

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА, БЕЗОПАСНОСТИ И ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ ПРОДУКТА, ПОЛУЧЕННОГО МЕТОДОМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ СВЕКЛОВИЧНОЙ МЕЛАССЫ*

Семенихин С.О., канд. техн. наук, Воробьева О.В., канд. техн. наук,
Бабакина М.В., Городецкий В.О., канд. техн. наук

Краснодарский научно-исследовательский институт хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Российская Федерация (Краснодар)

Реферат. Проведены исследования биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы с применением консорциума микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*. Установлено, что в результате последовательной биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов вырабатывается продукт, насыщенный витамином B_2 и жирами в количестве 0,9675 мг/л и 1,3440 мг/л соответственно, а также макро- и микроэлементами, в особенности натрием и калием в виде солей. По цвету и запаху получаемый продукт соответствует требованиям, предъявляемым к основным группам комбикормов – для крупного рогатого скота, свиней и сельскохозяйственной птицы и может быть использован в качестве рецептурного компонента при создании кормовых добавок.

Ключевые слова: меласса, синтез, жиры, витамин B_2 , биогенные вещества, микроорганизмы, жизнедеятельность, кормовые добавки.

Summary. The article shows biotechnological transformation of beet molasses solution using consortium of microorganisms *Bacillus subtilis* strain *B-501T* and *Rhodotorula glutinis* strain *Y-332*. It has been established that as a result of the sequential biotechnological transformation of beet molasses solution using consortium of microorganisms the product is saturated with vitamin B_2 and fats in the amount of 0.9675 mg/l and 1.3440 mg/l, respectively, as well as macro- and microelements, especially sodium and potassium in the form of salts. In terms of color and smell, the resulting product meets the requirements for the main groups of compound feed – for cattle, pigs and poultry and can be used as a prescription component when creating feed additives.

Key words: molasses, synthesis, fats, vitamin B_2 , biogenic substances, microorganisms, vital functions, feed additives.

Введение. Особое внимание к свекловичной мелассе обусловлено содержанием в ней ценных макро- и микроэлементов, а также сахаров, ввиду чего она имеет широкое применение в различных отраслях. Традиционным потребителем мелассы является микробиологическая промышленность, в которой она используется в качестве компонента высокопродуктивного субстрата. Наиболее часто свекловичную мелассу используют при производстве лимонной кислоты. Тем не менее, постоянный прогресс обуславливает большой интерес отечественных и зарубежных исследователей к биотехнологической трансформации мелассы с получением новых видов продукции [1-3].

* Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-416-233002

Целесообразность получения новой продукции, обогащенной комплексом биологически активных веществ, в результате биотехнологической трансформации свекловичной мелассы, объясняется отсутствием необходимости выделения крайне малого количества отдельного вещества из большого объема концентрированной жидкости.

Кроме этого, меласса при ее биотехнологической трансформации обладает биологической значимостью не только для микроорганизмов, синтезирующих биологически активные вещества из сахарозы, но также передает эти свойства получаемым из нее обогащенным продуктам [4, 5].

В результате проведенных ранее исследований установлено, что наиболее перспективными микроорганизмами для обогащения растворов мелассы биологически активными веществами являются *Bacillus subtilis* штамм *B-501* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332* [6, 7]. Кроме этого, ранее установлено, что для эффективной жизнедеятельности *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332* требуется внесение в растворы мелассы биогенных веществ, а именно сульфатов железа и марганца [8].

Следует отметить, что проведение одновременной обработки растворов свекловичной мелассы консорциумом из двух штаммов микроорганизмов, не представляется возможным. Это обусловлено как возможностью возникновения конкуренции штаммов между собой, так и тем, что требуемые одному микроорганизму биогенные вещества оказывают угнетающее воздействие на другой микроорганизм. Вследствие этого, обработка растворов мелассы консорциумом микроорганизмов должна быть последовательной [9].

Объекты и методы исследований. Для подтверждения теоретических предпосылок была проведена серия исследований по биотехнологической трансформации растворов свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*.

Вначале осуществляли разбавление свекловичной мелассы дистиллированной водой до содержания сухих веществ 20 % и доводили до значения pH 7,0. После этого проводили термическую стерилизацию раствора мелассы при температуре 75 °C в течение 5 минут и охлаждение до 25 °C. В стерильный раствор мелассы высевали *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и осуществляли обработку в течение 10 суток, что, согласно ранее полученным данным, примерно соответствует утилизации сахаров около 50 % от начального содержания.

