



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1063834 A

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР  
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

3(51) С 12 № 15/00; С 02 F 3/34;  
С 12 R 1/645

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ **РПФК** К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

- (21) 3484594/28-13  
(22) 04.08.82  
(46) 30.12.83. Бюл. № 48  
(72) Н.Н. Жданова, А.В. Мележик,  
А.И. Василевская, М.С. Дяминов,  
М.А. Айзенберг и В.С. Михайлов  
(53) 663.18(088.8)  
(56) 1. Патент СССР № 488395,  
кл. С 02 F 5/10, 1973.  
2. Патент США № 3970553,  
кл. 210-36, опублик. 1976.  
3. Larsson B. Tjälve H. Studies  
on the mechanism of drug - binding  
to melanin, 28, p. 1181-1187, 1979.

- (54) ШТАММ ГРИБА CLADOSPORIUM CLA-  
DOSPORIODES 396 - ПРОДУЦЕНТ МЕЛАНИ-  
НОВОГО ПИГМЕНТА.  
(57) Штамм гриба Cladosporium clados-  
porioides 396 (коллекция Централь-  
ного Музея промышленных микроорганиз-  
мов "ВНИИГенетика", коллекционный  
номер ЦМПМ Г-162) - продуцент мела-  
нинового пигмента.

(19) SU (11) 1063834 A

Изобретение относится к микробиологической промышленности и касается нового штамма гриба, применяемого для связывания ионов тяжелых металлов.

Биомасса микроскопического гриба или полученный из нее меланиновый пигмент используется для непосредственной очистки сточных вод.

Меланиновые пигменты животного происхождения, недоступные для промышленного получения, адсорбируют ионы тяжелых металлов и по этой способности не уступают дорогостоящим синтетическим ионообменным материалам [1] и [2].

Известные грибы рода *Cladosporium* образуют меланиновый пигмент, доступный для культивирования на предприятиях микробиологической промышленности [3].

Однако известные грибы не находят практического применения.

Цель изобретения - получение штамма *Cladosporium cladosporioides* 396, обладающего способностью связывать ионы тяжелых металлов, который может быть применен в промышленности.

Морфологические признаки. Колонии гриба на сусловом агаре бархатистые, оливково-зеленые, на обратной стороне не темно-коричневые до черных, на агаризованной среде Чапека колонии растут менее интенсивно, окраска колоний та же. Конидиеносцы до  $400 \cdot 3,0-4,5$  мк, гладкие, несут ветвящиеся цепочки конидий. Конидии одноклеточные, слегка зеленоватые, в разветвленных цепочках, гладкие, овальные, удлиненно-овальные до почти шаровидных; верхушечные конидии  $2,2-3,5 \cdot 2,0-3,3$  мк; срединные и базальные  $6,5-11,4 \cdot 3,2-3,8$  мк.

Гриб является аэробом, оптимум роста и спороношения при  $25^{\circ}\text{C}$ , оптимальное значение активности воды равно 0,98, оптимальная кислотность среды pH 4-5, высокоустойчив к тотальным дозам УФ- и  $\gamma$ -излучения, искусственному солнечному свету высокой интенсивности. Гриб усваивает нитратные формы азота, в качестве единственного источника углерода использует глюкозу, сахарозу, крахмал, пектин, целлюлозу, лимонную, щавелевую, уксусную кислоты, обладает целлюлозолитической и тиразинной активностью.

Штамм гриба нетоксичен, легко культивируется в лабораторных условиях.

Для наработки грибной биомассы в условиях глубинного культивирования используют модифицированную среду Чапека, в которую добавляют 1% кукурузного экстракта и вместо сахарозы используют сахар. Стоимость 1 л среды составляет 3,6 коп.

Образующуюся при росте гриба биомассу отделяют фильтрованием от культуральной жидкости и высушивают при  $60^{\circ}\text{C}$ .

Выход биомассы гриба составляет 5 15-20 г/л.

Штамм гриба образует меланиновый пигмент индольной природы, который относится к группе высокомолекулярных веществ нерегулярной структуры и имеет фенольные, хиноидные, карбоксильные и другие функциональные группы. Пигмент содержит: углерод 58,2, водород 3,6 и азот 9,72 и близок меланину животного происхождения. В грибной клетке пигмент образует комплекс с белком, составляющий 30% по отношению к биомассе гриба. Пигмент растворяется в едком натре и концентрированных  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и  $\text{HCl}$ , не растворяется в тетрагидрофуране, сухом пиридине, хлорэтаноле, бутаноле, этаноле, диэтиловом эфире, ацетоне, хлороформе, метаноле, обесцвечивается под действием  $\text{H}_2\text{O}_2$ , бромной воды,  $\text{KMnO}_4$ , дает положительную реакцию с аммиачными ионами серебра. Спектроскопия: неизбирательно поглощает лучи УФ, видимого и ИК-света в пределах от 200 до 900 нм. На приборе электронного парамагнитного резонанса выявлена высокая концентрация парамагнитных центров порядка  $1 \cdot 10^{19}$  ПП/г сухого вещества.

