

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

КОСІВ РУСЛАНА БОГДАНІВНА

УДК 664.872:577.44:663.14.039.3

**РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ДРІЖДЖОВИХ ЛІЗАТИВ
У ПОЛІ УЛЬТРАЗВУКОВИХ ХВИЛЬ
ДЛЯ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ**

Спеціальність 05.18.07 – технологія продуктів бродіння

**АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук**

Київ-2002

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Національному університеті “Львівська політехніка”
Міністерства освіти і науки України.

Наукові керівники: доктор технічних наук, професор

Мокрий Євген Миколайович

кафедра технології органічних продуктів Національного
університету “Львівська політехніка”, зав. кафедри

кандидат хімічних наук, доцент

Паляниця Любов Ярославівна

кафедра технології органічних продуктів Національного
університету “Львівська політехніка”, доцент

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор

Маринченко Віктор Опанасович

Національний університет харчових технологій,
кафедра біотехнології продуктів бродіння, екстрактів і
напоїв, професор

кандидат технічних наук

Ткаченко Любов Володимирівна

Український науково-дослідний інститут спирту та
біотехнології продовольчих продуктів,
старший науковий співробітник

Провідна установа: Інститут харчової хімії та технології НАН України та
Міністерства аграрної політики України (м. Київ)

Захист відбудеться “ ” 200 р. о годині на засіданні
спеціалізованої вченої ради Д 26.058.04 Національного університету харчових
технологій за адресою: 01033, м. Київ-33, вул. Володимирська, 68, ауд. А-311.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного
університету харчових технологій за адресою: 01033, м. Київ-33, вул.
Володимирська, 68.

Автореферат розісланий “ ” 2002 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

О.В. Кобилінська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Актуальність теми. Пошук ефективних способів інтенсифікації процесів нагромадження сахароміцетів та зброджування ними цукромісних субстратів бродильних виробництв має значний науковий та практичний інтерес. Відомо, що закономірності цих процесів безпосередньо пов'язані з життєдіяльністю виробничих мікроорганізмів, тому активація дріжджів сприятиме покращенню технологічних та економічних показників виробництва.

Одним із шляхів активації є використання дріжджових лізатів, які містять комплекс біологічно активних речовин – амінокислот, вітамінів і ферментів, та можуть бути одержані різними способами. Нагромаджений теоретичний та експериментальний матеріал свідчить, що ультразвукові хвилі є ефективним чинником впливу як на біотехнологічні процеси, так і при одержанні біологічно-активних речовин з мікроорганізмів. Цей спосіб порівняно з іншими, наприклад хімічними, має ряд суттєвих переваг, насамперед відсутність токсичного впливу одержаного лізату на виробничі мікроорганізми, що дає змогу впроваджувати його у харчовій промисловості.

Використання ультразвукових коливань малих інтенсивностей викликає позитивні біологічні ефекти, тоді як хвилі великих інтенсивностей спричиняють незворотні пошкодження клітини. Це зазвичай зумовлено сумісною дією різних чинників і не завжди є зрозумілим, який з них можна вважати визначальним. Також недостатньо вивчені питання імпульсного озвучення дріжджових клітин.

Тому дослідження щодо використання ультразвукових методів обробки в бродильних виробництвах можуть сприяти вирішенню технологічних задач, пов'язаних з їх інтенсифікацією, а, отже, залишаються своєчасними та актуальними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконано відповідно тематики науково-дослідних робіт кафедри технології органічних продуктів Національного університету “Львівська політехніка”: 0102U001187 “Наукові основи створення каталітичних та ініціюючих систем для процесів синтезу і використання спиртів”.

Мета і задачі досліджень. Метою досліджень є розробка науково-теоретичних основ технології дріжджових лізатів під дією ультразвуку для інтенсифікації біотехнологічних процесів бродильних виробництв.

Вибір мети досліджень обумовив необхідність вирішення таких *основних задач*:

- дослідження впливу ультразвукової обробки на глибину та швидкість лізису сахароміцетів;
- визначення якісного та кількісного складу лізату, одержаного під дією ультразвуку;
- побудова математичної моделі за результатами експериментів і вибір оптимальних умов одержання дріжджових лізатів у полі ультразвукових хвиль;
- порівняння морфологічних і біохімічних змін дріжджових клітин,

зумовлених різними лізуючими агентами;

- дослідження впливу добавок лізату на процеси бродіння, накопичення біомаси, спирту та вторинних продуктів;

- розробка технологічної схеми одержання дріжджових лізатів у полі ультразвукових коливань, проведення виробничих випробувань.

Об'єкт дослідження: морфолого-біохімічні зміни дріжджів в умовах ультразвукової обробки.

Предмет дослідження: технологія дріжджових лізатів під дією ультразвуку та спиртове бродіння за їх участю.

Методи дослідження: органолептичні, фізико-хімічні, біохімічні та мікробіологічні методи визначення якості вихідної сировини, напівпродуктів і готової продукції; методи планування експерименту і математичної обробки експериментальних результатів.

Наукова новизна одержаних результатів:

- розроблено технологію дріжджового лізату в полі ультразвукових коливань для інтенсифікації біотехнологічних процесів бродильних виробництв;

- показано можливість ефективного використання промислових дріжджів бродильних виробництв з метою одержання лізату як джерела біоактивних речовин;

- доповнено відомості за допомогою електронної мікроскопії про цитологічні зміни дріжджових клітин, зумовлені дією ультразвукових хвиль;

- вперше зроблено порівняння ультразвукового лізису дріжджів з їх автолізом під дією толуолу та етанолу за швидкістю і глибиною літичних процесів;

- вперше порівняно стимулюючу дію лізатів, одержаних у полі ультразвукових коливань і в результаті автолізу під дією толуолу та етанолу;

- вперше встановлено оптимальну витрату ультразвукового лізату для інтенсифікації зброджування м'ясного сусла та збільшення виходу цільових продуктів.

Практичне значення одержаних результатів. На основі проведених досліджень запропоновано спосіб інтенсифікації процесів бродіння та нагромадження біомаси дріжджів з використанням лізатів, одержаних у полі ультразвукових коливань.

Використання дріжджового лізату у виробництві спирту з м'яси дасть змогу збільшити швидкість бродіння на 8,8 %, вихід спирту на 0,98 % та хлібопекарських дріжджів на 24,1 % відносно контролю. Одержання дріжджових лізатів з надлишкових пивних та спиртових дріжджів, а також з санітарного браку пекарських вирішить у певній мірі проблему утилізації відходів бродильних виробництв.

