

ДВУХСТУПЕНЧАТЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

Л.А. АБЕЛЯН

Институт микробиологии НАН Армения, 378510, г.Абовян

Разработан двухступенчатый метод получения D-молочной кислоты из экстракта клубней топинамбура и остаточного раствора производства циклодекстринов. Показано, что на выход и оптическую чистоту молочной кислоты влияют концентрации сахара и дрожжевого экстракта, а также аэрация. Процесс обладает высокой интенсивностью и заканчивается за 60 часов.

Մշակված է D-կաթնաթթվի ստացման երկփուլային մեթոդ՝ գետնախնկյորի պալարների հյութից և ցիկլոդեքստրինների արտադրության մնացորդային լուծույթից: Տոնյ է տրված, որ կաթնաթթվի ելանքի և օպտիկական մաքրության վրա ազդեցություն են թողնում շաքարակուրի և շաքարասնկային էքստրակտի քանակությունը, ինչպես նաև՝ ատրապիան: Պրոցեսը օժտված է մեծ ինտենսիվությամբ և ավարտվում է 60 ժամում:

Two-steps method for D-lactic acid production from topinambur tubers extract and residual sugars of cyclodextrin production has been worked out. Concentrations of sugar and yeast extract as well as aeration have influenced on yield and optical purity of lactic acid. The process has a high intensificity and was finished during 60 hrs.

Молочная кислота - Sporolactobacillus inulinus - инулин - глюкоза.

Молочная кислота - один из первых продуктов, полученных микробиологическим путем, причем в качестве сырья чаще всего используют мелассу, а также гидролизованный крахмал, к которому добавляют источники витаминов - солодовый и кукурузный экстракт, минеральные соли, источники азота и фосфора [1,3,4].

В настоящей статье описывается двухступенчатый метод получения молочной кислоты с существенной интенсификацией процесса из экстракта клубней топинамбура и остаточных сахаров производства циклодекстринов с применением *Sporolactobacillus inulinus*.

Материал и методика. В работе использовали культуру *S. inulinus* ATCC 15538. Молочную кислоту определяли спектрофотометрически [2] и тонкослойной хроматографией в системе растворителей н.бутанол-уксусная кислота-вода=4:0.5:1.0, об/об. Редуцирующие вещества идентифицировали согласно описанному методу [5].

Для эффективного получения молочной кислоты культуру *S. inulinus* выращивали на твердой питательной среде, содержащей источник сахара (остаточный раствор производства циклодекстринов или экстракт клубней топинамбура - в дальнейшем глюкоза и инулин соответственно), неорганические соли и факторы роста (дрожжевой экстракт, пептон) с агаром в следующих соотношениях (г/л): глюкоза или инулин-20,0; дрожжевой экстракт-10,0; пептон-10,0; ацетат натрия-10,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,01; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,01; NaCl - 0,01; агар-2,0 (среда 1).

Для обеспечения высокой оптической чистоты D-(-)-молочной кислоты на следующей стадии приготовления инокулята необходимо увеличить концентрацию источника сахара и снизить добавляемое количество дрожжевого экстракта. Лапная среда содержала также 1,0% $CaCO_3$ в качестве нейтрализующего агента и имела следующий конечный состав, г/л: глюкоза или инулин - 100,0; дрожжевой экстракт - 7,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,01; $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ - 0,01; NaCl - 0,01;

МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

CaCO₃ - 10,0 (среда II).

Основная ферментационная среда была идентична второй, с той лишь разницей, что содержала 6,0% CaCO₃.

На среде I культуру выращивали при 37° в течение 3 суток до удовлетворительного роста, переносили в среду II и культивирование осуществляли без перемешивания в течение 24ч при 37°. Полученный таким образом инокулят использовали для посева основной питательной среды.

Результаты и обсуждение. Выявлено, что как выход молочной кислоты, так и ее оптическая чистота в большей степени зависят от концентрации сахара и дрожжевого экстракта, оптимальные значения которых составляли 100 (табл.1) и 7,5 г/л (табл.2) соответственно. Дальнейшее увеличение концентрации сахара приводило к ухудшению оптической чистоты, а увеличение количества вносимого дрожжевого экстракта не оказывало заметного положительного эффекта.

