

На правах рукописи



КОНАНИХИНА ИРИНА АЛЕКСЕЕВНА

**Разработка интенсивной технологии солода и пива с использованием
алкилоксибензолов природного происхождения для улучшения качества
готовой продукции**

Специальность 05.18.07-«Биотехнология пищевых продуктов»
(пивобезалкогольная, спиртовая и винодельческая промышленности)

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук**

Москва-2007

Работа выполнена на кафедре «Процессы ферментации и промышленного биокатализа» ГОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств» и в лаборатории «Классификация и хранение уникальных микроорганизмов» Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН.

Научный руководитель: кандидат биологических наук, доцент
Шаненко Елена Феликсовна

Официальные оппоненты: доктор технических наук, профессор
Карпиленко Геннадий Петрович
Московский государственный
университет пищевых производств

кандидат биологических наук
Иванова Ниша Геннадьевна
ООО «Биотон-2»

Ведущая организация: ЗАО Московский пиво-безалкогольный
комбинат «Очаково»

Защита состоится «13» декабря 2007 года в 10 часов в ауд. 3-101 на заседании Диссертационного Совета Д.212.148.04 при ГОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств» по адресу: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО МГУПП.

Отзыв на автореферат в двух экземплярах, заверенный печатью учреждения, просим направлять по адресу: 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11, МГУПП, ученому секретарю Совета.

Автореферат разослан «13» ноября 2007 года.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета
д.т.н, проф

 - Крюкова Е.В.

2007A

26257

Общая характеристика работы

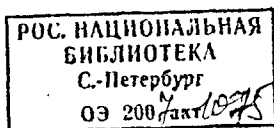
Актуальность темы. В настоящее время вопросы повышения качества и удлинения сроков хранения готовой продукции в пищевой промышленности стоят особенно остро в связи с конкурентной борьбой отечественных и зарубежных компаний на российском потребительском рынке. В первую очередь это относится к производителям таких напитков как пиво, представляющих собой сложные, многокомпонентные коллоидные системы. Нестабильность пива обусловлена как окислительными процессами, изменяющими при хранении биохимический состав готового продукта, так и деятельностью микроорганизмов. Поэтому практически вся продукция, выпускаемая отечественными и зарубежными производителями, содержит в своем составе различные стабилизаторы, консерванты и антиоксиданты. Часто для подавления деятельности микроорганизмов напитки брожения подвергают пастеризации, которая отрицательно влияет на вкусовые качества продукта.

В последние годы в связи с ростом внимания к безопасности пищевых продуктов и их биологической ценности стала появляться тенденция к выводу из производства синтетических стабилизаторов и антиоксидантов и замена их на природные аналоги. Поэтому поиск природных регуляторов биотехнологических процессов и антиоксидантов является актуальной и своевременной задачей.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлась разработка способов интенсификации технологических процессов солодоращения и сбраживания пивного сусла и улучшение качества пива за счет применения биологически активных регуляторов и антиоксидантов природного происхождения и снижения загрязнения зернового сырья микроорганизмами.

Для реализации цели исследования были поставлены следующие задачи:

- выбрать биологически активные регуляторы и антиоксиданты природного происхождения;
- изучить факторы, влияющие на биологическую активность выбранных природных регуляторов;



- исследовать влияние выбранных регуляторов на качественные характеристики готового солода;
- изучить действие выбранных регуляторов на микрофлору зернового сырья и микроорганизмы пива;
- разработать приемы применения регуляторов для интенсификации процессов сбраживания пивного сусла.

Научная новизна исследований. Впервые проведена количественная оценка природных регуляторов развития микроорганизмов и растений – алкилоксибензолов (АОБ) в экстрактах из растительного сырья. Установлено, что максимальным содержанием АОБ характеризуются экстракты *Poligonum aviculare*, *Hibiscus sabdarifa* и *Millefolii herba*.

Впервые изучено действие высокомолекулярного гомолога С₁₂-АОБ на эпифитную и субэпидермальную микрофлору пивоваренного ячменя. Выявлена корреляция между структурой АОБ и их действием на микрофлору ячменя. Установлены концентрации АОБ, полностью подавляющие рост субэпидермальной микрофлоры при солодоращении.

Изучено взаимодействие различных гомологов АОБ с ферментами солода и дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*. Выявлено различие в действии гомологов АОБ на ферменты амилолитического комплекса пивоваренного ячменя.

Установлено, что высокомолекулярные гомологи АОБ оказывают ингибирующее действие, а низкомолекулярные – активирующее как на ферменты, так и на дрожжи. Впервые научно обосновано и экспериментально доказано наличие адаптогенного и стресспотенцирующего действия различных гомологов АОБ по отношению к дрожжам *Saccharomyces cerevisiae* в условиях окислительного, температурного и осмотического стрессов.

Практическая значимость работы. Разработана интенсивная технология получения солода и пива с использованием АОБ содержащих препаратов, которая позволяет:

- сократить длительность солодоращения на 2 суток;

- повысить активность ферментативного комплекса солода: α -амилазы в 2,5 раза; β -амилазы в 1,7 раза;
- полностью подавить субэпидермальную микрофлору ячменя и солода;
- сохранить технологические свойства и повысить устойчивость дрожжей *S. cerevisiae* в течение 8-9 генераций;
- интенсифицировать процесс брожения в технологии пивоварения в 1,5-2,0 раза;
- улучшить качество готового пива при различных способах его производства, за счет улучшения физиологического состояния дрожжей и снижения температуры и продолжительности пастеризации при получении пастеризованного пива;
- экономический эффект от внедрения разработанного способа составил от 2 до 3 млн руб. на 1 млн дал пива в год в зависимости от используемого препарата.

