

Исследование особенностей биосинтеза бета-глюканов в мицелиальной массе *Aspergillus niger* и в некондиционном зерне злаковых

Байрта С. Манжиева¹ bmanzhieva@gmail.com
Наталья Ю. Шарова^{1,2} natalya_sharova1@mail.ru

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Литейный пр-т, 55, Санкт-Петербург, 191014, Россия

² Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», Кронверкский пр., 49, Санкт-Петербург, 197101, Россия

Аннотация. На данный момент представляется актуальной переработка мицелиальной массы как отхода производства лимонной кислоты и некондиционного зерна, так как существует проблема утилизации отходов производства. В свою очередь, переработка отходов дает возможность выделения ряда уникальных соединений, таких, как глюкан и хитин. Интерес представляет клеточная стенка микромицетов. Ее основные структурные полисахариды (хитин и глюкан) образуют комплекс, получивший название хитин-глюканового комплекса. Причем содержание хитина в микромицетах выше, чем в традиционном сырье - панцирях морских ракообразных. Мицелиальная масса микромицета *Aspergillus niger* является перспективным источником глюкана и хитина. Биомасса *Aspergillus niger* и некондиционное зерно злаковых содержат растворимые пищевые волокна- бета-глюканы. Они способствуют снижению риска сердечно-сосудистых заболеваний за счет уменьшения уровня холестерина, контролируют содержание глюкозы в крови, что очень важно для больных сахарным диабетом. Кроме того, из-за способности бета-глюканов образовывать вязкие гели эти химические вещества замедляют всасывание сахаров. Благодаря этому наблюдается снижение гликемического индекса продуктов. Наибольший интерес представляют глюканы микробного происхождения. Помимо структурных особенностей (более функционально активные β -1,3/1,6-связи) преимуществом бета-глюканов, полученных из биомассы, является более высокий показатель количественного выхода растворимых форм, которые интересны не только в области пищевой промышленности, но и в медицине. Цель данной работы – изучение влияния различных источников углерода (сырье) на биосинтез глюканосодержащих соединений и их производных микромицетом *Aspergillus niger*. В результате исследований установлено, что наибольшую эффективность представляет собой биомасса на гидролизате кукурузного крахмала, в ней отмечено высокое содержание бета-глюканов.

Ключевые слова: бета-глюканы, хитин-глюкановый комплекс, пищевые волокна, биомасса, гидролизат, зерно, ферменты

Researching of features byosynthesis beta-glucans in the micelial mass *Aspergillus niger* and in non-conditional cereal grains

Baiyrta S. Manzhieva¹ bmanzhieva@gmail.com
Natalya Yu. Sharova^{1,2} natalya_sharova1@mail.ru

¹ All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Litejnyj Av., 19, St. Petersburg, 191014, Russian Federation

² St. Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, Kronverksky Av., St. Petersburg, 197101, Russian Federation

Abstract. At the moment, it seems relevant to process mycelial mass as a waste product of citric acid and substandard grain, since there is a problem of recycling production waste. In turn, waste processing makes it possible to isolate a number of unique compounds, such as glucan and chitin. Of interest is the cell wall of micromycetes. Its main structural polysaccharides (chitin and glucan) form a complex called the chitin-glucan complex. Moreover, the content of chitin in micromycetes is higher than in traditional raw materials - shells of marine crustaceans. The mycelial mass of *Aspergillus niger* micromycete is a promising source of glucan and chitin. *Aspergillus niger* biomass and substandard cereal grains contain soluble dietary fiber-beta-glucans. They help reduce the risk of cardiovascular disease by lowering cholesterol, control blood glucose, which is very important for patients with diabetes. In addition, because of the ability of beta-glucans to form viscous gels, these chemicals slow down the absorption of sugars. Due to this, there is a decrease in the glycemic index of products. Of greatest interest are glucans of microbial origin. In addition to structural features (more functionally active β -1,3 / 1,6-bonds), the advantage of beta-glucans derived from biomass is a higher quantitative yield of soluble forms, which are interesting not only in the food industry, but also in medicine. The aim of this work is to study the effect of various carbon sources (raw materials) on the biosynthesis of glucan-containing compounds and their derivatives *Aspergillus niger* micromycetes. As a result of studies, it was found that the biomass on the corn starch hydrolyzate is the most effective, it contains a high content of beta-glucans.

