

МЕТОДОМ МЕТАНОВОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ

В.БУБЛІЄНКО, Н.БУБЛІЄНКО,
аспіранти

Український державний університет харчових технологій

Одне з найважливіших завдань сучасної біотехнології — розробка нетрадиційних методів одержання різних кормових продуктів, у тому числі вітамінних препаратів. У переліку речовин, яких потребує тваринництво, особливе місце належить вітаміну В₁₂. Оскільки кобаламін необхідний для процесів метаболізму, а рослини й тварини не здатні його синтезувати, то забезпечити потребу в ньому можна мікробіологічними методами. У зв'язку з цим привертає увагу метанове бродіння. Для нього не потрібні спеціальні поживні середовища, бо субстратом можуть бути будь-які органічні відходи, а ферментація здійснюється в нестерильних умовах, що дає змогу використовувати безперервний метод культивування. При цьому одночасно із синтезом біоактивних речовин вирішується питання очищення від забруднень стоків та одержання дешевої енергії у вигляді біогазу.

Ми досліджували можливість використання метанової ферментації для трансформації рідких концентрованих відходів виробництва пекарських дріжджів. Один з напрямків дослідження — визначення накопичення вітамінів кобаламінової групи. Анаеробному бродінню піддавали дріжджову бражку з цеху сепарації. Процес відбувався в безперервному режимі при постійній температурі 45°C. Швидкість роз-

бавлення становила 4,2·10⁻³; 6,3·10⁻³; 8,3·10⁻³; 12,5·10⁻³ год.⁻¹. Для стимуляції процесу вітаміноутворення до субстрату додавали сіль кобальту (хлорид кобальту) в концентрації 5 мкг/л.

Як показали дослідження, при метановому збродженні в культуральній рідині синтезується значна кількість вітамінів кобаламінової групи. Залежно від швидкості розбавлення та наявності солі кобальту вони становили 47—75 (без кобальту) та 71—95 мкг/г сухих речовин (з кобальтом). Порівняно з початковим вмістом цих вітамінів у дріжджовій бражці в культуральній рідині після метанового бродіння їх кількість залежно від умов культивування зросла в 6,3—12,9 раза.

Проведені досліди показали, що швидкість потоку прямо пропорційно впливає на загальну кількість вітамінів. Найкращого результату (75,3 мкг/г сухих речовин) за відсутності солі кобальту досягнуто при швидкості розбавлення 12,5·10⁻³ год.⁻¹, а в досліді з кобальтом за аналогічної швидкості розбавлення — 95,1 мкг/г. Найбільший приріст кількості кобаламінів спостерігався при зміні швидкості розбавлення від 4,2 до 6,3·10⁻³ год.⁻¹ і становив 34% (без кобальту) і 22% (з кобальтом). Подальше збільшення швидкості потоку дало незначний приріст вітамінів: 4,2—2,1% (без кобальту) й 3,6—0,8% (з кобальтом). Можливо, при збільшенні швидкості розбавлення, співвідношення між симбіонтами змінюється в бік зменшення метанотвірної частини популяції, і вони не в змозі за існуючих параметрів здійснювати вітаміноутвірні процеси в повному обсязі.

