

ЛИМОН ҚЫШҚЫЛЫН ӨНДІРУ ТЕХНОЛОГИЯСЫНЫҢ КЕЙБІР ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ

Нурсұлтанов М.Е.^{1,*} , Амитова А.А.² 

¹Қ.И. Сатбаев атындағы Қазақ Ұлттық техникалық зерттеу университеті,
Қазақстан Республикасы, Алматы қ

²Қ.И. Сатбаев атындағы Қазақ Ұлттық техникалық зерттеу университеті,
Қазақстан Республикасы, Алматы қ

*e-mail: m.nursultanov@satbayev.university

Мақалада өнеркәсіптік биотехнологияның негізгі бағыттарының бірі органикалық қышқылдардың микробиологиялық өндірісі болып табылатыны жайлы айтылады, олардың көптеген функционалды қасиеттері оларды халық шаруашылығының әртүрлі салаларында қолданудың кең саласын анықтайды. Олардың ішіндегі ең маңыздысы — тағам және өңдеу өнеркәсібінде қышқылдандырғыш, антиоксидант және консервант ретінде қолданылатын лимон қышқылы, біздің елімізде оны өндіру ұйымдастырылғаннан бері сұраныс үнемі өсіп келе жатқан тапшы өнім болып табылады. Сондықтан да қазіргі кезде микробиологиялық өндірістің ғылыми негіздерін дамыту және лимон қышқылының биосинтезін реттеу лимон қышқылын өндіру үшін технологиялар мен шикізат ресурстары саласында мақсатты және ғылыми негізделген саясатты жүзеге асыруға мүмкіндік береді.

Лимон қышқылының тиімді штамм-продуценттерін таңдауға, сапасы әртүрлі дәстүрлі және жаңа шикізатты ашытуға, терең культивациялаудың оңтайлы технологияларын жасауға жүйелі, ғылыми — регламенттелген көзқарастың болмауы осы бағытта ғылыми зерттеулердің қажеттілігін айқындады. Осыған байланысты жаңа жоғары өнімді штаммдарды — лимон қышқылы продуценттерін құру, шикізаттың жаңа көздерін іздеу және қоректік ортаны ашытуға дайындаудың ғылыми негізделген технологиялық тәсілдерін әзірлеу және өнеркәсіпке жаңа технологияларды енгізу өзекті бола түсуде.

Кілт сөздер: лимон қышқылы, тереңдік ашыту, *aspergillus niger*, ферментатор, меласса, мицелий, штамм, конидия.

Кіріспе

Лимон қышқылының тиімді штамдарын алу үшін лимон қышқылының продуценті — *Aspergillus niger* мицелиалды грибімен селекциялық жұмыстың принциптері мен әдістері ғылыми негізделген.

Шикізаттың жаңа түрлеріне қойылатын талаптар тұжырымдалған. Олардың химиялық және технологиялық параметрлері анықталды, бұл лимон қышқылының бағытталған синтезін қамтамасыз ететін өндірушінің нақты өсіру жағдайларын анықтауға мүмкіндік береді.

Көмірсулардың бастапқы концентрациясының кең диапазонында қызылша мен қамыс, крахмал және құмай шырыны негізінде алынған қоректік ортада таңдалған штамдарды ашытудың технологиялары жасалды. Ұсынылған технологиялар шикізаттың сапасына, болуына және құнына байланысты икемді технологиялық процесс режимінде жұмыс істеуге мүмкіндік береді. Әр түрлі технологиялық сападағы шикізатты өнеркәсіптік масштабта қолдануға мүмкіндік беретін технологиялық әдістер жасалды.

Бірқатар экологиялық проблемалар экологиялық қауіпті реагенттердің қоректік ортасын дайындау және экологиялық таза шикізатқа көшу кезінде азайту немесе толығымен алып тастау арқылы шешілді [1].

Жүргізілген ғылыми зерттеулер шикізат шығынын азайтуға, лимон қышқылын тереңдік әдіспен алуға, ферменттеу цехтарының өнімділігін арттыруға және өнімнің өзіндік құнын

төмендетуге байланысты бірқатар практикалық міндеттерді шешуге мүмкіндік берді, бұл салалық техникалық құжаттамаға жаңа технологиялық шешімдерді енгізуге негіз болды.

Мақсаты: Лимон қышқылын өндіру цехын әзірлеу және жобалау және өндіруші штаммдарды таңдауға және құрамында көмірсуы бар әртүрлі шикізатты ашытуға дайындауға ғылыми негізделген тәсілдердің негізінде лимон қышқылын өндірудің жоғары тиімді бәсекеге қабілетті технологияларын құру.

Міндеттері:

1. *Aspergillus niger* саңырауқұлағының лимон қышқылының өндіруші штамдарын таңдап, таңдалған штамдардың ықтимал мүмкіндіктерін ашу.
2. Лимон қышқылының мақсатты синтезін қамтамасыз ететін *Aspergillus niger* өсіру шикізатын зерттеу және шикізатты ашытуға дайындау әдістерін жасау.
3. Икемді технологиялық процесті құру үшін қоректік ортада лимон қышқылының тұқымдық штамдарын ашыту технологиясын жасау.
4. Лимон қышқылын тереңдік әдіспен өндіру технологиясын жобалау

Материалдар мен әдістер

Лимон қышқылын бірінші рет 1785 жылы фармацевт Карл Шиеле піспеген лимон шырынынан оқшаулаған және XX ғасырдың 30-жылдарына дейін негізінен Италияда цитрус жемістерінен өндірілген. 1934 жылы Чехословакияда, ал 1935 жылы Кеңес Одағында қант *Aspergillus niger* қалыптарының көмегімен биохимиялық синтез әдісімен лимон қышқылының өндірісі құрылды. Сонымен қатар, өндіріс технологиясының өзі ұтымсыз болды, өйткені 1 тонна лимоннан шамамен 25 кг таза өнім алынды. Бүгінгі таңда тағамдық лимон қышқылын өндіру технологиялық және ресурстарды көп қажет ететін әдістерде ұйымдастырылады, олар меласса мен ашыту сияқты түбегейлі жаңа қоспаларды қолдануды қамтиды. Соңғы кездері лимон қышқылын дайындау үшін көп таралған шикізат қызылша мелассасы болып табылады.

