

Це може свідчити про перебіг побічних процесів часткового метаболізму фруктози, а також про дію різних ферментів: одних на початковому етапі ферментативного гідролізу (до 2 – 4 годин), інших – на прикінцевому етапі процесу (після 4 – 6 годин).

Незважаючи на різні кінетичні залежності, комплекси ферментів більшості найпродуктивніших субкультур досягають приблизно однакового вмісту фруктози у ферментованому середовищі за тривалості процесу гідролізу протягом 8 – 12 годин.

Повторна обробка мутагеном субкультур дещо підвищує продуктивність фруктозанлітичного комплексу дріжджів, але на кінетичних залежностях нагромадження вмісту фруктози у ферментованому середовищі це не відобразилося.

Якщо досліджувати гідроліз фруктозанів за допомогою паперової хроматографії (3), то, виходячи з характеру змін хроматографічних плям, можна стверджувати, що дріжджі виробляють переважно ферменти з екзо-гідролізною активністю. Такий висновок можна зробити з того, що у процесі гідролізу спочатку зменшуються плями нижчих олігомерів глікозилфруктанів разом із плямами цукрози, найближчі до фронту системи розчинників на хроматограмі після плям фруктози та глюкози. Потім поступово зникають плями вищих олігомерів, і врешті зникають «хвости» разом зі стартовими плямами, які, найбільш імовірно, відповідають інуліну та його найближчим гомологам.

Література

1. Янченко К.А. Обробка нітрозогуанідином культур дріжджів і підвищення активності фруктозанлітичних ферментів. / Янченко К.А., Пауліна Я.Б. Наукові праці ОНАХТ, 2012, – Вип. 42, Т. 2, – С. 116 – 118.
2. Kurtzman, C.P., Fell, J.W. Yeast Systematics and Phylogeny – Implications of Molecular Identification Methods for Studies in Ecology. / *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts* / *The Yeast Handbook*, pringer. 2006 http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?SEQ_NO_115=176765.
3. Янченко К.А. Застосування паперової хроматографії для аналізу продуктів ферментного гідролізу фруктозанів. / Янченко К.А., Пауліна Я.Б. Харчова наука і технологія, 2013, – № 2(33), – С. 71–73.

УДК 577. 114

СОРБЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ХИТИН-ГЛЮКАНОВОГО КОМПЛЕКСА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ БИОМАССЫ ПРОДУЦЕНТА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

¹Павлова О.В., аспирант, ²Белова Е.А., преподаватель, ¹Троцкая Т.П., д-р техн. наук, профессор
¹РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию», г. Минск, Беларусь

²Гродненский государственный университет имени Я. Купалы, Беларусь

*Изучена возможность вторичного использования отходов микробиологического синтеза лимонной кислоты – биомассы продуцента *Aspergillus niger*. В результате последовательного кислотно-щелочного гидролиза из биомассы *Aspergillus niger* выделен хитин-глюкановый комплекс и исследована его сорбционная способность. Для характеристики и сравнительного анализа сорбционной способности полученных образцов хитин-глюкановый комплекс использовались следующие показатели: адсорбционная активность (сорбционная ёмкость), коэффициент распределения и удельная поверхность. Исследование показало, что сорбционная способность грибной биомассы и ее структурных компонентов в значительной степени зависят как от уровня влажности биомассы, так и количества этапов кислотно-щелочного гидролиза. У полученных образцов хитин-глюканового комплекса с уменьшением влажности наблюдается заметное увеличение сорбирующей способности.*

*The possibility of recycling of waste microbiological synthesis of citric acid – biomass producing *Aspergillus niger*. Sequential acid-alkaline hydrolysis of biomass *Aspergillus niger* isolated chitin-glucan complex and investigated its sorption capacity. For characteristics and comparative analysis of the sorption of the prepared samples of chitin-glucan complex, the following indicators: the adsorption activity (sorption capacity), the distribution coefficient and surface area. The study showed that the sorption capacity of fungal biomass and its structural components are heavily dependent on the humidity level as biomass and the number of stages of acid-alkaline hydrolysis. We obtained samples of chitin-glucan complex with decreasing humidity there is a noticeable increase in the sorption capacity.*

Ключевые слова: сорбент, хитин-глюкановый комплекс, сорбционная способность.

