

Работа выполнялась на кафедре биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева

Руководители работы: к.т.н., доцент С.В. Каленов
аспирант Н.С. Хохлачев

Дипломант: О.С. Занина

Москва, июнь, 2013 г.

Стресс-факторы

- pH-шок
- активные формы кислорода (АФК: H_2O_2 , O_3 , $\cdot\text{OH}$, другие радикалы) – окислительный стресс
- повышенные температуры и холодовый шок
- другие отклонения факторов окружения

Важность комбинированного действия внешних факторов

- Преадаптация микробных популяций к малым дозам стресс - факторов
- Зависимость положительных эффектов от плотности популяции, оптимального физиологического состояния, дозы стрессоров
- Одновременное использование стресс- и антистресс-факторов

Контролируемый окислительный стресс – комбинирование оптимальных доз АФК и антистресс-факторов, учет роли АФК в изменении показателей биосинтеза

АФК – H_2O_2 , антистрессоры – видимый свет: удобны с технологической и экологической точек зрения

Цель и задачи

- Изучение адаптации дрожжевых штаммов к пероксиду водорода на колбах при различных уровнях растворенного кислорода в процессе аэробного культивирования.
- Подробное изучение характеристик культивирования полученных адаптированных к пероксиду вариантов инокулята дрожжевых культур с контролем параметров в биореакторе.
- Сравнение бродильной активности вариантов инокулята дрожжевых культур, подготовленных при разных уровнях растворенного кислорода.
- Определение характеристик гелевых гранул при иммобилизации дрожжевых культур в Са-альгинатый гель.
- Проведение опытов по получению этанола в проточном режиме с иммобилизованными клетками дрожжей, изучение возможности стимуляции бродильной активности внесением пероксида водорода

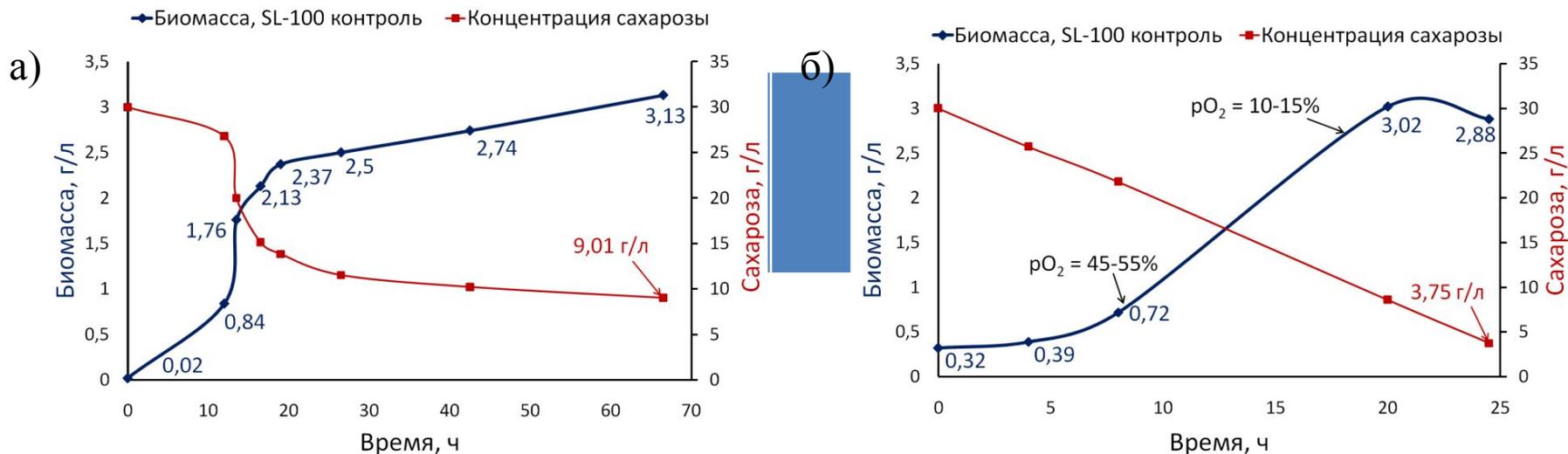


Рис. 1. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом SL-100 в аэробных условиях культивирования в режиме 1 (рис. а) режиме 2 в колбах (рис. б) (контрольный вариант).

