



Лымарь А. Ю.

Институт
технической
теплофизики
Национальной
академии наук
Украины

УДК 663.031 – 038

ПОВЫШЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ И ГРИБНОЙ КУЛЬТУРЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ДИСКРЕТНО- ИМПУЛЬСНОГО ВВОДА ЭНЕРГИИ (ДИВЭ)

Досліджено можливість застосування методу дискретно-імпульсного введення енергії (ДИВЕ) на підвищення целюлолітичної активності ферментів бактеріальної та грибною культури. Встановлено, що целюлолітична активність культуральної рідини грибною культури *G. Candidum* збільшилася на 40-50%, при 2-х кратній обробці середовища в РПА зі швидкістю зсуву потоку $50 \cdot 10^3 \text{ c}^{-1}$, а при подальшій обробці – знижувалася. Аналогічна картина спостерігалася при впливі методу ДИВЕ на культуральну рідину бактеріальною культури *Bacillus licheniformis*. При 3-х кратній обробці її зі швидкістю зсуву потоку $50 \cdot 10^3 \text{ c}^{-1}$ приводила до підвищення целюлолітичної активності на 25-34%, а при більш тривалому впливі – знижувалася.

Ключові слова: дискретно-імпульсне введення енергії, роторно-імпульсний апарат, целюлолітична активність.

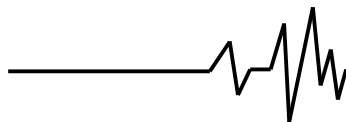
The possibility of applying the method of discrete-pulsed energy input (DIVE) to increase the cellulolytic activity of the enzymes of bacterial and fungal culture was investigated. It is established that the enzyme activity of mushroom culture has increased by 40-50% at 2 times the processing environment of the RPA at the shear flow of $50 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$, and for further processing - declined. A similar pattern was observed when the influence of the method DIVE on bacterial culture. At 3 times the processing speed of the shear flow of $50 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$ led to an increase in cellulolytic activity at 25-34%, and with more prolonged effects - decreased.

Keywords: discrete-pulsed energy input, the rotary-pulsation apparatus, cellulolytic activity.

Проблеми гідродинамічного впливу, гомогенізації, ферментації багатокомпонентних серед успішно вирішуються на основі методу дискретно-імпульсного введення енергії – принципово нового способу інтенсифікації гідродинамічних і тепломасообмінних процесів. Принцип дискретно-імпульсного введення і трансформації енергії (ДИВЭ) був запропонований в роботі [1], як обобщаючий метод направленої, локальної і

інтенсивного використання концентрованої енергії в жидкостних дисперсних системах.

Ідея ДИВЭ складається в тому, щоб попередньо стаціонарно введену і произвольним образом розподілену в робочому об'ємі енергію накопичувати (сконцентрувати) в локальних дискретних точках системи і в подальшому імпульсно реалізувати для досягнення необхідних теплофізических і технологіческих ефектів.



В качестве рабочих процессов применения принципа ДИВЭ используются процессы перемешивания, дробления, эмульгирования, гомогенизации дисперсного компонента или дисперсной фазы, т. е. явления уменьшения размера включений, повышения их однородности, существенного увеличения суммарной поверхности контакта компонентов или фаз.

Во многих отраслях промышленности, для реализации процессов перемешивания, эмульгирования, ферментации, гомогенизации различных систем: порошкообразных, жидких, многокомпонентных, высоко- и низковязких сред, применяются различные типы перемешивающего оборудования, классификация которого приведена в таблице 1.

Таблица 1

Типы перемешивающих устройств

Для порошкообразных смесей	Для смешения дисперсных компонентов	Для смешения с одновременным тонким диспергированием	Для формирования перерабатываемой среды	Для смешения многокомпонентных сред, диспергирования и гомогенизации эмульсий
дезинтеграторы	аппараты с мешалками	коллоидные мельницы: жерновые, вальцовые, роторно-бильные	штампования (сдавливания)	роторно-пульсационные аппараты: дисковые, цилиндрические
дисмембраторы	червячно-лопастные смесители	гомогенизаторы клапанного типа	экструдеры для выдавливания	гомогенизаторы: электромеханические (электромагнитные, пьезоэлектрические), гидродинамические (роторные, вихревые)
мельницы: молотковые, шаровые, коллоидные		гомогенизаторы клапанного типа	округления, раскатки	ротационные кавитационные аппараты

Среди данного многообразия аппаратов для смешения многокомпонентных сред, диспергирования, а также гомогенизации эмульсий наиболее энергоэффективными и многофункциональными являются аппараты роторно-пульсационного типа. В рассматриваемых устройствах одновременно осуществляются принципы работы роторных смесителей, дезинтеграторов и дисмембраторов, центробежных и вихревых насосов, коллоидных мельниц и жидкостных сирен радиального типа [2].

