

УДК: 576.8:581.17:66.098

**ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТА С ПОМОЩЬЮ
ДЕТЕРГЕНТ И ОРГАНИЧЕСКОМ РАСТВОРИТЕЛЕЙ УСТОЙЧИВОГО
ШТАММА PSEUDOMONAS HELMANTICENSIS P1**

**PREPARATION OF POLYHYDROXYALKANOATE USING DETERGENT
AND ORGANIC SOLVENTS OF RESISTANT PSEUDOMONAS
HELMANTICENSIS P1 STRAIN**

Н.Д.Ходжаева

*Доцент Самаркандский государственный университет ветеринарной
медицины, животноводства и биотехнологий*

Д.Ч.Сатторов

*Ассистент Самаркандский государственный университет ветеринарной
медицины, животноводства и биотехнологий*

С. А. Элибоева

*Студента Самаркандский государственный университет ветеринарной
медицины, животноводства и биотехнологий*

Аннотация: Поли-3-гидроксиалканоаты (ПГА) представляют собой полиэфиры, получаемые биосинтетическим путем с помощью бактерий *Bacillus*, *Cupriavidus*, *Pseudomonas* и т.д. Они обладают рядом преимуществ по сравнению с традиционными полимерами, получаемыми путем переработки нефти. В частности, они быстро разлагаются как в природных экосистемах, так и в организме человека без образования токсичных продуктов. В исследовании является определение устойчивости полигидроксиалканоат продуцирующего штамма *Pseudomonas helmanticensis P1* к действию детергент (SDS) и органическим растворителей. Токсическое воздействие бутанол было проведено на биопленках *Pseudomonas helmanticensis P1* так и при культивировании бактерии в суспензионном состоянии в жидких культуральных средах.

Ключевые слова: *Pseudomonas helmanticensis*, устойчивость к детергенту, устойчивость к органическим растворителям, н-бутанол, додецилсульфат натрия, mcl-nga.

Abstract: Poly-3-hydroxyalkanoates (PHAs) are polyesters obtained biosynthetically with the help of bacteria *Bacillus*, *Cupriavidus*, *Pseudomonas*, etc. They have a number of advantages over traditional polymers obtained by petroleum refining. In particular, they quickly decompose both in natural ecosystems and in the human body without the formation of toxic products. The study is to determine the resistance of the polyhydroxyalkanoate-producing strain *Pseudomonas helmanticensis P1* to detergent (SDS) and organic solvents. The toxic effects of butanol were carried out on biofilms of *Pseudomonas helmanticensis P1* and when cultivating the bacterium in suspension in liquid culture media.

Keywords: *Pseudomonas helmanticensis, detergent resistance, organic solvent resistance, n-butanol, sodium dodecyl sulfate, mcl-pga.*

ВВЕДЕНИЕ

Полигидроксиалканоаты (ПГА) производятся различными бактериями в виде природных полимеров, хранящихся в бактериальных клетках в качестве источник углерода и энергии [1]. В настоящее время они являются предпочтительными биоматериалами для использования во многих областях промышленности вместо обычных неразлагаемых пластиков. Благодаря своим уникальным свойствам они могут уменьшить загрязнение, вызванное растущим глобальным загрязнением окружающей среды. Во многих недавних исследованиях в качестве продуцентов ПГА были выбраны виды *Pseudomonas* [2]. Полигидроксиалканоаты могут быть использованы в различных сферах народного хозяйства как в качестве упаковочных материалов и плёнок (в пищевой промышленности и сельском хозяйстве), так и при производстве изделий медицинского назначения (например, протезов костной ткани, помогающих при восстановлении после переломов или как один из компонентов средств доставки лекарственных препаратов)[3]. Штаммы *Pseudomonas* особенно широко изучаются как метаболические универсальные бактерии, которые стали эффективными продуцентами при получении соединений с высокой добавленной стоимостью [4]. Таким образом, толерантность к растворителям становится важной характеристикой бактериального хозяина при биологическом производстве ценных химических соединений и биополимеров. Некоторые виды бактерий могут расти и выживать в присутствии углеводородных растворителей и детергентов [5].

Материалы и методы. Органический растворитель (н-бутанол) были произведены в России («Реахим»). Додецилсульфат натрия приобретён у компании «Merck» (Германия). pH среды довели до значения 7,0 понадобится Магнитная мешалка «Sartorius» (Германия). Колбы Эйленмейера 300мл были произведены в Германии «Rasotherm». В каждую колбу по-разному добавляют бутанол и его разных концентрации. Стерилизацию сред для культивирования проводили с помощью парового стерилизатора ВКА-75-ПЗ («Касимовский приборный завод», Россия). Культивировании на агаризованных средах проводили на чашки петри d 90mm «Медполимер» (Россия). Экспериментальный бокс приобретён у компании «Восток пост» (Россия). Данное исследование проводилось при концентрации бутанол 0,1%, 0,5%, 1%. pH среды довели до значения 7,0 раствором 1М NaOH. В данной исследование использовали из метода спектрофотометрии и Культивирование в жидких средах бактериальных штаммов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данный эксперимент проводили при культивировании *Pseudomonas helmanticensis* P1 в присутствии бутанол (C₄H₉OH). Наше исследование проводилось на бактерии *P. helmanticensis* в сочетании с концентрациями бутанол при различных

