

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

**КАРПЕНКО ОЛЕНА ВОЛОДИМИРІВНА**



**УДК 604.2:61.185 (043.3)**

**НАУКОВІ ЗАСАДИ СТВОРЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЙ  
ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИМИ  
ВЛАСТИВОСТЯМИ**

**03.00.20 – біотехнологія**

**АВТОРЕФЕРАТ  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора технічних наук**

**Київ-2015**

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у відділі хімії та біотехнології горючих копалин Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України.

**Науковий консультант:** доктор біологічних наук, професор  
**Пирог Тетяна Павлівна**, Національний  
університет харчових технологій, МОН України,  
завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

**Офіційні опоненти:** доктор технічних наук **Кігель Наталя Федорівна**,  
Інститут продовольчих ресурсів НААН України,  
завідувач відділу біотехнології

доктор технічних наук, професор **Горобець Світлана  
Василівна**, Національний технічний університет  
України «Київський політехнічний інститут» МОН  
України, завідувач кафедри біоінформатики

доктор біологічних наук, професор **Курдиш Іван  
Кирилович**, Інститут мікробіології і вірусології ім.  
Д.К. Заболотного НАН України, завідувач відділу  
мікробіологічних процесів на твердих поверхнях

Захист відбудеться «3» червня 2015 р. о 12 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.058.03 Національного університету харчових технологій за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 68, аудиторія А311.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного університету харчових технологій за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 68.

Автореферат розісланий «29» квітня 2015 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради



Н.О. Бублієнко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Одним із пріоритетних завдань сучасної біотехнології є створення наукових основ одержання продуктів, що є найбільш перспективними для практичного використання. Серед речовин, які необхідні для багатьох галузей промисловості і сільського господарства, важливе місце займають поверхнево-активні речовини (ПАР). Широке застосування ПАР зумовлене їх фізико-хімічними властивостями, а саме здатністю до зниження поверхневого натягу розчинів, емульгування, солюбілізації гідрофобних сполук, піноутворення, змочування поверхонь. Оскільки синтетичні ПАР спричиняють значний негативний вплив на довкілля і здоров'я людей, постійно зростає потреба в альтернативних екологічно безпечних продуктах. Серед них найперспективнішими є ПАР мікробного походження (біоПАР), перевагами яких є висока ефективність, що поєднується з біодеградабельністю і низькою токсичністю [Mulligan, 2014, Ramkrishna, 2010]. БіоПАР впливають на метаболізм мікроорганізмів, проникність клітинних мембран, активність ферментів, а також є стійкими у широкому діапазоні значень температури, рН, концентрацій солей.

У науковій літературі широко представлено інформацію про біоПАР різних класів, таких як гліколіпіди, ліпопептиди, біополімери, про їх властивості та практичні перспективи [Abdel-Mawgoud, 2011, Pirog, 2014]. Як правило, дослідники акцентують увагу на галузях застосування біоПАР, тоді як успішне практичне впровадження можливе тільки за наявності ефективних технологій їх виробництва. У наш час промислове отримання біоПАР лімітується низьким виходом цільових продуктів та високою вартістю процесів їх очищення. Отже, актуальним завданням залишається пошук активних продуцентів, а також оптимізація процесів синтезу і виділення біоПАР.

Новим перспективним напрямком біотехнології, на нашу думку, є отримання та застосування комплексів ПАР мікробного походження з іншими метаболітами, які утворюються одночасно при культивуванні продуцентів. Натепер у літературі є тільки поодинокі відомості про існування комплексів біоПАР з іншими метаболітами (ферментами, біополімерами тощо) [Ivshina, 2009, Hori, 2011]. Ми вважаємо, що поєднання речовин з різними характеристиками дозволить створити ефективні форми цільових продуктів, які різняться за ступенем очищення, складом, властивостями, що сприятиме розширенню діапазону їх потенційного використання. Такий підхід дасть змогу удосконалити технології ПАР та одержати нові продукти з цінними функціональними властивостями. Перевагами одержаних комплексів є ефективність та економічна вигідність завдяки дешевшим методам виділення і зменшенню етапів очищення.

У зв'язку з цим, створення наукових засад отримання поверхнево-активних комплексів мікробних метаболітів з поліфункціональними властивостями є актуальним і дозволить розробити біотехнології, спрямовані на одержання високоефективних економічно вигідних та екологічно безпечних продуктів, які знайдуть широке застосування у сучасних технологіях.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота є складовою частиною наукового напрямку Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М.Литвиненка НАН України – дослідження процесів мікробного синтезу біоПАР і пов'язана з виконанням таких бюджетних науково-дослідних тем: № 0102U001755 «Фізико-хімічні основи мікробіологічного синтезу нових біогенних поверхнево-активних речовин» (2002-2006 р.р.), № 0106U001027 «Фізико-хімічні закономірності впливу мікробних поверхнево-активних речовин на ферментативні процеси» (2006-2010 р.р.), № 0107U001276 «Створення нових екологічно безпечних матеріалів на основі каротиноїдів, полісахаридів та ПАР» (2007-2011 р.р.), № 0110U005055 «Фізико-хімічні основи створення високоефективних поверхнево-активних систем на основі біогенних ліпідів, біополімерів та їх комплексів» (2011-2015 р.р.); договірної теми ДП/18-2009 у рамках Державного замовлення «Розробка технології нового комплексного протигрибкового препарату на основі етилтіосульфанілату та біоПАР» (МОН України, НУ «Львівська політехніка» 2009-2010 р.р.), а також проектів Українського науково-технологічного центру № 3200 «Розробка нових поверхнево-активних поліфункціональних регуляторів для сільського господарства та очистки довкілля» (2004-2006 р.р.), № 3494 «Біоремедіація ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами» (2006-2008 р.р.), № 4973 «Розробка технологій одержання та використання екологічно безпечних антивірусних препаратів для сільського господарства» (2009-2010 р.р.), № 4784 «Нова технологія комплексної фіторемедіації ґрунтів на основі біосурфактантів і рослин – сировини для біодизеля» (2010-2012 р.р.), № 5965 «Створення нових інгібіторів корозії металів для нафтогазової промисловості із застосуванням екологічно безпечних поверхнево-активних речовин: оптимізація біосинтезу ПАР та дослідження їх властивостей» (2014-2015 р.р.).

**Мета і задачі досліджень.** Метою роботи є розроблення біотехнологій одержання поліфункціональних комплексів поверхнево-активних речовин з іншими метаболітами мікробного походження та стратегії їх застосування для підвищення екологічної безпеки сучасних технологій.

Відповідно до поставленої мети визначено наступні задачі:

- провести скринінг мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Candida*, *Phaffia* для визначення найбільш перспективних продуцентів поверхнево-активних сполук;
- виявити перспективні продуценти комплексів ПАР (позаклітинних і клітинно-зв'язаних), визначити їх склад;
- визначити підходи до інтенсифікації синтезу мікробних поверхнево-активних метаболітів та їх комплексів, провести апробацію технологій отримання ПАР на ферментаційному обладнанні;
- розробити ефективні методи виділення комплексів мікробних ПАР різної локалізації; розробити раціональні форми цільових продуктів з високою функціональною активністю для подальшого використання у різних галузях виробництва;

- дослідити фізико-хімічні та біологічні властивості мікробних ПАР та їх комплексів для оцінки їх промислового потенціалу;
- визначити вплив отриманих мікробних ПАР на синтез практично важливих ферментів;
- вивчити дію комплексів мікробних ПАР на ріст рослини;
- дослідити роль мікробних ПАР та їх комплексів у процесах біологічного очищення довкілля;
- визначити можливості використання мікробних ПАР для підвищення ефективності різноманітних біологічно активних препаратів;
- розробити технології застосування поверхнево-активних комплексів мікробних метаболітів з поліфункціональними властивостями у промисловості, сільському господарстві, охороні довкілля;
- розробити нормативні документи на одержання та застосування продуктів на основі комплексів мікробних ПАР.

*Об'єкт дослідження* – поверхнево-активні продукти мікробного синтезу.

*Предмет дослідження* – біотехнології одержання мікробних поверхнево-активних комплексів, їх функціональні властивості, а також застосування у промисловості, сільському господарстві, охороні довкілля.

**Методи досліджень.** Для виконання поставлених завдань використано різноманітні методи: мікробіологічні (культивування й аналіз мікроорганізмів), біотехнологічні (мікробний синтез ПАР та їх комплексів), хімічні (аналіз вмісту субстратів, рамноліпідів, трегалозоліпідів, полісахаридів, білку, розчиненого кисню, вуглеводнів тощо), фізико-хімічні (визначення поверхневої, емульгувальної активності, показників критичної концентрації міцелоутворення (ККМ), солюбілізації, піноутворення, змочування), спектральні, біохімічні (активність ферментів, проникність клітинних мембран), математичні методи (математичне моделювання для оптимізації мікробного синтезу та екстракції, статистична обробка результатів). Науково-господарські досліді та виробничі випробування проведені на підприємствах, у господарствах, галузевих інститутах.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено здатність представників родів *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas* до синтезу комплексів ПАР з іншими метаболітами, які утворюються одночасно при культивуванні продуцентів, а саме комплексів позаклітинних рамноліпідів і полісахаридів (РБК) бактерій *Pseudomonas*, а також комплексів клітинно-зв'язаних трегалозоліпідів з жирними кислотами і каротиноїдами (ТПАР) та позаклітинного ліпоамінополісахаридного комплексу (ЛПК) актинобактерій *Gordonia*. Визначено склад одержаних комплексів, а також молекулярні маси рамноліпідів і полісахаридів, що входять до їх складу.

Теоретично обґрунтовано та експериментально встановлено закономірності інтенсифікації синтезу комплексів ПАР та полісахаридів штамів *Pseudomonas* sp. PS-17 і *G. rubripertincta* УКМ Ас-122: оптимізовано склад поживних середовищ, у тому числі з використанням методів математичного моделювання (регресійний і дисперсійний аналіз, метод групового оброблення даних (МГОД); підібрано стимулятори біосинтезу ПАР (натрій цитрат,

аспарагінова, антранілова кислоти) та умови культивування (аерація, температура, дозоване додавання джерел вуглецю). Це дало змогу підвищити кількість синтезованого РБК на 60 %, ТПАР – на 85 %, ЛПК – майже у 4 рази порівняно з показниками до оптимізації.

Розроблено ефективні методи одержання комплексів ПАР – термічне оброблення, осадження з регулюванням температурного режиму, концентрування шляхом піноутворення та зміни агрегатного стану. Із застосуванням методу лінійних багатопараметрових рівнянь визначено оптимальні екстрагенти для ТПАР та рамноліпідів.

Показано, що комплекси мікробних ПАР з іншими метаболітами перевершують індивідуальні ПАР за фізико-хімічними і біологічними характеристиками, а саме: за показниками емульгування, солубілізації гідрофобних речовин, піноутворення, змочування поверхонь, за впливом на проникність клітинних мембран, антимікробною та противірусною дією.

Встановлено, що рамноліпідні і трегалозоліпідні ПАР сприяють підвищенню активності ферментів різних класів (гідролази, оксидоредуктази, ліази), а також стимулюють їх синтез відповідними культурами-продуцентами. Вперше показано, що одержані комплекси ПАР є ефективними інгібіторами корозії металів (алюмінієвого сплаву, сталі).

Визначено стимулювальний вплив синтезованих комплексів ПАР на ріст, урожайність рослин, їх толерантність до несприятливих умов. Показано, що дія ПАР на мікроорганізми і рослини зумовлена змінами їх фізіолого-біохімічних характеристик (інтенсивність росту, проникність клітинних мембран, активність ферментів, фітогормонів).

**Практичне значення одержаних результатів.** Створено колекцію продуцентів екологічно безпечних ПАР із представників родів *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Candida*, *Phaffia*. Розроблено ефективні біотехнології отримання комплексів позаклітинних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та комплексів клітинно-зв'язаних ПАР *G. rubripertincta* УКМ Ас-122. Масштабування цих технологій на ферментаційному обладнанні (біореактор з вихровою системою аерації) дало змогу суттєво збільшити кількість цільових продуктів порівняно з культивуванням у колбах: РБК – на 30 % (12,9 г/дм<sup>3</sup>), ТПАР – на 35 % (9,10-9,85 г/дм<sup>3</sup>), ЛПК – на 40 % (9,15 г/дм<sup>3</sup>), а також вирішити проблему надмірного піноутворення. Опрацьовано асортиментний ряд цільових продуктів за принципом раціонального використання цінних метаболітів та мінімізації відходів переробки культуральної рідини.

Розроблено технології застосування комплексів мікробних ПАР для підвищення нафтовидобутку, очищення довкілля, виробництва мийних засобів, фармпрепаратів, інгібіторів корозії металів, а також рафінування рослинних олій. БіоПАР рекомендовано як регулятори росту рослин, а також для підвищення ефективності дії препаратів для рослинництва – біоцидів, мікроелементів та біодобрих.

Розроблено технічні умови: на випуск ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 - «Речовина поверхнево-активна «Поліком» (ТУ 2.4.5.-326134 46-004:2004), а також на їх використання у складі комбінованого сорбенту для охорони

довкілля «Глауконітоліт (модифікований) + модифікатор – біореагент культури *Pseudomonas* sp. PS-17 (ТУ 5.4.6.-10144 45-003:2002). Створено рекомендації і тимчасові технологічні регламенти на застосування препаратів на основі отриманих ПАР у рослинництві, медицині і ветеринарії, для захисту і очищення ґрунтів від нафтових розливів.

Технологія ПАР «Поліком» апробована в умовах виробництва (ДП «Ензим», Вінницька обл., ТзОВ «Універсальні технології»). Технологію застосування біоПАР для підвищення нафтовидобутку впроваджено у ДПУкрНДІНП «МАСМА». Ефективність комплексів ПАР у рослинництві підтверджена польовими експериментами з ячменем ярим, пшеницею озимою, виноградом різних сортів, які проводили на дослідних ділянках ЛНУ ім. І.Франка, ПП «Кейван» (Запорізька обл.), Інституту фізіології, генетики і захисту рослин АН Республіки Молдова, Приватного інституту прикладної біотехнології «daRostim» (Глаухау, Німеччина). Технологію рафінування рослинних олій впроваджено на підприємстві „Рапсо-Дія”, Кіровоградська обл.).

Результати роботи застосовуються у роботі кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету ім. І. Франка, кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології НУ «Львівська політехніка» при виконанні курсових, дипломних і дисертаційних робіт, а також у викладанні курсу «Біотехнологія» – «Сучасне застосування біотехнологічних методів (промислова біотехнологія)».

Практичне значення одержаних результатів підтверджено відповідними актами впровадження та патентами (Росія – RU № 2125152, 20.01.1999, Німеччина – DE 196 28 454 A1, 15.07.1996, Молдова – MD 652 Z 2014.02.28 та 5 патентами на корисну модель України: UA № 95041549, 05.04.1996, UA № 71792 A 15.12.2004, UA № 36704, 10.11.2008, UA № 42406, 10.07.2009, UA № 77228, 11.02.2013).

**Особистий внесок здобувача.** Ідеї та гіпотези роботи, планування й організація експериментів, оброблення та узагальнення результатів належать автору. Особисто або за безпосередньої участі автора підготовлено публікації. Скринінг продуцентів, біосинтез ПАР проведено спільно зі співробітниками ВФХГК ІнФОВ НАНУ (к.б.н. О.М.Шульгою, Р.І. Вільдановою, к.т.н. М.В. Пристай), а також з науковим консультантом д.б.н. Т.П.Пирог, к.б.н. Т.М.Ногіною (Інститут мікробіології і вірусології НАНУ ім. Д.К.Заболотного). Фізико-хімічні властивості вивчали спільно з д.х.н. В.А. Волошинцем (НУ «Львівська політехніка»), проф. К.Менджицькою (Технічний університет, Гданськ); математичне моделювання – з д.х.н. Р.Г.Макітрою, д.ф.-м.н. В.В. Гафійчуком, Б.Й. Дацком (ІППММ НАН України). Вплив ПАР на проникність клітинних мембран вивчено спільно з проф. Д. Галабовою (Інститут мікробіології БАН, Софія), на ферменти – з Н.Б. Мартинюк (ДП «Ензим»), на рослини – з к.б.н. Н.Ю. Лісовою, Н.С. Щегловою, В.І. Барановим (ЛНУ ім. І.Франка), д.б.н. О.Г. Коваленком (ІМВ НАН України). Антивірусну, імуномодулювальну дію вивчено спільно з А. Чарни, Е. Зачинською (Інститут імунології та експериментальної терапії ПАН, Вроцлав), М. Ремічковою (Інститут мікробіології БАН, Софія), антимікробні композиції ПАР – спільно з

д.х.н. В.І. Лубенець (НУ «Львівська політехніка»). Технології застосування біоПАР в ремедіації розроблено спільно з д.х.н. В.П. Новіковим (НУ «Львівська політехніка»), проф. Б. Колвзан і К. Грабасом (Технічний університет, Вроцлав), у нафтовидобутку – з Ю.Б. Шереметою (НДНІ НП МАСМА), В.Д. Михайлюком, Є.І. Ліскевичем (НДПІ ПАТ «Укрнафта»), Ю.М. Сімасвим (НДПІ «БашНИПИ», Башкортостан, РФ), рафінування олій – спільно з Л.І. Дочкіною (ООО „Рапсо-Дія”, Кіровоградська обл.), інгібування корозій металів з д.т.н. І.М.Зінем (ФМІ ім. Г.В.Карпенко НАН України). Зазначені науковці і технологи є співавторами публікацій та патентів. Автор висловлює подяку усім, хто сприяв виконанню дисертаційної роботи.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати роботи представлені на: I, II, III, IV Всеукраїнських науково-практичних конференціях «Біотехнологія. Освіта. Наука», Київ, 2003; Львів, 2004; Харків, 2006; Дніпропетровськ, 2008; Міжнародних конференціях «Bioremediation of soil and groundwater», Краків, Польща, 2004; «Zanieczyszczenie srodowiska produktami naftowymi, analityka, monitoring, usuwanie», Устронь, Польща, 2005; Remediation Technologies Symposium, 2007, Бенф, Канада; Conference European Research and Innovation, 2007, Париж, Франція; 8<sup>th</sup> International Environmental Technology Conference 2009, Монреаль, Канада; V, VI, VIII, IX Міжнародних конференціях «Radostim», 2008, 2009, 2012, 2013; Environmental Microbiology and Biotechnology in the frame of the knowledge-based bio and green economy, April 10-12, 2012, Bologna; 2<sup>nd</sup> Scientific Conference “Natural and Synthetic Biologically Active Compounds”, 2013, Тбілісі, Грузія та інших.

