



# Optimizacija uslova fermentacije za produkciju pululana pomoću *Aureobasidium pullulans*



Simeunović Natalija<sup>1,a</sup>, Jakovljević Dragica<sup>2</sup>, Gojić-Cvijović Gordana<sup>2</sup>, Beškoski Vladimir P.<sup>1</sup>, Vrvić Miroslav M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemski fakultet, Univerzitet u Beogradu, <sup>2</sup>Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu

<sup>a</sup>natalija.simeunovic10@gmail.com

## Uvod

Pululan je biopolimer koga proizvodi nepatogena gljiva *Aureobasidium pullulans*. Ovaj egzopolisaharid ima komercijalnu primenu u prehrabrenoj industriji, medicini i farmaciji. Netoksičan je, nemutagen, nekancerogen, biodegradabilan polisaharid koji je kompatibilan sa fiziološkim tečnostima.<sup>1</sup>

Usled brojnih funkcionalnih osobina - adhezivnosti, svojstva formiranja filma, brze degradacije enzimima, mehaničke otpornosti, kao i zbog povećane komercijalne primene različitih hemijskih derivata pululana, intenzivno se optimizuju procesi za proizvodnju ovog polisaharida. Uslovi fermentacije i izbor soja su veoma bitni za dobijanje pululana visokih molekulskih masa, bez primesa melanina, pigmenta *A. pullulans*.<sup>2</sup>

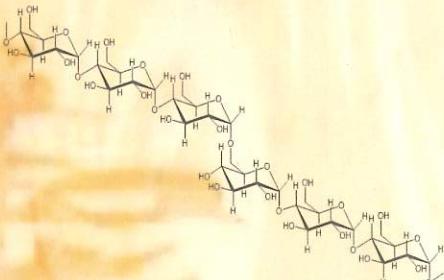
## Materijal i metode

Dobijeni polisaharid je prečišćen i parcijalno okarakterisan. Producija pululana je optimizovana pomoću metode odzivnih površina.

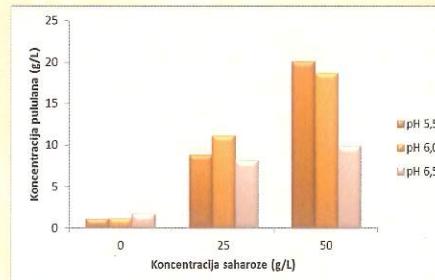
U radu je korišćen *Aureobasidium pullulans* ATCC 42023. Kao podloga za gajenje je korišćen ATCC Medium: 325 Malt Extract Agar, a podloga za produciju pululana se sastojala od  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (5 g/L), NaCl (1 g/L),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2 g/L),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0-0,6 g/L), ekstrakta kvasca (2,5 g/L), sahroze/glukoze (0-50 g/L), pH 5,5-6,5. Metodom odzivnih površina (Stat-Ease Design Expert v7.0.0) je ispitana uticaj koncentracije sahroze,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pH vrednosti i aeracije na produciju polisaharida. Ispitan je uticaj temperature i koncentracije različitih izvora ugljenika na proizvodnju polisaharida. Pululan je okarakterisan FT-IR spektroskopijom, elementalnom organskom mikroanalizom, određivanjem specifične optičke rotacije i planarnom hromatografijom.

## Rezultati i diskusija

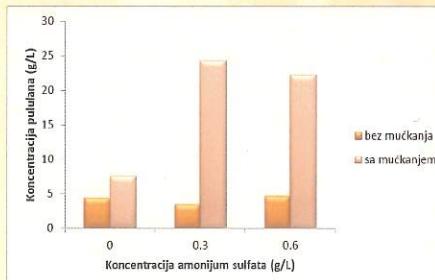
Pululan je produkovani u visokom stepenu prečišćenosti, što je pokazano analizom rezultata FT-IR spektroskopije, elementalne organske mikroanalize, specifične optičke rotacije i planarne hromatografije. Utvrđeno je da prinos varira u zavisnosti od promene koncentracije sahroze (Slika 2),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (Slika 3), pH vrednosti (Slika 6) i aeracije (Slika 3), tj. da su sva četiri faktora signifikantna za proizvodnju polisaharida. Optimalna temperatura za odvijanje fermentacije je 26 °C (Slika 5), a optimalna pH vrednost 5,5 (Slika 6). Najviši prinosi pululana, 30,77 g/L i 27,57 g/L, su dobijeni korišćenjem amonijum sulfata koncentracije 0,6 g/L i sahroze kao izvora ugljenika (Slika 6), pri koncentraciji od 50 g/L.



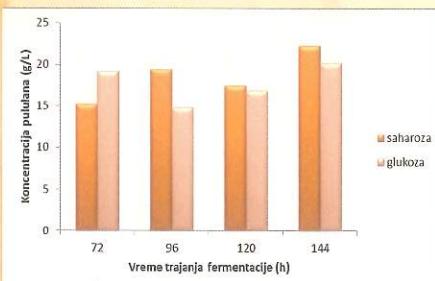
Slika 1: Struktura pululana



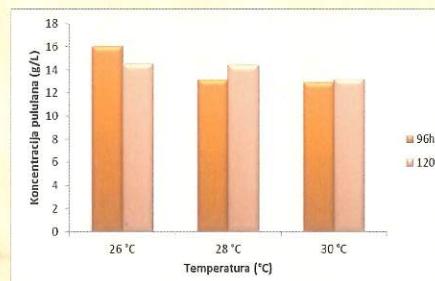
Slika 2: Producija pululana u zavisnosti od koncentracije sahroze



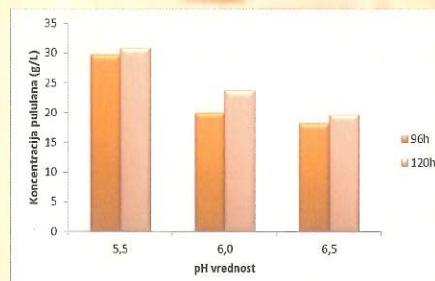
Slika 3: Producija pululana u zavisnosti od koncentracije amonijum sulfata



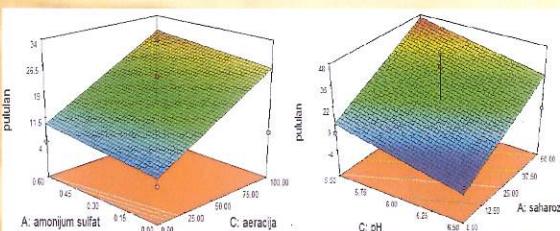
Slika 4: Producija pululana u zavisnosti od izvora ugljenika



Slika 5: Producija pululana u zavisnosti od temperature



Slika 6: Producija pululana u zavisnosti od pH vrednosti



Slika 7: 3D dijagrami efekata koncentracije sahroze, amonijum sulfata, aeracije i pH vrednosti na produkciju pululana

## Zaključak

Ekstracelularni polisaharid pululan je uspešno produkovani, prečišćen i parcijalno okarakterisan. Uslovi za fermentaciju su optimizovani metodom odzivnih površina.

## Literatura

- Cheng K., Demirci A., Catchmark J., Appl. Microbiol. Biotechnol., 92 (1) (2011) 29-44.
- Lee J., Kim J., Zhu L., Zhan X., Lee J., Shin D., Kim S., Biotechnology Letters, 23 (2001) 817-820.