

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. Аль - ФАРАБИ

Факультет биологии и биотехнологии

Кафедра биотехнологии

Предмет : «Инженерная энзимология»

**Тема : «Микробиологическая характеристика
биопленки, использование в биотехнологических
процессах»**

Проверила : Кайырманова Г.К.

к.б.н., доцент кафедры биотехнологии

Выполнила : Жабаква Айжан

4 курс, МБТ 212

Алматы 2014

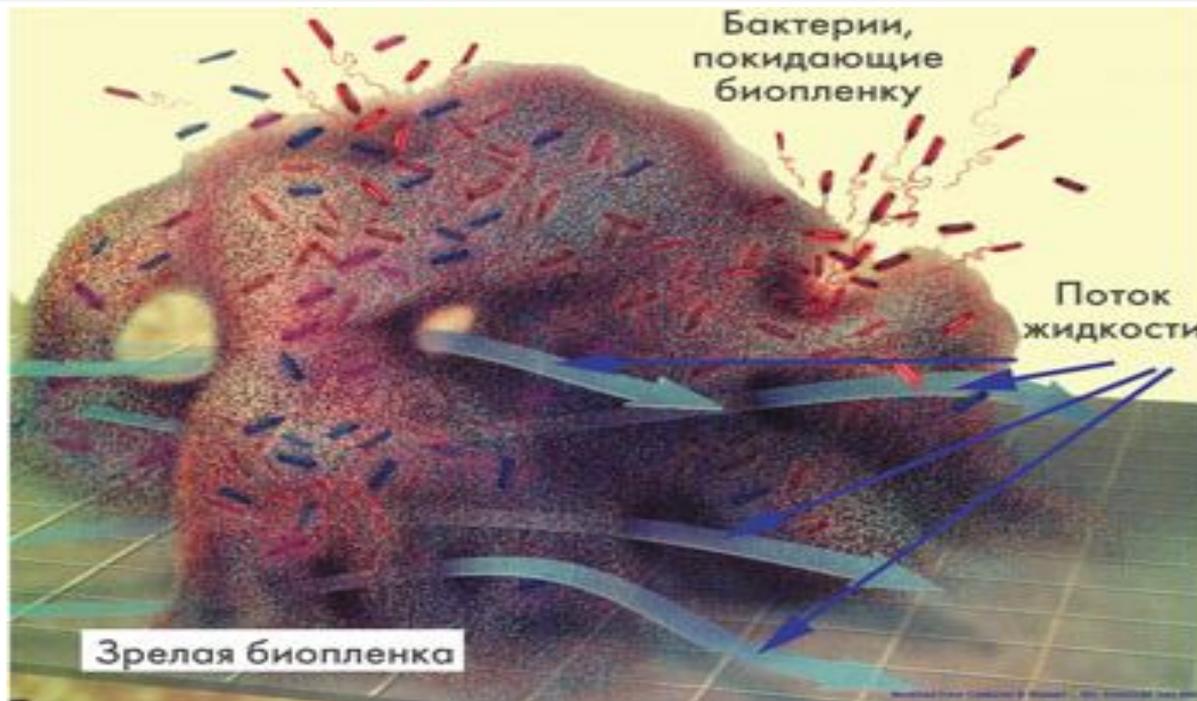


Содержание

- Введение
- Что такое биопленка
 - Структура биопленки
 - Стадии развития биопленки
 - Основные свойства биопленки
 - Quorum Sensing
- Использование биопленки в биотехнологических процессах
 - Очистка сточных вод
 - Классификация биофильтров
- Заключение
- СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Введение

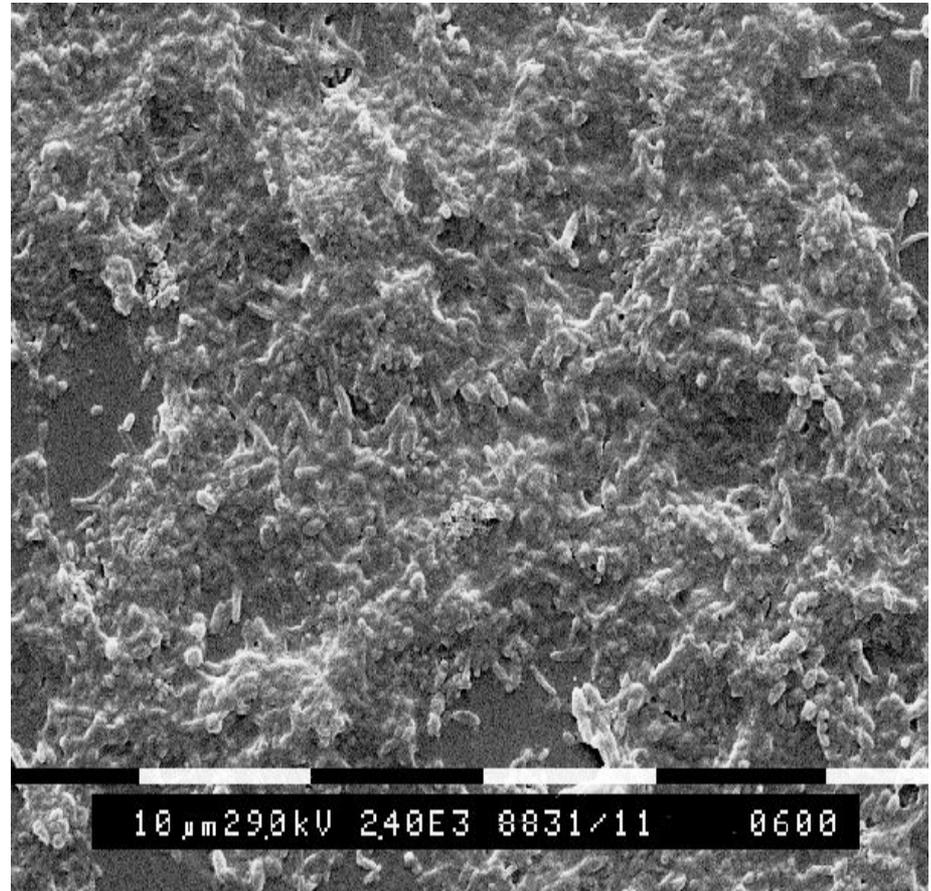
На сегодняшний день известно, что большинство бактерий (до 90%) существуют в природе не в виде свободно плавающих клеток, а в виде специфически организованных биопленок. Причем сами бактерии составляют лишь 5-35% массы биопленки, остальная часть — это межбактериальный матрикс. Такая форма существования предоставляет бактериям массу преимуществ в условиях воздействия неблагоприятных факторов внешней среды.



Биопленка – сообщество бактерий, необратимо прикрепленных к субстрату и друг к другу и защищенных продуцируемым этими клетками внеклеточным полимерным матриксом. Они имеют измененный фенотип, проявляющийся другими параметрами роста и экспрессии специфичных генов.



