

УДК 579. 504.4.054; 504.4.06

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ УГЛЕВОДОВ СПИРТОВОЙ БАРДЫ АССОЦИАЦИЯМИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦАХ

Е.Л. Барский, Г.А. Дольникова, Я.В. Саванина, Е.Е. Белоусова*,
Е.Ю. Карпова*, А.Г. Дедов*, Е.С. Лобакова

(кафедра биоинженерии; e-mail: gene_b@mail.ru)

Из природных и антропогенных источников выделены 5 микробных ассоциаций, перспективных для трансформации углеводов (сахаров и декстринов) спиртовой барды в ацетат. Исследовали характер биологической очистки барды, содержащей до 40 г/л углеводов, ассоциацией “Тамбуканский ил”, иммобилизованной на полимерных нетканых волокнистых органических матрицах. Иммобилизованная ассоциация микроорганизмов образует с матрицами биогибридные материалы, характеризующиеся различными свойствами в зависимости от их природы. Максимальная биомасса микробной ассоциации накапливается в матрицах 9,1¹ и 9,2¹ и эффективнее, чем с другими матрицами, окисляет углеводы барды, накапливает ацетат в среде, а также создает более низкий ее редокс-потенциал. Предполагается, что в результате образования биогибридных материалов происходит формирование специфических бактериальных систем, отличающихся физико-химическими и биохимическими свойствами за счет преимущественного развития определенных групп микробных клеток.

Ключевые слова: микробные ассоциации, полимерные волокнистые матрицы, иммобилизация, очистка спиртовой барды.

Промышленное применение систем биологической очистки сточных вод, основанных на использовании сложных сообществ микроорганизмов, неуклонно растет. Разнообразие физиологических свойств микроорганизмов, а также условий, в которых они могут развиваться (отношение к кислороду, зависимость от температуры, величин pH и окислительно-восстановительный потенциал (E_h) среды), дает возможность удалять из сточных вод наиболее полно как органические, так и неорганические вещества. При этом микробные сообщества характеризуются большей возможностью трансформации широкого спектра субстратов и устойчивостью к изменениям условий среды, чем монокультуры микроорганизмов [1, 2].

Сообщества микроорганизмов в биореакторах и очистных сооружениях в процессе жизнедеятельности образуют биопленки и (или) флоккулы активного ила [3, 4]. В них бактериальные клетки объединены полимерным матриксом в структуры, в которых создаются специфические условия развития и функционирования клеток не в водно-солевой среде, а в коллоидном матриксе, опосредующем взаимодействие микробных клеток между собой, а также воздействие внешней среды [5].

Иммобилизованные на различных носителях аксенические и смешанные культуры микроорганизмов используются для получения экзопродуктов, для

очистки промышленных стоков и пр. [6]. Иммобилизация клеток определяется в основном адсорбцией на поверхности и во внутренних полостях как природных, так и искусственных носителей. Для иммобилизованных культур микроорганизмов характерно значительное увеличение продолжительности стационарной фазы роста, при этом ряд ее физиологических параметров, таких как pH, E_h среды, продукция вторичных метаболитов, сохраняют характеристики “молодых” клеток [7]. Показано, что у бактериальных клеток в иммобилизованном состоянии повышается устойчивость к внешним факторам среды и возрастает деструктивный потенциал в отношении различных субстратов [8]. Удельная активность иммобилизованных клеток, как правило, не отличается от таковой у свободноживущих микроорганизмов, что свидетельствует об отсутствии диффузионных затруднений для доступа субстратов к клеткам [9].

Хорошие результаты получены с использованием полимерных нетканых волокнистых матриц, обладающих высокими адгезионными свойствами, которые образуют с микроорганизмами биогибридные материалы. Установлено, что бактериальные клетки активно заселяют поверхность волокон нетканых матриц, часто с выделением внеклеточного полимерного матрикса, что способствует формированию в таких зонах бактериальных микроколоний. В редких случаях

* РГУ нефти и газа имени И.М. Губкина, г. Москва.

выявлена интрузия бактериальных клеток в волокна матриц [10].

Основным технологическим отходом винокуреного производства, получающимся после перегонки спирта из затора, является спиртовая барда. При производстве 1 л 96%-го спирта образуется до 42 л сточных вод. Исходный pH барды составляет 4,5–5,0, а содержание углеводов колеблется от 20 до 40 г/л, причем почти половину из них составляют декстрины [2]. В последнее время для очистки спиртовой барды наиболее целесообразным представляется использовать анаэробное деструктивное сообщество микроорганизмов, развитие которых характерно для экологических ниш, богатых органическим субстратом, с низким содержанием кислорода.

