

Structural-mechanical modification of the particle surface hydro suspension koskudyk kaolinite

The influence Sodium carboxymehtyl cellulose on structural-mechanical properties of hydro suspension kaolin are investigated. It is revealed that small concentration of NaCMC changes structural-mechanical properties of hydrosuspension of Koskudyk kaolin. The possibility of management by structurally-mechanical properties kaolin pastes is shown.

Keywords: kaolinite, sodium carboxymehtyl cellulose, structurally-mechanical properties, structural-mechanical type.

УДК 544.77

С.М.Тажибаева, К.Б.Мусабеков, А.А.Жубанова

Казахский национальный университет им.аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

Коллоидно-химические свойства биологических дисперсий

Представлены результаты исследования коллоидно-химических свойств клеток микроорганизмов. Показано, что поведение клеток дрожжей *Torulopsis kefir var kumis*, *Sacharomyces cerevisiae* и сферосом растительной клетки на границе фаз масло/вода определяется свойствами граничащей фазы: диэлектрической проницаемостью, природой и размерами молекул органической среды. Установлен факт неизменности заряда электрокинетического потенциала дрожжевых клеток при изменении pH среды от 2 до 8 и наличие ИЭТ для сферосом и водорослей при pH 5,0-5,2. Выявлена высокая сорбционная способность клеток к ионам металлов.

Ключевые слова: биологические дисперсии, клетки микроорганизмов, электрокинетический потенциал.

Интенсивное развитие нано- и биотехнологии требует развития исследований, находящихся на стыке различных дисциплин. Одним из таких стремительно развивающихся направлений является коллоидная химия биодисперсий, наиболее интересными и практически важными разделами которой являются иммобилизация ферментов и клеток микроорганизмов, гемосорбция, стабилизация биодисперсий. В исследованиях такого рода большую роль играют процессы, основанные на взаимодействии клеток микроорганизмов с окружающей средой: смачивание, адсорбция, адгезия. Немаловажную роль играют также вопросы агрегативной и седиментационной устойчивости суспензий клеток микроорганизмов и поиск путей их регулирования.

Практическая ценность таких исследований определяется возможностью получения эффективных био- и наносорбентов и биокатализаторов на основе клеток микроорганизмов и их композиций с органическими и минеральными носителями. Кафедра аналитической, коллоидной химии и технологии редких элементов в тесном сотрудничестве с кафедрой биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби проводит исследование коллоидно-химических свойств биологических дисперсных систем.

В настоящей работе приведены основные результаты этих исследований.

Экспериментальная часть

В исследованиях использованы следующие биологические дисперсные системы: дрожжевые клетки *Sacharomyces cerevisiae* и *Torulopsis kefir var kumis*, бактерии *Pseudomonas mendocina* и сферосомы растительной клетки.

В качестве спейсера и флокулянтов использованы катионные полимеры: полиэтиленимин (ПЭИ) с молекулярной массой $1 \cdot 10^4$ и полидиметилдиаллиламмония хлорид (ПДМДААХ) с молекулярной массой $2,5 \cdot 10^5$, а носителями клеток служили диатомиты Мугоджарского месторождения.

Результаты и их обсуждение

Клетки микроорганизмов являются уникальными системами, которые по своей дисперсности и поверхностным свойствам могут быть отнесены к объектам коллоидной химии. В классификации дисперсных систем по размерам частиц они занимают широкий интервал от истинных ($\sim 10^{-7}$ м) до

грубодисперсных коллоидов ($\sim 10^{-5}$ - 10^{-4} м) [1], а по степени взаимодействия дисперсной фазы с дисперсионной средой и термодинамической устойчивости они относятся к лиофильным [2].

Белковая природа клеточной поверхности определяет ее дифильность, поэтому для поверхности клеток вполне применимо понятие гидрофильно-липофильного баланса. Одним из наиболее простых методов определения фильности поверхности клеток является измерение угла смачивания. Опыты по нанесению клеток микроорганизмов на поверхность кварца и тефлона показали, что если углы смачивания немодифицированных поверхностей кварца и тефлона составляют 13° и 98° , то у покрытых клетками поверхностей кварца и тефлона они составляют $11,3^{\circ}$ и $10,3^{\circ}$ соответственно [3].

Наиболее информативным для качественной характеристики гидрофобно-гидрофильных свойств поверхности клеток является метод, основанный на взаимодействии клеток с жидкими углеводородами. При этом о термодинамике процесса распределения клеток между водной и органической фазами судят по изменению энергии Гиббса, рассчитанной из данных по распределению клеток между двумя фазами [4, 5]. При $\Delta G < 0$ возможен переход частиц в органическую фазу, при $\Delta G > 0$ клетки остаются в водной среде.

