

SEPARATION OF ACETONE PRODUCERS FROM DIFFERENT NATURAL SOURCES

O. Skrotska, A. Zinchenko

National University of Food Technologies

S. Skrotskyi

D.K. Zabolotniy Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine

Key words:

Acetone

Acetone-butanol bacteria

Article history:

Received 18.01.2013

Received in revised form

14.02.2013

Accepted 17.03.2013

Corresponding author:

E-mail:

Skrotska@yandex.ru

ABSTRACT

The use of acetone in various industries and the lack of raw materials for its chemical production require a shift to lower-cost sources of production. Getting acetone by microbiological method using acetone-butanol bacteria is one of the prospective alternatives. During the conducted studies, the stains of acetone-butanol bacteria were isolated from different natural sources. The amount of acetone produced by bacteria was evaluated. Comparative analysis of the most active acetone-butanol bacteria's stains was performed.

ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОДУЦЕНТОВ АЦЕТОНА ИЗ РАЗНЫХ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ

О.И. Скроцкая, А.А. Зинченко

Национальный университет пищевых технологий

С.А. Скроцкий

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН України

Использование ацетона в разных отраслях промышленности, а также отсутствие сырья для его химического получения, требует перехода на более дешевые источники его производства. Именно таким есть получение ацетона микробиологическим способом с использованием ацетоно-бутиловых бактерий. В ходе проведенных работ нами были изолированы ацетоно-бутиловые бактерии из разных природных ниш. Определено количество синтезированного ими ацетона и проведен сравнительный анализ наиболее активных изолятов ацетоно-бутиловых бактерий.

Ключевые слова: ацетон, ацетоно-бутиловые бактерии

Ацетон используется во многих отраслях промышленности, например, в лакокрасочной при изготовлении авиационных, автомобильных, кабельных и других красок, в производстве некоторых сортов искусственного шелка, бездымного пороха, а также при изготовлении небьющегося стекла. Ацетон служит материалом для изготовления многих химических продуктов, среди которых синтетический каучук, йодоформ, бромоформ, хлорацетон, изопрен, некоторые смолы и пластмасса. Ацетон нашел свое использование в производстве цемента, искусственной кожи, асфальтных красок, клея [1]. В пищевой промышленности ацетон используется в качестве экстрагента при производстве разнообразных продуктов. В частности его используют для экстракции кофеина из кофейных зерен, выделения жиров, витаминов и биологически активных соединений из растительного и животного сырья [2].

МІКРОБІОЛОГІЯ

Нинєшнє зростання цін на нафту, продукти переробки якої являються основними сировинами для виробництва ацетону, потребує переходу на більш дешеві джерела отримання хіміческих сполук, зокрема ацетону. Таким є його виробництво з використанням ацетоно-бутилових бактерій (АББ).

Для ацетоно-бутилового бродіння характерним є двофазність процесу бродіння. Перша фаза відповідає періоду, коли біомassa клітин зростає та утворюють більш окислені продукти бродіння [3]. Друга фаза починається з моменту замедлення розмноження культури та супроводжується резким зміненням характера процесу бродіння — замість окисленних продуктів починають утворюватися восстановлені соединення. Так, перша фаза ацетоно-бутилового бродіння характеризується утворенням масляної та уксусної кислот впродовж 16–18 годин, а на другій — накопичуються нейтральні продукти — бутиловий спирт та ацетон з одночасним зниженням кислотності середи. Сумарна концентрація розчинників в культуральній рідині становить близько 2,5 %. В зв'язку з тим, що цінні вторинні продукти накопичуються саме під час другої фази, важливо знати, досліджувати та підтримувати умови, сприяючі переходу процесу в цю фазу. При відсутності відповідних умов друга фаза може не настутити [4].

