

УДК 663.11

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ БИОПАВ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

Капустина Е.Н., студент 1 курса магистратуры факультета
химической технологии, промышленной экологии и
биотехнологий

Научный руководитель – Пермякова И.А., кандидат технических
наук
ФГАОУ ВО «ПНИПУ»

Ключевые слова: биосурфактанты, *Pseudomonas fluorescens*,
поверхностное натяжение, эмульгирующая активность

Работа посвящена выделению микроорганизмов – продуцентов биосурфактантов и определению свойств полученных соединений. Установлено, что выделенная культура способна продуцировать два типа биоПАВ: гликолипиды и фосфолипиды. Исследования эмульгирующей активности и поверхностного натяжения показали, что выделяемые ПАВ относятся к группе высокомолекулярных соединений.

Введение. Некоторые культуры микроорганизмов способны продуцировать поверхностно-активные вещества (биосурфактанты, биоПАВ). Биосурфактанты по сравнению с синтетическими ПАВ обладают меньшей токсичностью и для их производства используются возобновляемые источники сырья, а также обладают различной биологической активностью, благодаря чему появился интерес использования этих соединений во многих хозяйственных процессах, включая процессы повышения нефтеотдачи, биоремедиации окружающей среды от липофильных соединений, переработке органических отходов, при создании косметических и фармацевтических продуктов.

Свойства биосурфактантов и, соответственно, эффективность применения этого соединения в конкретном процессе определяется типом используемого сурфактанта. Биосурфактанты классифицируют

по химической структуре гидрофильной и гидрофобной частей молекулы, выделяют гликолипиды, липопептиды и фосфолипиды. По молекулярной массе биосурфактанты подразделяются на низкомолекулярные и высокомолекулярные. Тип продуцируемого биосурфактанта зависит от ряда факторов, наиболее важными являются вид микроорганизма-продуцента и состав питательной среды. В настоящее время исследования в области получения биосурфактантов сосредоточены на поиске наиболее продуктивных штаммов микроорганизмов, изучении свойств полученных соединений и оптимизации условий культивирования.

Цель работы заключается в изучении продукции биосурфактантов ранее выделенной культуры микроорганизмов, представленной бактериями рода *Pseudomonas fluorescens*, и определении физико-химических свойств полученных соединений.

Методы исследований. Для получения культуральной жидкости, содержащей биоПАВ, было проведено глубинное культивирование бактерий рода *Pseudomonas* в среде следующего состава: этилолеат - 4,0 г, нитрат калия - 0,5 г, фосфат калия двузамещённый - 0,5 г, фосфат калия однозамещённый - 0,1 г, сульфат магния - 0,2 г, хлорид кальция - 0,1 г, вода дистиллированная - 1 л. Культивирование проводилось в термостатируемом шейкере при $T=32^{\circ}\text{C}$; 156 об/мин. Далее культуральная жидкость отделялась от биомассы путем центрифугирования.

Принадлежность к гликолипидам определяется следующим образом: 1 мл бесклеточного супернатанта смешивали с 1 мл 5% фенола. Затем по каплям добавляли 3–5 мл концентрированной серной кислоты до появления оранжевого цвета, что указывало на присутствие гликолипидов.

Для определения принадлежности к липопептидам 2 мл бесклеточного супернатанта нагревают до 70°C и смешивают с 1 М раствором гидроксида натрия, а затем по каплям добавляют раствор сульфата меди. Образование фиолетового или розового кольца указывает на присутствие липопептидов.

Принадлежность к фосфолипидам определяют путем смешивания двух мл бесклеточного супернатанта с 6–10 каплями 5 М раствора азотной кислоты. Смесь нагревают до 70°C , затем по каплям

добавляют 5% молибдат аммония до появления желтого осадка, что указывает на наличие фосфолипидов[1].

Измерение поверхностного натяжения проводилось сталагмометрическим методом путем подсчета количества капель, вытекающих из фиксированного объема жидкости через капилляр[2].

Для определения индекса эмульгирующей активности 6 мл культуральной жидкости смешивают с 4 мл тетрадекана или другого гидрофобного субстрата в течение двух минут путем встряхивания. Далее делают измерения высоты слоя эмульсии и общей высоты жидкости [1].

Результаты исследований. После получения культуральной жидкости микроорганизмов были проведены качественные реакции на определение типа биосурфактантов, измерены поверхностное натяжение и эмульгирующая активность.

В результате добавления к культуральной жидкости раствора фенола и серной кислоты наблюдалось изменение окраски раствора на ярко-оранжевую, что указывает на присутствие рамнолипидов в культуральной жидкости.

При добавлении к культуральной жидкости азотной кислоты и молибдата аммония с течением времени наблюдалось выпадение желтого осадка, что свидетельствует о наличии фосфолипидов в культуральной жидкости.

При добавлении к нагретой культуральной жидкости растворов гидроксида натрия и сульфата меди наблюдалось выпадение голубого осадка, без образования розового кольца, следовательно, липопептиды в культуральной жидкости отсутствуют.

Измеренное значение поверхностного натяжения при температуре 22,0°С составило $67,2 \pm 1,2$ мН/м (поверхностное натяжение дистиллированной воды в тех же условиях составляет $72,3 \pm 1,2$ мН/м).

Индекс эмульгирующей активности культуральной жидкости равен 42% (индекс эмульгирующей активности дистиллированной воды в тех же условиях равен 0).

Выводы. 1. Выделенная культура микроорганизмов способна продуцировать поверхностно-активные вещества.

2. Выделяемые соединения по химической структуре относятся к классу гликолипидов и фосфолипидов.

3. Незначительная способность снижать поверхностное натяжение и при этом выраженная эмульгирующая активность указывают на принадлежность выделяемых биоПАВ к классу высокомолекулярных соединений.

Библиографический список:

1. Mahmoud, Y.A. Exploring the potential of biosurfactants produced by fungi found in soil contaminated with petrochemical wastes / Y.A. Mahmoud, E.E. Narsetall. – Текст: электронный // SciRep. – 2024. - №14: 25733. – URL: <https://www.researchgate.net/publication/385319705> (дата обращения 22.02.2025)

2. Фролов Ю.Г., Городский А.С. Лабораторные работы и задачи по коллоидной химии – М: Химия, 1986. – 216 с.

**STUDY OF BIOSURFACTANTS PRODUCED BY PSEUDOMONAS
FLUORESCENS BACTERIA**

Kapustina E.N..

**Scientific supervisor –Permyakova I.A.
PNRPU**

Keywords: *biosurfactants, Pseudomonas fluorescens, surface tension, emulsifying activity*

The work is devoted to the isolation of microorganisms producing biosurfactants and the determination of the properties of the compounds obtained. It has been established that the isolated culture is capable of producing two types of biosurfactants: glycolipids and phospholipids. Studies of emulsifying activity and surface tension have shown that the released surfactants belong to the group of high-molecular compounds.