Целью настоящей работы были выделение и селекция ассоциаций микроорганизмов, способных к трансформации углеводов спиртовой барды в ацетат и изучение их морфофизиологического состояния при иммобилизации на нетканых полимерных волокнистых органических матрицах.

Материалы и методы

Исследуемый субстрат — барда рязанского и тульского спиртовых заводов — состоит из жидкой и твердой фаз. Твердая фаза барды (40–70%) представляет собой грубодисперсный твердый осадок, требующий дополнительной подготовки для дальнейшего использования. В связи с этим отбор ассоциаций микроорганизмов-гидролитиков в дальнейшем проводился из жидкой фазы барды.

Для подбора природных ассоциаций, способных использовать в процессе роста органические компоненты барды, использовали образцы почвы и ила из природных и промышленных источников с pH среды ниже 6,0, обогащенных органическими соединениями:

- 1) метаногенный ил из очистных сооружений г. Люберцы МО;
- 2) грунт в местах сброса барды Тульского спиртового завода;
- 3) торф из верхового болота Тверской обл.;
- 4) ил озера Большой Тамбукан в Ставропольском крае (“Тамбуканский ил”);
- 5) ил отстойника НПО Тулачермет.

Для выделения накопительных культур использовали метод повышающихся концентраций субстрата. Разведенную в 10 раз барду кипятили в течение 10 мин, быстро охлаждали, разливали в стеклянные высокие лабораторные флаконы объемом 250 мл, добавляли образцы собранных субстратов из расчета 10 объемных процентов, закрывали пробками и культивировали при температуре 24°C в течение 10 дней. Через 2 пассажа варианты, в которых наблюдали активный рост микроорганизмов, продолжали выращивать на барде, разбавленной в два раза, а затем переводили выращивание на цельную барду.

Культивирование отобранных ассоциаций на цельной и разбавленной в два раза барде проводили в течение 3–5 сут.

Для увеличения доли углеводокисляющих микроорганизмов делали высевы из накопительных культур на среду, содержащую глюкозу, пептон и KH_2PO_4 в концентрациях 1, 1 и 0,1% соответственно. Для выделения ассоциаций микроорганизмов, максимально эффективно проводящих гидролиз высокомолекулярных углеводов барды (декстрины), использовали селективную крахмальную среду [12].

Для иммобилизации клеток использовали одинаковые по площади (4 см²) нетканые и состоящие их сополимера (акрилонитрил-метилметакрилат) волокнистые матрицы: 8,1, 9,3¹, 9,1¹ и 9,2¹ [10]. Культуру ассоциации выращивали на барде в колбах объемом 750 мл на качалке при скорости вращения платформы 90 об/мин в течение 5 сут при комнатной температуре. Указанные носители помещали в растущую культуру на 5–6 сут, затем извлекали их и переносили в свежую среду с бардой.

Для определения скорости накопления клеток на матрицах в колбы объемом 750 мл, содержащие 250 мл среды с бардой, помещали доведенные до постоянного веса чистые матрицы. Культуры, адсорбированные на матрицах, выращивали в течение 5 сут на качалке; затем матрицы извлекали из среды и определяли их сухой вес. Разница между весом матрицы до и после культивирования составляет сухой вес клеток.

Содержание углеводов в среде культивирования и барде определяли с антроновым реактивом [13] на фотоэлектроколориметре в диапазоне 620–670 нм, а содержание ацетата в среде — модифицированным методом [14] с насыщенным раствором FeCl_3 на фотоэлектроколориметре в спектральной области 500–540 нм. Контролем определения ацетата, а не других летучих жирных кислот, служило появление желтой окраски при добавлении к пробе концентрированной HCl .

Величины pH и E_h среды культивирования измеряли электродом фирмы “Cole-Parmer”. Для определения pH среды культивирования использовали комбинированный стеклянный электрод; E_h среды измеряли Pt-электродом с электродом сравнения Ag/AgCl (все электроды российского производства).

Особенности прикрепления бактериальных клеток к матрицам определяли с помощью сканирующей электронной микроскопии. Исследуемый материал фиксировали в 2%-м глутаровом альдегиде на кокадилатном буфере в течение 30 мин, затем обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (10–100% в течение 10 мин в каждом растворе) и помещали на ночь в 100%-й ацетон [15]. Образцы высушивали при критической точке на установке HCP-2, напыляли палладием на установке ТВ-3 (Япония) и изучали в сканирующем микроскопе Hitachi 405-S (Япония) при ускоряющем напряжении 15 кВ и инструментальном увеличении 60–20 000.

