

ВЛИЯНИЕ АЭРАЦИИ НА ПОЛУЧЕНИЕ D-АЛАНИНА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ СПОСОБОМ

Ա.Ա. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, ԿՆ ՍԻՆԻՆ՝, Տ.Ջ. ԱՐՄԵՆՅԱՆ,
Ա.Է. ԱԳԱԺՅԱՆՅԱՆ, Ա.Տ. ՏԱԴԻՅԱՆ

ՀԼՕ "ԻՆԻԻ Բիոտեխնոլոգիա" ՄԴՔՐ ԲԱ, 375056, Բրեստ
Ինստիտուտ միկրոբիոլոգիայի և վիրուսաբանության Տիլչինսկոյի սելեկոնոմիկայի
ակադեմիայի գիտությունների, ՏՄԱՐ, Զ.Սրբուհի, Մ. Ման Ման 38

Исследовали влияние скорости растворения кислорода и коэффициента массообмена при получении D-аланина из рацемата аланина методом биодegradации. Определены оптимальные величины данных параметров и установлено, что их отклонение как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения отрицательно сказывается на деградации L-аланина в культуральной жидкости.

Առարկայի վերաբերյալ է քննարկվում լուծման արագության և մասսափոխանակման գործակցի ազդեցությունը ալանինի ռացեմատից բիոդեգրացիոն եղանակով D-ալանինի ստացման վրա: Որոշված են տվյալ պարամետրերի օպտիմալ արժեքները և ցույց է տրված որ դրանց շեղումները օպտիմալից ինչպես դեպի փոքր, այնպես էլ դեպի մեծ արժեքները բացասաբար է անդրադառնում L-ալանինի քայքայմանը:

The influence of oxygen dissolving rate and mass-exchange coefficient on D-alanine production from racemic alanine by biodegradation has been studied. Optimal values of these parameters were determined. Their deviations, both, towards increase and decrease exhibited the negative effect on L-alanine destruction in the fermentation broth.

Аминокислоты - D-аланин - массообмен

Для жизнедеятельности штаммов при глубинном культивировании микроорганизмов важное значение имеет кислород, подводимый в клетку вместе с питательными веществами. Степень насыщенности среды кислородом во многом определяет рост и развитие аэробных организмов. Кислород является не только акцептором электронов, но выступает также в качестве регулятора активности дыхательной цепи [1, 2].

Исходя из вышесказанного, следует, что при глубинном культивировании штаммов-реструктуров L-аминокислот важным и необходимым является определение потребности культуры в кислороде. Эта потребность может меняться во времени в зависимости от фазы культивирования.

Целью настоящей работы является изучение влияния аэрации и коэффициента массообмена на деградацию L-аланина.

Материал и методика. Работу проводили со штаммом-реструктором *Proteus vulgaris* АЛ-5, селекционированным в "НИИ Биотехнологии".

Посевной материал для засева лабораторных ферментеров выращивали в колбах Эрленмейера емкостью 250 и 750 мл с объемом среды 20 мл и 50 мл соответственно, на качалке с числом оборотов 220-240 в мин при температуре 30° в течение 14-16 ч. Культивирование штамма-реструктора проводили на разработанной нами питательной среде и лабораторных ферментерах марки Вюлат-5 с рабочим объемом 7,0 л, при скорости растворения кислорода 1,0-5,0 г O₂ л/ч, температуре 30-32°, pH 7,5-7,8, в течение 35 ч.

Концентрацию растворенного кислорода в культуральной жидкости определяли с помощью датчика в потоке жидкости, вытекающей из пробника. По показаниям датчика оценивали величину концентрации растворенного кислорода.

Массопередачу кислорода в ферментационных средах определяли методом оптической дегазации азотом. Метод заключается в регистрации кривой физической абсорбции или десорбции кислорода в расчете коэффициента массопередачи (K₁) как тангенса угла наклона в зависимости от времени по полулогарифмической шкале.

Результаты и обсуждение. Нами изучалось влияние скорости растворения кислорода и коэффициента массообмена на биодеградацию L-аланина в рацемате аланина. Исследования проводили на питательной среде, где в качестве единственного источника углерода использовали L-аланин. Скорости растворения кислорода варьировали в пределах 1,0-5,0 г O₂ л/ч, шаг варьирования - 0,5 г O₂ л/ч.

