

БИОХИМИЯ

М. А. Тер-Карпетян

**Лабораторные методы и установки для изучения
обмена веществ микроорганизмов и процессов
биологической переработки сельскохозяйственных
продуктов**

Обнащение биологических лабораторий техническим оборудованием является необходимым условием для правильного разрешения теоретических и практических задач, а также в разработке перспективных проблем биологических наук.

Особенно важна роль аппаратуры в технической биохимии и микробиологии, связанных с отраслями производства, где в качестве активных агентов применяются бактерии, плесневые и дрожжеподобные грибки и пр.

В производствах, где применяются живые организмы, важное значение имеют режим их действия и сохранение их активности в непрерывных процессах, степень усвоения наиболее ценных субстратов (источники углерода, азота и т. д.), а также полезные коэффициенты превращения последних в желаемую продукцию.

Поэтому изучение жизнедеятельности живых организмов в производственных условиях представляет большой научно-практический интерес.

В настоящей работе нами предложены две модели лабораторных установок, позволяющие в точности регулировать и контролировать температуру, газовое пространство, режимы аэрирования, перемешивания и рассеивания культуры (при этом последние три условия контролируются по заранее установленному графику времени и интенсивности).

**Установка открытого типа для изучения процессов,
связанных с аэробной жизнедеятельностью микроорганизмов**

Установка позволяет создать определенную последовательность в режиме перемешивания, а также с точностью дозировать степень аэрации в погруженной (глубинной) культуре микроорганизмов.

а. Описание установки. Установка, частично (инокулятор с пропеллером) описанная нами ранее [11], состоит из следующих частей (рис. 1).

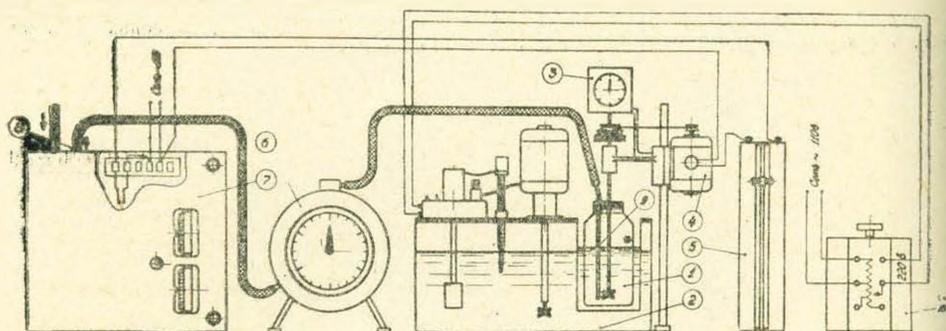


Рис. 1

1. Стеклоый инокулятор (1), полезной емкостью 1,5—3 литра (общая емкость 2,5—5 л), установленный в бане ультратермостат (2). Инокулятор закрыт медной крышкой, имеющей соответствующие отверстия для разных деталей: мешалки, трубок, контрольно-измерительных приборов, а также для взятия проб в процессе работы.

2. Стеклоый (и в отдельных случаях латуный) 4-лопастная мешалка обыкновенного или пропеллерного типа, опущенная внутрь инокулятора.

Как в процессе перемешивания [4], так и в процессе аэрирования* эффективность мешалок сильно зависит от ряда факторов: скорость вращения, соотношение между диаметром мешалки (d) и инокулятора (D), между диаметром мешалки и расстоянием ее от дна инокулятора (s) и высотой столба жидкости в нем (H), а также в определенной степени от высоты (h) и угла наклона (α) лопастей мешалки.

На основе результатов наших изысканий в настоящей установке предлагаются следующие параметры для конструкции инокуляторов с мешалкой от 1 до 6 л полезной емкости.

$$\frac{d}{D} = 0,300 - 0,400, \quad \frac{s}{d} = 0,275; \quad \frac{h}{d} = 0,20 - 0,25$$

$$\frac{s}{H} = 0,075 - 0,15; \quad \frac{H}{D} = 0,75 - 1,20$$

Так, например, для инокулятора полезной емкостью в 1 л, на котором проведена часть опытов настоящей работы,

$$D = 120 \text{ мм}, \quad H = 88 \text{ мм}, \quad d = 36 \text{ мм}, \quad s = 10 \text{ мм}, \quad h = 10 \text{ мм}.$$

3. Электромотор модели МШ (4), реостат сопротивления 800 Ω (5), а также система шкивов для вращения и регулирования скорости мешалки.

4. Стеклоый трубка диаметром в 6—8 мм (9), опущенная также внутрь инокулятора, для подачи дополнительной струи воздуха или другого газа.

* Собственные неопубликованные данные.

