшителей — молочной сыворотки, эмульгаторов, органических кислот, ферментов, а также увеличенного количества прессованных дрожжей, которые обеспечивают необходимую разрыхленность теста в период расстойки. Весь процесс приготовления хлеба при этом занимает 2—3 часа. Ускоренные способы тестоведения позволяют получать булочные изделия хорошего качества. [1, 2].

Однако точные данные, сопоставляющие накопление бисульфитсвязывающих карбонильных соединений в процессе опарного и ускоренного тестоведения (на дисперсной смеси) с увеличенным количеством дрожжей с применением молочной сыворотки, обезжиренного сухого молока и качество выработанных батонов еще мало изучены.

Целью нашей работы являлось изучение интенсивности накопления бисульфитсвязывающих карбонильных соединений и летучих кислот, обуславливающих вкус и аромат батонов, на последовательных этапах приготовления теста и в готовых изделиях, выработанных опарным (без молочных продуктов) и ускоренным способом (на дисперсной смеси).

Дисперсная смесь приготовлялась из 1, 3, 5% прессованных дрожжей, 20% молочной сыворотки, 2,5% обезжиренного сухого молока, 1% маргарина, 5% сахара и 10% пшеничной муки I с.

В процессе проведения опытов использовалась пшеничная

мука I с. Таллинского мелькомбината им. Виктора Кингиссепа среднего хлебопекарного качества: клейковина — 30—31%, средняя влажность — 15%, прессованные дрожжи Салутагузеского дрожжевого завода, подъемная сила 58—78 минут, кислотность — 72—78°Н.

Содержание бисульфитсвязывающих карбонильных соединений определялось на стадиях брожения опары, теста и в дисперсной смеси по методу Р. Р. Токаревой и В. Л. Кретовича, который основан на связывании альдегидов и некоторых кетонов бисульдитом натрия [3].

На Таллинском хлебозаводе № 2 в серии опытов устанавливали накопление бисульфитсвязывающих карбонильных соединений путем определения их количества через определенные промежутки времени. Первая проба отбиралась сразу после замеса опары и приготовления дисперсной смеси, вторая — перед замесом теста, третья — после замеса теста, четвертая — перед посадкой в печь, пятая — в мякише, шестая — в корке батона.

Общая продолжительность тестоведения опарным спосо-

Таблица 1

Технологический режим выпечек

Показатели	Опарный способ, 1 % дрожжей		Ускоренный метод					
			1 % дрожжей		3 % дрожжей		5 % дрожжей	
	опара	тесто	дисперсная смесь	тесто	дисперсная смесь	тесто	дисперсная смесь	тесто
1. Продолжительность брожения, *мин*	208	48	69	67	26	30	20	20
2. Продолжительность замеса, *мин*	10	10	8	15	8	15	8	15
3. Кислотность сыворотки, в град.	—	—	85	—	85	—	85	—
4. Кислотность теста, в град.	3,5	3—3,5	—	3,5	—	3,5	—	3,5
5. Разделка теста, *мин*	—	20	—	20	—	20	—	20
6. Расстойка, *мин*	—	40	—	42	—	37	—	25
7. Выпечка, *мин*	—	20	—	19	—	17	—	17
8. Температура печи, в °С	—	197	—	200	—	196	—	196
9. Длительность процесса	5 час. 56 м.		4 час. 00 м.		2 час 33 м.		2 час. 05 м.	

бом с 1% дрожжей составляла 5 ч. 56 минут, ускоренным способом с 1% дрожжей — 4 ч. 00 минут, с 3% — 2 ч. 33 минуты, с 5% — 2 ч. 05 минут.

При проведении пробных выпечек соблюдался технологический режим, приведенный в таблице 1.

Из таблицы 1 видно, что длительность технологического процесса выработки нарезных батонов ускоренным способом с 3% дрожжей короче в 2,4 раза и с 5% дрожжей — в 2,8 раза по сравнению с опарным методом.

Физико-химические показатели готовой продукции приведены в таблице 2.

