

5. Бурко Л. Д., Шкляр Л. П. // Тез. IV зоол. конференции Белорусской ССР.— Минск.—1976.— С. 79.
6. Сорокин А. П. Общие закономерности строения опорного аппарата человека.— М.—1973.
7. Александр Р. Биомеханика.— М.—1970.
8. Иванов А. И. Каталог птиц СССР.— Л.—1976.
9. Роклицкий П. Ф. Биологическая статистика.— Минск.—1967.

УДК 576.8.095.38:577.156:663.18

Т. А. РЯБУШКО, Л. Н. ЧЕПЕЛЕВИЧ

## СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ И БАКТЕРИЙ

Для повышения ценности белкового продукта, полученного путем микробного синтеза, более полного использования углеродного субстрата, ускорения процесса и увеличения выхода биомассы успешно применяются смешанные культуры микроорганизмов [1, 2].

Совместное культивирование специально подобранных микроорганизмов перспективно для разработки новой биотехнологии ряда производств биологически активных соединений [3—5]. Вместе с тем многие вопросы, связанные с изучением закономерностей развития смешанных культур, остаются мало изученными.

Целью данной работы явилось определение параметров роста моно- и смешанных культур дрожжей и бактерий при выращивании на питательных средах с этанолом.

### Материал и методика

В работе использованы дрожжи *Candida krusei* (С), бактерии *Acinetobacter calcoaceticus* (АС) и штамм 343 (343), отнесенный к роду *Arthrobacter*. Эти культуры характеризуются сравнительно быстрым ростом АС, способностью накапливать значительное количество биомассы (С), образовывать стимуляторы роста С, 343 и не антагонистичны по отношению друг к другу.

Из исследуемых культур составлены ассоциации АС+С, АС+343 и С+343, АС+С+343.

Питательная среда для выращивания моно- и смешанных культур готовилась по прописи [6].

Культуры инкубировали в 250 мл колбах с 50 мл питательной среды на качалках (120 кач./мин) при 28 °С 48 ч.

Объем посевной культуры (моно- или смеси) составлял 5 % засеваемого объема среды.

Построение кривых роста и определение параметров роста: удельной скорости роста ( $\mu$ , ч<sup>-1</sup>), экономического коэффициента ( $Y$ , %), времени генерации ( $g$ , ч), продуктивности по биомассе ( $P$ , г/л·ч) проводили аналогично [7]. Концентрацию биомассы ( $X$ , г/л) определяли весовым методом [8]. Кратность нарастания биомассы монокультур и ассоциаций определяли по отношению конечной оптической плотности (ОП) культуральной жидкости к начальной, измеренной на ФЭК-56М при 540 нм, белок биомассы — методом Лоури [9]. Содержание белка в испытуемой пробе устанавливали по калибровочной кривой для альбумина человеческой сыворотки и выражали в процентах от количества сухой биомассы.

### Результаты и их обсуждение

Целью первого этапа работы был подбор таких комбинаций бактерий и дрожжей, которые при совместном культивировании обеспечивали бы большую степень нарастания биомассы, чем по отдельности. Результаты этих экспериментов представлены в табл. 1. Все культуры накапливали максимальное количество биомассы через 48 ч. По сравне-

нию с исходным значением количество биомассы увеличивается от 32 до 75 раз. Максимальная кратность нарастания биомассы отмечена у ассоциации С+343. Это в 2,0 и 1,6 раза больше, чем соответственно у монокультур 343 и С. Примерно в 42 раза больше (по сравнению с исходным значением) накапливали биомассы ассоциации АС+С и АС+С+343.

Таблица 1

Кратность нарастания биомассы моно- и смешанных культур дрожжей и бактерий

Культуры	Оптическая плотность			Кратность нарастания биомассы	
	начальная	через 1 сутки	через 2 суток	через 1 сутки	через 2 суток
АС	0,32	5,85	10,50	18,28	32,81
343	0,19	2,28	7,20	12,00	37,89
С	0,41	8,10	19,12	19,76	46,63
АС+С+343	0,29	5,34	12,30	18,41	42,41
АС + 343	0,25	5,13	9,90	20,52	39,60
АС + С	0,37	7,75	15,40	20,94	41,62
С+343	0,31	9,76	23,25	31,50	75,00

Таким образом, согласно полученным данным, наилучшими комбинациями культур по степени нарастания биомассы являются С+343, а также АС+С+343 и АС+С, которые были отобраны для дальнейшей работы.

По мнению ряда исследователей [2], выяснение и использование закономерностей роста и развития культур в ассоциациях позволит повысить продуктивность микробиологического синтеза ценных для народного хозяйства продуктов.

