

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Саратовский государственный аграрный университет  
имени Н.И. Вавилова»**

**ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ХЛЕБОПЕЧЕНИЯ И  
МУЧНЫХ КОНДИТЕРСКИХ ИЗДЕЛИЙ**

**краткий курс лекций  
для студентов 3 курса**

Направление подготовки  
**19.03.02 Продукты питания из растительного сырья**

Профиль подготовки  
**Технология хлеба, кондитерских и макаронных изделий**

Саратов 2016

УДК 664.66  
ББК 36  
С145

Рецензенты:

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник  
ФГНУ НИИСХ Юго-Востока  
О.В. Крупнова  
кандидат биологических наук, доцент  
кафедры «Микробиология, биотехнология и химия»  
ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ»  
Е.А. Горельникова

**Основы биотехнологии хлебопечения и мучных кондитерских изделий:** краткий курс лекций для студентов 3 курса специальности (направление подготовки) 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья/ Сост.: М.К. Садыгова//ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2016. – 74 с.

Краткий курс лекций по дисциплине «Основы биотехнологии хлебопечения и мучных кондитерских изделий» составлен в соответствии с рабочей программой дисциплины и предназначен для студентов направления подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья. Краткий курс лекций содержит теоретический материал по биотехнологическим процессам в производстве хлеба и кондитерских изделий. Направлен на формирование у студентов знаний о роли биохимических и микробиологических процессов в хлебопечении и в производстве кондитерских изделий.

УДК 664.66  
ББК 36

© Садыгова М.К. 2016  
©ФГОУ ВО «Саратовский ГАУ», 2016

## **ВВЕДЕНИЕ**

Основы биотехнологии хлебопечения и мучных кондитерских изделий – одна из важнейших профессиональных дисциплин. Основы биотехнологии хлебопечения и кондитерских изделий изучает биохимические и микробиологические процессы в технологии хлебопечения и кондитерских изделий, технологии производства заквасок для хлеба из пшеничной и ржаной муки.

Краткий курс лекций по дисциплине «Основы биотехнологии хлебопечения и мучных кондитерских изделий» предназначен для студентов по направлению подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья. Курс направлен на формирование ключевых компетенций, необходимых для эффективного решения профессиональных задач и организации профессиональной деятельности на основе знаний, которые помогут правильно сориентироваться и начать научную работу

## Лекция 1

### ВВОДНАЯ

#### 1.1. Введение в дисциплину

Биотехнология — это использование организмов, биологических систем или биологических процессов в промышленном производстве. К отраслям биотехнологии относятся генная, хромосомная и клеточная инженерия, клонирование сельскохозяйственных растений и животных, использование микроорганизмов в хлебопечении, виноделии, производстве лекарств и др.

Производство хлеба включает сложный цикл микробиологических и биохимических процессов, происходящих в тесте с момента смешивания муки с водой и заканчивающихся выпечкой. В сортах муки, используемой для выпечки пшеничного и ржаного хлеба, входят компоненты, необходимые для развития многих микроорганизмов. Кроме крахмала в муке содержится до 0,7-1,8 % (в пересчете на сухое вещество) сбраживаемых сахаров - глюкозы, фруктозы, мальтозы, сахарозы, раффинозы, существенно влияющих на первые стадии брожения теста. Образующиеся при гидролизе крахмала амилолитическими ферментами муки углеводы (мальтоза и др.) - основные субстраты, обеспечивающие процесс брожения и хорошее газообразование при изготовлении теста. Азотсодержащие вещества муки состоят главным образом из белков. В незначительном количестве содержатся и небелковые азотистые вещества - свободные аминокислоты и амиды. Кроме того, протеиназы муки обогащают тесто водорастворимыми азотсодержащими соединениями. В состав муки входит до 2 % минеральных веществ, в том числе микроэлементы.

Мука всегда содержит значительное количество различных микроорганизмов. Вносятся они и с добавками к тесту. Важнейшую роль в брожении теста играют дрожжи и молочнокислые бактерии, для которых имеются все необходимые условия: влажность 40-50 %, незначительное содержание молекулярного кислорода и наличие питательных веществ. Микробиологические процессы и связанные с ними биохимические изменения в тесте определяют пористость, окраску, прочность среза и сохранение свежести хлеба, придают ему вкус и аромат.

#### 1.2. Основные процессы, протекающие при производстве хлеба

Хлеб — это пищевой продукт, получаемый выпечкой разрыхленного дрожжами и/или молочнокислыми бактериями теста, которое готовится различными способами из ржаной, пшеничной муки или их смеси, с добавлением хлебопекарных дрожжей, соли, воды и дополнительных видов сырья, предусмотренных рецептурой изделия.

Производство хлеба включает несколько стадий технологического процесса: подготовку сырья, его дозировку, замес полуфабрикатов, их брожение, разделку, и том числе окончательную расстойку и отделку, выпечку хлеба, его укладку, хранение и транспортировку в торговую сеть для реализации. Технология приготовления хлеба может включать специальные стадии, такие как различные методы подготовки отдельных видов сырья; приготовление полуфабрикатов с определенными свойствами — заварок; различных видов закваски; бездрожжевого набухающего полуфабриката; высокосахаренных ферментативных полуфабрикатов; заквасок с направленным культивированием микроорганизмов; активацию дрожжей; выращивание жидких

дрожжей; ошпарку тестовых заготовок, обжарку хлеба; сушку; замораживание и дефростацию тестовых заготовок и другие. На каждой стадии производства хлеба происходит комплекс сложных процессов — физико-химических, коллоидных, биохимических и микробиологических, которые взаимосвязаны с химическим составом, функциональными и технологическими свойствами хлебопекарного сырья, жизнедеятельностью микрофлоры полуфабрикатов, активностью биологических катализаторов – ферментов, параметрами и условиями технологического процесса.

Конечная цель хлебопекарного производства – это приготовление высококачественной продукции, обладающей хорошими потребительскими свойствами, физико-химическими показателями, сбалансированным составом по пищевой ценности, хорошей усвояемостью и соответствующей медико-биологическим требованиям. Достижение этой цели основывается на управлении оптимальными параметрами при проведении каждой стадии; регулировании сложным комплексом процессов, происходящих со структурными компонентами сырья и полуфабрикатов; обеспечении жизнедеятельности микрофлоры полуфабрикатов и теста.

В основе технологии приготовления хлеба лежат процессы жизнедеятельности микрофлоры муки и полуфабрикатов: хлебопекарных дрожжей, молочнокислых бактерий, а также других видов микроорганизмов, обеспечивающих разрыхление теста за счет выделения диоксида углерода, насыщение жидкой фазы теста растворенной угольной кислотой, повышение общей и активной кислотности полуфабрикатов, накопление в тесте специфических веществ, формирующих вкус и аромат готового хлеба.

Важнейшей составляющей технологии хлебопекарного производства является комплекс биохимических процессов, включающих взаимодействие ферментов муки и других видов сырья со структурными компонентами теста и обуславливающих их модификацию, что определяет ход технологического процесса, свойства полуфабрикатов и качество готовой продукции. Микробиологические и биохимические процессы технологии хлеба взаимосвязаны между собой и составляют биотехнологические основы хлебопекарного производства. Комплекс биохимических и микробиологических процессов протекает на всех стадиях приготовления в зависимости от назначения и выбора конкретной стадии или приема, параметров и условий, достигаемого технологического эффекта они различаются по направленности процессов и степени их интенсивности.

### **1.2.1. Спиртовое брожение**

В зависимости от способов тестоприготовления в хлебопекарных полуфабрикатах происходит преимущественно спиртовое брожение, вызываемое чистыми культурами хлебопекарных дрожжей, либо спиртовое брожение сочетается с молочнокислым брожением. Наряду с дрожжами и молочнокислыми бактериями в полуфабрикатах проявляет жизнедеятельность целый ряд микроорганизмов, попавших с мукой, дополнительным сырьем или за счет направленного культивирования определенных их видов. Из Семейства сахаромикетов в хлебопекарном производстве применяется вид *Saccharomyces cerevisiae*, отдельные штаммы которого значительно различаются по составу ферментов и отношению к условиям внешней среды. Из бродящих ржаных заквасок выделен вид дрожжей *Saccharomyces minor*, который также используется в технологии приготовления хлеба. В зависимости от условий дрожжевые клетки сахаромикетов получают необходимую для жизнедеятельности энергию за счет сбраживания углеводов при анаэробных условиях или за счет их окисления при аэробных условиях.

Для полуфабрикатов хлебопекарного производства характерен анаэробный тип обмена веществ – спиртовое брожение. Процесс спиртового брожения – сбраживание дрожжевыми клетками углеводов в отсутствие кислорода с образованием конечных продуктов – этанола и диоксида углерода осуществляется через ряд промежуточных продуктов с участием многочисленных ферментов, называемых зимазным комплексом. Гексозы расщепляются до центрального промежуточного продукта пировиноградной кислоты, которая является исходным субстратом для образования диоксида углерода и этанола. Превращение сахара в пировиноградную кислоту включает окислительную стадию. Водород, отнимаемый от промежуточных продуктов расщепления сахара и связанный на специфических коферментах НАД<sup>+</sup> и НАД<sup>+</sup> Фп (неорганический фосфат), используется для восстановления пировиноградной кислоты или продуктов ее расщепления с образованием конечных продуктов брожения. Энергия, получаемая в результате процесса брожения и используемая клеткой, запасается в форме аденозинтрифосфата (АТФ), часть которой идет на фосфорилирование гексоз, сопровождаемое превращением АТФ в аденозиндифосфат (АДФ).

Фактический баланс спиртового брожения при активной кислотности среды дрожжевого теста (рН 6,0) близок к теоретическому, однако и в этом случае кроме этанола и диоксида углерода в бродящих полуфабрикатах образуется ряд продуктов: глицерин, масляная, уксусная, молочная, яблочная кислоты и др. С увеличением концентрации водородных ионов количество побочных продуктов процесса спиртового брожения возрастает. Количество диоксида углерода, выделяющегося и тесте при сбраживании сахаров, составляет около 70% от теоретически возможного по суммарной формуле, поскольку часть сбраживаемого сахара затрачивается на энергетические и пластические процессы, происходящие в дрожжевой клетке при жизнедеятельности.

Процессы обмена веществ в дрожжевой клетке протекают с участием ферментов, которые подразделяются на экзо- и эндоферменты в зависимости от локализации в дрожжевой клетке, и конститутивные и адаптивные (индуцируемые) и зависимости от их синтеза. Экзоферменты выделяются клеткой во внешнюю среду для действия на субстрат, эндоферменты действуют внутри клетки. У конститутивных ферментов субстратом для их индукции служат метаболиты, образующиеся в клетке при ее жизнедеятельности вне зависимости от наличия их в питательной среде, у адаптивных индуктором является субстрат, содержащийся в питательной смеси. В состав ферментных систем дрожжевой клетки входят Р-фруктофуранозидаза, α-глюкозидаза, глюкокиназа, мальтопермеаза, карбоксилаза, фруктоизомеразы и другие.

Зимазный комплекс ферментов дрожжей обеспечивает превращение моносахаров в этанол и диоксид углерода. Глюкоза сбраживается непосредственно, фруктоза – после изомеризации ее в глюкозу фруктоизомеразой дрожжей. Сахароза предварительно гидролизует в глюкозу и фруктозу конститутивной Р-фруктофуранозидазой, легко выделяющимся во внешнюю среду, так как этот фермент относится к экзоферментам и расположен с внешней стороны мембраны дрожжевой клетки.

Мальтоза сбраживается в мучных полуфабрикатах после глюкозы, фруктозы и сахарозы. При наличии мальтозы в среде брожения клетка секретирует фермент мальтопермеазу, который осуществляет транспорт мальтозы внутрь клетки, и фермент α-глюкозидазу (мальтазу), расщепляющий мальтозу на две молекулы глюкозы, которые непосредственно сбраживаются дрожжами при участии их зимазного комплекса ферментов. Ферменты, участвующие в сбраживании мальтозы (мальтопермеаза, α-глюкозидаза), формируются только при наличии мальтозы в среде и после того как

дрожжевые клетки войдут в контакт с этим дисахаридом, поскольку являются адаптивными.

Разная продолжительность индуцирования ферментов дрожжевой клеткой приводит к тому, что сахара теста сбраживаются прессованными дрожжами не одновременно и непропорционально их содержанию в субстрате, а скорость ее газообразования нарастает до максимума с перепадами.

Адаптация дрожжей со сбраживания глюкозы, фруктозы и сахарозы на сбраживание мальтозы требует определенной продолжительности и связана с процессом адаптации дрожжевых клеток к мальтозной среде, который включает секрецию  $\alpha$ -глюкозидазы и транспорт мальтозы мальтопермеазой внутрь клетки, поскольку  $\alpha$ -глюкозидаза локализуется в цитоплазме дрожжей. Закономерности сбраживания сахаров дрожжевой клеткой отражает динамика скорости газообразования дрожжей в полуфабрикатах, на основе анализа которой можно регулировать продолжительность их созревания для достижения наилучшего качества хлеба.

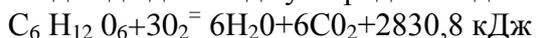
На достаточно интенсивный процесс брожения теста на всех его стадиях расходуется не менее 3,0-3,5% сбраживаемых сахаров. В случае приготовления теста с добавлением сахара-песка или других видов сахаросодержащих продуктов, предусмотренных рецептурой теста, динамика газообразования имеет несколько иные закономерности. При наличии сахарозы (сахара-песка) более 4% мальтоза практически не сбраживается дрожжами. Оптимальный ход технологического процесса обеспечивается постоянно возрастающей интенсивностью брожения, максимум которой должен быть достигнут на последней стадии его брожения – в процессе расстойки тестовых заготовок.

Высушенные дрожжевые клетки обнаруживают еще одну форму брожения, при которой глюкоза превращается в пировиноградную кислоту и глицерин. Некоторым расам осмофильных дрожжей свойственен тип сбраживания углеводов – полиспиртовый, в результате которого кроме этанола образуется d-арабит, эритрит, маннит и глицерин.

На скорость спиртового процесса влияют следующие факторы: температура теста, активная кислотность среды, наличие и состав минеральных солей, биостимуляторов, витаминов, органических соединений азота (аминокислот и амидов), основного продукта спиртового брожения – этанола. Существенное значение для характера протекания спиртового брожения имеют физиологические, биотехнологические и физико-химические свойства дрожжей, связанные с термотолерантностью, осмочувствительностью, кислотоустойчивостью, сахароустойчивостью, криотолерантностью и др.

Знание основных закономерностей спиртового брожения дрожжей в мучных полуфабрикатах является основой для регулирования процесса их созревания, выявления критерия оптимизации отдельных стадий технологического процесса для обеспечения стабильного качества готовой продукции.

При доступе кислорода спиртовое брожение вытесняется прямым окислением углеводов до диоксида углерода с выделением большого количества энергии:



В аэробных условиях образование этанола не происходит. В присутствии кислорода декарбоксилирование пирувата приводит к образованию ацетил Ко-А в цикле трикарбоновых кислот, контролирующим механизмом которых являются изоцитрат-дегидрогеназы, различающиеся по коэнзимной специфичности, внутриклеточной локализации, физико-химическим и кинетическим свойствам.

Как правило, прессованные хлебопекарные дрожжи, наряду с основной культурой *Saccharomyces cerevisiae*, содержат некоторое количество других видов дрожжевых грибов. Наиболее часто встречаются представители семейства несхаромицетов — родов *Candida sp.* и *Torulopsis*. Оказывая в целом отрицательное влияние на технологические свойства прессованных дрожжей, эти виды дрожжей, развиваясь в полуфабрикатах, могут внести определенные изменения в биохимические процессы, происходящие в бродящей среде, поскольку они характеризуются иными свойствами: способностью использовать арабинозу и ксилозу, потреблением лимонной кислоты (дрожжи рода *Tormtlopsis*), индифферентным отношением к мальтозе и сахарозе (дрожжи рода *Candida sp.*).

### **1.2.2. Молочнокислое и другие типы брожения**

Наряду со спиртовым брожением в полуфабрикатах хлебопекарного производства в различной степени осуществляются другие типы брожения, возбудителями которых являются микроорганизмы, присутствующие в муке или дополнительном сырье, а также специально добавляемые в разводочном цикле ржаных или пшеничных заквасок для их целенаправленного культивирования. Помимо спиртового различают следующие типы брожения: молочнокислое гомоферментативное и гетероферментативное, пропионовокислое, бутиленгликолевое, ацетонэтиловое, ацетонобутиловое и маслянокислое. Основные продукты этих типов брожения приведены в таблице 1. Практически все типы брожения присутствуют при сбраживании хлебопекарных полуфабрикатов, но в зависимости от конкретных условий производства и применяемой технологии степень участия микроорганизмов в суммарном процессе брожения различна. На активность бродильной микрофлоры оказывают влияние количество микроорганизмов данного вида, активная кислотность среды, ее состав, влажность, температура, продолжительность процесса, наличие кислорода, штаммы основных возбудителей брожения, технологическая схема сбраживания и другие факторы.

В основе технологии приготовления ржаного хлеба или хлеба из Смеси ржаной и пшеничной муки лежит гомо- и гетероферментативное молочнокислое брожение. В результате гомоферментативного молочнокислого брожения образуется в основном молочная кислота и незначительная часть летучих кислот, этанола, диоксида углерода. До стадии образования пировиноградной кислоты брожение протекает по общей гликолитической схеме Эмбдена-Мейергофа. Пировиноградная кислота восстанавливается до молочной кислоты. При гетероферментативном молочнокислом брожении, которое происходит пентозофосфатным путем, наряду с молочной кислотой образуются этанол, уксусная кислота, диоксид углерода и другие продукты. Гетероферментативное молочнокислое брожение протекает с выделением и без выделения диоксида углерода.

Молочнокислые бактерии способны развиваться и проявлять активность при высоких концентрациях спирта. Большинство молочнокислых бактерий обладают системой протеолитических ферментов, некоторые характеризуются амилолитической и липолитической активностью. Молочная и другие кислоты, продуцируемые бактериями, существенно влияют на вкус и аромат хлеба, потребительские свойства которого во многом определяются соотношением молочной и летучих кислот, а также ароматическими органическими соединениями, образующимися в результате метаболизма молочнокислых бактерий.

Важнейшим фактором, определяющим микробиологические и биохимические процессы, происходящие при приготовлении полуфабрикатов, является видовой состав микрофлоры. Для приготовления отдельных

видов заквасок из ржаной и пшеничной используются различные виды микроорганизмов, в том а и совместное их культивирование путем подбора различных комбинаций.

Взаимосвязаны совместное культивирование и рост дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, молочнокислых бактерий и других микроорганизмов. Дрожжи обогащают среду рядом экстрацеллюлярных продуктов своего метаболизма, необходимых для молочнокислых бактерий: пантотеновой кислотой, рибофлавином, аминокислотами, витаминами, что делает среду более благоприятной для развития молочнокислых бактерий. В присутствии дрожжей последние могут развиваться в жидких средах, где они самостоятельно не размножаются. Дрожжи обеспечивают условия для жизнедеятельности кислотообразующих бактерий, которые повышая кислотность среды, обеспечивают условия для жизнедеятельности *Saccharomyces cerevisiae*, угнетая конкурентные виды микроорганизмов (например, щелочелюбивые, гнилостные, бактерии группы кишечной палочки). Некоторые бактерии обладают более активной системой протеолитических ферментов, чем дрожжи. Гидролизуя сложные азотистые соединения, они обеспечивают азотным питанием дрожжевые клетки. Дрожжевые клетки способны ассимилировать органические кислоты – продукты метаболизма молочнокислых бактерий.

Примерами совместного использования композиций микроорганизмов для достижения наилучшего технологического эффекта являются следующие схемы:

— разводочный цикл приготовления ржаных заквасок по унифицированной схеме Санкт-Петербургского ГосНИИХП, включающей использование молочнокислых бактерий *Lactobacillus brevis-1*, *Lactobacillus easel-26*, *Lactobacillus plantarum-30*, *Lactobacillus fermenti-34*, дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Л-1 для закваски с заваркой и *Saccharomyces cerevisiae* Л-1, *Saccharomyces minor* «Чернореченский» для закваски без заварки;

— комплексная закваска, разработанная сотрудниками ГосНИИХП, включающая применение молочнокислых бактерий *Lactobacillus casei-C1*, *Lactobacillus brevis-B78*, *Lactobacillus fermenti-34*, пропионовокислых бактерий *Propionibacterium freundenrichi ssp. shermanii* ВКМ-103 и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae-69*;

— ацидофильная закваска, состоящая из музейной культуры *Lactobacillus acidophilus-146* и штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Р-17 и др.

Однако, при определенных условиях дрожжи и молочнокислые бактерии могут угнетать друг друга. Например, синтезируемая молочнокислыми бактериями уксусная кислота тормозит развитие дрожжей; Использование в качестве питательной смеси мучной заварки при определённых условиях обеспечивает интенсивное размножение дрожжевых клеток, что создает дефицит сбраживаемых сахаров как питания для молочнокислых бактерий; существует возможность прямого паразитирования молочнокислых бактерий на дрожжевых клетках с разрушением последних, особенно при повышенных температурах.

Решение задачи управления технологическими процессами, получения заданных свойств полуфабрикатов и хлеба наилучшего качества с определенными характеристиками состоит в подавлении развития одних видов бродильных микроорганизмов и стимулировании развития и жизнедеятельности других представителей микрофлоры, вырабатывающих наиболее желательные продукты брожения, на основе изучения физиологии дрожжей и бактерий и их свойств.

Спиртовое, молочнокислое и другие типы брожения представляют собой сложный комплекс биохимических процессов, обусловленных взаимодействием ферментов

микроорганизмов и хлебопекарного сырья, в первую очередь муки.

### 1.2.3. Биохимические процессы

Под воздействием амилолитических ферментов муки ( $\beta$ -амилазы пшеничной муки и  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы ржаной) на частично деполимеризованный крахмал муки происходит накопление мальтозы, потребляемой в процессе брожения дрожжами (при приготовлении теста с незначительным добавлением сахара-песка по рецептуре или без него) и, другими видами микроорганизмов. В случае, если единственным источником сахаров для процесса брожения является мальтоза, образующаяся при гидролизе крахмала, интенсификации этого процесса способствует добавление препаратов с активной  $\alpha$ -амилазой (белый неферментированный солод, амилолитические ферментные препараты).

В процессе брожения определенную роль играют высокомолекулярные пентозаны муки, гидролизуемые соответствующими ферментами с накоплением пентоз.

В процессе брожения полуфабрикатов происходит увеличение общей кислотности и концентрации водородных ионов, обусловленное рядом биохимических процессов, протекающих в полуфабрикатах при участии развивающейся в них микрофлоры и под воздействием ферментов сырья на его структурные компоненты:

- накопление органических кислот (уксусной, молочной, муравьиной, яблочной, масляной, янтарной, винной, лимонной и других), что является следствием наряду со спиртовым, гомо- и гетероферментативного молочнокислого брожения;
- ферментативный гидролиз фосфорорганических соединений с выделением кислых фосфатов;
- растворение диоксида углерода в жидкой фазе теста с образованием угольной кислоты.

Молочная, уксусная и другие кислоты влияют на состояние и структуру белков в тесте, способствуя их набуханию и пептизации, увеличению гидрофильности, изменению активности ферментов.

Ход биохимических и микробиологических процессов при брожении теста в значительной степени определяется величиной концентрации водородных ионов в среде по сравнению с суммарным содержанием в ней кислореагирующих продуктов. Обобщая экспериментальные данные, можно привести диапазоны изменения рН полуфабрикатов: безопарное тесто в начале брожения характеризуется показателем рН 5,8-6,0; безопарное тесто после брожения в течение 4-х часов – 5,3-5,5; опара из пшеничной муки I сорта в конце брожения – 5,7; тесто на опаре в начале брожения – 5,56-5,50.

При брожении полуфабрикатов значительным изменениям подвергается их белковая фракция, степень изменения которой зависит от многих факторов: активности протеолитических ферментов, активной кислотности полуфабрикатов, окислительно--восстановительного потенциала полуфабрикатов, количества выделяемого микроорганизмами глутатиона, способного в восстановленной форме активировать протеиназы муки, наличия определенных компонентов рецептуры, воздействующих на процесс протеолиза, параметров технологического процесса, концентрации среды.

Под воздействием протеолитических ферментов происходит протеолиз белковых компонентов пшеничного теста, при котором преобладают процессы дезагрегирующего действия, изменяющие четвертичную и третичную структуру белка с образованием незначительного количества продуктов глубокого распада белка. Увеличение активной кислотности полуфабрикатов в процессе брожения повышает набухаемость и растворимость клейковинных белков, в первую очередь глиаина, и увеличивает ак-

тивность ферментов муки.

Определенная степень протеолиза играет существенную роль для формирования оптимальных реологических свойств теста при его разделке. Это связано с накоплением аминокислот, являющихся пластическим материалом для бродильной микрофлоры, а также важнейшими компонентами реакции меланоидинообразования при выпечке хлеба, формирующей вкус и аромат готовых изделий. Чрезмерный протеолиз белковых веществ приводит к существенному изменению их структуры, неограниченному набуханию, пептизации, переходу в жидкую фазу теста, что обуславливает уменьшение стабильности, консистенции, упругости теста, увеличение его разжижения, ухудшение качества готовых изделий.

Использование приемов и способов регулирования степени протеолиза в зависимости от состояния белковых веществ в муке и свойств образуемой ими клейковины является основой для получения оптимальных реологических свойств теста, его водопоглотительной способности, соотношения свободной и связанной влаги, газодерживающей способности тестовых заготовок на последней стадии брожения теста — при расстойке, что обеспечит наилучшее качество хлеба.

Комплекс окислительно-восстановительных реакций происходит на различных стадиях технологического процесса приготовления хлеба при участии ферментов, обнаруженных в зерне пшенице: протеиндисульфидредуктазы, глутатионредуктазы, липоксигеназы, каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы, аскорбатоксидазы, алкогольдегидрогеназы и других.

