

УДК 544.032.53

STIMULATING ACTION OF ELECTROMAGNETIC FIELD ON BIOSYNTHETIC ACTIVITY OF *PENICILLIUM FUNICULOSUM* 18B AND *PENICILLIUM SCLEROTIORUM* 8H MICROMYCETES

I. Tverdochleb

National University of Food Technologies

Key words:

Strain producer

Pectinesterase

Synthetic ability

Electromagnetic field

Method of stimulating the enzyme formation

Article history:

Received 17.06.2014

Received in revised form

28.07.2014

Accepted 01.06.2013

Corresponding author:

I. Tverdochleb

E-mail:

npnuht@ukr.net

ABSTRACT

An effective way of increasing the biosynthetic capacity of micromycetes (the producers of pectinesterase) has been developed, which involves treatment of seeds by electromagnetic field. Application of this method involves using the properties of microorganisms to accelerate metabolism under the influence of the electromagnetic field over time. The prospects of using the electromagnetic treatment to activate the synthetic ability micromycetes as a way to optimize the biotechnological production of enzyme preparations are shown. The method can improve the effect of enzyme formation up to 40% and reduce the cultivation of producers by 38 hours, which are significant technological and economic aspects. The proposed method of increasing the biosynthetic ability of producers can be applied to biotechnological industries.

СТИМУЛЮЮЧА ДІЯ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ НА БІОСИНТЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ МІКРОМІЦЕТІВ *PENICILLIUM FUNICULOSUM* 18B І *PENICILLIUM SCLEROTIORUM* 8H

I.O. Твердохліб

Національний університет харчових технологій

У статті розроблено ефективний спосіб підвищення біосинтетичної здатності міксоміцетів — продуцентів пектинестерази, який полягає в обробці засівного матеріалу електромагнітним полем. Застосування способу пов'язане з використанням властивостей мікроорганізмів прискорювати метаболізм під дією електромагнітного поля, що діє протягом певного часу. Доведено перспективність застосування електромагнітного опромінення для активації синтетичної здатності мікроміцетів як способу оптимізації біотехнологічних виробництв ферментних препаратів. Спосіб дає змогу підвищити ефект ферментотворення до 40 % та скоротити час культивування продуцентів на 38 годин, що є важливим технологічним і економічним аспектом. Запропонований спосіб підвищення біосинтетичної здатності продуцентів може застосовуватись на біотехнологічних підприємствах.

Ключові слова: продуцент, пектинестераза, синтетична здатність, електромагнітне поле, спосіб стимуляції ферментоутворення.

На рентабельність виробництва ферментних препаратів впливають різні фактори, найголовнішим з яких є наявність продуцентів з високою біосинтетичною активністю. З метою підвищення біосинтетичної здатності відібраних штамів проводилось визначення впливу електромагнітного поля на морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості мікроміцетів.

Перевагами впливу фізичних факторів на прискорення біохімічних процесів є їхня екологічна чистота, можливість безконтактної дії на мікроорганізми чи біологічне середовище при перебігу ферментативних, біохімічних чи хімічних процесів. Окрему групу становлять електромагнітні фактори з різноманітними характеристиками. Сучасна концепція магніто-біологічних ефектів пояснює причини підвищеної біосинтетичної активності мікроорганізмів активацією ферментних систем клітин, що призводить до прискорення транспорту поживних речовин в клітину і стимуляції утворення цільових продуктів метаболізму.

Відомі дані про способи стимуляції й уповільнення біохімічних процесів під дією електромагнітного впливу [1]. Важливе значення має тривалість обробки мікроорганізмів, яка може мати як стимулюючу, так і інгібуючу дію. Наприклад, при активації електромагнітним полем внутрішньоклітинних ферментів дегідроденазного комплексу у дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* УКМ-517 тривалість обробки складала 20—30 с [2].

Раніше було проведено дослідження процесів транспортування поживних речовин у клітини мікроорганізмів після дії на них ВМП ЛПА [3]. Вивчаючи ці процеси за допомогою $D/1^{14}C$ -глюкози з радіоактивним ізотопом вуглеводню, яка мала загальну активність 10 МВк/мл і молярну активність 1,9 ТБк/моль, було зроблено припущення, що ЕМП складної конфігурації з індукцією 0,1 Тл, частотою 50 Гц активізує ферментні системи клітин, прискорює транспортування поживних речовин, утворюючи продукти метаболізму. Тобто електромагнітне поле впливає на рідкокристалічний стан мембран клітин, що збільшує їх проникність; швидкість біохімічних реакцій; фізичний стан макромолекул, що потребує окремих досліджень на молекулярному рівні. Однак все ще залишаються проблеми з глибоким розумінням механізмів електромагнітного впливу на мікроорганізми [7].

Нами було досліджено вплив електромагнітного поля складної конфігурації на рівень накопичення позаклітинної пектинестерази мікроміцетами *P. funiculosum* 18В та *P. sclerotiorum* 8Н.