Мамандар атап өткендей, антиоксидант және антиоксидантты синергетикалық қасиеттері арқасында лимон қышқылы бүгінде тамақ өнеркәсібінің барлық өнімдерінің жартысында дерлік көлемінде қолданылады. Бұл қышқылдандырғыштың танымалдылығы оның гастрономиялық ерекшеліктеріне ықпал етеді. Кез-келген жағдайда, осы типтегі балама өнімдермен салыстырғанда бұл қышқылдың жағымды және жұмсақ дәмі бар. Әсіресе, бұл қасиеттер сусындар мен кондитерлік өнімдерде көрінеді. Лимон қышқылы тірі организмдердің метаболизмінде де, тамақ өнеркәсібінде де маңызды қосылыс болып табылады. Ол жұмсақ дәмге ие, асқазан-ішек жолдарының шырышты қабығын тітіркендірмейді және денеге толық сіңеді. Косметикалық индустрияда лимон қышқылы көптеген косметикалық заттардың бөлігі болып табылады: эликсирлер, сусабындар, шаш түзеткіштері және т.б. негізінен рН реттегіші ретінде қолданылады. Қалыпты пайдалану кезінде лимон қышқылы ұйқы безінің қызметін ынталандырады, тәбетті ынталандырады және тағамның сіңуіне ықпал етеді. Ашытудың жанама өнімдері де қолданылады: саңырауқұлақ мицелийі және культуралық сұйықтық. Мицелий кептіріліп, шикізат ретінде пайдаланылады немесе тыңайтқыштарға қосылады.

Хитозан мицелийден алынған глюкан кешені жануарлардың хитозанына қарағанда жақсы хелатирлеу қасиеттеріне ие. Лимон қышқылы қышқылдандырғыш, антиоксидантты синергетикалық және түсті тұрақтандырғыш ретінде өнімдердің кең ассортиментін дайындауда қолданылады. Лимон қышқылының бір, екі және үш алмастырылған калий, натрий, кальций, аммоний және магний тұздары тағамдық жүйелердің қышқылдығын реттеу үшін және кондитерлік істе тұрақтандырғыш, кешенді түзуші, тұз алмастырушы ретінде, алкогольсіз сусындар (мысалы, лимонадтар, фанттар және т. б.) алу кезінде пайдаланылады. Балық өнімдерін консервілеу содан кейін сығынды буланып, қайнатылған кезде кальций карбонатымен бейтараптандырылады. Кальций цитраты суспензиясы 50% күкірт қышқылымен бөлініп, ыдырайды [2]. Қышқыл ерітіндісі белсендірілген көмірмен ағартылады, буланып, нәтижесінде пайда болған сироп салқындатылады, осылайша кристалды лимон қышқылын алады (өнімділігі 40% дейін). Микроскопиялық саңырауқұлақтардың әртүрлі кластарына жататын *Aspergillus* және басқа ұрпақтардың басқа түрлерін қолдануға патенттер

бар: *A. wentii*, *A. lichinensis*, *A. awamori*, *A. carbonarius*, *A. glaucus*, *A. fumaricus*, *A. cinnamomeus*, *A. aureus*, *A. melleus*, *A. ochraceus*, *A. A. gorakphurensis*; *Penicillium luteum*, *P. restrictum*, *P. adamantzii*, *P. arenarium*, *P. olivaceum*, *P. divaricatum*, *P. glaucum*; *Mucor piriformis*; *Trichoderma viride*; *Botrytis sp.*; *Nematospora corily* және т. Б [3].

Лимон қышқылы өндірісі және алу әдістері. Лимон қышқылын химиялық әдістермен өндіру экономикалық тұрғыдан мүмкін емес: шикізаттың құны патока құнынан едәуір жоғары; көп сатылы технология, өте улы реагенттерді қолдануды талап етеді және мақсатты өнімнің салыстырмалы түрде төмен шығымдылығын береді. Сондықтан әртүрлі органикалық қосылыстардың химиялық синтезі саласындағы үлкен прогреске қарамастан, лимон, сүт және басқа да қышқылдар сияқты салыстырмалы түрде қарапайым заттар микроорганизмдер көмегімен қант құрамындағы шикізаттан шығарылады. Жасушада сериялық ферментативті жүзеге асырудағы микробтық әдістің артықшылығы - бір өндіріс сатысында химиялық реакциялардың едәуір көп саны-ашыту. Бұл технологияны жеңілдетеді, қышқылдардың шығуын арттырады және олардың құнын төмендетеді.

Өндірудің сатылары:

- қышқыл ашыту ортасы үшін қажетті жағдайларды қамтамасыз ету үшін шикізатты технологиялық дайындаудың оңтайландырылған процестері;
- егіс материалын алу(спораларды арнайы ұйымдастырылған жағдайда көбейту);
- ферментация процесіне меласса шикізатын дайындау;
- ауаны залалсыздану және дайындау;
- ферментация (ашыту);
- қышқылды ферментациялық ерітінділерден бөлу. Бөлу әдістері көбінесе өнімнің түпкілікті сапасын анықтайды. Мицелия – продуцентінің биомассасын бөлу [4].

Лимон қышқылының тиімді штамдарын таңдау. Лимон қышқылын өндіруге арналған штамдар мынадай негізгі талаптарға жауап беруі тиіс:

- 1) лимон қышқылының өндіріске енгізілген қант массасына көбірек шығуы және оны тез ашытуы;
- 2) генетикалық біртекті болуы;
- 3) сыртқы әсерлерге төзімді болуы тиіс.