Результати лабораторних досліджень підтверджені в виробничих умовах на ДП “Дослідний завод Розділ” ВАТ “Інститут гірничохімічної промисловості” та на Ковалівському спиртзаводі ДО “Тернопільспирт”. Очікуваний економічний ефект від використання дріжджового лізату, одержаного за запропонованою технологією,

на мелясному спиртзаводі продуктивністю 2000 дал/добу становить 701000 грн/рік.

Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних та аналітичних робіт в лабораторних та промислових умовах, обробці та узагальненні результатів, їх теоретичному обґрунтуванні, підготовці результатів до публікації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на 67-й науковій конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (Київ, УДУХТ, 2001), XIX Українській конференції з органічної хімії (Львів, 2001), VII Міжнародній науково-технічній конференції “Пріоритетні напрямки впровадження в харчову промисловість сучасних технологій, обладнання і нових видів продуктів оздоровчого та спеціального призначення” (Київ, УДУХТ, 2001), Міжнародній науковій конференції молодих вчених, аспірантів і студентів “Сучасні методи створення нових технологій та обладнання в харчовій промисловості” (Київ, НУХТ, 2002).

Публікації. Основні матеріали дисертаційної роботи висвітлено у восьми наукових публікаціях, у тому числі в чотирьох статтях і чотирьох тезах доповідей.

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається зі вступу, шести розділів, висновків, списку використаних джерел і трьох додатків. Робота викладена на 116 сторінках машинописного тексту, містить 29 таблиць, 35 рисунків. Список використаних джерел літератури складається з 187 робіт.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтована актуальність, сформульовані мета та завдання досліджень, показана наукова новизна та практична цінність роботи. Наведені дані про структуру дисертації, апробацію роботи та особистий внесок дисертанта.

Перший розділ “Шляхи інтенсифікації біотехнологічних процесів бродильних виробництв” присвячено аналітичному огляду джерел літератури. Показано, що ефективність бродильних виробництв за участю дріжджів-сахароміцетів залежить від їх ферментативної та генеративної активностей, які визначають швидкість нагромадження та кількість цільового продукту, а також якість готової продукції. Серед можливих шляхів підвищення активності сахароміцетів перспективним є використання методів біологічного та фізичного впливу. Великий практичний інтерес представляють біостимулятори: виноградний шрот, упарені замочні води пшениці та ячменю, екстракт солодових паростків, а також автолізати дріжджів – відпадки бродильних виробництв, використання яких приведе до зменшення затрат на утилізацію. З цієї точки зору доцільним є одержання лізатів з хлібопекарських дріжджів у вигляді санітарного браку та нестандартної продукції, а також пивних і винних дріжджів.

Зроблено порівняльну характеристику способів одержання дріжджових лізатів. Показано, що процес лізису з використанням ультразвуку (УЗ) має переваги у порівнянні з іншими способами, оскільки характеризується незначною тривалістю

та не потребує введення додаткових речовин.

Проте, виявлено неповне висвітлення УЗ лізису дріжджів в інформаційних джерелах, відсутність порівняння даного способу одержання лізатів з іншими існуючими способами за швидкістю та ступенем протеолізу білків, а також порівняння стимулюючої дії лізатів, одержаних під дією УЗ та інших лізуючих агентів. На основі аналізу джерел літератури визначена мета та конкретні завдання досліджень.

Другий розділ “Об’єкти досліджень і методи аналізів” містить характеристику об’єктів і методів досліджень, опис схеми лабораторної установки та методики проведення дослідів.

Об’єктами досліджень були дріжджі: спиртового виробництва – раси В, дріжджового виробництва – пресовані хлібопекарські дріжджі (вологість 75 %) (ЗАТ “Ензим”, м. Львів), а також пивні дріжджі Львівської пивоварні; дріжджові лізати.

Ультразвукову обробку дріжджових суспензій здійснювали в диспергаторі УЗДН-2Т з магніострикційним експоненційним випромінювачем. Визначення життєздатних дріжджових клітин у лізатах проводили чашковим методом. Дослідження цитологічних змін дріжджових клітин під дією різних лізуючих агентів здійснювали шляхом електронної мікроскопії. Азот амінокислот визначали за методами Серенсена, уточненим УкрНДІСП; Попа і Стівенсона. Вміст вітамінів групи В у лізатах аналізували колориметрично.

Сусло зброджували за методом “бродильної проби”. Підрахунок дріжджових клітин в рідкому середовищі здійснювали під мікроскопом в камері Горяєва. Бродильну енергію сахароміцетів визначали за масою вуглекислого газу, виділеного при бродінні за одиницю часу. Визначення піднімальної сили дріжджів проводили за часом підйому тіста на висоту 70 мм, а зимазну та мальтазну активності встановлювали газометричним і поляриметричним методами. Кількість сухої біомаси дріжджів визначали ваговим методом. Аналіз бражки здійснювали згідно з традиційними методиками, визначення спиртів бражки – хроматографічно.

Статистичну обробку результатів дослідів, побудову графіків і діаграм проводили за допомогою стандартного пакету, який міститься в програмі MS Excel 9.0.

У третьому розділі “Вплив ультразвуку на лізис дріжджових клітин” представлені цитологічні та біохімічні зміни дріжджової суспензії під дією УЗ та наведені результати досліджень впливу умов обробки на лізис сахароміцетів.

За результатами електронної мікроскопії встановлено морфологічні зміни спиртових дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* раси В, зумовлених дією УЗ коливань. Виявлено клітини, в яких важко розрізнити окремі органели, окрім ядра, хоча і його консистенція була відмінною від ядра клітин, що не піддавалися дії УЗ. Спостерігали пошкодження комплексу “клітинна стінка - мембрана”.

Були наявні клітини з розривом стінок внутрішньоклітинних органел, у тому числі вакуолей, ядра, ін., та з відсутнім клітинним матеріалом (рис. 1, а). Деякі клітини були майже порожні (рис. 1, б). Такі цитологічні зміни можна пояснити механічними руйнуваннями клітинних стінок та мембран. Підтвердження цьому була наявність частинок подрібнених клітинних стінок (рис. 2).

а)

б)

Рис. 1. Зрізи дріжджових клітин *Saccharomyces cerevisiae* раси В, оброблених у полі УЗ хвиль: а – фрагмент 1, б – фрагмент 2.

Аналогічні зміни спостерігали і в зразку озвучених хлібопекарських дріжджів, де були наявні поряд клітини лише зі зміненим внутрішньоклітинним матеріалом, залишки клітинних стінок і вивільнений клітинний матеріал (рис. 3).

Рис. 2. Зріз дріжджових клітин Рис. 3. Зріз клітин хлібопекарських *Saccharomyces cerevisiae* раси В, дріжджів, оброблених у полі УЗ хвиль оброблених у полі УЗ хвиль

Слід зазначити, що цитологічні зміни дріжджових клітин, спричинені дією УЗ, були аналогічними незалежно від раси дріжджів (В і 14) та їх віку (2 і 5 діб).

