

УДК 663.18+663.5

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЕЕ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ

Е.А. Шляхотко, Л.И. Сапунова, А.А. Шепшелев

Институт микробиологии НАН Беларусь, Минск

Аннотация. Для микробной обработки зерновой послеспиртовой барды различного состава отобран штамм бактерий *Bacillus sp. 182* – продуцент ферментов, участвующих в деструкции полимеров растительного происхождения. Определены условия ферментации, в зависимости от субстрата позволяющие при высокой температуре существенно улучшить разделение послеспиртовой барды на фракции (в 6,2–7,4 раза), снизить в фугате содержание растворенного белка (на 20–45 %) и показатель химического потребления кислорода (на 65–66 %).

Ключевые слова: послеспиртовая барда, микробная обработка, ферментные комплексы, фракционирование послеспиртовой барды, показатель химического потребления кислорода.

Введение. Производство этилового спирта в объеме около 9,6 млн. дал в год [1] является одним из бюджетообразующих отраслей экономики Республики Беларусь. Сырьем для получения высококачественного этанола является зерно пшеницы, ржи, тритикале, кукурузы, других злаковых культур, а побочным продуктом производственного процесса – зерновая послеспиртовая барда (ПСБ) в объеме, который в 10–13 раз превышает количество основного продукта. ПСБ содержит 6–11 % сухих веществ, в том числе около 50 % растворимых [1–3]. Благодаря богатому составу (37–40 % белков, 3,0–7,5 % жиров, 5,0–10,0 % углеводов), жидкую ПСБ находит применение в рационе сельскохозяйственных животных в дозе 5–20 кг/100 кг их живой массы [3]. Однако из-за ограниченного (около суток) срока хранения и значительных затрат на транспортировку ее потребители сосредоточены исключительно вблизи спиртовых заводов.

Для рационального использования ПСБ используют различные методы ее переработки в продукты более высокой добавленной стоимости – сухую ПСБ (Dried distillers Grains with Solubles

– DDGS), кормовые дрожжи, ферменты и другие биологически активные вещества, метан, биодизель, биоводород [4–9].

Начальной стадией технологии получения DDGS является разделение цельной ПСБ на твердую (kek) и жидкую (фугат) фракции [1, 2]. Как правило, после фракционирования ПСБ кек в сыром виде используют как кормовую добавку, а фугат с растворенными в нем питательными веществами либо концентрируют энергозатратными способами на дорогостоящем оборудовании и добавляют в кек перед сушкой, либо утилизируют, часто экологически небезопасными способами. Для возможно более полной очистки фильтрата ПСБ от взвешенных и растворенных в ней веществ целесообразным представляется ее микробная ферментация.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали цельную ПСБ, предоставленную различными спиртовыми предприятиями Республики Беларусь, а также микроорганизмы и коммерческие ферменты микробного происхождения, гидролизующие растительные полимеры.

В работе использовали штаммы микроорганизмов из Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов и рабочей коллекции лаборатории ферментов Института микробиологии НАН Беларуси, а также выделенные из природных источников. Культуры поддерживали на пептонно-дрожжевом агаре (бактерии) и сусло-агаре (дрожжи) при 4–6 °С.

Суспензию физиологически активных клеток микроорганизмов различной таксономической принадлежности получали их глубинным выращиванием в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл питательной среды Луриа-Бергани при температуре 24–26 °С, скорости перемешивания 200 об/мин в течение 18–24 ч.

Суспензии клеток микробных культур в количестве 1–5 об. % использовали для ферментации цельной ПСБ при 26–30 °С в течение 2–24 ч.

Корректировку кислотности ПСБ проводили с использованием NaOH.

Для ферментативной обработки ПСБ применяли коммерческие ферментные препараты различных производителей: ферментов целлюлолитического комплекса (ЦК); кислую протеазу (КП); фитазу (ФИТ); ферментов амилолитического комплекса (АК). Условия ферментативной обработки ПСБ – pH 5,5; температура 55 °С, длительность – 2 ч.

Фракционирование ПСБ проводили центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10 мин с использованием центрифуги MPW-260R (MPW Medinstrument, Польша).

В фугате определяли: мутность (спектрофотометрически в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см при $\lambda = 600$), концентрацию белка, редуцирующих веществ, ХПК – общепринятыми методами, величину pH – потенциометрически.

Содержание сухих веществ определяли на анализаторе влажности ЭВЛАС-2М (Сибагроприбор, Россия) согласно инструкции.

Приведенные результаты представляют собой усредненные данные 2–3 опытов, выполненных в трехкратной повторности и статистически обработанных.