Keywords: beta-glucans, chitin glucan complex, food fibers, biomass, hydrolisat, grain, enzymes

Для цитирования

Манжиева Б.С., Шарова Н.Ю. Исследование особенностей биосинтеза бета-глюканов в мицелиальной массе *Aspergillus niger* и в некондиционном зерне злаковых // Вестник ВГУИТ. 2019. Т. 81. № 2. С. 218–222. doi:10.20914/2310-1202-2019-2-218-222

For citation

Manzhieva B.S., Sharova N.Yu. Researching of features byosynthesis beta-glucans in the micelial mass *Aspergillus niger* and in non-conditional cereal grains. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2019. vol. 81. no. 2. pp. 218–222. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2019-2-218-222

Введение

Пищевые волокна на сегодняшний день являются одними из самых востребованных и широко применяемых пищевых ингредиентов благодаря их функциональным свойствам [1]. Они используются как технологические добавки, изменяющие структуру и химические свойства пищевых продуктов, и как универсальные функциональные ингредиенты [2].

Потребность населения России в пищевых волокнах примерно 1,5 млн тонн в год, причем удовлетворяется она только на треть за счет муки грубого помола, зерна, овощей и фруктов. Поэтому чрезвычайно актуально создание промышленных технологий получения пищевых волокон [3].

Среди пищевых волокон можно выделить бета-глюканы. Они являются одними из перспективных биологически активных соединений, которые можно использовать для обогащения повседневных пищевых продуктов и придания им новых функциональных свойств [4]. Экстракты, содержащие бета-глюканы, – одни из наиболее изученных растворимых пищевых волокон, известны своим положительным влиянием на здоровье человека [2]. Из-за способности бета-глюканов образовывать вязкие гели эти химические вещества замедляют всасывание сахаров. Благодаря этому наблюдается снижение гликемического индекса продуктов [1].

Перспективным источником глюканов является отход микробиологического синтеза лимонной кислоты – мицелиальная масса микромицета *Aspergillus niger*. Данный микромицет обладает высоким содержанием хитин-глюканового комплекса (ХГК), а это зависит от субстрата и способа культивирования [5]. Образование глюканов происходит именно в мицелии, а образование хитина – в спорах и спораносцах. Вследствие морфологических и онтогенетических особенностей продуцента, а также в зависимости от используемого источника углерода происходит большее образование глюканов [6].

Бета-глюканы – это водорастворимые пищевые волокна. Они способствуют снижению риска сердечно-сосудистых заболеваний за счет уменьшения уровня холестерина, контролируют содержание глюкозы в крови, улучшают работу кишечника и контролируют аппетит, стимулируя насыщение. В косметологии применяются для улучшения состояния кожи и ее омоложения за счет усиления синтеза коллагена и укрепления кровеносных сосудов [7].

Некондиционное зерно злаковых представляет интерес для пищевой промышленности.

Из него получают сахаро- и белоксодержащие продукты, а также кормовые добавки. Помимо этого оно является источником макро- и микроэлементов, необходимых для роста и развития микроорганизмов [8].

Ранее во ВНИИПД в качестве источника бета-глюканов были исследованы зерно ржи и биомасса, полученная при его ферментации [9].

Цель работы – изучение влияния различных источников углерода (сырье) на биосинтез глюкансодержащих соединений и их производных микромицетом *Aspergillus niger*.