Як свідчать результати досліджень, руйнування дріжджових клітин в полі УЗ хвиль супроводжується нагромадженням засвоюваного азоту (ЗА), збільшенням рН середовища та зменшенням його титрованої кислотності.

Ефективність дії УЗ на дріжджі-сахароміцети залежить від частоти коливань (кГц), інтенсивності УЗ (I, Вт/см³), тривалості озвучення (τ, хв), температури (t, °С), концентрації біомаси дріжджів (M, % мас.).

Дія УЗ коливань в межах 22-44 кГц (діапазон частот УЗДН-2Т) на дріжджові клітини не є специфічною, оскільки одержані при таких частотах лізати відрізнялися за вмістом ЗА і кількістю мертвих клітин не більше, ніж на 5 %. Частота акустичних коливань впливає на ефективність процесів лізису дріжджових клітин лише у тій мірі, в якій змінюється ефективність кавітаційних процесів. Тому всі подальші дослідження проводили, використовуючи магнітостріктор з частотою 22 кГц.

Аналіз кінетичних кривих нагромадження ЗА в дріжджових суспензіях показав, що значний його ріст відбувається при експозиції озвучення до 4 хв. Для досягнення його максимальної кількості необхідна обробка тривалістю 8-12 хв (рис. 4).

Зі збільшенням тривалості УЗ обробки суспензії сахароміцетів зростало значення рН лізату та знижувалась його кислотність. Таку зміну рН оброблюваної суспензії можна пояснювати нагромадженням продуктів лізису, які мають лужні властивості та додатній заряд молекул. Такими можуть бути амінокислоти з двома аміногрупами або ж найпростіші білки – протаміни та гістони, в складі яких переважають вищевказані амінокислоти, зокрема лізин та аргінін.

Руйнівну дію мають УЗ хвилі певної інтенсивності: руйнування клітин спостерігали тоді, коли інтенсивність УЗ була достатньою для виникнення кавітації в озвучуваному середовищі, а саме при 1,6 Вт/см³. Подальше збільшення інтенсивності не впливає на лізис дріжджових клітин (рис. 5).

Вивчення впливу концентрації суспензії на процес одержання лізату проводили за зміною питомого нагромадження ЗА, тобто формольного числа (ФЧ) лізату, віднесеного до маси дріжджів (з вологістю 75 %), взятої для його приготування. Виявилось, що зі зміною концентрації суспензії сахароміцетів від 1 до 50 % мас. питоме нагромадження ЗА знижувалось (рис. 6), і значно - при збільшенні біомаси суспензії від 1 до 10 % мас.

Залежність вмісту ЗА в одиниці об'єму лізату від концентрації біомаси озвучуваної дріжджової суспензії має лінійний характер (рис. 6). При цьому втрата ЗА через недостатнє його вилучення при збільшенні концентрації суспензії від 1 до 50 % мас. дорівнює 13,3 %, що є наслідком гальмування процесу кавітації при високих концентраціях клітин мікроорганізмів та збільшення в'язкості середовища, зумовленого вивільненням клітинного білкового матеріалу. Адже ефективність дії УЗ залежить від складу суспензійної рідини та зменшується в більшій мірі у присутності білків, ніж ліпоїдів і вуглеводів.

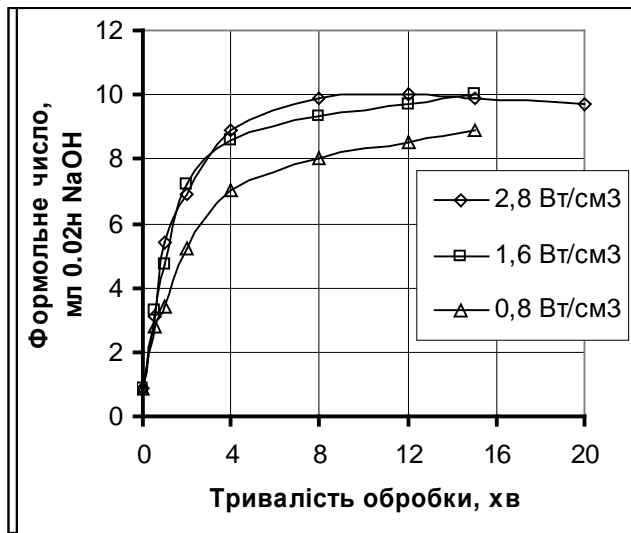


Рис. 4. Залежність ФЧ дріжджової суспензії від тривалості УЗ обробки:
 $M = 5\% \text{ мас.}; t = 20\text{ }^\circ\text{C}$

Рис. 5. Залежність ФЧ лізатів і виживання клітин від інтенсивності УЗ:
 $M = 5\% \text{ мас.}; t = 20\text{ }^\circ\text{C}, \tau = 4 \text{ хв}$

Результати дослідження зміни ФЧ лізатів залежно від об'єму взятої на озвучення суспензії показали, що при його зменшенні від 25 до 10 мл кількість ЗА зростала. Це пояснюється збільшенням інтенсивності УЗ коливань.

Зі збільшенням температури обробки від 10 до 90 °С кількість ЗА в одержаних лізатах зростала (рис. 7). Проте, при температурах 70-90 °С та експозиції 2 хв спостерігали значний приріст ЗА у порівнянні з його кількістю в лізатах, одержаних при нижчих температурах. Це пояснюється термічною дією на дріжджові клітини, тобто денатурацією білків.

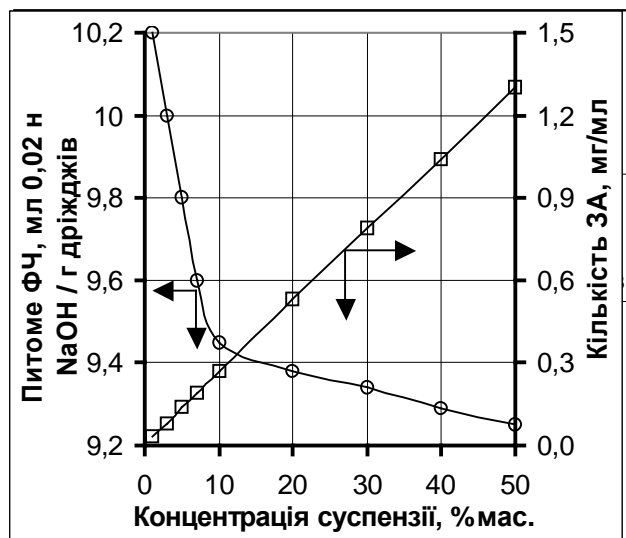


Рис. 6. Залежність питомого ФЧ і кількості ЗА лізатів від концентрації суспензії дріжджів:
 $I = 1,6 \text{ Вт/см}^3; t = 20\text{ }^\circ\text{C}, \tau = 12 \text{ хв}$

Рис. 7. Залежність ФЧ лізатів від температури УЗ обробки:
 $I = 1,6 \text{ Вт/см}^3; M = 5\% \text{ мас.}$

З метою порівняння проводили термічний лізис дріжджових клітин протягом 6 хв при аналогічних умовах, проте без обробки УЗ хвилями. Результати досліджень показали, що пороговою є температура 67 °С, при якій відбувається різке збільшення кількості ЗА в дріжджовій суспензії (рис. 8).

