УДК 579.852.13:620.9.004.18.

Л.С. Ястремська

Національний авіаційний університет, Інститут екологічної безпеки,
пр-кт космонавта Комарова, 1, Київ, 03058, Україна,
тел.: +38 (044) 406 78 87, e-mail: lorarem@gmail.com

ВПЛИВ ОКИСНО-ВІДНОВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ НА ФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ *CLOSTRIDIUM*

Досліджено вплив окисно-відновного потенціалу (ОВП) середовища на продукцію біомаси і продуктів метаболізму анаеробними термофільними (60 °С) мікроорганізмами роду Clostridium: целюлозолітичного – Clostridium thermocellum 5CT та сахаролітичного – C. thermosaccharolyticum 1S в анаеробних умовах. Показано, що ріст штамів відбувається у різних межах і оптимумах ОВП. Ріст C. thermocellum 5CT спостерігається в межах ОВП –200...–380 мВ, з оптимумом –260 мВ, C. thermosaccharolyticum 1S в межах ОВП +100...–200 мВ, з оптимумом –135...–140 мВ (pH 7,0–7,3). За оптимальних значень ОВП у обох штамів приріст біомаси, утворення етанолу та ацетату на середовищі з відновником (сульфідом натрію) у 1,5–2 рази вищий, ніж на середовищі без відновника. Доведено, що ОВП є одним з основних факторів, що визначає фізіологічний стан клітин та інтенсивність процесів біосинтезу.

Ключові слова: окисно-відновний потенціал, pH, біомаса, Clostridium thermocellum, C. thermosaccharolyticum, продукція, етанол, ацетат, H_2.

Анаеробні бактерії роду *Clostridium* є однією з найважливіших груп мікроорганізмів, що беруть участь у трансформації органічної речовини, і тим самим здійснюють кругообіг вуглецю в біосфері. Ця група мікроорганізмів характеризується різноманітністю та складністю процесів їх обміну речовин, та вкрай широким спектром продуктів метаболізму що утворюються [2, 8, 10].

Одним із ключових параметрів анаеробного процесу при трансформації складних біополімерів поряд з pH і температурою є окисно-відновний потенціал середовища, який може впливати на хід метаболічних процесів мікроорганізмів [1, 4, 9, 11–15]. Окисно-відновний потенціал (ОВП, редокс-потенціал) дозволяє найбільш точно визначати ступінь анаеробних умов поживного середовища. ОВП є об'єктом досліджень у галузі переробки відходів з отриманням енергоносіїв (метану, водню, етанолу), органічних кислот (ацетату, пропіонату, бутирату), ферментів (целюлаз,

© Л.С. Ястремська, 2011

геміцелюлаз, пектиназ тощо) у сучасних біотехнологіях [1, 4, 8–10, 12, 13]. Проте, думки дослідників, що досліджують ОВП, суперечливі. Деякі — вважають, що ОВП безпосередньо діє на метаболічні процеси [1, 4, 9, 11, 13], інші — взагалі заперечують будь-який вплив редокс-потенціалу середовища на ріст і метаболізм мікроорганізмів [12]. Пошук літературних джерел виявив незначну кількість наукових робіт за даною проблемою [1, 4, 11–15].

Метою досліджень було визначення впливу редокс-потенціалу середовища на фізіологічний стан термофільних облігатних анаеробних мікроорганізмів — *Clostridium thermocellum* 5СТ та *C. thermosaccharolyticum* 1S.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження були штами термофільних анаеробних бактерій, зокрема, целюлолітичний *Clostridium thermocellum* 5СТ, сахаролітичний *C. thermosaccharolyticum* 1S, ізольовані з активного мулу метантенка станції біологічного очищення стічних вод (м. Київ, Бортничі). Виділення й ідентифікація описані в роботі [6].

Для культивування штамів використовували мінеральне середовище «Р», такого складу (г/л): KH_2PO4 — 0,4; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ — 0,4; NH_4Cl — 1,0; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$–0,1; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$–0,02; $NaHCO_3$–1,0; розчин мікроелементів — 1 мл/л; розчин вітамінів — 1 мл/л; розчин 0,2% індикатора резазуріну — 1 мл; вода дистильована — 1 л; pH середовища 7,0–7,5. Газова фаза аргон 100%. Автоклавували при 1,5 атм. Як вуглецевий субстрат застосовували целобіозу (0,5 об %).