5. Счетчик газовой модели ГСТ-400 (6) для измерения количества задаваемого через трубки (8) воздуха до 400 л/час.

6. Тахометр модели ТКМ-2000 или ТКМ-4000 для подсчета скорости вращения мешалки (3).

7. Контрольный электропневматический прибор моделей КЭП-3, КЭП-6 или КЭП-10 (7)*, позволяющий установить определенный режим включения и выключения мотора мешалки, а также подачи газа в трубку, благодаря системе часового механизма и контактов. С этой целью контакты заводского КЭП, дающие один импульс через каждые 80 минут, были нами заменены другими, дающими до 6 импульсов (включения и выключения) в час. Кроме того, на КЭП имеется также переключатель для подачи электроэнергии и газа, независимо от часового механизма, т. е. беспрерывно.

8. Трансформатор модели ЛАТР-1 (10) для регулирования напряжения в сети ультратермостата.

б. Действие мешалки, как средство для аэрирования. Известно, что при прямолинейном движении жидкости эффективность мешалок для перемешивания от 50 до 300 об/мин. сильно возрастает со скоростью вращения, а выше этой скорости она возрастает более или менее по линейному закону [22, 23].

Нами показано [11], что при повышении скорости вращения мешалки выше 80 об/мин. в условиях турбулентного движения жидкой среды, через образуемую вокруг мешалки воронку вдувается воздух, который, распыляясь лопастями мешалки внутри жидкой массы, создает условия насыщения последней воздухом (или другим газом).

Явление это было исследовано путем окисления легко окисляемых соединений серы, как описано Купером и сотрудниками [18], с Na_2SO_3 . С этой целью нами был использован вышеуказанный инкулятор на шкале скоростей между 400 и 2000 об/мин., а в качестве реактива 0,5 М (приблизительно) раствор NaHSO_3 (54 г $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) в объеме 1 л. При постепенно возрастающих скоростях мешалки определялось количество остаточного HSO_3^- в 1 мл растворе через каждые 10–15 минут.

Результаты, приведенные в таблице 1 и на рис. 2 (верхняя кривая), показывают следующее:

а) в интервале от 400 до 800 об/мин. скорость окисления опытного субстрата практически не зависит от скорости мешалки, т. е. окисление происходит, по всей вероятности, путем диффузии воздуха через поверхность жидкой фазы.

б) в интервале от 1000 до 1600 об/мин. при сильном турбулентном движении скорость окисления субстрата возрастает пропорционально возрастанию скорости вращения мешалки. В условиях нашего

* Изготовлен на Московском электромеханическом заводе (М М и П СССР).

опыта степень пропорциональности варьирует от квадрата до куба, в зависимости от скорости.

Таблица 1

Температура $30^{\circ} \pm 0,5$

Скорость мешалки об/мин.	Окисленный субстрат ■ 1 мл растворе в 1 мин а 1 N, 10 мл	Кислород, соответствующий окисленному субстрату в 1 час и 1 л среде (*) мл	Коэффициенты возрастания по интервалам(**)		Степень пропорциональности $\frac{1 \text{ г } y}{\log x}$
			скорости мешалки (x)	окисления субстрата (y)	
400	0,05	167	—	—	—
600	0,05	167	—	—	—
800	0,005	167	—	—	—
1000	0,018	595	—	—	—
1200	0,025	840	1,2	1,42	1,8
1400	0,041	1400	1,4	2,36	2,5
1600	0,075	2520	1,6	4,24	3,1

Далее было исследовано в объеме 1,5 л 0,25 М раствора $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (94,5 г в 1,5 л), влияние на окисление субстрата, одновременного действия мешалки при больших скоростях (1400 об/мин.) и продувании воздуха через трубочку.

Результаты, полученные путем определения 1 мл опытного раствора децинормальным иодом (рис. 2, нижняя кривая), показывают, что подача мешалкой воздуха не является лимитирующим фактором для окисления субстрата.

Количество поданного в вышеупомянутых условиях кислорода достаточно для обеспечения условий аэробноза в большинстве процессов технической микробиологии, например, для размножения дрожжевых клеток, требующих около 100 мг O_2 в час на 1 г прессованных дрожжей [2, 17].

в. Применение установки. В качестве примера приведем опыт по выращиванию дрожжевых организмов в аэробных условиях.

Маточная 18-часовая культура дрожжей (из рода *Candida**** или др.) вносится в 1,5—3 л жидкой питательной среды (синтетическая или естественная) из расчета 0,5—1 г прессованных дрожжей (75% влажностью) на 1 л. Температура среды контролируется благодаря действию контактного термометра ультратермостата. Культура остается в состоянии покоя около 1 часа (стационарная фаза); затем, когда начинается почкование клеток, скорость мешалки устанавливается на 1000 об/мин., включается КЭП так, чтобы в течение одной или 2-х генераций (около 2—3 часов) мешалка действовала 5 минут через

* Подсчитан для нормальных условий атмосферного давления и температуры.

