

УДК 579.841:577.114

PECULIARITIES OF ETHAPOLAN SYNTHESIS ON MIXTURE OF SODIUM ACETATE AND REFINED SUNFLOWER OIL

A. Voronenko, M. Yarosh, T. Pirog
National University of Food Technologies

Key words:

Acinetobacter sp. IMV B-7005 exopolysaccharide, ethapolan, biosynthesis, a mixture of sodium acetate and refined sunflower oil

Article history:

Received 17.04.2019
Received in revised form 26.04.2019
Accepted 17.05.2019

Corresponding author:
yarosh238@gmail.com

ABSTRACT

An effect of the molar ratio and concentration of monosubstrates in the mixture, method of inoculum preparation and cultivation medium composition on synthesis of the microbial exopolysaccharide (EPS) ethapolan under *Acinetobacter* sp. IMV B-7005 cultivation on the mixture of sodium acetate and refined sunflower oil have been explored. The amount of synthesized polysaccharide was determined gravimetrically after isopropanol precipitation. EPS-synthesizing ability was calculated as the ratio of the EPS concentration to concentration of biomass and expressed in g EPS/g biomass. The highest rates of ethapolan synthesis were observed for the molar ratio of acetate and oil concentrations 1.0:0.13 in the mixture, which coincides with theoretical calculations. At concentrations 1.0 % of acetate and 0.5% of oil the amount of synthesized EPS was 4.3—4.5 g/l. However, under such cultivation conditions, due to transport of sodium acetate by symport with proton, culture liquid pH increasing from 7 to 9.5 has been observed, which was not optimal for the ethapolan synthesis. Replacement of sodium nitrate with an equimolar by nitrogen concentration of NH_4Cl (0.8 g/l), which is transported to the cells by antiport with proton, decreasing the content of alkaline component (KOH) in the medium allowed to reduce pH by only 0.2—0.3 units. At the same time, reducing sodium and acetate concentrations in the mixture to 0.5 % and 0.25 % or decreasing of KH_2PO_4 concentration (up to 3.4 g/l) with the simultaneous exclusion of its composition of KOH in medium for ethapolan biosynthesis have been accompanied by maintaining the pH of the culture liquid at the level of 7.7—7.9 and ensured the maximum conversion of carbon from both substrates to the EPS. Other options for keeping pH at the optimal level (7.0—8.0) for ethapolan synthesis during growth of the producer on the mixture of increased concentrations of sodium acetate and oil have been discussed.

DOI: 10.24263/2225-2916-2019-25-4

ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ЕТАПОЛАНУ НА СУМІШІ АЦЕТАТУ НАТРІЮ ТА РАФІНОВАНОЇ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ

А. А. Вороненко

М. Б. Ярош

Т. П. Пирог, д-р біол. наук

Національний університет харчових технологій

У статті досліджено вплив молярного співвідношення та концентрації моно-субстратів у суміші, способу підготовки посівного матеріалу та складу поживного середовища на синтез мікробного екзополісахариду (ЕПС) етаполану при вирощуванні *Acinetobacter sp. IMB B-7005* на суміші ацетату натрію та рафінованої соняшникової олії. Кількість синтезованого полісахариду визначали ваговим методом після осадження ізопропанолом. ЕПС-синтезувальну здатність визначали як відношення кількості синтезованого полісахариду до біомаси та виражали у г ЕПС/г біомаси. Найвищі показники синтезу етаполану спостерігались за молярного співвідношення концентрацій ацетату та олії у суміші 1,0:0,13, що збігається з теоретично розрахованим.

Ключові слова: *Acinetobacter sp. IMB B-7005*, екзополісахарид, етаполан, біо-синтез, суміш ацетату натрію та рафінованої соняшникової олії.

Постановка проблеми. Мікробні екзополісахариди (ЕПС) — це високомолекулярні екзогенні продукти метаболізму мікроорганізмів вуглеводної природи, які завдяки своїм функціональним властивостям широко використовуються в різноманітних галузях промисловості (харчовій, нафтовидобувній, фармацевтичній тощо) [2; 4; 17].

