

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): $b = 35\%$ мол. - содержание ионогенных звеньев, $MM = 2,7 \cdot 10^6$ 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 $2,5 \div 10 \text{ }\mu\text{m}$. 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 фосфаманнанов 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

смЗ 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**, $r \cdot 10^3$, м
Концентрация клеток 12 %	Концентрация клеток 24 %	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,0002 0,17 0,18 1,6-2,1 0,0005*	0,22 0,63
<i>Candida lambica</i>	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.