Для ацетоно-бутилового бродіння відомо, що його двофазність пов'язана з pH середи. На першій фазі бродіння оптимальним є значення pH в діапазоні 5,1 – 5,9. При pH нижче 4,0 – 4,1 та вищіше 7,0 – 7,1 розвиток АББ повнотою припиняється. На другій фазі швидкість бродіння найвища при pH 4,6 – 5,3 (за 18 год) та при pH 4,4 – 5,2 — за 28 год від початку процесу. тому для отримання в величезному кількості нейтральних продуктів важливо дотримуватися встановлених умов процесу бродіння.

Целью цієї роботи було дослідження розповсюдження АББ в різних природних та промислових субстратах для встановлення найбільш достовірних джерел отримання цих бактерій та селекції активних штаммів АББ для промислового виробництва ацетону.

Для виділення АББ використовували зразки ґрунту та ризосфери рослин, отобраних з болотистої місцевості міста Києва та прилеглих районів, іл озер та рік, активний та очисні споруди, гною великої рогатої худоби та куриним пометом. Всього для дослідження було отобраних 86 зразків. Для виділення АББ використовували картопельну середу з наступним складом (г/л): картопля — 200,0; глукоза — 5,0; сульфат аммонію — 1,0; карбонат кальцію — 3,0; водопровідна вода.

Предварительний вибір АББ проводили візуально за такими критеріями: а) виділенняуглекислого газу, в) збільшення середи, с) загальне освітлення середи. Другий вибір АББ проводили за наявністю ацетону. Для цього використовували качественний метод на ацетон, заснований на взаємодействії нітропруссіда натрію з кетонами, який у щелочній середі дає інтенсивно-червоний колір. Позитивні, за качественною методикою, зразки, використовували для кількісного визначення ацетону. Вони заключаються в тому, що в щелочній середі з ацетоном та йодом утворюється йодоформ. Йод, який не вступив у реакцію, однією з речовин тиосульфату натрію. За розниці, тиосульфату, який поштовхнув на титрування контрольного та експериментального зразка визначали кількість йоду, який вступив у реакцію та пересчитували на ацетон (г/л) [5]. Содержання ацетону обчислювали за формулою: $C = (A - B) \times 0,9765$, де C — кількість отриманого ацетону, мг / мл; A — об'єм 0,1 M тиосульфату натрію, використаного на титрування контрольного зразка, мг; B — об'єм 0,1 M тиосульфату натрію, використаного на титрування експериментального зразка, мг; 0,9765 — кількість ацетону, яке відповідає 1 мл 0,1 M розчину тиосульфату натрію на титрування, мг.

Все зразки отобраних з озера Супой, коров'яго гною та куриного помета були позитивними за здатністю синтезувати ацетон. При дослідженнях зразків, отобраних з лісового озера та річкового піску, не було виявлено бродіння та вони давали негативну реакцію на ацетон. Було протестовано достатньо велику кількість зразків ґрунту хвойного та смішаного лісу, але тільки 20 % використаних зразків дали позитивний результат. У цілому 44 % отобраних зразків давали позитивну реакцію на ацетон.

МІКРОБІОЛОГІЯ

У стабільно положительних ізолятах було проведено кількісне определення ацетона і сравнительний аналіз найбільш активних (по ацетону) ізолятів із різних естественных ниш. Було установлено, что 22 % виділенних АББ продуцировали растворитель в кількості від 4,0 до 5,0 г/л. Ізоляти АББ виділені з почви хвойного і смішаного леса, активного ила водоочистильних споруд, міської свалки і жомових ям продуцировали небагате кількість ацетона (в пределах 0,8–2,1 г/л). Найбільш активні по кількості синтезованого ацетона штамми АББ були виділені з полевої почви, ила озера Супой, торфа, кар'єрного піску і куриного помета (таблиця). АББ виділені з торфа і полевої почви продуцировали ацетон в кількості 3,8 – 3,9 г/л, продуценти ацетона виділені з куриного помета і ила озера Супой продуцировали ацетон на 25 % менше. Другі виділені штамми АББ синтезировали ацетон в менших кількостях (от 1,0 до 2,7 г/л).