Погрешности измерения сухого веса образцов не превышали 15%. Погрешности определения концентрации углеводов и ацетата в среде составляли 15–20%, а погрешности определения pH и E_h — 10–15%.

Результаты и обсуждение

При использовании образцов грунта из природных экологических ниш, обогащенных анаэробными микроорганизмами-гидролитами, а также из мест хранения промышленных и бытовых отходов выделены бактериальные ассоциации, имеющие потенциал для дальнейшего биотехнологического применения.

Декстрины — основной компонент жидкой фазы барды — продукт частичного расщепления крахмала, образующийся при ферментативном и термическом гидролизе. В связи с этим полученные микробные ассоциации были протестированы по способности утилизировать, наряду с углеводами барды, крахмал (табл. 1). Наиболее эффективными относительно гидролиза крахмала в среде можно считать ассоциации, выделенные из грунта в районе слива барды Тульского спиртового завода (№ 4), из торфа верхового болота (№ 5), ила оз. Б. Тамбукан (№ 6) и ила отстойника металлургического предприятия Тулачермет (№ 7). Эти ассоциации на 5-е сут в 2,5–3 раза снижают содержание углеводов в среде с крахмалом, что может указывать на их способность к гидролизу декстринов барды. Недостатком ассоциации из торфа является то, что при культивировании на барде на поверхности наблюдается образование плотной пленки, сформированной микромицетами. С целью замедления их роста в барду необходимо добавлять нистатин из расчета 50 мг/л или проводить ее длительное предварительное кипячение.

Таблица 1

Селекция полученных ассоциаций микроорганизмов по эффективности потребления углеводов на среде с крахмалом или на барде в течение 5 сут культивирования

№	Наименование местообитаний микробных ассоциаций	Содержание углеводов, г/л	
		на среде с крахмалом	на барде
1	Среда с 10 г/л крахмала	10	
2	Жидкая часть неразбавленной барды		12
3	Активный ил из люберецких очистных сооружений	7,8	1,54
4	Грунт в местах сброса барды Тульского спиртового завода	3,9	2,23
5	Торф из верхового болота	3,4	0,38
6	“Тамбуканский ил”	3,1	0,28
7	Ил отстойника НПО Тулачермет	4,3	0,62

В отношении потребления углеводов барды наименее эффективными оказались микробные ассоциации, выделенные из ила люберецких очистных сооружений (№ 3) и грунта очистных сооружений Тульского спиртового завода (№ 4). В несколько раз интенсивнее утилизируют углеводы барды ассоциации № 5, № 6 и несколько слабее — № 7 (табл. 1). Вероятно, это обусловлено наличием в ассоциациях групп микроорганизмов, отличающихся по составу и по эффективности преобразования углеводов. Таким образом, из 5 выделенных ассоциаций наиболее перспективным кандидатом для использования в дальнейшей работе является ассоциация микроорганизмов “Тамбуканский ил”, выделенная из лечебной грязи оз. Большой Тамбукан (Ставропольский край РФ). Полученная при выращивании на качалке, эта ассоциация представляет собой осадок из хлопьев размерами 0,1–1 мм, содержащих микроорганизмы различных морфологических типов (рис. 1). Исследуемый образец ассоциации имеет сложную морфологическую организацию, так как представляет собой сетчатую локулярную структуру, в которой имеются округлые пустоты. Каркас сетчатой структуры образован бактериальными клетками, которые между собой связаны тонкими мостиками межклеточного вещества (рис. 1).

Поскольку физиологические ответы клеточных популяций микроорганизмов в значительной степени зависят от условий их культивирования, для дальнейшего повышения метаболической активности ассоциации проводили иммобилизацию ее клеток на полимерных волокнистых нетканых матрицах, так как культуры иммобилизованных на носителях клеток характеризуются сниженной скоростью роста при сохранении высокой скорости метаболизма. Адсорбция клеток на волокнистом носителе не препятствует выведению продуктов обмена и поступлению субстратов окисления [6]; в то же время в межволоконном пространстве создаются благоприятные условия