На сьогодні для отримання даних практично цінних сполук в основному використовують дорогі вуглеводні моносубстрати (сахароза, глюкоза тощо), які в деяких випадках вдається замінити на альтернативну дешеву сировину (м'яса, стічні води різноманітних виробництв тощо) [3; 5; 7; 10].

Серед відомих у світі продуцентів ЕПС вигідно вирізняється штам *Acinetobacter sp. IMB B-7005*, який здатний синтезувати мікробний полісахарид етаполан на широкому наборі різноманітних C₂—C₆-субстратів (вуглеводи, етанол, ацетат, органічні кислоти) [17]. Нещодавно було показано можливість його одержання на рафінованих і відпрацьованих рослинних оліях (соняшникової, кукурудзяній, оливковій та рапсовій) [15].

Одним із підходів до інтенсифікації технологій мікробного синтезу є використання суміші ростових субстратів [1; 17]. Так, культивування мікроорганізмів на суміші ростових субстратів дає змогу уникнути непродуктивних витрат вуглецю й енергії, які мають місце за використання моносубстратів, а також підвищити ефективність трансформації вуглецю субстратів у біомасу та інтенсифікувати синтез вторинних метаболітів. Варто зазначити, на сьогодні наявні лише поодинокі повідомлення щодо одержання мікробних ЕПС на змішаних субстратах [3; 6; 11; 12].

У [17] показано можливість інтенсифікації синтезу етаполану на суміші енергетично нерівноцінних (етанол і глюкоза, фумарат і глюкоза) та енергетично дефіцитних (ацетат і глюкоза) ростових субстратах. Подальші дослідження дали змогу замінити глюкозу у змішаних C₂-C₆-субстратах на м'ясу — побічний продукт цукрового виробництва [14; 16].

Нещодавно також доведено можливість одержання етаполану на суміші м'яса та соняшникової олії (рафінованої або різних типів відпрацьованої) [8].

Варто зазначити, що культивування штаму ІМВ В-7005 на соняшниковій олії у суміші з м'ясою супроводжувалось зниженням ЕПС-синтезувальної здатності у 2 рази порівняно з використанням моносубстрату олії. Ми припустили, що вирішити цю проблему можна за рахунок використання у суміші з олією іншого енергетично дефіцитного субстрату, який не містить у своєму складі азоту, зокрема ацетату. Так, раніше показано, що при його використанні у суміші з глюкозою ЕПС-синтезувальна здатність досягала майже 20 г ЕПС/г біомаси [17].

Мета статті: дослідити особливості синтезу етаполану на суміші ацетату та рафінованої соняшникової олії.

Матеріали і методи. Як об'єкт досліджень використовували ЕПС-синтезувальний штам *Acinetobacter* sp. 12S, депонований в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології Національної академії наук України за номером ІМВ В-7005.

Штам ІМВ В-7005 вирощували у рідких мінеральних середовищах наступного складу (г/л):

1. Базове середовище: KH_2PO_4 — 6,8; KOH — 0,9; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ — 0,4; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; NH_4NO_3 — 0,6; $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ — 0,001. В одному з варіантів NH_4NO_3 замінювали на еквімолярну за нітрогеном концентрацію NH_4Cl (0,8 г/л).

2. Модифіковане середовище: KH_2PO_4 — 3,4—1,7; KOH — 0,9-0; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ — 0,4; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; NH_4Cl — 0,8; $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ — 0,001. У середовище додатково вносили 0,5% (об'ємна частка) дріжджового автолізу, а також мультівітамінний комплекс «Комплевіт» в концентрації 0,00085% (масова частка в перерахунку на пантотенат). Штам ІМВ В-7005 є ауксотрофом за пантотенатом [17].

Як джерело вуглецю та енергії використовували суміш ацетату натрію (масовою часткою 0,5—1,0%) та рафіновану соняшникову олію (об'ємною часткою 0,15—0,7%).

Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту (18—24 год), вирощену на середовищі, що містило як джерело вуглецю й енергії рафіновану соняшникову олію (0,5%), ацетат натрію (0,5%), а також суміш ацетату натрію (0,25%) та соняшникової олії (0,25%). Концентрація інкуляту становила 10%.

