

*С.М. ТАЖИБАЕВА, К.Б. МУСАБЕКОВ, К.Б. КОРЖЫНБАЕВА,
Ж.К. ЕСКЕЛЬДИНОВА, А.А. ЖУБАНОВА, Ж.А. ТАТТИБАЕВА*

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

ВЛИЯНИЕ КАТИОННЫХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ БИОДИСПЕРСИЙ

Аннотация

Проведен сравнительный анализ устойчивости биологических и минеральных дисперсий. Высокая устойчивость биодисперсий обоснована большим разнообразием функциональных групп на поверхности клеток микроорганизмов. Показана возможность регулирования устойчивости биодисперсий с помощью катионных полиэлектролитов – полиэтиленимина и полидиметилдиаллиламмония хлорида. На основании значений энергии взаимодействия дрожжевых клеток *Sacharomyces cerevisiae* показано, что определяющий вклад в суммарную энергию взаимодействия частиц вносит энергия электростатического взаимодействия. Флокулирующее действие катионных полимеров на суспензии дрожжевых клеток *Sacharomyces cerevisiae*, водорослей *Chlorella vulgaris* и сферосом растений клетки обусловлено совокупностью нейтрализационного и мостичного механизмов агрегации за счет дальнедействующих сил.

Ключевые слова: флокуляция, полиэтиленимин, полидиметилдиаллиламмоний хлорид, клетки микроорганизмов, биосорбент, адсорбция.

Тірек сөздер: флокулянт, полиэтиленимин, полидиметилдиаллиламмоний хлориді, микрооағза жасушалары, биосорбент, адсорбция.

Keywords: flocculant, polyethyleneimine, polydimethyldiallylammonium chloride, microorganism cells, biosorbent, adsorption.

Уникальные свойства клеток микроорганизмов и их органелл: развитая поверхность, высокая плотность заряда и полифункциональность химических групп на ней открывают широкие возможности их использования для решения экологических проблем, в частности, для очистки сточных вод.

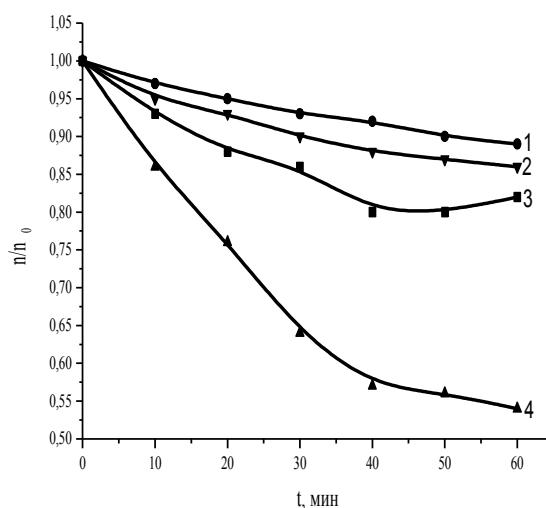
Очистка сточных вод с использованием микроорганизмов основывается на процессе флокуляции биокolloидных частиц. Однако, несмотря на такие столь явные преимущества использования биосорбентов, как высокая степень очистки, хорошая

регенерируемость, метод очистки сточных вод с помощью флокулированных микроорганизмов не нашел еще широкого распространения. Это связано, с одной стороны, недостаточной изученностью самого процесса концентрирования клеток микроорганизмов полимерами, а с другой – отсутствием критериев подбора полимеров, обеспечивающих сохранение сорбционных свойств нативных клеток.

С учетом необходимости выявления вклада индивидуальных особенностей биологических объектов в устойчивость их дисперсий использованы биоколлоиды, относящиеся к различным классам, это дрожжевые клетки *Sacharomyces cerevisiae*, водоросли *Chlorella vulgaris* и сферосомы растительной клетки. Частицы их отличаются как по строению и химическому составу поверхности, так по размеру и форме. Дрожжевые клетки имеют эллипсоидальную форму, клетки водорослей – вид продолговатых частиц, а сферосомы, как следует из их названия, представляют собой частицы сферической формы [1-3].

