

З.В.Маршавина, О.Г.Севрук, Л.К.Асланянц

ОТХОДЫ МОЛОЧНОГО И ЛИЗИНОВОГО ПРОИЗВОДСТВА КАК ИСТОЧНИКИ ОРГАНИЧЕСКОГО АЗОТА ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ЛИЗИНА

Организация промышленного производства 1-лизина микробиологическим путем ставит ряд вопросов, связанных прежде всего с изысканием возможностей использования местных сырьевых ресурсов (Ермакова, 1967; Лупова, Дронов, 1967; Лупова, 1969; Каменкович, Нечаева, 1967). Большое значение также при подборе состава ферментационной среды имеет доступность и стоимость сырья.

В качестве основного источника органического азота при биосинтезе лизина в настоящее время в нашей стране рекомендован кукурузный экстракт (к.э.) (Алиханян, Зайцева, Аракелова, Миндлин, 1966; Алиханян и др., 1967). Кукурузный экстракт, однако, характеризуется рядом недостатков. Как-то: нестабильность состава, варьирующая в зависимости от качества сырья и особенностей технологии получения, содержание значительного количества примесей, что отрицательно сказывается на процессе получения 1-лизина (Каменкович, Нечаева, 1967). Надо отметить, к тому же, что к.э. для нашей республики является привозным сырьем.

В связи с этим, в лаборатории биосинтеза лизина Института микробиологии АН Арм.ССР была проведена работа по изысканию наиболее пригодного источника органического азота взамен кукурузного экстракта для микробиологического получения 1-лизина.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись отходы молочного производства (обрат, обезжиренный творог, творожный альбумин), кормовые дрожжи и отходы микробиологического производства лизина (микробная масса и активный ил после биологической очистки органических стоков). Целью работы было выяснение возможности применения их как источников органического азота в ферментационных средах при биосинтезе лизина.

Для сравнения относительной ценности выбранных нами продуктов были получены их гидролизаты различными гидролизующими аген-

тами: соляная кислота 3 и 6 N, серная кислота 6 N, едкий натр 3 и 6 N. Соотношение субстрата к гидролизующему агенту для творожного альбумина и обезжиренного творога было 1:17, для обраты - 1:23, для кормовых дрожжей - 1:20, для биомассы - 1:20, для активного ила - 1:20.

После гидролиза образующийся осадок гуминовых веществ отфильтровывался на вакуум-фильтре. Из солянокислых гидролизатов кислота удалялась путем многократной отгонки в вакууме при температуре 70°; гидролизаты концентрировались приблизительно в 4 раза и доводились затем водой до точного объема (Алиханян, Зайцева, Аракелова, Миндлин, 1966). Кислотные гидролизаты нейтрализовались двууглекислой содой, а щелочные - соляной кислотой до pH 7.0. Для получения сравнимых результатов по химическому составу гидролизатов молочных отходов и кукурузного экстракта последний был гидролизован при тех же условиях, а также по режиму, рекомендованному регламентом Института атомной энергии - 6N H₂SO₄, p=1,5 атм в течение двух часов при весовом соотношении - 1:1.

Химический состав полученных гидролизатов определялся следующими показателями:

1. Содержание общего азота - микрокьюлдалем.
2. Содержание белкового азота - методом Бернштейна.
3. Содержание небелкового азота - расчетным путем.
4. Содержание аминного азота - методом Мура и Штейна, Хардинга и Мак-Лина (Орехович, ред., 1964).
5. Содержание фосфора - колориметрически в модификации Чейка-Беренблума.
6. Содержание аминокислот - методом бумажной разделительной хроматографии с применением смеси Н-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды (4:1:5). Дополнительно для более четкого разделения треонина и глутаминовой кислоты эта смесь использовалась в соотношении 40:15:5 (Орехович, ред., 1964).

Результаты и обсуждение

Сравнительная характеристика химического состава гидролизатов, отходов молочной промышленности, микробиологического производства лизина, а также кукурузного экстракта и кормовых дрожжей представлена в таблицах 1 и 2. Как явствует из приведенных данных, в зависимости от способа получения, гидролизаты резко различаются по своему составу.