Важное место в окислительно-восстановительных превращениях отводится вопросу окисления липидов муки, исследования которых обобщены в ряде монографий. Наличие в зерне злаковых фермента липазы, осуществляющей гидролиз триглицеридов с образованием глицерина и свободных жирных кислот и липоксигеназы, катализирующей окисление ненасыщенных жирных кислот молекулярным кислородом воздуха в гидропероксиды с промежуточным образованием реакционно-способных радикалов, имеет большое значение для технологии хлебопекарного производства. Процессы окисления ненасыщенных жирных кислот протекают по следующей схеме: молекулы кислорода присоединяются к свободным углеводородным радикалам, образующимся отщеплением атома водорода от углеводородного радикала жирных кислот. При окислении непредельных жирных кислот действию кислорода подвергается метиленовая группа, находящаяся с двойной связью: при этом получают свободные перекисные радикалы, при взаимодействии которых с углеводородными радикалами других молекул глицеридов образуются более стабильные вещества — гидропероксиды и возникают новые свободные радикалы. Гидропероксиды также могут распадаться с образованием вторичных спиртовых групп и воды. Наряду с этим при реакциях окисления и дегидратации гидропероксидов могут образовываться циклические пероксиды, распадающиеся на два альдегида, низкомолекулярные жирные кислоты, малостойкие кетокислоты, при распаде которых образуются двуокись углерода и метилкетон. Эти процессы достаточно сложные и характеризуются разнообразием продуктов реакций, в результате которых образуются пероксиды, гидропероксиды, альдегиды, кетоны и жирные кислоты более низкой молекулярной массы, чем входящие в состав исходных триглицеридов. Пероксиды и гидропероксиды участвуют в разрушении каротиноидных пигментов, окислении сульфгидрильных групп протеиназы, глутатиона и остатков цистеина в полипептидных цепочках самого белка. Гидропероксиды окисляют также имеющуюся в муке тиоктовую кислоту, превращая ее в моноокисную форму, которая

затем окисляет -SH-группы белков и глютатиона муки и теста. Наличие в муке собственных липидов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты, а также сопряженное действие ферментов липазы и липоксигеназы является одним из факторов воздействия на структурные компоненты муки, изменяющим свойства теста и качество хлеба.

Окислительно-восстановительные реакции, катализируемые ферментами пероксидазой и каталазой, связаны с окислением ненасыщенных жирных кислот, способствующих действию липоксигеназы за счет разрушения ее ингибитора – перекиси водорода.

Важную роль в протекании окислительно-восстановительных процессов играют превращения аскорбиновой кислоты под действием аскорбатоксидазы и дегидроаскорбатредуктазы. Аскорбиновая кислота, добавленная в тесто в качестве средства улучшения его свойств и качества хлеба, подвергается последовательному действию этих ферментов, за счет чего она превращается в дегидро-L-аскорбиновую кислоту, обладающую окислительными свойствами. Фермент дегидроаскорбатредуктаза в присутствии -SH-содержащих компонентов белково-протеинового комплекса муки в тесте катализирует восстановление дегидро-L-аскорбиновой кислоты в аскорбиновую кислоту, в результате чего происходит окислительная инактивация протеиназы и ее активаторов (например, глютатиона) и улучшение структуры белка.

Фермент полифенолоксидаза катализирует окисление аминокислоты тирозина муки с образованием темноокрашенных меланинов, от количества которых зависит потемнение теста и мякиша хлеба. Выявлена тесная корреляционная связь между активностью полифенолоксидазы муки и цветом мякиша хлеба, выработанного из него. Содержание свободного тирозина и активность полифенолоксидазы существенно больше в ржаной муке по сравнению с пшеничной, чем и обусловлен темный цвет мякиша

С активностью фермента связывают окисление сложных эфиров и образование гелей.

В зерне пшеницы обнаружены дегидрогеназы (глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа, 6-фосфорглюконатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа), технологическое значение которых до конца не выяснено.

Обобщая функциональную роль ферментов муки и другого сырья в тесте, можно заключить, что их взаимосвязь и взаимодействие определяют сложный комплекс процессов, обуславливающих модификацию структурных компонентов сырья и полуфабрикатов на различных стадиях технологического процесса, что позволяет управлять ходом процесса и формировать определенные физико-химические и органолептические показатели качества готовых изделий.

### **Вопросы для самоконтроля**

- 1) Какие компоненты, входящие в муку, необходимы для развития многих микроорганизмов?
- 2) Какие процессы взаимосвязаны и составляют биотехнологические основы приготовления мучных изделий?
- 3) Какие виды брожения происходят в хлебопекарных полуфабрикатах?
- 4) Что влияет на ход биохимических и микробиологических процессов при брожении теста?

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

Основная

1. **Пашенко Л.П.** Технология хлебобулочных изделий / Л.П. Пашенко, И.М. Жаркова. – М.: «КолосС», 2006. – 389 с.

Дополнительная

1. **Матвеева, И.В.** Биотехнологические основы приготовления хлеба [Текст]. : монография / И.В. Матвеева, И.Г. Белявская –М.: ДеЛи принт, 2001- 150 с. - 300 экз. - ISBN 5-94343-011-3.

2. **Пучкова Л.И.** Технология хлеба, кондитерских и макаронных изделий. Ч.1./Л.И. Пучкова и др. - СПб.: ГИОРД, 2005. - 559 с.

3. Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>

4. Журналы: «Пищевая промышленность», «Хлебопечение России».

## Лекция 2

### МИКРОБИОЛОГИЯ ХЛЕБОПЕКАРНОГО, МАКАРОННОГО И КОНДИТЕРСКОГО ПРОИЗВОДСТВ

#### 2.1. Микробиология хлебопекарного производства

Микрофлора хлебопекарного производства делится на полезную и вредную. К *полезной* относятся дрожжи и молочнокислые бактерии, применяемые для приготовления теста. *Вредной* является микрофлора, поступающая с сырьем и вызывающая нарушение технологического процесса, снижение качества и порчу продукции.

Возбудителями брожения теста являются *дрожжи*.

Роль дрожжей заключается в разрыхлении теста. Дрожжи сбраживают сахара муки и мальтозу, образующуюся из крахмала, с выделением спирта, углекислого газа. Побочные продукты брожения - уксусный альдегид, бутиловый, изобутиловый, изоамиловый спирты, органические кислоты (молочная, янтарная, винная, щавелевая) создают вкус и аромат хлеба.

При производстве пшеничного хлеба применяют *Saccharomyces cerevisiae*, ржаного - оба вида дрожжей, но преобладают *Saccharomyces minor*.

*Saccharomyces cerevisiae* - спорообразующий верховые дрожжи семейства сахаромицетов. Клетки крупные, круглой и овальной формы. Спорообразование происходит только в условиях голодания. На сусло - агаре образуют колонии круглой формы, диаметром 0.5 - 1 см, выпуклые, желтоватого цвета. Поверхность колоний бывает гладкой блестящей и складчато-шероховатой, бугристой. Оптимальная температура брожения 28 - 30°C; pH - 4.5 - 5.0; кислотность 10 - 12°Н. Неустойчивы к высокой концентрации сахара, соли, спирта в концентрации 12 - 14%.

*Saccharomyces minor* - специфичны для ржаного теста. Клетки мелкие 1.5 - 3 мкм, круглой формы, характерны фигуры почкования по 3 - 7 клеток. На сусло - агаре образуют мелкие круглые колонии диаметром 4 - 6 мм выпуклые с гладкой блестящей поверхностью сероватого - белого цвета. Оптимальная температура развития 25 - 28°C. Повышение температуры до 32 - 35°C угнетает их. Отличаются кислотоустойчивостью, менее требовательны к источникам витаминного и азотного питания, более спиртоустойчивы.

Большую роль в хлебопечении играют *молочнокислые бактерии*. Эти микроорганизмы осуществляют молочнокислое брожение в полуфабрикатах, в результате которого повышается кислотность, что способствует набуханию и пептонизации муки, особенно ржаной, повышаются вязкость и газоудерживающая способность теста. Молочнокислые бактерии участвуют в создании вкуса и аромата ржаного хлеба за счет накопления летучих органических кислот, спиртов, карбонильных соединений (альдегидов), способствуют лучшему разрыхлению теста за счет газообразования.

В хлебопечении используются следующие виды молочнокислых бактерий:

*Lactobacillus delbrueckii* - термофильные гомоферментативные палочки длиной 5 - 9 мм, располагаются поодиночке и попарно. На плотной питательной среде образуют колонии круглой формы, выпуклые, беловатого цвета. Оптимальная температура 48 - 50°C. Используются при выведении жидких дрожжей.

Lactobacillus plantarum - мезофильные гомоферментативные палочки средних размеров, располагаются поодиночке и короткими цепочками. Образуют колонии средней величины, куполообразные, беловатого цвета. Оптимальная температура 30 - 35°C. Постоянно встречается в заквасках.

Lactobacillus brevis - мезофильные гетероферментативные бактерии. По морфологии это - короткие толстые палочки, располагаются поодиночке или короткими цепочками. Оптимальная температура 30°C. Развиваются в сочетании с палочкой плантарум.

Lactobacillus fermenti - мезофильные гетероферментативные бактерии. Морфологически это - мелкие палочки, располагаются поодиночке и короткими цепочками. Оптимальная температура 37 - 40°C.

### **2.1.1 Микроорганизмы, используемые в производстве хлеба из пшеничной муки**

Для производства пшеничного хлеба применяют прессованные и сушеные дрожжи, а также полуфабрикаты (жидкие дрожжи и жидкие пшеничные закваски), изготавливаемые на хлебозаводах. Хлебопекарные дрожжи должны быть устойчивыми к высокой концентрации соли до 3 - 4%, сахара, должны развиваться при температуре 28 - 30°C, при оптимальном значении рН 4,5 - 5, обладать высокой бродильной активностью (мальтазной и зимазной).

*Прессованные дрожжи* применяют для производства сдобных и булочных изделий из муки высшего и первого сортов. Используют в виде дрожжевого молока с содержанием прессованных дрожжей 500 - 600 г \ л.

*Сушеные дрожжи* предварительно размачивают в мучной суспензии и активизируют.

*Жидкие дрожжи* применяют для производства хлеба из пшеничной муки высшего, первого и второго сортов, ржано-пшеничного. Особенно рекомендуются, если мука имеет пониженные хлебопекарные свойства, так как обладают высокой мальтазной активностью. Жидкие дрожжи готовят на хлебозаводах по следующей схеме: пшеничную муку второго сорта заваривают горячей водой, добавляют ферментные препараты для осахаривания. Происходит гидролитическое расщепление крахмала до мальтозы и далее до глюкозы. Осахаренную заварку заквашивают дельбрюкковской палочкой разных штаммов: 30, 31, 30-1, 30-2, Ленинградский-76 и оставляют при температуре 48 - 52°C. Молочнокислые бактерии размножаются, сбраживают глюкозу с образованием молочной кислоты. Кислотность полуфабриката повышается, создаются благоприятные условия для развития дрожжей, подавляется посторонняя микрофлора. Затем добавляют дрожжи, они размножаются, а жизнедеятельность молочнокислых бактерий прекращается. Таким образом, жидкие дрожжи представляют собой активную культуру дрожжей, выращенных на мучной заварке, осахаренной и заквашенной термофильными молочнокислыми бактериями. Соотношение молочнокислых бактерий и дрожжей составляет 30:1.

*Жидкие пшеничные закваски* - это активная культура дрожжей, выращенных на осахаренной мучной заварке, заквашенной мезофильными молочнокислыми бактериями гомоферментативными (палочка плантарум) или гетероферментативными (палочки бревис, ферментум). Образующиеся кислоты способствуют улучшению вкуса и аромата хлеба.

### **2.1.2. Микроорганизмы, применяемые для производства хлеба из ржаной муки**

Ржаной хлеб готовят на жидких и густых заквасках, которые представляют собой смеси культур дрожжей и молочнокислых бактерий. Соотношение молочнокислых

бактерий и дрожжей составляет 80:1, т.е. молочнокислые бактерии более важны для созревания ржаного теста. Обычно используют смесь гомо- и гетероферментативных культур молочнокислых бактерий.

*Жидкие закваски* готовят на осахаренной жидкой среде из ржаной муки, в которую вносят смесь гомо- и гетероферментативных молочнокислых бактерий и оба вида дрожжей (*S. cerevisiae*, *S. minor*). Преобладают дрожжи *S. minor*, которые отличаются высокой кислотоустойчивостью, но меньшей бродильной активностью.

*Густые закваски* характеризуются тем, что применяют только дрожжи *Saccharomyces minor* трех штаммов 12\17, 7, Чернореченский, а также смесь из *L. plantarum* и *L. brevis*.

В заквасках и в тесте из ржаной муки дрожжи и молочнокислые бактерии составляют симбиоз и активность их возрастает, а высокая кислотность ржаного теста препятствует развитию тягучей болезни.

### 2.1.3. Микроорганизмы - вредители хлебопекарного производства

Источниками посторонней микрофлоры являются сырье, вода, воздух, технологическое оборудование, тара, персонал.

*Микрофлора муки* состоит преимущественно из микрофлоры зерна, поэтому количественный и качественный состав микрофлоры муки зависит от степени зараженности зерна, способов помола и очистки. Общая бактериальная обсемененность составляет 2 - 3 млн. КОЕ \ 1 г, но варьирует в зависимости от содержания влаги, качества помола, продолжительности хранения и др. В микрофлоре муки преобладает травяная палочка (*Erwinia herbicola*). Это - граммотрицательные неспорообразующие палочки, факультативные анаэробы. Не должно быть кокковых форм бактерий, которые развиваются при повышенной влажности муки.

В микрофлоре муки нормируется содержание спорообразующих бактерий, особенно *Bac. subtilis*. При наличии до 200 спор \ 1г мука оценивается как высококачественная; 200 - 400 спор - удовлетворительного качества; до 1000 спор - сомнительного качества; свыше 1000 - плохого.

В муке встречаются также молочнокислые бактерии, уксуснокислые палочки, ложные дрожжи, споры плесневых грибов.

Микроорганизмы не развиваются, если влажность муки не превышает 14%, они находятся в состоянии анабиоза. При увлажнении муки микробы активизируются и вызывают порчу муки.

#### ***Виды порчи муки:***

- прокисание, вызываемое молочнокислыми бактериями;
- прогоркание, которое вызывают плесневые грибы и некоторые бактерии, продуцирующие протеолитические и липолитические ферменты;
- плесневение - развивается при высокой влажности муки, опасно возможностью накопления афлотоксинов;
- самосогревание, наблюдаемое при влажности муки более 20%.

Источниками посторонней микрофлоры являются и другие виды сырья. Наиболее опасные микроорганизмы могут попасть из яиц, в которых возможно присутствие

сальмонелл. По российскому законодательству разрешается применение только куриных яиц. Яйца водоплавающих можно использовать для смазки поверхности изделий.

#### ***Болезни хлеба:***

1. *Тягучая болезнь хлеба.* Возбудителем является сенная палочка (*Bac. subtilis*), продуцирующие мощные амилалитические и протеолитические ферменты. Они вызывают гидролиз крахмала с образованием декстринов, гидролиз белков, в результате чего мякиш становится вязким, тягучим. Оптимальная температура развития этих бактерий 35 - 40°C, поэтому заболевание как правило возникает в теплое время года. Сенная палочка чувствительна к кислой среде и при pH 4,8 - 4,5 не развивается.

Меры профилактики: быстрое охлаждение хлеба до 10 - 12°C; подкисление теста путем добавления уксусной, пропионовой, сорбиновой кислот; введение в закваски молочнокислых бактерий, обладающих антагонистической активностью (ацидофильная палочка). Заболевший хлеб уничтожается.

2. *Меловая болезнь* - характеризуется появлением на корке и в мякише белых сухих, похожих на мел, включений, хлеб приобретает неприятный запах. Порок вызывают термоустойчивые дрожжи.

3. *Пигментные пятна* - характерно появление на корке и в мякише пятен желтого, красного цветов. Хлеб непригоден к употреблению. Возбудителями являются грамотрицательные пигментообразующие бактерии (чудесная, синегнойная, флуоресцирующая палочки), которые развиваются при температуре не менее 25°C, повышенной влажности и малой кислотности хлеба. Для профилактики необходимо тщательное соблюдение санитарно-гигиенического режима.

4. *Пьяный хлеб* - возникает при заражении муки токсинами гриба рода фузариум. Это происходит, если зерно находится в поле при температуре 0 - 5°C. Для предотвращения порока производится проверка зерна (не допускается перезимовавшее и морозобойное зерно).

5. *Плесневение* - возникает при плотной укладке хлеба, при повышенной влажности более 70%, при температуре 25 - 30°C. Споры плесневых грибов попадают из воздуха, с тары, с рук и одежды персонала. Плесени вызывают распад углеводов, белков и жиров с появлением неприятного вкуса и запаха; возможно накопление микотоксинов.

### **2.1.4. Микробиологический контроль хлебопекарного производства**

#### ***Контроль сырья.***

Мука – подвергается органолептическому контролю. При наличии изменений производится микробиологическое исследование с определением общей бактериальной обсемененности, количества спор бацилл (суспензию муки подвергают пастеризации при температуре 95 - 97°C, охлаждают и высевают в чашки на мясо-пептонный агар).

Для определения зараженности спорами бактерий применяют метод лабораторных выпечек (апрель – октябрь). Образцы заворачивают во влажную бумагу и помещают в термостат при температуре 37°C с целью активизировать развитие спор. Затем хлеб разрезают и проверяют на наличие тягучей болезни.

Ферментные препараты – каждую партию контролируют на зараженность спорами бактерий методом пробных выпечек.

*Контроль полуфабрикатов* – производят определение количества дрожжей, молочнокислых бактерий в 1 г, их соотношение, активность молочнокислых бактерий, постороннюю микрофлору.

Жидкие дрожжи: 1 г полуфабриката помещают в пробирку с 9 см<sup>3</sup> воды, встряхивают и дают отстояться в течение 10 – 15 мин. Из верхнего слоя суспензии готовят препараты “ Раздавленная капля”, в которых определяют количество дрожжевых клеток, процентное содержание почкующихся дрожжей и содержащих гликоген, волютин. Подсчет производят в камерах Горяева. Количество дрожжевых клеток должно составлять 90 – 120 млн \ 1 мл.

Не допускаются спорообразующие бактерии; их выявляют методом накопительных культур: пробу жидких дрожжей вносят в стерильное сусло и прогревают при 80°С в течение 10 мин с целью уничтожения вегетативных форм бактерий, затем пробирки помещают в термостат при 37°С на одни сутки. Рост бацилл характеризуется помутнением сусла и подтверждается микроскопированием мазков, окрашенных по Граму.

Тесто: производят определение газообразующей способности дрожжей, также определяют количество и активность молочнокислых бактерий. Для анализов используют микрогазометрический прибор Елецкого, подсчет клеток осуществляют в камерах Горяева, активность молочнокислых бактерий выявляют путем проведения теста с индикатором. В смесь теста с водой добавляют метиленовую синь и помещают в термостат при температуре 40°С. Время обесцвечивания окраски свидетельствует об активности молочнокислых бактерий: при высокой активности смесь обесцвечивается в течение 25 мин, при средней – в течение 35 – 50 мин, при низкой – свыше 50 мин.

*Контроль готовой продукции.*

С целью контроля санитарного состояния производства берут смывы с поверхности изделий для обнаружения кишечных палочек в качестве индикатора фекального загрязнения. Содержание спорообразующих бактерий определяют косвенным методом.

## **2.2. Микробиология макаронного производства**

Все микроорганизмы в макаронном производстве являются вредными и имеют только отрицательное значение. Источниками микрофлоры служат мука, вода, улучшители, воздух, оборудование, персонал.

Мука - может содержать много микроорганизмов. Наиболее опасными являются гетероферментативные молочнокислые бактерии, вызывающие вспучивание и прокисание макарон.

Яйца, меланж, яичный порошок и другое сырье должно соответствовать микробиологическим нормативам ГОСТа.

Видами микробной порчи макаронных изделий являются:

Вспучивание - характеризуется появлением на поверхности бугорков, а на разломе - пустот. Вызывается гетероферментативными молочнокислыми бактериями, образующими кислоты и газы. Предотвращение порока заключается в соблюдении режима сушки.

Окраска - характеризуется образованием на макаронах полос фиолетового цвета. Возбудители - дрожжи рода *Candida*, продуцирующие пигмент.

Прокисание - связано с развитием молочнокислых бактерий.

Снижение качества изделий и пороки возникают при использовании сырья низкого качества с высокой бактериальной обсемененностью. Развитию пороков способствует длительное пребывание теста при температуре 30 - 40°C.

Влажность макарон должна быть 11-13%. При повышении влажности наблюдается прокисание и плесневение макарон. Плесневение вызывают грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*. Возникновению порчи способствует хранение при относительной влажности воздуха выше 65% в плохо вентилируемых помещениях, а также увлажнение упаковки. Макароны с явлениями плесневения и прокисания непригодны к употреблению.

### **2.2.1. Микробиологический контроль макаронного производства**

Мука – определяют гетероферментативные молочнокислые бактерии.

Яйца и меланж проверяют на свежесть в овоскопах. Меланж полежит использованию сразу после размораживания.

Вода – контролируют на соответствие требованиям ГОСТ.

Воздух – изучают микрофлору каждые две недели. Общая бактериальная обсемененность не должна превышать 500 КОЕ/ м<sup>3</sup>, споры плесеней не допускаются.

Технологическое оборудование – визуально контролируют качество мойки, микроскопируют последнюю промывную воду, в которой не должны определяться микроорганизмы. Поверхность протирают стерильным тампоном, на котором не должно быть остатков сырья, полуфабрикатов, при микроскопировании не должно быть микроорганизмов.

### **2.3. Микробиология кондитерского производства**

Выпускают следующие группы кондитерских изделий: шоколад и шоколадные изделия, сахаристые продукты (карамель, драже, ирис, конфеты), пастило-мармеладные изделия, мучные изделия без крема (галеты, крекер, печенье, вафли) и с кремом (пирожные, торты, рулеты).

Применяют разнообразное сырье: сахар, молоко, сливки, сгущенное молоко, сливочное масло, яйца, меланж, яичный порошок, мука, какао-бобы, крахмал, патока, мед, кофе, фрукты, ягоды, орехи, ароматические вещества, пищевые кислоты, желеобразующие и красящие вещества и др.

Производство шоколада включает обработку какао-бобов, приготовление сахарной пудры, шоколадной массы, формовку шоколада. Важным этапом является обработка какао-бобов, которая состоит из сортировки, ферментации, обжарки. Ферментация происходит при выдерживании бобов в кучах, накрытых листьями, в течение 4-7 суток. Происходят микробиологические и биохимические ферментативные процессы, бобы согреваются до 43-45°C. На поверхности бобов развиваются дрожжи, молочнокислые, уксуснокислые, гнилостные бактерии. Сахара сбраживаются с образованием спирта, молочной, уксусной кислот, которые пропитывают бобы. Дубильные вещества бобов окисляются и появляется специфический аромат, цвет бобов становится коричневым. После ферментации бобы сушат и обжаривают при температуре 150-170°C в течение 10-15 мин. Оболочка какао-бобов становится хрупкой, легко отделяется от ядра, уменьшается содержание влаги. При обжарке большая часть микроорганизмов погибает. Затем производится дробление какао-бобов с образованием крупки, размол крупки с получением какао-порошка.

Сахарную пудру получают путем дробления сахара и просеивания через сита. Затем все компоненты смешивают в смесителях и направляют на вальцовочные машины, далее на шоколадформирующие машины на формование. Отлитый в формы шоколад охлаждается и направляется на заверточные машины.

Производство конфет, глазированных шоколадом, заключается в приготовлении конфетных масс, формовании, отделке, глазировании, завертке и упаковке.

Производство карамели включает приготовление сиропа, начинок, разделку и подготовку карамельной массы, отделку, завертку и упаковку. Сироп готовят на сиропных станциях, затем перекачивают в вакуум-аппараты для уваривания при 160°C. Карамельная масса охлаждается до 60°C и подается вместе с разогретой начинкой на катально-начиночную машину, затем в калибровочную машину и на формование. Готовая карамель охлаждается, отделяется, затем следует завертка и упаковка. В производстве применяют фруктово-ягодные, ликерные, помадные, молочные и другие начинки.

### **2.3.1. Источники микрофлоры и ее состав**

Источниками микрофлоры являются: сырье, полуфабрикаты, технологическое оборудование, персонал, вода, воздух. Технологический процесс направлен на угнетение и уничтожение микроорганизмов, так как происходит достаточно быстро и при повышенной температуре. Некоторое количество устойчивых микроорганизмов сохраняется. Вторичное инфицирование происходит в процессе упаковки и хранения.

Сахар содержит разное количество микроорганизмов. При стандартной влажности 0, 15% обнаруживается несколько десятков КОЕ в 1г, при повышенной влажности содержание микробов возрастает до нескольких десятков тысяч КОЕ в 1г. Для кондитерского производства наиболее опасны осмофильные дрожжи, спорообразующие аэробные и анаэробные палочки, вызывающие брожение и прокисание фруктовых пюре, варенья, повидла, джема. Вредителями являются термофильные газообразующие бактерии и лейконосток - слизиобразующие бактерии, вызывающие ослизнение сиропов, фруктовых соков.

Молоко, сливки всегда содержат значительное количество микроорганизмов. Обнаруживаются молочнокислые, гнилостные, маслянокислые бактерии. Из патогенных микроорганизмов могут быть возбудители туберкулеза, кишечных инфекций, бруцеллеза, стафилококки, вызывающие отравления, сальмонеллы. При термической обработке молока, шоколадной массы, сливочных начинок микроорганизмы погибают. При изготовлении крема микроорганизмы могут сохраниться.

Микрофлору сгущенного молока составляют в основном спорообразующие бактерии, могут быть осмоустойчивые стафилококки, микрококки, разлагающие жир и белки, в результате возникает прогорклый вкус и запах, осмофильные дрожжи, вызывающие брожение и разжижение молока.

Сладкосливочное масло содержит  $10^5$  КОЕ в 1 г и больше при длительном и неправильном хранении. Пороки масла: штафф, кислый вкус, горечь, прогорклый вкус и запах, вызываемые бактериями рода *Pseudomonas*, молочнокислыми бактериями, плесневыми грибами, дрожжами рода *Candida*.

Яйца, меланж, яичный порошок могут содержать различные микроорганизмы: гнилостные бактерии, плесени, сальмонеллы. Яйца водоплавающих разрешено применять только для смазки выпекаемых изделий. Меланж необходимо перерабатывать в течение 2-3 часов после размораживания.

*Мука* может содержать значительное количество микроорганизмов, которые описаны ранее.