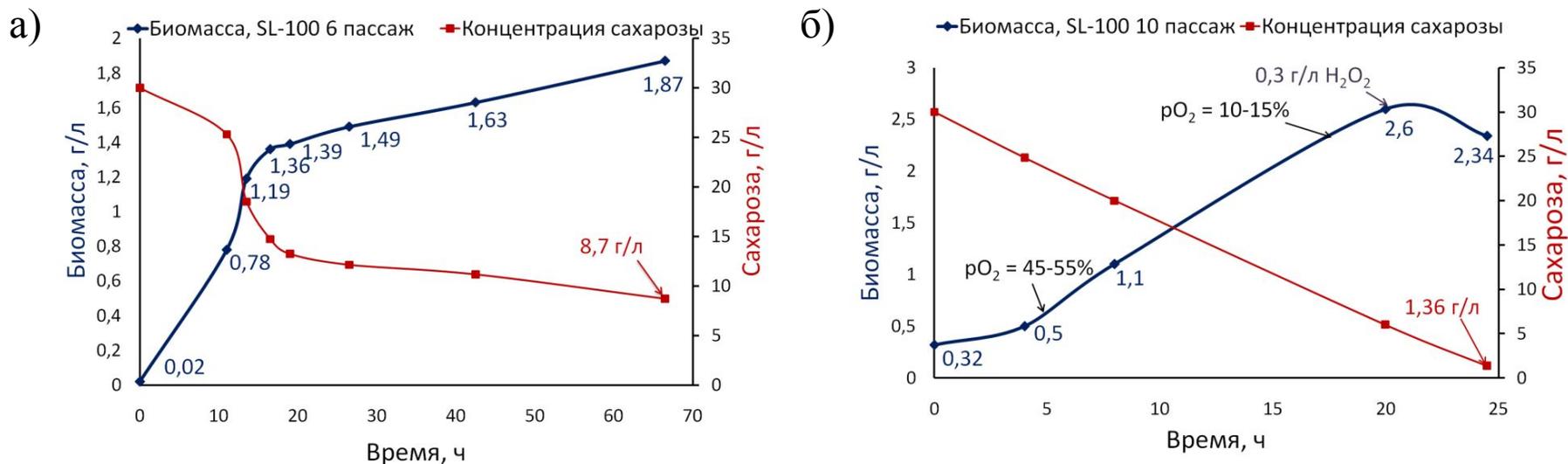


Рис. 2. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом SL-100 в аэробных условиях культивирования в режиме 1 (рис. а) и в режиме 2 в колбах (рис. б) (адаптированные линии дрожжей 6 и 10 пассажа)

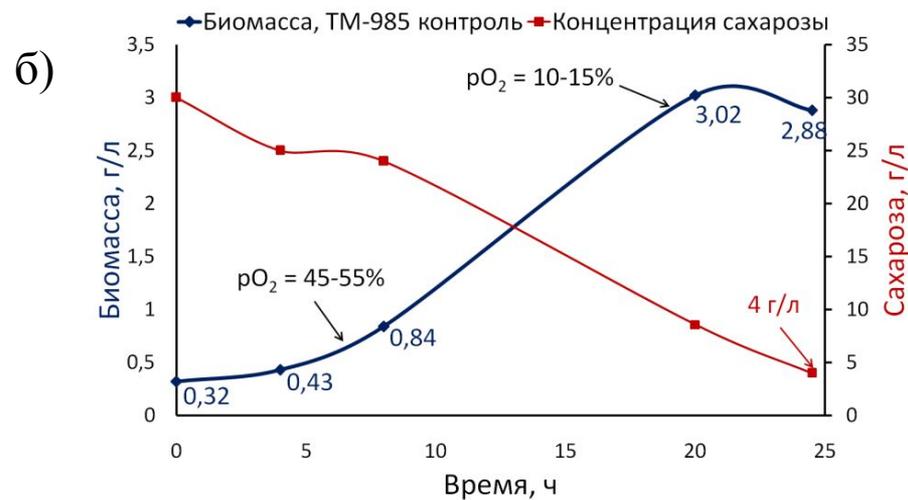
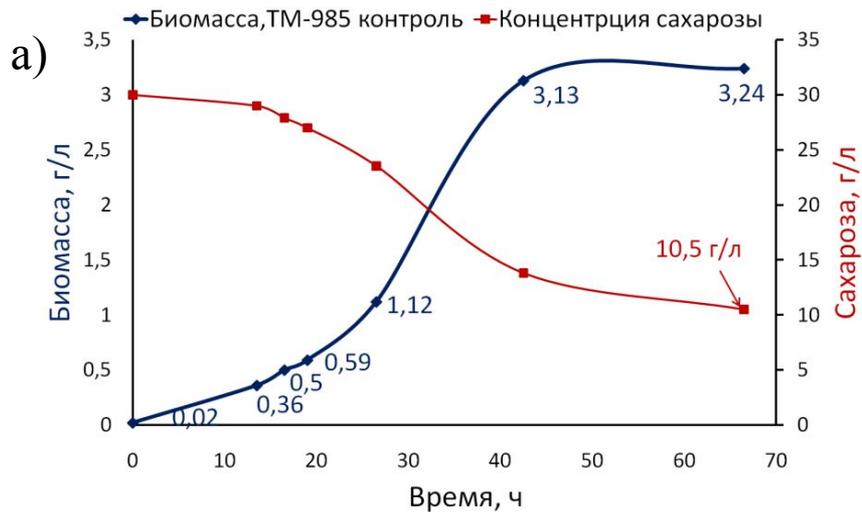


Рис.3. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом ТМ-985 в аэробных условиях культивирования в режиме 1 (рис.а) и в режиме 2 в колбах (рис.б) (контрольный вариант).

