

2. Уголев Б.Н. Древесиноведение с основами лесного товароведения : учебник [для студ. ВУЗов] / Б.Н. Уголев. – Изд. 2-ое, [перераб. и доп.]. – М. : Изд-во "Лесн. пром-сть", 1986. – 368 с.
3. Полуобояринов О.И. Плотность древесины / О.И. Полуобояринов. – М. : Изд-во "Лесн. пром-сть", 1976. – 160 с.
4. Holger Militz, Professor Dr.. – Heat Treatment Technologies in Europe: Scientific Background and Technological State-of-Art. (In: Proceedings of Conference on "Enhancing the durability of lumber and engineered wood products" February 11-13, 2002, Orlando. Forest Products Society, Madison, US.).
5. Finnish Thermowood Association, 2003. Thermowood Handbook. Wood Focus Oy, Helsinki, Finland. – 246 p.

**Андрашек И.В., Щупакивский Р.Б. Анализ изменения механических свойств термически модифицированной древесины клёна (*Acer pseudoplatanus* L.) и ели обыкновенной (*Picea abies* K.) путем исследования ее пористой структуры**

Приведена методика определения объема древесного вещества путем ртутной порозиметрии и гелиевой пикнометрии; проанализировано изменение пористой структуры древесины в процессе ее термической модификации.

**Ключевые слова:** термически модифицированная древесина, плотность древесного вещества, пористость, ртутная порозиметрия, гелиевая пикнометрия.

**Andrashek Y.V., Shchupakivskyy R.B. Analysis of changes in mechanical properties of thermally modified wood maple (*Acer pseudoplatanus* L.) and spruce (*Picea abies* K.) by examining its porous structure**

Performed method of determining the volume of wood substance by helium pycnometry and mercury intrusion porosimetry; analyzed the changes of porous structure of wood due to thermal treatment.

**Keywords:** thermal treatment wood, wood density, porosity, helium pycnometry, mercury intrusion porosimetry.

УДК 604.2(045)

Доц. О.А. Васильченко, канд. мед. наук;  
магістрант О.О. П'янкова – НАУ, м. Київ

**БИОТЕХНОЛОГИЧНІ АСПЕКТИ ОТРИМАННЯ  
ЛИМОННОЇ КИСЛОТИ**

Розглянуто особливості біосинтезу лимонної кислоти культурою *Aspergillus niger*, вплив фізичних і хімічних факторів на цей процес, вимоги до продуцента лимонної кислоти. Обґрунтовано поверхневий, глибинний та твердофазний методи отримання лимонної кислоти в промислових умовах, їх переваги та недоліки.

**Ключові слова:** лимонна кислота, біосинтез, продуцент, *Aspergillus niger*, поверхневий метод, глибинний метод, твердофазний метод.

До початку двадцятих років минулого століття лимонну кислоту отримували з соку лимонів, таким чином задовольнялося близько трьох чвертей світової потреби в ній (вихід лимонної кислоти з однієї тонни лимонів становить 25 кг). Виробництво лимонної кислоти методом ферментації за участю грибів – давно відомий (з 1893 р.) біотехнологічний процес. Як продукт ферментації лимонна кислота займає друге місце за об'ємом виробництва у світі (400 тис. тонн на рік, що в грошовому еквіваленті становить близько 325 млн євро), поступаючись лише промислового спирту.

Незважаючи на значний прогрес у сфері органічного синтезу, на сьогодні лимонну кислоту отримують мікробіологічним синтезом, а саме

шляхом лимоннокислого бродіння солодких відходів цукрового виробництва – патоки (меляси), спричиненого пліснявими грибами роду *Aspergillus niger*, тому виробництво часто розташовують спільно з виробництвом цукру. Харчова промисловість традиційно є основним споживачем виробленої таким чином кислоти, оскільки продукти природного бродіння мають переваги порівняно з хімічно синтезованими та не містять токсичних для організму людини домішок. Лимонна кислота є широкоживаною нешкідливою харчовою добавкою (E330), крім того, її застосовують у медицині, кондитерській промисловості, друкарській справі тощо.

Одним з головних завдань у виробництві лимонної кислоти є досягнення її високого виходу.

**Продуценти лимонної кислоти.** Технологія виробництва кислоти застосовує різні джерела вуглецю та способи культивування мікроорганізмів (поверхневий та глибинний, періодичний та неперіодичний). Багато мікроорганізмів нагромаджує лимонну кислоту, зокрема види *Aspergillus awamori*, *A. fenicis*, *A. fonsecaeus*, *A. luchensis*, *A. fumaricus*, *A. wentii*, *A. saitoi*, *A. usami*, *A. phoenicus*, *A. lanosus*, *A. foetidus*, *A. flavus* [2]. У промисловому виробництві лимонної кислоти широко застосовують гриби *A. niger*, оскільки цей вид дає високий вихід цільового продукту, з ним легко працювати, він відносно недорогий і цим самим робить виробничий процес економічно вигідним [5]. Проте необхідно взяти до уваги, що до *A. niger* належить багато штамів, що відрізняються один від одного за своєю морфологією та біохімічними характеристиками: кольору спор та міцелію, розміру та кількості спор, розміру міцелію, утилізації субстрату, ферментаційному часу, здатності продукувати лимонну кислоту на різних субстратах [2, 3].

