

УДК/UDC 577.152.54:661.746.5

DOI: 10.21323/2618-9771-2018-1-1-19-23

Оригинальная научная статья

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНВЕРТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ПАРАМЕТРОВ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАЦИИ САХАРОЗОМИНЕРАЛЬНОЙ СРЕДЫ И ГИДРОЛИЗАТА КРАХМАЛА МИКРОМИЦЕТОМ *ASPERGILLUS NIGER*

Принцева А.А.*, Шарова Н.Ю., Выборнова Т.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Санкт-Петербург, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:лимонная кислота, продуцент, *Aspergillus niger*, инвертазная активность, гидролизат, крахмал.**АННОТАЦИЯ**

В результате исследований установлено, что штаммы микромицета *Aspergillus niger* Л-4 и В-3 — продуценты лимонной кислоты могут синтезировать гидролитические ферменты с инвертазной активностью при глубинном способе культивирования на сахарозоминаральной среде и среде, на основе гидролизата крахмала. Наиболее предпочтительными режимами ведения биотехнологического процесса являются: возраст посевного мицелия — 24 ч, температура ферментации для сахарозоминаральной среды — 32 °С и для гидролизата крахмала — 29 °С.

Для штамма микромицета *Aspergillus niger* Л-4 экстрацеллюлярная инвертазная активность на 120 ч биотехнологического процесса в результате ферментации сахарозоминаральной среды составляла $(0,847 \pm 0,068)$ ед/см³ нативного раствора, а для штамма В-3 — $(0,966 \pm 0,077)$ ед/см³ нативного раствора соответственно.

При ферментации среды, на основе гидролизата крахмала, экстрацеллюлярная инвертазная активность для штамма Л-4 составляла $(1,379 \pm 0,097)$ ед/см³ нативного раствора, а для штамма В-3 — $(1,597 \pm 0,144)$ ед/см³ нативного раствора соответственно.

Штаммы гриба *Aspergillus niger* Л-4 и В-3 при культивировании на сахарозоминаральной среде и среде, на основе гидролизата крахмала, обладают способностью синтезировать ферменты с инвертазной активностью, причем инвертазная активность штамма В-3 в конце процесса выше. Полученные данные могут быть применены в дальнейших исследованиях для разработки технологии получения лимонной кислоты и инвертазы в одном биотехнологическом процессе.

Original scientific paper

RESEARCH OF INVERTASE ACTIVITY WHEN CHANGING THE PARAMETERS OF THE FERMENTATION PROCESS SUGAR-MINERAL MEDIUM AND HYDROLYSATE OF STARCH BY THE MICROMYCETE *ASPERGILLUS NIGER*

Anastasia A. Printseva*, Natalya Yu. Sharova, Tatyana V. Vybornova

All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, St. Petersburg, Russia

KEY WORDS:citric acid, producer, *Aspergillus niger*, invertase activity, hydrolysate, starch.**ABSTRACT**

The studies found that strains of micromycete *Aspergillus niger* L-4 and B-3, producers of citric acid, can synthesize hydrolytic enzymes with invertase activity with a deep cultivation method on a sugar-mineral medium and medium based on starch hydrolysate. The most preferred regimes for conducting the biotechnological process are: the age of the inoculated mycelium is 24 h, the fermentation temperature for the sugar-mineral medium is 32 °C and for starch hydrolysate is 29 °C.

For the *Aspergillus niger* strain L-4, the extracellular invertase activity for 120 h of the biotechnological process as a result of the fermentation of the sugar-mineral medium was $(0,847 \pm 0,068)$ u/cm³ of the native solution, and for strain B-3 — $(0,966 \pm 0,077)$ u/cm³ of the native solution, respectively.

During fermentation of the medium, based on starch hydrolysate, extracellular invertase activity for strain L-4 was $(1,379 \pm 0,097)$ u/cm³ of native solution, and for strain B-3 — $(1,597 \pm 0,144)$ u/cm³ of native solution, respectively.