*Фруктово-ягодные полуфабрикаты* (пюре, варенье, повидло) готовят из фруктов и ягод, которые содержат на поверхности множество разных бактерий, плесеней, дрожжей. При изготовлении полуфабрикатов (варке) большинство микроорганизмов погибают. Наименее стойкими в хранении являются пюре из ягод. Ягоды моют, ошпаривают, протирают и добавляют консерванты (сернистая кислота, натриевая соль сорбиновой кислоты). В пюре происходит спиртовое, уксуснокислое, молочнокислое брожения, позднее развиваются плесени, что свидетельствует о порче пюре. Повидло более стойкое за счет высокого осмотического давления и отмирания микроорганизмов при уваривании. Порча связана с молочнокислым брожением и плесневением.

### **2.3.2. Микробиологическая порча кондитерских изделий**

*Мармелад, пастила, сливочная помадка* относятся к малостойким изделиям, так как содержат 22-24% влаги. Порчу вызывают осмофильные дрожжи, вызывающие брожение, в результате которого возникают трещины, деформация изделий, изменение вкуса. При повышенной влажности воздуха может возникнуть плесневение. Для предотвращения порчи добавляют консерванты в массу и пропитывают ими пергамент для завертки.

*Карамель, шоколад, конфеты* являются стойкими в хранении за счет высокой концентрации сахара, низкой влажности, твердой консистенции. Может происходить порча карамельных начинок (брожение, прогоркание), вызываемая молочнокислыми и гнилостными бактериями.

Некоторые сорта конфет могут портиться за счет высокой влажности (сливочная помадка, глазированная шоколадом, или с ликерной начинкой). В них возникает брожение и происходит деформация изделий.

Предотвращение порчи: контроль за качеством сырья, соблюдение санитарно-гигиенического режима на производстве.

*Кремовые изделия* относятся к скоропортящимся продуктам. Микроорганизмы попадают в крем с сырьем, с рук персонала, из муки в заварной крем. Может происходить прокисание крема. В крем могут попасть золотистые стафилококки, патогенные кишечные бактерии, что чревато возникновением отравлений и инфекций.

Профилактика: проверка рук кондитеров на наличие воспалительных процессов, соблюдение санитарно-гигиенического режима, хранение при температуре 2-6°C, соблюдение сроков реализации.

### **2.3.3. Микробиологический контроль кондитерского производства**

Осуществляется контроль сырья, полуфабрикатов и готовой продукции.

*Контроль сырья и полуфабрикатов* - определяют все микробиологические показатели на соответствие нормативам ГОСТ, САНПиНа. Во всех видах сырья определяют кМАФАнМ, БГКП, сальмонеллы. Дополнительно определяют золотистый стафилококк.

*Муку* проверяют по органолептическим показателям и при наличии изменений производят микробиологическое исследование.

*Сахар* - определяют количество аэробных и факультативно- анаэробных термофильных бактерий, вызывающих плоскокислую порчу с выделением сероводорода; количество слизиобразующих бактерий рода *Leuconostoc*, дрожжей и плесеней.

*Яйца, меланж, яичный порошок* - определяют все нормируемые показатели. Яйца просматривают на овоскопе и при наличии изменений производят микробиологическое исследование. Определяют БГКП, сальмонеллы.

Анализ *какао-бобов* производят по требованию санитарной инспекции. Определяют КМАФАнМ, БГКП, сальмонеллы.

*Фруктово-ягодные продукты* - осуществляют определение общей бактериальной обсемененности, количества дрожжей и плесеней.

#### **Контроль готовой продукции**

*Шоколад и шоколадные конфеты* анализируют по требованию санитарной инспекции. Определяют кМАФАнМ, БГКП, сальмонеллы.

*Кремовые изделия* - вначале делают мазки из подогретого крема. Мазки обезжиривают и фиксируют смесью спирта с эфиром в соотношении 1:1 и окрашивают по Граму. При микроскопировании обращают внимание на наличие стафилококков и грамотрицательных палочек. Микробиологический анализ производят на соответствие нормативам ГОСТ.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Какие виды дрожжей используют в ржаных полуфабрикатах?
2. Какие микроорганизмы и полуфабрикаты применяют в производстве хлеба из ржаной муки?
3. Какие микроорганизмы являются вредителями производства?
4. Как производят контроль микрофлоры в макаронном производстве?
5. Как изменяется микрофлора при подготовке какао-бобов?
6. Какие кондитерские изделия подвергаются порче и почему?
7. Какие микробы вызывают порчу кондитерских изделий?
8. Какие микробиологические показатели определяют в сырье, полуфабрикатах и готовых изделиях?

### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

#### **Основная**

1. **Пашенко Л.П.** Технология хлебобулочных изделий / Л.П. Пашенко, И.М. Жаркова. – М.: «КолосС», 2006. – 389 с.

2. **Еремина, И.А.** Микробиология продуктов растительного происхождения. Учебное пособие/ И.А. Еремина, Н.И. Лузина, О.В. Кригер. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности.- Кемерово, 2003.- 87 с. - ISBN 5-89289-287-5

#### **Дополнительная**

1. **Матвеева, И.В.** Биотехнологические основы приготовления хлеба [Текст]. : монография / И.В. Матвеева, И.Г. Белявская –М.: ДеЛи принт, 2001- 150 с. - 300 экз. - ISBN 5-94343-011-3.

2. Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>

3. Журналы: «Пищевая промышленность», «Хлебопечение России».

## Лекция 3

# БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ

### 3.1. Общая характеристика дрожжей

Сахар, содержащийся в сусле, сбраживают в спирт дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*, представляющими собой одноклеточные микроорганизмы, относящиеся к классу аскомицетов (сумчатых грибов).

Обычно дрожжи размножаются почкованием и очень редко (при большом дефиците питательных веществ) дрожжи размножаются спорообразованием.

Дрожжевые клетки бывают яйцевидной, эллипсоидальной, овальной или вытянутой формы, которая, как и их величина (6— 11 мкм), зависит от вида дрожжей и условий развития. Отношение поверхности клетки к ее объему влияет на скорость массообменных процессов между клеткой и питательной средой и, следовательно, на интенсивность жизнедеятельности дрожжей.

Дрожжевая клетка состоит из оболочки, цитоплазмы и ядра. Наружная часть оболочки дрожжевой клетки образована полисахаридами типа гемицеллюлоз, преимущественно маннаном и небольшим количеством хитина, внутренняя часть — белковыми веществами, фосфолипидами и липоидами. Оболочка регулирует состояние клеточного содержимого и обладает избирательной проницаемостью, чем существенно отличается от обычных полупроницаемых мембран.

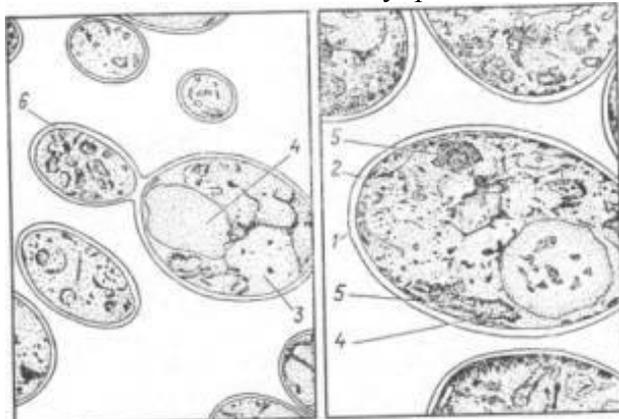


Рис. Электронная микрофотография дрожжевой клетки:

- 1 — клеточная стенка;
- 2 — цитоплазматическая мембрана дрожжевой клетки;
- 3 — цитоплазма;
- 4 — ядро;
- 5 — митохондрии;
- 6 — почка

Цитоплазма дрожжевой клетки имеет гетерогенную структуру и вязкую консистенцию. Коллоидный характер ее обусловлен белковыми веществами. Кроме них цитоплазма содержит рибозонуклеопротеиды, липоиды, углеводы и значительное количество воды. Цитоплазма молодых клеток внешне гомогенна, при старении клеток в ней появляются вакуоли, равномерная зернистость, жировые и липоидные гранулы. В цитоплазме с ее органоидами (хондриосомами, микросомами, вакуолями) и включениями протекают важнейшие ферментативные процессы.

Митохондрии (хондриосомы) дрожжевой клетки имеют форму зернышек, палочек или нитей. Питательные вещества, проникающие в клетку, адсорбируются и аккумулируются хондриосомами и подвергаются быстрым превращениям вследствие концентрации в этих участках клетки соответствующих ферментов. В митохондриях полностью осуществляются цикл трикарбоновых кислот и важнейшая энергетическая реакция — окислительное фосфорилирование, почему их рассматривают как основную «силовую станцию» клетки. Здесь же происходят реакции активирования аминокислот

белка, липидов и других соединений.

Микросомы (рибосомы) дрожжевой клетки представляют собой включения в виде субмикроскопических зернышек, состоящих из липоидов, белков и рибонуклеиновых кислот (РНК), которые обеспечивают синтез белков за счет активированных аминокислот, поступающих из митохондриальной системы.

Ядро дрожжевой клетки — небольшое шаровидное или овальное тело, окруженное цитоплазмой и нерастворимое в ней. В ядерных структурах обособлены в виде включений дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и ее протеид (ДНКП), содержится большое количество РНК. ДНК способствует передаче наследственной информации, сохранению свойств микроорганизмов.

Обязательный органоид клетки вакуоли — полости, образующиеся в плазме при старении дрожжевых клеток, наполненные клеточным соком и отделенные от цитоплазмы вакуолярной мембраной, т.е. тонопластом - слоем из белков и липидов. Форма вакуолей изменяется вследствие движения и контракции цитоплазмы. Вакуоль в молодых клетках состоит из множества мелких полостей, в старых — из одной очень большой. Клеточный сок представляет собой водный раствор различных солей, углеводов, белков, жиров и ферментов. В вакуолях сосредотачиваются различные соединения, которые должны подвергаться ферментативным превращениям, образуются продукты жизнедеятельности и отбросы.

В молодых дрожжевых клетках жира обычно нет, в зрелых он содержится лишь в немногих клетках в виде очень мелких капелек, в старых — крупных капель.

Гликоген (полисахарид структурно подобный амилопектину) является запасным питательным веществом дрожжей.

Гликоген накапливается при культивировании дрожжей на средах, богатых сахаром, и при недостатке сахара быстро расходуется. В молодых клетках гликогена мало, в зрелых — значительное количество (до 40%).

По внешнему виду дрожжевых клеток можно определить физиологическое состояние дрожжей. Для определения физиологического состояния дрожжей микроскопически определяется содержание гликогена путем окрашивания. В производственных средах одновременно присутствуют молодые, зрелые, почкующиеся, старые и отмершие дрожжевые клетки. Наибольшей бродильной энергией обладают зрелые дрожжевые клетки.

Дрожжи, применяемые в производстве спирта, должны обладать высокой бродильной энергией (быстро и полно сбраживать сахара), иметь анаэробный тип дыхания, быть устойчивыми к продуктам своего обмена и к продуктам обмена посторонних микроорганизмов, а также к изменению состава среды, переносить большую концентрацию солей и сухих веществ, содержащихся в сусле, при переработке мелассы полно сбраживать раффинозу. При выделении дрожжей из зрелой бражки и использовании их в качестве хлебопекарных они должны отвечать требованиям, предъявляемым к хлебопекарным дрожжам по стойкости при хранении, подъемной силе, зимазной и мальтазной активности.

На спиртовых заводах, перерабатывающих мелассу, широкое распространение получили дрожжи расы Я, при использовании дрожжей в качестве хлебопекарных — рас лохвицкая (Ял) и венгерская (В). Эти расы дрожжей хорошо сбраживают сахарозу, глюкозу, фруктозу и лишь 1/3 раффинозы. Поэтому при большом содержании раффинозы в мелассе недобор спирта составляет значительную величину. Каждый процент раффинозы при полном сбраживании увеличивает выход спирта на 1,46%.

Повышение бродильной активности дрожжей может быть достигнуто различными способами: мутагенезом, гибридизацией и др. Для получения рас дрожжей с требуемыми свойствами наиболее перспективным оказался метод гибридизации, так как при скрещивании двух родительских видов дрожжей можно подобрать расы с заранее известными свойствами. Этим методом был получен ряд гибридов, имеющих преимущества перед дрожжами рас Я и В. В отличие от последних гибриды дрожжей содержат фермент  $\alpha$ -галактозидазу, при помощи которого раффиноза полностью превращается в сбраживаемые сахара. Кроме того, у отдельных дрожжевых гибридов повышена генеративная способность и лучше хлебопекарные свойства. Мальтазная активность выше у гибрида 112, хотя спирта он накапливает на 1% меньше, чем дрожжи расы В. Гибриды 67 и 105 обеспечивают одинаковый выход спирта по сравнению с расой В, но проявляют высокую генеративную способность. Дрожжи расы Г-67 устойчивее к пониженному рН, при котором образуется больше спирта в результате сокращения расхода сахарозы на побочные продукты.

При сбраживании сусла из крахмалсодержащего сырья применяют дрожжи расы XII. Они хорошо сбраживают мальтозу, сахарозу и фруктозу, но не сбраживают конечные декстрины. Гидролиз конечных декстринов продолжается во время сбраживания сусла под действием декстриназы солода или глюкоамилазы микробного происхождения. Поэтому скорость сбраживания сусла из крахмалсодержащего сырья лимитируется скоростью гидролиза конечных декстринов.

### 3.2. Условия жизнедеятельности дрожжей

К условиям, обеспечивающим нормальную жизнедеятельность дрожжей, относятся прежде всего: температура, рН и состав питательной среды, т.е. бражки.

#### Температура и рН бражки

Дрожжи живут и размножаются в широких температурных пределах, но для нормальной их жизнедеятельности необходима температура 29—30°C. При очень высокой или очень низкой температуре жизнедеятельность дрожжей ослабляется или прекращается. Максимальная температура для развития дрожжей 38°C, минимальная —5°C; при температуре 50°C дрожжи погибают.

Оптимальные температуры для развития и проявления максимальной бродильной активности не всегда совпадают. Дрожжи, выращенные при температуре, например, 17—22°C, имеют большую бродильную энергию. Сбраживание меласного сусла при температурах выше 30°C отрицательно отражается на выходе и качестве дрожжей, выделяемых из зрелой бражки и используемых в качестве хлебопекарных. Ферментативная активность, подъемная сила и стойкость таких дрожжей при хранении понижаются, поэтому рекомендуется следующий температурный режим выращивания дрожжей и сбраживания меласного сусла: в дрожжегенераторах 28—29°C, в двух головных бродильных аппаратах 30—31°C и в концевых аппаратах 28—29°C. Сусло из крахмалсодержащего сырья сбраживают при температуре 28—32°C.

При повышении температуры дикие дрожжи и бактерии размножаются значительно быстрее сахаромицетов. Если при температуре 32°C коэффициент размножения диких дрожжей в 2—3 раза больше коэффициента размножения сахаромицетов, то при 38°C — уже в 6—8 раз больше.

Ускоренное развитие бактерий приводит к повышению кислотности бражки. В обоих случаях уменьшается выход спирта.

На жизнедеятельность дрожжей значительно влияет активная кислотность среды. Водородные ионы изменяют электрический заряд коллоидов плазменной оболочки

клеток и в зависимости от концентрации могут увеличивать или уменьшать проницаемость плазменной оболочки дрожжевой клетки для отдельных веществ и ионов. От величины рН зависят скорость поступления питательных веществ в дрожжевую клетку, активность ферментов, образование витаминов. При изменении рН среды изменяется и направление самого брожения. Если рН бражки сдвигается в щелочную сторону, то увеличивается образование глицерина.

Дрожжи сохраняют жизнеспособность в пределах рН среды от 2 до 8. Для их выращивания оптимальным является рН 4,8—5.

При рН ниже 4,2 дрожжи продолжают развиваться, тогда как развитие молочнокислых бактерий прекращается. Это свойство дрожжей используют для подавления развития бактерий в инфицированной среде, которую подкисляют до рН 3,8 — 4 и выдерживают определенное время.

**Потребность дрожжей в питательных веществах**

О потребности дрожжей в питательных веществах судят по их химическому составу, который зависит от питательной среды, условий культивирования дрожжей и их физиологических особенностей. Средний элементарный состав дрожжевых клеток (в %): углерод 47, водород 6,5, кислород 31, азот 7,5—10, фосфор 1,6—3,5. Содержание других элементов незначительно: кальция 0,3—0,8%, калия 1,5—2,5, магния 0,1—0,4, натрия 0,06—0,2, серы 0,2%. В дрожжах найдены микроэлементы (в мг/кг): железо 90—350, медь 20—135, цинк 100—160, молибден 15—65.

Дрожжи в отпрессованном виде содержат 68—76% воды и 32 — 24% сухого вещества. Внутриклеточной влаги в зависимости от состояния коллоидов дрожжевой клетки содержится 46—53% и межклеточной 22-27%. При изменении общей влажности дрожжей меняется соотношение между количеством внутриклеточной и межклеточной влаги. Удаление 85% воды из дрожжей при температуре не выше 50°C почти не влияет на их жизнеспособность.

Сухие вещества дрожжей включают 23—28% органических веществ и 5—7% золы. Органические вещества состоят из 13—14% белка, 6—8% гликогена, 1,8—2% целлюлозы и 0,5—2% жира.

**Белок.** Дрожжи содержат в среднем 50% «сырого» белка в пересчете на сухие вещества и около 45% истинного белка. В состав сырого белка входят все соединения азота, к которым относятся производные нуклеиновых кислот — пуриновые и пиримидиновые основания, азот свободных аминокислот.

**Гликоген.** При отсутствии питательных веществ в среде гликоген дрожжевой клетки превращается в спирт и диоксид углерода.

**Трегалоза.** Наряду с гликогеном содержится трегалоза — очень мобильный резервный углевод, обуславливающий стойкость хлебопекарных дрожжей. Содержание трегалозы возрастает с уменьшением азота и при рН ниже 4,5.

**Жир.** В состав жира входят в основном олеиновая, линолиновая и пальмитиновая кислоты. Он содержит 30—40% фосфатидов.

**Зола.** Зола состоит из следующих основных окислов (в %):  $P_2O_5$  — 25—60,  $K_2O$  — 23—40,  $CaO$  — 1—8,  $MgO$  — 4—6,  $Na_2O$  — 0,5—2,  $SO_3$  — 0,5—6,  $SiO_2$  — 1—2,  $Fe_2O_3$  — 0,05—0,7.

**Фосфор.** Фосфор содержится преимущественно в виде органических и неорганических орто-, пиро- и метафосфатов. Они входят в состав молекул нуклеиновых кислот, фосфолипидов и коферментов типа аденозинфосфата и тиамина. Так, ядерное вещество клетки (нуклеопротеиды) содержит фосфор в виде ортофосфата. В виде ортофосфата фосфор входит также в состав флавиновых ферментов; в виде пирофосфата

— во многие коферменты (кодегидразы Кох и Коц, карбоксилазы), В виде различных соединений фосфор принимает важное участие в энергетических процессах клетки.

**Сера.** Сера входит в состав очень важных соединений — аминокислот (цистеин, цистин, метионин и глутатион) и витаминов (биотин, аневрин). В ферментах сера находится в виде сульфидных и тиоловых групп.

**Железо.** Железо содержится в цитохромах, цитохром-оксидазе, пероксидазе, каталазе и других ферментах, участвующих в процессе дыхания. Оно участвует в работе других ферментов (зимогеназа, пирофосфатаза).

**Магний.** Магний активирует действие многих фосфатаз и энолазы. Ионы магния влияют на сохранение активности ферментов при нагревании. Магний и марганец ускоряют потребление дрожжами глюкозы. Влияние магния тем сильнее, чем ниже концентрация глюкозы в среде. Питательные среды должны содержать 0,02-0,05% магния в виде сульфата. Процессы брожения регулируются изменением концентрации ионов магния в результате присоединения его к органическим веществам.

**Калий.** Калий необходим не только как питательный элемент, но и как стимулятор размножения дрожжей. Стимулирующее действие объясняется его существенной ролью в окислительном фосфорилировании и в процессах гликолиза. Движение неорганического фосфора внутрь клетки специфично стимулируется калием. Калий активирует дрожжевую альдолазу, необходим для действия фермента пируваткарбоксилазы и влияет, так же как азот и сера, на липидный обмен дрожжевых клеток.

**Кальций.** Кальций играет роль активатора в микробной клетке и обнаруживается в ней как в свободной форме, так и в связанной с протеинами, углеводами и липидами. Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  могут связываться с АТФ наряду с  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ . Кальций является кофактором транскетолазы хлебопекарных дрожжей и ингибитором некоторых ферментов, например пирофосфатазы, энолазы и адено-зинтрифосфатазы. Повышенное содержание солей кальция угнетает размножение дрожжей, снижает накопление в них гликогена и повышает содержание стерина. Так, при содержании  $\text{Ca}^{2+}$  до 40 мг на 1 л среды стимулируется размножение дрожжей, при большем оно угнетается.

**Микроэлементы.** Микроэлементы также имеют важное значение для размножения и жизнедеятельности дрожжей, входя в состав ферментов, витаминов и других соединений, участвующих в их синтезе. Они влияют на скорость и характер различных биохимических процессов. Например, кобальт стимулирует размножение дрожжей, повышает содержание в клетках азотистых веществ небелковой природы, прежде всего ДНК, РНК и свободных аминокислот. Он стимулирует также синтез витаминов — рибофлавина и аскорбиновой кислоты. Стимулирующее действие микроэлементов объясняется тем, что они образуют с ферментами металлорганические и внутрикомплексные соединения. Получаемый эффект зависит от прочности связи фермента с молекулой субстрата или активации субстрата в промежуточном активном комплексе.

**Витамины и другие факторы роста дрожжей.** Для нормального развития и спиртового брожения дрожжи нуждаются в витаминах, которые являются кофакторами многих ферментов. Дрожжи (сахаромицеты) в большей или меньшей мере могут синтезировать все витамины, за исключением биотина, который должен обязательно содержаться в питательной среде.

Ненасыщенные жирные кислоты с 18 атомами углерода, особенно олеиновая, также являются важными ростовыми факторами. Стимулирующее влияние олеиновой кислоты

наблюдается только при малой ее концентрации, не превышающей 0,5 мг/мл. При увеличении концентрации рост дрожжей намного замедляется.

### 3.3. Источники питания

Различают экзогенное и эндогенное питание дрожжей. При экзогенном питании питательные вещества поступают в дрожжевую клетку из внешней среды, при эндогенном дрожжи используют (в основном при голодании) свои резервные вещества: гликоген, трегалозу, липиды, азотистые соединения.

**Углеродное питание.** Дрожжи (*Sacch. cerevisiae*) используют углерод из различных органических соединений: глюкозы, маннозы, галактозы, фруктозы (D-формы). Пентозы *Sacch. cerevisiae* не ассимилирует. В отсутствие гексоз источником углерода для дрожжей могут служить также глицерин, маннит, этиловый и другие спирты, органические кислоты (молочная, уксусная, яблочная, лимонная).

Следует учитывать полиауксию — последовательность потребления различных источников углерода дрожжевой клеткой. При периодическом культивировании в первую очередь потребляются глюкоза и фруктоза. Последовательность усвоения жирных кислот зависит от расы применяемых дрожжей и состава этих кислот. Например, уксусная кислота препятствует потреблению молочной, а молочная — гликолевой. Уксусная кислота и глюкоза усваиваются одновременно. Как правило, в первую очередь усваивается из смеси тот источник углерода, который обеспечивает большую скорость роста дрожжей.

При непрерывном культивировании дрожжей с увеличением скорости разбавления среды в ней остается больше углеродного компонента, который усваивается последним.

Различные виды дрожжей неодинаково относятся к ассимиляции одних и тех же веществ. Например, дикие дрожжи *Cand. natalensis*, *Cand. parapsilosis* хорошо усваивают галактозу, а *Cand. clausenii* совсем не усваивают ее. Дрожжи *Sacch. cerevisiae* начинают сбраживать галактозу только со вторых суток.

Дисахариды, из которых спиртовые дрожжи усваивают мальтозу и сахарозу, предварительно подвергаются гидролизу соответствующими ферментами дрожжей до моносахаридов. При переходе дрожжей от анаэробных условий к аэробным ослабляется их способность сбраживать глюкозу и мальтозу, а сахаразная активность повышается в 2,5 раза. Дрожжи потребляют мальтозу только при отсутствии в среде фруктозы и глюкозы. Мальтоза сбраживается почти полностью в стационарную фазу роста дрожжей.

Органические кислоты имеют важное значение в метаболизме углерода, энергетическом обмене микроорганизмов, синтетических и диссимиляционных процессах. Использование кислот жирного ряда в качестве источника углерода зависит от вида и расы дрожжей, концентрации кислоты, длины ее углеродной цепи и степени электролитической диссоциации. Хорошими субстратами служат кислоты с длиной углеродной цепи от C<sub>2</sub> до C<sub>4</sub> (уксусная, пировиноградная, молочная, масляная и др.) при сравнительно низкой концентрации. Калийные соли кислот, содержащих в молекуле от 2 до 5 атомов углерода, стимулируют рост дрожжей в 1,4—3,3 раза по сравнению с соответствующими кислотами.

Жирные кислоты со средней длиной углеродной цепи (от C<sub>6</sub> до C<sub>10</sub>) в меньшей мере потребляются дрожжами и при очень низких концентрациях в среде (0,02—0,05%). Более высокие концентрации их подавляют развитие дрожжей. Жирные кислоты с 12—17 атомами углерода в молекуле потребляются избирательно в зависимости от рода и вида дрожжей.

Любой из промежуточных продуктов цикла Кребса (пировиноградная, лимонная, янтарная, фумаровая, яблочная кислоты) дрожжи могут использовать в качестве единственного источника углерода.

**Азотное питание.** Дрожжи способны синтезировать все аминокислоты, входящие в состав их белка, непосредственно из неорганических азотистых соединений при использовании в качестве источника углерода органических соединений — промежуточных продуктов распада углеводов, которые образуются при дыхании и брожении.

Дрожжи *Sacch. cerevisiae* усваивают лишь две формы азота: аммиачный и органических веществ. Они эффективно используют азот сульфата и фосфата аммония, мочевины, аммиачных солей уксусной, молочной, яблочной и янтарной кислот. В присутствии сбраживаемых Сахаров аммиачные соли являются для дрожжей источником лишь азота; однако при потреблении его освобождаются кислоты, изменяющие рН среды. Аммиачный азот усваивается дрожжами лучше, чем азот многих аминокислот.