Культивування штаму ІМВ В-7005 здійснювали в колбах (750 мл) із 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при температурі 30°C упродовж 120 год. Концентрацію біомаси визначали за оптичною густиною клітинної суспензії з перерахунком на суху біомасу згідно з калібрувальним графіком.

Кількість синтезованого етаполану визначали ваговим методом. Для цього до певного об'єму культуральної рідини (зазвичай 10—15 мл) додавали 1,5—2 об'єми ізопропанолу, осад ЕПС промивали чистим ізопропанолом і висушували при кімнатній температурі упродовж 24 год. ЕПС-синтезувальну здатність розраховували як відношення концентрації ЕПС до концентрації сухої біомаси та виражали у г ЕПС / г біомаси.

Теоретичний вихід ЕПС від субстрату розраховували з урахуванням таких припущень: 1) 50% вуглецю субстратів окислюється з метою одержання енергії («холосте окислення»); 2) до складу біомаси та етаполану входить по 50% вуглецю [17]; 3) рафінована соняшникова олія містить 50% лінолевої та 50% олеїнової вищих жирних кислот [9]; 4) вміст азоту у біомасі становить 10%.

Так, наприклад, з 1% (10 г/л) ацетату натрію (вміст вуглецю 2,93 г/л) та 0,5% (5 г/л) олії (вміст вуглецю 3,84 г/л) з урахуванням «холостого окислення» можна отримати сумарно 6,77 г/л ЕПС та біомаси. Враховуючи, що за використання 0,6 г/л NH_4NO_3 (вміст азоту 0,21 г) або еквімолярної за азотом концентрації NH_4Cl (0,8 г/л) рівень біомаси становить 2,1 г/л, максимальна концентрація ЕПС дорівнює 4,67 г/л.

Статистичну обробку даних проводили за Лакіним [13]. Результати досліджень згідно з *t*-критерієм Стьюдента виявилися статистично достовірними при 5-відсотковому рівні значимості.

Результати досліджень. У попередніх дослідженнях на основі теоретичних розрахунків енерговитрат на синтез ЕПС і біомаси було встановлено, що оптимальне молярне співвідношення концентрацій енергетично дефіцитного (ацетат) та надлишкового (соняшникова олія) субстратів становить 1:0,13.

Варто зазначити, що всі теоретичні розрахунки повинні супроводжуватися проведенням відповідних експериментів. Зважаючи на це, на першому етапі роботи досліджували синтез етаполану за різних молярних співвідношень концентрацій ацетату натрію та рафінованої соняшникової олії у суміші

Оскільки у попередніх дослідженнях [17] встановлено позитивний вплив катіонів Na^+ на синтез етаполану при вирощуванні продуцента на суміші ацетату та глюкози, в експериментах у суміші з олією використовували ацетат натрію. Припускається, що катіони Na^+ необхідні для генерації протонрушійної сили, яка використовується для активного транспорту ацетату в клітини штаму ІМВ В-7005 [17].

Оскільки показники синтезу цільового продукту на суміші субстратів залежать від способу підготовки інокуляту, досліджували вплив природи джерела вуглецю у середовищі для одержання інокуляту на синтез етаполану.

Як видно з наведених у *табл. 1* даних, показники синтезу етаполану не залежали від способу підготовки інокуляту, а максимальна концентрація ЕПС (4,3—4,5 г/л) досягалася за теоретично розрахованого молярного співвідношення концентрацій моносубстратів у суміші, рівного 1,0:0,13.

Таблиця 1. Вплив молярного співвідношення концентрацій ацетату натрію та рафінованої соняшникової олії у суміші та способу підготовки інокуляту на синтез етаполану

Субстрат для одержання інокуляту, %	Концентрація субстратів у середовищі для біосинтезу, %		Молярне співвідношення ацетату та олії	$\text{pH}_{\text{кін}}$	ЕПС, г/л
	ацетат натрію	олія			
Ацетат, 0,5	1,0	0,3	1:0,08	9,4	2,91±1,15
	1,0	0,5	1:0,13*	9,5	4,30±0,21
	1,0	0,7	1:0,18	9,5	4,00±0,20
Олія, 0,5	1,0	0,3	1:0,08	9,4	2,96±0,20
	1,0	0,5	1:0,13*	9,4	4,43±0,22
	1,0	0,7	1:0,18	9,4	3,69±0,18
Ацетат, 0,25, та олія, 0,25	1,0	0,3	1:0,08	9,5	2,34±0,12
	1,0	0,5	1:0,13*	9,5	4,49±0,22
	1,0	0,7	1:0,18	9,6	2,85±0,14

