

КӨМІРСУ ШИКІЗАТЫ НЕГІЗІНДЕ ФЕРМЕНТТЕУ ҮДЕРІСІН ОҢТАЙЛАНДЫРУ АРҚЫЛЫ ЛИМОН ҚЫШҚЫЛЫН ӨНДІРУ ТЕХНОЛОГИЯСЫН ЖЕТІЛДІРУ

Докторант Бахыт Сайлауовна Шайменованың 6D072800 — «Қайта өңдеу өндірістерінің технологиясы» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін диссертациялық жұмысына

АНДАТПА

1. Жұмыстың өзектілігі. Шикізатты терең өңдеу технологиялары жоғары сұранысқа ие және әлемдік ғылыми тәжірибеде ең озық жетістіктер болып табылады. Көптеген шетелдер үшін терең өңдеу – тұрақты түрде жоғары табыс әкелетін қалыптасқан сала. Қазақстанда бұл агроөнеркәсіптік кешенді дамытудың стратегиялық бағыты және мемлекеттік саясаттың басты басымдықтарының бірі болып табылады, бұл туралы Қазақстан Республикасы Президентінің Жолдауларында бірнеше рет айтылған.

Лимон қышқылы – өсімдік шикізатын терең өңдеу өнімі, ең кеңінен қолданылатын қышқылдық реттегіш. Табиғи антиоксидант ретінде лимон қышқылы тамақ өнеркәсібінде, синтетикалық жуғыш заттарды өндіруде, ауыл шаруашылығында, косметика және фармацевтика салаларында және басқа да салаларда кеңінен пайдаланылады.

Қазіргі уақытта әлемдік лимон қышқылы нарығы 2022 жылғы 3,87 млрд АҚШ долларынан 2023 жылы 4,2 млрд АҚШ долларына дейін өсті. Ағымдағы тенденцияларды талдау лимон қышқылы нарығының өсуін жалғастыратынын көрсетеді. 2027 жылға қарай оның құны 5,52 млрд АҚШ долларына дейін жетуі мүмкін.

Лимон қышқылы елге импортталады, яғни ішкі нарық сыртқы жеткізілімдерге тәуелді. Сонымен бірге Қазақстанда жүгері мен бидай крахмалы сияқты көмірсуларға бай шикізаттың ірі қорлары бар, оларды лимон қышқылын өндірудің шикізаттық базасы ретінде пайдалануға болады.

Республикада астықты терең өңдейтін үш ірі кәсіпорын жұмыс істейді, тағы төрт жоба іске асырылу кезеңінде: «Жаркент крахмал-сірне зауыты» ЖШС (жылына 150 мың тонна жүгері өңдеу), «АзияАгроФуд» ЖШС (жылына 60 мың тонна жүгері – крахмал, сірне және сироптар өндіру), «Биооперейшн» ЖШС (жылына 300 мың тонна бидай – крахмал, глютен, биоэтанол және жем өндірісі). Бұл кәсіпорындар отандық крахмал-сірне саласының негізін қалыптастырып, жергілікті көмірсулы шикізатты өңдеуді қамтамасыз етеді.

2028 жылға дейін бірнеше ірі жаңа жобаларды іске қосу жоспарланып отыр, бұл астықты терең өңдеу көлемін айтарлықтай арттыруға мүмкіндік береді.

Лимон қышқылын коммерциялық өндіру әдетте *Aspergillus niger* (*A. niger*) штаммдарын қолдана отырып көмірсу субстраттарын терең өсіруге негізделген. Бұл әдіс жоғары өнімділікпен, экологиялық тазалықпен және төмен рН мәндеріндегі процестің тұрақтылығымен сипатталады, бұл улы метаболикалық жанама өнімдердің түзілуін болдырмауға көмектеседі. Алайда *A. niger*-дің табиғи штаммдары крахмалдың гидролизін шектеулі түрде жүзеге асыра алады, бұл биосинтездің тиімділігін төмендетеді. Осы тұрғыдан алғанда, негізгі мақсат – крахмал гидролиздерін негізгі көміртек көзі ретінде тиімді пайдалана алатын мутантты штаммдарды алу.

Осылайша, жергілікті ресурстарды пайдалана отырып лимон қышқылын өндіруге арналған отандық технологияларды әзірлеу және енгізу үшін ірге қаланды.