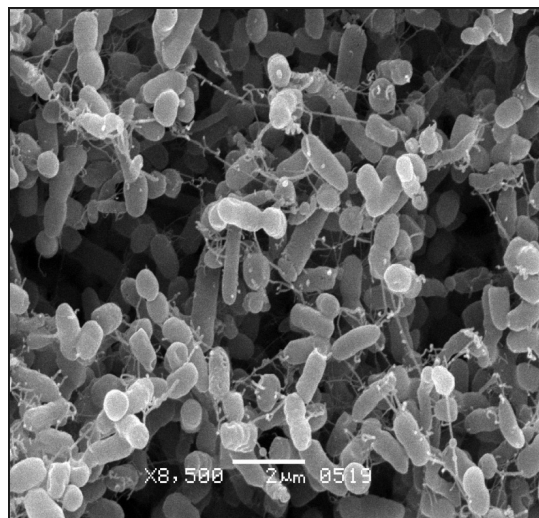


Рис. 1. Расположение клеток ассоциации “Тамбуканский ил” в хлопьях осадка культуры

Таблица 2

Физические характеристики органических нетканых полимерных волокнистых матриц (сорбентов)

Код матрицы	Воздухопроницаемость, $\text{Дм}^3/\text{м}^2 \cdot \text{с}$	Толщина, мм	Толщина волокон, мкм	Поверхностная плотность, $\text{г}/\text{м}^2$	Пористость, %
8,1	256	1,02	9—12, 25—30	142	88
9,3 ¹	38	3,34	25—40	479	88
9,1 ¹	97	2,23	20—25	300	89
9,2 ¹	336	0,89		100	91

для развития микроорганизмов. Важно учитывать, что при иммобилизации клеток ассоциации на носителях разной природы может меняться соотношение доминантных и минорных групп микроорганизмов в составе микробной составляющей получаемого биогибридного материала и как следствие — изменение его активности.

В табл. 2 представлены характеристики используемых в опытах матриц, полученных на основе сополимера акрилонитрила-метилметакрилата. Все матрицы имеют сходную пористость и диаметр волокон, но существенно различаются по таким параметрам, как толщина, воздухопроницаемость и поверхностная плотность. Поскольку объемная плотность матриц зависит от их толщины, из данных таблицы следует, что объемная плотность матриц варьирует незначительно.

Данные по накоплению биомассы клеток ассоциации “Тамбуканский ил” на поверхности и в объеме матриц показывают, что только матрицы 9,1¹ и 9,2¹ способны накапливать значительные количества клеток. За 5 сут культивирования содержание сухой биомассы соответствует 23 и 18 мг в расчете на 1 см² поверхности матриц и около 100 и 200 мг в расчете на 1 см³ объема матриц. Содержание клеток в матрицах 8,1 и 9,3¹ в несколько раз ниже (табл. 3).

Накопление сухой биомассы клеток за 5 сут культивирования ассоциации “Тамбуканский ил”, иммобилизованной на полимерных матрицах

Код матрицы	Сухой вес клеток культуры, $\text{мг}/\text{см}^2$ ($\text{мг}/\text{см}^3$)	Особенности прикрепления клеток к поверхности волокон	Доминирующие формы и размеры клеток
8,1	6,2 (60,8)	Одиночные клетки, редко — образование микроагрегатов	Палочки ($0,5 \times 1\text{—}2$ мкм) и ($1\text{—}1,5 \times 3$ мкм), кокки ($0,5 \times 0,5$ мкм) и ($1,5 \times 1,5$ мкм)
9,3 ¹	6,7 (20)	Одиночные бактериальные	Палочки ($0,5\text{—}0,7 \times 2\text{—}4$ км)
9,1 ¹	23 (103)	Развитие микроколоний, формирование слизистого матрикса	Палочки ($1,5 \times 2,5\text{—}3$ км), кокки (1×1 км) и ($1,5 \times 1,5$ км)
9,2 ¹	18 (202)	Развитие микроколоний, формирование слизистого матрикса	Палочки ($1,5 \times 2,5\text{—}3$ км), кокки (1×1 км) и ($1,5 \times 1,5$ км)

Величина биомассы микробных клеток, иммобилизованных на волокнах матрицы, может быть обусловлена как эффективностью процесса адсорбции клеток на поверхности волокон, так и активным размножением клеток на поверхности и между волокон. Последнее может приводить к формированию на поверхности волокон и межволоконном пространстве матриц бактериальных микроколоний, флоккул и биопленок в результате активного деления клеток и (или) выделения полимерного матрикса.

Исследование изменений физико-химических свойств среды в процессе и развития ассоциации “Тамбуканский ил” на различных матрицах показало, что иммобилизованная ассоциация способна к росту при pH ниже 5,0 и к поддержанию низких величин E_h среды. Культура начинает расти при величине pH 3,9—4,1, соответствующей pH барды. Через двое суток величина pH для всех матриц плавно нарастает и через 3—4 сут достигает максимальных значений в районе 4,5—4,7 единиц (данные не представлены).

