

УДК 759.873.088.5:661.185

Тетяна Пирог, Інга Савенко, Лілія Никитюк

Національний університет харчових технологій, Україна

АНТИМІКРОБНІ ТА АНТИАДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 І *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405, СИНТЕЗОВАНИХ НА ОЛІЄВМІСНИХ ВІДХОДАХ

Tatiana Pirog, Inga Savenko, Lilia Nikitiuk

ANTIMICROBIAL AND ANTIADHESIVE PROPERTIES OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES OF *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 AND *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405, SYNTHESIZED ON OIL-CONTAINING WASTE

Нині особливу увагу приділяють дослідженню та пошуку нових антимікробних та антиадгезивних препаратів, здатних попереджувати та руйнувати мікробні біоплівки [1], оскільки мікроорганізми у складі біоплівок характеризуються підвищеною стійкістю до відомих біоцидів. Такі дослідження є важливими для харчової промисловості, адже формування біоплівок на поверхні обладнання та упаковці служить джерелом інфекційних захворювань у людей [1].

Перспективними антимікробними та антиадгезивними агентами є поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження.

Раніше [2] із забруднених нафтою зразків ґрунту було виділено нафтоокиснювальні бактерії, ідентифіковані як *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 і *Nocardia vaccini* IMB B-7405 та встановлено їх здатність синтезувати метаболіти з поверхнево-активними і емульгуювальними властивостями на різних вуглецевих субстратах. Одним з шляхів здешевлення технологій мікробних ПАР є використання як субстратів промислових відходів, наприклад, відпрацьованих (пересмажених) рослинних олій і технічного гліцерину – відходу виробництва біодизелю [2-3]. Нещодавно у літературі з'явилися поодинокі повідомлення про залежність біологічних властивостей мікробних ПАР від природи джерела вуглецю у середовищі культивування продуцента [4].

У зв'язку з викладеним вище мета даної роботи – дослідити антиадгезивні та антимікробні властивості ПАР *N. vaccini* IMB B-7405 та *A. calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на відпрацьованій олії та технічному гліцерині.

Як джерело вуглецю використовували рафіновану соняшникову олію «Олейна» (Дніпропетровський олійно-екстракційний завод), а також нерафіновану і відпрацьовану після смаження картоплі олію (мережа ресторанів швидкого харчування McDonald's, Київ) у концентрації 2–4% (об'ємна частка) і технічний гліцерин (Комсомольський біопаливний завод, Полтавська обл.) у концентрації 1–2 %.

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини у вигляді супернатанту культуральної рідини (препарат 1) і розчину ПАР (препарат 2), екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) як описано раніше [5].

Як тест-культури використовували бактерії *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2 та дріжджі *Candida albicans* Д-6 з колекції мікроорганізмів кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

Антимікробні властивості поверхнево-активних речовин аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) як описано у праці [6].

Дослідження антиадгезивних властивостей ПАР здійснювали як описано у наших попередніх роботах [5].

Дослідження показали, що максимальна концентрація ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 і *N. vaccinii* ІМВ В-7405 (4,35 і 4,08 г/л відповідно) спостерігалася на середовищі з нерафінованою та відпрацьованою після смаження картоплі олією. Однак відомо, що не завжди високий синтез поверхнево-активних речовин супроводжується утворенням цільового продукту з необхідними біологічними властивостями. Тому на наступному етапі досліджували антимікробні та антиадгезивні властивості синтезованих метаболітів.

Мінімальна інгібуюча концентрація щодо досліджуваних бактерій і дріжджів ПАР досліджуваних штамів ІМВ В-7405 і ІМВ В-7241, синтезованих на промислових відходах, становила 8–68 мкг/мл. У свою чергу, поверхнево-активні речовини, синтезовані за умов росту *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на технічному гліцерині, виявилися ефективнішими (МІК 9–34 мкг/мл) щодо вегетативних і спорових клітин *B. subtilis* БТ-2, ніж ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, отримані на відпрацьованій олії.

Встановивши, що антимікробні властивості ПАР залежать від природи джерела вуглецю у середовищі культивування продуцентів, на наступному етапі визначали антиадгезивну дію препаратів щодо досліджуваних тест-культур.

Експерименти показали, що антиадгезивний ефект препаратів ПАР штамів ІМВ В-7405 та ІМВ В-7241 залежав від фізіологічного стану тест-культури, ступеня очищення ПАР та типу абіотичної поверхні. Встановлено, що ПАР, синтезовані *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на відпрацьованій після смаження картоплі олії, у концентрації 0,04 мг/мл, знижували адгезію бактерій (*E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2) на пластику, кахелі, склі та лінолеумі на 25–90, а дріжджів *C. albicans* Д-6 – на 15–65 %. ПАР, синтезовані *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на гліцерині, виявилися ефективнішими антиадгезивними агентами, ніж ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405. Ефективна концентрація поверхнево-активних речовин штаму ІМВ В-7241 була на порядок нижчою (0,005 мг/мл): після обробки цими препаратами кількість прикріплених до абіотичних поверхонь клітин бактерій становила у середньому 20–45%, а клітин дріжджів – 25–40%.

Наведені дані засвідчують залежність біологічних властивостей ПАР від умов культивування продуцента, також можливість використання промислових відходів для синтезу поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7404 та *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 з високими антиадгезивними та антимікробними властивостями.

1. *Batan I., Satputeal S., Patil R. et al.* Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants production // *Front Microbiol.* – 2014. – Vol. 5. – doi: 10.3389/fmicb.2014.00697.
2. *Пирог Т.П., Софилканич А.П., Покора К.А., Шевчук Т.А., Иутинская Г.А.* Синтез поверхностно активных веществ *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 и *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 на промышленных отходах // *Микроб. журн.* – 2014. – Т. 76, № 2. С.17–23.
3. *Joshi-Navare K., Khanvilkar P., Prabhune A.* Jatropha oil derived sophorolipids: production and characterization as laundry detergent additive // *Biochem.* – 2013. – Vol. 1, N 10. – P. 15–24.
4. *Singh A., Rautela R., Cameotra S.* Substrate dependent in vitro antifungal activity of *Bacillus* sp. strain AR2 // *Microb. Cell. Fact.* – 2014. – Vol. 13. – doi: 10.1186/147513-67.
5. *Pirog T.P., Konon A.D., Beregovaya K.A., Shulyakova M. A.* Antiadhesive properties of the surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017, and *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 // *Microbiology.* – 2014. – Vol. 83, N 6. – P. 732–739.
6. *Andrews J.* Determination of minimum inhibitory concentrations // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2001. – Vol. 48, N 1. – P. 5–16.