

Т.П. Пирог^{1,2}, И.В. Савенко¹, Т.А. Шевчук²

¹Национальный университет пищевых технологий,
ул. Владимирская, 68, Киев, 01601, Украина

²Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины,
ул. Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 НА АНТИАДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТНО- АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Цель. Исследовать влияние факторов роста и микроэлементов в составе этанол-, *n*-гексадекан- и глицеринсодержащих сред на антиадгезивные свойства поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. **Методы.** ПАВ экстрагировали из супернатанта культуральной жидкости смесью хлороформа и метанола (2:1). Количество адгезированных клеток определяли спектрофотометрическим методом как отношение оптической плотности суспензии, полученной из обработанных препаратами ПАВ (супернатант, раствор ПАВ) материалов к оптической плотности контрольных образцов и выражали в процентах. **Результаты.** Установлена зависимость антиадгезивных свойств ПАВ от наличия в среде культивирования *A. calcoaceticus* IMB B-7241 факторов роста и определенных микроэлементов, а также природы источника углеродного питания. Адгезия бактерий (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2) и дрожжей (*Candida albicans* Д-6) на пластике, кафеле, линолеуме и стали была минимальной (25–35 %) после обработки поверхностей препаратами ПАВ (0,005 мг/мл), синтезированными на этаноле в присутствии дрожжевого автолизата и микроэлементов. Замена дрожжевого автолизата и смеси микроэлементов в составе этанол- и *n*-гексадекансодержащих сред на сульфат меди и сульфат железа, а в среде с глицерином – на хлорид калия, сульфат цинка и сульфат меди сопровождалась снижением антиадгезивных свойств синтезируемых ПАВ. **Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о том, что не всегда повышение синтеза ПАВ сопровождается образованием целевого продукта с необходимыми биологическими свойствами, а также о необходимости исследований по зависимости свойств поверхностно-активных веществ от условий культивирования продуцента.

К л ю ч е в ы е с л о в а: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, поверхностно-активные вещества, условия культивирования, антиадгезивные свойства

В последние годы увеличивается количество исследований по применению микробных поверхностно-активных веществ (ПАВ) в медицине в качестве антиадгезивных агентов [5, 6, 9, 17]. Литературные данные [9] свидетельствуют, что механизм антиадгезивного действия ПАВ микробного происхождения может быть обусловлен повышением проницаемости клеточной мембраны, а также изменением поверхностного заряда клеток и, как следствие, нарушением их биологических функций. Известно, что адгезия микроорганизмов на абиотической поверхности зависит от природы их поверхностных структур и свойств материала [8].

© Т.П. Пирог, И.В. Савенко, Т.А. Шевчук, 2016

Отметим, что микробные ПАВ являются вторичными метаболитами и, как правило, синтезируются в виде комплекса подобных соединений (амино-, глико-, фосфо- и нейтральных липидов) [11]. В различных условиях культивирования продуцентов соотношение компонентов комплекса вторичных метаболитов может изменяться, что сопровождается изменением их биологических свойств [2]. Однако данные о влиянии условий культивирования на свойства поверхностно-активных веществ весьма ограничены и касаются в основном антимикробного действия ПАВ. Так, в работе [19] отмечается, что при культивировании *Bacillus amylofaciens* AR2 на декстрозе, сахарозе или глицероле синтезируется смесь липопептидов (сурфактин, итурин, фенгицин), в то время как на мальтозе, лактозе и сорбитоле образуется только итурин. Максимальные антифунгальные свойства по отношению к микромицетам родов *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria* и др. проявляли ПАВ, образуемые на сахарозе и декстрозе. Отметим, что в последнее время в литературе стали появляться работы, посвященные исследованиям взаимосвязи химического состава микробных ПАВ и их биологических свойств, в основном антимикробных [4, 7, 10, 12, 14]. Однако в этих работах авторы не изучали изменения состава и свойств поверхностно-активных веществ в зависимости от условий культивирования продуцентов.