Результаты исследования и их обсуждение. Компонентный состав ПСБ, а также ее вязкость значительно зависят от сырья, применяемого для производства спирта [1]. Согласно экспериментальным данным, исследуемые образцы ПСБ характеризовались повышенной кислотностью (pH 3,3–4,5), высоким содержанием растворенных органических соединений (7,5–11,8 мг/мл редуцирующих веществ (РВ), 0,8–1,74 мг/мл белка) и показателем химического потребления кислорода (ХПК), достигающим 100 000–235 000 мг O₂/л. Концентрация сухих веществ в образцах ПСБ составляла 7,3–12,0 %, а мутность ее фугата, измеряемая фотометрически при 600 нм, – 0,8–3,8. Отмечено, что исследуемые образцы ПСБ имели различную вязкость и консистенцию, обусловленную различным содержанием в них высокомолекулярных полисахаридов.

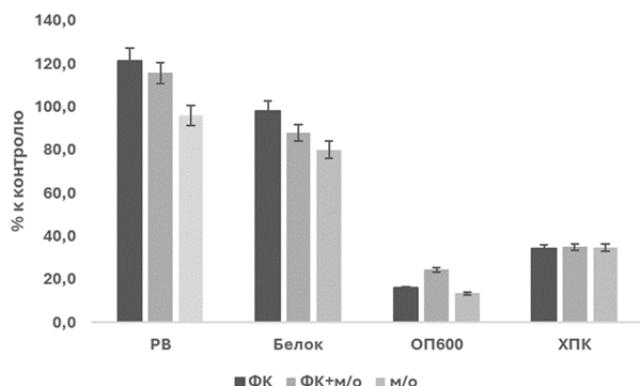
Для предобработки ПСБ использовали микроорганизмы-продуценты комплекса ферментов, участвующих в деградации растительных полимеров, – протеаз, эстераз, ксиланаз, целлюлаз, фитазы, β -глюканаз, амилаз, липаз.

Микробную обработку ПСБ с использованием 5 об. % суспензии клеток микроорганизмов проводили при температуре 26 °С, pH 5,5–6,0 в течение 2–24 ч без перемешивания. В результате были выявлены штаммы *Bacillus* sp. 182, АМ 1, АМ 2, ТЕРМ 1, ТЕРМ 2, ИР В4, наиболее эффективно снижавшие мутность фильтрата ПСБ, а также содержание в нем растворимого белка и РВ.

Для дальнейшей работы отобран штамм *Bacillus* sp. 182, ферментирующий ПСБ с повышением выхода РВ в фугате на 3,5–11,2 % при снижении концентрации белка на 29,5–45,1 % после 2–4 ч обработки в зависимости от состава субстрата.

Технологический регламент спиртового производства предусматривает разделение спирта и горячей ПСБ (55–65 °C), которая поступает в сборник, а затем на декантерную центрифугу, где происходит ее фракционирование [1, 2]. Очевидно, что реализовать ферментативную и/или микробную предобработку ПСБ возможно на этапе ее депонирования в сборнике. В результате предыдущих исследований нами установлено, что применяемый для обработки ПСБ ферментный комплекс (ФК), включающий ЦК, КП, ФИТ, АК, значительно повышал эффективность ее фракционирования через 2 ч воздействия [10]. Учитывая, что штамм *Bacillus* sp. 182 синтезирует комплекс гидролитических ферментов, сравнивали влияние микробной культуры и комплекса ферментов (55 °C, 2 ч, без перемешивания) на состав и свойства жидкой фракции ПСБ. Как видно из представленных на рисунке графических данных, микробная и микробно-ферментная обработка ПСБ, в отличие от ферментной, способствовали снижению концентрации белка в жидкой фракции. Установлено, что через 2 ч микробного и микробно-ферментного воздействия этот показатель составил соответственно $80 \pm 3,68$ и $88,0 \pm 4,31$ % по отношению к контролю.

Содержание редуцирующих веществ при ферментной и микробно-ферментной обработке возрастило соответственно на $21,6 \pm 0,96$ и $15,7 \pm 0,72$ %, а при микробной – практически не изменялось ($95,9 \pm 4,78$ %) по сравнению с контролем. Показатели ХПК во всех исследованных образцах составляли 34,3–35,0 % от контроля. Показатели мутности фугатов в случае микробной и ферментной обработки ПСБ были сопоставимы, улучшаясь соответственно на $86,7 \pm 4,1$ % и $84,1 \pm 4,0$ % в сравнении с контролем, а при микробно-ферментной обработке – только на $75,5 \pm 3,7$ %.