Перевагами УЗ лізису дріжджових клітин у порівнянні з термічним є більша глибина, нижча оптимальна температура процесу (60 °С), збереження біологічно-активних речовин, які відіграють важливу роль при використанні лізатів у бродильних виробництвах.

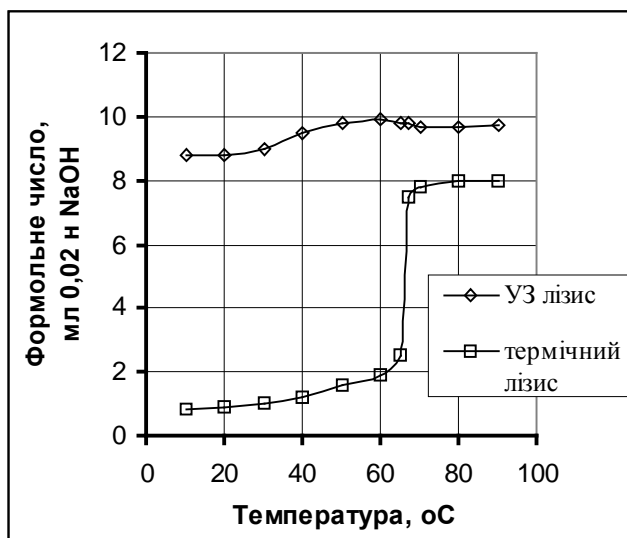


Рис. 8. Залежність від температури ФЧ лізатів, одержаних під дією УЗ коливань та температури $I = 1,6 \text{ Вт/см}^3$; $M = 5 \text{ \% мас.}$, $\tau = 6 \text{ хв}$

Аналізуючи температурні залежності накопичення ЗА та беручи до уваги утворення тепла при поглинанні УЗ енергії середовищем, дійшли висновку про можливість імпульсної обробки дріжджової суспензії у полі УЗ коливань з одночасним підвищенням температури. При цьому тривалість однієї обробки визначалася часом, необхідним для підвищення температури суспензії до оптимальної, тобто 60 °С, а тривалість між обробками - часом, потрібним для охолодження суспензії до 30 °С. При інтенсивності УЗ $1,6 \text{ Вт/см}^3$ ці експозиції становили 1 і 3 хв відповідно.

Порівняння результатів, одержаних під час безперервної обробки при температурі 20 °С та імпульсної обробки, показало, що остання дозволяє інтенсифікувати процес накопичення ЗА на 6-9 %.

У четвертому розділі «Порівняльна характеристика способів одержання дріжджових лізатів та їх властивостей» висвітлено особливості цитологічних змін дріжджових клітин, зумовлених різними лізуючими чинниками; зроблено порівняння динаміки нагромадження засвоюваного азоту в дріжджових лізатах різної природи та представлено порівняльну характеристику складу одержуваних лізатів; зроблено порівняння стимулюючої дії лізатів, одержаних різними способами, на нагромадження сахароміцетів та зброджування ними мелясного сусла.

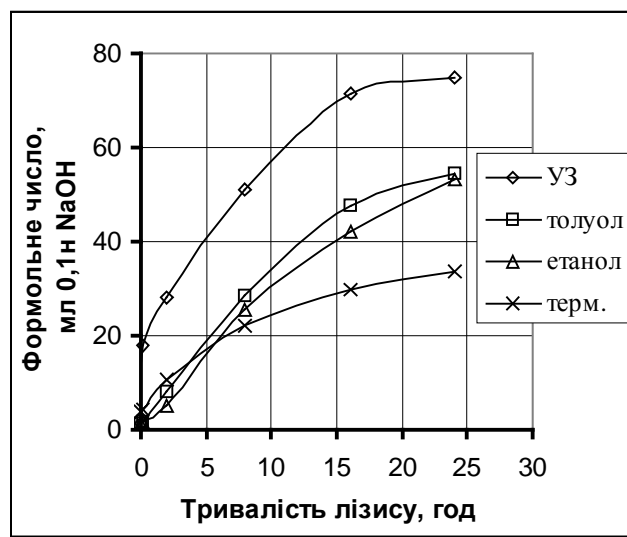
При дослідженні впливу літичних агентів фізичної та хімічної природи на дріжджові клітини спостерігали як спільні ознаки: зменшення розміру клітин, концентрування цитоплазматичної мембрани в центральній частині клітини, збільшення зернистості протоплазми; так і відмінні: при дії хімічних ініціаторів лізису відбувається розщеплення внутрішньоклітинного матеріалу без видимого руйнування стінок органел, під впливом ж УЗ коливань спостерігали значні

механічні руйнування клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани та ін. структур, вивільнення з клітини її решток.

З метою встановлення переваг УЗ лізису дріжджових клітин порівнювали динаміку нагромадження ЗА в лізатах, одержаних з суспензії хлібопекарських пресованих дріжджів ($M=5\%$ мас., при вологості дріжджів 75%) різними способами: 1) у полі УЗ хвиль при таких умовах: $I = 1,6 \text{ Вт/см}^3$, $t = 20\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 8 \text{ хв}$; 2) шляхом автолізу з використанням толуолу: концентрація толуолу 1% об., $t = 50\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 24 \text{ год}$; 3) шляхом автолізу за допомогою етанолу: концентрація спирту 4% об., $t = 50\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 24 \text{ год}$. Для порівняння УЗ лізат також термостатували при температурі $50\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 24 год.

Максимальна кількість ЗА накопичувалась у результаті автолізу дріжджових клітин при використанні толуолу (рис. 9, а). Використання УЗ характеризувалось найменшим ступенем лізису дріжджів. Проте, УЗ технологія дріжджових лізатів мала такі переваги над традиційними: 1) швидкість нагромадження ЗА в експоненційній фазі (рівній тривалості УЗ обробки) була в 21-25 рази більшою; 2) дія УЗ хвиль не спричиняла глибокого лізису дріжджових клітин, а лише порушувала існуючі в клітині взаємозв'язки між біокатализаторами, субстратами, інгібіторами та ін. за рахунок руйнування клітинних оболонок та мембран, а це, в свою чергу, призводило до вивільнення ряду біологічно активних речовин (вітамінів, ферментів, тощо), значна частина яких знаходиться в клітинах дріжджів у зв'язаному стані.

