



URAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

211893

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.³

C 12 N 11/14

(22) Prihlásené 16 05 80

(21) (PV 3418-80)

(40) Zverejnené 31 07 81

(45) Vydané 29 07 83

(75)

Autor vynálezu

HALAMA DUŠAN doc. ing. CSc., AUGUSTÍN JOZEF doc. ing. CSc.,
PETROVIČ JÁN ing. CSc., BRATISLAVA

(54) Spôsob imobilizácie mikrobiálnych buniek do silikátového mikroporézneho nosiča s definovanou veľkosťou pórov

Vynález rieši spôsob imobilizácie mikrobiálnych buniek do silikátového mikroporézneho nosiča s definovanou veľkosťou pórov, porovnateľnou s priemerom buniek kultúry mikroorganizmov.

Doteraz sa pre viazanie biologického materiálu s katalytickou aktivitou používa nosič z porézneho skla s požadovanou veľkosťou pórov z ekonomicky nevýhodného dovozu, prípadne keramický materiál vyrábaný pre iné účely, napríklad tehla. Buňky imobilizované na tieto nosiče možno potom použiť ako náplň do heterogénnych biochemických reaktorov.

Podľa tohoto vynálezu spôsob imobilizácie mikrobiálnych buniek do silikátového mikroporézneho nosiča s definovanou veľkosťou pórov porovnateľnou s priemerom buniek kultúry mikroorganizmov, a to pre baktérie poriadku 1 μm a pre kvasinky 10 μm je riešený postupom, ktorého podstata spočíva v tom, že 1 hmotnostnému dielu mikroporézneho nosiča upraveného sa pridajú dva hmotnostné diely suspenzie buniek určených pre imobilizáciu, pričom úprava nosiča prebieha zmiešaním a mletím 2 hmotnostných dielov kysličníka vápenatého s 8 hmotnostnými dielmi silikátovej vulkanickej horniny — dacitového tufitu na veľkosť častíc 90 μm , ku ktorým sa pridá 4 až 6 hmotnostných dielov vody, ďalej

zohriatím zmesi počas 8 až 9 hodín na 190 °C, ďalej sa kompaktný blok mikroporitu rozdrť a frakcionuje na sitách a plavením a frakcia s veľkosťou častíc 0,5 μm sa použije. Silikátový mikroporézny nosič sa po nanosení buniek zamieša, premyje vodou alebo puftom od neviazaných buniek, dekantuje a použije na heterogennú biochemickú reakciu.

Výhody predkladaného riešenia sú v tom, že pre imobilizáciu buniek nie je nutná predchádzajúca chemická povrchová úprava nosiča ani buniek, pričom požadovanú veľkosť pórov možno regulovať zmenou množstva pridávanej vody. Buňky imobilizované takýmto spôsobom sa nevymývajú z nosiča a vykazujú metabolickú aktivitu na uskutočnenie danej biochemickej reakcie. Nosič s imobilizovanými bunkami možno použiť ako náplň do prietokových kolón heterogénnych biochemických reaktorov alebo do reaktora s miešanou heterogennou náplňou.

Predmet vynálezu je popísaný v nasledujúcich príkladoch bez toho, aby sa ňa na tieto vzťahoval.

Príklad 1

Zmiešajú sa 2 hmotnostné diely kysličníka vápenatého s 8 dielmi dacitového tufitu, pomletého na veľkosť častíc 90 μm . Po pridaní 4,8 hmotnost-

ných dielov vody sa materiál zahrieva v autokláve počas 9 hodín pri 190 °C. Takto získaný kompaktný blok mikroporitu sa rozdrtil a frakcionovaním na sítach a plavením sa pripravila frakcia s veľkosťou zrn 0,5 mm. Po vysušení sa materiál použil na imobilizáciu buniek.

Príklad 2

Kultúra baktérií schopných utilizovať benzén a kultúra schopná utilizovať kyselinu benzoovú sa izolovala z nahromažďovacej kultúry inokulovaním vzorky odpadnej vody z rafinérie kultiváciou na minerálnej pôde s chloridom amonným, ako zdrojom dusíka a s uvedenými organickými zlúčeninami ako zdrojom uhlíka. Získali sa tyčinky veľkosti $1,0 \times 1,5 \mu\text{m}$. 1 hmotnostný diel mikroporézneho nosiča pripraveného postupom podľa príkladu 1 sa zmiešal s 2 hmotnostnými dielmi suspenzie buniek. Prebytok kultúry a labilne viazané buňky sa odstránili premývaním pufrum a dekantáciou.

Účinnosť viazania sa sledovala z rozdielu hodnoty turbidity suspenzie pred viazaním a po viazaní na nosič. V kontrolných experimentoch sa pre tento účel pripravila kultúra označená radionuklidom kultivovaním na pôde s prídavkom octanu sodného — C^{14} alebo glukózy — C^{14} . Na množstvo buniek viazaných do mikroporov nosiča sa usudzovalo z množstva viazanej radioaktivity.

Výsledky sú uvedené v tabuľke 1. Pre porovnanie sú vedľa účinnosti viazania buniek baktérií do mikroporitu, pripraveného postupom podľa príkladu 1, uvedené aj údaje o schopnosti viazať buňky do iných anorganických materiálov a účin-

nosť viazania kvasiniek *Candida utilis*, ako % viazaných mikroorganizmov na nosič z celkového množstva buniek v suspenzii pred pridaním nosiča.

Tabuľka 1

Keramický nosič	% viazaných mikroorganizmov na nosič			
	baktérie		kvasinky	
	pred premytím	po premytí	pred premytím	po premytí
šamot	43,4	10,2	8,2	1,3
korund	45,1	21,7	6,4	0,6
alpozid	47,8	16,5	26,4	2,0
morský piesok	15,3	2,7	20,6	0,01
piesčitá hlina	58,3	13,7	22,0	1,3
mikroporit	75,1	75,0	38,6	1,7

Príklad 3

Suspenzia buniek nanesená na mikroporéznom materiále, pripravená spôsobom podľa príkladu 2 sa inkubovala vo fermentore na minerálnej pôde s 0,2 % kyseliny benzoovej ako substrátu a zaznamenávala sa spotreba kyslíka Clarkovou polarografickou elektródou. Kultúra baktérií imobilizovaná na mikroporite vykazovala respiračnú aktivitu 160 mg O_2 /hod. na 1 kg imobilizovaného preparátu.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Spôsob imobilizácie mikrobiálnych buniek do silikátového mikroporézneho nosiča s definovanou veľkosťou pórov vyznačený tým, že k 1 hmotnostnému dielu mikroporézneho nosiča s veľkosťou zrn 0,5 mm, pripraveného zmiešaním 2 hmotnostných dielov kysličníka vápenatého a 8 hmotnostných dielov silikátovej vulkanickej horniny — dacitového tufitu mletej na veľkosť častíc 90 μm a 4 až 6 hmotnostných dielov vody,

ďalej zohriateho na 190 °C počas 8 až 9 hodín, rozdrteného a frakcionovaného s oddelením vhodnej frakcie mechanicky a plavením, sa prídajú 2 hmotnostné diely baktérií s priemerom rádovo 1 μm alebo kvasiniek s priemerom rádovo 10 μm , ďalej sa odstránia z nosiča viazané baktérie alebo kvasinky premývaním vodou alebo pufrum a dekantáciou.