

8. Тимошко, М. А. Микрофлора пищеварительного тракта молодняка сельскохозяйственных животных / М. А. Тимошко. – Кишнев: ШТИНЦА, 1990. – 163 с.
9. Фролова, И. В. Откормочные и мясные качества свиней различных межпородных сочетаний / И. В. Фролова, В. А. Дунина, Е. Т. Джунельбаев // Матер, межд. науч. практич. Семинара. – Быково, Московская обл., 2005. – Вып. 11. – С. 91-93.

УДК 664.1

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ БИОМАССЫ *ASPERGILLUS NIGER*

Т. П. Троцкая, Е. Т. Клишанец

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию»,
г. Минск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 12.06.2015 г.)

Аннотация. Наиболее актуальной проблемой в современном мире является проблема здорового образа жизни и профилактики заболеваний. На сегодняшний день существуют сорбенты, проводящие комплексную очистку всего организма. В последнее время всё большее распространение получает сорбент природного происхождения – хитин, выделенный из биомассы гриба *Aspergillus niger*, отхода производства лимонной кислоты. Процесс выделения чистого хитина из биомассы крайне сложный и дорогой, поэтому выделяют не хитин, а хитин-гликозидный комплекс, состоящий из полисахаридов хитина и гликана. Целью наших научных исследований является выявление особенностей состава, физико-химических свойств хитин-гликозидного комплекса, полученного из продуцента лимонной кислоты *Aspergillus niger*, и научное обоснование возможностей и способов его использования в качестве биосорбента для лечебно-профилактического питания. Для достижения поставленной цели, прежде всего, необходимо провести оценку физико-химических, токсикологических показателей качества биомассы *Aspergillus niger*, отхода производства лимонной кислоты на ОАО «Скидельский сахарный комбинат».

Summary. The most urgent problem in the world today is the issue of healthy lifestyles and disease prevention. Today there are sorbents conducting a comprehensive cleaning of the whole organism. Recently, more and more widespread natural absorber – chitin, isolated from biomass of fungus *Aspergillus niger*, waste production of citric acid. The process of isolation of pure chitin biomass is very complicated and expensive, so do not secrete chitin and chitin-glycan complex, composed of polysaccharides chitin and glucan. The purpose of our research is to identify the characteristics of the composition, physico-chemical properties of chitin-glycan complex obtained from citric acid producer *Aspergillus niger*, and a scientific substantiation of opportunities and ways to use it as biosorbent for preventive nutrition. To achieve this goal, it is first necessary to assess the physico-chemical, toxicological indicators of quality biomass *Aspergillus niger*, waste production of citric acid on the JSC «Skidel Sugar Factory».

Введение. В последние годы особое внимание уделяется пищевому волокну хитину и его производным. Хитин – природное соединение из группы азотсодержащих полисахаридов. Основными источниками хитина являются насекомые, ракообразные, грибы, бактерии, дрожжи и диатомовые водоросли. Известно, что чистый хитин выделить достаточно сложно и затратно. В хитинсодержащем сырье он прочно связан с белковой и минеральной составляющей, поэтому все методы его получения основаны на последовательном отделении белковой и минеральной фракции, переводе их в растворимое состояние с последующим удалением растворов [1].

Одним из способов получения хитина и хитозана является химическая обработка хитинсодержащего сырья. Общая схема получения хитина таким способом заключается в измельчении хитинсодержащего сырья, дальнейшем его депротеинировании, промывке и деминерализации для получения хитина, а также деацетилирование для получения хитозана. Деминерализация обычно осуществляется соляной, муравьиной, азотной или сернистой кислотами, депротеинирование – щелочами, например, гидроксидом натрия. Порядок проведения деминерализации и депротеинирования оказывает большое влияние на качество получаемого хитина и его модификаций.

В зависимости от требований к конечному продукту выбирают различные способы обработки химическими реагентами.

Химическая технология требует также повышенных мер предосторожности при хранении и работе с концентрированными кислотами и щелочами. Выделившийся при этом белок подвергается чрезмерному гидролизу, расщеплению аминокислот, что приводит к образованию токсичных веществ и ограничивает его применение для пищевых и кормовых целей [2].

Альтернативным способом является электрохимический метод, который основан на обработке сырья в водных растворах электролитов под действием постоянного электрического тока.

На протяжении XX-го столетия проведено множество фундаментальных исследований хитина и хитозана. Нынешние и потенциальные сферы применения хитина и его производных в таких областях, как биомедицина, пищевая промышленность, фармакология, микробиология, сельское хозяйство и косметика чрезвычайно широки.

Хитозан применяется в качестве пищевых добавок. В то время как японцы уже давно потребляют хитин и хитозан с продуктами питания, в Европе и Америке применение этих средств получает все большее распространение в последнее время. Требования к свойствам

хитина и хитозана определяются областями их практического использования, которые весьма разнообразны.

