

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ ПУТЕМ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАЦИИ

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы докторанта Шайменовой Бахыт Сайлауовны
на соискание доктора философии (PhD) по специальности
6D072800 — Технология перерабатывающих производств

1. Актуальность работы. Технологии по глубокой переработке сырья в мировой научной практике являются востребованными и передовыми. Для многих зарубежных стран глубокая переработка является сформированной отраслью, приносящей стабильные высокие доходы. Для Казахстана является стратегическим направлением развития агропромышленного комплекса и одним из ключевых приоритетов государственной политики, что неоднократно подчёркнуто в Посланиях Президента Республики Казахстан.

Продукт глубокой переработки растительного сырья - лимонная кислота – наиболее широко используемый регулятор кислотности. Являясь натуральным антиоксидантом, лимонная кислота широко применяется в пищевой промышленности, производстве синтетических моющих средств, в сельском хозяйстве, косметической и фармацевтической промышленности и других отраслях.

В настоящее время объём мирового рынка лимонной кислоты увеличился с 3,87 млрд долларов США в 2022 году до 4,2 млрд долларов США в 2023 году. Анализ текущих тенденций позволяет прогнозировать рост рынка лимонной кислоты будет расти. Потребность к 2027 году его объём может достичь 5,52 млрд долларов США.

В стране лимонная кислота импортируется, вследствие чего внутренний рынок зависит от внешних поставок. Вместе с тем Казахстан располагает существенными ресурсами углеводсодержащего сырья, включая кукурузный и пшеничный крахмал, которые могут быть использованы в качестве сырьевой базы для её производства.

В республике функционируют три крупных завода по глубокой переработке зерна, а ещё четыре проекта находятся на стадии реализации: ТОО «Жаркентский крахмало-паточный завод» (150 тыс. тонн переработки кукурузы в год), ТОО «АзияАгроФуд» (60 тыс. тонн кукурузы в год — производство крахмала, патоки и сиропов), ТОО «Биооперейшн» (300 тыс. тонн пшеницы — производство крахмала, глютенa, биоэтанола и кормов). Эти предприятия создают основу отечественной крахмалопаточной отрасли и обеспечивают переработку значительных объёмов местного углеводсодержащего сырья. До 2028 года предприятия планируют запустить несколько крупных новых проектов, и эти проекты помогут расширить глубокую переработку зерна.

Для коммерческого производства лимонной кислоты, как правило, основаны на глубинном культивировании углеводных субстратов с использованием штаммов *Aspergillus niger* (*A.niger*). Этот способ отличается высокой производительностью, экологичностью и стабильностью процесса при низких значениях pH, что позволяет избежать образования токсичных побочных метаболитов. Однако природные штаммы *A.niger* обладают ограниченной способностью к гидролизу крахмала, что снижает эффективность биосинтеза. В связи с этим главной задачей является получение мутантных штаммов, способных эффективно использовать крахмальные гидролизаты как основной источник углерода.

Таким образом, создаются условия для разработки и внедрения отечественных технологий получения лимонной кислоты с использованием местных ресурсов.

2. Объекты исследования. В качестве основных источников углерода использовались углеводсодержащие субстраты: нативный кукурузный крахмал (ГОСТ 32159–2013 «Крахмал кукурузный. Общие технические условия», производство ТОО «Жаркентский крахмало-паточный завод», г. Жаркент) и пшеничный крахмал (ГОСТ 31935–2012 «Крахмал пшеничный. Технические условия», производство ТОО «BioOperations», г. Тайынша). В качестве продуцента лимонной кислоты использовался мутантный штамм *A.niger* R5/4, выделенный из почвенных образцов, собранных на территории сахарных и крахмалопаточных предприятий Республики Казахстан.

3. Цель исследования. Совершенствование технологии производства лимонной кислоты из углеводсодержащего сырья путем оптимизации процесса ферментации с использованием нового высокоэффективного штамма *A.niger* R5/4.

Для реализации поставленной цели решались следующие задачи:

1. Проведение скрининга активных продуцентов лимонной кислоты, изучение их молекулярно-генетических характеристик и усиление его свойств к продуцированию лимонной кислоты;
2. Исследование физико-химических свойств крахмалосодержащего сырья;
3. Определение оптимального состава питательной среды и параметров культивирования;
4. Применение озонирования для стерилизации ферментационного оборудования и определение оптимальных параметров процесса.
5. Оптимизация процесса биосинтеза лимонной кислоты в условиях масштабированной опытной апробации.
6. Определение качественной характеристики готовой продукции и оценка её функциональных свойств.
7. Определение экономической эффективности технологии производства лимонной кислоты на основе кукурузного крахмала.
8. Разработка усовершенствованной технологии получения лимонной кислоты с использованием нового высокоэффективного штамма.

