

Биосурфактанты-пенообразователи в сахарном производстве

В.А. СОТНИКОВ, д-р техн. наук, директор ИП «Сотников В.А.» («Предприятие ПромАсептика») (e-mail: swa862@mail.ru)

Т.Р. МУСТАФИН, канд. биол. наук, зав. лабораторией

А.В. ГРЯЗЕВА, гл. технолог филиала «Золотухинский» ООО «КСП»

Введение и цель работы

В проведённых нами ранее исследованиях [1] был выявлен примечательный феномен подавления антисептирующим препаратом «Тетасепт» процессов пенообразования при эксплуатации транспортёрно-моечной воды (ТМВ) и получении диффузионного сока. Было высказано предположение, что обнаруженный эффект пеногашения может иметь опосредованный характер, когда гашение пены обусловлено не прямым воздействием действующих веществ препарата «Тетасепт» на пену, а является следствием уничтожения микрофлоры, продуцирующей пенообразующие вещества – биосурфактанты (биоэмульгаторы).

Известно, что процессы инициации пенообразования в сахаросодержащих технологических потоках весьма сложны и разнообразны [2]. Условно все факторы, провоцирующие пенообразование, можно подразделить на химические и микробиологические. К химическим относят присутствие в сахаросодержащих потоках сапонинов, растворимых пектинов, почвенных гуминовых веществ и т. п. Пена, инициированная этими веществами (из свёклы и почвы), как правило, хорошо гасится известными на сегодняшний день пеногасителями. Напротив, микробиологическая пена является

очень стойкой и с трудом поддаётся гашению этими же пеногасителями.

К микробиологическим факторам относят биологические поверхностно-активные вещества (биоПАВ) [3], или биосурфактанты, которые продуцируются различными видами микроорганизмов. У всех биоПАВ есть особые свойства, приводящие к снижению поверхностного и межфазного натяжения. Биосурфактанты – это амфифильные молекулы, которые вырабатываются преимущественно микроорганизмами (бактериями, дрожжами и грибами). Их основная биологическая функция нацелена на увеличение степени растворимости (солюбилизации) труднорастворимых субстратов, например полисахаридов ткани сахарной свёклы. Именно эта «благоприятная» для микроорганизмов функция имеет другой «неблагоприятный» эффект – активное пенообразование сахаросодержащих потоков, где обитают эти микроорганизмы.

С целью подтверждения высказанной гипотезы нами были проведены исследования, направленные на выявление способности микроорганизмов, обитающих в сахаросодержащих потоках, к продуцированию биосурфактантов и, следовательно, к участию этих микроорганизмов в процессах пенообразования.

Материалы и методы исследований

В качестве объектов исследования [4] были выбраны типичные (мажорные) представители микроорганизмов, обитающих в ТМВ, диффузионном соке, жомопрессовой воде (ЖПВ), барометрической воде и мелассе. Дополнительно к числу этих потенциальных пенообразователей мы отнесли также плесневые грибы, составляющие основу микрофлоры кагатной гнили сахарной свёклы.

Вышеуказанные чистые культуры бактерий культивировали на стерильных синтетических питательных средах, имитирующих диффузионный сок, ЖПВ и ТМВ. С целью провокации продукции биосурфактантов в эти питательные среды дополнительно вносили стерильный гомогенизат ткани здоровой сахарной свёклы. В экспериментах с плесневыми грибами методика проведения эксперимента была иная: в качестве контрольного варианта использовался гомогенизат здоровой ткани сахарной свёклы в физиологическом растворе, а в экспериментальных вариантах – гомогенизат тканей, поражённых теми или иными видами плесневых грибов (рис. 1–3).

Наличие и количественный учёт биосурфактантов в исследуемых объектах оценивали на установке (рис. 4) по высоте столба пены, образующейся в результате аэри-



Botricis cineria

Рис. 1. Botricis cineria



Fusarium culmorum

Рис. 2. Fusarium culmorum



Penicillium sp.

Рис. 3. Penicillium sp.

рования воздухом культуральных жидкостей или суспензий, на которых культивировались вышеуказанные микроорганизмы.

