

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ ПЕРЕРАБОТКЕ
ВТОРИЧНЫХ РЕСУРСОВ ЦЕЛЛЮЛОЗНО-
БУМАЖНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ**



Чем привлекательна биотехнология в целлюлозно-бумажной промышленности?

Применение биокатализаторов в лесной промышленности развивается медленно:

- низкая добавленная стоимостью продукции в лесной промышленности,
- высокими затратами на биокатализаторы
- отсутствием опыта применения биотехнологии в промышленности

Преимущества биотехнологических методов позволит улучшить традиционные процессы производства целлюлозы и бумаги благодаря их специфичности и менее опасными для окружающей среды

Микроорганизмы и биокатализаторы в целлюлозно-бумажной промышленности

- ведется активный поиск новых микроорганизмов и биокатализаторов.
- микроорганизмы, которые могут избирательно модифицировать отдельные компоненты древесины (прежде всего лигнин и экстрактивные вещества),
- специфические ферменты, действующие на различные компоненты древесины в технологии переработки

Вторичные ресурсы переработки растительного сырья

Вторичные ресурсы переработки растительного сырья можно вполне назвать не дополнительными ресурсами для биотехнологии, а основными ресурсами

Источниками вторичных ресурсов являются перерабатывающие производства:

- лесного комплекса;
- агропромышленного комплекса,
- пищевой,
- химической
- легкой промышленностей.

Вторичные ресурсы целлюлозно-бумажного производства

Жидкие, содержащие углеводы в растворенном виде и в твердой фазе:

- щелока, получаемые при делигнификации однолетнего и многолетнего растительного сырья при получении целлюлозы;
- избыточные оборотные и сточные воды.

Твердые, содержащие клетчатку и лигнин:

- отходы, образующиеся при окорке древесины;
- отходы, образующиеся при сортировании щепы.

Содержание макрокомпонентов в сульфитном щелоке из хвойных пород (г/л, относительная погрешность $\pm 10\%$)

| Компонент | До отдувки | После отдувки |
|--------------------|------------|---------------|
| Глюкоза | 20,8 | 18,5 |
| Целлобиоза | 1,87 | 1,81 |
| Муравьиная кислота | 4,01 | 1,92 |
| Уксусная кислота | 0,94 | 0,33 |
| Фурфурол | 0,20 | 0,12 |

Содержание моносахаридов в нейтрально-сульфитном щелоке из березы (%)

| моносахарид | Исходный щелок | Обработанный кислотой |
|------------------|----------------|-----------------------|
| Арабиноза | 1,2±0,1 | 18,6±1,9 |
| 6-Дезоксиглюкоза | 0,6±0,1 | 0,8±0,1 |
| Целлобиоза | 61,1±6,1 | Менее 0,1 |
| Фруктоза | 9,0±0,9 | 3,9±0,4 |
| Галактоза | 2,0±0,2 | 24,6±2,5 |
| Глюкоза | 5,2±0,5 | 15,3±1,5 |
| Рамноза | 1,1±0,1 | 8,3±0,8 |
| Ксилоза | 3,1±0,3 | 27,6±2,8 |

Содержание моносахаридов в нейтрально-сульфитном щелоче из березы после ферментативной обработки (%)

| моносахарид | фермент | | |
|------------------|----------------|----------------|-----------------|
| | Accellerase ХС | Accellerase ХУ | REVITALENZ® 200 |
| Арабиноза | 5,61±0,56 | 0,82±0,08 | 0,34±0,03 |
| 6-Дезоксиглюкоза | Менее 0,1 | Менее 0,1 | 0,05±0,01 |
| Целлобиоза | 9,95±1,00 | 0,96±0,10 | 0,94±0,09 |
| Фруктоза | 4,64±0,46 | 0,16±0,02 | 0,15±0,02 |
| Галактоза | 6,04±0,60 | 3,73±0,38 | 2,54±0,25 |
| Глюкоза | 8,24±0,82 | 3,41±0,34 | 4,03±0,40 |
| Рамноза | 0,51±0,05 | 1,54±0,15 | 1,61±0,16 |
| Ксилоза | 61,35±6,14 | 89,00±8,90 | 89,42±8,94 |
| Манноза | Менее 0,1 | 0,30±0,03 | 0,47±0,05 |

Зависимость выхода РВ в гидролизатах щелоков различного происхождения от условий обработки

| Наименование субстрата | Гидролизующий агент | Доза гидролизующего агента, мл/г с.в. | Температура гидролиза, °С | Выход РВ, % |
|--------------------------------|---------------------|---------------------------------------|---------------------------|-------------|
| Кислотный гидролиз | | | | |
| Сульфитный щелок | HCl | 100 | 100 | 1,6±0,2 |
| Нейтрально-сульфитный щелок | HCl | 100 | 100 | 6,0±0,6 |
| Ферментативный гидролиз | | | | |
| Сульфитный щелок | Accellerase XC | 0,25 | 60±2 | 0,6±0,1 |
| Нейтрально-сульфитный щелок | Accellerase XC | 0,5 | 50±2 | 3,2±0,5 |
| | Accellerase XY | 0,5 | | 3,1±0,5 |
| | Revitalenz 200 | 0,15 | | 4,3±0,5 |

Какие биопродукты для сельского хозяйства можно получить на основе щелоков?

Необходимы отечественные биопродукты, стимулирующие рост животных и сохранение их здоровья:

- кормовой белок,
- ферментные препараты,
- аминокислоты, -
- витамины

- адсорбенты микотоксинов:
- - полисахариды;
- - ЛИГНИН

Наш вклад в технологии получения биопродуктов на основе вторичных ресурсов ЦБП

Представлены результаты исследований комплексной переработки щелоков:

- сульфитных,
- бисульфитных и
- нейтрально-сульфитных.

на биопродукты для сельского хозяйства и технические биопродукты.

Проблемы подготовки питательных сред в биотехнологии из растительного сырья

Фрагменты олигосахаридов:

- в щелоках

--в гидролизатах клетчатки

--- однолетних и

--- многолетних растений

Внимание!