Аминокислоты являются одновременно источником азота и углерода, причем последний усваивается из кетокислот, образующихся в результате отщепления аминогрупп. Возможна и непосредственная ассимиляция аминокислот из питательной среды, содержащей их полный набор и какой-либо сбраживаемый сахар. Вследствие этого снижается расход сахара среды на питание дрожжей и несколько увеличивается выход спирта при брожении.

Ассимиляция аминокислот обеспечивает синтез белка, в том числе и ферментов, активирует некоторые уже имеющиеся в клетке ферменты, ускоряет процесс почкования дрожжевых клеток.

Для потребления органического азота (аминокислот, амидов) многим дрожжам необходимы витамины (биотин, пантотеновая кислота, тиамин, пиридоксин и др.). Такие азотистые соединения, как белки, бетаин, холин, пурины и амины в виде этиламина, пропил- и бутиламина, дрожжи не усваивают. Пептиды занимают среднее положение между аминокислотами и белками. Потребление пептидов снижается с повышением их сложности. Присутствие некоторого количества пептидов в среде наряду с другими формами азота способствует потреблению аминокислот.

На образование 10 млрд. дрожжевых клеток расход азота в условиях анаэробноза составляет 66—77 мг, в условиях аэробноза 37—53 мг. По содержанию азота в дрожжах судят об условиях их культивирования и физиологическом состоянии. Содержание азота в дрожжах кроме аэрации зависит от состава среды, количества дополнительно вводимых питательных веществ и от расы дрожжей. Общего азота в дрожжах спиртовых заводов содержится 7—10% (иногда до 12%) на сухое вещество.

**Фосфорное питание.** В анаэробных условиях дрожжи усваивают фосфор главным образом в начальный период брожения, когда потребление его составляет 80—90% от максимального содержания в дрожжах. Молодые, энергично размножающиеся дрожжевые клетки богаче фосфором по сравнению с неподходящими старыми. Например, после 6 часов брожения дрожжи содержат 2,15% фосфора на сухое вещество, к концу брожения — только 1%.

В сусле из крахмалистого сырья содержится достаточное количество усваиваемых дрожжами фосфорсодержащих соединений, в мелассном сусле их недостаточно, и приходится добавлять ортофосфорную кислоту.

Скорость роста дрожжей зависит от разности осмотического давления в клетке и в сусле. Чем она больше, тем быстрее размножаются дрожжи. Поэтому более активное

физиологическое состояние дрожжей наблюдается при сбраживании мелассы по двухпоточному способу.

При обработке спиртовых дрожжей ультразвуком в несколько раз возрастает активность инвертазы, в некоторых случаях стимулируется их рост. Воздействием на хлебопекарные дрожжи ультразвуком частотой 425 кГц в течение 1 ч повышают бродильную энергию и подъемную силу на 15—18%; при частоте 380 и 740 кГц увеличивается содержание эргостерина на 45—60%.

Под влиянием  $\gamma$ -лучей у винных дрожжей повышается бродильная, у хлебопекарных — мальтазная активность. Если дрожжи облучать ультрафиолетовыми УФ-лучами, то они теряют способность синтезировать лейцин, изолейцин и валин. Таким образом, были получены мутанты, не образующие изоамилового и изобутилового спирта. При обработке хлебопекарных дрожжей УФ-лучами и этиленамином селекционированы мутанты, превышающие в 2—5 раз контрольные дрожжи по мальтазной активности.

Спирты, эфиры и слабые растворы щелочей растворяют липоидные вещества клеток дрожжей. Спирты даже в небольших концентрациях (3—4%) тормозят почкование дрожжей. Однако в непрерывном потоке сбраживаемой среды дрожжи способны размножаться при относительно высокой концентрации спирта (7—8 об. %) и продолжать сбраживать сахара до концентрации спирта 10—12 об. %. Размножение дрожжей при непрерывном брожении зависит главным образом от содержания питательных веществ, а не от содержания спирта в среде.

Формалин, кислоты и соли тяжелых металлов относятся к плазматическим ядам. Небольшое количество формалина (0,09%) нарушает нормальную жизнь и деятельность дрожжей, а доза формалина 0,001% тормозит почкование дрожжевых клеток. Обычно дозы веществ, снижающие бродильную энергию дрожжей, значительно выше доз, задерживающих почкование.

Сернистая, азотистая и фтористо-водородная кислоты и их соли в очень малых концентрациях препятствуют нормальному росту дрожжей: диоксид серы в концентрации 0,0025%, нитриты — 0,0005%. При содержании в мелассе 0,02% диоксида серы качество дрожжей значительно ухудшается — они быстро темнеют, понижаются их подъемная сила и стойкость при хранении.

В растворах серной кислоты концентрацией 0,35—0,6% через 15 мин все клетки дрожжей сохраняют жизнеспособность; через 24 ч насчитывается лишь 2% мертвых клеток. Молочнокислые бактерии в 0,15%-ном растворе серной кислоты уже через 2 часа погибают, в 0,5%-ном растворе в течение такого же времени погибают все бактерии. Дикie дрожжи могут переносить воздействие 1,3%-коп. серной кислоты в течение 2 часов.

Свободные органические кислоты оказывают большее ингибирующее действие на дрожжи, чем их соли. Летучие органические кислоты даже в незначительных концентрациях подавляют размножение и ускоряют отмирание дрожжевых клеток. Наиболее сильными ингибиторами для дрожжей являются масляная и капроновая кислоты. Особенно чувствительны дрожжи к летучим органическим кислотам при снижении pH среды до 4. При этом через одни сутки в дрожжевой популяции наблюдается большое количество плазмолитизированных клеток и почек.

При большом засеве дрожжей (120—150 млн. клеток на 1 мл) и при pH бражки 5,1 дрожжи расы В имели коэффициент размножения в контроле 2,1, а при содержании 0,02% масляной кислоты — 1,2; при содержании 0,02% капроновой кислоты — 1,15. Количество мертвых клеток дрожжей рас В и Я составляло 21 — 52%. В присутствии

пропионовой кислоты коэффициент размножения дрожжей рас В и Я в 1,5, а количество мертвых клеток — в 2 раза меньше, чем в контроле.

Муравьиная кислота снижает коэффициент размножения дрожжей, не вызывая отмирания клеток. Сравнительно слабым ингибитором для дрожжей является уксусная кислота.

Снижение выхода спирта при сбраживании синтетической среды Ридер с 13% сахарозы дрожжами расы В и Я наблюдается при следующих концентрациях летучих органических кислот в сбраживаемой среде (в масляной 0,045, капроновой 0,055, муравьиной 0,09, пропионовой 0,12 и уксусной 0,45). В этих же условиях не снижается спиртообразование у дрожжей рас Г-176 и Г-202. Указанным концентрациям кислот в 22%-ной мелассной рассиропке соответствует содержание их в мелассе (в %): масляной 0,2, капроновой 0,5 и уксусной 2,0. Наиболее часто в мелассе органических кислот значительно меньше, лишь в некоторых случаях содержание муравьиной и пропионовой кислот близко к концентрациям, при которых снижается выход спирта.

В присутствии масляной и капроновой кислот процесс образования высших спиртов в значительной мере блокируется независимо от расы дрожжей.

Некоторые тяжелые металлы в весьма малых концентрациях убивают дрожжевые клетки (серебро—0,000001%, медь — 0,005%), а в концентрациях, не поддающихся определению химическим анализом, тормозят рост дрожжей. Бактерицидное действие тяжелых металлов зависит от состава среды, ее кислотности, температуры и плотности дрожжевой популяции. Например, соли меди в кислых средах более ядовиты, соли серебра проявляют более сильное бактерицидное действие в виде аммиачных растворов.

Присутствие фурфуrolа в сбраживаемой среде уменьшает количество почкующихся клеток и их размер. Даже незначительное содержание фурфуrolа снижает мальтазную и зимазную активность выделенных из мелассной бражки дрожжей.

Сульфенол в небольших концентрациях (70—100 г на 1 тонну мелассы) не влияет на жизнедеятельность дрожжей и подавляет молочнокислую микрофлору. Хлор, хлорная известь, марганцовокислый калий, сильно окисляя органические вещества, разрушают их.

В бражках с повышенным содержанием ионов Са, Mg, Fe у дрожжевых клеток теряется водная оболочка, в связи с чем уменьшаются ионная сфера и электрический заряд на поверхности клеток и создаются условия для агглютинации дрожжей.

Спиртовые расы дрожжей имеют отрицательный электрокинетический потенциал — от —7 до —13 мВ, вследствие чего они адсорбируют на своей поверхности меланоидины, которые имеют положительный потенциал. С понижением рН среды электрокинетический потенциал меланоидинов возрастает, в связи с чем увеличивается степень адсорбции их на дрожжевых клетках. Меланоидины придают дрожжам темный цвет, способствуют отмиранию дрожжевых клеток и, следовательно, снижению их ферментативной активности, в частности активности инвертазы и каталазы. При содержании в сбраживаемой среде меланоидинов от 0,005 до 0,3 г на 100 мл через 24 ч популяция дрожжей уменьшается в 1,3—2 раза. Следует помнить, что меланоидины образуются в процессе разваривания крахмалистого сырья.

Десорбция красящих веществ с поверхности дрожжевой клетки проходит интенсивно при рН промывной воды выше 9. При рН около 3 красящие вещества не десорбируются.

Многие ферменты дрожжей активируются в присутствии незначительных количеств сульфгидрильных соединений, содержащих SH-группы, таких, как цистеин, глутатион. Эти соединения легко превращаются одно в другое, имеют важное значение в активировании и регулировании действия многих окислительно-восстановительных и

гидролитических ферментов, определяющих жизнедеятельность и обменные процессы микроорганизмов.

### 3.4. Анаэробный распад углеводов

Ферментативная диссимиляция углеводов в анаэробных условиях, происходящая с выделением энергии и приводящая к образованию продуктов неполного окисления, называется брожением.

При брожении акцептором водорода служат органические соединения, получающиеся в реакции окисления (например, уксусный альдегид при спиртовом брожении); кислород в этих реакциях не участвует.

На рисунке приведена схема химических превращений при спиртовом брожении глюкозы.

1. Образуются фосфорные эфиры сахаров. Под действием фермента гексокиназы и адениловых кислот, являющихся донаторами и акцепторами фосфорной кислоты, глюкоза превращается в глюкопиранозо-6-фосфат. Адениловые кислоты в дрожжах содержатся в виде аденозинмонофосфата (АМФ), аденозиндифосфата (АДФ) и аденозинтрифосфата (АТФ). Гексокиназа катализирует перенос одной фосфорной группы с АТФ на глюкозу. При этом АТФ превращается в АДФ, а остаток фосфорной кислоты присоединяется по месту шестого углеродного атома. Действие фермента активируется ионами магния. Подобным образом происходит превращение D-фруктозы и D-маннозы. Глюкокиназная реакция определяет скорость процесса брожения.

2. Глюкозо-6-фосфат под действием фермента глюкозофосфат — изомеразы подвергается изомеризации — превращению в фруктозо-6-фосфат. Реакция обратима и сдвинута в сторону фруктозо-6-фосфата.

3. Фруктозо-6-фосфат под действием фермента фосфофруктокиназы присоединяет по месту первого углеродного атома второй остаток фосфорной кислоты за счет АТФ и превращает в фруктозо-1,6-дифосфат. Эта реакция практически необратима. Молекула сахара переходит в оксоформу и становится лабильной, способной к дальнейшему превращению, так как ослабляется связь между третьим и четвертым углеродными атомами.

4. Под действием фермента альдолазы (активируемой ионами  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ ) фруктозе-1,6-дифосфат распадается на две фосфотриозы — 3-фосфоглицериновый альдегид и фосфодиоксиацетон. Эта реакция обратима.

5. Между фосфотриозами происходит реакция изомеризации, катализируемая ферментом триозофосфатизомеразой. Равновесие устанавливается при 95% 3-фосфоглицеринового альдегида и 5% фосфодиоксиацетона.

6. В индукционный период, пока в качестве промежуточного продукта не образовался уксусный альдегид, между двумя молекулами 3-фосфоглицеринового альдегида под действием фермента альдегидмутазы при участии молекулы воды происходит реакция дисмутации.

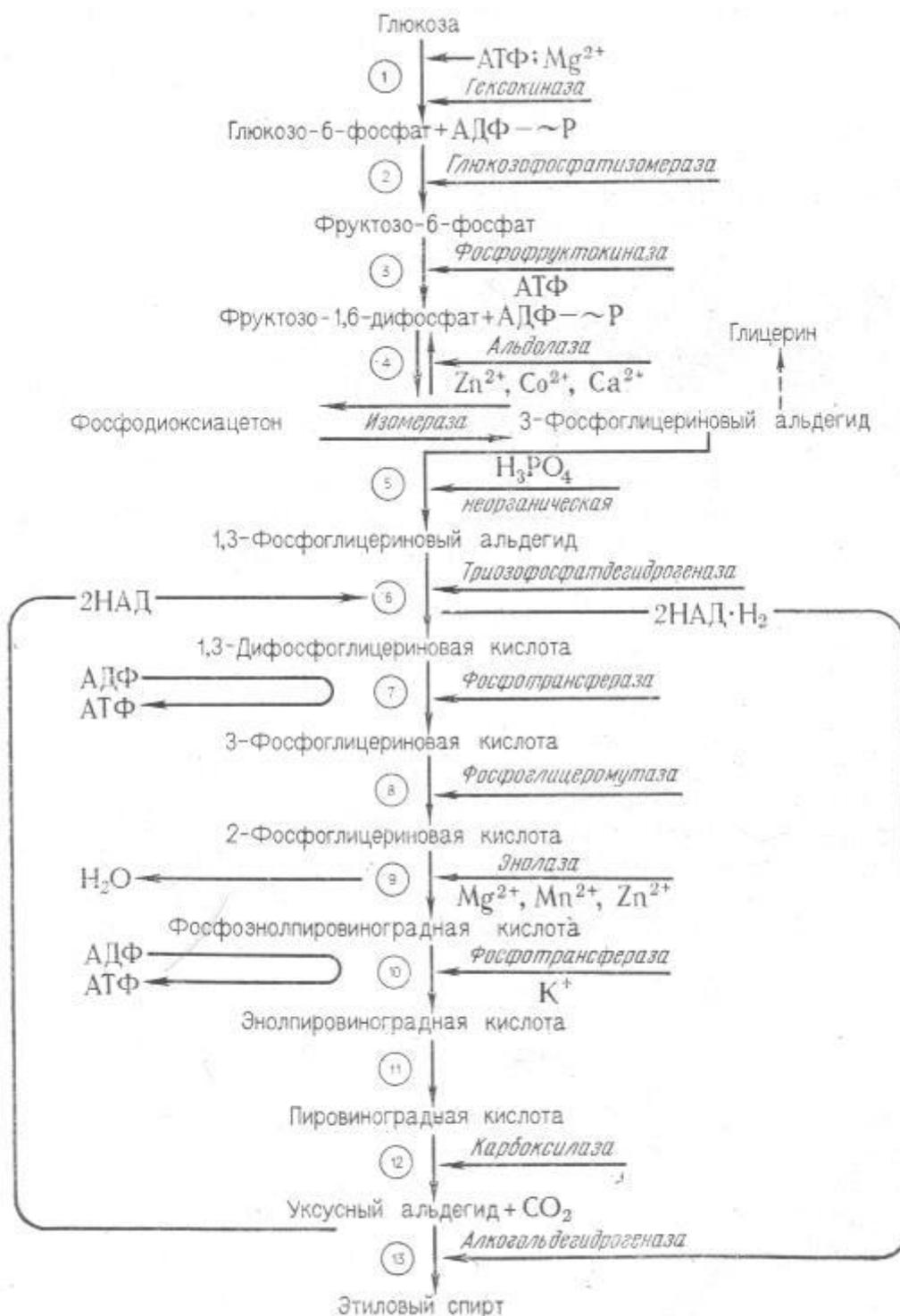


Схема спиртового брожения глюкозы.

При этом одна молекула фосфоглицеринового альдегида восстанавливается, образуя фосфоглицерин, другая окисляется в 3-фосфоглицериновую кислоту. Фосфоглицерин в

дальнейших реакциях не участвует и после отщепления фосфорной кислоты является побочным продуктом спиртового брожения.

При установившемся процессе окисление 3-фосфоглицеринового альдегида в 3-фосфоглицериновую кислоту происходит сложным путем. Вначале он превращается в 1,3-дифосфоглицериновый альдегид, присоединяя остаток неорганической фосфорной кислоты, затем под действием фермента триозофосфатдегидрогеназы в присутствии НАД (никотинамидадениндинуклеотида) окисляется в 1,3-дифосфо-глицериновую кислоту. НАД, вступая в соединение со специфическим белком, образует анаэробную дегидрогеназу, обладающую способностью отнимать водород непосредственно от фосфоглицеринового альдегида и других органических соединений.

7. При участии фермента фосфотрансферазы остаток фосфорной кислоты, содержащий макроэргическую связь, передается с 1,3-дифосфоглицериновой кислоты на АДФ с образованием АТФ и 3-фосфоглицериновой кислоты. Энергия, освобождающаяся при окислении фосфоглицеринового альдегида, резервируется в АТФ.

8. Под действием фермента фосфоглицеромутазы 3-фосфоглицериновая кислота изомеризуется в 2-фосфоглицериновую кислоту.

9. В результате отдачи воды, вызываемой перераспределением внутримолекулярной энергии, 2-фосфоглицериновая кислота превращается в фосфоэнолпировиноградную кислоту, содержащую макроэргическую связь. Реакцию катализирует энолаза, активируемая ионами  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ .

Максимальное действие энолазы проявляется в интервале рН 5,2—5,5. При рН 4,2 молекулы энолазы агрегируются, при рН 3—4 необратимо денатурируются.

10. Под действием фермента фосфотрансферазы в присутствии ионов  $K^+$  остаток фосфорной кислоты передается от фосфоэнолпировиноградной кислоты на АДФ, резервируя энергию в АТФ.

11. Образовавшаяся энолпировиноградная кислота превращается в более стабильную кетоформу.

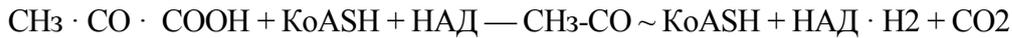
12. Под действием фермента карбоксилазы от пировиноградной кислоты отщепляется диоксид углерода и образуется уксусный альдегид.

13. Фермент алкогольдегидрогеназа переносит водород с восстановленного НАД-Н<sub>2</sub> на уксусный альдегид, в результате чего образуется этиловый спирт и регенерируется НАД.

### 3.5. Аэробный распад углеводов

В условиях аэробнозиса распад углеводов до образования пировиноградной кислоты происходит так же, как и при анаэробнозисе, но в отличие от него пировиноградная кислота полностью окисляется до диоксида углерода и воды в цикле трикарбоновых кислот — ЦТК (цикле Кребса, лимоннокислотном цикле). В этом цикле последовательно протекают окислительно-восстановительные реакции, в которых под действием специфических дегидрогеназ происходит перенос водорода на молекулярный кислород — конечный его акцептор. Однако перенос осуществляется не непосредственно, а через молекулы-переносчики, образующие так называемую дыхательную цепь. Схема химических превращений при аэробном распаде глюкозы приведена ниже.

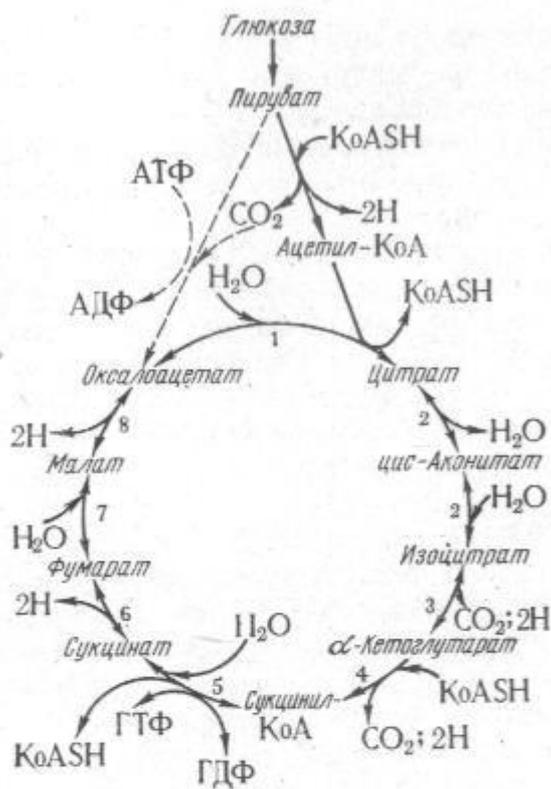
При катаболизме глюкозы образуются две молекулы пировиноградной кислоты. Вначале одна из них подвергается реакциям окислительного декарбоксилирования, в результате которых образуется ацетил-КоА (активированная уксусная кислота):



Вторая молекула пировиноградной кислоты под действием фермента пируваткарбоксилазы конденсируется с молекулой диоксида углерода с образованием щавелевоуксусной кислоты:



При установившемся цикле щавелевоуксусная кислота образуется из яблочной (малата). Собственно ЦТК начинается с конденсации ацетил-КоА с молекулой щавелевоуксусной кислоты (оксалоацетата), катализируемой ферментом цитратсинтазой. Продуктами реакции являются лимонная кислота (цитрат) и свободный кофермент А:



### Цикл трикарбоновых кислот:

1 — цитратконденсирующий фермент [цитратсинтаза, цитрат-оксалоацетатлиаза (ацетилирующая КоА), цитрогеназа]; 2 — аконитаза (аконитатгидратаза); 3 — изоцитратдегидрогеназа ( $D_5$ -изоцитрат; НАД-оксидоредуктаза); 4 —  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа (комплекс ферментов); 5 — сукцинатилкиназа [сукцинил-КоА-синтетаза; сукцинат: КоА-лигаза (ГДФ)]; 6 — сукцинатдегидрогеназа [—(акцептор) — оксидоредуктаза]; 7 — фумараза (фумаратгидратаза); 8 — малатдегидрогеназа ( $L$ -малат; НАД-оксидоредуктаза).

Дальнейшие превращения видны из схемы на рисунке.

За один оборот молекулы пировиноградной кислоты присоединяется 3 молекулы  $\text{H}_2\text{O}$ , выделяется 5  $\text{H}_2$  и образуется 3 молекулы  $\text{CO}_2$ :



В ЦТК «сжигаются» не только углеводы, но и жирные кислоты (после предварительной деградации до ацетил-КоА), а также многие аминокислоты (после удаления аминогруппы в реакциях дезаминирования или переаминирования).

Аэробный и анаэробный распад углеводов доставляет дрожжам энергию и обеспечивает процессы синтеза биомассы различными предшественниками. Из щавелевоуксусной и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислот в результате восстановительного аминирования и переаминирования образуются соответственно аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Аспарагиновая кислота может образовываться также из фумаровой кислоты. Синтез этих двух аминокислот занимает главное место в синтезе белков из

углеводов. При конденсации фосфодиоксиацетона с альдегидами могут образовываться пентозы, гексозы и различные полисахариды. Для синтеза биомассы дрожжи используют и другие — анаэробные — пути, например пентозофосфатный путь. Пентозофосфаты являются предшественниками нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

Так как при полном окислении сахара значительно больше освобождается энергии и образуется реакционноспособных метаболитов для синтетических процессов, то возрастает скорость размножения и увеличивается биомасса дрожжей.

### **3.6. Расход сахара на биосинтетические процессы и продукты брожения**

Дрожжегенерирование — сложный биохимический процесс, состоящий из взаимосвязанных и тесно переплетающихся биохимических реакций, поэтому точно рассчитать расход питательных веществ на продукты дрожжегенерирования невозможно. В приближенных теоретических расчетах пользуются суммарными уравнениями процессов брожения и биосинтеза.

Анализ различных способов получения дрожжей из мелассы показывает, что наибольший экономический коэффициент — процент сахара, израсходованного на получение товарной продукции, за вычетом потерь — получается при спиртовом брожении с утилизацией дрожжей (64,6%). На специализированных дрожжевых заводах экономический коэффициент ниже (42—45%).

В процессе дрожжегенерирования сахар расходуется на получение трех основных продуктов: дрожжей, спирта и диоксида углерода. Чтобы максимально использовать сахар, необходимо утилизировать все названные продукты. При спиртовом брожении сахар, например, содержащийся в мелассе, расходуется на образование следующих веществ: этилового спирта (46—47,6%); диоксида углерода [в соответствии с количеством этилового спирта (44 — 45,5%)]; биомассы дрожжей (1,8—4%); глицерина (3,2—4,5%); высших спиртов (0,28—0,7%); альдегидов (0,1—0,2%); органических кислот (0,2—1%). Потери несброженного сахара в бражке 2,1—2,8%. Общие потери сахара в процессе сбраживания 7—12% к введенному в производство. Соответственно и выход спирта составляет 88—93% к теоретическому.

На количество образовавшегося при спиртовом брожении глицерина влияют состав сбраживаемой среды и ее физико-химические показатели.

Расход сахара на образование биомассы дрожжей и их жизнедеятельность зависит от направленности процесса. Так, при работе по схеме с выделением дрожжей из зрелой мелассной бражки и использованием их в качестве хлебопекарных стремятся накопить возможно больше дрожжей. Дрожжи можно многократно возвращать на сбраживание, что сокращает расход сахара на образование биомассы дрожжей. Энергия брожения дрожжей при их 2—4-кратном возврате не только не снижается, но даже несколько повышается. Кроме того, при многократном использовании увеличивается общее число дрожжевых клеток и возрастает интенсивность брожения.

При сбраживании суслу в зрелой бражке содержится 20—35 г дрожжей 75%-ной влажности в 1 л. В условиях анаэробного дыхания на образование 1 г дрожжей указанной влажности расходуется 0,4 г сахарозы, следовательно, на получение 20—50 г дрожжей потребляется 8—14 г сахара, или 6—11%.

На дыхание дрожжей при дрожжегенерировании в спиртовом производстве расходуется значительное количество сахара — 6—15% от общего его расхода в этом процессе, или 2—5% от всех сбраживаемых Сахаров, содержащихся в среде дрожжегенераторов. Расход сахара на дыхание при различных условиях дрожжегенерирования неодинаков и зависит от его концентрации в среде, скорости

насыщения среды кислородом, температуры и других условий. Поэтому есть еще значительные резервы повышения выхода спирта при переработке мелассы.

