

**Список литературы:**

1. Боженков П.И. В сб.: Бехотходные технологии и использование вторичных продуктов и отходов в промышленности строительных материалов. М.: Стройиздат, 1985. с. 38–40.
2. Nichola J. Coleman. 11 Å tobermorite ion exchanger from recycled container glass. *International Journal of Environment and Waste Management*. – 2011. – V. 8. – P. 366–382.
3. Лебедева Е.Ю., Казьмина О.В. Синтез тоберморита на основе промышленного стеклосбоя. Перспективы развития фундамен-тальных наук: Труды IX Междунар. конф. студентов и молодых учёных. – Томск, 2012. – с. 420–422.
4. Лебедева Е.Ю., Кобякова А.А., Усова Н.Т., Казьмина О.В. Синтез тоберморитового адсорбента для очистки воды // *Известия Томского политехнического университета*. – 2014. – Т. 324. – № 3. С. 137–141.
5. Акатьева Л.В. Развитие химико-технологических основ процессов переработки сырья для получения силикатов кальция и композиционных материалов: Дис...док. тех. наук. – М., 2014. – 328 с.

**ПРОДУКЦИЯ АНТИБИОТИКОВ ФЕНАЗИНОВОГО РЯДА БАКТЕРИЯМИ  
PSEUDOMONAS AERUGINOSA**

*Е.С. Пальчевская, студент гр. 4ДМ41*

*Томский политехнический университет, 634050, г.Томск, пр.Ленина,30,  
тел. (923)-425-71-25*

*E-mail: palchevskaya.kat@mail.ru*

Создание эффективных и безопасных биологических средств защиты сельскохозяйственных культур от заболеваний, возбудителями которых становятся различные фитопатогенные микроорганизмы, является одной из актуальных биотехнологических задач.

Использование химических препаратов приводит к загрязнению окружающей среды, накоплению вредных веществ в растениях и продуктах питания, что оказывает пагубное влияние на здоровье людей и животных. Использование свободноживущих ризосферных ростостимулирующих бактерий (PGPR – plant growth promoting rhizobacteria) в качестве биоконтролирующего фактора позволяет устранить данные недостатки, а также способствует оздоровлению почвы. Наибольший интерес представляют биопестицидные препараты на основе живых культур микроорганизмов, которые обладают способностью синтезировать различные антимикробные соединения [1].

Наиболее перспективными и хорошо изученными естественными антагонистами фитопатогенных грибов и бактерий считаются бактерии рода *Pseudomonas*, синтезирующие антибиотики ароматической природы, подавляющие развитие фитопатогенов.

В данной работе рассмотрены условия культивирования бактерий *P. aeruginosa* для увеличения продукции антибиотиков феназинового ряда.

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, синегнойная палочка) – представитель рода *Pseudomonas*. Различные штаммы этих бактерий широко распространены в природе. В состав синтезируемых окрашенных соединений различных типов, хорошо проникающих в субстрат, входят соединения феназинового и пиридинового ряда. *P. aeruginosa* может одновременно образовывать комплекс пигментов феназинового ряда, количественный и качественный состав которых зависит от условий культивирования, компонентов среды, источников выделения и индивидуальных особенностей бактериальных штаммов [2]. По сравнению с типичными антифунгальными препаратами, феназины имеют более широкий спектр действия. Кроме того соединения феназинового ряда улучшают способность растений усваивать минеральные вещества из почвы [3, 4].

Антибиотики феназинового ряда – группа низкомолекулярных гетероцических азотсодержащих соединений, которые различаются по своим физическим и химическим свойствам в зависимости от расположения и типа функциональных групп [5].

В качестве заместителей в состав молекулы феназина могут входить различные функциональные группы. Наиболее распространенные производные феназина приведены на рисунке 1:

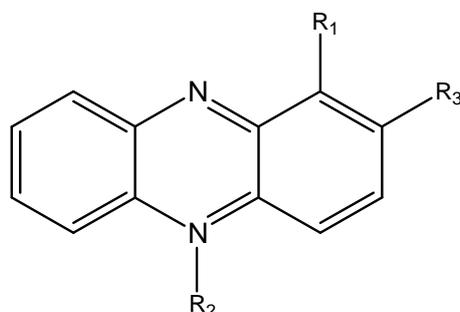


Рис. 1. Строение феназиновых антибиотиков:

R1,R2,R3 = 0 – феназин; R1:COOH– феназин-1-карбоновая кислота; OH– 1-гидроксифеназин (гемипиоцианин); CONH2– феназин -1-карбоксамид (PCN) (оксилхлороафин); R1=O-, R2=CH3 – пиоцианин; R1=COOH, R3=OH – 2-гидроксифеназин-1-карбоновая кислота; R1=COOH, R2=CH3 – 5-метилфеназин-1-карбоксилат [6].

Для культивирования *P. aeruginosa* были использованы четыре среды различного состава: PCA (Plate Count Agar), среда М-9 (Маниатис и др.), среда Кинг В, ГРМ-бульон.

Таблица 1. Составы сред для культивирования *P. Aeruginosa*.

РСА	М-9	Кинг В	ГРМ-бульон
пептон - 20 г/л глюкоза - 10 г/л NaCl - 5 г/л KNO <sub>3</sub> - 1 г/л	пептон - 16,5 г/л глюкоза - 2 г/л NaCl - 2 г/л NH <sub>4</sub> Cl - 4 г/л KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> - 12 г/л Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 23,3 г/л	пептон - 20 г/л глицерин - 10 г/л K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 1,5 г/л MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O -1,5 г/л	панкреатический гидролизат рыбной муки-8 г/л пептон ферментативный -8 г/л NaCl - 4 г/л

Получение биомассы микроорганизмов осуществляли путём периодического культивирования *P. aeruginosa* без аэрации в темноте в колбах Эрленмейера при температуре 24 °С на четырех средах различного состава. Время культивирования – 3, 5 и 7 суток.

