

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННИХ ПОПЕРЕДНИКІВ НА РЕОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРОБНОГО ПОЛІСАХАРИДУ ЕТАПОЛАНУ

Олефіренко Ю.Ю.

Анотація. Встановлено можливість регуляції реологічних властивостей етаполану внесенням у середовище із $C_2 - C_6$ -сполуками екзогенних жирних кислот. Так, додавання соняшникової олії та олеїнової кислоти (0,1 – 0,5%) у середовище культивування *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 зі змішаними субстратами (ацетат і м'яса, етанол і глюкоза, фумарат і м'яса) супроводжувалося підвищенням реологічних властивостей препаратів етаполану до 4 разів як за присутності 0,1 М КСІ, так і у системі Cu^{2+} -гліцин порівняно з культивуванням продуцента без екзогенних попередників. Отримані результати можуть бути використані для вдосконалення технологій мікробного полісахариду етаполану на змішаних субстратах.

Ключові слова. екзополісахарид, *Acinetobacter* sp. IMB B-7005, змішані субстрати, екзогенні жирні кислоти, реологічні властивості

Вступ. Етаполан – комплексний мікробний екзополісахарид (ЕПС), синтезований *Acinetobacter* sp. IMB B-7005, має практично цінні реологічні властивості, які визначаються вмістом у його складі як ацильованого компоненту, так і концентрацією жирних кислот у ньому [1].

Недоліком розроблених раніше технологій етаполану на суміші енергетично дефіцитних (ацетат і м'яса) [2] та енергетично нерівноцінних (фумарат і м'яса) субстратів є підвищення рН (до 9,0 – 9,8) у процесі культивування за рахунок асиміляції солей органічних кислот (ацетат, фумарат) симпортом з протоном. За такого рН синтезується низькоацильований етаполан, розчинам якого не притаманні необхідні для практичного використання реологічні властивості.

Літературні дані щодо зміни фізико-хімічних властивостей полімеру емульсану у разі внесення у середовище культивування *Acinetobacter venetianus* RAG-1 екзогенних жирних кислот [3], дали змогу припустити, що додавання таких сполук у середовище вирощування продуцента етаполану може супроводжуватися підвищенням реологічних характеристик його розчинів.

Метою даної роботи було дослідження впливу екзогенних жирних кислот на реологічні властивості етаполану, синтезованого на суміші ростових субстратів.

Методи дослідження. Культивування *Acinetobacter* sp. IMB B-7005 здійснювали на середовищах, які як джерело вуглецю та енергії містили ацетат натрію (1,1%, масова частка) і м'ясу (0,75%, масова частка), етанол (0,75%, об'ємна частка) і глюкозу (0,75%, масова частка), фумарат натрію (0,18%, масова частка) і м'ясу (0,5%, масова частка).

На початку процесу, в експоненційній і стаціонарній фазі росту у середовище вносили попередники біосинтезу – соняшкову олію та олеїнову кислоту у концентрації 0,1 – 0,5 % (об'ємна частка).

Реологічні властивості 0,05% розчинів етаполану визначали за ступенем змінення в'язкості за присутності 0,1 М КСІ та у системі Cu^{2+} -гліцин, що є індивідуальною властивістю даного полімеру.

Соняшникова олія має у своєму складі жирні кислоти загальною молекулярною масою 275–286 г/моль (міристинова (C14:0), пальмітинова (C16:0), пальмітоолеїнова (C16:1), стеаринова (C18:0), олеїнова (18:1), лінолева (C18:2), арахідонова (C20:0)) [3]. Передбачалося, що такі C₁₀ – C₁₈-сполуки, які містить олія, і сама олеїнова кислота можуть інтегрувати до складу вторинного метаболіту етаполану і вплинути на його реологічні властивості [3].