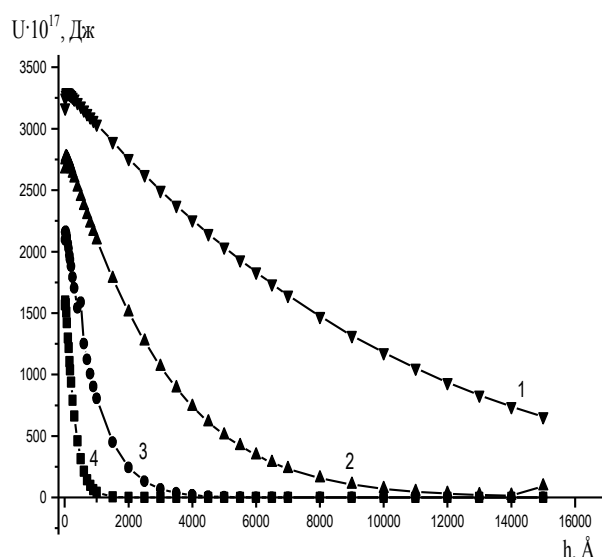
В качестве флокулянтов использовали катионные полимеры: полиэтиленимин (ПЭИ) и полидиметилдиаллиламмония хлорид (ПДМДААХ).

Кривые оседания биодисперсий во времени приведены на рисунке 1. Суспензии клеток и сферосом довольно устойчивы, величины n/n_0 , представляющие собой отношение количества частиц в суспензии в данный момент времени к исходной концентрации частиц, снижаются за 60 минут от 1,0 до 0,82-0,90. Для сравнения отметим, что концентрация суспензии глины с аналогичной оптической плотностью за этот промежуток времени претерпевает значительные изменения, величина n/n_0 снижается почти вдвое.



$$C_{др} = 8 \cdot 10^6 \text{ кл/мл}; C_{вод} = 13,2 \cdot 10^7 \text{ кл/мл}; C_{сф} = 5 \cdot 10^8 \text{ кл/мл}.$$

Рисунок 1 – Кривые оседания сферосом (1), водорослей (2), дрожжевых клеток (3) и глины (4) во времени



1. $C_{\text{NaCl}}=1 \cdot 10^{-3}$ M; 2. $C_{\text{NaCl}}=1 \cdot 10^{-2}$ M; 3. $C_{\text{NaCl}}=1 \cdot 10^{-1}$ M; 4. $C_{\text{NaCl}}=1$ M

Рисунок 2 - Энергия взаимодействия дрожжевых клеток *Sacharomyces cerevisiae* в среде 1-1- валентного электролита

Наблюдаемая высокая устойчивость биодисперсий может быть обусловлена, прежде всего, наличием на их поверхности диссоциированных функциональных групп. Поверхность дрожжей, водорослей и сферосом богата фосфатными карбоксильными, аминными, гидроксидными группами, придающими поверхности довольно высокий заряд [4-5]. Существование слоя, обуславливает значительный вклад сил электростатического отталкивания во взаимодействие частиц, что обеспечивает агрегативную и седиментационную устойчивость системы.

Кроме того, поверхностное натяжение на границе клетка/раствор приближается к нулю, что также способствует сохранению устойчивости системы [6]. Различие в скорости осаждения клеток *Sacharomyces cerevisiae*, *Chlorella vulgaris* и сферосом растительной клетки следует, вероятно, объяснять специфичностью морфологии и физиологии различных классов биологических систем, а также слизистыми оболочками и другими поверхностными структурами, образующимися в результате нормального роста или являющимися следствием неблагоприятного влияния окружающей среды. Здесь также уместно отметить, что суспензии клеток вирусов и ряда бактерий могут быть седиментационно устойчивы длительное время в результате броуновского движения.