Таблица I

Химический состав гидролизатов (% на сухой вес)

Показатели	Творожный альбумин		О б р а т												Био-масса	Актив-ный ин
	гидролизующий агент															
	HCl		H ₂ SO ₄		NaOH		HCl		H ₂ SO ₄		NaOH		HCl			
	3N	6N	6N	3N	6N	3N	6N	3N	6N	3N	6N	3N				
Азот	Общий	8,37	8,37	7,95	8,33	9,52	9,56	7,82	-	8,16	6,44	7,24	5,07	3,50		
	Белковый	0,44	0,43	0,48	1,07	0,95	0,69	0,63	-	0,97	0,97	0,97	-	-		
	Небелковый	7,93	7,94	7,47	7,26	8,57	5,29	7,19	-	8,80	5,48	6,28	-	-		
	Аминный	4,72	3,46	4,76	2,97	2,04	3,26	2,09	-	5,16	3,91	3,22	3,27	2,10		
Ред. сахара фосфор (минераль- ный)		7,05	4,25	2,89	2,38	2,89	9,71	3,91	-	9,20	5,10	5,98	3,75	2,30		
		0,48	0,51	0,23	-	-	0,86	0,87	-	0,95	0,25	0,25	0,069	0,060		
Обезжиренный творог																
Кукурузный экстракт																
Азот	Общий	11,28	10,55	11,90	8,92	9,86	7,14	7,43	8,33	7,26	7,14	-	8,2			
	Белковый	0,51	0,42	0,70	0,83	0,95	0,12	0,12	0,27	0,47	0,48	-	2,86			
	Небелковый	10,78	10,13	11,19	8,10	8,90	7,31	7,31	7,85	6,98	6,66	-	5,34			
	Аминный	9,05	9,64	10,25	7,95	6,96	4,83	3,35	5,53	4,50	3,26	-	5,26			
Ред. сахара фосфор (минераль- ный)		3,23	1,97	3,57	2,50	2,10	0,73	0,49	4,03	3,6	1,78	-	5,44			
		0,50	0,45	0,53	0,39	0,40	0,64	0,49	1,66	2,04	1,29	-	0,96			

Кукур. экс:
негидролиз.

Таблица 2

Аминокислотный состав гидролизатов (% на сухой вес)

АМИНОКИСЛОТЫ	Творожный альбумин						О б р а т												Био- масса или ИЛ									
	Г И Д Р О Л И З А Т						В Р Е М Е Н Ъ																					
	HCl			NaOH			HCl			H ₂ SO ₄			NaOH			HCl												
	3	N	6	3	N	6	3	N	6	3	N	6	3	N	6	3	N	6		3	N							
	3	N	6	3	N	6	3	N	6	3	N	6	3	N	6	3	N	6		3	N							
Треонин	0,86	0,6	0,01	сл.	сл.	сл.	1,75	2,27	2,7	3,5	1,25	0,25	сл.	сл.	сл.	1,47												
Метионин	7,90	8,65	4,0	2,12	4,76	4,5	4,0	4,5	3,5	3,8	2,25	1,38	2,0	4,32														
Лейцин+ +изолейцин	16,5	16,96	8,1	4,42	2,04	5,3	3,5	5,3	3,8	2,25	1,38	2,0	4,32															
Глутаминовая кислота	14,6	15,5	5,43	7,31	7,14	8,0	6,75	8,0	6,6	5,97	3,91	1,34	2,14															
Лизин	14,20	14,87	7,14	6,80	7,8	2,52	2,38	2,52	сл.	4,0	сл.	3,56	2,54															
Обезжиренный творог																					Кукурузный экстракт				к.э. кормов.			
																									к.э. кормов.			
																									к.э. кормов.			
																									к.э. кормов.			
																									к.э. кормов.			
Треонин	2,78	3,0	3,35	сл.	сл.	сл.	сл.	сл.	0,17	1,44	сл.	0,88	3,97															
Метионин	5,2	6,8	6,9	1,6	1,7	сл.	сл.	сл.	1,02	2,95	0,79	2,51	4,76															
Лейцин+ +изолейцин	5,7	6,2	6,9	3,7	4,1	сл.	сл.	сл.	2,72	3,38	2,68	3,44	8,9															
Глутаминовая кислота	10,35	9,55	12,9	7,67	7,48	0,07	0,07	0,17	4,59	3,03	3,4	0,91	4,74															
Лизин	6,0	6,3	нет	5,1	5,2	сл.	сл.	сл.	сл.	1,23	2,04	1,41	5,42															