Таблица 1 – Гидрофобность клеток микроорганизмов и сферосом растительной клетки на границе масло/вода

Органическая фаза	ε	K_p	Гидрофобность, %	ΔG , кДж/моль
<i>Torulopsis kefir var kumis</i>				
Хлороформ	4,80	1,24	55,42	-0,53
Гексан	1,89	0,31	23,78	2,84
Гептан	1,92	0,29	22,60	3,00
Октан	1,94	0,19	16,39	3,98
Декан	1,99	0,15	13,49	4,53
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>				
Хлороформ	4,80	1,48	59,71	-0,96
Гексан	1,89	0,58	36,99	1,28
Гептан	1,92	0,46	31,83	1,85
Октан	1,94	0,30	23,61	2,86
Декан	1,99	0,27	21,70	3,13
Сферосома растительной клетки				
Хлороформ	4,80	>1	>50	<0
Четыреххлористый углерод	2,23	>1	>50	<0
Гексан	1,89	0,13	11,50	0,48
Гептан	1,92	0,40	28,57	2,23
Октан	1,94	0,45	31,03	1,94
Декан	1,99	0,52	34,21	1,59

Стремление клеток в водную фазу после смешения их суспензий с органическими растворителями можно было бы связать с невысокими значениями диэлектрической проницаемости органической фазы, которые находятся в пределах 1,89 – 4,80 [6], т.е. намного меньше, чем у воды. В то же время на границе с хлороформом, диэлектрическая проницаемость которого также намного меньше, чем у воды – 4,80 – наблюдается обратное явление. Значения K_p в этом случае составляют 1,24 для клеток *Torulopsis kefir var kumis* и 1,48 для *Sacharomyces cerevisiae*, что указывает на возможность перехода клеток в масляную фазу.

Остальные характеристики данной системы: значения гидрофобности и энергии Гиббса также указывают на предпочтительность перехода клеток в масляную фазу: значения Γ составляют 55,42 % и 59,71 % для *Torulopsis kefir var kumis* и *Sacharomyces cerevisiae* соответственно, т.е. больше половины клеток суспензии находятся в хлороформе, отрицательность знака ΔG указывает на термодинамическую выгодность перехода клеток в органическую фазу. Такая разница в значениях K_p и Γ для хлороформа и предельных углеводородов объяснена возможностью проникновения молекул органических веществ в гидрофобные участки поверхности клеток при их соприкосновении. Чем меньше размер их молекул, тем больше вероятность их проникновения в белок-липидный комплекс.

ИК-спектроскопическими исследованиями показано большое разнообразие функциональных групп на поверхности клеток, способных к диссоциации: карбоксильных, фосфатных, аминных, гидроксидных, сульфгидрильных и т.д. [7, 8]. Концентрация и степень их диссоциации определяют

общий заряд клеточной стенки, при этом в прилегающем к клетке растворе электролита формируется экранирующая заряженные группы обкладка противоионов, возникающий при этом двойной слой и определяет электроповерхностные свойства клетки.

Кроме того, образование зарядов на поверхности обусловлено наличием трансмембранного потенциала, т.е. разности потенциалов между цитоплазмой клетки и окружающей средой [8]. Измерять трансмембранный потенциал прямыми методами не удастся, зато можно определить другую величину, симбатно изменяющуюся с изменением поверхностного потенциала – электрокинетический потенциал.

Определение ξ -потенциала поверхности клеток при различных значениях pH среды показало наличие отрицательного заряда на их поверхности. Причем клетки дрожжей *Torulopsis kefir var kumis* и *Sacharomyces cerevisiae* показывают неизменность заряда во всем интервале pH от 2 до 10, а клетки водорослей и сферосомы обнаруживают pH-зависимость электрокинетического потенциала, типичную для белковых структур – с потерей заряда в изоэлектрической точке и изменением знака заряда после нее [3].

Постоянство знака заряда при изменении pH среды, отмеченное для дрожжевых клеток, несколько неожиданно для белковых систем: большинство клеток микроорганизмов имеет отрицательный заряд, который меняется на противоположный в кислой среде вследствие протонизации аминогрупп [1]. Вместе с тем известны случаи и неизменности заряда знака заряда при изменении среды от сильнокислой до сильнощелочной. Такие факты отмечены для клеток бактерий *Methylococcus capsulatus* ВСБ-86, *Methylosinus trichosporium* и *Azotobacter vinelandii* [9, 10].

