

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ МЕТИЛОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БУРОВЫХ РАСТВОРАХ

Т. А. Гринберг, Т. П. Пирог, Мохамед эль Сайд, С. К. Воцелко, В. В. Пархоменко, В. Ю. Третинник, Ю. Р. Малащенко, Л. А. Кудра

Институт микробиологии и вирусологии АН УССР, Киев

Приведены характеристики культур микроорганизмов (ассоциаций и чистых культур), продуцирующих экзополисахариды на основе C_1 -соединений (метана, метанола), а также исследованы некоторые физико-химические свойства этих биополимеров. Показано, что изучаемые биополимеры отличались по гидродинамическим свойствам и молекулярной массе, химическому и моносахаридному составу. Водные растворы исследуемых экзополисахаридов метилотрофных бактерий характеризуются высокой вязкостью, величина которой практически постоянна в нейтральной и щелочной областях pH, и характеризуются псевдопластичным течением. Изучено влияние этих биополимеров на устойчивость водных дисперсий глинистых минералов, которые являются основными компонентами буровых растворов. Введение небольших добавок биополимеров в малоконцентрированные дисперсии глинистых минералов способствует, как правило, упрочнению коагуляционной структуры и увеличению вязкости системы. Биополимеры, полученные на основе C_1 -соединений, могут быть рекомендованы в качестве стабилизаторов буровых глинистых суспензий.

В последние годы микробные полисахариды привлекают широкое внимание специалистов в связи с важными и разнообразными для различных отраслей народного хозяйства свойствами этих биополимеров. Наиболее широкое применение экзополисахариды микробного происхождения находят при приготовлении буровых растворов и для повышения нефтеотдачи пластов [1, 6—8, 12]. Экзопалисахариды, синтезируемые представителями различных групп микроорганизмов, отличаются друг от друга по моносахаридному составу, структуре и физико-химическим свойствам [3, 17]. Основные требования к полисахаридам, которые могут быть применены в буровых растворах, следующие: хорошая растворимость в воде; высокая вязкость растворов полисахаридов; устойчивость к высоким концентрациям солей; псевдопластичность в широком диапазоне температур и значений pH; устойчивость к воздействию микроорганизмов.

Таким требованиям отвечают экзополисахариды, синтезированные микроорганизмами *Xanthomonas campestris*, *Azotobacter indicum*, *Achromobacter dilicotulus*, *Sclerotium*, *Cryptococcus laurentii* на основе углеводных источников сырья [1, 3, 6—8, 10, 17].

Цель нашей работы — изучение физико-химических свойств экзополисахаридов, синтезированных на основе C_1 -соединений (метанола, метана), с целью определения возможности их применения в качестве добавок к буровым растворам.

Материал и методы. В качестве объектов исследований использовали чистые культуры и ассоциации метилотрофных бактерий, выделенные и хранящиеся в коллекции микроорганизмов ИМВ АН УССР. Подробная характеристика культур приведена ниже.

Культивирование исследуемых культур с целью накопления экзополисахаридов проводили периодическим способом. В случае использования метанола в качестве единственного источника углерода применяли среду Кодама и др. [5]. Методы культивирования *Methylococcus* sp. на метане описаны ранее [2]. Экзопалисахариды выделяли по общепринятым методам [4]. Концентрацию полисахаридного препарата в культуральной жидкости определяли весовым методом [2, 4], содержание углеводов в препарате — по реакции с фенолом и серной кислотой [14], белок — методом Лоури [16], нуклеиновые кислоты — по Спирину [9], уроновые кислоты — по реакции с карбазолом [13].

В связи с тем, что предполагается применение исследуемых экзополисахаридов в практических целях, изучение моносахаридного состава и молекулярных масс препаратов проводили без предварительного разделения их на фракции.

Моносахаридный состав исследовали после гидролиза полисахарида в 2 N HCl при 105 °C в течение 5 ч методом бумажной хроматографии и газожидкостной хроматографии (ГЖХ) [4]. Газожидкостную хроматографию выполняли на приборе «Хром-5»: колонка 1,2 м×3 мм, 3 %-ный NPGS, твердый носитель Chromosorb 60/80 меш, $t = 210$ °C, газ-носитель — гелий.