Результати та обговорення. Культивування *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 із внесенням на початку процесу 0,1 – 0,5 % екзогенної соняшникової олії до середовища із ацетатом натрію та мелясою супроводжувалося підвищенням в'язкості препаратів етаполану у 1,5 – 2,2 рази як за присутності 0,1 М КСl, так і у системі Cu²⁺-гліцин порівняно з в'язкістю після культивування штаму на середовищі без олії. При цьому, максимальне зростання показників спостерігалось при використанні 0,1% екзогенного попередника біосинтезу.

Вирощування штаму ІМВ В-7005 на середовищі із ацетатом і мелясою незалежно від кількості (0,1 – 0,5%) та моменту внесення олеїнової кислоти супроводжувалося підвищенням у 1,2 – 3,4 рази реологічних характеристик розчинів етаполану за присутності КСl та у системі Cu²⁺-гліцин порівняно з в'язкістю після культивування продуцента без попередника біосинтезу.

Використання суміші етанолу та глюкози для культивування *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 із додатковим внесенням екзогенної соняшникової олії на різних фазах росту продуцента дало змогу отримати етаполан, розчини якого мали у 1,1 – 3,3 рази вищу в'язкість як за присутності КСl, так і у системі Cu²⁺-гліцин. Найвищі показники реологічних властивостей у досліджуваних тест-системах спостерігалися при використанні 0,3% екзогенного попередника на початку процесу культивування. При цьому, значення зростали до 3,3 разів порівняно з характеристиками полісахариду, отриманого на середовищі без олії.

Використання олеїнової кислоти (0,1 – 0,5%) на початку процесу культивування на даній суміші субстратів супроводжувалося підвищенням реологічних властивостей препаратів етаполану на 10 – 110% за присутності КСl та у системі Cu²⁺-гліцин. При цьому, додавання 0,5% попередника дало змогу отримати максимальне підвищення в'язкості розчинів полісахариду порівняно з культивуванням штаму ІМВ В-7005 без екзогенної кислоти.

На наступних етапах культивування *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 здійснювали на середовищі із фумаратом та мелясою із внесенням екзогенної соняшникової олії на різних фазах росту штаму продуцента. Фумарат є енергетично дефіцитним субстратом. Він компенсує втрати глюкози при окисненні її до СО₂ з метою отримання енергії для конструктивного метаболізму, підвищуючи цим самим ефективність трансформації вуглеводу обох субстратів в ЕПС [4].

Вирощування *Acinetobacter* sp. ІМВ В-7005 на суміші фумарату і меляси з додатковим внесенням 0,1 – 0,3% соняшникової олії у стаціонарній фазі росту супроводжувалося підвищенням у 1,1 – 1,9 рази в'язкості препаратів етаполану за присутності КСl та у системі Cu²⁺-гліцин порівняно з реологічними характеристиками етаполану, синтезованого на середовищі без додавання попередника. Використання олеїнової кислоти як попередника біосинтетичних процесів на даній суміші субстратів дало змогу підвищити в'язкість розчинів етаполану при використанні 0,5% кислоти. Значення підвищувалися у 2,5 і 3,9 рази як у системі Cu²⁺-гліцин, так і за присутності КСl порівняно з етаполаном, отриманим на середовищі без екзогенного попередника.

Таблиця 1.

Реологічні властивості препаратів етаполану за внесення екзогенних жирних кислот у середовище культивування зі змішаними субстратами