Продуцент лимонної кислоти має мати певні характеристики, а саме:

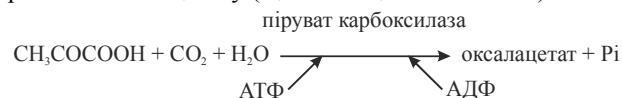
- високу швидкість кислотоутворення;
- високий ступінь трансформації джерела вуглецю у лимонну кислоту;
- генетичну однорідність та стабільність;
- толерантність до зміни температури та контамінантів середовища, зокрема до високих концентрацій вуглеводів [2, 4].

Під час культивування продуценту має бути низький вихід побічних продуктів (щавлевої, глюконової кислот, невикористаних вуглеводів) [15]. Перерахованим критеріям, крім *Aspergillus niger*, відповідають гриби *Trihododerma viride*, *Penicillium janthinellum*, дріжджі *Candida tropicalis*, *C. oleophila*, *C. citroformans*, *Yarrowia lipolytica*, бактерії *Corynebactreium*, *Arthrobacterium*, *Brevibacterium*, *Bacillus licheniformis* [2, 6, 17].

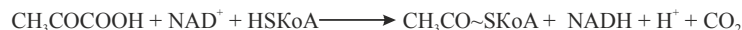
**Біосинтез лимонної кислоти.** Біосинтез лимонної кислоти – це регульований процес, який значною мірою залежить від складу поживного середовища та його фізико-хімічних параметрів [16]. Лимонна кислота є первинним метаболітом *A. niger*. Зазвичай, первинні метаболіти необхідні для росту та життєдіяльності продуценту [13].

Метаболічним шляхом вироблення лимонної кислоти в аеробних організмів є цикл трикарбонових кислот (ЦТК). Внаслідок гліколізу з глюкози формується дві молекули пірвіноградної кислоти (пірувату). Далі відбу-

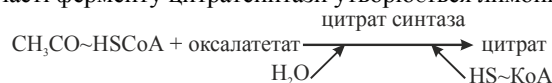
вається ферментативне зв'язування однієї молекули пірувату з діоксидом вуглецю з утворенням оксалацетату (щавлевооцтової кислоти):



Внаслідок окисного декарбоксилювання іншої молекули пірувату утворюється ацетил-КоА:



ЦТК починається з реакції конденсації оксалацетату з ацетил-КоА, внаслідок якої за участі ферменту цитратсинтази утворюється лимонна кислота:



Отже, біосинтез лимонної кислоти охоплює реакції гліколізу та низку реакцій, замкнених в ЦТК, що у еукаріотів, зокрема й *A. niger*, відбувається в мітохондріях [7, 10, 18]. Після синтезу цитрат може бути виділений з клітини, якщо перешкоджати наступному етапу ЦТК – утворенню ізолимонної кислоти [7, 10].

Промислове виробництво лимонної кислоти можна розглядати як процес, що складається з двох етапів – росту міцелію гриба та синтезу лимонної кислоти. На кожному з етапів культура чутлива до різних фізико-хімічних факторів, таких як склад та співвідношення компонентів середовища, аерація, рН середовища, температура тощо. Ефективний вплив тих або інших факторів, що стимулюють утворення лимонної кислоти грибом *A. niger*, значною мірою визначається фізіолого-біохімічними особливостями самої культури, а також технологічними параметрами процесу культивування [2, 16].

Пригнічення синтезу в повноцінних поживних середовищах, що містять всі необхідні для росту і розвитку культури компоненти мінерального живлення, та активування синтезу в умовах лімітації середовища за певними компонентами свідчать про великі можливості культури до саморегуляції метаболізму залежно від умов культивування [16].

**Склад поживного середовища.** Поживне середовище для біосинтезу лимонної кислоти має містити джерела вуглецю, азоту, фосфору та мікроелементів, що є необхідними для росту продуцента-мікроорганізму та для самого процесу нагромадження лимонної кислоти [7].

Вид джерела вуглецю та його концентрація мають великий вплив на вихід лимонної кислоти. Зазвичай, лимонну кислоту виготовляють шляхом ферментації з використанням дешевої та неочищеної природної сировини, такої як гідролізат крохмалю, бульйон цукрової тростини, меляси, рослинних відходів сільського господарства і механічного перероблення деревини [2, 15]. Переважно як джерело вуглецю для мікробного виробництва лимонної кислоти використовують мелясу завдяки її низькій вартості та високому вмісту цукру (40-55 %), достатньої кількості мікроелементів, амінокислот та вітамінів, необхідних для нормальної життєдіяльності продуцента. Меляса – по-

бічний продукт цукрового виробництва, що утворюється внаслідок відділення кристалів сахарози на центрифугах під час її кристалізації.