Таблица 2

Характеристика готовой продукции

Способ тестоведения	Показатели качества батонов I с. 0,4 *кг*			
	влажность, %	кислотность, °Н	пористость, %	органолептическвя оценка
1. Опарный 1% прессов. дрожжей (без молочных продуктов)	40	2,5	73	Внешний вид нормальный. Пористость средняя, неравномерная. Вкус и аромат слабо выражены.
2. Ускоренный 1% дрож.	41	2,5	73	Внешний вид норм. Пористость средняя, неравномерная. Слабо выражены аромат и вкус молочных продуктов.
3. Ускоренный, 3% дрож.	41	3,0	75	Внешний вид норм. Пористость равномерная, тонкостенная. Аромат и вкус молочных продуктов хорошо выражены.
4. То же с 5% дрожжей	41,5	3,0	77	Внешний вид норм. Пористость равномерная, тонкостенная. Аромат и вкус молочных продуктов хорошо выражены.
5. ГОСТ 7124-54	43,0	3,0	68,0	

Из таблицы 2 видно, что нарезные батоны I сорта, выработанные ускоренным способом с применением молочных продуктов, имеют хороший внешний вид, лучший аромат, вкус и состояние мякиша (пористость увеличивается на 4%). Применение молочной сыворотки замедляет процесс черствения, повышает пищевую ценность батонов.

Содержание бисульфитсвязывающих карбонильных соединений при опарном и ускоренном способе тестоведения в нарезных батонах I с. с добавлением 1, 3, 5% прессованных дрожжей, представлено в таблице 3.

Таблица 3

Содержание бисульфитсвязывающих соединений

Точки отбора проб	Содержание бисульфитсвязывающих соединений, *мл* 0,1 N раствора йода на 100 *г* сухих веществ			
	опарный метод	ускоренный метод		
	1 % дрожжей	1 % дрожжей	3 % дрожжей	5 % дрожжей
1. После замеса опары и приготовления дисперсной смеси	10,4	37,0	61,3	48,1
2. Перед замесом теста	13,7	49,3	69,8	56,0
3. После замеса теста	14,9	14,8	21,1	20,1
4. Перед посадкой в печь	14,1	15,1	26,6	26,6
5. В мякише батонов	6,85	9,2	10,1	11,1
6. В корке батонов	32,4	44,9	47,4	53,4

Таблица 3 показывает, что содержание бисульфитсвязывающих карбонильных соединений, обуславливающих аромат и вкус батонов, при ускоренном способе тестоведения с применением молочных продуктов и прессованных дрожжей в количестве 1, 3, 5% увеличивается по сравнению с опарным способом соответственно на 13,8%, 14,6% и 16,5% (в корке хлеба).

Накопление карбонильных соединений (альдегидов и некоторых кетонов) происходит в основном в период брожения опары и дисперсной смеси (до замеса теста) за счет разложения сахара и в период выпечки, когда образование красящих веществ и альдегидов основано главным образом на реакции окислительно-восстановительного взаимодействия восстановленных сахаров и аминокислот, а также других аминосоединений.

Как известно, аромат батонов главным образом определяется содержанием карбонильных соединений в корке, а не в мякише [4, 5, 6, 7].

При проведении опытов определялось содержание летучих кислот [8], общая титруемая кислотность и % отношения летучих кислот к общей кислотности при ускоренном способе тестоведения с 1, 3, 5% дрожжей и опарном способе.

Полученные данные приведены в таблице 4.

Таблица 4

Содержание летучих кислот и общая титруемая кислотность

Способ тестоведения	Содержание летучих кислот в *мл* I N NaOH на 100 *г* вещества	Общая титруемая кислотность, в *мл* I N NaOH на 100 *г* вещества	% отношение летучих кислот к общей кислотности
1. Опарный способ, 1% дрожжей			
в мякише	0,97	2,0	48,5
в корке	1,31	3,2	40,9
2. Ускоренный способ, 1% дрожжей			
в мякише	1,07	3,0	35,7
в корке	1,16	5,6	20,7
3. Ускоренный способ, 3% дрожжей			
в мякише	1,21	2,6	46,5
в корке	2,04	6,8	30,0
4. Ускоренный способ, 5% дрожжей			
в мякише	1,21	2,5	48,4
в корке	1,26	5,0	25,2

Из таблицы 4 видно, что содержание летучих кислот наибольшее при ускоренном способе тестоведения с добавлением 3% прессованных дрожжей.

Кроме того, содержание летучих кислот больше в корке, чем в мякише при обоих способах тестоведения.