Объекты и методы

Объектами исследования являлись образцы мицелиальной массы микромицета *Aspergillus niger*, полученные при ферментации мелассных сред, традиционно используемых в биотехнологическом производстве, и перспективных источников – гидролизатов кукурузного крахмала и помола зерна ржи. Также использовалось измельченное зерно (помол, размер частиц 750 ± 50 мкм) нестандартного качества: рожь озимая Омского региона 4-го класса, овес Ленинградской области и сорго регион произрастания – Краснодарский край, зерно не соответствует требованиям ГОСТ 16990–2017, ГОСТ 28673–90, ГОСТ 53902–2010. По показателям «массовая доля влаги» – $17 \pm 2\%$ (более 14%), «сорная примесь» – $8 \pm 2\%$ (более 5%), «зерновая примесь» – в основном проросшие зерна и зёрна других культур $45 \pm 2\%$ (более 15%), с содержанием крахмала ниже 50%.

Ферментацию углеводсодержащих субстратов микромицетом *Aspergillus niger* проводили в условиях шейкера-инкубатора Multitron (INFORS, Швейцария): вместимость качалочных колб 750 см³, периодический способ, аэробные условия при перемешивании 160–220 мин⁻¹, $t = 32 \pm 1^\circ\text{C}$, $\tau = 120$ ч.

Определение бета-глюканов в мицелиальной массе *Aspergillus niger* и в растительном сырье проводили в соответствии с ГОСТ 57513–2017.

Для проведения ферментативного гидролиза зерновых помолов и микробной биомассы в качестве биокатализаторов использовали β -глюканазу (эндо-1,3(4)-глюканаза) *Trichoderma longibrachiatum* (Sigma Aldrich, США) для продукции растительного происхождения и ксиланазу Rohament GE (AB Enzymes, Германия) – для продукции микробиологического происхождения.

Содержание глюкозы, мальтозы, декстринов (углеводный состав) в гидролизатах зерновых помолов и гидролизатах микробной биомассы определяли методом Зихерда-Блэйера, в модификации Смирнова [10].

Результаты и обсуждение

В результате проведенного опыта была засвидетельствована высокая эффективность использования *Aspergillus niger* для получения бета-глюканов, в особенности на гидролизате кукурузного крахмала.

В процессе онтогенеза *Aspergillus niger* изменяется как количественное содержание ХГК, так и его состав. Исследования проводились на питательных средах различного состава, а именно крахмалосодержащих (гидролизаты кукурузного крахмала и помола зерна ржи) и мелассных. При этом отмечено, что наибольшее количество ХГК образуется на питательной среде – гидролизате крахмала.

По литературным данным отмечена следующая тенденция: наряду с увеличением содержания ХГК при ферментации гидролизата крахмала наблюдается увеличение содержания бета-глюкана в клетках продуцента [6].

Результаты исследований показали, что содержание бета-глюкана больше в биомассе на кукурузном крахмале по сравнению с биомассой на мелассной среде (Рисунок 1.).

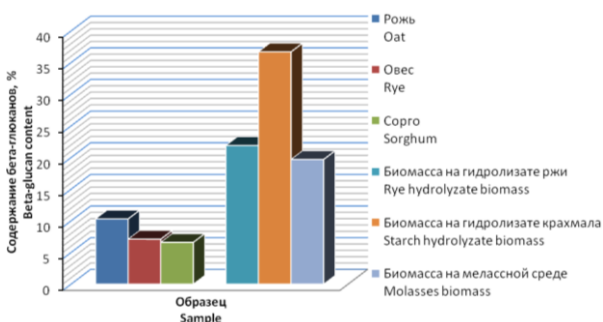


Рисунок 1. Общее содержание бета-глюканов
Figure 1. Summary content of beta-glucans

В научном и практическом аспекте интерес представляют растворимые формы углеводов. Ранее полученные результаты исследований показали [9], что в жидкой фракции после гидролиза ХГК содержание бета-глюканов больше в гидролизате биомассе, полученной при ферментации кукурузного крахмала (таблица 1).