Вихідними об'єктами для обробки в електромагнітному полі були культури штамів-продуцентів у віці 14—30 діб, вирощені в пробірках на скошеному агаризованому середовищі. Пробірки з культурою гриба поміщали в робочу камеру апарата ЛПА, в активній зоні якої створюється результативне ЕМП. Тривалість обробки становила 5—30 хв.

Обробку електромагнітним полем проводили в апараті ЛПА (лінійному індукційному обертачі). Принцип роботи ЛПА базується на створенні активної електромагнітної зони, що виникає в індукторній системі між двома

активними поверхнями. В зазорі індукторної системи внаслідок накладання електромагнітних полів, що йдуть від індукторів, створюється результуюче електромагнітне поле, в якому проводяться основні технологічні процеси ЛПА. Апарат працює від трифазної мережі електричного струму з індукцією 0,1 Тл та частотою 50 Гц, що відповідає промисловій частоті, тобто не потребує додаткових перетворювальних пристроїв і витрат електроенергії.

Далі вирощували інокулом протягом 48 год та проводили гетерофазну ферментацію з використанням бурякового жому як індуктора. Основна ферментація проводилась протягом 72 год при $T\ 28\ ^\circ\text{C}$ у колбах ємністю 750 мл зі 150 мл ферментативного середовища на обертовій качалці при 220 об/хв.

Під час ферментації відбирали проби та визначали активність пектинестерази кожні 12 год за період 24—72 год.

У результаті досліджень встановлена оптимальна тривалість обробки посівного матеріалу обох мікроміцетів — 9—11 хв, що надає можливість підвищити їхню пектинестеразну активність на 25—40 %. Скорочення тривалості обробки до 5 хв не дає стимулюючого ефекту, очевидно через недостатність дози опромінення. Збільшення ж тривалості обробки понад 12 хв призводить до підвищення пектинестеразної активності на 12—30 %, тобто з втратою активуючого ефекту (рис.).

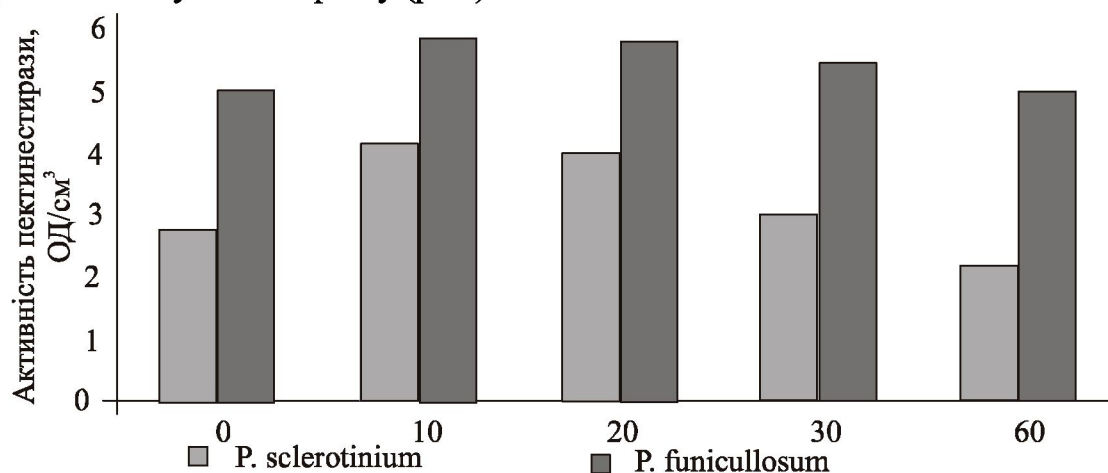


Рис. Збільшення пектинестеразної активності при дії електромагнітного поля

Також було встановлено, що оброблення ЕМП дозволяє скоротити час культивування продуцентів до 48 год порівняно з контролем, де час культивування до максимального накопичення пектинестерази становив 72 год (табл. 1).

Таблиця 1. Порівняння активності пектинестерази *P. sclerotiorum* 8Н обробленого в ЕМП і в контролі

Умови досліду	Час ферментації і динаміка накопичення ПЕ, ОД/см ³					
	24 год	36 год	48 год	60 год	72 год	96 год
Контроль (стандартні умови визначення ПЕА)	0,8	0,94	1,35	1,4	1,45	1,3
Контроль (оптимальні умови дії ПЕА: (t=40 °C, pH=4,5)	1,95	2,03	2,45	2,48	2,5	2,3

Продовження табл. 1

Умови досліджу	Час ферментації і динаміка накопичення ПЕ, ОД/см ³					
	24 год	36 год	48 год	60 год	72 год	96 год
Обробка в ЕМП (стандартні умови визначення ПЕА)	2,8	2,9	3,2	3,2	3,2	3,0
Обробка (оптимальні умови дії ПЕА: t=40 °C, pH=4,5)	3,25	3,53	3,8	3,78	3,75	3,4

Найвища пектинестеразна активність *P. funicullosum* 18В досягала 5,3 ОД/см³ на 48 год культивування (табл. 2).