Однак зі збільшенням густини дріжджової суспензії до 50% мас. спостерігали інші закономірності лізису, спричиненого дією УЗ коливань, етанолу та толуолу, а також термічного лізису, який проводили при таких умовах: $t = 60\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 8 \text{ хв}$, термостатування при $50\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 24 год (рис. 9, б).



а)

б)

Рис. 9. Динаміка накопичення ЗА в лізатах, одержаних різними способами:
а) $M = 5\%$ мас., б) $M = 50\%$ мас.

Ультразвуковий лізис дріжджових клітин мав найбільшу швидкість та найбільшу глибину в порівнянні з іншими способами одержання дріжджових лізатів. Таким чином, можна запропонувати два способи одержання лізатів з дріжджової суспензії концентрацією 50 % мас. за участю УЗ коливань: 1) тільки УЗ обробка дріжджової суспензії, що дозволяє зменшити тривалість процесу в 180 разів, однак характеризується втричі меншою глибиною протеолізу, ніж використання плазмолізаторів хімічної природи; 2) озвучення дріжджової суспензії та термостатування при 50 °С протягом 24 год, що веде до збільшення швидкості протеолізу за рахунок екстракції внутрішньоклітинного матеріалу в водне середовище під час УЗ обробки та глибини процесу на 27-29 % порівняно зі способами, спричиненими дією хімічних агентів.

Склад кінцевого лізату залежить від механізму процесу, а, отже, визначається видом ініціатора лізису. Тому лізати, одержані різними способами, відрізняються за своїм хімічним складом (табл. 1).

Таблиця 1

Хімічний склад лізатів, одержаних різними способами

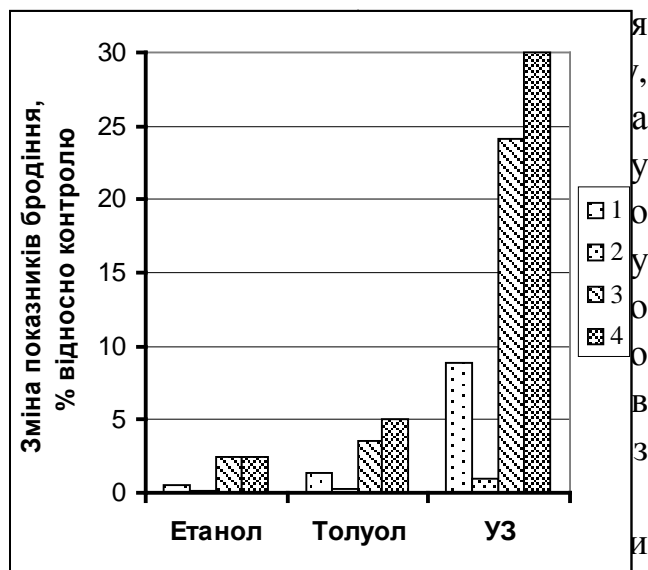
Лізуючий агент	УЗ	УЗ	Толуол	Етанол
Витримка (термостатування)	-	24 год, 50 °С	24 год, 50 °С	24 год, 50 °С
Сухі речовини, % мас.	11,9	12,0	8,8	7,0
Вологість, % мас.	88,1	88,0	91,2	93,0
Білки, мг / мл	43,8	43,8	38,8	38,1
Вуглеводи, мг / мл	8,2	-	8,5	8,4
Кислотність, мл 0,1 н NaOH	3,9	7,8	15,4	7,3
Вміст азоту:				
загального (мг / мл)	7,0	7,0	6,2	6,1
амінокислот (мг / мл)	1,12	4,76	4,06	3,20
засвоюваного (мг / мл)	1,24	5,0	3,65	3,56
(% на СР др.)	1,02	4,12	3,01	2,93
Вміст низькомол. пептидів, % від ЗА	9,7	4,8	10,1	10,1

Важливим є порівняння складу лізатів, одержаних шляхом УЗ обробки пекарських, пивних та спиртових дріжджів. Результати досліджень показали, що їх хімічний склад та ферментативна активність практично не відрізнялися. Лізати, одержані при однакових умовах з різних рас дріжджів, характеризували близькі значення вмісту СР, кислотності, кількості ЗА та амінного азоту. Лізат пивних дріжджів відрізнявся більшим вмістом вітамінів групи В.

Отже, для одержання дріжджових лізатів у полі УЗ коливань доцільно використовувати спиртові та пивні дріжджі після відділення їх від культуральної рідини та промивання, а також санітарний брак пекарських дріжджів, що буде

сприяти вирішенню проблеми утилізації відпадків бродильних виробництв.

Використання УЗ для одержання дріжджових лізатів дозволяє скоротити тривалість процесу, а також не потребує введення додаткових речовин, які можуть негативно впливати на виробничі мікроорганізми при використанні одержаного продукту як стимулятора біотехнологічних процесів у бродильних виробництвах.



експериментів, лізати, одержані в присутності толуолу та етанолу, мали незначний стимулюючий вплив: швидкість бродіння майже не змінювалась, вміст етанолу в бражках збільшувався у меншій мірі, а біомаса дріжджів зростала тільки на 2,4-3,6% (рис.10). На відміну від цього, збільшення біомаси при додаванні УЗ лізату становило 24,1%. Кількість

вторинних продуктів бродіння в бражних дистиллятах змінювалась незначно.

Очевидно, засвоюваний азот лізату є азотним живленням для дріжджів, що призводить до зменшення витрати цукрів на побудову білкового матеріалу клітин при їх розмноженні, а отже, до збільшення виходу етанолу з одиниці маси зброджуваних вуглеводів. Наявні в лізаті вітаміни виконують роль біокатализаторів, які значно стимулюють біохімічні процеси. Ферментація цукрів під дією ензимів лізату веде до пришвидшення процесу бродіння суслу. Отже, при використанні дріжджових лізатів стимулюючу дію на біосинтетичну та бродильну активність сахароміцетів мають біологічно активні речовини: засвоюваний азот у вигляді амінокислот і низькомолекулярних пептидів, вітаміни та ферменти.

У п'ятому розділі “Вивчення стимулюючої дії ультразвукового лізату” зроблено порівняння стимулюючої дії фракцій лізату: фугату та супернатанту, досліджено вплив кількості доданого лізату на нагромадження сахароміцетів та

Рис. 10. Вплив лізатів різної природи на зміну показників бродіння (у % відносно контролю):

- 1- збільшення швидкості бродіння,
- 2- збільшення вмісту етанолу в бражці,
- 3 – збільшення біомаси дріжджів,
- 4 – зменшення кількості незброджених цукрів

зброджування ними м'ясяного сула, а також вплив тривалості зберігання на стимулюючу дію лізату, одержаного в полі ультразвуку.