** Подсчитаны только для режима турбулентного движения.

*** Систематическое изучение этого штамма проводится в нашей лаборатории кандидатом биол. наук Ш. А. Авакян.

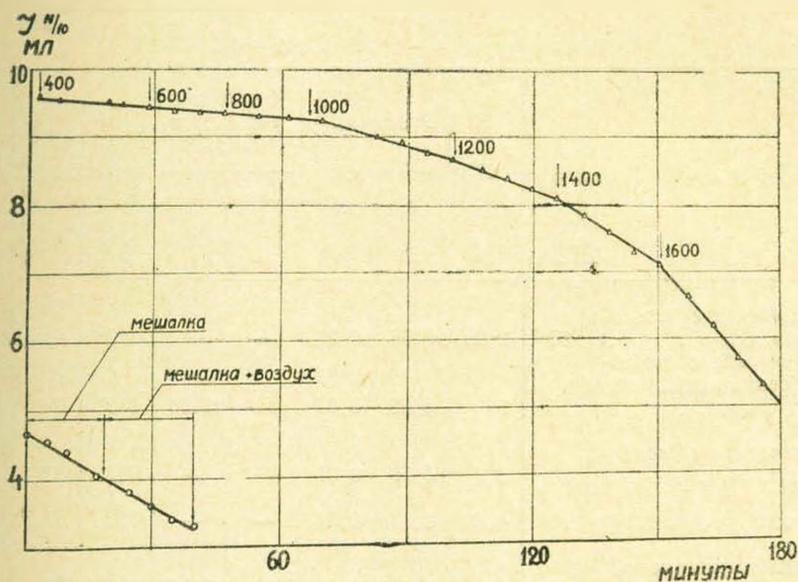


Рис. 2.

каждые 10 минут. Промежутки покоя и действия могут быть изменены по воле экспериментатора. Когда начинается фаза постоянной скорости размножения культуры (логарифмическая фаза), переключатель КЭП устанавливается в положение непрерывного действия мешалки при скорости 1200—1400 об/мин. В конце цикла развития, когда почкование клеток постепенно прекращается, работа мешалки еще раз ведется с перерывами до истощения питательных веществ среды (главным образом источника углерода).

Благо ария включению КЭП в установку и применению мешалки для аэрирования, в течение всего опыта, продолжающегося от 9 до 12 часов или больше (в отдельных случаях до 20—30 час.), требуется вмешательство экспериментатора всего 2—3 раза, т. е. только для изменения режима мешалки и иногда для регулирования pH среды.

Некоторые из полученных результатов с предлагаемой установкой полезной емкостью инокулятора от 3 до 6 л. в деле выращивания дрожжевых организмов, приведены в таблице 2.

Данные таблицы показывают, что полученные выходы дрожжей сходны с наивысшими выходами биомассы этих организмов в условиях аэробного выращивания [9, 15, 20, 25].

г. *Назначение установки.* Настоящая установка применима для всех отраслей технической биохимии и микробиологии, где происходят процессы, связанные с аэробной жизнедеятельностью микроорганизмов. Она особенно пригодна для серий опытов, где необходимо систематически и точно повторять желаемый режим перемешивания и аэрирования культур, а именно:

а) при скорости вращения мешалки от 50 до 200 об/мин. создается прямолинейное движение жидкой среды. При таких условиях

Температура $34 \pm 1^\circ$ pH — $5,0 \pm 0,5$

Среда	Продолжительность опыта в час	Объем среды в л	Ред. вещ. %		Число клеток в млн в мл		Коефф. размножения *	Выход сухих др. жжей к усвоимым р. в. %	Источник
			начало	конец	начало	конец			
Синтетическая с глюкозой шт. 65	16	2,99	0,96	0,01	—	—	49	52,5	(I)
Синтетическая с глюкозой (технической) шт. 88	15	5	3,62	0,07	50	2100	175	46	(II)
Синтетическая с ксилозой шт. 6,5	20	3,1	0,73	0,07	—	—	242	59	(I)
Сусло солодовое шт. 88	10	4,65	1	0,04	—	—	120	50,2	(I)
Гидролизат хлопковой шелухи (пентозный) .	9	6	1,1	0,02	30	1200	103	77	(II)

происходит, главным образом, перемешивание и диспергирование культуры, т. е. увеличение поверхности соприкосновения микроорганизмов со средой. В этом случае аэрацию лимитирует скорость диффузии воздуха в жидкой среде через ее поверхность; следовательно, варьированием соотношения $\frac{\text{поверхность жидкости}}{\text{объем жидкой фазы}}$ создается в культуре любая степень сравнительного анаэробнозиса.

