

## АСПИРАЦИОННАЯ ПЫЛЬ ЗЕРНОПЕРЕРАБАТЫВАЮЩИХ ПРЕДПРИЯТИЙ КАК ИСТОЧНИК ЛЕГКОУСВАИВАЕМЫХ УГЛЕВОДОВ ДЛЯ ФЕРМЕНТАЦИИ ДРОЖЖЕЙ

**В статье отражена возможность ферментации дрожжей на основе сред полученных гидролизным способом, с помощью растворов серной кислоты различной концентрации. Установлены закономерности гидролиза полисахаридов всех видов аспирационной пыли зерноперерабатывающих предприятий.**

Предприятия зерноперерабатывающей промышленности при переработке 300 тонн зерна в течение суток, выделяют около 20 тонн аспирационных отходов, загрязняющих окружающую среду и нуждающихся в утилизации. Один из методов переработки данного вида отходов – это синтез биомассы.

Проблема обеспечения белками населения решается давно, еще во время первой мировой войны в Германии стали применять дрожжи в качестве белковой добавки в корма животным. Дрожжи выращивали на гидролизатах из отходов древесины и другого целлюлозосодержащего растительного сырья [1].

Многие исследователи [2], [3], [4] пытались получить белковую массу с помощью процессов гидролиза различных субстратов. Это было возможно благодаря тому, что субстраты содержали полисахариды, при гидролизе которых образуются легкоусваиваемые дрожжами углеводы.

Нами проведено исследование процессов гидролиза легкогидролизуемых и трудногидролизуемых углеводов, входящих в вещественный состав белой, серой и черной аспирационной пыли. Гидролиз суспензии на основе аспирационной пыли проводили в присутствии серной кислоты с интервалом концентраций от 1,0 до 8,0%, при температуре  $100,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ . Предлагаемая нами методика гидролиза суспензий из аспирационной пыли заключается в следующем. Брали 20,0 г пыли, перемешивали с 200 мл серной кислоты, в результате пыль полностью набухла и переходила в суспензию. Суспензию переливали в трехгорловую колбу, в которой поддерживалась температура, равная  $100,0^\circ\text{C}$ . Продолжительность процесса составляла три часа, что не противоречило известным исследованиям процессов гидролиза полисахаридов растительных объектов [4], [5], [6]. В колбу помещалась мешалка, обратный холодильник и пробиротборник гидролизата. Отбор проб осуществляли через каждые 10-20 минут, полученные пробы направляли на анализ редуцирующих веществ по

методике ГОСТа 5903-77. Анализы выполняли в трех повторностях, при доверительной вероятности 0,95 ошибка эксперимента составила до 10%. Предлагаемая методика эксперимента позволила отследить кинетику и динамическое равновесие процесса разрыва гликозидных связей, полисахаридов и деструкции редуцирующих веществ.

Аспирационные пыли представляют собой совокупность остатков растительного происхождения, содержащих полисахариды и прочие органические вещества, легко гидролизуемые кислотой. Применение процесса кислотного гидролиза для получения редуцирующих веществ считается наиболее экономически выгодным, по сравнению с процессами, катализируемыми ферментными препаратами.

Результаты химического анализа аспирационной пыли позволили разделить ее на белую, серую и черную [7] и показать возможность использования биополимеров в кислотном гидролизе и получения редуцирующих веществ (таблица 1). Полисахариды, входящие в состав растительных объектов, классифицируются на трудно- и легкогидролизуемые углеводы [2]. В первую группу входят вещества клетчатка аморфной и кристаллической структуры и целлодекстрины, а во вторую – декстрины, крахмал и олигосахариды.