**Публікації.** Результати роботи викладено у 70 наукових роботах: 2 монографіях, 51 статті, з яких 29 – у фахових виданнях, 12 – в іноземних журналах, 8 патентах та 9 матеріалах і тезах доповідей конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається зі вступу, 6 розділів, висновків, списку літератури (409 джерел) та 3 додатків. Зміст роботи викладено на 367 сторінках машинописного тексту, включає 109 таблиць, 95 рисунків.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

### **Розділ 1. Літературний огляд**

Проаналізовано сучасні літературні джерела, присвячені мікробному синтезу ПАР. Подано класифікацію біоПАР, дані про їх фізіологічну роль, фізико-хімічні і біологічні властивості. Визначено пріоритетні проблеми у розробці технологій мікробних ПАР. За даними літератури окреслено перспективи застосування біоПАР у промисловості, сільському господарстві, медицині, охороні довкілля та визначено актуальні напрямки досліджень.

### **Розділ 2. Матеріали, методи і методики досліджень**

Досліджено 57 штамів мікроорганізмів із Всесоюзної Колекції Мікроорганізмів (ВКМ), 45 штамів Української Колекції Мікроорганізмів (УКМ), а також 39 ізолятів, виділених з природного середовища (грунти, вода).

**Культивування мікроорганізмів** здійснювали у колбах Ерленмейєра (750 мл) на ротаційній качалці (WL-2000, JW Electronic, Poland) за 28-30 °С, 220



об/хв, а також у лабораторних ферментерах (5-20 дм<sup>3</sup>), контролюючи рН, вміст кисню, температуру на автоматичному аналізаторі "Експерт-00-4.0.1" (ООО "Эконикс-Эксперт", РФ) з відповідними електродами.

**Поверхневий натяг (ПН)** супернатанту культуральної рідини (СКР) та розчинів ПАР визначали з платиновою пластинкою Вільгельмі або з платиновим кільцем (метод Дю-Нуї) [Абрамзон, 1988] на тензіометрі Krüss K6 (Krüss GmbH, Німеччина), критичну концентрацію міцелоутворення (ККМ) – за ізотермами поверхневого натягу розчинів ПАР. Для культуральної рідини визначали CMD (Critical Micelle Dilution – розведення КР до збереження властивості міцелоутворення).

**Вміст позаклітинних (або клітинно-зв'язаних) ПАР** визначали гравіметричним методом після екстракції з СКР (або клітинної маси) сумішшю Фолча [Folch, 1957], склад екстрактів – методом тонкошарової хроматографії (ТШХ), рухомі фази: неполярна – гексан-діетиловий ефір (2:1); полярні: хлороформ-метанол-вода (65:15:2 і 65:25:4), для ідентифікації ліпідів застосовували специфічні реагенти і відповідні маркери. Кількість рамно- і трегалозоліпідів визначали орциновим або антроновим методами на спектрофотометрі Shimadzu UVmini-1240 (Shimadzu Corporation, Японія). Структуру і молекулярні маси ПАР вивчали методами ІЧ-спектрометрії (Thermo-Nicolet-380, США) та мас-спектрометрії з іонізацією електроспреем (API-2000 HPLC-MS/MS, Perkin Elmer Sciex, Канада).

**Полісахариди виділяли** шляхом осадження із СКР етанолом (ацетоном) [Williams, 1977] або розчином HCl при рН 3, кількість вуглеводів в їх складі визначали за Дюбуа [Dubois, 1956], білка – за Бредфорд [Bradford, 1976], ліпідів – гравіметричним методом після екстракції, молекулярну масу – методом гельфільтрації (Sephadex G-75) [Кочетков, 1967], молекулярну масу РБК – за допомогою капілярного віскозиметра Оствальда [Шатенштейн, 1964].

**Фізико-хімічні властивості ПАР.** Емульгувальну активність  $E_{24}$  до гідрофобних речовин визначали як відношення висоти шару емульсії до висоти суміші (%) через 24 год [Gutnick, 1988], стабільність емульсії – через 2, 5, 10, 20 діб. Піноутворювальну здатність – оцінювали за ДСТУ 3789-98, гідрофільно-ліпофільний баланс ПАР розраховували за формулами [Tadros, Vinsent, 1983]. Показники солубілізації визначали за вмістом розчинених гідрофобних речовин на газовому хроматографі HP 6890 GC (Hewlett-Packard, США).

**Біологічні властивості ПАР.** Вплив ПАР на проникність клітинних мембран мікроорганізмів оцінювали за вмістом позаклітинного білка [Vasileva-Tonkova E., 2005], на поглинання елементів рослинами – за вмістом K, Ca, Na у поживному розчині (водна культура) на полум'яному фотометрі ПФМ-30МЗ. Токсичність ПАР визначали у біотестах з *Daphnia magna* STRAUS, люмінесцентними бактеріями *Vibrio fischeri* (MicrotoxOmni 38), а також на культурах клітин A549 (ATCC CCL 185), L929 (ATCC CCL-1), CHEB2.

**Ферментативну активність** визначали: целюлазну – методом Сомоджи-Нельсона, амілазну – колориметричним [ДСТУ 20264.4-89] за кількістю декстринів, каталазну – за вмістом H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [Королук, 1988], ліпазну – за гідролізом олії [Отто, 1982], дегідрогеназну – з трифенілтетразолій хлоридом [Casida, 1964].

**Вплив ПАР на рослини.** Передпосівне оброблення насіння проводили при замочуванні або обприскуванні розчинами ПАР [ДСТУ 4138-2002], вегетаційні досліді – у посудинах з піском / ґрунтом, польові експерименти з ячменем ярим, соєю, виноградом – на дослідних ділянках ЛНУ ім. І. Франка, ППБ «daRostim» (Глахау, Німеччина), Інституту фізіології, генетики і захисту рослин АН Республіки Молдова за стандартними методиками [Доспехов, 1982].

**Концентрацію вуглеводнів у ґрунті (воді) визначали** гравіметричним методом після екстракції [Дмитриев, 1989], чисельність мікроорганізмів у зразках ґрунту – методом серійних розведень [Сегі, 1983].

**Математичне моделювання** (оптимізація ПС) здійснювали методами регресійного аналізу з трьохфакторною поліноміальною моделлю другого порядку, а також дисперсійного аналізу ANOVA на основі статистики Фішера, оптимізацію екстракції РЛ і ТЛ – методом багатопараметрових рівнянь [Koppel, Palm, 1973]. Статистичний аналіз достовірності даних проводили методами варіаційної статистики [Лакін, 1990] і за Microsoft Office Excel 2003.

### Розділ 3. Мікробний синтез позаклітинних і клітинно-зв'язаних ПАР

**Скринінг мікроорганізмів-продуцентів ПАР.** У розділі представлено результати скринінгу продуцентів ПАР серед представників родів *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Phaffia* і *Candida*, який здійснювали за параметрами поверхневого натягу КР, показником CMD (умовна концентрація ПАР), індексом емульгування  $E_{24}$ . Всього досліджено 140 штамів. Як найперспективніші продуценти ПАР було відібрано 7 штамів, що належать до родів *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Rhodococcus* і *Bacillus*.

**Позаклітинні ПАР бактерій роду *Pseudomonas*.** У результаті дослідження 21 штаму роду *Pseudomonas*, обрано 3 активні продуценти позаклітинних ПАР, основними складниками яких є рамноліпіди (табл. 1).

Таблиця 1 – Синтез ПАР культурами роду *Pseudomonas* на поживних середовищах з різними джерелами вуглецю

| Джерело вуглецю, 20 г/дм <sup>3</sup> | АСБ, г/дм <sup>3</sup> | Рамноліпідні ПАР, г/дм <sup>3</sup> | Поверхневий натяг, мН/м | $E_{24}$ , % |
|---------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|-------------------------|--------------|
| <i>P. aureofaciens</i> NB 1           |                        |                                     |                         |              |
| Гліцерин                              | 2,81±0,10              | 1,74±0,07                           | 29,2±0,4                | 21           |
| Фуз олійний                           | 4,62±0,13              | 2,91±0,09                           | 28,8±0,5                | 30           |
| <i>P. fluorescens</i> 8573            |                        |                                     |                         |              |
| Гліцерин                              | 3,21±0,09              | 4,32±0,21                           | 28,9±0,3                | 50           |
| Фуз олійний                           | 3,92±0,11              | 3,64±0,14                           | 28,5±0,6                | 50           |
| <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17          |                        |                                     |                         |              |
| Гліцерин                              | 2,82±0,12              | 4,94±0,16                           | 28,2±0,6                | 85           |
| Фуз олійний                           | 3,24±0,14              | 5,31±0,18                           | 29,2±0,5                | 78           |

Примітки:

1. Термін культивування 5 діб.
2. Джерело азоту - натрій нітрат, 3 г/дм<sup>3</sup>.
3. Результати достовірні за  $p \leq 0,05$ .

Показано, що ці штами синтезують ПАР на поживних середовищах з різними джерелами вуглецю (гідрофільними і гідрофобними), серед яких економічно вигідними є гліцерин, рослинні олії, фосфатидні концентрати (фузи олійні) (табл.1). Встановлено, що оптимальним джерелом азоту для продукування ПАР штамами роду *Pseudomonas* є натрій нітрат. Штам *Pseudomonas* sp. PS-17 утворює позаклітинні ПАР, основними компонентами яких є моно- і диамноліпіди (РЛ-1 і РЛ-2), а також жирні кислоти. ПАР вивчено та ідентифіковано методами тонкошарової, рідинної хроматографії, ІЧ- і мас-спектроскопії. Методом мас-спектроскопії визначено молекулярні маси рамноліпідів: РЛ-1 – 527 кДа, РЛ-2 – 673 кДа, що підтверджує їх структуру. Отримані характеристичні мас-спектри РЛ-1 і РЛ-2 можна використовувати як референтні для ідентифікації цих речовин у біологічних та технологічних зразках. Встановлено, що даний штам продукує також позаклітинний біополімер, основою якого (79 % мас.) є полісахарид з молекулярною масою 300-400 кДа. Аналіз ІЧ-спектрів показав, що він належить до альгінатів (поліуронід блокової структури: співполімер  $\beta$ -D-мануронової кислоти і  $\alpha$ -L-гулулової кислоти). Це узгоджується з даними літератури про здатність бактерій роду *Pseudomonas* синтезувати альгінати. Встановлено, що рамноліпіди і екзополісахарид утворюють природну композицію – поверхнево-активний рамноліпідний біокомплекс (РБК). Завдяки адсорбуванню і концентруванню молекул РЛ на ЕПС утворюються, очевидно, активніші структури, які зумовлюють функціональні характеристики РБК. З використанням квантово-хімічних підходів (напівемпіричний метод АМ1, градієнтний метод Девідона-Флетера-Пауела) побудовано оптимізовані геометричні структури РБК, обчислено значення теплоти утворення, валентні і торсійні кути між атомами, що зв'язують фрагменти молекул. Показано, що у біокомплексі РЛ і ЕПС з'єднані нековалентними зв'язками (водневі, Ван-дер-Ваальсові). Підтвердженням існування структури РБК є й формування кристалів (за даними електронної і сканівної мікроскопії), а також порівняльний аналіз ІЧ- і УФ-спектрів РБК і РЛ. Визначено, що молекулярна маса РБК становить 7,5-9 кДа. Інтерес до РБК пояснюється його властивостями – вища, ніж у РЛ емульгувальна, піноутворювальна, змочувальна, мийна активність.

Іншим цікавим продуцентом є *P. fluorescens* 8573, що синтезує комплекс позаклітинних ПАР з 5 гомологічними рамноліпідами, яким притаманна значна емульгувальна та поверхнева активність (табл. 1).

Вперше встановлено, що бактерії *Pseudomonas aureofaciens* (найбільш активний штам – *P. aureofaciens* NB1), також синтезують рамноліпідні ПАР, яким притаманна значна поверхнева активність (28,5-29,9 мН/м), що зберігається за різних значень рН (5,5-9,0).

Отже, визначено перспективні штами роду *Pseudomonas* – продуценти рамноліпідних ПАР. Для розроблення технології як найпродуктивніший і технологічно перспективний обрано штам *Pseudomonas* sp. PS-17 (Реєстраційний номер у Депозитарії ІМВ ім. Д.К.Заболотного *Pseudomonas* sp. ІМВ В-7434).

**Клітинно-зв'язані ПАР та екзополісахариди актинобактерій родів *Rhodococcus* і *Gordonia*.** Здійснено скринінг 17 штамів виду *G. rubripertincta*, 9 штамів виду *R. erythropolis* і 12 штамів виду *R. ruber* за критерієм синтезу ПАР. Мікроорганізми вирощували на середовищах із сахарозою і гексадеканом, які обрано як найефективніші джерела вуглецю. Визначено низку активних продуцентів серед актинобактерій (табл. 2). Показано, що *G. rubripertincta* УКМ Ас-122, та *R. erythropolis* Ау-1 утворюють клітинно-зв'язані ПАР (основні компоненти – трегалозоліпіди) та позаклітинні ліпополісахаридні комплекси.

Таблиця 2 – Синтез ПАР актинобактеріями родів *Rhodococcus* і *Gordonia*

| Джерело вуглецю,<br>20 г/дм <sup>3</sup> | АСБ,<br>г/дм <sup>3</sup> | ТПАР,<br>г/дм <sup>3</sup> | ЛПК,<br>г/дм <sup>3</sup> | Поверхневий<br>натяг мН/м | E <sub>24</sub> СКР, % |
|------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
| <i>G. rubripertincta</i> УКМ Ас-122      |                           |                            |                           |                           |                        |
| Сахароза                                 | 8,62±0,41                 | 0,89±0,05                  | 2,21±0,12                 | 49,2±0,3                  | 61,7±1,9               |
| Гексадекан                               | 10,39±0,50                | 3,16±0,16                  | 5,75±0,27                 | 39,7±0,2                  | 66,0±2,0               |
| <i>R.erythropolis</i> Ау-1               |                           |                            |                           |                           |                        |
| Гексадекан                               | 10,34±0,53                | 2,80±0,13                  | 1,92±0,11                 | 33,2±0,2                  | 24,3±0,6               |
| Гліцерин                                 | 9,34±0,38                 | 0,38±0,03                  | 3,78±0,18                 | 50,5±0,5                  | 45,2±0,4               |
| <i>R.ruber</i> УКМ Ас-288                |                           |                            |                           |                           |                        |
| Гексадекан                               | 11,61±0,59                | 2,48±0,12                  | -                         | 51,1±0,4                  | 58,7±3,2               |
| Олія соняшникова                         | 9,62±0,50                 | 1,87±0,10                  | -                         | 49,5±0,3                  | 55,2±2,7               |

Примітки:

1. Тривалість культивування 5 діб.
2. Джерело азоту - натрій нітрат, 3 г/дм<sup>3</sup>.
3. Результати достовірні за  $p \leq 0,05$ .

Штам *R. erythropolis* Ау-1 синтезує також позаклітинні ПАР, про що свідчить низький поверхневий натяг СКР (30,3-35,5 мН/м). Для обраних актинобактерій підібрано оптимальні джерела вуглецю й азоту для синтезу цільових продуктів.

Визначено, що ТПАР штаму *G.rubripertincta* УКМ Ас-122 є комплексом трегалозоліпідів (ТЛ), аміноліпідів, міколових кислот, жирних кислот та каротиноїдів. Особливий технологічний інтерес представляє здатність *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 утворювати продукти різної локалізації – не тільки клітинно-зв'язані ТПАР, а й позаклітинний ліпоамінополісахаридний комплекс (ЛПК), який є емульгатором. Визначено, що полісахарид, який входить в ЛПК, є гетерогенним, містить два компоненти з молекулярною масою 50 і 73 кДа. Одержано 2 форми ЛПК залежно від способу виділення з СКР – осадженням етанолом (ЛПК1) або кислотою за рН 3 (ЛПК2). Вміст як ЛПК1, так і ЛПК2 приблизно однаковим. Концентрації цукрів й білку в їх складі були близькими – 46 і 3 %, проте вміст ліпідів суттєво різнився: в ЛПК1 – 1,4 %, ЛПК2 – 6,2 %. Цим, можливо, пояснюється вища емульгувальна активність ЛПК2.

Отже, для розроблення технології трегалозоліпідних ПАР та ЛПК було обрано штам *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 як технологічно перспективний, оскільки він продукує декілька цільових продуктів у значних кількостях.

**Поверхнево-активні продукти штаму *Bacillus* sp. F1.** За даними скринінгу представників роду *Bacillus*, як продуцент ліпопептидів було обрано штам *Bacillus* sp. F1, який синтезує ліпопептиди на середовищах з різними джерелами вуглецю й азоту, а також за різних режимів культивування (шейкер, 220 об/хв або стаціонарний режим). На оптимізованому середовищі (сахароза, натрій нітрат, натрій цитрат) одержано 1,21 г/дм<sup>3</sup> ліпопептидів, поверхневий натяг СКР становив 27,5 мН/м, E<sub>24</sub> (гас/СКР) – 55 %.

Отже, у результаті проведеного скринінгу створено колекцію ефективних продуцентів позаклітинних і/або клітинно-зв'язаних промислово перспективних ПАР, яка представлена бактеріями різних таксонів. Для розроблення біотехнологій комплексів ПАР обрано як найперспективніші штами *Pseudomonas* sp. PS-17 і *G.rubripertincta* УКМ Ас-122.

#### **Розділ 4. Розроблення технологій рамноліпідних і трегалозоліпідних ПАР**

**Оптимізація синтезу рамноліпідних ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17.** Опрацьовано умови культивування *Pseudomonas* sp. PS-17, у першу чергу вивчено вплив на синтез ПАР природи джерел вуглецю як гідрофільних, так і гідрофобних (гліцерину, рослинних олій, вуглеводнів тощо). Встановлено, що найкращими субстратами є багатоатомні спирти (гліцерин, маніт), рослинні олії, у тому числі, низьких гатунків (неочищені, окиснені), а також економічно вигідні відходи олійно-жирових виробництв – фузи олійні. До складу середовища як активатор біосинтезу ПАР включений дріжджовий екстракт у межах 0,5-1,0 г/дм<sup>3</sup>, що дозволило збільшити кількість РБК на 25 %.