Согласно уравнению брожения в этиловый спирт переходит 66,7% углерода сахара, в CO<sub>2</sub> — 33,3%. Соотношение между количествами углерода, идущими на построение биомассы и на дыхание, непостоянно и зависит от концентрации сахара в среде, температуры и других условий. С повышением концентрации сахара от 1 до 4% количество углерода, используемого на построение биомассы, увеличивается с 52—55 до 60-61% и соответственно уменьшается на образование CO<sub>2</sub> при дыхании, т. е. процесс становится более экономичным.

С понижением температуры среды значительно уменьшается удельный расход сахара на дыхание: при 30°C он равен 0,22, при 20°C — 0,13, при 15°C — 0,075 г на 1 г прессованных дрожжей. При 36°C удельный расход сахара на дыхание также ниже, чем при 30°C (0,2 г/г).

Коэффициенты полезно использованного углерода при концентрации сахара в среде 2,2% и температурах 15, 20, 25, 30 и 36°C соответственно равны 71,6; 67,4; 60,7; 58,5 и 62,7%.

С повышением интенсивности окислительных процессов (с увеличением интенсивности аэрации) выход дрожжей по массе сахара, израсходованного в процессе биосинтеза, уменьшается.

### **3.7. Биотехнологические свойства хлебопекарных дрожжей**

Вид: *S. cerevisiae*

1. Высокая бродильная активность (скорость образования CO<sub>2</sub>)
2. Высокая продуктивность (скорость роста)
3. Высокая подъемная сила (не более 70 мин до 70 мм)
4. Высокая зимазная (-фруктофуранозидазная, 45-60 мин) и мальтазная (-глюкозидазная, 60-90 мин) активности.
5. Высокая стойкость при хранении в прессованном и сушеном виде (0-20°C не менее 20 сут.)
6. Устойчивость к мелассной среде (к резким изменениям состава среды, особенно к большим концентрациям солей и СВ)

Расы и штаммы хлебопекарных дрожжей

С 1860 г. по 1939 на дрожжевом производстве используются спиртовые расы дрожжей, не специализированные.

В 1939 г. была выделена раса Томская. Она неплохая, но требовательна к ростовым ввам и имеет низкую мальтазную активность (160 мин).

Одесская раса 14: выделена в 1954 г. из импортных сушеных дрожжей. По всем параметрам лучше Томской (кроме ростовых вв) и является основой для селекции остальных дрожжей.

В настоящее время выбор хлебопекарных рас большой.

Штамм Я-1: устойчив к Т (до 37-38°C), подходит для южных районов.

Гибриды Г-176, Г-262, Г-296-6: зимаз. 42-57, мальт. 65-75; для получения сушеных дрожжей, т.к. содержат много трегалозы (до 8,7%).

Г-512: триплоид, с повышенным синтезом витаминов.

ЛВ-7, 739, 722, Л-1-Л-3 и много других.

Имеется зависимость: штаммы, обладающие наибольшей бродильной активностью, хуже сохраняются и теряют свои свойства при высушивании.

### **3.8. Активация хлебопекарных дрожжей и современный подход к ее оценке**

Активацию дрожжей можно рассматривать как более раннюю стадию адаптации дрожжевых клеток к мальтозно–мучной среде, способствующую интенсификации процесса.

Направления улучшения свойств хлебопекарных дрожжей:

методы активации хлебопекарных дрожжей, теоретической основой которых является интенсификация адаптации дрожжевых клеток к анаэробно–мальтозной среде;

методы химического воздействия, обуславливающие интенсификацию транспорта питательных веществ в дрожжевую клетку через цитоплазматическую мембрану путем воздействия на ее микровязкость различными методами;

методы физического воздействия, обуславливающие повышение производительности клеточных биомембран и изменение энергетического состояния участников биохимических реакций;

методы стабилизации биотехнологических свойств хлебопекарных дрожжей на основе регулирования активности ферментов дрожжевых клеток, регулирования влажности дрожжевой биомассы.

В предварительной фазе происходит переключение внутренней структуры дрожжей с дыхательного типа жизнедеятельности на бродильный.

Вторая стадия адаптации дрожжей связана с индуцированием в их клетках мальтазы под влиянием мальтозы.

К физико–химическим способам повышения активности хлебопекарных дрожжей относятся обработка их водной суспензии на установке с гидродинамическим вибратором звуковой и ультразвуковой частоты, магнитное, электрохимическое и лазерное воздействие.

Согласно теоретическому объяснению этого процесса, в этой предварительной фазе происходит активация прессованных дрожжей, связанная с необходимостью определенного периода для переключения внутренней структуры дрожжей с дыхательного типа жизнедеятельности (который был им характерен при выращивании в условиях усиленной аэрации среды) на бродильный для анаэробных условий мучных полуфабрикатов. Первая стадия происходит при их суспензировании в воде перед замесом мучного полуфабриката путем переключения дрожжевых клеток с дыхания на брожение. Поскольку дыхательные ферменты являются конститутивными ферментами, то есть синтезируются дрожжевой клеткой постоянно и независимо от состава среды и всегда содержатся в их клетках, переключение с дыхания на брожение не требует какого бы то ни было временного периода.

Вторая стадия адаптации дрожжей связана с индуцированием в их клетках мальтазы под влиянием мальтозы. Критерием адаптированных дрожжей к мучной среде является нарастание скорости газообразования полуфабрикатов до максимума без перепадов.

Для ускорения процесса брожения опары или теста и переключения с дыхания на брожение целесообразно проводить выдерживание дрожжей в небольшом количестве питательной среды, оптимальной по составу для данного процесса.

Направления: улучшения свойств хлебопекарных дрожжей:

методы активации хлебопекарных дрожжей, теоретической основой которых является интенсификация адаптации дрожжевых клеток к анаэробно–мальтозной среде;

методы химического воздействия, обуславливающие интенсификацию транспорта питательных веществ в дрожжевую клетку через цитоплазматическую мембрану путем воздействия на ее микровязкость различными методами;

методы физического воздействия, обуславливающие повышение производительности клеточных биомембран и изменение энергетического состояния участников биохимических реакций;

методы стабилизации биотехнологических свойств хлебопекарных дрожжей на основе регулирования активности ферментов дрожжевых клеток, регулирования влажности дрожжевой биомассы.

Первая стадия происходит при их суспензировании в воде перед замесом мучного полуфабриката путем переключения дрожжевых клеток с дыхания на брожение. Поскольку дыхательные ферменты являются конститутивными ферментами, то есть синтезируется дрожжевой клеткой постоянно и независимо от состава среды и всегда содержатся в их клетках, переключение с дыхания на брожение не требует какого бы то ни было временного периода.

Вторая стадия адаптации дрожжей связана с индуцированием в их клетках мальтазы под влиянием мальтозы. Критерием адаптированных дрожжей к мучной среде является нарастание скорости газообразования полуфабрикатов до максимума без перепадов.

Для ускорения процесса брожения опары или теста и переключения с дыхания на брожение целесообразно проводить выдерживание дрожжей в небольшом количестве питательной среды, оптимальной по составу для данного процесса.

Группы вносимых ингредиентов для оптимизации питательных сред по вызываемому ими эффекту:

--внесение минеральных солей (сульфата аммония, магния, кальция, цинка, марганца, гидрофосфата калия, триполифосфата натрия и других);

--использование сахара и сахаросодержащих продуктов (сахар–песок, свекольный порошок, яблочный порошок, концентрат квасного сусла, тыквенный порошок);

--применение различных ферментативных гидролизатов приготовленных на основе муки, крахмального молока, заварки, крахмала–сырца;

--применение гидролизованной молочной сыворотки;

--добавление автолизатов пивных дрожжей, альбуминового молока, белковых сывороточных концентратов.

Предусмотрено проведение активации дрожжей в средах:

-- муки и воды;

--муки, воды, амилоризина П10х или комплексных хлебопекарных улучшителей;

-- муки, воды в смеси с высокосахаренным ферментным полуфабрикатом;

--муки, воды, заварок.

Различают семь основных типов брожения: спиртовое, молочнокислое гомо- и гетероферментативное, пропионовокислое, бутиленгликолевое, ацетонэтиловое, маслянокислое. Для пшеничного теста при нормальном протекании брожения свойственно следующие типы брожения : спиртовое, молочнокислое(гомо и гетероферментативны, пропионовокислое, с образованием этилового спирта и ряда органических кислот: молочной , лимонной, яблочной, янтарной и уксусной.

Суммарное уравнение спиртового брожения может быть выражено следующим образом:  $C_6H_{12}O_6 = 2 C_2H_5OH + 2 CO_2$

При гомоферментативном молочнокислом брожении:

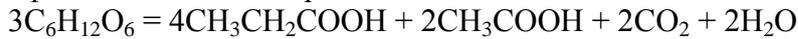


Гетероферментативное





Пропионовокислое брожение



**Сущность стабилизации состоит** в частичном обезвоживании клеток и тем самым снижении их общей влажности.

Две основные группы способов повышения стабильности свойств дрожжей при хранении:

1) способы воздействия на дрожжевые клетки в процессе их роста (особые штаммы дрожжей, оптимизация способов и технологических параметров дрожжерастительного процесса, поддержание стерильных условий и т.п.),

2) способы обработки дрожжей на последних стадиях технологического процесса их производства (перед прессованием, во время формования и т.п.).

Для этой цели в основном используют соединения различного строения и механизма действия.

По типу воздействия эти вещества можно классифицировать на 5 больших групп:

- вещества, регулирующие влажность дрожжей
- поверхностно-активные вещества
- антиокислители и их синергисты, а также окислители
- вещества регулирующие контакт клеток с окружающей средой
- вещества, воздействующие на микрофлору дрожжей

Одним из простых способов стабилизации дрожжей является снижение содержания общей влаги – вне- и внутриклеточной.

Наиболее эффективным является введение в дрожжевую суспензию гидрофильных, гидрофобных или осмотически-активных веществ. Эти вещества приводят к выделению части воды во внеклеточное пространство, частичному обезвоживанию клеток и тем самым снижению их общей влажности.

Существует несколько классификаций молочнокислых бактерий, основные из которых предложены Кнудсенем, Селибером, Штехером, Ауэрманом.

В мировой практике технологическое достоинство дрожжей однозначно оценивается только по их ферментативной активности, методики определения которой можно разбить на 3 большие группы:

- 1) По качеству выделенного  $\text{CO}_2$ 
  - а) Манометрические способы
  - б) Волюмометрические способы
- 2) По скорости сбраживания сахаров
  - а) По времени подъема теста на определенную высоту
  - б) По времени выделения определенного объема  $\text{CO}_2$
- 3) Другие способы:
  - а) По содержанию эргостерина, холестерина
  - б) По кислотности дрожжей
  - в) По осмочувствительности дрожжей
  - г) По активности протеолитических ферментов
  - д) По содержанию трегалоз

Для повышения биологической активности различных объектов предложены магнитные, термические, электрохимические, ИК- способы, способы обработки лазерным излучением и др.

Наиболее рациональные параметры электрохимического воздействия, при которых конгломераты дрожжевых клеток полностью разрушались. Это обусловлено

снижением величины поверхностного натяжения на границе раздела жидкой и твердой фаз.

Проведение электрохимической обработки дрожжевого молока, прессованных дрожжей и сушеных дрожжей в зерновых гидролизатах приводит к увеличению подъемной силы дрожжей в 2–3 раза. Созданная рН среды 4,8–5,2 оптимальна для повышения биотехнологических показателей дрожжевых клеток.

Обоснована целесообразность обработки хлебопекарных дрожжей лазерным с целью повышения их биотехнологических свойств

применяется электронно–ионная технология, т.е. силовое воздействие электрических полей на электроразряженные частицы, что ускоряет производственные процессы, улучшает качество готовой продукции.

Электронно–ионная обработка прессованных дрожжей позволяет увеличить их зимазную активность.

Чистой культурой называют микроорганизмы, выращенные из одной клетки и не содержащие никаких других микроорганизмов, Преимущества применения чистых культур молочнокислых бактерий заключаются в следующем:

--чистые культуры дают возможность пользоваться подходящими разновидностями и штаммами, создавать ими оптимальные условия, получая максимальный эффект в качестве готового продукта;

--вкус хлеба, получаемого на чистых культурах дрожжей и молочнокислых бактерий, определяется подбором этих культур. Пользуясь специфическими свойствами отдельных рас молочнокислых бактерий, в частности, их способностью к кислотообразованию и ароматообразованию, можно путем комбинаций этих бактерий, получать продукты весьма разнообразного вкуса;

--чистые культуры, вносимые в нужном количестве, обеспечивают нормальное брожение в наиболее короткий срок. В частности, чистые культуры молочнокислых бактерий подавляют стороннюю микрофлору муки и гарантируют от случайностей, которые иногда бывают при выведении закваски из муки и дрожжей;

--чистые культуры дают возможность повышать выход продукции за счет более экономной траты муки в процессе брожения;

--с применением чистых культур дрожжей и молочнокислых бактерий получается возможность управлять технологическим процессом.

Рациональная схема приготовления жидких дрожжей включает следующие основные стадии:

--приготовление осахаренной мучной заварки;

--заквашивание заварки термофильными молочнокислыми бактериями;

--выращивание дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* на заквашенной заварке

Процесс приготовления жидких дрожжей включает два цикла – разводочный и производственный.

Разводочный цикл – начальный процесс приготовления жидких дрожжей, заключающийся в постепенном размножении чистых культур термофильных бактерий и дрожжей на жидкой среде (солодовое сусло) и мучной осахаренной заварке до количества, необходимого для производства хлеба.

Производственный цикл приготовления жидких дрожжей осуществляется по двум вариантам:

--приготовление жидких дрожжей на заквашенных заварках без разбавления водой;

--приготовление жидких дрожжей на заквашенных заварках с разбавлением водой.

Из дрожжерастительного чана готовые жидкие дрожжи отбирают в расходный чан. Отбор жидких дрожжей на производство по 1 и 2 вариантам осуществляется в размере 0,5 объема жидких дрожжей через 3–4 ч. Полный оборот дрожжевого чана рассчитан на 8 ч.

Интенсификация хлебопекарного производства и улучшение качества хлебобулочных изделий зависит от свойств исходного сырья, особенно от свойств хлебопекарных дрожжей. Применяемые в хлебопекарной промышленности дрожжи характеризуются нестабильными свойствами, что влияет на качество готового продукта.

Для улучшения качества хлеба и свойств хлебопекарных дрожжей используют различные добавки, вводимые в дрожжи.

Ученые из ГУП ГНИИХП предлагают повысить эффективность прессованных дрожжей, их биохимических и технологических свойств с помощью разработанной ими пищевой добавки.

Пищевая добавка содержит аскорбиновую кислоту, моноглицериды ненасыщенных жирных кислот и липазу. Их соотношение составляет соответственно (2,0-3,0):(90,0-92,0):(0,4-0,6) для безопарного способа приготовления теста или (6,3-6,5):(96,0-98,0):(1,7-1,9) для опарного способа. Изобретение позволяет повысить эффективность действия дрожжей, их биохимических, технологических свойств и вследствие этого улучшить качество хлеба: возрастают его удельный объем, пористость, формоустойчивость.

Изобретение позволяет повысить эффективность действия дрожжей, их биохимических, технологических свойств и вследствие этого улучшить качество хлеба: удельный объем возрастает на 13,2-20,2%, пористость на 2,4-4,6%, формоустойчивость на 10,6-18,6% по сравнению с контролем за счет введения в дрожжи пищевой добавки в количестве 0,078-0,109% к массе дрожжей, включающей аскорбиновую кислоту, моноглицериды ненасыщенных жирных кислот и липазу при их соотношении соответственно (2,0-3,0):(90,0-92,0):(0,4-0,6) для безопарного способа приготовления теста или (6,3-6,5):(96,0-98,0):(1,7-1,9) для опарного способа [3].

#### **Вопросы для самоконтроля**

1. Как влияет активная кислотность среды на жизнедеятельность дрожжей?
2. Какие источники питания дрожжей?
3. Для каких целей проводят активацию дрожжей?
4. Какие методы стабилизации биотехнологических свойств хлебопекарных дрожжей?

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

##### Основная

1. Патент 2267929. Россия. Пищевая добавка для приготовления хлебобулочных изделий, вводимая в дрожжи /Поландова Р.Д., Шлеленко Л.А., Еркинбаева Р.К., Мовсарова З.Х.; ГУП ГНИИХП. –2004.
2. <http://www.webkursovik.ru/kartgotrab.asp>.
3. Пашенко Л.П. Технология хлебобулочных изделий / Л.П. Пашенко, И.М. Жаркова. – М.: «КолосС», 2006. – 389 с.

##### Дополнительная

1. Матвеева, И.В. Биотехнологические основы приготовления хлеба [Текст]. : монография / И.В. Матвеева, И.Г. Белявская –М.: ДеЛи принт, 2001- 150 с. - 300 экз. - ISBN 5-94343-011-3.
2. Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>
3. Журналы: «Пищевая промышленность», «Хлебопечение России».

## Лекция 4

### БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ БРОЖЕНИИ ПШЕНИЧНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ

#### 4.1. Биохимические аспекты приготовления теста

Спиртовое и молочнокислое брожение являются результатом многих сложных химических и биохимических превращений, протекающих под действием ферментов муки, дрожжевых клеток и молочнокислых бактерий.

При этом из теста в клетки дрожжей и кислотообразующих бактерий поступают растворимые продукты, необходимые для их жизнедеятельности (брожения, дыхания, размножения), а из клеток в тесто выделяются основные и побочные продукты брожения.

Наряду с этим, вещества, входящие в состав теста, испытывают комплекс превращений, обусловленных действием ферментов муки и продуктов, выделяемых дрожжами и кислотообразующими бактериями теста. В результате этого состав и свойства теста непрерывно меняются.

Углеводно-амилазный комплекс теста в процессе брожения претерпевает ряд изменений. Собственные сахара муки довольно быстро сбраживаются дрожжами. Крахмал при брожении теста частично осахаривается, превращаясь под действием  $\alpha$ -амилазы муки в мальтозу. Мальтоза  $\alpha$ -глюкозидазой дрожжей гидролизуется на две молекулы глюкозы. Глюкоза зимазным комплексом дрожжей превращается в этанол и диоксид углерода. Высокомолекулярные пентозаны под действием соответствующих ферментов муки также подвергаются гидролизу.

Белковые вещества частично гидролизуются под действием протеолитических ферментов муки, дрожжевых клеток и молочнокислых бактерий. Протеолиз в тесте из муки нормального качества идет медленно, и в основном изменяется структура белковой молекулы. Гидролиз белков до аминокислот практически не происходит. В тесте из сильной муки частичный гидролиз способствует улучшению реологических свойств теста. Протеолиз в тесте необходим также для обеспечения реакции меланоидинообразования. Интенсивность протеолитических процессов не должна превышать оптимума, особенно при переработке слабой муки. Дезинтеграция белков такой муки, в том числе клейковинных, приводит к их неограниченному набуханию и пептизации. Доля жидкой фазы в объеме теста увеличивается, в результате чего тесто разжижается и механическая его разделка и формование чрезвычайно затрудняются. Тестовые заготовки из такого теста расплываются, что отрицательно сказывается на показателях качества готовых изделий. В этих случаях необходимо применять ингибиторы протеолитических ферментов, в качестве которых используют улучшители окислительного действия и специальные технологические приемы. Определенную роль в ингибировании протеаз играет пищевая поваренная соль.

Окраска корки хлеба обуславливается меланоидинами, образующимися в результате взаимодействия восстанавливающих сахаров с продуктами протеолитического распада белков. Поэтому и с этой точки зрения известная степень протеолиза в тесте необходима.

Липиды претерпевают превращения из-за ферментативного гидролиза липазами и окисления продуктов гидролиза липоксигеназой в присутствии кислорода воздуха. Глубина и интенсивность этих процессов зависят от химического состава липидов,

рецептурных компонентов, массовой доли влаги, активности ферментов, наличия кислорода воздуха и др.

Для повышения бродильной активности прессованных дрожжей, периода сокращения адаптации дрожжевых клеток в тесте желательна проводить их активацию. В настоящее время известно ряд способов активации дрожжей.

Дрожжи размножаются при температуре 23-30°C. Прессованные дрожжи стандартного качества должны иметь влажность не более 75%, а подъемную силу 75 мин.

Подъемная сила или быстрота подъема теста - основной показатель качества дрожжей, характеризующий их способность разрыхлить тесто.

Активация дрожжей осуществляется следующим образом. Дрожжи разводят в жидкой питательной среде, которая состоит из муки, воды, солода или сахара, иногда присутствуют и другие добавки, и оставляют на 30-90-мин. Дрожжевые клетки во время активации выходят из состояния анабиоза, ферментная система клеток переключается с аэробного дыхания на анаэробное (безкислородное), повышается мальтазная активность дрожжей, т.к. в питательной среде находится мальтоза. В результате активации подъемная сила дрожжей улучшается, что позволяет несколько снизить их расход на приготовление теста (на 10-20%) или сократить длительность брожения полуфабрикатов, не уменьшая расход дрожжей. Применение активированных дрожжей улучшает вкус и аромат хлеба, повышает его пористость. Кислотность изделий, приготовленных на активированных дрожжах, на 1 град выше обычной.

Активированные дрожжи содержат кислоты, ароматобразующие вещества, заварку. Благодаря им улучшается качество хлеба, особенно при ускоренном приготовлении теста. Контроль качества активированных дрожжей осуществляют по подъемной силе (10-15 мин по всплывающему шарик) и кислотности (2,5-3 град для муки 1 сорта). Активированные готовые дрожжи следует использовать в течение 4 ч. Зачастую сушёные дрожжи активируют также как и прессованные, предварительно размочив их в воде.

В сусло одновременно с чистой культурой дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* вносят препарат в кол-ве 0,1-0,5%. Препарат получают путем разрушения клеточных стенок дрожжей и цитоплазматич. МБ плазмолизом с послед. отделением полученного клеточного сока от взвеси и добавлением к соку 96%-ного этанола в качестве стабилизатора при соотношении 1:1. Культивирование чистой культуры дрожжей осуществляют поэтапно путем их размножения во всевозрастающих количествах сусла и пересевом активно бродящих дрожжей из меньших объемов сусла в большие. При достижении чистой культурой дрожжей концентрации клеток в биомассе чистой культуры дрожжей 160-170 млн/мл процесс разведения прекращают. Готовую биомассу вводят в бродильный аппарат. Способ позволит сократить процесс накопления биомассы чистой культуры дрожжей, увеличить прирост биомассы дрожжей в 2-3 раза, ускорить разбраживание сусла в первые сутки брожения и сократить процесс главного брожения на 2 суток, повысить флокуляционную способность дрожжей, повысить стойкость дрожжей к автолизу, повысить физиологические свойства дрожжей, сохранять физиологические свойства дрожжей в течение последующих трех-четырех поколений

Смесь для активации с использованием солода и соевой муки.

Смесь состоит из муки, воды и заварки, обогащенной неферментированным солодом и соевой мукой. Для заварки: мука пшеничная - 1,3...2,0 кг; вода (95...98°C) -

4,0...6,0 л; белый солод - 0,2 кг. На приготовление фазы активации: заварка - 5,5...8,2 кг; вода холодная - 5,5...5,7 л; мука пшеничная - 1,3...2,0 кг; мука соевая - 0,5 кг; дрожжи - все количество по рецептуре.

Выдержка дрожжей в такой смеси длится от 1 до 3 ч в зависимости от способа приготовления теста, при этом подъемная сила дрожжей с 14 мин уменьшается до 8.

Результат: Способ эффективен, но предусматривает значительный расход муки на активацию, применение дефицитного неферментированного солода и не исключает неравномерную и неполную клейстеризацию крахмала муки при приготовлении заварки. Это отрицательно сказывается на накоплении мальтозы в смеси и, следовательно, на эффекте активации. Расход муки на активацию составляет от 2,6 до 4,0 кг к массе муки в тесте.

Смесь для активации с использованием концентрата квасного сусла.

Эффективны питательные смеси, состоящие из концентрата квасного сусла, минеральных солей и воды. Для улучшения бродильной активности дрожжей в качестве минерального источника используют соли  $\text{KН}_2\text{PО}_4$ ,  $(\text{NH}_4)\text{НPО}_4$  и  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

Концентрат квасного сусла - это полуфабрикат, обогащенный сахарами (мальтоза, глюкоза), аминным азотом, микроэлементами и витаминами. Все вещества, содержатся в дозах, стимулирующих биохимические процессы. Этот компонент питательной смеси ускоряет перестройку дрожжевых клеток с дыхательного на бродильный тип жизнедеятельности.

Для активации дрожжевых клеток рационально вносить в питательную смесь 0,02 - 0,025%  $\text{KН}_2\text{PО}_4$  и 0,5% концентрата квасного сусла и выдерживать их в этой смеси в течение 45 - 60 мин.

Внесение минеральных солей улучшает процесс газообразования при брожении полуфабрикатов, однако наибольший эффект наблюдается при совместном внесении минеральных солей и концентрата. Оптимальная дозировка  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  составляет 0,035%, а  $\text{NH}_4\text{Cl}$  - 0,025% к массе муки в тесте.

Насыщение воздухом или кислородом дрожжевой суспензии с питательными веществами проводят в специальной емкости для активации дрожжей; температура суспензии пресованных дрожжей должна быть в зимний период 30 - 32 °С и в летний - 18 - 20 °С.

Результат: Использование активированных дрожжей улучшает пористость мякиша на 15%, увеличивает объем готовых изделий на 40%, улучшает аромат.

Благодаря применению указанных солей вместе с концентратом квасного сусла плюс аэрированию питательной смеси в период активации происходит эффективная перестройка деятельности дрожжевой клетки с дыхательного на бродильный тип.

Для активации дрожжей также рекомендуется использование побочных продуктов основного производства: размолотых семян томатов, рисовой муки, творожной сыворотки, молочнокислых заквасок.

Смесь для активации можно заменить комплексным улучшителем, так как в состав большинства из них входит активный амилитический фермент ( $\alpha$ -амилаза), соевая мука и улучшитель окислительного действия. Дозировка улучшителя выбирается в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя.

К факторам, влияющим на жизнедеятельность микрофлоры теста, относятся температура, влажность, рН, а также содержание различных веществ (сахара, соли, жира, продуктов обмена и др.).

Дрожжи и молочнокислые бактерии, за исключением палочки Дельбрюка, участвующие в брожении теста, относятся к мезофилам; оптимальная температура их

развития 25—35 °С. Палочка Дельбрюка относится к термофильным микроорганизмам, оптимальная температура развития 48—54 °С.

По отношению к содержанию влаги эти микроорганизмы являются гидрофитами, т. е. влаголюбивыми. Поэтому чем слабее консистенция теста, т. е. больше его влажность, тем активнее развиваются дрожжи и молочнокислые бактерии и быстрее происходит процесс брожения.