Характерной особенностью кислотных гидролизатов по сравнению со щелочными является высокое содержание в них аминокислот: метионина и треонина, необходимых для ферментации культур *M. glutamicus* шт.95. При гидролизе щелочью треонин полностью разрушался, что исключало возможность использования таких гидролизатов в качестве компонентов питательной среды. Содержание аминокислотного азота и фосфора было несколько выше также в кислотных гидролизатах.

Как показали результаты анализов, состав гидролизатов, полученных при помощи соляной и серной кислот, зависит также от гидролизуемого субстрата. Так, в гидролизате творожного альбумина, полученного с помощью соляной кислоты, содержание метионина и треонина (8,65:0,595%) значительно выше, чем в сернокислотном (4,0:0,011%). То же самое можно сказать и о содержании фосфора — в солянокислом гидролизате его в два раза больше, чем в сернокислом, тогда как оба кислотных гидролизата равнозначны. По составу основных компонентов в кислотных гидролизатах обрат и обезжиренного творога мы не получили существенной разницы. Что касается кукурузного экстракта, то лучшим гидролизующим агентом можно считать концентрированную серную кислоту. В гидролизатах кукурузного экстракта, полученных с помощью соляной кислоты вне зависимости от её концентрации полностью отсутствовали необходимые для ферментации аминокислоты (треонин, метионин). Наибольший выход аминокислот в гидролизатах кукурузного экстракта был получен при режиме гидролиза, полученном радиобиологическим отделом Института атомной энергии (6N H_2SO_4 , соотношение по весу 1:1, время гидролиза 2 часа, давление 1,5 атм). Однако не лишне отметить, что количество необходимых для ферментации аминокислот в этом случае было лишь на 15% больше (по сухому весу), чем в исходном негидролизованном кукурузном экстракте (табл. I).

При сравнении составов кукурузного экстракта и его гидролизатов с таковыми молочных отходов, последние намного богаче необходимыми аминокислотами. Так, кислотные гидролизаты обрат и обезжиренного творога по содержанию метионина и треонина значительно превосходят гидролизат кукурузного экстракта. Несколько меньше по сравнению с обратом и обезжиренным творогом содержит треонина творожный альбумин и совсем беден им гидролизат биомассы *M. glutamicus* шт.95. Наиболее богатыми треонином и метионином являются гидролизаты активного ила в кормовых дрожжах, взятых нами для сравнения.

Существенное различие в составе всех изучаемых гидролизатов составляет фосфор. Наиболее богат фосфором гидролизат кукурузного экстракта — 2,5%, тогда как обрат, творожный альбумин, обезжиренный творог, биомасса и активный ил содержат соответственно 0,87; 0,51; 0,45; 0,069; 0,06%. Поскольку фосфор играет существенную роль в обмене веществ микроорганизмов, недостаток его в питательной среде может привести к нарушению направленности биосинтетического процесса.

В связи с поставленной задачей необходимо было выбрать оптимальный режим гидролиза использованных нами отходов с тем, чтобы сделать более обоснованными предложения по замене кукурузного экстракта при промышленном получении лизина. В то же время нужно было учесть расход и соответственно стоимость гидролизующих агентов.

Анализируя полученные результаты с этой точки зрения, можно прийти к заключению, что при использовании в качестве гидролизующих агентов 3 и 6N соляной кислоты разница в содержании основных компонентов в гидролизатах обрата творожного альбумина и обезжиренного творога была незначительной.

Исходя из результатов многочисленных опытов, оптимальным режимом гидролиза при использовании 3N раствора соляной кислоты и соотношении субстрата к гидролизующему агенту 1:20 можно считать: время гидролиза — 6 часов при давлении 1 атм.