Однако при всем многообразии индивидуальных характеристик биодисперсий при рассмотрении их седиментационной устойчивости определяющими следует считать массу частиц, которая, соответственно, находится в непосредственной зависимости от размера и плотности частиц. Размеры частиц исследуемых объектов составляют: 4-8 мкм у дрожжевых клеток, 3-6 мкм у водорослей и 0,1-1,0 мкм у сферосом. Скорость осаждения частиц наибольшая у дрожжей, несколько меньше – у водорослей, а самое замедленное осаждение – у сферосом.

Клетки микроорганизмов и сферосом имеют плотность, незначительно отличающуюся от плотности культуральной жидкости – 1,05-1,10 г/см³ [7]. Разницу в плотности частиц дисперсной фазы ($\rho=1,8$ г/см³) и дисперсионной среды можно рассматривать в качестве одной из причин быстрого осаждения глинистых частиц, являющихся типичными представителями лиофильных коллоидных систем с развитой поверхностью.

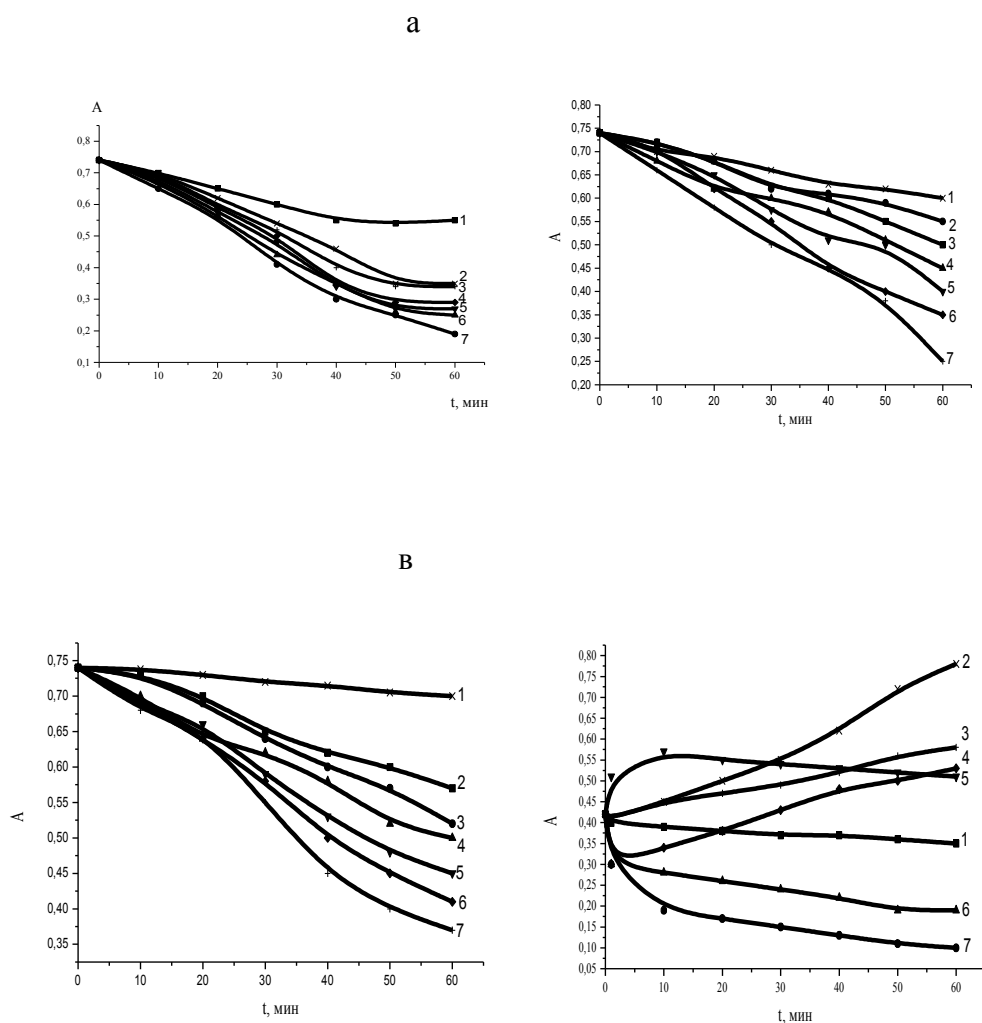
Расчет энергии взаимодействия клеток *Sacharomyces cerevisiae*, имеющих наибольшую скорость осаждения, в растворах NaCl (рисунок 2) показывает, что определяющий вклад в суммарную энергию взаимодействия клеток дрожжей вносит энергия электростатического взаимодействия. Кривая энергии электростатического отталкивания имеет высокие значения на расстояниях между частицами 5-10 нм (50-100 Å⁰), а с увеличением значения h величины U , постепенно снижаются. Значения энергии межмолекулярного притяжения частиц на 2 порядка меньше значений энергии электростатического отталкивания, т.е. приближаются к нулю. Отсутствие минимумов на потенциальной кривой свидетельствует о высокой устойчивости суспензии клеток, которая может быть нарушена лишь при условии снижения потенциального барьера, т.е. на расстояниях, больших 5-10 нм.

