

Г. Ш. Вагапова, Т. П. Павлова, Р. З. Мусин,
С. В. Фридланд

ВЛИЯНИЕ ДИФЕНИЛГУАНИДИНОВОЙ СОЛИ БИС(ГИДРООКСИМЕТИЛ)ФОСФИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОЦЕСС СИНТЕЗА СПИРТА

Ключевые слова: биоценоз дрожжевой культуры, этанол, хромато-масс-спектрометрический анализ.

Исследовано влияние на биоценоз дрожжевой культуры, используемой при генерировании этилового спирта из сахара, соли бис(гидрооксиметил)фосфиновой кислоты. Обнаружено, что объем выделившегося углекислого газа в эксперименте с добавлением соли приблизительно в 3 – 4 раза превышал эксперимент сравнения. Анализ отогнанного спирта методом хромато-масс спектроскопии позволил установить, что исследованная соль влияет на выход только побочно образующихся продуктов в биопроцессе синтеза спирта. Определены качественный и количественный составы отогнанного спирта.

Keywords: biocenosis yeast culture, ethanol, chromatography-mass spectrometry analysis.

Effect of salt of bis(hydroxy metil)phosphinic acid on biocenose of yeast culture used in the generation of ethanol from sugar was investigated. It was found that the amount of released carbon dioxide in the experiment with the addition of salt about 3 - 4 times exceeded the experiment comparing. Analysis of distilled ethanol by chromatography-mass spectroscopy revealed that investigated the salt only affects the output on co-products in bioprocess synthesis of ethanol. Qualitative and quantitative composition of distilled ethanol were determined.

Введение

Большое внимание исследователей в настоящее время уделяется влиянию химических факторов на биоценозы и, как следствие, на протекающие биологические процессы.

Потребность в биологически активных веществах на современном этапе тесно связана с решением широкого круга проблем интенсификации производства и экологическим оздоровлением окружающей среды. В настоящее время промышленностью производится широкий ассортимент биологически-активных веществ медицинского, пищевого, сельскохозяйственного назначения.

Влияние химических факторов на составляющие компоненты биоценозов – одна из задач экологической науки. Прикладная сторона этого направления связана с возможностью использования стимулирующего эффекта в биотехнологии: процессах биоочистки сточных вод, наращивания биомассы биоценозов и т.д.

Положительное воздействие химических соединений, причисляемых к классу биологически-активных соединений, чаще всего связывают с их антиоксидантной активностью, которая проявляется в том, что подавляются процессы радиолитического разложения молекул воды, вызывающие образование пероксидных соединений и свободные радикалы, как в общей массе воды, так и в клетках [1, 2].

В этой связи представляло интерес выяснить влияние дифенилгуанидиновой соли бис(гидрооксиметил)фосфиновой кислоты (гуанибифоса) на селективность образования этилового спирта и побочных продуктов спиртового брожения под действием дрожжевой культуры, используемой при генерировании этилового спирта из сахарозы. Ранее проведенными работами показано, что гуанибифос оказывает активное воздействие на биоценоз активного ила в процессе аэробной

биологической очистки сточных вод производства органического синтеза [3, 4].

Экспериментальная часть

Исследования на возможность интенсификации биопроцесса осуществлялись путем внесения гуанибифоса с концентрацией $1 \cdot 10^{-8}$ г/л в реакционный сосуд емкостью 3 литра, содержащий прессованные хлебопекарные дрожжи, полученные по ТУ 9182-018-00353572-2005 (5 г), сахарозу (25 г), дистиллированную воду (200 мл).

Для измерения выделившегося углекислого газа собрана установка. Она состояла из сосуда емкостью три литра 1; пятилитрового протабулированного стеклянного сосуда 2; из двух резиновых шлангов 6; трех стеклянных трубочек 7; пластиковой крышки 5; зажима 8; эластичного резинового шара 3 и трех шариков из закаленной стали 4, которые применяются в качестве груза. Схема установки представлена на рис. 1.