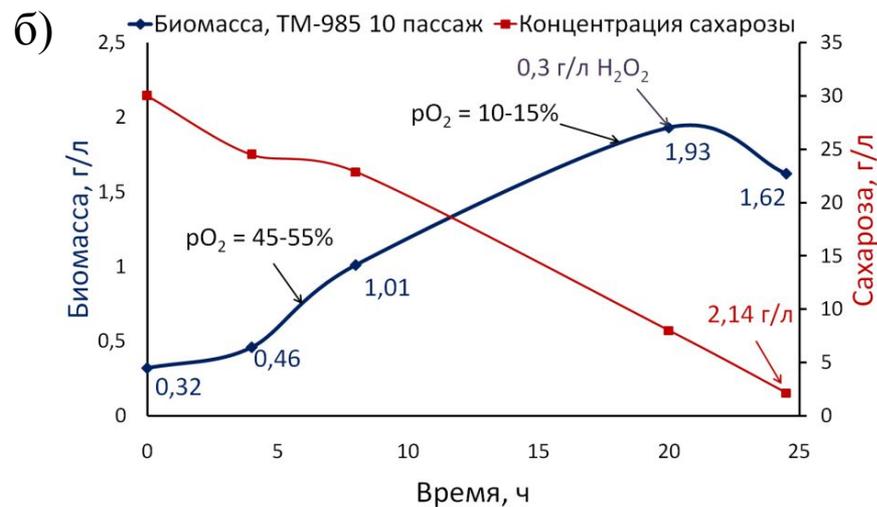
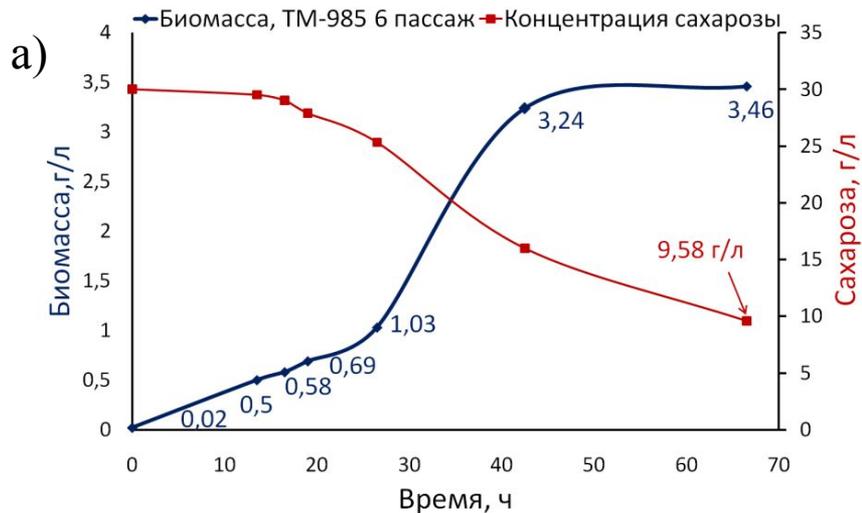


Рис.4. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом ТМ-985 в аэробных условиях культивирования в режиме 1 (рис.а) и режиме 2 в колбах (рис.б) (адаптированные линии дрожжей 6 и 10 пассажа).

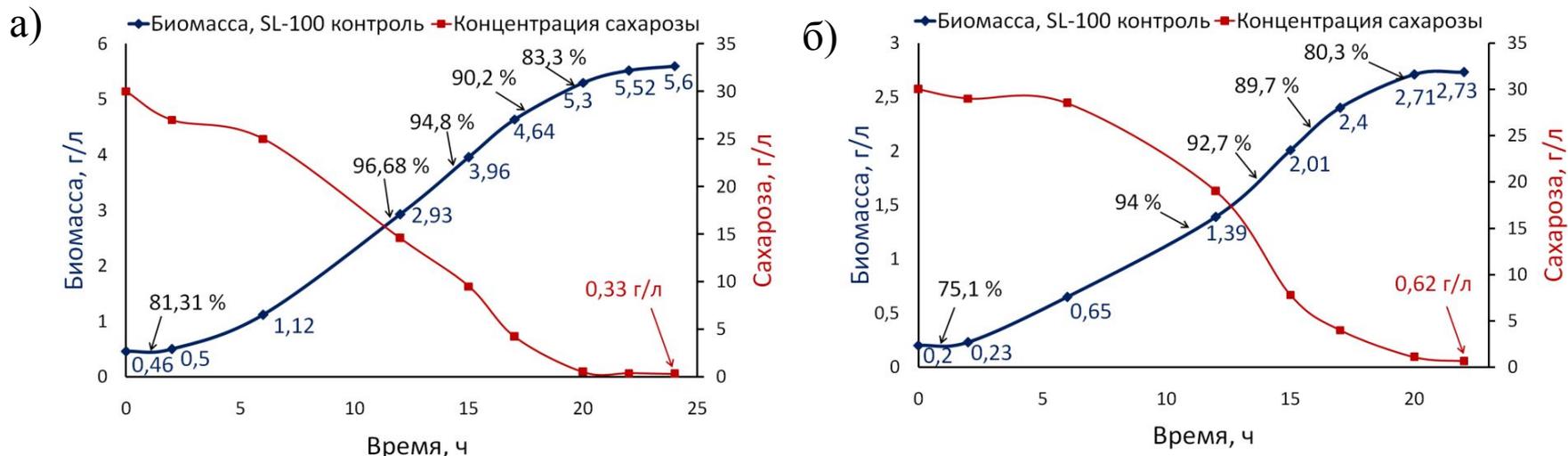


Рис. 5. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом SL-100 в аэробных условиях культивирования режиме 1 (рис.а) и режиме 2 в биореакторе (рис.б) (контрольный вариант).