Меланиновый пигмент выделяется из биомассы гриба по модифицированному методу путем гидролизата его немеланиновых компонентов при кипячении ее в смеси уксусной и соляной кислот. Штамм депонирован во ВНИИ Генетики, коллекционный номер ЦМПМ Г-162.

Получение пигмента из биомассы гриба.

Пример. Смесь 100 г сухой порошкообразной биомассы гриба *C. cladosporioides*, 530 мл ледяной уксусной кислоты, 330 мл концентрированной соляной кислоты и 130 мл воды кипятят с обратным холодильником в течение 4 ч. Горячую смесь отфильтровывают, осадок промывают горячей 80%-ной уксусной кислотой, затем горячей водой и высушивают на воздухе при  $80^{\circ}\text{C}$ . При этом из 100 г биомассы получают 36 г меланинового пигмента в виде черно-коричневого порошка.

Установлено, что при адсорбции ионов металлов может применяться не только меланин, выделенный из гриба, но и биомасса самого гриба-продуцента (который при этом требуется в 2,5-3,0 раза больше), так как меланиновые гранулы расположены в наружном слое клеточной оболочки и доступны для взаимодействия с ионами металлов.

Пример. Извлечение металла из раствора меланином.

Меланин (1 г) или измельченную высушенную биомассу гриба перемешивают в течение 3 ч с 1 л раствора, содержащего 0,001 М  $Pb(CH_3COO)_2$ , т.е. 0,32 г  $Pb(CH_3COO)_2$ . Суспензию фильтруют и определяют содержание свинца в маточном растворе. Количество свинца, адсорбированного меланином, определяют по разности содержания ионов свинца в растворе до и после адсорбции.

Извлечение ионов других металлов, представленных в таблице, осуществляют подобным образом.

Как следует из таблицы, полученный меланин по способности адсорбировать ионы указанных металлов не уступает меланину животного происхождения [1].

Максимальная емкость меланина (весовой процент адсорбированного металла по отношению к весу меланина)

достигает 40% при адсорбции ртути из нейтрального раствора  $Hg(CH_3COO)_2$ , 30% из раствора  $Hg(CH_3COO)_2$  в 0,17 М  $CH_3COOH$ , 16% при адсорбции свинца из раствора  $Pb(CH_3COO)_2$  в 0,17 М  $CH_3COOH$ .

Регенерация сорбента (в случае  $Zn^{II}$ ) осуществляется путем замачивания пигмента 20%-ной соляной кислотой в течение 5 ч; в случае ртути - путем промывания в 10%-ном водном растворе тиосульфата натрия в течение 5 ч.

Таким образом, меланинсодержащая биомасса гриба или меланиновый пигмент используют для очистки воды от ионов тяжелых металлов, при этом в связи с локализацией меланинового пигмента в клеточной оболочке гриба возможно использование и самой грибной биомассы, сам же меланиновый пигмент адсорбирует из водных растворов ионы свинца, цинка, хромата, палладия, тория, латения и ртути.

Состав исходного раствора, г/л	Количество меланина, г/л							
	1		2		3		10	
	а	б	а	б	а	б	а	б
$Pb(CH_3COO)_2$ 0,32 в воде	37	80	-	-	75	52	95	20
$Na_2PbCl_4$ 0,30 в 0,01 М $HClO_4$	66	70	-	-	95	50	100	10,6
$Th(NO_3)_4$ 0,48 в 0,01 М $HClO_4$	7	16	-	-	17	13	68	16
$La(CH_3COO)_3$ 0,33 в воде	39	60	-	-	68	33	91	13
$Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ 0,0028 в воде	95	0,76	95	0,76	100	0,3	100	0,8
$Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ 0,43 в воде	-	-	60-70	4-5	-	-	-	-
$CrO_3$ 0,02 в воде	94	9,4	-	-	97	3,2	100	1,0
$CrO_3$ 0,15 в воде	-	-	100	40	-	-	-	-
$CrO_3$ 0,55 в воде	-	-	70-90	100-130	-	-	-	-
$Hg(CH_3COO)_2$ 0,32 в воде	90	180	-	-	-	-	-	-

Примечание - В зависимости от времени перемешивания; количество адсорбированного металла: а - к исходной концентрации, %, б - на 1 г меланина, мг.