Розчини вітамінів, вуглеводів стерилізували фільтруванням через фільтри «Синпор» № 8, 9, зберігали окремо в анаеробних умовах і вносили в середовище шприцем стерильно безпосередньо перед посівом [6]. Окремо готували і вносили розчини відновників для створення відновлювальних умов у середовищі: сульфід натрію (10% $Na_2S \cdot 9H_2O$ — 20 мл/л), цитрат титану (III) — 25 мл/л [15].

Розлив середовища в культиватор [3] об'ємом 500 мл, здійснювали в потоці інертного газу аргону (ДСТУ 10157–79), що містить O_2 у концентрації не вище 0,0007%, за модифікованою методикою Хангейта для культивування анаеробів [7]. Об'єм середовища — 250 мл, газової фази — 250 мл, посівного матеріалу — 20 мл.

В штуцера культиватора вставляли вимірювальні електроди для потенціометричного визначення значень ОВП і pH середовища на універсальному іономері ЕВ-74 [3]. Для визначення ОВП використовували платиновий електрод ЕВП-1 і хлорсрібний електрод порівняння ЕВЛ-ІМЗ. Значення pH встановлювали за допомогою електродної пари, що складається з вимірювального електроду ЕСЛ-63-07 і допоміжного — ЕВЛ-ІМЗ [3].

Вихідне значення ОВП поживного середовища з 0,5% целобіози після дегазування в потоці аргону становило +100 мВ, pH 7,0–7,3.

Ріст культур оцінювали за величиною оптичної густини клітинної суспензії, яку визначали на фотоелектрокалориметрі ФЭК-56П, при λ=540 нм у кюветі з довжиною світлового шляху 0,5 см, а також за виділенням газів – H_2, CO_2. Склад газів аналізували на газовому хроматографі ЛХМ-8МД, визначення кислот і спиртів – на хроматографі «Chrom-5». Об'єм проб – 5–10 мкл.

Морфологію клітин вивчали у фазовому контрасті на мікроскопі МБІ-6 (збільшення × 1570).

Інкубування досліджуваних анаеробних культур здійснювали в термостаті при 60 °С.

Статистичне опрацювання даних проводили за загальноприйнятими методиками з урахуванням критерію Стьюдента [6].

Результати та їх обговорення

Целюлозолітичний штам *C. thermocellum* 5СТ гідролізує полісахариди (целюлозу, геміцелюлозу), дисахариди (целобіозу, сахарозу), моносахариди (глюкозу, галактозу, ксилозу) з продукуванням водню, вуглекислоти, етанолу, ацетату, лактату. Сахаролітичний штам *C. thermosaccharolyticum* 1S здатний ферментувати полісахариди (крохмаль, пектини, але не целюлозу), дисахариди (целобіозу, сахарозу, лактозу), моносахариди (пентози, гексози) з утворенням водню, вуглекислоти, етанолу, ацетату, лактату, бутирату [6].

Досліджувані штами є облігатними анаеробами. Для їх розвитку потрібні низькі значення окисно-відновного потенціалу середовища –100...–330 мВ [2]. Створення відновлювальних умов середовища є можливим за рахунок сполук, які мають електрондонорні властивості (відновників): тіогліколату натрію, цистеїну, сульфіду натрію, сірководню і ін. [1,4].

В роботі досліджувалися зміни ОВП, pH, продуктів метаболізму в процесі росту штамів залежно від наявності або відсутності в середовищі відновників при зброджуванні целобіози в строго анаеробних умовах в культиваторі.

Ріст C. thermocellum 5СТ без відновника [5]. Встановлено, що після інокулювання середовища 12-ти годинною культурою, значення ОВП за 10 годин знижувалося від +100 мВ до –100 мВ, трималося 4 години на тому ж рівні і до 24-ї години досягало максимальних значень –380 мВ (падіння на 480 мВ). Виділення метаболітів (водню, вуглекислого газу, етанолу, ацетату) починалося через 10–12 годин після інокуляції середовища. Оптична густина (ОГ) культуральної рідини досягала значень 0,2 одиниць екстинції (рис. 1А). Максимальна питома швидкість росту, яка дорівнювала 0,1 год$^{-1}$, відзначалася на 24 годину культивування (табл. 1).