Таким образом, низкие скорости вращения пропеллера (ниже 80 об/мин.) с высоким столбом жидкости (выше 50 см) особенно пригодны для изучения процессов брожения: спиртовое брожение, брожение солодного, виноградного и ягодного соков и пр. [7, 13].

б) при скорости вращения мешалки до 10^3 до 500 об/мин, с одновременной подачей воздуха через трубку создаются условия для повышения коэффициента использования подаваемого воздуха при увеличении, путем диспергирования, поверхности обмена микроорганизмов. Этот вариант применяется уже в заводских инокуляторах ряда бродильных производств (пищевых, пекарских и кормовых дрожжей, антибиотиков и др.) [9, 10, 15, 16].

в) при скорости вращения мешалки свыше 800 об/мин. мешалка одновременно служит и для диспергирования, и для аэрирования культуры. Этот вариант был применен с импеллером [24], с мешалкой обыкновенного и с пропеллерного типа [11] и с турбиноподобной установкой [15] для ускоренного выращивания дрожжевых организмов в лабораторном и полупромышленном масштабах. Она применима также для получения антибиотиков [24] и органических кислот, а

* Подсчитан по соотношению сухого веса продукции к сухому весу посевных дрожжей.

также для изучения и направления биологических реакций, происходящих при получении пищевых продуктов (приготовления уксусной кислоты, созревания вин и пр. [12, 13].

Установка закрытого типа для изучения процессов биологической переработки сельскохозяйственных продуктов и обмена веществ микроорганизмов в определенном газовом пространстве

Аппаратура, позволяющая изучить обмен основных метаболитов и газовый обмен при процессах биологической переработки растительного сырья (консервирование, сушка, созревание и т. п.), происходящие в условиях аэробноза или сравнительного анаэробноза, представляет большой практический интерес. Этой же аппаратурой можно изучить и процессы развития культур микроорганизмов в определенном газовом пространстве (воздух, атмосфера с кислородом чистым или с измененным парциальным давлением).

В этой работе будет приведен лишь пример применения такой аппаратуры в изучении аэробного роста и развития дрожжевых организмов.

Для проведения опытов по синтезированию биомассы с одновременным определением выделенного CO_2 наиболее известной является установка, предложенная Финком, Лехнером и Кребсом [20]. Она состоит из одного стеклянного цилиндра высотой около 100 см, шириной около 10 см и общим объемом в 8—10 л. К цилиндру прикреплены все контрольно-измерительные приборы. Сжатый воздух из компрессора, после очищения от атмосферного CO_2 , подается в цилиндр через барботеры из пористого материала (фосфора или др.).

Выходящий из цилиндра воздух поступает в ряд сосудов, где вначале конденсируется спирт, затем поглощается влажность в двух хлорокальциевых колонках, и, наконец, CO_2 поглощается в 3-х погложительных сосудах. Путем взвешивания последних определяется количество выделяемого при выращивании культуры CO_2 . Установка эта предназначена для опытов в масштабе около 8 л среды с концентрацией сахара в 1 %, т. е. для выходов прессованных дрожжей выше 150 г и CO_2 между 30—50 г.

Такая аппаратура, наподобие других лабораторных инокуляторов, применяемых разными авторами [11, 15, 24,], представляет преимущество в возможности проведения полупроизводственных опытов для установления режимов и выходов биомассы. Однако для проведения широких лабораторных исследований она имеет ряд недостатков, в том числе практическую невозможность испытания дорогостоящих чистых метаболитов, трудность улавливания углекислого газа и его точного определения, сравнительно большие затраты энергии, материалов и рабочей силы. Таким образом, вышеуказанные установки применимы только в узкоспециализированных лабораториях.

В настоящей работе приводится описание одной установки, ко-

торая по своей простоте может быть изготовлена в любой лаборатории. Она отличается от аппаратов предыдущего типа следующими особенностями: а) не требует наличия сжатого воздуха; б) для поглощения выделенного CO_2 применяется титрованный раствор KOH или Na OH (обычно 1 или 2 N) и его определение проводится не взвешиванием, а ацидиметрией, методом, известным для смесей карбонатов и сильных щелочей [6]. KOH и Na OH предпочитались гидрату окиси бария, применяемого в аппарате Петенкофера и в установке, описанной Имшенецким [3] для улавливания CO_2 , выделенного при брожении целлюлозы, потому что их применение менее кропотливо и позволяет использование более концентрированных растворов, соответственно уменьшая емкость поглотителей; в) малыми размерами применяемых сосудов для инкубации, благодаря чему можно провести серию опытов даже с ценными метаболитами.

