

подтверждает объективный характер полученной модели и правомочность предложенного подхода к математическому моделированию в биосинтезе аминокислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амбросов В.А., Васильев Н.Н., Складнев А.А. Прикл. биохим. и микробиол., 6, 4, 363-372, 1970.
2. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. 290, М., 1976.
3. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование биохимических реакторов. 341, М., 1979.
4. Luedeking R., Piret E.L. J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng., 1, 4, 393-412, 1959.
5. Marr A.G., Nilson E.H., Clark D.J. The maintenance requirement of *Escherichia coli*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 102, 3, 536-548, 1963.

Поступила 14.IV.1997

Биол. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 579.846

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ Fe^{2+} И Fe^{3+} НА РОСТ И ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ *SULFOBACILLUS THERMOSULFIDOOXIDANS*

Н.С. ВАРТАНЯН

Институт микробиологии НАН и Республиканский центр депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки Армении, 378510, г. Абовян

Показано, что оптимальными для роста *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* шт. 41 и окисления Fe^{2+} являются исходные его концентрации от 105,3 до 205,3 мМ. При более высоких концентрациях Fe^{2+} наблюдается задержка роста и окисления Fe^{2+} . Ионы трехвалентного железа ингибируют рост бактерии и окисление Fe^{2+} . При этом увеличивается константа насыщения (K_s). Следовательно, ингибирование носит конкурентный характер. Константа ингибирования (K_i) составляет 12,2 - 14,7 мМ Fe^{3+} .

Ցույց է տրված, որ *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* 41 շտամի աճի և երկաթի օքսիդացման համար օպտիմալ են հանդիսանում Fe^{2+} -ի 105,3 - 205,3 մՄ սկզբնական կոնցենտրացիաները: Fe^{3+} իոնների ալելի մեծ քանակության դեպքում նկատվել է բակտերիաների աճի և Fe^{2+} օքսիդացման դանդաղեցում: Նոսրոժեր երկաթի իոնները արգելակում են բակտերիաների աճը և Fe^{2+} օքսիդացումը, ընդ որում այդ դեպքում մեծանում է հագեցման հաստատունը (K_s)։ Հետևաբար, արգելակումը կրում է մրցակցային բնույթ։ Արգելակման հաստատունը (K_i) կազմել է 12,2 - 14,7 մՄ Fe^{3+} ։

The optimal concentrations for growth of *Sulfobacillus thermosulfidooxidans*-41 and iron oxidation with initial concentrations of Fe^{2+} in limits 105,3 - 205,3 mM have been revealed. Decrease of growth and iron oxidation of bacteria at high concentrations of Fe^{2+} was observed. The Fe^{3+} ions inhibited the growth and Fe^{2+} oxidation of bacteria, so in that case the constant of saturation (K_s) increased. Consequently, the inhibition was competitive. The constant of inhibition (K_i) was 12,2 - 14,7 mM Fe^{3+} .

Сульфобациллы - окисление железа - конкурентное ингибирование

Ионы двухвалентного и трехвалентного железа в большинстве случаев являются обязательными компонентами выщелачивающего раствора [1]. Влиянием этих ионов на рост и окислительную активность *Thiobacillus ferrooxidans* во многом определяется эффективность бактериального выщелачивания металлов [6,8,9].

Нами из сульфидных месторождений Армении выделена и описана новая термоацидофильная серо- и железooksисляющая бактерия *Sulfobacillus thermosulfidooxidans subsp. asporogenes* [2,3]. Изучение зависимости скорости роста и окислительной активности *S.thermosulfidooxidans* приобретает особую важность в связи с их использованием в процессах выщелачивания металлов из руд и отходов. Целью наших исследований являлась количественная оценка этой зависимости.

Материал и методика. Объектом исследования служил тип 41 выделенной и описанной термоацидофильной серо- и железooksисляющей бактерии *S.thermosulfidooxidans*, внесенной в каталог микроорганизмов РЦДМ под номером В-6984 [3].