Клетки микроорганизмов способны накапливать на своей поверхности ионы металлов в количествах, намного превышающих их сорбционную емкость, при этом функциональные группы поверхности могут связываться с ионами металлов за счет ионного обмена, электростатического, донорно-акцепторного взаимодействия, процессов солеобразования, осаждения, окислительно-восстановительных реакций. Возможность изменения концентрации диссоциированных групп на поверхности клеток при их взаимодействии с ионами металлов может определенным образом повлиять и на устойчивость суспензий клеток микроорганизмов. Наиболее чувствительным к присутствию ионов металлов в среде является электрокинетический потенциал поверхности клеток, поэтому представляло определенный интерес исследование влияния ионов металлов на ξ - потенциал клеток. На примере дрожжевых клеток *Torulopsis kefir var kumis* и *Sacharomyces cerevisiae*, поверхностные свойства которых изучены наиболее подробно, исследовано влияние концентрации ионов различной природы и валентности на ξ - потенциал их поверхности (рисунок 1). Значения ξ -потенциала для *Torulopsis kefir var kumis* и *Sacharomyces cerevisiae* равны -46 мВ и -38 мВ соответственно. Введение ионов металлов в суспензию клеток, вопреки ожиданию, приводит к увеличению отрицательности поверхности. Рост отрицательного ξ -потенциала поверхности наблюдается в области концентрации солей 10^{-6} - 10^{-4} М. При концентрациях выше 10^{-4} М электрокинетический потенциал поверхности начинает монотонно снижаться (рисунок 1: а, б).

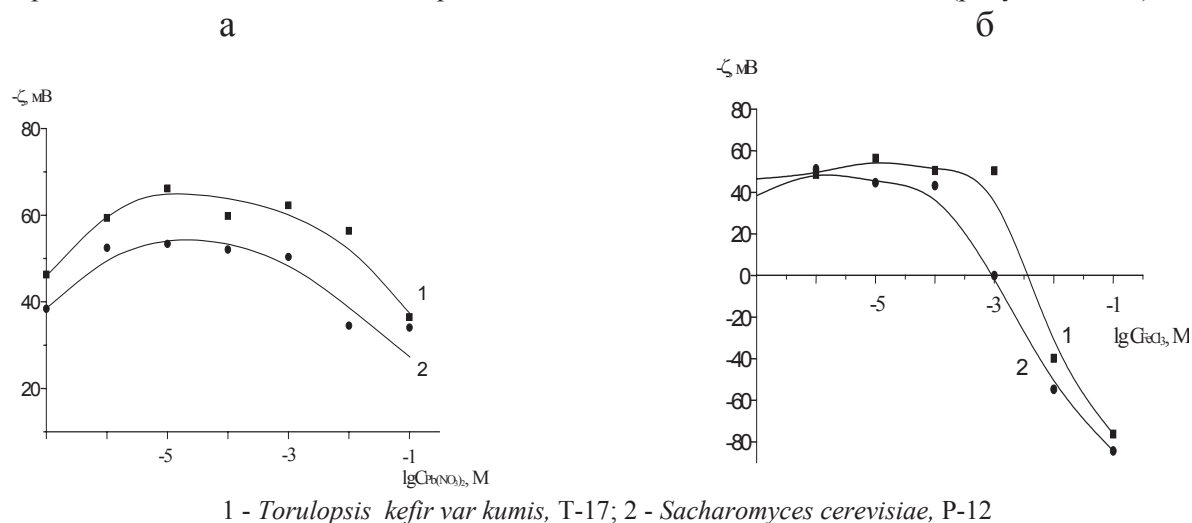


Рисунок 1 – Зависимость электрокинетического потенциала дрожжевых клеток от концентрации $Pb(NO_3)_2$ (а) и $CrCl_3$ (б)

Согласно [11, 12] аномальное увеличение ξ -потенциала может быть связано с выводом на поверхность отрицательно заряженных групп для захвата элементов в качестве питательного фонда, а снижение - с физико-химическими процессами, т.е. со сжатием диффузной части ДЭС. Такая чувствительность поверхности клеток к окружающей среде является также результатом присутствия на поверхности клеточной мембраны пор, размер которых находится в пределах 0,7-0,8 нм.

