

УДК 661.185:544.77.051.62

О.В. КАРПЕНКО, В.А. ВОЛОШИНЕЦ, А.П. ГРАБАРОВСКАЯ, И.В. СЕМЕНЮК,  
А.Я. КАРПЕНКО

## КОЛЛОИДНО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОДУКТОВ БИОСИНТЕЗА ШТАММА *PSEUDOMONAS SP. PS-17*

Отделение физико-химии горючих ископаемых ИнФОРУ им. Л.М. Литвиненка НАН Украины, г. Львов  
Национальный университет "Львівська політехніка", г. Львов  
ПРАТ "УНДИПП им. Т.Г. Шевченка", г. Львов

Изучены коллоидно-химические свойства биогенных ПАВ – супернатанта культуральной жидкости и биокомплекса – продуктов биосинтеза штамма *Pseudomonas sp. PS-17*. Установлено, что критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) и минимальные значения поверхностного натяжения зависят от pH среды. Изученные коллоидно-химические свойства водных растворов продуктов биосинтеза свидетельствуют о том, что и супернатант культуральной жидкости и биокомплекс относятся к ПАВ смешанного типа – анионно-неионогенным.

В настоящее время большое внимание исследователей привлекают поверхностно-активные вещества природного происхождения – биогенные ПАВ (биоПАВ), а также их композиции [1]. Известно, что такие ПАВ эффективны при различных температурах, в широком диапазоне pH и концентраций солей. В отличие от синтетических, биоПАВ характеризуются низкой токсичностью, биodeградельностью [2,3], что обуславливает перспективу их использования в экологически безопасных технологиях, в частности, в различных

моющих композициях.

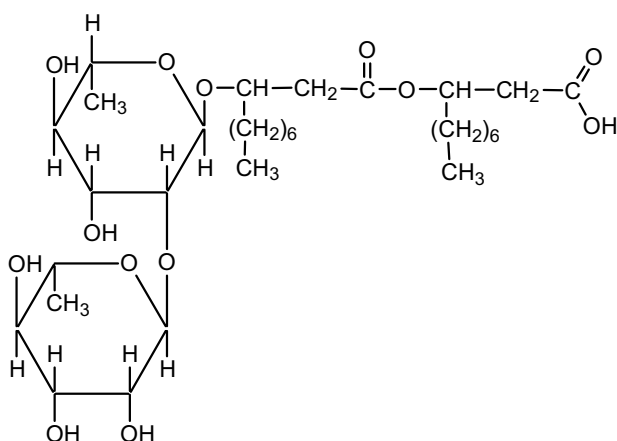
Исходя из вышеизложенного, в представленной работе исследовали коллоидно-химические свойства биоПАВ – продуктов биосинтеза бактериального штамма *Pseudomonas sp. PS-17*: супернатанта культуральной жидкости (СКЖ) и поверхностно-активного биокомплекса [4,5,6].

СКЖ является первичным продуктом биосинтеза штамма *Pseudomonas sp. PS-17* и представляет собой природный раствор поверхностно-активных метаболитов и других компонентов, не

содержащий микробных клеток. Основными компонентами СКЖ, определяющими его свойства, являются рамнолипиды (7 г/л), экзополисахариды (4 г/л), биокомплекс (рамнолипиды+полисахариды), а также сопутствующие вещества (соли, жирные кислоты и т.д.).

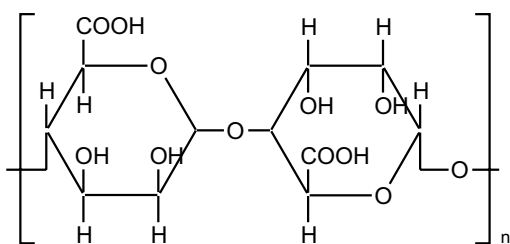
Важнейшими продуктами биосинтеза являются гомологичные рамнолипиды, в состав которых входят остатки углевода рамнозы и 1-*b*-оксидекановой кислоты. Наибольшую поверхностную активность проявляет дирамнолипид, содержащий два рамнозных остатка [7].