Лимон қышқылының шығуы лимон қышқылының түзілуіне, жанама қышқылдарға, саңырауқұлақтың биомассасын синтездеуге және тыныс алуға, сондай-ақ қант ассимиляциясының толықтығына байланысты. Ашыту процесінің соңында культуралық сұйықтықта қант неғұрлым аз болса және ол лимон қышқылының түзілуіне көбірек түссе, басқа шығындар азайған сайын, штамм өнімділігі соғұрлым жоғары болады.

Aspergillus niger қазіргі уақытта 120-дан астам түрі бар *Aspergillus* тұқымдасына жататын *Aspergillus* тұқымдасы (*Ascomycetes*), марсупиалды саңырауқұлақтар класына жатады. Саңырауқұлақтың денесі мицелийді (мицелий) құрайтын түссіз, жоғары тармақталған және бір-бірімен байланысқан жұқа гиф жіптерінен тұрады. Гиф бөлінеді - көлденең бөлімдермен (септа) жасушаларға бөлінеді. Гиф диаметрі 3-тен 6 мкм-ге дейін. Өндіріс тұрғысынан *A. niger* және басқа мицелиалды саңырауқұлақтардың айтарлықтай кемшіліктері бар: олар баяу өседі, нәтижесінде биомассаның қажетті мөлшерін жинақтау процесі ұзаққа созылады; ньютондық емес аймаққа өтетін культуралық сұйықтықтың жоғары тұтқырлығы масса алмасуды қиындатады, атап айтқанда саңырауқұлақты ауаға оттегімен қамтамасыз ету араластыруға энергия шығынын арттырады. Белгісіз микроорганизмдерді - ашытқыны, кемшіліктері жоқ бактерияларды іздеу және таңдау перспективалы болып табылады. Бұл әсіресе ашыту процесін үздіксіз ағынға ауыстыру үшін қажет. Шикізаттың кез-келген түрін пайдалану кезінде қоректік ортаның оңтайлы құрамымен және ашыту режимімен бірге өндіріс тиімділігі қолданылатын *A. niger* штаммымен анықталады.

Ашыту жылдамдығын арттыру да маңызды. *A. niger* өмірлік белсенділігі тамақтану, тыныс алу, өсу процестерінде және сыртқы тітіркенуге реакцияларда көрінеді. Денедегі

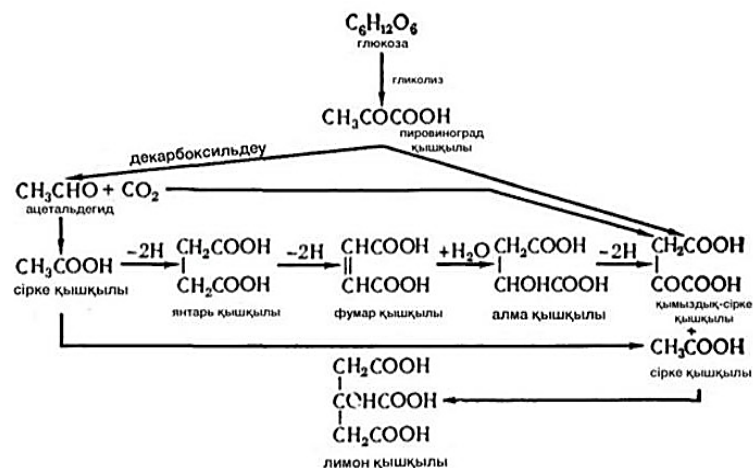
жасушалық заттарды синтездеу және энергия алу үшін қажет тамақтану және тыныс алу метаболизмінің негізі болып табылады. Қоректену түрі бойынша аспергиллдер органикалық қосылыстардан көміртекті сіңіретін гетеротрофты организмдерге жатады. Ортада витаминдер болуы мүмкін (мкг/г): тиамин 150; рибофлавин 70-85; пантотен қышқылы 244-727; мникотинамид 120-840; фолий қышқылы 210; цианкобаламин 178. Ортада дәрумендердің болуы міндетті емес деген пікір бар, өйткені *A. niger* оларды өздігінен синтездей алады. Дегенмен, олардың кейбіреулері қоректік ортада болғаны жөн. Сонымен, биотин барлық организмдердің қалыпты жұмыс істеуі үшін қажет. Қоректік ортаға аз мөлшерде биотин қосу *A. niger* өсуін ынталандырады. Пантотен қышқылының қосылуы ұқсас әсер етеді [5]. Лимон қышқылының түзілуі тиаминмен ынталандырылады. 1-кестеде лимон қышқылының физико-химиялық параметрі келтірілген.

Кесте 1 – Лимон қышқылының физико-химиялық параметрлері

Сыртқы көрінісі	Түссіз кристаллдар
Молярлық массасы	192,12 г/моль
Тығыздығы	1,665 г/см ³
Балқу температурасы	153,5°C
Ыдырау температурасы	175°C
20°C кезінде суда ерігіштігі	133 г/100 г су
100°C судағы ерігіштігі	525 г/100 г су

Лимон қышқылының түзілу химизмі. Лимон қышқылының синтезі дикарбон қышқылдарының циклімен байланысты және төрт көміртегі атомы және екі карбоксил тобы бар қышқылдың екі көміртегі атомы және бір карбоксил тобы бар қышқылдың конденсациясы нәтижесінде пайда болады. иясы нәтижесінде пайда болады (1-сурет).

Глюкозаның гликолизі нәтижесінде пирув қышқылы пайда болады. Келесі кезеңде пирув қышқылының көмірқышқыл газымен ферментативті байланысы жүреді. Алынған оксалацет қышқылы одан әрі сірке қышқылымен әрекеттеседі және лимон қышқылы түзіледі. Осылайша, лимон қышқылының түзілу химиясына гликолиз реакциясы және Кребс цикліне енген бірқатар реакциялар жатады. Осы циклдің әр айналымында оксалацет қышқылы молекуласы лимон қышқылын түзіп, сірке қышқылы молекуласымен әрекеттеседі [6].