В предыдущих исследованиях было установлено, что ПАВ, синтезируемые изолированным нами штаммом *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 на этаноле, проявляют антиадгезивные свойства [16]. По химической природе внеклеточные ПАВ *A. calcoaceticus* IMB В-7241 являются комплексом глико- (трегалозомоно- и димиколаты, трегалозомоно- и диацелаты) и аминоклипов [15]. В работе [1] мы исследовали влияние дрожжевого автолизата и микроэлементов на синтез ПАВ при культивировании *A. calcoaceticus* IMB В-7241 на различных углеродных субстратах (*n*-гексадекан, этанол, глицерин). Показана возможность замены дрожжевого автолизата и смеси микроэлементов в составе этанол- и *n*-гексадекансодержащих сред на сульфат меди и сульфат железа, а в среде с глицерином – на хлорид калия, сульфат цинка и сульфат меди. В таких условиях культивирования штамма IMB В-7241 концентрация ПАВ в 1,2–1,6 раза превышала таковую на исходных средах, содержащих дрожжевой автолизат и микроэлементы.

Цель данной работы – исследовать влияние факторов роста и микроэлементов в составе этанол, *n*-гексадекан- и глицеринсодержащих сред на антиадгезивные свойства ПАВ *A. calcoaceticus* IMB В-7241.

Материалы и методы. Объектом исследований являлся штамм *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, зарегистрированный в Депозитарии микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного Национальной академии наук Украины под номером IMB В-7241.

Штамм *A. calcoaceticus* IMB В-7241 выращивали в жидкой минеральной среде следующего состава (г/л): $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ – 0,35, NaCl – 1,0, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 0,6, KH_2PO_4 – 0,14, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, вода дистиллированная – до 1 л, pH 6,8–7,0. В среду также дополнительно вносили дрожжевой автолизат – 0,5 % (по объему) и раствор микроэлементов – 0,1 % (по объему), содержащий (г/100 мл): $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,1; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0,6; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,004; $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,03; H_3BO_3 – 0,006; KI – 0,0001; ЭДТА (Трилон Б) – 0,5.

В качестве источника углерода и энергии использовали этанол, *n*-гексадекан в концентрации 2 % (по объему), глицерин – 1 % (по объему).

В одном из вариантов, в среду с этанолом и гексадеканом вместо дрожжевого автолизата и раствора микроэлементов вносили Cu^{2+} (0,16 мкмоль/л) в виде раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ с концентрацией 4 мг/100 мл и Fe^{2+} (3,6 мкмоль/л) в виде 1 % раствора $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, а в среду с глицерином – Zn^{2+} (38 мкмоль/л) в виде раствора $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ с концентрацией 1,1 г/100 мл, Cu^{2+} (0,16 мкмоль/л) в виде раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ с концентрацией 4 мг/100 мл и K^+ в виде 1,6 % раствора KCl в концентрации 0,21 ммоль/л, что соответствует его концентрации в составе дрожжевого автолизата.

Посевной материал – культура в середине экспоненциальной фазы роста, выращенная в среде указанного выше состава с $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ без дрожжевого автолизата и микроэлементов. В качестве источника углерода и энергии при получении инокулята использовали этанол, *n*-гексадекан, глицерин в концентрации 0,5 % (по объему). Количество инокулята – 5 % от объема засеваемой среды (10^4 – 10^5 клеток/мл). Культивирование осуществляли в 750 мл колбах со 100 мл среды на качалке (320 об/мин) при 30 °С в течение 120 ч.

Из супернатанта культуральной жидкости, содержащего ПАВ (препарат 1), экстракцией смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 (смесь Фолча) выделяли ПАВ (препарат 2), как описано в нашей работе [16].

Концентрацию ПАВ в препаратах 1 и 2 устанавливали весовым методом после экстракции смесью Фолча.

В качестве тест-культур при определении антиадгезивных свойств ПАВ использовали штаммы бактерий (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2) и дрожжей (*Candida albicans* Д-6) из коллекции живых культур кафедры биотехнологии и микробиологии Национального университета пищевых технологий.

Исследование антиадгезивных свойств осуществляли, как описано ранее [16]. Количество адгезированных клеток определяли спектрофотометрическим методом как отношение оптической плотности суспензии, полученной из обработанных препаратами ПАВ (супернатант, раствор ПАВ) материалов (линолеум (поливинилхлорид), кафель, нержавеющая сталь, пластик) к оптической плотности контрольных (без обработки ПАВ) образцов, и выражали в процентах.