После этого повторно проводили термическую стерилизацию раствора мелассы при температуре 75 °C в течении 5 минут и охлаждение до 25 °C. Далее раствор доводили до значения pH 8,5, после чего в раствор вносили сульфаты железа ($FeSO_4$) и марганца ($MnSO_4$) в количестве 0,33 г/л каждого и высевали *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*. Биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы проводили до прекращения жизнедеятельности микроорганизма.

Исследования проводили в двух повторностях, полученные данные усредняли.

Оценку органолептических показателей качества продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*, на соответствие требованиям, предъявляемым к основным группам комбикормов – для крупного рогатого скота, свиней и сельскохозяйственной птицы, проводили согласно ГОСТов 9268-2015, 34109-2017 и 18221-2018.

Обсуждение результатов. В таблице 1 приведены показатели качества раствора свекловичной мелассы при его биотехнологической трансформации консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*.

Таблица 1 – Показатели качества раствора свекловичной мелассы при его биотехнологической трансформации консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*

Наименование показателя	Значение показателя
Начальное содержание сахарозы, %	11,40
Начальное содержание редуцирующих веществ, %	0,60
Начальное содержание сахаров, %	12,00
Начальное значение pH, ед.	7,00
Содержание сахарозы после обработки <i>Bacillus subtilis</i> штамм <i>B-501T</i> , %	отсутствует
Содержание редуцирующих веществ после обработки <i>Bacillus subtilis</i> штамм <i>B-501T</i> , %	6,80
Содержание сахаров после обработки <i>Bacillus subtilis</i> штамм <i>B-501T</i> , %	6,80
Значение pH после обработки <i>Bacillus subtilis</i> штамм <i>B-501T</i> , ед.	7,05
Содержание синтезированного витамина <i>B</i> ₂ , мг/100 мл	9,6750
Удельная выработка витамина <i>B</i> ₂ , г/г сахаров	0,0186
Содержание сахарозы после обработки <i>Rhodotorula glutinis</i> штамм <i>Y-332</i> , %	отсутствует
Содержание редуцирующих веществ после обработки <i>Rhodotorula glutinis</i> штамм <i>Y-332</i> , %	2,03
Содержание сахаров после обработки <i>Rhodotorula glutinis</i> штамм <i>Y-332</i> , %	2,03
Значение pH после обработки <i>Rhodotorula glutinis</i> штамм <i>Y-332</i>	7,35
Содержание синтезированных жиров, мг/100 мл	13,4400
Удельная выработка жиров, г/г сахаров	0,0282
Утилизация сахаров I консорциумом микроорганизмов, %	83,13

Как видно из представленных данных, жизнедеятельность *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* протекала в соответствии с ранее полученными данными [1]. В результате своей жизнедеятельности микроорганизм утилизировал 5,20 % сахаров, выработав при этом 9,675 мг/100 мл витамина *B*₂, или 0,0186 г/г сахаров. После доведения начальных условий до оптимальных обработка раствора мелассы осуществлялась с применением *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332* до прекращения его жизнедеятельности [6]. В результате обработки растворов мелассы вторым микроорганизмом было утилизировано 4,77 % сахаров, в результате чего суммарная утилизация сахаров консорциумом микроорганизмов составила 83,13 %. В результате жизнедеятельности *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332* было синтезировано 13,44 мг/100 мл жиров или 0,0282 г/г сахаров.

В конечном итоге, полученные данные позволяют сделать вывод о возможности биотехнологической трансформации растворов свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов, а именно, *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*.

На основании проведенных исследований установлено, что продукт, полученный в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis*

штамм *Y-332*, имеет низкое содержание моно- и дисахаридов, а также обогащен биологически активными веществами – витамином *B₂* и жирами. Таким образом, состав полученного продукта предопределяет возможность его применения в народном хозяйстве, а именно, в качестве рецептурного компонента для создания кормовых добавок. Тем не менее, для подтверждения данных предпосылок необходимо исследовать показатели качества, безопасности и пищевой ценности полученного продукта.

В таблице 2 представлены данные, характеризующие органолептические показатели качества продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*.