При оптимізації складу поживних середовищ використано методи математичного моделювання: аналіз множинної лінійної регресії, а саме метод групової обробки даних (МГОД) та метод адитивно-решітчастих рівнянь. Критеріями оптимізації були джерела вуглецю (гліцерин, натрій цитрат) та азоту (натрій нітрат), що дозволило визначити склад трьох середовищ: 1) для максимального нагромадження біомаси (інокуляту); 2) для синтезу рамноліпідів; 3) рамноліпідного біокомплексу. При культивуванні штаму на розроблених середовищах за 5 діб досягнуто підвищення кількості біомаси на 24 % (до 3,42 г/дм<sup>3</sup>), вмісту РБК – на 60 % (до 9,25 г/дм<sup>3</sup>) порівняно з використанням середовища початкового складу.

У технологіях мікробного синтезу значну роль відіграє постадійне масштабування процесу від лабораторного до виробничого, у першу чергу, перехід від культивування продуцента у колбах до застосування ферментера [Voss, 2001, Пирог, 2011]. Було випробувано ферментери різних конструкцій: 1) з барботером і перемішувальним пристроєм, 2) барботажно-ерліфтний, 3) зі самовсмоктувальною мішалкою тощо [Chisti, 1993, Сидоров, 2012]. За базову модель як найефективніший було обрано ферментер з вихровою системою аерації. Його переваги – ефективність масопереносу за киснем у середовищі, збільшення коефіцієнту заповнення та запобігання надмірному піноутворенню (важливої проблеми при біосинтезі позаклітинних ПАР).

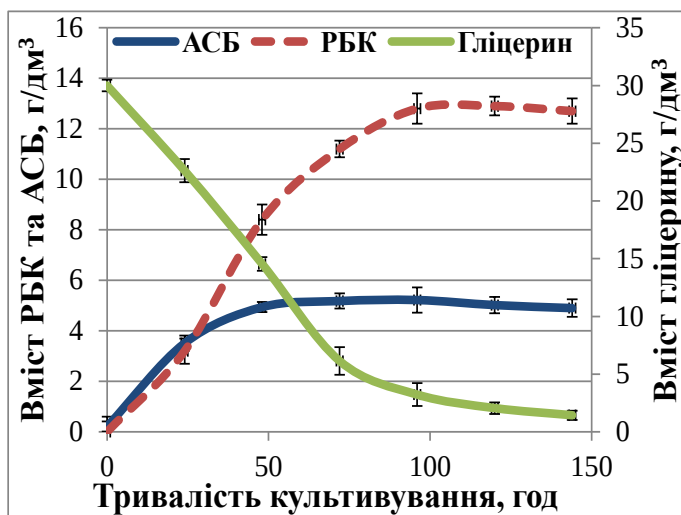


Рисунок 1 – Синтез рамноліпідного біокомплексу *Pseudomonas* sp. PS-17 у вихровому ферментері (об'єм – 10 дм<sup>3</sup>)

Визначено оптимальні умови біосинтезу ПАР штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 у вихровому реакторі (рис. 1), а саме: посівний матеріал з експоненційної фази (36 год,  $5 \cdot 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>) у кількості 7 % об.; швидкість подачі кисню на аерацію – 0,85 і 0,5 кг О<sub>2</sub>/(м<sup>3</sup>·год). Швидкість перемішування становила 400-450 об/хв, коефіцієнт заповнення об'єму ферментеру – 0,6-0,75. За таких умов кількість синтезованих ПАР вдалося підвищити до 12,9 г/дм<sup>3</sup>, а тривалість процесу скорочено до 4 діб. Отже, при застосуванні

вихрового реактора, завдяки зазначеним перевагам, вдалося суттєво підвищити вихід продуктів (порівняно з реакторами інших систем).

**Розроблення товарних форм продуктів на основі рамноліпідних ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17.** Зважаючи на різноманітність перспективних напрямків використання біоПАР, вибір технологічно та економічно обґрунтованих форм цільових продуктів є актуальним завданням. Опрацьовано 5 форм продуктів на основі рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (рис. 2): термічно оброблена культуральна рідина, супернатант культуральної рідини та їх концентрати, рамноліпідний біокомплекс, суміш рамноліпідів.



Рисунок 2 – Схема виділення та форми цільових продуктів *Pseudomonas* sp. PS-17

Економічно вигідною товарною формою є термічно оброблена культуральна рідина (продукт №1). При такому способі оброблення практично не змінювалися фізико-хімічні показники КР (поверхневий натяг, індекс емульгування), водночас зростає вміст РЛ, РБК і полісахаридів, що можна пояснити вилученням додаткової кількості метаболітів із клітин у разі

підвищення температури. Отже, термостабільність є ще однією важливою властивістю одержаних ПАР.

Продукт №2 (СКР) – це природний розчин поверхнево-активних метаболітів та інших речовин, що характеризується значною поверхневою, емульгувальною активністю, піноутворювальною та мийною здатністю. Ефективним продуктом є також концентрат СКР (продукт №4), який можна отримати як традиційними промисловими методами (розпилювальне, ліофільне сушіння та ін.), так і розробленими нами – фракціонування (відбір) піни, що дозволяє збільшити вміст РБК у 3-4 рази, а також заморожування-розморожування СКР – у 2,5-3 рази.

Запропоновано ефективну за функціональними властивостями форму - продукт №3 – рамноліпідний біокомплекс, що містить рамноліпіди і полісахарид (4:1). Його перевагами (порівняно з рамноліпідами) є спрощене виділення, вища ефективність, менша токсичність і відповідно вищий промисловий потенціал, він є зручним для зберігання і транспортування. Ще одну товарну форму – суміш рамноліпідів можна отримати як з СКР, так і з РБК екстракцією (дихлорметан, суміш Фолча).

Отже, розроблено біотехнологію отримання рамноліпідних ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, а також опрацьовано низку цільових продуктів з широким спектром функціональної активності і відповідно різними сферами застосування у промисловості та сільському господарстві.

**Розроблення технології ТПАР та ЛПК штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122.** При створенні технології поверхнево-активних продуктів штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 визначено оптимальні джерела вуглецю й азоту у складі поживного середовища. Використання гідрофобних субстратів дозволило отримати 2,42-3,30 г/дм<sup>3</sup> ТПАР, для позаклітинного емульгатора можна застосовувати як гідрофільні, так і гідрофобні джерела. Серед економічно вигідних субстратів (відходів виробництва) рекомендовано фуз олійний, а також дешеве джерело азоту – сечовину (для ТПАР). Для синтезу ЛПК найкращим джерелом азоту є натрій нітрат з додаванням аспарагінової кислоти (0,5-1,0 г/дм<sup>3</sup>), при цьому кількість АСБ зростала на 34 %, вміст ЛПК – у 2 рази. При розробленні оптимального складу поживного середовища для синтезу продуктів *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 використано математичне моделювання. Із застосуванням багатофакторного регресійного і дисперсійного аналізу визначено склад 3-х середовищ – для одержання інокуляту та для синтезу цільових продуктів, що дало змогу збільшити кількість ТПАР на 85 % (до 8,10 г/ дм<sup>3</sup>), а ЛПК – майже у 4 рази (7,80 г/дм<sup>3</sup>).

Технологію синтезу продуктів *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 апробовано у лабораторному біореакторі з вихровою системою аерації. При використанні оптимізованих середовищ з рідкими парафінами або гексадеканом кількість ТПАР становила 9,10-9,85 г/дм<sup>3</sup>. Концентрація ЛПК зросла на 17 % (до 9,15 г/дм<sup>3</sup>) порівняно з процесом у колбах. Таку інтенсифікацію синтезу ПАР у ферментері можна пояснити зростанням рівня аерації і масопереносу за киснем в середовищі.



**Розроблення цільових продуктів штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122.** Зважаючи на полісинтетичні властивості *G. rubripertincta* Ас-122 – здатність продукувати клітинно-зв'язані ПАР і позаклітинний ліпоаміно-полісахаридний



Рисунок 3 – Схема одержання і форми продуктів *G. rubripertincta* УКМ Ас-122

комплекс (емульгатор), було розроблено раціональну з економічної точки зору схему одержання цільових продуктів на основі ТПАР та ЛПК (рис. 3).

Практично цінною властивістю ПАР є термостабільність: після оброблення КР (100°C, 20 хв. або автоклавування за 1,1 атм, 20 хв.) функціональна активність практично не змінювалася. Загалом опрацьовано

чотири форми продуктів, визначено їх властивості, термін зберігання.

Отже, розроблено біотехнологію отримання поверхнево-активних продуктів штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122, а також раціональну схему їх виділення, що має економічне значення, оскільки дозволяє максимально використовувати синтетичний потенціал даного продуцента.

## Розділ 5. Властивості продуктів на основі комплексів мікробних ПАР

Для оцінки потенціалу практичного застосування одержаних продуктів проведено широкопланове дослідження їх фізико-хімічних та біологічних властивостей.

**Фізико-хімічні властивості комплексів рамноліпідних і трегалозоліпідних ПАР.** Визначено базові фізико-хімічні характеристики одержаних продуктів: СКР штамів *Pseudomonas* sp. PS-17 і *G. rubripertincta* УКМ Ас-122: рамноліпідів, РБК, ТПАР, ЛПК. Показано, що дані продукти мають високу емульгувальну, поверхневу, піноутворювальну активність, а також впливають на процеси змочування – це свідчить про те, що вони є високоефективними ПАР. Мінімальні значення поверхневого натягу, критичної концентрації міцелоутворення водних розчинів РЛ, РБК, СКР вказують на їх значну активність, яка часто перевершує відомі синтетичні ПАР (Твін-80, ДДС, Тритон Х-100 та ін.). Так, ПН розчинів РБК і СКР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 становить 28,5-31,1 мН/м, значення ККМ для РЛ і РБК – 0,05-0,10 г/дм<sup>3</sup>. Встановлено залежність поверхневого натягу розчинів СКР і РБК від концентрації і рН. Одержані комплекси ПАР є активними у широкому діапазоні рН, проте найнижчі значення ПН виявлено за рН 5-7 (рис. 4).



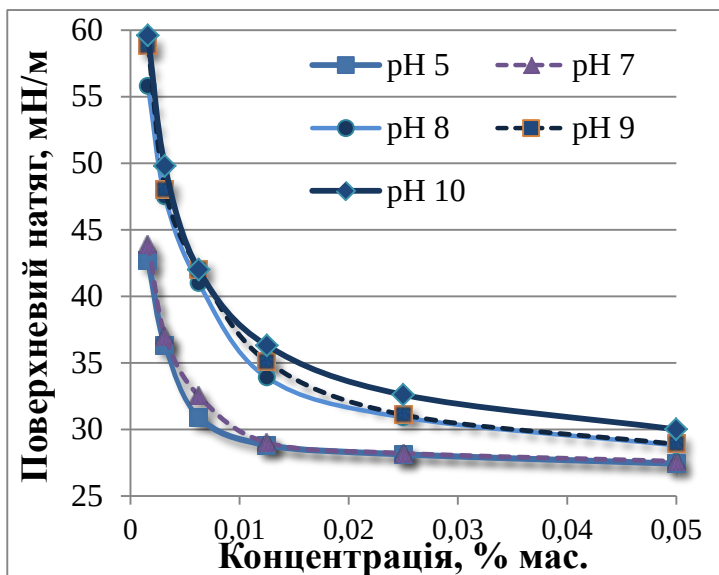
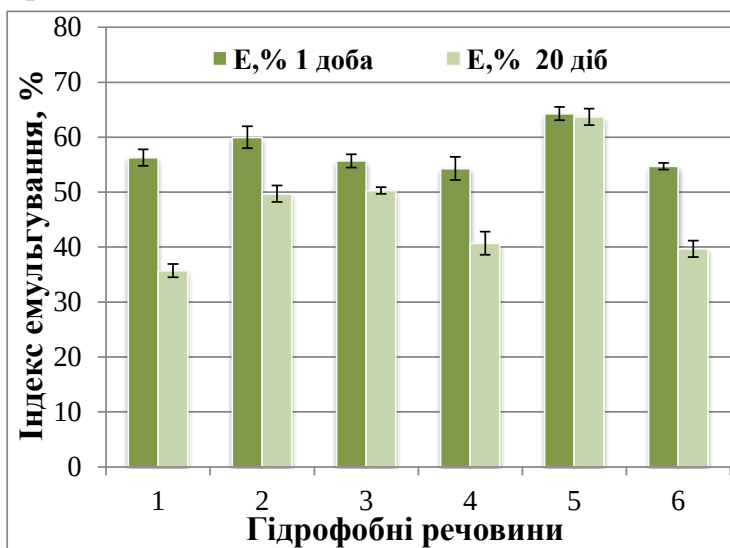


Рисунок 4 – Залежність поверхневого натягу водних розчинів РБК від концентрації за різних pH

придатними для мийних, косметичних, фармацевтичних препаратів тощо. Показано здатність РЛ і РБК до солюбілізації вуглеводнів і рослинних олій, визначено коефіцієнти солюбілізації додекану (масовий і мольний – 0,086 і 4,020 відповідно) та ріпакової олії – 0,122 і 3,533 відповідно. Показники солюбілізації є важливими у використанні ПАР для покращення розчинності малорозчинних у воді речовин при створенні комбінованих препаратів різного призначення.



1–вазелинова олива, 2– соняшникова олія, 3–рідкі парафіни, 4–олива І40, 5–бензол, 6–нафта

Рисунок 5 – Емульгувальна здатність СКР *G. rubripertincta* УКМ Ас-122

88,9 % (для ЛПК1 – 68,5 %), активність ЛПК2 зберігається за низьких концентрацій (до 0,5 г/дм<sup>3</sup>). Враховуючи простоту виділення (осадження з СКР кислотою), ЛПК2 є економічно вигіднішим. Висока емульгувальна здатність

Аналіз колоїдно-хімічних характеристик розчинів рамноліпідів і РБК свідчить, що вони належать до ПАР змішаного типу – аніонно-нейоногенних. Для одержаних продуктів визначено й інші важливі фізико-хімічні показники: гідрофільно-ліпофільний баланс (ГЛБ), параметри солюбілізації. Розраховані значення ГЛБ для РЛ-1 становлять 13, РЛ-2 – 21, що вказує на їх здатність утворювати емульсії типу «олія у воді». Це означає, що дані ПАР є емульгаторами,

Одержані ПАР та їх комплекси є ефективними емульгаторами для низки гідрофобних речовин (вуглеводнів, рослинних олій, жирів), це було показано як за індексом  $E_{24}$ , так і за стабільністю емульсій у часі. Так, емульсії, утворені СКР штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 або ЛПК, що входить до його складу (рис. 5) характеризуються високими значеннями  $E_{24}$  (55-65 %), а також є стабільними. Здатність до емульгування препаратів ЛПК залежить від їх складу, так, для ЛПК2, який містить більше ліпідів,  $E_{24}$  з гасом становить

( $E_{24}$  – 50-85 %) притаманна також і комплексам штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (РБК і СКР) у широкому діапазоні рН, причому емульсії були стабільними впродовж 1-2 місяців.

Визначено також фізико-хімічні показники складників комплексу ТПАР штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122, виділених методом адсорбційної хроматографії. Основними функціональними складниками є трегалозоліпіди, поверхневий натяг їх розчинів становить 32,8 мН/м, показник ККМ – 0,12 г/дм<sup>3</sup>. Таким чином, одержані продукти штамів *Pseudomonas* sp. PS-17 та *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 є високоефективними ПАР, отже мають реальний потенціал застосування в економіці.

### Біологічні властивості комплексів мікробних ПАР. Вплив біоПАР на проникність клітинних мембран.

Для застосування біоПАР у медицині, тваринництві, рослинництві необхідні дані про їх вплив на клітини живих організмів. Встановлено, що рамноліпідні і трегалозоліпідні ПАР спричиняють зміни проникності клітинних мембран тестових мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Candida*, мікроорганізмів-фітопатогенів, зокрема *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium tumefaciens* (рис. 6), що має практичне значення для сільського господарства.

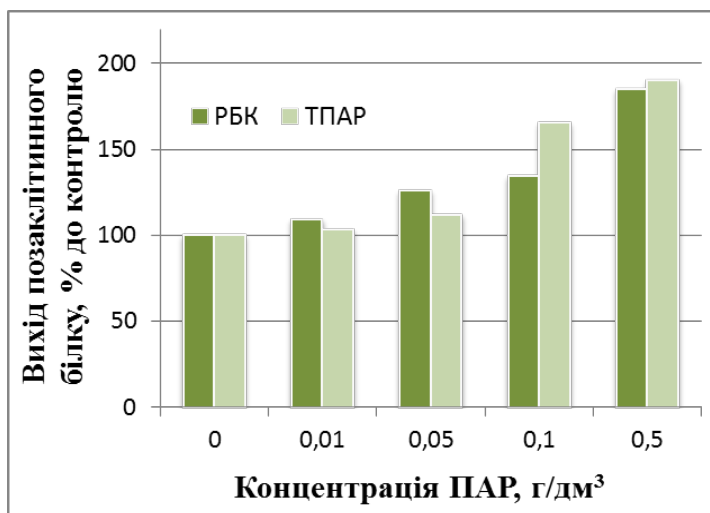


Рисунок 6 – Вплив рамноліпідних і трегалозоліпідних ПАР на вихід білка з клітин *Agrobacterium tumefaciens*

Порівняно з синтетичними ПАР, що були досліджені паралельно (натрій додецилсульфат, Твін-80, Тритон Х-100), одержані біогенні продукти проявляли більш «м'який» вплив на клітинні мембрани тестових мікроорганізмів, ступінь і характер якого залежать від концентрації [Sotirova, 2008]. Дані сканівної електронної мікроскопії (SEM) свідчать, що при обробленні клітин у стані спокою розчинами рамноліпідного біокомплексу мембрани не руйнувалися (на відміну від дії синтетичних ПАР), проте змінювалася проникність. Збереження життєздатності клітин під дією РБК визначено також за допомогою спеціального Live/Dead тесту з пропідій йодидом як міткою (метод флуоресцентної мікроскопії).

Можливість взаємодії біоПАР з клітинними мембранами підтверджено на молекулярному рівні – при вивченні методом мас-спектрометрії парних систем рамноліпідів з дипальмітоїлфосфатиділхоліном (моделним мембранним фосfolіпідом).

