



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **44244** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
C12N 1/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ МЕТАБОЛІТІВ З ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИМИ І ЕМУЛЬГУВАЛЬНИМИ ВЛАС-  
ТИВОСТЯМИ**

1

2

(21) u200904008

(22) 23.04.2009

(24) 25.09.2009

(46) 25.09.2009, Бюл.№ 18, 2009 р.

(72) ПИРОГ ТЕТЯНА ПАВЛІВНА, ТАРАСЕНКО  
ДМИТРО ОЛЕКСАНДРОВИЧ, МОРОЗОВА АННА  
ПАВЛІВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ  
ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Спосіб одержання метаболітів з поверхнево-активними і емульгувальними властивостями, що включає культивування *Rhodococcus erythropolis* 1MB Ac-5017 на рідкому середовищі, що містить мінеральні солі і 2 % етанолу як джерела вуглецю і енергії, який **відрізняється** тим, що концентрація етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу становить 1,1-1,3 % (об'ємна частка).

Корисна модель належить до біотехнологічної промисловості і стосується одержання метаболітів з поверхнево-активними і емульгувальними властивостями, які можуть бути використані для очистки довкілля від нафти і нафтових забруднень, а також у нафтовидобувній, хімічній, фармацевтичній, харчовій промисловостях.

Відомий спосіб одержання метаболітів з поверхнево-активними і емульгувальними властивостями 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 і факторів росту, а також невисокий вихід цільового продукту від субстрату (до 48%).

Найбільш близьким до запропонованого технічного рішення (прототип) є спосіб одержання поверхнево-активних речовин (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 недостатньо висока концентрація синтезованих метаболітів з емульгувальними властивостями.

В основу корисної моделі покладено задачу створення нового способу одержання метаболітів з поверхнево-активними і емульгувальними властивостями, який підвищує синтез *R. erythropolis* ЕК-1 емульгатора. Штам *R. erythropolis* ЕК-1 депоновано у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України під номером IMB Ac-5017.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб одержання метаболітів з поверхнево-активними і емульгувальними властивостями включає культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на рідкому середовищі, що містить мінеральні солі і 2% етанолу як джерела вуглецю і енергії. Згідно корисної моделі концентрація етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу становить 1,1-1,3% (об'ємна частка).

Причинно-наслідковий зв'язок між запропонованими ознаками і очікуваним технічним результатом полягає в наступному. Збільшення концентрації етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу до 1,1-1,3% дає змогу підвищити синтез *R. erythropolis* IMB Ac-5017 метаболітів з емульгувальними властивостями (далі по тексту - емульгатор).

Експериментальне доведено, що використання посівного матеріалу, вирощеного на середовищі з 1,1-1,3% етанолу, дає змогу підвищити до 60% індекс емульгування розбавленої у 70 разів культуральної рідини *R. erythropolis* IMB Ac-5017.

(13) **U**

(11) **44244**

(19) **UA**

Спосіб здійснюється наступним чином. Культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 6,8;  $\text{NaOH}$  - 1,0;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 0,6;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,4;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 0,1;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,001; pH 6,8-7,0. Як джерело вуглецю і енергії використовують етанол у концентрації 2% (об'ємна частка). Як посівний матеріал використовують культуру *R. erythropolis* IMB Ac-5017 з середини експоненційної фази (44-48 год росту), вирощену на рідкому середовищі з 1,2% (об'ємна частка) етанолу. Кількість посівного матеріалу становить 5% від об'єму середовища. Культивування здійснюють у колбах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30°C, pH 6,8-7,0 упродовж 120 год.

Використання нового способу дає змогу підвищити індекс емульгування розбавленої у 70 разів культуральної рідини *R. erythropolis* IMB Ac-5017 до 60%.

Приклад 1. Залежність синтезу метаболітів з поверхнево-активними і емульгуючими властивостями від природи джерела вуглецевого живлення у середовищі культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017

Культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі наведеного вище складу. Як джерело вуглецю і енергії використовують гексадекан у концентрації 2% (об'ємна частка) і етанол у концентрації 2,0% (об'ємна частка). Як посівний матеріал використо-

вують культуру *R. erythropolis* IMB Ac-5017 з середини експоненційної фази (44-48 год росту), вирощену на рідкому середовищі з 1,0% (об'ємна частка) етанолу або гексадекану. Концентрація посівного матеріалу становить 5% від об'єму середовища. Культивування здійснюють у колбах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30°C, pH 6,8-7,0 упродовж 168 год.

Синтез ПАР і емульгатора оцінюють за такими показниками: умовна концентрація ПАР (ПАР\*) і індекс емульгування ( $E_{24}$ ) розбавленої у 50 і 70 разів культуральної рідини. Як субстрат для емульгування використовують соняшникову олію. 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 метаболітів з поверхнево-активними і емульгуючими властивостями залежно від природи ростового субстрату у середовищі культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 наведено у табл. 1.

Як видно з наведених даних, за умов росту *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на середовищі з етанолом індекс емульгування розбавленої у 70 разів культуральної рідини є в 1,7-2,5 раза вищим, ніж у процесі культивування на середовищі з гексадеканом.

Таблиця 1

Вплив природи джерела вуглецю і енергії у середовищі культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на синтез ПАР і емульгатора

Джерело вуглецю і енергії	Показники синтезу		
	ПАР*	$E_{24}, \%(1:49)$	$E_{24}, \%(1:69)$
Етанол, 2,0 %	3,4	60	50
Гексадекан, 2,0 %	3,4	40	20
Гексадекан, 2,0 % (прототип)	6,5	65	30

Приклад 2. Вплив концентрації посівного матеріалу на синтез емульгатора *R. erythropolis* IMB Ac-5017.

Культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 здійснюють в умовах, описаних вище. Концент-

рація інокуляту становить 3-10%. Рівень синтезу емульгатора *R. erythropolis* IMB Ac-5017 залежно від концентрації посівного матеріалу наведено у табл. 2.

Таблиця 2

Залежність синтезу емульгатора *R. erythropolis* IMB Ac-5017 від концентрації посівного матеріалу

Концентрація посівного матеріалу, %	$E_{24}, \%(1:49)$	$E_{24}, \%(1:69)$
3	50	35
5	60	50
7	58	40
10	58	35

Індекс емульгування розбавленої у 70 разів культуральної рідини є найвищим за концентрації посівного матеріалу 5%. При подальшому підвищенні концентрації посівного матеріалу не спостерігали збільшення показника індексу емульгування.

Приклад 3. Залежність синтезу емульгатора від концентрації етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу *R. erythropolis* IMB Ac-5017

Культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 здійснюють в умовах, описаних вище. Концент-

рація етанолу у середовищі для одержання інокуляту становить 1,0-1,4% (об'ємна частка).

Рівень синтезу емульгатора *R. erythropolis* IMB Ac-5017 за таких умов культивування наведено у табл.3.

Таблиця 3

Вплив концентрації етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу на синтез емульгатора *R. erythropolis* IMB Ac-5017

Концентрація етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу, %	E <sub>24</sub> ,%(1:49)	E <sub>24</sub> ,%(1:69)	ПАР*
1,0	60	50	3,4
1,1	65	60	3,5
1,2	65	60	3,4
1,3	65	60	3,45
1,4	55	45	3,55

Таким чином, використання посівного матеріалу, вирощеного на середовищі з 1,1-1,3% етанолу, супроводжується підвищенням синтезу метаболітів з емульгувальними властивостями.

Отже, використання запропонованого способу дає змогу підвищити індекс емульгування розбавленої у 70 разів культуральної рідини до 60%.