Меляса переважно (на 65-80 %) складається з сухих речовин, а 20-25 % становить вода. Якісний та кількісний склад меляси значно варіює, тому не всі види меляси придатні для виробництва лимонної кислоти [7]. Склад меляси залежить від різновиду цукрових буряків, технології виробництва цукру, умов зберігання та транспортування (виду транспорту, температури).

У мелясі є мікроелементи, кількість яких сильно коливається, що може впливати як на ріст продуцента, так і на вихід лимонної кислоти [11]. У табл. 1 наведено вміст таких мікроелементів у мелясі, що залежить від різновиду цукрових буряків. Алюміній, залізо та стронцій можуть міститися як в макро-, так і мікрокількостях.

Табл. 1. Вміст мікроелементів у мелясі

Мікроелементи	Вміст (мг/100 г меляси)
Алюміній	9,3-60,0
Стронцій	4,6-59,4
Хром	6,6-54,7
Залізо	8,3-26,6
Мідь	0,0-9,8
Магній	5,7-8,6
Марганець	1,4-7,6
Цинк	2,0-3,3
Титан	0,21-0,70
Нікель	0,16-0,76
Кобальт	0,10-0,76
Молібден	0,10-0,12
Свинець	0,21-0,61
Бор	0,20-0,42

Вміст амінокислот у мелясі залежить від клімату, типу ґрунтів, умов культивування цукрового буряку (табл. 2).

Табл. 2. Вміст амінокислот у мелясі

Амінокислоти	Вміст (% меляси)
Лейцин + ізолейцин	1,7-2,9
Фенілаланін	незначна кількість
Валін + метіонін + триптофан	0,4-1,3
Тирозін	0,6-0,8
Пролін	незначна кількість
Аланін	1,2-2,3
Треонін + гліцин	0,2-0,8
Глутамінова кислота	1,3-1,8
Серин	1,7-2,5
Аспарагінова кислота	0,3-0,5
Аргінін + гістидин + лізин	незначна кількість
Цистеїн	незначна кількість

Вітаміни важливі для стимуляції росту продуцента та біосинтезу лимонної кислоти. Їхній склад представлено в табл. 3 [7].

Табл. 3. Вміст вітамінів у мелясі

Вітаміни	Вміст (мг/100 г)
Інозитол	90,0-120,0
Нікотинова кислота	3,90-5,20
Пантотенова кислота	0,06-0,25
Фолієва кислота	0,01-0,03
Біотин	0,0035-0,0060
Тіамін	0,18-0,26
Рибофлавін	0,02-0,08
Піридоксин	0,30-0,45

У мелясі є також інші речовини, що містяться в малих кількостях, але достатніх для того, щоб мати негативний вплив на синтез кислоти. Це пестициди, фунгіциди та гербіциди, що використовуються у вирощуванні цукрових буряків, а також речовини, які застосовуються як піногасник у процесі виробництва цукру. Ці речовини є токсичними, тому перед використанням меляси як сировини її очищують хімічним шляхом [10].

Через високий вміст глюкози (40-45 %) як субстрат можливе застосування гідролію. Це побічний продукт, що утворюється під час виробництва кристалічної глюкози з крохмалю [7]. Було досліджено використання метанолу та етанолу як джерела вуглецю. За концентрації метанолу 1,5 % та етанолу 1 % у середовищі продуцентом *A. niger* M-101 було отримано 49,33 г/л та 40,85 г/л лимонної кислоти відповідно. Метанол та етанол в оптимальних умовах збільшують проникність клітинної мембрани *A. niger* M-101, що призводить до нагромадження лимонної кислоти в середовищі [9].

Використання відходів сільського господарства є економічно вигідним та дає змогу вирішувати екологічні проблеми. У табл. 4 наведено вихід лимонної кислоти різними штамми *Aspergillus niger* з використанням відходів сільського господарства та харчової промисловості [12].

Табл. 4. Біосинтез лимонної кислоти з використанням відходів сільського господарства та харчової промисловості

Субстрат	Продуцент	Вихід лимонної кислоти
Харчові відходи	<i>A. niger</i> UV 60	45,5 г/л
Пшеничні висівки	<i>A. niger</i> CFTRI 30	85 г/кг
Меляса	<i>A. niger</i> ATCC 942	35 г/л
Жом цукрової тростини	<i>A. niger</i> CFTRI 30	174 г/кг
Рисові висівки	<i>A. niger</i> CFTRI 30	127 г/кг

Оскільки число біодизельних заводів у світі, зокрема в Україні, росте, гліцерин як відхід виробництва біопалива стає легко доступним у великому промисловому масштабі. Низька ціна неочищеного гліцерину робить його привабливою сировиною для виробництва лимонної кислоти [19]. Виключно важлива роль у процесі мікробіологічного синтезу лимонної кислоти належить азоту, що є важливим не тільки для підтримки певного рівня метаболізму клітини, а й входить до складу клітинних білків. Його дефіцит є одним із основних чинників, що зумовлює нагромадження в середовищі лимонної кислоти, оскільки за цих умов затримується ріст міцелію і формування біомаси [2, 4, 8].

