

О.И. Скροцкая, канд. биол. наук

А.А. Зинченко, студент

Национальный университет пищевых технологий

С.А. Скροцкий

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН

Украины

Skrotska@yandex.ru

ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОДУЦЕНТОВ АЦЕТОНА ИЗ РАЗНЫХ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ

Использование ацетона в разных отраслях промышленности, а также отсутствие сырья для его химического получения, требует перехода на более дешевые источники его производства. Именно таким есть получение ацетона микробиологическим способом с использованием ацетоно-бутиловых бактерий. В ходе проведенных работ нами были изолированы ацетоно-бутиловые бактерии с разных природных ниш. Определено количество синтезированного ими ацетона и проведен сравнительный анализ наиболее активных изолятов ацетоно-бутиловых бактерий.

Ключевые слова: *ацетон, ацетоно-бутиловые бактерии*

Ацетон используется во многих отраслях промышленности, например, в лакокрасочной при изготовлении авиационных, автомобильных, кабельных и других красок, в производстве некоторых сортов искусственного шелка, бездымного пороха, а также при изготовлении небьющегося стекла. Ацетон служит материалом для

изготовления многих химических продуктов, среди которых синтетический каучук, йодоформ, бромформ, хлорацетон, изопрен, некоторые смолы и пластмасса. Ацетон нашел свое использование в производстве цемента, искусственной кожи, асфальтных красок, клея [1]. В пищевой промышленности ацетон используется в качестве экстрагента при производстве разнообразных продуктов. В частности его используют для экстракции кофеина из кофейных зерен, выделения жиров, витаминов и биологически активных соединений из растительного и животного сырья [2].

Нынешнее увеличение цен на нефть, продукты переработки которой являются основным сырьем для производства ацетона, требует перехода на более дешевые источники получения химических соединений, в частности ацетона. Таким является его производство с использованием ацетоно-бутиловых бактерий (АББ).

Для ацетоно-бутилового брожения характерным есть двухфазность процесса брожения. Первая фаза соответствует периоду, когда биомасса клеток быстро увеличивается и образуются более окисленные продукты брожения [3]. Вторая фаза начинается с момента замедления размножения культуры и сопровождается резким изменением характера процесса брожения – вместо окисленных продуктов начинают образовываться восстановленные соединения. Так, первая фаза ацетоно-бутилового брожения характеризуется образованием масляной и уксусной кислот в течение 16–18 часов, а на второй – накапливаются нейтральные продукты – бутиловый спирт и ацетон с одновременным снижением кислотности среды. Суммарная концентрация растворителей в культуральной жидкости составляет около 2,5%. В связи с тем, что ценные вторичные продукты накапливаются именно во время второй фазы, важно знать, исследовать и поддерживать условия, способствующие переходу процесса в эту

фазу. При отсутствии соответствующих условий вторая фаза может вообще не наступить [4].

Для ацетоно-бутилового брожения четко показано, что его двухфазность связана с рН среды. На первой фазе брожения оптимальным является значение рН в диапазоне 5,1–5,9. При рН ниже 4,0–4,1 и выше 7,0–7,1 развитие АББ полностью приостанавливается. На второй фазе скорость брожения наивысшая при рН 4,6–5,3 (на 18 час) и при рН 4,4–5,2 – на 28 час от начала процесса. Поэтому для получения в большом количестве нейтральных продуктов важно соблюдать определенных условиях процесса брожения.

Целью данной работы было изучение распространения АББ в различных природных и производственных субстратах для определения наиболее достоверных источников получения этих бактерий и селекции активных штаммов АББ для промышленного производства ацетона.

Для выделения АББ использовали образцы почвы и ризосферы растений отобранные из болотистой местности города Киева и пригородных районов, ил озер и рек, активный ил очистных сооружений, гной крупного рогатого скота и куриный помет. Всего для исследования было отобрано 86 образцов. Для выделения АББ использовали картофельную среду следующего состава (г/л): картофель – 200,0; глюкоза – 5,0; сульфат аммония – 1,0; карбонат кальция – 3,0; водопроводная вода.

Предварительный отбор АББ проводили визуально по таким критериям: а) выделение углекислого газа, в) разжижения среды, с) общее осветление среды. Вторичный отбор АББ проводили по наличию ацетона. Для этого использовали качественную реакцию на ацетон, основанную на взаимодействии нитропрусида натрия с кетонами, которая в щелочной среде дает интенсивно-красный цвет. Позитивные, по качественной реакции образцы, использовали для количественного определения ацетона. Он заключается в том, что в щелочной среде из

ацетона и йода образуется йодоформ. Йод, который не вступил в реакцию оттитровывали 0,1 М раствором тиосульфата натрия. За разницей, тиосульфата, который пошел на титрование контрольного и опытного образца определяли количество йода, который вступил в реакцию и пересчитывали на ацетон (г/л) [5]. Содержание ацетона рассчитывали по формуле: $C = (A - B) \times 0,9765$, где С – количество образованного ацетона, мг / мл; А – объем 0,1 М тиосульфата, использованного на титрование контрольного образца, мг; В – объем 0,1 М тиосульфата, использованного на титрование опытного образца, мг; 0,9675 – количество ацетона, которое соответствует 1мл 0,1 М раствора тиосульфата, использованного на титрование, мг.