Все опыты проводили в 3 повторностях, количество параллельных определений в экспериментах составляло от 3 до 5. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили, как описано ранее [1, 15, 16]. Различия средних показателей считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследовали адгезию бактерий *E. coli* IEM-1 и *B. subtilis* БТ-2 (вегетативные клетки и споры) на абиотических поверхностях, обработанных препаратами ПАВ различной концентрации, синтезированных на среде с этанолом (табл. 1). Результаты показали, что количество бактериальных клеток, прикрепленных к исследуемым поверхностям, было минимальным после их обработки препаратом 2 с концентрацией ПАВ 0,005 мг/мл.

Таблица 1

Влияние концентрации растворов ПАВ (препарат 2) *A. calcoaceticus* IMB В-7241, синтезированных в среде с этанолом, на адгезию бактерий к абиотическим поверхностям

Тест-культуры	Концентрация ПАВ, мг/мл	Адгезия (%) после обработки ПАВ, синтезированными при наличии в среде с этанолом							
		дрожжевого автолизата и микроэлементов				CuSO ₄ , FeSO ₄			
		пластик	линолеум	кафель	сталь	пластик	линолеум	кафель	сталь
<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативные клетки)	0,009	36	41	45	48	69	71	67	58
	0,005	25	33	34	34	57	59	51	45
	0,003	31	39	41	43	65	68	62	55
<i>B. subtilis</i> БТ-2 (споры)	0,009	37	42	48	51	69	45	55	43
	0,005	26	34	38	33	47	37	44	37
	0,003	34	41	47	46	63	55	62	48
<i>E. coli</i> IEM-1	0,009	45	38	44	46	64	46	67	62
	0,005	31	22	29	29	46	34	42	48
	0,003	37	35	41	43	68	51	62	59

Примечание: Табл. 1–4: при определении адгезии погрешность не превышала 5 %.

Дальнейшие эксперименты показали, что и в случае использования для обработки поверхностей супернатанта (препарат 1) адгезия бактерий на пластике, линолеуме, кафеле и стали была минимальной при концентрации ПАВ в препарате, равной 0,005 мг/мл. Аналогичные результаты были получены при исследовании адгезии дрожжей *C. albicans* Д-6 на всех поверхностях, обработанных препаратами 1 и 2, синтезированными на этаноле (табл. 2).

Данные, представленные в табл. 1 и 2, показывают, что препараты ПАВ, полученные при культивировании штамма *A. calcoaceticus* IMB В-7241 в среде с этанолом, содержащей дрожжевой автолизат и микроэлементы, оказались более эффективными антиадгезивными агентами, чем ПАВ, синтезируемые при наличии в среде сульфата меди и железа. Особенно четко такая закономерность наблюдалась для вегетативных клеток *B. subtilis* БТ-2, адгезия которых на поверхностях, обработанных ПАВ, синтезированными на этаноле в присутствии дрожжевого автолизата и микроэлементов, составляла 25–34 %, а после обработки ПАВ, полученными в присутствии CuSO₄ и FeSO₄, была выше – 45–57 % (см. табл. 1).

На следующем этапе изучали адгезию тест-культур на поверхностях, обработанных препаратами ПАВ, синтезированными *A. calcoaceticus* IMB В-7241 в среде с глицерином и *n*-гексадеканом в присутствии различных факторов роста и микроэлементов. Результаты исследований показали, что как и препараты 1 и 2, полученные на этаноле, так и ПАВ, синтезируемые на глицерине и *n*-гексадекане, проявляли максимальные антиадгезивные свойства при концентрации 0,005 мг/мл.

Таблица 2

Адгезия *C. albicans* Д-6 на абиотических поверхностях, обработанных ПАВ *A. calcoaceticus* IMB В-7241, синтезированными в среде с этанолом

Препараты	Концентрация ПАВ в препаратах, мг/мл	Адгезия (%) после обработки ПАВ, синтезированными при наличии в среде с этанолом							
		дрожжевого автолизата и микроэлементов				CuSO ₄ , FeSO ₄			
		пластик	линолеум	кафель	сталь	пластик	линолеум	кафель	сталь
1 (супернатант)	0,009	41	38	43	47	68	59	71	71
	0,005	30	27	31	33	51	43	53	51
	0,003	37	35	39	45	62	55	64	59
2 (раствор ПАВ)	0,009	43	39	44	49	71	58	67	62
	0,005	31	29	35	34	51	44	52	49
	0,003	39	41	44	48	68	57	62	59

В табл. 3 и 4 представлены данные по адгезии *E. coli* IEM-1, *B. subtilis* БТ-2 и *C. albicans* Д-6 на поверхностях, обработанных ПАВ (0,005 мг/мл), синтезированными в различных условиях культивирования штамма *A. calcoaceticus* IMB В-7241 на глицерине и *n*-гексадекане.