Таблиця 1

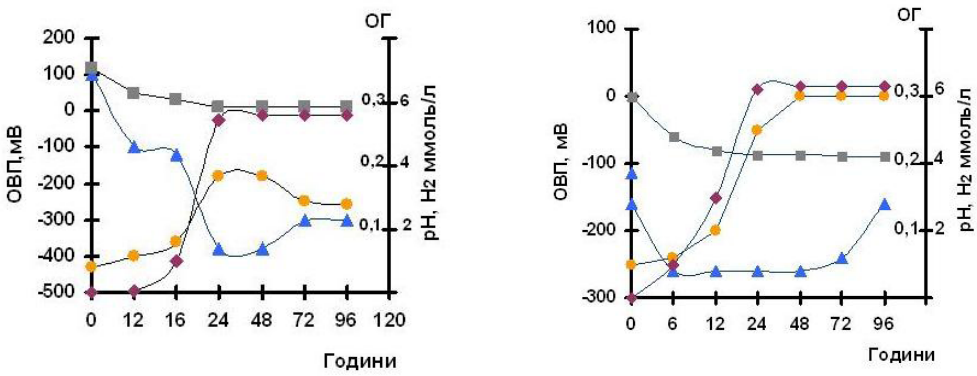
Утворення метаболітів при культивуванні *C. thermocellum* 5CT на середовищі у відсутності відновника

Table 1

Formation of metabolites during cultivation *C. thermocellum* 5CT on medium in the absence of a reducer

Час	Продукти метаболізму, ммоль/л			Питома швидкість росту μ, год-1
	етанол	ацетат	лактат	
12	0,05± 0,01	0,07± 0,01	0	0,015±0,001
24	8,40± 0,02	26,7± 0,01	0,15± 0,01	0,10±0,001
48	8,09± 0,01	26,8± 0,03	0,16± 0,01	0,005±0,001
72	8,07± 0,02	25,0± 0,01	0,14± 0,01	0,005±0,001
96	8,10± 0,01	25,0± 0,01	0,15± 0,01	0,017±0,001

У момент максимального виділення водню ОВП стабілізувався на рівні –380 мВ і тільки через 72 години культивування підвищувався до –300 мВ. За значень ОВП –300 мВ накопичення біомаси зменшується вдвічі, pH знижується з 7,0 до 6,0, змінюється морфологічний стан клітин. Після 10–12 годин культивування помітного розвитку культури не відбувалося, і лише після того, як значення ОВП досягло –380 мВ, визначалися скупчення вегетативних клітин, після 50-ї години виявлялися — спорові клітини (рис. 2).



А) Б)

Рис.1. Динаміка росту *C. thermocellum* 5CT на середовищі:

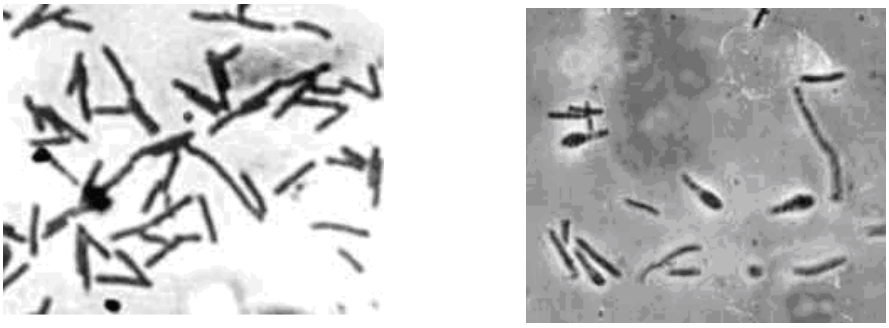
А) без відновника; Б) з відновником ($Na_2S \cdot 9H_2O$);

ОВП — pH — оптична густина (ОГ) — H2

Fig. 1. The growth of *C. thermocellum* 5CT on medium:

A) without the reducing agent; B) with the reducing agent ($Na_2S \cdot 9H_2O$) ;

redox potential — pH — optical density — H2



А) Б)

Рис. 2. Клітини *C. thermocellum* 5CT (збільшення ×1570, фазовий контраст)

А) вегетативні клітини, 24–36 годин росту;
Б) клітини на етапі спороутворення, 50–72 години

Fig. 2. Cells *C.thermocellum* 5CT (increase × 1570, phase contrast)

A) vegetative cells 24–36 hours of growth;
B) cells on the sporulation stage, 50–72 hours

Ріст C. thermocellum 5CT на середовищі з відновником – сульфідом натрію ($Na_2S \cdot 9H_2O$). При внесенні в дегазоване поживне середовище відновника значення ОВП встановлювалося на відмітці –100 мВ. Після інокулювання 12-ти годинною культурою ОВП швидко знижувався і за 30 хв досягав значень –160 мВ. За 10 год культивування значення потенціалу знижувалося до –260 мВ, стабілізувалося на цьому рівні протягом 60 год і лише після цього повільно підвищувалося до –160 мВ. У період експоненційного росту культури кількість метаболітів: водню, вуглекислого газу, етанолу, ацетату – досягало максимальних значень. Максимальна питома швидкість росту, яка дорівнювала 0,09 год$^{-1}$, відзначалася на 24-ій годині росту (табл. 2, рис. 1Б).

Таблиця 2

Утворення метаболітів при культивуванні *C. thermocellum* 5CT на середовищі з відновником ($Na_2S \cdot 9H_2O$)

Table 2

Formation of metabolites during cultivation *C. thermocellum* 5CT on medium with the reducing agent ($Na_2S \cdot 9H_2O$)

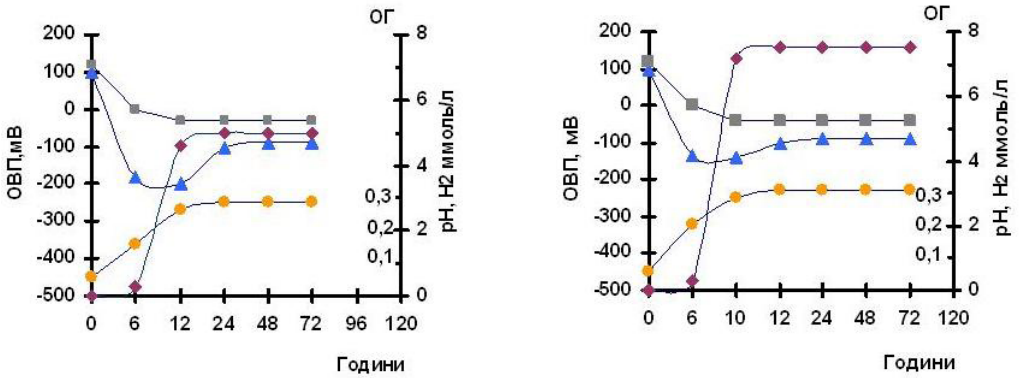
Час	Продукти метаболізму, ммоль/л			Питома швидкість росту μ, год-1
	етанол	ацетат	лактат	
12	8,75± 0,01	25,5± 0,01	0,15± 0,03	0,057±0,002
24	16,9± 0,01	35,6± 0,01	2,0± 0,01	0,09±0,003
48	17,0± 0,01	35,6± 0,01	2,0± 0,01	0,003±0,001
72	17,0± 0,01	35,6± 0,01	2,0± 0,01	0,003±0,001

В обох випадках (з відновником $Na_2S \cdot 9H_2O$ та без нього) кількість водню, що утворився, становила близько 6 ммоль/л. Однак, приріст біомаси, утворення етанолу, ацетату у 1,5–2 рази вище на середовищі з відновником, ніж без нього.

Ріст культури у межах значень ОВП –200...–380 мВ, з оптимумом –260 мВ, а не –100 мВ (значення ОВП стерильного середовища з відновником сульфідом натрію) можна інтерпретувати як результат взаємодії даного відновника з редокс-системами культуральної рідини.