Бактерии выращивали на среде, содержащей (г/л) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - 0,5$; $\text{NaCl} - 0,3$; $\text{MgSO}_4 - 0,5$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 0,2$. В качестве источника энергии использовали двухвалентное железо. К среде добавляли также дрожжевой экстракт в концентрации 0,02%. Опыты проводили в конических 250 мл колбах, наполненных 50 мл среды. Культивирование осуществляли при 45-50° в режиме встряхивания 180 об/мин. Количество клеток определяли методом предельных разведений, число жизнеспособных клеток - по таблице Мак-Креда [4]. Константу насыщения (K_m) определяли графически по Лайнуиверу-Бэрку, константу ингибирования - по формуле

$$K_i = \frac{I}{\frac{K_s}{K_s - I}} \quad [5],$$

железо - комплексометрически трилоном В [7].

Результаты и обсуждение. Рост *S.thermosulfidooxidans* и окисление двухвалентного железа зависят от концентрации в среде ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} . Ниже приводится количественная оценка этой зависимости.

Как видно из данных, приведенных в табл.1, оптимальными для роста бактерий и окисления Fe^{2+} являются его исходные концентрации, 105,3 и 205,3 мМ. Скорости роста (μ_{max}) и окисления Fe^{2+} (V_{max}) при этих концентрациях были максимальными - 0,42; 0,32 час⁻¹ и 6,2; 6,1 мМ час⁻¹ Fe^{2+} соответственно. При более высоких концентрациях Fe^{2+} наблюдалось замедление роста и окисления двухвалентного железа. Так, при исходных концентрациях 346,4 и 441,1 мМ Fe^{2+} удельная скорость роста бактерий снижалась в 1,4 и 5,5 раза, а скорость окисления Fe^{2+} - в 1,3 и 1,7 раза соответственно. При концентрации Fe^{2+} 37,5 мМ удельная скорость роста бактерий была близка к максимальной, однако скорость окисления Fe^{2+} составляла 28% от активности, наблюдаемой при его оптимальной концентрации. Следовательно, при низких концентрациях Fe^{2+} его окисление лимитируется по субстрату.

Трехвалентное железо является продуктом бактериального окисления Fe^{2+} и в зависимости от его концентрации накапливается в среде. Поэтому влияние исходных концентраций Fe^{2+} на рост бактерий и окисление Fe^{2+} можно лишь в первые часы, когда Fe^{2+} образуется в

минимальных количествах. В наших экспериментах это соответствовало периоду с 10 до 17 час.

Таблица 1. Количественные характеристики роста *S.thermosulfidooxidans subs. asporogenes* шт.41 при различных исходных концентрациях Fe^{2+} (pH 1,7, $t=50^\circ$)

Концентрация Fe^{2+} , мМ	Удельная скорость роста, (μ_{max}) , час ⁻¹	Скорость окисления, (V_{max}) , мМ час ⁻¹	Время генерации, (g) час
37,5	0,34	1,8	2,0
105,3	0,42	6,2	1,65
205,3	0,35	6,1	1,98
346,4	0,29	4,3	2,4
441,1	0,076	3,7	9,1

При повышенных концентрациях Fe^{3+} наблюдалось замедление роста бактерий и окисления Fe^{2+} . Оно выразилось в снижении удельной скорости роста, скорости окисления Fe^{2+} (табл.2). Причем степень ингибирования роста бактерий и окисления Fe^{2+} понижалась с увеличением исходной

Таблица 2. Рост *S.thermosulfidooxidans subs. asporogenes* шт.41 и окисление Fe^{2+} при различных исходных концентрациях Fe^{3+} (pH 1,8, $t=50^\circ$, Fe^{2+} - 69,4 мМ)

Исходная концентрация Fe^{3+} , мМ	Удельная скорость роста, (μ_{max}) час ⁻¹	Скорость окисления Fe^{2+} , (V_{max}) мМ час ⁻¹
2,0	0,35	6,28
6,5	0,31	6,00
21,9	0,27	5,43
39,8	0,19	3,43
69,4	0,19	1,86

концентрации Fe^{3+} .

Изучение кинетических параметров окисления Fe^{2+} показало, что при наличии в среде ионов Fe^{3+} увеличивается значение константы насыщения (K_m). Так, величина K_m составляла 1,2 мМ Fe^{2+} в отсутствие Fe^{3+} и 2,56 и 3,45 мМ Fe^{2+} при исходном содержании 13,4 и 26,8 мМ Fe^{3+} соответственно (рис.1). Ионы Fe^{3+} в изученных концентрациях конкурентно ингибировали окисление Fe^{2+} . Константа ингибирования равнялась 12,2 - 14,7 мМ Fe^{3+} .

