

ЛИТЕРАТУРА

1. Grout D.H.C. World Biotechnology Report. // Proceeding of Biotechnology'86. - 1986. - P.13-18.
2. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. - М., 1991. - С.110-130.
3. Imuta M., Kawai K.I. and Ziffer H. // J. Org. Chem., 45. - 1980. - P.3352.

Исследования выполнены в Университете г.Клермон-Феррана (Франция).

УДК 541.18.041.2;577.1

Н.А.Белясова, доцент,
О.И.Жарская, инженер,
Е.Н.Шевелькова, студ.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИАЛЬНОГО ФЛОКУЛЯНТА ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ

The wild type action flocculent was found and its properties were determined.

Флокуляция находит применение в процессах очистки сточных вод, концентрирования биомассы, очистки культуральной жидкости от клеточного материала и примесей коллоидной природы. Особенно перспективным представляется использование в перечисленных процессах биофлокуляции. Биофлокулянты, являющиеся биополимерами, обладают более высокой эффективностью и универсальностью по сравнению с синтетическими флокулянтами, они нетоксичны, дешевы и могут быть получены микробным синтезом [1]. Однако в странах СНГ использование биофлокулянтов пока ограничено, что объясняется, с одной стороны, отсутствием собственных штаммов - продуцентов флокулирующих веществ, а с другой - недостаточной научной проработкой вопроса.

Настоящая работа посвящена поиску микроорганизмов - активных продуцентов флокулирующих веществ, оптимизации условий их культивирования, выделению биофлокулянтов и изучению природы и свойств последних.

Скрининг микроорганизмов осуществляли по разработанной нами методике, позволяющей быстро анализировать большое количество проб на присутствие в них продуцентов флокулирующих веществ. В результате из смазочной охлаждающей жидкости (СОЖ) и сточных вод Могилевского ПО "Химволокно" было отобрано 2 бактериальных штамма (J12 и Д1 соответственно), культуральные жидкости которых обладают способностью нарушать стабильность разных дисперсных систем (суспензии дрожжей, сточные воды, суспензии активированного угля, бентонита, каолина) с различной эффективностью.

Оба штамма имеют привлекательные для производственного применения свойства: неприхотливы к источникам питания и роста, являются факультативно анаэробными микроорганизмами. Клетки штамма Д1 высокотолерантны к таким токсичным веществам, как фенол, метанол, п-ксилол, а клетки штамма Л2 хорошо растут на различных средах с рН 6-10. Общим для обоих штаммов отличительным свойством является наличие капсул на поверхности клеток, что позволило предположить участие капсульных полисахаридов в процессе флокуляции.

Известно, что биосинтез флокулирующих веществ сильно зависит от условий культивирования микроорганизмов-продуцентов. В первую очередь, от состава среды и источников углерода, степени аэрации, рН среды, температуры и времени инкубирования [2,3].

В связи с этим, используя методы математического планирования многофакторного эксперимента и компьютерной обработки полученных экспериментальных данных, были оптимизированы условия культивирования бактерий составы синтетических сред (см. таблицу).

Условия культивирования бактерий-продуцентов флокулирующих веществ

Параметры	Для штамма Л2	Для штамма Д1
Содержание в среде (г/л):		
KH_2PO_4	1,00	1,20
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,10	0,10
NaCl	0,02	0,16
NH_4NO_3	0,47	0,49
NH_4Cl	2,60	2,50
Na_2HPO_4	6,00	3,00
меласса	-	26,00
глюкоза	10,00	-
дрожжевой экстракт	5,00	-
рН среды выращивания	8,00	7,00
температура выращивания	33°C	30°C
Длительность выращивания (час):		
при аэрации	48	72
без аэрации	96	120

Концентрация клеток в КЖ исследуемых бактерий в оптимизированных условиях культивирования достигала $1,14-4,05 \times 10^9$ кл/мл, а эффективность флокуляции суспензии каолина при внесении в нее бесклеточных фильтратов полученных КЖ достигала высоких значений (рис. 1).