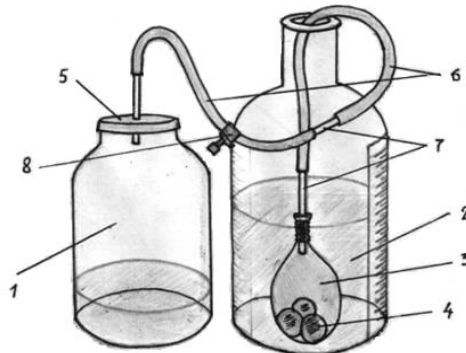


Рис. 1 – Лабораторная установка для измерения выделившегося объема газа

В сосуде 1 содержалось исследуемое суспендо. В пятилитровый сосуд было налито столько водопроводной воды, чтоб резиновый шар был полностью погружен в водную среду. Наблюдения за процессом спиртового брожения велись до окончания

выделения углекислого газа. Процесс брожения протекал в анаэробных условиях. Параллельно проводился эксперимент сравнения, то есть без добавления соли.

Для определения остаточной массы образовавшийся в результате спиртового брожения осадок отфильтровался и подвергся в дальнейшем высушиванию.

Жидкая часть исследовалась для определения ее качественного состава на хромато-масс-спектрометре – DFS Thermo Electron Corporation (США). Метод ионизации: электронный удар. Энергия ионизирующих электронов составляла 70 эВ, температура источника ионов – 280 °С. Использовалась капиллярная колонка DB-5MS фирмы «Agilent», длина – 30 м, диаметр – 0,254 мм. Газ-носитель – гелий. Обработка масс-спектральных данных проводилась с использованием программы «Xcalibur».

Условия получения хроматограммы:

1. Температура инжектора – 220 °С, деление потока (split) – 1:10.
2. Прогрев колонки осуществлялся в программном режиме: начальная температура – 70 °С (6 мин), нагрев со скоростью 6 °С/мин, до температуры – 120 °С (1 мин), далее нагрев со скоростью 10 °С/мин до конечной температуры – 280 °С (20 мин).
3. Поток газа-носителя через колонку – 1 мл/мин.
4. Температура устройства коммуникации с масс-спектрометром – 280 °С.
5. Объем пробы – 0,1 мкл

Обсуждение результатов

В первые 24 часа после начала эксперимента наблюдалось выделение углекислого газа из обоих сосудов с суслом. Причем, следует отметить, что объем газа, выделившегося из сусла, куда была добавлена соль, намного превосходил тот объем газа, который выделялся из контрольного образца. Наблюдения за процессом велись до полного окончания выделения газа. В контрольном образце оно прекратилось на 7 день, а в сусле, где содержалась соль, продолжалось 14 дней. По данным, полученным в результате измерения объема газа, были построены графики зависимости выделившегося углекислого газа от времени (рис. 2).

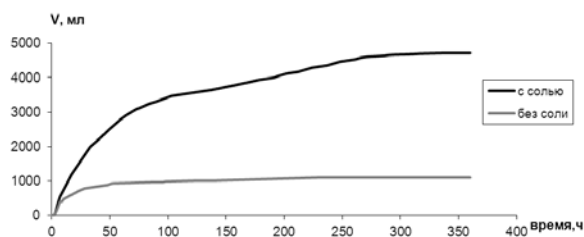


Рис. 2 – Графики зависимости выделившегося углекислого газа от времени

По графикам видно, что из контрольного образца основной объем газа выделился в первые 2 дня, в то время как добавление соли увеличило

длительность процесса, а также объем выделяющегося газа. Объем выделившегося газа из сосуда с опытным образцом приблизительно в 3 – 4 раза превышал объем газа, зафиксированный в эксперименте сравнения. Это свидетельствует о том, что гуанибифос интенсифицирует брожение и процесс протекает более полно.

После взвешивания отфильтрованных и высушенных осадков, было выяснено, что добавление гуанибифоса приводит к увеличению остаточной массы. Разница составила 0,23 г при исследовании процесса брожения 25 г сахарозы. Этот прирост можно отнести к росту биоценоза дрожжей.

По полученным результатам хромато-масс-спектрометрического исследования выяснено, что в пробе спирта контрольного образца содержатся: нитроэтанол, диэтилацеталь, изоамиловый спирт, н-амиловый спирт, оксиуксусная кислота. В пробе спирта опытного образца вышеуказанные продукты также зафиксированы, за исключением диэтилацетала, но в меньшем количестве. Результаты анализа представлены на рис. 3, 4.