Апробация работы. Материалы диссертации представлялись на российских научно-практических конференциях: «Живые системы и биологическая безопасность населения» (Москва, 2006г), «Высокоэффективные пищевые технологии, методы и средства для их реализации» (Москва, 2006 г).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 работ, в которых отражены основные положения диссертации. Также подготовлена и подана заявка на изобретение (заявка № 2006146075, приоритет от 26.12.2006 года).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, выводов, списка использованной литературы и приложений. Основное содержание работы изложено на 136 страницах машинописного текста, содержит 46 рисунков и 10 таблиц. Библиография включает 177 наименований.

1. Обзор литературы

В обзоре литературы проанализированы основные факторы, влияющие на процесс солодоращения и качество солода; представлены данные по использованию фиторегуляторов в технологии солода; описано действие фенольных соединений и АОБ на ростовые процессы зерна; обобщены данные по стрессовым воздействиям на микроорганизмы, применяемые в бродильных производствах, и основным механизмам адаптации. Анализ литературы послужил основой для формулирования задач и планирования экспериментальных исследований, схема которых представлена на рис.1



Рис.1 Общая схема проведения исследований

2. Экспериментальная часть

2.1 Объекты, материалы и методы исследований

Объектом исследования были ячмень сорта «Михайловский» урожая 2005 года, пивоваренные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, штамм RH. Препараты АОБ С₇- и С₁₂ -предоставлены Институтом микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН.

Оптическую плотность (D) клеточной суспензии измеряли нефелометрически на спектрофотометре “Specord M-400, Jena” (ФРГ) ($\lambda = 650$ нм, $l = 10$ мм). Жизнеспособность клеток определяли по количеству колониеобразующих единиц (КОЕ) при высеве клеточных суспензий из ряда разведений на агаризованную среду сусло-агар. Морфологические свойства и

физиологические показатели состояния дрожжей определяли общепринятыми в микробиологии методами. Микроскопические наблюдения проводили в микроскопе “Amplival” (Германия) с фазово-контрастным устройством.

Количество обсеменяющих поверхность зерна микроорганизмов определяли в их смывах по численности КОЕ. Количество субэпидермальных микроорганизмов ячменя определяли методом прямого посева на агаризованную среду Чапека [Егоров, 1983].

Активность α - амилазы определяли колориметрическим методом по гидролизу крахмала [Полыгалина Г.В., с соавт., 2003], активность β - амилазы определяли по количеству образующихся при гидролизе крахмала редуцирующих веществ [Полыгалина Г.В., с соавт., 2003].

Концентрацию АОБ в растительных экстрактах определяли с помощью колориметрической реакции с диазониевым производным 3,3'-диметоксибензидина (реактивом Fast Blue B Salt diazotized — FBB, (Sigma)) [Tuscik et al., 1981], содержание фенольных соединений определяли методом Фолина-Дениса [Лященко Н.И., с соавт., 1980].

Органолептические и физико-химические показатели сула и зрелого пива определяли в соответствии с «Инструкцией по теххимическому контролю пивоваренного производства» (ИК 10-05031536-127-91).

В диссертации представлены средние арифметические данные из трех повторностей. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с применением стандартного пакета программ.

2.2 Результаты работы и их обсуждение

2.2.1 Выбор источника АОБ

Алкилоксибензолы (АОБ) широко распространены в природе. Они обнаружены в растениях, грибах и бактериях. Основными биологическими функциями АОБ являются адаптагенная и ауторегуляторная. Выявлена роль АОБ как адаптогенов протекторного типа, защищающих клетки пролиферирующих культур бактерий и дрожжей от стрессовых воздействий

разной природы – теплового шока, γ -облучения и фотоокисления. В растениях АОБ наряду с фитогормонами выполняют регуляторные функции. Количество АОБ в растениях достаточно велико, что делает их привлекательными источниками для получения этих регуляторов. Проведенный нами анализ растительных экстрактов показал, что существует определенная корреляция между общим содержанием фенольных соединений (ФС) и содержанием алкилоксибензолов (АОБ) (табл.1).

Таблица 1 - Содержание фенольных соединений (ФС) и алкилоксибензолов (АОБ) в растительных экстрактах

Источник экстрактов	Содержание ФС, мг/г СВ	Содержание АОБ, мг/ г СВ	Содержание АОБ, % к общему содержанию ФС
1.Millefolii herba	20	1,20	6,00
2.Origanum vulgare	40	1,70	4,25
3.Farfarae folia	16	0,86	5,38
4.Hypericum perforatum	63	2,90	4,60
5.Frangula alnus	44	1,80	4,09
6.Arctostaphylos uva	10	0,29	2,90
7. Polygonum aviculare	40	3,16	7,90
8. Hibiscus sabdarifa	12	0,80	6,67

Максимальное количество АОБ обнаружено в экстракте растения *Polygonum aviculare*, высокими концентрациями также характеризуются экстракты *Hibiscus sabdarifa*, *Millefolii herba*. Экстракты этих растений выпускаются в промышленном масштабе и могут быть использованы в качестве источника АОБ.

2.2.2. Влияние АОБ на ферментативный комплекс и прорастаемость пивоваренного ячменя

Эксперименты по действию АОБ на активность ферментов пивоваренного ячменя изучали как в опытах *in vitro* на модельных системах, так и *in vivo* на прорастаемом ячмене. В модельных опытах ферменты α - и β -амилазу модифицировали молекулами двух гомологов АОБ C_7 и C_{12} , которые

различались длиной алкильного радикала, гидрофобностью и характером взаимодействия с ферментными белками (рис. 1)*.