Основную роль в процессе гидродинамического воздействия на среду в классификации РПА, приведенной ниже, играют такие факторы, как количество, форма рабочих органов и состояние их поверхности [3].

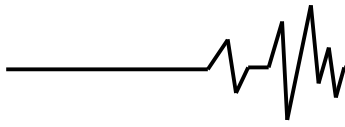
Классификация РПА: по способу прохода; по методу действия; по направлению движения компонентов; по типу расположения вала; по способу подвода компонентов; по геометрии прорезей; по количеству ступеней; по наличию дополнительных рабочих

элементов; по состоянию поверхности рабочих элементов; по форме рабочих органов; по наличию дополнительных перемещений.

Реализация метода ДИВЭ осуществляется за счет роторно-пульсационного аппарата. Конструкция РПА приведена в работе [4].

Цель работы – изучение влияния метода дискретно-импульсного ввода энергии на повышение целлюлолитической активности в культуральной жидкости продуцентов грибной и бактериальной целлюлаз.

Известно, что на эффект увеличения целлюлолитической активности грибной и бактериальной культуры влияют различные факторы: время обработки, температура, pH среды, скорость сдвига потока. Более эффективно активация ферментов проходит при следующих условиях. Для грибной целлюлазы *G. Candidum*: $t^0=26-30^{\circ}\text{C}$, pH 5,5-7,9; бактериальной культуры *Bacillus licheniformis* $t^0=80-95^{\circ}\text{C}$, pH 6-6,5. Поэтому, было проведено изучение влияния скорости сдвига потока на



целлюлолитическую активность в культуральной жидкости продуцентов грибной и бактериальной целлюлаз.

Как известно, культуральная жидкость продуцентов грибной и бактериальной культур имеют разную активность. Грибы, в отличие от бактерий, содержат в клеточных стенках значительно больше углеводов компонентов, но меньше — белков и липидов. Поэтому, антигенные свойства грибных клеток менее выражены, чем бактериальных. Клеточная стенка грибов, в отличие от бактерий, не содержит мурамилпептида, но имеет такую маркерную структуру как хитин (реже - хитозан или целлюлозу). Синтез хитина происходит в органеллах, называемых хитосомами, при участии фермента хитин-синтазы.

Первоначально изучали влияние скорости сдвига потока на целлюлолитическую

активность грибной культуры *G. Candidum*. Обработку проводили на роторно-пульсационном аппарате (РПА). При проведении исследований была определена зависимость повышения целлюлолитической активности ферментов исследуемой культуры от количества циклов обработки при разных скоростях сдвига потока.

Установлено, что целлюлолитическая активность грибной культуры увеличивалась и достигала максимального значения при 5-ти кратной обработке среды со скоростью сдвига потока $20 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$, а также при 4-х кратной обработке, но со скоростью сдвига потока $30 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$. Однако, лучший результат получен при 2-х кратной обработке среды со скоростью сдвига потока $50 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$ (рис. 1).

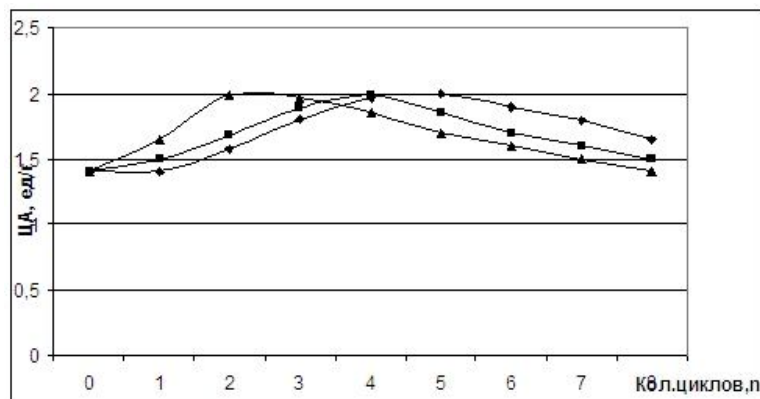


Рис. 1. Влияние скорости сдвига потока на целлюлолитическую активность культуральной жидкости грибной культуры

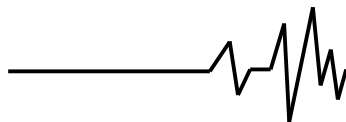
Скорость сдвига потока:

- - $\gamma = 20 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$;
- - $\gamma = 30 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$;
- ▲ - $\gamma = 50 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$;

В результате проведенных экспериментальных исследований установлено, что обработку культуральной грибной культуры *G. Candidum* целесообразно проводить с 2-х кратной обработкой среды со скоростью сдвига потока $50 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$, поскольку при 3-х кратной обработке наблюдается тенденция на снижение целлюлолитической активности фермента в культуральной жидкости (рис.1.). Увеличение циклов обработки до 4-х единиц, при неизменной скорости сдвига потока, приводит к снижению активации ферментов на 17,5%.