Крахмал отличный источник углерода

для микроорганизмов – однако

биотехнология конкурент пищевой

промышленности

Микроорганизмы и ферменты для повышения ценности щелоков как сырья для ЦБП

Перспективным методом повышения эффективности использования олигомеров является подбор микроорганизмов продуцентов, способных ассимилировать наряду с простыми сахарами и олигомерные углеводы

Перспективна предварительная подготовка целлюлозо- и пентозосодержащего растительного сырья путем ферментативного гидролиза целлюлозы в суспензии лигноцеллюлозного сырья

Эффективность ферментативного гидролиза целлюлозы из лигноцеллюлозного сырья

Ферментные препараты:

- Multifect Xylanase* (соотношение целлюлазы к β -глюкозидазе 1:2,0),
- Celluclast* (20 FPU/г глюкоана),
- Spezyme CP, GC-220* (15 FPU/г глюкоана)
- Novozyme 188* (соотношение целлюлазы к β -глюкозидазе 1:1,75-2,00)

Общий выход сахаров не менее 90 % от теоретического как без отделения, так и с отделением лигнина.

Чем мы занимаемся?

Скринингом микроорганизмов, пригодных для переработки вторичных ресурсов ЦБП с получением биопродуктов:

- скринингом дрожжей, для эффективной переработки щелоков;
- поиском мицелиальных грибов для переработки твердых вторичных ресурсов ЦБП.

Что нового предлагаем?

Биотехнологическую переработку вторичных ресурсов ЦБП используя:

- психротолерантные дрожжи, с получением белков;
- получение молочной кислоты культивированием грибом *Rhizopus oryzae* f-1030;
- культивирование мицелиального гриба *Trichoderma reesei* M18 как источника ферментов;
- получение эндофитных и ризосферных бактерий как удобрений;
- получение хитин глюкана из грибов и дрожжей и внеклеточных полисахаридов.

Об актуальности совершенствования технологии дрожжей

Снижение экономической эффективности производства дрожжей как источника белка и БАВ вызвано:

- высокой энергоемкостью производства;
- ориентация производства на монопродукт;
- высокими затратами на приготовление питательных сред;
- истощением сырьевых ресурсов;
- промышленное применение дрожжей рода *Candida* вызывает серьезные экологические проблемы.

Обоснование применения психротолерантных дрожжей в биотехнологии переработки вторичных ресурсов ЦБП

Скрининг штаммов психротолерантных дрожжей по кинетическим характеристикам и выходу биомассы при культивировании на питательных средах, приготовленных из:

- а) используемых в промышленности сульфитных щелоков и нейтрально-сульфитных
- в) перспективных для промышленности питательных средах из вторичных ресурсов переработки растительного сырья.

Определение ферментативной активности психротолерантных дрожжей при культивировании на перспективных для промышленности питательных средах из вторичных ресурсов переработки растительного сырья.

В работе использованы штаммы:

1) Аскомицетовых дрожжей *Debaryomyces hansenii*:

- *D. hansenii* Н₄₃₃, предоставленный Всероссийской коллекцией непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (г. Пушкин);

- *D. hansenii* Н₄₆₅₁ – предоставленный коллекцией кафедры «Бионанотехнология и биоорганический синтез» Московского государственного университета пищевых производств;

- *D. hansenii* Н₁₈₋₃ - предоставленные коллекцией кафедры биологии почв Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова.

2) Базидиомицетовых дрожжей *Guohomyces*

pullulans: КВ₁₋₃₄ - предоставленные коллекцией кафедры биологии почв Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова.

3) Промышленные штаммы дрожжей рода *Candida*:

- *C. Guilliermondii* sp., *C. scotti* sp., *C. utilis* Y-35, *C. tropicalis* sp. предоставленные лабораторией биотехнологии Белорусского технологического университета.

- *C. tropicalis* КБПУ-4772, *C. tropicalis* КБПУ-4883 - предоставленные коллекцией кафедры биологии почв Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова

4) Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-720

предоставленный всероссийской коллекцией промышленных микроорганизмов.

Проведен скрининг дрожжей *D. hansenii* Н₄₆₅₁ , *D. hansenii* Н₄₃₃ , *D. hansenii* Н₁₈₋₃ , *G. pullulans* КВ₁₋₃₄ , *C. Guilliermondii* sp., *C. scotti* sp., *C. utilis* Y-35, *C. tropicalis* sp., *C. tropicalis* КБПУ-4772, *C. tropicalis* КБПУ-4883 для определения кинетических характеристик и выхода биомассы дрожжей при культивировании на питательной среде из сульфитных и нейтрально-сульфитных щелоков.

Что получено в результате исследований?

- Обоснована целесообразность применения психротолерантных дрожжей вида *Debaryomyces hansenii* и *Gluchoomyces pullulans* в технологии биоконверсии вторичных ресурсов переработки растительного сырья: сульфитных и нейтрально щелочков, ферментализатов клетчатки;
- Установленные закономерности проявления ферментативной активности психротолерантных дрожжей вида *D. hansenii* *G. pullulans* при температурах культивирования от 15 до 25°C на питательных средах, приготовленных из ферментализатав клетчатки.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ *D. HANSENI* И *G.PULLULANS* НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ИЗ СУЛЬФИТНОГО ЩЕЛОКА

Кинетические характеристики роста и выход биомассы дрожжей *D. hansenii*, *G. pullulans* и *Candida* при культивировании на питательной среде из сульфитного щелока концентраций РВ 3,05 % *

| Характеристики роста и выход биомассы | <i>D.hansenii</i> Н ₄₆₅₁ | <i>G.pullulans</i> КВ ₁₋₃₄ | <i>C. tropicalis</i> КБПУ – 4889 |
|---|-------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|
| Удельная скорость роста μ , ч ⁻¹ | 0,182 ± 0,006 | 0,117 ± 0,005 | 0,112 ± 0,005 |
| Продолжительность генерации Q, ч | 3,80 ± 0,09 | 5,92 ± 0,17 | 6,19 ± 0,27 |
| Выход биомассы, % | 50,43 ± 1,29 | 47,70 ± 2,14 | 37,60 ± 1,71 |

*Температура культивирования дрожжей *D.hansenii* Н₄₆₅₁, *G.pullulans* КВ₁₋₃₄ 20 °С, дрожжей *C. tropicalis* КБПУ – 4889 - 36°С. рН 5.5.

Аэрация - расход воздуха 2 л/мин. на 1 литр культуральной жидкости

Культивирование дрожжей на ферментализатах клетчатки

Из древесных отходов выделяли олигомеры углеводов, которые использовали в качестве модельной среды при определении целлюлазной, ксиланазной и целлобиазной активности дрожжей.