Введение в суспензии клеток *Sacharomyces cerevisiae*, водоросли *Chlorella vulgaris* катионных полиэлектролитов – полиэтиленimina (ПЭИ) и полидиметилдиаллиламмония хлорида (ПДМДААХ) в интервале концентрации 10⁻⁶-10⁻¹ осново-моль/л (рисунок 3) приводит к снижению их оптической плотности, причем с увеличением концентрации полимера растет и скорость оседания частиц. Это связано с флокуляцией клеток в результате адсорбции на них макромолекул полимера.

Главным отличием флокуляции от коагуляции является то, что в дополнение, а иногда и взамен к непосредственному взаимодействию поверхностей двух или нескольких частиц при флокуляции проявляется взаимодействие этих поверхностей посредством макромолекул флокулянтов. При этом флокулянты могут выступать в роли коагулянтов и приводить к обычной коагуляции частиц суспензии.

В любом случае условием флокулирующего действия полиэлектролитов на дисперсные частицы является их адсорбция. Адсорбция ПЭИ и ПДМДААХ на поверхности клеток происходит за счет электростатического взаимодействия их функциональных групп с отрицательно заряженными группами поверхности клеток: фосфатными, карбоксильными и др. Не исключается также возможность прикрепления углеводородных участков макромолекул полимеров к гидрофобным участкам поверхности клеток. Эти взаимодействия, скорее всего, являются силами, стабилизирующими электростатические контакты между поверхностью клеток и полимером. Кроме того, разнообразие функциональных групп на поверхности клеток позволяет предполагать возможность образования ковалентных связей между поверхностью и флокулянтом. Именно знак и величина заряда, а не химическая природа иона, имеют определяющее значение для адсорбции. В случае, когда поверхность частиц и молекулы флокулянта заряжены противоположно, полимер под влиянием электростатических сил адсорбируется на поверхности частиц, вытесняя оттуда минеральные ионы. Как показывают данные адсорбции (таблица 1), величина адсорбции ПЭИ на поверхности клеток довольно значительна, причем в области концентрации 10⁻³

осново-моль/л ($C_{\text{равн}}=0,008$ мг/мл) и выше ее значения становятся неизменными, что свидетельствует о насыщении поверхности.



1-0; 2- 10^{-6} ; 3- 10^{-5} ; 4- 10^{-4} ; 5- 10^{-3} ; 6- 10^{-2} ; 7- 10^{-1}

$C_{\text{др}} = 8 \cdot 10^6$ кл/мл; $C_{\text{вод}} = 13,2 \cdot 10^7$ кл/мл; $C_{\text{сф}} = 5 \cdot 10^8$ кл/мл

Рисунок 3 – Кривые флокуляции клеток *Sacharomyces cerevisiae* в присутствии ПДМДААХ (а) и ПЭИ (б), водорослей *Chlorella vulgaris* (в) и сферосом (г) в присутствии ПДМДААХ различной концентрации (осново-моль/л)

