

Специфичные и неспецифичные штаммы различались также по расположению клеток на поверхности корней бобовых растений-хозяев.

Адгезивная способность клубеньковых бактерий к небобовым растениям—пшенице и овсу неодинакова и зависит от штаммовых особенностей, а также сорта растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакхумова Е. Н., Овсепян М. В., Никольский В. С. Вопросы микробиологии, Ереван, 8, 18, 43—50, 1981.
2. Самцевич С. А., Равинская А. С., Артингская С. Ф. Изв. АНБССР, 6, 109—112, 1977.
3. Currier W. W., Can, J. Microbiol., 7, 589—599, 1985.
4. Dazzo F. B., Napoli C., Hubbell D. Appl. and Environ. Microbiol., 32, 1, 166—171, 32, 1, 1976.
5. Dazzo F. B., Truchet G. L., Sherwood J. E., Hrabak E. M., Mikko A. Pan-keat L. Appl. and Environ. Microbiol., 48, 6, 1140—1156, 1984.
6. Dixon B. Biotechnology, 2, 34, 208, 1984.
7. Egeaert A. W. S. M. Plant and Soil, 42, 2, 367—379, 1975.
8. Gulash M., Ames P., Larosiller R. C. Appl. and Environ. Microbiol., 48, 149—152, 1984.
9. Macgregor A. N., Alexander M. Plant and Soil, 40, 1, 129—139, 1972.
10. Marshall K. C., Cruickshank R. H., Buskby H. W. A. J. Gen. Microbiol., 91, 1, 198—200, 1975.
11. Packer S. G. Plant Physiol., 75, 4, 924—928, 1984.
12. Shumshick E. Y., Herbert P. R. Biophys. Res. Commun., 84, 3, 736—741, 1978.

Получено 10.11.1989 г.

Биологический журнал Архив, № 2 (43) 1990

№ 18 577 157,063

БИОКОНВЕРСИЯ В КОРМОВОЙ БЕЛОК ОСТАТКОВ ПРОИЗВОДСТВА ГЕРАНИЕОВОГО МАСЛА

Е. Н. МАКАРОВА, Е. М. ДОБИНА, А. М. БИЛЯЯ

Институт микробиологии АН АрмССР, г. Абовян

Показана возможность использования ФГ остатков производства гераниевого масла для получения биомассы кормовых дрожжей. ФГ представляет собой благоприятный субстрат для выращивания дрожжей с высоким выходом биомассы (9,0—11,0 мг/мл), полноценной по содержанию белка (42—44%) и аминокислот.

Առյժ է արված խորհելու լուրի արտադրության մնացորդների ՖԳ կիրառման հարավորությունը կերային չափարանների կենսազանգված ստանալու համար: ՖԳ-ն նպաստավոր ազդեցություն է չափարանների կենսազանգվածի բաժնի հիմ (9,0—11,0 մգ/մլ) ստանալու համար, որը լիարժեք է ամինաթթուներ (42—44 %) և ամինաթթուների պարունակությամբ:

The possibility of use of FFI of geranium oil industry wastes for the receipt of fodder yeasts biomass is shown. It is proved that the FFI of geranium oil industry wastes is a favourable substrate for cultivation of

Сокращения: ФГ—ферментационный гидролизат; ВС—восстанавливающие сахара; КЖ—культуральная жидкость.

yeasis with biomass yield 9.0—11.0 mg/ml containing 42—44 per cent of protein.

Кормовой белок—ферментативный гидролизат—целлюлозы—гераниевые отходы.

Биоконверсия целлюлозосодержащих материалов в белок в настоящее время может быть осуществлена только путем иммобилизации микроорганизмов на этих материалах (прямая биоконверсия) или их гидролизах (двухстадийная биоконверсия) в качестве субстратов [1].