The strains of the fungus *Aspergillus niger* L-4 and B-3 when cultivated on a sugar-mineral medium and medium, based on starch hydrolysate, have the ability to synthesize enzymes with invertase activity, the invertase activity of strain B-3 at the end of the process higher. The obtained data can be applied in further researches to develop a technology for the production of citric acid and invertase in one biotechnological process.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Принцева А.А., Шарова Н.Ю., Выборнова Т.В. Исследование инвертазной активности при изменении параметров процесса ферментации сахарозоминаральной среды и гидролизата крахмала микромицетом *Aspergillus niger*. *Пищевые системы*. 2018;1(1): 19–23. DOI:10.21323/2618-9771-2018-1-1-19-23

FOR CITATION: Printseva A.A., Sharova N.Yu., Vybornova T.V. Research of invertase activity when changing the parameters of the fermentation process sugar-mineral medium and hydrolysate of starch by the micromycete *Aspergillus niger*. *Food systems*. 2018;1(1): 19–23. (In Russ). DOI:10.21323/2618-9771-2018-1-1-19-23

Введение

На отечественном рынке пищевых микроингредиентов ощущается недостаток ряда пищевых добавок и технологических вспомогательных средств. Большой интерес представляют ферменты, которые катализируют процесс гидролиза углеводов в кислой среде. К такому типу ферментов относится инвертаза (синонимы: β-фруктофуранозидаза, сахараза; класс гидролаз (КФ 3.2.1.26)). Она катализирует гидролиз β-D-фруктофуранозидов, в том числе сахарозы, на D-фруктозу и глюкозу. Этот фермент применяют в разных областях пищевой промышленности. В кондитерском производстве ее используют для создания отливных и круглых помадных корпусов конфет, жидких фруктовых начинок. В кондитерских изделиях инвертаза способствует предотвращению кристаллизации сахаров, замедлению процесса брожения при использовании высоких концентраций сахара, стабилизации консистенции, усилению вкусовых качеств, продлению сроков хранения готовой продукции [1,2]. Она необходима при приготовлении инвертных сиропов в ликеро-водочной и в безалкогольной промышленности. Фермент также может выполнять роль антикристаллизатора при изготовлении сгущенного молока, плодово-ягодных морсов, соков, экстрактов, искусственного меда и варенья [3].

В России инвертаза не производится. Российский рынок закупает значительное количество данного фермента за рубежом. Согласно литературным источникам, за рубежом для получения промышленных препаратов инвертазы используют штаммы дрожжей, аспергиллов и пенициллов [4,5,6]. Известный запатентованный способ получения инвертного сахара в России заключается в автолитической деструкции дрожжей, обладающих инвертазной активностью [7]. Таким образом, можно сделать вывод, что развитие иных способов получения инвертазы, в том числе с использованием микромицета *Aspergillus niger* — продуцента лимонной кислоты, позволит расширить возможности отечественных производителей.

Штаммы микромицета *Aspergillus niger* являются продуцентами различных ферментов. Так, селекционированные в Всероссийском научно-исследовательском институте пищевых добавок (ФГБНУ ВНИИПД) штаммы наряду с основным целевым продуктом — лимонной кислотой продуцируют амилолитические ферменты, глюконовую кислоту, что позволяет рассматривать их в качестве перспективных продуцентов для создания технологий предусматривающих получение в одном технологическом процессе не одного целевого продукта, а двух и более, то есть разрабатывать «совмещенные» технологии.

Для расширения сырьевой базы для синтеза пищевых микроингредиентов необходимым поиск новых видов сырья. Постепенно все большее применение в пищевой биотехнологии находит крахмалсодержащее сырье [8]. Следует рассмотреть применение гидролизата кукурузного крахмала. Применение такого сырья для получения в одном биотехнологическом процессе пищевых кислот и инвертазы представляет научный и практический интерес.

Существенное влияние на ход культивирования и биосинтез ферментов оказывают такие параметры процесса как возраст посевного мицелия и температура ферментации.