Величина E_h — важный физико-химический параметр, характеризующий состояние окисленности—восстановленности среды. В первые трое суток величина E_h для всех типов матриц плавно снижается от 70—100 мВ до 0 мВ (рис. 2). В дальнейшем наблюдается значительное нарастание величины E_h среды по абсолютному значению в отрицательной области шкалы, которое к 5—6 сут культивирования стабилизируется. В этой области шкалы значения E_h для культуры ассоциации, иммобилизованной на матрицах, существенно различаются. Если для матриц 9,1¹ и 9,2¹ величины E_h среды составляют соответственно –180 и –250 мВ, то для остальных матриц значения E_h не превышают –(70—130) мВ (рис. 2).

Такие значения E_h среды с учетом ее перемешивания и притока кислорода в колбы через ватные пробки указывают на то, что в

Таблица 3

среду из клеток поступает мощный восстановитель, который образуется в процессе гидролиза углеводов барды клетками ассоциации. Таким восстановителем может быть H_2 . Это подтверждается выделением газа в культуре. Можно полагать, что изменения величины E_h среды являются индикатором при оценке роста культур и потребления ими углеводов [7].

Матрицы 9,1¹ и 9,2¹ заметно отличаются от остальных не только по степени накопления клеток и величинам редокс-потенциала среды, но также и по физиологическим характери-

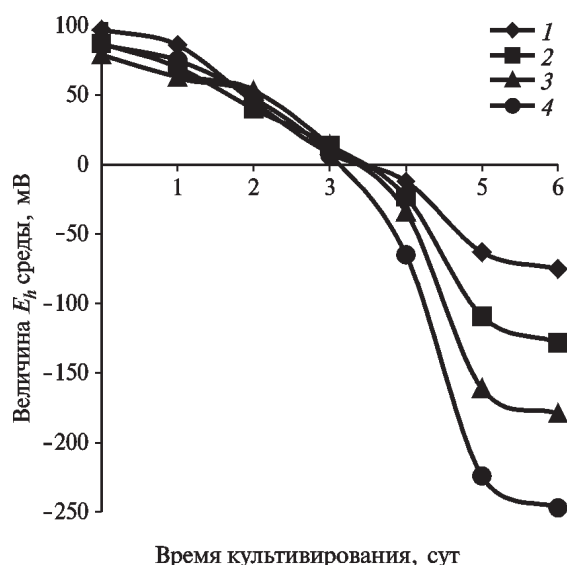


Рис. 2. Изменения величины E_h среды культивирования ассоциации “Тамбуканский ил”, иммобилизованной на полимерных носителях. Варианты опыта на среде с бардой: 1 — матрица 8,1; 2 — 9,3¹; 3 — 9,1¹; 4 — 9,2¹

стикам. При культивировании ассоциации “Тамбуканский ил” с этими матрицами уже на 3—5-е сут наблюдается более заметное снижение содержания углеводов в среде (рис. 3, А) по сравнению с матрицами 8,1 и 9,3¹.

Динамика накопления в среде ацетата, который образуется при гидролизе углеводов барды (рис. 3, Б), свидетельствует, что в первые 2—3 сут содержание ацетата в среде с матрицами 9,1¹ и 9,2¹ в 1,5—2 раза превосходит таковое с матрицами 8,1 и 9,3¹. В стационарной фазе роста культуры различия между матрицами по степени накопления ацетата в среде менее выражены.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что существует корреляция между содержанием клеток в матрицах и такими параметрами, как гидролиз углеводов, накопление ацетата, а также величина E_h среды культивирования. Это может быть обусловлено как более высоким содержанием клеток в матрицах 9,1¹ и 9,2¹, так и отличиями в структуре микробного сообщества в биогибридных материалах.

Сканирование поверхности фрагментов выбранных матриц показало, что поведение микробной ассоциации “Тамбуканский ил” на одинаковых по химическому составу, но различающихся физическими характеристиками матрицах, существенно различается. Полимерная матрица 8,1 представляет собой материал, образованный переплетающимися волокнами разного диаметра: округлыми, диаметром 9—12 мкм и более толстыми уплощенными — диаметром 25—30 мкм. Как на поверхности волокон, так и в пространстве между ними наблюдается развитие бактериальных микроагрегатов (рис. 4), в которых присутствуют бактериальные клетки разных типов: мелкие ($0,5 \times 1-2$ км) и крупные ($1-1,5 \times 3$ км) палочки, мелкие ($0,5 \times 0,5$ км) и крупные ($1,5 \times 1,5$ км) кокки, укороченные палочки ($1,5 \times 2-2,5$ км). Клет-