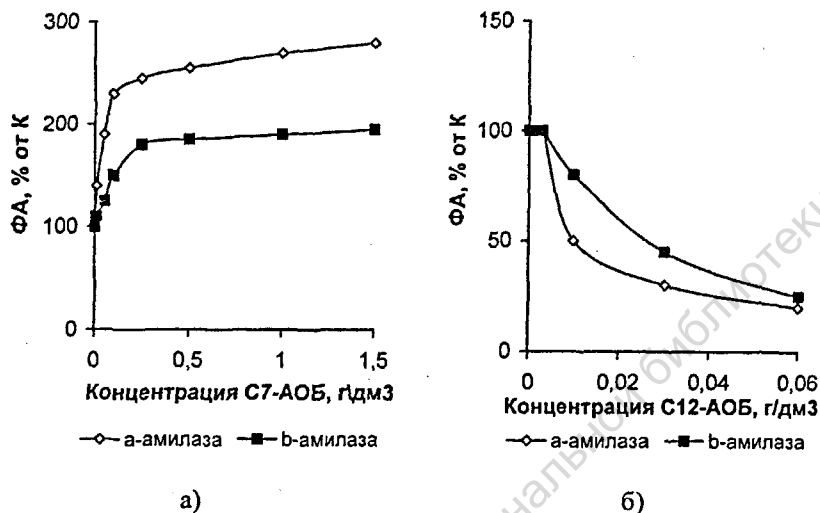


Рисунок 1 - Концентрационная зависимость действия C₇- (а) и C₁₂-АОБ (б) на активность β- и α-амилазы

C₇-АОБ (рис.1) во всем диапазоне исследуемых концентраций активировал β-амилазу, в то время как C₁₂-АОБ в дозах выше 0,002 г/дм³ вызывал снижение активности фермента (рис.1). Изучение влияния гомологов АОБ на активность α-амилазы (рис. 1) показало, что C₇-АОБ вызывал увеличение активности фермента в диапазоне концентраций 0,01 - 0,10 г/дм³. Дальнейшее увеличение концентрации АОБ не давало значительного эффекта. C₁₂-АОБ, также как и в опытах с β-амилазой, оказывал ингибирующее действие.

* Работа проводилась совместно с сотрудниками лаборатории «Классификация и хранение уникальных микроорганизмов» Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН д.т.н., проф. Г.И. Эль-Регистан, к.б.н. Ю.А. Николаевым и к.б.н А.Н. Козловой, за что автор выражает им большую благодарность.

Известным эффектом действия АОБ на ферментные белки является повышение их функциональной стабильности. Этот эффект оценивали по расширению проявления каталитической активности β -амилазы в неоптимальных условиях температуры и рН (рис.2).

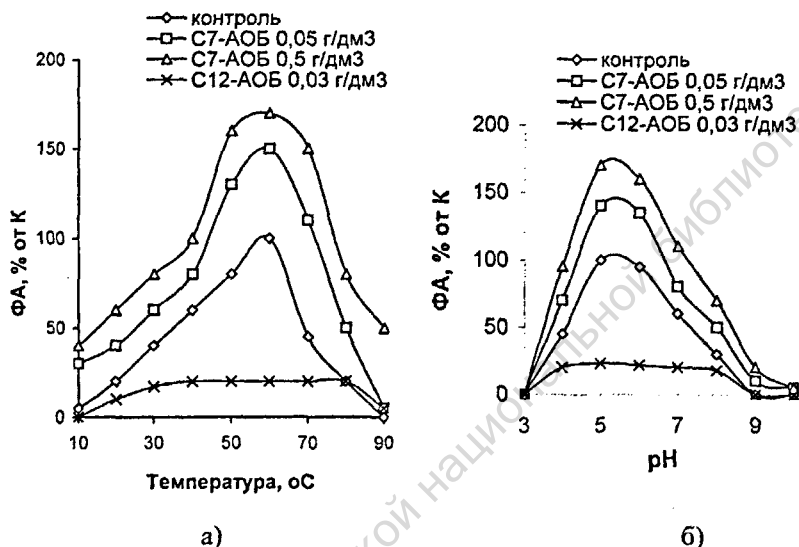


Рисунок 2 - Влияние С₇-АОБ и С₁₂-АОБ на температурный (а) и рН диапазоны (б) катализа β -амилазы

Обработка β -амилазы С₇-АОБ не повлияла на температурный и рН оптимум действия фермента, но обусловила значительное расширение диапазона проявления его активности на уровне или выше контроля. С₁₂-АОБ оказывал противоположное действие: во всем температурном и рН диапазонах катализа он подавлял активность β -амилазы (рис.2).

Изучение действия С₇-АОБ на α -амилазу (рис.3) выявило расширение диапазона рН. Особенно следует отметить повышение активности фермента в области слабокислых значений рН. Активность α -амилазы при рН 5,0 в опытных вариантах была на уровне активности при рН оптимуме в контроле.

Таким образом, взаимодействие АОБ с ферментными белками приводит к повышению функциональной стабильности ферментов и изменению их каталитической активности (стимуляция-ингибирование), степень изменения активности зависят от структуры АОБ и их концентраций.