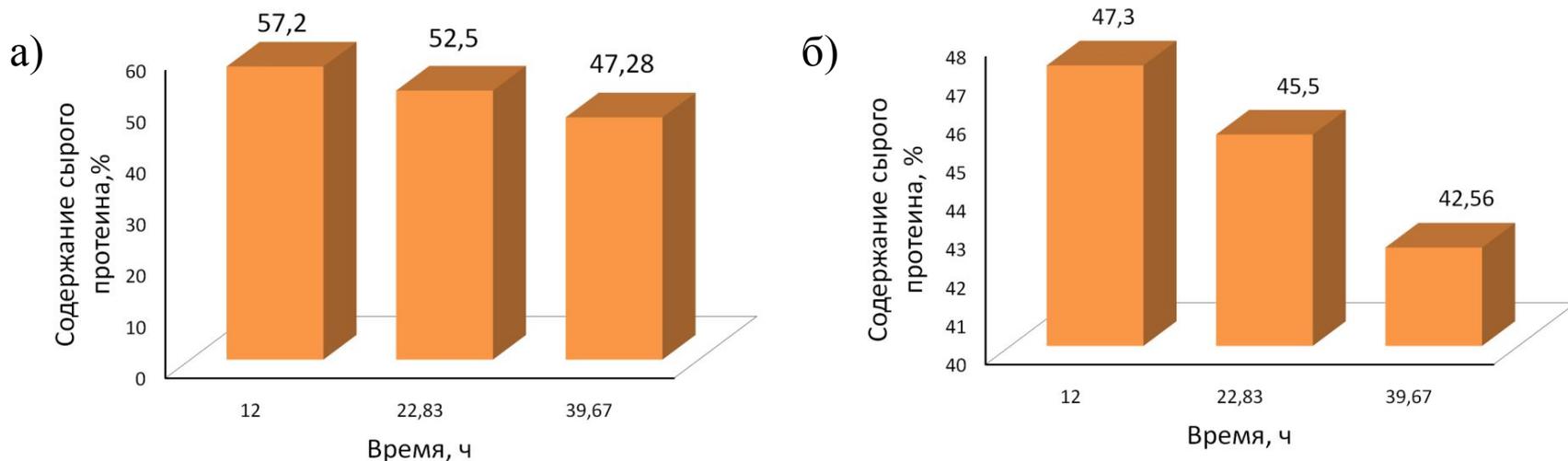


Рис. 6. Накопление сырого протеина в аэробных условиях культивирования штамма SL-100 режиме 1 (рис.а) и в режиме 2 (рис.б) (контрольный вариант).

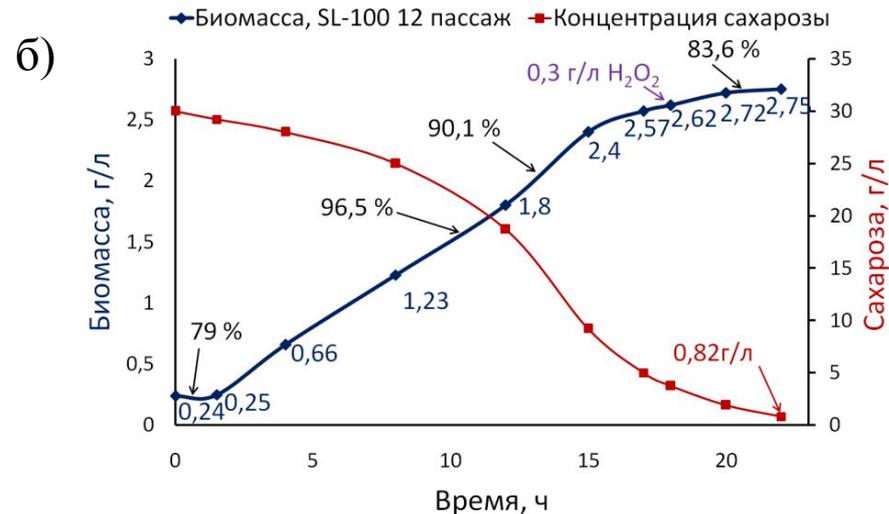
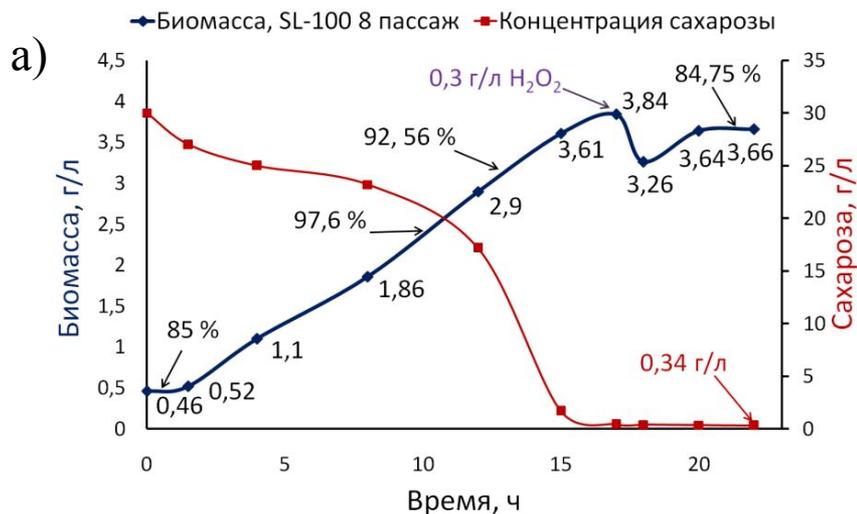


Рис. 7. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом SL-100 в аэробных условиях культивирования режиме 1 (рис. а) и режиме 2 в биореакторе (рис. б) (адаптированные линии дрожжей 8 и 12 пассажа).

