

663
П43

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 663.1:631.363

552.577:577.112(043.3)

ПОГОРЕЛОВА Юлия Николаевна

**БИОКОНВЕРСИЯ ВЕРХОВОГО ТОРФА С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ
УГЛЕВОДНО-БЕЛКОВОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ**

05.21.03 – Технология и оборудование химической переработки
биомассы дерева; химия древесины

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Минск 2006

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный технологический университет» на кафедре химической переработки древесины

Научный руководитель

Болтовский В.С.,
кандидат химических наук, доцент,
УО «Белорусский государственный
технологический университет», кафедра
химической переработки древесины

Официальные оппоненты:

Колесников В.Л.,
доктор технических наук, профессор,
УО «Белорусский государственный
технологический университет»,
кафедра информационных систем и
технологий;

Трухачева Т.В.,
кандидат технических наук,
зам. начальника научно-фармацевтического
центра РУП «Белмедпрепараты»

Оппонирующая организация

ГНУ «Институт проблем использования
природных ресурсов и экологии
НАН Беларуси»

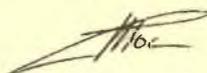
Защита состоится «19» сентября 2006 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 02.08.04 в УО «Белорусский государственный технологический университет» по адресу: 220050, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, зал заседаний ученого совета, ауд. 240, корпус 4

тел. +(375-17) 227-63-54, факс +(375-17) 227-62-17;
e-mail: root@bstu.unibel.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный технологический университет».

Автореферат разослан « 15 » августа 2006 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат технических наук



Толкач О.Я.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Одним из перспективных направлений решения проблемы дефицита кормового белка является его производство микробиологическим методом, в частности, биоконверсией растительного сырья. Микробный белок имеет сбалансированный состав по аминокислотам и другим питательным веществам, может многотоннажно выпускаться в промышленности вне зависимости от климатических условий на сравнительно небольших производственных площадях. Микроорганизмы имеют значительно большую удельную скорость роста по сравнению с растениями и животными.

Одним из важных факторов при производстве микробного белка является наличие дешевого, доступного и эффективно используемого микроорганизмами сырья.

В условиях дефицита ископаемых источников сырья возрастает интерес к постоянно возобновляемой растительной биомассе (древесина, отходы сельскохозяйственного производства, верховой торф и др.), являющейся сырьем для получения разнообразных продуктов, в т.ч. белковых кормовых добавок. Особый интерес для биоконверсии представляет верховой торф с низкой степенью разложения, представляющий собой продукт частичной биодеструкции растений в естественных условиях, который по своему химическому составу практически не отличается от других видов растительного сырья и растений, из которых он образовался. Он богат углеводами, особенно легкогидролизуемыми полисахаридами, минеральными макро- и микроэлементами и биологически активными веществами. В нем содержатся протеин, физиологически активные низкомолекулярные и гуминовые кислоты, витамины, антисептики, антиоксиданты и другие вещества, обуславливающие возможность использования его в качестве кормовой добавки или сырья для ее производства.

Имеется опыт получения из верхового торфа различных кормовых продуктов и добавок – торфа осахаренного, сахара кормового торфяного, торфо-бардяной смеси и др. При этом обеспечивается повышение перевариваемости верхового торфа или обогащение его моносахаридами. Получение углеводно-протеинового корма добавлением синтетических азотистых веществ не обеспечивает требуемой сбалансированности кормов по истинному белку (аминокислотам, в т.ч. незаменимым), микро- и макроэлементам, витаминам.

Применяемый в промышленности способ получения кормовых дрожжей переработкой гидролизатов растительного сырья отличается высокой энергоемкостью и образованием значительного количества отходов.

Альтернативой этому способу является биоконверсия твердых субстратов на основе растительного сырья под действием микроорганизмов.

БІБЛІОТЕКА

854 ар

Изучение процесса биоконверсии верхового торфа микроорганизмами с целью обогащения белком и разработка технологии получения углеводно-белковой кормовой добавки на его основе является актуальной задачей.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Диссертационная работа выполнена на кафедре химической переработки древесины УО «Белорусский государственный технологический университет» в рамках научно-исследовательской работы по гранту Министерства образования Республики Беларусь «Исследование процесса биоконверсии растительного сырья для обогащения белком и повышения питательной ценности» № Гос. регистрации 2005578 (2005г.) и научно-исследовательской темы «Исследовать процесс биоконверсии верхового торфа микроорганизмами для получения кормовой добавки» № Гос. регистрации 20031384 (2003-2004 гг.)

Цель и задачи исследования. Цель работы – установление закономерностей процесса биоконверсии верхового торфа и разработка технологии производства углеводно-белковой кормовой добавки на его основе.

Поставленная цель определяет необходимость решения следующих задач:

1. Определить групповой химический состав верхового торфа с низкой степенью разложения для оценки возможности его использования в качестве субстрата для микробиологической конверсии.
2. Подобрать культуры микроорганизмов, продуктивных для биоконверсии верхового торфа.
3. Установить закономерности процесса биоконверсии верхового торфа микроорганизмами с целью его обогащения белком.
4. Исследовать влияние основных технологических параметров процесса ферментации на эффективность биоконверсии верхового торфа и определить их оптимальные значения.
5. Разработать технологию получения углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования являлся верховой торф с низкой степенью разложения различных месторождений Республики Беларусь. Предмет исследования – микроорганизмы-продуценты белка на твердых углеводсодержащих субстратах, процесс биоконверсии верхового торфа для обогащения его белком.

Методология и методы проведенного исследования. В работе использовались химические методы анализа (определение группового состава верхового торфа и состава продукта, полученного в результате его биоконверсии); методы, применяемые в микробиологии для выделения и идентификации культур микроорганизмов, выращивания посевного материала; математические методы планирования эксперимента и статистической обработки полученных результатов.