Примітки. * — теоретично розраховане оптимальне молярне співвідношення концентрації моносубстратів у суміші — 1:0,13. Концентрація NH_4NO_3 у середовищі для підготовки посівного матеріалу та біосинтезу становила 0,6 г/л.

Зазначимо, що в усіх варіантах досліджень спостерігалось підвищення pH культуральної рідини з нейтрального на початку культивування до 9,4—9,5 під

кінець процесу (див. табл. 1), що є неоптимальним для синтезу етаполану (оптимум рН 7,0-8,0). Таке підвищення рН середовища зумовлене особливостями споживання ацетату натрію, зокрема транспортом його у клітини продуцента симпортом з протоном [17].

Раніше [17] було встановлено, що реологічні властивості розчинів етаполану залежать від значення рН. Так, при рН 9,0—9,5 спостерігалось різке зниження кінематичної в'язкості розчинів ЕПС, зумовлене дезаціюванням структурних ланок полісахариду.

У зв'язку з цим на наступному етапі роботи досліджували можливість підтримання рН культуральної рідини у процесі вирощування штаму ІМВ В-7005 на суміші ацетату натрію і олії на рівні, оптимальному для синтезу етаполану.

Зокрема, було висловлене припущення, що заміна джерела азотного живлення у середовищі культивування продуцента етаполану на еквімолярну за нітрогеном концентрацію NH_4Cl , асиміляція якого відбувається симпортом з протоном та супроводжується підкисленням культуральної рідини, дасть змогу уникнути надлишкового залуження культуральної рідини.

Проте результати показали, що заміна джерела азоту не тільки не супроводжувалася зниженням рН культуральної рідини, яке залишалося на рівні 9,0—9,3, а й в деяких випадках призвела до зниження показників синтезу ЕПС (табл. 2). У той же час у разі використання олії як джерела вуглецю для одержання інкуляту спостерігали підвищення концентрації синтезованого етаполану і ЕПС-синтезувальної здатності до максимально можливого рівня (4,6 г/л і 1,8 г ЕПС/г біомаси відповідно) для такої концентрації субстратів. У зв'язку з цим у подальших експериментах посівний матеріал вирощували на рафінованій олії.

Таблиця 2. Синтез етаполану за умов росту штаму ІМВ В-7005 на середовищі з хлоридом амонію, ацетатом натрію та рафінованою олією

Субстрат для одержання інкуляту, %	Концентрація субстратів у середовищі для біосинтезу, %		рН _{кін}	ЕПС, г/л	ЕПС-синтезувальна здатність, г ЕПС / г біомаси
	ацетат натрію	олія			
Ацетат, 0,5	1,0	0,3	9,2	2,94±0,15	0,84±0,04
	1,0	0,5*	9,2	3,85±0,19	1,19±0,06
	1,0	0,7	9,3	3,75±0,19	1,01±0,05
Олія, 0,5	1,0	0,3	9,0	4,12±0,21	1,41±0,07
	1,0	0,5*	9,1	4,60±0,23	1,88±0,09
	1,0	0,7	9,2	4,53±0,23	1,83±0,09
Ацетат, 0,25, та олія, 0,25	1,0	0,3	9,2	2,34±0,11	0,52±0,03
	1,0	0,5*	9,2	2,78±0,14	0,97±0,05
	1,0	0,7	9,3	2,69±0,13	0,74±0,04

Примітки. * — теоретично розраховане оптимальне молярне співвідношення концентрації моносубстратів у суміші — 1:0,13. Концентрація NH_4Cl у середовищі для підготовки посівного матеріалу та біосинтезу становила 0,8 г/л.