Гидродинамические свойства полисахаридов исследовали в водных растворах на аналитической центрифуге MOM-3170в методом скоростной седиментации при стан-

дартных условиях (седиментация — $n=48\,000$ об/мин; диффузия — $n=4000$ — 8000 об/мин). Гидродинамические параметры рассчитывали по общепринятым методам [15]. Значения молекулярной массы вычисляли по I уравнению Сведберга [15].

Методом капиллярной вискозиметрии определены относительная и удельная вязкости растворов биополимеров. Вязкость водных растворов некоторых полисахаридов была измерена на ротационном вискозиметре («Реотест-2»).

О структурной устойчивости дисперсий судили по величине отстаивания (%), т. е. отношению объема жидкой фазы ко всему объему суспензии.

Термостойкость полисахаридных препаратов исследована путем автоклавирования ряда препаратов при $t=100$ — 120°C и давлении $0,5$ атм в течение 20 мин.

Результаты и их обсуждение. Исследовали экзополисахариды, синтезированные смешанными и чистыми культурами метилотрофных бактерий (табл. 1). Как видно из таблицы, ассоциации микроорганизмов, выделенные из различных природных источников, состоят из сходных типов бактерий, что может быть связано с длительным пассированием этих комплексов в одинаковых элективных условиях. Ассоциации характеризуются наличием одной, в некоторых случаях — двух и более бактерий, использующих метанол. Остальные типы микроорганизмов — гетеротрофы, которые растут за счет продуктов трансформации метанола, а также за счет лизиса клеток метилотрофов.

Экзополисахариды, которые синтезируются изучаемыми ассоциациями, представляют собой кислые гетерополисахариды, различающиеся по моносакхаридному составу и содержанию углеводов в препарате. Однако для всех экзополисахаридов характерно наличие глюкозы, маннозы, галактозы и уроновых кислот. При исследовании гидродинамических свойств препаратов (табл. 2) выявлено, что полисахариды, синтезируемые метилотрофными ассоциациями, являются двухкомпонентными, значение молекулярной массы находится в пределах от $24\,000$ до $320\,000$. Наиболее высокомолекулярные полисахариды синтезируют ассоциации 7 и 4. Полисахарид ассоциации 4 состоит из находящихся в смеси в равных соотношениях двух компонентов с мол. массами $73\,000$ и $320\,000$.

Полисахарид, синтезируемый монокультурой *Pseudomonas* sp. 1Т, низкомолекулярный, неоднородный, состоит из двух фракций с молекулярными массами 7000 и $15\,000$. По данным седиментации и диффузии, культура *Methylococcus* sp. (образец 11) синтезирует однородный высокомолекулярный полисахарид.

Изучены реологические свойства как водных растворов микробных экзополисахаридов при различной концентрации и pH, так и дисперсий монтмориллонита и палыгорскита в присутствии небольших добавок этих полисахаридов. Кроме того, исследовано влияние биополимеров на структурную устойчивость малоконцентрированных водных дисперсий монтмориллонита и палыгорскита.

Для оценки микробных полисахаридов обычно определяют динамическую вязкость их растворов. В качестве эталона принимают вязкость 1%-ного раствора ксантана, равную 1000 сП при 20°C , 60 об/мин [17]. Вязкость 1%-ных растворов большинства исследованных экзополисахаридов метилотрофных бактерий, измеренная при таких же условиях, достаточно велика и составляет 400 — 600 сП. Наиболее вязкие растворы образует биополимер 11, синтезированный *Methylococcus* sp. 11, биополимер ассоциации 7 (до 800 сП).

Установлено, что исследуемые экзополисахариды в значительной мере различаются между собой по реологическим свойствам. Очень вязкие растворы образуют образцы 7, 4, 11. Эти же препараты характеризуются более высокими значениями молекулярной массы. Удельная вязкость водных растворов образцов биополимеров 7 и 11 возрастает с увеличением концентрации полимера в растворе, что связано с усилением взаимодействия макромолекул друг с другом. Особенно большой вязкостью характеризуются растворы образца биополимера 11: у 0,5%-ного раствора $\eta_{\text{уд.}}=15$, в то время как у образцов 7 и 4 $\eta_{\text{уд.}}=5$ — 7 , а у образца 1 $\eta_{\text{уд.}}=0,5$.