Целью данной работы является исследование инвертазной активности при изменении параметров процесса ферментации сахарозоминаральной среды и гидролизата крахмала штаммами микромицета *Aspergillus niger* Л-4 и В-3.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись штаммы-кислотообразователи микромицета *Aspergillus niger* Л-4 и В-3, селекционированные в ВНИИПД для ферментации углеводного сырья в лимонную кислоту [9,10].

Ферментацию проводили в условиях шейкера-инкубатора Multitron (INFORS, Швейцария) в качалочных колбах вместимостью 750 см³ периодическим способом по технологии концентрированных сред при температуре (36 ± 1) °С — на стадии получения посевного мицелия, при температуре (32 ± 1) °С — на стадии ферментации [11].

Для исследований в качестве углеводного субстрата использовали сахар кристаллический (ГОСТ 21–94) и кукурузный крахмал (ГОСТ 32159–2013). Гидролиз крахмала проводили в соответствии с [12]. Источником азота являлся нитрат аммония (ГОСТ 22867–77).

Состав среды для ферментации, г/дм³: углеводный субстрат — 150; нитрат аммония (NH₄NO₃) — 2,5; сульфат магния семиводный (MgSO₄·7H₂O) — 0,25; фосфат калия однозамещенный (KH₂PO₄) — 0,16; рН 6,5 ед.

После окончания ферментации биомассу гриба отделяют на воронке Бюхнера и в ферментированном растворе определяют экстрацеллюлярную инвертазную активность.

Инвертазную активность определяли колориметрическим методом [13].

Результаты и обсуждение

В ранее проведенных исследованиях было обнаружено, что инвертаза накапливается в мицелии (интрацеллюлярная инвертазная активность) на первых стадиях развития гриба *Aspergillus niger* В-3 при культивировании на среде, содержащей сахарозу и продукты ее гидролиза [14]. Такой многокомпонентный субстрат, как гидролизат крахмала, содержит в своем составе продукт гидролиза сахарозы — глюкозу.

По литературным данным, инвертаза экскретируется в среду (экстрацеллюлярная инвертазная активность) [15].

Результаты влияния возраста посевного мицелия и температуры ферментации сахарозоминаральной среды и среды на основе гидролизата крахмала на экстрацеллюлярную инвертазную активность в конце процесса представлены в Табл. 1 и Табл. 2.

Таблица 1

Показатели процесса биосинтеза инвертазы при культивировании штаммов *Aspergillus niger* Л-4 и В-3 на сахарозоминаральной среде (в конце процесса)

| Возраст посевного мицелия, ч | Температура ферментации, °С | Экстрацеллюлярная инвертазная активность, ед/см ³ | |
|------------------------------|-----------------------------|--|-----------|
| | | Штамм Л-4 | Штамм В-3 |
| 24 | 29 | 0,705 | 0,811 |
| | 32 | 0,847 | 0,966 |
| | 34 | 0,616 | 0,715 |
| 36 | 29 | 0,607 | 0,704 |
| | 32 | 0,641 | 0,731 |
| | 34 | 0,432 | 0,497 |
| 48 | 29 | 0,505 | 0,586 |
| | 32 | 0,644 | 0,747 |
| | 34 | 0,483 | 0,560 |

Таблица 2

Показатели процесса биосинтеза инвертазы при культивировании штаммов *Aspergillus niger* Л-4 и В-3 на среде, содержащей гидролизат кукурузного крахмала (в конце процесса)

| Возраст посевного мицелия, ч | Температура ферментации, °С | Экстрацеллюлярная инвертазная активность, ед/см ³ | |
|------------------------------|-----------------------------|--|-----------|
| | | Штамм Л-4 | Штамм В-3 |
| 24 | 29 | 1,379 | 1,597 |
| | 32 | 1,233 | 1,430 |
| | 34 | 1,201 | 1,393 |
| 36 | 29 | 1,215 | 1,409 |
| | 32 | 1,127 | 1,307 |
| | 34 | 1,156 | 1,341 |
| 48 | 29 | 1,159 | 1,344 |
| | 32 | 1,136 | 1,318 |
| | 34 | 1,070 | 1,296 |

Выводы

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее предпочтительными режимами ведения био-

технологического процесса являются параметры, приведенные в Табл. 3.