Ріст C. thermosaccharolyticum 1S без відновника. Після інокуляції культурою значення ОВП середовища за 7–8 годин знижувалося від +100 мВ до –200 мВ, (усього на 300 мВ), трималося 5 годин на тому ж рівні та до 24-ої години культивування підвищувалося та стабілізувалося на значенні –100 мВ. За максимального виділення водню ОВП стабілізувався на рівні –200 мВ і тільки через 18 годин культивування підвищувався до –100 мВ. Оптична густина досягала значень 0,24 одиниць екстинції, pH знизився з 7,0 до 5,0 (рис. 3А).

Виділення метаболітів починалося впродовж 5–6 годин після інокулювання середовища та досягало максимальних значень за 24 години. Максимальна питома швидкість росту, яка дорівнювала 0,1 год$^{-1}$, відзначалася на 6–12-тій годині росту (табл. 3).



А) Б)

Рис. 3. Динаміка росту *C. thermosaccarolyticum* 1S на середовищі:

А) без відновника; Б) з відновником ($Na_2S \cdot 9H_2O$);

ОВП — pH — оптична густина (ОГ) — H2

Fig. 3. The growth of *C. thermosaccarolyticum* 1S on medium:

A) without the reducing agent; B) with the reducing agent ($Na_2S \cdot 9H_2O$) ;

redox potential — pH — optical density — H2

Таблиця 3

Утворення метаболітів при культивуванні *C. thermosaccharolyticum* 1S на середовищі у відсутності відновника

Table 3

Formation of metabolites during cultivation of *C. thermosaccharolyticum* 1S in medium in the absence of the reducer

Час	Продукти метаболізму, ммоль/л			Питома швидкість росту μ, год-1
	етанол	ацетат	лактат	
6	0,50± 0,01	0,07± 0,01	0	0,10±0,0001
12	5,40± 0,01	1,20± 0,02	0,30± 0,01	0,10±0,0001
24	5,60± 0,02	1,45± 0,01	0,31± 0,02	0,005±0,001
48	5,69± 0,01	1,50± 0,01	0,38± 0,02	0,005±0,001
72	5,69± 0,01	1,50± 0,01	0,38± 0,02	0,017±0,001

Ріст C. thermosaccharolyticum 1S на середовищі з відновником — сульфідом натрію ($Na_2S \cdot 9H_2O$). При внесенні в дегазоване середовище відновника значення ОВП швидко знижувалося та через 30 хв досягало значень —100 мВ. Після інокулювання 7-ми годинною культурою ОВП знижувався за 5 год культивування до —135...—140 мВ, встановлювався на цьому рівні та до 12-ої години підвищувався до —100 мВ і більше не змінювався; pH знизився з 7,5 до 5,0—4,8 (рис. 3Б).

У період експоненційного росту культури кількість біомаси та продуктів метаболізму: водню, вуглекислого газу, етанолу, ацетату, лактату досягало максимальних значень. Максимальна питома швидкість росту, яка дорівнювала 0,1 год$^{-1}$, також відзначалася на 6—12-й годині росту (табл. 4).

Таблиця 4

Утворення метаболітів при культивуванні *C. thermosaccharolyticum* 1S на середовищі з відновником ($Na_2S \cdot 9H_2O$)

Table 4

Formation of metabolites during cultivation of *C. thermosaccharolyticum* 1S on medium with the reducing agent ($Na_2S \cdot 9N_2O$)

Час	Продукти метаболізму, ммоль/л			Питома швидкість росту μ, год-1
	етанол	ацетат	лактат, бутират	
6	0,50±0,01	0,07± 0,01	0	0,10± 0,001
12	6,40±0,01	2,50± 0,01	0,50± 0,01	0,10± 0,001
24	6,60±0,02	2,85± 0,01	0,51± 0,01	0,005±0,001
48	7,00±0,01	2,85± 0,01	0,58± 0,02	0,005±0,001
72	7,00±0,01	2,85± 0,01	0,58± 0,02	0,017±0,001

Отже, показано, що при культивуванні штаму *C. thermosaccharolyticum* 1S на середовищі з відновником ($Na_2S \cdot 9H_2O$) приріст біомаси та утворення метаболітів (водню, етанолу, ацетату, лактату, бутирату) у 1,5–2 рази вищий, ніж на середовищі без відновника. Розвиток культури відбувається у межах значень ОВП +100...–200мВ, з оптимумом –135...–140 мВ (pH 7,0–7,3).