Таблица 1. Характеристика метилотрофных культур

Характеристика продуцента	Монокультуры микроорганизмов, входящие в состав ассоциации	Индекс образца
Ассоциация метилотрофных микроорганизмов, выделенная из ила соленого водоема	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Alcaligenes faecalis</i>	7
Ассоциация метилотрофных микроорганизмов, выделенная из почвы (чернозем)	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Alcaligenes</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>Arthrobacter</i> sp.	468
Ассоциация метилотрофных микроорганизмов, выделенная из ила пресного водоема	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Blastobacter viscosus</i> , <i>Micrococcus</i> sp., <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Arthrobacter</i> sp.	4
Ассоциация метилотрофных микроорганизмов, выделенная из глинистой почвы	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp., 6 неидентифицированных бактериальных штаммов	2
Чистая культура факультативной метанооксиляющей бактерии	<i>Pseudomonas</i> 1T	1
Чистая культура облигатной метанооксиляющей бактерии	<i>Methylococcus</i> sp.	11

Характер зависимости удельной вязкости водных растворов полисахаридов от pH (рис. 1) у различных биополимеров неодинаков. Полученные закономерности связаны с изменением формы макромолекул в растворе при различных pH, поскольку, как известно, между

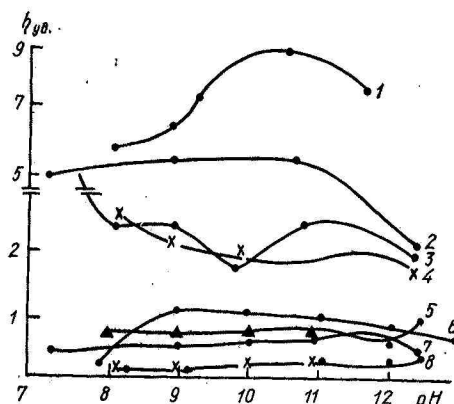


Рис. 1. Зависимость удельной вязкости водных растворов экзополисахаридов различной концентрации от pH. 0,5 %-ные растворы ЭПС: 1 — № 7, 2 — № 4, 3 — № 468, 4 — № 2; 0,1 %-ные растворы ЭПС: 5 — № 4, 6 — № 7, 7 — № 468, 8 — № 2.

Таблица 2. Гидродинамические и физико-химические свойства экзополисахаридов, синтезируемых метилотрофными ассоциациями и монокультурами

Индекс препарата	$S_{20w}^0 \times 10^{-13}, \text{ c}^{-1}$	$D_{20w}^0 \times 10^{-7}, \text{ cm}^2/\text{c}$	Молекулярная масса
11	4,5	0,9	321869
7	6,3	3,7	101390
	5,0	1,1	300000
4	6,1	5,3	73000
	7,0	2,0	321000
468	6,3	6,9	50000
		4,7	80000
2	4,0	3,0	80000
			24000
1	5,0	4,0	7000
	10,0		15000

вязкостью и формой макромолекул в растворе существует прямая связь. Между тем исследуемые нами полисахариды характеризуются наличием определенных функциональных групп (карбоксильных, аминогрупп и др.), обеспечивающих дифференциацию электронно-донорных характеристик отдельных участков макромолекул. Следовательно, и форма молекул гетерополисахаридов по-разному изменяется при изменении pH среды: макромолекулы полисахаридов могут сжиматься, сворачиваться в клубок или, наоборот, распрямляться; в щелочной среде может происходить нейтрализация кислотных функциональных групп. Наличие у некоторых образцов максимума на графиках $\eta_{уд} = f(\text{pH})$ можно объяснить тем, что при низких значениях pH структура полиэлектролитов, каковыми являются гетерополисахариды, свернута из-за подавления ассоциации ионогенных групп низкомолекулярными