Результаты экспериментов и их обсуждение

Как показали эксперименты (см. табл.), молочнокислые микроорганизмы не способны к синтезу биоПАВ. Даже внесение в питательные среды труднорастворимого субстрата в виде ткани здоровой свёклы не спровоцировало биосинтез биосурфактантов, и пенения культуральной жидкости не наблюдалось. Неспособность данного класса к синтезу биосурфактантов вполне объяснима:

эти микроорганизмы способны потреблять только хорошо растворимые углеводы в виде глюкозы и сахарозы. Полисахариды ими не усваиваются, так как они не вырабатывают соответствующие экзогидролазы. К этому же классу молочнокислых микроорганизмов относят лейконостоки – и эта группа микроорганизмов также не обладала пенообразующей активностью.

Пищевые «пристрастия» обширного класса почвенных редуцентов из числа бактерий рода Bacillus и Clostridium весьма разнообразны. Метаболизм этих гнилостных спорообразующих бактерий чрезвычайно лабилен и в определённых условиях они способны потреблять не только легко растворимые, но и труднорастворимые субстраты. Но для потребления, например, таких субстратов, как

плотные ткани сахарной свёклы, им необходимо синтезировать не только сложный комплекс гидролитических ферментов (пектиназы, целлюлазы, гемицеллюлазы, протеазы и т. п.), но и, вероятно, солюбилизующие вещества, которые помогают ферментам атаковать соответствующие субстраты. Образно говоря, эти солюбилизующие вещества, или биосурфактанты, можно назвать «зубами» этих бактерий.

Высказанное предположение нашло подтверждение в проведённых экспериментах. При выращивании гнилостных бактерий на среде с сахарозой к концу культивирования аэрирование вызвало образование пены в культуральной жидкости. Дополнительное внесение в эти питательные среды гомогенизата ткани сахарной свёклы привело к усилению

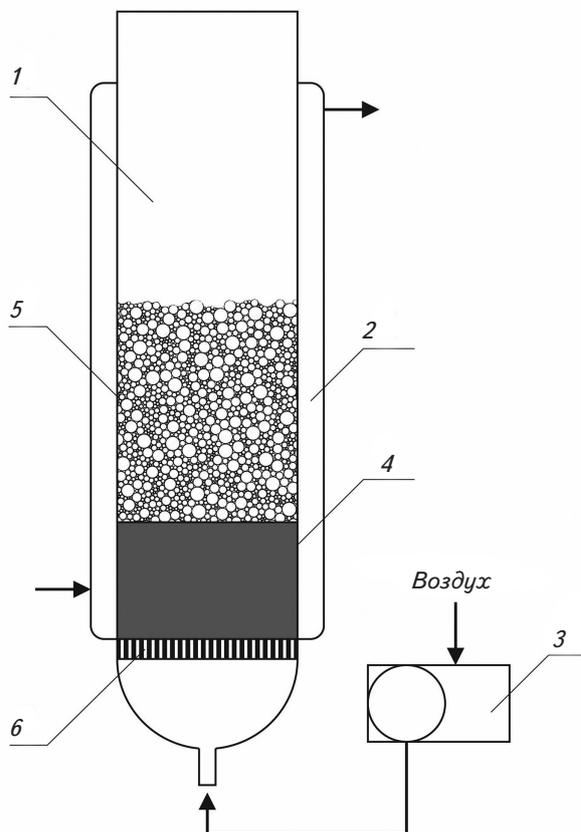


Рис. 4. Установка для определения пенообразующей способности микроорганизмов: 1 – мерный цилиндр; 2 – термостат; 3 – компрессор; 4 – культуральная жидкость; 5 – пена; 6 – пластинка Шотта

эффекта пенообразования. Особенно наглядно данный эффект проявлялся у двух культур: *Bacillus viscosum sacchari* и *Clostridium gelatinosum*, которые, как известно, продуцируя в большом количестве пектиназы, способны активно потреблять трудно растворимый субстрат – пектин. И, вероятно, с целью усиления действия пектиназы данные бактерии эволюционно «научились» дополнительно синтезировать биосурфактанты. Такими же свойствами обладают неспорообразующий представитель гнилостных бактерий *Pseudomonas fluorescens* и активный газообразователь

Escherichia coli из семейства энтеробактерий.

Мы также выяснили, что дрожжи из рода *Saccharomyces* и *Candida* можно отнести к числу сильных пенообразователей. Однако остаётся загадкой, почему дрожжи, способные потреблять только растворимые сахара и абсолютно неспособные разлагать клетчатку сахарной свёклы, всё же активно выделяют в окружающую среду биосурфактанты?