Ріст культур на середовищі з відновником цитратом титану (III). Для вивчення впливу дуже низьких (близьких до значення потенціалу водневого електроду –420 мВ, при pH 7,0) значень ОВП використовували цитрат тривалентного титану. За його допомоги у середовищі можуть бути отримані значення навіть нижчі, ніж у водневого електроду, причому цитрат титану (III) нетоксичний для більшості мікроорганізмів [15].

Вихідне значення ОВП середовища після дегазації становило +100 мВ (pH 7,0–7,3). Після внесення цитрату титану (III) ОВП швидко знижувався. Стаціонарне значення ОВП встановлювалося після 3 годин на рівні –420 мВ, при pH 7,0. Після цього в середовище вносили посівний матеріал штаму *C. thermocellum* 5CT. Внесення інокуляту не викликало підвищення ОВП. Впродовж 24 годин культивування, при незмінному ОВП (–420 мВ), pH знизився з 7,0 до 6,5, оптична густина культуральної рідини збільшилася до 0,15 од. екстинції (рис. 4).

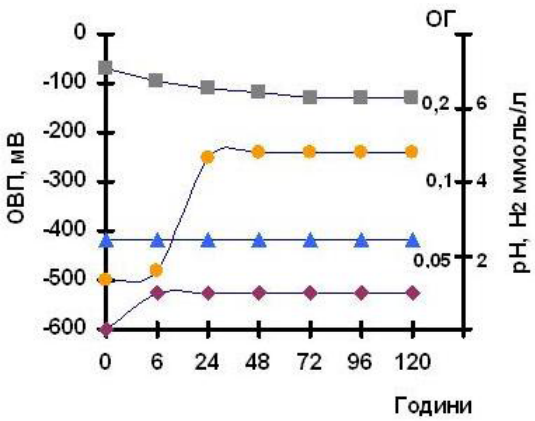


Рис. 4. Динаміка росту *C. thermocellum* 5CT на середовищі з відновником цитратом титану (III):

ОВП — pH — оптична густина (ОГ) — H2

Fig. 4.The growth of *C. thermocellum* 5ST on medium with reducing titanium citrate (III):

redox potential — pH — optical density — H2

Проте, при вирощуванні культури за присутності цитрату титану (III) кількість водню, що утворився, у 6 разів меньша у порівнянні з ростом культури на середовищі за відсутності відновника $Na_2S \cdot 9H_2O$ (рис. 1А). Аналогічні результати були отримані і при дослідженні росту сахаролітичного штаму *C. thermosaccharolyticum* 1S.

Динаміку зміни значень ОВП в процесі росту штамів залежно від наявності або відсутності в середовищі відновників при зброджуванні органічних речовин у строго анаеробних умовах можна пояснити тим, що представники роду *Clostridium* утворюють молекулярний водень за окиснення пірувату за участю піруват:фередоксин-оксидоредуктази. Фередоксин має дуже низький редокс-потенціал: при pH 7,0 він дорівнює стандартному ОВП водневого електроду [1]. Імовірно, що спостережувані нами зміни значень ОВП, які близькі до –380 мВ, пов'язані з функціонуванням таких переносників електронів як фередоксин. Поступове підвищення ОВП до –300 мВ *C. thermocellum* 5CT, і –100 мВ *C. thermosaccharolyticum* 1S (рис.1А, 2А), можливо трактувати як результат зміни метаболічних процесів даних мікроорганізмів. Цитрат титану (III) пригнічує активність піруват:фередоксин-оксидоредуктази, що бере участь в утворенні водню.

В літературі зазначено, що ефект інгібування водню цитратом титану (III), також можливе за рахунок окиснення ключового ферменту. Так у факультативних анаеробів *E. coli* K-12 (утворює водень за рахунок окиснення форміату за участю ферменту форміат-гідрогенліази) цитрат титану (III) пригнічує активність форміат-гідрогенліази [1]. Отже, вплив цитрату титану (III) на мікроорганізми, що мають різні ферментні системи, які здійснюють відновлення протона до H_2 обумовлено зниженням ОВП середовища до рівнів, що роблять термодинамічно невигідною реакцію окиснення форміату або піруват.

