

ОСАЖДЕНИЕ БИОМАССЫ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ
МЕТОДОМ КОАГУЛЯЦИИ

А.Х. ПАРОПЯН, М.П. МАЛАТЯН

*Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян**Фототрофные бактерии - биомасса - коагуляция.*

В микробиологической промышленности для выделения биомассы из культуральной жидкости часто применяют двухэтапный процесс, включающий предварительное осаждение клеток, а затем сушку осажденной массы тем или иным способом. Эффективным методом обезвреживания является осаждение клеток путем коагуляции с последующей декантацией надосадочной жидкости [4,5]. При выборе подходящего реагента и оптимальных условий (температура, pH и др.) необходимо учитывать ряд особых требований [1]. Коагулянт не должен ухудшать качество и свойства получаемого продукта, быть токсичным, повреждать клетки бактерий, окрашивать биомассу, разрушать содержащиеся в клетках пигменты, сильно изменять pH среды. Эти требования обусловлены составом культуральной жидкости, свойствами данного микроорганизма и назначением продукта. Данные по использованию метода коагуляции для осаждения бактерий немногочисленны [6,7].

Цель настоящей работы состояла в подборе подходящего коагулянта и условий осаждения для пурпурных бактерий, биомасса которых является ценным кормовым продуктом.

Материал и методика. Объектом исследований служили культуры фототрофных бактерий *Rhodobacter sphaeroides* ИИМИА В-6506 и *Rhodospirillum rubrum* ИИМИА В-6509, выделенные из минеральных источников Армении [3].

Культуры хранили на среде Ормеруда [8]. Ферментационной средой для массового выращивания служила минеральная вода Арзни N 23 с гидролизатом БВК (0,1 % сухого БВК).

Культуральную жидкость разливали в 0,5 л высокие стаканы, затем к ней добавляли раствор одного из осаждающих веществ и тщательно перемешивали. Испытывали растворы различной концентрации (0,1 - 5%).

Испытание осадителей проводили при определенных температурах и значениях pH культуральной жидкости. Значение pH устанавливали добавлением 0,1 N растворов NaOH или H₂SO₄. Степень осаждения определяли измерением оптической плотности культуральной жидкости на спектрофотометре СФ-26 при 660 нм. Состояние клеток в осажденной биомассе изучали с помощью фазово-контрастного микроскопа.

Результаты и обсуждение. Изучение влияния температуры на осаждение клеток *Rh.sphaeroides* показало, что нагревание культуральной жидкости до 50-60° не оказывает заметного действия. Положительных сдвигов не наблюдалось также при подкислении культуральной жидкости до pH 3,0. В то же время подщелачивание среды до 9,0-9,5 приводило к коагуляции биомассы. Однако, осадок при этом получался неплотным и объемистым. Последующая промывка дистиллированной водой не снижала pH.

Предварительное изучение осаждающего действия испытанных соединений выявило заметные различия в способности осаждать клетки *Rh.sphaeroides* из культуральной жидкости. Был отобран ряд соединений, вызывающих коагуляцию и осаждение клеток этой бактерии для дальнейшего изучения. Обобщенные результаты испытаний отдельных электролитов приведены в таблице.

Сравнительное изучение отобранных осадителей показало, что наиболее сильное осаждающее действие оказывают соединения железа, в частности хлорное железо, от которых, однако, пришлось отказаться из-за сильной токсичности и окрашивания бактериальной массы.

Следующими по эффективности осаждения были соединения алюминия. Значительное осаждающее действие оказывали сернокислый алюминий и алюмокалиевые квасцы. Эти соединения не токсичны. Скармливание биомассы, осажденной этими реагентами, цыплятам и курам-несушкам в течение длительного времени не вызывало нежелательных последствий [2].

Соединения кальция оказались значительно менее эффективными. Осаждение шло медленно и было недостаточно полным. Их следовало добавлять в больших количествах, что приводило к увеличению объема осадка.

Испытание осаждающего действия различных электролитов на клетки *Rh.sphaeroides*.

