

3. Биологическая конверсия отходов переработки семян подсолнуха : материалы VI Московского Междунар. Конгресса, часть 1 21-25 марта 2011 г., Москва/ Д. В. Баурин - М. : ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2011. - 496 с.

4. Лошкомойников, И. А. Подсолнечник - ценная пищевая и кормовая культура / И. А. Лошкомойников // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. - 2011. - № 6. - С. 58-61.

5. Общая биотехнология. Лабораторный практикум: учеб. Пособие / И.В. Шакир [и др.] – М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2008. – С. 93 – 96, 108 – 109.

УДК 573.6.086.83.002.68; 573.6.086.83

М.А. Константиновская

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия

ВЫБОР УСЛОВИЙ ПРЕДОБРАБОТКИ ОТХОДА ПРОИЗВОДСТВА КОСТНОЙ МУКИ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *YARROWIA LIPOLYTICA*

Исследованы режимы фракционирования отхода производства костной муки. Проведено пробное культивирование *Yarrowia lipolytica* на питательной среде на основе липидных фракций данного отхода. Полученные результаты позволяют рекомендовать липидную фракцию отхода производства костной муки в качестве субстрата для культивирования дрожжей.

Modes of fractionation of waste of bone meal production were studied. Carried test cultivations of *Yarrowia lipolytica* in mediums, based on lipid fractions of the waste. The results allow us to recommend the lipid fraction of waste of bone meal production as a substrate for the cultivation of yeast.

Производство костной муки является малоотходным и экологически безопасным. Единственным отходом производства является «бульон», образующийся на стадии сепарации жира. «Бульон» содержит значительное количество высокомолекулярных органических соединений. Химическое потребление кислорода (ХПК) бульона составляет 35-50000 мг О₂/л. Известно, что предельно допустимое ХПК для сточных вод составляет порядка 400 мг О₂/л.

Таким образом, отход производства костной муки необходимо предварительно очищать на предприятии до показателей, не превышающих нормативы ПДК для сточных вод.

Основными компонентами «бульона» являются жиры и жироподобные вещества и вещества белковой природы, поэтому более перспективным является разработка способов утилизации бульона с получением биологически активных веществ.

Методом тонкослойной хроматографии было установлено, что липидный состав представлен смесью разнообразных животных жиров. Выделение отдельных компонентов из смеси животных жиров не имеет практического значения, ввиду технологической сложности данного процесса. В настоящее время предлагается ряд технологических схем аэробной переработки жировых отходов с использованием дрожжевых культур, причем ряд исследователей рекомендует умеренно-галофильные дрожжи *Yarrowia lipolytica* [2]. Кроме того, данный штамм рекомендован для очистки сточных вод от жиросодержащих загрязнений в случае предполагаемого использования целевого продукта в качестве кормовой добавки. Микробиологический синтез является наиболее перспективным способом получения белковых веществ.

Микробный протеин, синтезируемый дрожжами, обладает хорошей усваиваемостью и сбалансирован по содержанию аминокислот. Помимо белка, кормовые дрожжи отличаются высоким содержанием витаминов, в том числе группы В.

Использование в качестве субстрата для культивирования отхода производства наиболее выгодно экономически и имеет огромное значение для охраны окружающей среды [1].

Основным белком «бульона» является коллаген, частично гидролизованный после температурной обработки, который после очистки может найти широкое применение в пищевой и фармацевтической промышленности.

В связи с этим необходимо подобрать режимы фракционирования «бульона», обеспечивающие наилучшее разделение белковой и липидной фракции.

Материалы и методы

Объектом исследования явились образцы «бульона», предоставленные предприятием ОАО «Костные препараты» (г. Лобня).

Массовую долю жира в образцах определяли методом Сокслетта. Состав липидной фракции определяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Накопление биомассы определяли методом прямого подсчета клеток в камере Горяева

Результаты и обсуждение

В соответствии с известными из литературы приемами, для разделения белково-жировой смеси первоначально проводят выделение липидной фракции. Для отделения жировой фракции в данной работе использовали следующие приемы:

- изменение полярности среды;
- высаливание жиров;
- обезжиривание органическими растворителями.

Полярность среды изменяли, варьируя рН исходного бульона от 3 до 11 с шагом 1, с последующим центрифугированием при 6000 об/мин в течение 10 минут. При этом удалось выделить 3 фракции: осадок, центрифугат (средняя фракция), и надосадок (верхняя фракция). Данные по относительному распределению жиров в полученных фракциях представлены на рис. 1.

Из данных рис. 1 следует, что наилучшее отделение жировой фракции достигается при рН 8.0. Близкие результаты получены при значении рН 11, но для достижения такого значения рН требуется значительный расход щелочи.

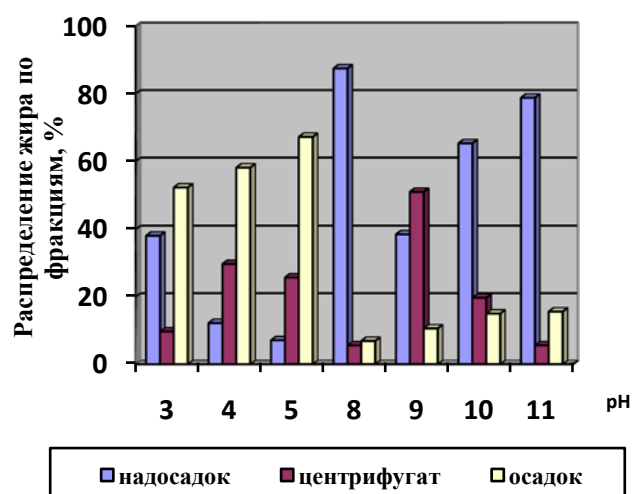


Рис. 1. Распределение жиров по фракциям бульона при различных значениях рН

Для высаливания жиров использовали растворы NaCl с концентрациями 5%, 10%, 25%, и 50% от насыщения с последующим центрифуги-

рованием при 6000 об/мин в течение 10 минут. В отделенных фракциях определяли содержание жира и составляли материальный баланс процесса. Полученные данные представлены на рис. 2.