У разі використання меляси, потреба в додаванні азоту до середовища відпадає, оскільки меляса містить достатню кількість органічних і неорганічних сполук азоту. Азот меляси існує у вигляді бетаїну (близько 60-70 % від загального азоту), амінокислот (20-30 % азоту), білків (3-4 % азоту), а також у вигляді нітрату амонію та аміду. Оптимальна концентрація азоту в середовищі, необхідного для синтезу лимонної кислоти, становить 0,1-0,4 г/л [10].

Доцільніше використовувати солі амонію у вигляді  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Його утилізація супроводжується зниженням рН середовища нижче 2,0, що є необхідним для продукування лимонної кислоти [17]. Вплив різних концентрацій нітрату амонію (як джерела азоту для росту міцелію) на синтез лимонної кислоти штамом *Aspergillus niger* GCBT7 показано на рис. 1. Високий вихід лимонної кислоти (89,64 г/л) було отримано за концентрації  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  у середовищі 0,2 %. У разі збільшення або зменшення цієї концентрації відбувалося пригнічення росту гриба і, як наслідок – низький вихід лимонної кислоти [11].

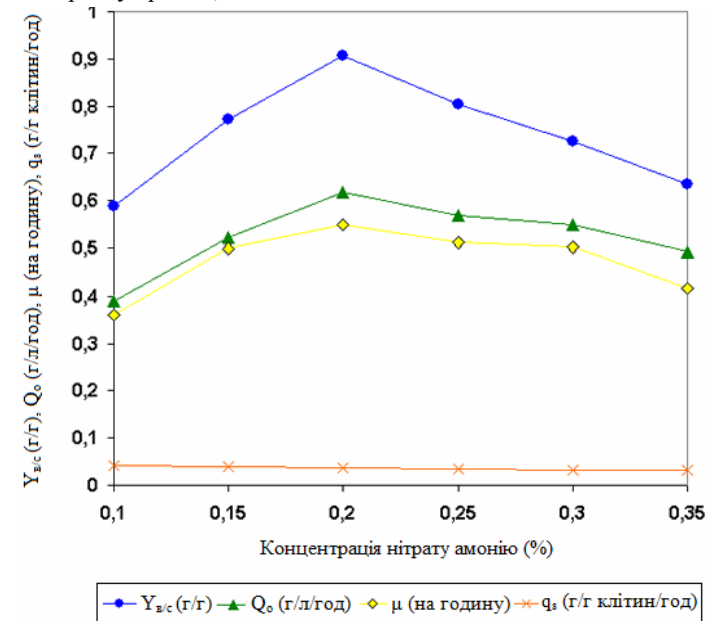


Рис. Вплив різних концентрацій нітрату амонію (як джерела азоту для росту міцелію) на синтез лимонної кислоти штамом *Aspergillus niger* GCBT 7. Процес ферментації проводять за температури 30 °C та первинного вмісту цукру 150 г/л. Ферментаційний період – 6 год.  $Y_{вс}$  = г вихід лимонної кислоти / г спожитого субстрату,  $Q_o$  = г отриманої лимонної кислоти / л / год,  $\mu$  ( $\text{год}^{-1}$ ) = титом швидкості росту,  $q_s$  = г спожитого субстрату / г клітин / год.

Фосфор, як і азот, – один із основних елементів харчування. Фосфор відіграє важливу роль у метаболізмі мікроорганізму. Він входить до складу нуклеїнових кислот, фосфопротеїнів, фосфоліпідів та ряду коферментів, що беруть участь у синтезі АДФ та АТФ, у розмноженні клітин і продукуванні первинних та вторинних метаболітів. Джерелом фосфору може бути орто-

фосфорна кислота, її солі та фосфоровмісні сполуки. Під час виробництва лимонної кислоти до поживних середовищ зазвичай додають гідрофосфат калію у концентрації 0,06-0,32 г/л, що, своєю чергою, слугує ще й джерелом калію [17]. За нестачі фосфору в середовищі порушується засвоєння грибом азоту та сповільнюється синтез вітамінів (тіаміну, рибофлавіну та нікотинової кислоти). Надлишок фосфору зумовлює посилення газообміну та зниження активності кислотоутворення. Оптимальна концентрація фосфору в середовищі для гриба становить від 0,5 до 5,0 г/л [13].

