

## АНАЛІЗ ВПЛИВУ МЕХАНІЧНИХ ЧИННИКІВ ПРИ ГЛИБИННОМУ КУЛЬТИВУВАННІ МІКРООРГАНІЗМІВ

В.О. Сербов, В.В. Мотроненко\*

КПІ ім. Ігоря Сікорського, Київ, Україна

\*Corresponding author: motronenko\_valya@i.ua

Received 9 November 2018; Accepted 30 January 2019

**Проблематика.** В процесі глибинного культивування мікроорганізми схильні до впливу різних технологічних параметрів, таких як зміна температури, рН культурального середовища, хімічні й біологічні, а також механічні впливи. На сьогодні ступінь вивчення вказаних впливів різний. Про одні відомо майже все, а інші практично не вивчені зовсім. У деяких випадках вивчення одного фактора призводить до появи нових задач і нюансів при вивченні інших, оскільки всі вони нерозривно пов'язані між собою. Одними з найменш вивчених, але найбільш критичних є механічні впливи. Однозначно встановлено, що швидкість обертання та конструкція перемішувального пристрою впливають на вихід кінцевого продукту. Однак характер та механізми цього впливу залишаються невідомими.

**Мета.** Задача полягає в тому, щоб на основі літературних даних з'ясувати вплив механічних чинників на мікроорганізми в процесі глибинного культивування, зокрема на рекомбінантні бактерії та міцеліальні гриби, оскільки вони є найбільш чутливими до вказаних чинників, та на основі цього сформулювати задачі для подальших досліджень.

**Методика реалізації.** Вивчено та проаналізовано наукові дослідження учених різних країн щодо впливу механічної дії перемішування на мікроорганізми (мікрочицети та рекомбінантні бактерії) в процесі глибинного культивування.

**Результати.** За літературними даними встановлено вплив швидкості перемішування на ріст і стан мікроорганізмів та надано рекомендації щодо оптимальних швидкостей обертання мішалок для конкретних видів бактерій та міцеліальних грибів, які потребують подальшого експериментального підтвердження. З'ясовано, що зі збільшенням розміру клітин зростає їх чутливість до механічних впливів. Аналіз літератури показав, що в'язкість зменшується при зростанні інтенсивності перемішування, що накладає певний відбиток на кінетику процесу. Виявлено, що в умовах глибинного культивування з механічним перемішуванням міцелій грибів, на відміну від бактеріальних організмів, ділиться на відносно дрібні сегменти, які зберігають здатність до розмноження і накопичення біомаси.

**Висновки.** У результаті аналізу літературних даних встановлено, що найбільш чутливими до механічних чинників, зокрема до напружень зсуву, при глибинному культивуванні є міцеліальні гриби, оптимальна швидкість перемішування для яких становить 120–150 об/хв. Але отримані результати не враховують природи виникнення механічних впливів, тому необхідно встановити оптимальні умови культивування з урахуванням особливостей досліджуваних об'єктів, провівши системний аналіз процесу за допомогою комп'ютерного та математичного моделювання й експериментальних досліджень для різних швидкостей перемішування та конструкцій мішалок.

**Ключові слова:** мікроорганізми; глибинне культивування; механічний вплив; напруження зсуву; мікрочицети; рекомбінантні бактерії.

### Вступ

При виробництві продуктів із застосуванням біотехнологічного синтезу найчастіше використовується глибинне культивування біологічних агентів у об'ємі рідини (живильного середовища). Задля забезпечення оптимального росту мікроорганізмів та синтезу метаболітів необхідно підтримувати баланс між основними лімітуючими факторами процесу. Прийнято виділяти основні групи таких факторів: хімічні, фізичні та механічні. До хімічних факторів на-

лежать: склад і концентрація живильного середовища, наявність інгібуючих і активуючих чинників, біологічних токсинів тощо. До фізичних факторів відносять температуру, рН, парціальний тиск, густину тощо. Третя група включає в себе механічні фактори: вплив аерації, швидкості перемішування та конструкції перемішувальних пристроїв тощо. На практиці складно розмежувати дію кожного із зазначених факторів, наявність одного з них веде до появи іншого, тому не можна досліджувати вплив кожного із них окремо [1, 2].