Зі збільшенням витрати лізату від 0,5 до 1,5 % об. зростала швидкість бродіння м'ясяного сула, зменшувалась густина зрілих бражок, підвищувався вихід спирту та хлібопекарських дріжджів (рис. 11). Проте не вдалося встановити прямо пропорційної залежності зміни показників бродіння від витрати УЗ лізату.

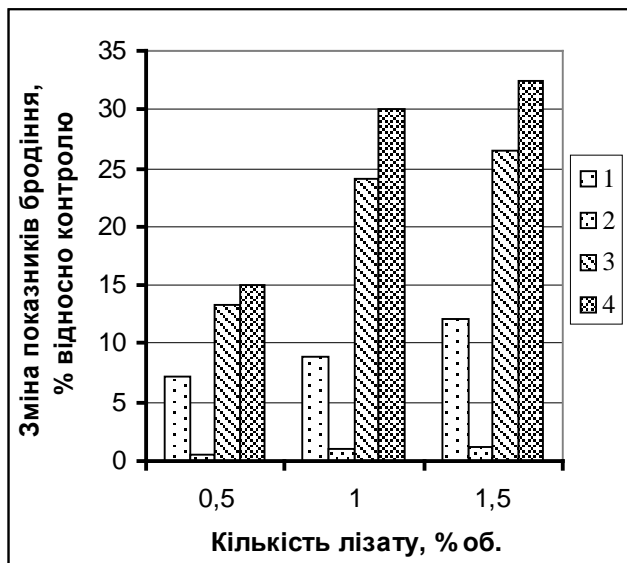


Рис. 11. Вплив дози ультразвукового лізату на зміну показників бродіння (у % відносно контролю): 1- збільшення швидкості бродіння, 2 – збільшення вмісту етанолу в бражці, 3 – збільшення біомаси дріжджів, 4 – зменшення кількості незброджених цукрів

Одержані при використанні ультразвукового лізату хлібопекарські дріжджі не відрізнялися від контролю за консистенцією, запахом і смаком, але мали темніше забарвлення, яке підсилювалось зі збільшенням дози лізату. Майже в усіх випадках ферментативна активність дріжджів, одержаних при додаванні лізату, не відрізнялась від активності дріжджів, отриманих без внесення стимулятора, проте стійкість дріжджів при зберіганні зі збільшенням витрати лізату зменшувалась (від 6 до 9 % відносно контролю).

Зважаючи на сказане вище, використання дріжджового лізату рекомендується для зброджування м'ясяси на спиртових заводах, які ведуть двопродуктивний спосіб виробництва спирту та хлібопекарських дріжджів з підвищенням продуктивності за обома продуктами без погіршення їх якості, а також на однопродуктивних виробництвах – з метою збільшення виходу спирту та інтенсифікації зброджування.

При цьому якісний склад вторинних продуктів бродіння в бражних дистилатах, одержаних при додаванні різної кількості УЗ лізату, відрізнявся незначно. Вміст ізоамілового спирту зі збільшенням кількості доданого лізату зростав. Це пояснюється тим, що лізат багатий амінокислотами, які в процесі зброджування перетворюються до вищих спиртів, зокрема з лейцину утворюється ізоаміловий спирт.

Оскільки згідно результатів експериментів використання лізату дріжджів, одержаного в полі УЗ коливань, спричиняє підвищення виходу спирту та в більшій мірі дріжджів, то такий спосіб зброджування м'ясяного сула може бути рекомендований для двопродуктового виробництва. При цьому велике значення має не лише вихід спирту та біомаси дріжджів, а й якість одержуваних дріжджів.

При цьому, згідно отриманих результатів, оптимальною витратою УЗ лізату є 1% відносно об'єму зброджуваного середовища. Подальше збільшення кількості лізату веде до підвищення його стимулюючої дії, проте приріст показників бродіння та накопичення біомаси є меншим, ніж приріст витрати лізату.

Додавання до зброджуваного середовища УЗ лізату в кількості 1 % об. дозволить: збільшити швидкість бродіння на 8,8 %, зменшити кількість незброджених цукрів на 30 %, збільшити вихід спирту на 0,98 % та хлібопекарських дріжджів на 24,1 % відносно контролю.

Зберігання ультразвукового лізату при 0-4 °С протягом 1-6 місяців не приводить до зменшення стимулюючої дії лізатів, а, навпаки, - до її збільшення.

У шостому розділі “Розробка способу одержання дріжджового лізату в полі ультразвукових хвиль” здійснено математичне моделювання ультразвукового лізису дріжджових клітин і його оптимізацію; представлено апаратурно-технологічну схему; розраховано матеріальний баланс промислового одержання дріжджового лізату; описано методики проведення виробничих випробувань та розраховано економічну ефективність впровадження результатів досліджень.

За експериментальними результатами розроблена математична модель, яка описує залежність ФЧ озвученої дріжджової суспензії від потужності ультразвукового генератора, концентрації та об'єму озвучуваної суспензії, тривалості та температури обробки.

Ітераційним методом пошуку максимуму одержаної функції з обмеженням вибрали оптимальні умови процесу: $I = 4 \text{ Вт/см}^3$, $M = 50 \%$, $\tau = 2 \text{ хв}$, $t = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.

На основі проведених досліджень запропоновано технологію дріжджових лізатів у полі УЗ хвиль (рис. 12).