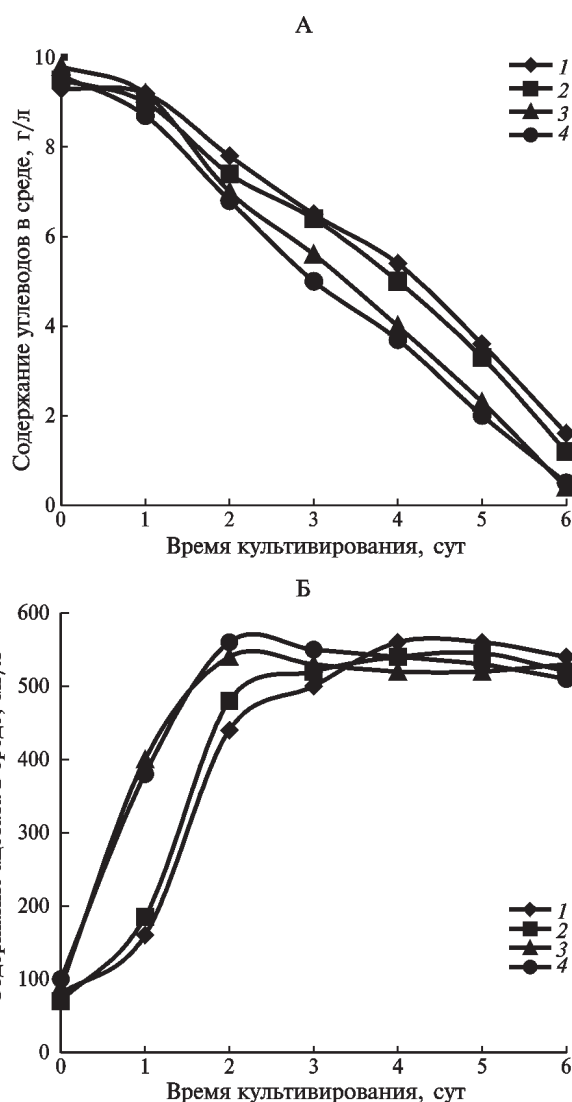


Рис. 3. Изменения содержания углеводов (А) и ацетата (Б) в среде культивирования клеток ассоциации “Тамбуканский ил”, иммобилизованных на полимерных носителях. Остальные условия, как на рис. 2

ки располагаются свободно, образование слизистого полимерного матрикса не наблюдается. На некоторых участках микроагрегатов обнаружено формирование тонких нитей диаметром 0,5—0,7 км.

Матрица 9,3¹ состоит из гладких уплощенных переплетающихся волокон диаметром 25—40 мкм. На поверхности волокон (рис. 5, А) наблюдается прикрепление одиночных одинаковых по форме и размерам бактериальных клеток — мелких палочек размером $0,5-0,7 \times 2-4$ мкм. Ни на поверхности волокон, ни в межволоконном пространстве матрицы 9,3¹ не обнаружено формирования микроколоний и микроагрегатов клеток. Как и в случае матрицы 8,1, наблюдается обеднение качественного состава ассоциации в результате развития только части видов бактериальных клеток ассоциации в составе матрицы (табл. 3).

В межволоконном пространстве матрицы 9,1¹ (рис. 5, Б) обнаружено развитие большого количества бактериальных микроколоний, сформирован-