На сьогодні для отримання різноманітних продуктів біотехнологічного синтезу найчастіше використовують глибинний спосіб культивування мікроорганізмів. Він має низку переваг порівняно з поверхневим, основною з яких є зниження собівартості процесу при збільшенні виходу кінцевого продукту. Але він має низку особливостей і задач, які потрібно розв'язати для підвищення ефективності проведення процесу, зокрема необхідним є вивчення впливу механічних факторів. Актуальність проблеми обумовлюється ще й тим, що механічні впливи є невід'ємною частиною технологічного процесу [1]. У зв'язку з цим у пропонуваному огляді на основі існуючих літературних даних узагальнено сучасні відомості, що стосуються впливу на мікроорганізми механічних чинників, зокрема механічного перемішування при глибинному культивуванні в об'ємі рідини.

### Теоретичні основи моделювання гідродинамічних процесів у ферментерах

Розглянемо природу механічних впливів. Механічні дії на мікроорганізми можна уявити як вплив на них нормальної та дотичної складових напруження. Вплив нормального напруження (тиску) переважає при зіткненні клітин одна з одною, з частинами обладнання тощо. Дотичне, або так зване напруження зсуву, спостерігається при зсуві шарів рідини один відносно іншого, що має місце при ламінарному русі поблизу стінок обладнання або в турбулентному потоці [3].

Напруження зсуву можна розрахувати за формулою [3]

$$\tau = \mu \frac{dv_x}{dy},$$

де  $\mu$  – в'язкість середовища, Па·с,  $\frac{dv_x}{dy}$  – градієнт швидкості зсуву.

У літературі [4] описані експериментальні дослідження впливу кожної з цих двох складових напруження зсуву на мікроорганізми, проведені за допомогою спеціального обладнання (апарати під тиском, віскозиметри, судини зі слабким перемішуванням). За умови підвищеної турбулізації середовища вплив дотичного напруження превалює над впливом тиску [4].

З'ясуємо вплив напружень зсуву на мікроорганізми в турбулентному потоці. Відповідно до теорії ізотропної турбулентності [5] остання пояснюється наявністю великої кількості вихорів.

Первинні нестійкі вихори великого розміру, руйнуючись, утворюють вихори меншого розміру, при цьому має місце розсіювання енергії. Розмір вихорів визначає так званий масштаб турбулентності.

Руйнування або пошкодження клітин визначається зі співвідношення розміру вихорів та розміру клітин. Вихори, розмір яких значно більший, ніж діаметр клітин, не викликають їх руйнування; клітини несуться з вихорами. Клітини пошкоджуються, якщо вони стикаються з вихорами однакового або меншого розміру порівняно з їх діаметром [6].

Розмір  $l$  і швидкість турбулентних вихорів  $u$  описуються рівняннями [5]:

$$l = \left( \frac{v^2}{\varepsilon} \right)^{\frac{1}{4}};$$

$$u = (v \cdot \varepsilon)^{\frac{1}{4}},$$

де  $v$  – кінематична в'язкість,  $\varepsilon$  – енергія розсіювання, Вт/кг.

Напруження зсуву, відповідно до згаданої теорії турбулентності [5], виражається таким рівнянням:

$$\tau = u \left( \frac{\varepsilon}{v} \right)^{\frac{1}{4}}.$$

Розглянемо реакцію мікроорганізмів на механічні впливи. Внаслідок їх дії виникають лізис мікроорганізмів та морфологічні зміни останніх тощо. Також відбуваються підвищення концентрації внутрішньоклітинних сполук, порушення дихальної активності, зміна експресії генів тощо. Відбуваються зміни метаболізму мікроорганізмів, що призводить до збільшення тривалості лаг-фази, зміни швидкості росту і структури клітинної оболонки [7].

Реакція мікроорганізмів залежить від морфології клітин, міцності їх мембрани, віку культури та умов культивування. Наприклад, мікроміцети більш чутливі до механічних впливів, тоді як бактерії більш стійкі внаслідок їх меншого розміру і наявності міцнішої мембрани. Велике значення мають сила і тривалість механічних впливів на мікроорганізми. Низьке напруження зсуву не тільки активізує ріст клітин *Escherichia coli*, але й сприяє появі стійкості до хімічних впливів, що свідчить про можливий загальний механізм адаптації до впливів різної природи [8].

