

3. Фридрихсберг Д.А. Курс коллоидной химии. - Л.: Химия, 1984.
4. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. - М.: Наука, 1985.

УДК 573.6.086.83;663.1

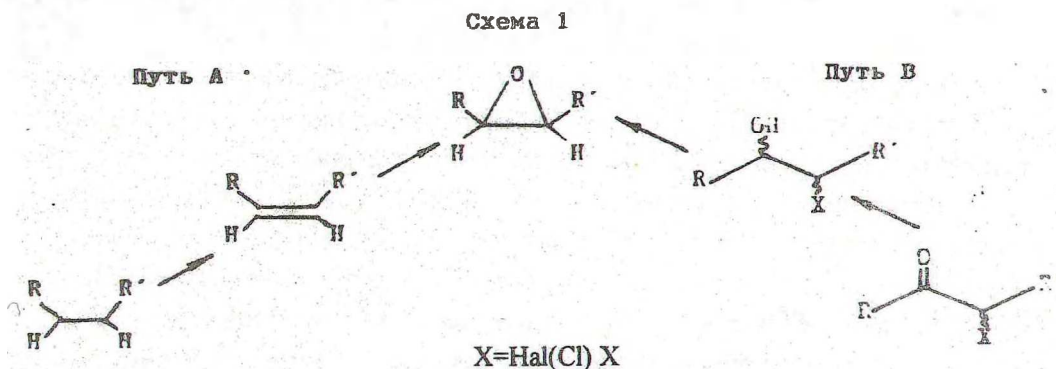
Т.И.Сокольчик, соискатель

МИКРООРГАНИЗМЫ В ПОЛУЧЕНИИ ЭПОКСИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

The reduction of 5-Cl-4-nonanone by different microorganisms was investigated. Using PMR-spectrum the structure of diastereometric Cl-hydrines was found and enantiometric purity was defined.

Эпоксидные соединения можно получить химическим, химико-ферментативным или ферментативным способами. При этом могут быть использованы как чистые ферменты, так и ферментные системы живых микроорганизмов.

Особенностью ферментативного катализа является высокая стереоспецифичность [1]. Оптически активные эпоксины получают либо микробиологическим окислением углеводородов с участием монооксигеназной ферментной системы (схема 1, путь А) [2], либо с помощью химико-ферментативного способа (схема 1, путь В) [3], первым этапом которого является ферментативная трансформация прохирального субстрата.



Последний метод представляет интерес в синтезе α -замещенных хиральных спиртов. Эти соединения, содержащие 2 асимметрических атома углерода, представляют собой α -бихиральные синтоны и могут быть получены микробиологическим восстановлением α -галогенкетонов. Заместители X выбираются таким образом, чтобы образующиеся галогенгидрины легко превращались в соответствующие оптически активные эпоксины.

Нами было изучено микробиологическое восстановление 5-Cl-4-нонанона. Были использованы следующие микроорганизмы: мицелиальные грибы *Aspergillus niger* ATCC 9142, *Beauveria sulfurescens* ATCC 7159, *Cunninghamella elegans*

var. elegans ATCC 9245, *Geotrichum candidum* int. Lab AZ, *Mortierella isabellina* NRRL 1757, бактерии - *Lactobacillus kefir* DSM 20587, дрожжи - *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula glutinis* NRRL y 1091. Клетки микроорганизмов культивировали в периодических условиях при 27°C с аэрацией в течение 6, 24 и 48 ч на воде с α -кетонам в качестве единственного источника углерода и энергии, после чего клетки отделяли фильтрованием или центрифугированием. Супернатант экстрагировали диэтиловым эфиром в течение суток, эфирную фазу высушивали сульфатом магния и выпаривали под вакуумом. В полученном продукте относительное содержание α -кетона и α -гидрина определяли методом ГЖХ. Результаты, представленные в табл. 1, позволили выбрать как микроорганизмы, осуществляющие реакцию с наибольшей трансформацией кетона, так и время реакции, оптимальное для получения продукта биоконверсии.