По химической структуре хитин близок к целлюлозе. Как и молекулы целлюлозы, молекулы хитина обладают большой жёсткостью и склонностью к образованию надмолекулярных структур (так называемые фибриллярные структуры). В фибриллярных структурах молекулы хитина, скреплённые водородными связями, располагаясь почти параллельными пучками, образуют структуры регулярные в 3-х измерениях, что характерно для кристаллов. Известны несколько типов таких кристаллических образований (α -, β -, γ -хитины), которые различаются степенью упорядоченности и взаимной ориентацией полимерных молекул (полиморфизм) [1].

Одним из важнейших свойств полимеров, определяющих во многих случаях возможность их переработки и применения, является их растворимость. Хитин нерастворим в воде, растворах органических кислот, щелочах, спиртах и других органических растворителях. Он растворим в концентрированных растворах соляной, серной и муравьиной кислот, а также в некоторых солевых растворах при нагревании, но при растворении он заметно деполимеризуется. В смеси диметилацетамида, N-метил-2-пирролидона и хлористого лития хитин растворяется без разрушения полимерной структуры. Низкая растворимость затрудняет переработку и применение хитина [1].

Получаемый из хитина хитозан растворяется в растворах как органических, так и неорганических кислот (кроме серной). В отличие от практически нерастворимого хитина, хитозан, растворимый даже в растворах органических кислот, имеет более широкие возможности для применения в пищевой промышленности, медицине, сельском хозяйстве и других отраслях [1].

Также важными свойствами хитозана являются гигроскопичность, сорбционные свойства, способность к набуханию. Из-за того, что в молекуле хитозана содержится много гидроксильных, аминных и других крайних групп, её гигроскопичность очень велика (2-5 молекул на одно мономерное звено, которое находится в аморфных областях полимеров). По этому показателю хитозан уступает только глицерину и превосходит полиэтиленгликоль и каллериоль (высокополимерный спирт из груши). Хитозан хорошо набухает и прочно удерживает в своей структуре растворитель, а также растворенные и взвешенные в нем вещества. Поэтому в растворенном виде хитозан обладает намного большими сорбционными свойствами, чем в нерастворенном [1].

Хитозан может подвергаться биологическому разложению под воздействием хитиназы и лизоцима. Хитиназы – это ферменты, ката-

лицирующие разложения хитина. Вырабатываются в организмах животных, содержащих хитин. Лизоцим вырабатывается в организме животных и человека. Лизоцим – фермент, разрушающий стенку бактериальной клетки, в результате чего происходит её растворение. Создаёт антибактериальный барьер в местах контакта с внешней средой. Содержится в слюне, слезах, слизистой оболочке носа. Полностью разлагающиеся под действием природных микроорганизмов изделия из хитозана не загрязняют окружающую среду [1].

По внешнему виду хитозан представляет собой чешуйки размером менее 10 мм или порошки различной тонины помола, от белого до кремового цвета, часто с желтоватым, сероватым или розоватым оттенком, без запаха. Другими свойствами сухого хитозана являются электризуемость и вязущий вкус. По токсичности хитозан относится к 4-му классу и считается безопасным [1].

Хитозан показал себя как эффективный радиопротектор, сорбент токсинов и тяжелых металлов в организме, элемент лечебно-профилактического питания, средство защиты растений, иммуномодулятор в ветеринарии, а также в других областях. На сегодняшний день известно более 70 направлений применения хитозана [1].

Японские специалисты назвали хитозан веществом XXI века. По их мнению, уже через два-три десятилетия промышленная цивилизация будет немислима без него точно также, как без алюминия, полиэтилена или персонального компьютера.

Хитин является опорным компонентом клеточной ткани большинства грибов и некоторых водорослей; наружной оболочки членистоногих (кутикула у насекомых, панцирь у ракообразных) и червей, некоторых органов моллюсков. В организмах насекомых и ракообразных, клетках грибов и диатомовых водорослей хитин в комплексе с минеральными веществами, белками и меланинами образует внешний скелет и внутренние опорные структуры.

Клеточная стенка гриба *Aspergillus niger*, отхода производства лимонной кислоты, содержит 20-25% хитина. Выделение хитин-глюканового комплекса из этого вида сырья не требует затрат на его добычу и одновременно достигается утилизация отходов биомассы.

Цель работы: провести оценку физико-химических, токсикологических показателей качества биомассы *Aspergillus niger*, отхода производства лимонной кислоты на ОАО «Скидельский сахарный комбинат».

Исследование качества биомассы *Aspergillus niger* мы проводили для решения поставленной задачи – подбора оптимальных условий при выделении из биомассы хитин-глюканового комплекса и даль-

нейшего использования его в качестве сорбента пищевой промышленности.