При проведенні ферментації важливо забезпечити мікроорганізмам достатню швидкість масопереносу, що досягається перемішуванням. Проте інтенсифікація перемішування збільшує вихрові потоки, викликані швидкою зміною тиску, зсувними швидкостями і прискореннями через рух мішалки, що призводить до виникнення напружень зсуву і розсіювання енергії. У зоні перемішувального пристрою величина енергії розсіювання, як і напружень зсуву, вища, ніж на периферії апарата [9].

Напруження зсуву залежать від конструкції механічних мішалок. Мішалки з невеликими лопатями (особливо пропелерні та всі види мішалок із похилими лопатями) створюють більш високе напруження зсуву [10].

## Результати

У науковій періодиці зустрічаються роботи, присвячені дослідженню впливу умов перемішування на ріст і розвиток різних видів мікроорганізмів та їх здатності до накопичування біомаси й метаболітів [11–25].

Наприклад, у [11] йдеться про те, що відбувається зниження виходу лізину вдвічі внаслідок зменшення активності ферментів циклу трикарбонових кислот у бактерій *Brevibacterium flavum* при збільшенні швидкості перемішування від 600 до 900 об/хв.

Автори [12] вказують, що спостерігається збільшення розміру клітин бактерій *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* і *Staphylococcus epidermidis* зі збільшенням швидкості перемішування, внаслідок чого підвищується їх чутливість до механічних впливів.

Встановлено, що збільшення швидкості перемішування з 750 до 1000 об/хв у процесі культивування *Saccharopolyspora erythraea* призводило до розщеплення міцелію і до зменшення в'язкості культуральної рідини, однак це не позначилося на виході біомаси [13].

Уже при 550 об/хв кількість мікроорганізмів *Kluyveromyces marxianus*, які загинули, збільшилася, що призводило до зниження виходу ферменту інулінази [14].

Відзначалися припинення виробництва целюлози і поява мутантних клітин зі зміненою морфологією, якщо в процесі культивування *Gluconacetobacter hansenii* швидкість перемішування змінювалася з 80 до 700 об/хв [15].

Збільшення швидкості перемішування від 500 до 900 об/хв протягом безперервного виробництва молочної кислоти спричиняє збіль-

шення швидкості росту *Lactobacillus casei*. Проте при 1200 об/хв швидкість росту мікроорганізмів зменшується, ймовірно – через інгібуючу дію молочної кислоти [11].

У роботі [16] на прикладі міцеліальних грибів було виявлено, що інтенсивність перемішування суттєво впливає на їх ріст і здатність накопичувати біомасу. З огляду на морфологічні властивості грибів цей показник може змінюватися від 50 до 900 об/хв. Найчастіше частота обертання перемішувальних пристроїв становить 120–180 об/хв.

Для дослідження інтенсивності перемішування на ріст *Fusarium sambusinum* використовували апарати об'ємом 1,3 л із турбінною мішалкою відкритого типу діаметром 55 мм. Із результатів випливає, що найбільш інтенсивно накопичення біомаси відбувається при 700 об/хв, що відповідає лінійній швидкості перемішування 2 м/с. При подальшому збільшенні швидкості обертання будуть спостерігатися значна активність накопичування біомаси й активне спороутворення [17].

У [18] наводяться результати досліджень залежності біосинтезу культурою *Aspergillus awamori* ферменту глюкоамілази. Досліди проводили в промислових умовах, використовуючи два ферментери об'ємом по 5 м<sup>3</sup>, до системи ферментера входили одноярусні турбінні мішалки діаметром 600 мм, барботер і чотири відбійні перегородки. Кількість обертів вала перемішувального пристрою варіювалася від 48 до 300 об/хв. Найбільший вихід ферменту відбувався при 150 об/хв. При більш інтенсивному перемішуванні спостерігається зниження синтезу через механічне пошкодження клітин міцелію. Також слід зазначити, що за інтенсивності перемішування менше 70 об/хв спостерігали дефіцит кисню, який потрібен для інтенсивного накопичення біомаси і синтезу ферментів [19].

