

СУБСТРАТ-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КРИВОЙ РОСТА *BACILLUS SUBTILIS* В СРЕДЕ С АМИЛОДЕКСТРИНОМ: КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ И ДИНАМИКА

Покровский М.А. (СПБГТИ(ТУ)), Бурнышева Т.О. (СПБГТИ(ТУ)), Афанасенко А.Е. (СПБГТИ(ТУ)), Золина Е.Д. (СПБГТИ(ТУ))

Научный руководитель – мл. науч. сотр. Бурнышева Т.О.

Введение. Бактерии вида *Bacillus subtilis* (Сенная палочка) — это важные продуценты для современной биотехнологии, благодаря своей способности вырабатывать амилолитические ферменты, которые применяются в промышленности, медицине и сельском хозяйстве. Известно, что больше всего ферментов выделяется в начале стационарной фазы роста. Но на эффективность производства влияет и продолжительность предшествующих ей лаг- и логарифмической фаз. При этом удельная скорость продукции фермента напрямую зависит от удельной скорости роста, которая характеризует физиологическое состояние культуры [1]. В этих условиях важно решить проблему оптимизации, а именно — сокращение времени перехода бактерий в стационарную фазу и максимальное её продление. Крахмал, как углеводный субстрат, является одним из основных источников питания для бактерий. От его количества может зависеть, как быстро и хорошо они будут расти. Целью данной работы является изучение изменений кривой роста *B.subtilis* от концентрации вносимого крахмала.

Основная часть. Изучение проводили путем культивирования *B.subtilis* в ферментационном аппарате с мешалкой при температуре 38 °С. В процессе культивирования поддерживали постоянную аэрацию на уровне 150 л/ч и перемешивание со скоростью 50 об/мин для обеспечения равномерного распределения питательных веществ и кислорода. Состав питательной среды был следующим: кукурузный экстракт — 1%, хлорид кальция — 0,75%. В качестве варьируемого фактора использовали крахмал, который вносили в двух концентрациях: 0,65% и 1,3%. Посевная доза и остальные условия культивирования (температура, интенсивность перемешивания, аэрация) были одинаковыми для обеих экспериментальных групп.

Для анализа ростовых характеристик использовали фотоколориметрический метод: каждые 15 минут отбирали пробы культуры и измеряли оптическую плотность при фиксированной длине волны. Полученные значения оптической плотности позволили построить кривые роста и проследить динамику накопления биомассы на разных этапах: лаг-фаза, логарифмическая фаза и стационарная фаза.

Анализ кривых роста показал, что увеличение концентрации крахмала в 2 раза привело к росту конечной биомассы примерно в 1,3 раза. Это означает, что большее количество субстрата позволяет прокормить более плотную популяцию.

При сравнении активных фаз роста (интервал 110–310 минут) было обнаружено, что наклоны кривых для обеих концентраций практически параллельны. Это важный результат: удельная скорость деления клеток в экспоненциальной фазе не зависела от того, сколько крахмала было в среде. Бактерии делились с одинаковой скоростью, но на более богатой среде (1,3%) они дольше оставались в экспоненциальной фазе и успевали накопить большую биомассу до момента истощения ресурсов [2]. Согласно литературным данным, удельная скорость роста *B.subtilis* лимитируется концентрацией как крахмала, так и кукурузного экстракта [1]. В нашем эксперименте концентрация кукурузного экстракта была фиксированной (1%), поэтому наблюдаемое увеличение биомассы связано именно с количеством крахмала.

Несмотря на двукратную разницу в начальном количестве крахмала, обе культуры вышли в стационарную фазу практически синхронно — после 310 минут

культивирования. При этом переход от экспоненциальной к стационарной фазе был плавным, без резкого излома на графике. Такая форма кривой объясняется постепенным истощением питательных веществ.

Выводы. В ходе выполнения работы было установлено, что концентрация крахмала в среде существенно влияет на ростовые характеристики *B.subtilis*. Крахмал выступает лимитирующим субстратом: увеличение его концентрации приводит к росту конечной биомассы. При этом удельная скорость деления клеток в экспоненциальной фазе не зависит от концентрации субстрата — бактерии делятся с одинаковой скоростью в обоих вариантах среды.

Полученные данные позволяют прогнозировать поведение культуры при различных концентрациях крахмала и могут быть использованы для оптимизации дальнейших этапов при производстве амилолитических ферментов [3].

Список использованных источников:

1. Baig, M.A., Pazlarová, J. & Votruba, J. Kinetics of α -amylase production in a batch and a fed-batch culture of *Bacillus subtilis*. *Folia Microbiol* 29, 359–364 (1984).
2. Oliinyk L., Konovka A., Volovyk T., Yegorova A., Pylypenko L. Rapid sanitary and technological control of culturing the producers of amylolytic enzymes // *Food Science and Technology*. 2021. Vol. 15. No. 3.
3. Ikram-ul-Haq, Ashraf H, Iqbal J, Qadeer MA. Production of alpha amylase by *Bacillus licheniformis* using an economical medium. *Bioresour Technol*. 2003 Mar;87(1):57-61. doi: 10.1016/s0960-8524(02)00198-0. PMID: 12733576.