

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің 60 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары– 13: дәстүрлерді сақтай отырып, болашақты құру» атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 13: сохраняя традиции, создавая будущее», посвященная 60-летию Казахского агротехнического университета имени С.Сейфуллина. - 2017. - Т.1, Ч.6. - С.169-171

ПРОДУЦИРОВАНИЕ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ШТАММАМИ *ASPERGILLUS NIGER*

Атабаева Бекзат, научный сотрудник,
Ануарбекова Сандугаи, заведующая лабораторией
микробиологии и биотехнологии, к.м.н.

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт переработки
сельскохозяйственной продукции», г. Астана

Способность образовывать лимонную кислоту при росте на средах с углеводами – свойство, широко распространенное среди мицелиальных грибов [1, 2].

В настоящее время в качестве основного продуцента лимонной кислоты применяются различные штаммы *A. niger*.

Представители вида *A. niger* способны синтезировать витамины – биотин, тиамин, рибофлавин и др. [3]. В тоже время он является продуцентом лимонной кислоты [4, 5], обеспечивая 99% объёма мирового производства лимонной кислоты — это более 1,4 миллиона [ТОНН](#) в год.

Определение способности культур к биосинтезу лимонной кислоты из сахарозы проводилось в соответствии с методом В.С. Буткевича, 1972 г. [6].

Объектами исследования являлись девять штаммов *Aspergillus niger* из коллекции института: 52/375, 23/295, 22/269, 25/309, 51/371, 78/494, 254/1, 255/1, 18 и два штамма *A. wentii* 95, 141 выделенные из зерновых культур.

Определение способности штаммов (в 2-х повторностях) к биосинтезу лимонной кислоты из сахарозы проводилось в соответствии с подсчетом лимонной кислоты в КЖ (культуральная жидкость).

Исследования проводят на среде с большим содержанием сахарозы. Избыток в среде сахара и малое содержание в ней азота создают благоприятные условия для накопления кислоты.

При росте грибковых культур наблюдается различная интенсивность роста мицелия (рисунок 1). Цвет КЖ штаммов *A. wentii* менялся на светло-оранжевый, что указывает на наличие пигмента.



Рисунок 1 – Рост грибов *A. niger* и *A. wentii* на 7-е сутки культивирования

При определении кислотности КЖ лакмусовой бумагой (после отделения мицелия) происходило изменение ее цвета на красный (рН 3,0-1,5), что свидетельствовало о присутствии лимонной кислоты в опытных вариантах. В контроле рН оставался кислотно-нейтральным – 5,0.

Результаты титрования представлены на рисунке 2 и таблице. Цвет раствора насыщенный яркий. В 1 мл 0,1 н. раствора NaOH содержится 0,0064 г лимонной кислоты.



а

б

Рисунок 2 – Оценка количественного содержания лимонной кислоты в КЖ *A. niger* (а) и *A. wentii* (б)

Таблица – Продуцирование лимонной кислоты штаммами *A. niger* и *A. wentii*

Штамм	рН КЖ	Кол-во 0,1 н. NaOH для титров-я, мл	К-во лимонной кислоты в КЖ, г/100 мл
<i>A. niger</i> № 52/375	1,5	67,7	0,43328
<i>A. niger</i> № 23/295	2,0	57,2	0,36608
<i>A. niger</i> 22/269	1,5	52	0,3328
<i>A. niger</i> № 25/309	2,0	51,2	0,32768

<i>A. niger</i> № 51/371	2,5	43,0	0,2752
<i>A. niger</i> № 78/494	2,0	37,5	0,24
<i>A. niger</i> 254/1	2,0	37	0,2368
<i>A. niger</i> 255/1	2,5	30	0,192
<i>A. niger</i> № 18	3,0	12,2	0,07808
<i>A. wentii</i> № 141	3,0	6,1	0,03904
<i>A. wentii</i> № 95	4,0	3,9	0,02496
Контроль	5,0	3,7	0,02368

По сравнению с штаммами *A. wentii*, штаммы *A. niger* продуцируют большее количество лимонной кислоты.

Наибольшие значения показали штаммы *A. niger*: 52/375, 23/295, 22/269, 25/309, 51/371, их значения находятся в пределах 0,327680-0,43328 г/100 мл. Наибольшее количество лимонной кислоты синтезировал штамм *A. niger* 52/375 (0,43328 г/100 мл) и наименьшее штамм *A. niger* 18 (0,07808 г/100 мл). В КЖ остальных коллекционных штаммов наблюдаются следы присутствия лимонной кислоты.

Итак, изученные нами штаммы грибов показали различную степень активности при синтезе лимонной кислоты.

Таким образом, штаммы *Aspergillus niger* могут быть использованы в дальнейших исследованиях для получения лимонной кислоты.

Список литературы

1. Синтез органических кислот: <http://www.webkursovnik.ru/kartgotrab.asp?id=-98282>, 27.11.2012.
2. Alekseev K.V., Dubina M.V., Komov V.P. Metabolic Characteristics of Citric Acid Synthesis by the Fungus *Aspergillus niger* // Applied biochemistry microbiology. – 2015. - V. 51, P. 857-865.
3. Род Аспергилл (*Aspergillus*): <http://dic.academic.ru>.
4. Сазанова К.В. Органические кислоты грибов и их эколого-физиологическое значение: Дисс. к.б.н. – С.-Петербург, 2014. – 159 с.
5. Культура *Aspergillus niger* – продуцент лимонной кислоты: <http://citricacid.ru/aspergillus-niger/>.
6. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Колос, 1972. – С. 98-99.