Авторами [20] виявлено, що на зміну в'язкості культуральної рідини впливає інтенсивність перемішування. Це відбувається тому, що режим перемішування впливає насамперед на морфологічні властивості міцелію. Виявлено, що в'язкість зменшується через 1–3 доби від старту ферментації. А в цей час відбувається утворення дуже розгалужених гіф міцелію. При зростанні інтенсивності перемішування зростає в'язкість і буде спостерігатися схильність до утворення укорочених гіф. При збільшенні питомої механічної енергії зростання в'язкості буде проходити повільніше.

Наявність у культуральній рідині агломератів із меншим розміром привело до кращого проникнення кисню в клітину, в результаті чого зникла застійна зона всередині агломерату клітин міцелію, що посприяло збільшенню кількості життєздатної біомаси. Саме цей фактор у першу чергу і пояснює значне збільшення інтенсивності дихання культури і збереження парціального тиску розчиненого кисню на тому ж рівні при збільшенні частоти перемішування, що призводить до інтенсифікації процесу масообміну рідина—клітина [20].

У процесі глибинного культивування *Aspergillus niger* з метою отримання ферментів ендоглюконази і ксилази досліди проводили для двох швидкостей перемішування – 400 і 700 об/хв. На попередньо необробленій цукрової тростині максимальне накопичення біомаси і синтез ферментів спостерігалися за частоти обертання перемішувального пристрою 400 об/хв із використанням змішаного способу культивування (послідовне чергування поверхневого і глибинного способів), а при 700 об/хв ніяких ознак росту грибів не спостерігалося [21]. На обробленій цукрової тростині були отримані зовсім протилежні результати, за яких максимальний приріст біомаси і синтез ендоглюконази і ксилази спостерігалися, коли частота обертання перемішувального пристрою становила 700 об/хв [22].

При культивуванні іншого штаму – *Aspergillus niger*, що синтезує глюкооксидазу, в глибинних умовах досліджувалися швидкості перемішування 200, 500 та 800 об/хв. Максимальне накопичення біомаси спостерігалося при 200 об/хв і становило 30 г/л, при 500 об/хв цей показник знизився до 25 г/л, а при 800 об/хв зменшився в два рази – до 15 г/л. Але максимальне накопичення ферменту глюкооксидази відбувалося при частоті обертання перемішувального пристрою 500 об/хв і становило 800 мг/л. За більш високих швидкостей перемішування (800 об/хв) у процесі культивування виділилося лише 600 мг/л ферменту, а при 200 об/хв цей показник знизився вдвічі і становив 300 об/хв. Варто зазначити, що при 200 і 500 об/хв накопичення ферменту спочатку відбувалося всередині клітини, а через деякий час він виділявся в культуральну рідину [17].

Досліди щодо впливу перемішування на синтез грибом *Thermomyces lanuginosus* ферменту ксилази проводилися за швидкості обертання перемішувального пристрою 100, 200 і 300 об/хв. Максимальний вихід ферменту та

накопичення біомаси спостерігалися за швидкості 200 об/хв. При 100 об/хв накопичення біомаси відбувалось у меншій кількості, ніж у попередньому випадку. Це пов'язано з недостатньою кількістю кисню, яка надходила до клітини гриба. Зниження концентрації біомаси спостерігалося і при збільшенні частоти обертання до 300 об/хв. У цьому випадку живлення киснем відбувалося на належному рівні, але мали місце механічні пошкодження клітин гриба [23].

У глибинних умовах міцелій здатний утворювати товстостінні хламідоспори і відбувається більш швидке накопичення біомаси [24].

В умовах глибинного культивування і механічного перемішування міцелій ділиться на відносно дрібні сегменти, які залишають здатність до розмноження і накопичення біомаси, також за допомогою лабораторного обладнання можливо побачити, що відбувається істотне накопичення спорового матеріалу. Проте встановлено, що величина напружень зсуву в реакторах із механічним перемішуванням менша, ніж у барботажних колонах, які є достатньо поширеними у процесах культивування клітин, насаперед міцелію [25].