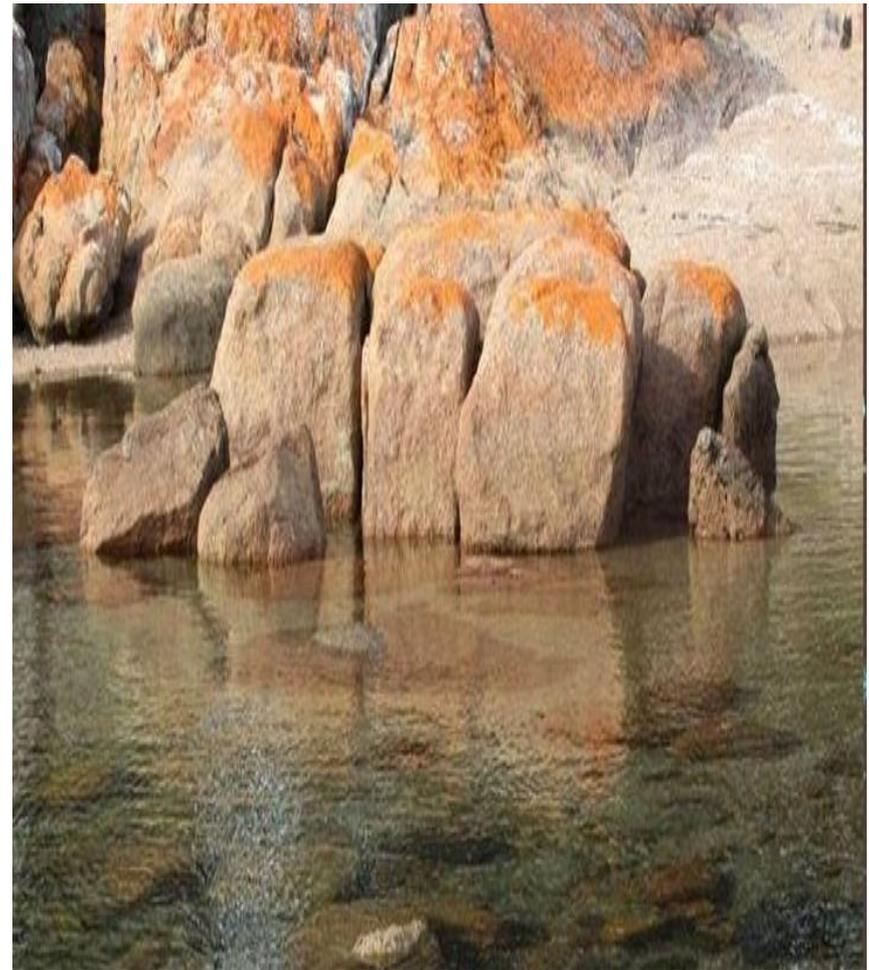
Микрофлора биопленки более устойчива к воздействию неблагоприятных факторов физической, химической и биологической природы по сравнению со свободно плавающими бактериями; Микроорганизмы, входящие в ее состав, оказались очень устойчивы к воздействию ультрафиолетового излучения, дегидратации, антибиотикам и факторам иммунной защиты.



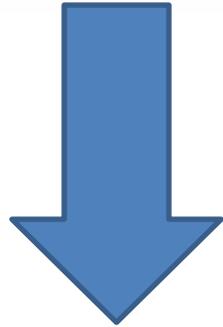
В природе биопленки распространены повсеместно. Их формирование отмечено у большинства бактерий в природных, клинических и промышленных условиях. Они образуются в условиях текучести на границе двух средовых фаз (жидкость – жидкость, жидкость – воздух и т. д.). Биопленки обнаруживаются на твердых субстратах, погруженных в водный раствор, а также могут создавать плавающие маты на жидких поверхностях.



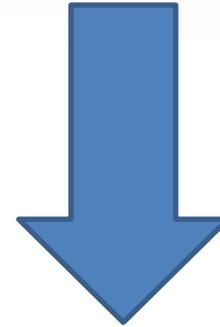
Классическим примером биопленки может служить тонкое наслоение на скалах, находящихся посреди течения.



Биопленка



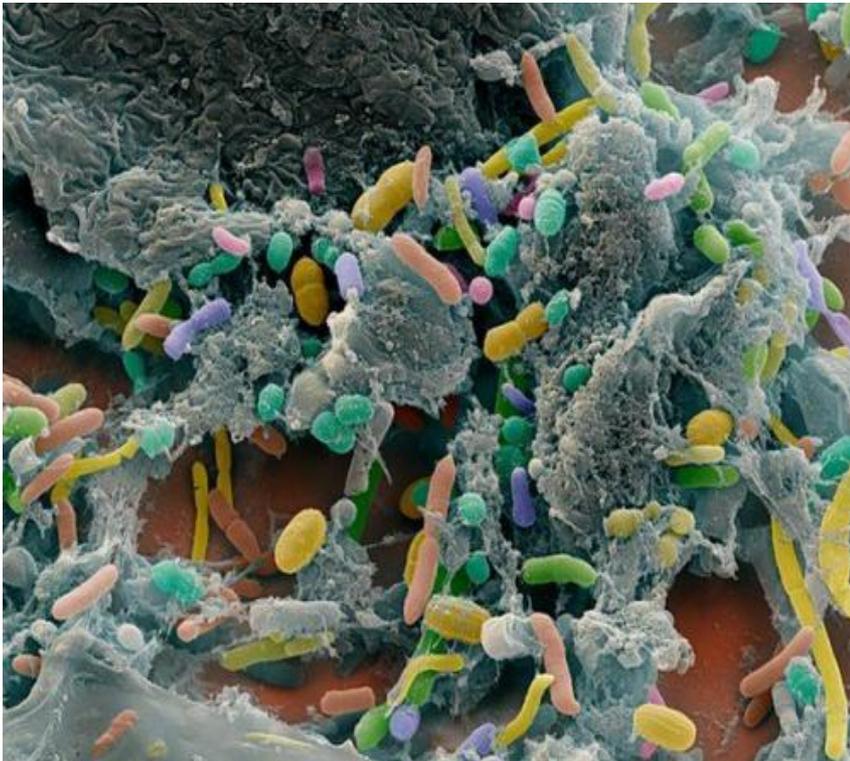
Колониеподобные сообщества – образуются бактериями одного вида