Выделение олигомерных углеводов проводили с использованием ферментов, которые применяются в текстильной промышленности для полировки тканей из хлопковых нитей.

Предварительные исследования показали целесообразность использовать совместно два фермента:

- лакказа (DeniLite II S)- расход 0,25 %;
- целлюлаза (Валюмакс А376)- расход 0,5 %.

Температура: 50 °С, гидромодуль 1:25, рН=6,0-6,5, продолжительность 8 ч при перемешивании.

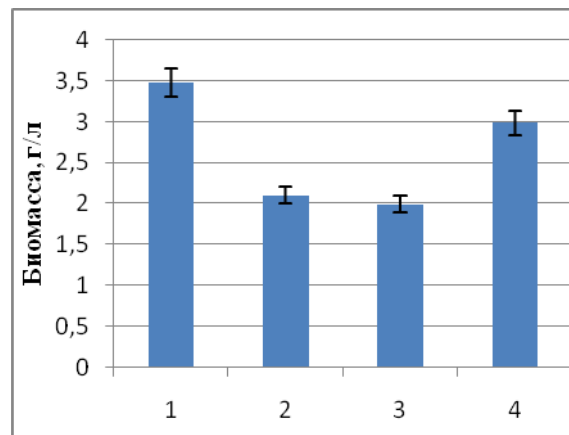
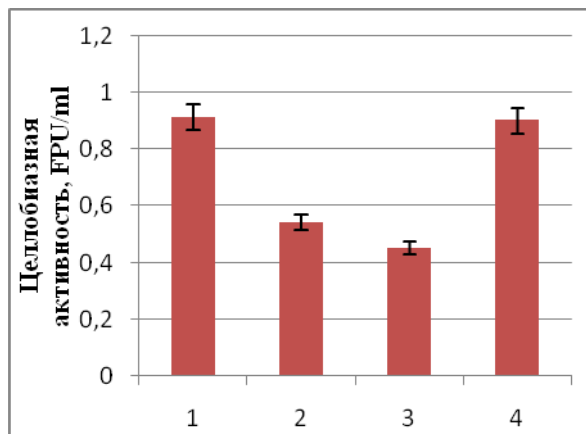
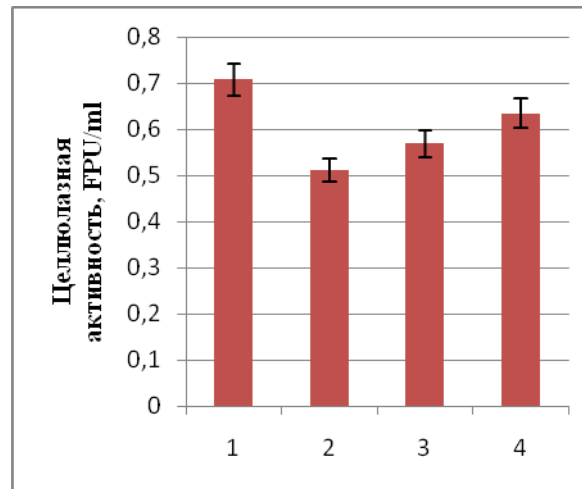
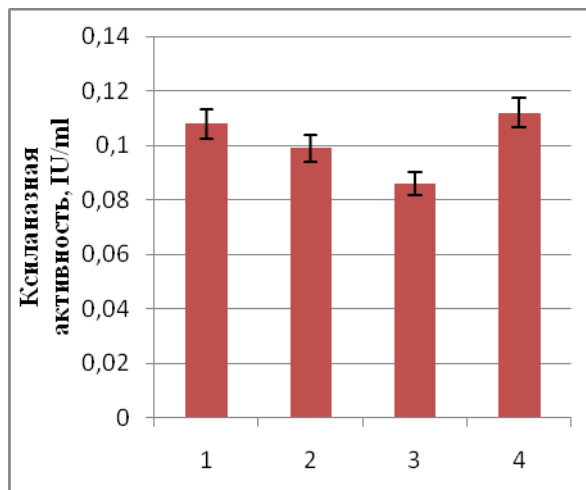
Ферментализат после отделения центрифугированием от клетчатки содержал РВ -0,39 % , после инверсии олигомерных углеводов содержание РВ 0,74 %.

Кинетические характеристики роста и выход биомассы дрожжей *D.hansenii* и *G.pullulans* при культивировании на питательной среде из ферментализатов клетчатки

| Характеристики роста и выход биомассы | <i>D. hansenii</i> H ₄₆₅₁ | <i>D. hansenii</i> H ₄₃₃ | <i>D. hansenii</i> H ₁₈₋₃ | <i>G. pullulans</i> KB ₁₋₃₄ |
|---|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--|
| Удельная скорость роста μ , ч ⁻¹ | <u>0,080 ± 0,004</u> | <u>0,057 ± 0,003</u> | <u>0,049 ± 0,003</u> | <u>0,069 ± 0,004</u> |
| | <u>0,084 ± 0,004</u> | <u>0,063 ± 0,003</u> | <u>0,059 ± 0,003</u> | <u>0,073 ± 0,003</u> |
| | <u>0,081 ± 0,004</u> | <u>0,055 ± 0,003</u> | <u>0,057 ± 0,003</u> | <u>0,068 ± 0,004</u> |
| Время генерации Q, ч | <u>8,66 ± 0,43</u> | <u>12,15 ± 0,58</u> | <u>14,11 ± 0,41</u> | <u>10,04 ± 0,38</u> |
| | <u>8,25 ± 0,47</u> | <u>11,00 ± 0,36</u> | <u>11,74 ± 0,52</u> | <u>9,49 ± 0,24</u> |
| | <u>8,55 ± 0,52</u> | <u>12,60 ± 0,45</u> | <u>12,15 ± 0,32</u> | <u>10,19 ± 0,46</u> |
| Выход биомассы от инвертированных сахаров*, % | <u>48,14 ± 2,18</u> | <u>40,19 ± 1,71</u> | <u>35,41 ± 1,43</u> | <u>46,25 ± 2,11</u> |
| | <u>51,68 ± 2,38</u> | <u>41,88 ± 2,22</u> | <u>37,73 ± 1,96</u> | <u>49,13 ± 1,39</u> |
| | <u>47,34 ± 1,69</u> | <u>37,73 ± 1,50</u> | <u>34,29 ± 1,05</u> | <u>46,65 ± 1,72</u> |

*температура культивирования, °С, в числителе - 15, в средней части – 20, в знаменателе - 25

Ксиланазная (а), целлюлазная (б) и целлюлобиазная активность (с) и синтез биомассы (д) при культивировании дрожжей *D.hansenii* и *G. pullulans* на питательной среде из ферментализатов клетчатки*.