Научная новизна и значимость полученных результатов. Впервые исследован процесс биоконверсии верхового торфа мицелиальными грибами с целью обогащения белком и установлены его закономерности.

Определены оптимальные параметры твердофазной ферментации верхового торфа мицелиальными грибами.

Разработана технология производства углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа с низкой степенью разложения.

По результатам работы подана и опубликована заявка «Способ получения кормовой добавки из верхового торфа» на выдачу патента Республики Беларусь.

Практическая значимость полученных результатов. Научные результаты работы использованы при создании экспериментальной установки и отработке технологических режимов процесса получения углеводно-белковой кормовой добавки твердофазной ферментацией верхового торфа мицелиальными грибами в опытно-промышленных условиях.

Результаты исследований внедрены на опытно-промышленной установке торфопредприятия РУП «Неманское» концерна «Белтопгаз». Получена партия углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа для проведения испытаний по ее скармливанию в рационе кормления молодняка крупного рогатого скота.

Испытания по применению полученной кормовой добавки в рационах кормления жвачных животных, выполненные РУП «Институт животноводства НАН Беларуси», показали, что ее использование в кормах взамен части комбикорма не оказывает отрицательного влияния на перевариваемость и использование питательных веществ кормов, процессы рубцового пищеварения, продуктивность животных и качество мяса.

Дополнительная прибыль от снижения себестоимости 1ц прироста массы животных при скармливании кормовой добавки составит 15-20 тыс. руб.

Кормосмеси с применением обогащенной белком кормовой добавки на основе верхового торфа рекомендуются для использования при кормлении крупного рогатого скота.

Разработана технология производства углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа, позволяющая уменьшить энергозатраты на процесс и устранить твердые и жидкие отходы.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту.

1. Верховой торф со степенью разложения до 20% является благоприятным субстратом для твердофазного культивирования микроорганизмов.

2. Мицелиальные грибы *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03, выделенные из верхового торфа, являются эффективными продуцентами биомассы при его биоконверсии.

3. Закономерности и параметры процесса твердофазной ферментации верхового торфа мицелиальными грибами.

4. Биоконверсия верхового торфа мицелиальными грибами обеспечивает содержание сырого протеина в конечном продукте не менее 12%.

5. Полученная углеводно-белковая кормовая добавка рекомендуется для использования в рационе кормления крупного рогатого скота.

6. Технология производства углеводно-белковой кормовой добавки биоконверсией верхового торфа.

Личный вклад соискателя. Автором выполнен анализ литературы по теме диссертации и обосновано направление исследований. Диссертантом определены задачи исследования, самостоятельно получены экспериментальные данные, выполнен их анализ, обобщен и изложен материал настоящей работы. Автор участвовал в выпуске опытно-промышленной партии кормовой добавки на основе верхового торфа, им разработана технология получения углеводно-белковой кормовой добавки. Соавторами публикаций соискателя являются сотрудники кафедры химической переработки древесины, биотехнологии и биоэкологи УО «Белорусский государственный технологический университет».

Апробация результатов диссертации. Основные результаты исследований докладывались и обсуждались на Международной научно-технической конференции «Новейшие достижения в области импортозамещения в химической промышленности и производстве строительных материалов» (Минск, 2003г.), VIII Республиканской научно-технической конференции студентов и аспирантов «НИРС-2003» (Минск, 2003г.), Международной научно-технической конференции «Ресурсо- и энергосберегающие технологии и оборудование, экологически безопасные технологии» (Минск, 2005г), Международной конференции «Торф в решении проблем энергетики, сельского хозяйства и экологии» (Минск, 2006г.).

Опубликованность результатов. Основные результаты исследований изложены в 6 статьях и 4 материалах конференций.

Опубликована заявка «Способ получения кормовой добавки из верхового торфа» на получение патента РБ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, списка использованных источников и приложений. Работа изложена на 113 страницах, содержит 17 рисунков, 22 таблицы, 100 литературных источников и 5 приложений. В приложениях приводятся технологический процесс получения углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа и акты по использованию результатов исследований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе диссертационной работы приведен анализ литерату-

ры по тематике исследований. Представлена характеристика состава растений-торфообразователей и верхового торфа. Показано, что химический состав верхового торфа с низкой степенью разложения незначительно отличается от химического состава растений, из которых он образовался. Рассмотрены способы получения кормовых добавок на основе верхового торфа. Проанализированы возможности применения различных культур микроорганизмов в качестве продуцентов белка, а также способы биоконверсии углеводсодержащего растительного сырья с целью обогащения его белком.

Обоснована целесообразность использования для биоконверсии верхового торфа в качестве культур-продуцентов белка мицелиальных грибов, а в качестве способа культивирования – твердофазной ферментации.

На основании анализа литературных источников поставлены задачи и определены основные направления исследований.

Во второй главе описаны объекты и методы исследований. Объектом исследований являлся верховой торф с низкой степенью разложения.

Определение количества легко- и трудногидролизуемых полисахаридов, лигнина, редуцирующих веществ (РВ), сырого протеина и истинного белка в верховом торфе осуществляли по общепринятым методикам, применяемым в химии древесины.

При выделении культур микроорганизмов, их идентификации, определении влияний условий культивирования и состава питательной среды на их рост использовали методы, применяемые в микробиологии.

Биоконверсию верхового торфа с целью обогащения его белком осуществляли при культивировании микроорганизмов в условиях асептики способом твердофазной ферментации. При изучении динамики процесса биоконверсии определяли содержание РВ, истинного белка и сырого протеина.

Показатели, характеризующие состав полученного в процессе твердофазной ферментации продукта – содержание сырого протеина, истинного белка, клетчатки, золы – определяли в соответствии с ГОСТ.

При анализе данных использовали статистические методы обработки полученных результатов, а при оптимизации параметров процесса биоконверсий – методы математического планирования эксперимента.