Для жизнедеятельности дрожжей и молочнокислых бактерий теста благоприятной является слабокислая среда с оптимальным рН 4—6.

При избыточном добавлении соли спиртовое брожение в тесте замедляется, а при высоких концентрациях (5 % и более к массе муки) практически прекращается в результате увеличения осмотического давления и плазмолиза дрожжевых клеток. Соль тормозит жизнедеятельность кислотообразующих бактерий и снижает скорость накопления кислот.

Влияние сахара на микроорганизмы зависит от его концентрации. При добавлении небольшого количества сахара (до 10 % к массе муки) активность дрожжей и молочнокислых бактерий возрастает, газообразование увеличивается. При внесении больших количеств сахара (до 30 %) скорость газообразования снижается, а при добавлении 40—50 % сахара прекращается совсем в результате плазмолиза, т. е. в данном случае действие сахара аналогично действию соли.

При содержании в тесте жира в количестве 10 % к массе муки и более активность дрожжей и молочнокислых бактерий снижается, так как жиры обволакивают клетки микроорганизмов, и затрудняется прохождение растворимых питательных веществ через клеточную стенку. В результате нарушается обмен веществ.

К продуктам обмена веществ, влияющим на развитие микрофлоры теста, относятся витамины и различные ароматические и вкусовые вещества. Так, при брожении молочнокислые бактерии используют витамин В<sub>2</sub>, выделяемый дрожжами во внешнюю среду, а молочная кислота, образуемая бактериями, создает кислую реакцию среды, благоприятную для развития дрожжей и неблагоприятную для других микроорганизмов.

Для улучшения качества теста и усиления процессов брожения применяют специальные технологические операции: обминку и отсдобку. Обминка — это кратковременный повторный промес теста с целью улучшения структуры теста и получения хлеба с мелкой, тонкостенной и равномерной пористостью мякиша. Обминку производят обычно по истечении примерно 2/3 общей продолжительности брожения теста. За это время дрожжи сбрасывают питательные вещества, находящиеся вблизи них, и процесс газообразования замедляется. При обминке дрожжевые клетки попадают на новые участки теста и получают доступ к новым порциям питательных веществ. Процесс брожения таким образом активизируется. Излишки СО<sub>2</sub>, образующегося при брожении, удаляются. Обминка связана также с дополнительным насыщением теста пузырьками захваченного воздуха, что вызывает улучшение структуры теста, вкуса и аромата хлеба.

При приготовлении сдобного теста применяют отсдобку. Отсдобка — это процесс добавления основной массы сдобящих веществ (жира, сахара) не во время замеса теста, а во время его первой обминки, т. е. после некоторого брожения теста. Отсдобка вызвана тем, что добавление сразу больших концентраций сахара и жира в тесто тормозит жизнедеятельность дрожжей и молочнокислых бактерий.

#### **4.2. Роль дрожжей сахаромицетов в хлебопечении**

Дрожжи сахаромицеты выполняют в основном роль разрыхлителей теста, оказывая существенное влияние на объем готового хлеба и пористость мякиша. Сбраживая сахара муки и мальтозу, образующуюся из крахмала муки под действием амилаз, они образуют углекислый газ и спирт. Химизм спиртового брожения в настоящее время изучен детально. Известно, что наряду с главными продуктами брожения получают побочные, например уксусный альдегид, спирты - бутиловый, изобутиловый, изоамиловый, органические кислоты - молочная, янтарная, винная, щавелевая и некоторые другие вещества, придающие хлебу специфический вкус и аромат. Кроме того, небольшое количество спирта, которое остается после выпечки в готовом хлебе (до 0,5%), также значительно улучшает вкус и аромат хлеба.

Для разрыхления пшеничного теста применяют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Их вносят в виде прессованных дрожжей, дрожжевого молока, сушеных или жидких дрожжей.

В брожении ржаных заквасок участвуют оба вида дрожжей сахаромицетов. О значении их при выработке ржаного хлеба не существует единого мнения. Л. Я. Ауэрман, например, считает, что основную роль в ржаном тесте играют дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, адаптированные к повышенной кислотности. По мнению других, для ржаных заквасок специфическим является вид *Saccharomyces minor*. Исследования, проведенные коллективом лаборатории биохимии и микробиологии ЛО ВНИИХПа, позволили внести уточнения в данный вопрос.

В густых ржаных заквасках ведущую роль играют дрожжи *S. minor*. Так, в густых заквасках, приготовленных на чистых культурах *S. minor*, дрожжевая микрофлора отличается однородностью видового состава. Вид *S. minor* доминирует и в густых заквасках спонтанного брожения, где микробная ассоциация складывается естественным путем. В то же время в густых заквасках на прессованных дрожжах последние почти полностью вытесняются дрожжами *S. minor*.

Различные расы дрожжей *S. cerevisiae*, внесенные в густую закваску, сохраняются в ней не более 10 сут. Очевидно, высокая кислотность густых заквасок (14-16°Н) отрицательно влияет на развитие дрожжей вида *S. cerevisiae*. Но не только высокая кислотность среды является основным критерием в данном случае. На видовой состав дрожжей влияет и консистенция закваски. Например, в густых ржаных заквасках из ржаной сеяной муки (кислотностью 6-6,5°Н), приготовленных на чистой культуре дрожжей *S. cerevisiae* Б-14, последние составляют около 30% общего количества дрожжей, а на вид *S. minor* приходится 70%. По всей вероятности, в густых заквасках создаются малоблагоприятные условия для дрожжей *S. cerevisiae* в связи с низким окислительно-восстановительным потенциалом среды и накоплением избытка продуктов обмена.

В жидких заквасках, кислотность которых не превышает 11-13°Н, а влажность 70-85%, условия для развития дрожжей более благоприятные. Поэтому в жидких заквасках дрожжи *S. cerevisiae* играют значительную роль, особенно если закваска готовится с применением осахаренной заварки. В этих условиях более сильный вид *S. cerevisiae* полностью вытесняет своего слабого конкурента.

В жидких заквасках, приготовленных по Ленинградской схеме без добавления заварки, оба вида дрожжей развиваются в совместной культуре.

Тот парадоксальный факт, что дрожжи *S. minor*, не имеющие фермента мальтазы, хорошо развиваются в ржаных заквасках, можно объяснить содержанием свободных сахаров в ржаной муке. В ржаной обойной муке содержится 5,5%, а в ржаной обдирной - до 6,5% сахарозы и инверсного сахара. Кроме того, некоторое количество доступных

для них углеводов дрожжи *S. minor*, очевидно, получают в результате действия ферментов муки и жизнедеятельности молочнокислых бактерий.

Изучение специфичности хлебопекарных видов дрожжей сахаромицетов позволяет научно обоснованно подбирать чистые культуры для приготовления хлеба по различным технологическим схемам.

#### **4.3. Роль молочнокислых бактерий в хлебопечении**

Важнейшими показателями хлебобулочных изделий является их кислотность, которая создается в результате жизнедеятельности молочно кислых бактерий. Им принадлежит ведущая роль в брожении ржаных полуфабрикатов.

Во-первых, молочная кислота существенно влияет на физические свойства ржаного теста. Известно, что ржаная мука в отличие от пшеничной не имеет клейковины, создающей упругий и эластичный каркас теста. Кислотность способствует набуханию и пептизации белков ржаной муки, за счет чего увеличивается вязкость теста и возрастает его газоудерживающая способность. Кроме того, ржаная мука содержит активный фермент амилазу, которая приводит к накоплению в тесте декстринов. Последние делают мякиш ржаного хлеба липким и заминающимся. Подавить активность амилазы можно путем повышения кислотности закваски.

Во-вторых, гетероферментативные молочнокислые бактерии участвуют в разрыхлении теста в результате образования углекислого газа. Указанная особенность молочнокислых бактерий была использована при попытке разработать способ получения ржаного, хлеба на густых заквасках без применения дрожжей, на одних культурах газообразующих молочнокислых бактерий. Для подавления развития дрожжей густые закваски вели при температуре 35°C. В промышленности данный способ не нашел применения. На этом же принципе основана Саратовская схема приготовления жидких ржаных заквасок. Правда, в условиях жидкой закваски дрожжи *S. cerevisiae* развиваются спонтанно и спиртовое брожение идет интенсивно наряду с молочнокислым.

В-третьих, молочнокислые бактерии оказывают большое влияние на вкус и аромат ржаного хлеба. Принято считать, что вкус и аромат хлеба во многом определяются соотношением молочной и летучих кислот. Это соотношение называется коэффициентом брожения.

Молочная кислота придает ржаному хлебу приятный кисловатый вкус, а летучие кислоты - специфический аромат. Кроме летучих кислот определенное влияние на аромат хлеба оказывают органические ди- и трикарбоновые кислоты. По данным М. И. Княгиничева и П. М. Плотникова, в ржаном хлебе из обойной муки содержится около 60% молочной кислоты, 32% летучих кислот и 8% органических кислот (янтарной, яблочной, винной и лимонной). Из общей суммы летучих кислот в ржаном хлебе на долю уксусной приходится 38-65%, на долю пропионовой 28-52% и муравьиной 1,16-10,7%. По существующим представлениям, большую роль в образовании ароматического комплекса хлеба играют карбонильные соединения. К ним относятся альдегиды (ацетальдегид, бензальдегид, изовалериановый, коричный, сиреневый), ванилин, оксиметил-фурфурол, ацетоин, диацетил, диоксиацетон, фурфурол.

В настоящее время в хлебе найдено свыше 75 отдельных вкусовых и ароматических веществ, среди них 28 кислот, 28 карбонильных соединений, 11 спиртов, 6 эфиров, аммиак, метилмеркаптан.

В образовании многих из упомянутых выше веществ участвуют и молочнокислые бактерии. При этом гомо- и гетероферментативные виды образуют в процессе брожения различные продукты брожения различные продукты.

Исследование кислотообразующей микрофлоры отечественных ржаных заквасок в основном подтвердило выводы Шпихера. Кислотообразующая микрофлора спонтанных густых заквасок довольно разнообразна. Доминирующими видами в ней являются *L. plantarum* и *L. brevis*, довольно часто встречается *L. fermenti*, в меньшем количестве - *L. casei* и *L. buchneri*. Термофильный вид *L. leichmannii* найден в единичных случаях, а *L. delbruckii* вовсе не обнаружен. В густых заквасках, приготовленных на чистых культурах *L. brevis* и *L. plantarum* (штаммы А63, В5, В78 или А6, В8, В27), эти виды играют основную роль. Таким образом, для густых ржаных заквасок, специфичны два вида молочнокислых бактерий--*L. brevis* и *L. plantarum*, что связано, очевидно, с температурным режимом ведения густых заквасок, который близок к оптимальной температуре развития для данных видов бактерий. Виды *L. casei*, *L. fermenti* и *L. buchneri* при внесении в густые закваски не выдерживали конкуренции со спонтанной микрофлорой муки.

Жидкие ржаные закваски по видовому составу кислотообразующей микрофлоры мало отличаются от густых. В них обнаружены те же виды бактерий: *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermenti*, *L. casei* и в единичных случаях *L. buchneri* и *L. delbruckii*. Однако в брожении жидких заквасок виды *L. fermenti* и *L. casei* играют существенную роль наряду с *L. brevis* и *L. plantarum*. По-видимому, температура жидких заквасок 32-35°C оказывает благоприятное воздействие на виды *L. casei* и *L. fermenti*, для которых оптимум температуры лежит выше 30°C. Помимо этого, на видовой состав микрофлоры жидких заквасок накладывает отпечаток применение чистых культур.

Жидкую закваску по Ленинградской схеме выводят на чистых культурах *L. brevis* и *L. plantarum*. Они и представляют основную микрофлору производственной закваски. В закваске по Ивановской схеме, приготовленной на гомоферментативных штаммах ИЗО и И35, преобладают бактерии вида *L. plantarum*, но наряду с ними спонтанно развиваются другие виды, в том числе *L. brevis*. В заквасках по Саратовской схеме большую роль играют бактерии *L. casei*, внесенные в разводочный цикл.

Указанные выше четыре вида молочнокислых бактерий специфичны для жидких ржаных заквасок (как с заваркой, так и без заварки) и хорошо сохраняются в них.

Кислотообразующая микрофлора заварных сортов ржаного хлеба до настоящего времени остается почти неизученной. Можно указать лишь работу А. Я. Пумпянского, З. И. Шмидт, А. Н. Смирновой и Е. Е. Красильниковой, исследовавших закваски для приготовления хлеба из ржаной сеяной муки.

Выделенные из спонтанно сброженных заварок культуры молочнокислых бактерий относятся в основном к группе термобактерий, так как большинство из них образуют главным образом молочную кислоту, а оптимальной температурой для них является 48-50°C (при более низкой температуре их рост прекращается). Так, штамм ЛО ВНИИХП-11, выделенный З. И. Шмидт из заварки для рижского хлеба, образует до 10% летучих кислот и около 14% органических кислот: винной, яблочной, лимонной, янтарной. Сброженная заварка с применением данного штамма отличается приятным кисло-сладким вкусом и ароматом свежих яблок. Этот штамм применяется в промышленности для приготовления рижского хлеба. Однако вопрос о специфичности тех или иных видов молочнокислых палочек для заварных сортов хлеба остается открытым.

Роль молочнокислых бактерий в брожении полуфабрикатов из пшеничной муки по сравнению с дрожжами неравноценна. Они принимают лишь определенное участие в накоплении кислотности пшеничного теста, образовании вкусового и ароматического комплекса хлебобулочных изделий. Кроме того, присутствие молочнокислых бактерий в известной мере подавляет картофельную палочку.

Пшеничный хлеб готовится на прессованных дрожжах, жидких дрожжах или жидких пшеничных заквасках.

Специфический вкус хлеба, приготовленного на жидких дрожжах, вызывается наличием в них достаточно большого количества молочнокислых бактерий. По данным А. И. Островского, автора схемы жидких дрожжей, дрожжи сахаромицеты и молочнокислые бактерии находятся в жидких дрожжах в соотношении 1: 1 (90-100 млн. клеток на 1 г). Основную роль здесь играют термофильные бактерии, в частности вид *L. delbrückii*, который применяют в качестве чистой культуры для заквашивания заварки. Попадая в тесто вместе с жидкими дрожжами, бактерии *L. delbrückii* сами не развиваются при температуре 30-32°C, но образованная ими молочная кислота препятствует развитию мезофильных видов молочнокислых бактерий.

В жидких пшеничных заквасках в противоположность жидким дрожжам развиваются мезофильные гомо- и гетероферментативные молочнокислые бактерии. Кислотообразующую микрофлору пшеничных заквасок изучали В. А. Николаев и М. И. Ратнер. Они выделили и описали несколько культур молочнокислых палочек, однако использовали при этом ранее принятые классификации, в частности классификацию Кнудсена. Поэтому идентифицированные ими культуры можно лишь условно отнести к группе гетероферментативных бактерий, без точного указания вида, а ряд штаммов, по-видимому, является гомоферментативными стрептобактериями.

В настоящее время пшеничные закваски готовятся путем спонтанного развития молочнокислых бактерий (например, Джамбульская схема) или путем внесения чистых культур определенных видов бактерий.

Так, по Ленинградской схеме Л-4 предусмотрено внесение гомоферментативного штамма А6, относящегося к виду *L. plantarum*. Изучение микрофлоры жидких заквасок, предложенных Казгипропищепромом, показало, что в них доминируют молочнокислые бактерии, выдерживающие кислотность среды до 20-25°Н. Выделенная культура была идентифицирована нами как вид *L. fermenti* 27. В настоящее время она используется в качестве чистой культуры для приготовления мезофильной молочнокислой закваски, подавляющей развитие картофельной болезни хлеба, и в целях интенсификации технологического процесса при выработке пшеничных сортов на прессованных дрожжах.

В пшеничном тесте на прессованных дрожжах количество молочнокислых бактерий значительно меньше. Они попадают в тесто в основном из муки, а также из прессованных дрожжей.

Исследованиями, проведенными в ЛО ВНИИХПа, установлено, что от присутствия молочнокислых бактерий в прессованных дрожжах и их физиологической активности зависит интенсивность кислотонакопления в хлебе из пшеничной муки I сорта. При недостаточном количестве молочнокислых бактерий в тесте кислотность готовых изделий низкая.

Для повышения кислотности хлебобулочных изделий из муки данного сорта был предложен биологический способ. Он заключается в использовании мучной болтушки, заквашенной чистой культурой *L. plantarum* до кислотности 6-8°Н.

В новом, созданном во ВНИИХПе, прогрессивном способе тестоведения с оптимизацией основных процессов предусмотрено ведение трех фаз: фазы дрожжевого полуфабриката из активированных прессованных дрожжей; фазы бездрожжевого полуфабриката, где происходит процесс коллоидного набухания муки, и фазы молочнокислого полуфабриката. Последний готовится путем заквашивания мучной болтушки чистой культурой гомоферментативных молочнокислых бактерий А6 в течение 2-4 ч при температуре 30-32°C.

При ускоренном способе тестоведения, разработанном во ВНИИХПе, предложено использовать наряду с прессованными дрожжами молочнокислую закваску в сухом виде или готовить жидкую закваску непосредственно на предприятии. Молочнокислая закваска выводится на чистой культуре термофильных бактерий *L. delbrückii* или на смеси мезофильных штаммов А6, В8, В27. Нарезные батоны из муки I сорта, приготовленные обычным опарным и ускоренным способами на закваске, заметно не различаются по органолептическим свойствам.

Изучение кислотообразующей микрофлоры полуфабрикатов из пшеничной и ржаной муки позволяет внести определенную ясность в вопрос о роли отдельных видов молочнокислых бактерий. Это имеет значение при подборе специфических культур для каждой технологической схемы приготовления хлеба.

Жидкие закваски - полуфабрикат, при получении которого на осажаренных заварках или жидких водно-мучных смесях при температуре 28-30 °С непрерывно-поточным способом одновременно размножаются мезофильные гетероферментативные молочнокислые бактерии и дрожжи, попавшие туда спонтанно (например, с мукой) или внесенные специально. При использовании жидких заквасок в тесте протекает не только спиртовое, но и активное молочнокислое брожение, при этом рН теста снижается до 4,7-4,8.

Жидкие дрожжи - полуфабрикат, в котором (в отличие от жидкой закваски) основным компонентом, ведущим брожение в тесте, являются микроорганизмы. Для достижения этого осажаренная и охлажденная до 50 °С мучная заварка заквашивается бактериями *Lactobacillus delbrueckii* (рН 3,7-3,9). На закисшем заторе при 28 °С в другой емкости культивируют дрожжи, используемые для разрыхления теста. В настоящее время более половины пшеничного хлеба (особенно из муки второго сорта) изготавливается на жидких дрожжах, масштабы применения которых возрастают.

Порчу хлебопекарных изделий могут вызывать неосмофильные и осмофильные виды дрожжей. Неосмофильные дрожжи обуславливают три вида порчи. Аспорогенные дрожжи при попадании в тесто могут понизить качество хлеба и придать ему нежелательный запах. *Sacch. cerevisiae* и другие бродящие дрожжи, заражая хлеб после выпечки, вызывают появление сильного запаха («фруктового», «ацетонового» и др.). Виды дрожжей, образующие гифы, могут давать на поверхности хлеба хорошо видимый рост. На темных сортах хлеба возможно появление белого налета «меловой плесени», порчу чаще всего вызывают *Hyphopichia burtonii*.

Осмофильные дрожжи (*Zygosacch. rouhii*, *Zygosacch. bisporus*) опасны для кондитерских хлебопекарных изделий, при изготовлении которых компоненты с высоким содержанием сахара (джемы, мармелад, фруктовые наливки и др.) могут портиться (забраживать).

#### Вопросы для самоконтроля

1. Какие микроорганизмы и полуфабрикаты применяют в производстве пшеничного хлеба?
2. Какие изменения претерпевает углеводно-амилазный комплекс теста в процессе брожения?
3. Какие изменения претерпевает белково-протеиназный комплекс теста в процессе брожения?

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

### Основная

1. **Пащенко Л.П.** Технология хлебобулочных изделий / Л.П. Пащенко, И.М. Жаркова. – М.: «КолосС», 2006. – 389 с.

### Дополнительная

1. **Матвеева, И.В.** Биотехнологические основы приготовления хлеба [Текст]. : монография / И.В. Матвеева, И.Г. Белявская –М.: ДеЛи принт, 2001- 150 с. - 300 экз. - ISBN 5-94343-011-3.
2. <http://www.allbest.ru/>
3. Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>
4. Журналы: «Пищевая промышленность», «Хлебопечение России».

## Лекция 5

### БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ПРИГОТОВЛЕНИИ РЖАНЫХ И РЖАНО-ПШЕНИЧНЫХ ПОЛУФАБРИКАТОВ

#### 5.1. Современные тенденции развития использования новых заквасок и применение их для производства хлеба из ржаной муки

Закваска - полуфабрикат хлебопекарного производства, полученный сбраживанием питательной смеси молочно - кислыми или пропионово-кислыми бактериями и хлебопекарными дрожжами.

Закваской называется непрерывно расходуемая по частям и вновь возобновляемая фаза, используемая для приготовления теста. Часть такой закваски применяется при приготовлении теста в качестве продукта, содержащего активную специфическую микрофлору ржаного теста и значительное количество кислот. На остальной части закваски с добавлением определенного количества муки и воды готовится новая порция закваски. После определенного времени брожения закваска восстанавливает свою кислотность, состав бродильной микрофлоры и опять может быть частично использована для приготовления одной или нескольких порций теста и т.д. В настоящее время используются следующие виды заквасок :

**Концентрированная молочнокислая закваска (КМКЗ).** Представляет собой сброженный селекционированными штаммами молочнокислых бактерий мучной полуфабрикат. Для приготовления КМКЗ используют чистые культуры молочнокислых бактерий: *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. fermenti*, *L. casei* в жидком виде или в виде сухого лактобактерина. Процесс приготовления КМКЗ состоит из двух циклов: разводочного и производственного. Приготовление КМКЗ на жидких культурах молочнокислых бактерий начинают с накопления культуры каждого вида молочнокислых бактерий сначала в солодовом сусле, а затем в водной мучной смеси или осахаренной заварке. Дальнейшее накопление КМКЗ в необходимом количестве осуществляют в производственных условиях путем добавления к готовой закваске питательной смеси из муки и воды с последующим выдерживанием при температуре 32 - 38°C до достижения кислотности 14 - 18 град. [5]

**Комплексная закваска.** Комплексная закваска представляет собой смесь подобранных в определенных пропорциях штаммов дрожжей, молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Содержит *L. casei*-С1, *L. brevis*-78, *L. fermenti*-34, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*-69 . Данную закваску применяют с целью повышения микробиологической устойчивости хлебобулочных изделий (против "картофельной палочки" и плесневой микрофлоры), улучшения вкуса и аромата.[3]

**Витаминная закваска.** Содержит каротинсинтезирующие дрожжи *Bullera armeniaca* Сб-206, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* - Фр-3, *acidophilus*-146. Витаминная закваска улучшает качество изделий из муки с пониженными свойствами: со слабой клейковиной.[19]

**Ацидофильная закваска.** Содержит *L. acidophilus*-146, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*-Р-17. Применение ацидофильной закваски позволяет улучшить вкус и аромат изделий, способствует предотвращению заболевания хлеба "картофельной болезнью". Ацидофильную закваску рекомендуется использовать также для ускоренных способов

тестоприготовления, а также для улучшения качества изделий из муки с пониженными свойствами: с крепкой клейковиной.[32]

Пропионовокислая закваска. Содержит *Propionibacterium freundenreichii* spp. *Shermanii* ВКМ-103 (обладают высокими бактерицидными свойствами и синтезом витамина В12). Использование пропионовокислых бактерий в хлебопечении основано на том, что при брожении они образуют пропионовую, уксусную и другие органические кислоты, бактериоцины (антимикробные белки), подавляющие развитие "картофельной палочки", а также плесневых грибов.

Различия в свойствах компонентов ржаной и пшеничной муки оказывают существенное влияние на их хлебопекарные свойства, поэтому способы приготовления ржаного теста значительно отличаются от пшеничного.

Ржаное тесто имеет высокую вязкость, пластичность и низкую способность к растяжению. Белки ржаной муки, несмотря на содержание в них глиадиновой и глютелиновой фракций, не образуют такого губчатого клейковинного каркаса, как белки пшеничной муки. В тесте белки ржаной муки быстро неограниченно набухают, пептизируются и переходят в состояние вязкого коллоидного раствора. Повышение кислотности теста до рН 4,4-4,2 способствует пептизации белков и одновременно их набуханию и улучшению реологических свойств ограниченно набухших белков. Значительное влияние на реологические свойства ржаного теста оказывает соотношение в нем пептизированных и ограниченно набухших белков.

Дальнейшее повышение кислотности теста может снижать пептизацию содержащихся в нем белков. В образовании вязких свойств ржаного теста большую роль играют набухание крахмала, гидратация слизей, высокая активность амилолитических (особенно  $\alpha$  - амилазы), протеолитических и других ферментов, что повышает газодерживающую способность теста.

Повышенная кислотность ржаного теста тормозит действие  $\alpha$  - амилазы, при этом резко снижается температура инактивации  $\alpha$  - амилазы, что особенно важно при выпечке хлеба после инактивации  $\alpha$  - амилазы. Снижение активности  $\alpha$  - амилазы сокращает период образования под ее влиянием декстринов и снижает липкость и заминаемость мякиша хлеба. В связи с этим кислотность выброженного теста из ржаной муки при созревании доводят до 12-14 град благодаря накоплению молочнокислыми и другими бактериями органических кислот.

Под пористостью хлеба понимают отношение объема пор мякиша к общему объему хлебного мякиша, выраженное в процентах. Пористость изделия с учетом его структуры (размера пор, однородности, толщины стенок) характеризует такое важное свойство продукта, как усвояемость.

Для получения хлебобулочных изделий с пористым, хорошо разрыхленным мякишем возможно использование различных способов разрыхления теста (дрожжи, закваски и т.д.).