Активність броження ацетоно-бутилових бактерій виділеніх із різних природних джерел

№ п/п	Місце отбора проби	Время начала брожения, часы	Переход во вторую фазу брожения, часы	Количество ацетона, г/л	Общая продолжительность брожения, часы
1	Почва полевая	4,5	7,0	3,80	48
2	Почва хвойного леса	7,0	10,2	1,03	56
3	Почва смішаного леса	6,6	9,1	1,16	52
4	Песок кар'єрний	5,6	8,1	2,70	52
5	Ил р. Дніпро	5,7	8,2	2,70	50
6	Ил о. Супой	5,0	6,7	3,00	50
7	Торф	4,2	7,0	3,90	46
8	Гной коровий	5,2	7,5	1,70	48
9	Помет куриний	5,1	6,3	3,30	47
10	Активный ил водоочис- тильных споруд	6,0	10,1	1,65	55
11	Міська свалка	5,6	9,0	1,50	58
12	Жомові ями (сахарний завод)	6,3	9,2	1,40	60

Выводы

Наиболее активные продуценты ацетона были изолированы с экониш со значительным содержанием не только углеводородов, но и протеинов (торф, ил озера, грунт полевой). В их состав входит значительное количество легкогидролизуемых полисахаридов и общее содержание белкового азота составляет 1 – 2 %, а также около 64 – 75 % легкогидролизуемых протеинов. Хотя из этих данных и нельзя говорить о безоговорочной зависимости нахождения активных штаммов-продуцентов ацетона от места их выделения, но все же можно проследить некоторую закономерность их нахождения в местах где присутствует достаточно большое количество полисахаридных и белковых веществ.

Таким образом исследуемые ацетоно-бутиловые бактерии являются перспективными для дальнейшего изучения с целью оптимизации условий их культивирования для увеличения выхода ацетона.

Література

1. Zverlov V.V., Berezina O., Velikodvorskaya G.A., Shwarz W.H. Bacterial acetone and butanol production by industrial fermentation in the Soviet Union: use of hydrolyzed agricultural waste for biorefinery // Appl. Microbiol. Biotehnol. — 2006. — Vol. 71. — P. 587 – 597.

2. Климова Е.В. Использование смеси растворителей ацетон-трихлорэтилен для экстракции оливкового масла из жмыха; жирно-кислотный состав получаемого масла // Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. — 2008. — № 3. — С. 956.

3. Логоткин И.С. Технология ацетоно-бутилового производства. — М.: Пищепромиздат, 1958. — 267 с.

4. Doris Freier-Schroder, Jiirgen Wiegel, Gerhard Gottschalk. Butanol formation by Clostridium thermosaccharolyticum at neutral pH // J. Biotechnology Letters. — 1989. — Vol 11. — P. 831 – 836.

5. Коренман Я.И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов: Учеб. Пособие. — Воронеж : Воронеж. Гос. Технол. Акад., 2002. — 408 с.

ВИДІЛЕННЯ ПРОДУЦЕНТІВ АЦЕТОНУ З РІЗНИХ ПРИРОДНИХ ДЖЕРЕЛ

О.І. Скроцька, А.О. Зінченко

Національний університет піщевих технологій

С.О. Скроцький

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України

Використання ацетону в різних галузях промисловості, а також відсутність сировини для його хімічного отримання, вимагає переходу на більш дешеві джерела його виробництва. Саме таким є отримання ацетону мікробіологічним способом з використанням ацетоно-бутилових бактерій. В ході проведених робіт нами були ізольовані ацетоно-бутилові бактерії з різних природних ніш. Визначено кількість синтезованого ними ацетону та проведено порівняльний аналіз найбільш активних ізолятів ацетоно-бутилових бактерій.

Ключові слова: ацетон, ацетоно-бутилові бактерії