



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

206061

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 06 07 79

(21) (PV 4786-79)

(40) Zveřejněno 29 08 80

(45) Vydáno 02 05 84

(51) Int. Cl.³
C 12 N 11/00

(75)

Autor vynálezu

LASOVSKÝ JAN RNDr. CSc., PROSTĚJOV
a GRAMBAL FRANTIŠEK ing., OLOMOUC

(54) Způsob adsorpce mikroorganismů a buněčných organoidů na pevné nosiče

Vynález se týká způsobu adsorpce mikroorganismů a buněčných organoidů na pevné nosiče.

V posledních letech roste zájem o adsorpci buněčných organoidů a mikroorganismů. Je známé použití polyelektrolytů k čištění vody i vzduchu od patogenních látek, virů a podobně. Imobilizaci mikroorganismů na vhodné nosiče je možné získat fungující enzymatické systémy, které dovolují opakované, resp. kontinuální provedení požadovaných reakcí. Zvláštní význam má adsorpce chloroplastů, buněčných organoidů, pomocí kterých se uskutečňuje fotosynthesa (viz Berezin I. V., Antonov V. K., Martinek K.: Imobilizovannye fermenty, Iz. Moskovskovo Universiteta, Moskva 1976).

Jedním ze způsobů adsorpce mikroorganismů a buněčných organoidů je nekovalentní vazba s nosiči, které mají povahu iontoměničů, či polyelektrolytů. Získávají se však nosiče s nízkou adsorpční mohutností a nízkou odolností proti vymývání do vodných roztoků.

Uvedené nedostatky odstraňuje způsob adsorpce mikroorganismů a buněčných organoidů podle vynálezu.

Podstata vynálezu spočívá v tom, že se na pevný nosič působí suspenzí mikroorganismů, resp. buněčných organoidů za přítomnosti kationoidního tenzidu o koncentraci $2 \cdot 10^{-3}$ až 10^{-2} mol l^{-1} . S výhodou je možné použít 2,3,5-trifenyltetrazoliumchlorid nebo cetyltrimethylamoniumbromid. Na pevný nosič se působí suspenzí mikroorganismů, resp. buněčných organoidů ve vodě za přítomnosti kationoidních tenzidů, obsahujících objemný kationt. Tyto blokují záporný povrchový náboj vnějších buněčných membrán. Výběr kationoidních tenzidů není prakticky omezen. S úspěchem je možné použít cetyltrimethylamoniumbromid, cetylpyridiniumbromid, N-(α -karbethoxypentadecyl)-trimethylamoniumbromid a podobně. Jiné objemné kationty jsou použitelné, jestliže jejich relativní molekulová hmotnost je větší nebo alespoň rovna 100. V kombinaci s křemičitanovými nosiči je zvlášť výhodné použití cetyltrimethylamoniumbromidu a 2,3,5-trifenyltetrazoliumchloridu, které se používají ve formě 10^{-3} až 10^{-2} mol l^{-1} roztoků.

Podstata vynálezu je blíže objasněna v následujících příkladech.

Příklad 1

Adsorpce kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) na kaolin pomocí 2,3,5-trifenyltetrazoliumchloridu (TFT), resp. cetyltrimethylamoniumbromidu (CTAB).

