

ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ НА ВЫХОД ПИГМЕНТА ПИОЦИАНИНА *Pseudomonas Aeruginosa*

Е.А. Хан

Научные руководители – к.мед.н., доцент М.В. Чубик

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, tpu@tpu.ru

Вторичный метаболит грамотрицательной бактерии *Pseudomonas aeruginosa* пиоцианин имеет высокую антибиотическую активность против различных микроорганизмов, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии. Пиоцианин может быть использован как терапевтическое средство для лечения инфекций, вызванных патогенными бактериями.

Целью данной работы является определение влияния введения азотсодержащих аминокислот в среду на выход пиоцианина.

На первой стадии работы был произведен посев бактериальной культуры *Ps. aeruginosa* продуцента пиоцианина на ГРМ-агар. Далее культивирование в течение 5 суток происходило на жидких средах, состав которых изменялся. Первая среда – стандартный бульон, в состав входит панкреатический гидролизат рыбной муки и хлорид натрия. Другие среды содержали такие основные компоненты, как $MgCl_2$ 0,14 г, K_2SO_4 1 г, пептон 2 г, вода 100 мл, глицерол 1 мл. Добавленными аминокислотами были аспарагин, аргинин, триптофан и гистидин. Критерием выбора выступало содержание азота в радикале аминокислот, которые могли бы послужить источником азота для выделения пиоцианина. Далее пигмент был выделен из разных культуральных жидкостей путем экстракции. Из жидкой фазы пиоцианин был переведен в органическую путем добавления хлороформа в культуральную жидкость в соотношении (2:1). После сбора синего слоя растворителя добавили 0,1 н раствор HCl, образовывался розовый верхний слой с кислым pH. Пиоцианин на данном этапе находился в водной фазе. Нейтрализация производилась 1 н раствором NaOH. Далее провели концентрирование и сушку вещества. Пиоцианин после экстракции был очищен и идентифицирован с помощью тонкослойной

хроматографии, спектрофотометра и была измерена температура плавления полученных кристаллов вещества, которая совпадала с данными литературных источников, то есть 133 °С [1].

Для определения содержания пиоцианина в водном растворе использовался спектрофотометрический метод. Измерение оптической плотности производилось при длине волны 690 нм. Концентрация вычислялась по формуле (1) Бера-Бугера-Ламберта:

$$C = M \cdot \frac{D}{\epsilon \cdot l} \quad (1)$$

где C – концентрация вещества в растворе, мг/мл; D – оптическая плотность поглощающего вещества; M – молярная масса (210 г/моль); ϵ – молярный коэффициент поглощения (для пиоцианина $\epsilon = 3400 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-1}$); l – длина оптического пути (1 см).

В результате эксперимента было определено, что введение аспарагина и солей в среду для выделения пиоцианина приводит к увеличению выхода продукта по сравнению с остальными исследуемыми средами. Также было установлено, что ГРМ-бульон можно заменить средой, в которой содержатся такие соли, как $MgCl_2$, K_2SO_4 , пептон, глицерол. Несмотря на незначительное уменьшение выхода пиоцианина, цена его производства сокращается в несколько раз.

Таблица 1.

Состав среды	Концентрация пиоцианина, мг/мл
ГРМ-бульон	0,090
Соли + аспарагин	0,096
Соли + аргинин	0,086
Соли + триптофан	0,081
Соли + гистидин	0,080

Список литературы

1. Budavari S., O'Neil M.J., Smith A.E., Heckelman P.E., Kinneary J.F., *The Merck Index. – Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories, 1996. – P.1741.*