2. Зерттеу нысандары. Негізгі көміртек көздері ретінде көмірсуға бай субстраттар пайдаланылды: нативті жүгері крахмалы (Мемлекеттік стандарт 32159–2013 «Жүгері крахмалы. Жалпы техникалық шарттар», Жаркент қаласы, «Жаркент крахмал және сірне зауыты» ЖШС өндірісі) және бидай крахмалы (Мемлекеттік стандарт 31935–2012 «Бидай крахмалы. Техникалық шарттар», Тайынша қаласы, «BioOperations» ЖШС өндірісі).

Лимон қышқылының продуценті ретінде Қазақстан Республикасының қант және крахмал және сірне кәсіпорындары аумағынан алынған топырақ үлгілерінен бөлініп алынған мутантты *A. niger* R5/4 штаммы пайдаланылды.

3. Зерттеудің мақсаты. Жаңа жоғары тиімді *A. niger* R5/4 штаммын пайдалана отырып, ферментация процесін оңтайландыру арқылы көмірсуға бай шикізаттан лимон қышқылын өндіру технологиясын жетілдіру.

Қойылған мақсатты жүзеге асыру үшін келесі міндеттер орындалды:

1. Лимон қышқылының белсенді продуценттерін скринингтен өткізу, олардың молекулалық-генетикалық сипаттамаларын зерттеу және лимон қышқылын өндіру қабілетін күшейту;

2. Құрамында крахмал бар шикізаттың физика-химиялық қасиеттерін зерттеу;

3. Қоректік ортаның оңтайлы құрамын және өсіру (культивирлеу) параметрлерін анықтау;

4. Ферментациялық жабдықты стерильдеу үшін озондау әдісін қолдану және процестің оңтайлы параметрлерін анықтау;

5. Тәжірибелік апробация жағдайында лимон қышқылының биосинтез процесін оңтайландыру;

6. Дайын өнімнің сапалық сипаттамаларын анықтау және оның функционалдық қасиеттерін бағалау;

7. Жүгері крахмалы негізінде лимон қышқылын өндіру технологиясының экономикалық тиімділігін анықтау;

8. Жаңа жоғары тиімді штаммды пайдалана отырып, лимон қышқылын алудың жетілдірілген технологиясын әзірлеу.

4. Әдістер мен әдістемелер. Зерттеуде физика-химиялық, микробиологиялық, биотехнологиялық және молекулярлық-генетикалық аналитикалық әдістердің кең спектрі қолданылды. Шикізат пен биосинтетикалық өнімдердің құрамы реттеуші құжаттамаға сәйкес титрметриялық, спектрофотометриялық және гравиметриялық әдістермен анықталды. Биотехнологиялық зерттеулерге крахмалдың ферменттік гидролизі, микроорганизмдерді өсіру және ферментация жағдайларын оңтайландыру кірді. Өндіруші штаммдарды іріктеу және анықтау үшін микробиологиялық және молекулярлық-генетикалық әдістер қолданылды. Лимон қышқылының сапасы стандартты аналитикалық және аспаптық әдістермен бағаланды. Эксперименттік деректерді математикалық өңдеу Minitab бағдарламасы арқылы сызықты емес регрессиялық әдістерді қолдану арқылы жүргізілді. Деректерді визуализациялау және процесті оңтайландыру Minitab бағдарламасында жүргізілді. Вох–Benken жобасы бойынша құрылған модельдің статистикалық бағалауы дисперсия талдауы (ANOVA) және Duncan көптеген ауқымды сынағы арқылы жүзеге асырылды.

5. Жұмыстың ғылыми жаңалығы.

- мальтодекстринді қолдану және жоғары тиімді *A. niger* R5/4 штаммын пайдалану негізінде лимон қышқылын өндіру технологиясы жетілдірілді; аталған штамм аралас мутагенез әдісімен алынған және соңғы өнімнің жоғары шығымын қамтамасыз етеді;

-лимон қышқылын өндіру технологиясында алғаш рет ферменттерді стерильдеу үшін озондау әдісін қолдану ұсынылып, негізделді; бұл әдіс микроағзалар штамдарының өнімділігі мен белсенділігін арттырып, сәйкесінше лимон қышқылының шығымын жоғарылатады.

6. Қолдану саласы: Зерттеу нәтижелері тамақ және қайта өңдеу өнеркәсібінің шағын және орта кәсіпорындарында, сондай-ақ органикалық қышқылдар өндіретін биотехнологиялық өндірістерде кеңінен қолдануға болады. Бұл өнім ассортиментін кеңейтуге, көмірсуларға бай шикізаттың тиімділігін арттыруға және импорттық өнімдерге тәуелділікті азайтуға мүмкіндік береді.

