

УДК 664.8.037.5

Изучение влияния температуры и pH на синтез экзополисахаридов *L. rhamnosus GG*
Курбонова М.К. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – доцент, кандидат технических наук, Бараненко Д.А.
(Университет ИТМО)

Работа выполнена в рамках темы НИР № 622271 «Теоритические и экспериментальные исследования процессов молекулярного переноса импульса, тепловой энергии и массы в биологических многокомпонентных средах»

Введение. Экзополисахариды (ЭПС) молочнокислых бактерий представляют собой экологически безопасные и универсальные полимерные материалы с уникальными структурными и физическими свойствами, широко используемые в промышленности (пищевая, текстильная, косметическая и фармацевтическая), в качестве стабилизаторов, загустителей, гелеобразователей, эмульгаторов.

В настоящее время ЭПС молочнокислых бактерий привлекают все больше внимания из-за своей специфической структуры и функций, таких как толерантность к стресс-повреждениям желудочно-кишечного тракта, адгезии к слизистой оболочке кишечника, ингибированию патогенов и модуляции иммунной системы.

Микробный синтез полисахаридов более продуктивный и менее ресурсоемкий, микробное производство позволяет контролировать условия процесса для получения более высоких выходов и желаемых свойств [1]. Однако из-за высокой себестоимости в продаже имеется лишь несколько бактериальных ЭПС (например, ксантан, геллановая камедь, гиалурионовая кислота) [2]. Чтобы сделать процесс более экономически эффективным, необходимо повысить выход продукта за счет оптимизации условий ферментации (например, pH, температуры, концентрации источника углерода), разработки штаммов с более высоким выходом (например, генетические манипуляции) или использования недорогих субстратов. В данной работе исследовано влияние температуры и pH на синтез ЭПС.

Основная часть. Условия питания и окружающей среды сильно влияют на синтез и состав микробных ЭПС [3]. Температура и pH являются основными факторами, контролирующими рост микробов и синтез метаболитов [4,5].

Культивирование *L. rhamnosus GG* проводили в стандартной MRS среде, pH поддерживали на уровне 6.8 (контроль) и для создания pH-стресса довели среду титрованием 10% HCL до pH=4.3, культивировали 24 ч при 37 °C [6]. Затем из контрольных образцов был произведен посев на чашки Петри, высушивание в лиофильной сушилке и выделение ЭПС.

Для высушивания в лиофильной сушилке было отобрано небольшое количество культуральной среды с *L. rhamnosus GG*. Образцы центрифугировали 15 мин при 10000 об/мин для отделения клеток от культуральной среды. Образцы, объемом 15 мл помещали в виалы и замораживали в течение 15 ч в морозильной камере при -80 °C, высушивали в лиофильной сушилке в течение 24 ч. Затем был произведен посев на чашки Петри.

Выделение ЭПС происходило путем отделения культуральной жидкости от биомассы, упаривания в течение 1 ч, внесения в концентрат двойного объема 96 % охлажденного этилового спирта (3-5 °C) для осаждения ЭПС. Осаждение проводили при 4 °C в течение 112 ч, затем центрифугировали 30 мин при 10000 об/мин и высушивали ЭПС в течение 112 ч.

Выводы. В работе исследовали различные стрессовые факторы, чтобы повысить синтез ЭПС. Рассматривали влияние pH, предполагая, что негативные условия среды способствуют большему синтезу ЭПС и впоследствии большему выживанию при лиофильной сушке. Однако в процессе исследования обнаружили обратную корреляцию выхода ЭПС и выживаемости при лиофильной сушке. Выживаемость после лиофильной сушки в

подкисленной среде, была выше. Это может быть обусловлено иными факторами, возможно произошел гидролиз ЭПС.

Список использованных источников:

1. Alves V.D. et al. Rheological and morphological characterization of the culture broth during exopolysaccharide production by *Enterobacter* sp. // *Carbohydr. Polym.* Elsevier, 2010. Vol. 81, № 4. P. 758–764.
2. Freitas F., Alves V.D., Reis M.A.M. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications // *Trends Biotechnol.* Trends Biotechnol, 2011. Vol. 29, № 8. P. 388–398.
3. Kumar A.S., Mody K., Jha B. Bacterial exopolysaccharides--a perception // *J. Basic Microbiol. J Basic Microbiol*, 2007. Vol. 47, № 2. P. 103–117.
4. Torres C.A.V. et al. Study of the interactive effect of temperature and pH on exopolysaccharide production by *Enterobacter* A47 using multivariate statistical analysis // *Bioresour. Technol.* 2012. Vol. 119. P. 148–156.
5. Toledo F.L., Gonzalez-Lopez J., Calvo C. Production of bioemulsifier by *Bacillus subtilis*, *Alcaligenes faecalis* and *Enterobacter* species in liquid culture // *Bioresour. Technol.* Bioresour Technol, 2008. Vol. 99, № 17. P. 8470–8475.
6. Nguyen T.T. et al. Efficacy of the incorporation between self-encapsulation and cryoprotectants on improving the freeze-dried survival of probiotic bacteria // *J. Appl. Microbiol.* 2022. Vol. 132, № 4. P. 3217–3225.

Курбонова М.К. (автор)

Подпись

Бараненко Д.А. (научный руководитель)

Подпись