Таблица 1. Химический состав аспирационных отходов

Вещественный состав	Концентрация веществ, %, в различных пылях		
	белая	серая	черная
Зольность	$5,46 \pm 0,07$	$10,23 \pm 0,01$	$23,34 \pm 0,07$
Влажность	$5,46 \pm 0,07$	$6,42 \pm 0,07$	$14,04 \pm 0,07$
Сырой жир	$2,8 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,3$	$0,4 \pm 0,1$
Белок	$7,4 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$
<b>Углеводы:</b>			
– легкогидролизуемые,	$32,0 \pm 0,1$	$15,0 \pm 0,1$	$13,1 \pm 0,1$
– трудногидролизуемые	$40,0 \pm 0,5$	$55,1 \pm 0,5$	$36,1 \pm 0,6$
Редуцирующие вещества	$0,4 \pm 0,1$	$0,10 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,03$
Минеральная примесь	$0,30 \pm 0,01$	$5,00 \pm 0,01$	$6,23 \pm 0,01$

По полученным данным процесса гидролиза углеводов белой, серой, черной аспирационной

пыли были построены зависимости приращения концентрации редуцирующих веществ во времени. На них можно выделить три участка: участок a – b соответствует накоплению РВ в течение времени, и его можно описать с позиции законов химической кинетики. Участок b – c характеризует состояние химического равновесия, когда не происходит приращение редуцирующих веществ во времени. Участок c – d отображает интервал времени, когда редуцирующие вещества окисляются серной кислотой и поэтому их концентрация уменьшается, что можно описать законами кинетики деструкции моно- и дисахаридов. Для выбора оптимальных режимов производства восстанавливающих веществ нас будут интересовать не скорость процессов и константы равновесия, а промежутки времени начала и окончания наблюдаемых явлений. Зная время перехода системы в равновесное состояние, можно будет прекратить процесс гидролиза углеводов путем нейтрализации кислоты, что позволит избежать процессов деструкции восстанавливающих веществ и перерасхода тепла на обогрев реакторов. Поэтому опишем интервалы времени трех процессов, происходящих в результате гидролиза. Гидролиз 1,0% раствором кислоты углеводов белой пыли описывается кривой, где от 0 до  $110 \pm 5$  минут происходит накопление РВ. От 115 до 180 минут система находится в состоянии равновесия, скорость гидролиза в данном промежутке времени остается равной нулю. Из полученных данных видно, что реакцию гидролиза следует прекратить во временном интервале от 115 до 180 минут.

Для 3,0% раствора кислоты область приращения РВ продолжается  $96 \pm 5$  минут, далее наступает равновесное состояние системы, кривая приобретает вид прямой, параллельной оси абсцисс. В результате гидролиза 5,0% раствором серной кислоты период приращения РВ длится  $47 \pm 5$  минут при этом выход редуцирующих веществ на порядок выше по сравнению с гидролизом из 1,0 и 3,0% растворов серной кислоты.

Гидролиз 8,0% раствором серной кислоты характеризуется еще меньшим промежутком времени прироста РВ –  $42 \pm 5$  минут, состояние равновесия в системе наблюдается в интервале времени от 42 до 145 минут. Далее раствор кислоты окисляет редуцирующие вещества до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , а концентрация РВ уменьшается на 4,0%. Анализ графических зависимостей, представленных на рисунках 1, 2, 3, позволяет получить интервалы времени прироста РВ, равновесного состояния системы и процесса деструкции сахаристых ве-

ществ, для суспензий из серой, черной аспирационной пыли. Установлено, что чем выше концентрация кислоты в гидролизуемой суспензии, тем быстрее протекают процессы гидролиза и система выходит в состояние равновесия. Для суспензий из белой пыли период времени приращения РВ сокращается от 105 до 45 минут, что связано с увеличением концентрации кислоты от 1,0 до 8,0%. Для гидролиза можно применять и более концентрированные растворы серной кислоты, но отмечено увеличение скорости реакции окисления редуцирующих веществ, образующихся в результате гидролиза.

Для суспензии серой пыли интервал времени накопления РВ сокращается от 105 до 100 минут, что связано с меньшим содержанием полисахаридов в серой пыли по сравнению с белой пылью.