*температура культивирования, 20°C,

1- штамм *D. hansenii* H₄₆₅₁, 2- штамм *D. hansenii* H₄₃₃

3- штамм *D. hansenii* H₁₈₋₃, 4- штамм *G. pullulans* KB₁₋₃₄

**КУЛЬТИВИРОВАНИЕ
ДРОЖЖЕЙ РОДА *LIPOMYCES*
НА ФЕРМЕНТОЛИЗАТЕ
ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО
СЫРЬЯ И СИНТЕЗ
ВНЕКЛЕТОЧНЫХ
ПОЛИСАХАРИДОВ**

Ферментативная активность психротолерантных дрожжей при культивировании на питательной среде из гидролизата клетчатки при 20 °С

| Штаммы психротолерантных дрожжей | Активности, мкмоль/см ³ | | |
|----------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| | Целлюлазная активность | Ксиланазная активность | Целлобиазная активность |
| КБП 2870 | 0,065 | 0,032 | 0,084 |
| КБП 7035 | 0,084 | 0,085 | 0,260 |
| КБП 123 | 0,065 | 0,046 | 0,160 |
| КБП 1106 | 0,230 | 0,032 | 0,100 |
| <i>Lipomyces</i> | 0,084 | 0,046 | 0,093 |
| КБП 1807 | 0,019 | 0,052 | 0,093 |
| КБП 105 | 0,046 | 0,052 | 0,084 |

Ферментативная активность психротолерантных дрожжей при культивировании на питательной среде из гидролизата клетчатки при 25 °С

| Штаммы психрофильных дрожжей | Активности, мкмоль/см ³ | | |
|------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| | Целлюлазная активность | Ксиланазная активность | Целлобиазная активность |
| КБП 2870 | 0,084 | 0,028 | 0,056 |
| КБП 7035 | 0,12 | 0,093 | 0,280 |
| КБП 123 | 0,084 | 0,028 | 0,032 |
| КБП 1106 | 0,32 | 0,039 | 0,180 |
| <i>Lipomyces</i> | 0,093 | 0,052 | 0,032 |
| КБП 1807 | 0,028 | 0,032 | 0,032 |
| КБП 105 | 0,056 | 0,032 | 0,032 |

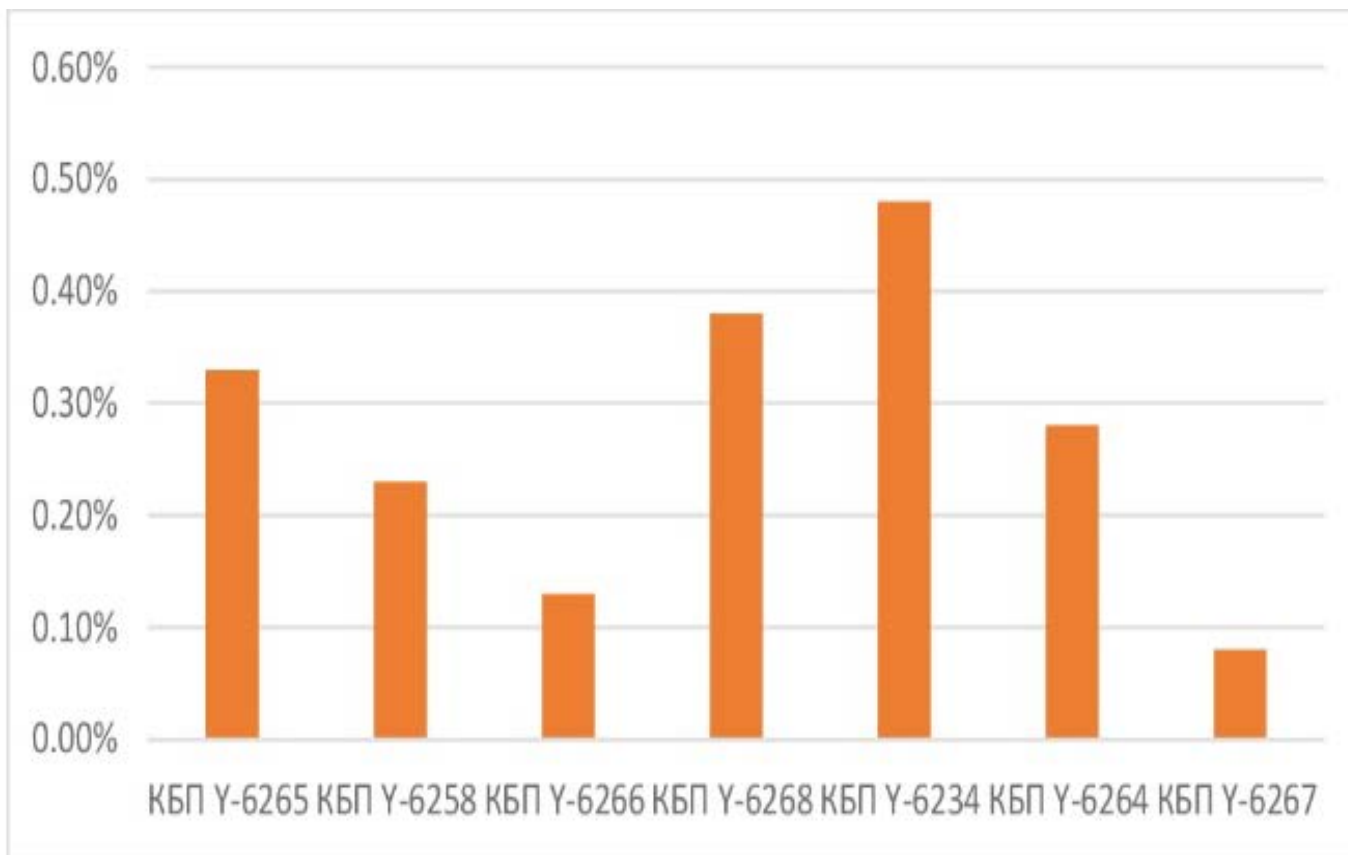
Ферментативная активность психротолерантных дрожжей при культивировании на питательной среде из гидролизата клетчатки при 30 °С

| Штаммы психрофильных дрожжей | Активности, мкмоль/см ³ | | |
|------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| | Целлюлазная активность | Ксиланазная активность | Целлобиазная активность |
| КБП 2870 | 0,018 | 0,013 | 0,018 |
| КБП 7035 | 0,046 | 0,013 | 0,018 |
| КБП 123 | 0,028 | 0,013 | 0,018 |
| КБП 1106 | 0,100 | 0,039 | 0,180 |
| <i>Lipomyces</i> | 0,240 | 0,065 | 0,120 |
| КБП 1807 | 0,074 | 0,013 | 0,018 |
| КБП 105 | 0,074 | 0,013 | 0,018 |

