

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В РАСТВОРАХ СВЕКЛОВИЧНОЙ МЕЛАССЫ ВНЕСЕНИЕМ БИОГЕННЫХ ВЕЩЕСТВ***Семенихин С.О., канд. техн. наук, Федосеева О.В.,****Бабакина М.В., Городецкий В.О., канд. техн. наук***Краснодарский научно-исследовательский институт хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»**(Краснодар, Россия)**vengeldorf@inbox.ru*

Реферат. Проведены исследования по влиянию внесения в растворы свекловичной мелассы биогенных веществ на эффективность синтеза биологически активных веществ с применением *Bacillus subtilis* штамм В- 501, *Cryptococcus curvatus* штамм Y-2236 и *Rhodotorula glutinis* штамм Y- 332. Установлено, что содержащихся в мелассе биогенных веществ достаточно для синтеза витамина В₂ с применением *Bacillus subtilis* штамм В- 501. Для интенсификации синтеза жиров с применением *Rhodotorula glutinis* штамм Y- 332 требуется внесение сульфатов железа и марганца, для интенсификации синтеза жиров с применением *Cryptococcus curvatus* штамм Y-2236 требуется внесение сульфатов железа и марганца, а также источников фосфора и азота.

Ключевые слова: меласса, синтез, жиры, витамин В₂, биогенные вещества, микроорганизмы, жизнедеятельность.

Summary. Research has been carried out on the effect of the biogenic substances adding into solutions of beet molasses on the biologically active substances synthesis efficiency using *Bacillus subtilis* strain В- 501, *Cryptococcus curvatus* strain Y-2236 and *Rhodotorula glutinis* strain Y- 332. It was found that the biogenic substances contained in molasses are sufficient for the synthesis of vitamin В₂ using *Bacillus subtilis* strain В- 501. To intensify the synthesis of fats using *Rhodotorula glutinis* strain Y-332, the addition of iron and manganese sulfates is required, to intensify the synthesis of fats using *Cryptococcus curvatus* strain Y-2236, the addition of iron and manganese sulfates, as well as sources of phosphorus and nitrogen, is required.

Key words: molasses, synthesis, fats, vitamin В₂, biogenic substances, microorganisms, vital functions.

Введение. Особое внимание к свекловичной мелассе обусловлено содержанием в ней ценных макро- и микроэлементов, а также сахаров, ввиду чего она имеет широкое применение в различных отраслях. Традиционным потребителем мелассы является микробиологическая промышленность, в которой она используется в качестве компонента высокопродуктивного субстрата. Наиболее часто свекловичную мелассу используют при производстве лимонной кислоты. Тем не менее, постоянный прогресс обуславливает большой интерес отечественных и зарубежных исследователей к переработке мелассы с получением новых видов продукции.

Целесообразность получения новой продукции, обогащенной комплексом биологически активных веществ, в результате микробиологической обработки свекловичной мелассы, объясняется отсутствием необходимости выделения крайне малого количества отдельного вещества из большого объема концентрированной жидкости.

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края в рамках научного проекта № 19-416-233002

Кроме этого, меласса при ее микробиологической обработке обладает биологической значимостью не только для микроорганизмов, синтезирующих биологически активные вещества из сахарозы, но также передает эти свойства получаемым из нее обогащенным продуктам.

В результате проведенных ранее исследований установлено, что наиболее перспективными микроорганизмами для обогащения растворов мелассы биологически активными веществами являются *Bacillus subtilis* штамм В- 501, *Cryptococcus curvatus* штамм У-2236 и *Rhodotorula glutinis* штамм У- 332 [1, 2]. Однако, в проведенных ранее исследованиях достичь полной утилизации сахаров не удалось. На наш взгляд это вызвано тем, что указанным микроорганизмам не было достаточно каких-либо биогенных веществ. Кроме этого, учитывая, что свекловичная меласса является не чистым раствором сахаров, а имеет в своем составе различные соединения, влияние которых на микроорганизмы может быть как ингибирующее, так и катализирующее [3].

