

Е. М. Кулагина, Р. И. Юсупова, М. В. Потапова

ФЛОКУЛЯЦИЯ СУСПЕНЗИИ ДРОЖЖЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КАТИОННОГО ПРОИЗВОДНОГО ПОЛИАКРИЛАМИДА

Ключевые слова: дрожжевая биомасса, суспензия клеток, дисперсность, полиакриламидные флокулянты, седиментация, флокуляция, флокулирующий эффект.

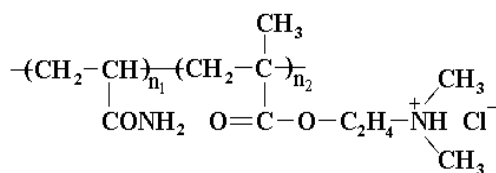
*Изучены процессы флокуляции и седиментации дрожжей родов *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida lambica* катионным производным полиакриламида. Рассчитан параметр, характеризующий флокулирующий эффект, а также приведен размер образующихся флоккул.*

Key words: yeast biomass, a cell suspension, the dispersion, polyacrylamide flocculants, sedimentation, flocculation the flocculation effect.

*Study the process of flocculation and sedimentation yeast birth *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida lambica* cationic derivatives of polyacrylamide. The calculated parameter characterizing the flocculation effect, and given the size of the resulting floc.*

До настоящего времени остаются актуальными проблемы комплексной переработки дрожжей с целью извлечения биологически ценных продуктов. На крупнотоннажных производствах белково-витаминных концентратов из дрожжевой биомассы используется сепарационный метод выделения, характеризующийся низкой производительностью, высокими капитальными и эксплуатационными затратами и потерями продукта вследствие уноса на сепараторах. Биомассу дрожжей, являющихся перспективными продуцентами белка, выделяют, именно, сепарационным методом. Совершенствование стадии выделения и концентрирования биомассы является одной из важнейших задач биотехнологии. При этом необходимо решение вопросов стабилизации и дестабилизации дисперсных систем. Направленное регулирование устойчивости дрожжевой суспензии возможно с использованием полимерных реагентов [1,2]. Однако, несмотря на очевидные преимущества реагентного метода, использование высокомолекулярных флокулянтов в биотехнологии сдерживается в виду слабой изученности основ флокуляции клеток и отсутствием критериев подбора флокулянтов, а также высокими требованиями, предъявленными к самим флокулянтам. [3,4].

Изучено флокулирующее действие на дрожжи родов *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida lambica* катионного производного полиакриламида (КПАА) – сополимера акриламида с гидрохлоридом диметиламиноэтилметакрилата (К650):



$\beta = 35\%$ мол. – содержание ионогенных звеньев,
ММ = $2,7 \cdot 10^6$

Полиакриламидные флокулянты обладают высокой флокулирующей способностью, доступностью, сравнительно низкой стоимостью и, что весьма важно для биологических систем, малой

токсичностью [5,6]. Катионные полимеры наиболее эффективны для отрицательно заряженных дисперсий: для концентрирования и обезвоживания осадков [7].

Типичные размеры дрожжевых клеток составляют $2,5 \div 10 \mu\text{m}$. По современным представлениям, на клеточной поверхности существует мозаика из зарядов катионных и анионных групп. Заряд клетки отрицательный – это результат суммирования отрицательных и положительных зарядов. Основными группами, определяющими поверхностный заряд дрожжевых клеток, являются карбоксильные и аминокислотные группы белков, а также фосфатные группы фосфатидов и полифосфатов, находящихся на клеточной поверхности. Клеточная поверхность, в основном, состоит из протеинов, углеводов и липидов, долевое участие ионогенных групп которых определяет электрический заряд поверхности.

Существует принципиальное отличие клетки от коллоидной частицы:

- поверхность клетки сложна по строению и составу и неоднородна по глубине поверхностного слоя;
- она может перестраиваться в процессе жизнедеятельности;
- через клеточную поверхность происходит пассивный и активный транспорт ионов.

При проведении эксперимента готовили суспензии дрожжей в воде с концентрацией клеток 12% и 24%, затем в приготовленную суспензию вводили полимер. Эксперимент проводили в цилиндрах объемом 100 cm^3 в течение 2 – 4 часов в зависимости от рода дрожжей. Для оценки флокулирующего эффекта был использован метод контроля за продвижением границы раздела между частицами дисперсной фазы и осветленной частью суспензии в мерных цилиндрах. Данный метод широко применяется в системах с небольшой полидисперсностью, где возможна четкая фиксация фронтальной границы продвижения частиц. Движение этой границы во времени определяет скорость процесса осаждения [8].