В третьей главе приведены результаты исследований по выделению из верхового торфа различных культур микроорганизмов, отбору среди них наиболее эффективных для биоконверсии верхового торфа, и их характеристике.

При высеве суспензий торфяных вытяжек на плотные агаризованные селективные среды было отобрано 5 штаммов микроорганизмов, встречающихся во всех исследованных пробах торфа. Выбранные микроорганизмы проверяли на способность при биоконверсии верхового торфа накапливать биомассу (рис. 1).

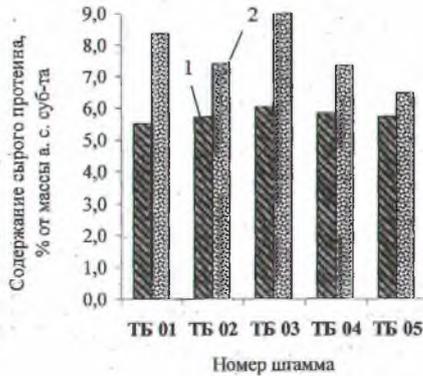
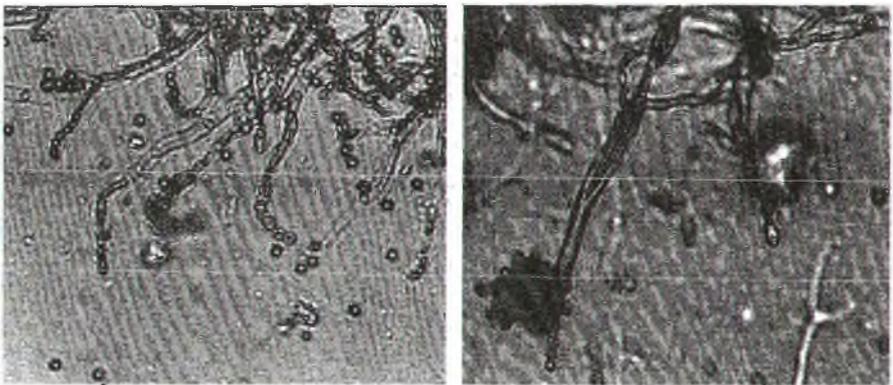


Рис. 1. Продуктивность отобранных штаммов микроорганизмов при твердофазной ферментации верхового торфа (1, 2 – содержание сырого протеина, соответственно, перед и после ферментации)

При выполнении дальнейших экспериментов были использованы штаммы ТБ 01 и ТБ 03. Анализ результатов микроскопии обнаруженных морфологических признаков и сопоставление физиолого-биохимических свойств исследуемых культур с признаками родовой принадлежности, приведенной в специальной литературе, позволили их идентифицировать: *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03 (рис.2).



а

б

Рис. 2. Морфологическое строение *Trichoderma* sp. ТБ 01 (а) и *Aspergillus* sp. ТБ 03 (б) (увеличение 630×)

Исследование параметров роста данных штаммов методом агаровых блоков показало, что наиболее интенсивный рост мицелия наблюдается при температуре 30 °С; при этом более активный рост характерен для культуры *Aspergillus* sp. ТБ 03.

Аналогичным образом установлено, что более интенсивно микромицеты *Trichoderma* sp. ТБ 01 развиваются в среде со значениями рН 4,5-5,5, а микромицеты *Aspergillus* sp. ТБ 03 – при рН 4,0-5,0.

При изучении влияния различных соотношений концентраций основных биогенных элементов (углерода и азота) в питательной среде на количество накапливаемой биомассы установлено, что оптимальным является соотношение С:N равное 15:1, что по литературным данным характерно для мицелиальных грибов.

Таким образом, из верхового торфа выделены культуры различных микроорганизмов, среди которых отобраны наиболее продуктивные для биоконверсии верхового торфа с целью обогащения его белком в процессе твердофазной ферментации; установлена их родовая принадлежность: *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03, на стандартной питательной среде (сусло-агар) исследованы и определены условия культивирования, соответствующие наиболее интенсивному развитию мицелия (температура 30°С и рН 4,5-5,5 и 4,0-5,0 при культивировании *Trichoderma* sp. ТБ 01 *Aspergillus* sp. ТБ 03, соответственно).

Четвертая глава посвящена исследованию процесса биоконверсии верхового торфа с целью обогащения белком и установлению его закономерностей.

Исследование группового химического состава верхового торфа различных месторождений Республики Беларусь проводили с целью оценки возможности его использования в качестве субстрата для биоконверсии и выбора сырьевой базы для производства обогащенной белком кормовой добавки на его основе.

Пробы отбирали по стандартной методике из различных мест полей добычи, из залежи, т.к. установлено, что при хранении в штабелях происходит биологическая деструкция торфа под воздействием ассоциаций почвенных микроорганизмов, в результате которой существенно снижается содержание полисахаридов (особенно легкогидролизуемых), повышается количество гуминовых веществ и лигнина, являющихся ингибиторами биохимических процессов и препятствующих эффективному осуществлению биоконверсии. В связи с этим для биоконверсии использовали верховой торф, отобранный из залежи.

Анализ результатов определения группового состава различных месторождений показал, что он содержит полисахаридов – 35,4-47,2 % (в т.ч. легкогидролизуемых – 18,2-27,0; трудногидролизуемых – 15,4-21,9); негидролизованного остатка – 29,6-41,9 %; сырого протеина – 3,53-6,25%, рН торфа составляет 3,4-4,6.

При анализе отделенной от торфа пушицы, количество которой составило 15-17 % от массы торфа, установлено, что по содержанию полисахаридов она практически не отличается от верхового торфа (36,2-38,3 %), но содержит больше непрогидролизованного остатка (45-48,8 %) и, кроме того, имеет волокнистую структуру, что затрудняет доступ целлюлолитических ферментов при биоконверсии и требует дополнительных операций по ее размолу и фракционированию. Поэтому для биоконверсии рекомендуется использовать верховой торф, предварительно отделенный от пушицы.