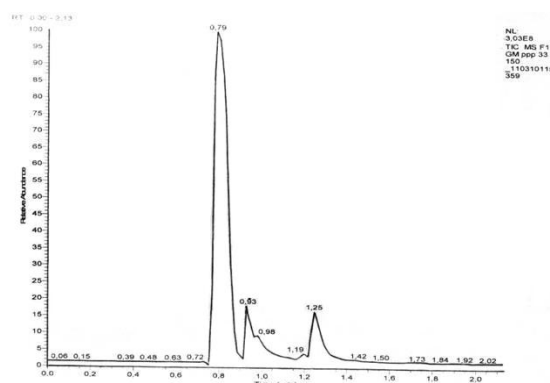


Рис. 3 – Хроматограмма пробы спирта контрольного образца

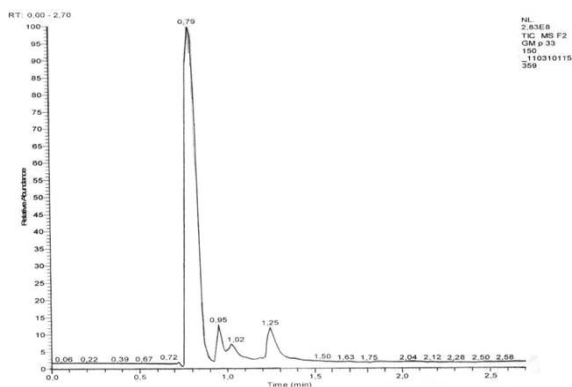


Рис. 4 – Хроматограмма пробы спирта опытного образца

Содержание этилового спирта в хроматограмме принято за 100 %, содержание остальных продуктов вычислено относительно содержания этилового спирта и приведено в табл. 1.

Результат исследования свидетельствует о том, что введение гуанибифоса приводит к более длительному процессу и уменьшает процент содержания побочных продуктов.

Таблица 1 – Процентное содержание побочных продуктов в пробах спирта

Название побочного продукта	Содержание побочного продукта, % об.	
	Проба спирта контрольного образца	Проба спирта опытного образца
Нитроэтанол	19,5	13,0
2-оксиуксусная кислота	9,6	7,0
Диэтилацеталь	5,0	–
Изоамиловый спирт	16,0	11,5
Н-амиловый спирт	2,0	2,5

Специально поставленный опыт с целью определения количества образующегося этилового спирта позволил сделать вывод, что добавление соли не оказывает влияния на количественное содержание спирта.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что исследованная соль

влияет на выход только побочно образующихся продуктов в биопроцессе синтеза спирта, которые можно объяснить процессом разложения побочных продуктов при более длительной жизнеспособности дрожжей в условиях, создаваемых гуанибифосом.

Литература

1. Закиров, Р. К. Кулонометрические исследования стрессирования биоценоза промышленных илов в условиях циклической гипо- и гипероксии / Р. К. Закиров [и др.] // Бутлеровские сообщения. – 2010. – Т. 19. – № 2. – С. 33 – 41.
2. Curzio M. Possible role of aldehydic lipid peroxidation products as chemoattractants / M. Curzio et al // International Journal of Tissue Reactions. – 1987. – V. 9(4). – P. 295-306.
3. Павлова, Т.П. Стимулирующее влияние соли бисоксиметилфосфиновой кислоты и N,N-дифенилгуанидина на биоценоз активного ила / Т. П. Павлова [и др.] // Экология и промышленность. – 2010. – № 12. – С. 24-26.
4. Рощина, О. С. Влияние химических факторов на биоценоз активного ила в процессе биологической очистки сточных вод органических производств / О. С. Рощина, Т. П. Павлова, С. В. Фридланд // Вестник КГТУ. – 2012. – Т. 15. – № 10. – С. 190-194.

© Г. Ш. Вагапова – магистр gugu-777@mail.ru; Т. П. Павлова – канд. техн. наук, доц. каф. инженерной экологии КНИТУ, ptpl@yandex.ru; Р. З. Мусин – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. доц. Института органической и физической химии им. А. Е. Арбузова КНИЦ РАН, musin@iopc.ru; С. В. Фридланд – д-р хим. наук, проф. каф. инженерной экологии КНИТУ, fridland@kstu.ru.