а. Описание установки. Установка, изображенная на рисунке 3, состоит из следующих частей:

1. Сосуды для инкубации (1) емкостью 100—300 мл. Они могут быть разной формы и размера, в зависимости от исследуемого объекта (рис. 4).

а) сосуды Т-образные, обыкновенного типа или с донным крапом (а). Такие предназначены для культивирования микроорганизмов в жидкой среде при энергичном взбалтывании. Полезная емкость их равна половине емкости горизонтальной части. Кроме того, тип (а) позволяет взять пробы в желаемые промежутки времени в течение цикла развития культуры и следить за динамикой обмена разных метаболитов (источники С, N, P и т. п.). С сосудом типа а соединяется через трехходовой кран и при помощи стандартного шлифа (диаметром в 8 мм) цилиндр емкостью в 2,5 мл с краном и содержащий титрованный раствор щелочи ($\text{NH}_4 \text{OH}$, KOH) или кислоты для нейтрализации среды в процессе развития культуры;

б) сосуды баночного типа короткой формы (б), у которых высота равна диаметру и длинной формы (в), у которых высота в полтора раза больше диаметра. У первых полезная емкость равна $\frac{1}{3}$ высоты; они могут быть применены в опытах с твердыми (агар и т. п.) или полутвердыми (кесто, дрожжеваемый корм) средами. У вторых полезная емкость равна $\frac{2}{3}$ высоты; они могут быть применены для изучения газового обмена разных объектов: пленочные культуры плесневых, дрожжевых и др. организмов, прорастающие семена, плоды и овощи*, продукты сыроделия*, дрожжеваемые корма, растительные ткани при голодном обмене (сено, силосуемая масса),

К сосудам прикреплены подводящий и отводящий краны для пропускания тока воздуха или любого газа с целью одновременного создания определенной атмосферы для культуры и удаления выделенных летучих веществ и углекислого газа.

* При таких случаях можно расширить горло сосуда до 60 мм.

2. Термостат водяной (2) емкостью 20—40 л и с электрическим нагреванием, с мешалкой и регулирующим контактным термометром точностью $0,02^{\circ}\text{C}$ с приспособлениями для фиксации и взбалтывания сосуда.

3. Приспособление для аэрирования культуры, состоящее из одного из следующих приборов: водоструйного насоса, бутылок аспираторов, газометра (3) или газгольдера емкостью в 10—20 л.

4. Поглотительные приспособления для CO_2 . Они состоят из двух серий. Первая, предназначенная для поглощения CO_2 вдуваемого газа (4), состоит из 4-х дрекселей, наполненных концентрированной щелочью (KOH , NaOH) и пятого (5) дрекселя — контроля, наполненного $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Вторая серия предназначена для улавливания выделенного культурой CO_2 (6), может быть разного типа. Первый вариант (рис. 4г) состоит из одного основного поглотителя длинной формы [3], где воздух поступает в жидкость слоем высотой около 12—15 см через фильтр из пористого стекла (G—2), из второго и третьего поглотителей обыкновенной формы. Первые два поглотителя наполнены титрованным раствором щелочей, которые объединяются перед определением, а третий — контроль наполнен раствором $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Второй вариант (рис. 4 д) состоит из 4-х поглотителей узкой формы с барботирующей трубкой, без пористого стекла, наполненными титрованным раствором щелочей, которые также объединяются перед определением; и из пятого — контроля, содержащего раствор $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (7).

Между сосудом (1) и поглотителями (6) можно также поместить промежуточные сосуды для конденсации или поглощения спирта, альдегидов и др. летучих соединений [14].

5. Все отверстия сосудов и барботеров закупориваются стеклянными шлифованными пробками, которые тщательно смазываются специальной твердой смазкой; они соединяются друг с другом толстостенной резиновой трубкой; герметичность всей цепи и проверяется перед каждым опытом. Слянки с широким горлом (или цилиндры), закупоренные резиновыми пробками, не рекомендуются, особенно в таких установках, предназначенных для долговременных опытов, как не дающие достаточной гарантии герметичности.

б. *Проверка эффективности поглотительных систем.* Ввиду выделения в условиях предлагаемой установки малых количеств CO_2 (от 100 до 600 мг, в среднем 300 мг в одном опыте), эффективность поглотительных систем является наиболее важным условием для получения правильных результатов.