синтезируемых ими экзополисахаридов

Концентрация препарата, г/л	Содержание в % к сухому весу препарата,			Моносахаридный состав
	углеводов	белка	нуклеино- вых кислот	
8,8—10,0	56,0—60,0	0,80—1,20	1,3—1,6	Глюкоза, манноза, галактоза, галактозамин, уроновый компонент
6,0—7,0	40,0—45,0	1,70—2,00	1,5—2,0	Глюкоза, манноза, галактоза, глюкозамин, галактозамин, уроновый компонент
5,4—6,0	50,0—60,0	0,98—1,00	2,6—2,8	Глюкоза, манноза, галактоза, уроновый компонент
8,0—9,0	29,0—30,0	1,70—2,00	1,4	Глюкоза, галактоза, манноза, неидентифицированный сахар, уроновый компонент
1,5	40,0—46,0	0	0	Глюкоза, галактоза, манноза, уроновый компонент
4,0	26,0—47,0	0,40—2,40	0	Манноза, галактоза, глюкоза, фукоза, глюкуроновая кислота

электролитами, образованными под действием сил сцепления. По мере нейтрализации ионогенных групп структуры распрямляются за счет отталкивания одноименно заряженных диссоциированных частиц, что сопровождается резким увеличением вязкости. В литературе указыва-

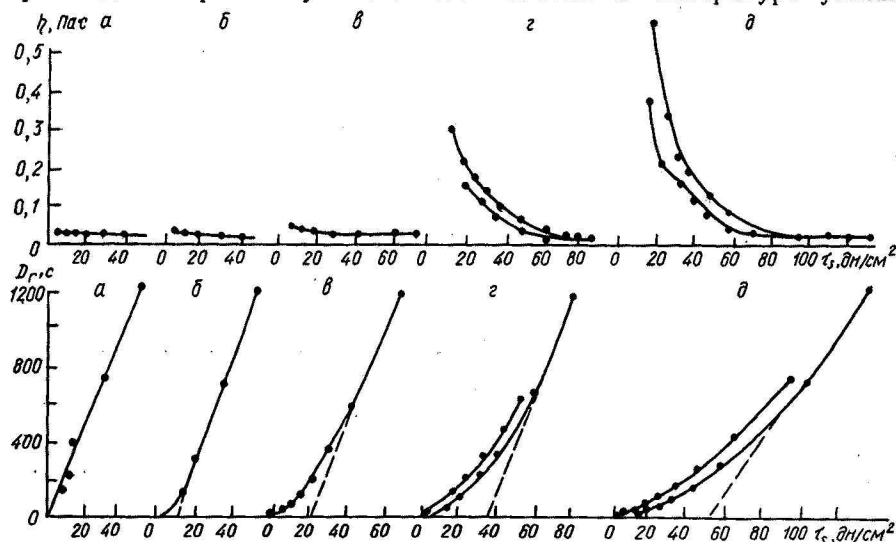


Рис. 2. Реологические кривые вязкости ($\eta = f(\tau_s)$) и течения ($D_r = f(\tau_s)$) водных растворов полисахаридов № 7 различной концентрации (в %): а — 0,1; б — 0,25; в — 0,5; г — 0,75; д — 1,0 %.

ется на то, что наиболее ярко выраженный экстремальный характер зависимости $\eta_{прив.} = f(pH)$ имеют полиэлектролиты с большой молекулярной массой [4, 11]. Наши исследования подтверждают эти данные.

Следует отметить, что с увеличением концентрации растворов от 0,1 до 0,5 % вязкость образцов 468 и 2 в зависимости от pH мало изменяется, а у полисахаридов 7 и 4 она резко возрастает.

На основании экспериментальных данных для полисахарида, синтезированного ассоциацией 7, были построены реологические кривые вязкости $\eta = f(\tau_s)$, представляющие собой зависимости вязкости η от напряжения сдвига τ_s в условиях стационарного, устойчивого, ламинарного течения, и реологические кривые течения $D_r = f(\tau_s)$, представляющие собой зависимости скорости деформации D_r от напряжения сдвига τ (рис. 2).

У исследованных биополимеров наблюдается ярко выраженная аномалия вязкости, т. е. понижение эффективной вязкости с ростом напряжения сдвига. Это связано с тем, что при течении происходят деформация и ориентация макромолекул вдоль потока по направлению движения жидкости или разрушение структуры с последующей ориентацией структурных элементов в потоке.