Для подтверждения теоретических предпосылок о том, что внесение биогенных веществ способствует повышению степени утилизации сахаров в растворах свекловичной мелассы были проведены специальные лабораторные исследования.

В результате анализа научно-технической литературы было установлено, что в качестве биогенных веществ, повышающих жизнедеятельность микроорганизмов, применяются сульфаты железа FeSO_4 , марганца MnSO_4 , магния MgSO_4 , аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, а также дигидроортофосфат калия KH_2PO_4 . Таким образом, целью исследований является выявление влияния внесения в растворы мелассы указанных биогенных веществ на эффективность синтеза биологически активных веществ с применением *Bacillus subtilis* штамм В- 501, *Cryptococcus curvatus* штамм У-2236 и *Rhodotorula glutinis* штамм У- 332.

Объекты и методы исследований. Объектами исследования являются растворы свекловичной мелассы, в которые вносили сульфаты железа FeSO_4 , марганца MnSO_4 , магния MgSO_4 , аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и дигидроортофосфат калия KH_2PO_4 , а также перспективные микроорганизмы – *Bacillus subtilis* штамм В- 501, синтезирующие витамин В₂, *Cryptococcus curvatus* штамм У-2236 и *Rhodotorula glutinis* штамм У- 332, синтезирующие жиры.

Для проведения исследований осуществляли разбавление свекловичной мелассы дистиллированной водой до содержания сухих веществ 20 %. Далее раствор делили на 3 равных части с последующим доведением до оптимальных значений pH [1, 2]. Так, до значения pH 7,0 доводили растворы для обработки *Bacillus subtilis* штамм В- 501 и *Cryptococcus curvatus* штамм У-2236, а до значения pH 8,5 – для обработки *Rhodotorula glutinis* штамм У- 332. После этого проводили термическую стерилизацию полученных растворов мелассы при температуре 75 °С в течении 5 минут и охлаждение до 25 °С.

Далее растворы свекловичной мелассы делили на 6 равных частей: одну часть оставляли в качестве контрольной, а в другие вносили биогенные вещества в количестве по 0,5 г/л каждого. После этого в растворы высевали исследуемые микроорганизмы. Микробиологический синтез биологически активных веществ в растворах свекловичной мелассы осуществляли в течение 14 суток.

Оценку эффективности влияния внесения биогенного вещества на жизнедеятельность микроорганизмов осуществляли, учитывая степень утилизации сахаров, а также удельную выработку синтезируемого вещества.

Исследования проводили в трех повторностях, полученные данные усредняли.

Обсуждение результатов. В таблице 1 приведены данные по влиянию внесения биогенных веществ на изменение состава конечных растворов свекловичной мелассы при жизнедеятельности *Bacillus subtilis* штамм В- 501.

Таблица 1 – Влияние внесения биогенных веществ на изменение состава конечных растворов свекловичной мелассы при жизнедеятельности *Bacillus subtilis* штамм *B- 501*

Показатель	Значение показателя и наименование вносимого биогенного вещества					
	Контроль	FeSO ₄	MnSO ₄	MgSO ₄	KH ₂ PO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄
Исходный раствор свекловичной мелассы						
Содержание сахарозы, %	11,40	11,40	11,40	11,40	11,40	11,40
Содержание редуцирующих веществ, %	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Содержание сахаров, %	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Конечный раствор свекловичной мелассы						
Содержание сахарозы, %	0,00	0,00	4,41	2,79	0,00	2,34
Содержание редуцирующих веществ, %	6,89	6,25	2,20	3,38	6,51	4,11
Содержание сахаров, %	6,89	6,25	6,61	6,17	6,51	6,45
Степень утилизации сахаров, %	42,55	47,95	44,95	48,55	45,78	46,23
Значение pH, ед.	6,57	6,77	6,96	5,49	6,16	6,78
Количество синтезированного витамина В ₂ , мг/100 мл	9,50	9,40	9,90	9,10	8,90	8,80
Удельная выработка витамина В ₂ , г/г сахаров	0,019	0,016	0,018	0,016	0,016	0,016
Влияние биогенного вещества на жизнедеятельность микроорганизма	–	Ингибирует	Не влияет	Ингибирует	Ингибирует	Ингибирует