Для таких видов микроорганизмов, как плесневые грибы, активное продуцирование биосурфактантов в окружающую среду вполне объяснимо и предопределено

биохимической необходимостью осуществления процессов предварительной деструкции полисахаридов с целью повышения их атакующести гидролитическим ферментами, потому что эта стадия экзогенного гидролиза тканевых структур свёклы является лимитирующей для роста плесневых грибов и бактерий. Именно этой спецификой питания можно объяснить природную способность полупаразитных грибов (*Botritis cineria* и *Fusarium culmorum*) и сапрофитных грибов (*Penicillium* sp.) к биосинтезу биосурфактантов, но только в том случае, если эти грибы выращивались на плотных тканях

Пенообразующая способность микроорганизмов сахарного производства

Микроорганизм	Класс	Мажорная среда обитания*	Характеристика ущерб технологического потока	Пенообразующая способность (см) микроорганизмов на питательной среде	
				с сахарозой	с сахарозой и тканью сахарной свёклы
<i>Lactobacillus breve</i>	Молочнокислые	ТМВ, ДС, ЖПВ, М, К	Закисание	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Молочнокислые	ТМВ, ДС, ЖПВ, М, К	Закисание	0	0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Молочнокислые	ДС, ЖПВ, К	Слизеобразование	0	0
<i>Leuconostoc agglutinans</i>	Молочнокислые	ДС, ЖПВ, К	Слизеобразование	0	0
<i>Escherichia coli</i>	Энтеробактерии	ДС, ЖПВ	Газообразование	7	38
<i>Bacillus subtilis</i>	Гнилостные	ТМВ, ДС, ЖПВ, М	Слизеобразование, газообразование	5	65
<i>Bacillus circulans</i>	Гнилостные	ТМВ, ДС, ЖПВ, М	Слизеобразование	15	80
<i>Bacillus mesentericus</i>	Гнилостные	ТМВ, ДС, ЖПВ, М	Слизеобразование	10	45
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	Гнилостные	ТМВ, ДС, ЖПВ, Б	Слизеобразование, закисание	10	15
<i>Bacillus viscosum sacchari</i>	Гнилостные	ТМВ, ДС, ЖПВ	Слизеобразование, закисание	13	90
<i>Clostridium gelatinosum</i>	Гнилостные	ТМВ, ДС, ЖПВ, М, К, Б	Слизеобразование, закисание	28	77
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Гнилостные	ДС, ЖПВ, Б	Газообразование	40	110
<i>Saccharomyces</i>	Дрожжи	ДС, ЖПВ, К	Газообразование	90	100
<i>Candida scotti</i>	Дрожжи	ДС, ЖПВ, К	Газообразование	60	100
<i>Bacterium betae flavum</i>	Гнилостные	К	Слизистый бактериоз	12	120
<i>Botritis cineria</i>	Грибы	К	Гниение свёклы	–	100
<i>Fusarium culmorum</i>	Грибы	К	Гниение свёклы	–	115
<i>Penicillium</i> sp.	Грибы	К	Гниение свёклы	–	80
<i>Desulfovibrium desulfuricans</i>	Анаэробы	ТМВ, Б	Сероводород	2	13

*Примечание: ТМВ – транспортёрно-мочечная вода; ДС – диффузионный сок; ЖПВ – жомпрессовая вода; М – меласса; К – кагатное хранение; Б – барометрическая вода

сахарной свёклы (см. рис. 1–3). Напротив, если эти же грибы выращивать на жидких питательных средах, где источники углерода (сахароза, глюкоза, фруктоза) и источник азота (нитрат аммония) находятся в доступной (растворённой) форме, пенообразующая способность этих культур полностью утрачивается, т. е. данным культурам грибов уже нет необходимости в выработке биосурфактантов.

Таковыми же биохимическими и физиологическими свойствами обладает главный возбудитель слизистого бактериоза *Bacterium betae flavum*, который является представителем семейства бактерий. Вероятно, эта бактериальная культура, которая априори неспособна трансформировать полисахаридные субстраты, а питается только легкодоступными субстратами, всё же по каким-то причинам склонна к образованию биосурфактантов.

Дополнительно мы исследовали пенообразующую активность другого представителя бактерий – сульфатредуцирующей вибрион (*Desulfovibrium desulfuricans*). Этот вид анаэробных бактерий является типичным представителем микробиологического пейзажа ТМВ и является продуцентом сероводорода, что представляет серьёзную опасность для окружающей среды и человека. Возможно, данный вид бактерий обуславливает активное пенение ТМВ по всему технологическому тракту гидротранспорта и в радиальных отстойниках.

