

DOI: 10.15593/2224-9400/2024.3.03
УДК 663.885

Научная статья

Л.В. Волкова, В.В. Вигуляр, А.А. Дулькевич, Р.Г. Волков

Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Российская Федерация

ВЛИЯНИЕ КИСЛОРОДА НА КИНЕТИКУ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЗООГЛЕИ *MEDUSOMYCES GISEVI*

*Для промышленного культивирования гриба *Medusomyces Gisevi* требуется особенная технология культивирования в оптимальных условиях. Для того чтобы определить такие условия, необходимо обязательное изучение кинетики протекания процессов в культуральной жидкости, химический состав которой постоянно меняется во времени. По кинетике изменения концентрации растворенного кислорода и рН культуральной жидкости можно определить переход от одной стадии к другой. Поэтому данная проблема требует разработки специальной технологии культивирования в оптимальных условиях. Для использования гриба на бытовом уровне эти требования не значительны и не важны.*

*Субстрат готовили следующим образом: в предварительно прокипяченную охлажденную до температуры менее 30 °С воду вносили различные начальные концентрации фруктозы (25 и 50 г/л) и 3 г листового черного чая, в емкость помещали мицелий гриба *Medusomyces Gisevi*. Культивирование проводили в стеклянном культиваторе емкостью 1,5 л при температуре 23–25 °С. Перед началом процесса культивирования субстрата провели измерения следующих показателей: концентрацию растворенного кислорода, используя прибор ЭКСПЕРТ–009, рН, титруемую кислотность.*

В ходе экспериментальных исследований была установлена зависимость исходной концентрации углеводной составляющей субстрата и конечной кислотности продукта, при этом она близка к нейтральной среде.

В результате проведенного эксперимента установлено, что скорость потребления кислорода и рН резко возрастает до максимума в течение первых суток проведения процесса. Далее концентрация кислорода постепенно снижается шестым–седьмым суткам, а величина рН снижается уже ко вторым суткам. Таким образом, оптимизирована технология культивирования зооглеи с направлением снижения уровня сахара в растворе.

Ключевые слова: зооглеи, фруктоза, потребление кислорода зооглеей, культивирование гриба *Medusomyces Gisevi*, культуральная жидкость, биологически активные вещества, высокая и низкая степень диссоциации, кинетика, чайный настой.

L.V. Volkova, V.V. Vigulyar, A.A. Dulkevich, R.G. Volkov

Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russian Federation

THE EFFECT OF OXYGEN ON THE KINETICS OF CULTIVATION ZOOGLEA MEDUSOMYCES GISEVI

The industrial cultivation of the fungus Medusomyces Gisevi requires a special cultivation technology under optimal conditions. In order to determine such conditions, it is necessary to study the kinetics of the processes in the culture liquid, the chemical composition of which is constantly changing over time. According to the kinetics of changes in the concentration of dissolved oxygen and the pH of the culture liquid, it is possible to determine the transition from one stage to another. Therefore, this problem requires the development of a special cultivation technology under optimal conditions. For the use of the mushroom at the household level, these requirements are not significant and are not important.

The substrate was prepared as follows: various initial concentrations of fructose (25 g/l and 50 g/l) and 3 g of black tea leaf were introduced into pre-boiled water cooled to a temperature of less than 30 °C, mycelium of the fungus Medusomyces Gisevi was placed in a container. Cultivation was carried out in a glass cultivator with a capacity of 1.5 liters at a temperature of 23–25 °C. Before starting the substrate cultivation process, the following parameters were measured: dissolved oxygen concentration using the EXPERT -009 device, pH, titrated acidity.

In the course of experimental studies, the dependence of the initial concentration of the carbohydrate component of the substrate and the final acidity of the product was established, while it is close to a neutral medium.

As a result of the experiment, it was found that the rate of oxygen consumption and pH sharply increases to a maximum within 1 day of the process. Further, the oxygen concentration gradually decreases by the 6th–7th day, and the pH value decreases by the second day. Thus, the technology of zoogelea cultivation has been optimized with the direction of reducing the sugar level in the solution.

