



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **25948** (13) **U**
(51) МПК (2006)
C12N 1/02
C12R 1/38 (2007.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

1

(21) u200704739
(22) 27.04.2007
(24) 27.08.2007
(46) 27.08.2007, Бюл. №13, 2007р.
(72) Пирог Тетяна Павлівна, Ігнатенко Сергій Вікторович
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

2

(57) Спосіб одержання поверхнево-активних речовин, що включає культивування *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на рідкому мінеральному середовищі з гексадеканом, який **відрізняється** тим, що початкову концентрацію субстрату у середовищі знижують до 0,2-0,3% і надалі через 5-6 годин здійснюють дрібне внесення гексадекану порціями по 0,3-0,4% до кінцевої концентрації 2,0-2,2%.

Корисна модель належить до біотехнологічної промисловості і стосується одержання поверхнево-активних речовин (ПАР), які можуть бути використані для очистки довкілля від нафти і нафтових забруднень, а також у нафтовидобувній, хімічній, фармацевтичній, харчовій промисловостях.

Відомий спосіб одержання ПАР за допомогою штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 [Пат. 10467 UA, МПК C21N1/02. Штам *Pseudomonas* sp. SP-17 - продуцент позаклітинних біоПАР і біополімеру / Шульга О.М., Карпенко О.В., Елісєєв С.А., Щеглова Р.А., Вільданова-Марцишин Р.І.; Опубл. 25.12.96, Бюл. №4.]

Його недоліком є використання складного мінерального середовища з високим вмістом солей (12г/л) для культивування продуцента, наявність у його складі попередників синтезу ПАР і факторів росту, а також невисокий вихід ПАР від субстрату (до 48%).

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення (прототип) є спосіб одержання ПАР за допомогою *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 [Пат. 16721 UA, МПК - C21N1/02. Спосіб одержання поверхнево-активних речовин / Пирог Т.П., Ігнатенко С.В.; Опубл. 15.08.2006, Бюл. №8], який передбачає культивування бактерій у колбах на рідкому мінеральному середовищі з гексадеканом. Для інтенсифікації синтезу ПАР, використовується посівний матеріал з середини експоненційної фази росту у кількості 9-11% від об'єму середовища.

Недоліком цього способу є занадто висока тривалість культивування продуцента на середовищі з гексадеканом (понад 110 год.) і невелика кількість синтезованих ПАР (умовна концентрація

ПАР не вище 2,0) при масштабуванні процесу (культивування у ферментаторі АК-210).

В основу корисної моделі покладено задачу створення нового способу одержання поверхнево-активних речовин, який скорочує тривалість процесу культивування *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 та приводить до інтенсифікації синтезу ПАР.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб одержання поверхнево-активних речовин включає культивування *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 на рідкому мінеральному середовищі з гексадеканом. Згідно корисної моделі початкову концентрацію субстрату у середовищі знижують до 0,2 - 0,3% і надалі через 5-6 год. здійснюють дрібне внесення гексадекану порціями по 0,3-0,4% до кінцевої концентрації 2,0-2,2%.

Причинно-наслідковий зв'язок між запропонованими ознаками і очікуваним технічним результатом полягає в наступному. Дрібне внесення гексадекану у середовище порціями по 0,3-0,4%, кожні 5-6 год., до кінцевої концентрації 2,0-2,2% дає змогу інтенсифікувати синтез ПАР і скоротити тривалість культивування.

Експериментально доведено, що зниження початкової концентрації гексадекану до 0,2-0,3% з наступним дрібним його внесенням порціями по 0,3-0,4% до кінцевої концентрації 2,0-2,2% дає змогу скоротити майже у два рази тривалість періодичного культивування продуцента і підвищити у три рази умовну концентрацію ПАР.

Спосіб здійснюється наступним чином. Культивування *R. erythropolis* ЕК-1 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): KNO_3 - 1,0; NaCl - 1,0; Na_2HPO_4 - 0,6; KH_2PO_4 -

(19) **UA** (11) **25948** (13) **U**

0,14; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,001 г/л) pH 6,8-7,0. Як посівний матеріал використовують культуру *R. erythropolis* EK-1 з середини експоненційної фази, вирощену на рідкому середовищі з 1,0% (об'ємна частка) гексадекану. Кількість посівного матеріалу становить 10% від об'єму середовища. Початкова концентрація гексадекану у середовищі становить 0,2 - 0,3% (об'ємна частка).

