

УДК 577.15.086.83:577.23

А.С.Гореличев, ст.н.сотр.
Н.В.Гриц, доцент

**ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА БИОКОНВЕРСИИ ЛАКТОЗЫ
В ЭТАНОЛ ДРОЖЕВЫМИ ШТАММАМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ
ИЗ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**

Yeast strains, that were able to ethanolic fermentation of lactose were isolated and identified. The parameters of periodic fermentation under different concentrations of lactose in native and concentrated lactoserum were been determine.

Брожение углеводов с образованием разных количеств этилового спирта осуществляют многие микроорганизмы, однако способность сбраживать молочный сахар до этанола обладают лишь редкие представители родов *Klueveromyces*, *Candida* и *Torulopsis* [1-3]. Поиску новых лактозосбраживающих штаммов, исследованию их физиолого-биохимических свойств, оптимизации процессов конверсии лактозы (в частности, лактозы молочной сыворотки) в этанол уделяется неослабевающее внимание. Оптимальным исходным материалом для выделения и идентификации сбраживающих лактозу микроорганизмов представляется лактозосодержащее природное сырье - молоко и продукты его переработки.

Нами из образцов кисломолочных продуктов выделены 9 дрожжевых лактозоутилизирующих штаммов, 3 из которых обладали способностью сбраживать лактозу и на основании физиолого-биохимических, морфологических и культуральных свойств отнесены к роду *Torulopsis*. Отработка параметров процесса биоконверсии лактозы при разных условиях ферментации была проведена с использованием трех лактозосбраживающих штаммов. В данной статье мы приводим результаты, полученные на одном из них (штамм SL-2), которому было отдано предпочтение в дальнейшей работе.

В предварительных экспериментах брожения подвергали в периодическом режиме осветленную молочную сыворотку, изменяя концентрацию молочного сахара внесением в сыворотку концентрированного раствора лактозы. В нативной сыворотке (концентрация лактозы около 4 %) выделенные штаммы накапливали около 2 % этанола за 48 ч ферментации, а при увеличении концентрации сахара выход этанола возрастал до 5%; при этом увеличивалась и продолжительность конверсии (табл.1).

Табл.1. Продукция этанола штаммом SL-2 при использовании молочной сыворотки с разными концентрациями лактозы

Штамм	Содержание лактозы в сыворотке, %	Продолжительность ферментации, ч	Степень конверсии лактозы, %	Выход этанола, %
SL-2	4,3	48	99,9	2,2
	7,2	48	99,9	3,1
	9,2	140	99,6	4,9
	12,0	140	99,7	5,2

Из данных литературы [1,4] и из табл.1 следует, что брожение нативной сыворотки с содержанием лактозы около 4 % заканчивается быстро, однако количество этанола на единицу сырья по сравнению с другими известными субстратами невелико. Поэтому при периодических способах производства этанола из молочной сыворотки ее необходимо вслед за депротеинизацией и пастеризацией сгущать в вакуум-выпарных установках или отделять белок ультрафильтрацией и концентрировать обратным осмосом до содержания лактозы 15-18 % [5-6]. Вместе с тем, большинство штаммов дрожжей способны сбраживать лактозу только при ее низкой концентрации в среде [1]. Более того, эффективность образования спирта даже при одинаковом содержании лактозы определяется составом среды (например, различна в пермеате и синтетической среде с лактозой).

Выделенные нами штаммы были проверены на продуктивность по этанолу в полученных выпариванием под вакуумом пермеатах с разным процентным содержанием лактозы. Максимальный выход спирта был достигнут при двухкратном (8%) увеличении концентрации лактозы в пермеате. Дальнейшее выпаривание приводило к снижению степени конверсии лактозы и выхода спирта, а также увеличивало время ферментации в целом (табл.2).

Влияние сгущения молочной сыворотки на выход этанола было исследовано также в динамике на протяжении 216 ч ферментации при 30°С и рН среды 4,0 - 4,5, что позволило определить время, необходимое для получения максимально возможной концентрации этанола в бражке (рис.1).