Испытание первой серии поглотителей показывает, что при применении обычных дрекселей и струи газа, проводящей до двух пузырьков в одну секунду, 3 слянки являются минимальными для полного поглощения CO_2 воздуха; при этом контрольный поглотитель (5) не показывает никакого помутнения или иногда появляется очень слабое белое кольцо внутри барботирующей трубки.

Особенно тщательной проверке подвергалось поглощение выделенного CO_2 во второй серии поглотителей (6). В таблице 3 приведены результаты некоторых проверок.

Таблица 3

Температура при поглощении -20 ± 1

Условия проверки	Продолжительность барботирования в час.	Первоначальное количество NaOH в мл.	Титрованный остаточный NaOH с 1 N HCl в мл					Итого NaOH на и-титрование CO_2 в мл
			в поглотителях				сумма всех	
			1	2	3	4		
Прямое титрование . .		28	—	—	—	—	26,4	—
Сосудообразный наполнен водой, барботаж — очищенным воздухом; 1 пузырек в секунду	8	28	6,6	6,6	6,6	6,6	26,4	0
То же, 2 пузырька в секунду	8	28	6,6	6,6	6,6	6,6	26,4	0
То же, сосуд бюбючного типа	30	28	6,6	6,6	6,6	6,6	26,4	0
Сосуд наполнен размножающей культурой дрожжей, барботаж — очищенным воздухом 2 пуз. в секунду	9	28	0,95	2	5,65	6,4	15	11,4

Результаты показывают, что в условиях проведенных опытов поглотительные системы улавливают весь углекислый газ, который выделяется в количестве 250—400 мг в опытах по выращиванию дрожжей.

в. Применение установки. Маточная 18-часовая культура из рода *Candida* засеивается в количестве 50—60 мг прессованных дрожжей (75% влажностью) в 50—60 мл питательной среде, содержащей 1% редуцирующих сахаров, соответствующее количество питательных солей (9) и водную вытяжку, полученную из 1 г солодовых ростков.

Культура оставляется 1—1½ часа в термостате при оптимальной температуре размножения данного вида (34°C) для прохождения стационарной фазы развития культуры. После этого сосуд для инкубации разъединяется от системы поглотителей, содержащей титрованный раствор щелочи (6), и путем прохождения струи воздуха через дрекселя с концентрированной щелочью, из всей системы сосуда и соединительных трубок удаляется CO_2 при взбалтывании сосуда для инкубации посредством специального приспособления, прикрепленного к термостату.

Во время очистки атмосферы сосуда от CO_2 берется 2 мл из суспензии дрожжей в среде, которая центрифугируется; в центрифуге

гате определяются микрометодами (б) редуцирующие вещества и другие метаболиты (N, P и др.), а в осадке, вновь суспензированном в определенном объеме воды, подсчитывается число клеток в микроскопической камере Тома-Горяева и определяется биомасса нефелометрическим методом. Затем, присоединяя инкубационный сосуд с поглотителями, содержащими 1 N рас.вор щелочи, через которые проходит ток воздуха скоростью 1 пузырек в секунду, начинается собственный опытный период, при постоянном взбалтывании сосуда. При этом размножение культуры происходит с постоянной скоростью (логарифмическая фаза). При применении сред, содержащих р. в. 1⁰/₀, опытный период продолжается 8—12 часов.

В случае применения сосуда с донным краном, можно на протяжении всего цикла развития культуры взять пробу по 2 мл культуры для химического исследования среды и определения как степени размножения культуры, так и динамики синтеза биомассы таким же способом, как и в начале опыта. Эти промежуточные пробы дают также возможность измерения pH колориметрическим методом (с приближением не менее 0,5 единицы) с целью внесения необходимой поправки pH путем добавления щелочного (или иногда кислого) раствора из специального цилиндра.

В конце опыта, после взятия последней 2-мл пробы для химического исследования среды и степени размножения клеток, оставшая масса культуры центрифугируется, осадок дрожжей после трехкратного промывания холодной водой высушивается при $100 \pm 2^\circ\text{C}$ и взвешивается.

С другой стороны, содержимые поглотителей с титрованным раствором NaOH объединяются в одной колбе, куда наливаются также промывные воды поглотителей.

В объединенном растворе, который содержит остаточный NaOH и Na_2CO_3 , полученные в результате поглощения CO_2 , карбонаты осаждаются 10 мл 10⁰/₀ раствором $\text{Ba}(\text{OH})_2$ и NaOH титруется в присутствии фенолфталеина 1 N раствором HCl. Одновременно к первоначальному объему 1 N NaOH добавляется также 20 мл 10⁰/₀ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ и щелочность этого раствора титруется тем же раствором 1 N HCl.

Обозначим:

V—количество в мл 1 N HCl, пошедшее для нейтрализации конечного раствора.

