

СВОЙСТВА УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ

Уксус и уксусная кислота, полученные микробным синтезом, широко используется в быту и различных отраслях промышленности. Однако при производстве уксуса возникает ряд проблем, обусловленных высокой чувствительностью ряда продуцентов к содержанию молекулярного кислорода в ферментационной среде [1]. Кроме того, промышленные штаммы-продуценты со временем могут утрачивать свои свойства, что требует их совершенствования либо замены.

Целью настоящей работы являлось выделение из природных источников новых высокопродуктивных штаммов уксуснокислых бактерий (УКБ) и изучение их свойств.

Для выделения УКБ в работе использовали образцы яблок, груш, рябины, винограда, красной смородины, испорченного вина. Накопительные культуры бактерий получали с использованием жидкой среды Лойцянской [2]. В качестве источника углерода добавляли этиловый спирт (4% об.). Для подавления роста грибов вносили антибиотик (флуконазол). В среду помещали 3–4 г сырья и культивировали в течение 7 суток при температуре 28–30°C и частоте встряхиваний 200 мин⁻¹ (шейкер-инкубатор Environmental Shaker-incubator ES-20 (BIOSAN, Латвия)).

Далее производили высеv суспензий из колб на агаризованную среду с дрожжевым экстрактом (источник факторов роста) и мелом (индикатор образования органических кислот). Через 7 суток отбирали колонии микроорганизмов при условии наличия вокруг них зон просветления среды (признак выделения кислот). Чистые культуры бактерий получали по стандартным методикам [3]. Полученные продуценты культивировали в жидкой среде и образцы КЖ проверяли на наличие уксусной кислоты по [2]. Из более чем десяти выделенных штаммов УКБ далее изучали тот, для которого на плотной среде с мелом отмечены зоны просветления наибольшего диаметра.

Морфологические характеристики продуцента определяли при помощи микроскопа «Биологический». Приготовление препаратов производили согласно [3]. Установлено, что исследуемые бактерии представляют собой палочковидные клетки размером (0,4–0,7) × (0,7–1,4) мкм, грамотрецательные, спор не образуют.

Для выявления влияния интенсивности перемешивания на рост изучаемых УКБ культивирование проводили с использованием шейкера-инкубатора при температуре 30°C, число встряхиваний варьировали в пределах 50–250 мин⁻¹ с шагом 50 мин⁻¹. Оптическую плотность суспензий измеряли при помощи спектрофотометра Specord M40 (Carl Zeiss Industrielle Messtechnik GmbH, Германия) при длине волны 600 нм (кюветы с толщиной оптического слоя 1 см).

Результаты эксперимента свидетельствуют, что в интервале частот встряхивания 200–250 мин⁻¹ оптическая плотность клеточных суспензий быстрее достигает наибольших значений, что определяет выбор условий перемешивания для дальнейших экспериментов. При меньшей интенсивности перемешивания скорость роста культуры снижается, но гибель бактерий не наступает, что важно в случае промышленного использования УКБ.

Далее определяли динамику накопления бактериями уксусной кислоты в условиях периодического глубинного культивирования при температуре 30°C и интенсивности встряхиваний 200 мин⁻¹. Содержание уксусной кислоты определяли титриметрическим методом [2].

Установлено, прирост биомассы происходит одновременно с накоплением кислоты. Наибольшая оптическая плотность суспензии (0,37) наблюдалась к 80-му часу культивирования, что соответствовало концентрации биомассы в КЖ около 0,16 г/дм³. Значение рН при этом достигало 3,2, концентрация кислоты – 2,3%. При дальнейшем культивировании анализируемые показатели изменялись незначительно. Это позволяет сделать вывод, что к 80-му часу этиловый спирт практически полностью потребляется микроорганизмами.

В целом согласно результатам проведенных исследований при исходной концентрации спирта 4% об. в КЖ накапливается не более 2,9% уксусной кислоты. Для повышения этого показателя необходимо переход на ферментацию с подпиткой или осуществление ее в проточном режиме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генюш, И.В. Выделение и характеристика активных продуцентов уксусной кислоты / И.В. Генюш, В.Ю. Кузьмицкая, Н.А. Белясова // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2015, № 4. – с. 89–93.

2. Муратова, Е.И. Биотехнология органических кислот и белковых препаратов: учебное пособие / Е.И. Муратова, О.В. Зюзина, О.Б. Шуняева. – Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2007. – 80 с.

3. Белясова, Н.А. Микробиология. Лабораторный практикум: учеб. пособие для студентов специальностей «Биотехнология», «Биоэкология», «Биология» / Н.А. Белясова. – Минск: БГТУ, 2007. – 160 с.