Таблица 1 – Адсорбция ПЭИ на поверхности клеток *Sacharomyces cerevisiae* и *Chlorella vulgaris*

| $C_{\text{ПЭИ}}, \text{мг/мл}$ | 0,004 | 0,005 | 0,007 | 0,008 | 0,009 |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| $A, \text{мг/см}^2$ дрож.клеток | $6 \cdot 10^{-4}$ | $10 \cdot 10^{-4}$ | $16 \cdot 10^{-4}$ | $18 \cdot 10^{-4}$ | $18 \cdot 10^{-4}$ |
| $A, \text{мг/пов.}$ дрож.клеток | $3 \cdot 10^{-12}$ | $5 \cdot 10^{-12}$ | $8 \cdot 10^{-12}$ | $9 \cdot 10^{-12}$ | $9 \cdot 10^{-12}$ |
| $A, \text{мг/см}^2$ водорослей | $5 \cdot 10^{-4}$ | $7 \cdot 10^{-4}$ | $13 \cdot 10^{-4}$ | $13 \cdot 10^{-4}$ | $13 \cdot 10^{-4}$ |
| $A, \text{мг/пов.}$ водорослей | $4,5 \cdot 10^{-13}$ | $6,3 \cdot 10^{-13}$ | $1,2 \cdot 10^{-13}$ | $1,2 \cdot 10^{-13}$ | $1,2 \cdot 10^{-13}$ |

Что же касается влияния этих полимеров на скорость осаждения клеток, то, как видно из рисунка 3, флокуляция дрожжей более эффективна в случае ПДМДААХ. Однако кривые осаждения частиц сферосом в присутствии ПДМДААХ имеют совершенно иной вид (рисунок 3). При малых концентрациях полимера (10^{-6} - 10^{-4} осново-моль/л) мутность системы повышается, а при высоких – понижается.

Столь высокая степень агрегации в начальный момент времени, наблюдаемая на рисунке 3 (кривые 2-4), может быть связана с высокой эффективностью соударения частиц в присутствии катионного флокулянта, когда каждое столкновение приводит к образованию агрегата по механизму быстрой коагуляции по теории Смолуховского. С ростом концентрации полимера увеличивается степень агрегирования частиц, что ведет к их осаждению. Это сопровождается уменьшением оптической плотности (кривые 5-7). Таким образом, флокуляция частиц сферосом катионным полимером, как и агрегация клеток дрожжей *Sacharomyces cerevisiae* и водорослей *Chlorella vulgaris*, идет за счет снижения заряда поверхности, т.е. по нейтрализационному механизму дестабилизации.

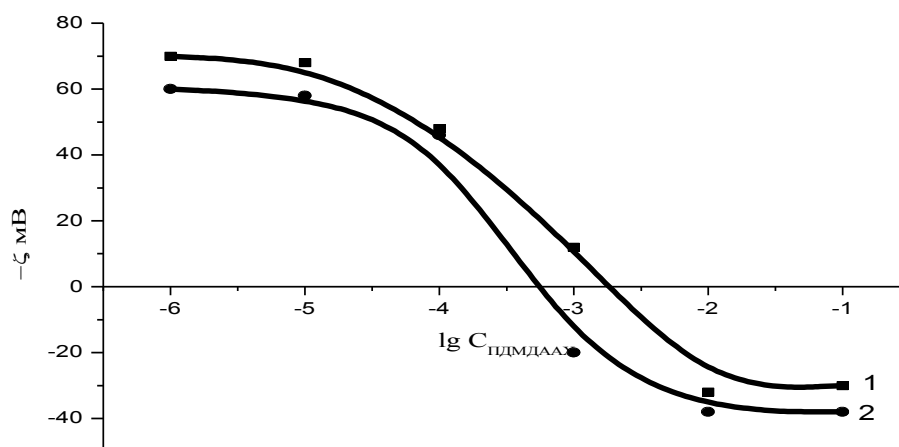


Рисунок 4 - Зависимость ζ- потенциала сферосом (1) и водорослей *Chlorella vulgaris* (2) от концентрации ПДМДААХ

