

## РЕГУЛИРОВАНИЕ pH СРЕДЫ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ L-АРГИНИНА ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ИНГИБИЦИИ СИНТЕЗА АЗОТОМ

Г.Г. СЕВОЯН, А.С. ЗУРАБЯН, Р.А. БРУТЯН

*Научно-исследовательский институт биотехнологии, 375056, Ереван**L-аргинин - биосинтез аминокислот.*

При культивировании микроорганизмов в некоторых случаях наблюдается явление ингибирования субстратом [3,4,5]. При разработке технологии процесса биосинтеза L-аргинина было выявлено, что увеличение концентрации сульфата аммония выше уровня  $28 \text{ г/дм}^3$  в начальной ферментационной среде приводит к ингибированию роста биомассы и биосинтеза аргинина. В то же время молекула аргинина включает четыре атома азота, и при вышеприведенной предельной концентрации количество аргинина теоретически может достигнуть только  $18 \text{ г/дм}^3$ , без учета расхода молекул азота на развитие биомассы.

Настоящее исследование было предпринято для разработки режимов культивирования с целью увеличения биосинтеза аргинина.

**Материал и методика.** В работе использовали штамм-продуцент L-аргинина *Escherichia coli* LGE-28, сконструированный в НИИ биотехнологии. Культивирование штамма-продуцента проводили на предварительно разработанной питательной среде в лабораторных ферментерах АК-210, с рабочим объемом  $7 \text{ дм}^3$  и автоматическим регулированием pH и температуры. L-аргинин и сопутствующие аминокислоты в культуральной жидкости (КЖ) определяли бумажной и тонкослойной хроматографией, для определения L-аргинина в КЖ использовали метод Сакагучи [1]. Аммиачный азот определяли методом Кисльдаля [2].

**Результаты и обсуждение.** При биосинтезе аргинина имеет место закисление среды. Поэтому подпитывая среду по азоту, одновременно нейтрализовали pH среды при помощи 25%-ного водного раствора аммиака. При этом существенное значение имеют начальная концентрация азота в среде и скорость подачи титранта.

Для разработки оптимальных параметров процесса было проведено специальное исследование по определению оптимальных pH для процесса роста и биосинтеза аргинина (табл. 1).

Таблица 1. Зависимость времени накопления максимального количества биомассы и удельной скорости биосинтеза от разных значений pH среды.

| pH  | Время накопления максимального количества биомассы, ч | Удельная скорость биосинтеза, г/лч |
|-----|-------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 6,0 | 24                                                    | 0,25                               |
| 6,5 | 21                                                    | 0,31                               |
| 7,0 | 20                                                    | 0,45                               |
| 7,5 | 20                                                    | 0,37                               |
| 8,0 | 21                                                    | 0,26                               |

Как видно из табл.1, наименьшее время для накопления максимального количества биомассы наблюдается в довольно широких пределах pH среды (6,5-8,0), а оптимум pH для максимального значения удельной скорости биосинтеза составляет 7,0.

Таблица 2. Характеристика основных параметров ферментации L-аргинина (исходное значение  $(NH_4)_2SO_4$  - 15 г/дм<sup>3</sup>, pH среды - 7,0 с регулированием 25%-ным водным раствором аммиака).

| Продолжительность ферментации, ч | ОП   | Аммиачный ают, г/дм <sup>3</sup> | L-аргинин, г/дм <sup>3</sup> |
|----------------------------------|------|----------------------------------|------------------------------|
| 0                                | 0,8  | 0,12                             | -                            |
| 16                               | 10,2 | 0,21                             | -                            |
| 24                               | 15,3 | 0,20                             | 6,4                          |
| 32                               | 15,3 | 0,18                             | 10,1                         |
| 40                               | 15,3 | 0,16                             | 13,5                         |
| 48                               | 15,3 | 0,14                             | 17,0                         |
| 56                               | 15,3 | 0,12                             | 20,5                         |
| 64                               | 15,3 | 0,11                             | 24,0                         |
| 72                               | 15,3 | 0,10                             | 27,8                         |
| 80                               | 15,3 | 0,09                             | 31,2                         |
| 88                               | 14,8 | 0,08                             | 35,0                         |

Экспериментально была подобрана начальная концентрация аммония сернокислого в среде - 15 г/дм<sup>3</sup>. При автоматическом поддержании pH среды на уровне 7,0 при помощи подпитровки 25%-ным водным раствором аммиака выход целевого продукта составил 35 г/дм<sup>3</sup> (табл.2).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Губень-Вейль. Методы органической химии, М., 1963.
2. Грачева И.М. и др. Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. М., 1982.
3. Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.В. Общая технология микробиологических производств. М., 1982.
4. Музыченко Л.А., Гуркин В.А., Кантере В.М. Математическое моделирование микро-биологических процессов, Пущино, 1973.
5. Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М., 1978.

Поступила 6.IX 1994.