Таблица 2 – Органолептические показатели качества продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*

Наименование показателя	Значение показателя				
	Полученный продукт	Требования ГОСТ 9268-2015	Требования ГОСТ 34109-2017	Требования ГОСТ 18221-2018	
Внешний вид	Непрозрачная жидкость	В виде россыпи: Однородная смесь измельченных до необходимой крупности входящих в рецепт компонентов без твердых комочеков, посторонних примесей и следов плесени В виде гранул: Гранулы цилиндрической формы с глянцевой или матовой поверхностью без посторонних примесей и следов плесени В виде крупки: Плотные не слипшиеся многогранные частицы измельченных гранул без посторонних примесей и следов плесени			
Цвет	Темно-коричневый	От серого до коричневого в соответствии с цветом входящих в рецепт компонентов			
Запах	Свекловичной мелассы, с оттенками сена	Свойственный набору входящих в рецепт компонентов, без затхлого, плесенного и других посторонних запахов			

Из представленных данных следует, что по цвету и запаху продукт, полученный в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов, соответствует требованиям, предъявляемым к основным группам комбикормов – для крупного рогатого скота, свиней и сельскохозяйственной птицы.

Однако, по внешнему виду полученный продукт представляет собой непрозрачную жидкость, в то время как комбикорма должны быть в виде россыпи, гранул или крупки. Тем не менее, на наш взгляд, это не является недостатком, так как решение этой задачи осуществляется на стадии разработки технологии получения комбикорма с применением в

качестве компонента комбикорма, что не является целью данной работы, однако имеет перспективу дальнейших исследований.

Таким образом, продукт, полученный в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов, по органолептическим показателям может быть использован в качестве рецептурного компонента при создании кормовых добавок.

На следующем этапе исследований проводили исследования физико-химических показателей качества продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Физико-химические показатели качества продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*

Наименование показателя	Значение показателя
Содержание сухих веществ, %	10,03
Содержание редуцирующих веществ, %	2,03
Содержание золы, %	8,00
Содержание витамина В ₂ , мг/л	0,9675
Содержание жиров, мг/л	1,3440
Значение pH, ед.	7,35

Представленные данные показывают, что полученный продукт содержит значительное количество витамина В₂. Известно, что потребность телят в витамине В₂ составляет 4-8 мг/сутки, а далее потребность компенсируется его микробного синтеза в организме животного [10]. Что касается свиней, то поросятам при откорме требуется 3-4 мг/кг корма, а маткам в конце супоросности и подсосным поросятам – 4-6 мг/кг корма [10]. Оптимальная потребность кур в витамине В₂ составляет около 2-3 мг/кг корма, однако у племенных кур она выше [10].

Содержание синтезированных микроорганизмами жиров, в свою очередь, в количественном выражении выше, чем витамина В₂, однако с точки зрения физиологической потребности сельскохозяйственных животных и птицы не столь значительно. Так, содержание жиров в рационе птицы должно составлять около 5 % к массе комбикорма, в рационе поросят – 3-5 %, а в рационе молодняка свиней на откорме – 10-15 %. Кроме этого, физиологическая потребность в жирах крупного рогатого скота значительно выше, чем у птицы и свиней, в особенности у дойных коров – 400-500 г/сутки. Учитывая, что в полученном продукте содержание жиров составляет 1,3440 мг/л, это не позволит использовать его в качестве основного источника жиров, однако не исключает перспективность применения полученного продукта в качестве компонента комбикормов.

Состав золы в основном сформирован содержащимися в мелассе макро- и микроэлементами, в особенности натрием и калием в виде солей, так как практически все их количество, содержащееся в свекле, не удаляется на стадии известково-углекислотной очистки и переходит в мелассу. Вследствие этого, полученный продукт обладает биологической значимостью.

Значение pH продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов, составляет 7,35 ед., то есть реакция среды практически нейтральная. Это позволяет применять полученный продукт в качестве компонента щелочных комбикормов, в особенности требуемых для крупного рогатого скота, без существенной компенсации значения их pH.