Keywords: *zooglues, fructose, oxygen consumption by zooglue, cultivation of the fungus Medusomyces Gisevi, culture liquid, biologically active substances, high and low degree of dissociation, kinetics, tea infusion.*

В настоящее время для повышения продуктивности животных используются вакцины, антибиотики, стимуляторы роста животных, что вызывает дисбактериоз и снижение иммунитета самочувствие животного в целом. Одним из способов решения данной проблемы разведения и увеличения продуктивности животных, профилактики заболеваний и регуляции пищеварения в организме в процессе кормления животных является внесение в рацион различных биологически активные добавок, исключающих использование синтетических стимуляторов роста и антибиотиков [5, 7].

Перспективу для создания биологически активных добавок представляет гриб *Medusomyces Gisevi*, так как его состав является поликомпонентным, содержит такие биологически активные вещества, как аминокислоты, белки, органические кислоты, витамины и клетчатку [1–3, 5].

Для культивирования гриба *Medusomyces Gisevi* в условиях промышленного производства требуются определенные технологические условия, поэтому понимание кинетики протекания процесса является актуальным вопросом в процессе проектирования технологического процесса и получения продукта определенного химического состава, который зависит в том числе от времени культивирования [1, 3, 8]. Развитие *Medusomyces Gisevi* условно можно разделить на две стадии. В начале процесса внесения зооглеи в культуральную жидкость гриб погружается в нижнюю часть сосуда и развивается под слоем жидкости, т.е. на первой стадии возникают анаэробные условия и количество растворенного кислорода снижается. На второй стадии процесса, когда пузырьки образовавшегося углекислого газа поднимают мицелий зооглеи на поверхность, гриб начинает потреблять кислород из воздуха, через поверхность сплошной пленки, в результате чего начинает превалировать процесс аэробного брожения.

В процессе изменения концентрации растворенного кислорода возможно определить кинетику протекания процесса и превалирующую стадию брожения, понимание которой позволит определить оптимальные условия культивирования и выбрать оптимальные технологические параметры процесса крупномасштабного производства. Для проведения процесса культивирования гриба в домашних условиях кинетика процесса не столь значительна [1, 5, 6, 8].

Цель исследования – изучение влияния кислорода на кинетику культивирования зооглеи *Medusomyces Gisevi*.

Материалы и методы. Субстрат готовили следующим образом: в предварительно прокипяченную охлажденную до температуры менее 30 °С воду вносили различные начальные концентрации фруктозы (25 и 50 г/л) и 3 г листового черного чая, в емкость помещали мицелий гриба *Medusomyces Gisevi*. Культивирование проводили в стеклянном культиваторе емкостью 1,5 л при температуре 23–25 °С.

Перед началом процесса культивирования субстрата провели измерения следующих показателей: концентрацию растворенного кислорода, используя прибор ЭКСПЕРТ–009, рН, титруемую кислотность.

Затем те же измерения проводили в процессе культивирования субстрата каждые два дня.

Результаты и обсуждение. В ходе экспериментальных исследований была установлена зависимость исходной концентрации углеводной составляющей субстрата и конечной кислотности продукта, при этом она близка к нейтральной среде.

Изменения в процессе культивирования титруемой кислотности и рН объясняется тем, что на первой стадии развития гриба в культуральной жидкости превалирует уксуснокислое брожение с выделением кислоты [4, 10]. Поскольку начальные значения рН, титрованной кислотности и концентрации кислорода в культуральной жидкости были различными, то с целью приведения экспериментальных результатов к какому-то единообразию дальнейшая обработка опытных данных и подбор эмпирических уравнений математических моделей производились в безразмерных координатах: $pH_b = pH/pH_n$, $O_b = O/O_n$ [4, 11]. Индексы означают: b – безразмерное значение параметра, n – начальное, без индекса – текущие.

Стоит отметить, что начальная концентрация кислорода в чистой воде значительно превышает концентрацию кислорода в чайном растворе при равных условиях приготовления раствора. Возможно, это связано с тем, что состав чайного настоя, а именно содержание в нем кислот, солей, углеводов и т.п. влияет на растворимость кислорода в жидкости. Экспериментально установлено, что, во-первых, на первой анаэробной стадии развития гриба потребление кислорода в значительно большей степени зависит от концентрации сахарозы, чем изменение рН; во-вторых, характер изменения концентрации кислорода аналогичен изменению рН. Функции $O_b(\tau)$ и $pH_b(\tau)$ представлены на рисунке.

На основании полученных данных можно предположить, что первые 3–4 сут после внесения культуры в субстрат являются первой стадией культивирования гриба, в процессе которой синтезируются кислоты с высокой степенью диссоциации. По истечении этого времени следует вторая стадия, в процессе которой синтезируются в основном кислоты с низкой степенью диссоциации.

