



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **53109** (13) **U**  
(51) МПК  
**C12R 1/38 (2006.01)**

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

2

(21) u201003192

(22) 19.03.2010

(24) 27.09.2010

(46) 27.09.2010, Бюл. № 18, 2010 р.

(72) ПИРОГ ТЕТЯНА ПАВЛІВНА, АНТОНЮК СВІТЛАНА ІГОРІВНА, ЩЕРБИНА ОЛЕКСІЙ ВІТАЛІЙОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Спосіб одержання поверхнево-активних речовин, що включає культивування *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 на рідкому середовищі, що містить мінеральні солі і 2 % етанолу як джерела вуглецю і енергії, який **відрізняється** тим, що як посівний матеріал використовують культуру, вирощену до кінця експоненційної фази росту на середовищі з 0,9-1,1 % (об'ємна частка) етанолу.

Корисна модель належить до біотехнологічної промисловості і стосується одержання мікробних метаболітів з емульгувальними властивостями (емульгаторів), 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 (12 г/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 ПАР за допомогою *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 [Пат. 40848 UA, МПК - C21N1/00. Штам *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 - продуцент поверхнево-активних речовин /Пирог Т.П., Антонюк С.І., Сорокіна А.І. Опубл. 27.04.2009, Бюл. 8].

Недоліком цього способу є недостатньо висока концентрація синтезованих поверхнево-активних речовин.

В основу корисної моделі покладено задачу створення нового способу одержання ПАР, який підвищує синтез поверхнево-активних речовин.

Штам *A. calcoaceticus* K-4 депоновано у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України за номером IMB B-7241.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб одержання поверхнево-активних речовин включає культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на рідкому середовищі, що містить мінеральні солі і 2 % етанолу як джерела вуглецю і енергії. Згідно корисної моделі як посівний матеріал використовують культуру, вирощену до кінця експоненційної фази росту на середовищі з 0,9-1,1 % (об'ємна частка) етанолу.

Причинно-наслідковий зв'язок між запропонованими ознаками і очікуваним технічним результатом полягає в наступному. Використання посівного матеріалу, вирощеного до кінця експоненційної фази росту на середовищі з 0,9-1,1 % (об'ємна частка) етанолу, дає змогу підвищити синтез ПАР.

Експериментально доведено, що використання посівного матеріалу, вирощеного до кінця експоненційної фази росту на середовищі з 0,9-1,1 % (об'ємна частка) етанолу, дає змогу підвищити умовну концентрацію ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 до 4,2.

Спосіб здійснюється наступним чином. Культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л):  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$  - 0,55; NaCl - 1,0;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  - 0,6;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0,14;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,1;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  - 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 *A. calcoaceticus* IMB B-7241 з кінця експоненційної фази (52-56 год росту), вирощену на

(13) **U**  
(11) **53109**  
(19) **UA**

рідкому середовищі з 1,0 % (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 °С упродовж 120 год.

Використання нового способу дає змогу підвищити до 4,2 умовну концентрацію поверхнево-активних речовин.

Приклад 1. Синтез ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 залежно від фізіологічного стану посівного матеріалу

Культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі наведеного вище складу. Як джерело вуглецю і енергії використовують етанол у концентрації 2 % (об'ємна частка). Як посівний матеріал використовують культуру *A. calcoaceticus* IMB B-7241 з початку (20-24 год), середини (40-44 год) і кінця (52-56 год) експоненційної фази, вирощену на рідкому середовищі з 0,5 % (об'ємна частка) етанолу. 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 °С упродовж 120 год.

Синтез ПАР оцінюють за такими показниками:

- умовна концентрація ПАР, яку використовують для експрес-оцінки кількісного вмісту ПАР у культуральній рідині. Цей показник визначають як ступінь розведення вільної від клітин культуральної рідини у точці збільшення поверхневого натягу на кривій залежності поверхневого натягу від значення розведень. Абсциса точки перетину кривої відповідає значенню умовної концентрації ПАР та виражається в безрозмірних одиницях.

- індекс емульгування, який визначають через 24 год як величину відношення висоти шару емульсії до загальної висоти рідини у пробірці і виражають у процентах. Як субстрат для емульгування використовують соняшникову олію. Індекс емульгування визначають для культуральної рідини, розведеної дистильованою водою у 50 раз.

Показники синтезу ПАР залежно від тривалості вирощування інокуляту наведено у табл. 1.

Як свідчать дані, наведені у табл. 1, за використання посівного матеріалу з кінця експоненційної фази росту показники синтезу ПАР є дещо вищими порівняно з прототипом.

Таблиця 1

Залежність синтезу ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 від фізіологічного стану посівного матеріалу

Фаза росту посівного матеріалу	Показники синтезу ПАР	
	ПАР*	Індекс емульгування розведеної у 50 разів культуральної рідини, %
Початок експоненційної	3,0	70
Середина експоненційної (прототип)	3,9	90
Кінець експоненційної	4,0	90

Приклад 2. Вплив концентрації етанолу у середовищі для одержання інокуляту на синтез ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241

Культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі наведеного вище складу. Як джерело вуглецю і енергії використовують етанол у концентрації 2 % (об'ємна частка). Як посівний матеріал використовують культуру *A. calcoaceticus* IMB B-7241 з кінця експоненційної фази (52-56 год росту), вирощену на рідкому середовищі з 0,5-1,2 % (об'ємна частка) етанолу. Концентрація посівного матеріалу стано-

вить 5 % від об'єму середовища. Культивування здійснюють у колбах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30 °С упродовж 120 год.

Показники синтезу поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 залежно від концентрації етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу наведено у табл. 2.

З даних, наведених у табл. 2, видно, що за концентрації етанолу у середовищі для одержання інокуляту 0,9-1,2 % показник умовної концентрації ПАР є найвищим.

Таблиця 2

Вплив концентрації етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу на синтез ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241

Концентрація етанолу у середовищі для одержання посівного матеріалу, %	ПАР*	E <sub>24</sub> , %
0,5	4,0	90
0,6	4,0	90
0,7	4,0	89
0,8	4,1	90
0,9	4,2	90
1,0	4,2	90
1,1	4,2	90
1,2	4,1	89

Таким чином, використання посівного матеріалу, вирощеного на середовищі з 0,9-1,1 % (об'ємна частка) етанолу, супроводжується підвищенням синтезу поверхнево-активних речовин.

Отже, використання запропонованого способу дає змогу підвищити умовну концентрацію поверхнево-активних речовин до 4,2.