4. Методы и методики. В работе использован комплекс физико-химических, микробиологических, биотехнологических и молекулярно-генетических методов анализа. Определение состава сырья и продуктов биосинтеза проводили титриметрическими, спектрофотометрическими и гравиметрическими методами согласно нормативной документации. Биотехнологические исследования включали ферментативный гидролиз крахмала, культивирование микроорганизмов и оптимизацию условий ферментации. Микробиологические и молекулярно-генетические методы применяли для скрининга и идентификации штаммов-продуцентов. Качество лимонной кислоты оценивали стандартными аналитическими и инструментальными методами. Математическая обработка экспериментальных данных выполнялась с использованием программного обеспечения Minitab с применением методов нелинейной регрессии. Визуализация данных и оптимизация условий процесса осуществлялись в Minitab. Статистическая оценка модели, построенной по плану Бокса–Бенкена, проводилась с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) и критерия Дункана.

5. Научная новизна работы.

- усовершенствована технология производства лимонной кислоты на основе применения мальтодекстрина и высокоэффективного штамма *A.niger* R5/4, полученного способом комбинированного мутагенеза, обеспечивающая высокий выход конечного продукта;
- впервые в технологии производства лимонной кислоты для стерилизации ферментеров предложено и обосновано использование способа озонирования, которое повышает продуктивность и активность штаммов микроорганизмов, тем самым увеличивает выход лимонной кислоты.

6. Область применения: Результаты исследования могут быть широко внедрены на малых и средних предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности, а также в биотехнологических производствах органических кислот, способствуя расширению ассортимента продукции, повышению эффективности использования углеводсодержащего сырья и снижению зависимости от импортной продукции.

7. Практическая значимость работы: Результаты исследования имеют высокую прикладную ценность для перерабатывающей и пищевой промышленности Республики Казахстан. Усовершенствованная технология производства лимонной кислоты на основе углеводсодержащего сырья может быть внедрена на предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности, в том числе на крахмалопаточных и биотехнологических производствах.

Практическая значимость работы заключается в повышении выхода лимонной кислоты, снижении себестоимости продукции за счёт использования доступного сырья, а также в повышении эффективности технологического процесса путём оптимизации параметров ферментации и внедрения озонирования для стерилизации оборудования. Практическая реализуемость и новизна предложенных решений подтверждены патентами на

изобретения Республики Казахстан №34800 «Мутантный штамм *Aspergillus niger* R5/4 — продуцент лимонной кислоты» и №35429 «Способ получения мальтодекстринов из пшеничного крахмала». Внедрение данной технологии способствует снижению зависимости от импортной лимонной кислоты и развитию отечественного производства.

8. Личный вклад автора. Заключается в самостоятельной постановке цели и задач исследования, разработке методологии и программы экспериментов, выполнении теоретических и экспериментальных исследований, а также в обработке и интерпретации полученных результатов. Автором проведён анализ научной литературы, обоснованы актуальность и научная новизна темы, осуществлён отбор и исследование микроорганизмов, оптимизированы условия процесса.

9. Апробация работы. Опытнo-промышленная апробация разработанной технологии проведена на базе ТОО «Жаркентский крахмалопаточный завод», что подтверждено актом производственных испытаний. По результатам диссертационного исследования опубликованы научные работы в материалах международных и республиканских научно-практических конференций, в том числе: на Международной научно-практической конференции «Зерновая отрасль: состояние и перспективы развития» (г. Алматы, АТУ, 2020 г.), на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии» (г. Астана, 2019 г.), на Международной научно-практической конференции «Пищевые технологии будущего: инновации в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции» (г. Саратов, 2020 г.), а также на республиканской научно-практической конференции «Микробиом: фундаментальные и прикладные аспекты» (г. Астана, 2020 г.). Публикации индексируются в базе РИНЦ и сопровождаются соответствующими ISBN и ISSN.