ФК – ферментный комплекс; ФК + м/о – ферментный комплекс + *Bacillus* sp. 182, м/о – *Bacillus* sp. 182

Рисунок – Результаты микробно-ферментной обработки ПСБ

Таким образом, как ферментная, так и микробная обработка способствует более полному гидролизу растворимых полимерных компонентов ПСБ, главным образом, бета-глюкана и ксилана. Это, в свою очередь, приводит к значительному снижению вязкости исследуемого субстрата и улучшению в 6,2–7,4 раза разделения его на фракции за счет уменьшения количества высокомолекулярных коллоидных веществ. Кроме того, результатом жизнедеятельности микроорганизмов является снижение содержания в фугате растворенного белка на 20–45 % в зависимости от условий ферментации и состава ПСБ.

Заключение. Полученные данные указывают на возможность использования штамма бактерий *Bacillus* sp. 182 для улучшения разделения ПСБ на фракции при высоких температурах. Дальнейшие исследования будут сосредоточены на оптимизации процесса микробной ферментации ПСБ для повышения питательной ценности ее твердой фракции (кека) как источника кормового белка.

Список использованных источников

1. Кузнецов, И. Н. Анализ мирового опыта в технологии переработки послеспиртовой барды / И. Н. Кузнецов, Н. С. Ручай // Труды БГТУ. Химия, технология органических веществ и биотехнология. – 2010. – Т. 1, № 4. – С. 294–301.

2. Технология переработки барды. – URL: <https://www.belpg.com/oborudovanie/energosberegayuschie-tehnologii/perepabotka-bardy> (дата обращения: 10.07.2025 г.).
3. Спиртовая барда в кормлении коров. – URL: <https://www.direct.farm/post/spirtovaya-barda-v-kormlenii-korov-14485>. (дата обращения: 30.10.2025 г.).
4. Shurson, J. Feed and alternative uses for DDGS / J. Shurson, S. Noll // The Journal of Gender, Agriculture and Food Security. – 2016. – Vol. 1. – P. 1–22.
5. Buenavista, E. Utilization of distiller's dried grains with solubles: A review / E. Buenavista, K. Siliveru, Y. Zheng // The Journal of Agriculture and Food Research. – 2021. – Vol. 5:100195. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100195>. Дата доступа: 10.07.2025 г.
6. Cekmecelioglu, D. Production of cellulase and xylanase enzymes using distillers dried grains with solubles (DDGS) by *Trichoderma reesei* at shake-flask scale and the validation in the benchtop scale bioreactor / D. Cekmecelioglu, A. Demirci // Waste and Biomass Valorization. – 2020. – Vol. 11, № 12. – P. 6575–6584.
7. Iram, A. Distillers' dried grains with solubles (DDGS) and its potential as fermentation feedstock / A. Iram, D. Cekmecelioglu, A. Demirci // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2020. – Vol. 104, № 14. – P. 6115–6128.
8. Cassidy, D. P. Methane production from ethanol co-products in anaerobic SBRs / D. P. Cassidy, P. J. Hirl, E. Belia// Water Science and Technology. – 2008. – Vol. 58. – P. 789–793.
9. Studies on biodiesel production from DDGS-extracted corn oil at the catalysis of Novozym 435/super absorbent polymer / J. Gu, Z. Xin, X. Meng [et al.] // Fuel. – 2015. – Vol. 146. – P. 33–40.
10. Sargsyan, H. The distiller's grains with solubles as a perspective substrate for obtaining biomass and producing bio-hydrogen by *Rhodobacter sphaeroides* / H. Sargsyan, L. Gabrielyan, A. Trchounian // Biomass and Bioenergy. – 2016. – Vol. 90. – P. 90–94.
11. Ферментативная обработка послеспиртовой барды для улучшения ее технологических и потребительских свойств / Е.А. Шляхотко, А.А. Шепшев, И.В. Мороз, Л.И. Сапунова [и др.] // // Прыроднае ассяроддзе Палесся і навукова-практычныя аспекты рацыянальнага рэсурсакарыстання : зборнік навуковых прац XII Міжнароднай навуковай канферэнцыі, 8–10 кастрычніка 2025 г., Брэст, Рэспубліка Беларусь / Нацыянальная акадэмія навук Беларусі ; Палескі аграрна-экалагічны інстытут ; рэдкал. М. В. Міхальчук (гал. рэд.) [і інш.]. – Брэст : Альтернатива, 2025. – С. 354–357.