*Дирамнолипид*



Штамм *Pseudomonas sp. PS-17* синтезирует также внеклеточный биополимер — полисахарид альгинатной природы. Молекулярная масса полисахарида лежит в пределах 300–400 кДа. Показано, что по строению, полученный полисахарид является полиуронидом блочной структуры:  $\alpha$ -С-С-связанный линейный сополимер  $\beta$ -D-мануроновой кислоты и ее 5-эпимера  $\alpha$ -L-гулууроловой кислоты).

*Полисахарид*



Установлено, что внеклеточные рамнолипиды и биополимер штамма *Pseudomonas sp. PS-17* образуют уникальную природную композицию — поверхностно-активный комплекс. Очевидно, роль биополимера заключается в способности адсорбировать и концентрировать молекулы рамнолипидов, что способствует созданию активных структур, предопределяющих разнообразные функциональные характеристики биопрепаратов [7].

Поверхностное натяжение определяли сталагмометрическим методом. Для этого использовали сталагмометр с хорошо отшлифованной поверхностью, от которой в момент измерения отделялась капля жидкости за 30–60 с, что обеспечивало равновесное состояние капель в момент их отделения от сталагмометра.

Поверхностное натяжение водных растворов биоПАВ рассчитывали по формуле

$$\sigma_x = \sigma_{H_2O} \frac{n_{H_2O}}{n_x}$$

где  $\sigma_x$  — поверхностное натяжение водных растворов ПАВ;  $\sigma_{H_2O}$  — поверхностное натяжение воды, 72,75 мН/м;  $n_x$  — количество капель водного раствора биоПАВ в объеме жидкости между метками 1 и 2;  $n_{H_2O}$  — количество капель воды в объеме жидкости между метками 1 и 2.

Ошибка измерения не превышала 5% при доверительной вероятности 95%.

Кислотно-основные свойства водных растворов биоПАВ регулировали внесением карбоната натрия и 0,1 N раствора соляной кислоты. Измерение рН осуществляли при помощи иономера ЭВ-74.

Потенциометрическое титрование 2 мас. % раствора дирамнолипида осуществляли 0,1 N раствором гидроксида натрия. Объем раствора дирамнолипида — 10 мл.

Электронные спектры поглощения растворов СКЖ и биокомплекса с родамином 6 Ж снимали на спектрофотометре «Shimadzu UV-1240 mini».

Графическим методом по точке пересечения прямых в координатах  $\sigma$ –lnC определяли значения ККМ.

Зависимость поверхностного натяжения водных растворов СКЖ и биокомплекса от концентрации чего изменялась экспоненциально, и, при достижении концентраций  $\approx 0,03$ – $0,04$  мас. % достигала минимальных значений, что свидетельствует об образовании насыщенного слоя ПАВ на межфазной границе жидкость-воздух (табл. 1, рис. 1, 2).

Согласно представленных изотерм поверхностного натяжения (рис. 1,2), ККМ и минимальное поверхностное натяжение ( $\sigma_{min}$ ) зависят от двух факторов — концентрации ПАВ и рН среды.

Графическая зависимость ККМ от рН среды состоит из трех участков, как для растворов СКЖ так и для растворов биокомплекса (рис. 3). На первом участке (рН=5–7) значения ККМ мало зависят от рН, на втором участке (рН=7–9) наблюдается резкое увеличение ККМ пропорционально зависящее от рН, на третьем — ККМ сохраняет постоянное значение.

Для объяснения установленных зависимостей осуществляли потенциометрическое титрование водного раствора дирамнолипида, содержащего карбоксильную группу, раствором гидроксида

натрия (рис. 4). Дираннолипид является компонентом СКЖ и биокомплекса, проявляет поверхностную активность [4]. На кривой потенциометрического титрования водного раствора дираннолипида имеет место скачок в области  $pH=7,6-10,3$ , с точкой эквивалентности  $pH=9,3$  (рис. 4), что совпадает со скачком на зависимости ККМ от  $pH$  СКЖ и биокомплекса (рис. 3). Очевидно, что полная нейтрализация карбоксильной группы сопровождалась значительными изменениями гидрофильно-липофильного баланса в молекулах биоПАВ, влияющих на их агрегацию в мицеллы.