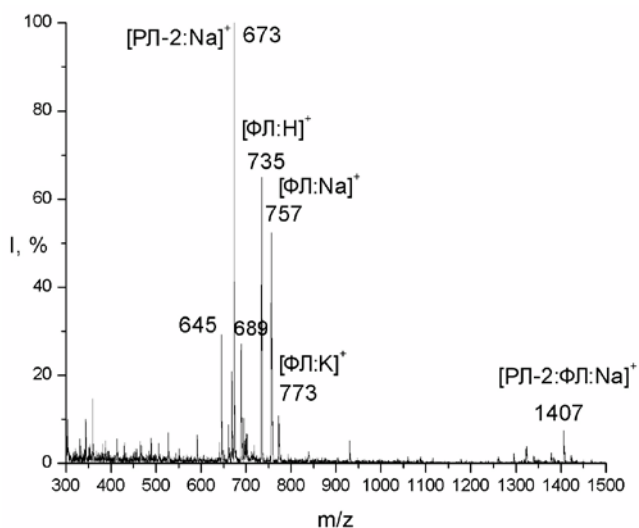


Рисунок 7 – Мас-спектр (іонізація електроспреєм) парних систем рамноліпід – фосфоліпід у метанолі

проникності мембран є важливою для використання ПАР у створенні ефективних композицій для фармації, ветеринарії і сільського господарства, а також для біологічних досліджень (виділення білків, ферментів та інших речовин з клітин).

**Токсикологічні дослідження.** При створенні технологій застосування ПАР необхідно встановити діапазон концентрацій, за яких вони нетоксичні [Wibbertmann, 2011]. Випробування проводили на різних тест-об'єктах:

люмінесцентні бактерії *Vibrio fischeri*, ракоподібні *Daphnia magna* STRAUS, також вивчено цитотоксичність на різних культурах клітин. Результати узгоджуються з даними літератури [Куякіна, 2006] про те, що біогенні ПАР у 10-1000 раз менше токсичні, ніж синтетичні (фіназол, корексит, ініпол). Показано, що токсична концентрація рамноліпідів становить 0,013 г/дм<sup>3</sup>, тоді як для рамноліпідного комплексу вона складає 0,1-0,2 г/дм<sup>3</sup>, тобто токсичність РБК у 10 разів менша (біотест з *Vibrio fischeri*). Цитотоксичність отриманих комплексів ТПАР й РБК також є значно нижчою, ніж індивідуальних ПАР (РЛ, ТЛ), а трегалозоліпідні ПАР є менш токсичними, ніж рамноліпідні.

Отже, унікальні фізико-хімічні властивості одержаних комплексів мікробних ПАР, а також їх низька токсичність, помірна дія на клітини мікроорганізмів і рослин вказують на реальні переваги їх використання як екологічно безпечних продуктів у сучасних технологіях.

У мас-спектрах (рис. 7) зареєстровано нові сигнали, які, ймовірно, відповідають супрамолекулярним структурам, утвореним в результаті взаємодії рамноліпиду з фосфоліпідом (катіонізовані нековалентні комплекси).

Встановлено також вплив комплексів ПАР на проникність клітинних мембран рослин – після оброблення насіння розчинами РБК і ТПАР суттєво збільшувався рівень поглинання мінеральних елементів проростками рослин із поживних розчинів (рис. 8).

Здатність до регулювання

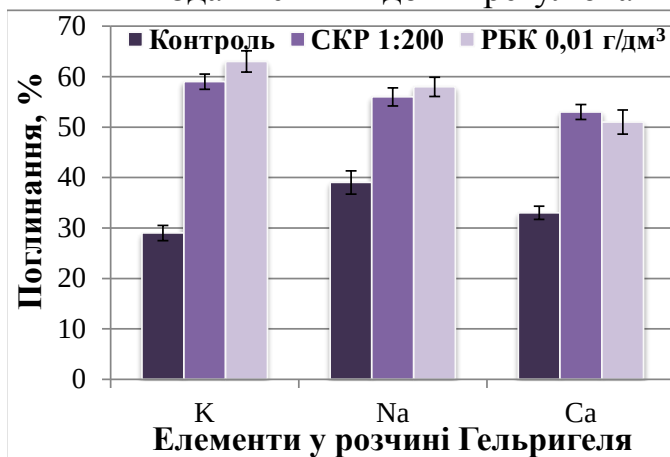


Рисунок 8 – Вплив біоПАР на поглинання мінеральних елементів проростками соняшника

## Розділ 6. Технології застосування біоПАР у промисловості і сільському господарстві

**БіоПАР у технологіях ферментних препаратів.** У сучасних технологічних процесах промисловості і сільського господарства, а також ветеринарії й медицині зростає роль ферментних препаратів. У зв'язку з цим актуальним завданням є підвищення їх активності та стабільності дії [Liu, 2006, Gupta, 2010]. Показано, що ефективними регуляторами біосинтезу та ферментативної активності є рамноліпідні і трегалозоліпідні ПАР. Їх можна використовувати для інтенсифікації синтезу целюлази, ксиланази, амілази, протеази, додаючи їх у поживне середовище при культивуванні продуцентів. Так, рамноліпідні ПАР є ефективнішими активаторами синтезу целюлази, ніж синтетичний Твін-80 (табл. 3).

Таблиця 3 – Вплив рамноліпідного біокомплексу на синтез целюлази С<sub>1</sub> (авіцелази) культурою *Trichoderma viride* Т-44

| Досліджувані речовини           | Целюлазна активність С <sub>1</sub> ,<br>од./мл | АСБ, г/дм <sup>3</sup> |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------|
| Контроль                        | 5,2±0,2                                         | 11,7±0,5               |
| Твін-80, 0,1 г/ дм <sup>3</sup> | 6,7±0,2                                         | 11,9±0,4               |
| Твін-80, 0,5 г/ дм <sup>3</sup> | 8,2±0,3                                         | 12,1±0,5               |
| Твін-80, 1 г/ дм <sup>3</sup>   | 10,3±0,4                                        | 14,2±0,6               |
| РБК, 0,01 г/ дм <sup>3</sup>    | 14,1±0,3                                        | 15,0±0,5               |
| РБК, 0,05 г/ дм <sup>3</sup>    | 10,8±0,3                                        | 12,9±0,6               |

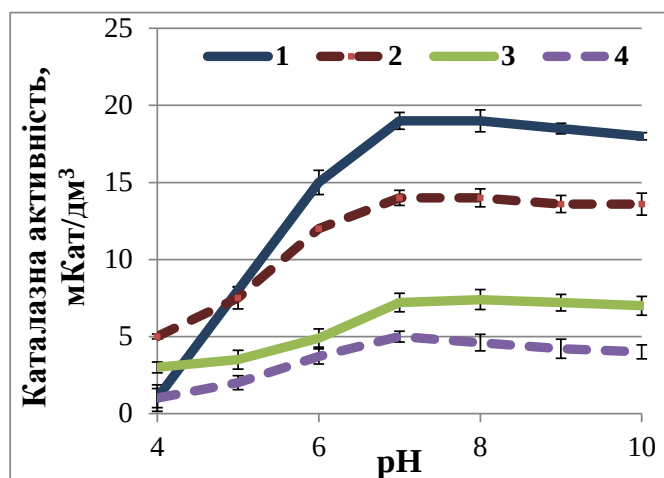
Примітки:

1. Культивування на качалці, 25-27° С, 4 доби, ПС з мікроцелюлозою і глюкозою.
2. Результати достовірні за  $p \leq 0,05$ .

Використання РБК (0,01 г/дм<sup>3</sup>) сприяло збільшенню біомаси *Trichoderma viride* на 28 %, ферментативної активності – у 2,7 раз порівняно з контролем, також досягнуто скорочення тривалості біосинтезу. Проте за більших концентрацій РБК позитивний ефект не спостерігався. Підтверджено практичне значення результатів – розрахований економічний ефект від застосування біоПАР у виробництві целюлаз становить 20-35 %. Встановлено також, що РБК і ТПАР стимулюють синтез пектолітичних ферментів штаму *B. circulans* L-1. Це дозволило розробити екологічно безпечний препарат «Поліком-Е» на основі РБК і пектолітичного комплексу. Експериментально доведено, що використання розробленого препарату сприяє покращенню засвоєння кормів, активуванню кишкової мікрофлори і травних ферментів свиней і птиці, і тому він може бути рекомендований як ефективний та економічно доцільний кормовий додаток до раціону сільськогосподарських тварин.

Визначено також доцільність використання РЛ і РБК для виготовлення ПАР-ферментних композицій, оскільки ці ПАР сприяли збільшенню ферментативної

активності (ліпази, амілази, пектинази, протеази, глюкозооксидази, кислої фосфатази). Характер такого впливу залежить від класу ферменту, а також від концентрації ПАР. Так, розроблено нові продукти з підвищеною ефективністю на основі препаратів каталази з додаванням рамноліпідних ПАР (рис. 9).



Концентрація РЛ, г/дм³: 1 – 0,075, 2 – 0,025, 3 – 0,01; 4 – 0

Рисунок 9 – Вплив рамноліпідів на каталазну активність за різних рН

Вплив ПАР на синтез і активність ферментів може бути результатом наступних процесів: збільшення масопереносу за киснем при біосинтезі, підвищення проникності клітинних мембран продуцентів, а також утворення лабільних комплексів ПАР з ферментами (модифікація структури).

Отже, результати свідчать про доцільність використання біоПАР для удосконалення виробництва ферментних препаратів для тваринництва, харчової промисловості, переробки відходів, виробництва біопалива тощо.

**Антимікробні і противірусні препарати для фармації та ветеринарії на основі біоПАР.** Пошук нових стратегій боротьби з небезпечними хворобами визначає актуальність створення ефективних препаратів для подолання резистентності мікроорганізмів і вірусів до існуючих засобів. Перспективи використання біоПАР пов'язані з їх детергентною дією і водночас, низькою токсичністю [Rodrigues, 2006]. Показано, що за допомогою одержаних ПАР можна підвищити ефективність антимікробних субстанцій. Так, створено композиції поліпшеної дії на основі рамноліпідних ПАР з етил- і метилтіосульфонатами (ЕТС, МТС), які є синтетичними аналогами біоцидів часнику і цибулі (табл. 4).

Таблиця 4 – Антимікробна активність композицій тіосульфонатів МТС та ЕТС з рамноліпідним біокомплексом

|                               | МТС<br>(г/дм³) | МТС + РБК<br>(г/дм³) | ЕТС<br>(г/дм³) | ЕТС + РБК<br>(г/ дм³) |
|-------------------------------|----------------|----------------------|----------------|-----------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |                |                      |                |                       |
| МІК                           | 0,070          | 0,050                | 0,080          | 0,040                 |
| МБК                           | 0,080          | 0,050                | 0,080          | 0,040                 |
| <i>Bacillus subtilis</i> 168  |                |                      |                |                       |
| МІК                           | 0,060          | 0,040                | 0,060          | 0,060                 |
| МБК                           | 0,090          | 0,050                | 0,120          | 0,080                 |
| <i>Alcaligenes faecalis</i>   |                |                      |                |                       |
| МІК                           | 0,005          | 0,003                | 0,050          | 0,001                 |
| МБК                           | 0,010          | 0,005                | 0,010          | 0,005                 |
| <i>Rhizopus nigricans</i>     |                |                      |                |                       |
| МІК                           | 0,030          | 0,010                | 0,050          | 0,020                 |

Примітка. МІК – мінімальна інгібувальна, МБК – мінімальна біоцидна концентрації препаратів.

У композиціях з РБК досягнуто зниження мінімальних інгібувальних і біоцидних концентрацій МТС і ЕТС на 20-50 %. Це можна пояснити впливом ПАР на проникність клітинних мембран й здатністю солубілізувати малорозчинні у воді речовини. Розроблені композиції активні щодо мікроорганізмів різних таксонів, зокрема тих, що небезпечні для здоров'я людей, виробничих процесів, а також щодо низки фітопатогенів. Створено препарати ЕТС–РБК у формах стабільних суспензій та мазі, підтверджено їх активність як протигрибкових і антибактеріальних засобів. Економічні розрахунки свідчать, що композиції ЕТС–РБК за собівартістю та ефективністю є цілком конкурентоспроможними з подібними препаратами, представленими на фармацевтичному ринку.

У наш час значна увага приділяється імуномодулювальній терапії, яка спрямована на контроль симптомів запальних захворювань. Вперше встановлено, що введення РБК (0,012-0,025 г/дм<sup>3</sup>) у кров людини після дії ендогенних токсинів сприяло зниженню на 30-40 % щодо контролю рівня цитокінів, які є медіаторами запальних процесів і показниками регуляції імунної відповіді.

Показано, що рамноліпідні і трегалозоліпідні ПАР можна застосовувати як антивірусні препарати для ветеринарії і медицини. Так, вперше встановлено ефективність препарату на основі ТПАР штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 проти небезпечного вірусу свиней – ТПАР (0,001 і 0,1 г/дм<sup>3</sup>) значно інгібує дію тешовірусу штаму «Дніпровський-34» (рис. 10).

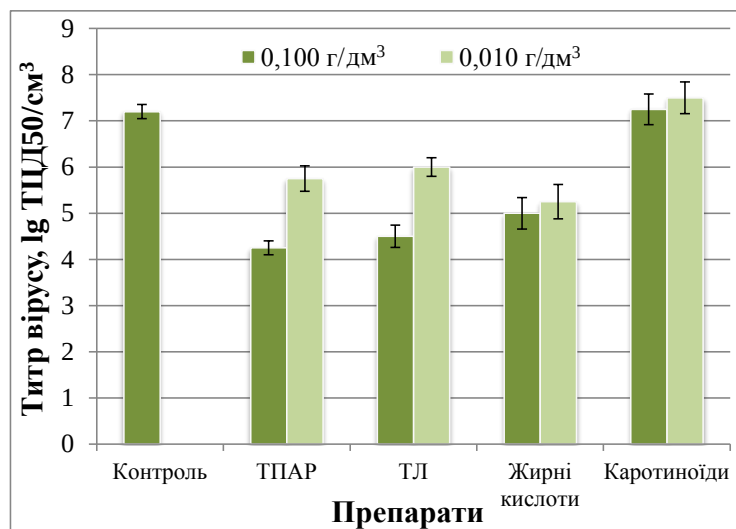


Рисунок 10 – Активність ТПАР штаму *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 і його компонентів проти тешовірусу у культурі клітин ВНК-21

Цікаво, що антивірусний ефект ТПАР є більшим, ніж його окремих складників (трегалозоліпідів, жирних кислот, каротиноїдів). Це можна пояснити їх спільною дією, що підтверджує практичні переваги одержаних комплексів ПАР.

Велике практичне значення має встановлена активність біоПАР проти вірусів герпесу 1 і 2 типу та вірусу везикулярного стоматиту, які у наш час дуже поширені, проте часто є резистентними до існуючих ліків.



Важливо, що одержані біоПАР та їх комплекси можна використовувати як противірусні препарати за достатньо низьких концентрацій (рис. 11), значно менших, ніж їх цитотоксичні дози. Серед препаратів проти вірусу везикулярного стоматиту VSV-1 найбільш активними були рамноліпіди і комплекс ТПАР.

Одержані результати дали змогу рекомендувати комплекси ПАР як антимікробні, противірусні, імуномодулювальні препарати нового покоління для тварин, рослин і людей – високоефективні й водночас малотоксичні.

**Екологічно безпечні препарати для рослинництва із застосуванням біоПАР.** Встановлено, що одержані комплекси мікробних ПАР є регуляторами росту і фізіологічних процесів рослин (злакових, бобових, олійних), а також вони можуть підсилювати дію біодобрих, засобів захисту рослин, фітогормонів тощо. У технологіях рослинництва ПАР можна використовувати у кількох напрямках (рис.12):

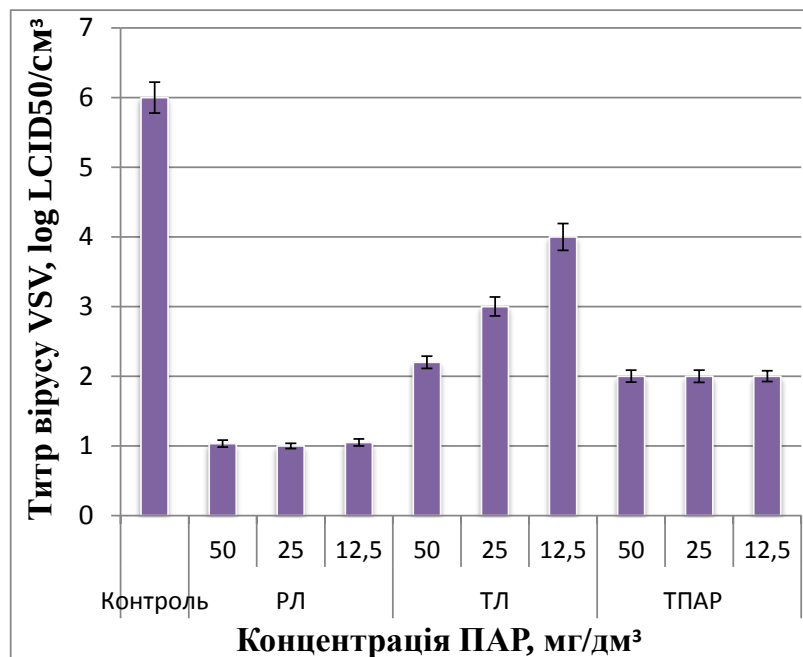


Рисунок 11 – Активність біоПАР щодо вірусу везикулярного стоматиту VSV-1

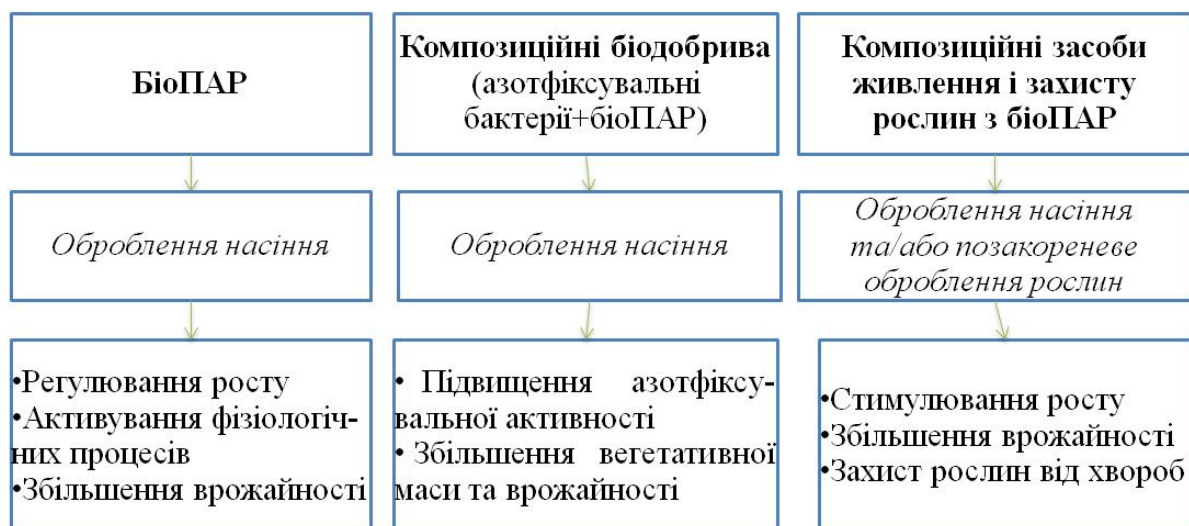


Рисунок 12 – Схема застосування біоПАР у препаратах для рослинництва

Показано, що передпосівне оброблення насіння злакових, бобових, олійних рослин розчинами ПАР (РБК і СКР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та ТПАР і СКР штамів *G. rubripertincta* УКМ Ас-122, *R.erythropolis* Ау-1) сприяло підвищенню енергії проростання насіння, ростових, біохімічних показників

рослин, врожайності. Так, встановлено, що рамноліпідний біокомплекс (0,01-0,05 г/дм<sup>3</sup>) є ефективним регулятором росту злакових рослин, зокрема ячменю, жита, а також пшениці (рис. 13).