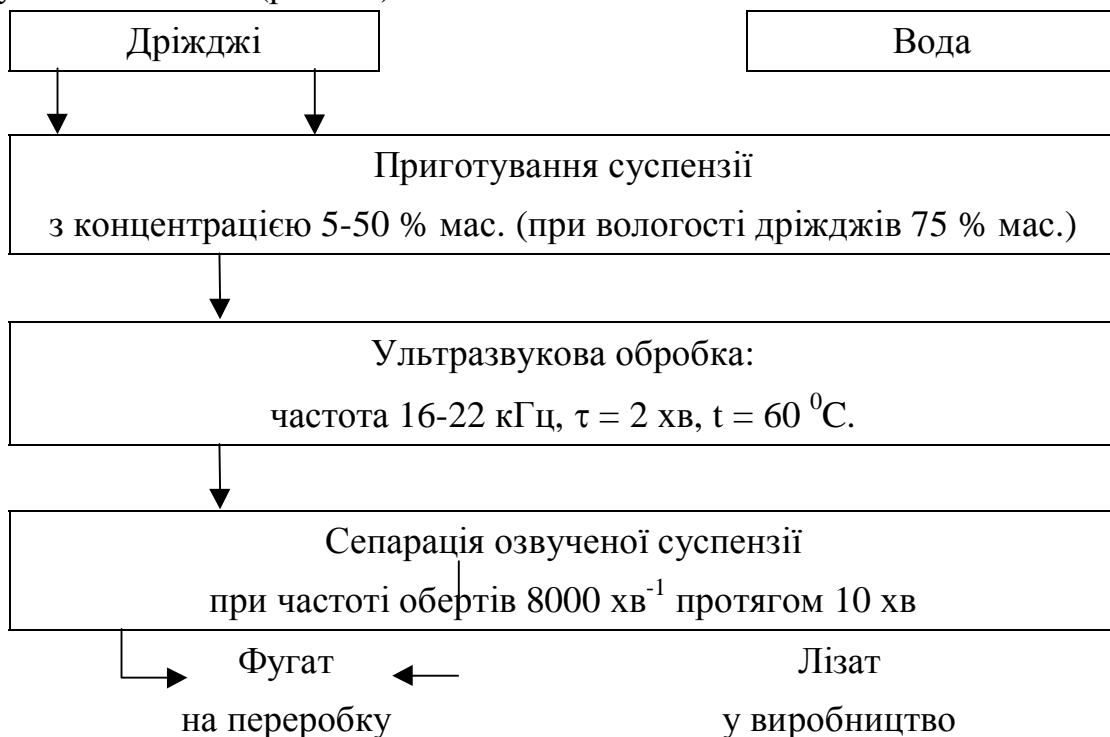


Рис. 12. Принципова схема одержання дріжджового лізату під дією ультразвуку

Виробничі випробування одержання дріжджового лізату були відпрацьовані на ДП “Дослідний завод Розділ” ВАТ “Інститут гірничохімічної промисловості” (м. Львів), а промислові випробування використання дріжджового лізату - на Ковалівському спиртовому заводі ДО “Тернопільспирт”. Результати виробничих випробувань підтвердили можливість одержання дріжджового лізату в полі УЗ коливань. Встановлено, що використання дріжджового лізату дозволяє інтенсифікувати зброджування мелясного суслу та збільшити вихід спирту на 0,8 % і біомаси дріжджів на 16 % відносних відповідно.

Розраховано, що очікуваний економічний ефект від використання дріжджового лізату, одержаного за запропонованою технологією, на мелясному спиртовому заводі продуктивністю 2000 дал/добу становить 701 тис. грн/рік.

ВИСНОВКИ

1. На основі теоретичних і експериментальних досліджень розроблені наукові основи технології дріжджових лізатів під дією ультразвуку, призначених для використання в бродильних виробництвах.

2. Експериментально доведено переваги ультразвукового лізису над автолізом дріжджів, ініційованим хімічними речовинами: тривалість процесу в 180 разів менша, не потрібно вводити речовини, які можуть негативно впливати на виробничі дріжджі при використанні лізатів у біотехнологічних процесах.

3. Встановлені оптимальні умови одержання лізату дріжджів у полі ультразвукових хвиль на основі створеної математичної моделі: концентрація біомаси 50 мас. %, інтенсивність ультразвуку 4 Вт/см³, тривалість 2 хв, температура 60 °С. Доведено, що математична модель адекватна реальному процесу.

4. Доповнено відомості про морфологічні зміни сахароміцетів, зумовлені дією ультразвукових коливань: пошкодження комплексу “клітинна стінка - мембрана”, розрив клітинної стінки та стінок внутрішньоклітинних органел, вимивання клітинного матеріалу в середовище.

5. Показано можливість використання надлишкових спиртових і пивних дріжджів, а також санітарного браку пекарських дріжджів для одержання лізатів у полі ультразвукових хвиль.

6. Запропонована та теоретично обґрунтована апаратурно-технологічна схема одержання дріжджового лізату під дією ультразвуку.

7. Встановлено доцільність та переваги використання ультразвукового лізату як добавки до сусла у виробництві спирту з меляси, що веде до інтенсифікації зброджування та збільшення виходу цільових продуктів.

8. Визначено оптимальну кількість ультразвукового лізату, що дорівнює 40 кг на 1 т перероблюваної меляси, використання якої дозволяє: збільшити швидкість бродіння на 8,8 %, зменшити кількість незброджених цукрів на 30 %, збільшити вихід спирту на 0,98 % та дріжджів на 24,1 % відносно контролю.

9. Результати лабораторних досліджень підтверджені в виробничих умовах. Економічна ефективність від впровадження результатів досліджень становить 701 тис. грн/рік.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дія ультразвуку на хлібопекарні дріжджі / Косів Р.Б., Тарапацька Ю.В., Паляниця Л.Я., Мокрий Є.М. // Вісник ДУ ”Львівська політехніка”. – 2000. - № 414: Хімія, технологія речовин та їх застосування. – С. 155-157.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

2. Косів Р.Б., Паляниця Л.Я. Імпульсне озвучення хлібопекарних дріжджів // Вісник НУ “Львівська політехніка”. - 2001. - № 426: Хімія, технологія речовин та їх застосування. – С. 128-130.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

3. Косів Р.Б., Паляниця Л.Я. Вплив продуктів автолізу дріжджів на їх бродильну активність // Пріоритетні напрямки впровадження в харчову промисловість сучасних технологій, обладнання і нових видів продуктів оздоровчого та спеціального призначення: Наукові праці УДУХТ № 10 (спецвипуск за матеріалами VII Міжнародної науково-технічної конференції). – К.: УДУХТ. – 2001. – Ч. I. – С. 134-135.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

4. Косів Р.Б., Паляниця Л.Я. Вплив параметрів ультразвукової обробки на лізис дріжджових клітин // Вісник НУ “Львівська політехніка”. - 2002. - № 447: Хімія, технологія речовин та їх застосування. – С. 154-156.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

5. Косів Р.Б., Паляниця Л.Я., Кулачковський О.Р. Цитологічні зміни сахароміцетів при їх лізисі // Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2002. – Вип. 31. – С. 168-174.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

6. Косів Р.Б., Мокрий Є.М. Одержання лізату хлібопекарних дріжджів // Зб-к тез доповідей 67 наук. конференції студентів, аспірантів і молодих вчених. - К.: УДУХТ.- 2001.- С 28-29.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

7. Косів Р.Б., Тарапацька Ю.В., Паляниця Л.Я. Одержання дріжджових автолізатів у полі ультразвукових хвиль // Зб-к тез доповідей ХІХ Української конференції з органічної хімії. - Львів: НУ” Львівська політехніка”. - 2001. - С. 232.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

8. Косів Р.Б., Паляниця Л.Я., Чайківський Т.В. Математична модель одержання дріжджового лізату в полі ультразвукових хвиль // Зб-к тез доповідей Міжнародної наукової конференції молодих вчених, аспірантів і студентів “Сучасні методи створення нових технологій та обладнання в харчовій промисловості”. -Ч. II. - К.: НУХТ.- 2002.– С. 25.