Дрожжи сахаромидеты (*Saccharomyces cerevisiae* и *S.minor*), развивающиеся в ржанных и пшеничных заквасках совместно с молочнокислыми бактериями, выполняют роль разрыхлителей теста, оказывая существенное влияние на объем готового хлеба и пористость мякиша. Сбраживая сахара муки и мальтозу (*S.minor* - не сбраживает мальтозу), образующуюся из крахмала муки под действием амилаз, они выделяют углекислый газ и спирт. Гетероферментативные молочнокислые бактерии участвуют в разрыхлении теста за счет образования углекислого газа. Указанная особенность молочнокислых бактерий была использована при попытке разработать способ получения ржаного хлеба на густых заквасках без применения дрожжей. Для

подавления развития дрожжей густые закваски вели при температуре 35°C. На этом же принципе основана саратовская схема приготовления жидких ржаных заквасок на одних культурах газообразующих молочнокислых бактерий. Правда, в условиях жидкой закваски дрожжи *S.cerevisiae* развиваются спонтанно, и спиртовое брожение идет интенсивно наряду с молочнокислым. В промышленности данные способы не нашли широкого применения. А также, применение заквасок при замесе пшеничного теста способствует образованию пор, равномерно распределенных по всему объёму теста, причём расположение их более компактное, чем в тесте на дрожжах. При этом создается неразрывная белково-углеводная структура за счет равномерного обволакивания пленкой клейковины крахмальных зерен, в то время как прессованные дрожжи вызывают образование рыхлых, непрочных структур и прерывистый характер связи между тяжами клейковины и зёрнами крахмала [11,19,24].

Вкус - один из видов восприятия (ощущения) возникающее при действии различных веществ преимущественно на рецепторы вкуса расположенные на вкусовых луковицах языка. Аромат - приятный запах.

Принято считать, что вкус и аромат хлеба во многом определяются соотношением молочной и летучих кислот. Это соотношение называется коэффициентом брожения. Молочнокислые бактерии оказывают большое влияние на вкус и аромат ржаного хлеба. Молочная кислота придает ржаному хлебу приятный кисловатый вкус, а летучие кислоты - специфический аромат. Кроме летучих кислот определенное влияние на аромат хлеба оказывают органические ди- и трикарбоновые кислоты. По данным М.И. Княгиничева и П.М. Плотникова, в ржаном хлебе из обдирной муки содержится около 60% молочной кислоты, 32% летучих кислот и 8% органических кислот (янтарной, яблочной, винной и лимонной).

Из общей суммы летучих кислот в ржаном хлебе на долю уксусной приходится 38-65%, на долю пропионовой -- 28-52% и муравьиной -- 1,16-10,7%. По существующим представлениям, большую роль в образовании ароматического комплекса хлеба играют карбонильные соединения. К ним относятся альдегиды (ацетальдегид, бензальдегид, изовалериановый, коричный, сиреневый), ванилин, оксиметилфурфурол, ацетоин, диоксиацетон, фурфурол.

В образовании многих из упомянутых выше веществ участвуют и молочнокислые бактерии. При этом гомо - и гетероферментативные виды образуют в процессе брожения различные продукты. Гомоферментативные виды молочнокислых бактерий образуют до 10% летучих кислот, в то время как у гетероферментативных количество летучих кислот в 2-3 раза больше (у отдельных штаммов количество кислот варьирует от 13 до 34%). Гомоферментативные культуры образуют меньше органических ди-и трикарбоновых кислот, но несколько больше летучих карбонильных соединений. Гомоферментативные виды, как правило, являются более сильными кислотообразователями.

Установлено, что хлеб на заквасках с применением одних гомоферментативных видов молочнокислых бактерий лишен специфического аромата, поэтому вкус его кажется несколько «пустым». Развитие только гетероферментативных культур способствует большему накоплению уксусной кислоты, которая придает хлебу резкий запах и более кислый вкус. Наиболее хороший хлеб по вкусу и аромату получается при совместном применении гомо - и гетероферментативных штаммов кислотообразующих бактерий в определенном соотношении.

Исследования показали, что дрожжи *S.cerevisiae* в больших концентрациях помимо диоксида углерода и спирта образуют также эфиры, включая этилацетат, этилпропионат, этиллактат, 1-пропанол, 2-метилпропанол, 3-метилбутанол.

Дрожжи сахаромиды сахара муки и мальтозу, образующуюся из крахмала муки под действием амилаз, выделяют углекислый газ и спирт. Наряду с главными продуктами брожения получают побочные: уксусный альдегид, спирты (бутиловый, изобутиловый, изоамиловый), органические кислоты (молочная, янтарная, винная, щавелевая) и некоторые другие вещества, придающие хлебу специфические вкус и аромат. Например, В.Л.Омелянский выделил из заквасок дрожжи, образующие эфиры с фруктовым запахом. Кроме того, небольшое количество спирта, которое остается после выпечки в готовом хлебе (до 0,5%), также значительно улучшает вкус и аромат готовых изделий.

Также исследованиями установлено главное: ускорение технологического процесса приводит к получению хлеба с менее выраженным вкусом и ароматом. Поэтому для получения хлеба с более выраженным ароматом и вкусом рекомендуется использовать закваски. Доказано, что в процессе выработки закваски уменьшается доля уксусной кислоты и летучих кислот, влияющих на вкус и аромат. Увеличение доли пшеничной муки в ржано-пшеничных сортах хлеба существенно меняет его вкус и снижает аромат.

В основе производства хлеба лежат микробиологические процессы (спиртовое, молочнокислое брожение), от которых во многом зависит качество готовой продукции. Однако наряду с необходимыми видами микроорганизмов в полуфабрикатах и хлебе могут развиваться посторонние микроорганизмы. Источником их являются сырье, оборудование, воздух производственных помещений. Среди посторонних видов микроорганизмов встречаются вредные, способные резко ухудшить качество хлеба и вызвать его микробиологическую порчу - болезнь хлеба.

В процессе брожения заквасок молочнокислые бактерии вырабатывают молочную кислоту, которая подавляет жизнедеятельность посторонней микрофлоры. Однако установлено, что антагонизм МКБ является не только их свойством как кислотообразователей, но обусловлен выделением антибиотических веществ. Так, *L. plantarum* продуцирует антибиотик лактолин, подавляющий ряд грамположительных, некоторые грамотрицательные и дизентерийные бактерии, а также рост кишечной палочки. *L. casei* обладает антагонистическими свойствами по отношению к кишечной и картофельной палочкам, патогенному микрококку, к бактериям тифа и дизентерии, золотистому стафилококку, дрожжеподобным грибам. *L. brevis* продуцирует антибиотик бревин, который угнетает золотистый стафилококк, кишечную и дизентерийную палочки. *L. fermenti* выделяет антибиотик бактериоцин, к которому чувствительны пневмо- и энтерококки. На основе *L. fermenti* 27 разработана технология приготовления мезофильных заквасок, которая предотвращает картофельную болезнь хлеба.

Путем подбора чистых культур микроорганизмов были получены новые виды заквасок обладающих новыми функциональными свойствами, так например, в ацидофильной закваске происходит накопление аминокислот за счет повышенной протеолитической активности. Витаминная закваска способствует накоплению витаминов. [14, 9]

Закваски предупреждают микробиологическую порчу хлеба (плесневения, картофельная болезнь и др.). За счет высокой кислотности заквасок подавляется картофельная болезнь хлеба. Однако не только за счет высокой кислотности подавляется картофельная болезнь хлеба. Некоторые закваски, приготовленные с

использованием специально отобранных микроорганизмов обладают повышенной антибиотической активностью. В СПбФ ГосНИИХП получена биологическая закваска, обладающая бактерицидными свойствами (Павловская Е.Н., Афанасьева О.В. и др., 2002г.). Для её приготовления используют два новых штамма молочнокислых бактерий с повышенной антагонистической активностью: *L.plantarum* 52-АН и *L.sanfrancisco* E-36 [17]. К закваскам с повышенной антибиотической активностью относятся пропионовая, комплексная, ацидофильная, а также закваски, приготовленные с использованием бифидобактерий нетрадиционных для хлебопечения низинообразующих штаммов лактококков.

### **5.2.Приготовление закваски путем спонтанного брожения смеси муки и воды**

Этот способ достаточно трудоёмок и имеет ряд недостатков, как то, большая продолжительность (7-10 фаз по 6-20 часов), нестабильность качества закваски. И хотя этот способ приготовления заквасок наиболее древний, полученный эмпирическим путем, он имеет научное обоснование.

В 1 г муки содержится от десятков тысяч до нескольких миллионов микроорганизмов. Качественный состав микроорганизмов разнообразен. В ней встречаются грибы, бактерий, актиномицеты и другие виды микроорганизмов, но находятся они в малоактивном состоянии. При влажности муки менее 15% все виды микроорганизмов находятся в неактивном состоянии, при увеличении влажности до 40-50% в полуфабрикатах хлебопекарного производства создаются благоприятные условия для их развития.

Аминокислоты, сахара, витамины муки переходят в раствор и становятся доступными для микроорганизмов. С этого момента между различными микроорганизмами начинается конкурентная борьба за овладение средой обитания, в которой побеждают те микроорганизмы, которые лучше других приспособлены к жизни в данных условиях. Наиболее приспособлены к условиям теста молочнокислые бактерии. Размножаясь быстрее других, они образуют молочную кислоту, которая подавляет жизнедеятельность других микроорганизмов. Первыми погибают щелочелюбивые микроорганизмы (гнилостные бактерии и др.), затем - микроорганизмы, предпочитающие нейтральную среду (бактерии группы кишечной палочки). При дальнейшем повышении кислотности прекращают жизнедеятельность кислотолюбивые бактерии (маслянокислые, уксуснокислые и др.).[2]

Бактерии, предпочитающие повышенную кислотность среды, различные виды дрожжей (сахаромицеты и несакхаромицеты), плесневые грибы и другие могут расти только в аэробных условиях. Сахаромицеты являются факультативными анаэробами, то есть способны размножаться и существовать в бескислородных условиях мучных полуфабрикатов. В результате культивирования остаются дрожжи и молочнокислые бактерии, растущие при высокой кислотности полуфабрикатов (заква ски, тесто) в анаэробных условиях. Таким образом, накопление дрожжами и молочнокислыми бактериями спирта, молочной кислоты и отсутствие кислорода не допускает развитие в них посторонних микроорганизмов. При этом дрожжи и молочнокислые бактерии являются синергистами.

Если замесить ржаную муку с водой и оставить тесто при температуре, обычной для ведения теста (25-30 °С), то через некоторое время в нем появляются признаки брожения, выражающиеся в выделении мелких пузырьков газа и в появлении характерного вкуса и запаха кислого теста.

В результате изучения микроорганизмов теста, в котором началось самопроизвольное брожение, установлено, что основными возбудителями этого

брожения являются *Bact. coli aerogenes* и *Vac. levans*. Эти бактерии образуют в тесте уксусную и молочную кислоту, спирт, углекислый газ (диоксид углерода), водород и в меньших количествах -- азот. Наряду с основной массой бактерий этого типа в тесте, в котором началось спонтанное брожение, встречаются в очень небольшом количестве и отдельные дрожжевые клетки (попавшие в тесто из воздуха). Однако роль их в первой стадии спонтанного брожения чрезвычайно мала и практически незаметна.

Если кусок теста, в котором началось спонтанное брожение, оставить в помещении с сухим воздухом, то тесто со временем высохнет, и жизнедеятельность микроорганизмов в нем прекратится. Если же кусок теста будет лежать во влажном помещении, то он с течением времени покроется плесенью, следовательно, с точки зрения хлебопечения этот кусок теста испортится и сделается непригодным для употребления.

Совершенно другая картина будет, если тесто, которое подвергалось спонтанному брожению, через некоторое время (через 7-8 ч) освежить, прибавив к нему новую порцию муки и воды, дать ему некоторое время вновь бродить, затем опять освежить и т. д. в течение нескольких (например, четырех) дней. В этот период можно произвести от шести до восьми освежений теста. В тесте, подвергшемся повторному спонтанному брожению, чередовавшемуся с освежением, микрофлора будет совершенно иная.

Если в первой стадии спонтанного брожения теста микроорганизмы последнего в основном составляли бактерии типа *Vac. levans* и лишь в совершенно незначительной доле -- дрожжевые грибы, то в тесте, подвергшемся повторному освежению, бактерии типа *Vac. levans* почти или совершенно исчезают, а вместо них появляются типичные для ржаного теста кислотообразующие бактерии. Одновременно отмечается наличие значительного количества дрожжевых клеток. Соотношение в таком тесте дрожжей и кислотообразующих бактерий близко к обычному для ржаных заквасок и теста. Разница в составе микроорганизмов первоначально замешенного теста и теста после пяти освежений отражается и на качестве хлеба. Хлеб из теста начальной стадии спонтанного брожения плохо разрыхлен и имеет трещины, как в корке, так и в мякише. Хлеб из спонтанно забродившего теста после 5-6 последовательных освежений хорошо разрыхлен, имеет нормальный по строению мякиш и хороший внешний вид. Вкус и аромат такого хлеба, обычные для ржаного хлеба. При этом число молочнокислых бактерий должно превышать количества дрожжей в 60-80 раз. Это соотношение обычно устанавливается после 10 освежений.

### **5.3. Приготовление закваски с использованием чистых культур молочнокислых бактерий и дрожжей**

Теоретические обоснования использования чистых культур микроорганизмов для приготовления хлебной закваски в нашей стране появились в 20-ые годы прошлого века после выделения и идентификации специфической микрофлоры хлебных заквасок и теста [5].

В настоящее время под чистой культурой подразумевают потомство любого микроорганизма, полученное из одной клетки, без примеси посторонних микробов. В хлебопекарной промышленности, перерабатывающей нестерильное сырье, чистые культуры имеют исключительно большое значение. Мука, как известно, содержит чрезвычайно богатую и разнообразную микрофлору, в которой дрожжи сахаромицеты и молочнокислые бактерии составляют незначительную часть. Поэтому нужное направление процесса брожения возможно лишь при внесении в закваску или тесто специфических микроорганизмов.

Чистые культуры дрожжей и молочнокислых бактерий, внесенные в достаточном количестве, обеспечивают быструю, надежную стабилизацию доминирующей микрофлоры, нормальное брожение и гарантируют производство от случайностей. Кроме того, подбор культур позволяет активно воздействовать на качество готовых изделий. Таким образом, с помощью чистых культур можно сознательно управлять работой микробов и использовать их деятельность в заданном направлении. Но чтобы они действительно приносили ощутимую пользу, требуется правильный подбор видов для той или другой технологической схемы, постоянное наблюдение за чистотой и активностью культуры, строгое соблюдение технологии и, наконец, систематический микробиологический контроль, позволяющий следить за развитием внесенных микроорганизмов.

Рациональный подбор чистых культур заключается в применении отдельных видов или комбинации видов, характерных для данного технологического процесса и способных развиваться в этих условиях. Он требует всестороннего изучения микрофлоры и роли каждого вида в брожении полуфабрикатов.

Большое значение в определении ценности чистых культур имеет и их способность сохраняться в заквасках при длительном ведении. Наблюдения за заквасками показали, что правильнее использовать комбинации нескольких видов дрожжей или бактерий.

В состав молочнокислых заквасок обычно вводят в совместной культуре активные кислотообразователи (гомоферментативные виды) и культуры, продуцирующие много летучих кислот (гетероферментативные виды). Из них для густых ржанных заквасок наиболее пригодны виды *L.brevis*, *L.plantarum*. Для жидких ржанных заквасок рекомендованы четыре вида молочнокислых бактерий: *L.plantarum*, *L.brevis*, *L.fermenti*, *L.casei*. [2]

Для сохранения и развития в заквасках внесенных чистых культур им создаются благоприятные условия. Только при соблюдении правильной технологии результаты применения чистых культур будут действительно эффективными. При нормальном брожении в заквасках могут развиваться кроме дрожжей и молочнокислых бактерий очень немногие группы микроорганизмов. Однако нарушение технологического процесса нередко способствует размножению посторонних видов, которые угнетают бродильную микрофлору и снижают качество хлеба.

Важным моментом при использовании чистых культур является качество самих культур, их активность и чистота. Неправильное обращение с чистыми культурами приводит к засорению посторонними видами. Загрязненные или малоактивные культуры могут дискредитировать целесообразность применения чистых культур в хлебопечении.

Преимущества применения чистых культур молочнокислых бактерий заключается в следующем:

- чистые культуры создают возможность использования определенных видов и штаммов микроорганизмов, создания оптимальных условий их жизнедеятельности в средах, достижения максимального эффекта качества готового продукта;

- используя специфические свойства отдельных штаммов молочнокислых бактерий, в частности, их способность к кислотообразованию и синтезу побочных продуктов их жизнедеятельности, можно путем комбинации этих бактерий, получать продукты разнообразного вкуса, поскольку этот показатель качества определяется подбором видов чистых культур микроорганизмов;

- чистые культуры обеспечивают приготовление заквасок высокого качества в наиболее короткий период времени и гарантируют подавление посторонней микрофлоры муки;

- чистые культуры дают возможность повышать выход продукции за счет более экономного использования муки в процессе брожения;

- с применением чистых культур дрожжей и молочнокислых бактерий создаются возможности направленного управления технологическим процессом. [14].

#### **5.4. Приготовление закваски с применением закваски прежнего приготовления**

Этот способ наиболее надежный с точки зрения стабильности качества. Путём освежения выброженной порции можно вести закваски довольно продолжительное время (6 - 12 месяцев и больше). Данный способ успешно реализуется в производственном цикле выведения заквасок. Широко используется на хлебозаводах России. Для приготовления закваски в разводочном цикле с применением закваски прежнего приготовления и дрожжей в I фазе используют закваску прежнего приготовления и дрожжи. При этом сначала смешивают спелую закваску, дрожжи и воду, затем добавляют муку, оставшуюся воду с температурой 25-27°C и продолжают замес до однородной массы. [5]

##### **5.4.1. Приготовление закваски с использованием препаратов стартовых культур**

Стартеры - специально отобранные препараты молочнокислых бактерий в чистом виде или смешанные с дрожжами. Они инициируют брожение закваски. Они выпускаются в виде жидких препаратов или сухих порошков. Их главное преимущество заключается в легкости применения.

Использование стартеров позволяет:

- упростить выведение закваски и произвести закваску в один этап продолжительностью 18-24 часов.

- исключить трудоемкие фазы разведения и поддержания закваски, как необходимо по традиционной технологии.

- обеспечить правильность и стабильность результата

Однако применение стартера увеличивает стоимость продукта.

Различают следующие типы стартеров:

- Стартер жидкий или закваска

- Сухой лактобактерин

- Стартер смешанный (лактобактерин и сухие дрожжи)

Состояние микроорганизмов в жидких стартерах из-за высокой активности не стабильно, поэтому их срок хранения в холоде ограничен.

Стартер в порошке чаще всего хорошо высушен - это позволяет сохранить бродильную способность закваски, легко намокает при контакте с водой. В сухом виде он долгое время сохраняет свою бродильную способность. Фирма Хансен разрабатывает сухой лактобактерин под маркой «Флорапан». Дополнительное внесение хлебопекарных дрожжей при замесе обеспечивает созревание теста и подъем хлеба.

Смешанный стартер обладает активностью как бактериальной, так и дрожжевой. Этот тип стартера разработан фирмой Лесафр - под маркой «Саф-Левен». Этот препарат включает в себя сухие живые клетки дрожжей и живые молочнокислые бактерии, специально отобранные для хлебопекарной закваски. [25].

Молочнокислые бактерии - группа микроаэрофильных грамположительных микроорганизмов, сбраживающих углеводы с образованием молочной кислоты как одного из основных продуктов. Молочнокислое брожение стало известно людям на

заре развития цивилизации. С тех пор им пользуются в домашних условиях и в пищевой промышленности для переработки и сохранения еды и напитков. Традиционно к молочнокислым бактериям относят неподвижных, неспорообразующих кокковидных или палочковидных представителей отряда *Lactobacillales* (например, *Lactococcus lactis* или *Lactobacillus acidophilus*). В эту группу входят бактерии, которые используются в ферментации молочных продуктов, овощей. Молочнокислые бактерии играют важную роль в приготовлении теста, какао и силоса. Несмотря на близкое родство, патогенные представители отряда *Lactobacillales* (например, пневмококки *Streptococcus pneumoniae*) обычно исключаются из группы молочнокислых бактерий.

С другой стороны, дальние родственники *Lactobacillales* из класса актинобактерий -- бифидобактерии часто рассматриваются в одной группе с молочнокислыми бактериями. Некоторых представителей аэробных спорообразующих родов *Bacillus* (например, *Bacillus coagulans*) и *Sporolactobacillus* (например, *Sporolactobacillus inulinus*) иногда включают в группу молочнокислых бактерий из-за сходства в метаболизме углеводов и их роли в пищевой промышленности.

В природе молочнокислые бактерии встречаются на поверхности растений (например, на листьях, фруктах, овощах, зёрнах), в молоке, наружных и внутренних эпителиальных покровах человека, животных, птиц, рыб. Таким образом, помимо своей роли в производстве пищи и кормов, молочнокислые бактерии играют важную роль в живой природе, сельском хозяйстве и нормальной жизнедеятельности человека. Влияние ускоренной индустриализации производства молочнокислых бактерий, основанной на небольшом числе адаптированных для заводов штаммов, на природное разнообразие этих бактерий и здоровье человека пока остаётся неизученным.[26,8]

Также существуют стартовые закваски, представляющие собой смесь специально подготовленных зернопродуктов со стартовыми культурами броидильной микрофлоры. Такой продукт производит фирма *Wocker*.

В СПбФ ГосНИИХП создана биологическая сухая ржаная закваска (ЗСБ) длительного хранения. В ее разработке участвовали Е.Н.Павловская, Н.Д.Синявская, Л.И.Кузнецова и другие сотрудники, претворившие в жизнь идеи, высказанные в свое время Л.Н.Казанской. В качестве исходной закваски для получения ЗСБ используется ржаная КМКЗ, выведенная на сухом лактобактерине для жидких хлебных заквасок.

Кислотность исходной КМКЗ для сокращения расхода сухой закваски при приготовлении теста повышена до 34-39 градусов. Это достигается тем, что КМКЗ готовят по двухфазной схеме с уменьшением влажности по фазам с 56 до 40%. Закваску подсушивают в ИК - установке с принудительной вентиляцией, гранулируют через сито с диаметром отверстий 0,2-0,3 см и повторно высушивают на воздухе до влажности 12-14%.

Готовая сухая биологическая закваска из ржаной муки (ТУ 9291-049-11163857-99) представляет собой сыпучий продукт с массовой долей влаги не более 13% и кислотностью 35-40 градусов. Она имеет приятный кисловатый вкус и запах, свойственный биологической ржаной закваске. В 1 грамме ЗСБ содержится не менее 0,1 млн. живых клеток лактобактерий (60-65% жизнеспособной микрофлоры по отношению к исходной). По этому ЗСБ можно использовать для приготовления ржаной закваски на производстве, минуя трудоемкий процесс выведения заквасок на чистых культурах. Расход сухой закваски благодаря ее высокой кислотности составляет всего 5% к массе муки в тесте. В качестве биологического разрыхлителя используют прессованные или сушеные дрожжи. ЗСБ предназначена для приготовления любых сортов хлеба из ржаной и смеси пшеничной и ржаной муки по ускоренной технологии

на предприятиях любой мощности при круглосуточном или дискретном режимах работы, а также традиционных жидких ржаных заквасок с заваркой и без заварки. Гарантийный срок хранения ЗСБ составляет три месяца [3].

Опыты по приготовлению сухих заквасок предприняты также в Восточно-Сибирском государственном технологическом университете Халапхановой Л.В., Хамагаевой И.С., Кузнецовой И.М., а также в Воронежской технологической академии Дерканосовой Н.М. и др [21, 6, 10].

В Восточно-Сибирском государственном технологическом университете впервые исследована возможность получения симбиотической закваски для хлебопекарного производства путем подбора условий избирательной селекции микрофлоры кефирной грибковой закваски на заварки из ржаной муки. Установлено, что при культивировании активизируется рост дрожжевой микрофлоры и гетероферментативных лактобактерий, характерных для хлебопекарных заквасок. Отмечена высокая стабильность микрофлоры симбиотической закваски в процессе ведения. Заятуевой М. Г., Хамагаевой И.С., Цыбиковой Г.Ц. предложен способ приготовления хлеба на жидкой закваске, полученной путем заквашивания заварки из ржаной муки бифидобактериями. Кузнецовой И.М. была разработана концентрированная симбиотическая закваска, активная в жидкой, замороженной и сухой формах. Закваска выведена путем оптимизации состава питательной среды благоприятной для развития мезофильных лактобактерий и дрожжей, не сбраживающих лактозу, характерных для ржаных заквасок. Было установлено, что внесение в питательную среду 15%-го картофельного отвара ускоряет рост дрожжей и обеспечивает высокий выход биомассы симбиотической закваски.



**Рис. 16. Систематизация источников необходимых компонентов для питательных сред ржаных заквасок**

### **5.5. Управление процессом приготовления закваски**

Основным способом регулирования биохимических процессов в заквасках является:

-Подбор вида и характеристик микрофлоры заквасок

- Регулирование температуры выведения закваски
- Регулирование влажности закваски
- Регулирование продолжительности брожения

Важными факторами, действующими на жизнедеятельность микроорганизмов в заквасках и тесте, являются температура, кислотность и влажность среды.

Поскольку при выведении заквасок применяются разные группы микроорганизмов, то необходимы разные условия для их существования и размножения. Оптимальные условия развития дрожжей и молочнокислых бактерий различны. Изменение параметров среды (температуры и влажности) позволяет контролировать развитие желаемых микроорганизмов и, следовательно, качество закваски. Таким образом установлено, что повышение температуры до 35°C стимулирует развитие молочнокислых бактерий, но приводит к угнетению дрожжевой микрофлоры. Снижение температуры до 28-30°C, наоборот повышает бродильную активность дрожжей, но замедляет процесс нарастания кислотности.

Увеличение влажности закваски до 75% снижает интенсивность кислотонакопление в результате уменьшения количества питательных веществ для молочнокислых бактерий. Дрожжи *S.cerevisiae* в таких заквасках развиваются хорошо, так как для них благоприятна невысокая кислотность среды (10-12 градусов), а также определенная консистенция закваски. Увеличение влажности закваски до 80-85 % и выше, связанное с отсутствием на хлебозаводах достаточно мощных насосов для перекачки за кваски, приводит к угнетению дрожжей и бактерий из-за дефицита питательных веществ.

На бродильную микрофлору оказывает большое влияние внесение осаживаемой заварки, применение ферментных препаратов, улучшителей, амилотической активности муки и т.д. Так, в случае переокисления и ухудшения подъемной силы закваски снижают ее температуру до 20-25°C (заливают холодной водой), увеличивают влажность, вносят заварку или ускоряют ритм отбора.

