

Т.П. Пирог^{1,2}, Л.В. Никитюк¹, Г.О. Іутинська²

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

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405, СИНТЕЗОВАНИХ НА ВІДХОДАХ ВИРОБНИЦТВА БІОДИЗЕЛЮ

Мета. Порівняння антимікробної та антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин (ПАР) *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на очищеному та технічному гліцерині (відхід виробництва біодизелю). **Методи.** ПАР екстрагували з супернатанту культуральної рідини сумішшю хлороформу і метанолу (2:1). Антимікробні щодо бактерій та дріжджів властивості ПАР визначали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Кількість адгезованих клітин мікроорганізмів визначали спектрофотометричним методом. **Результати.** Встановлено залежність антимікробної та антиадгезивної активності ПАР від ступеня очищення гліцерину (очищений, технічний), а також тривалості культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на цих субстратах. МІК щодо досліджуваних тест-культур ПАР, синтезованих на технічному гліцерині упродовж 5-и діб, становила 15–121 мкг/мл і була нижчою, ніж МІК ПАР, одержаних на очищеному субстраті (22,5–180 мкг/мл). Збільшення тривалості культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 призводило до підвищення МІК щодо деяких тест-культур поверхнево-активних речовин, синтезованих як на технічному, так і очищеному гліцерині.

Адгезія бактерій *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2 (вегетативних клітин та спор), і дріжджів *Candida albicans* Д-6 на абіотичних поверхнях, оброблених ПАР, синтезованими на технічному гліцерині упродовж як 5-и, так і 7-и діб, була у середньому на 11–12 % нижчою, ніж після обробки матеріалів ПАР, отриманими на очищеному субстраті. **Висновки.** Збільшення активності НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази – ключового ферменту біосинтезу аміноліпідів (ефективних антимікробних та антиадгезивних агентів) за наявності K⁺ і Na⁺ може засвідчувати можливість посилення біосинтезу цих складових комплексу ПАР за умов росту *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на технічному гліцерині, який характеризується високим вмістом катіонів калію та натрію. Заміна очищеного гліцерину на відхід виробництва біодизелю дає змогу не тільки здешевити процес біосинтезу ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, а й отримати цільовий продукт з високою антиадгезивною та антимікробною активністю.

К л ю ч о в і с л о в а: *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, поверхнево-активні речовини, антимікробні та антиадгезивні властивості, тривалість культивування, очищений та технічний гліцерин.

У попередніх дослідженнях [1–5] було встановлено можливість синтезу поверхнево-активних речовин (ПАР) у процесі культивування *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 як на очищеному, так і технічному гліцерині (гліцеринова фракція), який є відходом виробництва біодизелю, а також показано, що ПАР штаму ІМВ В-7405, синтезовані на очищеному субстраті, можуть

бути використані для очищення доквілля від ксенобіотиків, а також як антимікробні та антиадгезивні агенти.

Через наявність потенційних інгібіторів у складі технічного гліцерину (метанол, натрієві і калієві солі, важкі метали), ефективність технологій одержання більшості продуктів мікробного синтезу на такому субстраті є нижчою, ніж на очищеному [6–8]. Не виключено, що наявність у складі відходів виробництва біодизелю токсичних компонентів негативно впливатиме і на «якість» синтезованих цільових продуктів. Тим більше, що наші попередні дані засвідчують, що не завжди підвищення синтезу ПАР супроводжується утворенням цільового продукту з необхідними біологічними властивостями, а також про необхідність проведення досліджень щодо залежності властивостей поверхнево-активних речовин від умов культивування продуцента [9, 10].

Крім того, існуючі технології виробництва практично цінних вторинних метаболітів являють собою періодичні процеси, орієнтовані на максимальний вихід цільового продукту. Оскільки у процесі культивування склад синтезованих метаболітів може змінюватися, немає гарантій одержання продукту з необхідними для практичного використання властивостями.

У зв'язку з цим мета даної роботи – порівняння антимікробної та антиадгезивної активності ПАР, синтезованих під час вирощування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на очищеному та технічному гліцерині.

Матеріали і методи. Основний об'єкт досліджень – штам *N. vaccinii* ІМВ В-7405, зареєстрований у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером ІМВ В-7405.

N. vaccinii ІМВ В-7405 вирощували у рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): NaNO_3 – 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; KH_2PO_4 – 0,1; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; дріжджовий автолізат – 0,5 % (об'ємна частка). Як джерело вуглецю використовували очищений та технічний гліцерин (Комсомольський біопаливний завод, Полтавська обл.) у концентрації 2 % (об'ємна частка).

Як посівний матеріал використовували культуру в експоненційній фазі, вирощену на середовищі наведеного складу з 0,5 % відповідного субстрату. Інокулят, в якому чисельність бактерій становила 10^4 – 10^5 кл/мл, вносили у кількості 10 % від об'єму середовища.