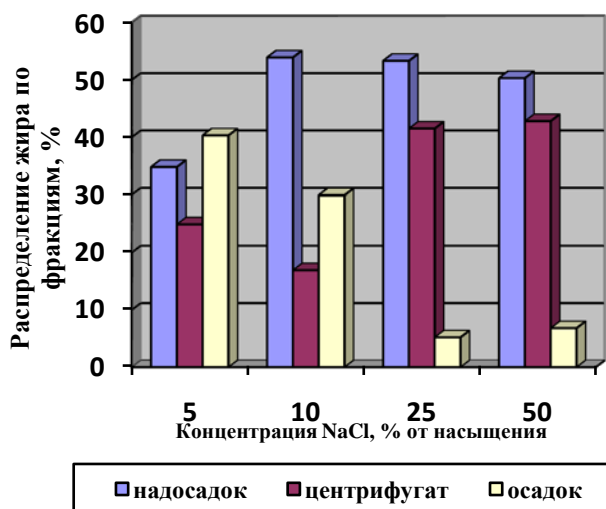


Рис. 2. Распределение жиров по фракциям бульона при высаливании

Из полученных данных следует, что оптимальной для высаливания жиров является концентрация NaCl 10% от насыщения.

В качестве органических растворителей для обезжиривания применяли наиболее распространенные растворители и их смеси. Экстракцию проводили при непрерывном перемешивании в течение 40 мин с последующим разделением фракций и отгонкой растворителя. Время экстракции подбирали экспериментально. Эффективность экстракции оценивали по остаточному содержанию жира в водной фазе. Данные представлены на рис. 3.

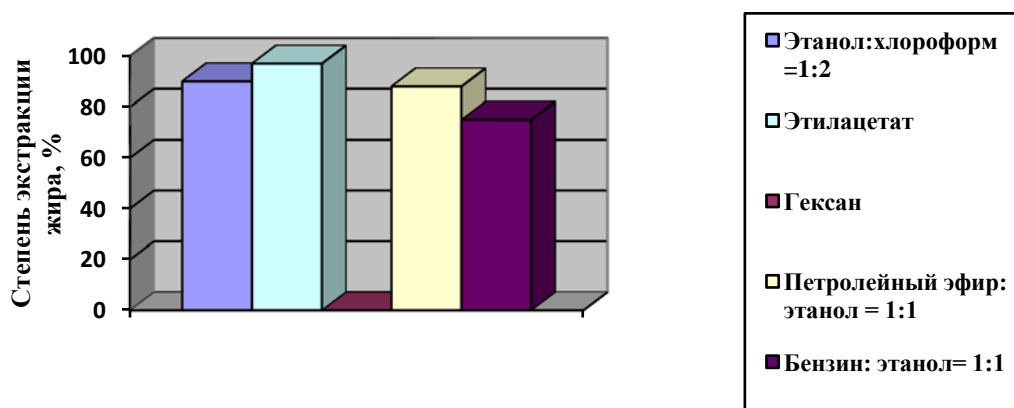


Рис. 3. Степень экстракции жира при обработке органическими растворителями

Из рис.3 видно, что практически полное обезжиривание достигается при обработке отхода этилацетатом. При использовании гексана нет разделения водной и органической фаз.

На основе липидных фракций, отделенных различными способами готовили питательную среду для культивирования *Y.lipolytica*. Пробное культивирование проводили в колбах объемом 250 мл (100 мл среды) при перемешивании (150 об/мин) и температуре 30 °С. Оценку эффективности культивирования проводили методом прямого подсчета клеток в камере Горяева с последующим определением характеристик процесса культивирования.

В случае использования в качестве субстрата для культивирования дрожжей липидов, выделенных органическими растворителями, не происходило накопления биомассы. При использовании в качестве субстрата липидов, отделенных путем изменения полярности среды и высаливания наблюдалось максимальное накопление биомассы на уровне 4,0-4,3 г/л на 44-46 ч культивирования и выход биомассы 0,6. Удельная скорость роста биомассы в обоих случаях была примерно одинаковой.

На основе проведенных исследований можно сделать вывод о том, что наилучшее отделение жировой фракции достигается при обработке органическими растворителями. Однако, в этом случае жировой отход содержит остаточные количества растворителя, что ингибирует рост дрожжей. Таким образом, для отделения жировой фракции допустимо использовать варьирование рН среды с наилучшим разделением при рН 8.0 или внесение хлорида натрия в концентрации 10 % от насыщения.

Библиографический список

1. Волова Т. Г. Биотехнология. Новосибирск: Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. – 252 с.
2. Суясов Н.А. Использование жировых отходов мясопереработки в качестве сырья для получения белковой кормовой добавки. Автореферат на соискание ученой степени кандидата технических наук. М. 2007.