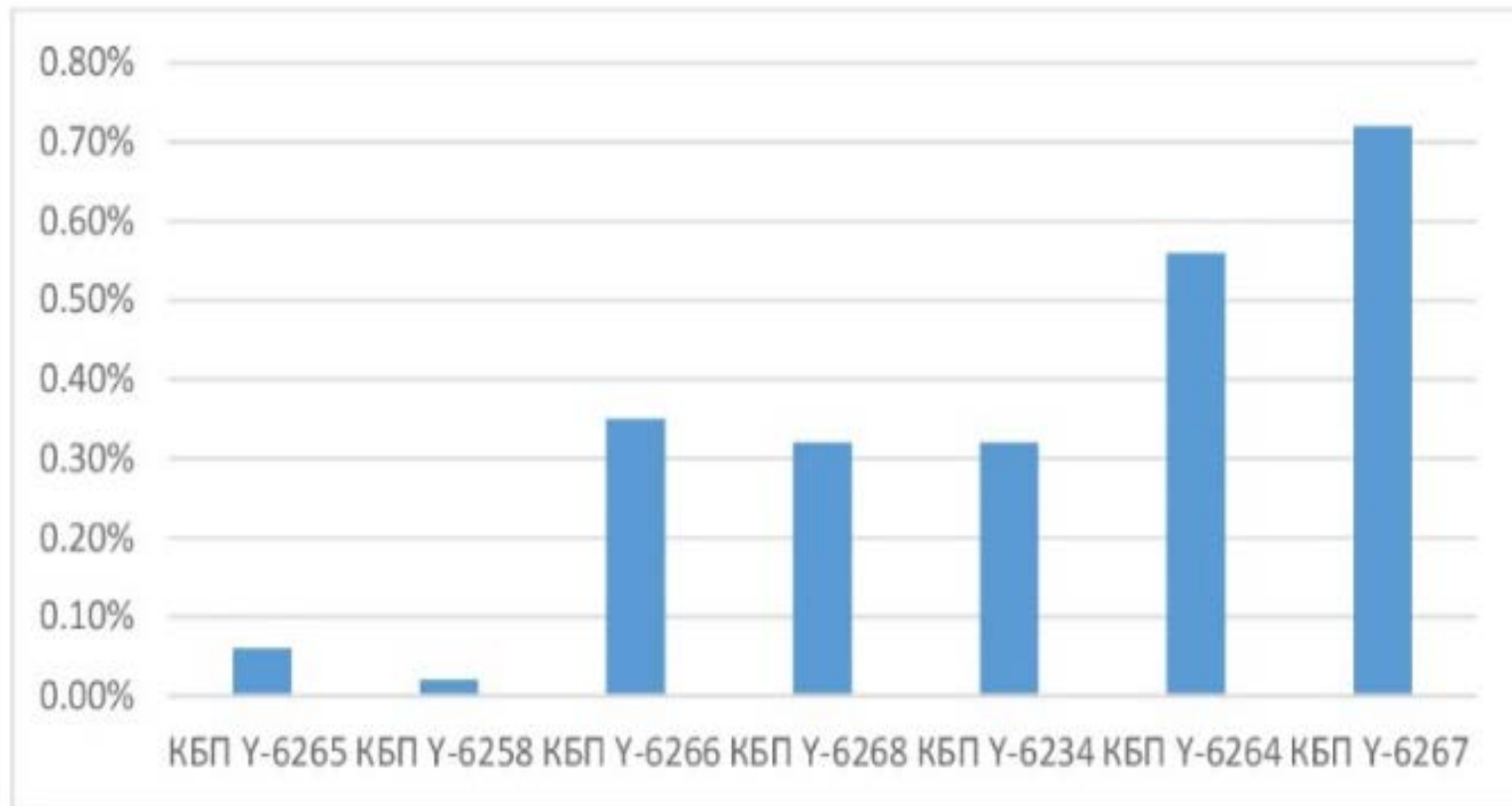
Эффективность культивирования дрожжей рода *Lipomyces*

| Показатели | При 20°С | | | При 30°С | | |
|--|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | У- 6268 | У-6267 | У-6264 | У-6265 | У-6234 | У-6268 |
| Удельная скорость роста, ч ⁻¹ | 0,135 ±0,012 | 0,042 ± 0,008 | 0,039 ± 0,009 | 0,054 ± 0,004 | 0,04 ± 0,003 | 0,054 ± 0,005 |
| Время генерации, ч | 7,41±1,00 2 | 23,67 ± 2,545 | 25,7 ± 4,648 | 18,61 ± 0,115 | 24,67 ± 0,457 | 18,29 ± 0,153 |
| Выход биомассы, % | 45,45±2,4 64 | 56,16 ± 3,218 | 32,49 ± 3,015 | 33,33 ± 0,265 | 6,78 ± 0,148 | 3,20 ± 0,050 |
| Концентрация внеклеточных полисахаридов, % | 0,32 | 0,71 | 0,55 | 0,32 | 0,48 | 0,38 |

Концентрация внеклеточных полисахаридов в культуральной жидкости при синтезе дрожжами при 30 °С



Концентрация внеклеточных полисахаридов в культуральной жидкости при синтезе дрожжами при 20 °С