Эксперименты показали, что после обработки поверхностей препаратами 1 и 2, синтезированными на глицерине в присутствии дрожжевого автолизата и микроэлементов, адгезия тест-культур (за исключением спор *B. subtilis* БТ-2) была ниже, чем на поверхностях, обработанных ПАВ, образуемыми при наличии в глицеринсодержащей среде сульфата меди, цинка и хлорида калия (табл. 3). Отметим, что особых различий в антиадгезивных свойствах препарата 1 (супернатант) и препарата 2 (раствор ПАВ), полученных на глицерине, не выявлено. Аналогичные закономерности установлены и для препаратов 1 и 2, синтезированных на *n*-гексадекане (табл. 4): как раствор ПАВ, так и супернатант обладали практически одинаковыми антиадгезивными свойствами.

Замена в среде с *n*-гексадеканом дрожжевого автолизата и микроэлементов на сульфат меди и железа сопровождалась некоторым снижением антиадгезивных свойств образуемых ПАВ (см. табл. 4).

Отметим, что эффективность антиадгезивных свойств ПАВ зависела не только от наличия в среде культивирования факторов роста и определенных микроэлементов, но и от природы источника углеродного питания (табл. 1–4). Так, после обработки абиотических поверхностей препаратами ПАВ, синтезированными на этаноле в присутствии дрожжевого автолизата и микроэлементов, наблюдали снижение адгезии тест-культур в среднем на 60–80 %, в то время как обработка материалов препаратами, полученными в аналогичных условиях культивирования на глицерине и *n*-гексадекане сопровождалась снижением адгезии микроор-

Таблица 3

Адгезия некоторых микроорганизмов на поверхностях после обработки ПАВ, синтезированными *A. calcoaceticus* IMB В-7241 в среде глицерином

Препарат	Наличие в среде	Поверхность	Адгезия (%)			
			<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативные клетки)	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (споры)	<i>E. coli</i> IEM-1	<i>C. albicans</i> Д-6
1 супернатант	дрожжевого автолизата и микроэлементов	пластик	26	79	52	34
		линолеум	21	71	53	43
		кафель	33	66	55	28
		сталь	20	52	47	40
	CuSO ₄ , ZnSO ₄ , KCl	пластик	45	56	63	48
		линолеум	36	48	67	53
		кафель	38	55	62	51
		сталь	52	42	53	57
2 раствор ПАВ	дрожжевого автолизата и микроэлементов	пластик	28	54	38	23
		линолеум	25	51	33	25
		кафель	38	48	30	20
		сталь	25	44	35	23
	CuSO ₄ , ZnSO ₄ , KCl	пластик	58	47	42	45
		линолеум	46	35	46	49
		кафель	48	41	40	47
		сталь	61	33	44	51

ганизмов в среднем на 40–70 и 40–50 % соответственно по сравнению с адгезией микроорганизмов на не обработанных ПАВ поверхностях.

Полученные результаты свидетельствуют о влиянии условий культивирования продуцентов ПАВ не только на показатели синтеза поверхностно-активных веществ, но и на их антиадгезивные свойства. К сожалению, эта проблема остается вне внимания исследователей. В доступной литературе нам удалось обнаружить несколько сообщений, в которых обсуждается зависимость химического состава ПАВ и их антиадгезивных свойств. Так, в работе [17] показано, что фракция-1 липопептидных ПАВ *B. licheniformis* V9T14, в концентрации 0,08 мг/мл, ингибировала адгезию *E. coli* CFT073 на полистироловые пластинки на 50 %, а фракция-2, в такой же концентрации – на 90–95 %. В присутствии двух фракций липопептидов *B. subtilis* V19T21 (35 мг/мл) адгезию *E. coli* CFT073 не наблюдали [17]. Предварительные исследования показали, что фракция-2 обоих штаммов представляет собой поверхностно-активное вещество, принадлежащее к фенгицин-подобным ПАВ. В работе [17] отмечается, что именно фракция-2 является ответственной за антиадгезивные свойства синтезируемых *B. licheniformis* V9T14 и *B. subtilis* V19T21 комплексов. Позже было установлено, что фракция-1 штамма V9T14 содержит C13–C15 гомологи сурфактина, а фракция-2 – C14–C17 гомологи фенгицина [14]. Отметим, что в работах [14, 17] авторы не исследовали зави-