Культивування здійснювали у 750 мл колбах з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30 °С упродовж 5 і 7 діб.

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини, екстраговані з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1), як описано у наших попередніх роботах [4, 5].

Антимікробну активність поверхнево-активних речовин аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Визначення МІК здійснювали методом двократних серійних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) для бактерій і рідкому суслі – для дріжджів, як описано нами раніше [4]. Результати оцінювали візуально за помутнінням середовища: (+) – пробірки, в яких спостерігали помутніння середовища (ріст тест-культури), (–) – помутніння не було (ріст відсутній). Мінімальну ін-

гібуючу концентрацію розчину ПАР визначали як середнє значення між концентраціями ПАР в останній пробірці, де ріст був відсутній, і в попередній, де він був наявний.

Визначення антиадгезивних властивостей ПАР здійснювали, як описано у наших попередніх дослідженнях [2, 10]. Кількість адгезованих клітин (адгезія) визначали спектрофотометричним методом як відношення оптичної густини суспензії, одержаної з оброблених препаратами ПАР (супернатант, розчин ПАР) матеріалів (пластик, кахель, сталь, лінолеум), до оптичної густини контрольних зразків (без обробки ПАР) і виражали у відсотках.

Як тест-культури під час визначення антимікробних та антиадгезивних властивостей ПАР використовували штами бактерій (*Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Proteus vulgaris* ПА-12, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2, *Enterobacter cloacae* С-8, *Erwinia aroideae* Н-3) і дріжджів (*Candida albicans* Д-6 і *Candida tropicalis* РЕ-2) з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

Для одержання безклітинних екстрактів культуральну рідину, одержану після культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 у рідкому середовищі, центрифугували (5000 g, 20 хв, 4 °С). Отриманий осад клітин двічі відмивали від залишків середовища 0,05 М К⁺-фосфатним буфером (рН 7,0), центрифугуючи (4000 g, 15 хв, 4 °С). Відмиті клітини ресуспендували в 0,05 М К⁺-фосфатному буфері (рН 7,0) і руйнували ультразвуком (22 кГц) 3 рази по 40 с при 4 °С на апараті УЗДН-1. Одержаний дезінтеграт центрифугували (12000 g, 30 хв, 4 °С), осад відділяли, а супернатант використовували для подальших досліджень як безклітинний екстракт.

Активність НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.4) аналізували за утворенням глутамату під час окиснення НАДФН при 340 нм [11]. Активність ферменту визначали при 28–30 °С – температурі, оптимальній для росту *N. vaccinii* ІМВ В-7405.

Усі досліди проводили у 3-х повторях, кількість паралельних визначень в експериментах становила 3–5. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали, як описано у попередніх роботах [1, 3]. Відмінності середніх показників вважали достовірними на рівні значимості $p < 0,05$.

Результати та обговорення. Перші публікації щодо використання технічного гліцерину у технологіях мікробного синтезу практично важливих метаболітів з'явилися близько десяти років тому [12], проте до теперішнього часу ці дослідження є актуальними, що зумовлено збільшенням з року в рік обсягів виробництва біодизелю. У роботі [7] прогнозується збільшення у 2016 р. його ринку до 37 млрд галонів (близько 140 млн т). Європа, як і раніше, є найбільшим виробником цього біопалива. Станом на травень 2013 р. обсяги виробництва біодизелю у країнах Європейського союзу досягли 111 млн галонів [13].

Зазначимо, що з кожним роком кількість публікацій, присвячених біосинтезу мікробних ПАР на технічному гліцерині, збільшується [8], проте у доступній літературі нам не вдалося знайти інформацію про антимікробні чи антиадгезивні властивості поверхнево-активних речовин, синтезованих на цьому субстраті. Щоправда, у роботі [14] зазначається, що фізико-хімічні

властивості софороліпідів (критична концентрація міцелоутворення, поверхнево-активні властивості) залежать від співвідношення у складі комплексу лактонної та нелактонної форм цих ПАР, а постферментаційна модифікація можлива лише для софороліпідів з вільним ацильним ланцюгом (нелактонна форма). За умов росту *Candida bombicola* ATCC 22214 на очищеному гліцерині 99 % синтезованих ПАР перебувають у лактонній формі, яка не піддається подальшій хімічній модифікації (з метою змінення властивостей цільового продукту). У той же час на відходах виробництва біодизелю синтезується комплекс, 75 % якого становлять софороліпідів з вільним ацильним ланцюгом [6]. Пізніше [15] було показано, що етилові ефіри моно- та діацетат-похідних софороліпідів є ефективнішими антибактеріальними агентами, ніж нативні софороліпідів у лактонній формі: МІК щодо бактерій (*E. coli* ATCC 25922 і *S. aureus* ATCC 29213) становила 128 і 512 мкг/мл відповідно. Зазначимо, що у цих дослідженнях продуцент софороліпідів вирощували на глюкозі [15].