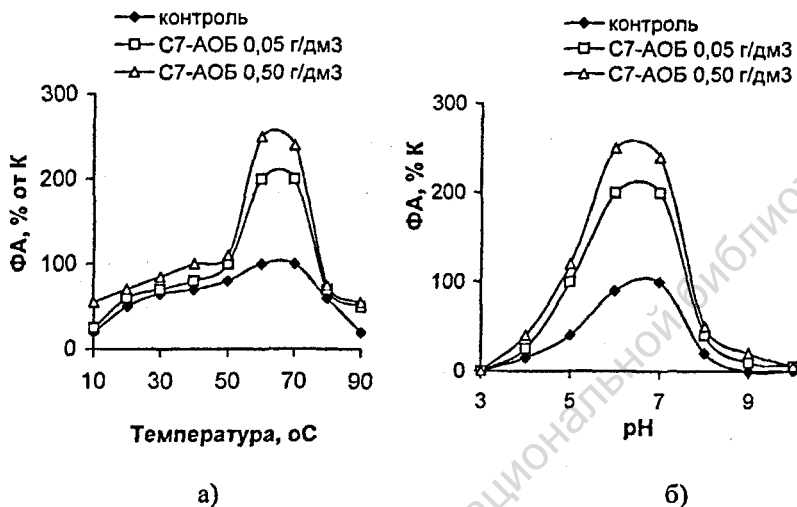


Рисунок 3 - Влияние S_7 -АОБ на температурный (а) и pH оптимум (б) α -амилазы

Сохранение pH оптимумов модифицированных АОБ ферментов свидетельствуют о том, что структурная модификация не затрагивает активного центра. Это делает возможным применение гомологов АОБ (или их композиций) с необходимым действием для целенаправленной регуляции ферментативных реакций и метаболических процессов.

2.2.3. Действие АОБ на процесс прорастания и формирование ферментативного комплекса пивоваренного ячменя

Известно, что качество напитков брожения определяется качеством сырья, в том числе солода. Одной из основных задач в производстве пива является получение солода с высокой ферментативной активностью. Исходя из полученных результатов, для увеличения активности ферментов пивоваренного ячменя при его прорастании был использован S_7 -АОБ. Обработку ячменя

проводили во время замачивания, добавляя раствор АОБ в первую и последнюю замочную воду. Так как рост вегетативных органов коррелирует с формированием ферментного комплекса, параллельно с определением активности ферментов в прорастающем зерне было исследовано влияние С₇-АОБ на рост и развитие корневого и листового проростков (табл.2).

Таблица 2 - Влияние концентрации и стадии внесения С₇-АОБ на рост и развитие вегетативных органов ячменя при проращивании

Расход С ₇ -АОБ, г/дм ³ воды для замачивания	Количество зерен после 5-ти суток рашения, %					
	Первая замочная вода			Последняя замочная вода		
	проросших	с длиной корешка 1,5 длины зерна	с листовыми проростками	проросших	с длиной корешка 1,5 длины зерна	с листовыми проростками
0	90	80	20	90	80	20
0,01	93	85	5	95	89	7
0,03	99	94	1	100	98	1
0,10	95	85	2	92	86	2
0,25	94	80	4	92	83	4
0,50	92	70	4	90	72	5
1,00	90	65	5	85	70	5

Из табл. 2 следует, что С₇-АОБ в пределах концентраций 0,01-0,25 г/дм³ стимулирует прорастание ячменя, а в более высоких концентрациях подавляет рост вегетативных органов. Наиболее эффективной была концентрация С₇-АОБ 0,03 г/дм³. Однако ускорение прорастания не всегда положительно сказывается на технологических характеристиках готового солода, так как скорость гидролитических процессов отстает от скорости роста вегетативных органов. Определение основных показателей качества готового солода, получаемого при внесении С₇-АОБ в первую и последнюю замочную воду, показало (табл. 3), что обработка ячменя АОБ в концентрации 0,03 г/дм³ способствовала заметному

увеличению экстрактивности, снижению длительности осахаривания и лучшему растворению эндосперма по сравнению с контролем.

Таблица 3 - Влияние концентрации и стадии внесения С₇-АОБ на качественные характеристики солода

Расход С ₇ -АОБ, г/дм ³ воды для замачивания	Первая замочная вода				Последняя замочная вода			
	Растворение эндосперма, проба на погружаемость %	Экстрактивность, %	Продолжительность осахаривания, мин	Цвет, ц.ед	Растворение эндосперма, проба на погружаемость %	Экстрактивность, %	Продолжительность осахаривания, мин	Цвет, ц.ед
0	9	72	20	0,20	9	72	20	0,20
0,01	6	76	15	0,20	5	73	18	0,20
0,03	6	78	10	0,20	2	79	10	0,20
0,10	7	75	10	0,20	8	75	10	0,20
0,25	9	70	10	0,22	9	70	17	0,22
0,50	10	65	15	0,22	9	63	18	0,22
1,00	10	60	17	0,22	10	59	20	0,22

Таким образом, применение С₇-АОБ позволило сократить процесс получения солода на двое суток при улучшении основных показателей качества готового продукта.

2.2.3.1. Влияние АОБ на микрофлору пивоваренного ячменя.

Наряду с физико-химическими характеристиками качества ячменя и солода, решающее влияние на качество и свойства продукта оказывают его микробиологические показатели. Основной причиной порчи ячменя и солода является развитие контаминирующей микрофлоры. Известно, что АОБ в определенных концентрациях обладают микростатическим и микробоцидным действием в отношении широкого круга микроорганизмов. При испытании АОБ в качестве деконтаминантов в производстве пивоваренного солода обработку ячменя проводили во время замачивания, добавляя растворы АОБ в первую и

последнюю замочную воду и определяя количественный состав сохранившейся эпифитной и субэпидермальной микрофлоры (рис. 4).