Все образцы отобраны из озера Супой, коровьего гноя и куриного помета были позитивными по способности к синтезу ацетона. При исследовании образцов, отобранных из лесного озера и речного песка, не наблюдалось брожения и они давали негативную реакцию на ацетон. Было протестировано достаточно большое количество образцов из почвы хвойного и смешанного леса, но только 20 % указанных образцов дали положительный результат. В целом 44 % отобранных изолятов давали положительную реакцию на ацетон.

У стабильно положительных изолятов было проведено количественное определение ацетона и сравнительный анализ наиболее активных (по ацетону) изолятов из разных естественных ниш. Было установлено, что 22 % выделенных АББ продуцировали растворитель в количестве от 4,0 до 5,0 г/л. Изоляты АББ выделенные из почвы хвойного и смешанного леса, активного ила водоочистительных сооружений, городской свалки и жомовых ям продуцировали небольшое количество ацетона (в пределах 0,8–2,1 г/л). Наиболее активные по количеству синтезированного ацетона штаммы АББ были выделены из полевой почвы, ила озера Супой, торфа, карьерного песка и куриного помета (таблица). АББ выделенные из

торфа и полевой почвы продуцировали ацетон в количестве 3,8–3,9 г/л, продуценты ацетона выделенные из куриного помета и ила озера Супой продуцировали ацетон на 25% меньше. Другие выделенные штаммы АББ синтезировали ацетон в меньших количествах (от 1,0 до 2,7 г/л).

Активность брожения ацетоно-бутиловых бактерий выделенных из разных природных источников

№ п/п	Место отбора пробы	Время начала брожения, часы	Переход во вторую фазу брожения, часы	Количество ацетона, г/л	Общая продолжительность брожения, часы
1	Почва полевая	4,5	7,0	3,80	48
2	Почва хвойного леса	7,0	10,2	1,03	56
3	Почва смешанного леса	6,6	9,1	1,16	52
4	Песок карьерный	5,6	8,1	2,70	52
5	Ил р. Днипро	5,7	8,2	2,70	50
6	Ил о. Супой	5,0	6,7	3,00	50
7	Торф	4,2	7,0	3,90	46
8	Гной коровий	5,2	7,5	1,70	48
9	Помет куриный	5,1	6,3	3,30	47
10	Активный ил водоочистительных сооружений	6,0	10,1	1,65	55
11	Городская свалка	5,6	9,0	1,50	58
12	Жомовые ямы (сахарный завод)	6,3	9,2	1,40	60

Выводы. Наиболее активные продуценты ацетона были изолированы с экониш со значительным содержанием не только углеводов, но и протеинов (торф, ил озера, грунт полевой). В их состав входит значительное количество легкогидролизуемых полисахаридов и общее содержание белкового азота составляет 1–2%, а также около 64-75% легкогидролизуемых протеинов. Хотя из этих данных и нельзя говорить о безоговорочной зависимости нахождения активных штаммов-продуцентов ацетона от места их выделения, но все же можно проследить некоторую закономерность их нахождения в

местах где присутствует достаточно большое количество полисахаридных и белковых веществ.

Таким образом исследуемые ацетоно-бутиловые бактерии являются перспективными для дальнейшего изучения с целью оптимизации условий их культивирования для увеличения выхода ацетона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zverlov V.V., Berezina O., Velikodvorskaya G.A., Shwarz W.H. Bacterial acetone and butanol production by industrial fermentation in the Soviet Union: use of hydrolyzed agricultural waste for biorefinery // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – Vol. 71. – P. 587 – 597.

2. Климова Е.В. Использование смеси растворителей ацетон-трихлорэтилен для экстракции оливкового масла из жмыха; жирно-кислотный состав получаемого масла // Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. – 2008. – № 3. – С. 956.

3. Логоткин И.С. Технология ацетоно-бутилового производства. – М.: Пищепромиздат, 1958. – 267 с.

4. Doris Freier-Schroder, Jiirgen Wiegel, Gerhard Gottschalk. Butanol formation by *Clostridium thermosaccharolyticum* at neutral pH // J. Biotechnology Letters. – 1989. - Vol 11. – P. 831 – 836.

5. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: Учеб. Пособие. – Воронеж : Воронеж. Гос. Технол. Акад., 2002. – 408 с.

Використання ацетону в різних галузях промисловості, а також відсутність сировини для його хімічного отримання, вимагає переходу на більш дешеві джерела його виробництва. Саме таким є отримання ацетону мікробіологічними способом з використанням ацетоно-бутилових бактерій В ході проведених робіт нами були ізольовані ацетоно-бутилові бактерії з різних природних ніш. Визначено кількість

синтезованого ними ацетону та проведено порівняльний аналіз найбільш активних ізолятів ацетоно-бутилових бактерій.

Ключові слова: *ацетон, ацетоно-бутилові бактерії*

О.І. СКРОЦЬКА

А.О. ЗІНЧЕНКО

С.О. СКРОЦЬКИЙ

ВИДІЛЕННЯ ПРОДУЦЕНТІВ АЦЕТОНУ З РІЗНИХ ПРИРОДНИХ ДЖЕРЕЛ

The use of acetone in various industries, and the lack of raw materials for its chemical production, requires a shift to lower-cost sources of production. That is so getting acetone microbiological method using acetone-butanol bacteria. *During the work stains of acetone-butanol bacteria were isolated from different natural sources. It was evaluated an amount of acetone produced by bacteria. Comparative analysis of the most active acetone-butanol bacteria's stains was performed.*

Keywords: *acetone, acetone-butanol bacteria*

O. Skrotska

A. Zinchenko

S. Skrotskyi

ISOLATION PRODUCERS OF ACETONE FROM DIFFERENT NATURAL SOURCES