Окрім фосфору необхідними елементами в мікрокількостях є сірка, калій, кальцій. Певний вплив на процес синтезу лимонної кислоти мають марганець, залізо та фосфор, магній та мідь. Марганець у концентрації 3 мг/л сильно зменшує вихід лимонної кислоти. Міцелій гриба, що росте на середовищі з цинком, продукує більше лимонної кислоти, ніж у середовищі без цинку. Вміст цинку має підтримуватися на рівні  $1,5 \cdot 10^{-4}$  % (у розрахунку на  $ZnSO_4$ ).

Достатня для росту гриба та синтезу лимонної кислоти концентрація заліза становить  $2 \cdot 10^{-6}$  %. За високого вмісту заліза в середовищі відбувається гальмування біосинтезу лимонної кислоти [10]. Магній необхідний як для росту гриба, так і для нагромадження лимонної кислоти. Оптимальною концентрацією сульфату магнію є 0,02-0,025 % [15].

**Вплив фізичних факторів на біосинтез лимонної кислоти.** Значний вплив на синтез лимонної кислоти та самого продуцента має рН. Початкове значення рН має бути чітко визначеним та оптимізованим залежно від мікроорганізму, середовища та технології виробництва. Процес ферментації розпочинається з проростання спор гриба, тому оптимальним рН середовища на початку ферментації має бути 5,0. Для продукування лимонної кислоти рН має бути низьким ( $pH \leq 2$ ), що знижує ризик зараження продуцента та ферментаційного середовища патогенними мікроорганізмами, інгібує виробництво небажаних органічних кислот (глюконової, щавлевої) та значно полегшує процес виділення лимонної кислоти з маточного розчину [1, 5, 7]. Оптимальне рН для синтезу лимонної кислоти становить 1,0-2,0 [19]. Збільшення рН до 4,5 на стадії синтезу лимонної кислоти знижує вихід кислоти на 80 %. рН може змінюватися у відповідь на метаболічну активність продуцента. *Aspergillus niger*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.* швидко знижують рН ( $pH < 3$ ). Для інших родів грибів (*Trichoderma*, *Sporotrichum*, *Pleurotus*) рН є стабільним у межах 4,0-5,0.

Рівень аерації може мати згубний вплив на вихід продукту. Оскільки виробництво лимонної кислоти – це аеробний процес, тому постачання кисню має значний вплив на виробничий процес. Аерація має відбуватися протягом всього ферментаційного процесу з однаковою інтенсивністю. Високий рівень аерації призводить до утворення піни, особливо у період росту міцелію, тому необхідно застосовувати піногасники [1, 5, 7].  $CO_2$  є субстратом для ферменту піруваткарбоксілази, який поповнює пул оксалацетату в ЦТК. Підвищений рівень  $CO_2$  має негативний вплив на кінцеву концентрацію цитрату та біомаси [1, 2, 7].

Протягом всього процесу ферментації необхідно підтримувати оптимальну температуру. Вища за оптимальну температура призводить до денатурації ферментів, надмірної втрати вологи, пригнічує ріст продуцента, тоді як низька температура призводить до зниження метаболічної активності. Більшість гіфоміцетів, до яких належить *A. niger*, є мезофілами, і тому оптимальною температурою для них є 25-35° С [1, 2, 5].

Час ферментаційного процесу залежить від штаму, що використовується, хімічного складу середовища, ферментаційної системи і, зазвичай, від умов, за яких відбувається ферментація. За поверхневого способу виробництва процес ферментації завершується через 10-20 днів, тоді як за глибинного способу – через 5-10 днів. Збільшення періоду ферментації не підвищує виходу лимонної кислоти [15].

**Методи отримання лимонної кислоти.** Біотехнологія отримання лимонної кислоти за участю мікроорганізмів охоплює такі основні етапи:

1. Отримання посівного матеріалу.
2. Підготовка сировини до ферментації.
3. Підготовка та стерилізація повітря.
4. Ферментація.
5. Відокремлення біомаси продуцента від культуральної рідини.
6. Екстракція лимонної кислоти з культуральної рідини та отримання її у вигляді кристалів [7, 18].

Промислове виробництво лимонної кислоти можна здійснювати трьома різними способами: поверхневим культивуванням грибів, глибинним культивуванням, твердофазною ферментацією, що має назву "процес Коджі" [6].

Поверхневий спосіб культивування є найпростішим [3, 7]. Він передбачає застосування стерильного рідкого середовища. Приготування середовища відбувається у спеціальних чанах. Після стерилізації та охолодження середовище подається насосами до кювет завтовшки 12-18 см. Кювети розташовуються на стійках в асептичних ферментаційних камерах, де контролюються такі параметри: температура, початкове та кінцеве значення рН, час проростання спор, час ферментації, вологість повітря. За допомогою спеціального обладнання шляхом розпилювання до середовища додають посівний матеріал – спори *A. niger*. Спори проростають і утворюють плівку міцелію. Через добу тонка плівка міцелію набуває сіро-білого кольору. За декілька днів вона стає товстішою. Початкова температура підтримується в діапазоні 28-30 °С, відносна вологість становить 40-60 % [6, 7]. У період активного росту міцелію температура повинна бути в діапазоні 34-35 °С за помірної аерації. У період активного утворення лимонної кислоти температура знижується до 32-34 °С, а подача кисню збільшується в 3-4 рази [5]. Початкове значення рН середовища становить 5,0-6,0, а кінцеве – 1,0-2,0. Процес ферментації становить 8-12 днів, після чого культуральна рідина відділяється від біомаси гриба та використовується для екстракції лимонної кислоти [6, 7].