Таблица 4

Влияние условий культивирования *A. calcoaceticus* IMB В-7241 в среде с *n*-гексадеканом на антиадгезивные свойства ПАВ

Препарат	Наличие в среде	Поверхность	Адгезия (%)			
			<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативные клетки)	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (споры)	<i>E. coli</i> IEM-1	<i>C. albicans</i> Д-6
1 супернатант	дрожжевого автолизата и микроэлементов	пластик	31	43	42	49
		линолеум	29	42	41	47
		кафель	34	49	47	43
		сталь	28	54	44	45
	CuSO ₄ , FeSO ₄	пластик	43	57	52	53
		линолеум	37	66	52	49
		кафель	44	69	59	47
		сталь	38	61	56	53
2 раствор ПАВ	дрожжевого автолизата и микроэлементов	пластик	35	43	46	44
		линолеум	33	45	43	47
		кафель	39	50	52	45
		сталь	33	56	51	44
	CuSO ₄ , FeSO ₄	пластик	61	52	54	52
		линолеум	54	56	56	54
		кафель	63	61	64	45
		сталь	57	64	61	57

симось химического состава липопептидов от условий культивирования продуцентов.

Антимикробные и антиадгезивные свойства рамнолипидов, синтезируемых *Pseudomonas* sp. pур41, *Pseudomonas aeruginosa* LCD12 и *P. aeruginosa* D2, зависят от соотношения моно- и дирамнолипидов в комплексе ПАВ [7]. К сожалению, авторы не изучали влияние условий культивирования штаммов на химический состав и свойства ПАВ. В работах [3, 13] отмечается, что соотношение моно- и дирамнолипидов в составе синтезируемых ПАВ зависит от условий культивирования продуцентов. Так, *P. aeruginosa* OBP1, при выращивании в среде, содержащей 20 г/л *n*-гексадекана, мочевины и сульфат аммония (по 2 г/л), синтезирует 4,8 г/л ПАВ, в составе которого преобладают монорамнолипиды [3]. В работе [13] отмечается, что в процессе периодического культивирования *P. aeruginosa* PAO1 на подсолнечном масле наблюдается изменение соотношения моно- и дирамнолипидов в составе ПАВ. Однако авторы работ [3, 13] не исследовали биологические свойства рамнолипидов, отличающихся по химическому составу.

Наши данные, представленные в настоящей работе, свидетельствуют о том, что антиадгезивные свойства ПАВ штамма *A. calcoaceticus* IMB В-7241 зависят от природы источника углерода в среде культивирования (этанол, глицерин, *n*-гексадекан), а также от наличия в среде дрожжевого автолизата и определенных микроэлементов. Мы предполагаем, что такое явление может быть обусловлено изменением соотношения глико-, аминок- и нейтральных липидов в составе ПАВ, синтезируемых в различных

умовлях культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241.

Согласно литературным данным, аминоклипыды (липепептиды) являются более эффективными антимикробными и антиадгезивными агентами по сравнению с гликолипидами [18, 20]. Ранее [1] было установлено, что биосинтез аминоклипыдов у *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 осуществляется при участии НАДФ⁺-зависимой глутаматдегидрогеназы. Вполне вероятно, что в составе микроэлементов, входящих в состав среды для культивирования, содержатся катионы, являющиеся активаторами этого фермента. Выяснению этих вопросов будут посвящены наши дальнейшие исследования.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что не всегда повышение синтеза ПАВ сопровождается образованием целевого продукта с необходимыми биологическими свойствами, а также о необходимости исследований зависимости свойств поверхностно-активных веществ от условий культивирования продуцента.