Культивування бактерій здійснюють у ферментаторі АК-210 об'ємом 10 л (робочий об'єм 7 л), при 25°C, упродовж 100 год. На початку процесу культивування швидкість перемішування становить 250 об/хв, витрати повітря 0,2 л/л.хв. У процесі культивування швидкість перемішування підвищують до 380-400 об/хв, а витрати повітря до 1,2 л/л.хв., для підтримання концентрації розчиненого кисню (pO_2) на рівні 50-60% (від насичення повітрям).

Надалі через 5-6 год. культивування здійснюють дробне внесення гексадекану порціями по 0,3 - 0,4% до кінцевої концентрації 2,0 - 2,2%.

Рівень синтезу ПАР визначають за показником умовної концентрації ПАР (ПАР*).

Використання нового способу дає змогу скоротити майже у два рази тривалість культивування (зі 110 до 60 год.) і підвищити у три рази (з 2,0 до 6,3) умовну концентрацію ПАР.

Приклад 1

Культивування *R. erythropolis* EK-1 здійснюють у ферментаторі АК-210 в умовах, описаних вище. Початкова концентрація гексадекану у різних дослідках становить 0,1; 0,2; 0,3; 0,4% (об'ємна частка). Надалі через 7-8 год. культивування здійснюють дробне внесення субстрату порціями по 0,2% до кінцевої концентрації 2,0-2,2%. В одному з варіантів початкова концентрація гексадекану становить 2%.

Умовну концентрацію ПАР визначають як ступінь розведення вільної від клітин культуральної рідини у точці збільшення поверхневого натягу на кривій залежності поверхневого натягу від логарифму значення розведень. Абсциса точки перетину кривої відповідає значенню умовної концентрації ПАР та виражається в безрозмірних одиницях.

Показники синтезу ПАР залежно від початкової концентрації субстрату у середовищі культивування наведено у Таблиці 1.

Таким чином, при внесенні гексадекану на початку культивування у концентрації 0,2-0,3% умовна концентрація ПАР є вищою порівняно з прототипом.

Приклад 2

Культивування *R. erythropolis* EK-1 здійснюють у ферментаторі АК-210 в умовах, описаних вище. Початкова концентрація гексадекану у середовищі становить 0,2% (об'ємна частка). Решту субстрату вносять дробно, порціями по 0,2% до його кінцевої концентрації 2,0-2,2%. Інтервал внесення гексадекану становить 4, 5, 6 та 7 год..

Рівень синтезу поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* EK-1 наведено у Таблиці 2.

Зменшення інтервалів внесення субстрату у середовище до 5 - 6 год. дозволяє активізувати синтез поверхнево-активних речовин і скоротити тривалість процесу біосинтезу.

Приклад 3

Культивування *R. erythropolis* EK-1 здійснюють у ферментаторі АК-210 в умовах, описаних вище. Початкова концентрація гексадекану у середовищі становить 0,2% (об'ємна частка). Решту субстрату вносять порціями, кожні 5-6 год. культивування, до його кінцевої концентрації 2,0-2,2%. Концентрація внесеного дробно гексадекану становить 0,2; 0,3; 0,4 та 0,5%.

Рівень синтезу поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* EK-1 за такого режиму внесення субстрату наведено у Таблиці 3.

Таким чином, при дробному внесенні гексадекану порціями по 0,3 - 0,4% у процесі періодичного культивування *R. erythropolis* EK-1 у ферментаторі АК-210 умовна концентрація ПАР досягає значення 6,3 на 60 год. культивування.

Отже, використання запропонованого способу дає змогу підвищити порівняно з прототипом умовну концентрацію ПАР у три рази (з 2,0 до 6,3) і скоротити у два рази (зі 110 до 60 год.) тривалість культивування продуцента.

Таблиця 1

Залежність синтезу поверхнево-активних речовин штамом *Rhodococcus erythropolis* EK-1 від початкової концентрації гексадекану

Початкова концентрація гексадекану, %	Тривалість культивування, год.	ПАР*
0,1	80	3,6
0,2	80	4,5
0,3	80	4,5
0,4	85	3,8
2,0 (прототип)	110	2,0

Таблиця 2

Залежність синтезу поверхнево-активних речовин штамом
Rhodococcus erythropolis ЕК-1 від режиму внесення гексадекану

Інтервал внесення гексадекану, год.	Тривалість культивування, год.	ПАР*
4	90	4,8
5	65	5,4
6	65	5,4
7	80	4,5

Таблиця 3

Залежність синтезу поверхнево-активних речовин штамом
Rhodococcus erythropolis ЕК-1 від концентрації внесеного дробно гексадекану

Концентрація внесеного дробно гексадекану, %	Тривалість культивування, год.	ПАР*
0,2	65	5,4
0,3	60	6,3
0,4	60	6,3
0,5	90	4,2