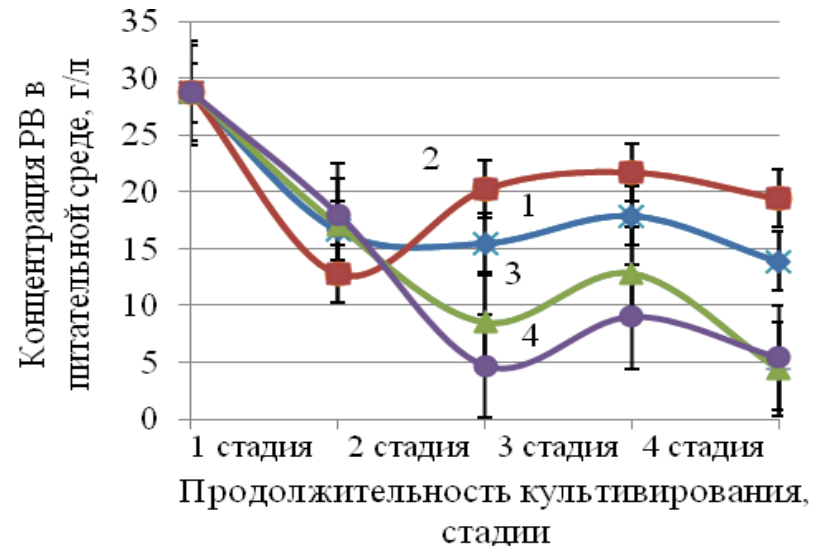
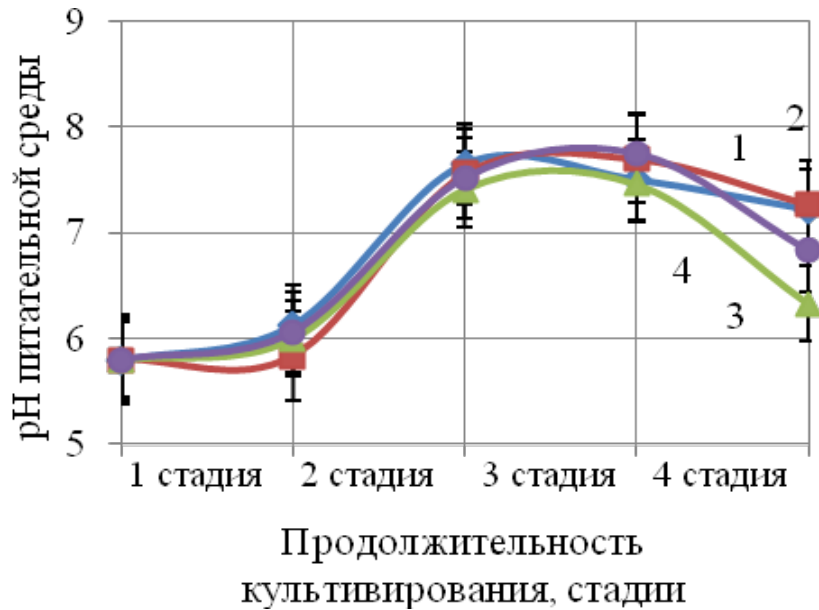


Выводы

- психротолерантные дрожжи являются альтернативой используемых в промышленности дрожжам *Candida*;
- культивирование психротолерантных дрожжей при низких температурах энергетически выгодно;
- психротолерантные дрожжи менее требовательны к стерильности производства;
- психротолерантные дрожжи утилизируют олигомеры углеводов;
- психротолерантные дрожжи – это источник белка, жиров и внеклеточных полисахаридов, которые могут использоваться для кормления животных.

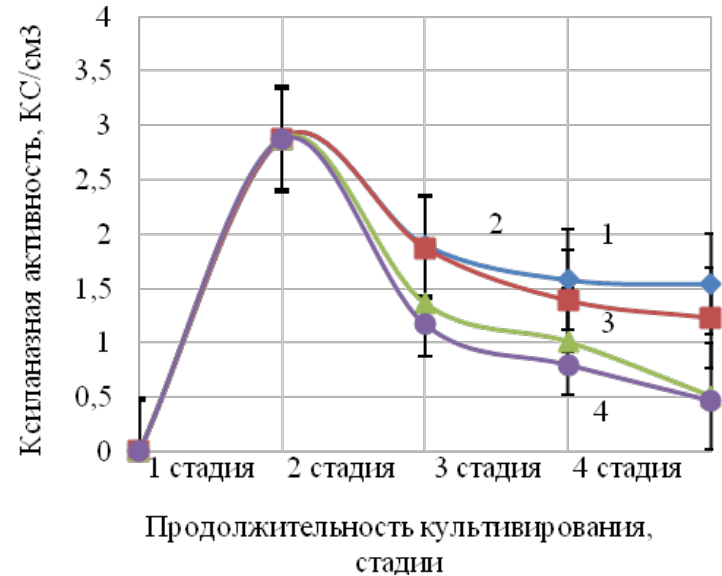
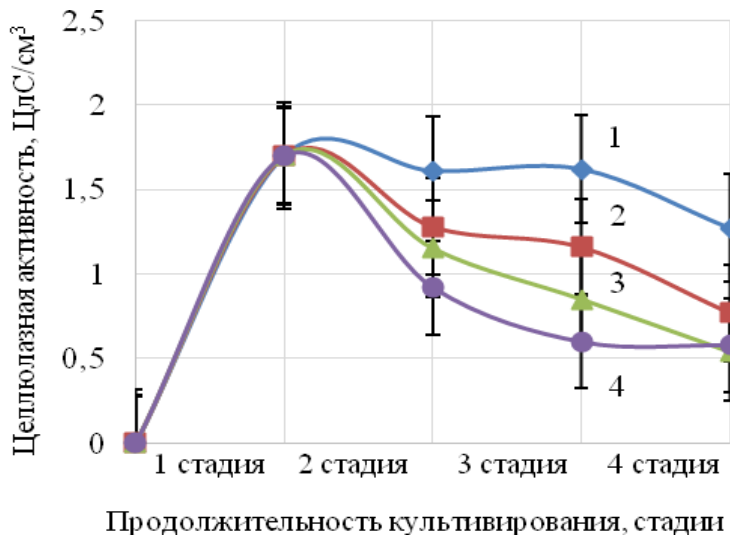
**СИНТЕЗ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ
ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ
ГРИБА R. ORYZAE F-1030
НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ
ИЗ СУЛЬФИТНОГО И
НЕЙТРАЛЬНО-СУЛЬФИТНОГО
ЩЕЛОКОВ**

Динамика изменения рН (а) и содержания редуцирующих веществ (б) в питательной среде на основе сульфитного щелока при культивировании гриба *R. oryzae* F-1030