В качестве субстрата для биоконверсии использовали верховой торф, содержащий 35,41% полисахаридов (в т.ч. 18,16% легко- и 17,25% трудногидролизуемых), 5,41 % сырого протеина (в т.ч. 5,06% истинного белка), 33,9% лигнина, 9,42% гуминовых веществ, 1,82 % зольных элементов.

Динамику процесса твердофазной ферментации верхового торфа изучали с использованием выделенных штаммов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03, их ассоциации, ассоциации *Trichoderma* sp. ТБ 01 *Aspergillus* sp. ТБ 03 и дрожжей *Candida tropicalis*, а также с применением базидиальных грибов.

Результаты, полученные при культивировании монокультур мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Динамика накопления биомассы в процессе биоконверсии верхового торфа монокультурами мицелиальных грибов

Продолжительность ферментации, ч	Содержание, % от массы а.с. субстрата	
	сырой протеин	в т.ч. истинный белок
<i>Trichoderma</i> sp. ТБ 01		
24	7,73	6,92
48	7,92	7,16
72	8,47	7,54
96	8,65	7,73
144	8,83	7,92
168	9,08	8,12
192	9,12	8,28
<i>Aspergillus</i> sp. ТБ 03		
24	6,78	6,21
48	7,82	7,26
72	8,15	7,53
96	8,56	7,94
144	9,16	8,46
168	9,32	8,52
192	9,38	8,67

Исходное содержание сырого протеина, в т. ч. истинного белка в субстрате с посевным материалом составило при культивировании *Trichoderma* sp. ТБ 01, 7,52 % и 6,53%, соответственно, а при культивировании *Aspergillus* sp. ТБ 03 6,58 % и 6,05 %.

Изменение содержания редуцирующих веществ в процессе твердофазной ферментации верхового торфа приведена на рис. 3.

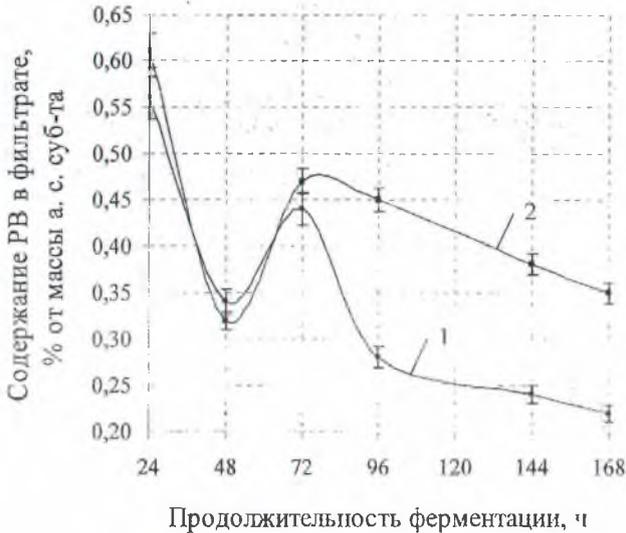


Рис. 3. Изменение содержания редуцирующих веществ при твердофазной ферментации субстрата мицелиальными грибами (1 - *Trichoderma* sp. ТБ 01, 2 - *Aspergillus* sp. ТБ 03)

В результате анализа экспериментальных данных установлено, что после первых 48 часов ферментации наблюдается заметное снижение содержания редуцирующих веществ. В этот период происходит адаптация микроорганизмов к субстрату. Последующие 24 часа происходит увеличение содержания редуцирующих веществ, вследствие ферментативного гидролиза субстрата, под действием выделяемого микроорганизмами комплекса целлюлолитических ферментов, что свидетельствует о начале фазы их ускоренного роста. Образовавшиеся моносахариды утилизируются микроорганизмами с накоплением биомассы. При этом одновременно отмечается увеличение содержания белка в субстрате.

Оптимальная продолжительность ферментации составляет 7 суток. За последующие сутки наблюдается незначительное увеличение содержания белка, поэтому дальнейшее продолжение процесса ферментации нецелесооб-

разно. За 7 суток накапливается 8,12 % и 8,52 % истинного белка от массы абсолютно сухого субстрата для *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03, соответственно. При этом в конечном продукте остаются неутилизированные моносахариды (рис. 3), количество которых несущественно изменяется в процессе ферментации.

Для более полной утилизации оставшихся моносахаридов проведены исследования по использованию для биоконверсии верхового торфа ассоциации мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03 и дрожжей вида *Candida tropicalis*. В результате содержание белка после 7-ми суток культивирования составило 10,51% (рис. 4). Дрожжи способствуют более эффективной ассимиляции моносахаридов, накапливаемых в процессе действия целлюлолитических ферментов грибов.

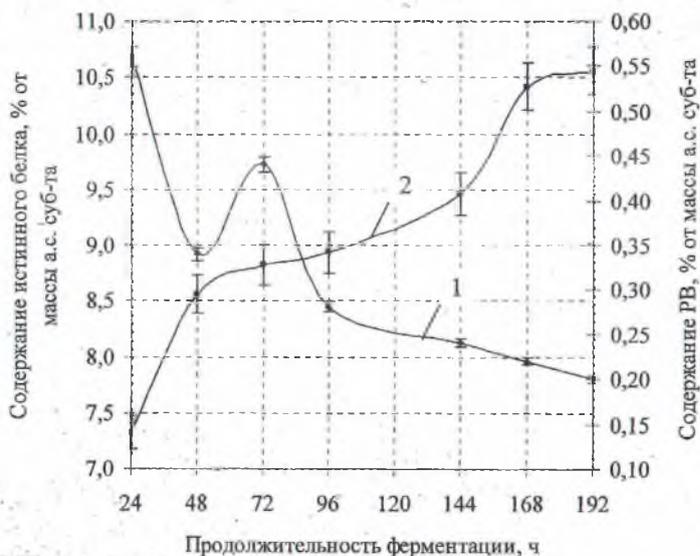


Рис. 4. Изменение содержания редуцирующих веществ и истинного белка при твердофазной ферментации верхового торфа ассоциацией мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03 и дрожжей *Candida tropicalis* (1 — РВ, 2 — истинный белок)