Материал и методика исследований. Объектом исследования служил отход производства лимонной кислоты, биомасса *Aspergillus niger*.

При проведении физико-химического анализа были использованы следующие ТНПА: определение влажности – ГОСТ 13496.3–92 п. 2, определение золы – ГОСТ 26226–95 п.2, определение содержания протеина – ГОСТ 13496.4–93 п.2, определение содержания жира – ГОСТ 13496.15–97 п.5, определение содержания клетчатки – ГОСТ 13496.2–91, определение содержания кальция – ГОСТ 26570–95 п.2, определение содержания фосфора – ГОСТ 26657–97 п.4.

Метод определения хлорорганических пестицидов №10-25-5/1149 от 12.12.2007 г., определения солей тяжёлых металлов – ГОСТ 30823-2002 г., нитраты – ГОСТ 13496.19-93, метод определения нитритов № 10-25-5/1146 от 17.12.2007 г.

Результаты исследований и их обсуждение. ОАО «Скидельский сахарный комбинат» – единственное в Республике Беларусь предприятие по выпуску лимонной кислоты. Комбинат обеспечивает стопроцентное удовлетворение спроса внутренних потребителей, а часть продукции поставляет на экспорт.

Сырьём для производства лимонной кислоты служит свекловичная меласса (отход свеклосахарного производства), которую подвергают микробиологическому синтезу (ферментации) с использованием нетоксикогенных штаммов гриба *Aspergillus niger*, специально селекционированных для получения высоких выходов продукта.

Материал посевной (конидии плесневого гриба *Aspergillus niger*) выпускается ОАО «Белгородский завод лимонной кислоты» в соответствии с ОСТ 10311-2002.

Штаммы для производства лимонной кислоты должны отвечать следующим основным требованиям:

- давать возможно больший выход лимонной кислоты к массе введенного в производство сахара и быстро его ферментировать;
- быть генетически однородными;
- обладать устойчивостью к внешним воздействиям.

Aspergillus niger относится к классу сумчатых грибов (*Ascomycetes*), семейству аспергилловых (*Aspergillaceae*), роду *Aspergillus*, который в настоящее время насчитывает около 120 видов. Тело гриба состоит из бесцветных, сильно разветвлённых и переплетённых между собой тонких нитей – гиф, образующих мицелий (грибницу). Гифы

септированы – разделены поперечными перегородками (септами) на клетки. Диаметр гиф 3-6 мкм [3].

Химический состав пищи должен соответствовать химическому составу организма, поэтому представление о потребности в тех или иных веществах может дать анализ состава мицелия.

Состав сухих веществ мицелия изменяется с изменением его возраста. В начале ферментации (в пересчёте на безводный) мицелий содержит 5,5-5,9% азота, в конце – 3,8-4,4%, белкового азота 1,1-1,3 и 3,0-3,5%. Содержание минеральных веществ (золы) в молодом мицелии около 10%, во взрослом 3,5-6,0% [3].

Таким образом, во взрослом мицелии на азотистые соединения приходится 24-28% и на минеральные вещества около 15%. Остальное количество сухих веществ состоит в основном из углеводов (полисахаридов – хитина, целлюлозы, гемицеллюлоз и небольшого количества сахаров) – 38-46%, органических кислот, многоатомных спиртов около 27%, частично липидов – 2,5%.

Из минеральных веществ найдены: CaO 0,3-1,0%, K₂O 0,8-1,1%, P₂O₅ 0,2-0,5%, Zn 0,05-0,1%; микроэлементы Mg 140-510 мкг/г, Fe 21-44 мкг/г, Cu 7-20 мкг/г, Al 20-30 мкг/г, Co 1,0-1,5 мкг/г [3].

Полисахариды входят в состав клеточных стенок гриба, представляющих собой волокнистые структуры, образованные сплетением микрофибрилл хитина и целлюлозы. Хитин значительно прочнее целлюлозы и является её производным: одна из гидроксильных групп глюкозных остатков целлюлозы замещена ацетамидной группой –NHCOCH₃.

Из азота синтезируются белок, свободные аминокислоты. Он входит в состав пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеиновых кислот, ферментов, витаминов и хитина.

По литературным данным, белок *Aspergillus niger* имеет следующий аминокислотный состав: аланин – 1,2%, аргинин – 0,3-3,1%, аспарагиновая кислота 2,5%, валин 1,4-3,2%, гистидин 0,17%, глутаминовая кислота 4,5%, глицин 0,8%, изолейцин 0,9-1,3%, лейцин 1,5-5,1%, лизин 1,2-5,4%, метионин 0,7-1,9%, пролин 0,85%, серин 1,1%, треонин 1,0-2,9%, триптофан 1,1%, фенилаланин 3,2-3,8% [2].

