



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **53110** (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) u201003193

(22) 19.03.2010

(24) 27.09.2010

(46) 27.09.2010, Бюл. № 18, 2010 р.

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

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Спосіб одержання поверхнево-активних речовин, що включає культивування *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на рідкому середовищі, що містить етанол, мінеральні солі і сечовину як джерело азотного живлення, який **відрізняється** тим, що концентрація сечовини у середовищі становить 0,29-0,31 г/л, а співвідношення C/N - 56-60.

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 етанол, мінеральні солі і сечовину як джерело азотного живлення. Згідно корисної моделі концентрація сечовини у середовищі становить 0,29-0,31 г/л, а співвідношення C/N - 56-60.

Причинно-наслідковий зв'язок між запропонованими ознаками і очікуваним технічним результатом полягає в наступному. Використання як джерела азотного живлення сечовини у концентрації 0,29-0,31 г/л і підтримання співвідношення C/N на рівні 56-60, дає змогу підвищити синтез ПАР.

Експериментально доведено, що використання як джерела азотного живлення сечовини у концентрації 0,29-0,31 г/л і підтримання співвідношення C/N на рівні 56-60, 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): (NH₂)₂CO - 0,3; NaCl - 1,0; Na₂HPO₄ - 0,6; KH₂PO₄ - 0,14; MgSO₄×7H₂O - 0,1; FeSO₄×7H₂O - 0,001, pH 6,8-7,0. Як джерело вуглецю і енергії

(19) **UA** (11) **53110** (13) **U**

використовують етанол у концентрації 2 % (об'ємна частка). Як посівний матеріал використовують культуру *A. calcoaceticus* IMB B-7241 з середини експоненційної фази (40-44 год росту), вирощену на рідкому середовищі з 0,5 % (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 упродовж 120 год.

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

Приклад 1.

Синтез ПАР залежно від концентрації сечовини у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241

Культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): NaCl - 1,0; Na₂HPO₄ - 0,6; KH₂PO₄ - 0,14; MgSO₄×7H₂O - 0,1; FeSO₄×7H₂O - 0,001, рН 6,8-7,0. Як джерело азотного живлення використовують сечовину у концентрації 0,25-0,60 г/л. Як джерело вуглецю і енергії використовують етанол у концентрації 2 % (об'ємна частка). Як посівний матеріал використовують культуру *A. calcoaceticus* IMB B-7241 з середини (40-44 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 кол-

бах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30 °C упродовж 120 год.

Синтез ПАР оцінюють за показником умовної концентрації ПАР, яку 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. Як критерій оцінки синтезу ПАР використовують також 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 концентрації сечовини у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 наведено у табл. 1.

Як свідчать дані, наведені у табл. 1, за зниження концентрації сечовини у середовищі показник умовної концентрації ПАР підвищується порівняно з прототипом.

Проте слід зазначити, що за зниження концентрації сечовини у середовищі культивування змінюється і співвідношення вуглець/азот, значення якого також впливає на показники синтезу ПАР. Тому на наступному етапі визначали оптимальне для ПАР значення C/N.

Таблиця 1

Залежність синтезу ПАР від концентрації сечовини у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241

Концентрація сечовини, г/л	Показники синтезу ПАР	
	ПАР*	Індекс емульгування розведеної у 50 разів культуральної рідини, %
0,25	4,0	90
0,30	4,2	90
0,35	4,1	88
0,40	4,0	89
0,45	4,0	89
0,50	3,9	90
0,55	3,9	90
0,60	3,8	80

Приклад 2.

Вплив співвідношення C/N у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на синтез ПАР

Культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснюють на рідкому мінеральному середовищі наведеного вище складу. Концентрація сечовини становить 0,28-0,36 г/л, а співвідношення C/N - 50-64. Як джерело вуглецю і енергії використовують етанол у концентрації 2 і 3 % (об'ємна частка). Як посівний матеріал використовують культуру *A. calcoaceticus* IMB B-7241 з середини (40-44 год) експоненційної фази, вирощену на рідкому сере-

довищі 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 °C упродовж 120 год.

Показники синтезу поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 залежно від співвідношення вуглець/азот у середовищі наведено у табл. 2.

З даних, наведених у табл. 2, видно, що за співвідношення C/N 56-60 показник умовної концентрації ПАР є найвищим.

Таблиця 2

Вплив співвідношення С/Н у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB В-7241 на синтез ПАР

Співвідношення С/Н	Концентрація сечовини, г/л	Концентрація етанолу, %	ПАР*
50	0,36	2	4,1
	0,54	3	3,8
56	0,31	2	4,2
	0,47	3	3,9
60	0,29	2	4,2
	0,44	3	3,9
64	0,28	2	4,0
	0,42	3	3,7

Таким чином, зниження концентрації сечовини у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB В-7241 до 0,29-0,31 г/л і підтримання співвідношення С/Н у межах 56-60 супроводжується підвищенням синтезу поверхнево-активних речовин.

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