Особистий внесок здобувача: проведення експериментальних досліджень, обробка результатів, підготовка матеріалів до публікації.

АНОТАЦІЯ

Косів Р.Б. Розробка технології дріжджових лізатів у полі ультразвукових хвиль для інтенсифікації біотехнологічних процесів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.18.07 – технологія продуктів бродіння. - Національний університет харчових технологій Міністерства освіти і науки, Київ, 2002.

Дисертація присвячена розробці науково-теоретичних основ ультразвукової обробки дріжджів для одержання лізатів та використання останніх для інтенсифікації біотехнологічних процесів бродильних виробництв.

Досліджено лізис дріжджових клітин у полі ультразвукових хвиль залежно від частоти коливань, інтенсивності ультразвуку, концентрації та об'єму суспензії,

тривалості та температурного режиму обробки. Вивчений склад лізатів пекарських, пивних та спиртових дріжджів, одержаних під дією ультразвукових хвиль, етанолу та толуолу.

Зроблено порівняння ультразвукового способу одержання лізату з хімічними способами в присутності толуолу та етанолу за цитологічними особливостями клітин дріжджів, швидкістю та глибиною лізису. Показано доцільність та переваги використання ультразвукового лізату перед толуольним та етанольним. Досліджено стимулюючу дію ультразвукового лізату на швидкість бродіння мелясного сусла, нагромадження спирту та біомаси дріжджів. Здійснено промислову апробацію розробленої технології дріжджового лізату, визначено економічний ефект від впровадження.

Ключові слова: дріжджі, лізис, ультразвук, спирт, біомаса.

АННОТАЦИЯ

Косив Р.Б. Разработка технологии дрожжевых лизатов в поле ультразвуковых волн для интенсификации биотехнологических процессов. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.07 – технология продуктов брожения. – Национальный университет пищевых технологий Министерства образования и науки Украины, Киев, 2002.

Диссертация посвящена разработке научно-теоретических основ ультразвуковой обработки дрожжей для получения лизатов и использования последних для интенсификации биотехнологических процессов бродильных производств.

Исследованы морфологические изменения дрожжевых клеток в поле ультразвуковых колебаний: нарушения комплекса “клеточная стенка – мембрана, разрыв клеточной стенки и стенок внутриклеточных органел, вымывание клеточного метериала в водную среду. Изучено влияние условий ультразвуковой обработки (частоты колебаний, интенсивности ультразвука, дозы озвучения, температурного режима, концентрации биомассы дрожжей в водной суспензии, объема среды) на скорость и степень лизиса дрожжевых клеток. За экспериментальными результатами создано математическую модель получения дрожжевого лизата, на основании которой проведено оптимизацию и предложено следующие условия данного процесса: частота колебаний 22 кГц, интенсивность ультразвука 4 Вт/см³, концентрация биомассы 50 % мас., продолжительность 2 мин, температура 60 °С.

Представлено сравнительную характеристику процессов лизиса дрожжевых клеток при участии различных плазмолизирующих агентов (ультразвука, толуола, этанола) и перечислены преимущества и недостатки каждого из них. Предложено

два способа получения дрожжевого лизата при использовании ультразвука: 1) путем ультразвуковой обработки, который позволяет уменьшить продолжительность процесса в 180 раз, однако характеризуется в три раза меньшей глубиной протеолиза, чем использование плазмолизаторов химической природы; 2) озвучение дрожжевой суспензии и термостатирование при 50 °С на протяжении 24 часов, что способствует увеличению скорости протеолиза за счет экстракции внутриклеточного материала в водную среду во время ультразвуковой обработки и углублению процесса на 27-29 % в сравнении со способами, инициированными толуолом и этанолом. Исследован биохимический состав дрожжевых лизатов, полученных при действии ультразвука, толуола и этанола, а также ультразвуковых лизатов, полученных из пекарских, пивных и спиртовых дрожжей.

Показано, что при использовании лизатов как добавки к меласному суслу увеличивается скорость брожения, возрастает накопление биомассы дрожжей и выход спирта. При этом качественный состав вторичных продуктов брожения в бражных дистиллятах практически не отличался, содержание изоамилового спирта возрастало незначительно.

Показана целесообразность применения ультразвукового лизата, что имеет больший эффект интенсификации биотехнологических процессов в сравнении с лизатами химической природы. При этом значение полученного эффекта зависит от количества внесенного лизата.

Найдено оптимальное значение количества ультразвукового лизата, что составляет 1 % от объема меласного суслу, использование которого позволяет: увеличить скорость брожения на 8,8 %, уменьшить количество несброженных сахаров на 30 %, увеличить выход спирта на 0,98 % и хлебопекарских дрожжей на 24,1 % относительно контроля.

Предложена аппаратурно-технологическая схема получения дрожжевого лизата в поле ультразвуковых волн.

Рассчитанный экономический эффект от использования ультразвукового лизата, полученного по предложенной технологии, на меласном спиртовом заводе производительностью 2000 дал/сутки составил 701 тыс. грн/год.

Ключевые слова: дрожжи, лизис, ультразвук, спирт, биомасса.

ANNOTATION

Kosiv R.B. The elaboration of technology of yeast lysates in the field of ultrasonic waves for the intensification of biotechnological processes. – Manuscript.

The thesis for Ph. D. Award (technical sciences) on speciality 05.18.07. – Technology of fermentation products. – Ukrainian State University of Food Technologies of the Ministry of Education and Science, Kiev, 2002.

This dissertation is devoted to the elaboration of scientific-theoretical basis of ultrasonic treatment of yeast for obtaining the lysates and their use for the intensification of biotechnological processes of fermentation production. The lysis of yeast cells in the field of ultrasonic waves depending on oscillation frequency, generator power, suspension concentration and volume, duration and temperature regime of treatment has been studied. The composition of lysate obtained has been investigated. The ultrasonic method of obtaining lysate has been compared with chemical methods using toluene and ethanol by cytological peculiarities of yeast cells, rate and yield of lysis. The necessity and advantages of using ultrasonic lysate in comparison with toluenic and ethanolic ones have been shown. The stimulating action of ultrasonic lysate on the rate of wort fermentation, alcohol accumulation and yeast biomass has been under study. The industrial testing of the elaborated technology of obtaining yeast lysate has been performed.

Key words: yeast, lysis, ultrasound, alcohol, biomass.