За глибинного культивування процес ферментації відбувається у спеціальних біореакторах з мішалкою (ферментерах). Низьке значення рН під час ферментації та сама лимонна кислота спричинюють корозію, тому внутрішня частина біореактора виготовляється з матеріалу, стійкого до корозії.

Важливою умовою у виборі біореактора для виробництва лимонної кислоти є забезпечення системою аерації, що здатна підтримувати високий рівень розчинного кисню [5, 7].

Процес отримання лимонної кислоти з використанням *A. niger* проводиться в ферментерах об'ємом 100 м<sup>3</sup>. Як посівний матеріал використовують конідії гриба в об'ємі 10 м<sup>3</sup> [5]. Попередньо до ферментера подають стерильне та охолоджене поживне середовище [5, 6]. Після проростання спор підсилюють аерацію. За оптимальних умов процес ферментації становить 5-10 днів за постійної аерації та температури 31-32 °С. Необхідним є додавання піногасника, оскільки під час перемішування утворюється піна [5-7].

Твердофазну ферментацію, або процес Коджі, було розроблено в Японії і вона є найпростішим способом у виробництві лимонної кислоти порівняно з іншими методами. Як сировину використовують рисові та пшеничні висівки, фруктові та овочеві відходи. Зволожений субстрат стерилізується, розливається у кювети та інокулюється спорами гриба. На початку ферментації рН становить 5,5. Ферментація триває 4-5 днів [2, 4].

**Переваги та вади методів ферментації.** Поверхневий та глибинний методи продовжують співіснувати, але на сьогодні значну увагу надають глибинному методу [5]. Глибинний метод дає змогу застосовувати широкий набір вуглецевмісної сировини. До того ж ферментація ведеться в стерильних умовах, що є важливою передумовою для переходу на безперервний, повнісно механізований процес [10].

За глибинного методу швидкість ферментації є високою – в одному апараті (біореакторі) одразу утворюється велика кількість культуральної рідини, а за поверхневого – вона збирається по численних кюветах [5]. Поверхневий спосіб має такі переваги: висока концентрація лимонної кислоти у культуральній рідині; значно менше утворюється побічних кислот, внаслідок чого зменшуються затрати меляси на ферментацію та легше виділити лимонну кислоту в чистому вигляді, і як наслідок – низька собівартість лимонної кислоти; низькі затрати енергії на виробничий процес.

Витрати на обслуговуючий персонал більші за поверхневого способу, оскільки підготовка камер і зняття міцелію з кювет потребує значних затрат ручної праці [7]. Перевагами твердофазної ферментації є низькі затрати на утилізацію відходів та низькі енергозатрати; високий вихід продукту; низький рівень контамінації через високий рівень вологості в біореакторі; використання живильного середовища спрощеного складу.

Вадами такого методу ферментації є труднощі, що виникають під час контролю рН та складу поживного середовища; високі затрати на виділення кислоти в чистому вигляді через високий вміст домішок у продукті [8].

**Висновки.** З огляду на збільшення попиту на лимонну кислоту, необхідно постійно удосконалювати технологічний процес її отримання: застосовувати різноманітні джерела вуглецю, проводити селекцію штамів мікроорганізмів-продуцентів, впроваджувати сучасні способи культивування, розробляти нову апаратуру. Потрібно детально знати механізм синтезу лимонної кислоти, що є метаболітом мікроорганізмів-продуцентів, одним з яких є *As-*

*pergillus niger*. Залежно від умов культивування (складу поживного середовища, рН, температури, аерації, часу та методу ферментації) змінюється вихід лимонної кислоти. Значний економічний ефект можна отримати завдяки модернізації біотехнологічного процесу.