Введение

Развитие биотехнологической промышленности дает возможность получать хитин-глюкановый комплекс (ХтГК) из отходов микробиологических производств. В этой связи, представляет научный и практический интерес разработка технологии получения хитин-глюканового комплекса из грибного сырья. При этом актуальным является разработка способов получения хитин-глюканового комплекса из отходов микробиологического производства, в которых биомасса грибов является продуцентом органических кислот, ферментов и антибиотиков. Клеточная стенка грибов, в том числе и *Aspergillusniger*, выполняющая множество важных функций, имеет компонент – хитин – природный аминополисахарид, обладающий свойствами нетоксичности, биосовместимости, адсорбционными и плёнкообразующими свойствами, что способствует его полифункциональности [1,5]. Хитин грибов образует трудно разрушаемые комплексы с глюканами и при кислотном-щелочных обработках биомассы грибов выделяется не хитин, а хитин-глюкановый комплекс. Биомасса *Aspergillusniger*, остающаяся при производстве лимонной кислоты представляет большой интерес, в связи с содержанием в ней до 22 % хитин-глюканового комплекса.

Инактивированной грибной биомассе, а также, и продуктам ее обработки, характерна способность активно взаимодействовать с ионами тяжелых металлов и извлекать их из различных сред. Связывание ионов тяжелых металлов такой грибной биомассой может включать процессы, свойственные химическим сорбентам, т.е. ионный обмен, адсорбцию, комплексообразование, осаждение и кристаллизацию. Биомасса грибов выступает как химическая субстанция, как ионообменник биологического происхождения, именно со структурными биополимерами клеточной стенки грибов во многом связывают свойство биосорбции [1]. На сегодняшний день невозможно ни оптимизировать процесс удаления ионов тяжелых металлов, ни управлять им в обычных системах биоочистки сточных вод. Промышленные предприятия сбрасывают свои сточные воды в городскую канализационную систему или в природный водоём после предварительной обработки [2]. В связи с этим особую актуальность приобретает разработка способов получения сорбента из биомассы отработанного продуцента лимонной кислоты, для решения проблем, связанных как с хитиновым сырьём, так и с очисткой природных и сточных вод от тяжелых металлов.

Решение вопроса целевого использования отхода микробиологического синтеза лимонной кислоты – биомассы продуцента *Aspergillusniger*, является весьма актуальным в связи с необходимостью рационального использования возобновляемых природных ресурсов с экономической и экологической точки зрения.

Объекты и методы исследований

Хитин-глюкановый комплекс выделяли из отхода микробиологического синтеза лимонной кислоты – биомассы *Aspergillusniger* в результате последовательного трёх- и четырёхступенчатого кислотного-щелочного гидролиза. На первой щелочной стадии биомассу продуцента лимонной кислоты обрабатывали 6 % раствором NaOH в течение 3 часов при температуре 90 – 95 °С. Вторая стадия состояла в обработке полученного после первой стадии полупродукта 3 % раствором соляной кислоты при температуре 50 – 60 °С в течение 1 часа. Третья стадия заключалась в обработке полученного на второй стадии полупродукта 6 % раствором перекиси водорода. Четвёртая стадия заключалась в обработке полученного на третьей стадии полупродукта 5 % раствором NaOH в течение 1 часа при температуре 75 – 85 °С. После каждой стадии обработки образцы промывались дистиллированной водой до pH=7. Полученные образцы гомогенизировались (HomogenizertypeMPM-302, Польша) и высушивались тонким слоем. Сушка продукта осуществлялась при температуре 20 – 30 °С [3, 4].

Влажность полученных образцов хитин-глюканового комплекса определялась в двух параллельных навесках после высушивания при температуре 130 °С в течение 40 минут и последующего охлаждения в эксикаторе в течение 20 минут. Влажность продукта в процентах вычисляли по формуле:

$$X = 100 \frac{m_1 - m_2}{m_1},$$

где, m_1 – масса навески до высушивания, г; m_2 – масса навески после высушивания, г.

Полученные образцы хитин-глюканового комплекса анализировались на предмет адсорбционной активности по метиловому оранжевому [6]. Для построения градуировочного графика (рис. 1) измеряли оптическую плотность (400 нм)растворов сравнения, приготовленных из рабочего раствора индикатора массовой концентрации 150 мг/л (таблица 1).