Таблиця 2. Порівняння активності пектинестерази *P. funicullosum* 18В обробленого в ЕМП і в контролі

Умови досліджу	Час ферментації і динаміка накопичення ПЕ, ОД/см ³					
	24 год	36 год	48 год	60 год	72 год	96 год
Контроль (стандартні умови визначення ПЕА)	1,4	1,6	1,8	2,1	2,3	2,25
Контроль (оптимальні умови дії ПЕА: (t=40 °C, pH=4,5)	2,3	2,4	2,6	2,7	2,9	2,9
Обробка в ЕМП (стандартні умови визначення ПЕА)	4,4	4,6	4,7	4,6	4,6	4,3
Обробка (оптимальні умови дії ПЕА: t=40 °C, pH=4,5)	5,0	5,1	5,3	5,2	5,1	4,8

Таким чином, експериментальним шляхом виявлена достовірна стимуляція пектинестеразної активності у *P. sclerotiorum* 8Н та *P. funicullosum* 18В в результаті обробки посівного матеріалу в ЕМП при індуктивності 0,1 Тл частотою 50 Гц протягом 10 хв. Крім цього, дослідження показують, що обробка засівного матеріалу ЕМП дає змогу скоротити час підготовки інокулюму з 48 годин до 24 годин (тобто на 24 години) та скоротити час основної ферментації на 12 годин (з 72 годин до 60 годин). Загалом тривалість культивуванні мікроміцетів при обробці ЕМП скорочується на 38 годин, що є важливим технологічним і економічним аспектом.

Висновок

Показана перспективність застосування електромагнітного опромінення для активації синтетичної здатності мікроміцетів як спосіб оптимізації біотехнологічних виробництв ферментних препаратів. Обробка посівного матеріалу мікроміцетів забезпечує підвищення пектинестеразної активності до 40 % та дає змогу скоротити час ферментації на 38 годин. Запропонований спосіб підвищення біосинтетичної здатності продуцентів може застосовуватись на біотехнологічних підприємствах.

Література

1. Патент Российской Федерации №2144563 с1, Кл. С12N 13/00; С12M 1/42; В011 19/08, опубл. 20.01.2000. Подгорский В.С., Бойчук С.И., Гро-

мозова Е.Н. Гордиенко А.С. Протекторное действие электромагнитного излучения (40, 68 МГц) на *Saccharomyces cerevisiae* УКМ У-517 // Микробиологический журнал. — 2004. — Т. 66, № 5. — С. 48—56.

2. *Спосіб активації дріжджів*. Капліна Т.В., Лісюк Г.М., Шеляков О.П., Дорохіна М.О. Деклараційний патент Україна № 28292 А, кл. 6 С12N 1/00, А21/В 13/00, опубл. 16.10.2000, Бюл. № 5.

3. *Пічко В.Б., Грегірчак Н.М., Твердохліб І.О.* Стимулювальний вплив електромагнітного поля лінійного індукційного апарата на пектинестеразну активність *Penicillium glaucum* — I.V.// Наук. Пр. НУХТ. — 2005. — № 16. — С. 25—27.

4. *Зубкус В.Е., Стаменкович С.О.* Кинетика ферментативных реакций в переменных электрических полях // Биофизика. — 1989. — Т. 34, № 4. — С. 541—544.

5. *Андреев В.Е., Полников И.Г., Казаринов К.Д.* Использование в биохимическом эксперименте явления межфазной конвекции в водных растворах при поглощении КВЧ-излучения // Электронная техника. Сер. 1., СВЧ-техника — 2007. — № 2 (490). — С. 35—41.

6. *Крыницкая А.Ю., Суханов П.П., Седельников Ю.Е.* Влияние КВЧ-излучения на структурно-динамическое состояние модельных биомембран // Радиоэлектроника. — 2011. — № 4. — С. 1—9.

7. *Кузнецов Д.Б.* Перспективы применения электромагнитных излучений крайне высокой частоты малой мощности в фармации // Фундаментальные исследования. — 2012. — № 10 (часть 2). — С. 400—404.

СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА БИОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ *PENICILLIUM FUNICULOSUM* 18В И *PENICILLIUM SCLEROTIORUM* 8Н

И.А. Твердохліб

Национальный университет пищевых технологий

В статье разработан эффективный способ повышения биосинтетической способности микромицетов — продуцентов пектинэстеразы, который состоит в обработке посевного материала электромагнитным полем. Применение способа связано с использованием свойств микроорганизмов ускорять метаболизм под воздействием электромагнитного поля на протяжении определенного времени. Показана перспективность применения электромагнитной обработки для активации синтетической способности микромицетов. Способ позволяет повысить эффект ферментообразования до 40 % и сократить время культивирования продуцентов на 38 часов, что является существенным технологическим и экономическим аспектом. Предложенный способ повышения биосинтетической способности продуцентов может применяться на биотехнологических производствах.

Ключевые слова: *продуцент, пектинэстераза, синтетическая способность, электромагнитное поле, способ стимуляции ферментообразования.*