Byla použita suspenze 3 g kvasinek ve 100 ml roztoku. K 1 g kaolinu bylo přidáno 10 ml suspenze kvasinek a 10 ml 10^{-2} mol l^{-1} roztoku TFT. V dalších dvou vzorcích byl roztok 2,3,5-trifenyltetrazoliumchloridu nahrazen 10 ml 10^{-2} mol l^{-1} roztoku cetyltrimethylamoniumbromidu, resp. 10 ml vody. Po krátkém zamíchání byl roztok ponechán, aby se usadila suspenze kaolinu s neadsorbovanými kvasinkami. Při použití TFT i CTAB došlo k úplné adsorpci kvasinek a vydělení čirého roztoku nad suspenzí. Ke kvasinkám adsorbovaným na povrchu nosiče bylo přidáno 5 ml 1% roztoku glukózy, 10 ml $\frac{1}{15}$ mol l^{-1} Na_2HPO_4 a 10 ml 10^{-2} mol l^{-1} roztoku 2,3,5-trifenyltetrazoliumchloridu. Vzorky byly ponořeny do vodní lázně stabilizované na 37 °C. Postupně se vyvíjející červené zbarvení trifenylformazanu indikuje schopnost kvasinek štěpit glukózu. Pozitivní reakci poskytují pouze kvasinky adsorbované prostřednictvím 2,3,5-trifenyltetrazoliumchloridu, zatímco kationoidní tenzid (CTAB) inhibuje jejich funkci. Při prvním způsobu adsorpce je možné získat životaschopné mikroorganismy naadsorbované na nosiči, druhý způsob adsorpce najde použití při čištění roztoků od nežádoucích mikroorganismů. Výhodou použití obou objemných kationtů je navíc agregace částic nosiče, která výrazně zrychluje jeho sedimentaci a zlepšuje filtrovatelnost.

Příklad 2

Adsorpce chloroplastů (měřík, mniun) na silikagel pomocí cetyltrimethylamoniumbromidu (CTAB).

Byla použita suspenze chloroplastů v roztoku 0,4 mol l^{-1} sacharosy, 0,01 mol l^{-1} NaCl a 0,05 mol l^{-1} tris-HCl pufru (pH 7,80). obsah barviva (chlorofyl a, b) byl 141 mg/l.

Ke 4 g silikagelu byly přidány 2 ml suspenze chloroplastů, 20 ml 10^{-2} M roztoku cetyltrimethylamoniumbromidu, resp. 20 ml vody. Po 4 hodinách míchání bylo po sedimentaci silikagelu odebráno 0,5 ml vodné suspenze chloroplastů, které nebyly naadsorbovány na nosiči, do 5 ml acetonu. Po přidání 0,5 ml vody, odstředění (10 min při 4200 ot. min^{-1}), byla změřena absorbance roztoku v oblasti vlnových délek 630 až 680 nm. Procentové zastoupení chloroplastů ve vodné suspenzi a na povrchu nosiče bylo vypočítáno pomocí kalibračních grafů. Za přítomnosti kationoidního tenzidu proběhla adsorpce z 60% a adsorbát je odolný proti vymývání. Z čistých roztoků (v nepřítomnosti tenzidů) byla adsorpce chloroplastů nepatrná a promytím vodou je možné nosič chloroplastů zcela zbavit. Adsorpční schopnost chloroplastů vůči upravenému povrchu silikagelu je možné zvýšit alkalizováním roztoku (pokud to dovolí pufrací schopnost silikagelu). Stejných výsledků je možné dosáhnout adsorpcí chloroplastů na silikagel, který byl předtím vystaven osmihodinovému působení 10^{-2} M roztoku CTAB v množství 5 ml/g nosiče a po adsorbci kationoidního tenzidu promyt vodou. S menším účinkem je možné pro adsorpci chloroplastů použít i 2,3,5-trifenyltetrazoliumchloridu. Při použití 10^{-2} M roztoků TFT proběhla adsorpce chloroplastů z 36%.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob adsorpce mikroorganismů a buněčných organoidů na pevné nosiče, vyznačující se tím, že se na pevný nosič působí suspenzí mikroorganismů a/nebo buněčných organoidů za přítomnosti kationoidního tenzidu o koncentraci $2 \cdot 10^{-3}$ až 10^{-2} mol l^{-1} .
2. Způsob adsorpce podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako kationoidní tenzid použije 2,3,5-trifenyltetrazoliumchlorid.
3. Způsob adsorpce podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako kationoidní tenzid použije tenzid, výhodně cetyltrimethylamoniumbromid.