

УДК 663.14.031

С.А.Стебакова, научн.сотр.;
Н.С.Ручай, доцент

СОРБЦИОННАЯ ИММОБИЛИЗАЦИЯ СПИРТООБРАЗУЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ НА ВЛОКНИСТОМ НОСИТЕЛЕ

The process of adsorptional immobilisation the ethanol-producing yeasts on fibre carrier was investigated. The especialities of biosystem function during the fermentation of wood hydrolyzates was determined.

Выполненными ранее исследованиями [1] установлена возможность иммобилизации клеток спиртообразующих дрожжей на синтетическом волокне нитрон. Полученная биосистема показала способность к длительному функционированию (около 45 суток) в режиме протока при сбраживании углеводов гидролизного сусла в этанол. В настоящей работе исследовано влияние различных факторов на иммобилизацию дрожжей и спиртообразующую способность биосистемы.

Для оценки сорбционных свойств носителя экспериментально определены и построены изотермы адсорбции клеток спиртообразующих дрожжей на носителе. Иммобилизацию проводили в непроточном режиме в качалочных колбах при слабом перемешивании и температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Эксперименты показали, что для достижения динамического равновесия по микробным клеткам в системе носитель - дрожжевая суспензия требуется 10-12 часов. Носитель с сорбированными клетками промывали водой, высушивали до постоянной массы при 100°C и определяли его сорбционную емкость. Полученные изотермы адсорбции клеток на носителе (рис.1) соответствуют теоретической изотерме Ленгмюра для монослойной адсорбции, которая в большинстве случаев имеет место на практике. Кислая среда (рН 4) способствует повышению сорбционной емкости носителя, которая достигает 400-500 мг сухой массы клеток на грамм носителя.

Сорбционное закрепление клеток микроорганизмов на носителе является не только простым, но и наиболее "мягким" методом иммобилизации, в основе которого лежат преимущественно электростатические взаимодействия между противоположно заряженными группировками клеточной оболочки и поверхности носителя. Эти взаимодействия достаточны для удержания клеток на носителе и чаще всего не оказывают влияния на метаболизм и физиологическую активность клеток. Однако имеются сообщения [2] об увеличении метаболической активности иммобилизованных клеток. В связи с этим иссле-

дована спиртообразующая активность дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* в иммобилизованном и свободном состоянии.