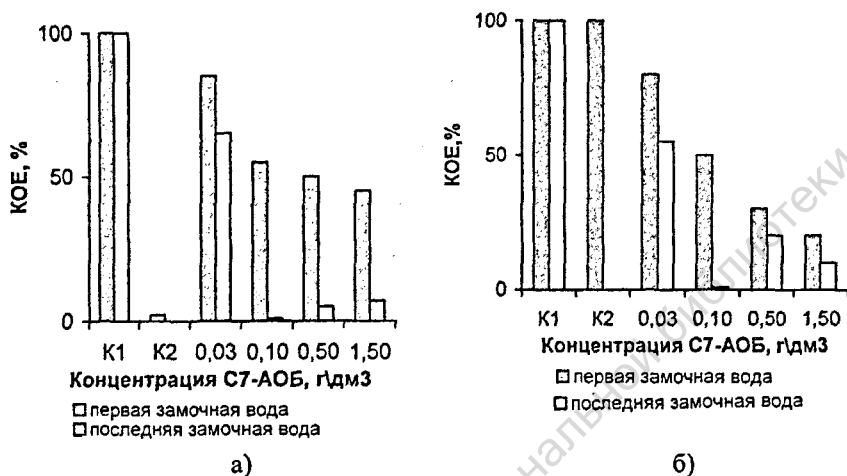


Рисунок 4 - Влияние S₇-АОБ на эпифитную (а) и субэпидермальную (б) микрофлору проращиваемого ячменя. К₁- контроль, К₂ - контроль при обработке KMnO₄-0,5%

Обработка S₇-АОБ во всем диапазоне концентраций оказывала деконтаминирующее действие на эпифитную и субэпидермальную микрофлору ячменя, оптимальной была концентрация 0,10 г/дм³ при внесении в последнюю замочную воду.

Известно, что избыточная стимуляция прорастания нежелательна при получении светлого солода из ячменя с высокой способностью прорастания, так как это может привести к перерастворению эндосперма и повышению цветности готового солода. Однако и в этом случае деконтаминация ячменя имеет большое значение. Поэтому следующую серию исследований проводили с S₁₂-АОБ в диапазоне концентраций (0,001-0,030 г/дм³), не оказывающих влияния на активность ферментов зерна (рис.5).

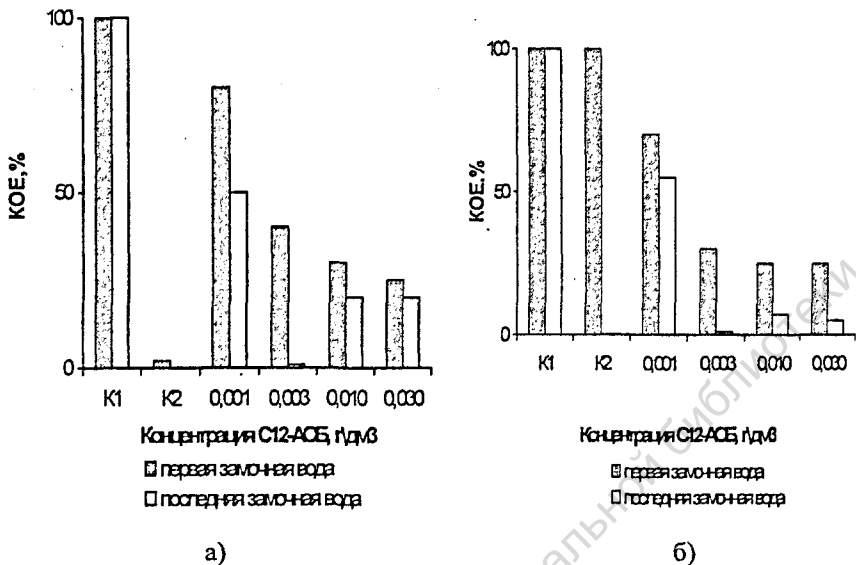


Рисунок 5 - Влияние S_{12} -АОБ на эпифитную (а) и субэпидермальную (б) микрофлору проращиваемого ячменя. К₁- контроль, К₂ - контроль при обработке $KMnO_4$ -0,5%

Обработка ячменя путем внесения S_{12} -АОБ в последнюю замочную воду привела к существенному снижению количества как эпифитной, так и субэпидермальной микрофлоры. Концентрация S_{12} -АОБ 0,003 г/дм³ приводила к полному подавлению микрофлоры. Более высокие концентрации АОБ подавляли развитие эпифитной микрофлоры на 70% и субэпидермальной на 85%. Сравнение АОБ с традиционным дезинфектантом $KMnO_4$ (0,5%) показало, что $KMnO_4$ подавляет только эпифитную микрофлору, в то время как оба гомолога АОБ подавляют как эпифитную, так и субэпидермальную микрофлору.

Испытания, проведенные на ОАО «Русский солод» показали, что обработка ячменя, разработанным нами препаратом «Сидовит» (на основе АОБ), позволила повысить проращаемость ячменя, экстрактивность и ферментативную активность солода.

2.2.4. Действие АОБ на пивоваренные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*

Сбраживание сусле - важнейший этап формирования качества пива. В ходе технологических процессов дрожжи часто находятся в неоптимальных для роста и брожения условиях (температуры и рН, осмотическое давление), вызывающих в клетках стресс, в результате чего дрожжи теряют свои технологические свойства (бродильную активность, способность к флокуляции). Учитывая регуляторные функции АОБ, было изучено их влияние на устойчивость пивоваренных дрожжей к стрессовым воздействиям.