Табл. 1. Редуцирующая активность микроорганизмов

| Микроорганизмы | Время инкубирования, ч | Содержание α - α -кетона, % | Содержание α - α -гидрина, % |
|---------------------------------|------------------------|---|--|
| <i>Aspergillus niger</i> | 6 | 69 | 31 |
| | 24 | 60 | 40 |
| | 48 | 40 | 60 |
| <i>Beauveria sulfurescens</i> | 6 | 74 | 26 |
| | 24 | 0 | 100 |
| | 48 | 0 | 100 |
| <i>Cunninghamella elegans</i> | 6 | 13 | 87 |
| | 24 | 0 | 100 |
| | 48 | 4 | 96 |
| <i>Geotrichum candidum</i> | 6 | 100 | 0 |
| | 24 | - | - |
| | 48 | - | - |
| <i>Mortierella isabellina</i> | 6 | 0 | 100 |
| | 24 | 0 | 100 |
| | 48 | 0 | 100 |
| <i>Lactobacillus kefir</i> | 6 | 71 | 29 |
| | 24 | 21 | 79 |
| | 48 | 35 | 65 |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 6 | 0 | 100 |
| | 24 | 0 | 100 |
| | 48 | 0 | 100 |
| <i>Rhodotorula glutinis</i> | 6 | 6 | 94 |
| | 24 | 0 | 100 |
| | 48 | 0 | 100 |

Дальнейшие исследования проводили только с 5 штаммами микроорганизмов, осуществляющими максимальную биотрансформацию. В результате количественных исследований были выделены и идентифицированы С1-гидрины (табл.2).

Табл. 2. Особенности синтеза хлоргидринов

| Микро-организмы | Диастереомеры | Относительное содержание изомеров, % | Удельное вращение | Энантиомерная чистота, % | Общий выход, % | Абсолютная конфигурация |
|--------------------------|---------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------------|----------------|-------------------------|
| Lactobacillus kefir | syn anti | 42 58 | -26 -11 | 75 98 | 6,0 | (4S,5S) (4R,5S) |
| Aspergillus niger | syn anti | 59 41 | -21 -9 | 65 98 | 5,0 | (4S,5S) (4R,5S) |
| Mortierella isabellina | syn anti | 90 0 | -9 - | 30 - | 5,0 | (4S,5S) (4R,5S) |
| Saccharomyces cerevisiae | syn anti | 58 42 | -35 +8 | 98 98 | 15,0 | (4S,5S) (4S,5R) |
| Rhodotorula glutinis | syn anti | 50 50 | -38 -2 | 98 80 | 6,0 | (4S,5S) (4R,5S) |

Во всех рассмотренных случаях, за исключением *M.isabellina*, микробиологическое восстановление приводит к смеси 2-х диастереомеров. Соотношения диастереомеров определяли из ПМР-спектров по химическим сдвигам протонов (3,5-4,5 м.д.) у атомов углерода хлоргидринного фрагмента молекулы. ПМР-спектры регистрировали на приборе BRUKER AC 400. Полученные диастереомеры выделяли хроматографически на колонке 1x100 см с силикагелем, элюент - пентан/диэтиловый эфир (95/5). Энантиомерную чистоту определяли на капиллярной колонке 25 мx0,32 мм с хиральной неподвижной фазой Lipodex E.

В результате нами были получены 3 из 4-х возможных оптически активных изомера: 2 anti и только один изомер syn. Все хлоргидрины имеют высокую энантиомерную чистоту. Однако выходы продуктов неудовлетворительны. В случае *M.isabellina* образуется практически один диастереомер syn, но с невысокими энантиомерной чистотой (30%) и выходом (5%). Вероятно, использование иммобилизованных микроорганизмов позволит повысить выходы целевых продуктов. Полученные С1-гидрины путем дегидрохлорирования практически количественно могут быть превращены в соответствующие оптически активные эпоксины.

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 (Л2 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.