## Висновки

У ході процесів біотехнологічного синтезу мікроорганізми схильні до впливу різних факторів, одним із яких є механічні. Найбільш чутливими до них є міцеліальні гриби. На основі розглянутих літературних даних встановлено, що оптимальною для них є швидкість перемішування у діапазоні 120–150 об/хв. Інші групи мікроорганізмів є менш чутливими до механічних впливів, наприклад, для рекомбінантних бактерій оптимальною є швидкість перемішування 150–400 об/хв, а для решти бактерій вона зростає до 300–600 об/хв.

За своєю природою механічні дії можна уявити як сумарний вплив нормального напруження і напруження зсуву. Результатами дії механічних впливів, залежно від виду мікроорганізмів і віку культури, є лізис, зміна морфології та метаболізму клітин, а також зменшення кількості накопиченої біомаси і синтезованих метаболітів.

Але отримані дані не враховують природи дії механічних факторів на клітини мікроорганізмів, тому вивчення їх впливу на клітини є необхідним для з'ясування механізму адаптації мікроорганізмів до стресових впливів, що на практиці сприяє оптимізації процесів культивування, біосинтезу та/або біотрансформації.

Зі сказаного вище ми бачимо, що для підвищення ефективності глибокого культивування необхідно підібрати режим перемішування, за якого буде забезпечено максимальний вихід кінцевого продукту. Для досягнення цієї задачі необхідно провести комп'ютерне та математичне моделювання різних режимів перемішування у ферментері, а отримані дані підтвердити, використовуючи лабораторні дослідження. Досліди необхідно провести для міцеліальних грибів на прикладі *Aspergillus awamori*, використовуючи лабораторний ферментер об'ємом 1,8 л

і змінюючи швидкість обертання перемішувального пристрою від 40 до 820 об/хв. Досліди необхідно провести для стандартних типів мішалок та модернізованої конструкції, яка врахуватиме особливості досліджуваних об'єктів. На основі отриманих даних потрібно побудувати графіки залежності кількості накопиченої біомаси та метаболітів від швидкості перемішування і конструкції мішалки та встановити оптимальні умови для проведення промислового біосинтезу.