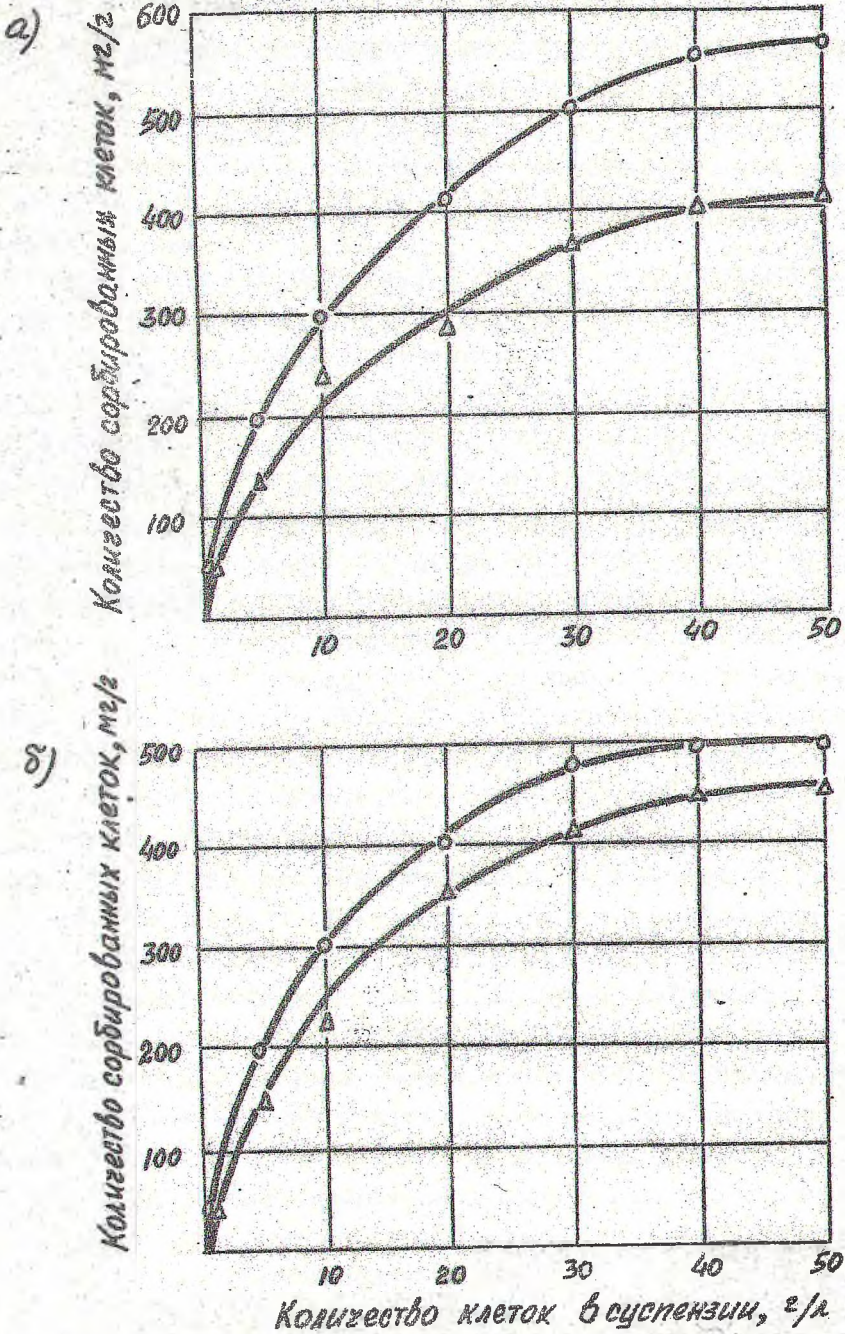


Рис. 1. Изотермы сорбции дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (а) в *Schizosaccharomyces pombe* (б) на носителе:
 - о - pH среды 4,0; -Δ- pH среды 6,0

Процесс брожения осуществляли периодическим методом в идентичных для обоих вариантов условиях (3,3% РВ в гидролизном сусле, температура 32°C, концентрация биомассы в реакционном объеме 16 г/л) с регистрацией изменения концентрации РВ и спирта в бражке. Результаты эксперимента (рис.2) показали, что спиртообразующая активность дрожжей в иммобилизованном состоянии выше активности свободных клеток.

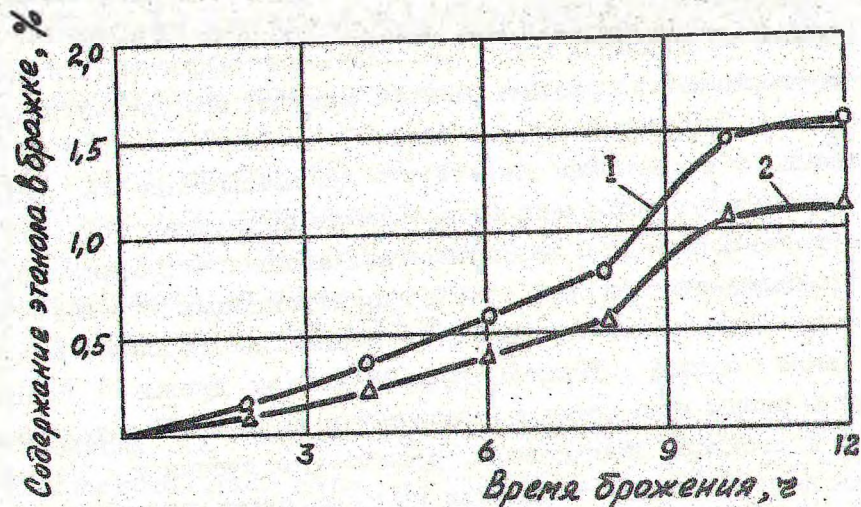


Рис.2. Продукция этанола иммобилизованными (1) и свободными (2) клетками дрожжей

Степень сбраживания РВ гидролизного сусла иммобилизованными и свободными клетками составила, соответственно, 63,6 % и 60,6 %. Удельная продуктивность по этанолу культуры в иммобилизованном состоянии (0,117 г/г·ч) в 1,36 раза выше, чем в виде свободных клеток (0,086 г/г·ч). Можно предположить, что большая продуктивность биосистемы с иммобилизованной культурой связана с равномерным распределением клеток в реакционном объеме биореактора и, следовательно, более благоприятными условиями для обмена веществ в клетках.