Сурет 1 – Лимон қышқылының түзілу химизмі

Себу материалын алу. Лимон қышқылын беттік және терең әдістермен өндіру үшін *Asp.niger* оқшауланған штамдары қолданылады. Бастапқы дақылдар белсенді көмір қоспасында құрғақ споралар (конидиялар) түрінде сақталады. Тұқым дайындау үшін микробиологиялық

тазалық пен биохимиялық белсенділікке мұқият тексерілген мұражай культураны қолданылады. Тұқым агаризацияланған ортасы бар пробиркаларда (суло-агар, Журавский қоректік ортасы және т.б.), содан кейін колбалар мен кюветтерде - қатты қоректік ортада көбейеді. Әр кезеңнің ұзақтығы 2-7 күн, оңтайлы өсіру температурасы 32°C. Өсіру процесінде тығыз мицелиалды пленка қатты ортаның бетінде дамиды, содан кейін ол конидиялармен жабылады. Соңғы кезеңде (кюветтерден) жетілген конидиялар арнайы вакуумдық құрылғының көмегімен жиналады. Сақтау мерзімін ұзарту үшін конидияны отыз екі градус температурада кептіреді, стерильді толтырғышпен - белсенді көмірмен немесе талық қоспасымен 1:2 қатынасында араластырады. Осылайша өңделген конидияны бірнеше жыл сақтауға болады. Кюветтің 10 дм² ауданынан 3-4 г құрғақ конидий алынады (бір кюветтің ауданы 9 дм²). Дайын тұқым стерильді шыны ыдыстарға немесе сыйымдылығы 0,5-тен 1 литрге дейін банкаларға салынған. Конидиялардың кепілді жарамдылық мерзімі шығарылған күннен бастап кемінде 6 ай [7].

Мелассаны ашытуға дайындау кезеңі. Көптеген органикалық заттар, негізінен қант, лимон қышқылын алу үшін ашытылады. Жақсы шығыс әдетте көміртегі көзі ретінде глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза қолданылған жағдайда алынады. Лимон қышқылын өнеркәсіптік өндіру үшін әдетте субстрат ретінде қант өндірісінің қалдықтары - меласса қолданылады.

Меласса-стандартты емес шикізат, оның химиялық құрамы қант қызылшасының сапасына, өңдеу технологиясына және сақтау жағдайларына байланысты. Мелассаның лимон қышқылын өндіруге жарамдылығы алдын-ала биохимиялық сынақтар негізінде анықталады. Меласса ерітінділері *Asp sañырауқұлағының* тиісті штаммының беткі және терең дақылмен ашытылады. *niger*. Егер лимон қышқылын бақылап ашыту кезінде алу кемінде 1,25 кг/(м²- тәулік), терең тәсілмен алу - 10-12 кг/(м³-тәулік) болса, меласса лимон қышқылын өндіру үшін беттік тәсілмен жарамды деп есептеледі.

Келесі екінші кестеде мелассаның құрамындағы минералды заттар келтірілген.

Кесте 2 – Меласса құрамында минералды заттардың болуы

Элемент	100 г меласса шаққандағы саны	Элемент	100 г меласса шаққандағы саны
Бор	0,20-0,42	Никель	0,16-0,76
Темір	8,3-26,6	Қалайы	0,10-0,41
Кобальт	0,10-0,76	Қорғасын	0,21-0,61
Кремний	6,6-54,7	Стронций	4,0-59,4
Марганец	1,0-7,6	Титан	0,21-0,70
Мыс	0,50-9,8	Фтор	0,21-0,70
Молибден	0,02-0,26	Мырыш	2,0-3,3

Жақсы ашытылған мелассалардың құрамында әдетте 1,0% - дан аспайтын инвертті қант, 1% СаО, 0,06% SO₂, құрамында 75%-дан кем емес қатты заттар және 46%-дан астам қант бар. Ашыту әдісіне байланысты меласса сұйылтылған және қанттың әртүрлі концентрациясы бар ерітінділер дайындалады: беттік өсіру үшін *Asp.niger* 13-15% дейін, терең өсіру үшін - 3-4% және 25-28%. Күкірт қышқылымен дайындалған ерітінділерде рН 6,8-7,5 дейін реттеледі. Өңделмеген мелассаны өндіруші микроорганизм нашар игереді және ашытады, өйткені саңырауқұлақтың қалыпты өсуіне және белсенді қышқыл түзілуіне қажетті заттармен қатар, құрамында саңырауқұлақтардың өсуін тежейтін және лимон қышқылының түзілу процесін тежейтін минералды және шектеулі қоспалар бар. Бұл ауыр металл иондары, ең алдымен темір. Меласса, жоғарыда айтылғандай, лимон қышқылын алу үшін шикізаттың жалғыз көзі емес. Соңғы жылдары әлемнің әртүрлі елдерінде лимон қышқылын алу әдістері көміртегі көзі ретінде Н-парафиндер, глицерин, этанол, сірке қышқылы, май, жануарлар немесе өсімдік майлары бар ортада микроорганизмдерді, негізінен *Candida* тектес ашытқыларды өсіру арқылы патенттелген [8].

Нәтижелер мен талқылаулар

Лимон қышқылының өнеркәсіптік өндірісінде процестің бірнеше нұсқалары қолданылады.

- беттік культивирлеу;

- тереңдік культивирлеу.