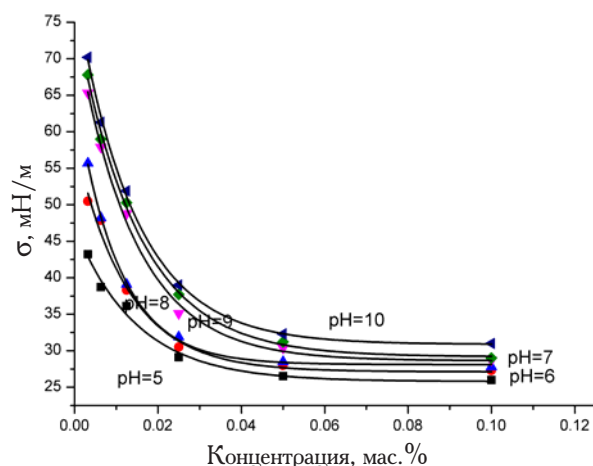


Рис. 1. Зависимость поверхностного натяжения водного раствора СКЖ от концентрации, мас. % при различных  $pH$

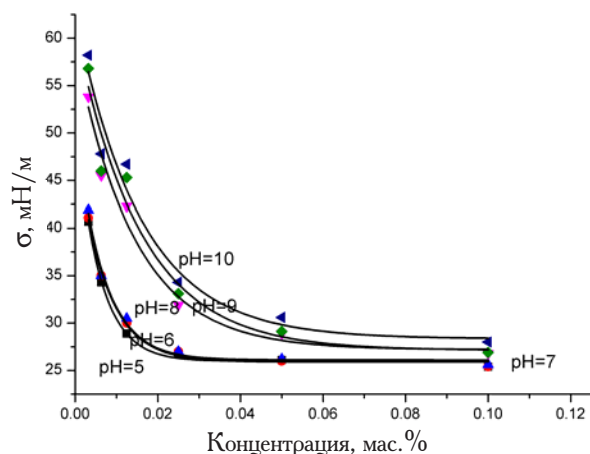


Рис. 2. Зависимость поверхностного натяжения водного раствора биокомплекса от концентрации, мас. % при различных  $pH$

$\sigma_{\min}$  пропорционально зависит от  $pH$  и достигает максимальных значений при  $pH=10$  (рис. 5). Увеличение степени ионизации карбоксильной группы до точки эквивалентности и изменение ионной силы раствора после ее достижения при повышении  $pH$  среды, определяли возрастание  $\sigma_{\min}$ .

Для уточнения ККМ, механизма поверхностной активности СКЖ и биокомплекса исследовали оптическую плотность их растворов с родами-

ном бЖ. В области концентраций 0,1–0,4 г/л. (рис. 6) наблюдались значительные изменения оптической плотности в максимуме поглощения родамина ( $\lambda=525-534$  нм), как в положительную, так и в отрицательную стороны, что совместно с данными по поверхностному натяжению, указывает на образование мицелл. Уменьшение и увеличение оптической плотности, при увеличении концентрации биоПАВ в растворе, обусловлены перестройкой мицелл в области ККМ и изменением свойств среды вокруг молекул родамина.