Значительные изменения электрокинетического потенциала поверхности клеток под влиянием ионов металлов свидетельствуют об эффективности процесса их сорбции. В связи с этим нами изучена адсорбция ионов металлов на поверхности дрожжевых клеток *Torulopsis kefir var kumis*, *Sacharomyces cerevisiae* и сферосом растительной клетки.

В опытах по определению величин адсорбции ионов металлов на поверхности клеток исходные концентрации солей были такими же, как и при изучении их влияния на ξ -потенциал: от 10^{-5} до 10^{-1} моль/л. Изотермы адсорбции ионов Fe^{3+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} и Co^{2+} на поверхности дрожжевых клеток *Torulopsis kefir var kumis* и *Sacharomyces cerevisiae* имели вид восходящих кривых [13, 14]. Классическая изотерма адсорбции Ленгмюра, как известно, имеет участок, соответствующий максимальной адсорбции при насыщении поверхности. Отсутствие такого плато на изотермах адсорбции ионов металлов на поверхности дрожжей может быть свидетельством полимолекулярной адсорбции, в данном случае полиионной. Действительно, обнаруживаемая многими микроорганизмами высокая сорбционная емкость является следствием многослойности адсорбции. Так, например, накопление Cd^{2+} у бактерий кишечных палочек составляло 0,7 – 89 мг/г сухой массы [15], клетки водорослей сорбировали от 200 до 500 мг/г ионов Au^{3+} , Cu^{2+} и Ag^{+} [16].

Для облегчения процесса отделения клеток микроорганизмов от растворов проведены опыты по иммобилизации клеток дрожжей на поверхности диатомита в присутствии полиэтиленимина. Выбор ПЭИ обусловлен тем, что его макромолекулы, адсорбируясь на поверхности отрицательно заряженного минерала, при определенной концентрации могут перезаряжать ее. Приобретение частицами минерала положительного заряда создает условия для адсорбции на ней клеток микроорганизмов, имеющих отрицательный заряд. Оптимизация условий иммобилизации клеток микроорганизмов в присутствии ПЭИ показала, что максимальная иммобилизация клеток *Torulopsis kefir var kumis* и *Pseudomonas mendocina* НЗ на поверхности диатомита наблюдается в растворе 0,03 М ПЭИ [17]. Очевидно, при меньших концентрациях полимера большая часть поверхности минерала остается обнаженной, а при избытке ПЭИ большая часть пор оказывается закрытой полимерной пленкой и вследствие этого становится недоступной для клеток.

Результаты опытов по извлечению ионов Cu^{2+} из растворов иммобилизованными в присутствии ПЭИ клетками *Torulopsis kefir var kumis* и *Pseudomonas mendocina* НЗ приведены в таблице 2. Как видно из таблицы, в области оптимальных соотношений Ме- диатомит-клетки степень извлечения ионов металлов составляет 97,5% (таблица 2).

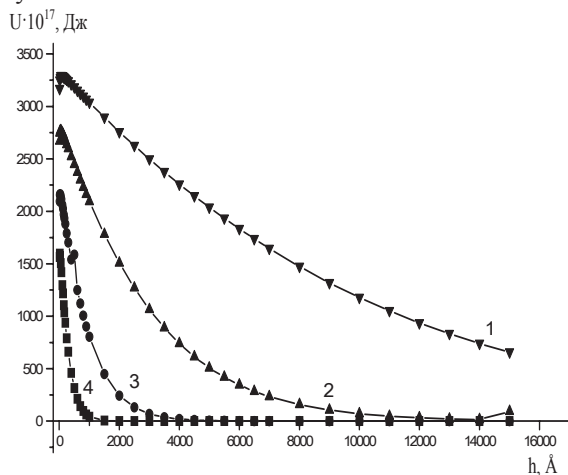
Таблица 2 – Результаты адсорбции ионов Cu^{2+} на поверхности иммобилизованных на диатомите клеток *Torulopsis kefir var kumis* и *Pseudomonas mendocina*

C^0 , мг/л	$C_{\text{Cu}^{2+}} \cdot 10^2$ моль/л	<i>Torulopsis kefir var kumis</i>			<i>Pseudomonas mendocina</i>		
		$C_{\text{равн.}}$, мг/л	$C_{\text{связ.}}$, %	A , мг/г	$C_{\text{равн.}}$, мг/л	$C_{\text{связ.}}$, %	A , мг/г
64	0,1	1,54	97,5	0,6246	1,6	97,5	0,624
128	0,2	5,03	96,1	1,2297	6,1	95,2	1,219
256	0,4	22,0	91,4	2,340	18,75	92,6	2,3725
384	0,6	54,5	85,8	3,295	45,23	88,2	3,3877
512	0,8	96,0	81	4,160	81,0	84,1	4,31
640	1	146,75	77	4,9325	128,3	79,5	5,117