Очевидно (рис. 1), что использование флокулирующих веществ значительно ускоряет процесс разделения дисперсной среды, а кроме того, позволяет дос-

тичь значительно большей полноты осаждения флокул дисперсной фазы (74% и 39% в случае использования флокулянтов против 25% при спонтанной флокуляции). Различия в эффективности флокуляции для двух испытанных штаммов отражают, вероятно, структурные и концентрационные различия флокулянтов, продуцируемых бактериями Д1 и Л2. Эксперименты по выявлению локализации флокулирующих веществ в бактериальных суспензиях позволили установить их внеклеточную природу, поскольку экстракты клеток демонстрировали весьма слабую флокулирующую активность по отношению ко всем испытанным дисперсным системам.

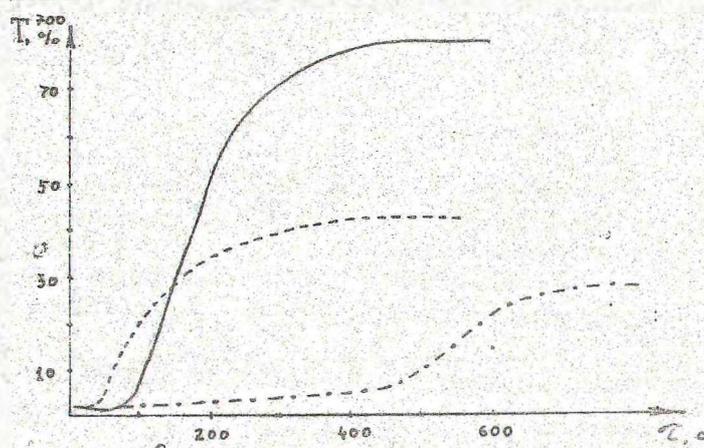


Рис. 1. Кинетика процессов флокуляции суспензии каолина под действием бесклеточных КЖ бактерий Д1 и Л2:

- (—) флокулянт - осветленная КЖ бактерий Д1;
- (---) флокулянт - осветленная КЖ бактерий Л2;
- (- · - ·) спонтанная седиментация.

Концентрация каолина в воде достигала 5 г/л, флокулянт вносили в дисперсную среду в соотношении 4:100. Регистрацию пропускания во времени осуществляли автоматическим методом с помощью Specord M40 [4]

Известно, что бактериальные биофлокулянты представляют собой полисахариды или гликопротеины [1,5], которые могут быть выделены из водных растворов осаждением холодными органическими растворителями, такими, как этанол, ацетон или изопропанол.

Проведенные нами исследования показали, что из охлажденной (+4°C) бесклеточной КЖ штамма Л2 бесцветный желеподобный полимер лучше всего осаждается холодным (0°C) этанолом (2:1). Из охлажденной (+4°C) бесклеточной КЖ штамма Д1 коричневатый, хлопьевидный осадок выпадал при обработке холодным (0°C) ацетоном. Полученные осадки отделяли центрифугированием на центрифуге ЦЛН-2 при 5000 мин⁻¹, растворяли в дистиллированной воде и диализовали против фосфатно-солевого буфера (ФБС: 0,075M NaCl в 0,075M калий-фосфатном буфере, рН 7,4) в течение суток.

Фракционирование полученных биополимеров методом гель-хроматографии на колонне 1,2×25 см, заполненной носителем Toyopearl HW-55 и уравновешенной ФБС, показало наличие в каждом образце двух полимеров с молекулярными массами примерно 40-60 и 80-100 кДа (рис.2).

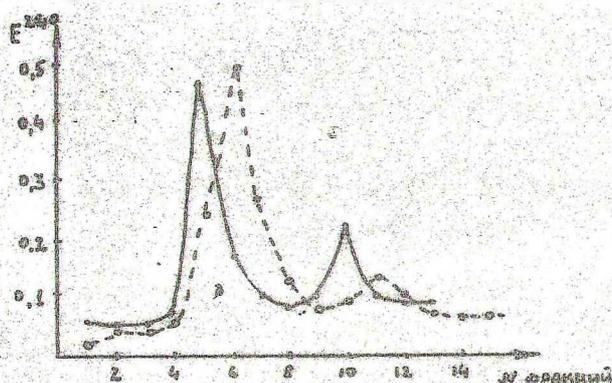


Рис.2. Профили элюции полимеров:

(—) - выделен из КЖ штамма Д1;