Таблица 3

Наиболее предпочтительные режимы ведения биотехнологического процесса для штаммов *Aspergillus niger* Л-4 и В-3

| Наименование показателя | Наименование питательной среды | |
|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | сахарозо-минеральная | на основе гидролизата крахмала |
| Возраст посевного мицелия, ч | 24 ± 1 | 24 ± 1 |
| Температура ферментации, °С | 32 ± 1 | 29 ± 1 |

На основании результатов проведенных исследований можно сделать вывод о том, что сахар кристаллический и гидролизат кукурузного крахмала являются перспективным сырьем для продуктивного биосинтеза инвертазы.

Таким образом, используя потенциал одного продуцента лимонной кислоты — микромицета *Aspergillus niger*, можно получать сразу два продукта микробиологического синтеза и лимонную кислоту и инвертазу в одном биотехнологическом процессе. Такая технология позволит решить проблему производства отечественных ферментов и снизит поставки из-за рубежа.

Introduction

In the domestic market of food micro-ingredients there is a lack of a number of food additives and technological aids. Of great interest are enzymes that catalyze the hydrolysis of carbohydrates in an acidic environment. To this type of enzyme is invertase (synonyms: β-fructofuranosidase, sugarase, hydrolase class (CF 3.2.1.26)). It catalyzes the hydrolysis of β-D-fructofuranosides, including sucrose, to D-fructose and glucose. This enzyme is used in various areas of the food industry. In confectionery production it is used to create cast and round fondant candy shells, liquid fruit fillings. In confectionery products invertase helps to prevent the crystallization of sugars, slowing down the fermentation process when using high sugar concentrations, stabilizing the consistency, enhancing taste, prolonging the shelf life of finished products [1,2]. It is necessary in the preparation of invert syrups in alcoholic beverages and in the non-alcohol industry. The enzyme can also serve as an anti-crystallizer in the production of condensed milk, fruit and berry fruit drinks, juices, extracts, artificial honey and jam [3].

Invertase is not produced in Russia. The Russian market buys a significant amount of this enzyme abroad. According to literature sources, strains of yeast, aspergillus and penicillium are used abroad to obtain industrial preparations of invertase [4,5,6]. A well-known patented method of producing invert sugar in Russia is the autolytic destruction of yeast with invertase activity [7]. Thus, it can be concluded that the development of other methods of invertase production, including using micro-mycete *Aspergillus niger* — a producer of citric acid, will expand the capabilities of domestic producers.

Strains of micromycete *Aspergillus niger* are producers of various enzymes. Thus, strains selected along with the main target product — citric acid, produced at the All-Russian Scientific Research Institute of Food Additives (FGBNU VNIIPD), produce amyolytic enzymes, gluconic acid, which allows them to be considered as promising producers for the creation of technologies that provide in one technological process more than one of the target product, but two or more, that is, to develop “combined” technologies.

To expand the raw material base for the synthesis of food micro-ingredients, it is necessary to search for new types of raw materials. Gradually, starch-containing raw materials are finding increasing use in food biotechnology [8]. The use of corn starch hydrolyzate should be considered. The use of such raw materials for the production of food acids and invertase in one biotechnological process is of scientific and practical interest.

A significant influence on the course of cultivation and biosynthesis of enzymes is provided by such parameters of the process as the age of the seed mycelium and the temperature of fermentation.

The aim of this work is to investigate the invertase activity when the parameters of the fermentation process of the sugar-mineral medium and starch hydrolysate by *Aspergillus niger* L-4 and B-3 micromycete strains are changed.

Materials and Methods

The object of the study was acid-forming strains of *Aspergillus niger* micromycete L-4 and B-3, selected at VNIIPD for the fermentation of carbohydrate raw materials into citric acid [9, 10].

The fermentation was carried out under the conditions of the Multitron shaker-incubator (INFORS, Switzerland) in 750 cm³ shaking flasks in a batch process using concentrated media technology at a temperature of (36 ± 1) °C — at the stage of obtaining a seed mycelium, at a temperature of (32 ± 1) °C — at the fermentation stage [11].