Тереңдік әдіс көміртегі бар шикізаттың кең жиынтығын өңдеуге мүмкіндік береді, ол патоканың сапасына соншалықты қажет емес, сондықтан оның нашарлауының жалпы фонында маңызды артықшылық болып табылады. Бұл әдіс бойынша ашыту жылдамдығы жоғары, бір құрылғыда бірден культуралық сұйықтықтың көп мөлшері алынады және ол көптеген кюветтерде жиналмайды, бұл технологияны жеңілдетеді. Ашыту қол еңбегін жоятын үздіксіз, толық механикаландырылған процеске көшу үшін қажетті алғышарт болып табылатын стерильді жағдайларда жүргізіледі.

Егер беттік әдіс өзінің әлеуетті мүмкіндіктерін сарқып, ескірген болса, онда терең әдіс қазіргі заманғы биотехнологияның барлық талаптарына жауап береді және даму сатысында. Болашақта үздіксіз ашытуды дамыту процестің өнімділігі мен тиімділігін арттырады. Беттік әдіс басқа артықшылықтарға ие: культуралық сұйықтықтағы лимон қышқылының концентрациясы жоғарырақ, жанама қышқылдар әлдеқайда аз түзіледі, нәтижесінде ашыту кезінде патока азаяды және культуралық сұйықтықтарды химиялық өндеуде аз шығын болады. Үстірт әдіспен саңырауқұлақ аэрация үзілістеріне аз сезімтал болады. Ашыту процесін күту және бақылау қарапайым, проблемалар камерадағы ауа температурасын жоғары сыртқы температурада ұстап тұру қажет болған жағдайда ғана пайда болады [9].

Тереңдік культивирлеу әдісі. Қазіргі зауыттарда саңырауқұлақты терең өсіру әдеттегі, ол бірінші процеске қарағанда жоғары өнімділікпен сипатталады. Бұл жағдайда инокуляцияланған орта араластырумен және аэрацияны бақылаумен жақсы газдалған ферментерлерге құйылады. Терең ашыту әртүрлі нұсқаларда мүмкін: мерзімді және үздіксіз. А. пігер саңырауқұлағын терең өсіру кезінде лимон қышқылын алу процесі 50 м^3 ферментаторларда жүзеге асырылады. Тұқым ретінде көлемі 10 м^3 болатын себу аппараттарында алынған өсіп келе жатқан мицелий қолданылады. Егу үшін де, өндірістік ферментаторлар үшін де меласса ерітіндісі беткі өсіру сияқты дайындалады, ашыту тереңдігіне арналған патоканың бастапқы ерітіндісінде 4% - дан аспайтын қант болуы керек. Ашыту кезінде, қант концентрациясы күрт төмендеген кезде, құрамында 25-28% қант бар стерильді меласса ерітіндісін бөлшек қосу жүзеге асырылады. Бұл ерітінді ферментатордағы қант концентрациясы 12-15% болатындай мөлшерде қосылады. Қоректік ортамен толтырылған егу машинасына конидия суспензиясы себіледі, ол термостатта 5-6 сағат бұрын $32 \text{ }^\circ\text{C}$ температурада сақталады, дақыл $34\text{-}35 \text{ }^\circ\text{C}$ температурада үнемі араластырылып, аэрациямен өсіріледі. Өсіру процесінде ферментаторға ауа беру режимі қатаң бақыланады, оның шығыны ашыту аяқталғаннан кейін шамамен 10 есе артады. O_2 қанығудың кемінде 20-25% концентрациясында болуы тиіс. Органың қарқынды көбіктенуі кезінде химиялық көбіктендіргіш (олеин қышқылы) кішкене бөліктерге енгізіледі. Мицелийді өсіру процесі культуралық сұйықтықтағы қышқыл мөлшері 1-2% жеткенде 30-36 сағаттан кейін аяқталады. Өсіп келе жатқан мицелий қоректік ортаны өндірістік ферментаторға себу үшін беріледі. Ферментатордағы қышқыл түзілу процесі үздіксіз аэрация кезінде және $31\text{-}32 \text{ }^\circ\text{C}$ температурада 5-7 күнге созылады, ауа шығыны біртіндеп процестің басында $400 \text{ м}^3/\text{сағ}$ -тан ашыту соңында $2200 \text{ м}^3/\text{сағ}$ -қа дейін артады. Тұздық ерітіндісінің бөлшек қоспасы 2-3 рет, қант концентрациясын сақтай отырып, ерітіндіде 12-15% аралығында жүзеге асырылады. Процестің аяқталуы қанттың жалпы қышқылдығы мен концентрациясымен анықталады. Ашыту процесі аяқталғаннан кейін культуралық сұйықтық өткір бумен $60\text{-}65 \text{ }^\circ\text{C}$ дейін қызады және жинаққа құйылады, сол жерден мицелийдің биомассасын бөліп, жуу үшін вакуумдық сүзгіге жіберіледі. Жуылған мицелий мал азығы ретінде қолданылады. Лимон қышқылының негізгі ерітіндісі жуу суларымен бірге лимон қышқылын шығару үшін химиялық цехқа жіберіледі. Ашытудың экстракциялық-үлестік әдісі-белсенді процесс кезінде сұйықтықтың тиісті алдын-ала босатылуымен меласса ортасын қосу жалғасуында болып табылады. Басында ашыту режимге сәйкес жүзеге асырылады, әдетте мерзімді әдіс үшін, содан кейін 3-4 дозада немесе қосымша

ортада үнемі қосылады. Тұздық ашыту процесінің соңына дейін 36 сағат бұрын тоқтатылады, ол 12 күнге созылады. Циклдегі қанттың жалпы мөлшері бастапқы көлемге қайта есептегенде шамамен 30% құрайды (бастапқы 3% концентрацияда). Қосымша тұздықтар кезінде қанттың 1,2 - 1,5% концентрациясы сақталады. Әр ауырлықтың алдында пайдаланылған сығылған ауаға және азотқа қанша су қосылса, сонша су қосылады [10].