концентрациях (0,1%, 0,5% и 1%). Это позволило нам определить, что *P. helmanticensis* обладает высокой устойчивостью к различным концентрациям бутанола. Клетки культивировали планктонно при различных концентрациях бутанола в колбах на шейкере, чтобы сравнить их с аналогичными экспериментами. Уже при концентрации бутанола 0,1% в среде LB оказала значительное влияние на выход биомассы, поскольку он снизился почти на 30%, тогда как концентрация бутанола 1% выход биомассы снизился более чем на 90% по сравнению с контролем без бутанола (рис.1). Следует отметить, что использование бутанола при как одного из компонентов культуральной среды для роста *P. helmanticensis* может способствовать удешевлению промышленных биопроцессов за счёт снижения экономических затрат на проведение стерилизации культуральной среды и оборудования. При планктонном росте *P. helmanticensis* клетки способны наращивать биомассу в культуральной среде, содержащей 0,1% н-бутанола 0,05% концентрации SDS. При концентрациях н-бутанола более 0,5% в культуральной среде рост наступает гибель клеток *P. helmanticensis*.

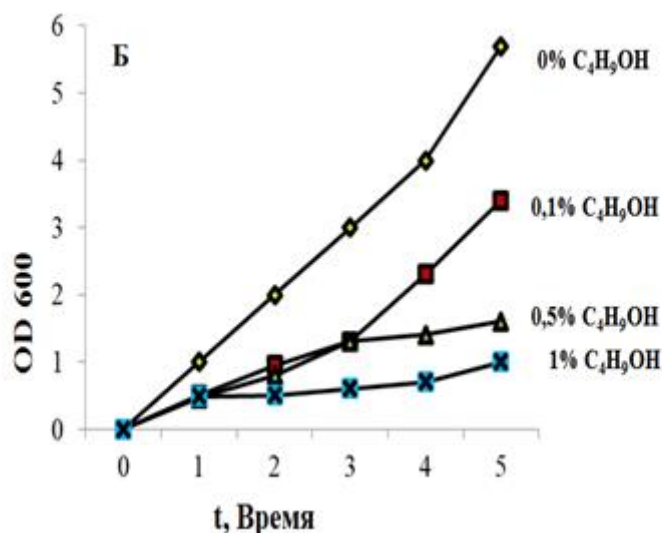


Рисунок 1.— Динамика роста бактерии *Pseudomonas helmanticensis* P1. Воздействие SDS (0,05%) в присутствии бутанола в среде LB.

ВЫВОДЫ

По результатам нашего исследования были сформулированы следующие выводы:

1. Из почвенной пробы на селективной среде, содержащий в качестве единственного источника углерода анионный детергент SDS был выделен наиболее устойчивый бактериальный клон. Анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК позволил отнести его к виду *Pseudomonas helmanticensis*.

2. Клетки *P. helmanticensis* способны образовывать колонии на агаризованных средах, содержащих до 0,5% концентрации н-бутанола и 0.05% концентрации SDS. При этом, в условиях проведенного эксперимента, основным ограничительным фактором роста клеток является концентрация н-бутанола.

3. При планктонном росте *P. helmanticensis* клетки способны наращивать биомассу в культуральной среде, содержащей 0,1% н-бутанола 0,05% концентрации SDS. При концентрациях н-бутанола более 0,5% в культуральной среде рост наступает гибель клеток *P. helmanticensis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Ciesielska, J.M., Szacherska, K., Marciniak, P. *Pseudomonas* Species as Producers of Eco-friendly Polyhydroxyalkanoates. // J. Polymers and the Environment. – 2019. – V. – 27. – P.1151–1166.
2. Ciesielska, J.M., Szacherska, K., Marciniak, P. *Pseudomonas* Species as Producers of Eco-friendly Polyhydroxyalkanoates. // J. Polymers and the Environment. – 2019. – V. – 27. – P.1151–1166.
3. Rebocho, A.T, Pereira, J.R, Neves, L.A, Alves, V.D, Sevrin, C, Grandfils, C, Freitas, F, Мария, А.М. Reis. Preparation and characterization of films based on a natural P(3HB)/mcl-PHA blend obtained through the co-culture of *Cupriavidus necator* and *Pseudomonas citronellolis* in apple pulp waste. // J. Bioeng. – 2020. – V. 7. N. 2. – P. –34.
4. Poblete-Castro I, Rodriguez AL, Lam CMC, Kessler W. Improved production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates in glucose-based fed-batch cultivations of metabolically engineered *Pseudomonas putida* strains. // J. Microbiol Biotechnol. –2014. – V. – 24. – P.59–69.
5. Inoue A, Horikoshi K. Estimation of solvent-tolerance of bacteria by the solvent parameter log P. // J. Ferment Bioeng. –1991. – V. – 71. – P.194–196.