

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»

Введение

Экзополисахариды – это высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков сахаров, которые секретируются микроорганизмами в окружающую их среду и могут служить барьером между клетками и окружающей средой, а также для прикрепления к твёрдым поверхностям. Они являются резервуаром, выполняя протекторную роль против высушивания и предотвращая стрессы в экстремальных условиях; выполняют роль саморегуляторов процессов роста и развития.

Экзополисахариды отличаются большим разнообразием структурных комбинаций, обуславливающих уникальные индивидуальные биологические свойства. Лабораторные и клинические исследования доказали антиоксидантные, иммуномодулирующие и противоопухолевые свойства экзополисахаридов. Учитывая широкий спектр фармакологической активности и низкой токсичности, данные соединения рассматриваются в качестве активных субстанций в производстве лекарственных и косметических препаратов.

В вашу научную лабораторию отправили 3 разных штамма бактерий рода *Azospirillum brasilense* - потенциальных продуцентов экзополисахаридов. Оцените их способность продуцировать экзополисахариды, выберите наиболее эффективный штамм и разработайте технологическую схему процесса производства экзополисахаридов с его помощью. Технологическая схема должна включать все основные этапы получения экзополисахаридов, включая очистку целевого продукта.

Цель – разработать технологическую схему получения экзополисахаридов с использованием одного из предложенных бактериальных штаммов.

Этапы выполнения задания

1. Работа с объектом (практическая часть):
 - Оценить содержание экзополисахаридов в супернатанте культуральной среды для каждого из 3-х предложенных штаммов *Azospirillum brasilense* (1 человек от команды).
 - Провести качественные реакции, подтверждающие, что выделенные продукты являются экзополисахаридами.
 - Определить молекулярные массы выделенных экзополисахаридов по предложенным результатам вискозиметрии.
2. Параметры процесса:
 - Определить, какими методами получают экзополисахариды, в чем преимущества и недостатки каждого из них. Обосновать выбор наиболее выгодного из них.
 - Определить рациональные параметры и длительность культивирования для *Azospirillum brasilense*.
3. Технологическая схема:

Москва
2022-2023 г.г.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»

- Выбрать область, в которой будут использоваться производимые экзополисахариды
 - Рассмотреть какие требования предъявляются к качеству (чистоте) экзополисахаридов в выбранной области. Какие должны быть контрольные точки?
 - Предложить схему очистки экзополисахаридов для достижения качества, необходимого для выбранной области применения
 - Разработать технологическую схему получения экзополисахаридов с использованием бактерий *Azospirillum brasilense* с учетом всех выбранных ранее параметров, включая стадию очистки
4. Оценка эффективности:
- Сравнить представленные штаммы бактерий *Azospirillum brasilense* по количеству производимых экзополисахаридов в г на 1 л культуральной среды.
 - Предположите годовой выпуск продукции (экзополисахаридов) для рациональной технологической схемы, если в сутки предприятие выпускает 10 м³ культуральной жидкости. Потери на стадии очистки принять 40%.
 - Обосновать выбор наиболее эффективного из предложенных штаммов *Azospirillum brasilense*. Какие параметры процесса можно дополнительно отрегулировать, чтобы увеличить выход продукта для данного штамма (предложите не менее 2-х подходов).

Материалы и оборудование:

- Суспензии 3-х разных бактериальных штаммов *Azospirillum brasilense*, продуцирующих экзополисахариды
- Фильтровальная бумага, аналитические весы, воронка – 3 шт, стакан химический – 3 шт, мерный цилиндр - 1 шт, пипетка Пастера, шпатель.
- Изопропиловый спирт - 30 мл
- Серная кислота (конц.) фенол, 5% водный раствор
- Пробирки для качественных реакций - 3 шт, штатив для пробирок - 1 шт, промывалка - 1 шт.
- Результаты вискозиметрии образцов выделенных экзополисахаридов с градуировочным графиком (Приложение 1)
- Протокол выполнения практической части командного кейса (Приложение 2)

Требования к представлению решения кейса

В ходе решения кейса необходимо провести литературный обзор по заданной тематике, рассмотреть технологию культивирования бактерий-продуцентов экзополисахаридов, представить рациональные условия и параметры процессов. Решение кейса оформить в виде постера формата А1.