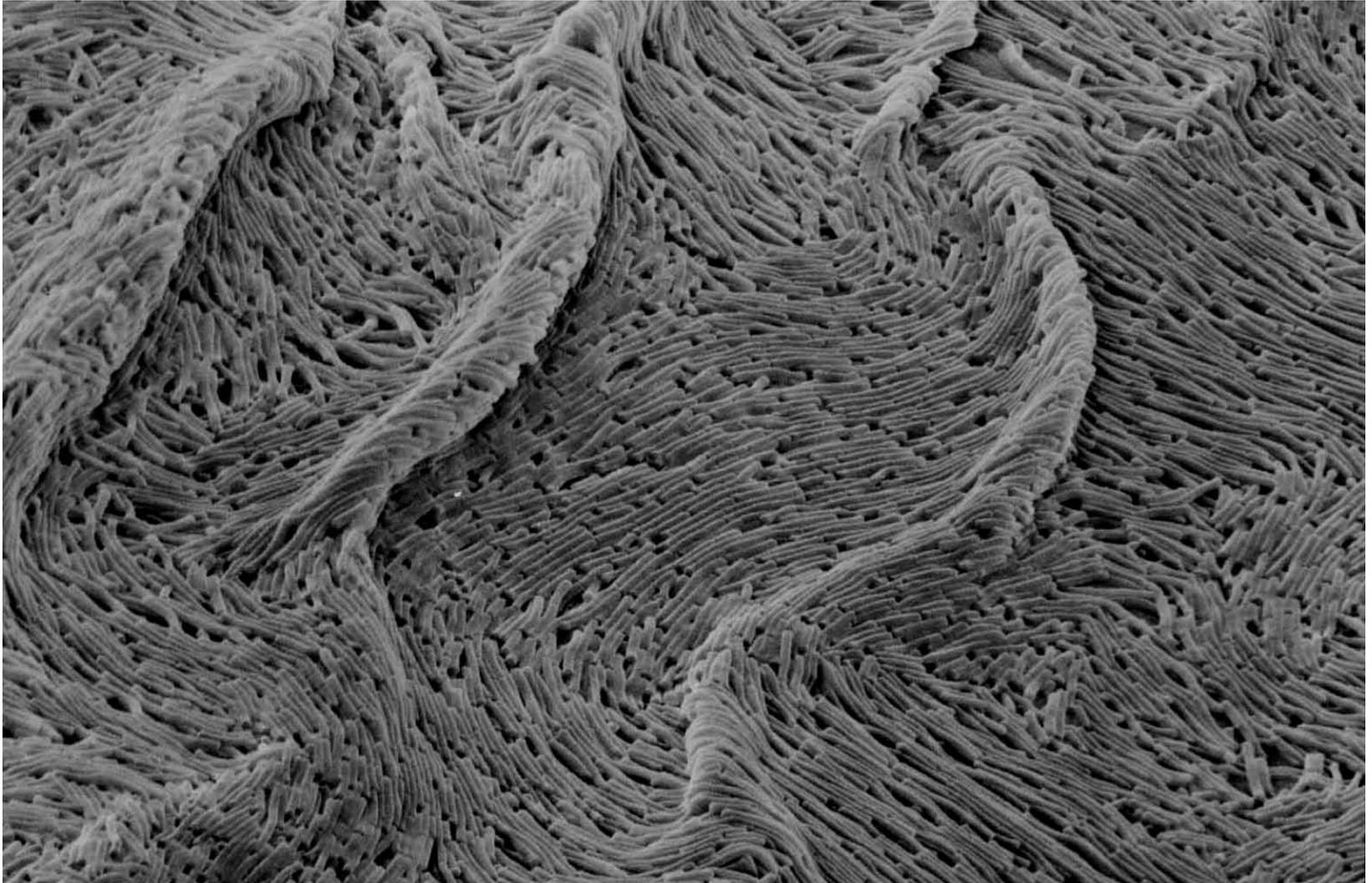
Смешанные микробные сообщества (СМС) – ММС – формируются при размножении бактерий разных видов



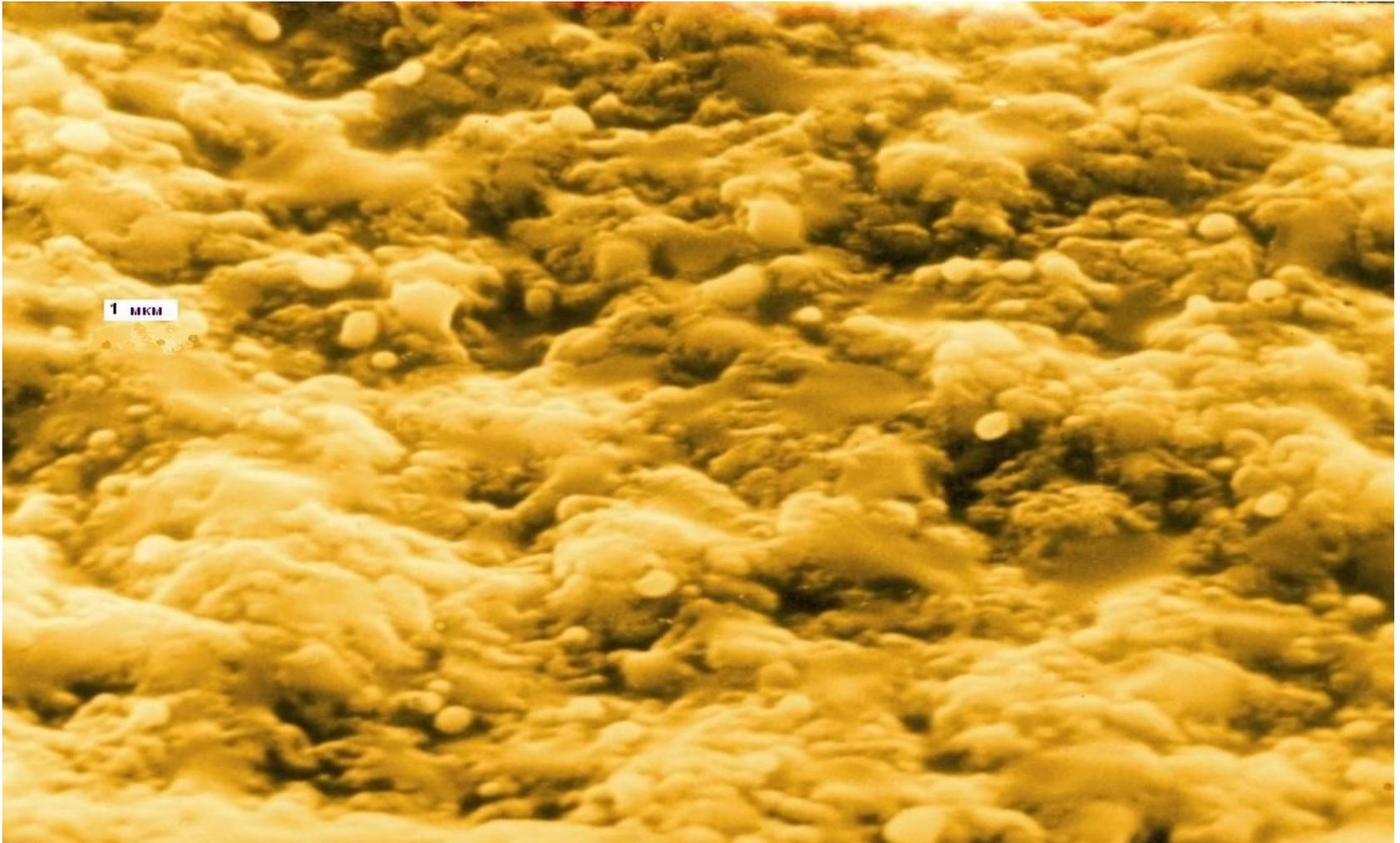
В биопленках может содержаться множество различных видов микроорганизмов, например, бактерии, простейшие, грибы и водоросли, каждый из группы выполняет специализированные метаболические функции. Многие патогены, такие как *E. coli*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria*, *Campylobacter*, существуют в форме биопленки на поверхности пищевых продуктов или на поверхности оборудования для их хранения. Кроме того, патогенные бактерии, такие как *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, как правило, растут на катетерах, искусственных суставах, механических клапанах сердца и т.д.



