

тод определения липидов [7], с помощью которого, по-видимому, станет возможна разработка технологически важных алгоритмов оценки и управления состоянием клеток в процессе культивирования.

В. Б. Гаврилов, В. В. Хорушкін, В. П. Никольська, С. В. Конев

Ин-т фотобиологии АН БРСР, Минск

ВНУТРІКЛІТИННЕ НАКОПИЧЕННЯ ЛІПІДІВ ТА КОНТРОЛЬ ЗА НАДЛИШКОВОЮ ПОДАЧЕЮ ПАРАФІНІВ ПРИ ПРОМИСЛОВОМУ КУЛЬТИВУВАННІ ДРІЖДЖІВ

Резюме

Проведене зіставлення методів визначення ліпідів у дріжджах за кількістю внутріклітинних ліпідних включень і з допомогою люмінесцентного методу. Показано, що підвищення залишкової концентрації парафінів при надлишковій подачі субстрату супроводжується накопиченням ліпідів у клітинах. Отже, насичення клітин ліпідами не може служити кількісним критерієм, що характеризує перехід від оптимальної подачі парафінів до надлишкової. Для оцінки стану культури пропонується замінити мікроскопічний аналіз ліпідних включень на більш адекватний люмінесцентний метод вимірювання вмісту ліпідів.

V. B. Gavrilo, V. V. Khorushkin, V. P. Nikolskaya, S. V. Konev

Institute of Photobiology, Academy of Sciences, Byelorussian SSR, Minsk

INTRACELLULAR LIPID ACCUMULATION AND CONTROL OF THE EXCESS PARAFFIN SUPPLY IN INDUSTRIAL CULTIVATION OF YEAST

Summary

Methods of lipid estimation in yeast by amount of intracellular lipid inclusions and by means of luminescence are compared. It is shown that an increase of residual paraffin concentration with the excess substrate input is accompanied by intracellular lipid accumulation in cells. It is concluded that cell saturation with lipids cannot be a quantitative criterion of transition from optimum to excess paraffin supply. To estimate the culture state it is suggested to replace microscopic analysis of lipid inclusions by the more adequate luminescent method.

Key words: yeast, industrial cultivation on paraffins, luminiscent analysis of lipids

The author's address: Gavrilo V. B. Institute of Photobiology, Academy of Sciences, Byelorussian SSR, 27, Skorina Str., Minsk, GSP, 220733, Byelorussian SSR.

1. Винаров А. Ю. Исследование структуры потоков и математическое моделирование промышленного биореактора // Биотехнология.— 1987.— 3, № 5.— С. 667—674.
2. Давидова Е. Г., Рачинский В. В. Поглощение n-алканов дрожжевыми клетками // Успехи соврем. биологии.— 1979.— 88, № 2.— С. 190—209.
3. Дегерменджи А. Г., Печуркин Н. С., Шкидченко А. Н. Аутостабилизация факторов, контролирующих рост в биологических системах.— Новосибирск: Наука, 1979.— 140 с.
4. Максимова Г. Н., Берестенникова Н. Д., Антохина В. И. и др. Содержание включений липидной природы, свободных и связанных липидов в клетках дрожжей *Candida maltosa* при разных концентрациях парафина в среде // Прикл. биохимия и микробиология.— 1988.— 24, № 4.— С. 549—553.
5. ОСТ 59.03.045.37—84. Дрожжи кормовые—БВК (паприн): определение массовой доли липидов в готовом продукте.— Введ. 15.04.84.
6. Сидорова И. П., Андреев Н. С., Аревшатян А. А. Определение углеводов в дрожжевой суспензии с помощью инфракрасной спектроскопии // Микробиол. пром-сть.— № 4.— С. 14—18.
7. А. с. 1471566 СССР, МКИ⁴ С 12 3/00. Способ определения содержания липидов в дрожжевых клетках, культивируемых на n-парафинах/В. Б. Гаврилов, С. В. Конев, В. П. Никольская и др.— 1987.

Рецензент В. Н. Иванов

Получено 04.12.90

Е. В. Стабникова, Е. С. Милько, Н. Н. Грегирчак

Киев. технол. ин-т пищ. пром-сти; Моск. гос. ун-т

ФЛОТАЦИОННОЕ ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ КЛЕТОК R- И S-ВАРИАНТОВ НЕКОТОРЫХ БАКТЕРИЙ

Ключевые слова: поверхностные свойства, флотация микроорганизмов, R- и S-варианты бактерий

Исследована специфичность взаимодействия клеток R- и S-вариантов бактерий *B. thuringiensis* и *B. licheniformis* с поверхностью раздела жидкость — газ. Установлено, что клетки R-вариантов бактерий обладают более высокой гидрофобностью поверхности, чем клетки S-вариантов, что положительно коррелирует с их способностью к адгезии на поверхности раздела жидкость — газ. Этот эффект целесообразно учитывать при проведении биотехнологических процессов и в экологии микроорганизмов.

Биологическую специфичность взаимодействия клеток микроорганизмов с поверхностью раздела жидкость — газ необходимо принимать во внимание при разработке биотехнологических процессов и в экологии микроорганизмов.