Мицелий ценен содержанием сырого протеина, в котором присутствуют все незаменимые для организма аминокислоты. Переваримость белка примерно 50%. Вместе с полноценным белком в нём содержатся углеводы, жир, минеральные вещества, микроэлементы и витамины (тиамин 150 мкг/г, рибофлавин 70-85 мкг/г, пантотеновая кислота 244-727 мкг/г, никотинамид 120-840 мкг/г, фолиевая кислота 210 мкг/г, цианкобаламин 178 мкг/г).

Относительное высокое содержание, особенно в поверхностном мицелии, эргостерола, который после УФ-облучения превращается в витамин D₂, представляет интерес как для повышения его биологической ценности, так и для извлечения в виде самостоятельного продукта.

Мицелий, образуемый при производстве лимонной кислоты, содержит значительные количества органических и минеральных веществ, что позволяет применять его для корма животных.

Удельный выход мицелия на 1 т лимонной кислоты при поверхностном способе брожения составляет 160 кг, при глубинном – 230 кг. Он содержит в значительных количествах ферменты инвертазу, амилазу, пектиназу, протеазу, инулазу, цитазу, танназу, глюкозооксидазу.

Использовать сырым можно только мицелий поверхностной ферментации, т. к. в этом случае свободные цианиды остаются на дне кубов. При глубинной ферментации цианиды частично отфильтровываются вместе с мицелием и для их разложения требуется нагрев при сушке до температуры около 100⁰С. При этом разлагаются вещества, обладающие антибиотическим действием [3].

Физико-химические показатели качества биомассы *Aspergillus niger* представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Физико-химические показатели качества отхода производства лимонной кислоты

Показатель	Общая влажность	Сухое вещество	Сырая зола	Сырой протеин	Сырой жир	Сырая клетчатка	Кальций	Фосфор
Значение, г/кг	854,7	145,3	22,5	27,6	1,8	30,2	3,7	0,1
Значение, % СВ	85,5	14,5	15,5	19,0	1,23	20,8	2,6	0,08

Фактическое значение токсикологических показателей качества представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Токсикологические показатели качества отхода производства лимонной кислоты (по фактическому содержанию)

Показатель	Значение, мг/кг
1	2
Пестициды:	
ГХЦП	
– α	менее 0,001
– β	менее 0,001
– γ	менее 0,001
ДДТ и его метаболиты	менее 0,001
Альдрин	менее 0,001
Гептахлор	менее 0,001
Дильдрин	менее 0,001
Гексахлорбензол	менее 0,001

Соли тяжёлых металлов:	
- свинец	0,03
- кадмий	менее 0,01

Продолжение таблицы 2

1	2
– мышьяк	0,039
– ртуть	менее 0,01
– медь	0,32
– железо	83,04
– кобальт	0,09
– марганец	17,27
– цинк	13,92
Нитраты	113,0
Нитриты	менее 0,5

Сверхсинтез лимонной кислоты происходит при лимитировании роста грибов-продуцентов (*Aspergillus niger*) минеральными компонентами среды и избытке углерода. Заводы по производству лимонной кислоты, в частности «Скидельский сахарный комбинат», используют свекловичную мелассу как дешёвый и легкодоступный источник углерода. Для ферментации мелассу подвергают соответствующим обработкам, в частности $K_3[Fe(CN)_6]$. Это приводит к загрязнению биомассы *Aspergillus niger* различными веществами, присутствующими в виде комплексов с металлами. Поэтому способ выделения из неё хитин-глюканового комплекса должен учитывать специфические особенности выращивания мицелия в условиях заводов.

Закключение. Анализируя физико-химические показатели биомассы *Aspergillus niger* можно сделать вывод, что она содержит 20% протеина и 20% клетчатки (в пересчёте на СВ), а также является источником кальция и фосфора. Количество солей тяжёлых металлов, а также нитратов значительно ниже верхних пороговых концентраций для организма человека. Анализ литературных источников и полученные результаты дают возможность разработать методику по выделению хитин-глюканового комплекса с учётом специфики производства лимонной кислоты и модификации данного комплекса для использования в качестве сорбента пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скрыбин, К. Г. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / К. Г. Скрыбин, Г. А. Вихорева, В. П. Варламов; под ред. К. Г. Скрыбина. - М.: Наука, 2002. – 368 с.
2. Маслова, Г. В. Теория и практика получения хитина электрохимическим способом / К. Г. Скрыбин, Г. А. Вихорева, В. П. Варламов; под ред. К. Г. Скрыбина // Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / Под ред. К. Г. Скрыбина. - М.: Наука, 2002. С. 24-43.
3. Смирнов, В. А. Пищевые кислоты (лимонная, молочная, винная) / В. А. Смирнов; под ред. А. И. Ковалевской. – Москва: Лёгкая и пищевая промышленность, 1983. – 265 с.