В предварительных экспериментах были подобраны дозы стрессоров: температурное воздействие - 45⁰С, 30 минут; окисление пероксидом водорода (H₂O₂) - 100мМ, вызывающие гибель значительной части клеток культуры, но не всей популяции. Эти данные были необходимы для оценки протекторных свойств АОБ. Изучая действие соединений с адаптогенными функциями, в данном случае С₇-, С₁₂-АОБ, необходимо учитывать их возможное влияние на рост опытных культур. Результаты нашего тестирования показали, что С₇-АОБ в диапазоне концентраций 0,1 – 1,0 г/дм³ не оказывает влияние на рост и развитие культуры дрожжей, а гомолог С₁₂-АОБ в низких концентрациях (0,001-0,010 г/дм³) незначительно замедляет рост дрожжей, тогда как более высокие концентрации (0,001 – 0,060 г/ дм³) полностью подавляют рост культуры.

Учитывая полученные результаты, протекторное действие АОБ изучали, внося их в культуру дрожжей за 2 часа до стрессорного воздействия в указанных концентрациях (рис.6,7). Определение численности жизнеспособных клеток (КОЕ) показало, что во всех концентрациях С₇-АОБ защищал клетки дрожжей стресса, тогда как С₁₂-АОБ имел противоположное действие – его внесение перед термообработкой и окислительным стрессом увеличивало количество нежизнеспособных клеток.

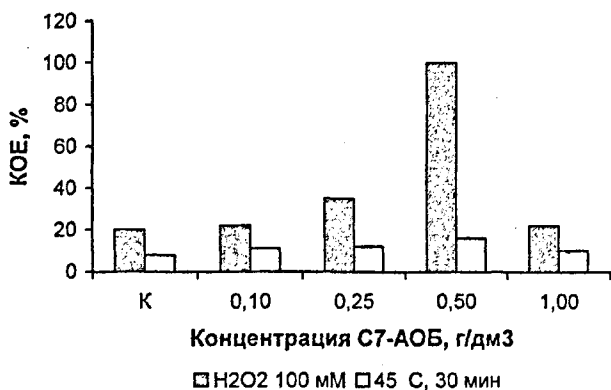


Рисунок 6 - Влияние С₇-АОБ на устойчивость дрожжей *S. cerevisiae* к воздействию H₂O₂ (100 мМ) и температуры 45⁰С, 30 минут

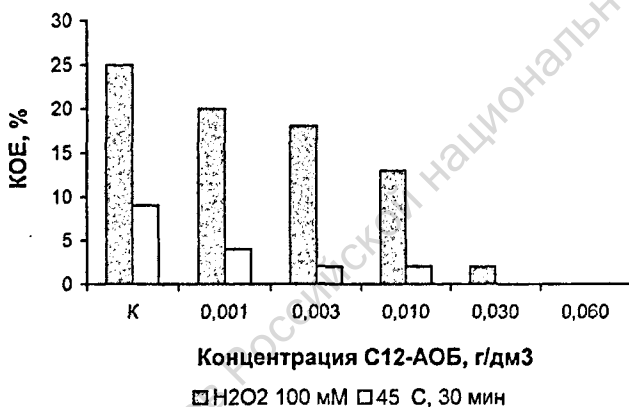


Рисунок 7 - Влияние С₁₂-АОБ на устойчивость дрожжей *S. cerevisiae* к воздействию H₂O₂ (100 мМ) и температуры 45⁰С, 30 минут

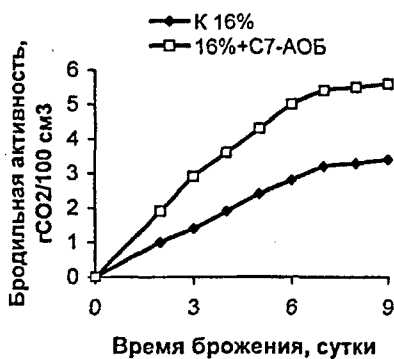
Полученные результаты объясняются тем, что адаптогенное действие АОБ включает его функционирование в качестве как модификаторов и стабилизаторов структуры ферментов (химических шаперонов), так и антиоксидантов. Перехват активных форм кислорода, возникающих в стрессовых ситуациях приводит к возникновению окисленных форм АОБ, которые обладают более выраженной способностью модифицировать ферменты по сравнению с неокисленной

формой, сохраняя при этом направление изменения их активности: С₇-АОБ – стимулирующее, С₁₂-АОБ – ингибирующее. Таким образом, на первых этапах стресса АОБ выступают как модификаторы и антиоксиданты, а в дальнейшем их нативные и окисленные формы – в качестве модификаторов структуры ферментов, обуславливая стресспротекторное действие С₇-АОБ и стресспотенцирующее С₁₂-АОБ. Полученные данные были использованы для решения отдельных биотехнологических задач.

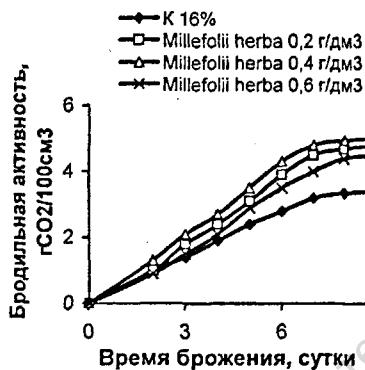
2.2.4.1 Применение АОБ в качестве адаптогенов в пивоварении

В связи с широким распространением плотного пивоварения была изучена возможность защиты дрожжей от осмотического стресса, которому они подвергаются при сбраживании сусла с высоким содержанием сухих веществ. В результате происходит торможение метаболических процессов клетки, что отрицательно сказывается на качестве готового продукта. В опытах изучали адаптогенное действие АОБ на дрожжи при сбраживании 16%-го сусла. В качестве протекторов были использованы С₇-АОБ и растительный экстракт *Millefolii herba*, содержащий эти соединения и показавший наилучшие результаты в опытах по интенсификации процесса брожения. Из представленных данных по влиянию С₇-АОБ и экстракта *Millefolii herba* на бродильную активность дрожжей в 16%-ом сусле (рис. 8) видно, что внесение данных препаратов привело к увеличению бродильной активности в 1,6 и 1,5 раза соответственно.