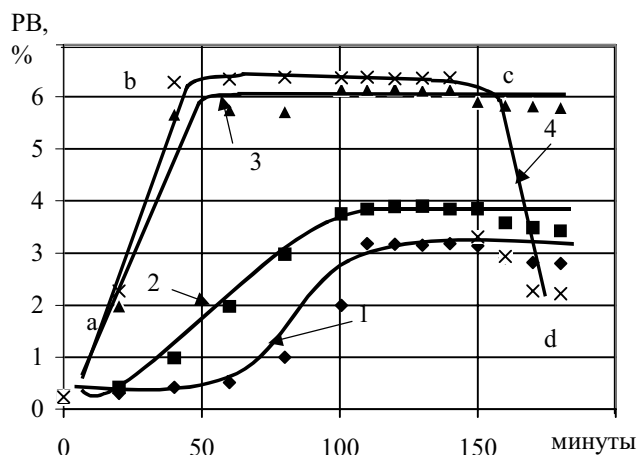


Рисунок 1. Изменение концентрации РВ во времени для суспензий из белой пыли, содержащей различное количество серной кислоты. 1 – 1,0; 2 – 3,0; 3 – 5,0; 4 – 8,0% растворы серной кислоты

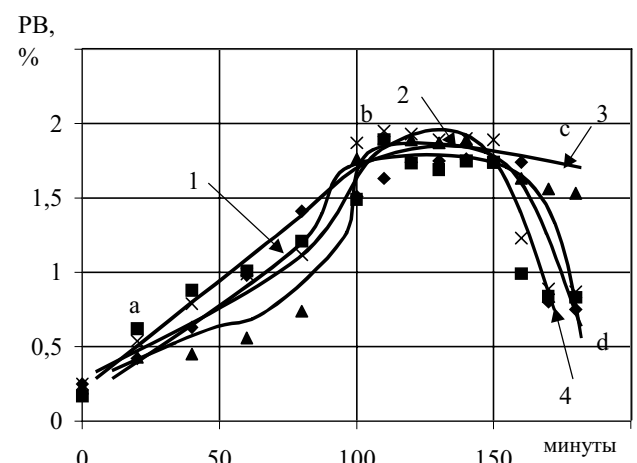


Рисунок 2. Изменение концентрации РВ во времени для суспензий из серой пыли, содержащей различное количество серной кислоты. 1 – 1,0; 2 – 3,0; 3 – 5,0; 4 – 8,0% растворы серной кислоты

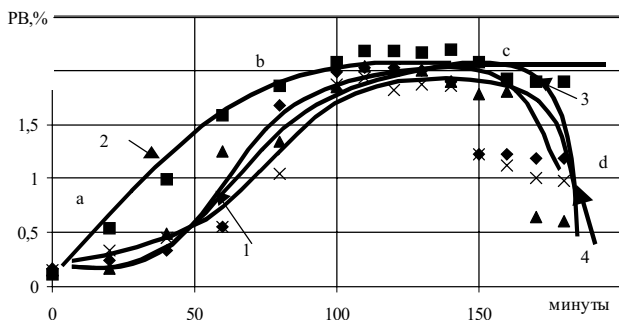


Рисунок 3. Изменение концентрации РВ во времени для системы из черной пыли, содержащей различное количество серной кислоты.  
1 – 1,0; 2 – 3,0; 3 – 5,0; 4 – 8,0% растворы серной кислоты

Форма кинетических кривых гидролиза полисахаридов аспирационных отходов позволяет утверждать [2], что лимитирующей стадией кислотного гидролиза является разрыв гликозидной связи. Электронный механизм реакции отражен на рисунке 4. На первой стадии происходит протонирование гликозидной связи, что отражает роль кислоты в реакциях гидролиза. На второй стадии ковалентная связь ослабевает и разрывается с образованием иона карбония, данная стадия является лимитирующей. На третьей стадии карбоний присоединяет воду и отдает протон в раствор.