Для проведения анализа готовили раствор индикатора массовой концентрации 1500 мг/л. Навеску полученного образца ХтГК массой 0,9-0,11 г помещали в коническую колбу и прибавляли 25 мл раствора индикатора. После взбалтывания в течение 20 мин. суспензию переносили в пробирки и центрифугировали 15 мин (2700 об/мин). Отбирали 1 мл осветлённого раствора и переносили в мерную колбу на 100 мл. Раствор в колбе разбавляли дистиллированной водой до метки и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при 400 нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм.

Таблиця 1 – Приготовление растворов сравнения метилового оранжевого

Раствор индикатора 150 мг/л, мл	Дист. вода, мл	Массовая концентрация индикатора, мг/л в 1 л	Оптическая плотность
0,5	99,5	0,75	0,054
1,0	99,0	1,50	0,157
2,0	98,0	3,00	0,200
3,0	97,0	4,50	0,284
4,0	96,0	6,00	0,350
5,0	95,0	7,50	0,396
6,0	94,0	9,00	0,468
7,0	93,0	10,50	0,504
8,0	92,0	12,00	0,588
9,0	91,0	13,50	0,596

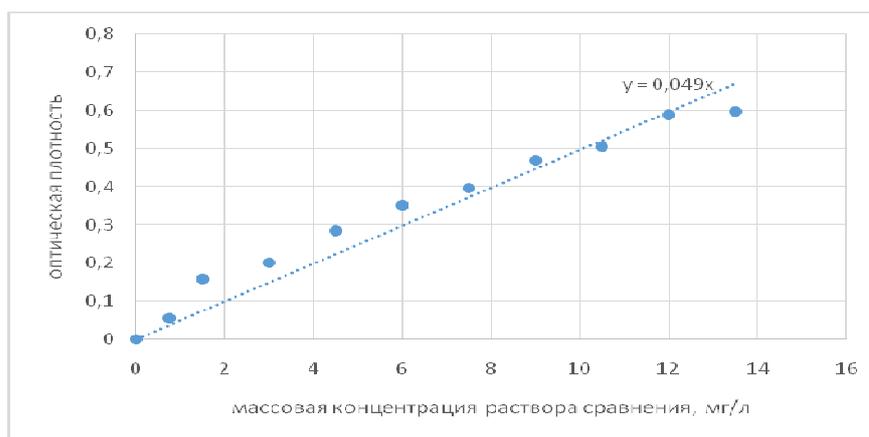


Рис. 1 – Зависимость оптической плотности от массовой концентрации раствора сравнения метилового оранжевого

Для характеристики и сравнительного анализа сорбционной способности полученных образцов ХтГК использовали следующие показатели: адсорбционную активность (сорбционная ёмкость), коэффициент распределения и удельную поверхность.

Сорбционную ёмкость (СЕ) полученного сырого образца ХтГК по индикатору в мг на 1 г продукта вычисляли по формуле:

$$CE = (C_1 - C_2K)0,025/m,$$

где C_1 – массовая концентрация исходного раствора индикатора, мг/л; C_2 – массовая концентрация раствора индикатора после сорбции, мг/л; K – коэффициент разбавления – 100; 0,025 – объём раствора индикатора, взятого для осветления, л; m – масса навески сорбента, г.

Коэффициент распределения – K_d (мл/г) в системе сорбент-сорбат рассчитывали по формуле:

$$K_d = CE / C_{\text{кон}},$$

где СЕ – сорбционная ёмкость (мг/г); $C_{\text{кон}}$ – конечная концентрация индикатора в растворе (мг/л).

Удельная поверхность – $S_{\text{уд}}$ ($\text{м}^2/\text{г}$) образцов определялась по количеству адсорбированного ХтГК метилового оранжевого. Удельную поверхность образцов рассчитывали по формуле:

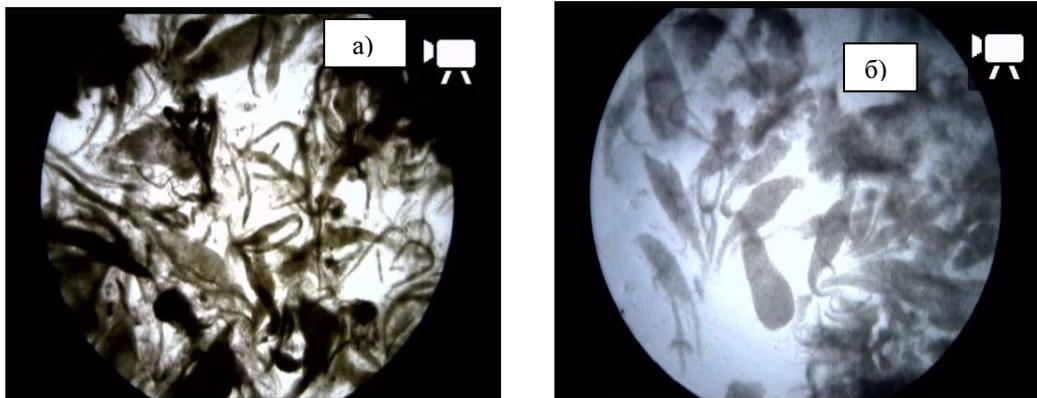
$$S_{\text{уд}} = A \cdot S \cdot N_a,$$

где A – количество сорбированного индикатора (мг/г); $S = 0,57 \cdot 10^{-18}$ (площадь, занимаемая одной молекулой индикатора в монослое при мономолекулярном заполнении сорбента, м^2); N_a – число Авогадро.

Результаты исследований

Выявлено, что сорбционная ёмкость хитин-глюканового комплекса, выделенного (трёхступенчатая схема) из биомассы *Aspergillusniger* – отхода производства лимонной кислоты, высушенного до влажности 30 % выше на 32 % сорбционной ёмкости сырого образца (влажность 80 %). Адсорбционная активность полученного образца ХтГК, выделенного по четырёхступенчатой схеме, высушенного до влажности 30 % на 22,64 % выше таковой сырого образца. При более значительном уровне удаления влаги температурный фактор играет весьма существенную роль в увеличении сорбционной способности. Сравнение сорбционной ёмкости одинаковых по влажности образцов ХтГК, полученных варьированием стадий кислотного-щелочного гидролиза (трёх- и четырёхступенчатыми схемами) показывает, что адсорбционная

активность образцов (влажность 30 %) увеличивается на 28,30 % в результате четырёхступенчатой обработки (таблица 2). Четырёхступенчатая схема выделения хитин-глюканового комплекса способствует практически его полному отбеливанию (рис. 2).



а) – трёхступенчатая обработка, б) – четырёхступенчатая обработка

Рис. 2 – Хитин-глюкановый комплекс (микроскопия при использовании объектива х40), выделенный путём кислотно-щелочного гидролиза

Сравнительный анализ сорбционной способности по полученным показателям: адсорбционной активности (сорбционная ёмкость), коэффициента распределения и удельной поверхности представлен в таблицах 2 – 4.

Таблица 2 – Сорбционная ёмкость (мг/г) по отношению к метиловому оранжевому

Трёхступенчатая обработка		Четырёхступенчатая обработка	
Влажность 80 %	Влажность 30 %	Влажность 80 %	Влажность 30 %
50,00	66,00	69,05	84,68

Таблица 3 – Коэффициент распределения (мл/г) по отношению к метиловому оранжевому

Трёхступенчатая обработка		Четырёхступенчатая обработка	
Влажность 80 %	Влажность 30 %	Влажность 80 %	Влажность 30 %
0,040	0,050	0,056	0,073

Таблица 4 – Удельная поверхность (м²/г) по отношению к метиловому оранжевому

Трёхступенчатая обработка		Четырёхступенчатая обработка	
Влажность 80 %	Влажность 30 %	Влажность 80 %	Влажность 30 %
171,57*10 ⁵	226,47*10 ⁵	236,94*10 ⁵	290,57*10 ⁵

Выводы

Исследование показало, что сорбционная способность хитин-глюканового комплекса в значительной степени зависит как от уровня влажности биомассы, так и количества этапов кислотно-щелочного гидролиза. У полученных образцов хитин-глюканового комплекса, высушенных при +20 – +30 °С, с уменьшением влажности наблюдается заметное увеличение сорбирующей способности. Четырёхступенчатая схема выделения хитин-глюканового комплекса способствует полному его отбеливанию и значительно увеличению его адсорбционной активности.