7. Жұмыстың практикалық маңызы. Зерттеу нәтижелері Қазақстан Республикасының қайта өңдеу және тамақ өнеркәсібі үшін жоғары

практикалық құндылыққа ие. Көмірсуларға бай шикізаттан лимон қышқылын өндірудің жетілдірілген технологиясы тамақ және қайта өңдеу өнеркәсібі кәсіпорындарында, оның ішінде крахмал-сірне және биотехнологиялық өндірістерде енгізілуі мүмкін.

Жұмыстың практикалық маңыздылығы лимон қышқылының шығымын арттыруда, қолжетімді шикізатты пайдалану арқылы өндіріс шығындарын азайтуда және ферментация параметрлерін оңтайландыру мен жабдықты стерильдеу үшін озондауды енгізу арқылы технологиялық үдерістің тиімділігін жақсартуда көрінеді.

Ұсынылған ғылыми-техникалық шешімдердің практикалық іске асырылуы мен жаңалығы Қазақстан Республикасының №34800 «*Aspergillus niger* R5/4 мутантты штаммы — лимон қышқылының продуценті» және №35429 «Бидай крахмалынан мальтодекстрин алу тәсілі» өнертабыс патенттерімен расталған.

Ұсынылған технологияны енгізу лимон қышқылының импортқа тәуелділігін төмендетуге және отандық өндірісті дамытуға ықпал етеді.

8. Автордың жеке үлесі. Зерттеу мақсаты мен міндеттерін дербес тұжырымдаудан, зерттеу әдістемесі мен эксперименттер бағдарламасын әзірлеуден, теориялық және тәжірибелік зерттеулерді орындаудан, сондай-ақ алынған нәтижелерді өңдеу мен талдаудан тұрады. Автор ғылыми әдебиеттерге талдау жүргізіп, тақырыптың өзектілігі мен ғылыми жаңалығын негіздеді, микроағзаларды іріктеу және зерттеу жұмыстарын жүзеге асырды, процесс жағдайларын оңтайландырды және әдістемелік ұсыным әзірледі.

9. Жұмыстың апробациясы. Әзірленген технологияның тәжірибелік-өнеркәсіптік апробациясы «Жаркент крахмал-сірне зауыты» ЖШС базасында жүргізіліп, өндірістік сынақ актісімен расталған.

Диссертациялық зерттеу нәтижелері бойынша халықаралық және республикалық ғылыми-практикалық конференциялар материалдарында ғылыми жұмыстар жарияланып, оның ішінде: «Астық саласы: жағдайы және даму перспективалары» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясында (Алматы қ., АТУ, 2020 ж.), «Биоалуантүрлілік және биотехнологияның өзекті мәселелері» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясында (Астана қ., 2019 ж.), «Ауыл шаруашылығы өнімдерін өндіру және өңдеудегі инновациялар: болашақ тағам технологиялары» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясында (Саратов қ., 2020 ж.), сондай-ақ «Микробиом: іргелі және қолданбалы аспектілер» республикалық ғылыми-практикалық конференциясында (Астана қ., 2020 ж.) баяндалды.

10. Жарияланымдар. Диссертация тақырыбы бойынша 11 ғылыми еңбек жарияланған, оның ішінде Scopus деректер базасында индекстелетін

журналдарда 2 мақала; Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Білім және ғылым саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған ғылыми басылымдарда 2 мақала; халықаралық және республикалық ғылыми-практикалық конференциялар материалдарында 7 мақала бар. Зерттеу нәтижелері бойынша Қазақстан Республикасының 2 өнертабыс патенті алынған.

Жұмыс 2018–2020 жылдарға арналған бағдарламалық-нысаналы қаржыландыру аясында, «Агроөнеркәсіптік кешеннің қайта өңдеу кәсіпорындарының тиімділігі мен бәсекеге қабілеттілігін арттыру мақсатында оларды ғылыми-технологиялық қамтамасыз ету» жобасы шеңберінде, «С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті» КеАҚ базасында орындалған.

11. Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертациялық жұмыс нормативтік сілтемелерден, анықтамалардан, белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен әдістер бөлімінен, зерттеу нәтижелері мен оларды талқылаудан, қорытындыдан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады.

Жұмыстың жалпы көлемі 170 беттен тұрады. Жұмыста 25 кесте және 33 сурет келтірілген. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі отандық және шетелдік 169 дереккөзді қамтиды..

12. Диссертациялық жұмыс бойынша қорытындылар:

Көмірсуға бай шикізат негізінде лимон қышқылын өндіру технологиясын жетілдіруге бағытталған кешенді зерттеу нәтижесінде қойылған барлық міндеттер орындалды.