Для сравнения приведены данные, полученные при культивировании аспергилла на средах, содержащих сахарозу (мелассная и сахарозо-минеральная) (таблица 2). Сахар кристаллический и меласса содержат в основном дисахарид сахарозу. Вероятно, для биосинтеза бета-глюканов предпочтительнее наличие полисахаридов, в частности амилозы и амилопектина, в случае использования гидролизата крахмала. Биомасса, полученная при культивировании аспергилла на гидролизате помола зерна ржи, представляет собой сложную систему, которая содержит микробные бета-глюканы и растительные

глюканы, не усвоенные самим микромицетом в процессе роста и развития.

Таблица 1.

Содержание растворимых углеводов в жидкой фракции гидролизата ХГК из биомассы микромицета *Aspergillus niger* β-глюканазой *T. Longibrachiatum*

Table 1.

Content of soluble carbohydrates in liquid fraction of HCG hydrolyzate from biomass of *Aspergillus niger* micromycete β-glucanase *T. Longibrachiatum*

Компонент Component	Содержание сахаридов от общего количества растворимых углеводов, % Saccharide content of total soluble carbohydrates, %	
	Моно- и дисахариды Mono- and disaccharides	Бета-глюканы Beta-glucans
Гидролизат крахмала Starch hydrolyzate	47 ± 3	50 ± 1
Меласса свекловичная Molasses	65 ± 2	34 ± 1
Сахар кристаллический Crystalline sugar	57 ± 2	41 ± 2

В сравнительном аспекте помимо биомассы микробного происхождения исследовали содержание бета-глюканов в природном сырье: измельченном зерне злаковых, а именно, ржи, овса и сорго (таблица 2).

Таблица 2.

Химический состав крахмалосодержащего сырья

Table 2.

Chemical composition of starch-containing raw materials

Компонент Component	Содержание компонентов в сырье, % от СВ* Content of components in raw materials, %		
	Овес Oat	Рожь Rye	Сорго Sorghum
Литературные данные (зерно стандартного качества) [15-16] Reference data (standard quality grain)			
Крахмал Starch	61	65	70
Бета-глюканы Beta-glucans	7,4	8,5	6,2
Растворимые углеводы Soluble carbohydrates	4,5	3,5	3,5
Экспериментальные данные Experimental data			
Крахмал Starch	48	45	42
Бета-глюканы Beta-glucans	7,2	10,2	6,5
Растворимые углеводы Soluble carbohydrates	5,0	6,5	4,0

Зерновое сырье содержит значительное количество как альфа-глюканов, так и бета-глюканов. Результаты исследований показали, что наибольшее количество глюкана образуется в зерне ржи, а в зерне сорго – наоборот (рисунок 1). Возможно, зерно ржи является более доступным источником субстратов для используемых в эксперименте ферментов с различной специфичностью действия, чем зерно сорго. Кроме того, в состав оболочек зерна сорго входят дубильные вещества – танины, которые могут негативно влиять на процесс ферментативного гидролиза.

Заключение

В результате проведенного опыта было установлено следующее:

- биосинтез глюканов происходит продуктивнее в сырье микробиологического происхождения;

ЛИТЕРАТУРА

1 Саломатов А.С. Получение β -глюкана из ячменя методом кислотной экстракции // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2015. № 6. С. 130–135.

2 Фриуи М., Гарчеу Л., Опря О., Шамцын М.М. Влияние грибного экстракта, содержащего бета-глюканы, на реологические характеристики хлебного теста // Вестник МАХ. 2018. № 3. С. 53–61.

3 Типсина Н.Н., Присухина Н.В. Пищевые волокна в кондитерском производстве // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2009. № 9. С. 166–171.

4 Броневец И.Н. Пищевые волокна – важная составляющая сбалансированного здорового питания // Медицинские новости. 2015. №10. С. 46–48.

5 Феодилова Е.П. Клеточная стенка грибов: современные представления о составе и биологической функции // Микробиология. 2010. Т. 79. № 6. С. 723–733.