В ы в о д ы

1. Для промышленного получения лизина может быть рекомендован следующий режим гидролиза отходов (творожный альбумин, обезжиренный творог, обрат, ил, биомасса *M. glutamicus* 95 и кормовые дрожжи): гидролизующий агент — 3N HCl, соотношение субстрата к гидролизующему агенту — 1:20, время гидролиза — 6 часов, давление 1 атм.

2. Для гидролиза обрата и обезжиренного творога могут быть использованы как соляная, так и серная кислоты.

3. Гидролизаты, полученные при оптимальном режиме гидролиза, различаются по содержанию и качеству необходимых для биосинтеза лизина аминокислот.

4. Гидролизаты отходов лизинового производства — микробной

массы *M. glutamicus* 95 активного ила, а также кормовых дрожжей, полученные по оптимальному режиму, содержат значительные количества необходимых для биосинтеза лизина аминокислот и являются перспективной заменой к.э. в составе ферментационных сред.

Հ.Վ.Մարշավինա, Օ.Գ.Սեւրուկ, Լ.Կ.Ասայանց

ԿԱՔԻ ԵՎ ԼԻԶԻՆԻ ԱՐՏԱԴՐՈՒԹՅԱՆ ԹՍՓՈՆԵՆԵՐԸ ՈՐԳԱՆԻԶՄԱՆ ՕՐԳԱՆԵԿԱՆ ԱՁՈՑԻ ԱՂԲՅՈՒՐ ԼԻԶԻՆԻ ՍՏԱՆՍԱՆ ԳՐԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Ուսումնասիրված է կաթի, ճարպազրկված շոռի, շոռի ալբոմինի, *M. glutamicus* 95-րդ թիվի բիոզանգվածի, ակտիվ տիղմի, կերային շաքարասնկերի և եգիպտացորենի ֆոսֆատի հիդրոլիզատների ֆիմիական կազմը և որպես Օրգանական ազոտի աղբյուր դրանց Օգտագործման հնարավորությունը միկրոբիոլոգիական ճանապարհով լիզինի ստացման պրոցեսում:

Շոռի ալբոմինի, ճարպազրկված շոռի, զտած կաթի, տիղմի, *M. glutamicus* 95-ի բիոզանգվածի և կերային շաքարասնկերի հիդրոլիզը տարվել է 3N HCl-ի առկայությամբ, 1 մթն. ճնշման տակ ժամ տևողությամբ: Սուբստրատի հարաբերությունը հիդրոլիզվող նյութի նկատմամբ եղել է 1:20:

Ստացված հիդրոլիզատները պարունակում են լիզինի բիոսինթեզի համար անհրաժեշտ ամինաթթուներ/թրեոնին, մեթիոնին, լեյցիններ և այլ կոմպոնենտներ/, բայց նրանց քանակական և որակական կազմը տարբեր է: Այդ հիդրոլիզատներից, որպես եգիպտացորենի էֆսորակտի փոխընդուններ, հեռանկարային են լիզինի արտադրության թափոնները՝ բիոզանգվածը և ակտիվ տիղմը: Վերջինս ստացվում է Օրգանական հոսքաշրերի բիոլոգիական մաքրման պրոցեսում:

Z.V.Marshavina, O.G.Sevruk, L.K.Aslaniantz

THE CHARACTERISTICS OF COMPOSITION OF WASTE
MATERIALS OF MILK AND LYSINE MICROBIOLOGICAL
PRODUCTION AS THE SOURCES OF ORGANIC NITROGEN
FOR THE BIOSYNTHESIS OF LYSINE

S u m m a r y

In the work it has been studied the chemical composition and the possibilities of the utilisation of hydrolysates of waste products of milk industry, biomass of *Micrococcus glutamicus* 95, waste, sludge, slime, yeast product and corn extract as the source of organic nitrogen instead of corn extract for microbiological lysine production.

Different methods of hydrolysis have been tested. Obtained hydrolysates differ from each other by the composition of amino-acids which are necessary for lysine biosynthesis (mainly threonine, methionine, leucine). Biomass of *Micrococcus glutamicus* and sludge, which are the industrial waste products, may be used instead of corn extract for the lysine production.