For research as a carbohydrate substrate, crystalline sugar (GOST 21–94) and corn starch (GOST 32159–2013) were used. The hydrolysis of starch was carried out in accordance with [12]. The source of nitrogen was ammonium nitrate (GOST 22867–77).

Composition of the medium for fermentation, g/dm³: carbohydrate substrate — 150; ammonium nitrate (NH₄NO₃) — 2,5; magnesium sulfate seven-fold (MgSO₄·7H₂O) — 0,25; potassium phosphate monosubstituted (KH₂PO₄) — 0,16; pH 6,5 u.

After the fermentation is complete, the fungus biomass is separated on a Buchner funnel and extracellular invertase activity is determined in a fermented solution.

Invertase activity was determined by the colorimetric method [13].

Table 1

Indices of the process of invertase biosynthesis in the cultivation of strains of *Aspergillus niger* L-4 and B-3 on a sugar-mineral medium (at the end of the process)

| Age of a seed mycelium, h | Fermentation temperature, °C | Extracellular invertase activity, u/cm ³ | |
|---------------------------|------------------------------|---|------------|
| | | Strain L-4 | Strain B-3 |
| 24 | 29 | 0,705 | 0,811 |
| | 32 | 0,847 | 0,966 |
| | 34 | 0,616 | 0,715 |
| 36 | 29 | 0,607 | 0,704 |
| | 32 | 0,641 | 0,731 |
| | 34 | 0,432 | 0,497 |
| 48 | 29 | 0,505 | 0,586 |
| | 32 | 0,644 | 0,747 |
| | 34 | 0,483 | 0,560 |

Table 2

Indices of the process of invertase biosynthesis in the cultivation of strains of *Aspergillus niger* L-4 and B-3 on a medium containing corn starch hydrolysate (at the end of the process)

| Age of a seed mycelium, h | Fermentation temperature, °C | Extracellular invertase activity, u/cm ³ | |
|---------------------------|------------------------------|---|------------|
| | | Strain L-4 | Strain B-3 |
| 24 | 29 | 1,379 | 1,597 |
| | 32 | 1,233 | 1,430 |
| | 34 | 1,201 | 1,393 |
| 36 | 29 | 1,215 | 1,409 |
| | 32 | 1,127 | 1,307 |
| | 34 | 1,156 | 1,341 |
| 48 | 29 | 1,159 | 1,344 |
| | 32 | 1,136 | 1,318 |
| | 34 | 1,070 | 1,296 |

Results and Discussion

In previous studies, it was found that invertase accumulates in the mycelium (intracellular invertase activity) in the early stages of fungus *Aspergillus niger* B-3 cultivation on a medium containing sucrose and its hydrolysis products [14]. Such a multi-component substrate, such as starch hydrolysate, contains in its composition the product of sucrose hydrolysis-glucose.

According to the literature, invertase is excreted into the medium (extracellular invertase activity) [15].

The results of the effect of the age of the seed mycelium and the fermentation temperature of the sugar-mineral medium and medium based on starch hydrolysate on extracellular invertase activity at the end of the process are presented in Tables 1 and 2.

Conclusion

As a result of the conducted studies it was established that the most preferable modes of conducting the biotechnological process are the parameters given in Table 3.

Table 3

The most preferable modes of conducting the biotechnological process for strains of *Aspergillus niger* L-4 and B-3

| Indicator name | Name of the nutrient medium | |
|------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| | sugar-mineral | on the basis of starch hydrolysate |
| Age of a seed mycelium, h | 24 ± 1 | 24 ± 1 |
| Fermentation temperature, °C | 32 ± 1 | 29 ± 1 |

Based on the results of the studies, it can be concluded that the crystalline sugar and the hydrolysate of corn starch are promising raw materials for the productive biosynthesis of invertase.