Таблица 1. Влияние источника сахара на выход и оптическую чистоту D-молочной кислоты.

Концентрация сахара, г/л	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
20	19,0	97,6
40	38,4	98,3
60	57,6	98,6
80	77,6	98,9
100	98,1	99,2
150	145,5	98,6
200	190,0	98,4

Таблица 2. Влияние дрожжевого экстракта на выход и оптическую чистоту D-молочной кислоты (концентрация сахара 100 г/л).

Дрожжевой экстракт, г/л	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
2,5	97,0	97,1
5,0	97,5	97,8
7,5	98,1	99,0
10,0	98,0	99,2

На качество и количество молочной кислоты большое влияние оказывает также количество инокулята. Чем больше его количество, тем полнее образование целевого продукта (табл.3).

Таблица 3. Влияние количества инокулята на выход молочной кислоты (10% источника сахара; 37°; инкубация 3 суток).

Количество инокулята, г/л	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
50,0	37,6	97,4
70,0	43,3	97,9
100,0	72,4	98,6
125,0	87,2	99,0
150,0	98,0	99,0
175,0	98,2	99,2

Следует отметить, что при проведении процесса без перемешивания нейтрализующий агент- карбонат кальция плотно оседает на дне реактора. Это намного замедляет процесс нейтрализации образовавшейся молочной кислоты, недиссоциированная форма которой является ингибитором молочнокислого брожения. Данный недостаток возможно ликвидировать постоянным титрованием

ферментационной среды раствором гидроксиды, карбоната или бикарбоната натрия, а также аммиачной водой. Но это связано с некоторыми техническими трудностями. Поэтому для решения данной проблемы нами был выбран более простой путь - слабое перемешивание, т.е. аэрация. Известно, что бактерии не содержат цитохромов и ферментов ЦТК и осуществляют брожение в анаэробных условиях. Аэробный метаболизм может привести к ингибированию роста и превращению пирувата не в лактат, а в другие продукты. Однако в случае с *S. inulinus* в данных условиях эксперимента слабое перемешивание, т.е. микроаэрация ферментационной среды не только не приводит к потере выхода молочной кислоты, но и существенно ускоряет процесс. Так, если в статических условиях брожение заканчивается за 72ч, то при перемешивании ферментация длится около 60 часов (табл.4).

Таблица 4. Образование молочной кислоты в зависимости от скорости перемешивания (300 мл колбы с 200 мл ферментационной среды с содержанием 10% источника сахара при 37°. Без перемешивания ферментация продолжалась в течение 72 ч, а при перемешивании - 60ч).

Интенсивность перемешивания, об/мин	Выход молочной кислоты, г/л	Оптическая чистота D-молочной кислоты, %
Без перемешивания	98,1	99,2
25	96,2	99,0
50	96,4	99,0
75	98,0	99,0
100	95,4	99,0
150	95,0	99,0

Таким образом, разработан эффективный метод получения D-молочной кислоты из новых источников с использованием культуры *S. inulinus*. По сравнению с процессом, применяемом в настоящее время в промышленности, интенсивность данного способа почти в 2,5 раза выше. Кроме того, почти на 10% выше оптическая чистота получаемого продукта, которая не снижается при повторной ферментации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология. М., 1989.
2. Bergmeyer H.U., Berut E., Schmidt F., Stork H. Methods of enzymatic analysis. 3, 1196-1201, Acad. Press, N.Y., 1974.
3. Hoshino K., Taniguchi M., Marumoto H., Shimizu K., Fujii M. Agric. Biol. Chem., 55, 479-485, 1991.
4. Iwasaki K., Nakajima M., Sasahara H. J. Ferment. Bioeng., 73, 375-379, 1992.
5. Somogyi M. J. Biol. Chem., 195, 19-23, 1952.

Поступила 9.IX.1994.