Табл.2. Продукция этанола штаммом SL-2 при использовании пермеата молочной сыворотки с разными концентрациями лактозы

Штамм	Содержание лактозы, %	Продолжительность ферментации, ч	Степень конверсии лактозы, %	Выход этанола, %
SL-2	4,0	72	99,3	2,1
	8,0	192	96,3	5,0
	11,0	216	62,7	3,9
	16,5	216	10,9	0,7

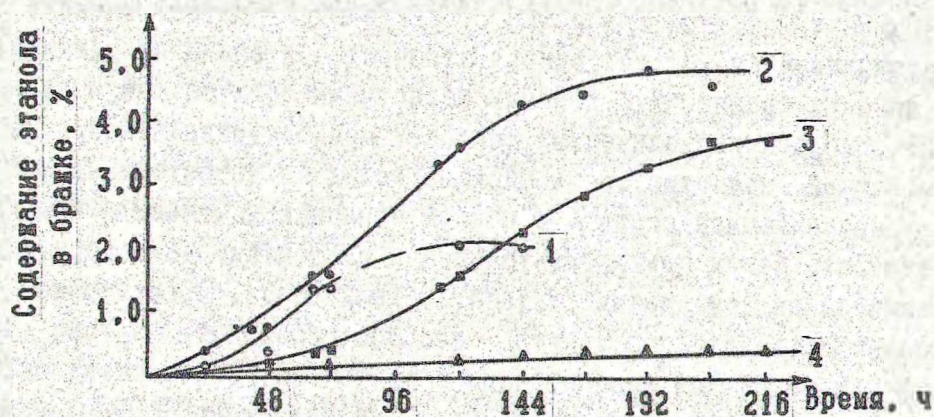


Рис.1. Динамика накопления этанола культурами штамма SL-2 в нативной (1) и сконцентрированных сыворотках с начальными концентрациями сахаров: 8%(2), 11%(3), 16,5%(4)

Получены также кинетические кривые утилизации углеводов с использованием нативной и концентрированной сывороток (рис.2), которые показывают, что увеличение концентрации лактозы в пермеате не только снижает степень утилизации углеводов, но и увеличивает время адаптации клеток к питательной среде. В результате при начальных концентрациях лактозы 4,0%, 8,0%, 11,0%, 16,5% максимальная степень конверсии составила 99,3%, 93,3%, 62,7%, 10,9% соответственно.

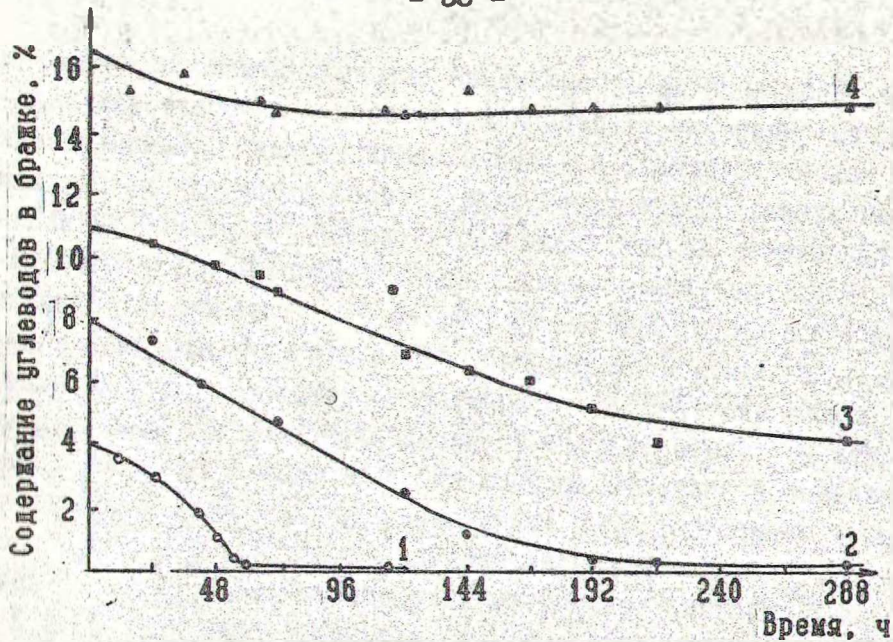


Рис.2. Динамика утилизации углеводов культурами дрожжевого штамма SL-2 в нативной (1) и сконцентрированных сыворотках с начальными концентрациями сахаров : 8%(2), 11%(3), 16,5%(4)