Лимон қышқылын шығаратын өндіріс орнын таңдау. Лимон қышқылын алатын цехты Тараз қаласында жобалаймын. Өйткені бұл қалада қант өндіру зауыты бар. Сондықтан шикізатты, яғни мелассаны тасымалдау, сатып алу, арзанға түседі. Орташа жылдық температурасы 17°C. Судың айлық орташа температурасы -9,3°C. Қысқа есепті температура 35°C. Салыстырмалы мезгілдің ұзақтылығы 206 күн. Топырақтың тоңу тереңдігі 1,8 м. Лимон қышқылының культуралық сұйықтығы фильтратын алу цехы биіктігі 4,8 м³ қабатты ғимараттан тұрады. Ғимараттың ені 24 м, 1 аралықпен және бағандар торымен 6x6 М. Ғимараттағы баспалдақтар қабаттар арасындағы қысқа және ыңғайлы өтулерді және өрт кезінде адамдарды ұйымдасқан түрде эвакуациялауды қамтамасыз ететіндей орналастырылады. Баспалдақтар баспалдақтарда орналасқан, олардың қабырғалары әдетте кірпіштен салынған, олардың отқа төзімділік шегі 2-2,5 сағат, баспалдақтың ені 1350 мм, ал баспалдақтардың биіктігі 1,2 м, еденнің биіктігі 4,8 м, 4 баспалдақ қойылады. Баспалдақтар темірбетон платформаларынан және шерулерден тұрады. Өндірістік ғимараттағы жабдықты өнімнің технологиялық ағымы қағидаты бойынша орналастыру керек [11].

Технологиялық жабдықты орналастыру кезінде мынадай нормалар сақталған: өндірістік және жабдық қабырғалары арасындағы өту жолдарының ені - кемінде 1 м, жабдық арасында-кемінде 1 м мерзімді тексеруді және қарауды талап ететін жабдықтар мен аспаптарға қызмет көрсету және жөндеу үшін - кемінде 0,7 м. Технологиялық жабдықты орналастыру терезе саңылаулары бар сыртқы қабырғалар бойымен жүзеге асырылады, өйткені жабдыққа ыңғайлы қызмет көрсету үшін бөлмелер ашық және кең болуы керек. 1,8 м-ден астам биіктікте қызмет көрсетудің қолайлылығы мен қауіпсіздігі үшін мынадай жабдықтар: қоректік ортаны дайындауға арналған араластырғыштар; рН реттеуге арналған көбік сөндіргіш пен ерітінді дайындауға арналған себу аппараттары мен реакторлар, культуралдық сұйықтықты жинауға арналған реакторлар - стационарлық алаңдар мен көлбеу бұрышы 45° - тан аспайтын (баспалдақтың биіктігі 1,5 м-ге дейін болғанда) және көлбеу бұрышы 45° - тан аспайтын 60° - тан жоғары (баспалдақтардың биіктігі 1,5 м-ден жоғары). Алаңшалардың ені кемінде 0,7 м, таянышы биіктігі 1 м және қадамы 1,2 м аспайтын тік тіреулері болуы тиіс. Баспалдақтардың ені 0,8 м, баспалдақтардың баспалдақтары арасындағы қашықтық биіктігі 0,15 м, ал баспалдақтардың ені 0,3 м, баспалдақтардың ұзындығы 3 м аспауы керек. Су құбырларының, бу құбырларының, ауа өткізгіштердің барлық құбырлары МЕСТ бойынша "Түстер және қауіпсіздік белгілері" бойынша тиісті бояуларға боялған: су - жасыл, бу - қызыл, ауа - көк, газдар - сары, қышқылдар - қызғылт сары, сілтілер - күлгін, сұйықтықтар - қоңыр, өзге де заттар (қоректік орта, культуралдық сұйықтық, ферменттік ерітінділер)- сұр, өртке қарсы құбырлар қызыл түске боялады.

Құбырларды төсеу кезінде олардың жарамдылығын бақылау және герметикалығын тексеру қажеттілігі ескеріледі. Қоректік орталарды дайындау және стерильдеу және ферменттеу бөлімшесі, кептіру бөлімшесі жылудың артық бөлінуі салдарынан басқа үй-жайлардан оқшауланған. Жылу бөлуді азайтуға және күйіктерді болдырмауға арналған жабдықтар (ферменттерлер, инокуляторлар, реакторлар) және құбырлар сыртқы бетіндегі температура 45°C-тан аспауы үшін жылу оқшаулау қабатымен жабылған [12].

Лимон қышқылын өндірудің технологиялық сызбанұсқаның сипаттамасы. Меласса ерітінділерін ашытудың терең әдісімен процесс сыйымдылығы 50 м³ болатын ферментаторларда жүргізіледі, бір реттік тиеу - 38 м³. Конидиялар сыйымдылығы 5 м³, жұмыс көлемі 3 м³ болатын себу аппараттарында өніп шығады. Барлық аппараттар тот баспайтын Х18Н9Т болаттан жасалған. 3-4% қант бар меласса ерітіндісі пісіру қазандығында дайындалады. Меласса қайнаған сумен сұйылтылған, рН 7,0-7,2. Қайнаған кезде темірді кетіру үшін сары қан тұзы қосылады. Аммоний хлориді мен магний сульфатының ерітінділері реттелетін мөлшерде енгізіледі.

Дайындалған ерітінді 12-15 минут ішінде 128- 130°C кезінде стерильденеді. K_2HPO_4 және $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ стерильді ерітінділері себу аппаратында 35-36°C дейін салқындатылған меласса ерітіндісіне қосылады. Өндірістік ферментатор үшін меласса ерітіндісі бірдей ретпен дайындалады. Қоректік тұздардың ерітінділері бөлек дайындалады және 120-125°C температурада зарарсыздандырылады. Ауырлататын ерітіндінің қант бойынша 25-28%-дық концентрациясы және негізгі ашытылатын ерітінді сияқты 34-36°C температурасы болуы тиіс. Тұздық ерітіндісі жинаққа жіберіледі. Себу аппараты алдын ала дайындалған конидий суспензиясымен себіледі (3 г құрғақ конидий меласса немесе қоректік ортаның 2-3л стерильді ерітіндісіне малынған). Культура 34-35°C температурада тұрақты араластыру, бөлшек аэрациямен және 10-20 кПа аппаратындағы артық қысым кезінде өсіріледі [13].