Различие в ходе изменения кинетических кривых при введении ПДМДААХ различной концентрации в суспензиях сферосом, водорослей и дрожжей обусловлено, вероятно, тем, что сферосомы представляют собой органеллу клеток и размер их на порядок меньше размера клеток *Chlorella vulgaris* и *Sacharomyces cerevisiae*. Поэтому сфлокулированные клетки дрожжей и водорослей приобретают большую массу и осаждаются быстрее, нежели агрегаты сферосом. С ростом концентрации полимера скорость оседания частиц сначала увеличивается, а затем снижается, что обусловлено стабилизацией системы за счет образования на поверхности частиц заряженных адсорбционных слоев.

Эти результаты находятся в хорошем согласии с данными электрофореза. Как видно из рисунка 4, введение ПЭИ и ПДМДААХ в суспензию клеток снижает величину электрокинетического потенциала клеток вплоть до перезарядки в области 10^{-4} - 10^{-3} осново-моль/л. Причем если нейтрализация заряда клеток *Sacharomyces cerevisiae* наступает при концентрации 10^{-4} осново-моль/л, то для нейтрализации заряда сферосом и водорослей *Chlorella vulgaris* требуется расход ПДМДААХ порядка 10^{-3} осново-моль/л, между тем как ПДМДААХ, имеющий в своей цепи атомы четвертичного азота, является более сильнозаряженным катионным полиэлектролитом, нежели ПЭИ. Это, по-видимому, связано с большей удельной поверхностью этих дисперсий.

Таким образом, специфичность строения поверхности биокolloидов, наличие на них значительного отрицательного заряда, обуславливающие сильную гидратацию их поверхности, а также невысокие значения плотности клеток и клеточных органелл, являются факторами, способствующими стабилизации суспензии клеток микроорганизмов и сферосом.

Флокулирующее действие на них катионных полимеров: ПЭИ и ПДМДААХ осуществляется при совокупном действии нейтрализационного и мостичного механизмов агрегации, причем агрегация осуществляется за счет дальнедействующих сил с образованием «аморфных» структур. Наиболее подверженными флокуляции катионными полимерами оказались дрожжевые клетки *Sacharomyces cerevisiae*, затем – клетки водорослей *Chlorella vulgaris* и сферосомы, что обусловлено различием в их поверхностных свойствах и размерах.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Баран А.А., Тесленко А.Я. Флокулянты в биотехнологии. - Л.: Химия, 1990.-121 с.
- 2 Кучер Р.В., Туровский А.А., Иващук Ю.А. Характер поверхности и гидрофобность клеточной стенки микроорганизмов // Коллоидн. журн. – 1990. – Т.52, № 4. – С. 789-791.
- 3 Lee D.C., Park C.J., Yang J.E., Jeong Y.H., Rhee H.I. Screening of hexavalent chromium biosorbent from marine algae // Appl. microbial. and biotechnol. – 2000. – Т. 54, № 3. – P. 445-448.
- 4 Malgorzata Rajfur, Andrzej Klos, Maria Waclawek. Sorption properties of algae *Spirogyra* sp. and their use for determination of heavy metal ions concentrations in surface water // Bioelectrochem. – 2010. – Vol. 80. – P. 81–86.

- 5 Dumitru Bulgariu, Laura Bulgariu. Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass // Bioresource Technology – 2012. – Vol.103. – P. 489–493.
- 6 Иост Х. Физиология клетки. - М.: Мир, – 1975. – 864 с.
- 7 Макиров К.А. Микробиология, вирусология и иммунология. Алма-Ата, 1974.-372 с.