Биопленка лактобацилл



Поверхность биопленки *E.coli* (СЭМ)



Структура биопленки

Биопленка состоит из:

- живых клеток (15% объема)**
- окружающего клетки матрикса (85%)**
- снаружи и внутри окружена общей мембраной**

Внутри биопленки бактерии объединены межклеточными контактами *двух типов*:

- 1) Цитоплазматические мостики – мембранные трубочки, соединяющие цитоплазмы различных клеток**
- 2) Тесное слипание клеток, при котором на определенных участках бактерии имеют общую клеточную стенку**

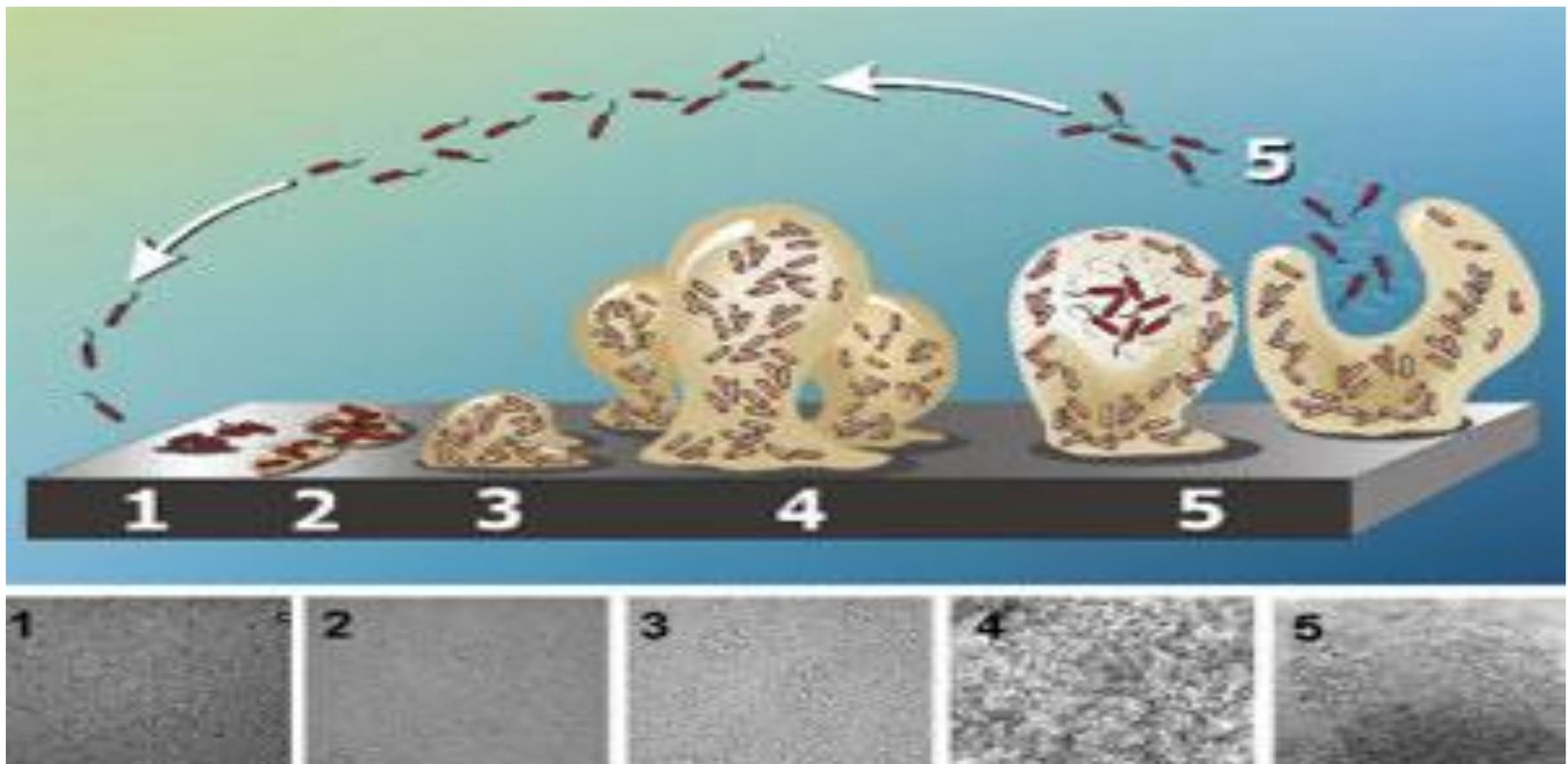
Это обеспечивает возможность генерирования общих ответов на внешние воздействия и обмен сигнальными молекулами

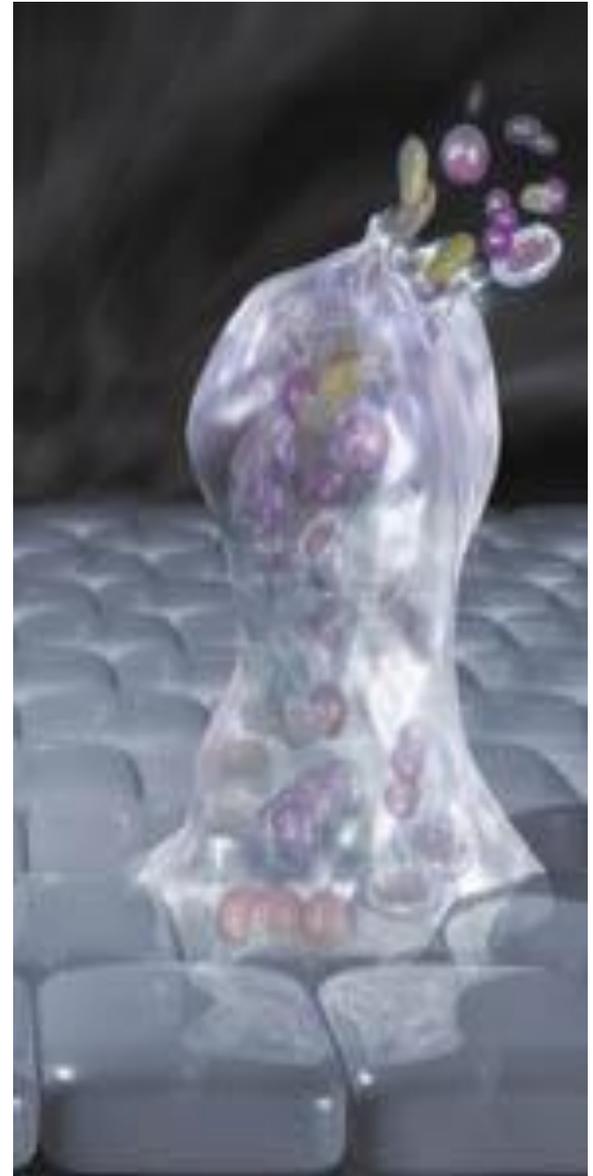
Стадии развития биопленки

1. Сначала происходит *первичное прикрепление* микроорганизмов к поверхности (адгезия, сорбция) из окружающей среды (обычно жидкости). Эта стадия обратима.
2. *Окончательное (необратимое) прикрепление*, иначе называемое *фиксацией*. На этой стадии микробы выделяют внеклеточные полимеры, обеспечивающие прочную адгезию.
3. *Созревание*. Клетки, прикрепившиеся к поверхности, облегчают прикрепление последующих клеток, внеклеточный матрикс удерживает вместе всю колонию. Накапливаются питательные вещества, клетки начинают делиться.