Экстракцию феназинов проводили на 3-и, 5-е и 7-е сутки культивирования. Продукты феназинов выделяют свои антибиотики в окружающую среду, то есть в культуральную жидкость. Поэтому на первом этапе выделения феназинов отделяли биомассу клеток фильтрованием. Затем фильтрат подкисляли 2 н соляной кислотой до pH 1-2 и проводили двукратную экстракцию добавляя равный объем этилацетата. Экстракты обезвоживали с помощью сернокислого натрия.

Разделение и очистка феназиновых соединений осуществлялась методами тонкослойной и колоночной хроматографии. В качестве подвижной фазы использовали систему растворителей гексан – этилацетат (3:2).

Элюаты анализировали на наличие феназинов при помощи УФ-спектрофотометрии, сканируя в диапазоне волн 190-600 нм. На основе данных оптической плотности и молярных коэффициентов поглощения рассчитали концентрации полученных веществ, используя закон Бера-Бугера-Ламберта. Также структуры полученных веществ определяли измерением температур плавления и при помощи спектроскопии ядерного магнитного резонанса.

При культивировании *P. aeruginosa* на всех средах наблюдалось образование бело-серебристой пленки на поверхности среды. С увеличением времени культивирования толщина пленки увеличивалась, что говорит о росте биомассы.

Экстракты, полученные от *P. aeruginosa* имели желтое окрашивание, характерное для феназинов, интенсивность которого нарастала с увеличением времени культивирования микроорганизмов.

В ходе работы было установлено, что при экстракции феназинов из всех четырех сред на 3-й день культивирования в культуральной жидкости находится только одно вещество (феназин-1-карбоновая кислота (РСА)), на 5-й и 7-й дни обнаружены два вещества (феназин-1-карбоновая кислота и 2-гидроксифеназин (2-ОН-Р)).

Результаты работы показали, что концентрация феназинов на 7-й день культивирования незначительно больше, чем на 5-й день. На 3-й день культивирования продукция феназинов была наименьшей. Поэтому оптимальным временем культивирования можно считать 5 суток.

Из полученных данных установили, что концентрация феназинов, выделенных из среды Кинг В гораздо больше, чем из остальных сред. Поэтому среда Кинг В была выбрана базой для создания модифицированной среды, при культивировании на которой *P. aeruginosa* можно получить максимальный выход антибиотиков феназинового ряда.

В ходе работы был выделен и идентифицирован комплекс антибиотиков феназинового ряда бактерии *P. aeruginosa*, штамм 67. Было установлено, что наиболее эффективным методом выделения феназинов является двукратная экстракция. На основе спектральных данных и температур плавления были установлено, что данный комплекс представлен феназин-1-карбоновой кислотой и 2-гидроксифеназином.

Была определена зависимость качественного и количественного состава феназинов от времени культивирования и состава питательной среды. Выявили, что после трех дней культивирования в культуральной жидкости синегнойной палочки находится только феназин-1-карбоновая кислота, которая является

предшественником производных феназина. На 3-4-й дни культивирования часть РСА превращается в 2-гидроксифеназин, но при этом продолжается продукция РСА. На 7-й день культивирования активность продуцента незначительна. Оптимальным временем культивирования приняли 5 суток на среде Кинг В.

#### **Список литературы:**

1. Couillerot O., Prigent-Combaret C., Caballero-Mellado J., Moëgne-Loccoz Y. *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent pseudomonads as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. // *Letters in Applied Microbiology*. – 2009. – V. 48. № 5. – P. 505–512.
2. Смирнов В.В., Куприянова Е.А., Бактерии рода *Pseudomonas*. — Киев: «Наукова думка», 1990. – 264 с.
3. Whipps J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere // *J. Experiment. Botany*. – 2001. – V. 52. – № 1. – P. 487–511.
4. Боронин А.М., Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений // *Соросовский образовательный журнал*. –1998. – № 10. – С. 25–31.
5. Бриттон Г., Биохимия природных пигментов: пер. с англ. – М.: Мир, 1986. – 419 с.
6. Laursen J. B., Nielsen J. Phenazine natural products: biosynthesis, synthetic analogues, and biological activity // *Chem. Rev.* – 2004. – V. 104. – P. 1663–1685.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЯ СУММЫ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛЮЦЕРНЫ СЕРПОВИДНОЙ МЕТОДОМ ОФ ВЭЖХ**

*С.В. Кривошеков, асп. Кафедры БИОХ,*

*А.Н. Санжиев, студент гр. 4Д10,*

*Томский политехнический университет, 634050, г.Томск, пр.Ленина,30.*

*E-mail:chrom@tpu.ru*

Люцерна – одна из древнейших культур семейства Бобовых. Сейчас люцерну выращивают по всему миру. Она весьма распространена на всех континентах за исключением Антарктиды, на площади более 35 млн. га и более чем в 70 странах мира. Ее широко культивируют в районах юга умеренной климатической зоны и субтропиках. Огромные посевные площади сосредоточены в России, Аргентине, США, Индии и странах Западной Европы.

Известно, что различные виды рода люцерны широко используются в народном хозяйстве в качестве кормовых растений и являются прекрасными медоносами. Помимо этого люцерна издавна применяется в народной медицине. Биологическая активность люцерны связана с содержащимся в ней фенольными соединениями.

Флавоноидами называют органические вещества производные дифенилпропановой структуры. Они имеют структуру С6-С3-С6. Наиболее богатыми флавоноидами являются растения семейств: бобовые, сложноцветные, астровые, рутовые, гречишные и др [1].