

Эффект ингибирования процессов биосинтеза повышенными концентрациями компонентов питания известен давно. Однако, совместное действие ингибирующих факторов все еще изучено недостаточно. Каков механизм ингибирования? Какие промежуточные компоненты, угнетающие биосинтез, образуются в различных условиях внешней среды? Эти вопросы приобретают особое значение при решении задач интенсификации биотехнологических процессов. Например, при исследовании доливного процесса получения микробного белка из синтез-спирта, был обнаружен эффект временного снижения интенсивности дыхания дрожжей *Candida lambica* ВСБ-579 при увеличении дозы этанола [1]. После подачи различных по объему доз субстрата сначала наблюдается резкий всплеск потребления кислорода (рис.1). При этом концентрация растворенного кислорода падает. Однако, затем происходит торможение процесса биохимического окисления и, в зависимости от величины концентрации субстрата, концентрация растворенного кислорода временно возрастает или временно затормаживается ее падение. Это может быть объяснено различным уровнем образующейся внутриклеточной концентрации ацетальдегида, тем большей, чем большие количества субстрата и кислорода поступили в клетку. Рис. 1 - Динамика растворенного кислорода в доливном процессе культивирования этанолюкисляющих дрожжей после подачи доз при начальных концентрациях этанола: • - 1,846 г/л; ◦ - 3,538 г/л. Если превысить некоторый порог (более 35% кислорода в отработанном газовом потоке и 20 г/л этанола), то биосинтетическая активность дрожжей подавляется полностью. Причем эффект проявляется через несколько минут. Прекращается дыхание. Выход из шокового состояния требует не менее двух часов пребывания в условиях оптимальной концентрации субстрата при практически отключенной аэрации. Особо следует отметить технологические приемы предотвращения концентрационного шока при интенсификации аэрации. Если культура начинает снижать интенсивность дыхания при увеличении аэрации, то, как это ни парадоксально, необходимо резкое кратковременное увеличение скорости вращения мешалки. При этом возникшие, из-за ингибирования части клеток, локальные зоны повышенной концентрации кислорода «рассеиваются», угнетенные клетки распределяются равномерно по рабочему объему и популяция сохраняет свою активность. Снижение же аэрации в этих случаях помогает не всегда, и не может быть рекомендовано, поскольку отразится и на активности большинства клеток, находящихся в условиях, обеспечивающих активное потребление субстрата. Сказанное справедливо для случаев, когда угнетающим фактором являются промежуточные вещества в цепи окисления субстрата. Другая ситуация, когда может наблюдаться не столь выраженный эффект потери устойчивости процесса, нами была проанализирована при выполнении работ по интенсификации процесса биосинтеза лизина гомосеринзависимым штаммом *Brevibacterium flavum* E-531. Процесс

двустадийный – на первой стадии осуществлялась генерация биомассы в интенсивном режиме до достижения «плотной культуры» с концентрацией клеток 70 - 80 гАСБ/л и более. Аэрация осуществлялась воздухом, обогащенным кислородом при концентрации последнего 30-33 % объемных. При удельной аэрации 3,5 л/лКЖ·мин продуктивность биореактора по биомассе составила 14,275 кгАСБ/л·час. При этом тепловой эффект, рассчитанный по разности теплот сгорания исходных и конечных веществ, достиг 72,8 Вт/л. Такое высокое значение величины метаболической теплопродукции создает ограничения на объем генератора биомассы интенсивного действия вследствие ограниченной возможности увеличения поверхности теплообмена и (или) снижения температуры теплоносителя. Перегрев культуральной жидкости приводит к снижению не только интенсивности процесса роста, но и выхода биомассы с единицы субстрата. Поэтому в качестве алгоритма управления при создании генератора биомассы может быть рекомендован алгоритм теплостата (подпитки субстратом по данным изменения температуры в рабочей зоне биореактора). На стадии биосинтеза лизина при использовании «плотной культуры» теплопродукция снижалась до 47 – 48 Вт/л. Это тоже достаточно большая величина, поскольку продуктовый биореактор должен быть как минимум в 5 раз большего объема, чем посевной аппарат. При реализации интенсивных процессов биосинтеза встает дополнительная проблема и утилизации низкопотенциального тепла, например, с использованием продуктивного прудового или тепличного хозяйства. При разработке интенсивного процесса биосинтеза лизина, как и при росте этанолюкисляющих дрожжей, был выявлен эффект потери устойчивости вследствие кислородного шока. Но этот эффект был менее выражен. Культура не прекращала дыхания, а лишь снижала интенсивность роста. При этом падал и коэффициент выхода биомассы. При концентрации кислорода во входном потоке, превышающей 33 % объемных, наблюдался «стационарный» участок длительностью не более 4-6 часов. Затем наступал необратимый дрейф характеристик процесса в сторону ухудшения. А в условиях лимитирования субстратом при избытке кислорода шок проявлялся более резко. При слабой интенсивности перемешивания возникает зона угнетения клеток в слое, окружающем газовые пузыри. Флотированные клетки, потребив доступный субстрат, резко снижают интенсивность дыхания. Избыточное количество кислорода диффундирует во внешний слой жидкости и, таким образом растет объем зоны шокового состояния культуры. Наблюдается такое явление при средней концентрации субстрата в культуральной жидкости менее 1,0 – 1,2 % масс. Выведение культуры из шокового состояния так же, как и в случае культивирования этанолюкисляющих дрожжей, возможно путем резкого кратковременного усиления интенсивности перемешивания. После этого необходима подпитка субстратом. Влияние аэрации на общую устойчивость процесса характерно для аэробных режимов биосинтеза. Недостаточная

изученность этого эффекта связана с ограниченностью применения интенсивных режимов на практике и отсутствием заказа со стороны промышленности на аппараты интенсивного действия [2]. Однако и при относительно малых концентрациях микроорганизмов может наступать резкий срыв параметров процесса, приводящий к аварийным ситуациям. Например, снижение аэрации при аэробном выращивании спиртовых дрожжей в промышленном посевном аппарате объемом 16 м³ приводило к резкому всплеску пенообразования (эксперимент был выполнен в 2003 году на Шумбутском спиртзаводе, РТ). Эффект обусловлен выбросом экзометаболитов – недоокисленных поверхностно-активных соединений, образующихся при относительной нехватке кислорода. При этом пенообразование может быть столь интенсивным, что, даже при коэффициенте заполнения реактора 0.5, наблюдается выброс пены из аппарата через 10-15 минут после снижения аэрации. Таким образом, аварийные ситуации, вызванные действием гипербарических или лимитирующих концентраций кислорода, возникают в условиях недостаточной интенсивности перемешивания и неоптимального соотношения метаболических потоков субстрата и кислорода. Причем алгоритмы управления процессами биосинтеза должны разрабатываться с учетом того, что шоковый эффект может развиваться, охватывая всю популяцию, в течение нескольких минут, то есть за время обновления газовой фазы в реакторе.