### References

- [1] Bekker ME. Introduction to biotechnology. Moscow: Pishhevaja promyshlennost'; 1978. 228 p.
- [2] Barabash VM, Begichev VI, Belivickaja MA, Smirnov NN. Problems and trends in the development of the theory and practice of mixing of liquid media. *Teoreticheskie Osnovy Himicheskoy Tehnologii*. 2012;2:140-7.
- [3] Tishin OA, Ostrovskaja TV, Devkin AV. Experimental study of the mixing process in the apparatus with a mixer. *Izvestija Volgogradskogo Gosudarstvennogo Tehnicheskogo Universiteta. Ser. Reologija, Processy i Apparaty Himicheskikh Tehnologij*. 2012;2:88-90.
- [4] Golovanchikov AB, Cherikova KV, Shul'gina AG. Simulation of the mixing process in devices with combined mixers. *Izvestija Volgogradskogo Gosudarstvennogo Tehnicheskogo Universiteta*. 2016;2:11-4.
- [5] Kolmogorov AN. Mathematical models of the turbulent motion of incompressible viscous fluid. *Russian Math Surveys*. 2004;59(1):3-9. DOI: 10.4213/rm697
- [6] Verschuren ILM. Feed stream mixing in stirred tank reactors. Eindhoven: Technische Universiteit Eindhoven; 2001. DOI: 10.6100/IR547715
- [7] Vicum L. Investigation of the influence turbulent mixing on precipitation processes carried out in stirred tank reactors [dissertation]. Zurich: Swiss Federal Institute of Technology; 2005. DOI: 10.3929/ethz-a-005069682
- [8] Samujlenko AJa, Raevskij AA, Pavlenko IV, Eremec NK, Bobrovskaja IV, Kanarskaja ZA, et al. The influence of cultivation methods on the yield of bacterial mass and the quality of vaccines for veterinary medicine. *Vestnik Kazanskogo Tehnologicheskogo Universiteta*. 2013;9:23-8.
- [9] Karaeva JuV, Trahunova IA, Halitova GV, Daminov AZ. Evaluation of the quality of mixing in methane fermentation reactors. *Vestnik Kazanskogo Tehnologicheskogo Universiteta*. 2012;10:61-6.
- [10] Motronenko V, Ruzhynska L, Chumak V, Galkin O. Evaluation of mechanical agitation effect on microscopic filamentous fungi culturing efficacy. *Proceedings of the National Aviation University*. 2017;2:108-14. DOI: 10.18372/2306-1472.71.11754
- [11] Men'shutina NV, Guseva EV, Nizhegorodova TA, Budran Zh.A. Stress of microorganisms in membrane bioreactors under the influence of mixing. In: *Proc VII Conf Biology – the Science of the XXI Century*; 2003; Pushhino. p. 119.
- [12] Joshi JB, Elias CB, Patole MS. Role of hydrodynamic shear in the cultivation of animal, plant and microbial cells. *Chem Eng J*. 1996;62(2):121-41. DOI: 10.1016/0923-0467(95)03062-X
- [13] Sarra M, Ison AP, Lilly MD. The relationships between biomass concentration, determined by a capacitance-based probe, rheology and morphology of *Saccharopolyspora erythraea* cultures. *J Biotechnol*. 1996;51(2):157-65. DOI: 10.1016/0168-1656(96)01612-4
- [14] Silva-Santisteban BOY, Filho FM. Agitation, aeration and shear stress as key factors in inulinase production by *Kluyveromyces marxianus*. *Enz Microb Technol*. 2005;36(5-6):717-24. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2004.12.008
- [15] Jung JY, Park JK, Chang HN. Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in an agitated culture without living non-cellulose producing cells. *Enz Microb Technol*. 2005;37(3):347-54. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2005.02.019
- [16] Kljushina AM, Karlova AF, Leont'ev VK. The study of the process of mechanical mixing. In: *LXXI All-Russian Sci Tech Conf of Students, Undergraduates, and Postgraduates of Higher Educational Institutions with International Participation*; 2018. p. 627-30.
- [17] Nemanova EO, Rusinova TV, Gorshina ES, Birjuvov VV. The choice of regime parameters in the submerged cultivation of the mycoprotein producer. *Izvestiya MGTU "MAMI"*. 2013;4(1):271-7.
- [18] Trahunova IA, Karaeva VJu. The effectiveness of hydraulic mixing with different methods of loading the organic substrate in the reactors of BGP. *Young Scientist*. 2012;4:45-50.

- [19] Karpov AA. Scaling up the processes of submerged cultivation of microorganisms in bioreactors [dissertation]. Shchelkovo; 2004. 122 p.
- [20] Vladimirova IS, Emel'janov VM, Filippova NK, Koshkina LJ. Intensification of the processes of aerobic cultivation of microorganisms. Vestnik Kazanskogo Tehnologicheskogo Universiteta. 2009;2:19-27.
- [21] Arhipov MJ. Development of a combined mixing system for the cultivation of aerobic mycelial microorganisms [dissertation]. Moscow; 2005. 165 p.
- [22] Smirnov RS. Hydrodynamics and mass transfer in large-scale bubbling apparatus with mechanical agitation [dissertation]. Moscow. 1985.
- [23] Dudka IA, Vasser SP, Jellanskaja IA. Methods of experimental mycology. Kyiv: Naukova Dumka; 1982. 550 p.
- [24] Sekova VJu, Kornilova NA, Vasil'eva AV. Deep cultivation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Uspehi v Himii i Himicheskoi Tehnologii. 2010;11:42-5.
- [25] Ustinnikov BA, Ivanov VV, Georgievskij GP, Kaukin MG. Optimization of mixing of the culture fluid during deep cultivation of microorganisms. Fermentnaja i Spirtovaja Promyshlennost'. 1987;5:54-8.

В.О. Сербов, В.В. Мотроненко

#### АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

**Проблематика.** При прохождении технологических процессов микроорганизмы склонны к влиянию разных технологических параметров, таких как изменение температуры, pH культуральной среды, химические и биологические, а также механические воздействия. На сегодняшний день степень изучения указанных воздействий разная. Об одном известно почти все, а другие практически не изучены вовсе. В некоторых случаях изучение одного фактора приводит к появлению новых задач и нюансов при изучении других, так как они все неразрывно связаны между собой. Одними из наименее изученных, но наиболее критических являются механические воздействия. Однозначно установлено, что скорость вращения и конструкция перемешивающего устройства влияют на выход конечного продукта, но остаются неизвестными характер и механизмы этого воздействия.

