

ПРОДУКЦИЯ УКСУСНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ ОТЪЕМНО-ДОЛИВНОГО РЕЖИМА ФЕРМЕНТАЦИИ

При получении уксусной кислоты (УК) микробным синтезом перспективен глубинный способ ферментации, позволяющий повысить выход УК за счет обеспечения постоянного равномерного снабжения культуры продуцента кислородом воздуха и компонентами питательной среды.

Целью настоящей работы являлось установление условий отъемно-доливного режима ферментации, обеспечивающих эффективную продукцию кислоты уксуснокислыми бактериями (УКБ), выделенными из природных источников [1].

Динамику накопления бактериями УК устанавливали следующим образом. УКБ культивировали в жидкой среде Лойцянской [2] с добавлением дрожжевого экстракта в качестве источника факторов роста. Концентрация источника углерода – этилового спирта – составляла 2% об. Эксперимент проводили в течение 30 суток при температуре 30°C и частоте встряхиваний 200 мин⁻¹ (шейкер-инкубатор Environmental Shaker-incubator ES-20 (BIOSAN, Латвия)).

Отбор проб КЖ производили с периодичностью 1–6 суток, одновременно вносили эквивалентный объем концентрированной питательной среды. Состав подпитки включал все компоненты среды в количестве, равном первоначальному, за исключением воды. В пробах анализировали содержание уксусной кислоты титриметрическим методом [2], устанавливали значение pH, а также измеряли оптическую плотность суспензий 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 при ежесуточном внесении подпитки, а также ее периодичности один раз в двое суток максимально достигаемая концентрация УК не превышает 5,6%, при этом содержание УК в КЖ значительно колеблется. При подпитке один раз в трое суток количество УК варьируется в интервале 5,0–6,4%, при этом амплитуда колебаний уменьшается. Это обстоятельство показывает, что скорость разбавления среды при данных режимах выше скорости образования кислоты продуцентом. Подпитка один раз в пятеро-шестеро суток позволяет получить концентрацию УК в КЖ около 6,0.

Наиболее привлекательным выглядит режим ферментации с подпиткой через четверо суток, при котором за время около 30 суток возможно получение КЖ с концентрацией УК 6,6% при ее равномерном образовании бактериями.

Установлено, что концентрация биомассы при ежесуточной подпитке невелика за счет ее вымывания из системы (оптическая плотность КЖ не превышает значения 0,36). Для других режимов оптическая плотность колеблется в основном около 0,40, в случае с подпиткой один раз в пятеро-шестеро суток достигает 0,45, что свидетельствует об удержании клеток продуцента в биосистеме. Однако в последних случаях концентрация УК в КЖ увеличивается медленнее за счет более редкого внесения с подпиткой дополнительного количества этилового спирта.

Среднее значение рН на протяжении эксперимента составляло 3,65–3,90 и уменьшалось пропорционально увеличению продолжительности периода между внесением подпиток. Наибольшие значения и значительные колебания этого показателя отмечены при ежесуточном внесении подпитки, что говорит о несбалансированности биосинтеза УК и ее удаления из системы в составе КЖ.

Таким образом, показана зависимость показателей ферментации от режима внесения дополнительных компонентов питательной среды при условии достижения содержания этилового спирта в смеси 2% об. Установлено, что наиболее приемлемым является внесение подпитки один раз в четверо суток, что позволяет добиться концентрации УК в КЖ около 6,6%. Такой режим характеризуется равномерным накоплением кислоты, отсутствием значительных колебаний концентрации биомассы продуцента и средним значением рН КЖ около 3,75, что дает возможность проводить процесс ферментации без соблюдения условий асептики. Для повышения эффективности процесса представляет интерес снижение продолжительности ферментации за счет оптимизации состава подпитки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Друзь, К.Д. Свойства уксуснокислых бактерий, выделенных из природных источников / К.Д. Друзь, И.А. Гребенчикова // 72-я науч.-техн. конф. учащихся, студентов и магистрантов: тезисы докладов: в 4-х ч. – Минск, 12–23 апреля 2021 г. [Электронный ресурс] – Минск: БГТУ, 2021. – Ч. 2. – С. 49–50.
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.