Москва
2022-2023 г.г.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»

Требования к оформлению постера:

- В “шапке” или в углу постера указать название команды (в случае сборной команды указать все названия команд);
- В “шапке” или в углу постера указать ФИО каждого **ПРИСУТСТВУЮЩЕГО** участника и его школу
- Содержание ЭПС в 3-х образцах и выбор наилучшего
- Указать молекулярные массы ЭПС
- Отразить все этапы выполнения задания (тезисно/схематично)

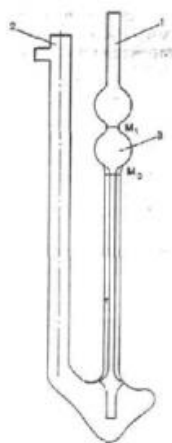
Рекомендуется участникам оформлять постер с использованием схем и рисунков.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»

Приложение 1. Определение относительной вязкости образцов экзополисахаридов (ЭПС)

У большинства экзополисахаридов выделяют полезные вязкоупругие свойства при их растворении в воде в очень низкой концентрации. Вязкие в стабильном состоянии, но становящиеся более жидкими при малейшем движении, используются для размешивания или взбалтывания в качестве лосьонов, очищающих средств и красок. Такое свойство называется псевдопластичностью; изучение таких материалов называется реологией. У растворов ЭПС вязкость является важной реологической характеристикой.

Определение относительной вязкости ЭПС проводили на капиллярном вискозиметре ВПЖ-2. Для этой цели 10 мл раствора исследуемого образца ЭПС с различными концентрациями вносили в вискозиметр, помещенный в термостат при 25 °С, и измеряли время истечения жидкости.



Вискозиметр стеклянный капиллярный ВПЖ-2: 1, 2 – трубки; 3 – измерительный резервуар; M1, M2 – отметки измерительного резервуара.

После измерения вязкости у опытных проб определяли время истечения растворителя - дистиллированной воды.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»

Время истечения растворов ЭПС:

| № | Время истечения растворов полимеров различных концентраций, с | | | | | |
|---|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Вода | 1 г/100 мл | 3 г/100 мл | 6 г/100 мл | 10 г/100 мл | 12 г/100 мл |
| | t ₀ | t ₁ | t ₂ | t ₃ | t ₄ | t ₅ |
| 1 | 51 | 62 | 78 | 104 | 118 | 132 |
| 2 | 56 | 56 | 56 | 56 | 56 | 56 |
| 3 | 55 | 55 | 55 | 55 | 55 | 55 |

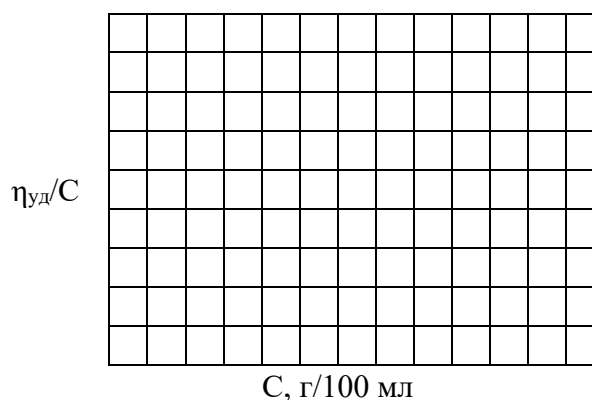
Ваша задача – определить средневязкостную молекулярную массу выделенных образцов ЭПС по приведенным выше данным.

Используя исходные данные и расчеты, заполните таблицы:

Значение вязкости растворов ЭПС из 1 образца:

| № | C, г/100 мл | t, с | $\eta_{отн}$ | $\eta_{уд}$ | $\eta_{уд}/C$ |
|---|-------------|------|--------------|-------------|---------------|
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |
| 4 | | | | | |
| 5 | | | | | |

Нарисуйте график и определите значение характеристической вязкости образца – значение, которое прямая пересекает по оси «у». (цена деления по оси «у» - 0,05, по оси «х» - 1).