**Цель.** Задача состоит в том, чтобы на основе литературных данных определить воздействие механических факторов на микроорганизмы в процессе глубинного культивирования, в частности на рекомбинантные бактерии и мицелиальные грибы, так как они являются наиболее чувствительными к указанным факторам, и на этой основе сформулировать задачи для дальнейших исследований.

**Методика реализации.** Изучены и проанализированы научные исследования ученых разных стран относительно влияния механического воздействия перемешивания на микроорганизмы в процессе глубинного культивирования.

**Результаты.** По литературным данным установлено воздействие скорости перемешивания на рост и состояние бактерий, подобраны оптимальные скорости вращения мешалок для конкретных видов бактерий. Установлено, что с увеличением размера клеток возрастает чувствительность к механическим воздействиям. Анализ литературы показал, что вязкость уменьшается при росте интенсивности перемешивания, что накладывает определенный отпечаток на кинетику процесса. Обнаружено, что в условиях глубинного культивирования с механическим перемешиванием мицелий грибов, в отличие от бактериальных организмов, делится на относительно мелкие сегменты, которые сохраняют способность к размножению и накоплению биомассы.

**Выводы.** В результате анализа литературных данных установлено, что наиболее чувствительными к механическим факторам при глубинном культивировании являются мицелиальные грибы. Оптимальная скорость перемешивания для них составляет 120–150 об/мин. Однако полученные результаты не учитывают природы возникновения механических воздействий, поэтому необходимо установить оптимальные условия культивирования с учетом особенностей исследуемых объектов, проведя системный анализ процесса с помощью компьютерного и математического моделирования и экспериментальных исследований для различных скоростей перемешивания и конструкций мешалок.

**Ключевые слова:** микроорганизмы; глубинное культивирование; механическое воздействие; напряжение сдвига; микромицеты; рекомбинантные бактерии.

V.O. Serbo, V.V. Motronenko

#### ANALYSIS OF MECHANICAL FACTORS AT DEEP CULTIVATION

**Background.** During the passage of technological processes, microorganisms are prone to the influence of various technological parameters, such as changes in temperature, pH of the culture medium, chemical, biological, and mechanical influences. To date, the degree of study of these effects is different. One is almost fully covered, while others are practically not studied at all. In some cases, the study of one factor leads to the emergence of new tasks and nuances in the study of others, since they are all inextricably interconnected. One of the least studied, but the most critical are mechanical effects. It has been unequivocally established that the rotation speed and the design of the mixing device affect the final product yield, but the nature and mechanisms of this effect remain unknown.

**Objective.** The aim of the paper is to find out the effects of mechanical factors on microorganisms in the process of deep cultivation, in particular on recombinant bacteria and micelles, since they are the most sensitive to these factors, using literary data. And, on this basis, tasks for further research should be formulate.

**Methods.** The research of scientists from different countries on the effects of the mechanical effects of mixing on microorganisms in the process of deep cultivation is studied and analyzed.

**Results.** According to the literature data, dependencies of stirring rate on growth and microorganism status have been established, and recommendations for optimal mixer speeds for specific types of bacteria and micelles, which require further experimental confirmation, are provided. It has been found that increasing the size of cells increases their sensitivity to mechanical influences. The analysis of literature has shown that viscosity decreases with increasing mixing intensity, which imposes a certain imprint on the kinetics of the process. It

was detected that in conditions of deep cultivation with mechanical mixing the mycelial fungi, in contrast to bacterial organisms, is divided into relatively small segments that retain the ability to reproduce and accumulate biomass.

**Conclusions.** The analysis of literature data showed that the mycelial fungi are the most sensitive to mechanical factors during deep cultivation. The optimum mixing speed for them is 120–150 rpm. It is necessary to modernize the design of the mixing device to optimize this process, to ensure the supply of nutrients and oxygen to all cells during deep cultivation in sufficient quantity for their development.

**Keywords:** microorganisms; deep cultivation; mechanical stress; shear stress; micromycetes; recombinant bacteria.