## Література

1. Barrington S. Optimization of citric acid production by *Aspergillus niger* NRRL 567 grown in a column bioreactor / S. Barrington, S.S. Kim, L. Wang // Korean Journal of Chemical Engineering. – 2009. – Vol. 26, № 2. – P. 422-427.
2. Carlos R.S. New perspectives for citric acid production and application / R.S. Carlos, P.S. Vandenberghe, C. Rodrigues // J. Food Technol. Biotechnol. – 2006. – Vol. 44, № 2. – P. 141-150.
3. Darouneh E. Citric acid production: surface culture versus submerged culture / E. Darouneh, A. Alavi, M. Vosoughi // Microb. Resear. – 2009. – Vol. 3, № 9. – P. 541-545.
4. Jay J.M. Modern food microbiology / J.M. Jay, M.J. Loessner, D.A. Golden. – USA. – 2005. – P. 61-91.
5. Kalidas S. Food biotechnology / S. Kalidas, G. Paliyath, A. Pometto, R.E. Levin. – Taylor & Francis Group. – 2006. – P. 1989.
6. Kavanagh K. Fungi: Biology and applications / K. Kavanagh. – England. – 2005. – P. 229.
7. Kristiansen B. Citric acid biotechnology / B. Kristiansen, M. Matthey, J. Linded. – Taylor & Francis. – 1999. – P. 189.
8. Kritiansen B. Production of citric acid in continuous culture / B. Kritiansen, C.G. Sinclair // Biotechnol. Bioeng. – 1997. – Vol. 21, № 2. – P. 297-315.
9. Nadeem A. Enhanced production of citric acid by *Aspergillus niger* M-101 using lower alcohols / A. Nadeem, Q. Syed, S. Baig // J. Bio. Chem. – 2010. – Vol. 35, № 1. – P. 7-13.
10. Papagianni M. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling / M. Papagianni // Biotech. Advan. – 2007. – Vol. 25, № 3. – P. 244-263.
11. Sikander A. Production of citric acid by *Aspergillus niger* using cane molasses in a stirred fermenter / A. Sikander, J. Iqbal // Electron. J. Biotechnol. – 2002. – Vol. 5, № 3. – P. 144-165.
12. Singh-Nee N.S. Biotechnology of agro-industrial residues utilization / N.S. Singh-Nee, A. Padney. – United Kingdom : Springer. – 2009. – P. 51-53.
13. Trehan K. Biotechnology / K. Trehan. – New Delhi : Purlishers. – 2002. – P. 38-41.
14. Ward E.P. Fermentation biotechnology / E.P. Ward // England: John Wiley & Sons. – 1992. – P. 224–250.
15. Yigitoglu M. Production of citric acid by fungi / M. Yigitoglu // Islamic Academy of Sciences. – 1992. – Vol. 5, № 2. – P. 100-106.
16. Биотехнология микробного синтеза / под ред. М.Е. Беккера. – Рига : Изд-во "Зинатне", 1980. – 350 с.
17. Биотехнология. Принципы и применения / под ред. И. Хигинса, Д. Беста, Д. Джонса. – М. : Изд-во "Мир", 1988. – 480 с.
18. Дирина Е.Д. Проблемы и перспективы разработки биотехнологии утилизации отходов производства биодизеля из растительного сырья / Е.Д. Дирина, Винаров А.Ю., В.А. Быков // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 3. – С. 24-32.
19. Муратова Е.И. Биотехнология органических кислот и белковых препаратов : учебн. пособ. / Е.И. Муратова, О.В. Зюзина, О.Б. Шуныева. – Тамбов : Изд-во Тамб. гос. тех. ун-та, 2007. – С. 8-10.

## Васильченко О.А., Пьянкова О.О. Биотехнологические аспекты получения лимонной кислоты

Рассмотрены особенности биосинтеза лимонной кислоты культурой *Aspergillus niger*, влияние физических и химических факторов на этот процесс, требования к продуценту лимонной кислоты. Основаны поверхностный, глубокий и твердофазный методы получения лимонной кислоты в промышленных условиях, их преимущества и недостатки.

**Ключевые слова:** лимонная кислота, биосинтез, продуцент, *Aspergillus niger*, поверхностный метод, глубокий метод, твердофазный метод.

**Vasilchenko O.A., Piankova O.O. Biotechnological aspects of citric acid obtaining**

Considered the features of citric acid biosynthesis by *Aspergillus niger*, influence of physical and chemical factors on this process, requirements for the producer of citric acid. Discussed the surface, submerged and solid-phase methods for citric acid industrial production, their advantages and disadvantages.

**Keywords:** lemon acid, biosynthesis, producer, *Aspergillus niger*, superficial method, deep method, solid-phase methods.

УДК 677.027.62 Доц. Л.І. Демкевич, канд. техн. наук; доц. М.Ю. Барна, канд. екон. наук; ст. викл. О.В. Сафронова; ст. викл. А.М. Уська – Львівська КА

**ВИКОРИСТАННЯ ХІМІЧНИХ РЕЧОВИН У ТЕКСТИЛЬНІЙ ПРОМИСЛОВОСТІ ТА ЇХ ТОКСИКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА**

Наведено токсикологічні характеристики деяких хімічних барвників, замаслювачів, емульгаторів, відновлювачів, просочувачів для тканин, їх вплив на організм людини.

**Ключові слова:** барвники, текстильна промисловість, вплив, гранично допустимі концентрації.

У текстильній промисловості сьогодні досить широко використовують хімічні речовини як барвники, замаслювачі, емульгатори, відновлювачі, просочувачі для тканин. Із середніх віків є відомості лікарів про захворювання, які виникали в процесі ткацтва, виготовлення шовку та килимів, унаслідок контакту зі шкідливими речовинами, парами і пилом.