У табл. 1 наведено дані про антимікробну активність ПАР, синтезованих за умов росту *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на очищеному і технічному гліцерині. Мінімальна інгібуюча концентрація щодо досліджуваних тест-культур (за винятком *Pseudomonas* sp. МІ-2) поверхнево-активних речовин, одержаних на відходах виробництва біодизелю, була нижчою, ніж МІК ПАР, утворюваних на очищеному гліцерині. У разі збільшення тривалості культивування штаму ІМВ В-7405 на обох субстратах з 5 до 7 діб спостерігали синтез ПАР, які характеризувалися підвищенням показника МІК щодо деяких мікроорганізмів (*E. aroideae* Н-3, *S. aureus* БМС-1, *P. vulgaris* ПА-12). Зазначимо, що встановлена у попередніх дослідженнях [4] мінімальна інгібуюча концентрація ПАР, синтезованих у процесі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на очищеному гліцерині упродовж 5 діб (11,5–85 мкг/мл), була дещо нижчою, ніж визначена у даній роботі (22,5–180 мкг/мл, табл. 1). Ми припускаємо, що ці розбіжності можуть бути зумовлені різною концентрацією гліцерину у середовищі культивування штаму ІМВ В-7405 (1,5 % у роботі [4] і 2 % у даних дослідженнях).

Таблиця 1

Вплив тривалості культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на очищеному і технічному гліцерині на антимікробну активність ПАР

Тест-культура	МІК (мкг/мл) ПАР, синтезованих на гліцерині упродовж (діб)			
	технічному		очищеному	
	5	7	5	7
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	15	30	22,5	45
<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спори)	15	30	45	45
<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1	121	121	180	180
<i>Pseudomonas</i> sp. МІ-2	121	121	90	90
<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	15	30	90	180
<i>Proteus vulgaris</i> ПА-12	60	121	90	180
<i>Erwinia aroideae</i> Н-3	60	242	90	360
<i>Enterobacter cloacae</i> С-8	121	121	180	180
<i>Candida albicans</i> Д-6	15	30	22,5	45
<i>Candida tropicalis</i> РЕ-2	30	30	45	45

Примітка: при визначенні МІК похибка не перевищувала 5 %

Таким чином, наведені результати засвідчують залежність біологічних властивостей мікробних ПАР не тільки від природи джерела вуглецю у середовищі вирощування продуцента, а й від його концентрації та тривалості процесу біосинтезу.

На наступному етапі аналізували вплив ПАР, синтезованих упродовж 5-и і 7-и діб на очищеному і технічному гліцерині, на прикріплення деяких бактерій і дріжджів до абіотичних матеріалів (табл. 2).

Таблиця 2

Антиадгезивні властивості ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на очищеному і технічному гліцерині

Тривалість культивування, діб	Гліцерин як субстрат	Поверхня	Адгезія, %			
			<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетивні клітини)	<i>Candida albicans</i> Д-6	<i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1
5	очищений	пластик	53	50	62	46
		кахель	59	61	66	51
		сталь	39	35	50	48
		лінолеум	41	34	47	37
	технічний	пластик	39	43	38	34
		кахель	41	33	41	30
		сталь	38	20	46	26
		лінолеум	29	16	42	22
7	очищений	пластик	60	48	40	35
		кахель	56	45	47	41
		сталь	41	36	46	38
		лінолеум	39	36	40	33
	технічний	пластик	45	18	41	27
		кахель	46	30	36	33
		сталь	39	28	44	32
		лінолеум	34	18	27	21

Примітка: при визначенні адгезії похибка не перевищувала 5 %. Концентрація розчинів ПАР, синтезованих на технічному і очищеному гліцерині, становила 0,02 і 0,04 мг/мл відповідно.

Експерименти показали, що незалежно від тривалості культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на обох субстратах синтезувалися ПАР з достатньо високою антиадгезивною та антимікробною активністю: адгезія досліджуваних тест-культур на усіх абіотичних поверхнях, оброблених такими ПАР, у середньому становила 40–50 %. Разом з тим, у разі обробки матеріалів розчинами ПАР, синтезованих на відходах виробництва біодизелю, спостерігали зниження кількості прикріплених клітин бактерій і дріжджів на 11–12 % порівняно з показниками адгезії на поверхнях, оброблених препаратами поверхнево-активних речовин, одержаних на очищеному гліцерині. Зазначимо, що нижчий рівень адгезії тест-культур досягався за вдвічі нижчої концентрації (0,02 мг/мл) ПАР, синтезованих на технічному гліцерині (концентрація ПАР, отриманих на очищеному субстраті становила 0,04 мг/мл).