10. Публикаций. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах, индексируемых в базе данных Scopus; 2 статьи в научных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в области образования и науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан; 7 статей в материалах международных и республиканских научно-практических конференций. По результатам исследований получены 2 патента на изобретения Республики Казахстан.

Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования ИРН BR06249419 (2018–2020 гг.) «Научно-технологическое обеспечение перерабатывающих предприятий агропромышленного комплекса с целью повышения их эффективности и конкурентоспособности» на базе НАО «Казахский агротехнический исследовательский университет имени С. Сейфуллина»

11. Объем и структура диссертации. Диссертационная работа включает нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований, обсуждение, заключение и список использованных источников.

Общий объем работы составляет 170 страниц. Работа содержит 25 таблиц и 33 рисунков. Список использованных источников включает 169 наименований отечественной и зарубежной литературы.

12. Выводы по диссертационной работе:

В результате проведенного комплексного исследования, направленного на совершенствование технологии производства лимонной кислоты на основе углеводсодержащего сырья, все поставленные задачи были последовательно решены.

1. Проведён скрининг и селекция активного продуцента лимонной кислоты. В результате многоступенчатого мутагенеза родительского штамма *Aspergillus* CA20 получен новый высокопродуктивный штамм *A.niger* R5/4, обладающий кислотообразующей активностью 37,5 г/л. Полученный штамм запатентован, что подтверждает научную новизну и практическую значимость проведенных исследований.

2. Исследованы физико-химические свойства крахмалосодержащего сырья и обоснована возможность его применения в качестве субстрата для биосинтеза лимонной кислоты. Установлено, что наиболее технологически эффективным источником углерода является мальтодекстрин кукурузного крахмала с декстрозным эквивалентом $DE=19\pm 1\%$, обеспечивающий стабильное поступление ферментируемых сахаров в процессе культивирования.

3. В результате проведенных исследований определены оптимальный состав питательной среды и параметры культивирования микроорганизма в лабораторных условиях. Установлено, что максимальная эффективность процесса достигается при следующих условиях: продолжительность ферментации — 168 ч, значение pH среды — 5,0, температура культивирования — 30°C, концентрация ферментируемых сахаров — 140 г/л на основе мальтодекстрина кукурузного крахмала ($DE = 19\%$). Определены оптимальные концентрации минеральных компонентов питательной среды: NH_4NO_3 — 3,8 г/л; KH_2PO_4 — 5,0 г/л; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,17 г/л; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,0018 г/л; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,0170 г/л; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ — 0,063 г/л. Установлено, что добавление этанола 3% и инокулята в концентрации 3% положительно сказывается на метаболизме *A. niger* и увеличивает выход лимонной кислоты.

4. Определены оптимальные параметры озонирования, при которых выход лимонной кислоты увеличился с 70,4 до 74,8 %.

5. В результате проведенных исследований были определены оптимальные параметры процесса: продолжительность культивирования — 167,2 часа, pH 5,0 и температура 30°C. При этих условиях получен максимальный выход лимонной кислоты 117,71 г/л. Это подтверждает высокую эффективность усовершенствованной технологии в масштабированных условиях.

6. Проведена комплексная оценка качества, подлинности и чистоты полученной лимонной кислоты. Установлено, что готовый продукт соответствует требованиям ГОСТ 908-2004 для лимонной кислоты пищевого назначения. Он характеризуется высокой степенью чистоты, а также

выраженной восстановительной и хелатирующей активностью. Подлинность и чистота продукта подтверждены методом капиллярного электрофореза. Содержание основного вещества составило 99,36 %, а суммарное содержание сопутствующих органических кислот (глюконовой и щавелевой) всего 0,33 %, что свидетельствует о высокой эффективности стадии очистки продукта. Результаты СЭМ-анализа показали формирование структурно стабильных и однородных кристаллов лимонной кислоты.

7. Проведённый технико-экономический анализ показал, что технология производства лимонной кислоты является экономически эффективной. Полная себестоимость опытной продукции составляет 2097 тг/кг, что на 803 тг/кг (27,7%) ниже среднерыночной цены коммерческой лимонной кислоты (2900 тг/кг). Экономический эффект при производстве 750 кг продукции достигает 602,25 тыс. тг, что подтверждает экономическую целесообразность и перспективность промышленного внедрения данной технологии.

8. Проведена опытно-промышленная апробация технологии на базе ТОО «Жаркентский крахмалопаточный завод», что подтверждено актом производственных испытаний.