Функции имеют вид

$$Y(\tau) = 1 - a \cdot e^{-\left(\frac{c}{\tau}\right) \cdot d}, \quad (1)$$

$$Y(\tau) = \frac{a_2}{1} - a_1 \cdot e^{-c_1 \cdot \tau}. \quad (2)$$

Поскольку аргумент функций (1) и (2) включен в показатель степени при экспоненте, а в целом степень должна быть безразмерной, то коэффициент c будет иметь размерность времени, в нашем конкретном случае – [сут], а коэффициент c_1 – [1/сут] [9].

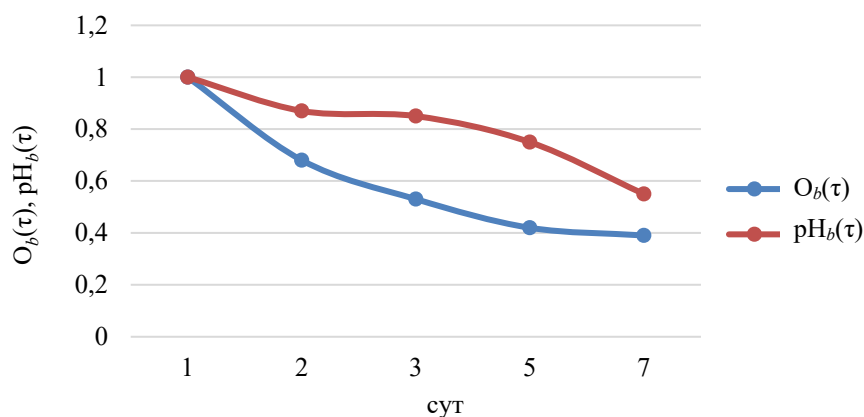


Рис. Функции $O_b(\tau)$ и $pH_b(\tau)$ при культивировании зооглеи

В функциях (1) и (2) $Y(\tau)$ означает и $O_b(\tau)$, и $pH_b(\tau)$. Общим для них является то, что при $\tau \rightarrow 0$ их значения стремятся к единице, а при $\tau \rightarrow \infty$ – к минимальной величине $a_2 = (1-a)$. Численные значения коэффициентов для них будут различны.

Пример: для концентрации рафинированного сахара 50 г/л:

1. Функция $O_b(\tau)$. $a_2 = (1-a) = 0,004$, $a = a_1 = 0,996$; $c = 1,1$ сут; $d = 1,6$; $c_1 = 0,909$ сут⁻¹. Заметим, что концентрация кислорода в культуральной жидкости не может упасть до нуля.

2. Функция $pH_b(\tau)$. $a_2 = 0,43$ и $a = a_1 = 0,57$; $c = 2,2$ сут; $d = 1,8$; $c_1 = 0,45$ сут⁻¹.

После введения зооглеи в субстрат наблюдается снижение концентрации кислорода в культуральной жидкости, согласно уравнению (2). Параллельно наблюдается в начале проведения процесса наличие лаг-фазы в развитии гриба, это видно из уравнения (1). Останавливаем выбор на уравнении (1), так как оно наиболее полно отображает течение биологических процессов [13–15]. Далее приведем уравнение, описывающее скорость их протекания. Для этого возьмем производную функции (1) по времени:

$$Y'(\tau) = \frac{(a \cdot (c \cdot \tau) \cdot d \cdot d \cdot e - (c \cdot \tau) d)}{(1 - a) \cdot \tau}. \quad (3)$$

В результате проведенного эксперимента установлено, что скорость потребления кислорода и рН резко возрастает до максимума в течение первых суток проведения процесса. Далее концентрация кислорода постепенно снижается шестым–седьмым суткам, а величина рН снижается уже ко вторым суткам.

Снижение скорости потребления кислорода по сравнению с уровнем рН обуславливается тем, что кислород расходуется на синтез не только органических кислот, но и других веществ, таких как: углекислого газа, этилового спирта, полисахаридов, ферментов и пр. Следовательно, в процессе ферментации концентрация органических кислот снижается за счет их общего разбавления в смеси.

Таким образом, оптимизирована технология культивирования зооглеи с направлением снижения уровня сахара в растворе.