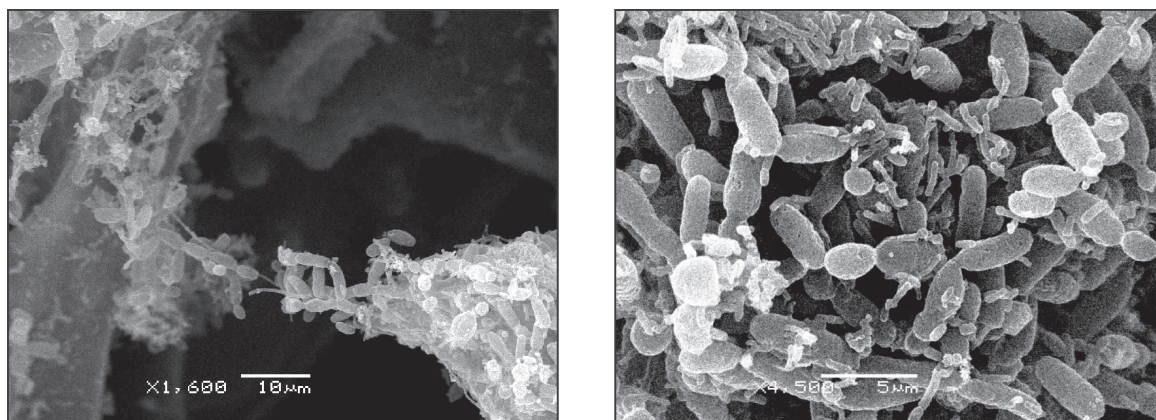
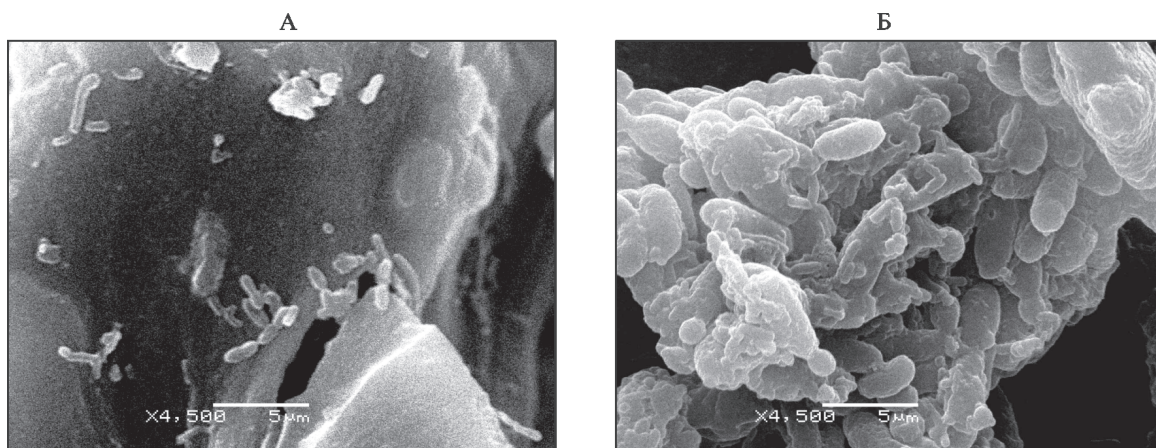


Рис. 4. Расположение клеток культуры ассоциации “Тамбуканский ил” на волокнах матрицы 8,1

Рис. 5. Расположение клеток культуры ассоциации “Тамбуканский ил” на волокнах матрицы 9,3¹ (А) и 9,1¹ (Б)

ных клетками различных морфотипов. В отличие от матрицы 8,1 на волокнах матрицы 9,1¹ бактериальная ассоциация формирует структуры, в которых клетки объединены общим полимерным матриксом. В их составе бактериальные клетки различных типов находятся в тесном контакте друг с другом и способны осуществлять быструю комплексную перестройку субстрата. Кроме того, полимерный матрикс является защитой от резких колебаний параметров среды культивирования и способствует сохранению жизнеспособности и метаболической эффективности, составляющих ассоциацию бактериальных клеток, т.е. обеспечивает функциональную стабильность ассоциации. Сходные данные получены для ассоциации, иммобилизованной на матрице 9,2¹ (данные не представлены). Можно сказать, что на поверхности этих матриц происходит формирование флокүлоподобных структур, которые заполняют внутреннее межволоконное пространство матриц. Выявленное нами ранее значительное накопление биомассы бактериальной ассоциации именно на матрицах 9,1¹ и 9,2¹, возможно, и обусловлено формированием таких структур, в которых происходит активное деление бактериальных клеток и компартментация в слизистом полимерном матриксе. Эти данные также показывают, что распределение клеток ассоциации в поли-

мерных матрицах не зависит от химической природы матрицы, а определяется ее физическими характеристиками.

Таким образом, исследование полученных биогибридных систем указывает на селективный характер взаимодействия микробной ассоциации “Тамбуканский ил” с выбранными полимерными волокнистыми матрицами. Локализация и прикрепление клеток одной и той же микробной ассоциации на разных матрицах существенно различаются, в результате чего на каждом носителе наблюдается доминирование разных типов клеток, а следовательно, и определенных групп микроорганизмов. Происходит формирование специфических бактериальных систем, которые отличаются по физико-химическим и физиологическим свойствам (включая продуктивность в отношении утилизации углеводов барды и накопления в среде ацетата). То есть возможно получение биогибридных материалов с разными заданными свойствами за счет преимущественного развития определенных групп микробных клеток.