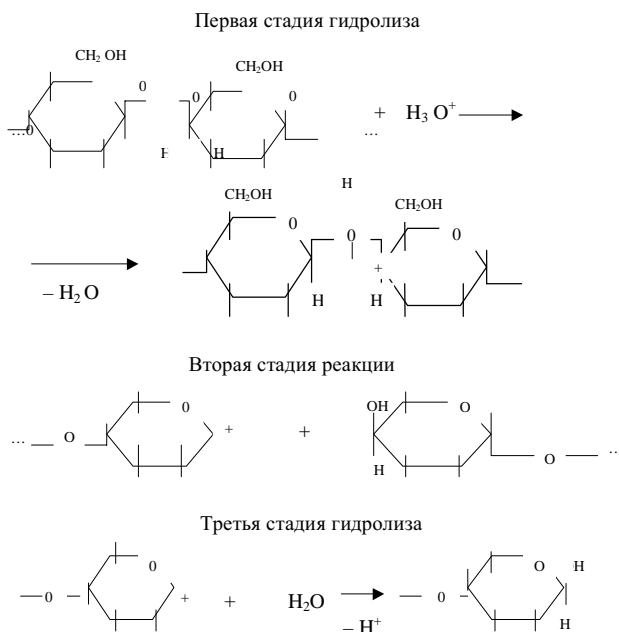


Рисунок 4. Механизм разрыва гликозидной связи

В дальнейшем нас будет интересовать равновесное состояние системы. Константу равновесия реакции кислотного гидролиза можно рассчитать, используя данные таблицы 2, по формуле

$$K = \frac{[PB]^2}{[H_3O^+]}$$

где РВ – равновесная концентрация редуцирующих веществ, моль/л,  
[H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] – концентрация кислоты, моль /л.

Таблица 2. Влияние вида пыли и концентрации кислоты на время перехода системы в состояние равновесия

Виды аспирационной пыли	Концентрация кислоты, %	Равновесная концентрация РВ, %	Интервал времени прироста РВ, минуты	Равновесное состояние, минуты	Интервал времени деструкции РВ, минуты
Белая	1,0	3,1 ± 0,3	0 – 105	115 – 180	Нет деструкции
	3,0	3,3 ± 0,4	0 – 90	98 – 180	Нет деструкции
	5,0	6,1 ± 0,6	0 – 45	50 – 180	Нет деструкции
	8,0	6,3 ± 0,6	0 – 40	145 – 180	147 – 180
Серая	1,0	1,7 ± 0,2	0 – 100	110 – 150	155 – 180
	3,0	1,7 ± 0,2	0 – 105	112 – 152	156 – 180
	5,0	1,9 ± 0,2	0 – 110	115 – 180	Нет деструкции
	8,0	1,9 ± 0,3	0 – 100	105 – 150	153 – 180
Черная	1,0	2,0 ± 0,2	0 – 100	105 – 145	154 – 180
	3,0	2,1 ± 0,2	0 – 80	100 – 180	Нет деструкции
	5,0	2,0 ± 0,2	0 – 88	100 – 150	150 ± 180
	8,0	1,9 ± 0,3	0 – 95	100 – 145	148 – 180

Численные значения константы гидролиза позволяют характеризовать глубину процесса гидролиза (таблица 3). В нашем случае константы больше единицы, то есть реакция протекает глубоко и в прямом направлении. Используя константы равновесия, можно рассчитать теоретический выход редуцирующих веществ (таблица 3). Практический выход редуцирующих веществ зависит также от вида пыли, то есть от количества полисахаридов в ней.

Таблица 3. Влияние концентрации кислоты на выход редуцирующих веществ

Наименование суспензии	Концентрация кислоты, %	Константа гидролиза кислоты, K <sub>гидролиза</sub>	Выход редуцирующих веществ, %
Суспензия из белой аспирационной пыли	0,0	0,1 ± 0,5	0,3
	1,0	7,4 ± 0,5	31,8
	3,0	7,3 ± 0,5	39,0
	5,0	7,4 ± 0,5	61,7
	8,0	7,5 ± 0,5	63,8
Суспензия серой пыли	0,0	0,2 ± 0,5	0,5
	1,0	5,5 ± 0,5	17,4
	3,0	5,4 ± 0,5	18,9
	5,0	5,5 ± 0,5	18,5
	8,0	5,5 ± 0,5	19,3
Суспензия черной аспирационной пыли	0,0	0,1 ± 0,5	0,1
	1,0	4,3 ± 0,5	15,4
	3,0	4,0 ± 0,5	21,8
	5,0	4,4 ± 0,5	29,3
	8,0	4,2 ± 0,5	31,7