Қорытынды

Қорыта келгенде, лимон қышқылын алу процесінде алынған өнімнің сапасымен технологи- ялық тәртіптердің тұрақтылығы негізінен автоматты регулятор мен -бакылау-өлшегіш құралдардың жұмысына байланысты. Реактордың тұрақты жұмыс істеуі, шикізат құрамының тұрақтылығында, теңдей көлемде шикізаттың келуінде және өнімнің кетуінде (материалдық баланс), колоннаға келіп жатқан шикізатпен шығып жатқан өнімнің жылуында (жылу балансы) және де колоннадағы тұрақты қысымында болуы мүмкін.

Технологиялық тәртіпті дұрыс жүргізу үшін, негізгі параметрлердің процеске және алынған өнімнің сапасына әсерін білу қажет.

Конденсаторға баратын салқындатушы су көлемінің азаюы немесе қысым реттегішінің жөндеуге келмеуі колоннадағы қысымның өзгеруіне алып келеді. Насос тоқтап қалған жағдайда, айнымалы су қамтамасыздандыру жүйесінде конденса- циялық шарты қарқын нашарлап, суғару сыйымдылықтарындағы өнімнің бар- лық қысымы көбейіп, колоннадағы қысымның жоғарылауына алып келеді. Кон- денсацияның нашарлауы тағы да конденсаторлық құбырлық түйіндерде қақтар- дың пайда болуынан болуы мүмкін, әсіресе жазғы кездерде.

Сондықтан конденсаторлы-тоңазытқыштарды қалдықтар мен қақтардан жиілеп тазалап түру керек. Реактордағы қысымның ауытқуына реттегіш клапан- ның кешігіп ашылуы немесе кешігіп жабылуы себеп болуы мүмкін. Мұндай жағдайларда бұзылған жерлерді тауып және жою керек.

ӘДЕБИЕТТЕР:

1. Древин, В.Е. Технологические основы получения лимонной кислоты. / В.Е. Древин, Т.А. Шипаева, В.И. Комарова // Издательство Волг. гос. аграрного университета. – 2016. – с.250-278.
2. Муратова, Е.И. Биотехнология органических кислот и белковых препаратов: учебное пособие / Е.И. Муратова, О.В. Зюзина, О.Б. Шуняева. // Изд- во Тамб.гос.техн.ун-та –2007. с. 80–100.
3. Иванова Л.А., Войно Л.И., Иванова И.С., Пищевая биотехнология. Книга 2. Переработка растительного сырья / Под ред. Грачевой И.М. – М.: КолосС, 2008. – 472с.
4. Scaravilli, V. Effects of sodium citrate, citric acid and lactic acid on human blood coagulation. / Scaravilli V, Di Girolamo L, Scotti E, Busana M, Biancolilli O, Leonardi P, Carlin A, Lonati C, Panigada M, Pesenti A, Zanella A. // Perfusion. – 2018. – с. 12-14.
5. ГОСТ 31726-2012 Добавки пищевые. Кислота лимонная безводная E330. Технические условия (с Изменением N 1, с Поправкой)
6. Биотехнология. Аубакиров Х.Ә., Алматы: ЖШС РПБК Дәуір, 2011 -368 б.
7. Жұбанова А.А., Абдиева Ж., Шөпшібаева Қ. К. Биотехнология негіздері.-Алматы: Қазақ университеті, 2006.-256бет.
8. Әлмағамбетов Қ.Х. Биотехнология: оқу құралы.-Астана: «Республика- лық микроорганизмдер коллекциясы», 2011.-316 бет.
9. Гончаров А.В., Ибраев Р.Р., Стоякова К.Л., Бесфамильная Е.М. - Аппа- ратное и программное обеспечение интеллектуальных систем управления/ Учебно-методический комплекс для студентов специальности 27.04.04 - «Управ- ление в технических системах» – М.: МГУТУ им. К.Г. Разумовского, 2015

10. Тимонин, А.С. Основы конструирования и расчета химико-технологического и природоохранного оборудования. Справочник / А.С. Тимонин // Издательство МГУИЭ – 2015. – с.356-359.
11. Yu, B. Continuous citric acid production in repeated-fed batch fermentation by *Aspergillus niger* immobilized on a new porous foam. / Yu B, Zhang X, Sun W, Xi X, Zhao N, Huang Z, Ying Z, Liu L, Liu D, Niu H, Wu J, Zhuang W, Zhu C, Chen Y, Ying H. J // *Biotechnol.* – 2018. – с.5-7.
12. Berovic, M. Citric acid production / Berovic M, Legisa M. // *Biotechnol Annu Rev.* – 2007. – с.23-27.
13. Karaffa, L. Citric acid and itaconic acid accumulation: variations of the same story / Karaffa L, Kubicek CP. // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2019. – с.6-8.