(---) - выделен из КЖ штамма Л2

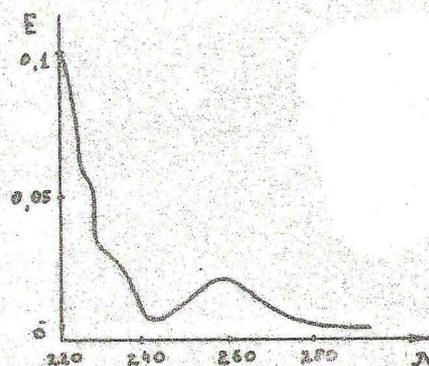


Рис.3. Электронный спектр поглощения полимера из шт. Л2.

Флокулирующая активность наблюдалась во фракциях 5-7 полимера, выделенного из бесклеточной КЖ штамма Л2. Электронный спектр поглощения этого биофлокулянта представлен на рис.3. Потеря активности вторым образцом обусловлена, очевидно, структурными нарушениями, произошедшими с полимером при его выделении.

Характер спектра, а также качественные реакции на углеводы и протеины (ксано-протеиновая и реакция с α-нафтолом) свидетельствуют о гликопротеиновом характере выделенного из КЖ штамма Л2 биофлокулянта.

Более полные представления о структуре и функциональных группах, обуславливающих флокулирующую активность биополимера, могут быть получены при дальнейшем исследовании с привлечением методов химии углеводов и белков.

Авторы выражают благодарность профессору Колесникову В.Л. за помощь в математическом планировании экспериментов и обработке полученных данных и доценту Леонтьеву В.Н. за помощь в постановке экспериментов и обсуждении материалов статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баран А.А., Тесленко А.Я. Флокулянты в биотехнологии. - Л.: Химия, 1990.
2. Вейцер Ю.И., Луценко Г.Н., Цветкова А.Л. Оптимальные условия образования хлопьев при коагулировании сточных вод // Водоснабжение и санитарная техника. - 1981. - №9. С.34.

3. Николаев А.Ф., Охрименко Г.И. Водорастворимые полимеры. - Л.: Химия, 1979.
4. Белясова Н.А., Кавцезич Е.Н. Метод непрерывного контроля процесса автофлуккуляции дрожжевых суспензий // Труды БГТУ. Сер.4. Химия и технология органических веществ. - 1994. - Вып.2. С.109-114.
5. Гликопротеины / Под ред. Готтшалка А. - М.: Мир, 1969.

УДК 665.545.

Е.И.Грушова, доцент;
Ж.И.Аверук, студентка;
М.В.Тюшнякова, инженер

НОВЫЙ ЭКСТРАГЕНТ ДЛЯ ОЧИСТКИ ЖИДКИХ ПАРАФИНОВ ОТ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

We try to estimate the extraction properties of new solvents. Results of investigations are discussed.

Жидкие парафиновые углеводороды состава C_{11} - C_{16} являются основным сырьем для синтеза методом окисления синтетических жирных кислот и высших жирных спиртов, которые широко используются в производстве биологически разлагаемых моющих средств, присадок к маслам и других пенных продуктов. Получают жидкие парафины из дизельных фракций нефти в основном методом адсорбции на цеолитах или карбонидной депарафинизации. Однако выделенные таким образом парафиновые углеводороды необходимо подвергать глубокой очистке для удаления из них ароматических углеводородов, которые способны ингибировать процессы окисления (при синтезе кислот и спиртов), сульфохлорирования (при синтезе поверхностно-активных веществ) [1].

Известные промышленные методы глубокой очистки жидких парафинов от ароматических углеводородов (гидроочистка, очистка концентрированной серной кислотой, адсорбция на силикагеле) не отвечают требованиям современной технологии по техническим или экономическим соображениям [2-4]. Считают [4], что реальным перспективным способом глубокой деароматизации жидких парафиновых углеводородов линейного строения является метод жидкостной экстракции. При этом результаты очистки зависят как от экстракционных свойств селективного растворителя, так и от содержания в регенерированном разделяющем агенте ароматических соединений. Но выполненные в этой области исследования пока не нашли практической реализации и, в основном, по причине несоответствия перечисленным условиям.