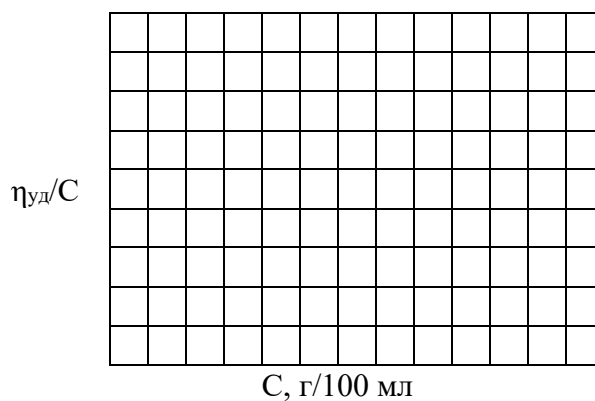


**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»

Значение вязкости растворов ЭПС из 2 образца:

| № | C, г/100 мл | t, с | $\eta_{отн}$ | $\eta_{уд}$ | $\eta_{уд}/C$ |
|---|-------------|------|--------------|-------------|---------------|
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |
| 4 | | | | | |
| 5 | | | | | |

Нарисуйте график и определите значение характеристической вязкости образца – значение, которое прямая пересекает по оси «у». (цена деления по оси «у» - 0,05, по оси «х» - 1).



Значение вязкости растворов ЭПС из 3 образца:

| № | C, г/100 мл | t, с | $\eta_{отн}$ | $\eta_{уд}$ | $\eta_{уд}/C$ |
|---|-------------|------|--------------|-------------|---------------|
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |
| 4 | | | | | |
| 5 | | | | | |

Нарисуйте график и определите значение характеристической вязкости образца – значение, которое прямая пересекает по оси «у». (цена деления по оси «у» - 0,05, по оси «х» - 1).

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»**

Приложение 2. Протокол выполнения практической части командного кейса

Москва
2022-2023 г.г.

**МОСКОВСКАЯ ПРЕДПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ
ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ**
Химико-биотехнологический профиль
Командное практическое задание «Экзополисахариды»

| Команда: | Фиксация результатов эксперимента | Результаты | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|------------------|-----------------|--|---|--|--|--|---|--|--|--|---|--|--|--|---------|------------|---|--|---|--|---|--|
| ФИО участника: | | | Выделение полисахаридов | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Методика выполнения работы</p> <p>Осаждение экзополисахаридов из культуральной жидкости В пробирку с 5 мл супернатанта культуральной жидкости добавить 5 мл изопропанола, перемешать и оставить для осаждения ЭПС. Взвесить на аналитических весах бумажные фильтры. Профильтровать через взвешенные фильтры культуральные жидкости. Фильтры с осадком ЭПС взвесить, рассчитать концентрацию ЭПС в культуральной жидкости.</p> <p>Качественные реакции на полисахариды В пробирки шпателем поместить небольшое количество выделенных ЭПС. Растворить в 1 мл дистиллированной воды. Добавить к ЭПС 5 капель 5% водного раствора фенола, затем 1 мл серной кислоты, перемешать, наблюдать за изменением окраски.</p> | <p>Результаты проведенных экспериментов привести в столбце Результаты.</p> <p>На рабочем месте расположить данный протокол (заполненный), фильтры с выделенными полисахаридами и штатив с пробирками для качественных реакций. Обратиться к администратору для фиксации результатов. Затем вымыть посуду: Содержимое пробирок вылить в слив у раковины, промыть их водой и сложить в контейнер. Фильтры сложить в специальную емкость. Воронки, стаканы и цилиндр промыть водой и сложить в контейнер.</p> | <table border="1" data-bbox="1514 459 2125 858"> <thead> <tr> <th>Образец</th> <th>Масса фильтра, г</th> <th>Фильтр с ЭПС, г</th> <th>Концентрация ЭПС в культуральной жидкости, г/л</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Качественные реакции</p> <table border="1" data-bbox="1514 906 2125 1225"> <thead> <tr> <th>Образец</th> <th>Наблюдения</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | Образец | Масса фильтра, г | Фильтр с ЭПС, г | Концентрация ЭПС в культуральной жидкости, г/л | 1 | | | | 2 | | | | 3 | | | | Образец | Наблюдения | 1 | | 2 | | 3 | |
| Образец | Масса фильтра, г | Фильтр с ЭПС, г | Концентрация ЭПС в культуральной жидкости, г/л | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Образец | Наблюдения | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Москва
2022-2023 г.г.