Список литературы

1. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции / М.Д. Ардатская, Л.Г. Столярова, Е.В. Архипова, О.Ю. Филимонова // Трудный пациент. – 2017. – Т. 15, № 6–7. – С. 35.
2. Ардатская, М.Д. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.05 / М.Д. Ардатская. – М., 2003. – 233 с.
3. Ардатская, М.Д. Пробиотики, пребиотики и метабиотики в коррекции микрoэкологических нарушений кишечника / М.Д. Ардатская // Медицинский совет. – 2015. – № 13. – С. 94–99.
4. Васильев, Н.Н. Моделирование процессов микробиологического синтеза / Н.Н. Васильев, В.А. Амбросов, А.А. Складнев. – М.: Лесн. пром-сть, 1975. – 341 с.
5. Виноградова, А.А. Лабораторный практикум по общей технологии пищевых производств / А.А. Виноградова, Г.М. Мелькина, Л.А. Фомичева. – М.: Агропромиздат, 1991. – 335 с.
6. Головинская, О.В. Математическая модель процесса развития чайного гриба *Medusomuces Gisevi* / О.В. Головинская // Биотехнологии и ресурсосберегающие инженерные системы: сб. тез. докл. конгр. молодых ученых. – 2013. – Вып. 4. – С. 41–42.
7. Даниелян, Л.Т. Чайный гриб и его биологические особенности / Л.Т. Даниелян. – М.: Медицина, 2005. – 83 с.
8. Исмаилова, Ю.Н. Влияние кислорода на кинетику культивирования чайного гриба *Medusomuces Gisevi* / Ю.Н. Исмаилова. – СПб., 2016. – 161 с.

9. ОФС.1.7.2.0008.15. Определение концентрации микробных клеток // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIII изд. – Т. II. – М., 2015. – 1003 с.

10. Тишин, В.Б. Культивирование микроорганизмов. Кинетика, гидродинамика, тепломассообмен / В.Б. Тишин. – СПб., 2012. – 180 с.

11. Тишин, В.Б. Эксперимент и поиск математических моделей кинетики биологических процессов: учеб. пособие / В.Б. Тишин, О.В. Головинская. – СПб., 2015. – 108 с.

12. Прунтова, О.В. Лабораторный практикум по общей микробиологии / О.В. Прунтова, О.Н. Сахно. – Владимир: Изд-во ВлГУ, 2005. – 76 с.

13. Федорова, Р.А. Хлеб функционального назначения с добавкой настоя чайного гриба / Р.А. Федорова, О.В. Головинская // Хлебопечение России. – 2011. – № 6. – С. 22–23.

14. Юркевич, Д.И. Medusomyces (гриб чая): научная история, состав, физиология, и метаболизм / Д.И. Юркевич, В.П. Кутюшенко // Биофизика. – 2002. – № 6. – С. 1116–1129.

15. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats / B. Hargafi, F. Jaouadi, A. Ayadi, E. Elfeki, E. Ammar // *Alternative Medicine Review*. – 2012. – No. 12. – P. 63.

16. Cvetkovic, D.D. Antimicrobial activity of kombucha made from Rtanj tea / D.D. Cvetkovic, S.L. Markov, A. Velicanski // *Hemijaska Industrija*. – 2005. – № 59. – P. 248.

References

1. Ardatskaya, M. D. Metabiotiki kak estestvennoe razvitie probioticheskoj koncepcii [Metabiotics as a natural development of the probiotic concept] *Trudnyj pacient*. 2017. Vol. 15. no. 6-7. pp. 35.

2. Ardatskaya, M. D. Klinicheskoe znachenie korotkocepochechnyh zhirnyh kislot pri patologii zheludochno-kishechnogo trakta [The clinical significance of short-chain fatty acids in the pathology of the gastrointestinal tract]. Abstract of Ph.D. Moscow, 2003. 233 p.

3. rdatskaya, M. D. Probiotics, prebiotics and metabiotics in the correction of microecological intestinal disorders / M. D. Ardatskaya // *Medical Council*. 2015, no. 13. pp. 94-99.

4. Vasiliev N. N. By Ambrose V. Ah., Skladnev A. Ah. Modelrovanie processes of microbiological synthesis. – M. Lesn.prom-stъ, 1975. 341 s.

5. The Vineyard, A. Ah. Laboratory equipment for the production. Ah. The Vineyard, Mr. M. Melkin, L. Ah. Fomicheva. – M.: Agropromizdat, 1991. 335 s.