Литература

1. Щербин А.А. Антацидные и сорбционные свойства грибного порошка из вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) // Вопросы питания. – 1999. – Т. 68, – № 5–6. – С. 23–25.
2. Форстер, К.Ф. Экологическая биотехнология / К.Ф. Форстер. – Ленинград: Химия, 1990. – 384 с.
3. Котляр, М.Н. Методы выделения и модификации хитин-глюканового комплекса из биомассы *Aspergillus niger*: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 03.00.23 / М.Н. Котляр; Казанский госуд. техн. ун-т. – Казань, 2001. – 23 с.

4. Кречетов, А.А. Физико-химические свойства хитин-глюкановых комплексов из биомассы грибов *Aspergillus niger*: автореф. дис. ...канд. х. наук: 02.00.04 / А.А. Кречетов; Марийский госуд. ун-т. – Йошкар-Ола, 2002. – 17 с.
5. Baldrian, P. Interactions of heavy metals with white-rot fungi // *Enzyme and Microbial technology* – 2003. – Vol. 32. – P. 78–91.
6. Уголь активный осветляющий древесный порошкообразный: ГОСТ 4453-74. – Введ. 01.01.76. – Москва: Издательство стандартов, 1976. – 19 с.

УДК 661.746.56

ОПТИМИЗАЦИЯ КОМПОЗИЦИОННОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОДУЦЕНТА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ – *ASPERGILLUS NIGER*

Павлова О.В., аспирант, Троцкая Т.П., д-р техн. наук, профессор
РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по продовольствию», г. Минск, Республика Беларусь

*Изучено влияние концентрации компонентов питательной среды на рост культуры продуцента лимонной кислоты – *Aspergillus niger*. Проведен полный многофакторный эксперимент по оптимизации состава питательной среды для получения посевного материала при глубинном культивировании *Aspergillus niger*.*

*The influence of the concentration of the components of the nutrient medium on the growth of the culture producing citric acid - *Aspergillus niger*. A complete multivariate experiment on optimizing the composition of the nutrient medium for seed cultivation in submerged *Aspergillus niger*.*

Ключевые слова: лимонная кислота, продуцент, глубинное культивирование.

Введение

Важнейшие тенденции развития промышленности сегодня – это снижение себестоимости, увеличение ассортимента и повышение качества выпускаемой продукции. В связи с этим возникает необходимость разработки и внедрения способов, направленных на оптимизацию основных технологических стадий и улучшение качества сырья без значительных затрат материальных и топливно-энергетических ресурсов.

Создание биотехнологического производства представляет собой сложную многоступенчатую задачу, предполагающую выполнение нескольких этапов: составление технологической цепочки процесса; определение параметров процесса наработки культуры; режима выделения и концентрирования продукта. Некоторые из этих стадий сами по себе представляют комплекс задач, требующих решения. Так, например, процесс культивирования включает в себя выбор источников питания, подбор количества посевного материала, подбор оптимальных условий роста (значения температуры, pH среды, режим аэрации и т.д.). Конечная стоимость продукта будет складываться из суммы всех затрат на каждую стадию процесса, а также расходов на электроэнергию, пар, воду, воздух для аэрации культуры. Для снижения себестоимости готового продукта решение каждого этапа по планированию производства должно проводиться с учетом экономической целесообразности. Немаловажным аспектом в решении такого рода задач является нахождение оптимальной питательной среды и определение степени влияния ее компонентов на параметры роста микроорганизмов.

Объекты и методы исследований

Изучалась способность производственного штамма *Aspergillus niger* Б-1 – продуцента лимонной кислоты использовать различные по концентрации компоненты питательной среды, приготовленной на основе свекловичной мелассы. Определение особенностей роста продуцента лимонной кислоты проводилось путём глубинного культивирования исследуемого штамма. Для исследования использовали препарат сухих конидий, выпускаемых на ООО «Цитробел» г. Белгород, из которого получали суспензию (30 мг препарата конидий/10 мл стерильной воды).

С целью изучения влияния концентрации компонентов питательной среды на рост культуры продуцента лимонной кислоты проведен полный многофакторный эксперимент по оптимизации состава питательной среды для глубинного культивирования *Aspergillus niger*. Культивирование продуцента осуще-