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда “Сколково” и гранта Минобрнауки ГК 16.513.12,3028.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хенце М., Армоэс П., Ля-Кур-Янсен Й., Арван Э. Очистка сточных вод. М.: Мир, 2009. 480 с.
2. Кузнецов А.Е., Градова Н.Б., Лушиков С.В., Энгельхарт М., Вайссер Т., Чеботарёва М.В. Прикладная экобиотехнология (учебник для высшей школы). Т. 1. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010. 629 с.
3. Callow J.A., Callow M.E. Biofilms // *Proc. Mol. Subcell. Biol.* 2006. Vol. 42. P. 141–169.
4. Hansen S.K., Rainey P.B., Haagenzen J.A., Molin S. Evocation of species interaction in a biofilm community // *Nature*. 2007. Vol. 445. N 7127. P. 533–536.
5. Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н. Введение в природоведческую микробиологию. М., 2001. 200 с.
6. Имобилизованные клетки и ферменты. Методы / Под ред. Дж. Вудворда. М.: Мир, 1988. 215 с.
7. Лебедева А.Ф., Саванина Я.В., Барский Е.Л. Изменения редокс-потенциала и содержания углеводов в среде при периодическом и диализном культивировании цианобактерии *Anacystis nidulans* и бактерии *Pseudomonas diminuta* // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология*. 2002. № 2. С. 24–29.
8. Корженевская Т.Г., Запольнова И.Б., Гусев М.В., Соколов Б.А. Роль микроорганизмов в преобразовании состава нефти и нефтяных биотехнологиях. М.: Геоинформ-центр, 2002. 76 с.
9. Revis N.J.P., Merks A.G.A. Heavy metal uptake by plankton and other seston particles // *Chem. Spec. and Bioavail.* 1989. Vol. 1. N 1. P. 31–37.
10. Омарова Л.О., Кащеева П.Б., Лобакова Е.С., Дольникова Г.А., Идеатулов Р.К., Дедов А.Г. Новые материалы для сорбции и утилизации нефти и нефтепродуктов при аварийных разливах // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология*. 2012. № 1. С. 28–35.
11. Пиневиц А.В. Биология прокариот. Т. 2. СПб.: Изд-во СПб ун-та, 2007. 329 с.
12. Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС Пресс, 2003. 120 с.
13. Методы химии углеводов / Под ред. Н.К. Кочеткова. М., 1967. 512 с.
14. Бранцевич Л.Г., Лысенко Л.Н., Овод В.В., Гурбик А.В. Микробиология. Практикум для студентов университетов, медицинских институтов и технологических институтов пищевой промышленности. Киев: Вища школа, 1987. 171 с.
15. Баулина О.И. Ультроструктурная пластичность цианобактерий. М.: Научный мир, 2010.

Поступила в редакцию
6.12.12

SPIRIT GRAIN CARBOHYDRATES TRANSFORMATION BY MICROBIAL ASSOCIATION IMMOBILIZED ON THE POLIMERIC MATRIXES

*E.L. Barsky, G.A. Dol'nikova, Ya.V. Savanina, E.E. Belousova,
E.Y. Karpova., A.G. Dedov, E.S. Lobakova*

Biological treatment features of spirit grain comparising about 10–20 g/l saccharides and polysaccharides are examined. The most perspective microbial association concerning carbohydrates utilization and acetate accumulation serve as association “Tambucan silt”. This culture, immobilized on the polymeric matrixes, form biohybrid materials. The largest number of culture cells are adsorbed on the 9,1¹ and 9,2¹ matrixes. Cells, immobilized on this matrixes, more effective oxidize carbohydrates and produce more low redox-potential of medium. It is supposed in biohybrid materials are formed specific bacterial systems at the expense of preference development certain microbial group.

Key words: *microbial associations, polymeric matrixes, immobilization, sewage treatment of spirit grain.*

Сведения об авторах

Барский Евгений Львович — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: gene_b@mail.ru

Дольникова Галина Александровна — ассист. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: gene_b@mail.ru

Саванина Янина Вячеславовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: gene_b@mail.ru

Белюсова Елена Евгеньевна — магистрант РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина. Тел.: 8-499-135-74-56; e-mail: dedov.a@mail.ru

Карпова Елена Юрьевна — науч. сотр. РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина. Тел.: 8-499-135-74-56; e-mail: dedov.a@mail.ru

Дедов Алексей Георгиевич — докт. хим. наук, зав. кафедрой РГУ нефти и газа имени И.М. Губкина. Тел.: 8-499-135-84-36; e-mail: dedov.a@mail.ru

Лобакова Елена Сергеевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-07; e-mail: elena.lobakova@rambler.ru