6. Golovinskaya, O. V. Mathematical model of the development process of the tea mushroom meapomyces gisevi / O.V. Golovinskaya // *Biotechnologies and resource-saving engineering systems*. 2013, no. 4. pp. 41-42.

7. Danielyan, L.T. Tea mushroom and its biological features / L.T. Danielyan. Moscow. Medicine, 2005. 83 p.
8. Ishmael. N. Kisloroda na kinetiku kultivirovaniya чайного гриба *Medusomyces Gisevi*-SPB., 2016. 161 p.
9. General Pharmacopoeia article "Determination of microbial cell concentration. OFS.1.7.2.0008.15" State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIII edition. Volume II / Moscow, 2015. 1003 p.
10. The Silence W.B. Cultured microorganisms. Kinetics, hydrodynamics, teplomassoobmen. SPB.2012. 180 seconds.
11. The Silence W.B., Golovinskaya O.W. Experimental and mathematical models of kinetics of biological processes: ucheb. posobie. SPB. 2015. 108 p.
12. Pruntova, Oh.W. Laboratory of medical practice. W. Pruntova, Oh. N. Sahnо; Vlad. Sir. Un-t. Vladimir: izd-Vo Vlgu, 2005. 76 p.
13. Fedorova, R. Ah. The bread is functional with dobavkoу настоя чайного гриба / P. Ah. The Fed, Oh. W. Golovinskaya. Hlebopечenie Rossii-2011, no. 6. pp. 22–23.
14. Yurkevich, D. I. *Medusomyces* (tea mushroom): scientific history, composition, physiology, and metabolism D. I. Yurkevich, V. P. Kutuyushenko // *Biophysics*. 2002, no. 6. pp. 1116-1129.
15. Hargafi, B., Jaouadi, F., Ayadi, A., Elfeki, E. Ammar Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats // *Alternative Medicine Review*. 2012, May. no. 12. pp. 63.
16. Mrs. D.D. Antimicrobial activity of kombucha made from Rtanj tea / D.D. Mr. K., S.L. Markov, A. The Great Chemical Industry. 2005, no. 59. 248 p.

Об авторах

Волкова Лариса Владимировна (Пермь, Российская Федерация) – профессор кафедры «Охрана окружающей среды», Пермский национальный исследовательский политехнический университет (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: wolkowalw@mail.ru).

Вигуляр Валерия Павловна (Пермь, Российская Федерация) – магистрант кафедры «Охрана окружающей среды», Пермский национальный исследовательский политехнический университет (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29; e-mail: viguliar.valeria@yandex.ru).

Дулькевич Анна Алексеевна (Пермь, Российская Федерация) – магистрант кафедры «Химия и биотехнологии», Пермский национальный исследовательский политехнический университет (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29).

Волков Роман Геннадьевич (Пермь, Российская Федерация) – магистрант кафедры «Охрана окружающей среды», Пермский национальный исследовательский политехнический университет (614990, г. Пермь, Комсомольский пр., 29).

About the authors

Larisa V. Volkova (Perm, Russian Federation) – Professor of the Department of Environmental Protection, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990; e-mail: wolkowalw@mail.ru).

Valeria P. Vigulyar (Perm, Russian Federation) – Undergraduate Student of the Department of Environmental Protection, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990; e-mail: viguliar.valeria@yandex.ru).

Anna A. Dulkevich (Perm, Russian Federation) – Undergraduate Student of the Department of Chemistry and Biotechnology, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990).

Roman G. Volkov (Perm, Russian Federation) – Undergraduate Student of the Department of Environmental Protection, Perm National Research Polytechnic University (Komsomolsky av., 29, Perm, 614990).

Поступила: 1.08.2024

Одобрена: 05.08.2024

Принята к публикации: 16.09.2024

Финансирование.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов равноценен.

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом:

Влияние кислорода на кинетику культивирования зооглеи *Medusomyces Gisevi* / Л.В. Волкова, В.В. Вигуляр, А.А. Дулькевич, Р.Г. Волков // Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. – 2024. – № 3. – С. 54–62.

Please cite this article in English as:

Volkova L.V., Vigulyar V.V., Dulkevich A.A., Volkov R.G. The effect of oxygen on the kinetics of cultivation zooglea *Medusomyces Gisevi*. *Bulletin of PNRPU. Chemical Technology and Biotechnology*, 2024, no. 3, pp. 54-62 (*In Russ*).