Загалом ефект від заміни джерела азоту виявився незначним і дав змогу знизити рН всього на 0,2—0,3 одиниці. На нашу думку, такі результати головним чином зумовлені достатньо високою концентрацією у суміші ацетату натрію (1,0%), споживання якого супроводжується значним підвищенням рН, яке не може бути компенсоване асиміляцією наявної у середовищі кількості хлориду амонію. У той же час подальше підвищення концентрації джерела азотного живлення є недоцільним, оскільки при цьому буде зменшуватись співвідношення C/N, що негативно впливатиме на синтез екзополісахаридів [17].

Враховуючи наведені вище результати, припустили, що знизити рН культуральної рідини можна за рахунок пропорційного зменшення концентрації ацетату та олії в середовищі культивування. З цією метою у подальших дослідженнях знижували вдвічі концентрацію моносубстратів у суміші, зберігаючи при цьому їх відповідні молярні співвідношення.

Дійсно, за концентрації ацетату натрію у суміші 0,5% рН культуральної рідини знижувалося і перебувало в межах 7,7—7,8 (табл. 3). Проте за таких умов спостерігали і неминуче зниження концентрації ЕПС, яке хоча й було максимально можливим для даних концентрацій моносубстратів, але перебувало на вкрай низькому рівні (2—2,7 г/л).

Таблиця 3. Вплив концентрації моносубстратів у суміші на синтез етаполану

Концентрація субстратів у середовищі для біосинтезу, %		Молярне співвідношення ацетату та олії	рН _{кін}	ЕПС, г/л	ЕПС-синтезувальна здатність, г ЕПС / г біомаси
ацетат натрію	олія				
0,5	0,15	1:0,08	7,8	2,19±0,11	1,97±0,10
0,5	0,25	1:0,13*	7,7	2,30±0,17	2,69±0,13
0,5	0,35	1:0,18	7,7	2,23±0,11	1,68±0,09
0,5	0,45	1:0,23	7,8	2,27±0,11	1,31±0,07
0,5	0,55	1:0,28	7,8	2,70±0,14	1,22±0,06

Примітки. * — теоретично розраховане оптимальне співвідношення концентрацій моносубстратів у суміші 1:0,13. Концентрація NH_4Cl у середовищі для підготовки посівного матеріалу та біосинтезу становила 0,8 г/л. Посівний матеріал вирощували на рафінованій олії (0,5%).

Оскільки конкурентоспроможність технологій одержання практично цінних продуктів мікробного синтезу значною мірою залежить від концентрації цільового продукту, на наступному етапі досліджень вирощування продуцента етаполану здійснювали на середовищі з вищою концентрацією ацетату натрію і олії (1,0 і 0,5% відповідно), але зі складу якого виключили лужну складову (КОН). Дійсно, за таких умов культивування рН культуральної рідини вдалося знизити до 6,1, але при цьому спостерігали зниження синтезу ЕПС порівняно з показниками культивування штаму ІМВ В-7005 на середовищі з КОН. Тому на наступному етапі досліджували синтез ЕПС на модифікованому середовищі, в якому одночасно знижували вміст KH_2PO_4 з 6,8 до 1,7—3,4 г/л, а концентрацію КОН — з 0,9 до 0—0,45 г/л.

Встановлено, що виключення з базового поживного середовища КОН та зменшення вдвічі (до 3,4 г/л) концентрації KH_2PO_4 , супроводжувалось зниженням рН культуральної рідини до оптимального для синтезу ЕПС рівня (7,8—7,9). За таких умов концентрація ЕПС (4,7 г/л) і ЕПС-синтезувальна здатність (2 г ЕПС/г біомаси) були максимально можливими для такої концентрації моносубстратів, проте залишалися нижчими порівняно з показниками на суміші ацетату та глюкози (меляси) [16; 17].