V_0 —количество в мл 1 N HCl, пошедшее для нейтрализации первоначального раствора NaOH.

Выделенный при размножении культуры CO_2 в мг будет равен $(V_0 - V) \times 22$ мг,

где 22 мг—эквивалент раствора 1N HCl в CO_2 .

В таблице 4 приведены некоторые результаты, полученные путем применения вышеуказанной установки для выращивания дрожжевых организмов при аэробных условиях культивирования.

Таблица 4

Температура культивирования $-34 \pm 1^\circ$; pH $-5 \pm 0,5$.

Продолжительность 9—12 час.

Источник углерода	Объем среды мл	Редуц. веществ.		Усвоенный ред. вещ. мг	Синтез-био-массы (абс. сухой) мг	Выделен. CO ₂ мг	Био-масса р. в. %	CO ₂ р. в. %	CO ₂ био-масса %
		начало %	конец %						
Глюкоза . .	58	0,86	0,05	469	250	384	53,5	82	153,5
Глюкоза . .	58	0,85	0,03	458	230	352	50,3	77	153
Фруктоза .	58	0,97	0,04	539	280	341	52	63,5	121,5
Сахароза .	58	0,89	0,05	486	261	330	53,6	68	126
Ксилоза . .	58	0,86	0,13	509	330	402	64,8	79,5	122
Ксилоза . .	58	0,85	0,05	556	360	424	64,7	76	118

Полученные результаты показывают, что в условиях испытанной установки происходит высокая степень усвоения сахаров, высокая степень синтеза биомассы и для отдельных сахаров незначительные колебания для каждого сахара, соотношения $\frac{\text{биомасса}}{\text{р. в.}}$, $\frac{\text{CO}_2}{\text{р. в.}}$ и $\frac{\text{CO}_2}{\text{биомасса}}$, характеризующие постоянность аэробного метаболизма микроорганизмов в условиях данной установки.

г. Назначение установки. Как уже сказано выше, предложенная установка имеет широкие возможности применения в многочисленных отраслях технической биохимии и микробиологии.

Она пригодна для изучения как газового обмена, так и обмена основных метаболитов, происходящих в процессе роста, развития и каталитического действия микроорганизмов и других систем (ферменты и пр.). Таким образом, она может служить для проведения опытов как с чистыми культурами, так и на объектах различных бродильных производств, пищевой промышленности и технологии кормов.

Поскольку установка предназначена для длительных опытов (от 8 часов до нескольких дней), в частности для исследования целного цикла роста микробов или модели сложных производственных процессов, она не дублирует аппаратуры типа респирометра, основанные на манометрических методах. Последние применяются в более кратковременных (1—4-часовых) опытах для исследования определенных отрезков цикла роста культуры или других несложных процессов.

Кроме того, известные манометрические методы (прямые, непрямые, дифференциальные) не приемлемы для исследования культур на поверхности жидких и твердых, а также в массе полутвердых сред потому, что в этих условиях часто происходит обмен (поглощение и

усвоение) третьего газа — азота, который вносит значительные ошибки в полученные результаты [13, 21, 26].

Настоящая установка служит основой для проектирования другой, в которой выделенный CO_2 должен определяться методом электропроводности; последний даст возможность изучить в течение всего цикла роста микроорганизмов или при всей продолжительности сложных процессов, наряду с ходом обмена основных метаболитов, и динамику выделения CO_2 .