Аналогично изучалось влияние количества циклов обработки на целлюлолитическую активность культуральной жидкости бактериальной культуры *Bacillus licheniformis* при разных скоростях сдвига потока.

В результате проведенных экспериментальных исследований было установлено, что с увеличением кратности обработки бактериальной культуральной жидкости целлюлолитическая активность ферментов постепенно увеличивалась. Так при скорости сдвига потока $20 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$ наибольшая целлюлолитическая активность ферментов наблюдалась при 6-ти кратной обработке в РПА и составляла 2,8 ед/г. Увеличение количества циклов обработки до 7-8 единиц приводит к снижению целлюлолитической активности на 40-47% соответственно (табл. 1).



Таблиця 1

Влияние количества циклов обработки на целлюлолитическую активность культуральной жидкости бактериальной культуры при скорости сдвига потока $20 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$

№ п.п	Количество циклов обработки, ед	Целлюлолитическая активность, ед/г	% к контролю
1	0(контроль)	2,1	100
2	1	2,1	100
3	2	2,2	105
4	3	2,3	110
5	4	2,5	119
6	5	2,7	129
7	6	2,8	133
8	7	2,0	95
9	8	1,9	92

При увеличении скорости сдвига потока до $30 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$ наибольшая целлюлолитическая активность ферментов наблюдалась при 5-ти кратной обработке в РПА и составляла 2,9 ед/г.

Увеличение количества циклов обработки до 7-8 единиц приводит к снижению целлюлолитической активности на 43-48% соответственно (табл. 2).

Таблиця 2

Влияние количества циклов обработки на целлюлолитическую активность культуральной жидкости бактериальной культуры при скорости сдвига потока $30 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$

№ п.п	Количество циклов обработки, ед	Целлюлолитическая активность, ед/г	% к контролю
1	0(контроль)	2,1	100
2	1	2,2	105
3	2	2,3	110
4	3	2,5	119
5	4	2,6	125
6	5	2,9	125
7	6	2,9	134
8	7	2,1	90
9	8	1,7	85

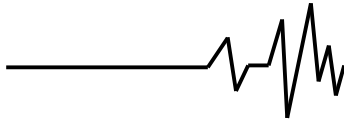
При увеличении скорости сдвига потока до $50 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$ наибольшая целлюлолитическая активность ферментов наблюдалась при 3-х кратной обработке в РПА и составляла 2,9 ед/г. Последние результаты исследований

свидетельствовали о том, что такой режим обработки является лучшим, поскольку дальнейшая обработка до 7-8 ед. приводила к снижению целлюлолитической активности на 46-50% соответственно (табл. 3).

Таблиця 3

Влияние количества циклов обработки на целлюлолитическую активность культуральной жидкости бактериальной культуры при скорости сдвига потока $50 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$

№ п.п	Количество циклов обработки, ед	Целлюлолитическая активность, ед/г	% к контролю
1	0(контроль)	2,1	100
2	1	2,4	109
3	2	2,7	121
4	3	2,9	133
5	4	2,9	133
6	5	2,2	105
7	6	2,0	95
8	7	1,8	84
9	8	1,6	75

**Выводы**

Согласно с проведенными экспериментальными исследованиями и полученными результатами можно сделать вывод, что повысить целлюлолитическую активность ферментов в культуральной жидкости грибной и бактериальной культуры возможно с помощью применения метода дискретно-импульсного ввода энергии. Установлено, что целлюлолитическая активность ферментов в культуральной жидкости грибной культуры *G. Candidum* увеличивалась на 40-50% после обработки в РПА со скоростью сдвига потока $50 \cdot 10^3 \text{с}^{-1}$, а бактериальной *Bacillus licheniformis* на 25-34% при скорости сдвига потока $50 \cdot 10^3 \text{с}^{-1}$.

Литература

1. Долинский А.А., Басок Б.И., Гулый С.И. и др. Дискретно-импульсный ввод энергии

в теплотехнологиях. - Киев: Научная книга, 1996. – 208 с.

2. Долинский А.А. Принципы разработки новых энерго- ресурсосберегающих технологий и оборудования на основе методов дискретно-импульсного ввода энергии / А.А. Долинский, Г.К. Иваницкий // Пром. теплотехника. - 1997. - Т. 19, №4 - 5. - С. 13 - 25.

3. Долинский А.А. Дискретно-импульсный ввод энергии в технологиях. / А.А. Долинский, Б.И. Басок, И.С. Гулый, А.И. Накорчевский, Ю.А. Шурчкова - К.: ИТТФ НАНУ, 1996. - 208 с.

4. Ободович А.Н. Разработка научно-технических основ процессов перемешивания и диспергирования жидкостных гетерогенных систем и их аппаратурное обеспечение: дис., д.т.н. – К., 2009г.