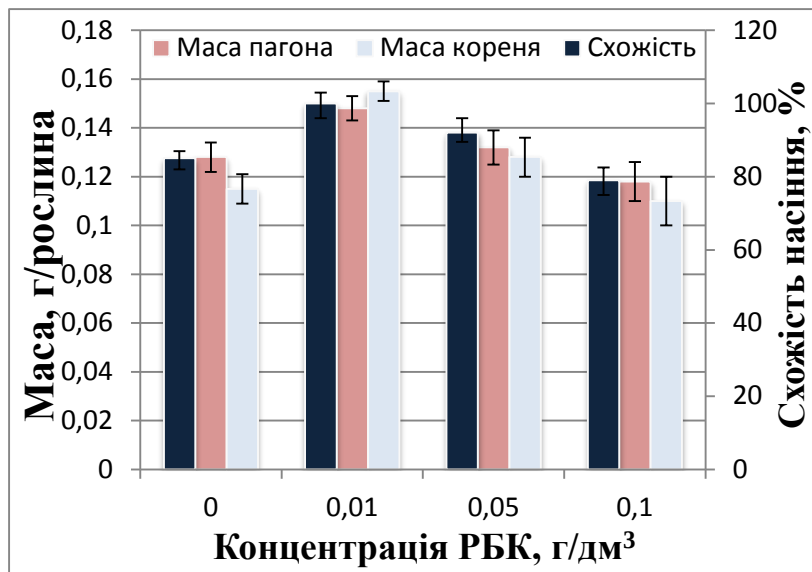


Рисунок 13 – Вплив рамноліпідного біокомплексу на ростові показники пшениці сорту Миронівська (передпосівне оброблення насіння)

За передпосівного оброблення насіння пшениці розчином РБК вегетативна маса рослин підвищувалася на 16-35 % відносно контролю, схожість зростала несуттєво (11-17 %).

Також показано, що біоПАР доцільно використовувати при вирощуванні рослин за несприятливих умов. Оброблення розчинами РБК і ТПАР насіння ріпаку, пшениці, гороху польового сприяло збільшенню їх стійкості до посухи, дефіциту балансу складових ґрунту, різноманітних забруднень.

Вплив ПАР на рослини пов'язаний, ймовірно, із підвищенням проникності клітинних мембран, що сприяє біодоступності поживних та інших екзогенних речовин, а також з активуванням метаболічних процесів ґрунтової мікрофлори [D'aes, 2010]. Ще одним поясненням дії біоПАР на рослини може бути вплив на ріст клітин шляхом розтягнення: у біотесті на відрізках колеоптилів пшениці встановлено, що їх приріст був на 12-16 % більшим, ніж без ПАР. Крім того, застосування РБК і ТПАР спільно з ауксиновим фітогормоном індоліл-3-оцтовою кислотою (ІОК) сприяло підвищенню її активності. Аналогічний вплив ПАР на ІОК визначено і у біотесті на ризогенез живців квасолі. Результати свідчать про можливість зменшення робочої дози ІОК у 2-4 рази у композиціях з біоПАР, що дозволяє рекомендувати останні для підвищення ефективності стимуляторів росту рослин.

У наш час зростає інтерес до біодобрив – препаратів на основі азотфіксувальних бактерій, які мають переваги перед мінеральними добривами з екологічної та економічної точки зору. Показано, що біоПАР сприяють підвищенню функціональної активності симбіотичних й асоціативних азотфіксаторів родів *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Enterobacter*. Відтак розроблено



біодобрива підвищеної активності шляхом додавання ПАР при культивуванні азотфіксаторів або виготовлення збалансованих композицій, доведено їх ефективність у лабораторних і польових випробуваннях (табл. 5).

Таблиця 5 – Застосування комбінованого біодобрива *E. nimipressuralis* LN1 – РБК у польовому експерименті

| Препарати для оброблення насіння           | Суша маса надземної частини, г/10 рослин | Суша маса кореневої частини, г/10 рослин |
|--------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| Контроль (вода)                            | 41,8±2,7                                 | 4,9±0,4                                  |
| Біодобриво <i>E. nimipressuralis</i>       | 53,8±4,0                                 | 6,1±0,5                                  |
| Розчин РБК                                 | 72,4±5,8                                 | 8,1±0,5                                  |
| Біодобриво <i>E. nimipressuralis</i> + РБК | 77,0±6,0                                 | 9,0±0,6                                  |

Примітки:

1. РБК додавали при культивуванні *E. nimipressuralis*, 0,05 г/ дм<sup>3</sup>.
2. n= 90; показники вірогідно відмінні від контролю (p<0,05).

Застосування розроблених біодобрив дало змогу підвищити вегетативну масу рослин на 21-43 % порівняно з добривами без ПАР. Також встановлено, що така дія ПАР пов'язана з їх впливом на синтез екзополісахаридів бактеріями, їх азотфіксувальну активність, тобто з інтенсифікацією процесів засвоєння рослинами азоту.

Властивості комплексів ПАР використано також при розробленні агрозасобів для живлення та захисту винограду. Встановлено, що РБК (0,01 г/дм<sup>3</sup>) сприяв збільшенню активності препарату мікроелементів Мікроком-В у разі некореневої підгодівлі саджанців винограду (рис. 14). Такий ефект пояснюється, на нашу думку, здатністю ПАР покращувати контакт препаратів з поверхнею листя, регулювати їх транспорт у рослинні клітини [Wiesman, 2002].

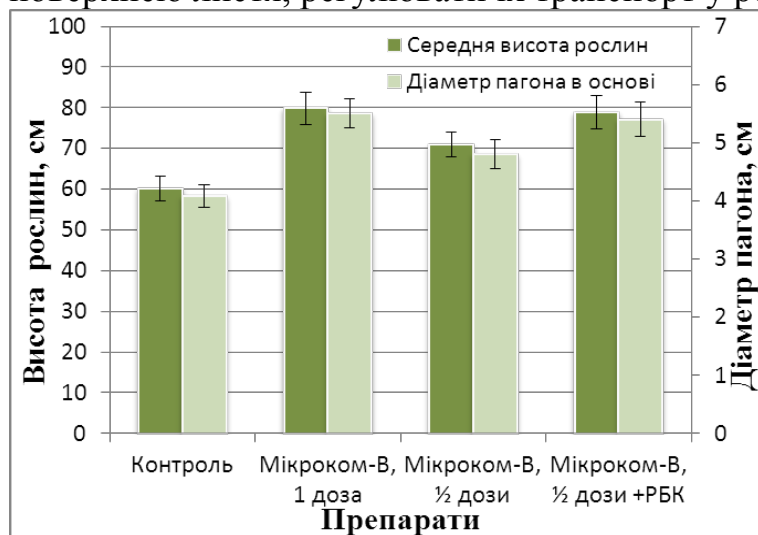


Рисунок 14 – Ефективність РБК у композиціях з Мікроком-В для позакореневої обробки саджанців винограду

У композиції Мікроком-В – РБК, розробленій спільно з Інститутом фізіології, генетики і захисту рослин АН Молдови, дозу мікроелементів було зменшено у 2 рази (від 10 до 5 мл/дм<sup>3</sup>) при збереженні його ефективності – середня висота саджанців становила 78,9 см, що близько до дії повної дози Мікрокому-В (79,8 см), діаметр пагону – відповідно 5,4 і 5,5 см.

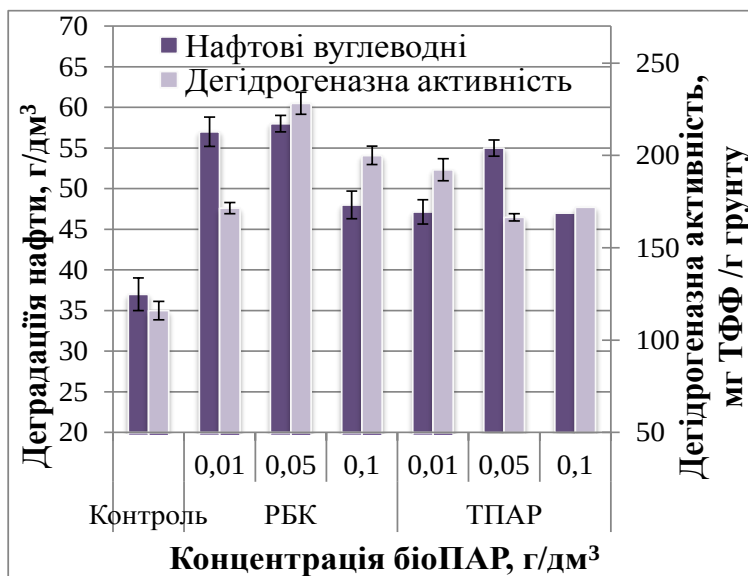
Ефективність препарату Мікроком-В – РБК при вирощуванні винограду було підтверджено у теплиці і польових умовах, також при його використанні підвищувалася якість і кількість саджанців винограду. Крім цього, розроблено

та успішно випробувано інші засоби для виноградарства, до складу яких включено Мікроком-В, РБК й препарати ризосферних бактерій.

Отже, одержані результати свідчать, що застосування комплексів біоПАР при створенні регуляторів росту, засобів захисту і живлення рослин забезпечить високу ефективність технологій рослинництва, має економічне та екологічне значення для сучасного сільського господарства.

### БіоПАР у технологіях відновлення техногенно змінених ґрунтів.

Біологічні технології відновлення довкілля з використанням мікроорганізмів і рослин є найбільш перспективними і екологічно прийнятними. Однак біоремедіація часто не дає достатнього ефекту через низьку біодоступність забруднень – сорбція на ґрунті, гідрофобність і токсичність. Отже, актуальним завданням є розроблення технологічних підходів для інтенсифікації мікробної ремедіації і фіторемедіації. Використання біоПАР є перспективним завдяки їх властивостям (десорбція гідрофобних речовин з ґрунту, солюбілізація, вплив на мікроорганізми і рослини). Встановлено, що рамноліпідні і трегалозоліпідні ПАР є стимуляторами біоремедіації ґрунтів і води, забруднених нафтовими вуглеводнями (рис. 15).



ТФФ - трифенілформазан

Рисунок 15 – Вплив біоПАР на мікробну деструкцію нафти у воді

Так, при внесенні РБК (0,01-0,05 г/дм³) ступінь мікробної деградації нафти у воді зростає на 15-25 % порівняно з контролем. Комплекси ПАР сприяли також підвищенню дегідрогеназної активності ґрунту, яка є одним з показників функціональної активності мікроорганізмів-деструкторів. Таку дію можна пояснити здатністю ПАР до солюбілізації забруднень, а також впливом на проникність мембран мікробних клітин та активність ферментів [Urum, 2006].

Особливе екологічне значення має використання комплексів ПАР для інтенсифікації очищення ґрунтів і води від важкодеградабельних речовин, а саме: кам'яновугільної смоли, додецилбензолу, пристану, канцерогену бензо(а)пірену тощо. Так, випробувано ефективність РБК у технологіях мікробного очищення промислових вод від кам'яновугільної смоли та вуглеводневого залишку, які практично не деградували під дією мікробних препаратів без ПАР (рис. 16).

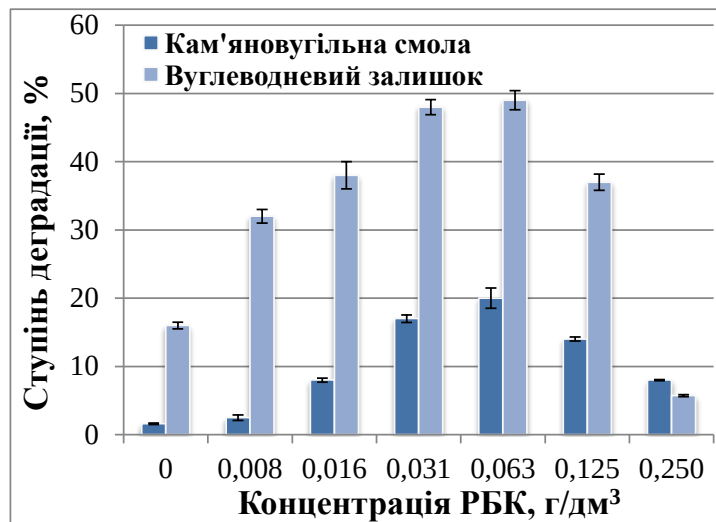


Рисунок 16 – Очищення води від кам'яновугільної смоли і вуглеводневого залишку під дією РБК

Показано, що додавання РБК сприяло істотному зростанню ступеня деградації смоли – у 5-8 раз залежно від концентрації РБК.

На базі НГВУ «Долинанافتогаз» проведено польові експерименти (2009-2011 р.р.) з визначення ефективності очищення техногенно змінених об'єктів (застарілі забруднення важкими фракціями нафти) з використанням біоПАР, мікробних препаратів на основі автохтонної нафтоокиснювальної мікробіоти та рослин-ремедіантів (рис. 17). Показано доцільність застосування саме комплексного підходу для очищення забруднених ґрунтів. У варіантах з ПАР зростала й дегідрогеназна активність мікробіоти - у 5-6 разів. Найкращі результати одержано при застосуванні РБК спільно з мікробним препаратом та висівом трави райграсу (насіння оброблене РБК) – вміст нафти у ґрунті знизився до 1 % мас. після 12 тижнів.

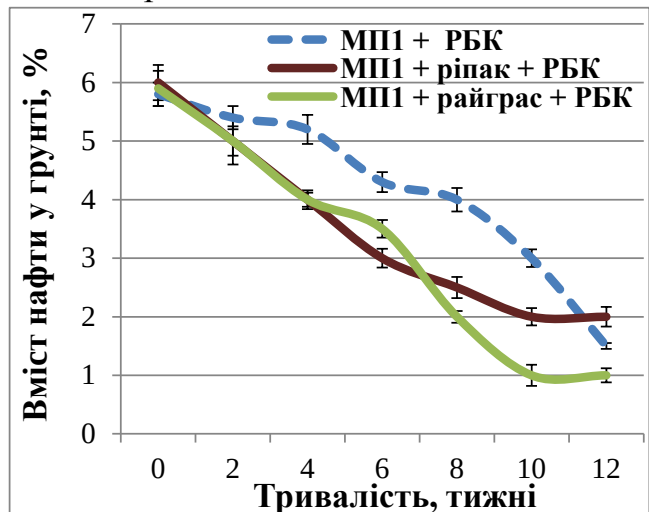


Рисунок 17 – Динаміка очищення ґрунту з РБК, мікробним препаратом (МП1), рослинами (польові умови, нафта, 6 %)

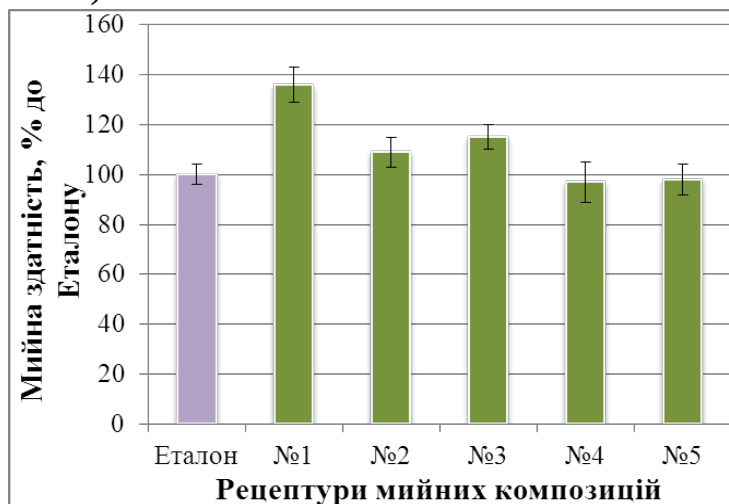
На нашу думку, біогенні ПАР під час очищення ґрунтів і води, впливають на всі ланки процесу: сприяють підвищенню біодоступності забруднень та їх транспорту у клітини мікроорганізмів і рослин, стимулюють їх ріст та метаболічну активність.

Отже, розроблено ефективні підходи до застосування комплексів ПАР у технологіях мікробної і фіторекультиваци техногенно змінених ґрунтів.

**Створення мийних засобів із застосуванням комплексів ПАР.** Мийні засоби (побутові і технічні) належать до найбільш розповсюджених на

світовому ринку продуктів, проте синтетичні ПАР, що входять до їх складу, спричиняють негативний вплив на довкілля і здоров'я людей. Цим пояснюється актуальність пошуку екологічно безпечних компонентів мийних засобів. У співпраці з ВАТ «ВНДІ ХІМПРОЕКТ» рамноліпідні ПАР було успішно використано у складі мийних засобів нового покоління. Розроблено модельні рецептури на основі РБК або СКР (*Pseudomonas* sp. PS-17) з синтетичними ПАР (сульфанол, мило, натрій ТПФ), визначено їх властивості за споживчими якостями порівняно з Еталоном (рис. 18).

Згідно з даними випробувань, найефективнішим виявився варіант, в якому синтанол АЛМ-10 (3 %) замінено на 1,5 % РБК (рецептура 1) – його мийна здатність на 36 % вища за Еталон (рис. 19). При більшому вмісті РБК цей показник знизився, а при заміні на РБК аніоногенних ПАР (рецепти № 4, 5) – був дещо нижчим за еталон. Встановлено, що всі мийні композиції з РБК, за зовнішнім виглядом, стабільністю, розчинністю, рН відповідають стандартам. Важливим екологічним



Еталон – стандартна суміш сульфанола, синтанолу, мила й натрій ТПФ, рецептури №№ 1-5 – суміші сульфанола, мила й натрій ТПФ з РБК (1,5-2,5 %)

Рисунок 18 – Мийна здатність рецептур РБК з синтетичними ПАР

результатом є можливість зменшення вмісту натрій триполіфосфату у рецептурах з біоПАР, що важливо з екологічної точки зору.