По характеру реологических кривых вязкости и течения водные растворы исследуемых полисахаридов можно отнести к псевдопластичным жидкостям, кроме 1 %-ного раствора ЭПС 7, который проявляет

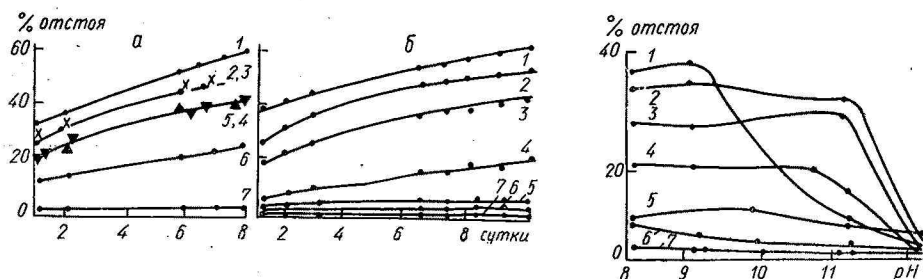


Рис. 3. Кинетические кривые устойчивости дисперсии монтмориллонита (Ствердая фаза — 10 %) при добавлении экзополисахаридов № 11 (а) и № 7 (б) в различных концентрациях: 1 — контроль, без добавок ЭПС; 2 — 0,01 %; 3 — 0,05 %; 4 — 0,1 %; 5 — 0,25 %; 6 — 0,5 %; 7 — 1,0 %.

Рис. 4. Зависимость суточного отстоя дисперсии монтмориллонита (Ствердая фаза — 10 %) от pH: 1 — контроль, без добавок ЭПС; 2—7 — 0,1 % экзополисахаридов, соответствующих образцам № 1, 2, 468, 4, 7, 11.

свойства твердообразного тела, поскольку величина условного статического предела текучести P_k отлична от нуля, т. е. течение системы начинается после приложения к ней определенного напряжения, превышающего значения предела текучести P_k (см. рис. 2).

Наряду с определением реологических характеристик водных растворов биополимеров, были проведены исследования структурно-механических свойств водных дисперсий глинистых минералов палыгорскита и монтмориллонита в присутствии небольших добавок биополимеров. Введение небольших добавок биополимеров в малоконцентриро-

Таблица 3. Реологические характеристики водных дисперсий палыгорскита и монтмориллонита в присутствии небольших добавок экзополисахаридов

Индекс образ-ца	Кон-центра-ция ЭПС, %	P_{k_1}	P_{k_2}	P_m	$\eta_{P_{k_1}}$	η_0^*	η_m^*	$\frac{P_{k_2}}{P_{k_1}}$	$\frac{\eta_0^*}{\eta_m^*}$	$\frac{P_{k_1}}{\eta_0^*}$	$\frac{P_{k_2}}{\eta_m^*}$
		Па			Па·с						
Система палыгорскит — NaOH — ЭПС ($C_{\text{тв. фаза}} = 2\%$)											
Без добавок	0	0,6	1,8	0,0314	0,0600	0,0030	—	12,9	—	—	200
7	0,1	0,17	0,8	0,0570	0,0830	0,0025	4,7	19,0	2,05	—	320
11	0,1	0,45	1,7	0,1500	0,2600	0,0002	3,8	38,4	1,73	—	7400
1	0,1	0	1,1	0,0004	0,0064	0,0040	—	1,0	—	—	274
2	0,1	0	0,7	0,0036	0,0036	0,0036	—	1,0	—	—	200
Система монтмориллонит — NaOH — ЭПС ($C_{\text{тв. фаза}} = 10\%$)											
Без добавок	0	1,5	3,2	0,0400	0,0036	0,0036	—	11,1	—	—	416
7	0,1	0,68	7,2	0,2300	0,1600	0,0030	10,6	25,8	4,1	—	2120
11	0,1	2,35	6,4	0,0900	0,0880	0,0020	2,72	114,0	26,8	—	3200
1	0,1	0	1,5	0,0110	0,0120	0,0060	—	1,8	—	—	250
2	0,1	0	1,8	0,1900	0,1900	0,0060	—	31,7	—	—	300

Примечание: P_{k1} — условный статический предел текучести; P_{k2} — условный динамический предел текучести; P_m — предел текучести; $\eta_{P_{k1}}$ — вязкость при $P = P_{k1}$; η_0^* — максимальная вязкость; η_m^* — минимальная вязкость.