Результати досліджень сучасних вчених свідчать, що текстильне виробництво супроводжується використанням та виділенням певної кількості шкідливих речовин, що мають токсичний вплив на організм людини. Незначне відхилення від меж допустимих концентрацій може призвести до серйозних, навіть незворотних наслідків. Велику групу хімічних речовин, які використовують у текстильній промисловості, становлять барвники. Барвники за рівнем токсичності і безпеки поділяють на класи і групи. У робітників внаслідок контакту з нітробарвниками може виникати екзема, дерматит, спостерігається пофарбування шкіри у колір барвника.

Потрібно зазначити, що робітники часто використовують для видалення залишків барвників з рук шкідливі суміші, які складаються з абразива та лугу. Токсична дія органічних розчинників пов'язана з їхньою здатністю розчинятися в жирах, а також із їх леткістю. Вони легко всмоктуються через слизову оболонку дихальних шляхів, травного тракту, подразнюють шкіру, спричиняють запальні процеси.

Барвники дисперсний міцний жовтий 2К, дисперсний червоний Ж, кубовий яскраво-зелений Ж, кубовий блакитний ДО можуть стати причиною бронхіту, пневмонії, гастриту, ентероколіту, дерматиту. У крові спостерігається зниження кількості еритроцитів, лейкоцитів та гемоглобіну. Унаслідок дії пилу сірчистих барвників, таких як сірчистий чорний, сірчистий яскраво-зелений Ж, у працівників можуть виникати дерматити, паодерматити, кон'юнктивіт, екзема, ангіна, фарингіт, невралгія.

Унаслідок введення у шлунок дослідних тварин фталоціанового барвника, такого як дисульффталоціанін кобальту відзначають відставання у вазі, зниження кількості еритроцитів і лейкоцитів у крові, зміну функціонального стану нервової системи. Гранично допустимі концентрації окремих барвників, класи їх токсичності та безпеки наведено у таблиці.

**Табл. Гранично допустимі концентрації окремих барвників, класи їх токсичності та безпеки**

Назва барвника	ГДК у повітрі робочої зони, мг/м <sup>3</sup>	Оцінка за ДСТ	
		токсичності	безпеки
Активний червоно-фіолетовий 2 ГКТ	1,0	IV	III
Активний червоно-коричневий ГКТ	1,8	IV	III
Активний червоний 4 ГКТ	2,4	IV	III
Активний жовтогарячий ГКТ	3,0	IV	III
Дисперсний міцний жовтий 2К	0,1	III	II
Дисперсний червоний Ж	0,2	III	II
Кислотний хром синій 2К	1,0	IV	III
Кислотний хром червоний ПРО	1,0	IV	III
Сірчистий чорний	2,0	IV	III
Сірчистий яскраво-зелений Ж	5,0	IV	III
Кубовий яскраво-зелений Ж	0,1	III	II
Кубовий блакитний ДО	0,2	III	II
Дисульффталоціанін кобальту	0,35 мг/л у воді водоєм	X	III

Досить поширеними у текстильному виробництві є анілінові барвники. Анілін потрапляє в організм у вигляді парів через дихальні шляхи, легко проникає через шкіру. Анілін викликає зміни у крові, спостерігаються порушення з боку шлунково-кишкового тракту і серцево-судинної системи, головний біль, синюшність губ. Гранично допустима концентрація аніліну становить 0,1 мг/м<sup>3</sup> у робочій зоні. Алергенні властивості мають азнафтолові фарби, денітрохлорбензол, дубильні засоби та речовини для апретури. Внаслідок роботи з ними у працівників текстильної промисловості спостерігаються алергічні реакції трьох видів:

- алергічні професійні хвороби (бронхіальна астма, бронхіт, кропивниця, кон'юнктивіт, сінна лихоманка);
- алергічні професійні хвороби, що характеризуються певними патологічними ознаками (бериліоз, променева і опікова хвороби);
- силікоз, бензолна інтоксикація, токсична меланодермія та ін.

Для відбілювання, мерсеризації та фарбування тканин використовують їдкий натр. Отруєння лугами у текстильній промисловості трапляється рідше, ніж кислотами. Небезпечною є доза 20 мг/м<sup>3</sup> 15 % розчину їдкого лугу. Дія лугів на організм зумовлена зменшенням кількості води в тканині, розчиненням та руйнуванням білків, що призводить до утворення лужних альбумінатів. Водні оксиди лужних металів проникають глибоко у тканину і викликають значні руйнування. Концентровані або малорозведені луги спалюють та руйнують слизову оболонку рота, стравоходу і черевної порожнини.

Використання кислот, лугів та оброблення тканин киплячою рідиною призводить до ризику появи опіків. Для відбілювання тканин багато текстиль-