Thus, using the potential of one producer of citric acid — microfungus *Aspergillus niger*, it is possible to obtain at once two products of microbiological synthesis and citric acid and invertase in one biotechnological process. This technology will solve the problem of the production of domestic enzymes and reduce the supply from abroad.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Неверова О.А., Гореликова Г.А., Позняковский В.М. (2007) Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. Новосибирск, Сибирское университетское издательство,—416 с. ISBN: 10: 5–379–00089–4
- Кондитерское производство [Электронный ресурс: URL: <http://food-chem.ru/lektcii-po-fermentam/48-konditerskoe-proizvodstvo.html>. Дата обращения 24.01.2018 г.]
- Грачева И.М., Кривова А.Ю. (2000). Технология ферментных препаратов.— 3-е изд., перераб. и доп. М, Элвар.— 512 с.
- Haq I., Ali S., Aslam A., Qadeer M. A. (2008). Characterization of a *Saccharomyces cerevisiae* mutant with enhanced production of β-D-fructofuranosidase. *Bioresource Technology*, 99(1), 7–12.
- Haq I., Ali S. (2005). Invertase production from a hyperproducing *Saccharomyces cerevisiae* strain Isolated from dates. *Pakistan Journal of Botany*, 37(3), 749–759.
- Flores-Gallegos A. C., Castillo-Reyes F., Lafuente C. B., Loyola-Licea J. C., ReyesValdés M. H., Aguilar C. N., Rodríguez Herrera R. (2012). Invertase production by *Aspergillus* and *Penicillium* and cloning of an inv gene fragment. *Micología Aplicada Internacional*, 24(1), 1–10.
- Патент № 2157844. Способ получения инвертазы для гидролиза сахарозы/ Островский Д.И., Рязанов Е.М., Бубнов А.В. Оpubл. 20.10.2000. Бюл. № 29.
- Xie G., West T.P. (2006). Citric acid production by *Aspergillus niger* on wet corn distillers grains. *Letters in Applied Microbiology*, 43(3), 269–273.
- Патент № 975799. Штамм гриба *Aspergillus niger* L-4 — продуцент лимонной кислоты/ Ермакова В.П., Финько В.М., Василичев И.М., Шербакова Е.Я., Шушкевич Т.И. Оpubл. 25.11.82. Бюл. № 43.
- Патент № 2088658. Штамм гриба *Aspergillus niger* — продуцент лимонной кислоты/ Красикова Н.В., Никифорова Т.А., Галкин А.В., Финько В.М. Оpubл. 27.08.97. Бюл.№
- Патент № 2428481. Способ получения лимонной кислоты / Никифорова Т.А., Комов В.П., Выборнова Т.В., Пиотровский Л.Б., Думпис М.А., Литасова Е.В. Оpubл. 10.09.2011. Бюл.№
- Патент № 2366712. Способ получения лимонной кислоты, альфа-амилазы и глюкоамилазы / Шарова Н.Ю., Позднякова Т.А., Выборнова Т.В., Кулев Д.Х. Оpubл. 10.09.2009, Бюл. 25.
- Рухляева А.П., Полягина Г.В. (1981). Методы определения активности гидролитических ферментов. М, Легкая и пищевая промышленность.—288 с.
- Шарова Н.Ю. (2016). Синтез инвертазы штаммами микромицета *Aspergillus niger* — продуцентами лимонной кислоты. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, 1(16), 60–67.
- Смирнов В.А. (1983). Пищевые кислоты (лимонная, молочная, винная). М, Легкая и пищевая промышленность.—264 с.

REFERENCES

- Neverova O.A., Gorelikova G.A., Poznyakovskii V.M. (2007). Food biotechnology of products from raw materials of vegetable origin. Novosibirsk: Sibirskoe universitetskoe izdatel'stvo.—416 p. ISBN: 10: 5–379–00089–4. (in Russian)
- Confectionery production [Electronic resource: URL: <http://food-chem.ru/lektcii-po-fermentam/48-konditerskoe-proizvodstvo.html>. Access date 24.01.2018] (in Russian)