Как показали эксперименты, *Desulf. desulfuricans* по сравнению с гнилостными бактериями обладает умеренной пенообразующей активностью, и можно сделать вывод, что основной вклад в процессы пенообразования вносят всё же гнилостные бактерии и (или) химические факторы.

О том, что изучаемые нами бактерии, являясь продуцентами биосурфактантов, определяют «микробиологический» фактор пено-

образования в сахаросодержащих потоках, убедительно иллюстрируют эксперименты, в которых вспениваемость культуральной жидкости предотвращается, если в момент внесения в питательные среды вышеуказанных микроорганизмов вводится антисептирующий препарат «Тетасепт» в тех дозах, которые надёжно уничтожают эти микроорганизмы.

Результаты этого эксперимента были статистически достоверно воспроизведены в реальных производственных условиях, когда антисептирующий препарат «Тетасепт» вносили в ТМВ и отобранные пробы вод из радиального отстойника и с иловых карт предприятия. Антисептирование проб даже в экстремальных условиях термостатирования при 22–28 °С и в течение 30 суток надёжно предотвратило их закисание без образования пены в условиях принудительного барботирования.

Выводы

На основании проведённых исследований было высказано предположение о существенном вкладе микробиологического фактора в процессы пенообразования сахаросодержащих потоков. По способности к продуцированию биосурфактантов мажорными представителями микробиологического пейзажа сахаросодержащих

потоков микроорганизмы можно расположить в следующий ряд: грибная инфекция кагатной гнили, гнилостные бактерии, дрожжи и энтеробактерии. Молочнокислые бактерии выделяют наименьшее количество биосурфактантов, что коррелирует с их наименьшей пенообразующей способностью. Проведение процесса обеспложивания инфицированных сахаросодержащих потоков бактерицидным препаратом «Тетасепт» надёжно предотвращает активное пенообразование в транспортёрно-моечной, жомопрессовой водах и диффузионном соке.

Список литературы

1. Сотников, В.А. Микрофлора транспортёрно-моечной воды сахарных заводов / В.А. Сотников [и др.] // Сахар. – 2020. – № 7. – С. 12–17.
2. Сорокин, А.И. Методы и устройства для обеззараживания оборотных вод в свеклосахарном производстве / А.И. Сорокин, А.П. Пархомец. – Обзорная информация. – Серия 11. – Вып. 12. М.: ЦНИИТЭИПищепром, 1983. – 24 с.
3. Льюнг, Т.М. Методы скрининга биосурфактант-продуцирующих бактерий (миниобзор) / Т.М. Льюнг, И.А. Нечаева, О.Н. Понаморева // Известия ТулГУ. Естественные науки. – 2019. – Вып. 4. – С. 98–110.
4. Находкина, В.З. Микробиология и микробиологический контроль в свеклосахарном производстве / В.З. Находкина. – М.: Пищевая промышленность, 1975. – 94 с.

Аннотация. В работе проведены исследования по выявлению способности посторонней микрофлоры сахарных предприятий к продуцированию пенообразующих веществ – биосурфактантов. Показано, что наиболее активными продуцентами являются грибы кагатной гнили свёклы, гнилостные бактерии и дрожжи сахаросодержащих потоков. Молочнокислые бактерии не обладают выраженной пенообразующей активностью. Обеспложивание потоков бактерицидным препаратом «Тетасепт» предотвращает микробиологическое пенение сахаросодержащих потоков.

Ключевые слова: транспортёрно-моечная вода (ТМВ), диффузионный сок, грибы кагатной гнили, дрожжи, гнилостные бактерии, биосурфактанты, пенообразование. **Summary.** In the work, studies were conducted to identify the ability of foreign microflora of sugar enterprises to produce foaming substances-biosurfactants. It is shown that the most active producers are beet root rot fungi, putrefactive bacteria and yeast of sugar-containing streams. Lactic acid bacteria do not have a pronounced foaming activity. Dedusting of the streams with the bactericidal preparation «Tetasept» prevents microbiological foaming of sugar-containing streams.

Keywords: conveyor-washing water, diffusion juice, cahate rot fungi, yeast, putrefactive bacteria, biosurfactants, foaming.