ванные дисперсии глинистых минералов способствует, как правило, упрочнению коагуляционной структуры и увеличению вязкости системы, а количественная величина этих изменений зависит от природы полисахарида и его концентрации (табл. 3).

2 %-ные суспензии палыгорскита и 10 %-ные суспензии монтмориллонита с небольшими добавками полисахаридов (образцы 7 и 11) проявляют свойства твердообразных тел, так как течение у них начинается только при напряжениях сдвига, превышающих величину P_k .

Определяли также кинетику отстоя суспензий при различных значениях pH. О структурной устойчивости дисперсий судили по величине отстоя (%), т. е. отношению объема жидкой фазы ко всему объему суспензии.

Для всех систем характерно то, что наиболее сильно величина отстоя изменяется в течение первых 4—6 сут, а затем практически остается постоянной. В качестве примера на рис. 3 приведены кинетические кривые устойчивости 10 %-ной суспензии монтмориллонита в присутствии полисахаридов 7 и 11 (при различной концентрации). Как видно из рисунка, с увеличением концентрации вводимого в дисперсию биополимера структурная устойчивость глинистых дисперсий увеличивается (величина отстоя уменьшается).

Поскольку на основании наших поисковых опытов было установлено, что полисахариды значительно повышают стабильность водных дисперсий глинистых минералов только в щелочной среде, дальнейшие исследования проводили в интервале pH 8,3—12,3 и при концентрации добавок 0,1—0,5 % (рис. 4). Установлено, что полисахариды повышают стабильность малоконцентрированных водных дисперсий монтмориллонита при pH 8,3—10,0, причем чем более эффективен препарат, тем шире область pH, в которой он проявляет стабилизирующее действие.

В отличие от монтмориллонита, в дисперсиях палыгорскита стабилизирующее действие большинства биополимеров проявляется в более широком диапазоне pH (8,0—12,0). Следовательно, действие исследуемых препаратов на устойчивость водных суспензий различных алюмосиликатов неодинаково. Наиболее эффективными стабилизаторами водных дисперсий монтмориллонита оказались экзополисахариды ассоциации 7, выращенной на среде с добавками метанола, и культуры *Methylococcus* sp. Полисахариды ассоциаций 4, 468 и 2, культуры *Pseudomonas* sp. 1T также обладают стабилизирующим действием, но в несколько меньшей степени.

Исследована термостойкость полисахаридных препаратов. Установлено, что образцы 11, 7, 4, 468 устойчивы к температурам до 100—120 °C. Длительное хранение (до 6 мес) концентрированных растворов экзополисахаридных препаратов при температуре 4—18 °C не сопровождается снижением их вязкости, что свидетельствует о биологической стабильности полимеров.

Таким образом, исследованные нами биополимеры, синтезированные метилотрофами, представляя собой кислые гетерополисахариды, устойчивые к биологическому разложению, термостабильные и по реологическим свойствам сопоставимые с ксантаном. На основании проведенных лабораторных исследований можно заключить, что наиболее перспективными стабилизаторами буровых глинистых суспензий являются биополимеры, полученные с помощью культуры *Methylococcus* species на метане, и ассоциации 7 на метаноле. Использование метилотрофов для биосинтетического получения полисахаридов позволяет расширить сырьевую базу микробиологического производства за счет утилизации непищевого сырья стабильного состава.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF EXOPOLYSACCHARIDES OF METHYLOTROPHIC MICROORGANISMS AND THE POSSIBILITY OF THEIR USE IN DRILLING FLUIDS

T. A. Grinberg, T. P. Pirog, Mokhamed el Said, S. K. Votseko,
V. V. Parkhomenko, V. Yu. Tretinnik, Yu. R. Malashenko, L. A. Kudra

