

# **ЛЕКЦИЯ 12. ТЕХНОЛОГИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ.**

1. Классификация, номенклатура и источники получения ферментных препаратов.
2. Технология выделения ферментных препаратов из сырья растительного и животного происхождения.
3. Технология получения ферментных препаратов из культур микроорганизмов.
4. Применение ферментных препаратов в пищевой промышленности.

# Ассортимент ферментных препаратов

Промышленностью выпускается около 250 наименований ферментных препаратов. При этом порядка 99% приходится на препараты 18 ферментов. Основными из них являются:

- бактериальные и грибные протеиназы;
- бактериальные и грибные  $\alpha$ -амилазы, глюкоамилазы, декстраназы;
- глюкоизомеразы;
- молокосвертывающие ферментные препараты;
- пектолитические, целлюлолитические и гемицеллюлолитические препараты;
- дрожжевые, бактериальные и грибные  $\beta$ -галактозидазы;
- препараты  $\beta$ -фруктофуранозидазы;
- липазы и липоксигеназы.

# Классификация и номенклатура ферментных препаратов

По современной классификации ферменты подразделяют на шесть классов: 1) оксидоредуктазы; 2) трансферазы; 3) гидролазы; 4) лиазы; 5) изомеразы; 6) лигазы (синтетазы).

Степени очистки ферментных препаратов:

2 – жидкий неочищенный концентрат исходной культуры;

3 - сухой препарат, полученный путем распылительной сушки неочищенного раствора фермента (экстракта из поверхностной культуры или культуральной жидкости);

10 – сухие препараты, полученные осаждением ферментов органическими растворителями или методом высаливания;

15, 18, 20 – препараты очищенные от балластных веществ и частично от сопутствующих ферментов.

# Растительные и животные источники ферментных препаратов

Наименование фермента	Источник получения
Лактатдегидрогеназа	Сердце КРС
Каталаза	Печень свиней и КРС
Сычужный фермент	Сычуги КРС
Щелочная фосфатаза	Кишечник КРС
Гиалуронидаза	Семенники КРС
Фумараза и трансаминаза	Сердце свиней
Панкреатин (трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза, эластаза)	Поджелудочная железа свиней
Пепсин	Желудок свиней, кур
Аминоацилаза	Почки свиней
Амилазы	Ячмень, солод
Протеазы папаин фицин бромелин	Дынное дерево Фиговое дерево Ананас
Кислая фосфатаза	Картофель
Пероксидаза	Хрен

# Способы выражения активности ферментных препаратов

Стандартная единица активности – количество фермента, которое катализирует превращение 1 микромоля данного субстрата за одну минуту при заданных условиях (при температуре 30°C, оптимальных значениях концентраций субстрата и фермента, pH среды). Обозначается буквами Е или U.

Удельная активность – это число единиц Е, отнесенное к одному миллиграмму белка в ферментном препарате.

Молекулярная активность – число молекул данного субстрата или эквивалентов прореагировавших групп, превращаемых за 1 минуту одной молекулой фермента при оптимальной концентрации субстрата.

Катал – каталитическая активность, способная осуществлять реакцию со скоростью равной 1 моль/с в заданной системе измерения активности.

Активность условного препарата. Для пересчета фактически выработанной продукции в условные тонны используют формулу:

$$Q_{\text{усл.}} = Q_{\text{тов}} * A_{\text{ф}} / A_{\text{усл.}}$$

# Технология выделения ферментных препаратов из сырья животного происхождения

1. Сбор сырья.
2. Консервирование сырья.
3. Измельчение сырья.
4. Экстракция ферментов.
5. Отделение твердой фазы от экстракта.
6. Выделение и очистка ферментов.
7. Обессоливание.
8. Стерилизация ферментных растворов.
9. Получение сухих ферментных препаратов.

# Технология получения ферментных препаратов из культур микроорганизмов

Технологический процесс получения микробных ферментных препаратов включает три этапа:

- получение посевной культуры продуцента;
- производственное культивирование продуцента глубинным или поверхностным способом при параметрах, обеспечивающих максимальный выход целевого продукта или продуктов ферментации;
- получение технических или очищенных ферментных препаратов из культур микроорганизмов или культуральной жидкости.

# Получение посевного материала

Получение посевного материала для поверхностного культивирования включает следующие этапы:

- приготовление питательной среды;
- стерилизация среды, оборудования и коммуникаций;
- охлаждение среды в кюветах или биореакторе до температуры инокуляции;
- засев среды исходным штаммом продуцента;
- выращивание культуры до определенного возраста;
- консервирование посевного материала.

Получение культур продуцентов для культивирования глубинным способом:

- активизация исходной культуры на агаризованной среде;
- выращивание культуры жидкой среде в колбах на качалке;
- культивирование продуцента в малом и, если необходимо, в большом инокуляторе.



# Производственное культивирование продуцента

Данный этап технологического процесса включает основные операции, характерные для большинства биотехнологических производств:

- приемка и подготовка сырья;
- приготовление синтетических или комбинированных питательных сред;
- стерилизация питательных сред, растворов, аппаратуры;
- установление оптимальных для синтеза целевого продукта значений температуры, рН среды, интенсивности аэрации;
- инокуляция культуры продуцента и производственная ферментация.

# Примеры производства ферментов поверхностным способом

Тип препарата	Продуцент	Состав среды	Параметры ферментации
Препараты $\alpha$ -амилазы	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus awamori</i> <i>Aspergillus</i>	Пшеничные отруби с добавлением до 25% солодовых ростков; влажность среды (40-50)%	t = (40-45) $^{\circ}$ C t = (36-48) час. pH <sub>нач.</sub> = 4,0-5,0
Пектолитические препараты	<i>Aspergillus awamori</i> <i>Aspergillus foetidus</i>	Жом свекловичный (66-70%), отруби (30-35%), добавки (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NH <sub>4</sub> Cl, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ; влажность среды (55-60)%	t = 30 $^{\circ}$ C первые 40 час., затем 24 $^{\circ}$ C t = (36-48) час. pH <sub>нач.</sub> = 4,0-5,0
Целлюлолитические препараты	<i>Trichoderma reesei</i> <i>Trichoderma lignorum</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	Пшеничные отруби (60-80%), солодовые ростки (20%), добавки свекловичного жома; лузги зерновых; соломы и др.; влажность среды (60-65)%	t = (35-40) $^{\circ}$ C t = (55-65) час. pH <sub>нач.</sub> = 4,0-4,5
Гемицеллюлазные препараты	<i>Aspergillus foetidus</i> <i>Trichoderma roseum</i>	Зерновая шелуха (45%), солодовые ростки (45%), дрожжевой автолизат (10%); влажность среды (55-60)%	t = (23-25) $^{\circ}$ C t = (50-65) час. pH <sub>нач.</sub> = 5,0-5,5
Препараты протеиназ	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Rhizopus oryzae</i>	Пшеничные отруби с добавлением до солодовых ростков, соевой муки и др.; влажность среды (62-65)%	t = (40-45) $^{\circ}$ C t = (36-48) час. pH <sub>нач.</sub> = 5,6-6,2



# Принципиальная схема очистки ферментных препаратов

## 1.6.1. Принципиальная схема получения ферментных препаратов

Схема очистки фермента от балластных веществ сводится к освобождению его от нерастворимых веществ, сопутствующих растворимых веществ и