REFERENCES:

1. Drevin, V.E. Tehnologicheskie osnovy polucheniya limonoi kisloty. / V.E. Drevin, T.A. Şipaeva, V.İ. Komarova // *İzdatelstvo Volg. gos. agrarnogo universiteta.* – 2016. – s.250-278.
2. Muratova, E.İ. Biotehnologia organicheskikh kislot i belkovykh preparatov: uchebnoe posobie / E.İ. Muratova, O.V. Züzina, O.B. Şunäeva. // *İzd-vo Tamb. gos. tehn. un-ta* – 2007. – s. 80–100.
3. İvanova L.A., Voino L.İ., İvanova İ.S., Pişevaia biotehnologia. Kniga 2. Pererabotka rastitelnogo syrä / Pod red. Grachevoi İ.M. – M.: Kolos, 2008. – 472s.
4. Scaravilli, V. Effects of sodium citrate, citric acid and lactic acid on human blood coagulation. / Scaravilli V, Di Girolamo L, Scotti E, Busana M, Biancolilli O, Leonardi P, Carlin A, Lonati C, Panigada M, Pesenti A, Zanella A. // *Perfusion.* – 2018. – s. 12-14.
5. GOST 31726-2012 Dobavki pişevye. Kislota limonaia bezvodnaia E330. Tehnicheskie uslovia (s İzmeneniem N 1, s Popravkoi)
6. Biotehnologia. Aubakirov H.Ä., Almaty: JŞS RPBK Däuir, 2011 -368 b.
7. Jübanova A.A., Abdieva J., Şöpşibaeva Q. K. Biotehnologia negızderi.-Almaty: Qazaq universiteti, 2006.-256bet.
8. Älmağambetov Q.H. Biotehnologia: oqu qūraly.-Astana: «Respublika-lyq mikroorganizmder koleksiasy», 2011.-316 bet.
9. Goncharov A.V., İbraev R.R., Stoiakova K.L., Besfamilnaia E.M. - Apparatnoe i programnoe obespechenie intellektualnykh sistem upravleniä/ Uchebno-metodicheski kompleks dlä studentov spesiälnosti 27.04.04 - «Upravlenie v tehniceskikh sistemah» – M.: MGUTU im. K.G. Razumovskogo, 2015
10. Timonin, A.S. Osnovy konstruirovaniya i rascheta himiko-tehnologicheskogo i prirodoohrannogo oborudovaniya. Spravochnik / A.S. Timonin // *İzdatelstvo MGUİE* – 2015. – s.356-359.
11. Yu, B. Continuous citric acid production in repeated-fed batch fermentation by *Aspergillus niger* immobilized on a new porous foam. / Yu B, Zhang X, Sun W, Xi X, Zhao N, Huang Z, Ying Z, Liu L, Liu D, Niu H, Wu J, Zhuang W, Zhu C, Chen Y, Ying H. J // *Biotechnol.* – 2018. – с.5-7.
12. Berovic, M. Citric acid production / Berovic M, Legisa M. // *Biotechnol Annu Rev.* – 2007. – s.23-27.
13. Karaffa, L. Citric acid and itaconic acid accumulation: variations of the same story / Karaffa L, Kubicek CP. // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2019. – с.6-8.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

Нурсұлтанов М.Е.¹, Амитова А.А.²

¹*Казахский Национальный исследовательский технический университет имени К.И. Сатбаева, Республика Казахстан, г. Алматы*

²*Казахский Национальный исследовательский технический университет имени К.И. Сатбаева, Республика Казахстан, г. Алматы*

**e-mail: m.nursultanov@satbayev.university*

В статье говорится о том, что одним из основных направлений промышленной биотехнологии является микробиологическое производство органических кислот, многочисленные функциональные свойства которых определяют широкую область их применения в различных отраслях народного хозяйства. Наиболее важной из них является лимонная кислота, используемая в пищевой и перерабатывающей промышленности в качестве подкислителя, антиоксиданта и консерванта, дефицитного продукта, спрос на который постоянно растет с момента организации его производства в нашей стране. Поэтому развитие научных основ микробиологического производства и регулирование биосинтеза лимонной кислоты в настоящее время позволяет осуществлять целенаправленную и научно обоснованную политику в области технологий и сырьевых ресурсов для производства лимонной кислоты.

Отсутствие системного, научно-регламентированного подхода к выбору эффективных штаммов — продуцентов лимонной кислоты, ферментации традиционного и нового сырья различного качества, разработке оптимальных технологий глубокого культивирования обусловило необходимость научных исследований в этом направлении. В этой связи становится все более актуальным создание новых высокопродуктивных штаммов — продуцентов лимонной кислоты, поиск новых источников сырья и разработка научно обоснованных технологических подходов к подготовке питательной среды к брожению и внедрение новых технологий в промышленность.

Ключевые слова: лимонная кислота, глубинное брожение, *Aspergillus niger*, ферментатор, меласса, мицелий, штамм, конидия.

SOME FEATURES OF CITRIC ACID PRODUCTION TECHNOLOGY

*Nursultanov M. , Amitova A. 

¹Kazakh National Research Technical University named after K.I. Satbaeva,
Republic of Kazakhstan, Almaty

²Kazakh National Research Technical University named after K.I. Satbaeva,
Republic of Kazakhstan, Almaty

*e-mail: m.nursultanov@satbayev.university

The article says that one of the main directions of industrial biotechnology is the microbiological production of organic acids, the numerous functional properties of which determine the wide scope of their application in various sectors of the national economy. The most important of them is citric acid, used in the food and processing industry as an acidifier, antioxidant and preservative, a scarce product, the demand for which has been constantly growing since the organization of its production in our country. Therefore, the development of the scientific foundations of microbiological production and regulation of the biosynthesis of citric acid currently allows for a purposeful and scientifically sound policy in the field of technologies and raw materials for the production of citric acid.

The lack of a systematic, scientifically regulated approach to the selection of effective strains of citric acid producers, fermentation of traditional and new raw materials of various quality, development of optimal technologies for deep cultivation has necessitated scientific research in this direction. In this regard, the creation of new highly productive strains — producers of citric acid, the search for new sources of raw materials and the development of scientifically sound technological approaches to the preparation of the nutrient medium for fermentation and the introduction of new technologies in industry is becoming increasingly urgent.

Keywords: citric acid, deep fermentation, *Aspergillus niger*, fermenter, molasses, mycelium, strain, conidia.