Однако использование ассоциации грибов и дрожжей для обогащения исходного субстрата белком при получении кормовой добавки требует жесткого соблюдения режима сушки готового продукта, который не допускает наличия живых дрожжевых клеток. Это объясняется тем, что у животных могут возникнуть заболевания, вызывающие расстройство пищеварительной

системы. Кроме того, усложняется процесс приготовления чистых культур микроорганизмов. В связи с этим предпочтительнее применение ассоциации мицелиальных грибов.

Результаты, полученные при культивировании ассоциации грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03, представлены в табл. 5 (содержание сырого протеина, в т.ч. истинного белка перед ферментацией составило 7,75 % и 6,32 % соответственно, РВ – 0,46%).

Таблица 5

Показатели процесса биоконверсии торфа ассоциацией грибов
Trichoderma sp ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03

Продолжительность ферментации, ч	Содержание, % от массы а. с. субстрата		
	РВ	сырой протеин	в т. ч. истинный белок
24	0,61	9,16	7,32
48	0,32	10,62	8,56
72	0,47	11,05	8,82
96	0,45	11,28	9,16
144	0,38	11,83	9,54
168	0,34	12,92	10,22
192	0,33	12,95	10,37

При применении ассоциации мицелиальных грибов содержание истинного белка после 7-ми суток культивирования составило 10,22 %. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение ассоциации способствует более эффективной ассимиляции моносахаридов, накапливаемых в процессе действия целлюлолитических ферментов грибов, чем при применении монокультур.

Эти результаты сопоставимы с полученными при использовании ассоциации мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03 и дрожжей *Candida tropicalis* (рис. 3).

Продукт, полученный после биоконверсии верхового торфа ассоциацией мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01, *Aspergillus* sp. ТБ 03, содержит 21,3-26,% легкогидролизуемых полисахаридов, 26,4-32,3% клетчатки, 10,3-10,8% истинного белка, 2,4-2,6% минеральных веществ (золы).

С целью снижения содержания непрогидролизованного остатка проведены исследования по применению для биоконверсии верхового торфа ассоциации выделенных мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01, *Aspergillus* sp. ТБ 03 и базидиального гриба *Coriolus hirsutus*, отличающегося содержанием феноксидаз, разрушающих лигнин. Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание непрогидролизованного остатка при использовании ассоциации мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03 и ассоциации, дополнительно включающей *Coriolus*

hirsutus, отличаются несущественно. При этом содержание истинного белка составило 8,26% , что меньше, чем при культивировании ассоциации *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03. По-видимому, это связано с особенностями ферментного комплекса базидиальных грибов и более длительной продолжительностью их адаптации к субстрату.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что для биоконверсии верхового торфа целесообразно использование ассоциации выделенных культур мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03. При этом наблюдается наибольшее накопление истинного белка по сравнению с использованием других культур за одинаковый период процесса твердофазной ферментации.

При изучении процесса твердофазной ферментации верхового торфа проведена оптимизация основных технологических параметров (температуры, влажности и pH субстрата) с целью нахождения их значений, обеспечивающих максимальное накопление биомассы.

Эксперимент осуществляли с использованием матрицы планирования 2-го порядка на базе дробного факторного эксперимента 2^{3-1} . Основные факторы варьировали на трех уровнях: температура (X_1) – 26, 30, 34 °С, влажность субстрата (X_2) – 50, 60, 70 %, pH среды (X_3) – 4,0, 4,5, 5,0. При выборе диапазонов величин исследуемых факторов исходили из установленных нами ранее результатов по биоконверсии субстрата на основе верхового торфа выделенными из него культурами мицелиальных грибов (глава 3). Процесс культивирования мицелиальных грибов в условиях твердофазной ферментации осуществляется в сравнительно узком диапазоне изменения основных параметров. Однако, определение оптимальных условий важно для повышения эффективности процесса и его экономичности.

В качестве выходных величин определяли в конечном продукте содержание сырого протеина ($Y_1, \%$) и легкогидролизуемых полисахаридов ($Y_2, \%$). Процесс оптимизировали по содержанию сырого протеина ($Y_1, \%$) в конечном продукте.

Обработку результатов исследований проводили с помощью программы POLYNOM и электронных таблиц EXCEL. В результате реализации плана эксперимента были получены полиномиальные уравнения регрессии (1)– (3), характеризующие зависимость содержания сырого протеина от факторов твердофазной ферментации верхового торфа для монокультур мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03 и их ассоциации:

Trichoderma sp. ТБ 01:

$$Y_1 = 8,95 - 0,07 \cdot X_1 - 0,17 \cdot X_2 - 0,14 \cdot X_3 + 0,7 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,25 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,17 \cdot X_2 \cdot X_3 - 0,54 \cdot X_1^2 - 0,49 \cdot X_2^2 - 0,23 \cdot X_3^2 \quad (1)$$

Aspergillus sp. ТБ 03:

$$Y_1 = 9,18 - 0,006 \cdot X_1 - 0,12 \cdot X_2 - 0,16 \cdot X_3 + 0,97 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,52 \cdot X_1 \cdot X_3 + 0,41 \cdot X_2 \cdot X_3 - 0,65 \cdot X_1^2 - 0,55 \cdot X_2^2 - 0,29 \cdot X_3^2 \quad (2)$$

для ассоциации мицелиальных грибов:

$$Y_1 = 12,8 - 0,058 \cdot X_1 + 0,037 \cdot X_2 - 0,086 \cdot X_3 + 2,78 \cdot X_1 \cdot X_2 - 2,45 \cdot X_1 \cdot X_3 + 2,43 \cdot X_2 \cdot X_3 - 3,27 \cdot X_1^2 - 2,28 \cdot X_2^2 - 1,2 \cdot X_3^2 \quad (3)$$

Статистическая обработка результатов эксперимента показала, что полученные уравнения адекватно описывают процесс.