Таким образом, полученные результаты показали, что С₇-АОБ и экстракт *Millefolii herba* могут быть рекомендованы для повышения эффективности плотного пивоварения.



а)



б)

Рисунок 8 - Влияние С₇-АОБ (а) и экстракта Millefolii herba (б) на бродильную активность дрожжей в 16%-ом сусле

2.2.4.2 Разработка способа стабилизации свойств дрожжей в технологических процессах

На пивоваренных заводах используют дрожжи 6-7 генераций, при дальнейшем использовании ухудшаются технологические свойства дрожжей и снижается качество пива. Основываясь на адаптогенном действии С₇-АОБ, было изучено его влияние на стабильность технологических свойств дрожжей в последовательности девяти генераций при сбраживании 11% сусла (табл. 5). В каждой генерации после цикла брожения определяли бродильную активность и жизнеспособность дрожжей.

Из табл. 5 следует, что во всех опытных вариантах (концентрации АОБ 0,10-1,00 г/дм³) бродильная активность и количество жизнеспособных клеток дрожжей в конце цикла брожения были выше, чем в контроле. Число жизнеспособных клеток в восьмой генерации опыта было таким же, как и в шестой генерации контроля, а бродильная активность в девятой генерации опыта была равна шестой генерации контроля.

Таблица 5 - Влияние С₇-АОБ на бродильную активность и количество жизнеспособных клеток дрожжей

генерации АОБ, г/дм ³	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Бродильная активность, г СО₂/100 см³									
контроль	3,0	3,2	3,4	3,4	3,2	2,2	2,0	0,9	0,6
0,10	3,2	3,4	3,6	3,6	3,4	3,2	2,8	2,1	2,0
0,25	3,3	3,5	3,8	3,8	3,8	3,6	3,0	2,6	2,2
0,50	3,2	3,3	3,6	3,6	3,6	3,4	3,0	2,2	2,0
1,00	3,0	3,2	3,4	3,4	3,2	3,2	3,0	2,6	1,8
Жизнеспособность дрожжей, % живых клеток в конце цикла брожения									
контроль	81	83	90	94	75	45	20	10	5
0,10	82	90	95	97	92	80	65	40	30
0,25	83	87	94	94	87	70	65	45	37
0,50	82	87	90	90	77	43	40	33	20
1,00	81	85	93	90	70	40	35	30	17

Следующим направлением применения АОБ было их использование для повышения количества жизнеспособных клеток дрожжей в процессе сушки. Одним из факторов, обуславливающих результативность сушки, является устойчивость дрожжей к повреждениям, вызываемым дегидратацией клеток. О влиянии С₇-АОБ на устойчивость дрожжей к дегидратации судили при их высушивании на сушильной установке с ИК энергоподводом ООО «Стар» до влажности 7% при температуре, не превышающей 45° С. Количество жизнеспособных сухих дрожжей определяли после их регидратации в водопроводной стерильной воде без восстановительных процедур (рис.9). Предобработка дрожжей стрессопротектором С₇-АОБ повысила численность выживших после ИК-сушки клеток на порядок по отношению к контрольному образцу.

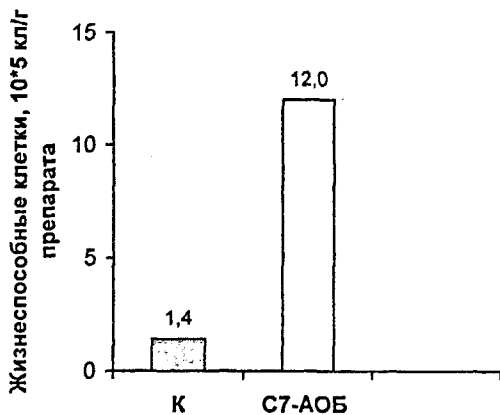
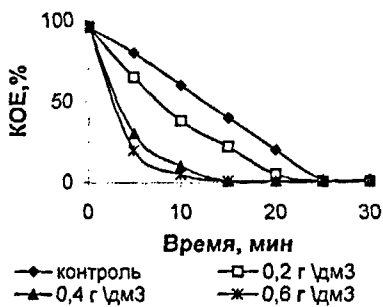


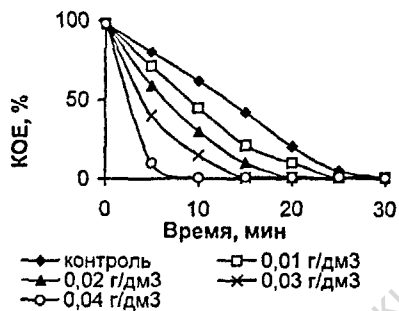
Рисунок 9 - Влияние С7-АОБ ($0,50 \text{ г/дм}^3$) на жизнеспособность дрожжей после сушки (КОЕ)

Таким образом, использование АОБ в виде индивидуальных веществ или в составе растительных экстрактов позволяет повысить стабильность технологических свойств дрожжей в генерациях, а также качество препаратов сухих дрожжей.

