

Антонюк С.И., Конон А.Д.

Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина

Влияние pH на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 на этаноле

Исследовали синтез внеклеточных метаболитов с поверхностно-активными и эмульгирующими свойствами при поддержании pH на уровне 5,0–8,0 в процессе культивирования *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 на среде с этанолом (2 % по объему). Установлено, что поддержание pH на уровне 7,0 с помощью раствора KOH сопровождалось увеличением количества синтезированных ПАВ в 1,8 раза по сравнению с показателями процесса без регуляции pH. Замена KOH на NaOH для поддержания pH на оптимальном уровне приводила к снижению концентрации ПАВ в 1,2–1,5 раза, что обусловлено ингибирующим влиянием катионов натрия на активность ферментов биосинтеза поверхностно-активных amino- и гликолипидов *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241.

The synthesis of extracellular metabolites with surface-active and emulsifying properties with the maintaining pH rate at 5.0–8.0 in the process of Acinetobacter calcoaceticus IMV B-7241 cultivation on ethanol (2 v/v) was investigated. It was stated that the maintaining of the pH rate at 7.0 by adding the solution of KOH was accompanied by the increase in 1.8 times of surfactant synthesis comparing to the indicators of process without pH regulation. The substitution of KOH for NaOH for pH maintaining on the optimal level led to the decrease in 1.2–1.5 times of surfactant concentration that was determined by the inhibitory effect of sodium cations concentration on the activity of enzymes of biosynthesis of A. calcoaceticus IMV B-7241 surface-active amino- and glycolipids.

Микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) являются препаратами с мультифункциональными свойствами и могут быть использованы как в различных отраслях промышленности (нефтедобывающей, химической, фармацевтической, пищевой), так и в сельском хозяйстве и медицине. Кроме того, ПАВ микробного происхождения нетоксичные и биodeградебельные [1].

В предыдущих исследованиях было показано, что селекционированный нами штамм *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 синтезирует поверхностно-активные вещества, являющиеся комплексом нейтральных, amino- и гликолипидов, при культивировании на этаноле [2], однако, в отличие от выращивания, например, на жидких парафинах, pH к концу процесса снижалось до 4–4,5. Из литературы известно, что для большинства микробных продуцентов оптимальным для синтеза поверхностно-активных веществ является pH, близкое к нейтральному [3–5]. Исключением являются дрожжи рода *Candida*, для которых оптимальным для синтеза ПАВ гликолипидной природы является pH 5,3–5,7 [6, 7].

Цель настоящей работы – исследовать зависимость синтеза поверхностно-активных веществ *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 от pH.

При культивировании *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на среде с этанолом в зависимости от начального pH среды его значение снижалось до 4,7–5,2 уже на вторые сутки. Дальнейшее поддержание pH на уровне 5,0–8,0 осуществляли периодическим подщелачиванием культуральной жидкости растворами KOH и NaOH. Показано, что концентрация синтезированных ПАВ, а также ПАВ-синтезирующая способность повышались до 3,0–3,1 г/л и 2,4–2,6 г ПАВ / г биомассы соответственно при поддержании pH на уровне 6,0–7,0

раствором КОН, что в 1,6–1,8 раза больше, чем без регуляции pH. При нейтрализации культуральной жидкости раствором NaOH показатели синтеза ПАВ были в 1,2–1,3 раза ниже по сравнению с использованием для этой цели КОН.

Дальнейшие эксперименты показали, что катионы натрия являются ингибиторами активности ферментов биосинтеза поверхностно-активных глико- (фосфоенолпируват- (ФЕП)-синтетаза) и аминоклипидов (НАДФ⁺-зависимая глутамат-дегидрогеназа) у *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241. Так, при наличии в реакционной смеси 50 мМ Na⁺ активность ФЕП-синтетазы и глутаматдегидрогеназы снижалась в 1,8 и 5 раз соответственно. Отметим, что в присутствии катионов натрия наблюдали также снижение почти в 2 раза активности ФЕП-карбоксилазы – фермента анаплеротической реакции, восполняющей пул C₄-дикарбоновых кислот (наряду с глиоксилатным циклом) у штамма В-7241, растущего на этаноле.

На следующем этапе методом тонкослойной хроматографии определяли качественный состав поверхностно-активных липидов, синтезируемых при различных значениях pH среды культивирования *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241. Использование NaOH в качестве титрующего агента для поддержания pH на заданном уровне в процессе выращивания штамма ИМВ В-7241 сопровождалось снижением спектра образуемых нейтральных, глико- и фосфолипидов по сравнению с применением для титрования раствора КОН.

Полученные результаты следует учитывать при разработке биотехнологии поверхностно-активных веществ, в частности, при выборе титрующего агента.

Благодарность

Авторы искренне благодарны научному руководителю – д.б.н., проф., Татьяне Павловне Пирог

Литература

1. Tyagi M., Fonseca M.M., Carvalho C.C.C.R. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes // Biodegrad. – 2011. – N 22. – P. 231–241.
2. Пирог Т.П., Антонюк С.И., Карпенко Е.В., Шевчук Т.А. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ // Прикл. Биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 3 – С. 304–310.
3. Darvishi P., Ayatollahi S., Mowla D., Niazi A. Biosurfactant production under extreme environmental conditions by an efficient microbial consortium, ERCPP-2 // Colloids Surf. B: Biointerfaces. – 2011. – 84, N 1. – P. 292–300.
4. Muller M.M., Hormann B., Kugel M., Syldatk C., Hausmann R. Evaluation of rhamnolipid production capacity of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in comparison to the rhamnolipid over-producer strains DSM 7108 and DSM 2874 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – 89, N 3. – P. 585–592.
5. Shaligram N.S., Singhal R.S. Surfactin – a review on biosynthesis, fermentation, purification and applications // Food Technol. Biotechnol. – 2010. – 48, N 2. – P. 119–134.
6. Batista R.M., Rufino R.D., Luna J.M., de Souza J.E., Sarubbo L.A. Effect of medium components on the production of a biosurfactant from *Candida tropicalis* applied to the removal of hydrophobic contaminants in soil // Water Environ. Res. – 2010. – 82, N 5. – P. 418–425.
7. Luna J.M., Rufino R.D., Albuquerque C.D., Sarubbo L.A., Campos-Takaki G.M. Economic optimized medium for tension-active agent production by *Candida sphaerica* UCP 0995 and application in the removal of hydrophobic contaminant from sand // Int. J. Mol. Sci. – 2011. – 12, N 4. – P. 2463–2476.