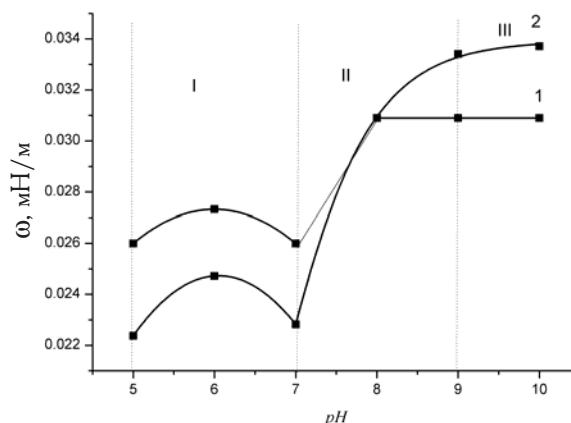


Рис. 3. Зависимость величины ККМ от  $pH$  среды: 1 – СКЖ; 2 – биокомплекс

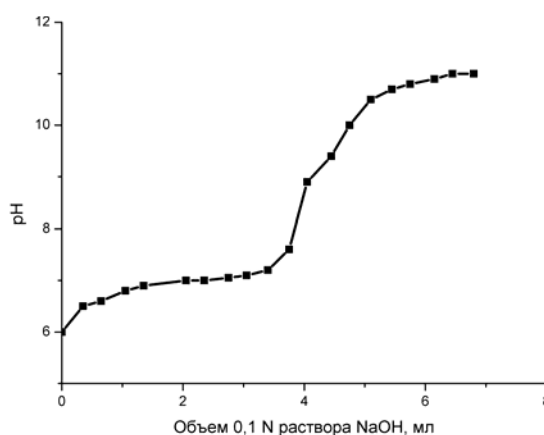


Рис. 4. Кривая потенциометрического титрования 2 мас. % водного раствора дираннолипида 0,1 N раствором гидроксида натрия

Установленные зависимости ККМ и  $\sigma_{\min}$  обусловлены наличием в молекулах ПАВ карбоксильных и гидроксильных групп. Смещение максимальных значений ККМ в область высших значений  $pH$ , в случае биокомплекса, обусловлено действием различных факторов: частичным комплексобразованием полисахарида с рамнолипидом, ослабляющим кислотные свойства карбоксильных групп, и влиянием других компонентов культу-

ральной жидкости.

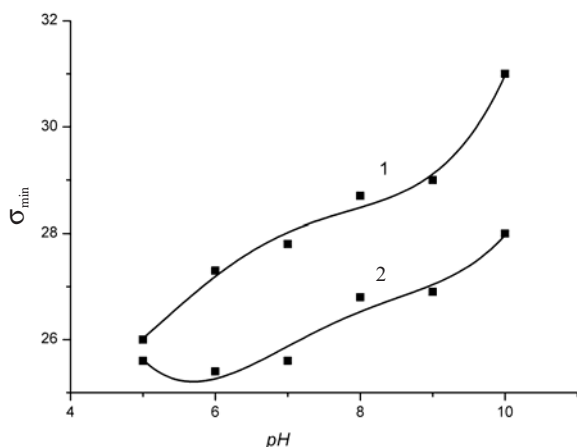


Рис. 5. Зависимость  $\sigma_{\min}$  от pH среды: 1 – СКЖ; 2 – биокомплекс

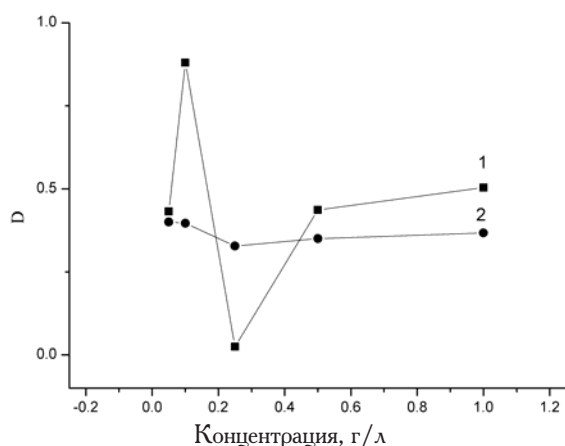


Рис. 6. Зависимость оптической плотности водного раствора родамина 6Ж от концентрации СКЖ (1) и биокомплекса (2) при длине волны  $\lambda=525-534$  нм

В целом, установленные зависимости ККМ и  $\sigma_{\min}$  согласуются с известным влиянием pH на поверхностную активность органических кислот, мыл и т.д. [8] и позволяют отнести биоПАВ к анионным ПАВ. Следует отметить, что влияние pH в исследованных системах на ККМ и  $\sigma_{\min}$  меньше, чем в растворах обычных анионных ПАВ, что обусловлено присутствием в молекулах дирамнолипида и полисахарида гидроксильных групп, снижающих поверхностное натяжение их водных растворов и нивелирующих влияние карбоксильной группы.

Исходя из полученных зависимостей и учитывая малое влияние электролитов на поверхностную активность рамнолипидов в водных растворах, рассмотренные биоПАВ можно отнести к ПАВ смешанного типа – анионно–неионогенным.

Значения минимального поверхностного натяжения и ККМ водных растворов биоПАВ свидетельствуют об их большей поверхностной актив-

ности по сравнению с известными синтетическими ПАВ [10].