При недостаточном нарастании кислотности в жидкой закваске повышают ее температуру на 1-2°C, уменьшают влажность, снижают количество заварки и дают больше мучного питания, увеличивают продолжительность брожения. С повышением кислотного режима среды активность дрожжей заметно ухудшается, а при 13-14 градусах вид *S.cerevisiae* начинает вытесняться дрожжами *S.minor*.

Регулирование соотношения выброженной закваски и питательной смеси при обновлении позволяет влиять на соотношение дрожжей и молочнокислых бактерий в закваске.

#### **Вопросы для самоконтроля**

- 1) В чем особенности технологии приготовления закваски с использованием чистых культур молочнокислых бактерий и дрожжей?
- 2) Какие способы регулирования биохимических процессов в закваске?
- 3) Какие продукты используют в составе питательных сред в ржаные закваски?
- 4) Какие основные способы регулирования биохимических процессов в заквасках?

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

##### Основная

1. **Пащенко Л.П.** Технология хлебобулочных изделий / Л.П. Пащенко, И.М. Жаркова. – М.: «КолосС», 2006. – 389 с.

##### Дополнительная

1. **Матвеева, И.В.** Биотехнологические основы приготовления хлеба [Текст]. : монография / И.В. Матвеева, И.Г. Белявская –М.: ДеЛи принт, 2001- 150 с. - 300 экз. -

ISBN 5-94343-011-3.

2. Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>
3. Журналы: «Пищевая промышленность», «Хлебопечение России».

## Лекция 6

### ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ТЕСТОПРИГОТОВЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

#### 6.1. Свойства ферментов как биологических катализаторов

Фермент - от лат. *fermentum* - закваска; энзим - от греч. *эн* - внутри, *зиме* - закваска.

Ферменты, или энзимы, - это катализаторы белковой природы, образующиеся и функционирующие во всех живых организмах. Происхождение терминов связано с тем, что первоначально ферментативные процессы были открыты и изучены в бродильном производстве. В каждой клетке имеются сотни различных ферментов. С их помощью осуществляются многие химические реакции, которые могут с большой скоростью идти при температурах, подходящих для данного организма, т.е. в пределах от 5 до 40<sup>0</sup> С. Чтобы эти реакции с той же скоростью протекали вне организма, потребовались бы высокие температуры и резкие изменения некоторых других условий. Для клетки это означало бы гибель, так как вся работа клетки строится таким образом, чтобы избежать любых сколько-нибудь заметных изменений в нормальных условиях ее существования. Следовательно, ферменты можно определить как *биологические катализаторы*, т.е. как вещества, ускоряющие реакции. Они абсолютно необходимы, потому что без них реакции в клетках протекали бы слишком медленно и не могли поддерживать жизнь. Совокупность биохимических реакций, катализируемых ферментами, составляет сущность обмена веществ, являющегося отличительной чертой всех живых организмов. Через ферментативный аппарат, регуляцию его активности происходит и регуляция скорости метаболических реакций, их направленности.

Являясь катализаторами, ферменты имеют ряд общих с небиологическими катализаторами свойств:

1. Ферменты не входят в состав конечных продуктов реакции и выходят из нее, как правило, в первоначальном виде, т.е. они не расходуются в процессе катализа (в настоящее время доказано, что некоторые ферменты в конце химической реакции подвергаются модификации и даже распаду, а не освобождаются в неизменном виде, как постулировал Л.Михаэлис).

2. Ферменты не могут возбудить те реакции, протекание которых противоречит законам термодинамики, они ускоряют только те реакции, которые могут протекать и без них.

3. Ферменты не смещают положения равновесия, а лишь ускоряют его достижение.

Специфические свойства:

1. Конечно же, по своему химическому строению все ферменты являются белками.

2. Эффективность ферментов намного выше, чем небиологических катализаторов (скорость протекания реакции при участии фермента выше на несколько порядков).

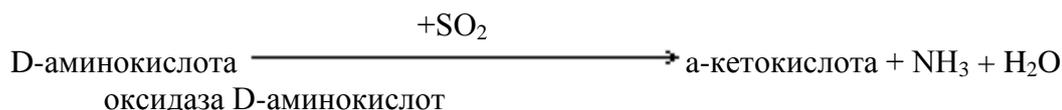
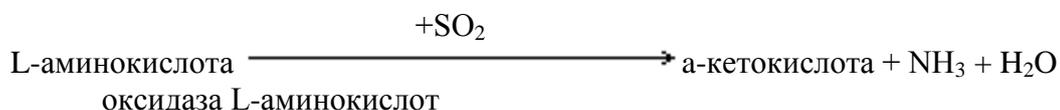
3. Ферменты обладают узкой специфичностью, избирательностью действия на субстраты, т.е. на вещества, превращение которых они катализируют. Высокая специфичность ферментов обусловлена конформационной и электростатической комплементарностью между молекулами субстрата и фермента и уникальной структурой активного центра фермента, обеспечивающими "узнавание", высокое

сродство и избирательность протекания одной какой-либо реакции из тысячи других химических реакций, осуществляющихся одновременно в живых клетках.

В зависимости от механизма действия различают ферменты с *относительной* (или *групповой*) *специфичностью* и *абсолютной специфичностью*. Так, для действия некоторых гидролитических ферментов наибольшее значение имеет тип химической связи в молекуле субстрата. Например, пепсин расщепляет белки животного и растительного происхождения, хотя они могут существенно отличаться друг от друга как по химическому строению и аминокислотному составу, так и по физико-химическим свойствам. Однако пепсин не расщепляет углеводы или жиры. Объясняется это тем, что местом действия пепсина является пептидная -СО-NH- связь. Для действия липазы, катализирующей гидролиз жиров на глицерин и жирные кислоты, таким местом является сложноэфирная связь. Аналогичной относительной специфичностью обладают также некоторые внутриклеточные ферменты, например гексокиназа, катализирующая в присутствии АТФ фосфорилирование почти всех гексоз, хотя одновременно в клетках имеются специфические для каждой гексозы ферменты, выполняющие такое же фосфорилирование.

Абсолютной специфичностью действия называют способность фермента катализировать превращение только единственного субстрата. Любые модификации в структуре субстрата делают его недоступными для действия фермента.

Стереохимическая специфичность ферментов обусловлена существованием оптически изомерных L- и D-форм или геометрических (цис- и транс- ) изомеров химических веществ. “Так, известны оксидазы L- и D-аминокислот, хотя в природных белках обнаружены только L-аминокислоты. Каждый из видов оксидаз действует только на свой специфический стереоизомер.



Наглядным примером стереохимической специфичности является бактериальная аспаратдекарбоксилаза, катализирующая отщепление СО<sub>2</sub> только от L-аспаргиновой кислоты с превращением ее в L-аланин” [1].

4. Регулируемость ферментов как биокатализаторов. “Через регуляцию ферментативного аппарата осуществляется скоординированность всех метаболических процессов во времени и пространстве, направленное на воспроизведение живой материи, поддержание постоянства внутриклеточной среды, на приспособление к меняющимся внешним условиям” [2].

5. Термолабильность ферментов. Скорость химических реакций зависит от температуры, поэтому катализируемые ферментами реакции также чувствительны к изменениям температуры. Однако вследствие белковой природы фермента тепловая денатурация при повышении температуры будет снижать эффективную концентрацию фермента с соответствующим снижением скорости реакции. Таким образом, термолабильность, или чувствительность к повышению температуры является одним из

характерных свойств ферментов, резко отличающих их от неорганических катализаторов. При 100<sup>0</sup>С почти все ферменты утрачивают свою активность (исключение составляют, очевидно, только один фермент мышечной ткани - миокиназа, которая выдерживает нагревание до 100<sup>0</sup>С). При низких температурах (0<sup>0</sup>С и ниже) ферменты, как правило, не разрушаются, хотя активность их падает почти до нуля. Во всех случаях имеет значение время воздействия соответствующей температуры. В настоящее время для пепсина, трипсина и ряда других ферментов доказано существование прямой зависимости между скоростью инактивации фермента и степенью денатурации белка. На термолабильность ферментов определенное влияние оказывают концентрация субстрата, рН среды и другие факторы.

6. Зависимость активности ферментов от рН среды. Ферменты обычно наиболее активны в пределах узкой зоны концентрации водородных ионов, соответствующей для животных тканей в основном выработанным в процессе эволюции физиологическим значением рН среды 6.0 - 8.0. рН-оптимум действия ферментов лежит в пределах физиологических значений. Исключение составляет пепсин, рН-оптимум которого равен 2.0. Объясняется это тем, что пепсин входит в состав желудочного сока, содержащего свободную соляную кислоту, которая создает оптимальную кислую среду для действия этого фермента. С другой стороны, рН-оптимум аргиназы лежит в сильно щелочной зоне (около 10.0); такой среды нет в клетках печени, следовательно, *in vivo* аргиназа функционирует, по-видимому, не в своей оптимальной зоне рН среды. Влияние изменений рН среды на молекулы фермента заключается в воздействии на состояние и степень ионизации кислотных и основных групп (СООН-группы дикарбоновых аминокислот, SH-группы цистеина, имидазольного азота гистидина и др.). При разных значениях рН среды активный центр может находиться в частично ионизированной или в неионизированной форме, что сказывается на третичной структуре белка и соответственно формировании активного фермент-субстратного комплекса. Кроме того, имеет значение и состояние ионизации субстратов и кофакторов.

## 6.2. Получение ферментных препаратов

Для получения ферментных препаратов используют как микроскопические грибы, так и бактерии и дрожжи. Иногда получение технического ферментного препарата кончается проведением процесса ферментации, например, в спиртовой промышленности для осахаривания крахмала используют жидкую культуру *Aspergillus niger*. Впоследствии ее добавляют в жидком виде в количестве 10-12% к осажариваемому затору. Однако активность ферментов в культуральной жидкости быстро снижается. Поэтому широко практикуют получение сухих технических ферментных препаратов.

Технические препараты ферментов. Комплексный амилитический ферментный препарат получают путем выращивания плесневых грибов на твердой питательной среде с последующей сушкой и измельчением полученной массы. Более активный препарат фермента получают путем экстракции такого "грибного солода" с последующим выпариванием и сушкой. Еще более активные ферментные препараты можно выделить из культуральной жидкости путем осаждения амилазы ацетоном и дальнейшим высушиванием коагулятом при температуре 27-27<sup>0</sup>С. Для осаждения фермента часто используют и сульфат аммония. Предварительно культуральную

жидкость выпаривают при температуре 40<sup>0</sup> С до 40%-ного содержания сухих веществ. Коагулят сушат вместе с наполнителем.

Комплекс ферментов протеолитического и амилалитического действия получают при помощи культуры *Bacillus subtilis*. Это аэробные, грамположительные, подвижные палочки. Для этих бактерий характерен очень богатый комплекс гидролитических ферментов. В качестве источников питания они могут использовать белки, углеводы, спирты, органические кислоты. *Bacillus subtilis* культивируют как методом поверхностного культивирования на отрубях, так и в жидких средах особого состава по методу глубинного культивирования.

Целлюлолитические ферментные препараты. Производство целлюлаз основывается на использовании культуры гриба *Trichoderma viride*. Существующие в настоящее время способы получения целлюлаз в глубинной культуре предполагает выращивание микроорганизмов-продуцентов целлюлаз на питательной среде, содержащей в качестве источников углерода, как правило, очищенную целлюлозу, или же содержащие ее природные субстраты. Но получение целлюлазы с использованием в качестве основного компонента среды природной целлюлозы (например, древесные опилки) сопряжено с рядом технологических трудностей. Более рационально использование питательной среды, содержащей растворимый "индуктор". Такой питательной средой может быть молочная сыворотка, основным компонентом которой является лактоза (предварительно от молочной сыворотки отделяют белок). В качестве продуцента может быть использован гриб *Trichoderma lignorum*, позволяющий получить весь комплекс целлюлолитических ферментов, необходимый для расщепления природных целлюлозосодержащих субстратов.

### **6.3. Роль ферментов в тестоведении**

Брожение теста протекает в период времени от момента замеса до деления теста на куски. Цель этого сложного процесса - разрыхление теста, а также придание ему определенных структурно-механических свойств, необходимых для последующих операций, накопление веществ, обуславливающих органолептические свойства готового хлеба (вкус, аромат, окраска). Комплекс реакций, одновременно протекающих на стадии брожения и взаимно влияющих друг на друга, объединяют общим понятием созревание теста. Созревание включает в себя микробиологические (спиртовое и молочнокислое брожение), коллоидные, физические и биохимические процессы. Спиртовое брожение вызывается дрожжами, в результате которого сахара превращаются в спирт и диоксид углерода. Дрожжи сбраживают сначала глюкозу и фруктозу, а затем сахарозу и мальтозу, которые предварительно превращаются в моносахариды. Источником сахаров являются собственные сахара зерна, перешедшие в муку, но главную массу составляет мальтоза, образовавшаяся в тесте при осахаривании крахмала.

Существенную роль в технологии производства хлеба выполняют ферменты, влияющие на протекание биохимических процессов в тесте. Известно, что качество пшеничной муки зависит от химического и биохимического состава зерна пшеницы и определяются в основном двумя ее показателями: сахарообразующей способностью и "силой" муки, обуславливающей газо- и формоудерживающую способность теста. На химический состав зерна и его биохимические показатели влияет целый ряд факторов, таких как сортовые и видовые особенности пшеницы, климатические и погодные условия выращивания, агротехнические мероприятия и т.д. Разнообразие сортов

пшеницы и условий ее выращивания приводит к получению зерна с различными качественными показателями, а следовательно и муки с различной газообразующей и газодерживающей способностью. Отечественная хлебопекарная промышленность перерабатывает ежегодно значительные количества сортовой пшеничной муки со средними и пониженными хлебопекарными качествами. При работе с такой мукой для получения хлеба хорошего качества необходимо улучшать как сахарообразующую, так и формоудерживающую способность муки, что достигается за счет использования ферментных препаратов.

#### **6.4. Эндоферменты муки и их влияние на качество готового продукта**

*Ферменты* - вещества белковой природы, способные катализировать (ускорять) различные реакции. Ферменты вырабатываются живыми клетками в очень малых количествах, однако ввиду высокой активности вызывают изменения в огромной массе вещества. Как известно, их действие весьма специфично. Каждый фермент катализирует только определенную реакцию для одного вещества, а чаще для группы веществ сходного строения. Все ферменты чувствительны к температуре и реакции среды. Для каждого фермента существует значение температуры и кислотности среды, при которых он наиболее активен (оптимальные условия). При определенных значениях температуры и кислотности фермент разрушается (инактивируется). Нагревание до 70-80 градусов разрушает почти все ферменты, они свертываются и теряют каталитические свойства. На активность многих ферментов влияет присутствие определенных химических веществ. Некоторые из них активируют ферменты (активаторы), другие - снижают их активность (ингибиторы). В зерне находятся разнообразные ферменты, сосредоточенные главным образом в зародыше и периферийных (краевых) частях зерна. Поэтому в муке низших сортов содержится больше ферментов, чем в муке высших сортов. Ферментная активность разных партий одного и того же сорта муки неодинакова. Она зависит от условий произрастания, хранения, сушки и кондиционирования зерна. Активность ферментов проросшего зерна повышенная. Прогревание зерна при высушивании или кондиционирование снижают ферментную активность. В процессе хранения зерна и муки она также несколько уменьшается. Ферменты активны только в растворе, поэтому при хранении сухого зерна и муки их действие почти не проявляется. После замеса полуфабрикатов многие ферменты начинают катализировать реакции разложения сложных веществ муки. Активность, с которой происходит разложение сложных нерастворимых веществ муки на более простые водорастворимые вещества под действием ее собственных ферментов, называется автолитической активностью (автолиз - саморазложение). Автолитическая активность муки - важный показатель ее хлебопекарных свойств. Как низкая, так и высокая автолитическая активность муки отрицательно влияют на качество теста, хлеба. Желательно, чтобы автолитический процесс разложения белков и крахмала теста происходил с определенной, умеренной скоростью. Для того чтобы регулировать автолитические процессы в производстве хлеба, необходимо знать свойства важнейших ферментов муки, действующих на белки, крахмал и другие компоненты муки.

#### **6.5. Амилолитические ферменты (амилазы)**

Амилолитические ферменты (альфа - и бета-амилазы) действуют на крахмал. Альфа-амилаза превращает крахмал главным образом в декстрины, образуя небольшое количество мальтозы. Бета-амилаза действует на крахмал или на декстрины, образуя значительное количество мальтозы. При совместном действии обеих амилаз крахмал гидролизуются почти полностью, так как декстрины осаживаются сравнительно легко.

Особенно легко осаживается клейстеризованный крахмал, так как рыхлые набухшие крахмальные зерна быстро поддаются действию ферментов. Чувствительность альфа - и бета-амилаз к условиям среды различна, а-Амилаза более чувствительна к кислотности среды и менее чувствительна к температуре по сравнению с р-амилазой. Температура инактивации этих ферментов в зависимости от кислотности среды соответственно равна 70-95 и 60-84° С. Оптимальная температура осаживания пшеничного крахмала под совместным действием альфа - и бета-амилаз 63-65° С. В кислой среде амилазы инактивируются при более низкой температуре. Технологическое значение амилаз различно бета-амилаза, осаживая крахмал, содержащийся в тесте, способствует накоплению сахаров, необходимых для спиртового брожения в тесте, а альфа-амилаза, превращая крахмал в декстрины, ухудшает качество хлебных изделий. По сравнению с крахмалом декстрины плохо набухают в воде. Мякиш с большим содержанием декстринов становится липким и влажным даже при нормальной влажности хлеба. Бета-амилаза содержится в муке всех видов и сортов, а альфа-амилаза в муке из незрелого или проросшего зерна. В ржаной муке нормального качества всегда содержится альфа-амилаза, что значительно влияет на ее хлебопекарные свойства.

#### **6.6.Протеолитические ферменты (протеиназы)**

Протеолитические ферменты действуют на белки и продукты их гидролиза. В зерне и муке всегда содержатся протеиназы, активность которых обычно невысока. Считают, что зерновые протеиназы не разрушают полностью белковую молекулу, но изменяют ее сложную структуру, отчего меняются свойства белков и теста. Значительно активны протеиназы зерна проросшего, незрелого и в особенности зерна, пораженного клопом-черепашкой. Повышенная активность протеиназ ухудшает качество клейковины, лишает ее эластичности, упругости и способности к набуханию. Умеренное воздействие протеиназ на белки необходимо для "созревания" теста. Клейковина становится более пластичной, что улучшает структуру пористости и повышает объем хлеба. Зерновые протеиназы наиболее активны в слабокислой среде при температуре 45-47 градусов. Активность протеиназ значительно снижается в присутствии окислителей, например йодата калия, который применяется для улучшения качества хлеба при переработке слабой муки, а также при добавлении поваренной соли. Активность протеиназ значительно увеличивается в присутствии восстановителей, например глутатиона, который содержится в дрожжах и способен улучшить качество хлеба при переработке муки с чрезмерно крепкой, крошащейся клейковиной.

#### **6.7.Липолитические ферменты**

Липаза всегда содержится в муке, она катализирует расщепление жиров на глицерин и жирные кислоты. Липаза имеет большое значение при хранении муки, так как увеличение кислотности муки при хранении связано главным образом с действием этого фермента. Липоксигеназа окисляет жирные ненасыщенные кислоты муки в присутствии кислорода до пероксидов (перекисей), которые способствуют увеличению силы муки при ее хранении.

Оксидоредуктазы.

О-дифенолоксидаза (полифенолоксидаза) окисляет фенолы в хиноны, которые конденсируясь, превращаются в меланины. Цвет образовавшихся меланинов зависит от их молекулярной массы. Чем крупнее молекула, тем темнее окраска. По мере

увеличения молекулярной массы цвет меняется от розового до черного. Меланины вызывают потемнение теста и мякиша хлеба при переработке некоторых партий муки.

В настоящее время мука, предлагаемая рынком России, в основном имеет недостатки, связанные с низким содержанием клейковины и с очень плохим ее качеством, а также с сильно заниженной или наоборот повышенной активностью ферментов. Все недостатки муки являются результатом неправильного хранения зерна или его плохого качества. Еще несколько десятков лет назад осуществлялся строгий контроль качества муки, использовались эффективные способы смешивания муки плохого качества с мукой хорошего качества для улучшения первой. На сегодняшний день главную трудность составляет найти муку необходимого качества, с помощью которой можно было бы хоть немного улучшить муку с не очень хорошими хлебопекарными свойствами. Вследствие всего вышесказанного хлебопекарные предприятия вынуждены применять улучшители для повышения качества муки и исправления ее недостатков.

### Вопросы для самоконтроля

1. Какую роль выполняют ферменты в технологии производства хлеба?
2. Что влияет на активность ферментов?
3. Какое технологическое значение амилолитических ферментов?
4. В чем заключается действие протеолитических ферментов?

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

#### Основная

1. **Пащенко Л.П.** Технология хлебобулочных изделий / Л.П. Пащенко, И.М. Жаркова. – М.: «КолосС», 2006. – 389 с.

#### Дополнительная

1. **Матвеева, И.В.** Биотехнологические основы приготовления хлеба [Текст]. : монография / И.В. Матвеева, И.Г. Белявская –М.: ДеЛи принт, 2001- 150 с. - 300 экз. - ISBN 5-94343-011-3.
2. Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>
3. Журналы: «Пищевая промышленность», «Хлебопечение России».

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

2. Журналы: «Пищевая промышленность», «Хлебопечение России».
3. **Еремина, И.А.** Микробиология продуктов растительного происхождения. Учебное пособие/ И.А. Еремина, Н.И. Лузина, О.В. Кригер. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности.- Кемерово, 2003.- 87 с. - ISBN 5-89289-287-5
4. **Матвеева, И.В.** Биотехнологические основы приготовления хлеба [Текст]. : монография / И.В. Матвеева, И.Г. Белявская –М.: ДеЛи принт, 2001- 150 с. - 300 экз. - ISBN 5-94343-011-3.
5. **Патент 2267929.** Россия. Пищевая добавка для приготовления хлебобулочных изделий, вводимая в дрожжи /Поландова Р.Д., Шлеленко Л.А., Еркинбаева Р.К., Мовсарова З.Х.; ГУП ГНИИХП. –2004.
6. **Пашенко Л.П.** Технология хлебобулочных изделий / Л.П. Пашенко, И.М. Жаркова. – М.: «КолосС», 2006. – 389 с.
7. **Полякова, С.П.** Повышение микробиологической устойчивости хлебобулочных изделий при хранении: автореф. дис. на соиск. степ.к.т.н./ С.П. Полякова. – М.: МГУПП. -2002. – 17 с.
8. **Пучкова Л.И.** Технология хлеба, кондитерских и макаронных изделий. Ч.1 /Л.И. Пучкова и др. - СПб.: ГИОРД, 2005. - 559 с.
9. ООО «Производственная корпорация Балтийский хлеб» [Электронный ресурс] - режим доступа: <http://www.baltic-bread.ru>
10. Русское хлебопечение [Электронный ресурс] - режим доступа: <http://www.hleb.net>.
11. Электронная библиотека СГАУ - <http://library.sgau.ru>

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Введение</b> .....	3
<b>Лекция 1. Вводная</b> .....	4
1.1. Введение в дисциплину.....	4
1.2. Основные процессы, протекающие при производстве хлеба.....	5
1.2.1. Спиртовое брожение.....	5
1.2.2. Молочнокислое и другие типы брожения.....	7
1.2.3. Биохимические процессы.....	12
<b>Лекция 2. Микробиология хлебопекарного, макаронного и кондитерского производств</b> .....	14
2.1. Микробиология хлебопекарного производства.....	14
2.1.1. Микроорганизмы, используемые в производстве хлеба из пшеничной муки.....	15
2.1.2. Микроорганизмы, применяемые для производства хлеба из ржаной муки.....	15
2.1.3. Микроорганизмы-вредители хлебопекарного производства.....	16
2.1.4. Микробиологический контроль хлебопекарного производства.....	17
2.2. Микробиология макаронного производства.....	18
2.2.1. Микробиологический контроль макаронного производства.....	19
2.3. Микробиология кондитерского производства.....	19
2.3.1. Источники микрофлоры и ее состав.....	20
2.3.2. Микробиологическая порча кондитерских изделий.....	21
2.3.3. Микробиологический контроль кондитерского производства.....	21
<b>Лекция 3. Биотехнологические свойства хлебопекарных дрожжей</b> ...	23
3.1. Общая характеристика дрожжей.....	23
3.2. Условия жизнедеятельности дрожжей.....	25
3.3. Источники питания.....	28
3.4. Анаэробный распад углеводов.....	32
3.5. Аэробный распад углеводов.....	34
3.6. Расход сахара на биосинтетические процессы и продукты брожения.....	36
3.7. Биотехнологические свойства хлебопекарных дрожжей.....	37
3.8. Активация дрожжей и современный подход к ее оценке.....	38
<b>Лекция 4. Биотехнологические процессы при брожении пшеничных полуфабрикатов</b> ...	44
4.1. Биохимические аспекты приготовления теста.....	44
4.2. Роль дрожжей сахаромикетов в хлебопечении.....	48
4.3. Роль молочнокислых бактерий в хлебопечении.....	49
<b>Лекция 5. Биотехнологические процессы при приготовлении ржаных и ржано-пшеничных полуфабрикатов</b> .....	54
5.1. Современные тенденции развития использования новых заквасок и применение их для производства хлеба из ржаной муки.....	54
5.2. Приготовление закваски путем спонтанного брожения смеси муки и воды.....	58
5.3. Приготовление закваски с использованием чистых культур молочнокислых бактерий и дрожжей.....	59
5.4. Приготовление закваски с применением закваски прежнего приготовления.....	60
5.4.1. Приготовление закваски с использованием препаратов стартовых культур.....	61
5.5. Управление процессом приготовления закваски.....	63
<b>Лекция 6. Интенсификация процессов тестоприготовления на основе ферментных препаратов</b> .....	66
6.1. Свойства ферментов как биологических катализаторов.....	66
6.2. Получение ферментных препаратов.....	68

6.3. Роль ферментных препаратов в тестоведении.....	69
6.4. Эндоферменты муки и их влияние на качество готовой продукции.....	70
6.5. Амилолитические ферменты (амилазы).....	70
6.6. Протеолитические ферменты (протеиназы).....	71
6.7. Липолитические ферменты.....	71
<b>Библиографический список</b> .....	<b>73</b>
<b>Содержание</b> .....	<b>74</b>