Нами установлено, что кривые роста исследуемых монокультур и ассоциаций имеют характерную для многих микроорганизмов S-образную форму, где хорошо различимы три стадии: лаг-фаза, экспоненциальная и стационарная. Мы выявили различия по времени наступления и продолжительности фаз у монокультур и их ассоциаций. Так, продолжительность лаг-фазы у АС и С лежит в пределах 2—3 ч, а у 343 она растянута до 4 ч. То же самое можно сказать и об экспоненциальной фазе. У АС эта фаза начинается после 3 ч культивирования и продолжается в течение 15—17 ч, затем наступает фаза замедления роста, переходящая в стационарную. В односуточном возрасте культура находится в стадии замедления роста, которая продолжается до 30 ч, и культура переходит в стационарную фазу. В 48-часовом возрасте она достигает максимальной стационарной фазы. Лог-фаза у С продолжается до 20 ч, а у штамма 343 растянута от 4 до 30 ч. В стационарную фазу культуры выходят только на вторые сутки выращивания.

У ассоциаций АС+С и АС+С+343 лаг-фаза длится примерно 2 ч, а экспоненциальная — до 15 ч. В максимальную стационарную фазу культуры переходят через 36—40 ч культивирования. Исследования показали, что в ассоциации С и 343 растут значительно быстрее, чем по отдельности: лаг-фаза длится примерно 2—3 ч (у монокультуры штамма 343 — 4 ч), лог-фаза — до 18—20 ч (у монокультур соответственно 22 и 30 ч). Сходные результаты при совместном культивировании дрожжей и бактерий получены и другими исследователями [4].

По существующим представлениям [2], взаимодействие между микроорганизмами в смешанных культурах может развиваться по пути образования гибридов или же происходить посредством влияния друг на

друга продуктами жизнедеятельности. Эти продукты могут быть специфическими стимуляторами или ингибиторами роста и развития организма.

Более быстрое прохождение всех стадий развития культурами дрожжей и бактерий 343 в совместном культивировании может быть обусловлено ростстимулирующим взаимодействием этих микроорганизмов. Однако для доказательства этого предположения необходимы дополнительные экспериментальные исследования.

В литературе имеются данные о том, что для большинства штаммов *Ac. calcoaceticus* характерна удельная скорость роста  $0,25-0,30 \text{ ч}^{-1}$  [10], однако некоторые штаммы этих бактерий могут иметь удельную скорость роста до  $0,70 \text{ ч}^{-1}$  [11]. Накопление сухой биомассы варьируется от 3,0 до 10,0 г/л, а в некоторых случаях до 24 г/л [12]. Удельная скорость роста дрожжей рода *Candida* несколько ниже:  $0,20-0,30 \text{ ч}^{-1}$  [13]. Лучшие штаммы дрожжей на минимальных средах с этанолом растут с удельной скоростью роста  $0,5 \text{ ч}^{-1}$ , а на обогащенных —  $0,7 \text{ ч}^{-1}$  [14]. Накопление сухой биомассы достигает 21 г/л.

Таблица 2

Некоторые параметры роста этанолутилизирующих микроорганизмов и их ассоциаций

Культуры	Удельная скорость роста $\mu, \text{ч}^{-1}$	Сухая биомасса $X, \text{г/л}$	Продуктивность $P, \text{г/л}\cdot\text{ч}$	Время генерации $g, \text{ч}$	Экономический коэффициент $Y, \%$	Белок, % от сухой биомассы
АС	$0,32 \pm 0,03$	8,01	2,56	2,16	52,35	55,99
С	$0,22 \pm 0,01$	7,78	1,71	3,15	50,85	57,53
343	$0,20 \pm 0,02$	6,70	1,34	3,46	43,79	55,75
АС + С	$0,45 \pm 0,01$	8,25	3,71	1,54	53,92	64,22
С+343	$0,39 \pm 0,01$	9,37	3,65	1,78	61,24	68,48
АС+С+343	$0,45 \pm 0,02$	8,43	3,79	1,54	55,10	67,52

В результате изучения параметров роста моно- и смешанных культур дрожжей и бактерий мы получили следующие данные (табл. 2). Среди монокультур наибольшей удельной скоростью роста ( $0,32 \text{ ч}^{-1}$ ) обладает бактериальный штамм АС. За 48 ч. он накапливает 8,01 г/л сухой биомассы. Несколько меньшую удельную скорость роста имеют штаммы 343 и С:  $0,20$  и  $0,22 \text{ ч}^{-1}$ . Концентрация биомассы у этих культур составляет 6,7 и 7,78 г/л соответственно.

Среди смешанных культур микроорганизмов наибольшими скоростями роста обладают ассоциации АС+С и АС+С+343 ( $0,45 \text{ ч}^{-1}$ ), которые за 48 ч культивирования способны накапливать 8,25 и 8,43 г/л сухой биомассы соответственно. Несколько меньшую удельную скорость роста имеет ассоциация С+343 ( $0,39 \text{ ч}^{-1}$ ); это, вероятно, обусловлено и меньшей удельной скоростью роста в монокультурах.