Розроблені композиції за участю біоПАР показали високу мийну активність (у тому числі у твердій воді), піноутворення і піностійкість, антиресорбційну активність. Випробування нових шампунів, проведені з волонтерами, засвідчили їх добрі споживчі властивості: висока піна, м'яке миття, якісне промивання, кондиціонувальні властивості, сумісність зі шкірою й волоссям людини. За висновком ВАТ «ВНДІ ХІМПРОЕКТ», комплекси ПАР (РБК, СКР) рекомендовано для рецептур мийних засобів і шампунів різноманітного призначення.

**Технологія рафінування рослинних олій із застосуванням комплексів ПАР.** Розроблено технологію рафінування рослинних олій з використанням рамноліпідних ПАР (у формі СКР або розчину РБК *Pseudomonas* sp. PS-17). Процес передбачає видалення супутніх речовин – фосфоровмісних, воскоподібних, смоли шляхом оброблення олії водним розчином біоПАР, який також може застосовуватись у комбінації з розчином лугу або без нього. ПАР додається до олії у розрахованій кількості (залежно від складу вхідної сировини), а саме 0.005-1 % від кількості олії. Утворений осад фосфатидів, воску, смоли (у результаті коагуляції з ПАР) відділяється шляхом відстоювання або центрифугування.

Рослинні олії, очищені за розробленою технологією, відповідають всім вимогам ДСТУ 4492:2005 «Олія соняшникова. Технічні умови» за основними показниками: кислотне число (до 0,11 мг КОН); вміст фосфатидів (до 0,03 %); вміст воску; колірне число (10 мг йоду); пероксидне число ( $4,5 \frac{1}{2} \text{O}_2$  ммоль/кг).

У розробленій технології рафінування олій (порівняно зі стандартною) зменшено число стадій – виключено нейтралізацію, знебарвлення, виморожування (рис. 19).

### Стандартна технологія



### Технологія із застосуванням біоПАР

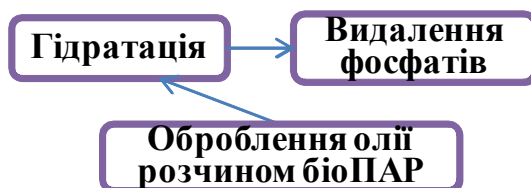
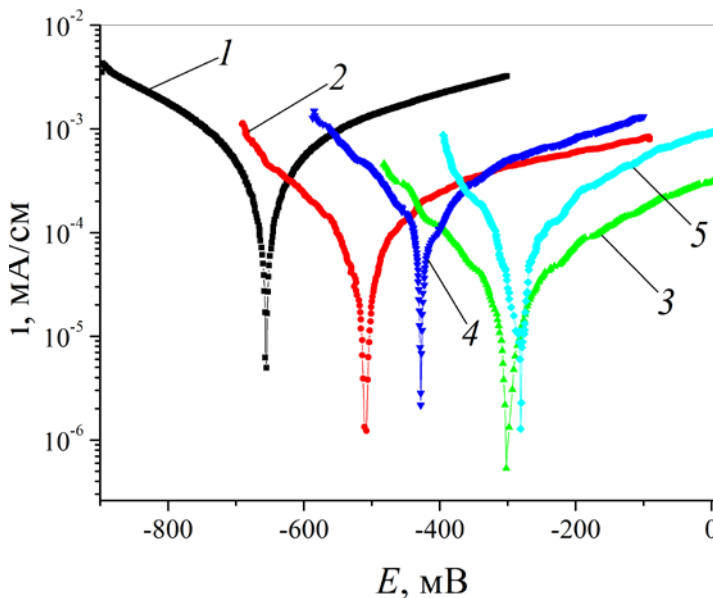


Рисунок 19 – Порівняльна схема рафінування олій за стандартною технологією та із застосуванням біоПАР

Вартість виробничих витрат за новою технологією є нижчою у 3-4 рази. Ще однією перевагою є отримання додаткової кількості олії з фузу та зменшення загальної кількості відходів виробництва.

**БіоПАР як інгібітори корозії металів.** Встановлено, що комплекси рамноліпідних і трегалозоліпідних ПАР є ефективними інгібіторами корозії металів. Їх захисну дію показано для сталі та гетерогенного алюмінієвого сплаву (у воді і у розчині натрій хлориду) (рис.21).

Електрохімічна корозія сплаву у водних розчинах ПАР протікає при змішаному контролі зі зсувом потенціалу корозії  $E_{cor}$  у бік позитивних значень порівняно з неінгібованим середовищем (рис.20). Так, у розчинах комплексів рамноліпідних ПАР (РБК та СКР) зафіксовано зменшення величини струму корозії  $i_{cor}$  – у 3-3,5 рази (порівняно з контролем). Ефективність інгібування



1 – 0; 2 – 0,01; 3 – 0,02; 4 – 0,10 ; 5 – 0,20

Рисунок 20 – Поляризаційні криві алюмінієвого сплаву Д16Т після 96 год витримки у розчинах РБК (г/дм<sup>3</sup>)

корозії у розчинах ПАР збільшувалася із ростом їх концентрації, приблизно до значень ККМ. Механізм інгібування корозії, на нашу думку, полягає в адсорбції молекул ПАР на поверхні сплаву з утворенням бар'єрної плівки. Отже, вперше показано можливість застосування комплексів мікробних ПАР як екологічно безпечних інгібіторів корозії металів.

**БіоПАР у процесах нафтовидобутку.** Переваги біоПАР перед синтетичними (біодеградабельність, ефективність за різних температур, рН, концентраціях солей) визначили доцільність їх застосування для вирішення завдань збільшення нафтовідмивних властивостей реагентів, селективної ізоляції високопроникних пропластків, вирівнювання профілю приємистості та максимального охоплення пласту заводненням. При випробуваннях і впровадженні технологій з використанням біоПАР на родовищах АНК "Башнефть" у 1991-2000 р.р. отримано 21 тис. тон додаткової нафти. Питомі показники склали 700-1000 тон нафти на 1 свердловино-оброблення; 80-100 тон нафти на 1 тону реагенту (СКР *Pseudomonas* sp. PS-17).

Спільно з НДПІ НП МАСМА та НДПІ ПАТ «Укрнафта» створено також інтегровані поверхнево-активні системи для підвищення видобутку нафти, до складу яких входять сульфонатні ПАР (використовуються у нафтовидобуванні) та рамноліпідні ПАР. Встановлено синергізм дії біогенних та синтетичних ПАР, завдяки чому досягнуто підвищення нафтовидобутку (нафтовитіснення) на 20-30 % порівняно з дією окремих вказаних компонентів. Встановлено ефективні функціональні властивості інтегрованих систем – міжфазний натяг становив  $10^{-1} - 10^{-3}$  мН/м на межі розділу фаз вода - вуглеводні нафти, нафтовитісна здатність (на насипних кернах) – 78-85 % від залишкової нафти. Визначено, що електропровідність, в'язкість, температура застигання і термічна стабільність інтегрованих ПАР цілком відповідають вимогам до нафтовитісних систем. Розроблені системи сприяють зниженню динамічної в'язкості важкої нафти, що також є важливим фактором нафтовидобутку. Визначено вплив неорганічних електролітів і кисневмісних органічних сполук на стійкість розчинів інтегрованих ПАР. Результати стендових і промислових випробувань підтвердили ефективність реагентів на основі рамноліпідних ПАР у технологіях нафтовидобутку.

За висновками галузових інститутів (НДНІ НП МАСМА, «БашНИПИ», АНК "Башнефть", НДПІ ПАТ «Укрнафта»), впровадження нових екологічно безпечних ПАР для видобування нафти дає можливість знизити негативну дію на довкілля синтетичних ПАР, а також ліквідувати дефіцит і розширити асортимент реагентів даного класу.

**Економічна ефективність комплексів мікробних ПАР.** Здійснено економічні розрахунки, результати свідчать про ефективність і конкурентоспроможність розроблених комплексів ПАР порівняно з комерційними препаратами (табл. 6).



Таблиця 6 – Порівняльні характеристики рамноліпідного біокомплексу та його аналогів

| Характеристики продуктів                                 | РБК        | Натрій додецил-сульфат | Тритон X-100 | Jeneil Biosurfactant Company (США) Рамноліпід | Urumqi Unite Bio-Technology (Китай) Рамноліпід |
|----------------------------------------------------------|------------|------------------------|--------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Критична концентрація міцелоутворення, г/дм <sup>3</sup> | 0,05-0,10  | 0,26                   | 0,65         | 0,02-0,10                                     | 0,05-0,10                                      |
| Міжфазний натяг (гас), мН/м                              | 0,009-0,10 | 0,10                   | 0,40         | 0,07                                          | 0,09                                           |
| Піноутворення (кратність піни)                           | 9          | 8                      | 6            | 5                                             | 6                                              |
| Ціна, USD/кг                                             | 70-180     | 160                    | 27-80        | 150-320                                       | 400-1600                                       |

Показано, що завдяки поверхневій, емульгувальній, піноутворювальній активності, низьким значенням ККМ, які притаманні комплексам ПАР, а також їх екологічній безпечності, вони є цілком конкурентоспроможними на сучасному ринку ПАР. Поліфункціональні властивості комплексів ПАР склали підґрунтя для технологій їх практичного застосування – як самостійних продуктів, а також як складників у комплексних препаратах підвищеної якості для сучасних технологій.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та практично вирішено важливе науково-технологічне завдання, що полягає у розробленні наукових засад технологій отримання поверхнево-активних комплексів мікробних метаболітів з поліфункціональними властивостями та багатоцільовим призначенням для сучасних екологічно безпечних технологій.

1. За результатами скринінгу відібрано перспективні продуценти позаклітинних і клітинно-зв'язаних ПАР та їх комплексів, що належать до родів *Pseudomonas*, *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Candida*, створено музей продуцентів.

2. Встановлено здатність представників роду *Pseudomonas* до синтезу комплексу позаклітинних рамноліпідних ПАР і полісахаридів, а актинобактерій родів *Gordonia*, *Rhodococcus* – до синтезу комплексів клітинно-зв'язаних трегалозоліпідів, жирних кислот, каротиноїдів та позаклітинного емульгатора ліпоамінополісахаридної природи.

3. За результатами оптимізації синтезу ПАР, у тому числі методами математичного моделювання (регресійний і дисперсійний аналіз, МГОД), розроблено склад поживних середовищ для одержання інокуляту та для біосинтезу комплексів мікробних метаболітів, завдяки чому показники синтезу рамноліпідного біокомплексу зросли на 60 %, ТПАР – на 85 %, ЛПК – майже у 4 рази у порівнянні з такими до оптимізації. Подальше масштабування



технологій ПАР на ферментаційному обладнанні (біореактор з вихровою системою аерації) дало змогу суттєво збільшити концентрацію цільових продуктів порівняно з культивуванням у колбах: РБК – на 30 % (12,90 г/дм<sup>3</sup>), ТПАР – на 35 % (9,10-9,85 г/дм<sup>3</sup>), ЛПК – на 40 % (9,15 г/дм<sup>3</sup>).

4. Розроблено різні форми цільових продуктів штамів *Pseudomonas* sp. PS-17 і *G. rubriperctincta* Ас-122 (термічно оброблені КР, СКР, рамноліпіди, РБК, ЛПК, комплекс клітинно-зв'язаних ПАР), що дало змогу мінімізувати відходи переробки культуральної рідини.

5. Встановлено, що поверхнево-активні комплекси перевершують індивідуальні ПАР за фізико-хімічними показниками: емульгувальною активністю – на 15-35%, піноутворенням – на 20-45 %, здатністю до змочування поверхонь – на 17-30 %. Комплекси є ефективнішими регуляторами проникності клітинних мембран мікроорганізмів і рослин, проявляють вищу на 15-30 % антимікробну, антивірусну, імуномодулювальну активність, ніж індивідуальні ПАР. Одержані комплекси ПАР (РБК, ТПАР) у 3-9 раз менше токсичні за РЛ і ТЛ.

6. Вперше показано, що біоПАР сприяють підвищенню показників біосинтезу ферментів різних класів: гідролази (целюлаза, амілаза, ліпаза, протеаза), ліази (пектаттрансєліміназа), оксидоредуктази (дегідрогеназа, каталаза) на 35-60 %. Розроблено композиційні ферментні препарати з додаванням біоПАР, яким притаманна підвищена активність (на 25-50 %), а також стабільність дії.

7. Вперше встановлено стимулювальний вплив комплексів мікробних ПАР на ріст злакових, бобових, олійних рослин: при передпосівному обробленні насіння вегетативна маса зростає на 15-30 %. Вони сприяють збільшенню стійкості рослин до несприятливих умов (забруднення ґрунтів нафтою, важкими металами, посуха). Розроблено композиції ПАР з препаратами для рослинництва з підвищеною ефективністю: біодобрива – на 19-40 %, мікроелементи – 17-28 %, фітогормони – 12-24 %, біоциди – 15-30 %.

8. Показано, що одержані комплекси ПАР підвищують на 15-40 % ефективність деструкції техногенних забруднень, у тому числі й персистентних (кам'яновугільна смола, пристан, бензо(а)пірен, додецилбензол). Запропоновано способи використання комплексів ПАР у технологіях мікробної ремедіації та фіторемердіації забруднених ґрунтів.

9. Встановлено можливість застосування комплексів ПАР як антивірусних і антимікробних субстанцій, а також для підвищення ефективності різноманітних біологічно активних препаратів.

10. Розроблено технології використання комплексів ПАР в інших галузях: для підвищення нафтовидобутку, у рецептурах мийних засобів, як інгібітори корозії металів, а також в енергозберігаючій технології рафінування рослинних олій.

11. Розроблено нормативні документи (технічні умови, технологічні інструкції, лабораторні регламенти, санітарно-гігієнічний висновок), а також лабораторні регламенти, рекомендації на виробництво та застосування продуктів на основі рамноліпідних ПАР.

## СПИСОК ОСНОВНИХ РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Михайлюк В. Д. Класифікація поверхнево-активних речовин і їх сучасний асортимент / В. Д. Михайлюк, Б. Л. Литвин, О. В. Карпенко // Використання поверхнево-активних речовин у процесах нафтовидобутку: колективна монографія, ред. В. Д. Михайлюк. – Івано-Франківськ, 2009. – С. 8-34.

*Особистий внесок: аналіз літературних і власних даних з біосинтезу, властивостей, застосування ПАР мікробного походження, участь у написанні розділу колективної монографії.*

2. Role of Microbial Surface-Active Compounds in Environmental Protection / D. Galabova, A. Sotirova, E. Karpenko, О. Karpenko // In: The Role of Colloidal Systems in Environmental Protection. Ed. M. Fanun. Elsevier B.V.: Amsterdam. – 2014. – Ch. 3. – P. 41 – 84 (Видавництво Elsevier B.V., Amsterdam, Нідерланди).

*Особистий внесок: аналіз літературних даних і власних експериментальних результатів з мікробного синтезу рамноліпідних, трегалозоліпідних ПАР, їх фізико-хімічних і біологічних властивостей, участь у написанні розділу книги.*

3. Микробные биоПАВ для создания экологически безопасных моющих препаратов / Б. П. Котельников, В. О. Погромская, Е. В. Карпенко, А. Н. Шульга // Хімічна промисловість України. – 1998. – № 6. – С. 54-56.

*Особистий внесок: ідея, планування досліджень, підготовка і аналіз рамноліпідів і біокомплексу, участь у написанні рукопису публікації.*

4. Biosurfactant-rhamnolipid effects on yeast cells / E. Vasileva-Tonkova, D. Galabova, Е. Karpenko, A. Shulga // Letters in Applied Microbiology. – 2001. – Vol. 33. – P. 1 – 5. (Видавництво John Wiley & Sons, Inc., США).

*Особистий внесок: приготування та аналіз зразків рамноліпідів для досліджень, участь у написанні рукопису публікації.*

5. Очистка ґрунтів від нафтових забруднень біотехнологічними шляхами / Т. Я. Покинсьброда, С. В. Хом'як, О. В. Швед, Ж. Д. Парашин, О. З. Комаровська-Порохнявець, О. В. Карпенко, Р. І. Вільданова-Марцишин, Ю. І. Федоришин, М. В. Наконечний, В. П. Новіков // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». 2002. – № 461. – С. 208-211.

*Особистий внесок: схема досліджень комплексного очищення ґрунту, хімічний аналіз вмісту нафти у ґрунті, участь у підготовці рукопису публікації.*

6. Effects of biosurfactants-rhamnolipid on bacterial growth and protein release / A. Sotirova, D. Galabova, E. Vasileva, Е. Karpenko, A. Shulga // Ecological engineering and environment protection. – 2003. – Vol. 3. – P. 20-24. (Видавництво National Society of Ecological Engineering and Environment Protection, Болгарія).

*Особистий внесок: приготування зразків рамноліпідів Pseudomonas sp. PS-17 для досліджень, участь у підготовці рукопису публікації.*

7. Образование поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гидрофильных и гидрофобных субстратах / Т. П. Пирог, Т. А. Шевчук, И. Н. Волошина, Е. В. Карпенко // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – Т. 40(5). – С. 544–550 (наукометрична база Scopus, Російська Федерація).

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, в ідентифікації і дослідженні продуктів (ТШХ, поверхнева активність), підготовка даних для статті.*

8. Перспектива использования бактерий рода *Rhodococcus* и микробных поверхностно-активных веществ для деградации нефтяных загрязнений / Е. В. Карпенко, Р. И. Вильданова-Марцишин, Н. С. Щеглова, Т. П. Пирог, И. Н. Волошина // Прикладная биохимия и микробиология. – 2005. – Т. 6. – С. 114–120 (наукометрична база Scopus, Російська Федерація).

*Особистий внесок: планування експериментів, дослідження властивостей рамноліпідних ПАР, оброблення результатів експериментів з мікробної деградації нафти, написання статті.*

9. Дослідження росту та синтезу цільового продукту штамом *Pseudomonas species* PS-17 – продуцента позаклітинних біосурфактантів / В. А. Єрохін, Т. Я. Покинсьброд, О. В. Карпенко, В. П. Новіков // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2006. – № 553. – С. 124–127.

*Особистий внесок: планування досліджень, огляд літератури, інтерпретація результатів, написання статті.*

10. Малаховська-Ютш А. Деградация бензпирена почвенными микроорганизмами в присутствии гликолипидов, синтезированных штаммом *Pseudomonas* sp. PS-17 / А. Малаховська-Ютш, Т. Покинсьброд, Е. Карпенко // Биотехнология. – 2007. – № 3. – С. 68 – 73 (Російська Федерація).