Были получены кинетические кривые при дозированном введении флокулянта, рис.1, 2, при

этом наблюдали увеличение степени осветления суспензии по сравнению с контролем. Дестабилизация системы происходила при малых добавках полимера, что свидетельствует о высокой эффективности флокулянта, выбрали оптимальную концентрацию, $C = 0,0005\%$.

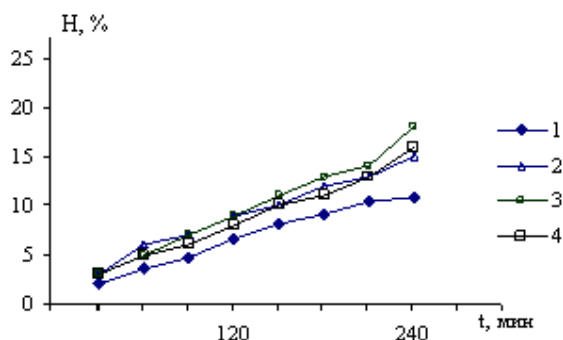


Рис. 1 - Кинетические зависимости степени осветления водной суспензии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (концентрация клеток 12%) в присутствии КПАА: 1 – контроль (дрожжевая суспензия без добавки КПАА); 2 – 0,0002%; 3 – 0,0005%; 4 – 0,0007%

Как отмечалось в работе [9], эффективность флокуляции зависит и от характеристик флокулянта, и от характеристик самой дисперсной системы. С ростом концентрации дрожжевых клеток степень осветления суспензии увеличилась практически в 2 раза, рис.2.

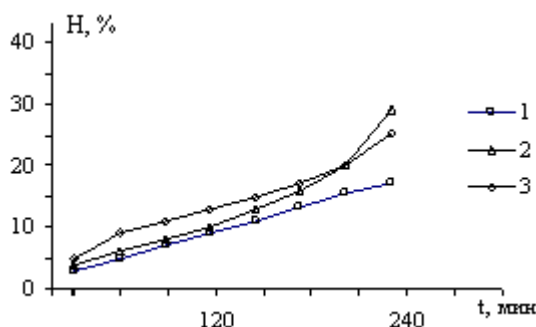


Рис. 2 - Кинетические зависимости степени осветления водной суспензии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (концентрация клеток 24%) в присутствии КПАА: 1 – контроль (дрожжевая суспензия без добавки КПАА); 2 – 0,0002%; 3 – 0,0005%

Прослеживается и влияние природы дисперсной фазы дрожжевой суспензии, так в дрожжах рода *Candida lambica* флокуляция происходила интенсивнее, наблюдали рост степени осветления за время меньшее, по сравнению с первой системой, при концентрации вводимого флокулянта $C = 0,0002\%$, рис.3.

Методом седиментационного анализа с использованием торсионных весов ВТ – 500 [10] были получены кривые осаждения для исследованных систем путем взвешивания осевших на чашку торсионных весов клеток микроорганизмов, проведена оценка скорости седиментации и определены размеры образовавшихся флокулов (или

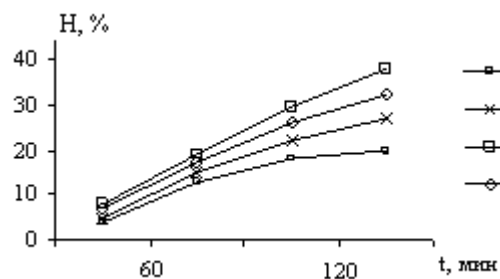


Рис. 3 - Кинетические зависимости степени осветления водной суспензии дрожжей *Candida lambica* (концентрация клеток 12%) в присутствии КПАА:

1 – контроль (дрожжевая суспензия без добавки КПАА); 2 – 0,0001%; 3 – 0,0002%; 4 – 0,0004%

агрегатов) клеток на разных стадиях осаждения, табл.1. Это возможно, поскольку флокуляция является необратимым процессом, при флокуляции образуются достаточно крупные и «рыхлые» агрегаты. Чем выше скорость седиментации, тем выше параметр D – флокулирующий эффект. Расчет проводили по формуле:

$$D = v / v_0 - 1,$$

где v и v_0 – скорость седиментации дисперсной фазы биосуспензии с добавкой и без добавки флокулянта соответственно. Рис.4 иллюстрирует поведение суспензии *Saccharomyces cerevisiae*.