Джерело вуглецю та енергії у середовищі культивування	Попередник біосинтезу (жирні кислоти)	Концентрація жирних кислот, %	Момент внесення попередників (фаза росту)	Відносне збільшення в'язкості розчинів етаполану, % від контролю	
				за присутності KCl	у системі Cu ²⁺ -гліцин
Ацетат, 1,1 % + м'яса, 0,75 %	Соняшникова олія	0,1 0,3 0,5	Лаг-фаза Лаг-фаза Лаг-фаза	221,2±11 228,2±11 173,5±8,7	152,2±7,6 62±3 142,6±7
	Олеїнова кислота	0,1 0,3	Лаг-фаза Експоненційна Стаціонарна Лаг-фаза Експоненційна Стаціонарна	200±10 200±10 200±10 200±10 123±6,2 240±12	161±8 174±8,7 200±10 153±7,7 274±13,7 177±8,8
Етанол, 0,75% + глюкоза, 0,75% Етанол, 0,75% + глюкоза, 0,75%	Соняшникова олія	0,1 0,3 0,5	Лаг-фаза Лаг-фаза Лаг-фаза	125±6 189±9 100±6	189±9 329±16 189±9
	Олеїнова кислота	0,1 0,3 0,5	Лаг-фаза Лаг-фаза Лаг-фаза	110±5 125±6 126±6	168±8 168±8 211±10
Фумарат, 0,18% + м'яса, 0,5 %	Соняшникова олія	0,1 0,3	Стаціонарна Стаціонарна	192±10 112±6	124±7 126±6
	Олеїнова кислота	0,1 0,3 0,5	Лаг-фаза Лаг-фаза Лаг-фаза	100±5 249±12 390±20	52±3 83±4 246±12

Примітка. Контроль (100%) – в'язкість культуральної рідини після вирощування продуцента етаполану на відповідних змішаних субстратах без жирних кислот.

Важливо зазначити, що внесення екзогенних жирних кислот у середовище за умов росту *Acinetobacter* sp. IMB В-7005 на суміші ростових субстратів супроводжується підвищенням реологічних характеристик не тільки розчинів очищених препаратів етаполану, а й розчинів культуральної рідини, що містить етаполан. Оскільки для підвищення нафтовидобутку і виготовлення технічних мийних засобів використовується етаполан у вигляді постферментаційної культуральної рідини, то

реалізація його технології на суміші ростових субстратів з внесенням екзогенних жирних кислот дає змогу суттєво знизити собівартість цільового продукту як в результаті використання дешевих субстратів, так і за рахунок підвищення реологічних характеристик, що визначають практичну значущість цього полісахариду.

Висновки.

1. Встановлено можливість регуляції реологічних властивостей етаполану внесенням у середовище із змішаними C₂ – C₆-субстратами екзогенних жирних кислот.
2. Встановлено залежність змін реологічних властивостей етаполану від концентрації і моменту внесення екзогенних жирних кислот, природи моносубстратів, суміші і складу поживного середовища.
3. Внесення екзогенних жирних кислот у середовище культивування *Acinetobacter* sp. IMB В-7004 зі змішаними субстратами (ацетат + м'яса, етанол + глюкоза, фумарат + м'яса) супроводжувалося підвищенням до 4 разів реологічних властивостей препаратів етаполану як за присутності КСІ, так і у системі Cu²⁺-гліцин порівняно з вирощуванням бактерій на середовищі без екзогенних попередників.

Науковий керівник: д.б.н., професор Т.П.Пирог.

Література.

1. Підгорський В.С., Іутинська Г.О., Пирог Т.П. Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. – К.: «Наук. думка», 2010. – 327 с.
2. Пирог Т.П., Высятецкая Н.В., Корж Ю.В. Особенности синтеза экзополисахарида этаполана на смеси энергетически дефицитных ростовых субстратов // Микробиология. – 2007. – Т.76, № 1. – С. 32–38.
3. Dams-Kozłowska H., Mercaldi M., Kaplan D. Modification and application of the *Acinetobacter venetianus* RAG-1 exopolysaccharide, the emulsan complex and its components // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – P. 201 – 210.
4. Пирог Т.П., Высятецкая Н.В., Корж Ю.В. Образование экзополисахарида этаполана при выращивании *Acinetobacter* sp. В-7005 на смеси фумарата и глюкозы // Микробиология. – 2007. – Т. 76, № 6. – С. 790 – 796.

Авторська довідка.

Олефіренко Юлія Юріївна, студент; кафедра біотехнології і мікробіології, Національний університет харчових технологій, e-mail: yulia_olefrenko@ukr.net.