

Методы концентрирования и очистки биомассы бактерий рода *Bacillus*

Задача: подобрать метод концентрирования культуральной жидкости, который обеспечивал бы высокий выход концентрата

Объекты исследования:

Культуральная жидкость *Bacillus subtilis*,

Культуральная жидкость *Bacillus thuringiensis*

Методы: сепарирование; осаждение флокулянтами; микрофльтрация

Оборудование, приборы и материалы:

сепаратор АСГ 3М; установка микрофльтрации в тангенциальном потоке на основе керамических мембран 0,2 мкм; флокулянты ВПК-402, superfloc-C494;

Методы концентрирования и очистки биомассы бактерий рода *Bacillus*, Кызин А.А.,
НВП «БашИнком», г. Уфа, saimonnord@yandex.ru

Методы концентрирования и очистки биомассы бактерий рода *Bacillus*

Таблица 1. Результаты концентрирования культуральной жидкости различными методами

Метод концентрирования	Объект	Условия процесса	Выход
Сепарирование	Культура <i>Bacillus thuringiensis</i>	9000 об/мин, 0,5 л/мин, рН 8,78	84%
Сепарирование	Культура <i>Bacillus thuringiensis</i>	9000 об/мин, 0,5 л/мин, рН 6,00	92%
Сепарирование	Культура <i>Bacillus subtilis</i>	Флокулянт ВПК-402, 0,01%	95%
Сепарирование	Культура <i>Bacillus subtilis</i>	Флокулянт ВПК-402, 0,1%	96%
Сепарирование	Культура <i>Bacillus subtilis</i>	Флокулянт Superfloc-C494, 0,01%	84%
Сепарирование	Культура <i>Bacillus subtilis</i>	Флокулянт Superfloc-C494, 0,1%	89%
Микрофльтрация	Культура <i>Bacillus subtilis</i>	0,2 мкм, 0,06 МПа	99%
Микрофльтрация	Культура <i>Bacillus thuringiensis</i>	0,2 мкм, 0,06 МПа	99%

Методы концентрирования и очистки биомассы бактерий рода *Bacillus*

Таблица 2. Растворимость осадков (обратимость процесса осаждения)

Метод концентрирования	Условия процесса	Растворимость в воде	Растворимость при рН 7	Растворимость в физрастворе
Сепарирование	9000 об/мин, 0,5 л/мин, рН 8,78	-	-	эмульсия не стабильна
Сепарирование	9000 об/мин, 0,5 л/мин, рН 6,00	-	-	эмульсия не стабильна
Сепарирование	ВПК-402, 0,01%	-	-	-
Сепарирование	ВПК-402, 0,1%	-	-	-
Сепарирование	Superfloc-C494, 0,01%	-	-	-
Сепарирование	Superfloc-C494, 0,1%	-	-	-
Микрофльтрация	0,2 мкм, 0,06 МПа	+	+	+

«+» - растворим; «-» – нерастворим.

Методы концентрирования и очистки биомассы бактерий рода *Bacillus*, Кызин А.А., НВП «БашИнком», г. Уфа, saimonnord@yandex.ru

Методы концентрирования и очистки биомассы бактерий рода *Bacillus*

Обсуждение результатов

При концентрировании *Bacillus thuringiensis* методом сепарирования для увеличения выхода кристаллического экзотоксина белковой природы, а также с целью приближения к изоточке, подкисляли культуральную жидкость 0,1 Н соляной кислотой. При осаждении флокулянтами значение рН также сильно снижалось (рН 3-4), в связи с этим при изучении обратного процесса – растворения осадка, пробовали подтитровать рН до значений близким к нейтральному. Кроме того, для перевода белковой составляющей осадка в растворенное состояние, пробовали добавлять натрия хлорид до концентрации изотонического раствора. Выход продукта считали по общему титру жизнеспособных клеток и спор.

Микрофилтрацией в тангенциальном потоке концентрировали культуру в 20 раз (больше не позволяла вязкость среды).

Методы концентрирования и очистки биомассы бактерий рода *Bacillus*

Выводы

- 1. Методом сепарирования/центрифугирования можно получать продукт с более высокой концентрацией (содержит меньше жидкости), но осадок теряет растворимость, поэтому этот метод больше подходит для получения сухих форм препаратов.**
- 2. Применение флокулянтов сильно снижает значение рН, что может привести к лизису вегетативных клеток и осадок также теряет растворимость**
- 3. Наиболее подходящим и щадящим методом концентрирования является микрофльтрация в тангенциальном потоке, этот метод позволяет получить концентрат с максимальным выходом (99%), однако степень концентрирования ограничена вязкостью получаемого продукта.**