Полученные данные показывают, что за счет применения молочных продуктов, увеличенного количества прессованных дрожжей можно получить ускорение сбраживаемости, увеличение содержания летучих кислот и карбонильных соединений, обуславливающих аромат и вкус батонов, а также улучшение состояния мякиша.

Следовательно, ускоренный способ тестоведения (на дисперсной смеси с 3% прессованных дрожжей, 20% молочной

сыворотки, 2,5% обезжиренного сухого молока), принятый на Таллинском хлебозаводе № 2, при производстве нарезных батонов I с. является прогрессивным и может быть рекомендован для внедрения в других хлебопекарных предприятиях (пробными выпечками работниками хлебозавода установлено увеличение выхода готовой продукции на 2,5—3%).

Выводы

Полученные данные показывают, что за счет применения молочных продуктов (20% молочной сыворотки и 2,5% обезжиренного сухого молока) и увеличенного количества прессованных дрожжей (1, 3, 5%):

1) достигается ускорение тестоведения до 2,8 раза;

2) увеличение содержания бисульфитсвязывающих соединений в корке батонов до 16,5% по сравнению с опарным способом;

3) улучшение состояния мякиша (содержание пористости увеличивается на 2—4%).

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Щербатенко, Л. Столярова. Ускоренные способы приготовления хлеба из пшеничной муки. Хлебопек. и конд. пром. 1, 1, 1963.

2. В. Щербатенко, Т. Лурье, Л. Столярова. Регулирование процесса приготовления теста. ЦИНТИ Пищепром, 1966.

3. Р. Р. Токарева, Г. М. Смирнова, В. Л. Кретович. Применение ферментных препаратов в хлебопечении. ЦИНТИ Пищепром, 1963.

4. В. Л. Кретович, Р. Р. Токарева. Взаимодействие аминокислот и сахаров при повышенных температурах. Биохимия, 6, 13, 1948.

5. В. Л. Кретович, Р. Р. Токарева. О содержании оксиметилфурфирола в хлебе и солоде. Доклады Академии наук 74, № 3, 533, 1950.

6. В. Л. Кретович, Р. Р. Токарева. Летучие ароматические вещества солода и хлеба. Доклады Академии наук 69, № 2, 231, 1949.

7. D. Collyer. Bread flavor Baker's Digest, 38, 43, 1964.

8. И. Н. Маслов, К. Н. Чижова, Т. И. Шкваркина, Н. В. Запенина, Ф. И. Заглодина. Технологический контроль хлебопекарного производства, стр. 264, Пищепромиздат, 1960.

A. Kann, J. Ganzurova, E. Kübar

Der Einfluß der Menge der Karbonylverbindungen auf das Aroma und den Geschmack der aus dem Weizenmehl der ersten Sorte durch die beschleuningte Methode der Teiganfertigung hergestellten länglichen Weißbrote

Zusammenfassung

In der Vorarbeit wurde die Intensität der Bildung von Karbonylverbindungen und flüchtigen Säuren untersucht, die das Aroma und den Geschmack der länglichen Weißbrote bedingen. Die länglichen Weißbrote wurden sowohl nach der Vorteigmethode (ohne Zusatz von Milchprodukten) als auch der beschleunigten Methode (Dispersionsgemisch mit den Milchprodukten) gebacken.

In Beziehung zu der Vorteigmethode wird bei der beschleunigten Methode der Teigherstellung der technologische Vorgang 2,8 mal kürzer. In derselben Zeit nimmt das gehalt der Verbindungen, die mit Bisulfit in Verbindung kommen zu. Verbessert sich auch die Porosität der länglichen Weißbrote. Das Enthalten der flüchtigen Säuren hat den maximalen West bei der Zusatz von 3% Hefen.

СОДЕРЖАНИЕ

СБОРНИК СТАТЕЙ ПО ХИМИИ И ХИМИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ XXI (ТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ I)

Таллинский политехнический институт

Редактор К. Каск

Технический редактор Я. Мыттус

Сдано в набор 23 X 1968. Подписано к печати 4 III 1969. Бумага 60×90 1/16. Печатных листов 6,0. Учетно-издательских листов 4,8. Тираж 500. МВ-02389. Заказ № 3562. Типография «Юхисэлу», Таллин, ул. Пикк, 40/42.

Цена 48 коп.

Цена 48 коп.