Очевидно, що для подальшого підвищення концентрації ЕПС необхідно збільшувати вміст ацетату натрію і олії у суміші, але при цьому підтримувати рН на оптимальному рівні. Досягти цього можна кількома способами, які були реалізовані нами раніше у процесі вирощування продуцента етаполану на суміші ацетату і меляси [17]. Так, наприклад, дробне внесення субстратів дало змогу підвищити ЕПС-синтезувальну здатність на 15—45%, підтримання значень культуральної рідини на рівні 7,0 супроводжувалось підвищенням кількості синтезованого етаполану на 16—25%. Проте пізніше [14] було встановлено, що

використання HCl для підкислення культуральної рідини призводило до значного накопичення в ній NaCl та зниження в'язкості розчинів етаполану. Проблему вдалося усунути, замінивши HCl на водорозчинні органічні кислоти, які є інтермедіатами циклу трикарбонових кислот (лимонна, бурштинова та щавлева). Варто зазначити, що такий підхід може використовуватись не тільки для регуляції pH, але й інтенсифікації синтезу етаполану за рахунок залучення цих кислот до глікосилатного циклу та глюконеогенезу. Так, використання органічних кислот для нейтралізації pH на середовищі з ацетатом та мелясою дало змогу підвищити концентрацію етаполану та ЕПС-синтезувальну здатність на 20—26% порівняно з вирощуванням штаму ІМВ В-7005 на середовищі без регуляції pH [14].

Таблиця 4. Синтез етаполану на модифікованому середовищі з ацетатом натрію та рафінованою олією

Концентрація ацетату натрію та олії у суміші, %		Молярне співвідношення ацетату натрію і олії	pH _{кін}	ЕПС, г/л	Біомаса, г/л
ацетат натрію	олія				
1,0	0,3	1:0,08	7,9	4,0±0,20	2,00±0,10
1,0	0,5	1:0,13*	7,8	4,7±0,23	2,00±0,10
1,0	0,7	1:0,18	7,8	4,5±0,22	1,78±0,09

Примітки. * — теоретично розраховане оптимальне співвідношення концентрацій моно-субстратів у суміші 1:0,13. Концентрація NH₄Cl у середовищі для підготовки посівного матеріалу та біосинтезу становила 0,8 г/л. Середовище для біосинтезу ЕПС не містило KOH, а вміст KН₂PO₄ становив 3,4 г/л. Посівний матеріал вирощували на рафінованій олії (0,5 %).

Оскільки транспортні системи штаму ІМВ В-7005 є пристосованими до асиміляції ацетату, для регуляції pH також можна використовувати оцтову кислоту. Показано, що незалежно від концентрації ацетату натрію та меляси у суміші підкислення середовища оцтовою кислотою дало змогу у 1,5 раза підвищити концентрацію етаполану [14].

Висновки. У результаті проведених досліджень встановлено, що найвища концентрація ЕПС досягалась за теоретично розрахованого співвідношення концентрацій ацетату натрію та олії у суміші (1:0,13) і використанні інкуляту, вирощеного на рафінованій олії.

Заміна NH₄NO₃ у середовищі для культивування на еквімолярну за нітрогеном концентрацію NH₄Cl, зниження вмісту KН₂PO₄ у два рази (до 3,4 г/л) при виключенні зі складу середовища KOH, або зниження вдвічі концентрацій моно-субстратів у суміші дало змогу запобігти надмірному підлученню культуральної рідини, спричиненому транспортом ацетату в клітини продуцента симпортом з протоном, а також забезпечити максимальний ступінь трансформації вуглецю обох субстратів в етаполан.

ЛІТЕРАТУРА

1. Babel W. Mixed substrate utilization in microorganisms: biochemical aspects and energetics / W. Babel, R. H. Müller // J. Gen. Microbiol. — 1985. — Vol. 131, № 1. — P. 39—45.
2. Editorial microbial exopolysaccharides from genes to application / J. Schmid, J. Farina, B. Rehm, V. Sieber // Front. Microbiol. — 2016. — Vol. 7. — P. 306—308.
3. Efficient production of pullulan by *Aureobasidium pullulans* grown on mixtures of potato starch hydrolysate and sucrose / C. An, S. Ma, F. Chang, W. Xue // Brazilian J. Microbiol. — 2017. — Vol. 48. — P. 180—185.
4. Freitas F. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications / F. Freitas, V. D. Alves, M. Reis // Trends Biotechnol. — 2011. — Vol. 29, № 8. — P. 388—398.