При использовании настройки «Поиск решения» пакета EXCEL определены оптимальные параметры твердофазной ферментации, при которых достигается максимальное накопление сырого протеина в конечном продукте при культивировании монокультур микромицетов и их ассоциации, в частности, для ассоциации мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03 оптимальными условиями культивирования являются температура 29 °С, влажность субстрата 63%, pH 5. При этом содержание сырого протеина в конечном продукте составило 13,4%.

В пятой главе приведены результаты опытно-промышленных испытаний процесса биоконверсии и разработанная технология биоконверсии верхового торфа с целью получения углеводно-белковой кормовой добавки.

Научные результаты работы использованы при отработке режимов твердофазной ферментации верхового торфа мицелиальными грибами и получении углеводно-белковой кормовой добавки в опытно - промышленных условиях на экспериментальной установке, смонтированной на торфопредприятии РУП «Неманское» концерна «Белтопгаз».

Верховой торф предварительно обрабатывали пропариванием при температуре 100-110 °С для повышения перевариваемости и реакционной способности полисахаридов при последующей ферментации. После охлаждения пропаренного торфа до температуры 28-32 °С в него вносили расчетное количество сухих питательных солей для обогащения верхового торфа необходимыми биогенными элементами (азот, фосфор, калий), а также карбоната кальция (мела) для поддержания необходимого для ферментации уровня кислотности субстрата и инокулировали посевным материалом, полученным при культивировании суспензии чистых культур мицелиальных грибов *Aspergillus* sp. ТБ 03 и *Trichoderma* sp. ТБ 01 на синтетической или естественной (послеспиртовой барде) питательной среде.

Подготовленный субстрат подвергали твердофазной ферментации с последующей сушкой полученного продукта до конечной влажности 15-20%. Высушенный продукт направляли на натурные испытания для скармливания животным.

Полученный в ходе проведения испытаний продукт содержал в среднем 10-12% протеина и 25-28% легкогидролизуемых полисахаридов.

Результаты по использованию кормовой добавки в рационах жвачных животных, полученные в лаборатории кормления и физиологии питания крупного рогатого скота РУП «Институт животноводства НАН Беларуси» (г. Жодино) показали, что она может быть использована взамен части комби-корма; при этом поедаемость кормов животными, показатели перевариваемости и усваиваемости корма остаются на прежнем уровне, прирост массы животных выше по сравнению с контролем. Применение кормовой добавки позволит получить дополнительную прибыль на 1 ц прироста массы животных в размере 15-20 тыс. руб.

На основании полученных результатов разработана технология производства углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа с низкой степенью разложения,

Проведенный сравнительный технико-экономический анализ производства углеводно-белковой кормовой добавки по разработанной технологии и кормовых дрожжей по существующей показал, что при получении кормовой добавки способом твердофазной ферментации экономия затрат электроэнергии и пара на процесс по сравнению с получением кормовых дрожжей составит 434,4 тыс. руб. на 1 т готового продукта. Помимо этого, повышается экологическая безопасность производства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изучен грушовой химический состав верхового торфа различных месторождений Республики Беларусь. Показано, что по своему полисахаридному составу он может быть использован в качестве субстрата для биоконверсии с целью получения углеводно-белковой кормовой добавки. При этом наиболее благоприятным по суммарному содержанию полисахаридов и наименьшему количеству непрогидролизованного остатка является верховой торф предприятий «Глинка» и «1 Мая» [1, 2].

2. Из верхового торфа выделены культуры различных видов микроорганизмов, среди которых отобраны наиболее продуктивные для его биоконверсии способом твердофазной ферментации; установлена их родовая принадлежность: *Trichoderma* sp. ТБ 01, *Aspergillus* sp. ТБ 03. Определены условия их культивирования, соответствующие интенсивному росту мицелия [3, 6].

3. Изучен процесс твердофазной ферментации субстрата на основе верхового торфа монокультурами мицелиальных грибов и их ассоциацией, а также ассоциацией мицелиальных грибов и дрожжей, установлены закономерности процесса биоконверсии. Показано, что наиболее целесообразным является использование ассоциации мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01, *Aspergillus* sp. ТБ 03, обеспечивающих содержание в конечном продукте сырого протеина – 12,92%, в т.ч. истинного белка 10,22 % [7, 8, 11].

4. Определены оптимальные параметры процесса твердофазной ферментации верхового торфа мицелиальными грибами: температура фермента-

ции – 29°C, влажность субстрата – 63%, рН среды – 5,0. При этих параметрах содержание сырого протеина достигает 13,4 % [4].

5. Проведены испытания технологического процесса биоконверсии верхового торфа на опытно-промышленной установке и разработана технология производства углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа путем твердофазной ферментации мицелиальными грибами. Получена партия продукта в количестве около 3 т для проведения исследований по использованию в рационах кормления жвачных животных, которые показали эффективность и перспективность его использования в качестве углеводно-белковой кормовой добавки [5, 9]. Добавление кормовой добавки в рационы в количестве 10-20% позволяет снизить затраты комбикормов на 10-18% при соблюдении сбалансированности их состава. При этом дополнительная прибыль на 1ц прироста массы животных составит 15-20 тыс. руб., что подтверждено соответствующими актами.