Из представленных данных следует, что для жизнедеятельности *Bacillus subtilis* штамм *B- 501* достаточно изначально содержащихся в растворе свекловичной мелассы биогенных веществ. Несмотря на то, что внесение биогенных веществ способствовало повышению степени утилизации сахаров на 3-5 %, однако удельная выработка синтезируемого вещества, а именно, витамина В₂ снизилась.

Кроме этого, установлено, что сульфат марганца MnSO₄ не оказывает влияние на жизнедеятельность *Bacillus subtilis* штамм *B- 501*, в то время, как другие биогенные вещества ингибируют жизнедеятельность исследуемого микроорганизма.

В табл. 2 приведены данные по влиянию внесения биогенных веществ на изменение состава конечных растворов свекловичной мелассы при жизнедеятельности *Rhodotorula glutinis* штамм *Y- 332*.

Из представленных данных следует, что для повышения эффективности жизнедеятельности *Rhodotorula glutinis* штамм *Y- 332* требуется внесение сульфатов железа FeSO₄ и марганца MnSO₄, которые, несмотря на незначительное снижение степени утилизации сахаров на 1,5-2,0 %, повышают удельную выработку жиров на 0,011 г/г сахара в каждом случае. В то же время, несмотря на то, что внесение сульфата магния MgSO₄, а также источников фосфора KH₂PO₄ и азота (NH₄)₂SO₄ повышает степень утилизации сахаров на 3-4 %, однако не способствует значительному повышению удельной выработки жиров. Таким образом, указанные биогенные вещества не влияют на жизнедеятельность *Rhodotorula glutinis* штамм *Y- 332*.

Таблица 2 – Влияние внесения биогенных веществ на изменение состава конечных растворов свекловичной мелассы при жизнедеятельности *Rhodotorula glutinis* штамм Y- 332

Показатель	Значение показателя и наименование вносимого биогенного вещества					
	Контроль	FeSO ₄	MnSO ₄	MgSO ₄	KH ₂ PO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄
Исходный раствор свекловичной мелассы						
Содержание сахарозы, %	11,40	11,40	11,40	11,40	11,40	11,40
Содержание редуцирующих веществ, %	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Содержание сахаров, %	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Конечный раствор свекловичной мелассы						
Содержание сахарозы, %	3,78	4,05	1,44	1,44	0,00	4,05
Содержание редуцирующих веществ, %	3,88	3,81	6,55	5,78	6,84	3,27
Содержание сахаров, %	7,66	7,86	7,99	7,22	6,84	7,32
Степень утилизации сахаров, %	36,18	34,53	33,40	39,85	39,78	39,03
Значение pH, ед.	4,73	4,88	6,43	4,78	5,05	5,18
Количество синтезированных жиров, мг/100 мл	8,10	12,50	12,00	8,40	10,40	10,30
Удельная выработка жиров, г/г сахаров	0,019	0,030	0,030	0,018	0,020	0,022
Влияние биогенного вещества на жизнедеятельность микроорганизма	–	Катализирует	Катализирует	Не влияет	Не влияет	Не влияет

Учитывая это, для повышения эффективности жизнедеятельности *Rhodotorula glutinis* штамм Y- 332 в растворах свекловичной мелассы требуется внесение сульфатов железа FeSO₄ и марганца MnSO₄.

В табл. 3 приведены данные по влиянию внесения биогенных веществ на изменение состава конечных растворов свекловичной мелассы при жизнедеятельности *Cryptococcus curvatus* штамм Y-2236.