5. Mishra B. Selection and utilization of agro-industrial waste for biosynthesis and hyperproduction of pullulan: a review / B. Mishra, D. Zamare, A. Manikanta // *Biosynth. Technol. Env. Challeng.* — 2018. — P. 89—103.
6. Petrovici A. R. Effects of culture medium composition on biosynthesis of exopolysaccharides / I. Roca, G. Dodi // *Cellulose Chem. Technol.* — 2017. — Vol. 51, № 10. — P. 821—830.
7. Pirog T. P. Exopolysaccharides synthesis on industrial waste / M. O. Ivakhniuk, A. A. Voronenko // *Biotechnol. Acta.* — 2016. — Vol. 9, № 2. — P. 7—18.
8. Pirog T. P. Intensification of microbial exopolysaccharide ethapolan biosynthesis on mixture of molasses and sunflower oil / M. O. Ivakhniuk, A. A. Voronenko // *Biotechnol. Acta.* — 2017. — Vol. 10, № 4. — P. 25—33.
9. Ratledge C. Biodegradation of oils, fats and fatty acids. In: *Biochem. microbial degradation* / C. Ratledge — Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. — P. 590.
10. Sadh P. Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review / P. Sadh, S. Duhan, J. S. Duhan // *Bioresour. Bioprocess.* — 2018. — Vol. 5, № 1. — P. 15.
11. Trabelsi L. Evaluation of *Arthrospira platensis* extracellular polymeric substances production in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions / H. B. Ouada, F. Zili // *Folia Microbiol.* — 2013. — Vol. 58. — P. 39—45.
12. Yu H. Effect of mixed carbon substrate on exopolysaccharide production of cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* in mixotrophic cultures / H. Yu // *J. Appl. Phycol.* — 2012. — Vol. 24. — P. 669—673.
13. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. — Москва: «Высшая школа», 1990. — 352 с.
14. Пирог Т. П. Вплив органічних кислот на синтез мікробного полісахариду етаполану на суміші C₂-C₆ субстратів / О. М. Савчук, С. О. Гарбарчук // *Харчова промисловість.* — 2012. — № 13. — С. 61—65.
15. Пирог Т. П. Микробный синтез экзополисахарида етаполана на различных видах отработанных растительных масел / Н. А. Ивахнюк, А. А. Вороненко // *Вес. Нац. Акад. Навук Беларусі. Сер. Біял. Навук.* — 2017. — № 2. — С. 87—93.
16. Пирог Т. П. Синтез полісахариду етаполану на суміші ацетату і м'ясяи залежно від умов культивування *Acinetobacter* sp. B-7005 / Г. О. Іванушкіна, С. О. Гарбарчук // *Наукові праці НУХТ.* — 2011. — № 37—38. — С. 42—46.
17. Підгорський В. С. Інтенсифікація технологій мікробного синтезу / В. С. Підгорський, Г. О. Іутинська, Т. П. Пирог. — Київ: Наук. думка, 2010. — С. 327.

ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА ЭТАПОЛАНА НА СМЕСИ АЦЕТАТА НАТРИЯ И РАФИНИРОВАННОГО ПОДСОЛНЕЧНОГО МАСЛА

А. А. Вороненко, М. Б. Ярош, Т. П. Пирог
Национальный университет пищевых технологий

*В статье исследовано влияние молярного соотношения и концентрации моно-субстратов в смеси, способа подготовки посевного материала и состава питательной среды на синтез микробного экзополисахарида (ЭПС) этаполана при выращивании *Acinetobacter* sp. ИМВ В-7005 на смеси ацетата натрия и рафинированного подсолнечного масла. Количество синтезированного полисахарида устанавливали весовым методом после осаждения изопропанолом. ЭПС-синтезирующую способность определяли как отношение количества синтезированного полисахарида к биомассе и выражали в г ЭПС / г биомассы. Наиболее высокие показатели синтеза этаполана наблюдались при молярном соотношении концентраций ацетата и масла в смеси 1,0:0,13, что совпадает с теоретически рассчитанным.*

Ключевые слова: *Acinetobacter* sp. ИМВ В-7005 экзополисахарид, этаполан, биосинтез, смесь ацетата натрия и рафинированного подсолнечного масла.