Результаты электрофоретических исследований клеточной поверхности позволили получить сведения о коагуляции и флокуляции суспензий клеток металлов с помощью высоко- и низкомолекулярных электролитов. Расчет энергии взаимодействия частиц в среде NaCl показывает (рисунок 2), что клетки дрожжей *Torulopsis kefir var kumis* довольно устойчивы к влиянию электролита. При концентрации 10^{-3} - 10^{-2} моль/л размытая диффузная часть препятствует сближению частиц и лишь при концентрации 10^{-1} моль/л на расстояниях между частицами $h \geq 2500 \text{ \AA}$ суммарная энергия взаимодействия частиц приобретает отрицательный знак, однако величина ее весьма

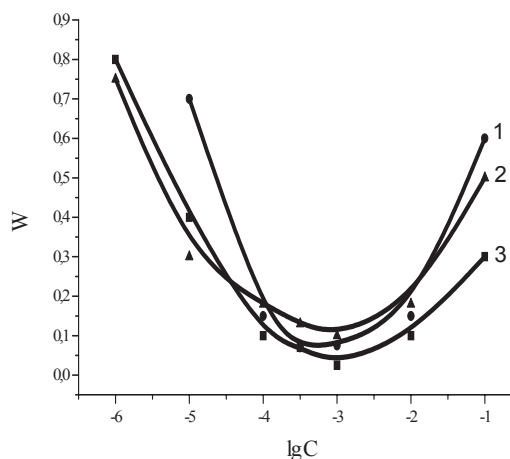
незначительна, порядка 10^{-22} Дж. При такой агрегации – коагуляции во второй потенциальной яме, образуются периодические коллоидные структуры, обладающие дальним порядком.

Установлено, что суспензии клеток микроорганизмов теряют устойчивость также под влиянием полиэтиленimina и полидиметилдиаллиламмония хлорида (ПДМДААХ). Для определения зон агрегации и стабилизации рассчитаны значения фактора стабилизации (W). Кривые зависимости W от концентрации полимера (рисунок 3) представляют собой типичную зависимость устойчивости дисперсных систем от концентрации полимера. Для всех систем характерно наличие глубокого минимума, соответствующего потере устойчивости. Причем наибольшая глубина минимума обнаружена у клеток *Sacharomyces cerevisiae*, а наименьшая – у сферосом. Область минимума находится в пределах концентраций ПДМДААХ 10^{-4} - 10^{-3} основомоль/л. Эти же концентрации соответствуют насыщению поверхности полимером и снижению ξ -потенциала до нуля.



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

Рисунок 2 – Кривые энергии взаимодействия дрожжевых клеток *Torulopsis kefir var kumis* в среде 1-1- валентного электролита



Chlorella vulgaris (1);
сферосомы (2);
Sacharomyces cerevisiae (3)

Рисунок 3 – Зависимость фактора стабилизации биодисперсий концентрации от ПДМДААХ

Обнаруженное явление также указывает на необходимость правильной дозировки полимеров при их использовании в системах, содержащих биологические и минеральные дисперсии, поскольку избыток полимера может оказывать на частицы флокулирующее действие.

Таким образом, суспензии клеток микроорганизмов являются типичными дисперсными системами, свойства которых можно регулировать с помощью высоко- и низкомолекулярных электролитов, однако для приложения к ним основных понятий коллоидной химии необходим учет их биологической специфичности.

Литература

- 1 Баран А.А., Тесленко А.Я. Флокулянты в биотехнологии. – Л.: Химия, 1990. – 121 с.
- 2 Ефремов И.Ф. Периодические коллоидные структуры. – Л.: Химия, 1971. – 192 с.
- 3 Тажибаева С.М., Мусабеков К.Б., Оразымбетова А.Б., Жубанова А.А. Поверхностные свойства дрожжевых клеток // Коллоидн. журн. – 2003 – Т.65, № 1. – С. 132-135.
- 4 Яскович Г.А., Елькин Г.Э. Характеристика гидрофобной поверхности клеток микроорганизмов // Микробиол. – 1995. – Т.64, № 1. – С. 137-139.
- 5 Яскович Г.А., Яковлева Е.П. Изучение гидрофобности поверхности штаммов клеток бактерий // Микробиол. – 1996. – Т.65, № 4. – С. 569-571.
- 6 Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. - Л.: Химия, 1978. – 390 с.
- 7 Ульберг З.Р., Марочко П.Г., Савкин А.Г., Перцов Н.В. Химические взаимодействия в процессах сорбции металлов клетками микроорганизмов // Коллоидн. журн. – 1998. – Т. 60, № 6. – С. 836-842.
- 8 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.