6. Разработана технология производства углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа [8-11], позволяющая уменьшить энергозатраты на процесс и устранить твердые и жидкие отходы. Сравнительный технико-экономический анализ производства углеводно-белковой кормовой добавки по разработанной технологии и существующей технологии производства кормовых дрожжей показал, что при получении кормовой добавки способом твердофазной ферментации экономия затрат электроэнергии и пара на процесс по сравнению с получением кормовых дрожжей составила 434,4 тыс. руб. на 1 т готового продукта.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Статьи

1. Погорелова Ю.Н., Цедрик Т.П., Болтовский В.С. Перспективы биоконверсии верхового торфа с целью обогащения белком // Труды Белорусского государственного технологического университета. Сер. IV. Химия и технология органических веществ. – 2003 – Вып. XI. – С. 168-169.

2. Погорелова Ю.Н., Болтовский В.С., Цедрик Т.П. Изучение состава верхового торфа различных торфопредприятий Республики Беларусь // Труды Белорусского государственного технологического университета. Сер. IV. Химия и технология органических веществ. – 2005 – Вып. XIII. – С. 126-128.

3. Погорелова Ю.Н., Белясова Н.А., Болтовский В.С. Выделение и характеристика микромицетов, способных к биоконверсии верхового торфа // Материалы. Технологии. Инструменты. – 2005. – Т. 10. – № 4. – С. 80-82.

4. Погорелова Ю.Н., Болтовский В.С. Влияние параметров процесса твердофазной ферментации на эффективность процесса биоконверсии верхового торфа // Материалы. Технологии. Инструменты. – 2005. – Т. 10 – № 4 – С. 83-85.

5. Погорелова Ю.Н., Болтовский В.С. Опытнo-промышленная проверка технологии производства обогащенной белком кормовой добавки на основе верхового торфа // Труды Белорусского государственного технологического университета. Сер. IV. Химия и технология органических веществ. – 2005. – Вып. XIII. – С. 129-131.

6. Болтовский В.С., Погорелова Ю.Н. Состав микроорганизмов-продуцентов белка и кормовых добавок, получаемых микробиологическим синтезом // Труды Белорусского государственного технологического университета. Сер. IV. Химия и технология органических веществ. – 2005. – Вып. XIII. – С. 71-74.

Материалы конференций

7. Погорелова Ю.Н., Цедрик Т.П., Болтовский В.С. Биоконверсия верхового торфа // Материалы Международной научно-технической конференции «Новейшие достижения в области импортозамещения в химической промышленности и производстве строительных материалов». – Минск. – 2003г. – С. 480-482.

8. Погорелова Ю.Н. Безотходная технология обогащения верхового торфа белком // Материалы Республиканской конференции студентов и аспирантов «НИРС-2003». – Минск – 2003 – С. 206-207.

9. Погорелова Ю.Н., Болтовский В.С. Экологически безопасная технология получения кормовой добавки на основе верхового торфа // Материалы Международной научно-практической конференции «Ресурсо- и энергосберегающие технологии и оборудование, экологически безопасные технологии» – Минск. – 2005. – С. 241-243.

10. Карпенко В.В., Мультиан Ю.М., Полянков В.Т., Болтовский В.С., Погорелова Ю.Н., Радчиков В.Ф., Нелетько А.А. Кормовая добавка из верхового торфа // Материалы международной конференции «Торф в решении проблем энергетики, сельского хозяйства и экологии» – Минск. – 2006. – С. 109-111.

Заявки на патент

11. Заявка на получение патента Республики Беларусь С 12 N, А 23 К. Способ получения кормовой добавки из верхового торфа / Болтовский В.С., Полянков В.Т., Карпенко В.В., Белясова Н.А., Мультиан Ю.М., Погорелова Ю.Н., Цедрик Т.П., Полезин М.А., Федорова О.И. – № а20040479; заявл. 27.05.2004; опубл. 30.12.2005 // Афіцыйны бюлетэнь / Дзярж. Пат. Ведамства Рэсп. Беларусь – 2004. – № 4. – ч.1 – С. 44.



РЕЗЮМЕ

ПОГОРЕЛОВА Юлия Николаевна

БИОКОНВЕРСИЯ ВЕРХОВОГО ТОРФА С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ
УГЛЕВОДНО-БЕЛКОВОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

РАСТИТЕЛЬНОЕ СЫРЬЕ, ВЕРХОВОЙ ТОРФ, ПОЛИСАХАРИДЫ, МИКРООРГАНИЗМЫ, МИЦЕЛИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ, БИОКОНВЕРСИЯ, УГЛЕВОДНО-БЕЛКОВАЯ КОРМОВАЯ ДОБАВКА, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС

В качестве объекта исследования использовался верховой торф с низкой степенью разложения.

Цель работы – разработка технологии производства углеводно-белковой кормовой добавки биоконверсией верхового торфа.

Исследован групповой химический состав верхового торфа различных месторождений республики. Установлено, что по содержанию полисахаридов он может быть использован в качестве субстрата для биоконверсии с целью обогащения белком.

В качестве микроорганизмов-продуцентов белка использованы культуры микромицетов *Trichoderma* sp. ТБ 01 и *Aspergillus* sp. ТБ 03, выделенные из верхового торфа, и являющиеся эффективными для его биоконверсии. Определены условия их культивирования, соответствующие интенсивному росту мицелия.

Исследован процесс и установлены закономерности биоконверсии верхового торфа микроорганизмами. Установлено, что наиболее эффективно процесс протекает при использовании ассоциации мицелиальных грибов *Trichoderma* sp. ТБ 01 *Aspergillus* sp. ТБ 03. Определены оптимальные значения технологических параметров твердофазной ферментации.

На экспериментальной установке в опытно-промышленных условиях проведена выработка партии кормовой добавки, которая использована в лаборатории кормления и физиологии питания крупного рогатого скота РУП «Институт животноводства НАН Беларуси» (г. Жодино). По результатам испытаний сделано заключение, что кормосмеси с применением обогащенной белком кормовой добавки на основе верхового торфа рекомендованы к использованию в рационах кормления.

