

УДК 759.873.088.5:661.185

**СИНТЕЗ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ  
*ACINETOBACTER CALCOACETICUS* К-4 И *RHODOCOCCLUS*  
*ERYTHROPOLIS* ЕК-1 НА ГЛИЦЕРИНЕ**

Шулякова М.А., 5 курс, факультет биотехнологии и экологического контроля

Мащенко О.Ю., 4 курс, факультет биотехнологии и экологического контроля

Научный руководитель: д.б.н., профессор Пирог Т.П.

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев, Украина

Консультант: Шевчук Т.А.

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины

В связи с увеличением объемов производства биодизеля в мире возникает проблема утилизации глицерина – побочного продукта трансэтерификации растительных масел или животных жиров [1]. Существующие на данный момент технологии его использования являются не достаточно экологически безопасными и экологически выгодными. Поиск новых, более современных методов переработки технического глицерина позволит не только решить проблему его утилизации, но и повысить рентабельность производства биотоплива. Одним из возможных путей использования глицерина является применение его в качестве субстрата в биотехнологических процессах для получения практически ценных продуктов, в том числе и микробных поверхностно-активных веществ (ПАВ) [1]. Благодаря уникальным свойствам ПАВ микробного происхождения используются в различных отраслях промышленности, а также природоохранных технологиях [2].

В предыдущих исследованиях из загрязненных нефтью образцов почвы были выделены нефтеокисляющие бактерии, идентифицированные как *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 и *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, и показана способность изолированных штаммов к синтезу ПАВ на гидрофильных (этанол, глюкоза) и гидрофобных (гексадекан, жидкие парафины) субстратах [3, 4]. По химической природе ПАВ *R. erythropolis* ЕК-1 являются комплексом глико-, фосфо- и нейтральных липидов, а *A. calcoaceticus* К-4 – глико-, amino- и нейтральных липидов. Гликолипиды обох штаммов представлены трегалозомиколатами [3, 4].

Цель данной работы – исследовать возможность использования глицерина в качестве субстрата для получения ПАВ *R. erythropolis* ЕК-1 и *A. calcoaceticus* К-4, а также поиск путей интенсификации биосинтеза этих метаболитов на данном субстрате.

Исследование роста и образования ПАВ на среде с глицерином (степень очистки 98%) показало, что данные штаммы способны ассимилировать этот субстрат и синтезировать метаболиты с поверхностно-активными и эмульгирующими свойствами. Поскольку количество синтезированных ПАВ было ниже, чем на традиционных субстратах [3, 4], на следующем этапе исследовали возможность интенсификации их синтеза штаммами ЕК-1 и К-4 на среде с «чистым» глицерином.

Учитывая химический состав ПАВ, мы предположили, что внесение в среду цитрата натрия (регулятора синтеза липидов) и фумарата натрия (C<sub>4</sub>-дикарбоновая кислота, предшественник глюконеогенеза) позволит повысить эффективность процесса их биосинтеза [5]. Так, было показано, что одновременное внесение цитрата (0,1%) и фумарата (0,2%) в среду с глицерином сопровождалось повышением показателей синтеза ПАВ *R. erythropolis* ЕК-1 на 32%, а добавление предшественников биосинтеза в концентрации 0,01% в среду культивирования *A. calcoaceticus* К-4 – увеличением количества ПАВ в 2–2,5 раза по сравнению с выращиванием бактерий на среде без органических кислот.

Для *R. erythropolis* ЕК-1 замена цитрата натрия на эквимолярную по углероду концентрацию лимонной кислоты дала возможность повысить количество синтезированных ПАВ на 10-15% по сравнению с использованием цитрата натрия. Даже при условии периодического доведения рН до 8,0 лимонной кислотой после внесения 0,2% фумарата наблюдали повышение концентрации ПАВ на 30%, 45% и 77% по сравнению с показателями процесса без регуляции рН, при одновременном внесении фумарата и цитрата натрия и культивирования бактерий на среде без органических кислот соответственно.

Известно, что при производстве биодизеля образуется глицериновая фракция, содержащая 60–80% глицерина, а также метанол, натриевые или калиевые соли, причем сопутствующие компоненты способны ингибировать рост микроорганизмов [6]. В связи с этим, необходимым является исследование возможности биоконверсии этими штаммами неочищенного глицерина в поверхностно-активные вещества. Для этого моделировали средний состав глицериновой фракции по количеству остаточных спиртов (метанола или этанола) и солей натрия или калия (в виде хлоридов). В дальнейшем такой субстрат называли «неочищенный» глицерин. Показано, что при выращивании *A. calcoaceticus* К-4 и *R. erythropolis* ЕК-1 на среде, содержащей глицерин (1%), метанол (0,3%) и КСl или NaCl (2,5%), показатели синтеза ПАВ составляли 112–133% по сравнению с ростом на очищенном глицерине. Так как некоторые технологии производства биодизеля предусматривают использование этанола в процессе этерификации, на следующем этапе метанол заменили этиловым спиртом, что привело к увеличению количества синтезированных ПАВ на 46–77%. Наши дальнейшие исследования будут посвящены усовершенствованию технологии получения ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 и *R. erythropolis* ЕК-1 на среде с неочищенным глицерином.

Предложенные подходы могут стать основой для разработки экономически выгодной промышленной технологии получения ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 и *R. erythropolis* ЕК-1, а также решить проблему утилизации отходов производства биодизеля.

#### Библиографический список

1. da Silva G., Mack M., Contiero J. Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology // *Biotechnol. Adv.* – 2009. – V.27, № 1. – p. 30–39.

2. Banat I., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M., Fracchia L., Smyth T., Marchant R. Microbial biosurfactants production, applications and future potential // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – V.87, №2. – p. 427–444.
3. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Волошина И.Н., Карпенко Е.И. Образование поверхностно–активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК–1 на гидрофильных и гидрофобных субстратах // Прикл. биохимия и микробиология, 2004. – Т. 40, № 5. – с. 470–475.
4. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Карпенко Е.В., Антонюк С.И. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на синтез поверхностно-активных веществ // Прикл. биохимия и микробиология, 2009. – Т. 45. №3. – с. 304–310.
5. Подгорский В.С., Иутинская Г.А., Пирог Т.П. Интенсификация технологий микробного синтеза. – Киев, «Наукова думка», 2010. – 327 с.
6. Choi W.J., Hartono M.R., Chan W.H., Yeo S.S. Ethanol production from biodiesel-derived crude glycerol by newly isolated *Kluyvera cryocrescens* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – V.89, №4. – p. 1255-1264.

**SYNTHESIS OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES OF  
ACINETOBACTER CALCOACETICUS K-4 AND RHODOCOCCLUS  
ERYTHROPOLIS EK-1 ON THE GLYCEROL**

Shulyakova M.A., Mashchenko O.Y.

The proposed approaches such as use of glycerol as a cheap substrate and adding of exogenous precursors of biosynthesis may be the basis for the development of economically beneficial industrial technologies of producing of SAS of *A. calcoaceticus* K-4 and *R. erythropolis* EK-1.