4. *Рост* . Образована зрелая биопленка, и теперь она изменяет свой размер и форму. Внеклеточный матрикс служит защитой клеток от внешних угроз.

5. *Дисперсия* (выброс бактерий): в результате деления периодически от биопленки отрываются отдельные клетки, способные через некоторое время прикрепиться к поверхности и образовать новую колонию.





Основные свойства биопленки:

- взаимодействующая общность разных типов микроорганизмов;**
- микроорганизмы собраны в микроколонии;**
- микроколонии окружены защитным матриксом;**
- внутри микроколоний — различная среда;**
- микроорганизмы имеют примитивную систему связи;**
- микроорганизмы в биопленке устойчивы к антибиотикам, антимикробным средствам и реакции организма хозяина.**

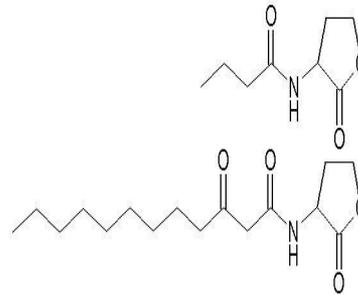
Quorum Sensing

- Quorum Sensing (QS) – это особый тип регуляции экспрессии генов бактерий, зависящей от плотности их популяции. QS системы включают низкомолекулярные сигнальные молекулы - аутоиндукторы (AI), легко диффундирующие через клеточную стенку.
- По мере того, как популяция бактерий увеличивается и достигает критического уровня, AI накапливаются до необходимого порогового значения и взаимодействуют с соответствующими регуляторными белками, что приводит к резкой активации (индукции) экспрессии определенных генов у бактерий. С помощью AI осуществляется коммуникация бактерий - межклеточная передача информации между особями бактерий, принадлежащих к одному и тому же и разным видам, родам и даже семействам.

Сигнальные молекулы- аутоиндукторы:

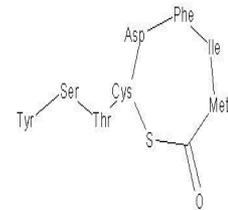
- 1) Гомосеринлактоны
acyl homoserine
lactones (AHLs) -
Грамотрицательны
е бактерии
- 2) Пептиды
(Грамположительн
ые бактерии)
- 3) Фуранозилдиэфир
бора
(Грамотрицательн
ые и
Грамположительн
ые бактерии)