Summary

Characteristics of microorganism cultures (associations and pure cultures) producing exopolysaccharides on the basis of C_1 -compounds (methane, methanol) are presented and certain physicochemical properties of these biopolymers are studied. The biopolymers under study are shown to differ in hydrodynamic properties and monosaccharide composition. Aqueous solutions of test exopolysaccharides of methylotrophic bacteria are characterized by high viscosity, whose value is practically constant in the neutral and alkaline ranges of pH as well as by a pseudoplastic flow. These biopolymers are studied for their effect on the stability of aqueous dispersions of clayey minerals which are the basic components of drilling fluids. Introduction of small additives of biopolymers into the low-concentrated dispersions of clayey minerals, as a rule, strengthens the coagulation structure and increases viscosity of the system. Biopolymers obtained on the basis of C_1 -compounds may be recommended as stabilizers of drilling clayey suspensions.

1. Гарейшина А. З., Гвоздяк Р. И., Матышевская М. С. и др. Свойства загустителей воды микробного происхождения. — Микробиол. журн., 1983, 45, № 4, с. 47—51.
2. Гринберг Т. А., Щурова З. П., Романовская В. А., Малащенко Ю. Р. Регуляция синтеза экзополисахарида у облигатного метилотрофа *Methylococcus* sp. — Микробиол. журн., 1983, 45, № 4, с. 44—47.
3. Елинов Н. П. Некоторые микробные полисахариды и их практическое применение. — Успехи микробиологии, 1982, 17, с. 158—177.
4. Захарова И. Я., Косенко Л. В. Методы изучения микробных полисахаридов. — Киев: Наук. думка, 1981. — 201 с.
5. Кодама Т., Накахара Т., Омори Т. и др. Образование внеклеточных полисахаридов водородными и метанолизпользующими микроорганизмами. — В кн.: Рост микроорганизмов на C_1 -соединениях (12—16 сент. 1977 г., Пушкино): Тез. докл. симп. Пушкино: ИЦБН СССР, 1977, с. 213—215.
6. Ласик Я. А., Гордиенко С. А. Изучение чехословацкого высокомолекулярного полимера для буровых растворов. — В кн.: Prace Vyzhumneho Vavavu gecloglekeho inzenyrevi. Brno: 1978, Svezet 35/2A, с. 203—213.
7. Матышевская М. С., Гвоздяк Р. И., Майко И. И. и др. Биополимер, продуцируемый бактериями рода *Xanthomonas* и его использование в нефтяной промышленности. — Микробиол. журн., 1979, 41, № 1, с. 88—91.
8. Пеньков А. И., Хохленко А. Ф., Шубина Л. И. и др. А. с. 912746 (СССР). Применение биополимера, продуцируемого дрожжами *Cryptococcus laurentii*, в качестве основы буровых растворов. — Оpubл. в Б. И., 1982, № 10.
9. Спириин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот. — Биохимия, 1958, 23, № 5, с. 656—662.
10. Такаяма Е., Эндо Ф., Носава Ц. и др. Пат. 929015 (СССР). Способ получения полисахарида. — Оpubл. в Б. И., 1982, № 18.
11. Физико-химические основы применения поверхностно-активных веществ / Под ред. Г. И. Фука, А. С. Садикова. — Ташкент: Фан, 1977. — 316 с.
12. Daigle A. E., Heights M. Пат. 3953336 (США) Liquid muds. — Оpubл. 27.04.76.
13. Dische Z. A new specific colour reaction of hexuronic acid. — J. Biol. Chem., 1947, 167, N 1, p. 189.
14. Dubois M., Yilles K., Hamilton J. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. — Anal. Chem., 1956, 28, p. 350—355.
15. Elias H. G. Ultracentrifugen methoden. — München: Beckman Instruments GmbH, 1968. — 272 S.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin reagent. — J. Biol. Chem., 1951, 193, N 1, p. 265—275.
17. Sutherland J. W., Ellwood D. C. Microbial exopolysaccharides — industrial polymers of current and future potential. — In: Microb. Technol. Curr. State Future Prospects: 29 Symp. Soc. Gen. Microbiol. (Cambridge, 1979). Cambridge etc., 1979, p. 105—150.

Получено 15.02.85