- 9 Гордиенко А.С., Курдиш И.К., Кистень А.Т. Поверхностные свойства и адгезия метанотрофных бактерий // Химия и технол. воды. – 1997. – Т.19, № 2. – С. 216-221.
- 10 Гордиенко А.С., Титова Л.В., Курдиш И.К. Электрокинетические свойства азотфиксирующих бактерий // Микробиол. журн. – 1996. – Т.58, № 2. – С. 22-28.
- 11 Карамушка В.И., Гэдд Д.М., Грузина Т.Г., Ульберг З.Р. Использование коллоидно-биохимических параметров микробных клеток для оценки токсичности тяжелых металлов // Коллоидн. журн. – 1998. – Т.60, № 6. – С. 775-778.
- 12 Ульберг З.Р., Марочко Л.Г., Савкин А.Г., Грузина Т.Г., Шилов В.Н. Исследование влияния металлов (Ag, Cu, Au) на электроповерхностные свойства клеток эритроцитов методом электровращения // Коллоидн. журн. – 2005. – Т.67, №1 –С. 113-123.
- 13 Тажибаева С.М. Биосорбенты ионов металлов // Известия НАН РК. Сер. хим. – 2004. – №1 (345). – С. 112-116.
- 14 С.М.Тажибаева, А.Б.Оразымбетова, А.А.Жубанова, К.Б. Мусабеков Особенности адсорбции ионов металлов на поверхности дрожжевых клеток. Вестник КазГУ. Сер.экол. – 2002 – №1 (10). – С. 51-54
- 15 Samuelson P., Wernerus H., Svedberg M., Stahl St. Staphylococcal surface display of metal-binding polyhistidyl peptides //Appl. and environ. Microbial. – 2000. – Т.66, № 3. – Р. 1243-1248.
- 16 Nondin I.S. // Biotechnol. bioeng. - 1984. – Vol.26, № 2. – Р.134.
- 17 Tazhibayeva S.M., Korzhynbayeva K.B., Orazymbetova A.B., Musabekov K.B., Zhubanova A.A., Burkitbaev M.M. Immobilization of microorganism cells on the diatomite surface // European science and technology: Materials of the International research and practice Conference, January 31st, 2012. Wiesbaden, Germany. – Vol.1. – Р.90-94.

S.M.Tazhibayeva, K.B.Musabekov, A.A.Zhubanova
Colloid-chemical properties of biological dispersions

The results of the study of colloid-chemical properties of microorganism cells were. The behavior of yeast cells *Torulopsis kefir var kumis*, *Sacharomyces cerevisiae* and spherosome at the interface oil / water is determined by the properties at boundaring phases: the dielectric constant, the nature and size of the molecules of the organic medium. The fact of the immutability of charge electrokinetic potential of yeast cells when the pH from 2 to 8 and the presence of electronic devices for spherosome and seaweed at pH 5.0-5.2. The high sorption capacity of the cells to metal ions.

Keywords: *biological dispersions, microorganism cells, electrokinetic potential.*

С.М.Тәжібаева, Қ.Б.Мұсабеков, А.А.Жұбанова
Биологиялық дисперсиялардың коллоидты-химиялық қасиеттері

Мақалада микроағзалар жасушаларының коллоидты-химиялық қасиеттерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Май/су фазалар шекарасында *Torulopsis kefir var kumis*, *Sacharomyces cerevisiae* ашытқы жасушаларының және өсімдік жасушасының сферосомасының фазалар шекарасындағы күйі жанасқан фазалардың қасиеттерімен (диэлектрлік өткізгіштігімен, органикалық ортаның табиғатымен және молекулалардың өлшемімен) анықталатындығы көрсетілді. Ортаның рН мәнін 2-ден 8-ге дейін өзгерткенде ашытқы жасушаларының электркинетикалық потенциалының заряды өзгермейтіндігі, ал сферосомалар мен балдырлар үшін ИЭН рН 5,0-5,2 аймағында табылатындығы анықталды. Жасушалардың металл иондарын сорбциялау қабілеті көрсетілді.

Кілттік сөздер: *биологиялық дисперсиялар, микроағза жасушалары, электркинетикалық потенциал.*