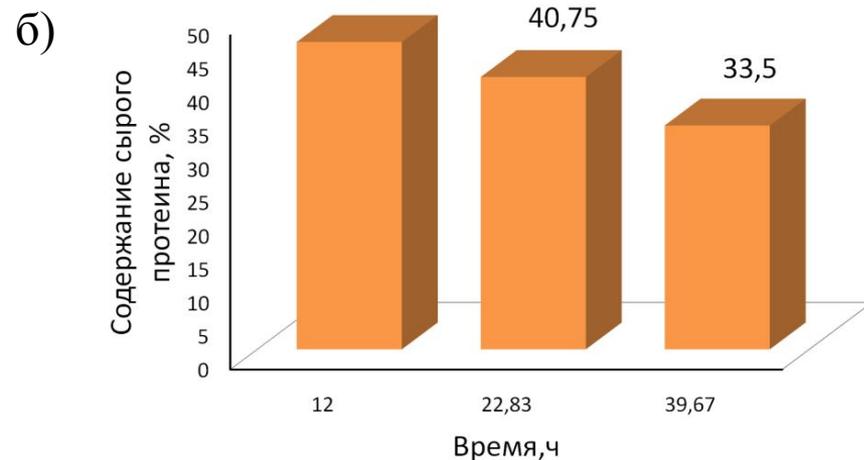
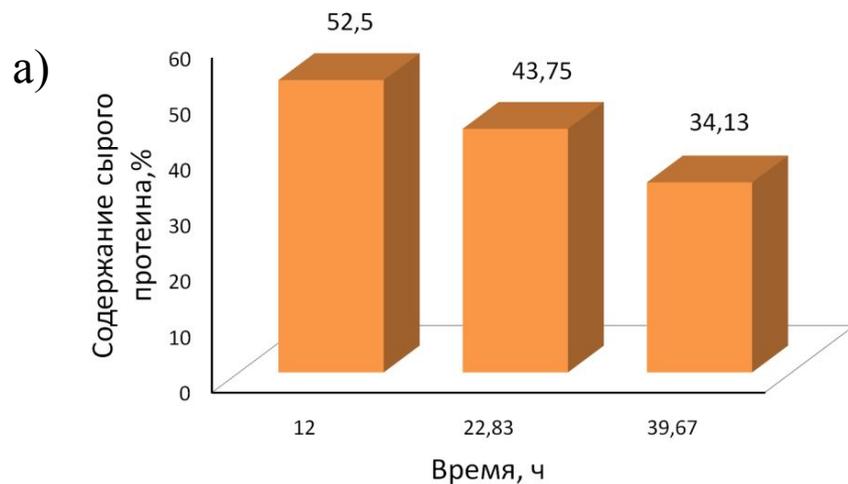


Рис. 8. Накопление сырого протеина в аэробных условиях культивирования штамма SL-100 в режиме 1 (рис. а) и в режиме 2 (рис. б) (адаптированные линии дрожжей 8 и 12 пассажа).

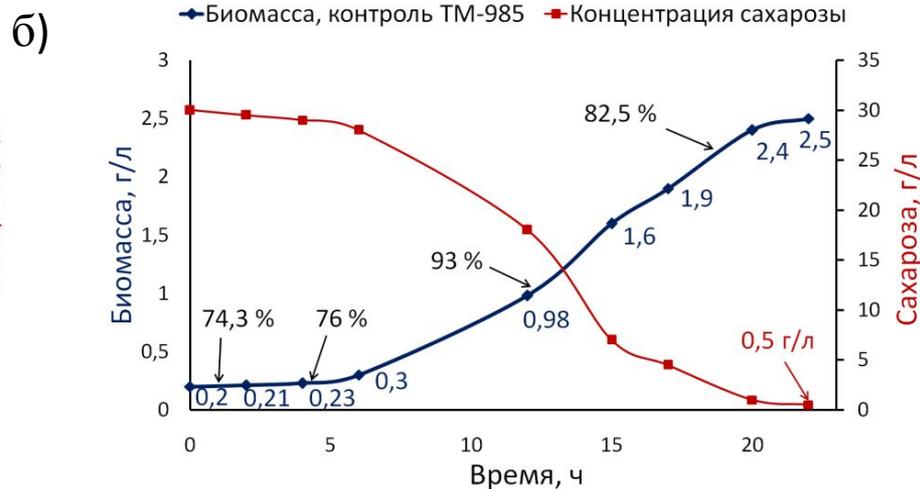
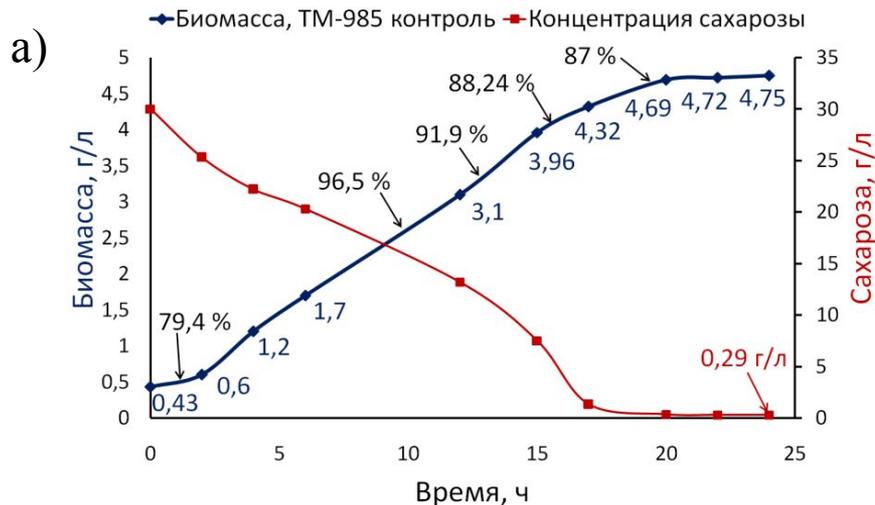