Среди рассмотренных биоПАВ биокомплекс проявляет максимальную поверхностную активность: минимальные значения поверхностного натяжения его водных растворов на 2–3 мН/м меньше водных растворов культуральной жидкости и рамнолипида [9]. Очевидно, в биокомплексе имеет место синергический эффект влияния на поверхностное натяжение полисахарида и рамнолипида, ослабляющийся средой в СКЖ.

#### Коллоидно-химические характеристики СКЖ и биокомплекса

| pH                     | $\sigma_{\min}$ , мН/м | ККМ, мас.% |
|------------------------|------------------------|------------|
| Культуральная жидкость |                        |            |
| 5,0                    | 26,0                   | 0,026      |
| 6,0                    | 27,3                   | 0,027      |
| 7,0                    | 27,8                   | 0,026      |
| 8,0                    | 28,7                   | 0,031      |
| 9,0                    | 29,0                   | 0,031      |
| 10,0                   | 31,0                   | 0,031      |
| Биокомплекс            |                        |            |
| 5,0                    | 25,6                   | 0,022      |
| 6,0                    | 25,4                   | 0,025      |
| 7,0                    | 25,6                   | 0,021      |
| 8,0                    | 26,8                   | 0,031      |
| 9,0                    | 26,9                   | 0,034      |
| 10,0                   | 28                     | 0,034      |

Полученные результаты изучения коллоидно-химических свойств водных растворов биогенных ПАВ (супернантанта культуральной жидкости и биокомплекса штамма *Pseudomonas sp. PS-17*) положены в основу разработки высокоэффективных биodeградебельных моющих композиций для очистки офсетных форм, декельных полотен и красочных аппаратов офсетных печатных машин в полиграфии.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нижник В.В., Волошинцев В.А., Усков И.О. Фізична хімія дисперсних систем та полімерів – К., 2009. – 248 с.
2. Mulligan C.N. Environmental applications for biosurfactants // Environ. Pollut. – 2005. – № 133. – P.183-198.
3. Biosurfactants: Properties, commercial production and application / K. Muthusamy, S.+ Gopalakrishnan, T. Kochupappu Ravi, P. Sivachidambaram // Current Science. – 2008. – Vol.94. – № 6. – P.736-747.
4. Карпенко Е.В., Шульга А.Н., Туровский А.А. Поверхностно-активные соединения, культуры *Pseudomonas sp. PS-17* // Мікробіол. журн. – 1996. – Т.58. – № 5. – С.18-24.
5. Патент України №71792 А,15. МПК С12 N 1/

- 02, С12 R 1:38 Поверхнево-активный биопрепарат // Карпенко О.В., Мартинюк Н.В., Шульга О.М., Покиньюброда Т.Я., Вильданова Р.І., Щеглова Н.С. — № 200331212344; Заявл. 25.12.2003; Опубл. 12.2004, Бюл. № 12, 2004. — 4 с.
6. *Aggregation behaviour of a dirhamnolipid biosurfactant secreted by Pseudomonas aeruginosa in aqueous media* / Sánchez M., Aranda F.J., Espuny M.J., Marquís A., Teruel J.A., Manresa A., Ortiz A., // *J. of Colloid and Interface Science* — 2007 — P.307:246-253
7. *Квантово-хімічна модель поверхнево-активного комплексу штаму PS-17* / В.І. Похмурський, Р.Е. Пристанський, О.М. Шульга, О.В. Карпенко // *Доповіді НАН України. Сер. Б. Геол. хім. біол.* — 1997— № 9 — С.151-154.
8. *Практикум по коллоидной химии: Учебное пособие для вузов* / Под ред Р.Э. Неймана. М.: Высш. шк., 1970. — 176 с.
9. *Колоїдні властивості синтетичних емульгаторів та рамноліпиду* / А.П. Грабаровська, Волошинець В.А., Семенюк І., Карпенко О.В. // *Вопр. химии и хим. технологии.* — 2008 — № 6 — С.149-152.
10. *Абрамзон А.А., Гасвой Г.М. Поверхностно-активные вещества.* — Л.: Химия. 1979. — 376 с.

Поступила в редакцию 9.11.2011