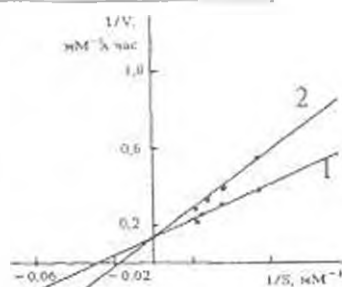


Рис. 1. Графическое определение константы насыщения (K_m) в отсутствие (1) и в присутствии Fe^{3+} (2) по Лайнуиверу-Берку. 1- $K_m=33,3$ мМ Fe^{2+} , 2- $K_m=55,5$ мМ Fe^{2+} . $K_i=44,6-49,1$ мМ Fe^{3+} .

ЛИТЕРАТУРА

1. Биоготехнология металлов (ред. Каравайко Г.И., Грудев С.И.) М. Центр Международных проектов ГКНТ. 1985.
2. Вартамян Н.С. Биол. журн. Армении, 48, 1, 8-12, 1995.
3. Вартамян Н.С., Каравайко Г.И., Пивоварова Т.А. Микробиология, 59,

- 3, 441-447, 1990.
4. Герхардт Ф. и др. Методы общей бактериологии. 1, М., 1983.
5. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты 1, М., 1982.
6. Дорофеев А.Г., Пивоварова Т.А., Каравайко Г.И. Микробиология, 59, 2, 205-212, 1990.
7. Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод. М., 1970.
8. Lizama H.M., Suzuki I. Appl. Environ. Microbiol., 55, 10, 2588-2591, 1989.
9. Nikolov L., Valkova-Valchanova M., Mchochev M. J. Biotechnol., 7, 2, 87-94, 1988.

Поступила 9. XII. 1990

Биол. журн. Армении. 3-4 (50), 1997

УДК 579.66'15+579.66'112+674.038.1

БИОКОНВЕРСИЯ ОБРЕЗКОВ ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ В БЕЛОК КУЛЬТУРАМИ *TRICHODERMA REESEI* И ДРОЖЖЕЙ

А.В. ГАСПАРЯН, М.А. КИНОСЯН

Республиканский центр депонирования микробов НАН и
Министерства образования и науки РА. 378510, г. Абовян

Проведен ферментативный гидролиз целлюлозы обрезков виноградной лозы с помощью культур *Trichoderma reesei*. Выявлено, что в полученных ферментативных гидролизатах из сахаров в основном образуются глюкоза, целлобиоза, ксилоза, а также арабиноза, раффиноза, уроновые кислоты, что позволяет использовать эти гидролизаты для выращивания ксилито- и целлобиозоусваивающих дрожжей. Изучена возможность обогащения обрезков винограда микробным белком смешанными культурами *Tr.reesei* и дрожжей в условиях твердофазной ферментации.

Կատարվել է խաղողի վազի ետված ճյուղերի ֆերմենտային հիդրոլիզ *Tr. reesei* կուլտուրաների միջոցով: Բացահայտվել է, որ ստացված ֆերմենտային հիդրոլիզատներում շաքարներից հիմնականում առաջանում են գլյուկոզ, ցելոբիոզ, քսիլոզ, ինչպես նաև արաբինոզ, ռաֆինոզ, ուրոնաթթուներ, որը բոլի է տալիս այդ հիդրոլիզատները օգտագործել քսիլոզ և ցելոբիոզ յուրացնող շաքարասնկերի աճեցման համար: Ուսումնասիրվել է խաղողի ետված ճյուղերի մանրէային սպիտակուցով հարստացման հնարավորությունը պինդ ֆազային ֆերմենտացիայի պայմաններում *Tr.reesei*-ի և շաքարասնկերի խառը կուլտուրաներով:

The enzymatic hydrolysis of grape branches by cultures of *Tr.reesei* was carried out. In obtained enzymatic hydrolyzates mainly were formed glucose, cellobiose, xylose, as well as arabinose, raffinose, uronic acids, which permitted to use such hydrolyzates for growth of xylose and cellobiose utilizing yeasts. The possibility of enriching the grape branches with microbial protein under conditions of solid-substrate fermentation with mixed cultures of *Tr.reesei* and yeasts has been studied.

Обрезки виноградной лозы - ферментативный гидролиз - *Trichoderma reesei*