Рис. 9. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом ТМ-985 в аэробных условиях культивирования режиме 1 (рис.а) и режиме 2 в биореакторе (рис.б) (контрольный вариант)

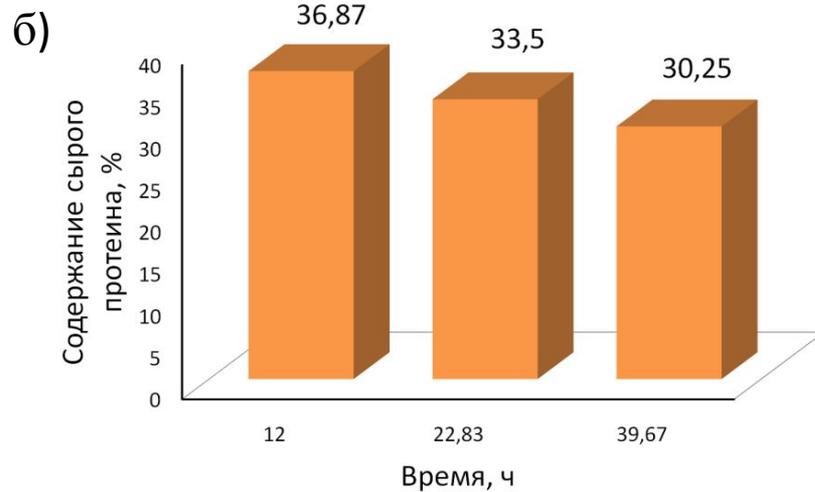
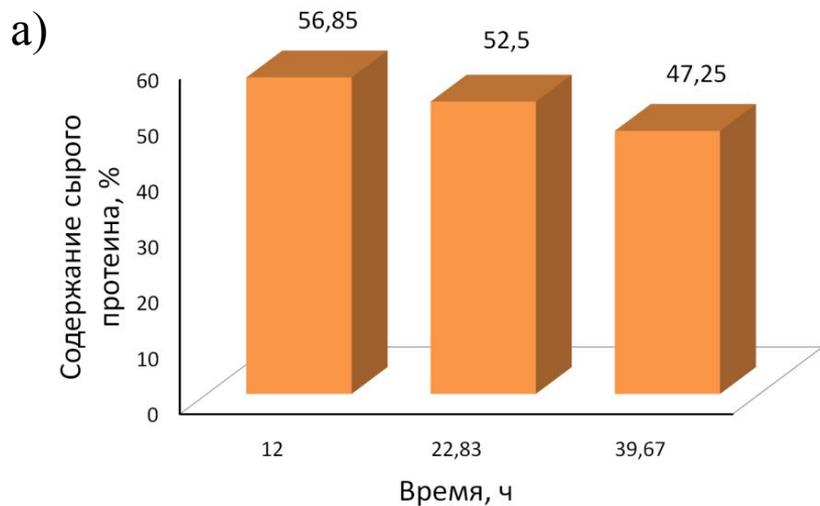


Рис. 10. Накопление сырого протеина в аэробных условиях культивирования штамма ТМ-985 в режиме 1 (рис.а) и в режиме 2 (рис.б) (контрольный вариант).

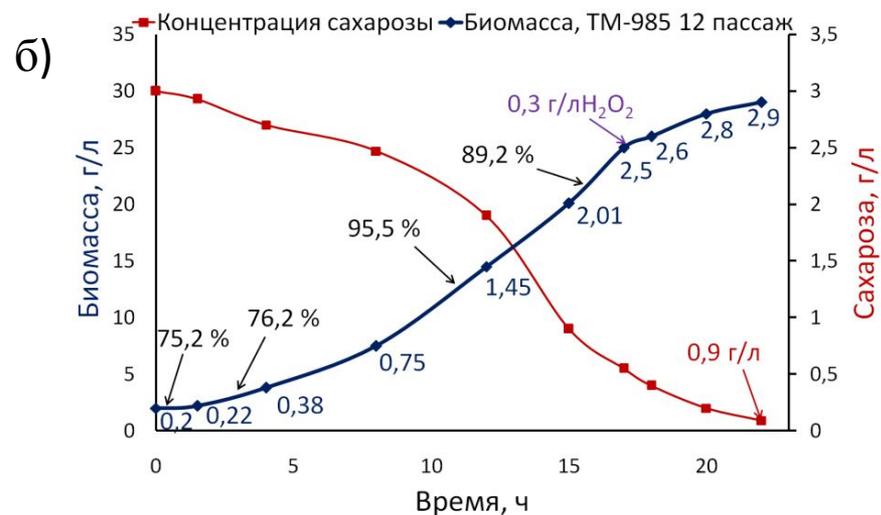


Рис. 11. Накопление биомассы и потребление субстрата штаммом ТМ-985 в аэробных условиях культивирования режиме 1 (рис. а) и режиме 2 в биореакторе (рис. б) (адаптированные линии дрожжей 8 и 12 пассажа).