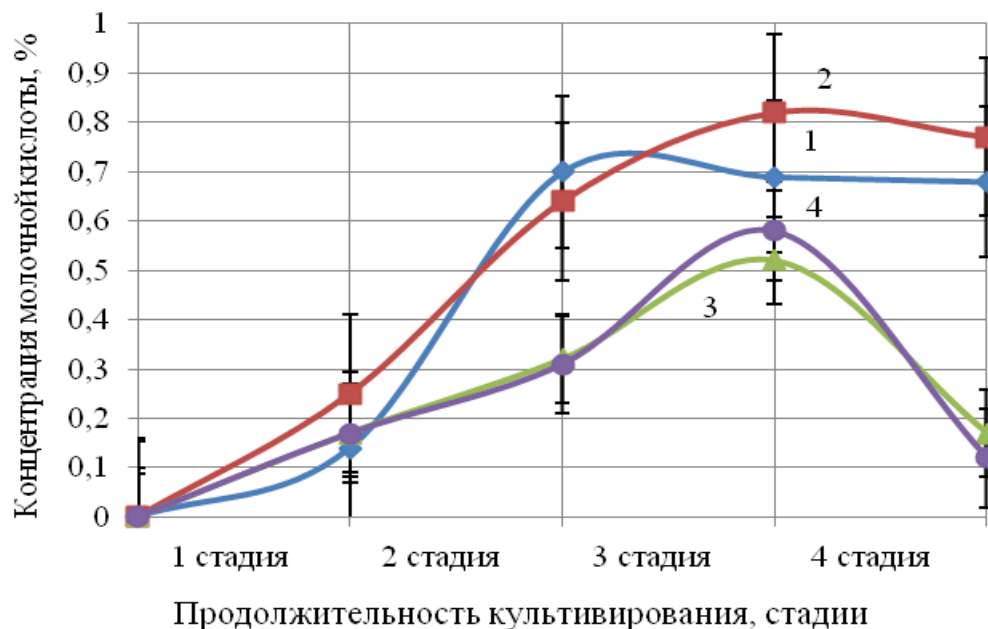
1 – отъемно-доливным способом с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 2 - отъемно-доливным способом без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 3 – периодическим способом с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 4 – периодическим способом без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4

Динамика изменения целлюлазной (а) и ксиланазной (б) активностей гриба *R. oryzae* F-1030 при культивировании на питательных средах на основе **сульфитного** щелока.



1 – отъемно-доливным способом с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 2 - отъемно-доливным способом без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 3 – периодическим способом с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 4 – периодическим способом без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4

Динамика синтеза молочной кислоты грибом *R. oryzae* F-1030 при культивировании на питательных средах на основе сульфитного щелока



1 – отъемно-доливным способом с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 2 - отъемно-доливным способом без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 3 – периодическим способом с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 ; 4 – периодическим способом без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 .

Выход биомассы и молочной кислоты в зависимости от способа культивирования гриба *R. oryzae F-1030* на питательной среде из нейтрально-сульфитных щелоков

| Способ культивирования | Сухая биомасса, г/л | Выход молочной кислоты, % | Концентрация молочной кислоты, г/л |
|---|---------------------|---------------------------|------------------------------------|
| Отъемно-доливной с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 | 9,1±0,5 | 40,8±2,0 | 6,5±0,5 |
| Отъемно-доливной без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 | 6,9±0,5 | 32,8±2,0 | 5,9±0,5 |
| Периодический с добавлением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 | 9,2±0,5 | 29,5±2,0 | 3,0±0,5 |
| Периодический без добавления $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и KH_2PO_4 | 9,6±0,5 | 33,5±2,0 | 3,0±0,5 |

Кинетические характеристики и выход дрожжей *D. Hansenii* H4651 при культивировании на культуральной жидкости после отделения молочной кислоты

| Отъемно-доливной метод культивирования без добавления солей при культивировании гриба <i>R. oryzae</i> F-1030 | 0,068±0,003 | 10,25±0,51 | 42,87±2,14 |
|---|-------------|------------|------------|
| | | | |
| | | | |
| Условия культивирования: pH – 5,0±0,1, температура- 25±1 °C продолжительность- 3 сут. | | | |
| | | | |

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАЗИДИОМИЦЕТОВЫХ ДРОЖЖЕЙ ДРОЖЖЕЙ *GUEHOMYCES PULLULANS* КВ 1-34 НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ ИЗ АРАБИНОГАЛАКТАНА

| показатели | | Температура культивирования, о С | | |
|--|--|----------------------------------|---------------|---------------|
| | | 15 | 20 | 25 |
| β-галактозидазная активность, ед/см ³ | | 0,712 | 0,813 | 0,162 |
| Кинетические характеристики роста | удельная скорость роста μ, ч ⁻¹ | 0,027 ± 0,002 | 0,030 ± 0,001 | 0,025 ± 0,001 |
| | продолжительность генерации Q, ч | 25,67 ± 1,02 | 23,10 ± 0,98 | 27,72 ± 1,12 |
| Выход биомассы дрожжей , % | | 8.9 ± 0,34 | 17,0 ± 0,56 | 13,0 ± 0,45 |

Грибы и бактерии – источники адсорбентов МИКОТОКСИНОВ

- Клеточная стенка:
- дрожжей
- бактерий,
- мицелиальных грибов

Это адсорбент микотоксинов

Титр бактерий при культивировании на питательной среде, приготовленной на щелоках производства целлюлозы из березы

Титр бактерий в контроле на синтетической среде– $5,5 * 10^9$ КОЕ/см³

| Наименование микроорганизма | КОЕ/см ³ |
|--------------------------------------|---------------------|
| <i>Xanthomonas sp2</i> | $1,10 * 10^9$ |
| <i>Agrobacterium radiobacter</i> 437 | $1,15 * 10^9$ |
| <i>Bacillus subtilis</i> Ч-13 | $1,86 * 10^9$ |
| <i>Azotobacter chroococum</i> 12 | $1,37 * 10^9$ |
| <i>Bacillus subtilis</i> TR6 | $1,12 * 10^9$ |
| <i>Rhizobium leguminosarum</i> 1082 | $1,18 * 10^9$ |
| <i>Bacillus subtilis</i> HC8 | $1,16 * 10^9$ |
| <i>Bacillus subtilis</i> MZ3 | $0,45 * 10^9$ |
| <i>Bacillus subtilis</i> OP3 | $0,30 * 10^9$ |

