

Использование хроматографии для анализа концентрации спиртосодержащего субстрата при культивировании дрожжевой биомассы

Н.А. Гребешкова

Самарский государственный технический университет, Самара, Россия

Обоснование. В связи с низкой эффективностью преобразования растительных кормов в белковые продукты, проблема разработки и поиска новых альтернативных источников белка становится все более актуальной [1]. Несмотря на то, что активно развиваются технологии создания искусственного мяса и мяса на растительной основе, высокие производственные затраты и неудовлетворительные потребительские свойства делают их менее конкурентоспособными, по сравнению с белковыми продуктами традиционного животноводства.

Применение биомассы дрожжей в качестве источника микробного белка — одно из наиболее приемлемых решений проблемы нехватки продовольствия. Перспективным направлением является использование микроорганизмов, способных использовать метанол как единственный источник углерода [2].

Для оптимизации процессов культивирования дрожжевой биомассы необходимо контролировать концентрацию спиртосодержащих субстратов. Одним из эффективных методов анализа концентрации этих веществ является газовая хроматография.

Цель — изучить возможность использования метода газовой хроматографии для анализа концентрации спиртосодержащего субстрата в питательной среде при культивировании дрожжевой биомассы.

Методы. Культивирование дрожжей вида *Pichia pinus* проводили на среде следующего состава [3]: дрожжевой экстракт (г/л) — 5; раствор А (г/л): KH_2PO_4 — 1; раствор Б (мкг/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 5, $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 1,025, NaCl — 0,1; микроэлементы (мкг/л): Трилон Б — 10; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 9,3; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,22; $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 1,81; $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 0,079; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ — 1; H_3BO_3 — 2,86; CaCl_2 — 1,2. После приготовления питательной среды добавляли 5 мл/л метанола, что соответствует 0,5 % концентрации. В процессе культивирования добавляли метанол в культуру дрожжей по мере необходимости, для поддержания постоянной концентрации метанола в среде в количестве 0,5 %.

Прирост биомассы контролировали фотоколориметрическим методом, измеряя оптическую плотность суспензии при длине волны в 600 нм. Концентрацию биомассы определяли при помощи градуировочного графика.

Анализ культуральной жидкости проводили методом газовой хроматографии на газовом хроматографе Хроматэк Кристалл 5000.2, оснащенном пламенно-ионизационным детектором (ПИД), на колонке Agilent HP-FFAP 50×0,32×0,50 мм.

Концентрацию метанола в культуральной жидкости определяли при помощи градуировочных графиков зависимости высоты и/или площади пиков от концентрации метанола.

Результаты. В ходе исследований были получены градуировочные графики зависимости концентрации метанола от высоты и площади хроматографических пиков. Корреляция между значениями концентрации метанола от высоты пика составляла 96 %, а корреляция между значениями концентрации метанола и значениями площади пиков — 99 %. Последний график в дальнейшем был использован для исследований.

Метод газовой хроматографии был использован для определения концентрации метанола в реальном процессе. Штамм дрожжей культивировали в течение двух недель, при этом контролировали концентрацию метанола методом газовой хроматографии, а методом спектрофотометрии определяли концентрацию биомассы.

Выводы. В ходе исследования проведено культивирование метилотрофных дрожжей на спиртосодержащем субстрате. Построены градуировочные графики зависимости концентрации метанола в водном растворе от площади и высоты хроматографического пика. Использование газовой хроматографии позволяет

надежно определять концентрацию метанола в культуральной жидкости при реальном культивировании микроорганизмов.

Ключевые слова: газовая хроматография; культивирование; дрожжи; метанол; питательная среда.

Список литературы

1. Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein — state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016 // *Frontiers in Microbiology*. 2017. Vol. 8. P. 1–18. doi: 10.3389/fmicb.2017.02009
2. Jach M., Serefko A., Ziąja M., Kieliszek M. Yeast protein as an easily accessible food source // *Metabolites*. 2022. Vol. 12, N 63. P. 1–27. doi: 10.3390/metabo12010063 EDN: ZCTKJI
3. Симискер Я., Хейнару В., Ныгес Т. Влияние концентрации метанола на скорость его усвоения и дыхания метанолусваивающих дрожжей *Candida boidinii* // Учен. зап. Тартуск. гос. ун-та. Труды по микробиологии III. 1982. № 624. С. 5–20.

Сведения об авторе:

Надежда Александровна Гребешкова — студентка, группа 2ВБШ-23ВБШ-101М, Высшая биотехнологическая школа; Самарский государственный технический университет, Самара, Россия. E-mail: nadya.greb@yandex.ru

Сведения о научном руководителе:

Владимир Валентинович Бахарев — доктор химических наук, доцент, профессор Высшей биотехнологической школы; Самарский государственный технический университет, Самара, Россия. E-mail: knilsstu@gmail.com