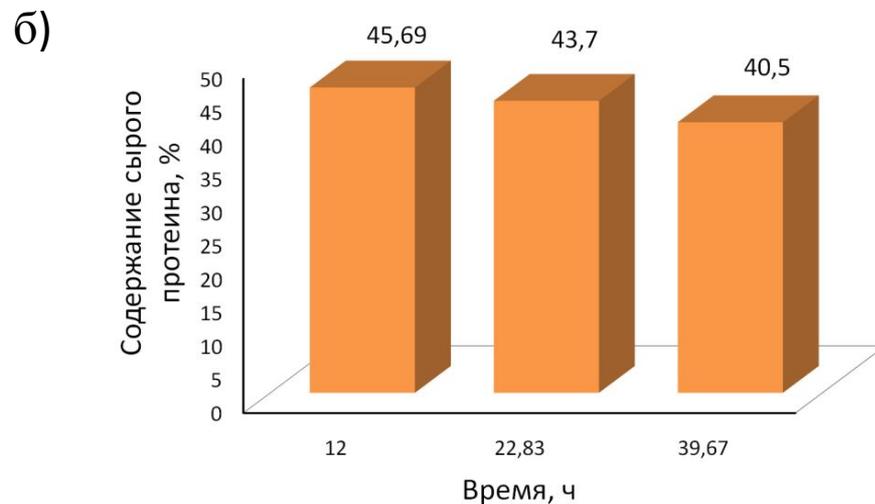
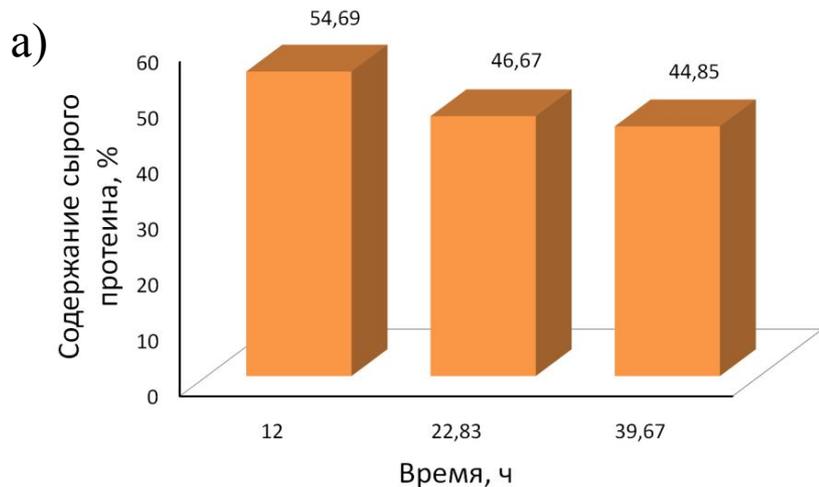
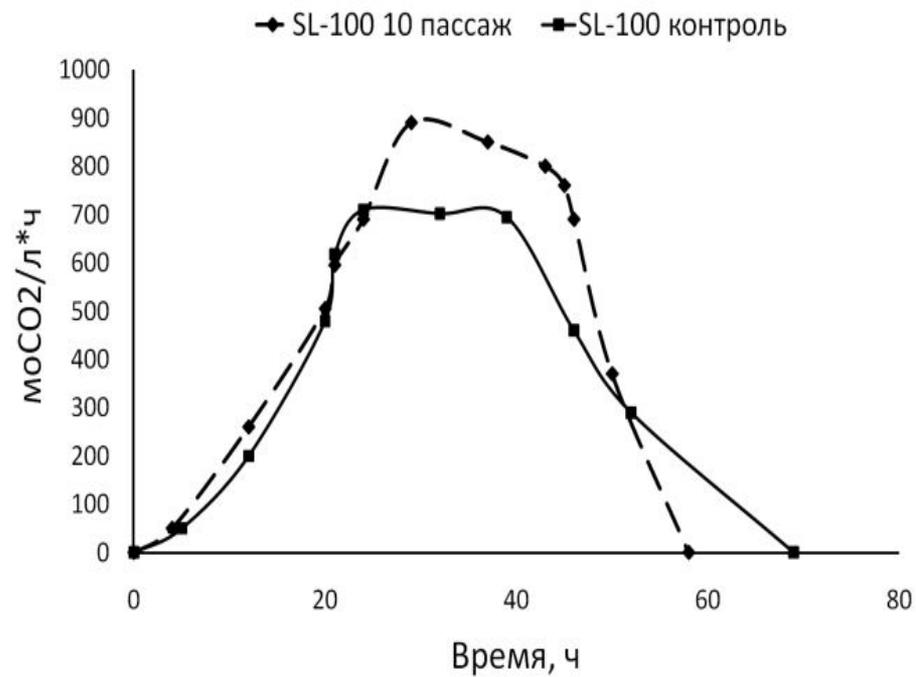
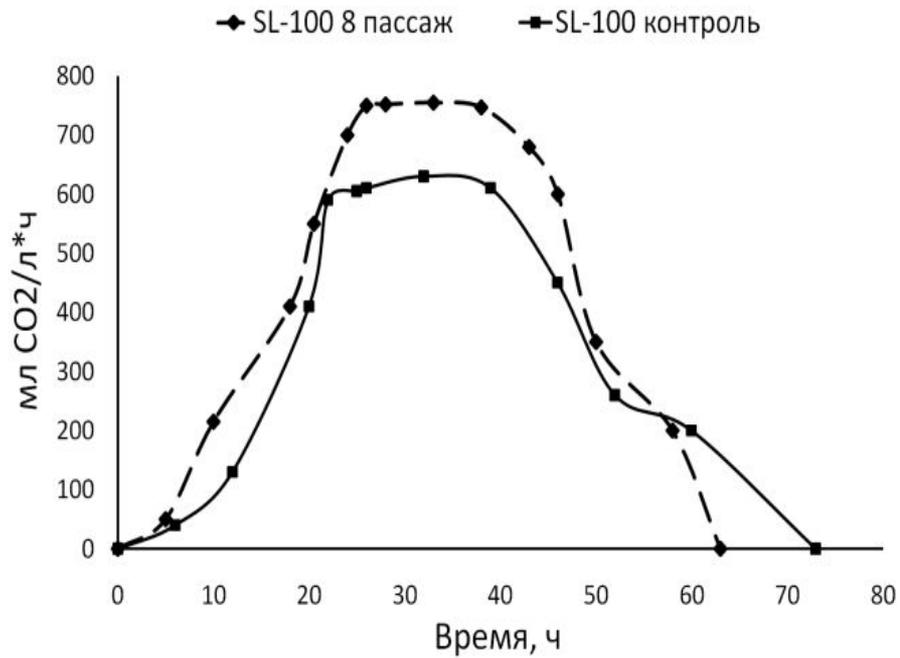