Эффективность адсорбции Т- 2 микотоксина инактивированными бактериями и дрожжами

| Наименование адсорбента | рН 2 | рН 8 | Истинная адсорбция, % |
|--------------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|
| | Адсорбции, % | Десорбции, % | |
| <i>Xanthomonas sp2</i> | 92,0 | 1,2 | 90,9 |
| <i>Agrobacterium radiobacter 437</i> | 84,0 | 3,4 | 81,1 |
| <i>Bacillus subtilis Ч-13</i> | 90,6 | 8,3 | 83,1 |
| <i>Azotobacter chroococum12</i> | 90,6 | 4,2 | 86,9 |
| <i>Bacillus subtilis TR6</i> | 92,0 | 5,3 | 87,1 |
| <i>Rhizobium leguminosarum 1082</i> | 89,3 | 1,2 | 88,2 |
| <i>Bacillus subtilis HC8</i> | 84,0 | 2,1 | 82,2 |
| <i>Bacillus subtilis MZ3</i> | 74,6 | 1,5 | 73,5 |
| <i>Bacillus subtilis OP3</i> | 80,0 | 4,7 | 76,2 |
| <i>Candida scottii утамм К-41</i> | 35,0 | 9,0 | 26,0 |
| <i>S. cerevisiae ВКПМ У-720</i> | 35,0 | 2,3 | 32,7 |

Состав биосорбента от вида обработки биомассы

| Показатели биосорбента | Последовательность обработки биомассы | | | |
|---|---|--|---|---|
| | двухстадийная | | трехстадийная | четырёхстадийная |
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| | Na ₂ CO ₃ (9,0 %), HCl | Na ₂ CO ₃ (2,0%), HCl | Na ₂ CO ₃ , HCl, H ₂ O ₂ | Na ₂ CO ₃ , HCl, H ₂ O ₂ , NaOH |
| Выход, % | 37,0 | 28,0 | 38,3 | 27,1 |
| Зольность, % | 0,4 | 0,7 | 1,1 | 1,5 |
| Общее содержание азота, % | 2,0 | 2,9 | 2,6 | 3,3 |
| Содержание Д-глюкозамина, % | 29,7 | 45,06 | 43,9 | 58,14 |
| Содержание азота принадлежащего Д- глюкозамину, % | 1,66 | 2,52 | 2,45 | 3,25 |

Характеристика биосорбента в зависимости от последовательности обработки биомассы

| Характеристики биосорбента | Последовательность обработки биомассы | | | |
|--|---------------------------------------|--|---|---|
| | двухстадийная | | трехстадийная | Четырех стадийная |
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| | Na_2CO_3 (9,0 %), HCl | Na_2CO_3 (2,0%), HCl | Na_2CO_3 , HCl, H_2O_2 | Na_2CO_3 , HCl, H_2O_2 , NaOH |
| Адсорбционная емкость, $Q_k \cdot 10^{-4}$, г/г | 1,58 | 2,63 | 2,77 | 7,54 |
| Удельная поверхность, $S_{\text{уд}}$, м ² /г | 0,52 | 0,31 | 0,55 | 1,49 |
| Объем микропор, W_0 , см ³ /г | 0,149 | 0,150 | 0,168 | 0,058 |
| Эффективность адгезии частиц латекса, Эл, % | 91,4 | 95,1 | 92,9 | 98,8 |
| ξ -потенциал поверхности, мВ | +0,70 | +0,71 | -1,05 | +1,40 |

Влияние содержания белка в клеточной стенке гриба *Trichoderma reesei* M18 на истинную адсорбцию микотоксина Т-2

| Сырой протеин, % | Белок по Барнштейну, % | Содержание D-глюкозамина, % | Адсорбция Т-2 микотоксина, % | | Десорбция Т-2 микотоксина, % | Истинная адсорбция, % |
|------------------|------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------|------------------------------|-----------------------|
| | | | pH = 7 | pH = 2 | pH = 8 | pH = 2 |
| 17,12 | 16,8 | 31,1 | 52 | 61,36 | 5,93 | 55,43 |
| 5,51 | 5,18 | 59,6 | 70,72 | 76,96 | 10,05 | 66,91 |
| 10 | 8,22 | 55,1 | 76,96 | 76,96 | 4,14 | 72,82 |
| 14,96 | 10,33 | 32,4 | 70,72 | 70,72 | 10,94 | 59,78 |

Культивирование микроводорослей *Dunaliella salina* на питательной среде из нейтрально-сульфитных щелоков

Температура культивирования 25 °С

| Количество внесенного в питательную среду хлорида натрия, % | Удельная скорость роста культуры, ч ⁻¹ | Время деления (генераций) клетки, ч | Выход биомассы, % | Содержание белка, мг/мл | Ксиланазная активность, ед/мл |
|---|---|-------------------------------------|-------------------|-------------------------|-------------------------------|
| 0 | 0,03 | 23,10 | 28 | 0.30 | 1,2 |
| 5 | 0,09 | 29,65 | 31 | 0.29 | 2,0 |
| 15 | 0,20 | 3,47 | 48 | 0.66 | 1,6 |
| 30 | 0,50 | 1,38 | 50 | 0.97 | 4,0 |

Творческий коллектив



Галиева А.Р.

Лукьянченко Р.Ю.



Самусик Д.А.



Иксанов Р.А.



Зиатдинов А.И.

Белкина Е.В.



Канарский А.В.

**Кручина-
Богданов И.В.**



Канарская З.А.



Крякунова Е.В.



Хусаинов И.А.



Мингазова Л.А.



Гематдинова В.М.



Творческий коллектив

- А.В. Канарский¹, А.Р. Галиева¹, В.М. Гематдинова¹, А.И. Зиатдинов¹, Р.А. Иксанов¹, З.А. Канарская¹, Е.В. Крякунова¹, Р.Ю. Лукьянченко¹, Л.А. Мингазова¹, Д.А. Самусик¹, И.А. Хусаинов¹, И.В. Кручина-Богданов², Е.В. Белкина³
- ¹Казанский национальный исследовательский технологический университет (Россия), Казань, Россия
- ²ООО «АМТ», ул. Новороссийская, 50, Санкт-Петербург, 194021 (Россия)
- ³ООО «Прикамский картон», ул. Бумажников, 1, Пермь, 614037 (Россия)

Эти имена Вы найдете в наших публикациях.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!