Одним из путей преодоления снижения выхода этанола при ферментации концентрированных пермеатов может быть использование осмотолерантных штаммов этанолпродуцирующих микроорганизмов. Путем направленной селекции с использованием селективных условий нами был получен осмотолерантный вариант штамма SL-2. Предварительные исследования показали, что данный штамм при глубинном культивировании в пермеате с 12%-ным содержанием лактозы при интенсивной аэрации в течение 48 ч способен эффективно накапливать биомассу (35 г/л). С увеличением концентрации лактозы в пермеате до 15-17 % отмечалось некоторое торможение роста дрожжей, и при дальнейшем повышении концентрации рост ингибировался, однако в культуральной жидкости содержание этанола достигало 3-4 %.

При изучении спиртообразующей способности клеток осмотолерантного штамма в периодических условиях брожения пермеата с 12 %-ным содержанием лактозы количество образующегося этанола в бражке достигало более 5 %. При этом продолжительность процесса сбраживания пермеата осмотолерантными клетками уменьшалась по сравнению с исходными клетками в 2 раза.

С целью интенсификации процесса биоконверсии лактозы в

этанол проведены предварительные эксперименты по сбраживанию молочной сыворотки непрерывным способом в лабораторном реакторе колонного типа с рабочим объемом 140 см³. Иммобилизацию клеток штамма SL-2 осуществляли методом адсорбции на волокнистом синтетическом материале. Установлено, что иммобилизованные клетки длительное время сохраняют высокий уровень бродильной активности. При протоке 0,2-0,3 ч⁻¹ степень сбраживания углеводов нативной сыворотки с начальной концентрацией около 4 % составила 97-98 %, а количество образующегося в бражке этанола достигало более 2 %. Несмотря на то, что даже при использованной скорости протока выход этанола в процессе сбраживания пермеата с 8%-м содержанием лактозы был несколько ниже по сравнению с немобилизованными клетками, в целом преимущества иммобилизованной системы выражались: 1) в 4-6-кратном увеличении физиологической активности культуры; 2) в 2-3 раза возрастала ее продуктивность по этанолу. Кроме того, использование реактора позволило устранить lag-фазу в развитии клеток: процесс брожения начинался сразу с момента подачи среды в зону ферментации.

Таким образом, использование осмоотолерантного штамма и разработка соответствующей технологии ферментации с применением иммобилизованных клеток могут существенно облегчить решение задачи интенсификации процесса сбраживания концентрированной молочной сыворотки с содержанием лактозы 15-20 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Залашко М.В. Биотехнология переработки молочной сыворотки. - М., 1990.
2. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология. - М., 1989.
3. Квасников В.И., Целокова И.Ф. Дрожжи. Биология, пути использования. - Киев, 1991.
4. Еремин Г.Е., Мейкова Н.Н. Технология получения этилового спирта из молочной сыворотки // Новое в технике и технологии переработки молочной сыворотки. - Углич. - 1981. - С.55-59.
5. Устинников Б.А., Тихомирова А.С., Хричева А.И. и др. Технология получения этилового спирта из молочной сыворотки // Биотехнология. - 1989. - Т.5, N 2. - С.212-213.
6. Moillin G.G., Maguy G., Galzy P. Alcolol production by in rohey ultrafiltrate // Biotechnol.Bioeng. - 1980. - Vol.22, N 6. - P.1277-1281.