Из представленных данных следует, что для улучшения жизнедеятельности *Cryptococcus curvatus* штамм Y-2236 требуется внесение сульфатов железа FeSO₄ и марганца MnSO₄, а также источников фосфора KH₂PO₄ и азота (NH₄)₂SO₄. Несмотря на то, что степень утилизации сахаров остается практически на том же уровне, внесение указанных биогенных веществ способствует повышению удельной выработки жиров на 0,004-0,009 г/г сахаров, или в 1,5-1,8 раза. Внесение сульфата магния MgSO₄ не оказывает влияния на жизнедеятельность микроорганизма.

Таким образом, для повышения эффективности жизнедеятельности *Cryptococcus curvatus* штамм Y-2236 в растворах свекловичной мелассы требуется внесение сульфатов железа FeSO₄ и марганца MnSO₄, а также источников фосфора KH₂PO₄ и азота (NH₄)₂SO₄.

Таблица 3 – Влияние внесения биогенных веществ на изменение состава конечных растворов свекловичной мелассы при жизнедеятельности *Cryptococcus curvatus* штамм Y-2236

Показатель	Значение показателя и наименование вносимого биогенного вещества					
	Контроль	FeSO ₄	MnSO ₄	MgSO ₄	KH ₂ PO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄
Исходный раствор свекловичной мелассы						
Содержание сахарозы, %	11,40	11,40	11,40	11,40	11,40	11,40
Содержание редуцирующих веществ, %	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Содержание сахаров, %	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Конечный раствор свекловичной мелассы						
Содержание сахарозы, %	3,24	3,6	0,00	0,00	0,72	0,00
Содержание редуцирующих веществ, %	3,38	2,89	6,95	6,62	6,12	6,60
Содержание сахаров, %	6,62	6,49	6,95	6,62	6,84	6,60
Степень утилизации сахаров, %	44,80	45,93	42,10	44,80	43,00	45,03
Значение pH, ед.	4,67	4,74	6,95	5,00	4,76	6,41
Количество синтезированных жиров, мг/100 мл	6,00	8,10	10,30	6,10	8,70	8,80
Удельная выработка жиров, г/г сахаров	0,011	0,015	0,020	0,011	0,017	0,016
Влияние биогенного вещества на жизнедеятельность микроорганизма	–	Катализирует	Катализирует	Не влияет	Катализирует	Катализирует

Выводы. Результаты проведенной серии исследований подтвердили теоретические предпосылки, что, несмотря на значительное содержание в мелассе макро- и микроэлементов, практически не удаляемых в процессе известково-углекислотной очистки и переходящих в мелассу, для жизнедеятельности некоторых исследуемых микроорганизмов их недостаточно.

Учитывая это, необходимо дополнительное внесение биогенных веществ для повышения эффективности жизнедеятельности *Rhodotorula glutinis* штамм Y- 332 и *Cryptococcus curvatus* штамм Y-2236, характеризуемой увеличением степени утилизации сахаров и удельной выработки синтезируемых веществ – жиров.

Внесение дополнительных биогенных веществ для повышения эффективности жизнедеятельности *Bacillus subtilis* штамм B- 501 и удельной выработки витамина B₂ не требуется.

Литература

1. Семенихин С.О., Федосеева О.В., Бабакина М.В., Даишева Н.М. Исследование микробиологического синтеза жиров в растворах свекловичной мелассы // Известия ВУЗов. Пищевая технология. 2020. № 1. С. 66-68. DOI: 10.26297/0579-3009.2020.1.18
2. Семенихин С.О., Бабакина М.В., Федосеева О.В., Городецкий В.О. Исследование микробиологического синтеза биологически активных веществ в растворах свекловичной мелассы // Новые технологии. 2020. № 2. С. 68-79. DOI: 10.24411/2072-0920-2020-10207.
3. Современная пищевая микробиология / Дж. М. Джей [и др.]. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2021. 886 с.