- **N-acyl homoserin lactone (AHL)**
for gram-negative bacteria



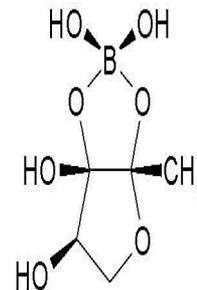
Pseudomonas aeruginosa

- **Oligopeptide**
for gram-negative bacteria

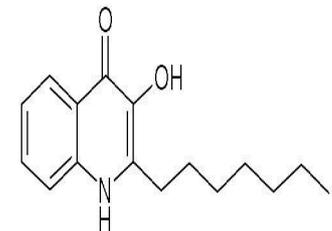


Staphylococcus aureus

- **Autoinducer-2 (AI-2)**
for interspecies communication

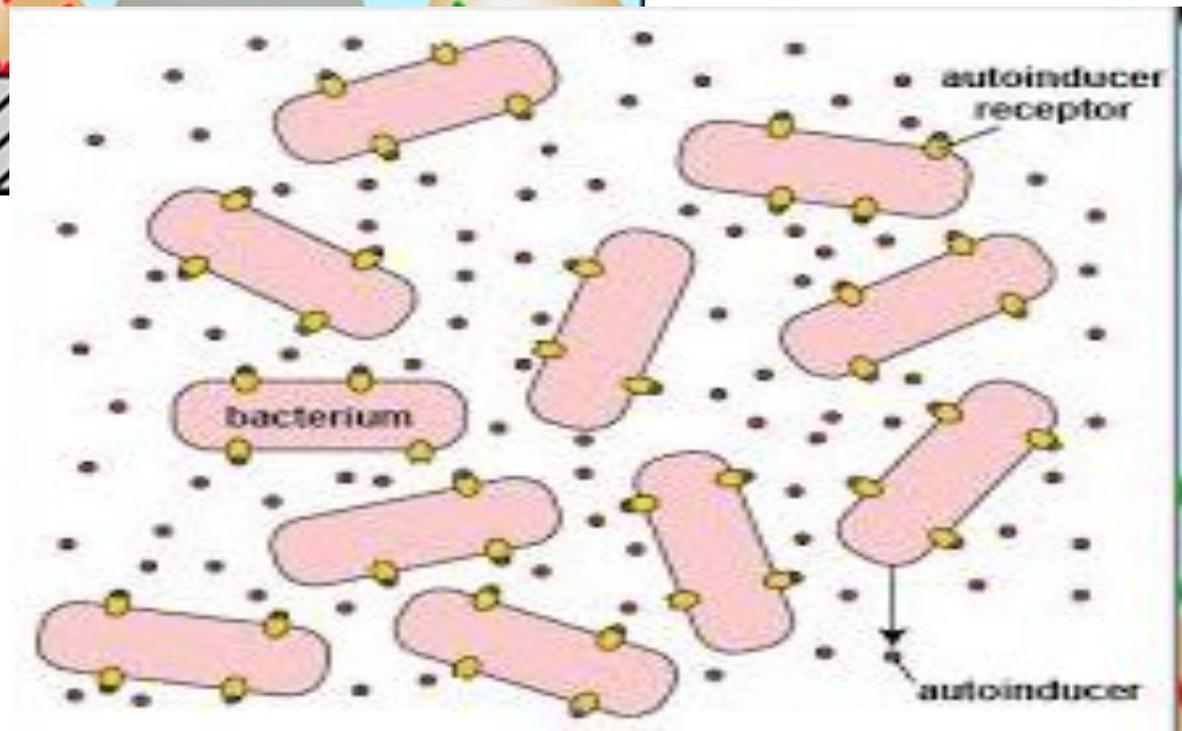
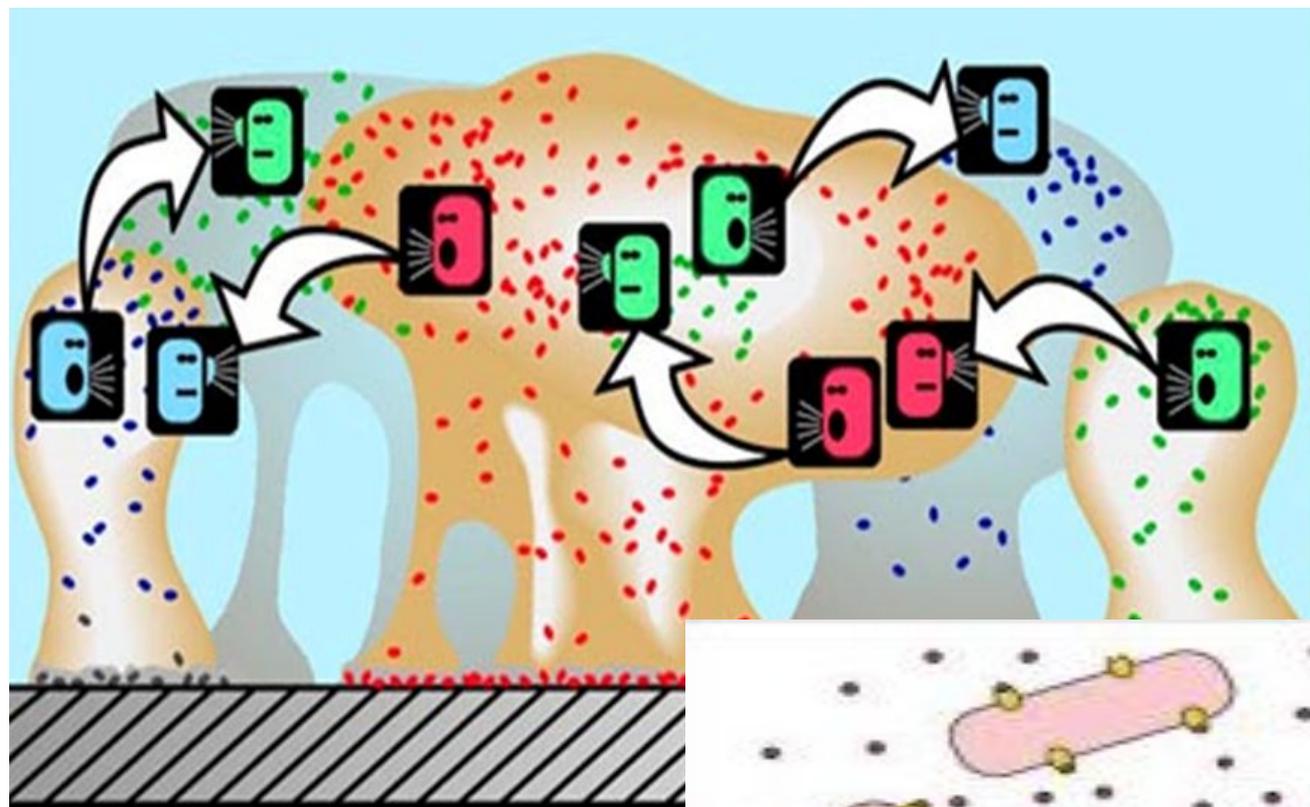


- **Others**



Pseudomonas quinolone signal (PQS)

AI-3: EHEC O157:H3



Использование биопленки в биотехнологических процессах

- Биопленки используются при очистке сточных вод (биофильтры);
- разрушении некоторых трудноразлагаемых отходов



Fig 1

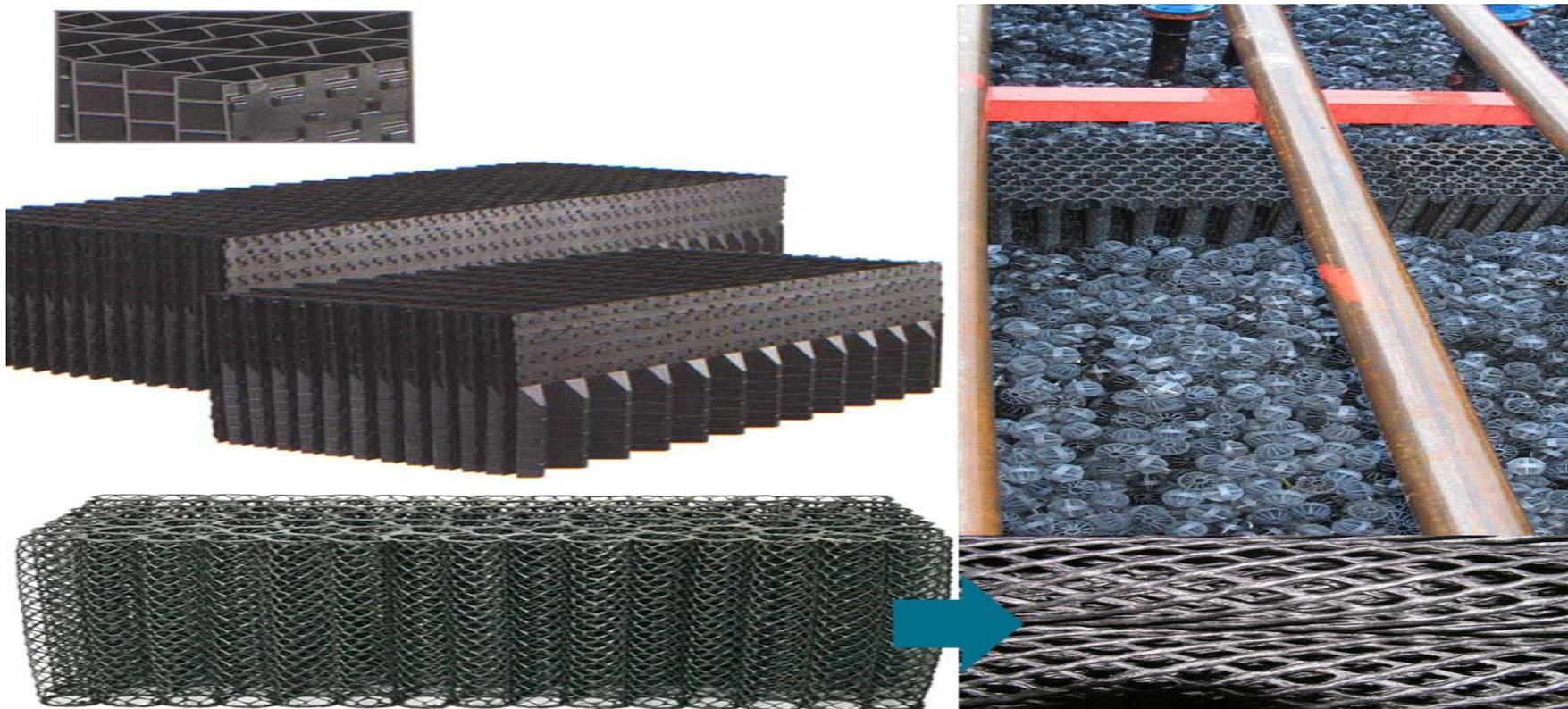


Очистка сточных вод

- Основными системами очистки сточных вод в настоящее время являются биофильтры.