Согласно действующему законодательству, токсичность комбикормов для крупного рогатого скота, свиней и сельскохозяйственной птицы недопустима. Поэтому, с целью обеспечения указанных требований проводили исследование безопасности продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов, на соответствие минимально допустимым требованиям, предъявляемым к комбикормам. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Показатели безопасности продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов

Наименование показателя	Значение показателя		
	Полученный продукт	Требования ГОСТ Р 51899–2002, не более	
		Для крупного рогатого скота	Для кур
Содержание микотоксинов, мг/кг, не более охратоксина	Отсутствует	Не нормируется	0,3
афлатоксина В	Отсутствует	0,05	0,025
патулина	Отсутствует	Не допускается	0,05
дезоксиваленола	Отсутствует	Не нормируется	1,0
T-2 токсина	Отсутствует	Не нормируется	0,1
Содержание нитратов, мг/кг	Отсутствуют	500	500
Содержание нитритов, мг/кг	Отсутствуют	10	10
Содержание токсичных элементов, мг/кг, не более:			
ртути	Отсутствует	0,05	0,05
кадмия	0,001	0,3	0,3
свинца	0,002	3,0	3,0
мышьяка	0,002	0,5	0,5

Представленные данные показывают, что в полученном продукте полностью отсутствуют микотоксины, а также нитраты и нитриты. Кроме этого, содержание токсичных элементов значительно ниже значений, требуемых действующими нормами, а ртуть отсутствует вовсе.

Это позволяет сделать вывод о том, что исследуемый продукт, полученный в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы

консорциумом микроорганизмов, по показателям безопасности соответствует требованиям, предъявляемым к комбикормам для сельскохозяйственных животных и птицы.

Выходы. Таким образом, в результате комплекса проведенных исследований показателей качества, безопасности и пищевой ценности продукта, полученного в результате биотехнологической трансформации раствора свекловичной мелассы консорциумом микроорганизмов *Bacillus subtilis* штамм *B-501T* и *Rhodotorula glutinis* штамм *Y-332*, установлено, что полученный продукт имеет высокую перспективность применения в качестве рецептурного компонента для создания кормовых добавок, так как обогащен витамином *B₂*, жирами, а также макро- и микроэлементами и имеет нейтральное значение pH.

Литература

1. Багрянцева, О. В. Вопросы безопасного использования ферментных препаратов, пищевых добавок и ароматизаторов, полученных методом биотехнологии // Пищевая промышленность 2016. № 6. С. 69-73.
2. Фоменко И. А., Керимова Г. М. Биоконверсия растительных отходов в кормовые и пищевые дрожжевые препараты // Новые технологии. 2022. Т. 18. № 1. С. 78-85.
3. Рузянова А.А., Темникова О.Е. Исследование отходов пищевой промышленности в качестве сырья для биотехнологии // Актуальные проблемы химии, биотехнологии и сферы услуг: III Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, Иркутск, 24–26 апреля 2019 года. Иркутск: ИЗДАТЕЛЬСТВО Иркутского национального исследовательского технического университета, 2019. С. 80-83.
4. Евелева В.В., Черпалова Т.М., Шиповская Е.А., Хабибулина Н.В. Исследование биотехнологической переработки соевой мелассы в кормовой пробиотик // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. 2017. № 1. С. 109.
5. Попов В.С., Воробьева Н.В. Научно-практическое обоснование возможности использования мелассы для культивирования *Bifidobacterium bifidum* // Достижения науки и техники АПК. 2021. Т. 35. № 1. С. 48-51.
6. Семенихин С.О., Бабакина М.В., Федосеева О.В., Городецкий В.О. Исследование микробиологического синтеза биологически активных веществ в растворах свекловичной мелассы // Новые технологии. 2020. № 2. С. 68-79.
7. Семенихин С.О., Федосеева О.В., Бабакина М.В., Даишева Н.М. Исследование микробиологического синтеза жиров в растворах свекловичной мелассы // Известия ВУЗов. Пищевая технология. 2020. № 1. С. 66-68.
8. Джей Дж. М., Лёсснер М. Дж., Гольден Д.А. Современная пищевая микробиология // пер. 7-го англ. изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2021. 886 с.
9. Пронин А.С., Колмыкова Т.С., Лукаткин А.С. Особенности совместного культивирования *Pseudomonas chlororaphis* и *Saccharomyces cerevisiae* для создания комплексного биопрепарата // Сельскохозяйственная биология. 2022. Т. 57. № 1. С. 171-182.
10. Рядчиков В.Г. Основы питания и кормления сельскохозяйственных животных // СПб.: Лань, 2015. 652 с.