В литературе имеются ограниченные сведения о различиях в способности к адгезии на поверхности раздела жидкость — газ генетических вариантов бактериальных клеток, в частности R- и S-вариантов (R-клетки, дающие шероховатые колонии, S — гладкие) энтеробактерий. Клетки R-варианта *Salmonella typhimurium* концентрировались на границе раздела жидкость — газ, в то время как клетки S-варианта оставались в жидкости [9]. Вероятно, это связано с тем, что R- и S-варианты бактерий различаются по свойствам поверхности клеток [8, 10].

Целью настоящей работы было выявление специфичности адгезии на поверхности раздела жидкость — газ клеток R- и S-вариантов бактерий.

Материал и методы. Объектами исследования служили культуры *Bacillus licheniformis* и *B. thuringiensis* из коллекции бацилл Института микробиологии и вирусологии АН УССР, а также *Streptococcus lactis* 25 и 220 из коллекции кафедры микробиологии МГУ.

Бактерии выращивали в колбах в условиях качания (240 качаний в 1 мин) и в лабораторном ферментере АНКУМ-2М (СКБ 6П АН СССР, Пущино) с рабочим объемом 1 л. Режим работы ферментера: расход воздуха на аэрацию — от 0,6 до 1,2 л/л·мин⁻¹, интенсивность перемешивания — 800 об/мин. *B. licheniformis* выращивали на среде, описанной в работе Бугайчука [1], *B. thuringiensis* — на среде, описанной в работе Файбич [7]. Температура культивирования обеих культур составляла соответственно 37 и 30 °С, pH 7,0. *S. lactis* выращивали в пробирках в термостате при 27 °С на мясо-пептонном бульоне с 1 % -й глюкозой.

Разделение бактериальных суспензий осуществляли в лабораторном пневматическом флотаторе с рабочим объемом 100 мл [6]. Гидрофобность поверхности клеток оценивали по методу Розенберга по доле биомассы, перешедшей из бактериальной суспензии в гексадекан при их смешивании в соотношении 4 : 1 в течение 5 мин [11]. Концентрацию клеток R- и S-вариантов определяли высевом бактериальной суспензии на плотные среды в чашках Петри.

Результаты и их обсуждение. У R- и S-вариантов *S. lactis* 25, *S. lactis* 220, *B. licheniformis* и *B. thuringiensis* определяли гидрофобность поверхности клеток (таблица). Как видно из представленных данных, клетки R-вариантов исследуемых бактерий обладали более высокой гидрофобностью поверхности, чем клетки S-вариантов. Известно, что скорость флотируемости клеток дрожжей положительно коррелирует с гидрофобностью их поверхности [4]. Учитывая значительные отличия в гидрофобности поверхности клеток R- и S-вариантов исследованных бактерий, можно было предположить возможность их

флотационного разделения. Флотационное разделение смеси клеток R- и S-вариантов *B. licheniformis* проводили в периодическом режиме. Отбор пенных фракций осуществляли в течение 1 мин. В погашенной пене определяли концентрацию клеток S-варианта. В начальный момент флотационного фракционирования (время флотации 15 с) концентрация клеток S-варианта снизилась до 30 %, а к окончанию флотации (60 с) она составляла в пене 64 % от исходной концентрации. В соответствии с теорией флотационного разделения смеси двух типов клеток, обладающих различной скоростью флотации, максимальный эффект обогащения пены клетками с повышенной флотационной способностью возможен в начальный период флотации, а затем он снижается [5]. Полученные нами данные при флотационном разделении клеток R- и S-вариантов *B. licheniformis* свидетельствуют о пониженной флотуемости клеток S-варианта *B. licheniformis* по сравнению с клетками R-варианта. При флотации смеси клеток R- и S-вариантов *B. thuringiensis* концентрация клеток S-варианта в погашенной пене через 15 с флотации снизилась до 8,9 % от исходной концентрации. Это также свидетельствует о низкой скорости флотации клеток S-варианта по сравнению с клетками R-варианта.

Показатель распределения клеток бактерий
между гексадеканом и водой

Микроорганизм	Генетический вариант	Гидрофобность (распределение клеток бактерий между гексадеканом и водой)
<i>Streptococcus lactis</i> 20	R	0,50
	S	0,10
<i>S. lactis</i> 220	R	0,36
	S	0,10
<i>Bacillus licheniformis</i>	R	0,22
	S	0,07
<i>B. thuringiensis</i>	R	0,26
	S	0,07

Согласно данным исследований, гидрофобность поверхности клеток R-вариантов бактерий выше, чем гидрофобность клеток S-вариантов. Это обуславливает меньшую скорость флотации клеток S-вариантов и, как показано в нашей работе [5], возможность флотационного разделения этих вариантов, поскольку даже небольшое различие в скорости флотуемости разных типов клеток обеспечивает концентрирование одного из вариантов в пене или жидкости. Поэтому этот эффект необходимо учитывать в биотехнологических процессах, поскольку промышленное значение R- и S-вариантов бактерий может значительно различаться [3].