Электролиты	Значение pH после добавления осадителя	Температура при осаждении, °С	Концентрация осадителя, г/л	Скорость осаждения, мин	% осаж-дения	Изменение цвета биомассы
FeCl ₃ · 6H ₂ O	6,5-7,0	18	0,5	1	100	Коричневый
Al ₂ (SO ₄) ₃	7,0-7,5	25	1,0	10	100	Не меняется
Na ₂ SiO ₃	7,0-7,5	35	5,0	5	90	Желто-коричневый
KAl(SO ₄) ₂ · 12H ₂ O	7,0-7,5	20	0,75	1	100	Не меняется
CaCl ₂ · 2H ₂ O	9,0-9,5	18	4,0	45	90	Зеленоватый
CaO	9,0-9,5	40	0,75	30	80	Беловатый

В результате исследования осаждающего действия различных осадителей мы остановили свой выбор на алюмокалиевых квасцах как наиболее эффективном осадителе для культуры *Rh.sphaeroides*, не имеющем существенных отрицательных свойств. Этот осадитель не токсичный и не оказывает повреждающего действия на бактериальные клетки. Высев осажденных клеток на питательную среду показал, что они не утратили жизнеспособности. Действие коагулянта быстрое и при минимальном количестве он проявляет себя как высокоэффективный осадитель. Однако следует отметить специфичность осаждающего действия алюмокалиевых квасцов на несерные пурпурные бактерии. Будучи хорошим осадителем для *Rh.sphaeroides*, они не пригодны для осаждения *Rh.rubrum*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воюцкий С.С. Курс коллоидной химии. М., 1964.
2. Карапетян С.К., Баласанян Р.Г., Малатян М.Н., Паронян А.Х. Биолог. журн. Армении, 33, 2, 150-155, 1980.
3. Малатян М.Н., Арутюнян Т.Г., Паронян А.Х., Кенпен О.И., Александрюшкина Н.И. Микробиология, 3, 517-519, 1982.
4. Накамура Х. Микробиология, 30, 4, 628-632, 1961.

5. Тутова Г.Э., Куц П.С., Идельчик М.С., Каменская И.И. Микроб. пром., 2 (110), 11-14, 1974.
6. Хотьянович А.В., Боровков В.В., Веденева Н.А. Использование микроорганизмов в животноводстве и для защиты растений. Л., 1968.
7. Jamagishi H., Hattori T., Fumusaka G. Soil and Plant Nutr., 15, 3, 1969.
8. Ormerod J.G., Ormerod S.K., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.

Поступила 8.X.1994

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 616.31.314:577.15.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА В СЛЮНЕ БОЛЬНЫХ ПЕРИОДОНТИТОМ

А.Б.МАЖИНЯН, А.В. ГАСПАРЯН, В.Г. ТАТИНЯН

*Ереванский государственный медицинский университет, 375025
Республиканский Центр депонирования микробов ИАН
и Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян*

Лизоцим - диагностика - слюна - периодонтит.

Лизоцим (мурамидаза; мукопептид N-ацетилмурамоидгидролаза, КФ 3.2.11.17) - фермент, катализирующий гидролиз β -(1-4)гликозидазной связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозаминном в молекуле пептидогликана клеточной стенки главным образом грамположительных бактерий [6]. Лизоцим находится почти во всех тканях и биологических жидкостях человека и создает антибактериальный барьер в организме.

Определение активности лизоцима в слюне применяется в диагностических целях. Увеличение количества лизоцима в слюне является тестом, свидетельствующим о болезни, и применяющимся при разных стоматологических заболеваниях [3-5,7,9], а также при заболеваниях верхних дыхательных путей [8] и пищеварительного тракта [1]. Одним из распространенных заболеваний зубов является периодонтит, воспаление, которое развивается между верхушкой корня зуба и стенкой зубной альвеолы в результате проникновения патогенных микроорганизмов из канала корня зуба в периодонт при пульпите, кариесе или механических повреждениях.

Целью нашей работы являлось применение лизоцим-теста для определения количества лизоцима в слюне у больных периодонтитом.

Материал и методика. Исследовали 25 человек - стоматологические больные в возрасте от 25 до 60 лет.

Слюну из полости рта отбирали в стерильные пробирки, после прополаскивания ротовой полости водой, используя механическую стимуляцию. Слюнную жидкость из зубо-десневой кармана пораженных зубов отбирали с помощью стерильной турунды (ватный тампон, 12 мм). Последнюю вносили в зубо-десневой карман окружности пораженного зуба, оставили 3-4 мин. Турунда впитывала около 0,1 мл слюнной жидкости.

Количество лизоцима в смешанной слюне и турундах определяли после их 10-20-кратного разведения в 1/15 М фосфатном буфере, pH 6,5.

Определение количества и активности лизоцима проводили по следующей методике, разработанной нами.