6 Андреев Н.Р., Баталова Г.А., Носовская Л.П., Адикаева Л.В. и др. Оценка технологических свойств некоторых сортов голозерного овса, как сырья для производства крахмала // Зернобобовые и крупяные культуры. 2016. № 1 (17). С. 83–89.

7 Шарова Н.Ю., Принцева А.А., Манжиева Б.С., Выборнова Т.В. Ферменты гидролитического действия в технологиях переработки некондиционного крахмалсодержащего сырья // Пищевая промышленность. 2019. № 4. С. 115–117.

8 Redaeli R., Sgrulletta D., Scalfati G., Destefanis E. et al. Naked oats for improving human nutrition: genetic and agronomic variability of grain bioactive components // Crop Sci. 2009. № 49. P. 1431–1437.

9 Mitsou E.K., Panopoulou N., Turunen K., Spiliotis V. et al. Prebiotic potential of barley derived β -glucan at low intake levels: a randomised, double-blinded, placebocontrolled clinical study // Food Research International. 2010. V. 43(4). P. 1086–1092.

10 Tiwari U., Cummins E. Dietary exposure assessment of β -glucan in a barley and oat based bread // LWT – Food Science and Technology. 2012. V. 47. № 2. P. 413–420.

- так как в процессе культивирования микромицета в его клеточной стенке формируется прочный по структуре комплекс глюкана с хитином, то глюкан микробного происхождения более устойчив к воздействию внешних факторов.

Наибольший интерес представляют глюканы микробного происхождения. Помимо структурных особенностей (более функционально активные β -1,3/1,6-связи) преимуществом бета-глюканов, полученных из биомассы, является более высокий показатель количественного выхода растворимых форм, которые интересны не только в области пищевой промышленности, но и в медицине. В перспективе микробную массу можно рассматривать в качестве альтернативного источника глюканов для их промышленного получения из отходов микробиологического производства. Интерес представляют эксперименты с другими крахмалсодержащими источниками растительного происхождения.

11 Sullivan P., Arendt E., Gallagher E. The increasing use of barley and barley by-products in the production of healthier baked goods // Trends in Food Science & Technology. 2013. V. 29. № 2. P. 124–134.

12 Ganssman W., Vorwerck K. Oat milling processing and storage // The Oat crop: Production and utilization; ed. R.W. Welch. London: Chapman and Hall, 1995. P. 369–408.

13 Трегубов Н.Н., Костенко В.Г. Технохимический контроль крахмало-паточного производства. М.: ВО «Агропромиздат», 1991. 123 с.

14 Шарова Н.Ю., Позднякова Т.А., Выборнова Т.В. Хранение и переработка сельхозсырья. Крахмалсодержащие продукты переработки зерна ржи для биосинтеза лимонной кислоты // Хранение и переработка сельхозсырья. 2009. №7. С. 56–58.

15 Алабушев А.В., Ковтунов В.В., Лушпина О.А. Сорго зерновое – перспективное сырьё для производства крахмала // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30. № 7. С. 64–66.

16 Лоскутов И.Г., Полонский В.И. Селекция на содержание β -глюканов в зерне овса как перспективное направление для получения продуктов здорового питания, сырья и фуража (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 4. С. 646–657.

REFERENCES

1 Salomatov A.S. Obtaining β -glucan from barley by acid extraction. Bulletin of Altai State Agrarian University. 2015. no. 6. pp. 130–135. (in Russian).

2 Friui M., Garcheu L., Oprya O., Shamcyan M.M. The effect of mushroom extract containing beta-glucans on rheological characteristics of bread dough. Bulletin MAH. 2018. no. 3. pp. 53–61. (in Russian).

3 Tipsina N.N., Prisuina N.V. Dietary fiber in confectionery industry. The Bulletin of KrasGAU. 2009. no. 9. pp. 166–171. (in Russian).

4 Bronovec I.N. Dietary fiber is an important component of a balanced, healthy diet. Medical news. 2015. no. 10. pp. 46–48. (in Russian).