Рис. 12. Накопление сырого протеина в аэробных условиях культивирования штамма ТМ-985 в режиме 1 (рис. а) и в режиме 2 (рис. б) (адаптированные линии дрожжей 8 и 12 пассажа).

Удельные скорости роста

Бродильная активность



КОЛБОЧНЫЕ ГРАФИКИ + Хроматограмма

Рисунок ячейки 1 1 1 1 1 1 1

ВИДЕО

Фото

1 1 1 1 1

гранул+ _____

1

1

1

1

1

1

1

1

1

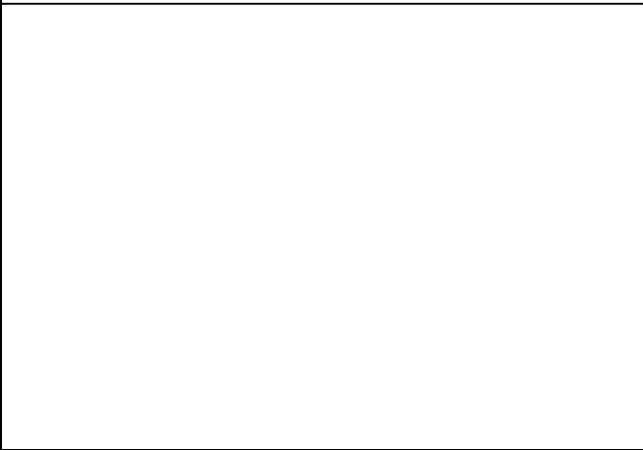
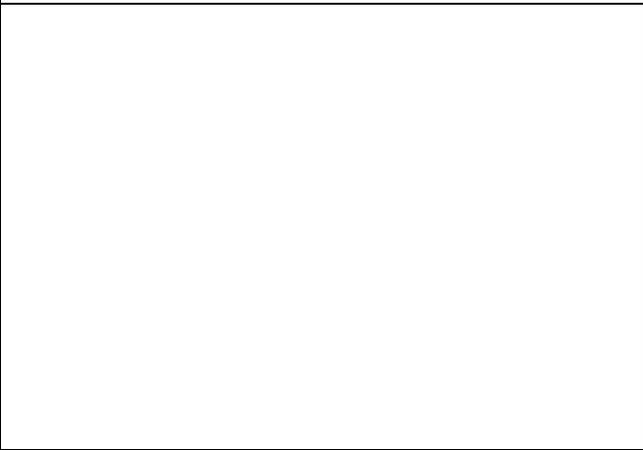
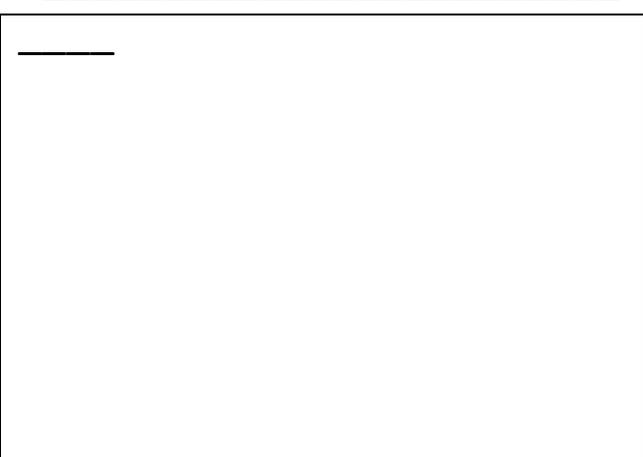
1

1

1

1 _____

1



Выводы

В процессе адаптации дрожжевых клеток к пероксиду водорода важен контроль на определенном уровне содержания растворенного кислорода в культуральной жидкости.

Получены подробные характеристики процессов культивирования преадаптированных к пероксиду вариантов выращенных в различных режимах аэрации, важным результатом этих исследований является выявление быстрого роста удельной скорости, достижение больших максимальных значений удельной скорости у адаптированных вариантов по сравнению с контрольными на начальном этапе развития культуры.

Показана возможность интенсификации процесса брожения у адаптированных к пероксиду вариантов посевного материала по сравнению с контрольными.

Получены предварительные данные по организации непрерывного процесса получения спирта с инкапсулированными клетками дрожжей, адаптированных к пероксиду водорода, показана возможность интенсификации бродильной активности внесением пероксида в ходе брожения, воспроизводимые результаты могут служить основой для дальнейших молекулярно-биологических исследований.