В роботі [4] відзначається, що оптимальне значення ОВП розвитку метаногенного угруповання обумовлюється життєдіяльністю мікроорганізмів. Зниження метаногенезу за введення різних акцепторів електронів (феріціаніду калію, нітрату натрію, молекулярного кисню) зв'язано з підвищенням ОВП культурального середовища. Результати нашої роботи підтверджують думку, що ОВП впливає на фізіологічний стан клітин та інтенсивність процесів біосинтезу.

Таким чином, показано, що розвиток облігатних анаеробів роду *Clostridium* відбувається за різних меж значень ОВП з різними оптимумами. Ріст термофільного анаеробного целюлозолітичного штаму *C. thermocellum* 5CT спостерігається в межах ОВП –200...–380 мВ, з оптимумом –260 мВ, сахаролітичного *C. thermosaccharolyticum* 1S – в межах ОВП +100...–200 мВ, з оптимумом –135...–140 мВ (pH 7,0–7,3). При оптимальних значеннях ОВП у обох штамів приріст біомаси, утворення етанолу та ацетату на середовищі з відновником (сульфідом натрію) у 1,5–2 рази вищий ніж на середовищі без відновника. Оптимальні

значення ОВП обох штамів можна інтерпретувати як результат взаємодії даного відновника з редокс-системами культуральної рідини.

Проведені дослідження впливу окисно-відновного потенціалу середовища на метаболізм термофільних анаеробних мікроорганізмів підтверджують думку [1, 4, 14], що редокс потенціал є одним з основних факторів, що визначає фізіологічний стан клітин, і відповідно, інтенсивність процесів біосинтезу. ОВП може ширше застосовуватися при дослідженнях різних фізіологічних груп мікроорганізмів наряду з такими показниками культурального середовища як pH та температура.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Данько Я.Н.* Влияние различных экзогенных акцепторов и доноров электронов на образование метана метаногенными сообществами: Автореф. дис. канд.биол. наук: 03.00.07. Киев, — 1988. — 20 с.

2. *Современная* микробиология. Прокариоты: В 2т. /Под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. — М.: Мир, — 2005. — Т. 1 — 656 с.

3. *Чернышенко Д.В., Данько Я.Н., Таширев А.Б.* и др. Культиватор для изучения ростовых процессов анаеробних микроорганизмов // Микроб. журн. — 1990. — 52, № 6. — С. 90—91.

4. *Чернишенко Д.В.* Влияние некоторых акцепторов электронов на метаболизм метаногенного сообщества //Мікроб. журнал. —2002. — 64, № 5. — С. 35—46.

5. *Ястремська Л.С., Карпенко В.І., Голодок Л.П.* Вплив окисно-відновного потенціалу середовища на розвиток анаеробного термофільного целюлолітичного штаму *Clostridium thermocellum* 5СТ // Матер. міжн. конф. «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» — Запоріжжя: ЗНУ, 2007. — С. 497—498.

6. *Ястремская Л.С.* Идентификация термофильных анаеробних микроорганизмов, изолированных из метантенка // Микроб. журн. —1993. —55, № 6. — С. 3—12.

7. *Ястремська Л.С.* Анаеробний метод розливу рідких поживних середовищ //Наукові доповіді НУБіП.—2011. — 2(24). — http://nd.nubip.edu. ua /2011_2/11yls.pdf

8. *Demain A.L., Newcomb M., David J.H.* Cellulase, Clostridia and Ethanol //Microbiol.and Molec. Biol. Rev. —2005. — 69, N. 1. — P. 124—154.

9. *Kim B.H., Bellows P., Rathin D., Zeikus J.G.* Control of Carbon and Electron Flow in *Clostridium acetobutylicum* Fermentations: Utilization of Carbon Monoxide to Inhibit Hydrogen Production and to Enhance Butanol Yields //Appl. Environ. Microbiol. —1984. — 48, P. 764—770.

10.*Maki M., Leung K.T., Qin W.* The prospects of cellulase-producing bacteria for the bioconversion of lignocellulosic biomass. //Int. J. Biol. Sci. — 2009. — 5. —P. 500—516.