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, аналіз зразків рамноліпідних ПАР, участь у підготовці рукопису публікації.*

11. Пошук нових ефективних продуцентів біосурфактантів і каротиноїдів серед представників родів *Rhodococcus* і *Gordonia* / М.В. Пристай, О.В. Карпенко, Р.О. Петріна, Т.М. Ногіна // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2007. – №590. – С. 138–142.

*Особистий внесок: планування досліджень, інтерпретація результатів, написання статті.*

12. Єрохін В. А. Поверхнево-активні препарати на основі продуктів біосинтезу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 / В. А. Єрохін, Т. Я. Покинсьброд, О. В. Карпенко // Наукові праці Донецького національного технічного університету. – 2008. – №134 (10). – С. 111–117.

*Особистий внесок: ідея, планування досліджень, фізико-хімічні властивості продуктів, написання рукопису публікації.*

13. Rhamnolipid-biosurfactant permeabilizing effects on Gram-positive and Gram-negative bacterial strains / А. Sotirova, D. Spasova, D. Galabova, Е. Karpenko, А. Shulga // Current Microbiology. – 2008. – Vol. 56. – P. 639–644. (Видавництво Springer, Germany).

*Особистий внесок: приготування й аналіз зразків рамноліпідних ПАР Pseudomonas sp. PS-17 для досліджень, участь у підготовці рукопису публікації.*

14. Застосування методів математичного моделювання для визначення оптимальних умов мікробного синтезу поверхнево-активних речовин / В. А. Єрохін, О. В. Карпенко, Т. Я. Покинсьброд, В. І. Лубенець // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2008. – № 609. – С. 135-140.

*Особистий внесок: ідея, планування досліджень, огляд літератури, інтерпретація результатів, участь у підготовці рукопису публікації.*

15. Колоїдні властивості синтетичних емульгаторів та рамноліпиду / А. П. Грабаровська, В. А. Волошинець, І. В. Семенюк, О. В. Карпенко // Вопросы химии и химической технологии. – 2008. – Т. 51, №6. – С. 149 – 152.

*Особистий внесок: приготування зразків рамноліпідних ПАР для досліджень колоїдних властивостей, участь у підготовці рукопису публікації.*

16. Підбір оптимальних екстрагентів біологічно активних сполук на основі принципу лінійності вільних енергій / Т. Я. Покинсьброд, О. В. Карпенко, Р. Г. Макітра, О. Я. Пальчикова, Н. В. Роговик, В. І. Роговик // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2008. – № 622. – С. 103-106.

*Особистий внесок: складання схеми проведення експерименту, аналіз розчинників, підготовка даних по біоПАР, участь у написанні статті.*

17. Effect of Triton X-100 and rhamnolipid PS-17 on the mineralization of phenanthrene by *Pseudomonas* sp. cells / Т. Avramova, А. Sotirova, D. Spasova, D. Galabova, Е. Karpenko // International Biodeterioration and Biodegradation. – 2008. – Vol. 62. – P. 415 – 420. (Видавництво Elsevier B.V., Amsterdam, Нідерланди).

*Особистий внесок: аналіз літературних даних, приготування й аналіз зразків рамноліпідів для досліджень, написання частини статті.*

18. Пристай М. Вплив джерела азоту на синтез гліколіпідів, екзополісахаридів і каротиноїдів бактеріальним штамом *Gordonia rubripertincta* УКМ Ас-122 / Мар'яна Пристай, Олена Карпенко // Вісник Національного університету «Львівська політехніка» – 2009. – №644. – С. 120-122.

*Особистий внесок: планування роботи, фізико-хімічні дослідження, інтерпретація результатів, участь у підготовці рукопису публікації.*

19. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ / Т.П. Пирог, С.И. Антонюк, Е. В. Карпенко Т.А. Шевчук. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. - № 3. – С. 25 – 32 (наукометрична база Scopus, Російська Федерація).

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, в ідентифікації і дослідженні продуктів біосинтезу (ТШХ, поверхнева активність), участь у написанні статті.*

20. Influence of rhamnolipids from *Pseudomonas* PS-17 on coal tar and petroleum residue / E. Sliwka, B. Kolwzan, K. Grabas, E. Karpenko // Environmental Protection Engineering. – 2009. – Vol. 35. – P. 139-150. (Видавництво Wroclaw University of Technology, Poland).

*Особистий внесок: приготування й аналіз зразків рамноліпідного біокомплексу для досліджень, підготовка інформації по біоПАР, участь у написанні статті.*

21. Оптимизация процесса экстракции биосурфактантов, синтезированных бактериями рода *Rhodococcus* / Е. В. Карпенко, М. В. Пристай, Р. Г. Макитра, Е. Я. Пальчикова // Наукові праці Донецького Національного технічного університету. – 2011. – №17(187). – С. 124-128.

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, інтерпретація результатів з екстракції трегалозоліпідних ПАР різними розчинниками, участь у написанні статті.*

22. Застосування вихрового ферментера для одержання продуктів мікробного синтезу // О. В. Карпенко, В. А. Єрохін, М. В. Пристай, О.М. Шульга // Вопросы химии и химической технологии. – 2012. – № 2. – С. 34-39.

*Особистий внесок: планування досліджень, аналіз складу рамноліпідних, трегалозоліпідних ПАР, участь в обробленні результатів і написанні статті.*

23. The importance of rhamnolipid-biosurfactant induced changes in bacterial membrane lipids of *Bacillus subtilis* for the antimicrobial activity of thiosulfonates / A. Sotirova, T. Avramova, S. Stoitsova, I. Lazarkevich, V. Lubenets, E. Karpenko, D. Galabova // Current Microbiology. – 2012. – Vol. 65. – P. 534-541. (Видавництво Springer, Germany).

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, приготування зразків рамноліпідного біокомплексу та його композицій з тіосульфанілатами, участь у написанні статті.*

24. Єрохін В. Дослідження впливу аерації на процес культивування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 – продуцента поверхнево-активних речовин / Володимир Єрохін, Олена Карпенко // Наукові праці Донецького національного технічного університету. – 2012. – № 18 (198). – С. 123-133.

*Особистий внесок: планування досліджень, інтерпретація даних по впливу показників аерації на синтез ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17, участь у написанні статті.*

25. Development of new antimicrobial compositions of thiosulfonate structure / V V. Lubenets, О. Karpenko, М. Ponomarenko, G. Zahoriy, A. Krychkovska, V. Novikov // Chemistry and Chemical Technology. – 2013. – Vol. 7 – P. 119-124 (наукометрична база Scopus, Україна).

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, приготування зразків рамноліпідного біокомплексу та композицій з етилтіосульфанілатом, аналіз даних з антимікробної активності, участь у написанні статті.*

26. Вплив метаболітів бактерій роду *Rhodococcus* на ростові показники проростків пшениці / Н. І. Корецька, В. І. Баранов, М. В. Пристай, О. В. Карпенко // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2013. – № 761. – С. 128-132.

*Особистий внесок: ідея, схема проведення роботи, огляд літературних даних, інтерпретація результатів, участь у написанні статті.*

27. Yerokhin V. Optimization of parameters of biosynthesis of surface-active rhamnolipids by the strain *Pseudomonas* sp. PS-17 in the bioreactor with injection-vortex aeration system / V. Yerokhin, O. Karpenko, E. Karpenko // Journal of Microbiology Research. – 2014. – Vol. 4. – P. 1–5 (Видавництво Scientific & Academic Publishing, США).

*Особистий внесок: планування досліджень, огляд літератури, інтерпретація отриманих даних, участь у написанні статті.*

28. Інгібувальна дія біогенних поверхнево-активних речовин у корозивних середовищах / В. І. Похмурський, О. В. Карпенко, І. М. Зінь, М.Б. Тимусь, Г.Г. Веселівська // Фізико-хімічна механіка матеріалів. – 2014. – Т. 50, №3 – С. 122-127 (наукометрична база Scopus, Україна)

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, приготування й аналіз зразків рамноліпідних ПАР, участь у написанні статті.*

29. Antibacterial potential of novel synthetic derivatives of 1,4-naphthoquinone and their complexes with biosurfactants / A. Sotirova, T. Avramova, I. Lazarkevich, V. Lubenetz, O. Karpenko, D. Galabova // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2014. – Vol. 5. – P. 530-541 (Видавництво Scientific & Academic Publishing, США).

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, приготування зразків рамноліпідного біокомплексу, участь у написанні статті.*

30. Koretska N. Rape phosphatide concentrate in the technologies of surfactants production by the Actinobacteria / N. Koretska, M. Prystai, O. Karpenko // Ukrainian Food Journal. – 2014. – Vol. 3. – P. 422 – 429.

*Особистий внесок: схема проведення досліджень, аналіз літератури і одержаних результатів, участь у написанні статті.*

31. Корецька Н. І. Біосинтез та властивості поверхнево-активних речовин штаму *Rhodococcus erythropolis* AU-1 / Н. І. Корецька, М. В. Пристай, О. В. Карпенко // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». – 2014. – № 787. – С. 258 – 263.

*Особистий внесок: планування досліджень, узагальнення одержаних результатів і літературних даних, участь у підготовці рукопису публікації.*

32. Поверхностно-активные соединения культуры *Pseudomonas* sp. S-27 / Е. В. Карпенко, А. Н. Шульга, Н. С. Щеглова, С. А. Елисеев, А. А. Туровский // Микробиологический журнал. – 1996. – Т.58. – № 5. – С.18 – 24.

*Особистий внесок: ідея, планування експериментів, аналіз інформації наукових джерел, фізико-хімічні дослідження рамноліпідів і полісахаридів, написання статті.*

33. Квантово-хімічна модель поверхнево-активного комплексу штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 / В. І. Похмурський, Р. Е. Пристанський, О. М. Шульга, О. В. Карпенко // Доповіді НАН України. – 1997. – № 9. – С. 151–154.

*Особистий внесок: аналіз даних літератури, участь у плануванні роботи, інтерпретації результатів, у написанні статті.*

34. Biosurfactant-enhanced remediation of oil-contaminated environments / A. Shulga, E. Karpenko, R. Vildanova-Martshishin, A. Turovsky, M. Soltys // - Adsorption Science and Technology – 2000. – Vol.18. – P. 171 – 176.

*Особистий внесок: планування роботи, фізико-хімічні дослідження біоПАР, узагальнення результатів, участь у підготовці рукопису публікації.*

35. Application of microbial surfactants in new formulation for plant protection / E. Karpenko, N. Scheglova, R. Vildanova, B. Kolwzan // In: Chemicals in Agriculture and Environment, series: Chemistry for Agriculture, Vol. 8. Ed. A. Pawielczyk. Czech-Pol Trade: Prague – Bruxelles. – 2007. – P. 113 – 117.

*Особистий внесок: ідея, планування досліджень, літературний огляд. Фізико-хімічні характеристики ПАР, інтерпретація результатів, участь у написанні статті.*

36. Індукція синтезу і активація  $\alpha$ -L-рамнозидази / Л. Д. Варбанець, О. М. Рзаєва, І. Й. Сейфулліна, О. Е. Марцинко, О. Г. Песагорло, Т. О. Філіппова, З. І. Жиліна, Ю.В. Ішков, О. В. Карпенко, О. М. Шульга // Український біохімічний журнал. – 2007. – Т. 79, №4. – С. 18 – 27.

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, аналіз зразків рамноліпідних і трегалозоліпідних ПАР, підготовка інформації для статті.*

37. Influence of microbial surfactans on biodegradation of oil hydrocarbons / E. Karpenko, B. Kolwzan, E. Sliwka, K. Grabas, V. Novikov // Ekotoksykologia w ochronie środowiska. Ed. B. Kolwzan, K. Grabas. – PZITS Oddział Dolnośląski, Wrocław. – 2008. – S. 179 – 184.

*Особистий внесок: приготування зразків біоПАР та їх характеристика, участь в аналізі результатів і підготовці рукопису публікації.*

38. Anti-herpesvirus activities of *Pseudomonas* sp. S-17 rhamnolipid and its complex with alginate / M. Remichkova, D. Galabova, I. Roeva, E. Karpenko, A. Shulga, A. S. Galabov // Zeitschrift für Naturforschung. – 2008. – Vol. 63. – P. 75 – 81. (Видавництво Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Німеччина).

*Особистий внесок: приготування і характеристика зразків рамноліпідних ПАР, підготовка даних про біоПАР для статті, участь у підготовці рукопису.*

39. Ocena toksyczności biosurfactantów produkowanych przez *Pseudomonas* sp. PS-17. B. Kolwzan, J. Biazik, A. Czarny, E. Zaczynska, E. Karpenko. Ekotoksykologia w ochronie środowiska. Ed. B. Kolwzan, K. Grabas. – PZITS Oddział Dolnośląski, Wrocław. – 2008. – S. 191 – 197.

*Особистий внесок: приготування зразків біоПАР та їх характеристика, участь в аналізі результатів і підготовці рукопису публікації.*

40. Оптимальные методы выделения биогенных поверхностно-активных рамнолипидов / Е. В. Карпенко, Т.Я. Покиньюброда, Р.Г. Макитра, Е.Я. Пальчикова // Журнал общей химии. – 2009. – Т. 12 – С. 2011 – 2014

*Особистий внесок: планування досліджень, огляд літератури, узагальнення результатів, написання частини рукопису публікації.*

41. Синтез сурфактантів штамми *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* та *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* / Р. І. Гвоздяк, Л. А.



Пасічник, Л. М. Ващенко, Т. Я. Покин'яброда, О. В. Карпенко // Мікробіологічний журнал. – 2009. – Т. 71, №3. – С. 10 – 14.

*Особистий внесок: ідея, планування досліджень, аналіз продуктів, узагальнення результатів, підготовка рукопису публікації.*

42. Біогенні поверхнево-активні речовини для підвищення ефективності кормів сільськогосподарських тварин / О. М. Шульга, О. В. Карпенко, В. В. Гуменюк, М. Д. Петрів // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини і біотехнологій ім. С. З. Гжицького. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 270 – 274.

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, аналіз зразків рамноліпідних ПАР, участь у написанні рукопису публікації.*

43. Effect of *Pseudomonas* sp. S-17 rhamnolipid on herpes simplex virus type 2 / A. Ivanova, E. V. Karpenko, A. S. Galabov, M. Remichkova // Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences. – 2010. – Vol. 64. – P. 157 – 160. (Видавництво Bulgarian Academy of Sciences, Болгарія).

*Особистий внесок: приготування та аналіз зразків рамноліпідних ПАР, підготовка даних для рукопису публікації.*

44. Карпенко О.В., Бова Т.О., Пристай М.В., Дерев'янюк С.В. Антивірусна активність біосурфактанту культури *Gordonia rubripertincta* УКМ Ас-122 // Сільськогосподарська мікробіологія. – 2011. – Вип. 13. – С.164 – 170.

*Особистий внесок: ідея, участь у плануванні досліджень, аналіз одержаних біоПАР та їх фракцій, участь у написанні статті.*

45. Вплив біогенних поверхнево-активних речовин на формування симбіозу *Synorhizobium meliloti* з люцерною / Н. С. Щеглова, О. В. Карпенко, Р. І. Вільданова, М. В. Пристай, Н. Ю. Лісова, Т. М. Ногіна // Мікробіологія і біотехнологія. – 2011. – №1. – С.48 – 56.

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, аналіз зразків біоПАР, інтерпретація результатів, участь у підготовці рукопису публікації.*

46. Коваленко А. Г. Перспективы создания и практического использования комплексных биопрепаратов как средств оздоровления и защиты растений от вирусных и бактериальных инфекций / А. Г. Коваленко, Е. В. Карпенко, В. С. Подгорский // Сільськогосподарська мікробіологія: здобутки і перспективи. Збірник наукових праць. – 2011. – С. 76 – 80.

*Особистий внесок: аналіз літературних даних, приготування і аналіз біоПАР для досліджень, участь у написанні рукопису публікації.*

47. Оптимізація поживного середовища для синтезу біосурфактантів і екзополісахаридів культурою *Gordonia rubripertincta* УКМ Ас-122 / О. В. Карпенко, М. В. Пристай, Г.В. Гафійчук, Б. Й. Дацко, Т.М.Ногіна // Біотехнологія. – 2011. – № 5. – С.129-135.

*Особистий внесок: ідея та схема досліджень, аналіз кінцевих продуктів біосинтезу, участь в інтерпретації результатів і написанні статті.*

48. Kinetics of the fermentative reaction of  $H_2O_2$  decomposition under the action of catalase in the presence of biosurfactants for the stationary state / A. A. Turovsky, R. O. Khvorostetsky, L. I. Bazylyak, A. N. Shulga, E. V. Karpenko, G. E.

Zaikov // Oxidation Communications. – 2011. – Vol. 34. – P. 136-145. (Видавництво SciBulCom Ltd., Bulgaria).

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, дослідження зразків рамноліпідів, підготовка даних, участь в написанні статті.*

49. Коллоидно-химические характеристики продуктов биосинтеза штамма *Pseudomonas* sp. PS-17 / Е. В. Карпенко, В. А. Волошинец, А. Ф. Грабаровская, И. В. Семенюк, О. Я. Карпенко // Вопросы химии и химической технологии. – 2012. – № 2. – С.34-39.

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, приготування зразків рамноліпідних ПАР для колоїдно-хімічних досліджень, підготовка інформації по біоПАР та участь у написанні статті.*

50. Хоп'як Н. А. Токсиколого-гігієнічна і екологічна оцінка поверхнево-активного біопрепарату "Поліком" / Н. А. Хоп'як, О.В.Карпенко, Р.І.Вільданова // Гігієна населених місць. – 2012. – №60. – С. 167 – 172.

*Особиста участь: підготовка даних з властивостей і біологічної активності рамноліпідних ПАР, написання частини рукопису щодо складу і властивостей ПАР.*

51. Стимулювання росту злакових рослин поверхнево-активними рамноліпідами / О. В. Карпенко, Н. І. Корецька, Н. С. Щеглова, І. В. Карпенко, В. І. Баранов // Biotechnologia Acta. – 2013. – Т.6. – №6. – С. 94 – 99.

*Особиста участь: ідея, схема роботи, огляд наукової інформації, аналіз експериментальних результатів, написання статті.*

52. Вплив біогенних поверхнево-активних речовин і мікробного препарату на морфометричні показники проростків *Raphanus sativus* L. і *Pisum arvense* L / А. Р. Баня, В. І. Баранов, І. В. Карпенко, Н. І. Корецька, Р. І. Вільданова, О. В. Карпенко // Біологічні студії. – 2013. – Т. 7, № 1. – С. 115 – 122.