Имеются немногочисленные данные по использованию многостадийных процессов получения белка на целлюлозосодержащих субстратах, хотя этот способ обладает рядом преимуществ и может рассматриваться как перспективный. Достижения в области получения ферментов уже могут обеспечить неплохие показатели всего процесса ферментативного гидролиза. Кроме того, именно этот способ позволяет получить продукт с высоким содержанием белка. Так, при выращивании дрожжей *Candida tropicalis* на ФГ опилок древесных пород была получена биомасса с выходом 17,0 г/д и содержанием белка 42,0—44,0% [3]. При выращивании *Candida utilis* на ФГ рисовой соломы было получено 0,8—1,05 г/100 мл биомассы [11], что ниже продуктивности данной культуры на ФГ соломы пшеницы [8]. На ФГ стеблей табака при смешанном культивировании дрожжей *Candida tropicalis* и *Candida helvtiae* получена биомасса с выходом на единицу заданных сахаров (ЭК) 56,0% и содержанием белка 41,0—43,0% [4].

Исследование ферментативных и микробиологических превращений растительных остатков диктуется не только требованиями экологии, они перспективны и в отношении снижения экологической опасности.

Цель настоящего исследования состояла в изучении возможности использования ФГ остатков герани для получения кормовых дрожжей.

Материал и методика. В качестве целлюлозосодержащего материала были использованы отходы эфиромасличного производства в Армянской ССР. После измельчения и обработки с помощью 1,5%-ного раствора гидроксида натрия и 28%-ного раствора этаноламина отходы герани подвергали ферментативному гидролизу с помощью гриба *Trichoderma reesei*, шт. ИИМНА 10206 с общей целлюлазной активностью 0,5—6,0 ед/мл, определяемой по методу Мандельс-Вебера [9].

Гидролиз 10%-ной суспензии растительного материала в КЖ (рН 1,7) проводили при 50° в течение 6 часов. За это время образовывалось 6,0—6,5 мг/мл ВС. Реакционную смесь отделяли и повторно использовали для гидролиза новой порции остатков герани в течение 18 часов. Получался ФГ уже с содержанием ВС 1,5—2,0%. Затем вновь повторяли процедуру отделения смеси и использования для гидролиза новой порции герани. Так получали ФГ с содержанием ВС 3,0%. Углеводный состав ФГ был следующий (% от общей суммы ВС): глюкоза—20—22 (определялась глюкозооксидазоксидазным методом [2]), целлюлоза—25—30, ксилоза—20, а также арабиноза, галактоза, уроновые кислоты, определяемые методом хроматографии на бумаге [6]. Содержали также аминокислоты, которые определяли на автоматическом аминокислотном анализаторе ААА-339 (Чехословакия), уксусная кислота, применяемая для подкисления среды до рН 4,7, и золевые элементы растительной ткани, на которой культивировали продуцент целлюлазы.

Разнообразие соединений, входящих в состав ФГ, позволяет охарактеризовать его как полноценную питательную среду для культивирования дрожжей. Этим обусловле-

на также целесообразность использования ассоциации культур микроорганизмов для более полного потребления всех компонентов ФГ.

С этой целью были выбраны культуры дрожжей *Candida guilliermondii* шт. ВКМ У-43, хорошо использующих кеплозу, и *Candida shehatae*, шт. ИИМИА У-10204, обладающих высокой усвояемостью целлобиозы.

Использовался ФГ с содержанием ВС 1,0—3,0%, обогащенный сульфатом аммония—0,3% (рН 5,0—5,5). Культивирование проводили в 250-миллилитровых колбах с 40 мл среды на качалках со скоростью вращения 200—250 об/мин при 30° в течение 24 часов. Посевной материал дрожжей выращивали на среде Биелли с соавт. [7] в течение 18 ч и вносили в ФГ в количестве 2%. После выращивания биомассу дрожжей отделяли центрифугированием, высушивали при 80° до постоянной массы. Определяли выход биомассы (мг/мл), ЭК, а также оценивали на основании содержания сырого протеина, истинного белка по методу Тер-Михтаровой и Шульги [5] и содержания аминокислот, ВС в КЖ определяли по Шомоды [10].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 приведены данные по выращиванию смешанной культуры дрожжей на ФГ остатков герани.