5 Feofilova E.P. Mushroom cell wall: current understanding of composition and biological function. *Microbiology*. 2010. vol. 79. no. 6. pp. 723–733. (in Russian).

6 Andreev N.R., Batalova G.A., Nosovskaya L.P., Adikaeva L.V. et al. Assessment of the technological properties of some varieties of glazed oats as raw materials for the production of starch. *Legumes and cereals*. 2016. no. 1 (17). pp. 83–89. (in Russian).

7 Sharova N.Yu., Princeva A.A., Manzhieva B.S., Vybornova T.V. Hydrolytic enzymes in processing technology of substandard starch-containing raw materials. *Food Industry*. 2019. no. 4. pp. 115–117. (in Russian).

8 Redaelli R., Sgrulletta D., Scalfati G., Destefanis E. et al. Naked oats for improving human nutrition: genetic and agronomic variability of grain bioactive components. *Crop Sci*. 2009. no. 49. pp. 1431–1437.

9 Mitsou E.K., Panopoulou N., Turunen K., Spiliotis V. et al. Prebiotic potential of barley derived β -glucan at low intake levels: a randomised, double-blinded, placebocontrolled clinical study. *Food Research International*. 2010. vol. 43 (4). pp. 1086–1092.

10 Tiwari U., Cummins E. Dietary exposure assessment of β -glucan in a barley and oat based bread. *LWT – Food Science and Technology*. 2012. vol. 47. no. 2. pp. 413–420.

11 Sullivan P., Arendt E., Gallagher E. The increasing use of barley and barley by-products in the production of healthier baked goods. *Trends in Food Science & Technology*. 2013. vol. 29. no. 2. pp. 124–134.

12 Ganssman W., Vorwerck K. Oat milling processing and storage. *The Oat crop: Production and utilization*; ed. R.W. Welch. London: Chapman and Hall, 1995. pp. 369–408.

13 Tregubov N.N., Kostenko V.G. Technochemical control of starch and syrup production. Moscow, VO “Agropromizdat”, 1991. 123 p. (in Russian).

14 Sharova N.Yu., Pozdnyakova T.A., Vybornova T.V. Storage and processing of agricultural raw materials. Starch-containing rye grain processing products for the biosynthesis of citric acid. Storage and processing of agricultural raw materials. 2009. no. 7. pp. 56–58. (in Russian).

15 Alabushev A.V., Kovtunov V.V., Lushpina O.A. Grain sorghum - a promising raw material for production of starch. *Achievements of science and technology of agribusiness*. 2016. vol. 30. no. 7. pp. 64–66. (in Russian).

16 Loskutov I.G., Selection for the content of β -glucans in oat grain as a promising direction for obtaining healthy foods, raw materials and fodder (review). *Agricultural biology*. 2017. vol. 52. no. 4. pp. 646–657. (in Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Байрта С. Манжиева м.н.с., лаборатория биотехнологии и пищевых микроингредиентов, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Литейный пр-т, 55, Санкт-Петербург, 191014, Россия, bmanzhieva@gmail.com

Наталья Ю. Шарова д.т.н., профессор, гл.н.с., лаборатория биотехнологии и пищевых микроингредиентов, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Литейный пр-т, 55, Санкт-Петербург, 191014, Россия, natalya_sharova1@mail.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 11.04.2019

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 10.05.2019

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Baiyrta S. Manzhieva junior research scientist, laboratory of biotechnology and food microingredients, All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Kronverksky Av., St. Petersburg, 197101, Russian Federation, bmanzhieva@gmail.com

Natalya Yu. Sharova Dr. Sci. (Engin.), professor, chief research scientist, laboratory of biotechnology and food microingredients, All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Kronverksky Av., St. Petersburg, 197101, Russian Federation, natalya_sharova1@mail.ru

CONTRIBUTION

The authors were equally involved in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 4.11.2019

ACCEPTED 5.10.2019