Для С₁₂-АОБ и экстракта *Poligonum aviculare* было обнаружено ингибирующее действие на дрожжи в процессе сбраживания 11% сула. Кроме того, для С₁₂-АОБ было установлено стресспотенцирующее действие на дрожжи при тепловом шоке и внесении пероксида водорода. Поэтому была изучена возможность использования С₁₂-АОБ и экстракта *Poligonum aviculare* для снижения термической нагрузки на пиво при пастеризации. Внесение в готовое пиво С₁₂-АОБ в концентрациях $0,01-0,04 \text{ г/дм}^3$ за 30 минут до его пастеризации потенцировало гибель дрожжей (рис.10б). Скорость отмирания микроорганизмов при пастеризации пива с использованием С₁₂-АОБ увеличивалась на 5-20 пастеризационных единиц (ПЕ).



а)



б)

Рисунок 10 - Влияние экстракта *Polygonum aviculare* (а) и С₁₂-АОБ (б) на жизнеспособность дрожжей при пастеризации пива (60°C)

Экстракт *Polygonum aviculare* при пастеризации пива также обеспечивал существенное снижение количества жизнеспособных клеток дрожжей (рис. 10а). Скорость отмирания микроорганизмов при пастеризации пива с использованием экстракта *Polygonum aviculare* увеличивалась на 10-15 пастеризационных единиц (ПЕ).

Таким образом, показана целесообразность применения препарата С₁₂-АОБ или растительного экстракта *Polygonum aviculare*, содержащего АОБ, при пастеризации пива с целью сокращения термической нагрузки и улучшения органолептических свойств готового продукта.

ВЫВОДЫ

1. Установлено наличие алкилоксибензолов (АОБ) в экстрактах из растительного сырья и показана взаимосвязь между содержанием фенольных соединений (ФС) и алкилоксибензолов (АОБ).
2. Изучено взаимодействие гомологов С₇-, С₁₂-АОБ с β- и α-амилазами пивоваренного ячменя. Установлена концентрационная зависимость их белок-модифицирующего действия. Определены концентрационные диапазоны, в которых С₇-АОБ активирует β- и α-амилазу на 150-170 и 200-250% соответственно, а С₁₂-АОБ обладает ингибирующим действием.
3. Разработана технология получения солода с применением С₇-АОБ, которая

позволяет интенсифицировать солодоращение и сократить длительность процесса на 36-48 часов. Обработка ячменя С₇, С₁₂-АОБ на стадии замачивания позволяет полностью подавить субэпидермальную микрофлору.

4. Установлено, что С₇-АОБ обладает адаптогенным действием по отношению к дрожжам *Saccharomyces cerevisiae* в условиях осмотического, температурного и окислительного стрессов, а С₁₂-АОБ, наоборот обладает стресспотенцирующим действием.
5. Разработан способ интенсификации сбраживания плотного суела с применением С₇-АОБ и экстракта *Millefolii herba*, который позволяет повысить бродильную активность дрожжей в 1,5-2,0 раза.
6. Изучено адаптогенное действие С₇-АОБ в технологии сухих дрожжей. Установлено, что обработка дрожжей С₇-АОБ позволяет увеличить количество жизнеспособных клеток дрожжей после сушки в 10 раз.
7. Показано, что обработка дрожжей С₇-АОБ позволяет улучшить и сохранить их технологические показатели в течение 9 генераций.
8. Установлено, что использование С₁₂-АОБ и экстракта *Poligonum aviculare* позволяет снизить термическую нагрузку при пастеризации пива на 5-20 ПЕ.
9. Экономический эффект от использования интенсивной технологии сбраживания плотного суела при производстве пива составляет от 2 до 3 млн руб. на 1 млн дал пива в год в зависимости от используемого препарата.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации

1. Конаныхина И.А., Шаненко Е.Ф., Эль-Регистан Г.И. Микробные АОБ в антистрессовой защите микроорганизмов, используемых в биотехнологии// 5-я Международная научная конференция молодых ученых «Живые системы и биологическая безопасность населения», Москва, 2006 год. – С.171-172
2. Конаныхина И.А., Котенкова Т.А., Шаненко Е.Ф., Эль-Регистан Г.И. Разработка способа стабилизации напитков брожения// 4-я Международная конференция-выставка «Высокоэффективные пищевые технологии, методы и средства для их реализации», Москва, 2006 год – С.79-80

3. Конаныхина И.А., Шаненко Е.Ф., Николаев Ю.А., Эль-Регистан Г.И. Разработка способов защиты пивоваренных дрожжей от теплового шока// Пиво и напитки, №1, 2007 год – С.18-19
4. Конаныхина И.А., Шаненко Е.Ф., Николаев Ю.А., Эль-Регистан Г.И. Разработка способов защиты пивоваренных дрожжей от осмотического стресса// Хранение и переработка сельхозсырья, №3, 2007 год – С.40-41.
5. Конаныхина И.А., Шаненко Е.Ф., Шабурова Л.Н., Кирдяшкин В.В., Николаев Ю.А., Эль-Регистан Г.И. Стабилизация дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae*// Хранение и переработка сельхозсырья, №8, 2007 год – С. 44-45
6. Заявка на изобретение № 2006146075, приоритет от 26.12.2006 года. Способ получения засевных дрожжей./ Конаныхина И.А., Шаненко Е.Ф., Николаев Ю.А., Эль-Регистан Г.И.

Из фондов Российской национальной библиотеки

Из фондов Российской национальной библиотеки

Из фондов Российской национальной библиотеки

2007A

26857

26857

Из фондов Российской национальной библиотеки

Заказ № 346. Объем 1 п.л. Тираж 100 экз.
Отпечатано в ООО «Петрорун».
г. Москва, ул. Палиха-2а, тел. 250-92-06
www.postator.ru