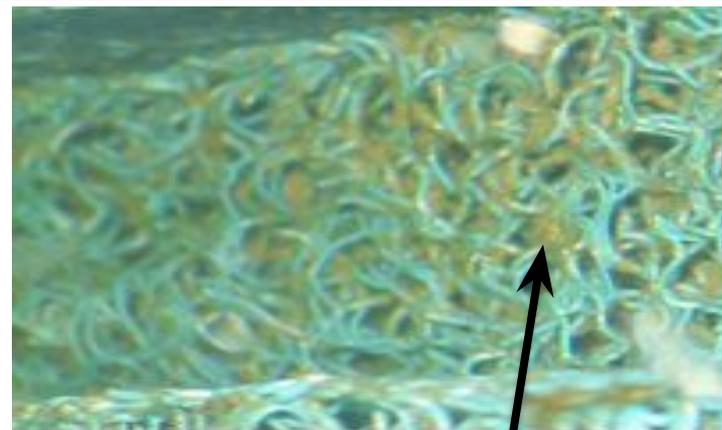


В биофильтрах очищаемая вода фильтруется через твердый носитель, покрытый плотной микробной биопленкой, содержащей микроорганизмы, удаляющие загрязнители – минерализующие органические вещества, а также окисляющие аммоний, поглощающие фосфаты, тяжёлые металлы, восстанавливающие нитраты. В сооружениях такого рода применяют различные биологически инертные носители (керамика, пеностекло, органические полимерные элементы) или устройства.



Механизм фильтрации примесей биофильтром основан на последовательных процессах связывания (адсорбции) микроорганизмов биопленки с субстратом (органические загрязнители), формированием хлопьевидных флокул, диффузией субстрата и кислорода через клеточную мембрану, биологическим окислением субстрата, сопровождающимся приростом биомассы, выделением диоксида углерода и продуктов реакции.

Процессы биологического окисления в биофильтре являются аэробными, то есть происходят с участием кислорода. Загрязненная вода, подаваемая непрерывно через расположенные над неподвижным слоем насадки сопла или периодически с помощью вращающегося разбрызгивателя контактирует с верхней частью неподвижного слоя загрузки толщиной от 1 до 3 м, оставляя на нем нерастворенные примеси, не осевшие в первичных отстойниках, а также коллоидные и растворенные органические вещества, которые сорбируются и утилизируются биопленкой, покрывающей поверхность загрузочного материала.

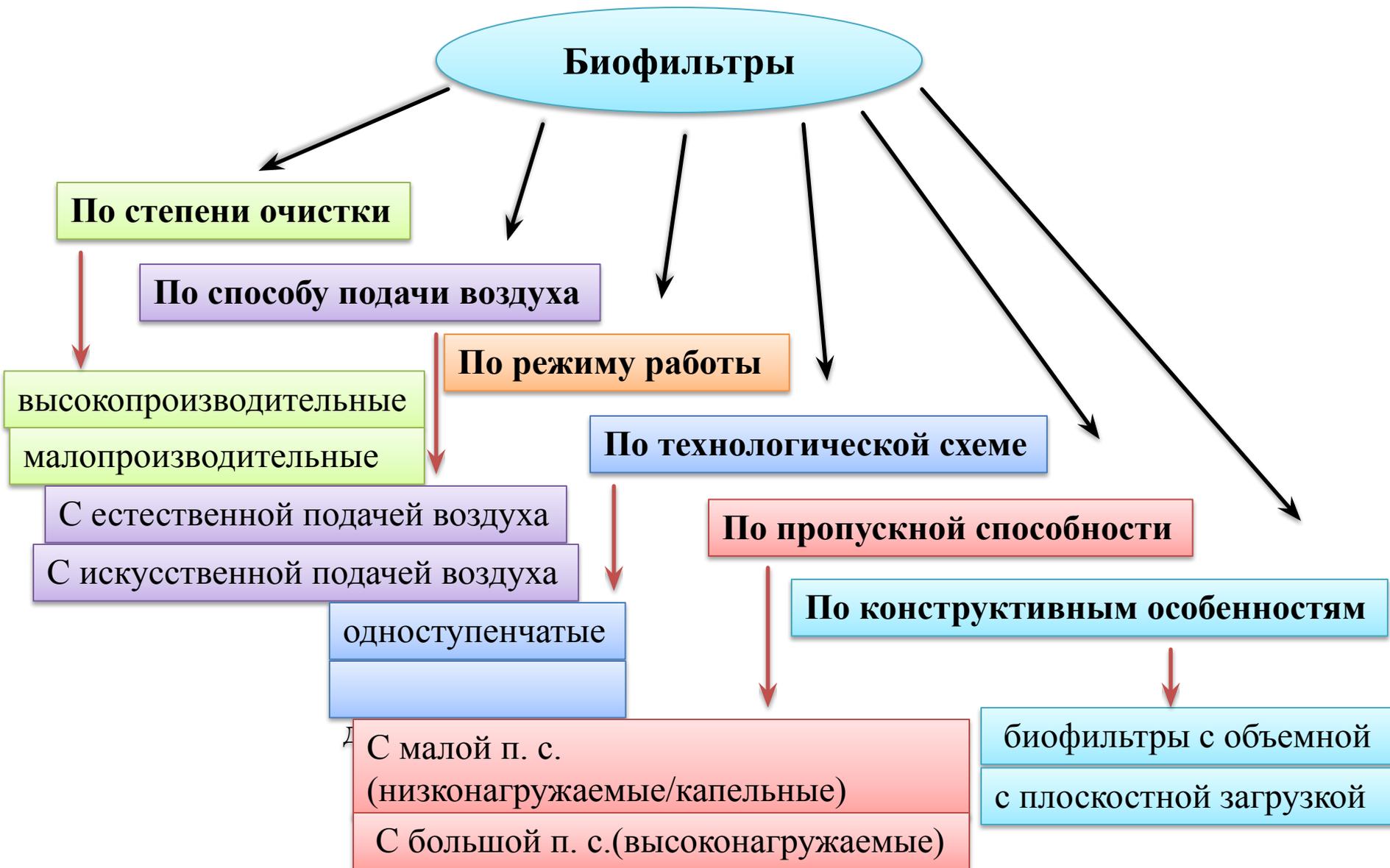


В правильно эксплуатируемом биофилтре толщина пленки микроорганизмов обычно составляет около 0,5–1 мм

Микроорганизмы биопленки потребляют из воздуха кислород, выделяя в воздух продукты реакции — углекислый газ, сероводород, метан и аммиак

Микроорганизмы, образующие биопленку, окисляют органические вещества, используя их как источник субстрата и энергии. В результате из сточной воды удаляются органические вещества и увеличивается биомасса активной биопленки в объеме биофилтра. Омертвевшая и отработанная биопленка смывается протекающей сточной водой и выносится из биофилтра. Необходимый для окисления кислород поступает в толщу загрузки путем естественной и искусственной вентиляции биофилтра.