Т.П. Пирог^{1,2}, І.В. Савенко¹, Т.А. Шевчук²

¹Національний університет харчових технологій,
вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

²Інститут мікробіології і вірусології НАН України,
вул. Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* ІМВ В-7241 НА АНТИАДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Резюме

Мета. Дослідити вплив факторів росту і мікроелементів у складі етанол-, *n*-гексадекан- і гліцеринвмісних середовищ на антиадгезивні властивості поверхнево-активних речовин (ПАР) *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241. **Методи.** ПАР екстрагували з супернатанту культуральної рідини сумішшю хлороформу і метанолу (2:1). Кількість адгезованих клітин (адгезія) визначали спектрофотометричним методом, як відношення оптичної густини суспензії, одержаної з оброблених препаратами ПАР (супернатант, розчин ПАР) матеріалів, до оптичної густини контрольних зразків і виражали у відсотках. **Результати.** Встановлено залежність антиадгезивних властивостей ПАР від наявності у середовищі культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 факторів росту і певних мікроелементів, а також природи джерела вуглецевого живлення. Адгезія бактерій (*Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2) і дріжджів (*Candida albicans* Д-6) на пластику, кахелі, лінолеумі і сталі була мінімальною (25–35 %) після обробки поверхонь препаратами ПАР (0,005 мг/мл), синтезованими на етанолі за присутності дріжджового автолізу і мікроелементів. Заміна дріжджового автолізу і суміші мікроелементів у складі етанол- і *n*-гексадеканвмісних середовищ на сульфат міді і сульфат заліза, а у середовищі з гліцирином – на КСІ, сульфат цинку і сульфат міді супроводжувалася зниженням антиадгезивних властивостей синтезованих ПАР. **Висновки.** Одержані дані засвідчують, що не завжди підвищення синтезу ПАР супроводжується утворенням цільового продукту з необхідними біологічними властивостями, а також необхідність досліджень залежності властивостей поверхнево-активних речовин від умов культивування продуцента.

Ключові слова: *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, поверхнево-активні речовини, умови культивування, антиадгезивні властивості.

EFFECT OF CULTIVATION CONDITION OF *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241 ON ANTIADHESIVE PROPERTIES OF SURFACTANTS

S u m m a r y

Aim. To study the effect of growth factors and microelements in composition of ethanol-, n-hexadecane- and glycerol-containing media on antiadhesive properties of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants. **Methods.** Surfactants were extracted from supernatant of cultural liquid by mixture of chloroform and methanol (2:1). The number (%) of attached cells (adhesion) was determined as a ratio of the optical density of the suspension obtained from the materials treated with surfactants to the optical density of the control samples (100 %). **Results.** Dependence of surfactants antiadhesive properties on presence in the medium of *A. calcoaceticus* IMB B-7241 cultivation of growth factors and certain microelements, as well as the nature of the carbon source was established. Adhesion of bacteria (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* BT-2) and yeast (*Candida albicans* D-6) on plastic, dutch tile, linoleum, and steel was a minimal (25–35 %) after surface treatment with surfactant (0.005 mg/ml) synthesized on ethanol in the presence of yeast autolysate and microelements. Replacement the yeast autolysate and microelement mixture in the composition of ethanol- and n-hexadecane-containing media by copper sulfate and iron sulfate and in the medium with glycerol by KCl, zinc sulfate and copper sulfate accompanied by decreasing antiadhesive properties of synthesized surfactants. **Conclusions.** The obtained data indicate that the increasing surfactant synthesis does not always the accompanied by the formation of product with the required biological properties and indicate the need for studies depending on biological properties of surfactants of the cultivation conditions of producer.

Key words: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, surfactants, conditions of cultivation, antiadhesive properties.

1. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Мащенко О.Ю., Парфенюк С.А., Иутинская Г.А. Влияние факторов роста и некоторых микроэлементов на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 // Микробиол. журнал. – 2013. – 75, № 5. – С. 19–27.
2. Подгорский В.С., Иутинская Г.О., Пирог Т.П. Интенсификация технологий микробного синтеза. К.: Наук. думка, 2010. – 327 с.
3. Bharali P., Konwar B.K. Production and physico-chemical characterization of a biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* OBP1 isolated from petroleum sludge // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2011. – 164, N 8. – P. 1444–1460. doi: 10.1007/s12010-011-9225-z.
4. Cawoy H., Debois D., Franzil L., De Pauw E., Thonart P., Ongena M. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens* // Microb. Biotechnol. – 2015. – 8, N 2. – P. 281–295. doi: 10.1111/1751-7915.12238.