1. Лимон қышқылының белсенді продуцентін скринингтеу және селекциялау жүргізілді. Көпсатылы мутагенез нәтижесінде *Aspergillus* CA20 ата-аналық штаммы негізінде қышқыл түзу белсенділігі 37,5 г/л болатын жаңа жоғары өнімді *A.niger* R5/4 штаммы алынды. Алынған штамм патенттелген, бұл жүргізілген зерттеулердің ғылыми жаңалығы мен практикалық маңыздылығын дәлелдейді.

2. Крахмал бар шикізаттың физика-химиялық қасиеттері зерттеліп, оны лимон қышқылының биосинтезі үшін субстрат ретінде қолдану мүмкіндігі негізделді. Көміртек көзі ретінде ең тиімдісі декстроздық эквиваленті $DE=19\pm 1\%$ болатын жүгері крахмалының мальтодекстрины екені анықталды, ол культивирлеу барысында ферменттелетін қанттардың тұрақты түсуін қамтамасыз етеді.

3. Зерттеу нәтижесінде қоректік ортаның оңтайлы құрамы мен микроорганизмді культивирлеу параметрлері анықталды. Процестің ең жоғары тиімділігі келесі жағдайларда қамтамасыз етілетіні анықталды:

ферментация ұзақтығы — 168 сағ, орта рН — 5,0, культивирлеу температурасы — 30°C, ферменттелетін қанттар концентрациясы — 140 г/л (жүгері мальтодекстрины, DE = 19%). Минералды компоненттердің оңтайлы концентрациялары анықталды: NH_4NO_3 — 3,8 г/л; KH_2PO_4 — 5,0 г/л; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,17 г/л; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,0018 г/л; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,0170 г/л; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,063 г/л. 3% концентрацияда этанол мен инокулят қосу микроорганизм метаболизмін белсендіріп, мақсатты өнім шығымын арттыратыны анықталды.

4. Ферментациялық жабдықтарды стерилизациялау үшін озондеудің оңтайлы параметрлері анықталып, олардың әсерінен лимон қышқылының өнімділігі 70,4%-дан 74,8%-ға дейін өсті.

5. Лимон қышқылы биосинтезі процесі тәжірибелік масштабта оңтайландырылды. Оңтайлы технологиялық параметрлер анықталды: культивирлеу ұзақтығы — 167,2 сағ, рН — 5,0, температура — 30°C. Осы жағдайларда лимон қышқылының ең жоғары шығымы 117,71 г/л деңгейінде алынды, бұл жетілдірілген технологияның жоғары тиімділігін дәлелдейді.

6. Алынған лимон қышқылының сапасына, түпнұсқалығына және тазалығына кешенді бағалау жүргізілді. Дайын өнім тағамдық мақсаттағы лимон қышқылына қойылатын ГОСТ 908-2004 талаптарына сәйкес келетіні анықталды. Ол жоғары тазалық дәрежесімен, сондай-ақ айқын тотықсыздандырғыш және хелаттаушы белсенділікпен сипатталды. Өнімнің түпнұсқалығы мен тазалығы капиллярлық электрофорез әдісімен расталды. Негізгі заттың мөлшері 99,36%, ал қатар жүретін қосалқы органикалық қышқылдардың (глюкон және қымыздық) жалпы мөлшері 0,33% құрады, бұл тазарту сатысының жоғары тиімділігін көрсетеді. СЭМ-талдау нәтижелері лимон қышқылы кристалдарының құрылымдық тұрақтылығы мен біртектілігін растады. Алынған өнім тағам өнеркәсібінде қышқылдық реттегіш және технологиялық ингредиент ретінде қолдануға ұсынылады.

7. Жүргізілген технико-экономикалық талдау технологияның экономикалық тиімділігін көрсетті. Пилоттық өндірістің толық шығыны бір килограммға 2 097 теңгеге құрап, нарықтағы орташа бағадан (2900 тг/кг) 803 тг/кг-ға (27,7%) төмен екені анықталды. 750 кг өнім өндіруден түскен экономикалық пайда 602,25 мың тг құрайды. Бұл технологияның өнеркәсіптік енгізілуінің экономикалық тиімділігі мен болашақтағы перспективаларын растайды.

8. Өзірленген технологияның тәжірибелік-өнеркәсіптік апробациясы «Жаркент крахмал-сірне зауыты» ЖШС базасында жүргізіліп, өндірістік сынақ актісімен расталған.