Исследования показали, что скорость растворения кислорода оказывает

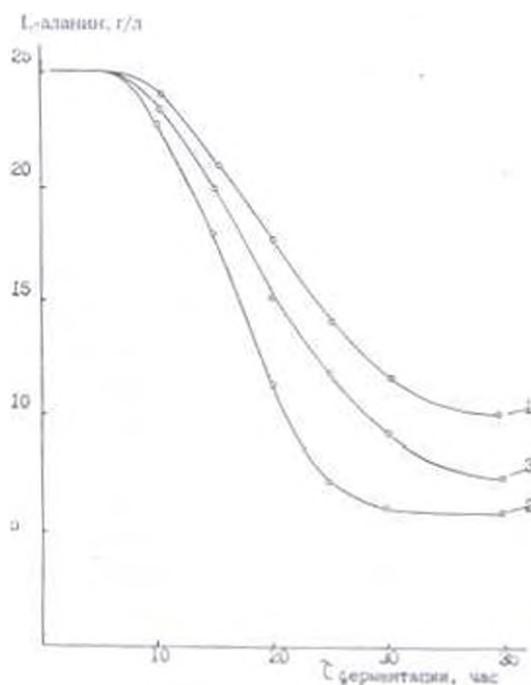


Рис. Деградация L-аланина при различных величинах скорости растворения кислорода 1 - 1,0-2,5 г O₂ л/ч, 2 - 3,0-3,5 г O₂ л/ч, 3 - 4,5-5,0 г O₂ л/ч

существенное влияние на уровень деградации L-аланина. Установлено, что максимальная деградация L-аланина (18-20 г/л) наблюдается при скорости растворения кислорода 3,0-3,5 г O₂ л/ч. Отклонение изучаемого параметра как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения отрицательно влияет на деградацию L-аланина. Так, при скорости растворения кислорода 1,0-2,5 г O₂ л/ч деградация L-аланина составляет 8-10 г/л. Увеличение скорости растворения кислорода от оптимального значения до 4,5-5,0 г O₂ л/ч также приводит к снижению деградации L-аланина в культуральной

жидкости (рис.) что, по-видимому, связано с понижением активности деградирующих ферментов. Полученные результаты коррелируют с известными литературными данными о необходимости сравнительно высоких скоростей растворения кислорода на протяжении всего процесса получения D-аминокислот [3, 4].

Таблица. Характеристика потребления кислорода штамма-регрессора *Proteus vulgaris* AA-5 и степень деградации L-аланина в разных фазах его роста

Параметры	Продолжительность культивирования, ч				
	0-8	8-15	15-25	25-30	30-35
ρ (мг O ₂ /д мин)	4,05	11,5	18,8	13,3	5,19
$K_1 a$ (ч ⁻¹)	40	120	200	140	50
Степень деградации L-аланина, %	0	15	76	50	36

При изучении влияния аэрации на деградацию L-аланина учитывали потребность культуры в кислороде в различных фазах ее роста. В настоящее время такие сведения в литературе отсутствуют.

Исходя из этого, изучена скорость потребления кислорода для определения оптимального значения $K_1 a$, необходимого для удовлетворения потребности культуры в кислороде в различных фазах ее роста.

Данные о скорости потребления кислорода культурой в динамике приведены в таблице.

Исходя из этого, вычислялись необходимые значения $K_1 a$ по формуле:

$$K_1 a = \frac{Q}{C^* - C_{c0}}$$

где Q - скорость потребления кислорода популяциями микроорганизмов в i -той фазе; C^* - равновесная концентрация, которая, согласно литературным данным, при температуре 30° принимается равной 6,0 мг/л; C_{c0} - критическая концентрация кислорода. Расчетные значения $K_1 a$ приведены в таблице. $K_1 a$ - необходимый коэффициент массообмена на i -той стадии.

Предварительно были исследованы массообменные характеристики аппарата ($K_1 a$) при помощи метода статической дегазации азотом при различных режимах аэрации и перемешивания, а затем в процессе ферментации подбирались режимы аэрации и перемешивания, обеспечивающие значения $K_1 a$, приведенные в таблице.

Установлено, что максимальная степень деградации L-аланина (76%) достигается при значении $K_1 a$, равной 200 ч⁻¹ при продолжительности ферментации 15-25 ч.

Таким образом, на основании изучения влияния скорости растворенного кислорода и коэффициента массопередачи ($K_1 a$) можно сделать вывод, что максимальный уровень деградации L-аланина достигается и

интервале 15-25 ч роста при значении скорости растворения кислорода, равной 3,0-3,3 г О₂ /л/ч и значении $K_{La}=200 \text{ ч}^{-1}$. Показано, что отклонение значений скорости растворения кислорода и коэффициента массопередачи от их оптимума отрицательно сказывается на исходе биодетоксикации L-аланина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцева Э.М., Шильникова И.И. Прикл. биохимия и микробиол., 18, 3, 310-315, 1992.
2. Тома М.К., Швинка Ю.Э., Руклиша М.И. В сб.: Влияние условия культивирования на активность продуцентов.-Рига: Зинатне, 37-46, 1995.
3. Fakahashi E., Furui M., Seko H., Shibatani T. Appl. Microbiol. Biotechnol. 47, 347-351, 1997.
4. Fakahashi E., Furui M., Seko H., Shibatani T. Appl. Microbiol. Biotechnol. 47, 173-179, 1997.

Поступила 11. IV. 2006