11. *Oblinger J.L., Kraft A.A.* Oxidation-reduction potential and growth of *Salmonella* and *Pseudomonas fluorescens* // J.of Food Science.— 1973.— vol. 38. — 7.— P. 1108—1112.

12. *O'Brien R.W., Morris J.G.* Oxygen and growth and metabolism of Clostridium acetobytilicum //J. Gen. Microb.—1971.— 68.— P. 307—318.

13. *Soghomonyan D., Akopyan K., Trchounian A.* pH and oxidation-reduction potential change of environment during growth of lactic acid bacteria: Effects of oxidizers and reducers //Appl. Biochem. Microb.— 2011. — vol. 47, № 1. — P. 27—31.

14. *Tabatabai L.B., Walker H.W.* Oxidation- reduction potential of growth of *Clostridium perfringens* and *Pseudomonas fluorescens* // Appl. Microbiol. — 1970. — vol. 1. — P. 441—446.

15. *Zehnder A.J.B., Wehrmann K.* Titanium (III) citrat as nontoxic oxidation-reducing buffering system for cultivation obligate anaerobes // Science. — 1976. — vol. 194, № 4270. — P. 1165—1166.

Л.С. Ястремская

Национальный авиационный университет, Институт экологической безопасности, проспект космонавта Комарова, 1, Киев, 03058, Украина,
тел.: +38 (044) 406 78 87, e-mail: lorarem@gmail.com

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *CLOSTRIDIUM*

Реферат

Исследовано влияние окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) среды на образование биомассы и продуктов метаболизма анаэробными термофильными (60 °С) микроорганизмами рода *Clostridium:* целлюлозолити-ческого — *C. thermocellum* 5СТ и сахаролитического — *C. thermosaccharolyticum* 1S в анаэробных условиях. Показано, что развитие штаммов происходит в разных границах и оптимумах ОВП. Рост *C. thermocellum* 5СТ наблюдается в пределах ОВП -200 ...- 380 мВ, с оптимумом -260 мВ, *C. thermosaccharolytucum* 1S в пределах ОВП +100..-200 мВ, с оптимумом -135 ...-140 мВ (pH 7,0—7,3). При оптимальных значениях ОВП у обоих штаммов прирост биомассы, образование этанола и ацетата на среде с восстановителем (сульфидом натрия) в 1,5—2 раза выше, чем без восстановителя. Определено, что ОВП является одним из основных факторов, определяющих физиологическое состояние клеток и интенсивность процессов биосинтеза.

Ключевые слова: окислительно-восстановительный потенциал, pH, биомасса, *Clostridium thermocellum, C. thermosaccharolyticum,* продукция, этанол, ацетат, H_2.

L.S. Yastremska

National Aviation University, Institute for Environmental Security, 1, cosmonaut Komarov avenue, Kyiv, 03058, Ukraine, tel.: +38 (044) 406 78 87, e-mail: lorarem@gmail.com

EFFECT OF REDOX POTENTIALS ON PHYSIOLOGICAL STATE OF MICROORGANISMS OF GENUS *CLOSTRIDIUM*

Summary

The effect of redox potential (ORP) of the medium on formation of biomass and metabolic products by anaerobic thermophilic (60 °C) microorganisms of genus *Clostridium*: cellulolytic — *C. thermocellum* 5ST and saccharolytic *C. thermo-saccharolyticum* 1S under anaerobic conditions. There were shown, that strains development takes place in the various limits and within the optimum ORP. Growth of *C. thermocellum* 5CT is observed within ORP -200 ...- 380 mV, with an optimum -260 mV; *C. thermosaccharolyticum* 1S in the range redox potential +100 ..- 200 mV, with an optimum -135 ...- 140 mV (pH 7,0—7,3). For optimum values of redox potential in both strains, biomass growth, ethanol and acetate in formation medium with a reducing agent (sodium sulfide) in 1.5—2 times higher than that without a reducing agent. There were determined that the redox potential is one of the main factors determining the physiological state of the cells and biosynthesis intensity.

Key words: redox potential, cellulolytic thermophilic strain *Clostridium thermocellum*, saccharolytic strain of *C. thermosaccharolyticum,* H_2.