Разработан и согласован с РУП «Белниитопроект» технологический процесс получения углеводно-белковой кормовой добавки на основе верхового торфа.

РЭЗІЮМЭ

ПАГАРЭЛАВА Юлія Мікалаеўна

БІЯКАНВЕРСІЯ ВЕРХАВОГА ТОРФУ З МЭТАЙ АТРЫМАННЯ
ВУГЛЯВОДНА-БЯЛКОВАЙ КАРМАВОЙ ДАБАЎКІРАСПЛННАЯ СЫРАВІНА, ВЕРХАВЫ ТОРФ, ПОЛІЦУКРЫДЫ,
МІКРААРГАНІЗМЫ, МІЦЭЛІЯЛЬНЫЯ ГРЫБЫ, БІЯКАНВЕРСІЯ,
ВУГЛЯВОДНА-БЯЛКОВАЯ КАРМАВАЯ ДАБАЎКА, ТЭХНАЛАГІЧНЫ
ПРАЦЭС

У якасці аб'екта даследавання выкарыстоўваўся верхавы торф з нізкай ступенню разлажэння.

Мэта працы – распрацоўка тэхналогіі вытворчасці вугляводна-бялковай кармавой дабаўкі біяканверсіяй верхавога торфу.

Даследаваны групавы хімічны састаў верхавога торфу розных радовішчаў рэспублікі. Устаноўлена, што па ўтрыманні поліцукрыдаў ён можа быць выкарыстаны ў якасці субстрату для біяканверсіі з мэтай абагачэння бялком.

У якасці мікраарганізмаў-прадцэнтаў бялку выкарыстаны культуры мікраміцэтаў *Trichoderma* sp. ТБ 01 і *Aspergillus* sp. ТБ 03, вылучаныя з верхавога торфу, якія з'яўляюцца эфектыўнымі для яго біяканверсіі. Вызначаны ўмовы іх культывавання, якія адпавядаюць інтэнсіўнаму росту міцэлію.

Устаноўлена, што найбольш эфектыўна працэс працякае пры выкарыстоўванні асацыяцыі міцэліяльных грыбоў *Trichoderma* sp. ТБ 01 і *Aspergillus* sp. ТБ 03. Вызначаны аптымальныя значэнні тэхналагічных параметраў цвердафазнай ферментацыі.

На эксперыментальнай устаноўцы ў вопытна-прамысловых умовах праведзена выпрацоўка партыі кармавой дабаўкі, якая выкарыстана ў лабараторыі кармлення і фізіялогіі харчавання буйной рагатай жывёлы РУП «Інстытут жывёлагадоўлі НАН Беларусі». Па выніках выпрабаванняў зроблена заключэнне, што карма сумесі з прымяненнем абагачанай бялком кармавой дабаўкі на аснове верхавога торфу рэкамендаваны да ўжывання ў рацыёнах харчавання.

Распрацаваны і ўзгоднены з РУП «Белдніпалівапраект» тэхналагічны працэс атрымання вугляводна-бялковай кармавой дабаўкі на аснове верхавога торфу.

SUMMARY

POGORELOVA Julia Nikolaevna

BIOCONVERSION OF RIDING PEAT WITH THE PURPOSE OF RECEPTION OF THE CARBOHYDRATE-PROTEINOUS FODDER ADDITIVE

VEGETATIVE RAW MATERIAL, RIDING PEAT, POLYSACCHARIDES, MICROORGANISMS, MOULDS, BIOCONVERSION, THE CARBOHYDRATE-PROTEINOUS FODDER ADDITIVE, TECHNOLOGICAL PROCESS

As object of research riding peat with a low degree of decomposition is used.

The purpose of work is development of the carbohydrate-proteinous fodder additive by bioconversion of riding peat.

The group chemical compound of riding peat of various deposits of republic is investigated. It is established, that under the maintenance polysaccharides it can be used as a substratum for bioconversion with the purpose of enrichment by protein.

As microorganisms - producers of protein cultures micromycetes *Trichoderma* sp. ТБ 01 and *Aspergillus* sp. ТБ 03, allocated from riding peat, are being effective for its bioconversion. Their conditions cultivations, corresponding to intensive growth mycelium are determined.

The process is investigated and laws of bioconversion of riding peat are established by microorganisms. It is established, that most effectively process proceeds at using of association moulds *Trichoderma* sp. ТБ 01 *Aspergillus* sp. ТБ 03. Optimum values of technological parameters of solid-phases fermentations are determined.

On experimental installation in trial conditions manufacture of a party of the fodder additive which is used in laboratory of feeding and physiology of a feed of large horned livestock the RUE «Institute of animal industries NAS of Byelorussia» (town Zhodino). By results of tests the conclusion is received, that fodder mix with application of the fodder additive enriched with protein on the basis of riding peat are recommended to use in feeding diets.

It is developed and coordinated with the RUE «Belniitopproekt» technological process of obtaining of the carbohydrate-proteinous fodder additive on the basis of riding peat.

Погорелова Юлия Николаевна

**БИОКОНВЕРСИЯ ВЕРХОВОГО ТОРФА С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ
УГЛЕВОДНО-БЕЛКОВОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ**

Подписано в печать 27.06.2006. Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,3. Уч.-изд. л. 1,2.
Тираж 90 экз. Заказ *587*

Учреждение образования
«Белорусский государственный технологический университет».
220050, Минск, Свердлова, 13а.
ЛИ № 02330/0133255 от 30.04.2004.

Отпечатано в лаборатории полиграфии учреждения образования
«Белорусский государственный технологический университет».
220050, Минск, Свердлова, 13.
ЛИ № 02330/0056739 от 22.01.2004.