В создании промышленных ферментационных процессов с иммобилизованными микроорганизмами определяющими факторами являются простота конструкции и высокая производительность биореакторов. В большинстве случаев для иммобилизации путем адсорбции клеток рекомендуются реакторы с неподвижным слоем носителя. Максимальная величина клеточной загрузки носителя определяется его поверхностью, доступной микроорганизмам, а производи-

тельность биореактора зависит от количества биомассы продуцента, удерживаемой носителем, и величины реакционного объема аппарата. Причем последние факторы определяются прежде всего плотностью упаковки носителя в биореакторе и, возможно, способом его расположения. При конструировании биореакторов для спиртового производства весьма важно учитывать газонаполнение реакционного объема. Известно, что накопление углекислого газа в межволоконном пространстве препятствует доступу субстрата к клеткам продуцента, адсорбированным на волокнах носителя, уменьшает эффективный рабочий объем биореактора и, следовательно, снижает его удельную производительность по этанолу.

В связи с этим исследовали влияние различных способов расположения волокнистого носителя в биореакторе на количество удерживаемой клеточной массы и величину газонаполнения реакционного объема. Исследованы три наиболее распространенных способа упаковки волокнистого носителя: линейно в вертикальных слоях, в жгутах и в виде ершей. Иммобилизацию клеток дрожжей *Schizosaccharomyces rombe* проводили в непроточном режиме. Носитель был закреплен в реакторе неподвижно, дрожжевую суспензию перемешивали магнитной мешалкой. Длительность процесса иммобилизации составляла 10 часов. Количество сорбированной биомассы определяли по разности между количеством клеток в дрожжевой суспензии до иммобилизации и количеством клеток в промывной воде и в суспензии после иммобилизации. Сбраживание гидролизного сусла осуществляли в непрерывном режиме при скорости потока во всех опытах $0,10 \text{ ч}^{-1}$. После стабилизации процесса брожения измеряли объем жидкости в биореакторе и рассчитывали газонаполнение аппарата в % к рабочему объему (см. таблицу).

Влияние способа упаковки носителя на газонаполнение биореактора

Способ упаковки носителя	Плотность упаковки носителя, кг/м^3	Сорбционная емкость по дрожжам, г/кг	Газонаполнение биореактора при брожении, %
Линейно, вертикальными слоями	20,0	212	5,0
	30,0	212	8,5
Жгут	20,0	204	7,0
	30,0	204	10,5
Ерш	20,0	216	16,0
	30,0	216	16,0

Из полученных данных следует, что способ упаковки носителя мало влияет на количество удерживаемой клеточной массы. Волокнистый носитель отличается невысоким газодержанием при большой плотности упаковки, что имеет важное значение для производства. Газонаполнение биореактора при линейном и жгутовом расположении волокнистого носителя не превышает 10%. По величине газодержания менее предпочтительной является насадка типа "ерш".

Выводы

Синтетическое волокно нитрон обладает высокой сорбционной емкостью по отношению к клеткам дрожжей - продуцентов этанола. Процесс иммобилизации протекает более эффективно в кислой среде (рН 4). Иммобилизация клеток на волокне способствует повышению продукции этанола. Для промышленных биореакторов предпочтительным является линейное расположение волокна в вертикальных слоях с плотностью упаковки до 30 кг/м³.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стебакова С.А., Ручай Н.С. Сбраживание гидролизного сусла иммобилизованной культурой дрожжей // Труды БТИ. Сер. 4. 1993. -С.25-29.
2. Jsoutsas Gh., Kapellaki Ju., Psarianos C A mineral supports for the promoution of ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*./J.Ferment. Technol.-1990.-V.69.-N2.-P.93-97.

УДК 573.6.086.83;863.1

Т.И.Сокольчик, ст.лаб.;

Е.В.Усова, студ.;

В.Н.Леонтьев, доцент

СКРИНИНГ И ХАРАКТЕРИСТИКА

УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

For about 60 hydrocarbon oxidazing strains of microorganisms were got from environment. Selection of 16 from them based on cytochrom P-450 content was made. Different comparative content of cytochrom P-450 concludes about the different mechanizms of hydrocarbon oxidation.

Отличительной особенностью микробиологического окисления является ферментативная активация молекулярного кислорода с последующим включением его атомов в молекулы органических суб-