REFERENCES

- 1 Baran A.A., Teslenko A.Ja. Flokuljanty v biotehnologii. - L.: Himija, 1990.-121 s.
- 2 Kucher R.V., Turovskij A.A., Ivashhuk Ju.A. Harakter poverhnosti i gidrofobnost' kletочноj stenki mikroorganizmov // Kolloidn. zhurn. – 1990. – Т.52, № 4. – S. 789-791.
- 3 Lee D.C., Park C.J., Yang J.E., Jeong Y.H., Rhee H.I. Screening of hexavalent chromium biosorbent from marine algae // Appl. microbial. and biotechnol. – 2000. – Т. 54, № 3. – R. 445-448.
- 4 Malgorzata Rajfur, Andrzej Klos, Maria Waclawek. Sorption properties of algae Spirogyra sp. and their use for determination of heavy metal ions concentrations in surface water // Bioelectrochem. – 2010. – Vol. 80. – P. 81–86.
- 5 Dumitru Bulgariu, Laura Bulgariu. Equilibrium and kinetics studies of heavy metal ions biosorption on green algae waste biomass // Bioresource Technology – 2012. – Vol.103. – P. 489–493.
- 6 Iost H. Fiziologija kletki. - М.: Mir, – 1975. – 864 s.
- 7 Makirov K.A. Mikrobiologija, virusologija i immunologija. Alma-Ata, 1974.-372 s.

*Тәжібаева С.М., Мұсабеков Қ.Б., Қоржынбаева Қ.Б.,
Ескелдинова Ж.Қ., Жұбанова А.А., Тәттібаева Ж.А.*

(әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы қ.)

КАТИОНДЫҚ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТТЕРДІҢ БИОДИСПЕРСИЯЛАР
ТҰРАҚТЫЛЫҒЫНА ӘСЕРІ

Резюме

Биологиялық және минералдық дисперсиялар тұрақтылығына салыстырмалы талдау жасалған. Биодисперсиялардың жоғары тұрақтылығы микроағзалар жасушаларының бетіндегі функционал топтардың сан алуандығымен негізделген. Биодисперсиялардың тұрақтылығын катиондық полиэлектролиттер – полиэтиленимин және полидиметилдиаллиламмоний хлоридімен реттеу мүмкіндігі көрсетілген. *Sacharomyces cerevisiae* ашытқы жасушаларының өзара әрекеттесу энергиясын анықтау арқылы ондағы электростатикалық әрекеттесу энергиясының анықтаушы рөлі көрсетілген. Катиондық полимерлердің *Sacharomyces cerevisiae* ашытқы жасушаларына, *Chlorella vulgaris* балдыр жасушаларына және өсімдік жасушаларының сферосомасына флокуляциялық әсері бейтараптық және көпіршелік механизмдермен негізделген.

Тірек сөздер: флокулянт, полиэтиленимин, полидиметилдиаллиламмоний хлориді, микроағза жасушалары, биосорбент, адсорбция.

Tazhibayeva S.M., Musabekov K.B., Korzhynbayeva K.B.,

Eskeldinova Zh. K., Zhubanova A.A., Tattibayeva Zh.A.

(Kazakh National university of the name al'-Farabi, Almaty)

EFFECT OF CATIONIC POLYELECTROLYTES ON THE BIODISPERSIONS STABILITY

Summary

A comparative analysis of the stability of biological and mineral dispersions. High stability of biodispersy grounded large variety of functional groups on the surface of microbial cells. The possibility of regulation biodispersy stability using cationic polyelectrolyte – polyethyleneimine and polydimethyldiallylammonium chloride. On the basis of the values of the interaction energy *Sacharomyces cerevisiae* yeast cells showed that the decisive contribution to the total energy of the particle interaction energy has the electrostatic interaction. Flocculating effect of cationic polymers on the suspension of yeast cells *Sacharomyces cerevisiae*, algae *Chlorella vulgaris* and spherosome plant cells is caused by a set of bridged and neutralization mechanisms of aggregation due to long-range forces.

Key words: flocculant, polyethyleneimine, polydimethyldiallylammonium chloride, microorganism cells, biosorbent, adsorption.

Поступила 12.09.2013 г.