Полученные гидролизаты после разбавления, до уровня содержания в них редуцирующих веществ

2,0%, можно использовать для культивирования дрожжей родов *Candida*, *Torilopsis*, *Saccharomyces*. Для культивирования нами использовались дрожжи рода *Saccharomyces cerevisiae*, штамм ЛК – 14 отличающийся высокой продуктивностью в неблагоприятных условиях. Ферментация дрожжевой массы осуществлялась в лабораторном ферментаторе типа Marubishi ML – 100 емкостью 1,0 литр. Температура ферментации поддерживалась на уровне  $29 \pm 1 \text{ C}^0$ , значения pH поддерживалось в интервале  $4,5 \pm 0,2$ . Концентрацию дрожжей в логарифмической фазе роста определяли нефелометрическим методом с ошибкой эксперимента, равной 10%, и при доверительной вероятности 0,95.

Ферментация осуществлялась на средах, полученных на основе гидролизатов, которые синтезированы из различных видов пыли с применением растворов кислот, концентрацией от 1,0 до 5,0%. Более концентрированные растворы кислот не применялись из-за того, что избыток сульфат ионов ингибирует рост дрожжевых клеток. Результаты приращения концентрации дрожжевой массы во времени в процессе ферментации представлены на рисунках 5, 6, 7. На графиках (рисунки 5, 6, 7) можно выделить участки: участок а – b соответствует фазе роста дрожжевой биомассы и участок b – с характеризует стационарное состояние системы, когда происходит замедление темпа суммарного роста биомассы, увеличивается доля отмирающих клеток. По полученным данным устанавливали влияние способа приготовления культуральных сред на прирост биомассы в процессе ферментации. Под способом приготовления в данном случае подразумевали концентрацию кислоты, с помощью которой готовили гидролизат, далее его нейтрализовали и добавляли питательные соли, с сохранением  $\text{pH} = 4,5 \pm 0,2$ . Из рисунка 5 видно, что способ приготовления гидролизатов на основе белой пыли не влияет на выход дрожжей, что подтверждается сопоставлением данных ферментации, различных способов приготовления сред, по критерию Фишера – Снедекора. Для серой пыли такое влияние отслеживается, в результате наибольший выход составил при использовании сред, где гидролизат готовили на 3,0% растворе серной кислоты. Аналогичные результаты обнаружены и для системы из черной и серой аспирационной пыли (рисунки 6, 7). На прирост биомассы влияет также вид пыли. Исходя из графиков, белая пыль, содержащая больше органических веществ, благоприятствует росту биомассы, а черная обладает высокой зольностью, то есть ингибирует прирост биомассы.

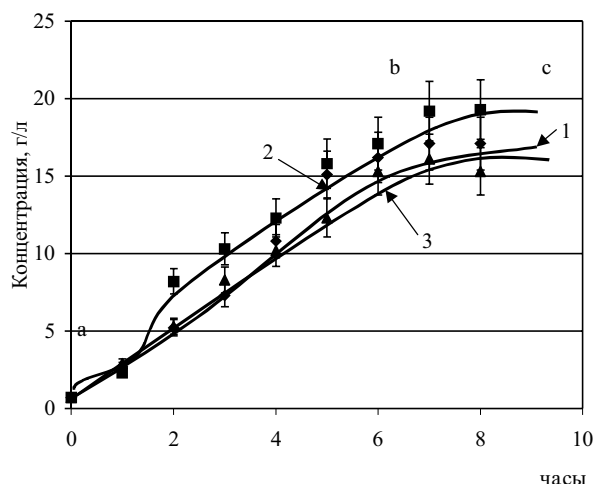


Рисунок 5. Изменение концентрации дрожжей в процессе ферментации из гидролизатов аспирационной белой пыли. 1 – накопление биомассы на основе сред из гидролизата, подготовленного с использованием 1,0; 2 – 3,0; 3 – 5,0% серной кислоты