5. Cochis A., Fracchia L., Martinotti M.G., Rimondini L. Biosurfactants prevent in vitro *Candida albicans* biofilm formation on resins and silicon materials for prosthetic devices // Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. – 2012. – **113**, N 6. – P. 775–761.
6. Cortés-Sánchez Ade J., Hernández-Sánchez H., Jaramillo-Flores M.E. Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives // Microbiol. Res. – 2013. – **168**, N 1. – P. 22–32. doi: 10.1016/j.micres.2012.07.002.
7. Das P., Yang X.P., Ma L.Z. Analysis of biosurfactants from industrially viable *Pseudomonas* strain isolated from crude oil suggests how rhamnolipids congeners affect emulsification property and antimicrobial activity // Front. Microbiol. – 2014. – **5**:696. doi: 10.3389/fmicb.2014.00696.
8. Finkel J.S., Mitchell A.P. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development // Nat. Rev. Microbiol. – 2011. – **9**, N 2. – P. 109–118.
9. Kalyani R. Bishwambhar M., Suneetha V. Recent potential usage of surfactant from microbial origin in pharmaceutical and biomedical arena: a perspective // Int. Res. J. Pharm. – 2011. – **2**, N 8. – P. 11–15.
10. Li X.Y., Mao Z.C., Wang Y.H., Wu Y.X., He Y.Q., Long C.L. ESI LC-MS and MS/MS characterization of antifungal cyclic lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* XF-1 // J. Mol. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – **22**, N 2. – P. 83–93. doi: 10.1159/000338530.
11. Marchant R., Banat M.I. Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants // Biotechnol. Lett. – 2012. – **34**, N 9. – P. 1597–1605.
12. Morita T., Fukuoka T., Imura T., Kitamoto D. Mannosylerythritol lipids: production and applications // J. Oleo. Sci. – 2015. – **64**, N 2. – P. 133–141. doi: 10.5650/jos.ess14185.
13. Müller M.M., Hörmann B., Kugel M., Sylđatk C., Hausmann R. Evaluation of rhamnolipid production capacity of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in comparison to the rhamnolipid over-producer strains DSM 7108 and DSM 2874 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – **89**, N 3. – P. 585–592. doi: 10.1007/s00253-010-2901-z.
14. Pecci Y., Rivardo F., Martinotti M.G., Allegrone G. LC/ESI-MS/MS characterisation of lipopeptide biosurfactants produced by the *Bacillus licheniformis* V9T14 strain // J. Mass. Spectrom. – 2010. – **45**, N 7. – P. 772–778. doi: 10.1002/jms.1767.
15. Pirog T.P., Antonuk S.I., Karpenko Y.V., Shevchuk T.A. The influence of conditions of *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 strain cultivation on surface-active substances synthesis // Appl. Biochem. Microbiol. – 2009. – **45**, N 3. P. 272–278.
16. Pirog T.P., Konon A.D., Beregovaya K.A., Shulyakova M.A. Antiadhesive properties of the surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Microbiology. – 2014. – **83**, N. 6. – P. 732–739.
17. Rivardo F., Turner R.J., Allegrone G., Ceri H., Martinotti M.G. Anti-adhesion activity of two biosurfactants produced by *Bacillus* spp. prevents biofilm formation of human bacterial pathogens // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – **83**, N 3. – P. 541–553.
18. Sharma D., Mandal S.M., Manhas R.K. Purification and characterization of a novel lipopeptide from *Streptomyces amritsarensis* sp. nov. active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // AMB Express. – 2014. – **4**:50. doi: 10.1186/s13568-014-0050-y.
19. Singh A.K., Rautela R., Cameotra S.S. Substrate dependent *in vitro* antifungal activity

of *Bacillus* sp. strain AR2 // *Microb. Cell Fact.* – 2014. – 13:67. doi: 10.1186/1475-2859-13-67.

20. Tareq F.S., Lee M.A., Lee H.S., Lee J.S., Lee Y.J., Shin H.J. Gageostatins A–C, antimicrobial linear lipopeptides from a marine *Bacillus subtilis* // *Mar. Drugs.* – 2014. – 12, N 2. – P. 871–885.

Отримано 02.09.2015