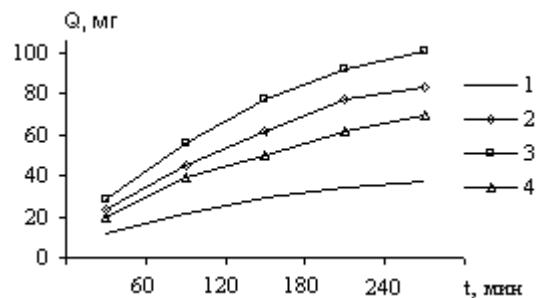


Рис. 4 - Кривые осаждения водной суспензии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (концентрация клеток 24%) в присутствии КПАА – K650:

1– контроль (дрожжевая суспензия без добавки флокулянта); 2 – 0,0002%; 3 – 0,0005%; 4 – 0,0007%

Таблица 1 - Параметры флокуляции

Концентрация флокулянта С %	Флокулирующий эффект, D		Размер флокул**, г · 10 ³ , м
	Концентрация клеток 12 %	Концентрация клеток 24 %	
Saccharomyces cerevisiae			
0,0002	0,17	0,18	1,6–2,1
0,0005*	0,22	0,63	
Candida lambica			
0.0002*	0.2	0.68	2.5 – 3.0

* – оптимальная концентрация флокулянта;

** – размер флокул приведен для $t = 60$ мин.

Следует иметь в виду [9], что изменения концентрации клеток микроорганизмов и концентрации флокулянта влияют не только на

эффективный объем сформировавшихся флокул и их количество, но и непосредственно отражаются на адсорбции, скорости седиментации клеток и седиментационной устойчивости биосуспензии.

Происходит агрегация клеток в большие флокулы, которые по своим размерам намного превосходят размеры отдельных клеток, что говорит об эффективности процессов флокуляции. Флокулянт с высокой молекулярной массой ($2,7 \cdot 10^6$), это заведомо предполагало его высокую флокулирующую способность, что подтверждается введением его в исследованные системы в микродозах. Это обусловлено возможностью больших макромолекул связывать большое число клеток дрожжевой суспензии в крупные хлопья посредством полимерных «мостиков» между ними. Адсорбированные макромолекулы полимеров, закрепляясь на поверхности малым числом контактов, деформируются, изменяют свою конформацию и могут образовывать достаточно длинные петли и хвосты. Флокуляция протекает только при наличии свободной поверхности на соседних частицах, находящихся на расстоянии меньшем, чем размеры макромолекулярного клубка, и на которых могут адсорбироваться несвязанные участки макромолекул [11].

Таким образом, в результате выполненного эксперимента подобраны оптимальные концентрации флокулянта КПАА-К650 для изученных дрожжевых суспензий в предположении «мостичного» механизма процесса флокуляции.

Литература

1. Е.М. Кулагина, М.В. Потапова, Р.И. Юсупова, А.И. Курмаева, Вестник Казанского технологического университета, **6**, 225-228 (2011).
2. C.D. Powell, D.E. Quain, K.A. Smart, FEMS Yeast Resear, **3**, 49-157 (2003).
3. S. Barany, A. Szepesszentgyorgyi, Advances in Colloid and Interface Science, **111**, 1-2, 117-129 (2004).
4. Н.М. Путинцев, С.Р. Деркач, И.Н. Коновалова, В.Н. Шибанов, Вестник МГТУ, Мурманск. **4**, 1, 41-46 (2001).
5. И.А. Новаков, Б.С. Орлинсон, Полимеры на основе производных адамантана: синтез, свойства, направления практического использования. РПК «Политехник» ВолгГТУ. Волгоград, 2005. 95 с.
6. В.А. Мягченков, В.Е. Проскурина, Г.В.Булидорова, Е.А. Якимова, Вестник Казанского технологического университета, **1 - 2**, 24-29 (2000).
7. Ж.Н. Малышева, С.С. Дрябина, А.В. Навроцкий, А.В. Купцов, Ю.С. Зубрева, И.А.Новаков. Журнал прикладной химии, **82**, 11, 1881-1886 (2009).
8. С.В. Крупин, В.А. Мягченков, А.Я. Третьякова, Практикум по физико-химии растворов и дисперсий полимеров. КГТУ, Казань, 2003, С.11 – 12.
9. В.А. Мягченков, В.Е. Проскурина Соплимеры акриламида с функцией флокулянтов, Казань, КГТУ, 2011, 296 с.
10. А.Я. Третьякова, Г.Я. Вяселева, А.И. Курмаева, С.В. Крупин, Г.В. Булидорова, В.П. Барабанов. Поверхностные явления и дисперсные системы. Лабораторный практикум, КГТУ, Казань, 2005, С. 110 – 118.
11. Куренков В.Ф., Снигирев С.В. Флокулирующие свойства полимеров. Казань, КГТУ, 2000, 32 с.