Таблица 1. Сравнительная оценка раздельного и совместного культивирования *C. guilliermondii* и *C. shehatae* на ФГ остатков герани

Показатели	Концентрация восстанавливающих сахаров, %		
	1.0	2.0	3.0
<i>Candida guilliermondii</i>			
Потребление ВС из среды, %	97	90	70
Количество биомассы, мг/мл	4.25	11.24	11.1
ЭК, %	42.3	40.2	37.0
Содержание в биомассе сырого протеина, %	50.3	52.5	52.5
Содержание в биомассе белка, %	47.3	47.5	42.6
<i>Candida shehatae</i>			
Потребление ВС из среды, %	92	80	0
Количество биомассы, мг/мл	4	3.6	0.1
ЭК, %	40.0	48.8	53.6
Содержание в биомассе сырого протеина, %	52.5	52.5	53.6
Содержание в биомассе белка, %	47.6	47.6	42.8
<i>Candida guilliermondii</i> — <i>Candida shehatae</i>			
Потребление ВС из среды, %	100	95	67
Количество биомассы, мг/мл	4.62	10.1	12.5
ЭК, %	48.2	50.5	41.0
Содержание в биомассе сырого протеина, %	52.5	53.5	53.5
Содержание в биомассе белка, %	42.0	42.8	43.7

Независимо от концентрации сахаров в ФГ количество смешанной культуры выражалось не только в более полном потреблении углеводов из среды, но и во всех других показателях, в том числе в более высоком содержании белка в биомассе.

Исследование влияния концентрации сахаров в ФГ на рост дрожжей показало, что за 24 ч культивирования при содержании ВС 2% выход биомассы в смешанной культуре дрожжей составил 10,1 мг/мл, или 50,5% от заданных сахаров. При концентрации ВС 3% он составил

Таблица 2. Аминокислотный состав белка в биомассе дрожжей *C. guilliermondii* и *C. shehatae*, выращенных на ферментативном гидролизате герани

Аминокислоты	% к биомассе	Аминокислоты	% к биомассе
Цистеин	0,50	Метионин	3,70
Аспартиновая кислота	2,32	Изолейцин	4,80
Треонин	2,15	Лейцин	1,60
Серин	2,41	Тирозин	1,80
Глутаминовая кислота	4,14	Фенилаланин	2,00
Пролин	1,20	Истинный	1,10
Глицин	1,50	Триптофан	0,30
Аланин	3,70	Лизин	4,30
Валин	4,50	Аргинин	1,40

12,2 мг/мл, или 11,0% от заданных сахаров, т. е. повышение содержания сахаров на 50% способствовало увеличению выхода биомассы на 23%, выход от заданных сахаров снижался на 20%, а потребление их из среды составляло 95 и 67% соответственно. Содержание сырого протеина и белка в биомассе в зависимости от варианта накопилось в пределах 50,3—53,5% и 41,5—43,7% соответственно.

В табл. 2 представлены данные об аминокислотном составе белка биомассы дрожжей, выращенных на ФГ остатков герани. Белок содержит полный набор аминокислот, в том числе незаменимых.

Таким образом, для выращивания дрожжей на ФГ герани как в монокультуре, так и при смешанном культивировании в условиях нашего эксперимента оптимальными являлись концентрация ВС 2%, продолжительность культивирования 24 часа. Смешанная культура дрожжей при этом имеет преимущество перед монокультурой по всем показателям: потребление сахаров—95%, выход биомассы—10,1 мг/мл, содержание белка—42,8—44,0%. В биомассе содержались 18 аминокислот, все незаменимые, что свидетельствует о полноценности полученного белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бекер М. Г. Трансформация продуктов фотосинтеза 83—131, Рига, 1984.
2. Берсина И. В., Рабинович М. Г., Силин А. П. Биохимия, 12, 1631—1636, 1977.
3. Бочарева Н. Г., Лосева А. С., Серебрянников В. М. Тез. докл. 2-го Всес. научн. семинара ДЭМ, 40—51, Рига, 1985.
4. Макарова Е. Н., Лобина Е. М., Гаспарян А. Н. Тез. докл. 3-го Всес. научн. семинара ДЭМ, 195—201, Рига, 1988.
5. Тер-Маттарова Н. Г., Шмидт А. В. Прикл. биотехн. и микробиол., 6, 928—930, 1974.
6. Лиш Н. М., Мицек К. Хроматография на бумаге 251—296, М., 1962.
7. Biely P., Kratky I., Kochova K., Kralickova L., Hanes S. Folia microbiologica, 235, 366—371, 1978.