

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Е.И. Решетник, Ю.И. Держапольская, С.Л. Грибанова

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ  
ЛЕЧЕБНОГО И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ**

*Лабораторный практикум  
для магистрантов всех форм обучения по направлению подготовки  
19.04.03 «Продукты питания животного происхождения»*

Благовещенск  
Издательство Дальневосточного ГАУ  
2016

УДК 673.03

Решетник, Е.И. Биотехнология продуктов лечебного и профилактического питания. Лабораторный практикум / сост. д-р техн.наук, проф. Е.И. Решетник; канд. техн. наук, доц. Ю.И. Держапольская; С.Л. Грибанова. – Благовещенск: Изд-во Дальневосточного ГАУ, 2016. – 58 [2] с.

Учебное пособие составлено на основании курса лекций и лабораторных работ по дисциплине «Биотехнология продуктов лечебного и профилактического питания». Рассматривается материал, посвященный углублению и расширению фундаментальных и профессиональных знаний магистра необходимых для производственно-технологической, проектной и исследовательской деятельности в области технологии продуктов питания.

Предназначено для подготовки магистров всех форм обучения по направлению подготовки 19.04.03 «Продукты питания животного происхождения».

Рецензент – С.Н. Парфенова, канд. техн. наук, доцент

Рекомендовано к изданию методическим советом технологического факультета Дальневосточного государственного аграрного университета (Протокол №4 от 21 декабря 2015 года).

Издательство Дальневосточного ГАУ  
2016

**СОДЕРЖАНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1	
Типовая схема биотехнологического производства .....	6
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2	
Принципы составления питательных сред в биотехнологическом производстве. Особенности роста микроорганизмов на питательных средах различного состава .....	13
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3	
Получение лимонной кислоты путем культивирования плесневого гриба поверхностным способом на жидкой питательной среде .....	20
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4	
Ознакомление с технологией спреда, полученного методом преобразования высокожирной смеси .....	28
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5	
Исследование показателей качества спреда .....	36
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №6	
Разработка и исследование технологии кисломолочных напитков для профилактики витаминной недостаточности.....	41
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №7	
Интегральная оценка сбалансированности продуктов питания .....	46
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	58

## ВВЕДЕНИЕ

Дисциплиной «Биотехнология продуктов лечебного и профилактического питания» предусматривается изучение основных направлений развития современной биотехнологии, различных этапов биотехнологического процесса, вклада биотехнологии в решение проблем пищевой промышленности.

Развитие биотехнологии обусловлено не только прогрессом наук, но и социально-экономическими потребностями общества. Такие актуальные проблемы как дефицит чистой воды, пищевых веществ, загрязнение окружающей среды, недостаток сырьевых и энергетических ресурсов не могут быть решены традиционными методами, и поэтому возникает необходимость в разработке и широком внедрении принципиально новых технологий.

Перспективность внедрения биотехнологических процессов в производство обусловлена их компактностью, крупномасштабностью, высоким уровнем автоматизации и высокой производительностью труда.

Основная цель преподавания дисциплины - освоение теоретических и практических основ в области переработки животного сырья с целью получения мясных, рыбных, молочных продуктов для лечебного и профилактического питания.

Задачами освоения дисциплины является изучение:

- сущности и обоснование биотехнологических процессов производства продуктов лечебного и профилактического питания, требования предъявляемые к продуктам лечебного и профилактического питания;

- материальных расчетов и выбор оптимальных условий проведения биотехнологических процессов производства;

- основных характеристик состава и свойств молочных продуктов, умение пользоваться современными методами контроля технологических операций, качество сырья, продуктов лечебного и профилактического питания;

В результате освоения дисциплины обучающийся должен продемонстрировать следующие результаты образования:

**знать:** основные требования, предъявляемые к сырью, материалам, пищевым добавкам, готовым продуктам; химический состав сырья и биотехнологические процессы при его переработке и хра-

нении; биотехнологические процессы; способы биотехнологической переработки животного сырья; классификацию сырья животного происхождения; биохимические изменения животного сырья и влияние их на его качество; сущность микробиологических, биохимических, ферментативных процессов, переработки.

**уметь:** оценивать эффективность результатов своей деятельности и деятельности коллектива; применять достижения современной науки и техники, а также новых технологий; управлять качеством продукции; разрабатывать новые виды продукции и технологии в области здорового питания на основе научных исследований; участвовать в разработке регламентов при подготовке проектной и технологической документации; анализировать информационные и научные данные; уметь характеризовать качественные показатели сырья и продукции; уметь определять по органолептическим показателям наиболее часто применяемые пищевые добавки и заменители животного сырья.

**владеть:** терминологией, определениями и положениями изучаемой дисциплины; методами расчетов для обоснования норм расхода сырья и вспомогательных материалов при производстве продуктов животного происхождения; современными способами биотехнологических процессов в производстве мясных, молочных и рыбных продуктов.

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1**

### **Типовая схема биотехнологического производства**

**Цель работы:** Ознакомиться с основными стадиями биотехнологического производства. Изучить основные направления развития биотехнологии.

#### ***Краткие теоретические положения***

**Биотехнология** - это наука, разрабатывающая способы производства практически важных веществ и продуктов питания с использованием живых организмов и методы конструирования новых организмов с заданными свойствами. Биотехнология – междисциплинарная область, возникающая на стыке биологических, химических и технических наук.

Современная биотехнология использует достижения наук биологического цикла, так как базируется на глубоком знании характеристик микроорганизмов, их строении, физиологии, биохимии, генетике, взаимоотношениях в ассоциациях.

На развитие биотехнологии непосредственно влияют химия, физика, математика, механика, которые связаны с кинетикой процессов, влиянием на процессы различных внешних факторов, массо- и энергопереносом. Успехи машиностроения, электроники, автоматизации позволили создать новую аппаратуру и автоматизировать биотехнологические процессы.

Связь с экономическими науками обусловлена постоянной конкуренцией с альтернативными технологиями (химической, сельскохозяйственной).

#### ***Основные направления в биотехнологии:***

1. *Создание новых биологически активных веществ и лекарственных препаратов для медицины.*

**Антибиотики** – специфические продукты жизнедеятельности, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определенным группам микроорганизмов и к злокачественным опухолям, избирательно задерживающие их рост или полностью подавляющие развитие. Всего известно около 5000 антибиотиков, но не все из них допущены для применения в медицине. Это

связано с токсичностью существующих антибиотиков, аллергическими реакциями, вызываемыми ими, нарастанием устойчивости патогенных микроорганизмов к применяемым препаратам и др. Поэтому происходит поиск новых антибиотиков по средствам испытания новых продуцентов, химической модификации, клеточной и генетической инженерии.

**Гормоны.** Биотехнология предоставляет медицине новые пути получения ценных гормональных препаратов. Раньше гормоны получали из органов и тканей животных и человека. Требовалось много материала для получения небольшого количества продукта. В настоящее время с применением генноинженерных штаммов получают гормон роста (соматотропин), инсулин (регулирует уровень глюкозы в крови), кортизон (гормон надпочечников) и другие гормоны. Это позволяет снизить стоимость препаратов и получать их в больших количествах.

**Интерфероны** – выделяются клетками человека и животных в ответ на инфицирование вирусами. Они обладают противовирусной активностью. До введения методов генной инженерии интерфероны получали из донорской крови – до 1 мкг неочищенного интерферона из 1 л крови, т.е. примерно одну дозу для инъекции. В настоящее время интерфероны успешно получают с применением генноинженерных штаммов *Escherichia coli*, дрожжей, культивируемых клеток насекомых и млекопитающих. Интерфероны используются для лечения болезней, вызываемых вирусами герпеса, гепатитов и др.

**Рекомбинантные вакцины и вакцины-антигены.** Вакцинация – один из основных способов борьбы с инфекционными заболеваниями. Путем всеобщей вакцинации ликвидирована натуральная оспа, ограничено распространение бешенства, полиомиелита, желтой лихорадки. Большое экономическое значение имеет разработка вакцин против болезней сельскохозяйственных животных (нпр, ящура). Традиционные вакцинные препараты изготавливают на основе ослабленных или инактивированных возбудителей болезней. Современные биотехнологические разработки предусматривают создание рекомбинантных вакцин и вакцин-антигенов. Вакцины обоих типов основаны на генноинженерном подходе.

**Ферменты медицинского назначения.** Многообразно применение ферментных препаратов в медицине. Их используют для рас-

творения тромбов, лечения наследственных заболеваний, освобождения организма от токсических веществ и др.

*2. Создание микробиологических средств защиты растений от болезней и вредителей, бактериальных удобрений, новых высокопродуктивных сортов и гибридов сельскохозяйственных растений.*

Биотехнологические пути защиты растений от болезней и вредителей включают:

- выведение сортов растений, устойчивых к неблагоприятным факторам;
- химические средства борьбы с сорняками, грызунами, насекомыми, фитопатогенными грибами, бактериями, вирусами;
- биологические средства борьбы с вредителями, использование их естественных врагов и паразитов, а также токсических продуктов, образуемых живыми организмами.

Наряду с защитой растений ставится задача повышения продуктивности сельскохозяйственных культур, их пищевой (кормовой) ценности, создания сортов растений, растущих на засоленных почвах, в засушливых и заболоченных районах.

*3. Создание ценных кормовых добавок для повышения продуктивности животноводства.*

Для повышения продуктивности животных нужен полноценный корм. Биотехнологическая промышленность выпускает кормовой белок на базе различных микроорганизмов – бактерий, грибов, дрожжей, водорослей. Богатая белками биомасса микроорганизмов с высокой эффективностью усваивается сельскохозяйственными животными.

Большое значение для животноводства имеет обогащение растительных кормов микробным белком. Для этого широко используются твердофазные процессы.

*4. Создание новых технологий получения хозяйственно ценных продуктов для использования в пищевых и других отраслях промышленности.*

**Аминокислоты** (цистеин, метионин, лизин, глутамат) – повышение питательной ценности пищи, усиление аромата мясных, рыбных, грибных изделий.

**Олигопептиды** (аспартам, тауматин, монеллин) – низкокалорийные, очень сладкие вещества.

**Ферменты:**

- $\beta$ -Галактозидаза - производство безлактозного молока, освобождение молочной сыворотки от лактозы, приготовление мороженого;

- Микробные протеазы – сыроварение, ускорение созревания теста, производство крекеров;

- Фицин, трипсин, бромеланин – ускорение маринования рыбы, удаление мяса с костей;

- Липазы – придание специфического аромата сыру, шоколаду, молочным продуктам, улучшение качества взбитых яичных белков;

- Глюкозооксидаза в сочетании с каталазой – удаление кислорода из сухого молока, кофе, пива, майонеза, лимонных, апельсиновых и виноградных соков.

**Витамины** (А, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, С, D, E) – повышение питательной ценности пищевых продуктов, антиоксиданты.

**Органические кислоты** (уксусная, бензойная, молочная, глюконовая, лимонная) – консерванты, ароматизаторы.

*5. Создание эффективной технологии переработки и очистки промышленных и бытовых отходов.*

Важной составной частью современной биотехнологии является очистка воды от загрязнений, а также утилизация различных промышленных и бытовых отходов. Методы такой очистки основаны на использовании специфических биологических сообществ, носящих название *активного ила*, для глубокой утилизации как органических, так и неорганических загрязнений, оставшихся в воде после других видов очистки.

Биотехнологические производства являются весьма перспективными, что обусловлено их компактностью, крупномасштабностью, высоким уровнем автоматизации и высокой производительностью труда.

Процессы биотехнологических производств разнообразны, но все они имеют пять общих основных стадий, которые различаются по целям и принципам их достижения. Общая биотехнологическая схема производства продуктов микробного синтеза приведена на рис. 1.

**1) Получение посевного материала.** Посевной материал представляет собой чистую культуру микроорганизмов-продуцентов, размноженную в лабораторных условиях при оптимальном составе питательной среды и режиме выращивания. Культуры микроорганизмов-продуцентов заводы получают из коллекций в пробирках на агаризованных питательных средах или в ампулах. Чистая культура микроорганизма может постоянно или по мере необходимости использоваться в производстве. Сначала культуру размножают в лаборатории, затем в цехе чистых культур и инокуляции, далее направляют на культивирование.

**2) Приготовление питательной среды** – включает смешивание компонентов и стерилизацию. Основу питательных сред для культивирования микроорганизмов составляют источники углерода. Существуют микроорганизмы, способные потреблять углерод только из высокомолекулярных соединений, например белков и пептидов, в то же время многие бактерии и дрожжи утилизируют простейшие углеродосодержащие соединения - метан, этанол, углекислоту. Кроме углерода клетки микроорганизмов нуждаются в источниках азота, фосфора, макро- и микроэлементов. Вещества этого рода находятся в питательных средах в виде солей, в некоторых случаях азот и фосфор могут усваиваться из органических источников, например автолизатов и гидролизатов микробного или животного происхождения.

Смешивание питательных веществ проводится в реакторах с мешалкой. Растворимые компоненты среды предварительно растворяют в воде. Нерастворимые компоненты (например, кукурузную, соевую муку, мел) – суспензируют. Составление среды считается завершенным, если в результате произведено тщательное измельчение ее твердых компонентов.

Завершающий этап приготовления питательной среды – стерилизация. Наиболее широкое распространение получила термическая стерилизация. Важнейшей проблемой при этом является сохранение питательных свойств среды, так как большинство субстратов, особенно углеводы, оказываются термически нестабиль-



**3) Ферментация (культивирование)** - это вся совокупность последовательных операций от внесения в заранее приготовленную и стерилизованную питательную среду инокулята (посевого материала) до завершения процессов роста и биосинтеза вследствие истощения питательных веществ среды. Существует два типа ферментаций: получение биомассы микроорганизмов и получение ценных веществ, возникающих в ходе роста или на последующих стадиях развития культуры.

**4) Выделение целевого продукта.** Стадия выделения и очистки продукта существенно зависит от того, накапливается продукт в клетках или он выделяется в культуральную жидкость, или же продуктом является сама клеточная масса. Разделение биомассы и культуральной жидкости - *сепарация* - осуществляется несколькими методами (флотация, фильтрация, центрифугирование). Если целевой продукт содержится в самих *клетках*, то проводят разрушение клеток - дезинтеграцию - физическими, химическими и химико-ферментативными способами.

Выделение продукта из *культуральной жидкости* или *гомогената* разрушенных клеток проводят путем его осаждения, экстракции или адсорбции. Затем выделенный продукт *концентрируют* ультрафильтрацией, выпариванием или обратным осмосом. После стабилизации продукта в зависимости от того, каким должен быть конечный продукт: сухим или жидким, его обезвоживают или сразу упаковывают и отправляют на хранение и далее - потребителю.

### ***Контрольные вопросы***

1. *Что такое биотехнология?*
2. *В чем заключается взаимосвязь биотехнологии с другими науками?*
3. *Каковы основные направления развития биотехнологии?*
4. *Перечислите основные стадии биотехнологического производства.*
5. *Что такое посевной материал?*
6. *Как готовят посевной материал в производственных условиях?*
7. *Какие компоненты входят в состав питательных сред?*
8. *Что такое ферментация?*
9. *Какими методами осуществляется разделение биомассы от культуральной жидкости?*
10. *В каком случае необходима дезинтеграция клеток?*

11. Какие способы концентрирования продукта Вам известны?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2

### Принципы составления питательных сред в биотехнологическом производстве.

#### Особенности роста микроорганизмов на питательных средах различного состава

**Цель работы:** Ознакомиться с основными принципами составления питательных сред для культивирования микроорганизмов. Изучить потребности микроорганизмов в источниках питания.

*Посуда, материалы, оборудование, реактивы:* колбы с ватными пробками на 250 мл – 6; стеклянные палочки – 6; пипетки градуированные на 5 мл – 3, на 1мл – 6; цилиндры мерные на 250 мл – 1, на 100 мл – 1; воронки 6; стеклянные стаканчики на 50 мл – 6; фильтры бумажные складчатые; фильтровальная бумага. Весы электронные; рефрактометр; иономер; термостат; реактивы для приготовления питательных сред. Культура гриба *Aspergillus niger*, спиртовка, бактериологическая петля, карандаш по стеклу.

#### ***Краткие теоретические положения***

Питательная среда обеспечивает жизнедеятельность, рост и развитие микроорганизмов, эффективный синтез целевого продукта. Неотъемлемой частью питательной среды служит вода, все процессы жизнедеятельности протекают только в водной среде.

Питательные среды могут иметь неопределенный состав, то есть включать биогенные добавки - мясной экстракт, кукурузную муку, морские водоросли и т.д. Подобные среды обычно готовят на водопроводной воде. Применяют также среды, приготовленные из чистых химических соединений в заранее определенных соотношениях - *синтетические среды*. Смесь веществ, как правило, вносят в дистиллированную воду. С экономической точки зрения выгодно употребление природного, более дешевого сырья. Однако применение синтетических сред позволяет изучить физиолого-биохимические свойства микроорганизмов и оптимизировать состав среды. Компромиссным вариантом является использование *полусинтетических сред*, в состав которых вместе с химически чистыми соединениями входят биогенные добавки.

Состав среды определяется потребностями микроорганизмов в соединениях, необходимых для биосинтеза и получения энергии. Конструктивные и метаболические процессы у микроорганизмов крайне разнообразны, поэтому столь же разнообразны их потребности в питательных веществах.

Питательные среды для культивирования микроорганизмов содержат большое количество необходимых компонентов, основным из которых считают тот, который служит микроорганизмам источником углерода и энергии. Это вещество или смесь веществ называется *субстратом*, а все остальные - *вспомогательными веществами*.

Так как микроорганизмы способны ассимилировать любое органическое соединение, потенциальными ресурсами для биотехнологии могут служить все мировые запасы органических веществ. При выборе сырья необходимо учитывать его влияние на себестоимость готового продукта, доступность, методы получения, свойства и качественные характеристики.

Потребность микроорганизма в тех или иных соединениях определяется особенностями данного вида. В самом приближенном виде физиологические потребности микроорганизмов в питательных веществах можно выявить, определив химический состав микробной клетки: обычно содержание углерода находится в пределах 45-55%, азота – 6-14, К – 0,5-2, Р – 1-3, Mg – 0,1-1, S – 0,02-1, Ca – 1%.

### ***Источники углерода***

Легкодоступными считаются *сахара*: глюкоза, сахароза, лактоза. За ними следуют *многоатомные спирты*: глицерин, маннит и др. Далее следуют *полисахариды*: целлюлоза, гемицеллюлоза, крахмал, которые могут быть источниками углерода либо после превращения их в усвояемые микроорганизмами моно- и низкомолекулярные олигосахариды, либо микроорганизмы должны иметь набор ферментов, гидролизующих эти вещества (*Aspergillus*, *Vacillus*, *Penicillium* и др.).

На практике встречается большое количество микроорганизмов, которые успешно утилизируют *органические кислоты*, особенно в анаэробных условиях.

*Низкомолекулярные спирты*: метанол и этанол - относятся к числу перспективных видов сырья. Многие дрожжи родов *Candida*, *Hansenula* и др. способны ассимилировать этанол. Дрожжи родов

*Pichia*, *Candida* и др. и бактерии рода *Flavobacterium* используют в качестве единственного источника углерода метанол.

Некоторые виды микроорганизмов используют в качестве источника углерода и энергии *n-алканы* и некоторые *фракции нефти*. Особенностью углеводов является их низкая растворимость в воде, поэтому только незначительная часть микроорганизмов способна ассимилировать углеводороды.

### ***Источники азота***

Азот может содержаться в форме *неорганических* солей или кислот. Большинство дрожжей хорошо усваивает аммиачные соли, а также аммиак из водного раствора, потребность в нитратах испытывают только некоторые виды дрожжей. Источником азота могут служить и *органические* соединения: аминокислоты, мочевина и т.д., которые легко усваиваются микроорганизмами.

Известно, что бактерии более требовательны к источникам азота, чем грибы, актиномицеты и дрожжи.

### ***Источники фосфора***

Фосфор является важнейшим компонентом клетки, он входит в состав АТФ, АДФ, АМФ и обеспечивает нормальное течение энергетического обмена в клетке, а также синтез белков и нуклеиновых кислот и др. биохимических превращений. Фосфор вносится в среду в виде солей фосфорной кислоты.

### ***Вода***

Вода должна отвечать требованиям ГОСТ (чистая, бесцветная, без привкуса, запаха и осадка).

### ***Источники витаминов и микроэлементов***

Потребность у микроорганизмов в этих соединениях различна, тем не менее, практически все микроорганизмы лучше растут в присутствии витаминов. Эффективной добавкой к питательным средам оказался кукурузный экстракт благодаря наличию в нем витаминов, аминокислот и минеральных элементов в легко усваиваемых формах. В рецептуры сред включают также дрожжевой автолизат, дрожжевой экстракт, сок картофеля, молочную сыворотку, экстракт солодовых ростков и др. продукты.

Микроэлементы в состав питательных сред вводят в микродозах, в противном случае они оказывают ингибирующее действие на микроорганизмы.

Итак, состав питательной среды для каждого микроорганизма устанавливают экспериментально.

Задача специалиста, оптимизирующего состав среды для конкретного вида микроорганизма, - выбрать такие источники углерода, азота, фосфора и др. веществ, которые наиболее оправданы в экономическом и экологическом отношении.

## ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

### Первое занятие

1. Подготовка питательной среды.
2. Определение содержания сухих веществ в питательной среде.
3. Определение pH питательной среды.
4. Подготовка посевной суспензии и засев питательной среды.
5. Установка колб в термостат.

#### *Подготовка питательной среды*

Среду заданного состава (табл. 1) готовят в колбах на 250 мл. Все компоненты растворяют в небольшом количестве водопроводной воды, затем объем доводят до 100 мл водопроводной водой. Колбы со средой закрывают ватными пробками.

#### *Определение pH питательной среды*

В стеклянный стаканчик отбирают 25 мл содержимого каждой из колб и с помощью иономера определяют pH среды.

**Таблица 2.1**

**Варианты питательных сред**

Компоненты, на 100 мл среды	Вариант					
	1	2	3	4	5	6
Сахароза, г	-	3	-	-	-	-
Глюкоза, г	3	-	-	3	6	3
Лактоза, г	-	-	3	-	-	-
Na NO <sub>3</sub> (20% р-р), мл	5	5	5	5	10	5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (10% р-р), мл	2	2	2	2	4	2
KCl (5% р-р), мл	1	1	1	1	2	1
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (1% р-р), мл	1	1	1	1	2	1
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (1% р-р), мл	1	1	1	1	2	1
CaO (10% р-р), мл	0,3	0,3	0,3	0,3	0,6	0,3
Витамины	-	-	-	+	-	-
pH	6,5-6,8	6,5-6,8	6,5-6,8	6,5-6,8	6,5-6,8	4

### ***Определение содержания сухих веществ в питательной среде***

Определение проводят с помощью рефрактометра. Перед началом работы рефрактометр проверяют по дистиллированной воде, при этом пунктирная линия, нанесенная на окуляр, должна совместиться с границей света и тени на нулевой отметке шкалы, значение при этом составляет 1,333.

Затем на призмы с помощью стеклянной палочки наносят несколько капель исследуемой жидкости. Верхнюю призму опускают и плотно прижимают к нижней. После этого перемещают окуляр вдоль прорези, пока граница света и тени не совместится с пунктирной линией. По шкале прибора отмечают деление, через которое проходит граница светотени. После определения поверхность призмы протирают фильтровальной бумагой и промывают дистиллированной водой.

### ***Подготовка посевной суспензии и засев питательной среды***

Для получения посевной суспензии в пробирку с чистой культурой гриба-продуцента вблизи пламени спиртовки наливают 9 мл стерильной воды. Бактериологической петлей осторожно соскребают слой, содержащий споры, до образования суспензии.

Засев питательной среды производят стерильными пипетками. Из пробирки отбирают по 1 мл суспензии и количественно переносят в каждую колбу с питательной средой. Колбы закрывают ватными пробками.

### ***Установка колб в термостат***

Каждую колбу подписывают (группа, фамилия, вариант среды) и устанавливают в термостат на 7 суток при температуре 27°C.

## **В т о р о е з а н я т и е**

1. Отделение биомассы гриба.
2. Определение массы сухого мицелия.
3. Определение содержания сухих веществ в культуральной жидкости.
4. Определение рН в культуральной жидкости.

### ***Отделение биомассы гриба***

На аналитических весах взвешивают пустые бумажные фильтры, предварительно высушенные до постоянной массы (вес записывают), и вставляют в воронки. Колбу открывают, и содержимое фильтруют через фильтр. Отделенная от культуральной жидкости биомасса гриба является материалом для определения массы сухого мицелия. После фильтрования измеряют объем культуральной жидкости и доводят до 100 мл дистиллированной водой.

### ***Определение массы сухого мицелия***

Фильтры с биомассой гриба помещают в сушильный шкаф при температуре 130°C на 40 мин (до полного высушивания). Затем фильтры переносят в эксикатор для охлаждения на 10-15 мин, после чего взвешивают на аналитических весах. Разность между массой фильтра с сухим мицелием и массой пустого фильтра является массой сухого мицелия ( $X$ ), образовавшегося за период культивирования гриба в термостате:

$$X = M_m - M_\phi, \quad (2.1)$$

где  $X$  – масса сухого мицелия, г;  $M_\phi$  – масса пустого фильтра, г;  $M_m$  – масса фильтра с высушенным мицелием, г.

### ***Определение содержания сухих веществ в культуральной жидкости***

Определение проводят с помощью рефрактометра (см. занятие 1).

### ***Определение pH в культуральной жидкости***

pH фильтрата определяют с помощью иономера (см. занятие 1).

Отношение прироста биомассы гриба к количеству потребленного субстрата называют *экономическим коэффициентом*.

На основании полученных данных для каждого варианта рассчитывают *экономический коэффициент* ( $Y$ ) по формуле:

$$Y = \frac{X - X_0}{S - S_0}, \quad (2.2)$$

где  $Y$  – экономический коэффициент;  $X$  – масса сухого мицелия, г;

$X_0$  - масса посевного материала, г;  $S$  - концентрация сухих веществ в питательной среде,%;  $S_0$  - концентрация сухих веществ в культуральной жидкости,%.

Так как  $X_0$  часто бывает пренебрегаемо мало, то

$$Y = \frac{X}{S - S_0} \quad (2.3)$$

Таким образом, экономический коэффициент или выход биомассы показывает массу клеток продуцента на единицу субстрата.

*Общая скорость* роста микроорганизма-продуцента ( $V$ ) характеризуется абсолютным приростом биомассы за единицу времени:

$$Y = \frac{X - X_0}{t_2 - t_1} \quad (2.4)$$

где  $V$  - общая скорость роста, г/сут;  $X_0$  - масса посевного материала, г;  $X$  - конечная концентрация биомассы, г;  $t_2 - t_1$  - время культивирования, сут.

Полученные результаты вносят в таблицу 2. На основании полученных данных делают вывод о физиолого-биохимических особенностях гриба *Aspergillus niger* и выбирают оптимальный состав среды.

Таблица 2.2

**Журнал наблюдений**

РН		Содержание сухих веществ, %		Масса сухого	Экономический коэффициент	Общая скорость роста, г/сутки
до	после	до	после	мицелия, г/100 мл		
культивирования		культивирования				

**Контрольные вопросы:**

1. Что такое субстрат?
2. Какие источники углерода используют в биотехнологическом производстве?
3. Какие источники азота усваиваются микроорганизмами?
  1. Как вносится фосфор в питательную среду?
  2. Каким образом в питательные среды вводят источники витаминов и микроэлементов?
  3. Как определяют содержание сухих веществ в питательной среде?

**ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3**  
**Получение лимонной кислоты путем**  
**культивирования плесневого гриба поверхностным способом**  
**на жидкой питательной среде**

**Цель работы:** Ознакомиться с методами поверхностного культивирования на жидких питательных средах. Изучить способность плесневого гриба к продуцированию лимонной кислоты на жидких питательных средах различного состава.

*Посуда, материалы, оборудование, реактивы:* колбы объемом 250 мл с ватными пробками – 5; стеклянные палочки – 5; пипетки градуированные на 5 мл – 3, на 1мл – 5; цилиндры мерные на 250 мл – 1, на 100 мл – 1; воронки диаметром 10-15 см - 5; стеклянные стаканчики на 50 мл – 5; бюретка для титрования на 25 мл. Фильтры складчатые - 5; фильтровальная бумага; спиртовка; бактериологическая петля; карандаш по стеклу. Весы электронные; рефрактометр; иономер; термостат; магнитная мешалка; сушильный шкаф. Реактивы: меласса 21,2%, сахароза, растворы солей -  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ , 10%  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , 0,1 н раствор  $\text{NaOH}$ , фенолфталеин, пробирки с чистой культурой *Aspergillus niger* - 2, пробирки со стерильной водой -2.

***Краткие теоретические положения***

Лимонная кислота впервые была выделена из сока лимона и перекристаллизована Шееле. В лимонах содержится 7-9% этой кислоты; в Италии и Испании до сих пор ее получают из лимонов, но на 99% ее продукция основана на микробиологическом синтезе.

Способность грибов образовывать лимонную кислоту при росте на средах с углеводами впервые была установлена немецким ученым Вемером в 1893 г.

Большая часть лимонной кислоты (70%) используется в пищевой промышленности, около 12% в фармацевтической промышленности и около 18% - для технических целей. Использование лимонной кислоты в пищевой промышленности обусловлено ее хорошей растворимостью, низкой токсичностью и приятным кислым вкусом. Лимонную кислоту используют при приготовлении безалкогольных напитков, мармелада, вафель, пастилы, некоторых сортов колбас и

сыра, для получения сгущенного молока. Лимонная кислота сохраняет естественный вкус и аромат мяса в замороженном виде при длительном хранении. Применение находят и *побочные продукты ферментации*: мицелий грибов и культуральная жидкость. Мицелий высушивают и используют как сырье или добавляют к удобрениям. В культуральной жидкости обнаружены гидролитические ферменты пектиназа, протеаза, целлюлаза.

Для получения лимонной кислоты используют грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, и др.

В настоящее время основными продуцентами лимонной кислоты являются различные штаммы гриба *Aspergillus niger*, которые отличаются большой скоростью роста, легкостью культивирования и высоким выходом лимонной кислоты к массе окисляемого углевода.

Лимонная кислота - обычный метаболит цикла трикарбоновых кислот, в небольшом количестве присутствует в клетках разных микроорганизмов. Некоторые грибы (в первую очередь *A. niger*) способны синтезировать огромное количество этой кислоты. *Сверхсинтез* лимонной кислоты происходит при лимитировании роста грибов-продуцентов минеральными компонентами среды и одновременном избыточном содержании источника углерода.

В условиях лимитирования роста гриба недостатком одного или нескольких минеральных компонентов (Fe, Mn, N, P или S) после полного поглощения из среды дефицитного элемента он прекращает расти, однако продолжает потреблять имеющийся в среде источник углерода. При этом в клетках гриба начинает накапливаться лимонная кислота, которая в дальнейшем выделяется в среду. В процессе ферментации можно выделить две фазы: 1) активного роста гриба и 2) интенсивного кислотообразования, рост мицелия в этот период становится незначительным.

В настоящее время получение лимонной кислоты биотехнологическими способами широко применяется в промышленности. Разработаны технологии получения лимонной кислоты как *поверхностным*, так и *глубинным* способами. Основной питательной средой в обоих случаях служит меласса - отход сахарного производства, она содержит 48-50% сахара. Для хорошего роста и развития гриба среда должна содержать минеральные соли:  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ .

В мелассе содержатся соли тяжелых металлов, угнетающие

рост гриба и образование лимонной кислоты. Для осаждения этих солей к мелассе добавляют желтую кровяную соль  $K_4[Fe(CN)_6]$ .

*Поверхностное культивирование* осуществляется в алюминиевых или выполненных из нержавеющей стали больших кюветах. Стерильную питательную среду заливают в чистые стерильные кюветы слоем 8-12 см. Посевной материал вносят в виде суспензии и распределяют по всей поверхности среды. По окончании процесса культивирования лимонную кислоту выделяют из культуральной жидкости. Различают три основных способа ведения процесса: бессменный, сменный и доливной.

При *бессменном способе* рост и кислотообразование гриба происходят на одной и той же питательной среде, содержащей минеральные соли и источник углерода.

*Сменный способ* культивирования часто называют методом готовых пленок. Пленку гриба выращивают на питательной среде, содержащей минеральные соли и углевод. По окончании роста гриба питательный раствор из под пленки сливают, пленку промывают стерильной водой и под нее подводят новую среду для кислотообразования, содержащую углевод, но лишенную минеральных соединений.

*Способ долива* – через 6-7 сут от начала цикла, когда содержание сахара снизится до 3-4%, подливают свежий раствор мелассы (без питательных солей) в количестве 30-35% начального объема. В результате продолжительность ферментации увеличивается от 8-9 до 12 сут.

*Глубинное культивирование* – этот метод производства лимонной кислоты имеет ряд преимуществ по сравнению с методом поверхностного культивирования: эффективное использование производственных площадей, увеличение масштабов производства, механизация и автоматизация технологических процессов получения кислоты.

Однако при сравнении технологии и экономичности поверхностного и глубинного способов получения лимонной кислоты предпочтение отдают первому методу, так как при его применении себестоимость продукта и расход электроэнергии значительно ниже.

## ПОРЯДОК ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

### **Первое занятие**

1. Подготовка питательной среды.
2. Определение рН питательной среды.
3. Определение титруемой кислотности питательной среды.
4. Определение содержания углеводов в питательной среде.
5. Приготовление посевной суспензии и засев питательной среды.
6. Установка колб в термостат.

#### ***Подготовка питательной среды***

Для производства лимонной кислоты оптимальное количество углерода в питательной среде - 16-17%. Составы питательных сред представлены в таблице 3.1

Компоненты питательной среды выбранного варианта поместить в колбу на 250 мл и довести объем питательной среды до 125 мл водопроводной водой. Содержимое кипятить на плитке в течение 10-15 мин, затем охладить, отлить 25 мл в мерный стакан (для исследований), а оставшуюся часть (100 мл) закрыть ватной пробкой.

#### ***Определение рН питательной среды***

Определение производят с помощью иономера.

#### ***Определение титруемой кислотности питательной среды***

Пипеткой отбирают 5 мл питательной среды в стакан емкостью 50 мл и разбавляют 5 мл дистиллированной воды. Добавляют 2-3 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором NaOH до слабо-розового окрашивания. Если подготовленный для титрования раствор имеет окраску, мутный, в этом случае определение титруемой кислотности проводят потенциометрическим методом с использованием иономера. Для этого пипеткой отбирают 2 мл питательной среды в стакан емкостью 50 мл, добавляют 15 мл дистиллированной воды, опускают электроды и титруют 0,1 н раствором NaOH со скоростью 1-2 капли в секунду при непрерывном перемешивании.

Таблица 3.1

## Варианты питательных сред

№ варианта	Источник углерода в среде				Кол-во добавленной воды, мл	Кол-во добавленных солевых растворов, мл				
	меласса		Сахароза			Смешан.р-в1% KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> : 1% NH <sub>4</sub> Cl: 1% ZnSO <sub>4</sub> 1:1:1	10% р-р K <sub>2</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	10% р-р KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10% р-р NH <sub>4</sub> Cl	1% р-р ZnSO <sub>4</sub>
	са-хар,%	р-р, мл	%	р-р, мл						
1	17	125	-	-	-	0,65	1,5	-	-	-
2	8,5	62,5	-	-	62,5	0,32	0,75	-	-	-
3	8,5	62,5	8,5	10,6	62,5	0,65	0,75	-	-	-
4	-	-	8,5	10,6	125	-	-	1,56	2,3	0,02
5	-	-	17	21,2	125	-	-	3,1	4,7	0,04

Таблица 3.2

## Журнал наблюдений

№ варианта	рН		Содержание сухих в-в,%		Кол-во щелочи пошедшее на титрование, мл		Масса сухого мицеллия, г	Содержание лимонной кислоты		Выход лимонной к-ты,% от потреб. сухих в-в	Продуц. способность мицеллия, г/г
	до	после	до	после	до	после		Х, %	С, г		
	культиви-рования		культиви-рования		культиви-рования						

Окончание титрования определяют по шкале иономера при достижении рН=7,0. Записывают количество щелочи, пошедшей на титрование (А<sub>1</sub>). Это значение понадобится для расчетов на следующем занятии.

### *Определение содержания сухих веществ в питательной среде*

Определение проводят с помощью рефрактометра. Перед началом работы рефрактометр проверяют по дистиллированной воде, при этом пунктирная линия, нанесенная на окуляр, должна совместиться с границей света и тени на нулевой отметке шкалы, значение при этом составляет 1,333.

Затем на призмы с помощью стеклянной палочки наносят несколько капель исследуемой жидкости. Верхнюю призму опускают и плотно прижимают к нижней. После этого перемещают окуляр вдоль прорези, пока граница света и тени не совместится с пунктирной линией. По шкале прибора отмечают деление, через которое проходит граница светотени.

После определения поверхность призмы протирают фильтровальной бумагой и промывают дистиллированной водой.

### ***Приготовление посевной суспензии и засев питательной среды***

Для получения посевной суспензии в пробирку с чистой культурой гриба-продуцента вблизи пламени спиртовки наливают 9 мл стерильной воды. Бактериологической петлей осторожно соскребают слой, содержащий споры, до образования суспензии.

Засев питательной среды производят стерильными пипетками. Из пробирки отбирают по 1 мл суспензии и количественно переносят в каждую колбу с питательной средой. Колбы закрывают ватными пробками.

### ***Установка колб в термостат***

Каждую колбу подписывают (группа, фамилия, вариант среды) и устанавливают в термостат на 7 суток при температуре 32°C.

## **Второе занятие**

1. Отделение мицелия гриба от культуральной жидкости.
2. Определение рН культуральной жидкости.
3. Определение титруемой кислотности культуральной жидкости и расчет выхода лимонной кислоты.
4. Определение содержания сухих веществ в культуральной жидкости и расчет выхода лимонной кислоты от потребленных сухих веществ.
5. Определение массы сухого мицелия и его продуцирующей способности.

### ***Отделение биомассы гриба от культуральной жидкости***

На аналитических весах взвешивают бумажный фильтр, (вес записывают) и вставляют в воронки. Колбу открывают, и содержимое фильтруют через фильтр. Отделенная от культуральной жидкости биомасса гриба является материалом для определения массы сухого мицелия. Объем культуральной жидкости (V) измеряют цилиндром и доводят до 100 мл дистиллированной водой.

### ***Определение рН культуральной жидкости***

Определение рН проводят с помощью иономера.

### ***Определение титруемой кислотности культуральной жидкости***

Определение проводят так же, как и на первом занятии. Содержание лимонной кислоты ( $X$ ) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(A_2 - A_1) \cdot P \cdot 100}{V}, \quad (3.1)$$

где  $X$  – содержание лимонной кислоты, %;  $V$  – объем культуральной жидкости, взятый для титрования, мл ( $V = 5$  мл при титровании с фенолфталеином,  $V = 2$  мл при титровании с иономером);  $A_2$  – количество 0,1 н раствора NaOH, пошедшее на титрование культуральной жидкости, мл;  $A_1$  – количество 0,1 раствора NaOH, пошедшее на титрование питательной среды, мл;  $P$  – фактор щелочи по лимонной кислоте (1 мл 0,1 н раствора NaOH соответствует 0,007 г лимонной кислоты).

### ***Расчет количества синтезированной лимонной кислоты***

Количество лимонной кислоты ( $C$ ), синтезированной грибом, в культуральной жидкости рассчитывают по формуле:

$$C - V = \frac{X}{100}, \quad (3.2)$$

где  $C$  – количество лимонной кислоты, г;  $V$  – объем культуральной жидкости, мл;  $X$  – содержание лимонной кислоты, г.

### ***Определение содержания сухих веществ в культуральной жидкости***

Определение проводят с помощью рефрактометра. Количество потребленных в процессе культивирования сухих веществ ( $B$ ) будет равно:

$$B = B_1 - (B_2 - C), \quad (3.3)$$

где  $B$  – количество потребленных сухих веществ, %;  $B_1$  – содержание сухих веществ в питательной среде, %;  $B_2$  – содержание углеводов в культуральной жидкости, %;  $C$  – количество лимонной кислоты, г.

Выход лимонной кислоты ( $W$ ) в процентах от потребляемых сухих веществ ( $B$ ) рассчитывают по формуле:

$$W = \frac{C \cdot 100}{B}, \quad (3.4)$$

где  $W$  – выход лимонной кислоты, %;  $B$  – количество потребляемых

в процессе культивирования сухих веществ,%;  $C$  - количество лимонной кислоты, г.

***Определение массы сухого мицелия гриба и его продуцирующей способности.***

Фильтры с биомассой гриба помещают в сушильный шкаф при температуре 130°C на 40 минут, сушат до постоянной массы, охлаждают в эксикаторе и взвешивают на аналитических весах. Массу сухого мицелия ( $B$ ) рассчитывают по формуле:

$$B = M_m - M_\phi, \quad (3.5)$$

где  $B$  – масса сухого мицелия, г;  $M_\phi$  - масса пустого фильтра, г;  $M_m$  - масса фильтра с высушенным мицелием, г.

Продуцирующая способность мицелия ( $\Pi$ ) - это количество лимонной кислоты, синтезируемое за цикл выращивания 1 г биомассы продуцента. Вычисляют по формуле:

$$\Pi = \frac{C}{B}, \quad (3.6)$$

где  $\Pi$  - продуцирующая способность мицелия, г/г;  $C$  - количество лимонной кислоты, г;  $B$  - масса сухого мицелия, г.

Результаты исследований вносят в таблицу 3.2.

На основании полученных результатов делают вывод о способности гриба *Aspergillus niger* продуцировать лимонную кислоту и выбирают оптимальный состав среды для получения лимонной кислоты.

***Контрольные вопросы***

1. *Какие микроорганизмы являются продуцентами лимонной кислоты?*
2. *В каких условиях осуществляется сверхсинтез лимонной кислоты?*
3. *Какими способами получают лимонную кислоту?*
4. *Как осуществляют поверхностное культивирование?*
5. *В чем сущность потенциометрического метода титрования?*

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №4

### Ознакомление с технологией спреда, полученного методом преобразования высокожирной смеси

**Цель работы** – ознакомиться с технологическим процессом получения спреда методом преобразования высокожирной смеси на лабораторной установке.

#### *Краткие теоретические положения*

*Спред* - эмульсионный жировой продукт с массовой долей общего жира от 39% до 95% включительно, обладающий пластичной, легко мажущейся консистенцией, вырабатываемый из молочного жира и(или) сливок либо сливочного масла и натуральных рафинированных дезодорированных и(или) фракционированных, и(или) переэтерифицированных, и(или) гидрогенизированных растительных масел. Допускается добавление пищевкусковых добавок, ароматизаторов и витаминов.

Спред - эмульсионный жировой продукт, состоящий из двух несмешивающихся фаз - масла и воды, которые в процессе производства необходимо преобразовать в однородный, пластичный, легко намазываемый продукт, способный сохранять данные качества на протяжении длительного времени.

Спреды предназначены для непосредственного употребления в пищу, использования в кулинарии, в общественном питании, для диетического питания, а также в хлебопекарной, кондитерской, пищевконцентратной, консервной и других отраслях пищевой промышленности.

В зависимости от состава сырья спреда подразделяют на следующие подгруппы:

- спред сливочно-растительный;
- спред растительно-сливочный;
- спред растительно-жировой.

В зависимости от массовой доли жира спреда подразделяют:

- на высокожирные (с массовой долей жира от 70% до 95%);
- среднежирные (с массовой долей жира от 50% до 69,9%);
- низкожирные (с массовой долей жира от 39% до 49,9%).

Физико-химические показатели спреда представлены в табл. 3.

*Требования к сырью.* Перекисное число рафинированных дезодорированных растительных жировых компонентов, а также молочных компонентов должно быть не более 3 ммоль активного кислорода на килограмм, а истекшая часть срока годности (хранения) - не более 1/3 общего срока годности (хранения), установленного нормативным документом на соответствующий компонент.

При оценке качества немолочных жиров учитываются следующие основные характеристики: органолептические показатели, сохраняемость жира, химический состав, жирно-кислотный состав, температура плавления и застывания, композиция триглицеридного состава, микробиологические показатели, показатели безопасности, массовая доля сухих веществ используемых пищевых добавок (антиокислителей, ароматизаторов и др.).

*Органолептические показатели.* Вкус, запах, цвет и консистенция немолочных жиров должны сочетаться с аналогичными показателями масла.

*Сохраняемость жира.* Жиры должны сохранять качество в течение шести месяцев при низкой положительной температуре. Допускается использование антиокислителей, разрешенных органами Госсанэпиднадзора.

*Химический состав.* Массовая доля жировой фазы - 99,7%; воды - 0,3%; газовой фазы - до 0,5%.

*Жирно-кислотный состав.* Отношение полиненасыщенных жирных кислот к насыщенным должно составлять 0,3-0,4 (по К.С. Петровскому); количество лимитирующих жирных кислот (линолевой и линоленовой) - 15-25%, чтобы соотношение полиненасыщенных жирных кислот семейства омега-6 (сo6) и омега-3 (сo3) составляло не более 10 : 1.

### **Сырье, оборудование, приборы, материалы:**

- модернизированный лабораторный сепаратор для получения высокожирных сливок;
- установка, включающая малогабаритный лабораторный мас-лообразователь цилиндрического типа для термомеханической обработки высокожирной смеси;
- установка для получения хладоносителя;
- ушаты вместимостью 5 л (с мутовкой);

- малогабаритные деревянные ящики для упаковки масла;
- лопатка и нож деревянные;
- весы для определения влаги в спреде (СПМ-84);
- термометр (спиртовой ) со шкалой деления от 0 до 100 °С;
- весы технические;
- набор реактивов и оборудования для определения кислотности и массовой доли жира в сливках и пахте;
- пергамент;
- мерный цилиндр вместимость 500-1000 л;
- водяная баня для пастеризации смеси;
- сливки из коровьего молока;
- молоко обезжиренное, полученное при сепарировании коровьего молока;
- заменитель молочного жира;
- масло кукурузное дезодорированное рафинированное;
- эмульгатор Е 471;
- эмульгатор-стабилизатор PGX-1.

### **Порядок выполнения работы**

Количество нормализованной смеси из немолочного жира, высокожирных сливок и сливок средней жирности, массовую долю влаги в готовом спреде и процент замены молочного жира растительным устанавливает преподаватель.

Оценивают качество сливок по органолептическим показателям, определяют массовую долю жира в сливках, титруемую кислотность.

Сливки пастеризуют при температуре 85-90 °С в весенне-летний период года или 92-95 °С в осенне-зимний. Пастеризованные сливки сепарируют при температуре 70-80 °С на модернизированном сепараторе с целью получения высокожирных сливок заданной жирности. Работу сепаратора регулируют так, чтобы получить высокожирные сливки с массовой долей влаги на 1-3% меньше, заданной.

Одновременно готовят высокожирную молочно-растительную

эмульсию, предназначенную для смешения с высокожирными сливками. Эмульсию готовят на основе растительных жиров и сливок средней жирности или растительных жиров и плазмы (в качестве плазмы используют обезжиренное молоко или пахту).

Расчет компонентов проводится по следующим формулам.

Масса растительного масла, используемого в качестве жировой основы молочно-растительной эмульсии, кг,

$$M_p = M_{cm} \cdot J_{cm} \cdot D_{н.ж} / J_p.$$

Масса эмульгатора, кг,

$$M_э = M_{cm} \cdot K_э.$$

Масса высокожирных сливок, используемых в качестве жировой молочной основы нормализованных смесей, кг,

$$M_{ж} = M_{cm} \cdot (J_{cm} \cdot D_{м.ж} - J_{н}) + M_p \cdot J_{н} / J_{ж} - J_{н}.$$

Масса сливок, пахты или обезжиренного молока, используемых в качестве ингредиентов для нормализации жировой основы, кг,

$$M_{н} = M_{cm} - M_p - M_{ж} - M_э;$$

$$D_{н.ж} = J_p / J_c;$$

где  $M_{cm}$  – расчетная масса нормализованной высокожирной сливочно-растительной смеси, кг;  $J_{cm}$  – планируемая массовая доля жира в нормализованной высокожирной сливочно-растительной смеси, %;  $D_{н.ж}$  – доля немолочного жира в жировой фазе нормализованной смеси и спреда, %;  $J_p$  – массовая доля жира в растительном спреде, %;  $K_э$  – количество эмульгатора, %;  $D_{м.ж}$  – доля молочного жира в жировой фазе нормализованной смеси и спреда, %;  $J_{н}$  – массовая доля жира в сливках, пахте, обезжиренном молоке, используемых в качестве ингредиентов для нормализации жировой основы, %;  $J_{ж}$  – массовая доля жира в высокожирных сливках, %;  $J_c$  – массовая доля жира в спреде, %.

*Пример 1.* Приготовить 500 кг нормализованной смеси из немолочного жира, высокожирных сливок и сливок средней жирности для выработки спреда с массовой долей жира 72,4% ( в том числе 40% немолочного и 60% молочного), массовой долей влаги не более 25,5%. Массовая доля эмульгатора 0,4%.

Определить количество сырья для составления, ожидаемый выход спреда ( $M_c$ ) с учетом нормативных потерь ( $P_{cm} = 1,2\%$ ) и расход смеси ( $P_{cm}$ ) на 1000 кг спреда с учетом потерь. Состав сырья приведен в табл. 4.

Таблица 4

## Состав сырья

Сырье	Массовая доля, %		
	жира	СОМО	влаги
Немолочный жир (М <sub>р</sub> )	99,7	-	0,30
Высокожирные сливки (М <sub>ж</sub> )	70,6	2,46	26,94
Сливки (М <sub>н</sub> )	25,5	6,23	68,27

*Решение.* Находим:

$$M_{\text{э}} = 500 \cdot 0,4 / 100 = 2 \text{ кг};$$

$$M_{\text{р}} = 500 \cdot 72,4 \cdot 0,4 / 99,7 = 145,23 \text{ кг};$$

$$M_{\text{ж}} = 500 (72,4 \cdot 0,6 - 25,5) + 145,23 \cdot 25,5 / 70,6 - 25,5 = 281 \text{ кг};$$

$$M_{\text{н}} = 500 - 145,23 - 281,0 - 2 = 71,77 \text{ кг}.$$

Ожидаемый выход спреда из 500 кг нормализованной смеси составит:

$$M_{\text{с}} = 500 (1 - 1,2 \cdot 0,01) = 494,0 \text{ кг}.$$

Расход нормализованной смеси на 1000 кг спреда

$$P_{\text{см}} = 1000 \cdot 500 / 494 = 1012,14 \text{ кг}.$$

*Пример 2.* Подготовить 500 кг нормализованной смеси из немолочного жира, высокожирных сливок и пахты для выработки спреда с массовой долей жира 72,4% (в том числе 40% немолочного и 60% молочного), массовой долей влаги не более 25,5%.

Определить количество сырья для составления, ожидаемый выход спреда (M<sub>с</sub>) с учетом нормативных потерь (Π<sub>см</sub> = 1,2%) и расход смеси (P<sub>см</sub>) на 1000 кг спреда с учетом потерь. Состав сырья приведен в табл. 5.

Таблица 5

## Состав сырья

Сырье	Массовая доля, %		
	жира	СОМО	влаги
Немолочный жир (М <sub>р</sub> )	99,7	-	0,30
Высокожирные сливки (М <sub>ж</sub> )	71,6	2,37	26,03
Пахта (М <sub>н</sub> )	0,4	8,30	91,30

*Решение.* Находим массовую долю эмульгатора:

$$500 \cdot 0,4 / 100 = 2 \text{ кг};$$

$$M_p = 500 - 72,4 - 0,4 / 99,7 = 145,23 \text{ кг};$$

$$M_{ж} = 500 (72,4 \cdot 0,6 - 0,4) + 145,23 \cdot 0,4 / 71,6 - 0,4 = 303,06 \text{ кг};$$

$$M_n = 500 - 145,23 - 303,06 - 2 = 49,71 \text{ кг}.$$

Ожидаемый выход спреда из 500 кг нормализованной смеси

$$M_{см} = 500 (1 - 1,2 \cdot 0,01) = 494,0 \text{ кг}.$$

Расход нормализованной смеси на 1000 кг спреда

$$P_{см} = 1000 \cdot 500 / 494 = 1012,14 \text{ кг}.$$

*Приготовление эмульсии немолочных жиров в молочной плазме.* В рассчитанное количество растительного масла, подогретого до температуры 60-65 °С, вносят эмульгатор и смешивают с рассчитанным количеством обезжиренного молока или пахты и при температуре 60-65 °С проводят эмульгирование посредством перемешивания с помощью мешалки (700-1000 об/мин) в течение 10 – 15 минут и гомогенизации (давление  $P = 2,5^{\wedge}3,0$  МПа).

*Приготовление и нормализация высокожирной смеси.* Высокожирные сливки смешивают с эмульсией немолочных жиров, перемешивают с помощью мешалки (700-1000 об/мин) в течение 10 – 15 мин, затем определяют массовую долю влаги в ней. Аналитически определяют массовую долю влаги в высокожирной смеси.

Если массовая доля влаги в высокожирной смеси менее требуемой, ее следует нормализовать пахтой или обезжиренным молоком.

Массу пахты или обезжиренного молока, необходимых для нормализации высокожирной смеси ( $M_n$ ), рассчитывают по формуле

$$M_n = M_{всм} \cdot K \cdot (V_t - V_n) / 100,$$

где  $M_{всм}$  - масса нормализуемой высокожирной смеси, кг;  $K$  - коэффициент нормализации, равный количеству пахты или обезжиренного молока, которое необходимо добавить на каждые 100 кг высокожирной смеси, чтобы повысить массовую долю влаги в ней на 1%;  $V_t$  - требуемая массовая доля влаги высокожирной смеси,%;  $V_n$  - массовая доля влаги в высокожирной смеси до нормализации, %.

Коэффициент нормализации определяют, исходя из массовой доли сухих веществ в пахте и обезжиренном молоке, по формулам

$$K = 100 / V_n - V_c;$$

$$K = 100 / V_o - V_c,$$

где  $V_n$  и  $V_o$  - массовая доля влаги, соответственно, в пахте и обезжиренном молоке,%;  $V_c$  - массовая доля влаги в спреде, %.

Нормализованную высокожирную смесь направляют на экспе-

риментальную установку для получения спреда.

*Преобразование высокожирной смеси в спред.* Преобразование высокожирной смеси в спред осуществляют в маслообразователе цилиндрического типа. Сущность процесса маслообразования заключается в обращении фаз жировой эмульсии типа «масло в воде» в эмульсию «вода в спреде» посредством интенсивной термомеханической обработки высокожирной смеси.

Высокожирная смесь охлаждается в результате контакта с охлаждаемой стенкой аппарата при продавливании ее в маслообразователь посредством давления, создаваемого в приемной емкости компрессором. При этом происходит интенсивное образование центров кристаллизации, отвердевание значительной части жира, обращение фаз жировой эмульсии и диспергирование образующихся кристаллоагрегатов жира.

При охлаждении высокожирной смеси ниже точки затвердевания жира в первую очередь выкристаллизовываются высокоплавкие глицериды, находящиеся на границе с оболочками жировых шариков. Это изменяет существующее равновесие молекулярных сил в адсорбционной гидратной оболочке, уменьшая ее устойчивость против разрыва. Изменение агрегатного состояния жира вызывает увеличение вязкости вследствие образования внутри шарика кристаллического каркаса из твердых глицеридов, что ускоряет разрыв оболочки.

Следовательно, процесс деэмульгирования в такой полидисперсной системе, как высокожирная смесь, растянут во времени, зависит от температуры и интенсивности механического воздействия.

Процесс маслообразования условно может быть разделен на три стадии: охлаждение высокожирной смеси, обращение фаз жировой дисперсии, образование первичной структуры. Показателями эффективности процесса маслообразования по стадиям являются: на первой стадии - скорость и температурный диапазон охлаждения, на стадии второй - степень дестабилизации жировой эмульсии, на третьей стадии - интенсивность механического воздействия.

Образуемая в маслообразователе первичная структура спреда в результате механического воздействия на нее частично или полностью разрушается, а затем (в текучем состоянии) вытесняется из аппарата в тару. Поскольку продукт при этом находится в температурной зоне массовой кристаллизации глицеридов, то это обуслов-

ливаает содержание в нем сравнительно высокого количества твердого жира (30-38%). Часть жира находится в переохлажденном состоянии, вследствие чего продукт, попадая в тару (где он находится в состоянии относительного покоя), очень быстро (30-90 с) затвердевает, как и сливочное масло, получаемое традиционным методом.

*Порядок работы на экспериментальной установке :*

1. До проведения работы студенты должны ознакомиться с инструкцией по технике безопасности.

2. Перед началом работы на установке необходимо проверить ее состояние; убедиться в отсутствии повреждений, наличии приборов, правильности сборки, наличии заземления. Проверить соответствие установки ножей направлению вращения барабана в маслообразователе.

Примерно за 4 – 5 ч до начала занятий включают холодильную установку, насос ультратермостата для достижения температуры хладоносителя 3°C. Циркуляция хладоносителя осуществляется через

испаритель холодильной установки за счет насоса ультратермостата. Высокожирную смесь в количестве не менее 3 кг заливают в бачок для высокожирной смеси, плотно закрывают крышку, подтягивая зажимные винты. При достижении температуры хладоносителя 3°C включают компрессор и регулировочным винтом на крышке бочка устанавливают давление 0,4 – 0,5 кг/м . Давление контролируют по манометру, установленному на крышке бочка. При установлении давления 0,4 – 0,5 кг/м включают электродвигатель маслообразователя, приводящий во вращение вытеснительные барабаны маслообразователя. Приоткрывают кран выпуска воздуха на втором цилиндре и кран выхода высокожирной смеси из маслообразователя, которым регулируют температуру высокожирной смеси из маслообразователя за счет изменения производительности. Температура на выходе 12 – 14 °С.

Спред фасуют в деревянные ящики (предварительно взвешенные), устланные пергаментом, вместимостью 1,5-2 кг.

Регулирование работы маслообразователя заключается в следующем:

— при мягкой консистенции продукта следует увеличить производительность и повысить температуру на выходе из аппарата;

— в случае получения твердого крошливого масла, наоборот, нужно уменьшить производительность маслообразователя и снизить температуру охлаждения.

Отбирают пробу спреда из ящика, оценивают ее органолептически и определяют массовую долю влаги.

Оценку качества спреда проводят после стабилизации его структуры (охлаждение до температуры не выше 5 °С и выдержка 20 - 24 ч).

### ***Оформление отчета***

Отчет о работе должен содержать цель работы, краткое описание применяемых методов, расчетные данные, экспериментальные данные, выводы.

### ***Контрольные вопросы***

1. Почему высоконепредельные полиненасыщенные жирные кислоты по своим биологическим свойствам относятся к жизненно необходимым веществам для нормального развития и функционирования организма человека?

2. Каковы наиболее рациональные пути регулирования жирно-кислотного состава молочного жира?

3. Какие основные характеристики учитываются при оценке качества немолочных жиров?

4. Как рассчитать количество молочного и растительных жиров?

5. Сущность и стадии процесса преобразования высокожирной смеси в спред?

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5** **Исследование показателей качества спреда**

**Цель работы** – исследовать показатели качества спреда

### ***Краткие теоретические положения***

Качество спреда оценивается по 20-балльной шкале.

Предусматривается следующее распределение баллов: вкус и запах - 10;

- консистенция - 5;
- цвет - 2;
- упаковка и маркировка - 3.

Результаты оценки качества спреда в баллах по отдельным показателям суммируют. Спред на сорта не подразделяется. Спред считается некондиционным и не подлежит реализации при общей оценке менее 10 баллов, в том числе: за вкус и запах - менее 4 баллов, за консистенцию - менее 3 баллов.

Сырье, оборудование, приборы, материалы:

- весы для определения влаги в спреде (СПМ-84);
- термометр (спиртовой ) со шкалой деления от 0 до 100 °С;
- приборы и реактивы для определения кислотности плазмы;
- щуп;
- шпатель;
- воздушный термостат, позволяющий поддерживать постоянную температуру 30-37 °С;
- специальный отборник проб для выемки цилиндрической пробы масла диаметром и высотой 20 мм с приспособлением для выталкивания;
- стеклянные пластинки для размещения нескольких проб масла;
- миллиметровая бумага;
- индикаторная бумага, пропитанная раствором бромфенол-синего;
- фильтровальная бумага;
- секундомер;
- пинцет;
- острый нож или проволочный нож (диаметром 0,4-0,5 мм);
- чашки Петри;
- бюксы;
- эксикатор.

*Методы исследования.* В работе используют органолептические показатели с привлечением физико-химических показателей, характеризующих структуру и консистенцию спреда.

Массовую долю влаги в спреде определяют выпариванием по ГОСТ 3626; термоустойчивость спреда - по способности спреда сохранять форму при повышенных значениях температуры; величину капель и распределение влаги в спреде - по изменению цвета

индикаторной бумаги; вытекание жидкого жира - по количеству вытекшего жира из пробы; устойчивость спреда к плесневению - по появлению плесени в пробе.

### **Порядок выполнения работы**

Образцы спреда, подлежащие оценке, подготавливают для экспертизы, для этого их накануне отепляют. Если спред был заморожен, его отепляют в комнатных условиях. Образцы спреда в момент проведения экспертизы должны иметь температуру 10-12 °С. Пробу масла отбирают щупом. Органолептические показатели (вкус, запах, консистенцию, цвет), а также упаковку и маркировку оценивают в баллах, результаты оценки в баллах суммируют.

*Оценка консистенции спреда «пробой на срез».* Метод оценки консистенции спреда «пробой на срез» позволяет с наибольшей простотой, а при некотором навыке - и с достаточной точностью, характеризовать твердость, упругость, плотность.

Для исследования отбирают пробу спреда массой 200-300 г. От подготовленной пробы отрезают заостренным шпателем (ножом) пластинку спреда толщиной 1-2 мм и испытывают на изгиб и деформацию.

Консистенцию спреда устанавливают в зависимости от характера срезов:

- отличная консистенция - пластинка имеет плотную ровную поверхность и края, при легком нажиме прогибается не ломаясь;
- хорошая - пластинка выдерживает небольшой изгиб, но затем медленно ломается;
- удовлетворительная - пластинка имеет неровные края, при легком изгибе ломается;
- слабокрошливая и крошливая - при отрезании пластинка ломается и распадается на кусочки;
- слоистая - при отрезании и изгибе пластинка разделяется на слои;
- излишне мягкая - пластинка при нажиме слегка деформируется (сминается), поверхность на вид засаленная.

*Определение пробы на термоустойчивость* сводится к контролю способности спреда сохранять форму (не деформироваться под действием собственной массы) при сравнительно повышенной температуре (по отношению к комнатной) - 28-30 °С.

Из образцов спреда (массой около 100 г) с помощью пробоотборника вырезают цилиндрики диаметром и высотой 20 мм и осторожно размещают их на стеклянной пластинке с номером проб на расстоянии 2-3 см друг от друга. Затем пластинки с пробами помещают в термостат с заранее отрегулированной температурой 28-30 °С, где выдерживают в течение 2 ч.

По окончании выдержки пробы осторожно (без толчков) извлекают из термостата, измеряют диаметр основания каждого цилиндрика. Если основание пробы продукта имеет эллипсоидную форму, то измеряют максимальный и минимальный диаметры и вычисляют среднее значение.

Мерой термоустойчивости (коэффициент термоустойчивости  $K_T$ ) служит отношение начального диаметра исследуемого образца спреда к среднему диаметру основания образца после термостатирования

$$K_T = D_0 / D_1.$$

Шкала, характеризующая термоустойчивость спреда, приведена в табл. 5.

Таблица 5

#### Характеристика термоустойчивости

Термоустойчивость	Величина
Хорошая	1,00-0,86
Удовлетворительная	0,85-0,70
Неудовлетворительная	Менее 0,70

*Вытекание свободного жидкого жира.* Количество вытекшего жира  $M_{в.ж}$  характеризует способность структуры спреда удерживать его. Пробу спреда в форме кубика с длиной ребра 3,5 см (образцы могут быть и других форм и размеров) помещают на 5 слоев фильтровальной бумаги, уложенной в чашку Петри (чашку Петри с уложенной фильтровальной бумагой взвешивают). Затем в термостате при 25 °С «кубики» выдерживают в течение 30 мин и осторожно удаляют с фильтровальной бумаги остатки масла. Количество вытекшего жира (в процентах) определяют по формуле

$$M_{в.ж} = (c - a)100 / (b - a),$$

где  $a$  - масса чашки Петри с фильтровальной бумагой;  $b$  - масса чашки Петри с фильтровальной бумагой и кубиком спреда;  $c$  - масса чашки Петри с пропитанной жиром фильтровальной бумагой, свободно вытекшим из кубика.

Количество вытекшего жидкого жира не должно превышать 5%.

*Определение величины капель и их распределение в монолите спреда.* Эти показатели позволяют судить о качестве (тщательности) термомеханической обработки спреда.

Специальным проволочным ножом от монолита спреда делают срез размером 6\*6 см толщиной 2-3 см. На свежий срез пинцетом плотно накладывают индикаторную бумажку, пропитанную раствором бромфенола синего, и выдерживают 15-30 с. Затем индикаторную бумажку снимают кончиком пинцета и опускают в обезвоженный расплавленный парафин для фиксации капель.

По числу сине-фиолетовых точек или пятен, их величине, а также по характеру их распределения судят о степени дисперсности плазмы в спреде:

- - хорошее распределение влаги - на индикаторной бумажке отпечатков не видно;

- удовлетворительное - на индикаторной бумажке видно незначительное количество (3-5) равномерно распределенных точек диаметром 0,3-1,0 мм;

- неудовлетворительное - на индикаторной бумажке больше пяти точек различной величины диаметром свыше 1,0 мм;

- плохое - на индикаторной бумажке много точек и пятен диаметром более 3 мм.

*Определение устойчивости спреда к плесневению.* Для этого из монолита спреда щупом отбирают пробу, от которой шпателем отрезают кусочки длиной 3-4 см и кладут в бюксы. Бюксы со спредом помещают в эксикатор на решетку, на дно под решетку налито немного воды. Эксикатор плотно закрывают крышкой и ставят в темное место (при температуре 20 °С).

Ежедневно осматривают поверхность исследуемых проб спреда и отмечают появление плесни. Отсутствие плесени через 14 суток указывает на относительную устойчивость спреда к плесневению.

### ***Контрольные вопросы***

1. По каким показателям оценивают консистенцию спреда?
2. В каких случаях устанавливают, что спред некондиционный?
3. Чему равен допустимый коэффициент термоустойчивости?
4. Как определить дисперсность влаги в спреде?

5. Что характеризует вытекание свободного жидкого жира?
6. Основные пороки консистенции, причины их возникновения и меры устранения?
7. Какие факторы влияют на появление плесени в спреде и каковы меры их предупреждения?

## **ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №6**

### **Разработка и исследование технологии кисломолочных напитков для профилактики витаминной недостаточности**

**Цель работы** – Освоить технологию производства обогащенных аскорбиновой кислотой кисломолочных напитков

**Содержание работы.** Теоретически ознакомиться с основными принципами обогащения пищевых продуктов микронутриентами; проанализировать технологию производства кисломолочных напитков, установить возможные способы внесения аскорбиновой кислоты; исследовать содержание аскорбиновой кислоты на различных стадиях технологического процесса; сделать заключение о целесообразности того способов внесения аскорбиновой кислоты на основе результатов биохимических исследований.

**Материальное обеспечение работы.** Для проведения работы оборудуют четыре рабочих места (на одну подгруппу необходимо 0,1 кг сухого цельного молока с массовой долей жира 25%), сухой препарат аскорбиновой кислоты.

К выполнению работы готовят приборы и материалы, используемые при определении массовой доли жира в молоке, титруемой кислотности, а также оборудование для определения аскорбиновой кислоты йодометрическим методом.

**Краткие теоретические сведения.** Приоритетным направлением Концепции государственной политики в области здорового питания населения РФ является ликвидация дефицита пищевых веществ, в том числе витаминов и минеральных веществ.

Известно, что наиболее доступным и экономически целесообразным является обогащение продуктов питания массового потребления биологически активными веществами до уровня, адекватного физиологическим потребностям населения.

ватного физиологическим потребностям. К основным медико-биологическим принципам обогащения пищевых продуктов относятся:

- выбор обогащаемого продукта;
- выбор обогащаемой добавки;
- установление уровней содержания микронутриентов в обогащенном продукте;
- безопасность и физиологическая эффективность.

При этом нельзя уменьшать содержание и усвояемость других содержащихся веществ, а вносимые пищевые добавки не должны существенно изменять вкус, аромат и свежесть продуктов. При этом продолжительность хранения, как правило, должна составлять не менее продолжительности хранения традиционного продукта.

При выборе способа обогащения следует учитывать возможные химические и иные виды взаимодействий обогащающих добавок между собой и с компонентами обогащаемого продукта. Поэтому нужно выбирать такие их сочетания, формы, способы и стадии внесения, которые обеспечат им максимальную сохранность в процессе производства и хранения.

В настоящее время для каждого вида пищевого продукта разработаны наиболее эффективные технологии обогащения, выбраны устойчивые формы витаминов, определены способы и стадии их внесения в пищевые массы.

К основным способам обогащения относят:

- сухое смешивание компонентов;
- растворение микронутриентов в воде или другом жидком носителе;
- растворение в жирах (маслах);
- напыление (напрыскивание) растворов микронутриентов на поверхность продукта;
- нанесение специальных покрытий на поверхность продукта;
- адгезия (налипание) микронутриентов на поверхность продукта.

Важным критерием эффективного использования микронутриентов является их сохранность в процессе выработки продукции, которая обусловлена специальными приемами, исключающими воздействие высоких температур, интенсивное насыщение кислородом воздуха или иным неинертным газом.

Результаты многочисленных исследований, проводимых еже-

годно институтом питания РАМН, свидетельствуют о недостаточном потреблении витаминов и ряда минеральных элементов у значительной части населения России. Особенно неблагоприятно обстоит дело с витамином С, недостаток которого, по обобщенным данным, выявлен у 80-90% обследуемых людей. Например, средний уровень этого витамина в плазме крови взрослого населения регионов Урала, Сибири и Дальнего Востока находится в пределах 0,14-0,39 мг/дл, т.е. в 2-5 раз ниже нижней границы нормы (0,7-1,2 мг/дл).

**Таблица 6.1**  
**Рекомендуемые нормы среднесуточного потребления**  
**витамина С (мг)**

Дети			Мужчины		Женщины		
0-12 мес	1-6 лет	7-17 лет	труд легкий и средней тяжести	труд тяжелый	труд легкий и средней тяжести	труд тяжелый	беременные и кормящие
30-40	45-60	60-70	70-80	80-100	70	80	100-200

**Методы исследований. Массовую долю жира в молоке определяют методом Гербера, кислотность - титриметрически.**

*Массовую долю витамина С* определяют йодометрическим методом. Навеску исследуемого образца массой 1 г переносят в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки водой, фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу или стакан. Отбирают в стаканчики 20 мл фильтрата, доливают 1 мл 2% раствора соляной кислоты, 0,5 мл 1% раствора йодистого калия и 3 капли 0,5% раствора крахмала. Смесь перемешивают и титруют из микробюретки 0,001 М раствором йодата калия до устойчивого синего окрашивания. Параллельно ведут контрольное титрование (вместо 20 мл фильтрата берут 20 мл воды).

Для приготовления маточного 0,01 М раствора йодата калия берут 0,3568 г йодата калия, предварительно высушенного в течение 3 ч при 105<sup>0</sup>С и растворяют в мерной колбе на 1 л. В день анализа готовят для титрования 0,001 М раствор йодата калия: 100 мл маточного раствора доводят водой до метки в мерной колбе на 1 л. 1 мл 0,001 М раствора йодата калия соответствует 0,088 мг витамина С. Содержание витамина С (X,%) определяют по формуле:

$$X = \frac{100 \cdot 0,088 \cdot (C_3 - C_4) \cdot C_1}{M \cdot C_2} \quad (6.1)$$

где  $C_3$  - объем 0,001 М раствора йодата калия, пошедшего на титрование опытного образца, мл;  $C_4$  - объем 0,001 М раствора йодата калия, пошедшего на контрольное титрование смеси, мл;  $C_1$  - общий объем вытяжки, мл;  $M$  - масса навески, г;  $C_2$  - количество вытяжки, взятое на титрование, мл.

### **Организация, порядок выполнения и оформления работы.**

Перед началом выполнения работы необходимо рассчитать, какое количество аскорбиновой кислоты необходимо внести (с учетом рекомендаций табл. 6.1). В наиболее часто употребляемой массе продукта должно содержаться не менее половины суточной потребности аскорбиновой кислоты (задание согласовывают с преподавателем). Например, мужчине, занятому на работах с тяжелым трудом суточное потребление аскорбиновой кислоты должно составлять 80-100 мг. Половина от суточной нормы приходится на интервал от 40 до 50 мг. По рекомендации Института питания РАМН в 200 мл кисломолочного напитка должна содержаться профилактическая доза витамина. Следовательно, в 100 г необходимо внести такое количество витамина, которое позволяет на выходе (в готовом напитке) содержать 20-25 мг витамина С.

Каждая подгруппа выполняет лабораторную работу по варианту, предложенному преподавателем (табл. 6.2).

После того, как будут рассчитаны требуемые количества аскорбиновой кислоты, необходимо восстановить сухое молоко. Для этого берут такое соотношение сухого молока и воды, чтобы в восстановленном молоке содержалось 2,5% жира (в сухом молоке массовая доля жира составляет 25% жира). Подготовленное молоко пастеризуют при 76<sup>0</sup>С в течение 20-25 с, охлаждают до температуры внесения закваски. Затем определяют массовую долю жира в восстановленном молоке методом Гербера, а также титруемую кислотность титрометрическим методом, вносят закваску и оставляют в термостате для сквашивания.

Каждая подгруппа контролирует содержание аскорбиновой кислоты с учетом вариантов, приведенных в табл. 6.2.

Отчет по работе должен содержать название работы, цель, краткие теоретические положения, методы исследования, графики зависимостей кислотности от продолжительности сквашивания и массовой доли аскорбиновой кислоты от продолжительности сквашивания.

Таблица 6.2

## Варианты проведения лабораторной работы

Вариант	Стадия внесения аскорбиновой кислоты	Регламент выполнения операции	Стадия контроля аскорбиновой кислоты
1	В сухое молоко перед восстановлением	Расчетное количество аскорбиновой кислоты внести в сухое молоко перед восстановлением и тщательно перемешать, затем сухое молоко просеять через сито	В сухом молоке, в восстановленном молоке, в пастеризованном молоке (перед заквашиванием), через час, два, три и четыре часа сквашивания
2	В воду перед восстановлением сухого молока	Расчетное количество аскорбиновой кислоты внести в воду при температуре воды (30-32) <sup>0</sup> С, растворить при непрерывном помешивании	В воде для восстановления, в восстановленном молоке, в пастеризованном молоке (перед заквашиванием), через час, два и три часа сквашивания
3	В восстановленное молоко перед пастеризацией	Расчетное количество аскорбиновой кислоты внести в восстановленное молоко при температуре молока (30-32) <sup>0</sup> С	В восстановленном молоке, в пастеризованном молоке (перед заквашиванием), через час, два и три часа сквашивания
4	В пастеризованное молоко перед заквашиванием	Расчетное количество аскорбиновой кислоты внести в пастеризованное молоко при температуре сквашивания молока (30-32) <sup>0</sup> С	В пастеризованном молоке (перед заквашиванием), через час, два и три часа сквашивания

**Контрольные вопросы**

1. Назовите основные принципы обогащения продуктов питания микронутриентами.
2. С какой целью обогащают продукты питания микронутриентами?
3. Почему в результате биотехнологической обработки массовая доля аскорбиновой кислоты в молоке снижается?
4. На какой стадии необходимо вносить в молоко аскорбиновую кислоту?
5. Как рассчитать дозу обогащения?
6. Как определить массовую долю аскорбиновой кислоты в продукте?
7. В каких продуктах содержится достаточное для обогащения количество аскорбиновой кислоты?

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №7

### Интегральная оценка сбалансированности продуктов питания

**Цель работы** – научиться оценивать сбалансированность продуктов питания

Согласно теории сбалансированного питания в продукте (рационе) должно содержаться такое количество нутриентов, которое соответствует суточной норме возрастной группе населения. В продукте должно содержаться определенная норма пищевого нутриента – витамина, макро-микроэлемента и аминокислоты. Наличие данного элемента как ниже допустимой нормы, так и его превышение говорит о несбалансированности продукта. Зависимость функционирования организма от количества нутриентов используется при определении пищевой и биологической ценности моделируемого продукта.

В настоящее время широко используются критерии биологической оценки сбалансированности многокомпонентных продуктов питания предложенные академиками Липатовым Н.Н.(мл) и Роговым И.А. Разработанные ими показатели позволяют оценить аминокислотный состав и его сбалансированность в моделируемом продукте. К данным показателям относятся – *коэффициент утилитарности незаменимой аминокислоты*, *коэффициент утилитарности аминокислотного состава*, *показатель сопоставимой избыточности*.

*Коэффициент утилитарности j-й незаменимой аминокислоты* (КУНА), доли ед., рассчитывается по формуле:

$$\alpha_j = C_{\min} / C_j, \quad (7.1)$$

где  $C_{\min}$  - минимальный скор незаменимых аминокислот оцениваемого белка по отношению к физиологически необходимой норме (эталону),% или доли ед.;

$C_j$  - скор *j-й* незаменимой аминокислоты по отношению к физиологически необходимой норме (эталону),% или доли ед.;

$$C_j = A_j / A_{эj}, \quad (7.2)$$

где  $A_j$  - массовая доля *j-й* незаменимой аминокислоты в продукте, г/100 г белка;  $A_{эj}$  - массовая доля *j-й* незаменимой аминокислоты, соответствующая физиологически необходимой норме (эталону), г/100 г белка.

*Коэффициент утилитарности аминокислотного состава* (КУАС) -  $U$ , численно характеризующий сбалансированность незаменимых аминокислот

кислот по отношению к физиологически необходимой норме (этalonу), доли ед. рассчитывается по формуле:

$$U = C_{\min} \frac{\sum_{j=1}^n A_{эj}}{\sum_{j=1}^n A_j} \quad (7.3)$$

*Показатель «сопоставимой избыточности» -  $\sigma$  (ПСИ)* – содержания незаменимых аминокислот, характеризующий суммарную массу незаменимых аминокислот, не используемых на анаболические цели, в таком количестве белка оцениваемого продукта, которое эквивалентно по их потенциально утилизируемому содержанию 100 г белка-эталоны, рассчитывается по формуле:

$$\sigma = \frac{\sum_{j=1}^k (A_j - C_{\min} \cdot A_{эj})}{C_{\min}}, \quad (7.4)$$

Идеальное значение перечисленных показателей приближение к эталонному значению  $\alpha_j = 1$ ,  $U = 1$ ,  $\sigma = 0$ .

Для получения расчетной информации о массовых долях макро- или микропитательного вещества в продукте применяется формула, описывающая уравнения материального баланса:

$$S = \sum_{i=1}^n X_i S_i / \sum_{i=1}^n X_i, \quad (7.5)$$

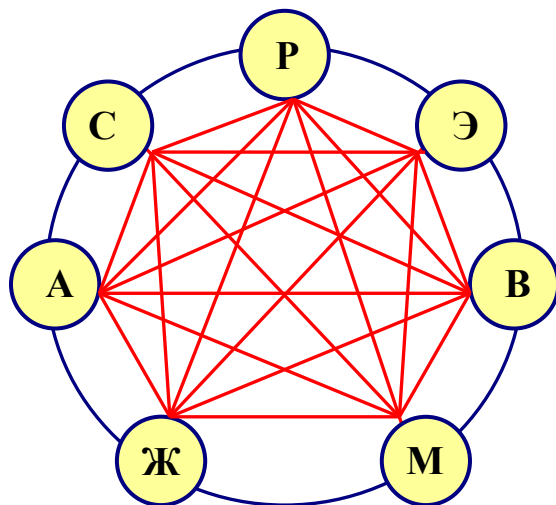
где  $S$  – массовая доля конкретного макро - или микропитательного вещества в рецептурной смеси в  $i$ -м компоненте, %;  $X_i$  – массовая доля  $i$ -го компонента в рецептурной смеси, %;  $S_i$  – массовая доля конкретного макро - или микропитательного вещества в  $i$ -ом компоненте, %.

Следует отметить, что в настоящее время оценка частных критериев сбалансированности рецептурного, витаминного и минерального состава не производится, не осуществляется интегральная (комплексная) оценка сбалансированности продукта в целом.

Для оценки уровня сбалансированности продуктов питания нами использовалась обобщенная функция желательности Харрингтона. В основе построения обобщенной функции лежит идея преобразования натуральных значений частных откликов в

безразмерную шкалу желательности или предпочтительности. Значение частного отклика, переведенное в безразмерную шкалу желательности, обозначается через  $d_i$  ( $i = 1, 2, \dots, n$ ) и называется частной желательностью. Задача упрощается, когда исследуемые показатели имеют уже безразмерные величины, в этом случае целесообразно использовать частный вариант обобщенной функции Харрингтона.

Схема системной взаимосвязи элементов проектируемого продукта с задаваемым составом представлена на рисунке 7.5, в виде планарного графа с 7 элементами и с 6 связями. В такой взаимосвязи определяется стоимость продукта, энергетическая, пищевая и биологическая ценность многокомпонентного продукта. Изменение значений (массовых долей) одного из элементов рецептурной смеси приводит к изменению значений взаимосвязанных элементов. Например, оптимизация витаминного состава в продукте приведет к изменению себестоимости, энергетической ценности, минерального, жирнокислотного и аминокислотного состава биойогурта.



**Рис. 7.5. Планарный граф системного проектирования рецептурного состава многокомпонентного продукта:**

*P* – рецептурный состав проектируемого продукта; *A* – аминокислотный состав продукта; *Ж* – жирнокислотный состав продукта; *C* – себестоимость продукта; *Э* – энергетическая ценность продукта; *B* – витаминный состав продукта; *M* – минеральный состав продукта.

Для оценки уровня сбалансированности биоюгурта с дикорастущими ягодами предлагается использовать следующие семь безразмерных критериев (индексов):

*ИСПС* – индекс сбалансированности рецептурного состава продукта (**U<sub>p</sub>**);

*ИСВС* – индекс сбалансированности витаминного состава (**U<sub>в</sub>**);

*ИСМС* – индекс сбалансированности минерального состава (**U<sub>м</sub>**);

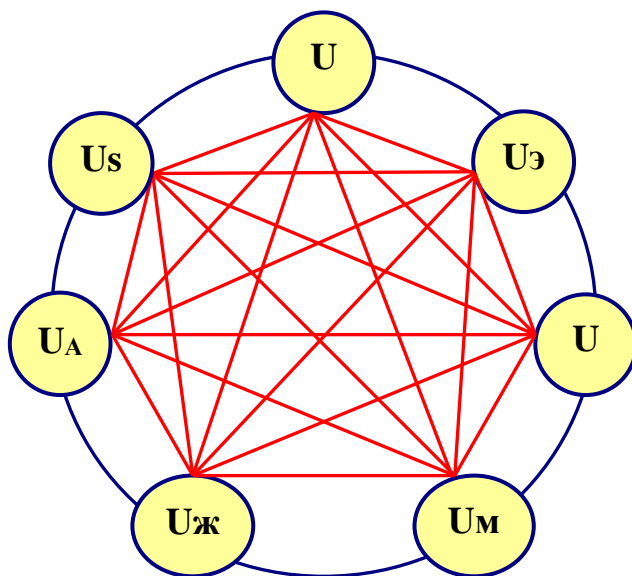
*ИСАС* – индекс сбалансированности аминокислотного состава (**U<sub>а</sub>**);

*ИСЖС* – индекс сбалансированности жирнокислотного состава (**U<sub>ж</sub>**);

*ИСЭЦ* – индекс сбалансированности энергетической ценности (**U<sub>э</sub>**).

*ИССР* – индекс сбалансированности по соотношению Ж:Б:У (**U<sub>с</sub>**).

Подобно взаимосвязи элементов изображенных на рисунке 7.5., на рисунке 7.6. представлен планарный граф взаимосвязи частных критериев сбалансированности биоюгурта с дикорастущими ягодами.



**Рис. 7.6. Планарный граф взаимосвязи частных критериев сбалансированности биоюгурта**

Данные критерии позволяют оценить уровни сбалансированности на каждом этапе проектирования продуктов. Расчет частных критериев сбалансированности желательности производится как

среднее геометрическое значение, например, формула для расчета индекса сбалансированности витаминного состава - ИСВС ( $U_v$ ) запишется в виде:

$$U_v = \sqrt[n]{\prod_{j=1}^n \left( \frac{B_j}{B_{vj}} \right)}, \quad (7.6)$$

где  $B_j$  - массовая доля  $j$ -го витамина в продукте, мг%;  $B_{vj}$  - массовая доля  $j$ -го витамина, соответствующая физиологически необходимой норме (эталону), мг%;  $n$  - количество измеряемых витаминов в продукте.

Частный критерий сбалансированности рецептурного состава ИСРС:

$$U_p = \sqrt[n]{\prod_{j=1}^n \left( \frac{P_j}{P_{vj}} \right)}, \quad (3.2.7)$$

где  $P_j$  - массовая доля  $j$ -го рецептурного элемента (жира, белка, углевода) в продукте, мг%;  $P_{vj}$  - массовая доля  $j$ -го рецептурного элемента (жира, белка, углевода) соответствующая физиологически необходимой норме (эталону), мг%;  $n$  - количество рецептурных элементов в продукте ( $n = 3$ ).

Частный критерий желательности минерального состава ИСМС:

$$U_M = \sqrt[n]{\prod_{j=1}^n \left( \frac{M_j}{M_{vj}} \right)}, \quad (7.8)$$

где  $M_j$  - массовая доля  $j$ -го минерала в биоогурте, мг%;  $M_{vj}$  - массовая доля  $j$ -го минерала, соответствующая физиологически необходимой норме (эталону), мг%;  $n$  - количество исследуемых минералов в продукте.

Частный критерий желательности аминокислотного состава ИСАС:

$$U_A = \sqrt[n]{\prod_{j=1}^n \left( \frac{A_j}{A_{эj}} \right)}, \quad (7.9)$$

где  $A_j$  - массовая доля  $j$ -й аминокислоты в продукте, мг%;  $A_{эj}$  - массовая доля  $j$ -й аминокислоты, соответствующая физиологически необходимой норме (эталону), мг%;  $n$  - количество незаменимых аминокислот в проектируемом продукте.

Частный критерий сбалансированности жирнокислотного состава ИСЖС:

$$U_{Ж} = \sqrt[n]{\prod_{j=1}^n \left( \frac{Ж_j}{Ж_{эj}} \right)}, \quad (7.10)$$

где  $Ж_j$  - массовая доля  $j$ -го жирного состава в продукте, мг%;  $Ж_{эj}$  - массовая доля  $j$ -го жирного состава, соответствующая физиологически необходимой норме (эталону), мг%.

Частный критерий сбалансированности энергетической ценности ИСЭЦ:

$$U_{э} = \frac{Э_j}{Э_{эj}}, \quad (7.11)$$

где  $Э_j$  - энергетическая ценность продукта, кДж;  $Э_{эj}$  - энергетическая ценность продукта, соответствующая физиологически необходимой суточной норме, кДж.

Идеальная сбалансированность продукта будет достигнута тогда, когда частные критерии сбалансированности будут равны единицы, т.е.  $U_p=1$ ,  $U_b=1$ ,  $U_m=1$ ,  $U_{ж}=1$ ,  $U_a=1$ ,  $U_{э}=1$ ,  $U_s=1$ .

Обобщенная функция сбалансированности Харрингтона ( $D_i$ ) определяется как среднее геометрическое значение от частных критериев (индексов) сбалансированности и рассчитывается по формуле:

$$D_i = \sqrt[k]{\prod_{i=1}^k U_i} = \sqrt[k]{U_p \cdot U_b \cdot U_m \cdot U_{ж} \cdot U_a \cdot U_{э} \cdot U_s} \quad (7.12)$$

где  $k$  – количество частных критериев сбалансированности.

Идеальная сбалансированность многокомпонентного продукта оценивается при обобщенном критерии сбалансированности Харрингтона равным  $D_i = 1$ .

В рецептурном составе биоюгурта используются 5 видов дикорастущих ягод: брусника, голубика, черника, клюква, черная смородина. Количество сочетаний композиционных рецептур ( $B_n^m$ ), которое можно составить при добавлении в биоюгурт всех видов ягод ( $B_5^5$ ), одного вида из пяти ( $B_5^1$ ), композиции ягод из двух ( $B_5^2$ ), трех ( $B_5^3$ ) и четырех ягод ( $B_5^4$ ), рассчитывается по формуле

$$B_n^m = \frac{n!}{m!(n-m)!} \quad (7.13)$$

где  $n$  – общее количество ягод используемых при проектировании продукта;  $m$  – число дикорастущих ягод в продукте.

При подстановке в формулу (3.2.13) численных значений, получим:

$$B_5^5 = \frac{5!}{5!(5-5)!} = 1; \quad B_5^1 = \frac{5!}{1!(5-1)!} = \frac{1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 4 \cdot 5}{1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 4} = 5;$$

$$B_5^2 = \frac{5!}{2!(5-2)!} = \frac{1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 4 \cdot 5}{1 \cdot 2 \cdot (1 \cdot 2 \cdot 3)} = 10;$$

$$B_5^3 = \frac{5!}{3!(5-3)!} = \frac{1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 4 \cdot 5}{1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot (1 \cdot 2)} = 10; \quad B_5^4 = \frac{5!}{4!(5-4)!} = 5$$

Общее число вариантов рецептур будет равно сумме:

$$B = B_5^5 + B_5^1 + B_5^2 + B_5^3 + B_5^4. \quad B = 1 + 5 + 10 + 10 + 5 = 31$$

Таким образом, при добавлении в биоюгурт 5 видов дикорастущих ягод количество рецептурных композиций продукта состав-

вит 31. Выбор того или иного варианта рецептуры обусловлен поставленной задачей.

Например, для определения максимального значения индекса сбалансированности витаминного состава (ИСВС -  $U_v$ ) в биоогурте в табличном процессоре Excel формируется информационная матрица данных витаминного состава биоогурта и лесных ягод, суточная норма в витаминах для школьного питания (рис.3.2.2).

Массовая доля содержания витамина А в проектируемом продукте записывается в ячейку А43 и рассчитывается с использованием следующего выражения:

$$= \text{СУММПРОИЗВ}(\text{\$C\$35:\$C\$40}; \text{D35:D40}) / 100$$

Данное выражение копируется в ячейки **E43, F43, G43, H43, I43, J43, K43.**

В ячейку **D47** записываем частный критерий сбалансированности витаминного состава – ИСВС ( $U_v$ ):

$$= (\text{D46} * \text{E46} * \text{F46} * \text{G46} * \text{H46} * \text{I46} * \text{J46} * \text{K46})^{(1/8)}$$

и устанавливаем максимальное значение. В результате расчета получим  $U_v = 0,316$ , при данном значении в биоогурт добавляется черника в количестве 6,4 кг и черная смородина в количестве 8,6 кг. (см.рис.7.7).

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
33	<b>Ингредиенты</b>	<b>Xi</b>	<b>Масса,</b>	<b>Содержание витаминов, мг / в 100 граммах продукта (мг%)</b>							
34			<b>кг</b>	<b>A</b>	<b>E</b>	<b>B6</b>	<b>C</b>	<b>PP</b>	<b>B3</b>	<b>B2</b>	<b>B1</b>
35	<b>Биоюгурт</b>	<b>x1</b>	<b>85,0</b>	<b>0,03</b>	<b>2,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>4,5</b>	<b>1,75</b>	<b>0,43</b>	<b>0,35</b>
36	<b>Брусника</b>	<b>x2</b>	<b>0,0</b>	<b>0,08</b>	<b>1,0</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>0,3</b>	<b>0</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>
37	<b>Черника</b>	<b>x3</b>	<b>6,4</b>	<b>1,5</b>	<b>0,0</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>0,3</b>	<b>0</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>
38	<b>Голубика</b>	<b>x4</b>	<b>0,0</b>	<b>0</b>	<b>1,4</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>0,3</b>	<b>0</b>	<b>0,02</b>	<b>0,01</b>
39	<b>Клюква</b>	<b>x5</b>	<b>0,0</b>	<b>0,002</b>	<b>1,2</b>	<b>0,057</b>	<b>13,3</b>	<b>0,2</b>	<b>0,101</b>	<b>0,02</b>	<b>0,012</b>
40	<b>Черная смородина</b>	<b>x6</b>	<b>8,6</b>	<b>0,069</b>	<b>1,0</b>	<b>0,066</b>	<b>181</b>	<b>0,2</b>	<b>0,3</b>	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>
41	<b>Сумма, кг</b>		<b>100,00</b>								
42	<b>Содержание в продукте, мг%</b>			<b>0,13</b>	<b>2,21</b>	<b>0,43</b>	<b>16,71</b>	<b>3,86</b>	<b>1,51</b>	<b>0,37</b>	<b>0,30</b>
43	<b>Норма школьников (7-10 лет), мг%</b>			<b>0,7</b>	<b>10</b>	<b>1,6</b>	<b>60</b>	<b>15</b>	<b>0,8</b>	<b>1,4</b>	<b>1,2</b>
44	<b>Соответствие суточной норме, %</b>			<b>18,2</b>	<b>22,1</b>	<b>26,9</b>	<b>27,8</b>	<b>25,7</b>	<b>189,2</b>	<b>26,5</b>	<b>25,2</b>
45	<b>Уровень соответствия норме, доли</b>			<b>0,18</b>	<b>0,22</b>	<b>0,27</b>	<b>0,28</b>	<b>0,26</b>	<b>1,89</b>	<b>0,27</b>	<b>0,25</b>
46	<b>ИСВС- Ув</b>			<b>0,316</b>							
47											

**Рис. 7.7. Характеристика рецептурного и витаминного состава биоюгурта с максимальным значением индекса сбалансированности витаминного состава (Ув)**

Уровень сбалансированности витаминного состава биоюгурта при максимальном значении ИСВС ( $\max U_v$ ) представлен на рисунке 7.8. Сравнительная оценка уровня сбалансированности содержания витаминного состава биоюгурта с максимальным значением ИСВС (рис. 7.8) и биоюгурта без внесения ягод (рис. 7.9) показала, что сбалансированность витаминов в продукте с черникой и черной смородиной повысилась в 7,71 раз. Содержание аскорбиновой кислоты С увеличилось в 27,8, ретинола витамина А в 4,3, токоферола Е в 11,1, ниацина РР в 19,3 раза, пиридоксина В<sub>6</sub> в 7,2 раза

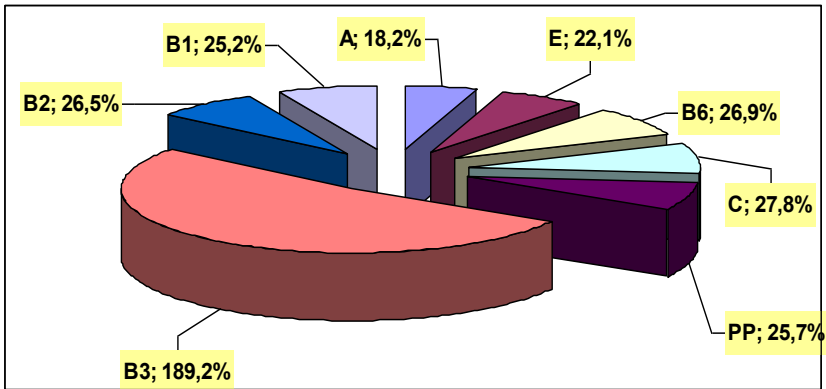


Рис. 7.8. Уровни сбалансированности витаминного состава биоюгурта с черникой и черной смородиной

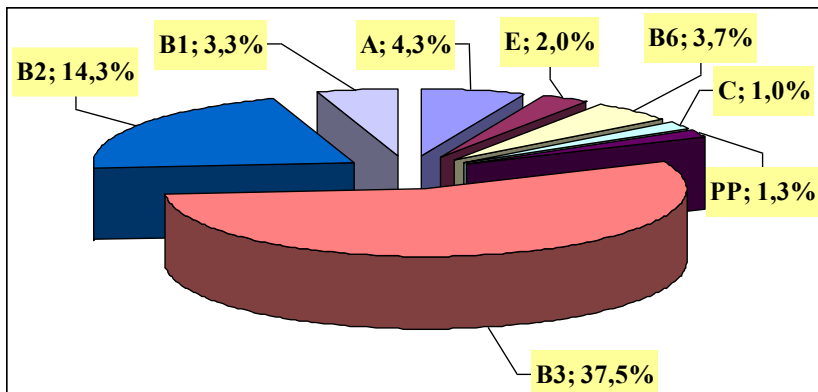


Рис. 7.9. Уровни сбалансированности витаминного состава биоюгурта без ягод

Оптимизация минерального состава биоюгурта показала, что при максимальном значении индекса сбалансированности минерального состава ИСМС ( $\max U_m$ ) (рис.3.2.11.) равного 0,050, минерализация по сравнению с контрольным образцом (биоюгурт без ягод рис.3.2.10.) увеличилась в 1,52 раза. Содержание калия увеличилось в 1,2 раза, марганца увеличилось в 4 раза, меди 2, железа 3,4 раза, по сравнению с контрольным образцом. Отмечается незначительное снижение содержания кальция, натрия фосфора.

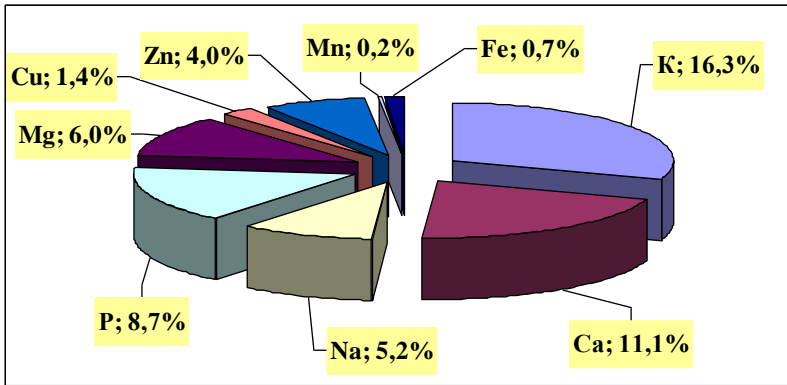


Рис. 7.10. Уровни сбалансированности минерального состава биоюгурта без ягод

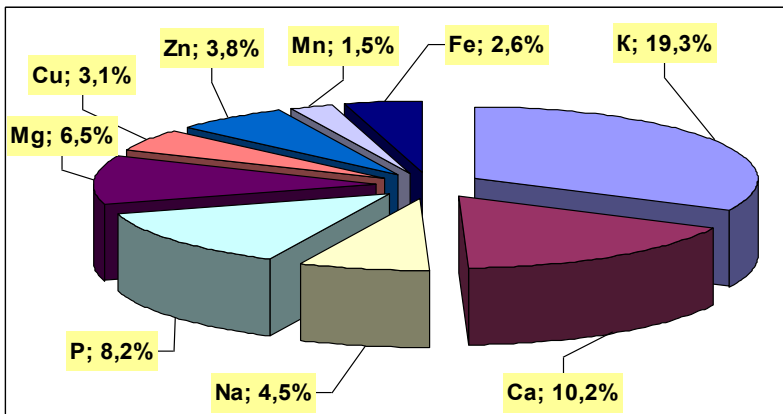


Рис. 7.11. Уровни сбалансированности минерального состава биоюгурта с черной смородиной

Интегральная оценка частных критериев сбалансированности рецептурного состава композиционного биоюгурта с дикорастущими ягодами, с учетом принятых обозначений приведена в таблицах 7.4 – 7.7.

***Контрольные вопросы***

1. Назовите основное положение теории сбалансированного питания?
2. Что такое пищевые нутриенты?
3. Дайте определение понятию «коэффициент утилитарности аминокислотного состава»?
4. Перечислите показатели позволяющие оценить аминокислотный состав и сбалансированность моделируемого продукта?
5. Дайте определение понятию «показатель сопоставимой избыточности»?
6. Что такое пищевая и биологическая ценность продукта?

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доценко, С.М. Научные основы создания продуктов питания функциональной направленности с использованием биологически активных сырьевых ресурсов дальневосточного региона: монография / С. М. Доценко, И. В. Бибик. - Благовещенск: ДальГАУ, 2014. - 293, [1].
2. Методические указания и программа научно-исследовательской практики по специальности 260200.68 магистерской программы «Биотехнология продуктов лечебного и профилактического питания» [Текст] / сост. В.В. Зарицкая. – Благовещенск: ДальГАУ. ТФ. – ДальГАУ, 2014. – 42 с.
3. Никитина Е. В. Микробиология [Электронный ресурс] : учебник / Никитина Е. В., Киямова С. Н., Решетник О. А. — Электрон. дан. — СПб. : ГИОРД, 2011. — 392 с. — Режим доступа: [http://e.lanbook.com/books/element.php?p11\\_id=4904](http://e.lanbook.com/books/element.php?p11_id=4904)
4. Решетник, Е.И. Научное обоснование технологии ферментированных молочных продуктов на основе биотехнологических систем [Текст]: монография / Е.И. Решетник, В.А. Максимюк, Е.А. Уточкина; ДальГАУ. – Благовещенск: ДальГАУ, 2013. – 111, [1] с.
5. Решетник, Е.И. Технология и организация производства молока и молочных продуктов [Текст]: учебное пособие / Е.И. Решетник, Ю.И. Держапольская; ДальГАУ. ТФ. – Благовещенск: ДальГАУ, 2014. - 129с.
6. Тихомирова, Н.А. Технология продуктов лечебно-профилактического назначения на молочной основе [Текст]: учеб. пособие/ Н.А. Тихомирова. – СПб: Троицкий мост, 2010. – 448 с.
7. Хамагаева, И.С. Пробиотические биологически активные добавки: учеб. пособие. - Улан-Удэ: Изд-во ВСГУТУ, 2014. - 120 с.

*Учебное издание*

*Решетник Екатерина Ивановна,  
Держапольская Юлия Игоревна,  
Грибанова Светлана Леонидовна*

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ  
ЛЕЧЕБНОГО И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПИТАНИЯ**

*Лабораторный практикум  
для магистрантов всех форм обучения по направлению подготовки  
19.04.03 «Продукты питания животного происхождения»*

*В редакции составителей*

Лицензия ЛР 020427 от 25.04.1997 г.  
Подписано к печати 12.04.2016 г. Формат 60×90/16.  
Уч.-изд.л. – 3,1. Усл.-п.л. – 4,3.  
Тираж 45 экз. Заказ 46.

---

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии  
издательства Дальневосточного ГАУ  
675005, г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86