Сравнивая удельные скорости роста монокультур и ассоциаций, можно отметить, что совместное культивирование двух или трех микроорганизмов способствует увеличению скорости роста (например, в монокультурах АС и С —  $0,32$  и  $0,22 \text{ ч}^{-1}$ , а в ассоциации АС+С она возрастает до  $0,45 \text{ ч}^{-1}$ ), повышению продуктивности, уменьшению времени генерации. Продуктивность ассоциации АС+С по биомассе в 1,45 раза превосходит продуктивность монокультуры АС и в 2,17 раза — С. Продолжительность генерации при совместном культивировании АС+С уменьшается на 28,7 % (в 1,4 раза) по сравнению со временем генерации у АС и на 51,11 % (в 2,04 раза) по сравнению с С. Экономический коэффициент (или эффективность использования субстрата)  $Y$  в смешанных культурах выше, чем в монокультурах (например,  $Y$  для С — 50,8 %, для

штамма 343 — 43,79 %, а для ассоциации С+343 У соответствует 61,24 %. Экономический коэффициент монокультур не очень высок: 43,79—52,35 %.

Как видно из табл. 2, содержание белка в сухой биомассе монокультур составляет 55,75—57,53 %, что соответствует данным [15] и выше данных [16]. Содержание белка в сухой биомассе у ассоциаций увеличивается и достигает 64,22—68,48 %.

Для использования микроорганизмов в качестве продуцентов кормового белка необходимо, чтобы их экономический коэффициент был около 70—85 %, удельная скорость роста — 0,5—0,6 ч<sup>-1</sup>, а содержание белка в биомассе — не ниже 70 % [17]. Наиболее близки к этим производственным показателям ассоциации С+343 и АС+С+343.

Суммируя изложенное, можно сделать заключение, что совместное культивирование дрожжей и бактерий на питательной среде с этанолом способствует повышению производственно ценных показателей (удельной скорости роста, экономического коэффициента, продуктивности по биомассе и содержанию в ней белка).

### Список литературы

1. Feiler E., Repp H.-D., Sawistowsky I., Shneider I. Verfahren zur Kultivierung von Bakterien: Patent DDR, cl. C 12n 1/20, C 12n 1/14. № 141529, 1980.
2. Егоров Н. С., Ландау Н. С. // Прикладная биохимия и микробиология.— 1982.— Т. 18.— № 6.— С. 835.
3. Паршина Н. С., Капульцевич Ю. Г., Стеркин В. Э., Глазунов А. В. // Микробиология.— 1982.— Т. 51.— № 4.— С. 575.
4. Гуревич Ю. Л. // Смешанные проточные культуры микроорганизмов.— Новосибирск.— 1981.— С. 168.
5. Цыганов В. А., Яковлева Е. П., Морозов В. М., Соколова Э. Н., Кузнецова О. С., Рацун Г. М. // Антибиотики.— 1973.— Т. 18.— № 4.— С. 358.
6. Горнак Н. М., Коваленко С. П., Идельчик И. М., Замбрицкий О. Н. // Прикладная биохимия и микробиология.— 1979.— Т. 15.— Вып. 3.— С. 246.
7. Рябушко Т. А., Игнатович Л. Ф., Дубиковская Т. Г. // Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2., хим., биол., геогр.— 1982.— № 2.— С. 29.
8. Пименова М. Н., Гречушкина Н. Н., Азова Л. Г. Руководство к практическим занятиям по микробиологии.— М., 1971.— С. 138.
9. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. // I. Biol. Chem.— 1951.— V. 193.— P. 265.
10. Коваленко С. П. Химические факторы в селекции продуцентов микробных белков.— Минск.— 1980.— С. 102.
11. Abbot B., Laskin A., MacCoу C. // Appl. Microbiol.— 1973.— V. 25.— P. 787.
12. Квасников Е. И., Гавриленко М. М., Павленко М. И., Сумневич В. Г., Соломко Е. Ф., Руда С. Н. // Микробиолог. ж.— 1976.— Вып. 38.— № 6.— С. 683.
13. Pasa I., Gregr V. // Biotechnol. and Bioend.— 1977.— V. 19.— P. 539.
14. Amano J., Ioshida O., Kagami M. // J. Ferment Technol.— 1975.— V. 53.— P. 264.
15. Lucke I., Ocls U., Schugerl K. // 5th Int. Ferment. Symp.; 4th Int. Spec. Symp. Yeasts.— Berlin.— 1976: Abstr. Pap.— Berlin.— 1976.
16. Малишевская Л. В. // Прикладная биохимия и микробиология.— 1978.— Т. 13.— № 2.— С. 275.
17. Коваленко С. П. // Микроорганизмы в промышленности и сельском хозяйстве.— Минск.— 1975.— С. 27.

УДК 635.252.564.214

Б. А. ТАТАРИНОВ, Л. Н. ЖУКОВСКАЯ

### ВЛИЯНИЕ ОЗОННОЙ ОБРАБОТКИ ЛУКА НА ЕГО ПРОРАСТАНИЕ

Для сокращения потерь плодов и овощей в процессе хранения предлагается проводить периодическую обработку продукции озоном [1, 2], однако специфика и механизм воздействия озона на биологические объекты изучены недостаточно, что ограничивает распространение этой технологии. Озон как сильный окислитель обладает выраженным антисеп-