Поскольку гидрофобность поверхности у клеток R-вариантов бактерий выше, чем у S-вариантов, можно ожидать, что в бактерионейстоне — совокупности бактерий, обитающих в тонкой поверхностной пленке природных водоемов, — будут преобладать R-формы бактерий. Так как бактерионейстон подвергается интенсивному УФ-облучению, возможно, что именно доминированием R-вариантов бактерий в нем обуславливается эволюционное возникновение и существование в настоящее время более высокой устойчивости к УФ-облучению R-вариантов бактерий, чем S-вариантов [2].

О. В. Стабнікова, О. С. Мілько, Н. М. Грегирчак
Київ. технол. ін-т харч. пром-сті; Моск. держ. ун-т

ФЛОТАЦІЙНЕ ФРАКЦІОНУВАННЯ КЛІТИН R- І S-ВАРІАНТІВ ДЕЯКИХ БАКТЕРІЙ

Резюме

Досліджена специфічність взаємодії клітин R- і S-варіантів бактерій *B. thuringiensis* та *B. licheniformis* з поверхнею поділу рідина—газ. Встановлено, що клітини R-варіантів бактерій мають вищу гідрофобність поверхні, ніж клітини S-варіантів, що позитивно корелює з їх здатністю до адгезії на поверхні поділу рідина—газ. Цей ефект доцільно враховувати при здійсненні біотехнологічних процесів та в екології мікроорганізмів.

E. V. Stabnikova, E. S. Milko, N. N. Gregirchak

Technological Institute of Food Industry, Kiev; State University, Moscow

FLOTATION FRACTIONATION OF CELLS OF R- AND S-VARIANTS OF SOME BACTERIA

Summary

Cells of R- and S-variants of *B. thuringiensis* and *B. licheniformis* bacteria have been studied for the specificity of their interaction with the liquid-gas interface. It is established that cells of R-variants of bacteria possess the higher hydrophobicity of surface than those of S-variants, which positively correlates with their capacity to adhesion on the liquid-gas interface. It is expedient to account for this effect when carrying out biotechnological processes and in ecology of microorganisms.

Key words: surface properties, flotation of microorganisms, R- and S-variants of bacteria

The author's address: E. V. Stabnikova Kiev Technological Institute of Food Industry 68, Vladimirskaya St., 17, Kiev, 252017, Ukr. SSR

1. Бугайчук Ю. Д., Звенигородский В. И., Жданов В. Г. Условия образования и регенерации к бациллярной форме протопластов *Bacillus licheniformis* // Микробиология.—1981.—50, № 3.—С. 494.
2. Егоров П. С., Милько Е. С., Степанова П. А., Шибинская А. Влияние факторов внешней среды на рост и изменчивость R-, S и M-вариантов *Mycobacterium lactiscolum* // Биол. науки.—1986.—№ 8.—С. 87—92.
3. Милько Е. С., Егоров Н. С. О роли умеренного фага в диссоциации бактерий // Биол. науки.—1986.—№ 4.—С. 6—19.
4. Стабникова Е. В., Полятевич Е. В., Иванов В. Н. Корреляция между гидрофобностью поверхности дрожжевых клеток и их флотирруемостью // Микробиол. журн.—1989.—51, № 5.—С. 28—31.
5. Стабникова Е. В. Теоретический анализ периодического флотационного разделения двухкомпонентных клеточных суспензий // Микробиол. журн.—1989.—51, № 6.—С. 32—34.
6. Стабникова Е. В., Цимберг Е. А., Грегирчак Н. Н. Синхронизация размножения бактерий с помощью флотации // Микробиология.—1990.—59, № 2.—С. 278—282.
7. Файбич М. М., Ширшов В. А., Моторная В. П. и др. Влияние различных источников углеродсодержащих полисахаридов на рост и размножение *Bacillus thuringiensis* в сферах для производства энтомопатогенных препаратов // Микробиол. пром-сть.—1973.—№ 9.—С. 26—29.
8. Fattom A., Shilo M. Hydrophobicity as an adhesion mechanism of bentic cyanobacteria // Appl. and Environ. Microbiol.—1984.—47, N 1.—P. 135—143.
9. Hermansson M., Kjelleberg S., Korhonen J., Stenstrom J. Hydrophobic and electrostatic characterization of surface structures of bacteria and its relationship to adhesion on an air—water interface // Arch. Microbiol.—1982.—131, N 4.—P. 308—312.
10. Rosenberg M., Rottem S., Rosenberg E. Cell surface hydrophobicity of smooth and rough *Proteus mirabilis* strains as determined by adherence to hydrocarbons // FEMS Microbiol. Letters.—1982.—15, N 2.—P. 167—169.
11. Rosenberg M., Rosenberg E. Bacterial adherence at the hydrocarbon water interface // Oil and Petrochem. Pollut.—1985.—2, N 3.—P. 155—162.

Рецензент А. С. Гордиенко
Член редколлегии В. С. Подгорский

Получено 23.11.90