Институт животноводства
Министерства сельского хозяйства
Армянской ССР

Поступило 7 V 1955 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян Ш. Диссертация. Ереван, 1954.
2. Астахова И. Труды ЦНИЛБЧ, по Е. Плевако и Р. Гивартовскому (см. 9), 1940.
3. Имшенецкий А. Микробиология целлюлозы, Москва, 1953.
4. Канторович З. Основы расчета химических машин и аппаратов, Москва, 1946.
5. Кирк П. Количественный ультрамикроданализ. Русск. перев. Москва, 1952.
6. Кольцгоф И. и Сендел Е. Количественный анализ. Русск. перев. Москва, 1948.
7. Комарова Л. Микробиол. 20, 2, 140, 1951.
8. Плевако Е. Получение кормовых дрожжей на гидролизатах сельскохозяйственных отходов, Москва, 1940.
9. Плевако Е. и Гивартовский Р. Технология дрожжевого производства, Москва, 1949.
10. Прескот С. и Дэн С. Техническая микробиология. Русск. перев. Москва 1952.
11. Тер-Карпетян М. Известия АН АрмССР (серия биологических наук), 3, 433, 1950.
12. Тер-Карпетян М. ДАН. АрмССР, 14, 23, 1951. ДАН СССР 83, 6, 835, 1952.
13. Тер-Карпетян М. Биохимия виноделия 4, 83, 1953.
14. Утенкова-Ранцан В. Микробиол. 23, 1, 64, 1954.
15. Шарков В. Гидролизное производство, том 3, Москва, 1950.
16. De Vecze G. and Liebman A. Ind. Eng. Chem. 36, 882, 1944.
17. Claxson H. Biochem. Ztschr. 275, 35, 1934.
18. Cooper C., Fernstrom G. and Miller S. Ind. Eng. Chem. 36, 504, 1944.
19. Fink H. u. Krebs J. Biochem. Ztschr. 299, 1, 1938.
20. Fink H., Lechner R. u. Krebs J. Biochem. Ztschr. 299, 28, 1938.
21. Frei H. Ztbl. Bakt. II Abt. 104, 32, 1942.
22. Hixon A. and Crowell I. Ind. Eng. Chem. 23, 923, 1002, 1160, 1931.
23. Hixon A. and Wilkens I. Ind. Eng. Chem. 25, 1196, 1933.
24. Humfeld H. J. Vct. 54, 69, 1947.
25. Lechner R. Biochem. Ztschr. 301, 170, 1939.
26. Schanderl H. Ztbl. Bakt. II Abt. 101, 401, 1942.

Մ. Ա. Տեր-Վարապետյան

ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ՄԵԹՈԴՆԵՐ ՈՒ ՍԱՐՔԱՎՈՐՈՒՄՆԵՐ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳՅՈՒՂԱՏՆՏԵՍԱԿԱՆ ՀՈՒՍՔԵՐԻ ԻՈՒՆՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ԿԵՐԱՄՇԱԿՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՍԱՐ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Ներկա աշխատության մեջ առաջարկված են երկու մոդելի սարքավորումներ, որոնք հնարավորություն են տալիս լաբորատոր փորձերի բնթացքում հետազոտելու և կարգավորելու ջերմաստիճանը, գազային մթնոլորտը, սննդամթնոլորտի խառնուժը և կուլտուրայի ջրումը, համաձայն նախապես հաստատված գրաֆիկի:

1. Բաց տիպի սարքավորում՝ միկրոօրգանիզմների աերոբ նյութափոխանակության պրոցեսների հետազոտության համար:

Ապարատը, որ նկարագրված է նկար 1-ում, կազմված է հետևյալ մասերից՝ ապակյա ինտիլատոր, որտեղ աերոսցիան ապահովվում է փոփոխական արագությունը գարծող պտուտակի միջոցով, գազային չափիչ, պտուտակի պտույտները թվի չափիչ, կոնտրոլ էլեկտրոպնեմատիկ գործիք, որի միջոցով հաստատվում է պտուտակի շարժման նախապես որոշված սեփմը:

Հետազոտված է նախ՝ պտուտակի արագության ազդեցությունը մղված օդի քանակության վրա և ապացուցված է, որ հեղուկ միջավայրի տուրբուլենտ շարժման պայմաններում մղված օդի քանակն աճում է պտուտակի արագության նկատմամբ ուղիղ համեմատական կերպով. համեմատության գործակիցի աստիճանը մեր փորձերի պայմաններում փոփոխվում է քառակուսուց մինչև խորանարդը (նկ. 2):

Նկարագրված է մեթոդիկա և ընելված են օրինակներ, որոնք ցույց են տալիս աերոբ պայմաններում գրոծային օրգանիզմները բազմացման ասպարեզում տվյալ սարքավորման կիրառմամբ ստացված բարձր ցուցանիշները (ադ. 2):

2. Փակ տիպի սարքավորում՝ գյուղատնտեսական հումքերի վերամշակման պրոցեսները և միկրոօրգանիզմների նյութափոխանակությունը սահմանված գազային մթնոլորտում ուսումնասիրելու համար:

Ապարատը (նկ. 3) բաղկացած է տարրեր ձևի ապակյա անոթներից որտեղ կատարվում են հետազոտված պրոցեսները (նկ. 4): Արտադրված անոթաթիվային գազը դուրս է մղվում անոթից ընտրված գազային խառնուրդի հոսանքով, կլանվում է NaOH կամ KOH պարունակող կլանիչներում (նկ. 4) և որոշվում է ացիդիմետրիկ եղանակով:

Առաջարկված սարքավորման կլանիչ սիտեմների ստուգման արդյունքները ընելված են ադ. 3-ում, իսկ ադ. 4-ում տրված են աերոբ պայմաններում գրոծային օրգանիզմների բազմացման ընթացքում կուլտուրայում սեղի ունեցող՝ նյութերի և գազային փոխանակության արդյունքները: