

Marek PIOTROWSKI, Joanna LEWANDOWSKA, Kamil WOJCIECHOWSKI

e-mail: kamil.wojciechowski@ch.pw.edu.pl

Zakład Mikrobiologii, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, Warszawa

Biosurfaktanty jako zamienniki syntetycznych surfaktantów

Wstęp

Biosurfaktanty to substancje powierzchniowo czynne pochodzenia naturalnego. Biosyntetyzowane są przez mikroorganizmy (bakterie, grzyby), oraz przez rośliny i zwierzęta. Ze względu na trudności w dokładnej klasyfikacji, biosurfaktanty zostały umownie podzielone na cztery główne grupy: glikolipidy, fosfolipidy, lipoproteiny i lipopeptydy oraz polimery [1]. Ponadto w literaturze można spotkać się z takimi biosurfaktantami jak DNA-surfaktanty [2], czy glikozydy [3].

Chociaż biosurfaktanty wykazują wiele zalet w stosunku do surfaktantów chemicznych (cehuje je większa biodegradowalność oraz bardzo niska toksyczność), zdecydowana większość wykorzystywanych w przemyśle spożywczym oraz kosmetycznym substancji powierzchniowo czynnych otrzymywana jest na drodze syntezy chemicznej.

Stosowane tradycyjnie substraty petrochemiczne, otrzymywane w wyniku krakingu ciężkich frakcji ropy naftowej, takich jak etylen czy olefiny, w ostatnich latach coraz częściej ustępują miejsca substratom pochodzenia naturalnego (tłuszcze roślinne oraz zwierzęce). Jednak biosurfaktanty, ze względu na jeszcze nie w pełni poznane ich właściwości oraz trudności z uzyskaniem produktów o wysokiej czystości, nie są bezpośrednio wykorzystywane w przemyśle na szeroką skalę. Wyjątek stanowi lecytyna (fosfatydylocholina), fosfolipid otrzymywany z żółtek jaj kurzych oraz z rzepaku i ziaren soi [4].

Większość produktów spożywczych (np. pieczywo, majonezy, dressingi), czy kosmetycznych (np. szampony, kremy), w których występują substancje powierzchniowo czynne, opiera się na mieszaninach surfaktantów oraz białek, gdyż takie układy charakteryzują się najlepszymi właściwościami tworzenia oraz stabilizowania pian i emulsji.

Zrozumienie mechanizmów oddziaływań białek i biosurfaktantów, ich adsorpcji na granicy faz oraz porównanie ich z publikowanymi wynikami badań mieszanin białek z surfaktantami syntezowanymi chemicznie, stanowić może podstawę do podjęcia racjonalnych strategii zastosowań takich układów w przemyśle spożywczym i kosmetycznym. Docelowo badania układów biosurfaktant/białko mogą przyczynić się do zastąpienia surfaktantów syntetycznych substancjami naturalnymi, przyjaznymi ludziom oraz środowisku.

Celem niniejszej pracy było zbadanie właściwości powierzchniowo czynnych układu biosurfaktant/białko.

Metodyka badań

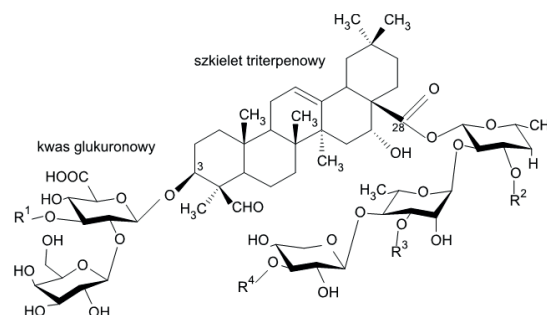
Do badań wykorzystano tensjometr pozwalający na prowadzenie pomiarów dynamicznego napięcia powierzchniowego. Jako modelowy układ biosurfaktant/białko wykorzystany został biosurfaktant saponina oraz białka: lizozym oraz β -laktoglobulina. Pomiar napięcia międzyfazowego roztworów mieszanin tych związków posłużyły do zbadania kinetyki ich adsorpcji na granicy faz. Przeprowadzono także doświadczenia mające na celu zbadanie właściwości pianotwórczych takich mieszanin.

Substancje

Quillaja Bark Saponin (QBS) – to ekstrakt mieszaniny glikozydów triterpenowych (Rys. 1) pozyskiwany z kory południowoamerykańskiego drzewa *Quillaja saponaria* Molina, znany pod ogólną nazwą saponina. QBS jest zatwierdzony jako dodatek do produktów spożywczych przez FDA [5]. Poza właściwościami powierzchniowo czynnymi saponina wykazuje szereg innych właściwości, m.in. hemolitycznych, przeciwbakteryjnych [3] i przeciwutleniających [6].

β -laktoglobulina (β -LG) z mleka krowiego – to białko globularne o masie 18400 Da, zawierające 162 aminokwasy i posiadające dwa mostki disiarczkowe w swojej strukturze [7]. β -LG jest jednym z najczęściej wykorzystywanych białek w przemyśle spożywczym dzięki właściwościom powierzchniowo czynnym oraz wartościom odżywczym.

Lizozym (LYS) z białka jajka kurzego – to białko enzymatyczne o masie 14 307 Da. Zbudowany jest ze 129 aminokwasów. LYS jest wykorzystywany jako naturalny konserwant w produktach spożywczych dzięki właściwościom przeciwbakteryjnym [8].



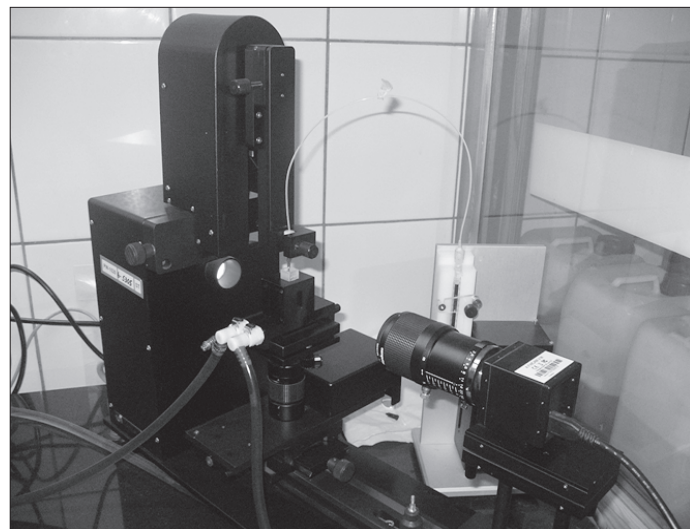
Rys. 1. Wzór strukturalny saponiny ($R^1 - R^4$ – atom wodoru lub cząsteczka cukru)

Roztwory przygotowano w buforze fosforanowym. Woda wykorzystywana w eksperymentach była dejonizowana i oczyszczona za pomocą systemu *Elix3+Symplicity UV (Millipore)*.

Techniki

Kinetykę adsorpcji mieszanin QBS/LYS wyznaczono za pomocą tensjometru wykorzystującego metodę wiszącej kropli (na podstawie kształtu wiszącej kropli określone jest napięcie międzyfazowe badanego roztworu).

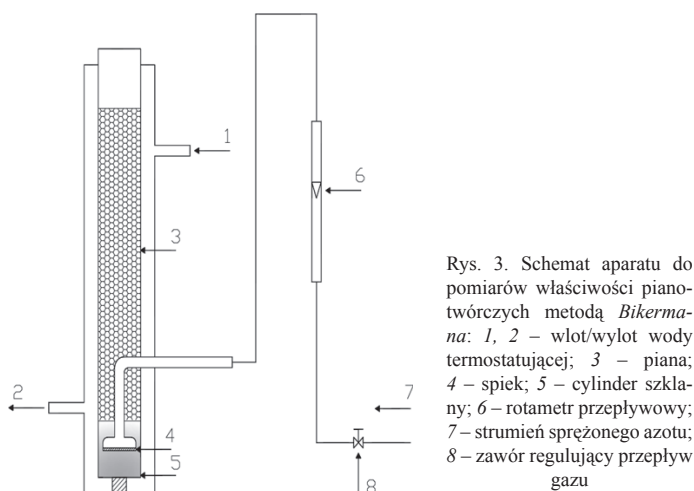
W skład aparatu wchodzi źródło światła – dioda LED, kamera video z przetwornikiem CCD, układ dozowania kropli (pompka strzykawkowa, kapilara, igła), elementy drogi optycznej (dyfuzory, tuby, statywy, szyna optyczna) oraz odizolowana od drgań zewnętrznych podstawa aparatu (Rys. 2).



Rys. 2. Tensjometr z analizą kształtu kropli

Współczynniki dyfuzji wyznaczono metodą graficzną na podstawie wyników pomiarów napięcia międzyfazowego metodą pęcherzykową przy użyciu tensjometru BP2 (Kriess).

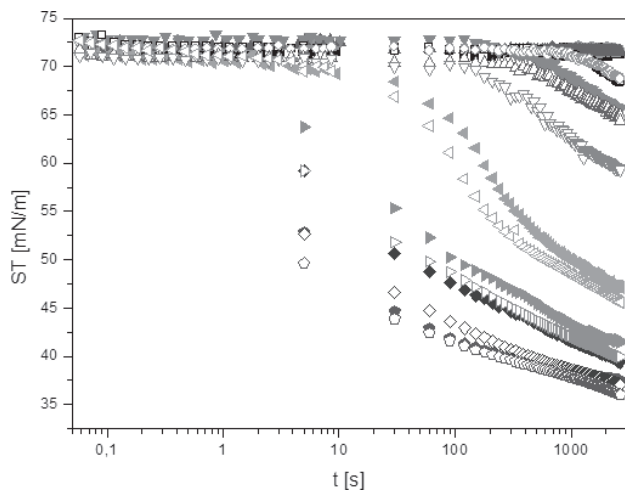
Właściwości pianotwórcze badano metodą *Bikermana* (Rys. 3).



Rys. 3. Schemat aparatu do pomiarów właściwości pianotwórczych metodą *Bikermana*: 1, 2 – wlot/wylot wody termostatującej; 3 – piana; 4 – spiek; 5 – cylinder szklany; 6 – rotometr przepływowy; 7 – strumień sprężonego azotu; 8 – zawór regulujący przepływ gazu

Wyniki badań

Przeprowadzono pomiary dla stałego stężenia białek (LYS 10^{-5} M, β -LG 10^{-7} M) oraz zmiennego stężenia saponiny $5 \cdot 10^{-7} \div 10^{-3}$ M. Zaobserwowano różnice w kinetyce adsorpcji czystego biosurfaktanta i mieszanin z białkami (Rys. 4).



Rys. 4. Krzywe dynamiczne napięcia powierzchniowego (ST) dla saponiny (pełne symbole) oraz mieszaniny saponina/ β -laktoglobulina

Współczynniki dyfuzji (Tab. 1) zostały wyznaczone na podstawie równania *Warda-Tordai'a*, połączonego z równaniem stanu *Henry'ego* [9]:

$$\left(\frac{d\gamma}{dt}\right)_{t=0} = -2nRTc_0\left(\frac{D}{\pi}\right)^{1/2} \quad (1)$$

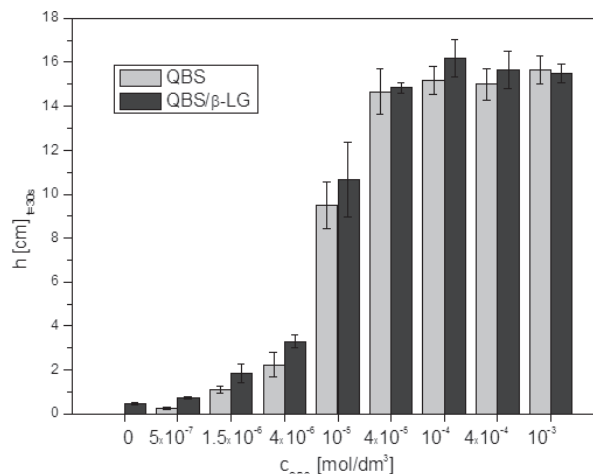
i charakteryzują się dobrą korelacją z pomiarami napięcia międzyfazowego.

Tab. 1. Współczynniki dyfuzji wyznaczone na podstawie równania (1)

Lp.	Układ	Współczynnik dyfuzji, [m ² /s]
1	QBS	$1,2 \cdot 10^{-11}$
2	QBS/ β -LG	$1,4 \cdot 10^{-11}$
3	QBS/LYS	$3,2 \cdot 10^{-11}$

Uzyskane wyniki badań pianotwórczych również potwierdzają, iż formowanie się kompleksów saponiny z białkami wpływa na proces adsorpcji oraz na tworzenie się piany.

Wpływ obecności białek w badanych roztworach uwidaczniał się dla niskich i średnich wartości stężenia saponiny poprzez wzrost wysokości wytworzonej piany w ciągu 30 s (Rys. 5). Dowodzi to, iż lizozym oraz β -laktoglobulina odgrywają istotną rolę w procesie tworzenia piany przez saponinę, a nie jak przypuszczano tylko w procesie jej stabilizacji.



Rys. 5. Wysokość piany wytworzonej metodą *Bikermana* (w czasie 30 s) dla roztworów saponiny oraz mieszanin saponina/ β -laktoglobulina

Wnioski

Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły postulowany w literaturze mechanizm adsorpcji mieszanin surfaktant/białko.

Dowiedziano, iż saponina tworzy z lizozymem oraz β -laktoglobuliną kompleksy charakteryzujące się wyższą aktywnością powierzchniową niż niezwiązane cząsteczki.

Ponadto wykazano, że białka te odgrywają istotną rolę w procesie tworzenia piany przez saponinę. Dotychczas twierdzono, iż białka mogą jedynie stabilizować takie układy, a za proces tworzenia odpowiedzialne są głównie surfaktanty.

Zdolność pianotwórcza jest zjawiskiem pożądanym w przemyśle spożywczym (np. browarniczym, cukierniczym) oraz kosmetycznym (mydła, żele do kąpieli, szampony).

Przeprowadzone badania mogą przyczynić się do udoskonalenia receptur stosowanych w przemyśle poprzez modyfikowanie składu dostępnych handlowo produktów i wykorzystanie mieszaniny białek i biosurfaktantów.

LITERATURA

- [1] P. K. S. M. Rahman, E. Gapke: *Biotechnology* 7, 360 (2008)
- [2] J. R. Lu, X. B. Zhao, M. Yaseen: *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 12, 60 (2007)
- [3] S. G. Sparg, M. E. Light, J. Standem: *Journal of Ethnopharmacology* 94, 199 (2004)
- [4] K. Holmberg, B. Jonsson, B. Kronberg, B. Lindman: *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. John Wiley & Sons, Inc. 2002
- [5] FDA (20.04.2011): http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cfn/gras_notices/grn0165.pdf
- [6] Xiong, J. Guob, L. Huangc, B. Menga: *International Journal of Pharmaceutics* 360, 191 (2008)
- [7] A. Tuohimäki, J. R. Dutcher: *Soft Matter* 5, 220 (2008)
- [8] E. E. G. Rojas, J. S. dos Reis Coimbra, L. A. Minim, S. H. Saraiva, C. A. S. da Silva: *Journal of Chromatography B* 840, 85 (2006)
- [9] V. B. Fainerman, A. V. Makievski, R. Miller: *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 87, 61 (1994)

Praca była finansowana ze środków Politechniki Warszawskiej.