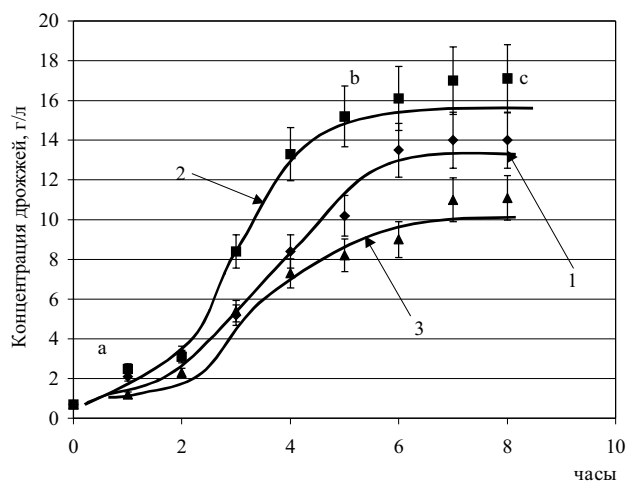


Рисунок 6. Изменение концентрации дрожжей в процессе ферментации из гидролизатов серой аспирационной пыли. 1 – накопление биомассы на основе сред из гидролизата, подготовленного с использованием 1,0; 2 – 3,0; 3 – 5,0% серной кислоты

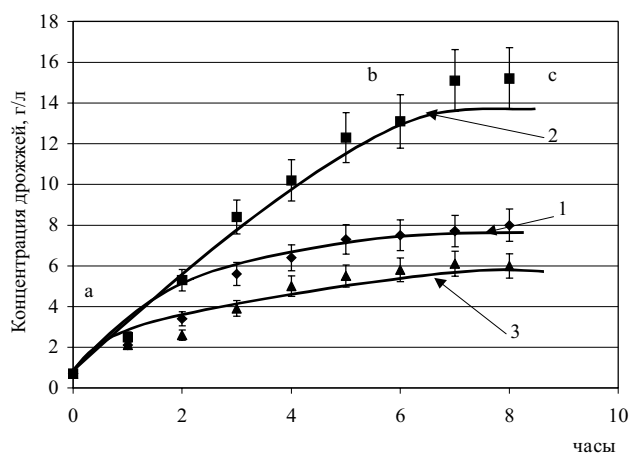


Рисунок 7. Изменение концентрации дрожжей в процессе ферментации из гидролизатов черной аспирационной пыли. 1 – накопление биомассы на основе сред из гидролизата, подготовленного с использованием 1,0; 2 – 3,0; 3 – 5,0% серной кислоты

Таким образом, твердые отходы зерноперерабатывающих предприятий можно использовать как источник легкоусваиваемых углеводов для фермен-

тации дрожжей, легкоусваиваемые углеводы получают в результате кислотного гидролиза полисахаридов аспирационной пыли.

**Список использованной литературы:**

1. Сельскохозяйственная биотехнология: Учеб. /В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, С.В. Дегтярев и др.: Под ред. В.С. Шевелухи. – М.: В.Ш., 1998.
2. Дудкин М.С. Химические методы повышения качества кормов и комбикормов. – М.: Агропромиздат, 1986.
3. Жеребцов Н.А., Руадзе И.Д., Яковлев А.Н. О механизме кислотного и ферментативного гидролиза крахмала // Прикл. биохимия и микробиология, 1995 Т. 31, №6.
4. Влияние химической природы гликозидных связей на кислотный гидролиз олиго- и полисахаридов // Хранение и переработка сельхозсырья, 1998, №1.
5. Жеребцов Н.А., Абрамова И.Н., Шеламова С.А. Исследования кислотного гидролиза инулина // Вестник РАСХН №5-6 – 2001.
6. Карпова Г.В., Зайнутдинов Р.Р. Утилизация твердых отходов зерноперерабатывающих предприятий: Учебная, научно-производственная и инновационная деятельность высшей школы в современных условиях. Материалы международной научно-практической конференции. – Оренбург.: ОГУ, 2001.
7. Бутковский В.А., Мельников Е.М. Технология мукомольного, крупяного и комбикормового производства. – М.: Агропромиздат, 1989.