КІЛЬКІСТЬ ТА ЯКІСНИЙ СКЛАД КОБАЛАМІНІВ ПРИ БРОДІННІ ДРІЖДЖОВИХ СТОКІВ

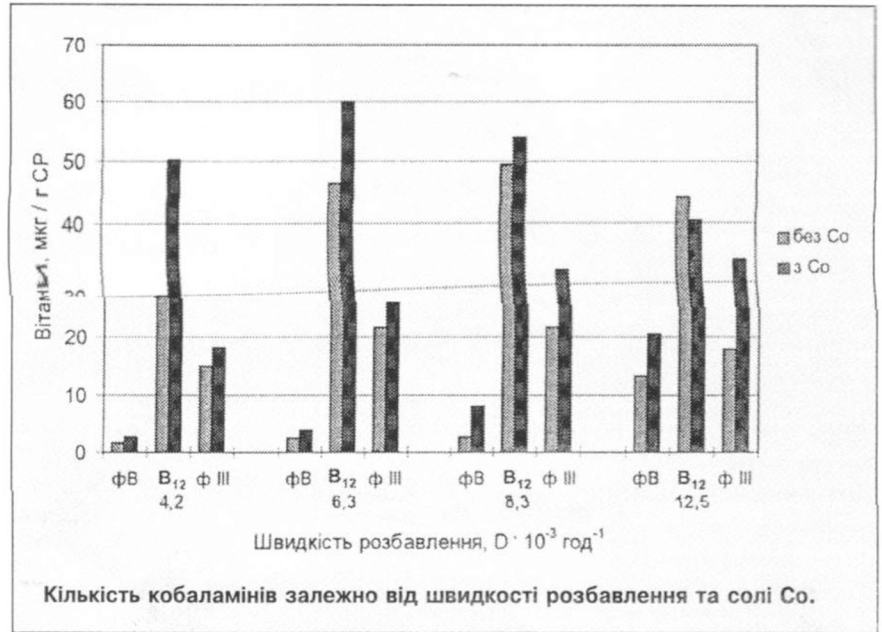
Швидкість розбавлення, D·10 ⁻³ год. ⁻¹	Вітаміни, мкг/г СР							
	без Со				з Со			
	Загальна кількість	фактор В	В ₁₂	фактор III	Загальна кількість	фактор В	В ₁₂	фактор III
4,2	46,65	1,58	30,10	14,97	71,05	2,64	50,20	18,20
6,3	70,61	2,43	46,28	21,90	91,00	3,81	60,11	27,07
8,3	73,73	2,60	49,33	21,81	94,37	7,96	54,13	32,28
12,5	75,34	13,36	44,16	17,82	95,10	20,61	40,55	33,94

Незважаючи на те, що кобальт стимулює діяльність на процеси вітаміноутворення, із збільшенням швидкості розбавлення синергічний ефект стимуляції поступово знижувався.

У зв'язку з тим, що метанова впливом асоціації мікроорганізмів, то крім справжнього вітаміну V_{12} — цианкобаламіну, утворюються інші його форми, в тому числі й неактивні для людини й тварин. З активних форм можуть утворюватись: сам вітамін V_{12} , фактор III, оксикобаламін, з неактивних — фактор В та ряд псевдовітамінів. Причина утворення не справжніх форм вітаміну V_{12} ще недостатньо вивчена. Однак проведені дослідження вказують на можливість регулювання виходу тієї чи іншої форми вітаміну.

Якісний склад кобаламінів визначали біоавтографічним методом, де спочатку на хроматографічному папері розділяли всі наявні форми вітамінів, а потім проявляли їх на агаровому середовищі за допомогою тест-культури *E.coli*-113. Після чого фізико-хімічними й математичними методами визначали процентний вміст усіх форм вітаміну в суміші. Якісний і кількісний склад кобаламінів у культуральній рідині наведено в таблиці та на рисунку.

У нашому випадку виявлені такі форми кобаламінів: вітамін V_{12} , фактор III та фактор В. Кількість псевдовітамінів була дуже низькою, а подекуди виявити їх зовсім неможливо, тому ми не враховували їх у загальному вмісті вітамінів. Через те, що одночасно з активними формами вітаміну синтезуються й неактивні, ми досліджували вплив одного з основних параметрів бродіння — швидкості розбавлення на характер процесу вітаміноутворення. Досліди показали, що, змінюючи швидкість, можна регулювати вміст



тієї чи іншої форми вітаміну.

Переважає більшість кобаламінів перебуває в активній формі. При швидкості розбавлення $4,2 \cdot 10^{-3} \text{ год}^{-1}$ вміст активних форм становить 96,6% порівняно з 3,4% неактивних у досліді без кобальту й 96,3% і 3,7% у досліді з кобальтом.

максимальній з використаних швидкостей розбавлення кількість неактивної форми — фактора В становить 17,7%, активних — 82,3% (без кобальту) та 21,7% і 78,3% відповідно (з кобальтом).

Більшість активних форм вітаміну перебуває у вигляді цианкобаламіну. Вміст цього вітаміну в суміші становить 58,6–66,9%, причому кількість його зростає одночасно із збільшенням швидкості розбавлення, крім останньої.

Найкращих результатів досягнуто при швидкості розбавлення $8,3 \cdot 10^{-3} \text{ год}^{-1}$ — 49,3 мкг/г сухих речовин (без кобальту) та 60,1 мкг/г (з кобальтом).

Таким чином, процес метанового бродіння дріжджових стоків при вибраних параметрах дає змогу одержувати кобаламіни, в яких переважають активні форми. Найбільш доцільно проводити цей процес при швидкості розбавлення у межах $6,3$ – $8,3 \cdot 10^{-3} \text{ год}^{-1}$. Застосування солі кобальту з певною концентрацією стимулює дію на синтез вітамінів, причому кількість активних форм вітамінів у культуральній рідині збільшується.

Збільшення швидкості розбавлення змінює співвідношення між формами в бік зменшення суми активних форм. Так, при