3. Gracheva I.M., Krivova A.Yu. (2000). The technology of enzyme preparations. M: Elevar.—512 p. (in Russian)
4. Haq I., Ali S., Aslam A., Qadeer M. A. (2008). Characterization of a *Saccharomyces cerevisiae* mutant with enhanced production of β -D-fructofuranosidase. *Bioresource Technology*, 99(1), 7–12.
5. Haq I., Ali S. (2005). Invertase production from a hyperproducing *Saccharomyces cerevisiae* strain Isolated from dates. *Pakistan Journal of Botany*, 37(3), 749–759.
6. Flores-Gallegos A. C., Castillo-Reyes F., Lafuente C. B., Loyola-Licea J. C., ReyesValdés M. H., Aguilar C. N., Rodríguez Herrera R. (2012). Invertase production by *Aspergillus* and *Penicillium* and equencing of an inv gene fragment. *Micología Aplicada Internacional*, 24(1), 1–10.
7. Ostrovsky D.I., Ryazanov E.M., Bubnov A.V. The method of invertase preparation for sucrose hydrolysis. Patent RF, no.2157844, 2000. (in Russian)
8. Xie G., West T.P. (2006). Citric acid production by *Aspergillus niger* on wet corn distillers grains. *Letters in Applied Microbiology*, 43(3), 269–273.
9. Ermakova V.P., Finko V.M., Vasilinets I.M., Shcherbakova E.Ya., Shushkevich T.I. Strain of the fungus *Aspergillus niger* L-4 — citric acid producer. Patent USSR, no.975799,1980. (in Russian)
10. Krasikova N.V., Nikiforova T.A., Galkin A.V., Finko V.M. Strain of fungus *Aspergillus niger* — producer of citric acid. Patent RF, no.2088658, 1995. (in Russian)
11. Nikiforova T.A., Komov V.P., Vybornova T.V., Piotrovsky L.B., Dumpis M.A., Litasova E.V. Method for the production of citric acid. Patent RF, no. 2428481, 2009. (in Russian)
12. Sharova N.Yu., Pozdnyakova T.A., Vybornova T.V., Kulev D.Kh. Method for the preparation of citric acid, alpha-amylase and glucoamylase. Patent RF, no. 2366712, 2007. (in Russian).
13. Rukhlyadeva A.P., Polygalina G.V. (1981). Methods for determining the activity of hydrolytic enzymes. M: Legkaya i pishchevaya promyshlennost'.—288 p.
14. Sharova N.Yu. (2016). The synthesis of invertase strains of micromycete *Aspergillus niger* — producers of citric acid. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 1(16), 60–67. (in Russian)
15. Smirnov V.A. (1983). Food acids (citric, lactic, tartaric). M: Legkaya i pishchevaya promyshlennost'.—264 p.

| СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | AUTHOR INFORMATION |
|---|---|
| Принадлежность к организации | Affiliation |
| <p>Принцева Анастасия Андреевна — младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-962-703-61-67 E-mail: *автор для контактов</p> | <p>Anastasia A. Printseva — junior research scientist, All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS 191014, St. Petersburg, Liteyny prospect, 55 Tel.: +7-962-703-61-67 E-mail: *corresponding author</p> |
| <p>Шарова Наталья Юрьевна — доктор технических наук, профессор РАН, ВРИО директора, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-921-340-73-12 E-mail: natalya_sharova1@mail.ru</p> | <p>Natalya Yu. Sharova — doctor of technical sciences, professor of the Russian Academy of Sciences, director of VRI, All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS 191014, St. Petersburg, Liteyny prospect, 55 Tel.: +7-921-340-73-12 E-mail: natalya_sharova1@mail.ru</p> |
| <p>Выборнова Татьяна Владимировна — научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН 191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-911-221-57-15 E-mail: vniipakk@mail.ru</p> | <p>Tatyana V. Vybornova — research scientist, All-Russian Research Institute for Food Additives — Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS 191014, St. Petersburg, Liteyny prospect, 55 Tel.: +7-911-221-57-15 E-mail: vniipakk@mail.ru</p> |
| Критерии авторства | Contribution |
| <p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p> | <p>Authors are equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism</p> |
| Конфликт интересов | Conflict of interest |
| <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов</p> | <p>The authors declare no conflict of interest</p> |
| Поступила 05.02.2018 | Received 05.02.2018 |