*Особиста участь: ідея і планування роботи, аналіз трегалозоліпідних ПАР, інтерпретація результатів, написання статті.*

53. Экстракционное выделение биогенных поверхностно-активных рамнолипидов / И. В. Карпенко, Г. Г. Мидяна, Е. В. Карпенко, Е. Я. Пальчикова, Р. Г. Макитра // Журнал общей химии. – 2014. – Т. 84. – С. 1172 – 1175.

*Особиста участь: участь у плануванні експерименту, огляд літератури, інтерпретація результатів, написання частини статті.*

54. Пат. 10467 А Україна МПК C12N 1/20 C12P 1/04 C12R 1/38. Штам *Pseudomonas* sp. PS-17 – продуцент позаклітинних біоПАР і біополімеру / Шульга О. М., Карпенко О. В., Єлісєєв С. А., Щеглова Н. С., Вільданова-Марцишин Р. І.; заявник і власник О. М. Шульга, О. В. Карпенко, С. А. Єлісєєв, Р. І. Вільданова-Марцишин. – № 95041549; заявл. 05.04.1995; опубл. 25.12.1996, Бюл. № 4.

*Особиста участь: ідея і планування, аналіз літературних і власних даних з мікробного синтезу ПАР, підготовка опису патенту.*

55. Pat. DE19628454 A1 Germany. New rhamno-lipid-alginate polymer complexes / Eliseev S., Shulga A., Karpenko E., Bolochovskaia V.; applicant and

owner MFH Marienfelde GmbH Unternehmen für Hygiene; sub. 15.07.1996 pub. 29.01.1998.

*Особиста участь: здійснення аналізу літературних, патентних і власних даних, участь у підготовці опису патенту.*

56. Пат. 2125152 Российская Федерация E21B43/22. Состав для вытеснения нефти Симаев Ю. М., Базекина Л. В., Тимерханов Н. Ш., Хабибрахманов Ф. М., Карпенко О. В., Шульга А. Н.; заявитель и правообладатель Акционерная нефтяная компания "Башнефть". – № 97106480; заявл. 21.04.1997; публ. 20.01.1999.

*Особиста участь: приготування й аналіз зразків біоПАР, підготовка інформації для оформлення патенту.*

57. Пат. 71792 А Україна 7 C12N1/02 C12R1:38. Поверхнево-активний біопрепарат / Карпенко О. В., Мартинюк Н. Б., Шульга О. Н., Щеглова Н. С.; заявник і власник О. В. Карпенко, Н. Б. Мартинюк. – № u20031212346; заявл. 25.12.2003; опубл. 15.12.2004, Бюл. №12.

*Особиста участь: ідея створення патенту, аналіз та оброблення літературних і власних даних, підготовка опису патенту.*

58. Пат. 36704 Україна МПК A01N 25/30 A01N 59/06 A01N 63/00 C12N 1/20. Біопрепарат для бобових і злакових рослин / Лісова Н., Карпенко О. В., Вільданова Р.І., Щеглова Н.С., Козуб Ю.Б., Галан М.С., Наконечний М.В.; заявник і власник Н. Ю. Лісова, О. В. Карпенко. – № u200804304; заявл. 07.04.2008; опубл. 10.11.2008, Бюл. №21.

*Особиста участь: ідея створення патенту, аналіз літератури і власних даних, аналіз зразків біоПАР, підготовка інформації для оформлення патенту.*

59. Пат. 42406 Україна МПК C11B 3/00. Спосіб рафінації рослинної олії / Дочкіна Л. І., Карпенко О. В., Мартинюк Н. Б.; заявник і власник Л. І. Дочкіна. – № u200812219; заявл. 16.10.2008; опубл. 10.07.2009, Бюл. №13

*Особиста участь: приготування й аналіз зразків рамноліпідних ПАР, підготовка інформації для оформлення патенту.*

60. Пат. 77228 Україна МПК A01P 21/00 A01N 63/00 C12N 1/02 C12R 1/38. Препарат комплексної дії для використання у сільському господарстві та рекультиватії техногенно змінених ґрунтів / Карпенко О. В., Щеглова Н. С., Вільданова Р. І., Баранов В. І., Шульга О. М.; заявник і власник О. В. Карпенко, Н. С. Щеглова. – № u201207171; заявл. 13.06.2012; опубл. 11.02.2013, Бюл. №3.

*Особиста участь: ідея створення патенту, оброблення літературних даних, аналіз результатів вивчення впливу біоПАР на різні рослини, підготовка інформації та опису патенту.*

61. Pat. 652Z Republic of Moldova A01C 21/00 A01G 17/02 A01N 63/00 C05D 9/02. Process of cultivating cuttings of grape vines / Veliksar S., Lemanova N., Karpenko E., Shcheglova N.; applicant and owner Institute of Genetics, Physiology and Protection of Plants, Academy of Science of Republic of Moldova; sub. 03.10.2012; pub. 31.07.2013, BOPI No. 7/2013.

*Особиста участь: приготування й аналіз зразків рамноліпідних ПАР, підготовка інформації для опису і оформлення патенту.*

62. Біогенні поверхнево-активні сполуки для створення екологічно безпечних технологій нафтовидобутку / В. Д. Михайлюк, О. В. Карпенко, О. М. Шульга, О. М. Винницький, Ю. Б. Шеремета // Розробка та застосування поверхнево-активних речовин у нафтогазовій промисловості: наук. конф., 15-17 червня 1999 р.: тези допов. – Піщане, 1999. – С. 18-20.

*Особиста участь: участь у плануванні випробувань, приготування й аналіз зразків біоПАР, підготовка рукопису.*

63. Karpenko E. New Ecologically Safe Biosurfactants / E. Karpenko, R. Vildanova-Martysishin, B. Kolwzan // Surfaktanty i Układy Zdyspergowane w Teorii i Praktyce: 2nd Sci. conf., 20-23 May, 2003: proc. of conf. – Wrocław, 2003. – P.55 – 60.

*Особиста участь: ідея і планування експериментів, фізико-хімічні дослідження біоПАР, оброблення результатів, підготовка доповіді і публікації.*

64. Вплив ПАР-синтезуючого штаму *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на деструкцію нафтових вуглеводнів / О. В. Карпенко, Т. П. Пирог, О. Ю. Хавунко, І. Н. Волошина, В. А. Єрохін // Біотехнологія. Освіта. Наука: 2-га Всеукраїнська наук.-практ. конф., 6-8 жовтня 2004: тези допов. – Львів, 2004. – С. 148.

*Особиста участь: планування експериментів, фізико-хімічні дослідження біоПАР, оброблення результатів, підготовка доповіді і публікації.*

65. Adsorption properties of Triton X-100 and rhamnolipid biosurfactant in the context of soil remediation / K. Medrzycka, E. Hallmann, S. Pastewski, E. Karpenko // Oils and Environment: 4th int. conf., June 20-23, 2005: proc. of conf. – Gdansk, 2005. – P. 138 – 143

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, приготування й аналіз зразків біоПАР, участь в написанні статті.*

66. Pashynska V. Mass spectrometric study of rhamnolipid supramolecular complexes with membrane phospholipids / Vlada Pashynska, Olena Karpenko // Supramolecular Systems in Chemistry and Biology: int. summer school, 6-10 September 2010: proc. of conf. – Lviv, 2010. – P. 135

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, приготування й аналіз зразків рамноліпідів, участь у підготовці доповіді і тез.*

67. Effect of microelements and microorganisms on growth and development of grape cuttings / S. Veliksar, N. Lemanova, T. David, E. Karpenko, A. Comanluc, D. Bratco // Genetic and physiology of plants resistance: int. conf., 10-13 June 2011: proc. of conf. – Chisinau, 2011. – P. 66.

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, приготування й аналіз зразків рамноліпідного біокомплексу, участь у підготовці доповіді і тез.*

68. Klosowska-Chomiczewska E. Biosurfactants – biodegradability, toxicity, efficiency in comparison with synthetic surfactants / E. Klosowska-Chomiczewska,

К. Medrzycka, Е. Карпенко // Research and application of new technologies in wastewater treatment and municipal waste disposal in Ukraine, Sweden and Poland: int. seminar, 17-19 October, 2011: proc. of seminar. – Krakow, 2011. – P. 141-149

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, приготування і аналіз зразків рамноліпідного біокомплексу, участь у написанні матеріалів.*

69. Using biosurfactants in phytoremediation of soil polluted with petroleum hydrocarbons / G. Kvesitadze, Е. Карпенко, G. Khatishashvili, R. Vildanova, T. Sadunishvili, N. Garelidze, G. Adamia, L. Amiranashvili, M. Pruidze, N. Kuprava // Environmental Microbiology and Biotechnology in the frame of the knowledge-based bio and green economy: int. conf., April 10-12, 2012: proc. of conf. – Bologna, 2012. – P. 40

*Особистий внесок: участь у плануванні досліджень, приготування зразків біо ПАР, аналіз даних, участь у підготуванні доповіді і тез.*

70. Карпенко Е. Использование биогенных поверхностно-активных веществ для повышения эффективности обработки семенного материала озимой пшеницы / Е. Карпенко, Н. Щеглова, В. Новик // daRostim: IX міжнар. наук.-практ. конф., 7-10 жовтня 2013: тези допов. – Львів, 2013. – С. 42 – 53.

*Особистий внесок: участь у плануванні роботи, аналіз літератури, приготування, аналіз зразків рамноліпідних ПАР для польових експериментів, участь в написанні статті.*

## АНОТАЦІЯ

**Карпенко О. В. Наукові засади створення біотехнологій поверхнево-активних речовин з поліфункціональними властивостями. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний університет харчових технологій МОН України, Київ, 2015.

Дисертаційна робота присвячена технологіям отримання та застосування поверхнево-активних речовин – продуктів мікробного синтезу (біоПАР). Встановлено, бактерії родів *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* синтезують комплекси ПАР з іншими мікробними метаболітами: комплекс позаклітинних рамноліпідів і полісахаридів (РБК) бактерій *Pseudomonas*, комплекси клітинно-зв'язаних трегалозоліпідів, жирних кислот і каротиноїдів (ТПАР) та позаклітинного ліпоамінополісахаридного комплексу (ЛПК) бактерій *Gordonia*. Оптимізовано склад поживних середовищ для синтезу ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 і *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 шляхом математичного моделювання; підбрано стимулятори й умови. Масштабування синтезу ПАР у ферментері з вихровою системою аерації дозволило підвищити показники синтезу РБК до 12, 9 г/дм<sup>3</sup>, ТПАР – до 9,10-9,85 г/дм<sup>3</sup>, ЛПК – до 9,15 г/дм<sup>3</sup>.

Розроблено раціональні шляхи одержання ефективних цільових продуктів. Показано, що комплекси ПАР є активнішими, ніж індивідуальні, за фізико-хімічними і біологічними властивостями.

Розроблено технології застосування комплексів ПАВ у виробництві ферментів, як регуляторів росту рослин, для підвищення активності засобів для рослинництва (біоциди, мікроелементи та біодобрива), для нафтовидобутку, мийних засобів, фармпрепаратів, очищення довкілля, створено енергозберігаючу технологію рафінування рослинних олій.

**Ключові слова:** біотехнологія, *Pseudomonas*, *Gordonia*, поверхнево-активні речовини, фізико-хімічні і біологічні властивості, технології застосування.

## АННОТАЦИЯ

**Карпенко Е. В. Научные основы создания биотехнологий поверхностно-активных веществ с полифункциональными свойствами. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Национальный университет пищевых технологий МОН, Киев, 2015.

Диссертационная работа посвящена разработке технологий получения и использования биогенных поверхностно-активных веществ – продуктов микробного синтеза (биоПАВ). Впервые показано, что бактерии родов *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* образуют комплексы ПАВ с другими метаболитами, а именно: комплексы внеклеточных рамнолипидов и полисахаридов (РБК) бактерий рода *Pseudomonas*, клеточно-связанных трегалозолипидов с жирными кислотами и, каротиноидами (ТПАВ) и внеклеточного липоаминополисахаридного комплекса (ЛПК) актинобактерий *Gordonia*. Оптимизирован состав питательных сред для синтеза ПАВ *Pseudomonas* sp. PS-17 и *G. rubripertincta* УКМ Ас-122 (математическое моделирование). При масштабировании процесса в биореакторе (вихревая система аэрации), показатели синтеза РБК выросли до 12,9 г/дм<sup>3</sup>, ТПАВ – до 9,10-9,85 г/дм<sup>3</sup>, ЛПК – до 9,15 г/дм<sup>3</sup>.

Разработаны пути выделения комплексов ПАВ, получен ряд эффективных товарных продуктов. Показано, что комплексы ПАВ более активны, чем компоненты (эмульгирование, пенообразование, антимикробное действие).

Комплексы микробных ПАВ являются стимуляторами биосинтеза ферментов. Разработаны регуляторы роста растений на основе ПАВ, а также их композиции с биоцидами, микроэлементами, биоудобрениями с повышенной эффективностью. Доказаны перспективы комплексов ПАВ для повышения нефтедобычи, производства моющих средств, фармпрепаратов, очистки окружающей среды, против коррозии металлов, для рафинирования растительных масел.

**Ключевые слова:** биотехнология, *Pseudomonas*, *Gordonia*, поверхностно-активные вещества, физико-химические и биологические свойства, технологии применения.

## SUMMARY

### **Karpenko E.V. Scientific principles of the development of biotechnologies of surfactants with polyfunctional properties. – Manuscript.**

Thesis for the degree of Doctor of Technical Sciences in speciality 03.00.20 – Biotechnology. – National University of Food Technologies, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2015.

The thesis is devoted to the development and application of the technology of surfactants – products of microbial synthesis (biosurfactants). For the first time the ability of the genera *Gordonia*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* to produce surfactant complexes with other metabolites that are formed simultaneously while cultivating the producers, namely complex extracellular rhamnolipids and polysaccharides (RBC) of the bacteria *Pseudomonas*, as well as cell-bound complexes of trehalose lipids, fatty acids, carotenoids (TSUR) and extracellular lipoaminopolysaccharide complex (LPC) of actinobacteria *Gordonia*, was studied. The benefits of derived complexes are efficiency and economic advantages due to cheaper methods of isolation and reduction of purification stages. The composition of microbial surface-active complexes, as well as the molecular weights of their components – rhamnolipides and polysaccharides were determined.

The regularities of the intensification of the synthesis of complexes of the surfactants and polysaccharides of the strains *Pseudomonas* sp. PS-17 and *G. rubripertincta* UKM Ac-122 were theoretically substantiated and experimentally determined: the composition of culture media, including the use of mathematical modeling (regression and variance analysis, group method of data handling) was optimized; the stimulants of surfactant biosynthesis (sodium citrate, aspartic acid) and the cultivation conditions (aeration, temperature, dosed addition of carbon source) were selected. This allowed the improvement of performance indices of the synthesis of rhamnolipid biocomplex on 60 %, trehalose lipids – on 85 %, and LPC – in almost 4 times if compared with those before the optimization.

The biosynthesis of surfactant complexes was scaled up using the fermentation equipment; the optimum fermenter's construction was selected. It was shown that to achieve high yield of the rhamnolipids the most effective construction of bioreactor is the one with vortex aeration system, which allows to increase the mass transfer of oxygen in the medium, increase the fill factor as well as to control of the foaming process in the biosynthesis of surfactants. Its application enabled considerable increase of the indices of synthesis of the surfactant complexes: RBC – on 30 % (12,9 g/dm<sup>3</sup>), trehalose lipid complexes – on 35 % (9,10-9,85 g/dm<sup>3</sup>), LPC – 9,15 g/dm<sup>3</sup>).

The effective methods of isolation and concentration of surfactants and their complexes were developed – thermal processing, deposition with temperature control, concentration by foaming and changing of the physical state (freezing-thawing). The optimal extractants for the isolation of trehalose lipids and rhamnolipids were determined using the method of linear multiparameter equations.

A number of effective products to target various sectors of the practical application of the surfactants and their complexes of the strains *Pseudomonas* sp. PS-



17 i *G. rubriperctincta* Ac-122 were obtained. The products were developed with rational use of valuable metabolites (thermally treated culture liquid, rhamnolipids, RBC, LPC, complex of cell-bound TSUR), thus minimizing the amount of waste from cultural liquid.

It was shown that the complexes of microbial surfactants with other metabolites excel individual surfactants in physico-chemical and biological characteristics, namely: indices of emulsification, solubilization of hydrophobic substances, foaming, wetting of surfaces, influence on the permeability of cell membranes of microorganisms of different taxonomic groups (including phytopathogens) and plant cells, have antimicrobial and antiviral properties and they are characterized by low toxicity.

The rhamnolipid and trehalose lipid surfactants enhance the activity of enzymes (hydrolases, oxydoreductases, lyases) and stimulate their biosynthesis by microorganisms.

The stimulating effect of the obtained biosurfactants and their complexes on the growth and productivity different plants (cereals, legumes, oilseeds) at pre-seeding treatment of seeds on vegetative mass accumulation amounted 15-30 %, as well as their tolerance to adverse conditions was defined. The biosurfactants complexes are recommended as plant growth regulators, as well as for the improvement of the effectiveness of the different agents for the crop production – biocides, biofertilizers and micronutrients.

The effectiveness of the application of biosurfactants and their complexes in pharmacy, veterinary medicine and agriculture as antimicrobial, antiviral, immunomodulatory means for plants, animals, human, as well as for the increase of the activity of existing antimicrobial preparations and the reduction of their dosage, was determined.

It was shown that biosurfactant complexes increase degradation efficiency of technogenic contaminants, including persistent ones (coal tar, pristan, benzo(a)pyrene, dodecylbenzene et al.) on 15-40 %. Methods of the application of the surfactant complexes in microbial remediation and phytoremediation technologies of contaminated soils were developed.

The technologies of application of the obtained complex microbial surfactants in a number of other fields of industry, agriculture were elaborated. The technologies of use of these surfactants for enhanced oil recovery, manufacture of new ecologically safe detergents (household and technical), metal corrosion inhibitors, for remediation of the contaminated soil and water, as well as the energy saving technology of vegetable oils purification, were developed.

The technical specifications for the production of biosurfactant complex of *Pseudomonas* sp. PS-17 «Surface-active substance «Polikom» (TU 2.4.5.-326134 46-004:2004), were developed, Ukrainian sanitation certificate of the preparation «Polikom» was obtained.

**Keywords:** biotechnology, *Pseudomonas*, *Gordonia*, surfactants, physico-chemical and biological properties, application technology.