Классификация биофильтров

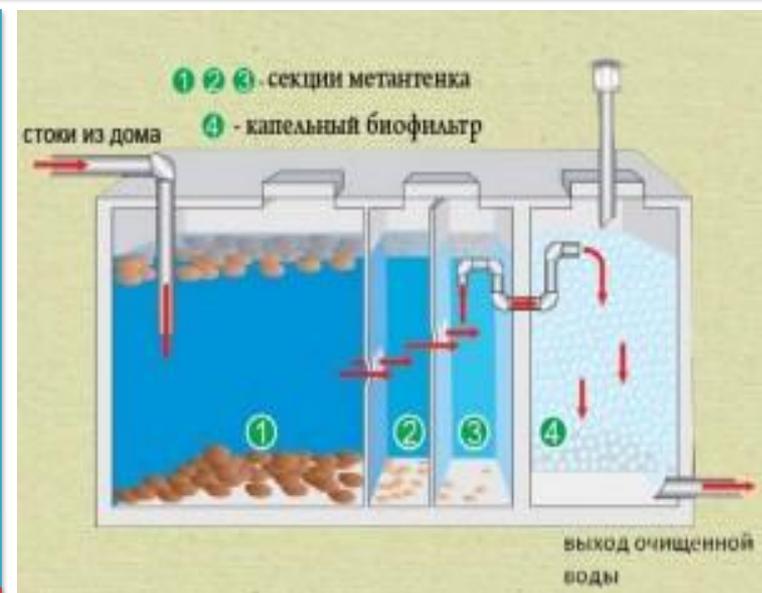


Капельные биофильтры

В капельном биофилтре сточная вода самотеком (или под напором) подается на поверхность биофилтра при помощи специальных распределительных устройств различного типа в виде капель или струй. Вода, отфильтрованная через загрузку биофилтра, попадает в дренажную систему и далее по сплошному непроницаемому дну стекает к отводным лоткам, расположенным за пределами биофилтра.

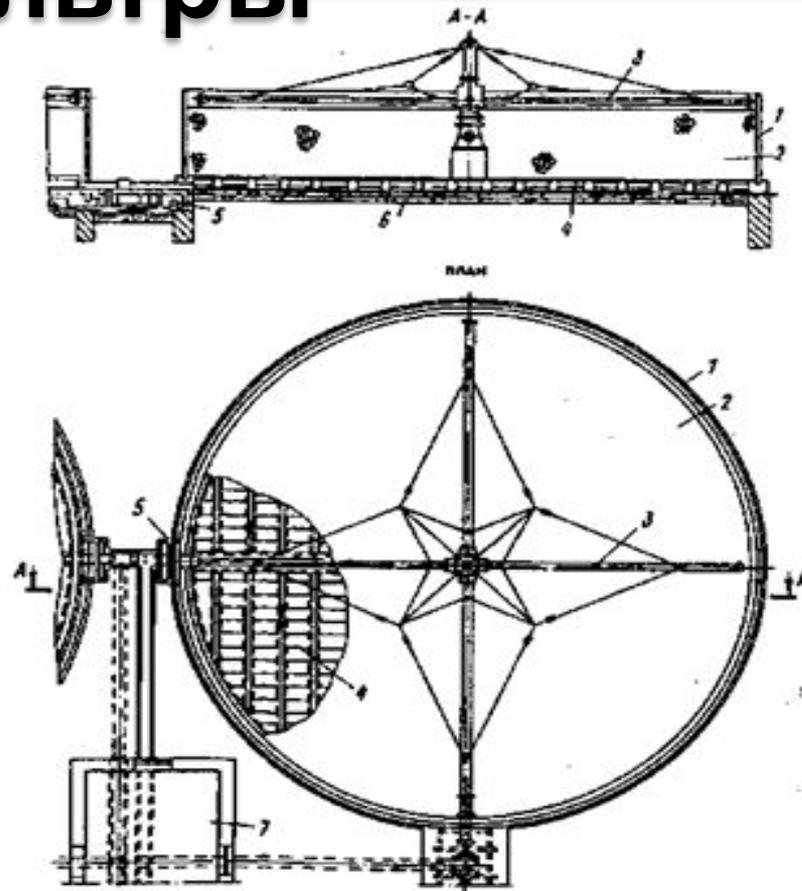
Затем вода поступает во вторичные отстойники, в которых выносимая пленка отделяется от очищенной воды. Естественная вентиляция воздуха осуществляется через открытую поверхность биофилтра и дренаж. Такие биофильтры имеют низкую нагрузку по воде; обычно она варьирует от 0,5 до 1 м³ воды на 1 м³ филтра. Капельные биофильтры рекомендуется применять при расходе

сточных вод не более 1000 м³/сут



Высоконагружаемые биофильтры

Высоконагружаемые биофильтры отличаются от капельных большей окислительной мощностью, равной 0,75– 2,25 кг БПК/(м³ · сут.), обусловленной лучшим обменом воздуха и незаиляемостью загрузки, что достигается применением загрузочного материала крупностью 40–70 мм, увеличением рабочей высоты загрузки до 2–4 м и гидравлической нагрузки до 10–30 .



Высоконагружаемый биофильтр:
1 – корпус; 2 – загрузка, 3 – реактивный ороситель; 4 – дренажная решетка; 5 – гидравлический затвор; 6 – сплошное днище; 7 – вентиляционная камера

Заключение

- Существование человечества без пресной воды невозможно. Поэтому в последние годы вопрос о чистоте воды и воздуха ставится на многих всемирных форумах. Эта проблема возникла в связи с огромными масштабами промышленного, сельскохозяйственного и коммунального использования вод. В настоящее время во многих районах земного шара ощущается острый водный голод. Использование пресной воды в таких огромных масштабах приводит к изменению физико-химического состава воды.

Защита водных ресурсов от истощения и загрязнения и их рационального использования для нужд народного хозяйства - одна из наиболее важных проблем, требующих безотлагательного решения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- <http://works.tarefer.ru/98/100271/index.html>
- <http://www.evu-gruppe.de/ru/pearl/bioplenka.html>
- *Уровский И.С.* Обработка осадков сточных вод М.: Стройиздат 1984 2. *Жуков А.И.*
- *Монгайт И.Л., Родзиллер И.Д.* Методы очистки производственных сточных вод М.: Стройиздат.
- http://mediana-eco.ru/information/stoki_biological/microb
- <http://voda96.com/.html>
- http://cdn.scipeople.com/materials/3920/Water_Chem&Ec_02'08_pp_11-13.pdf
- Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. 2007. Т. 76. № 2. С. 149-163.
- <http://kanalizaciya-expert.ru/naruzhnaya/stochnye-vody/ochistka-stochnyx-vod-kottedzha-248>
- <https://ru.wikipedia.org/wiki/>

Вопросы :

- Дайте определение понятию биопленка ?
- Объясните почему микрофлора биопленки более устойчива к воздействию неблагоприятных факторов?
- Опишите классификацию биофильтров ?
- Найдите отличие высоконагружаемых биофильтров от капельных ?