Наступний етап наших досліджень був присвячений встановленню можливих причин, що зумовлюють різні біологічні властивості ПАР, синтезованих у середовищі з технічним і очищеним гліцерином. У роботі [9] ми зазначали, що згідно літературних даних аміноліпіди є ефектив-

нішими антимікробними агентами порівняно з гліколіпідами. Оскільки штам ІМВ В-7405 синтезує комплекс гліко-, аміно- та нейтральних ліпідів [1], можна припустити, що у процесі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на технічному гліцерині вміст аміноліпідів у складі синтезованого комплексу ПАР є вищим, ніж одержаного на середовищі з очищеним субстратом. Однією з причин посилення синтезу аміноліпідів за умов росту штаму ІМВ В-7405 на відходах виробництва біодизелю може бути наявність у складі такого субстрату високої концентрації катіонів калію чи натрію [7] – потенційних активаторів НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази – ключового ферменту біосинтезу аміноліпідів у *N. vaccinii* ІМВ В-7405 [16]. На користь цього свідчили дані літератури про те, що активність такого ферменту у гіпертермофільних архей *Aeropyrum pernix* К1 за наявності 50–200 мМ солей калію та натрію (K₂SO₄, KCl, NaCl) підвищувалася на 170–300 % [17].

Для перевірки нашого припущення аналізували вплив різних концентрацій K⁺ і Na⁺ на активність НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази за умов росту *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на очищеному гліцерині (табл. 3).

Таблиця 3

Активність НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази *N. vaccinii* ІМВ В-7405 за наявності різних концентрацій катіонів калію та натрію

Наявність у реакційній суміші	Концентрація, мМ	Активність, нмоль хв ⁻¹ мг ⁻¹ білку
KCl	50	635±32
	100	1111±55
NaCl	50	794±39
	100	1111±55
Без солей (контроль)	0	476±23

Примітка: Активність визначали у безклітинному екстракті, одержаному з клітин, які перебували у кінці експоненційної фази росту.

Дослідження показали, що внесення у реакційну суміш 50–100 мМ катіонів калію та натрію супроводжувалося збільшенням активності ферменту в 1,3–2,3 рази порівняно з активністю без катіонів. Такі результати узгоджуються з даними літератури [17] про активацію НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази K⁺ і Na⁺ і можуть слугувати одним з доказів нашого пояснення вищої антимікробної і антиадгезивної активності ПАР, синтезованих у процесі вирощування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на відходах виробництва біодизелю порівняно з аналогічними показниками, встановленими для поверхнево-активних речовин, одержаних на очищеному гліцерині (див. табл. 1 і 2). Крім того, цілком ймовірно, що й вища майже у 2 рази концентрація синтезованих ПАР у процесі вирощування штаму ІМВ В-7405 на технічному гліцерині, ніж на очищеному субстраті [3], може бути зумовлена активуючим впливом K⁺ і Na⁺ на активність одного з ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин.

Таким чином, у процесі проведеної роботи встановлено, що заміна очищеного гліцерину у середовищі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на технічний дає змогу одночасно вирішити кілька важливих проблем: по-перше, підвищити рентабельність виробництва біодизелю, по-друге, покращити стан довкілля в результаті утилізації небезпечних токсичних відходів, по-третє, суттєво знизити собівартість поверхнево-активних

речовин за рахунок використання як субстрату дешевих і наявних у великій кількості промислових відходів, по-четверте, одержати цільовий продукт з високою антимікробною і антиадгезивною активністю. Крім того, одержані дані підтверджують зроблені раніше [9, 10] висновки про залежність біологічних властивостей мікробних ПАВ від умов культивування продуцента і необхідність подальшого проведення таких досліджень для одержання препаратів зі стабільними заданими властивостями залежно від галузі їх практичного застосування.

Т.П. Пирог^{1,2}, Л.В. Никитюк¹, Г.А. Иутинская²

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

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *NOCARDIA VACCINII* ИМВ В-7405, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА ОТХОДАХ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ

Резюме

Цель. Сравнение антимикробной и антиадгезивной активности поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Nocardia vaccinii* ИМВ В-7405, синтезированных на очищенном и техническом глицерине (отход производства биодизеля). **Методы.** ПАВ экстрагировали из супернатанта культуральной жидкости смесью хлороформа и метанола (2:1). Антимикробные по отношению к бактериям и дрожжам свойства ПАВ определяли по показателю минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Количество адгезированных клеток микроорганизмов определяли спектрофотометрическим методом. **Результаты.** Установлена зависимость антимикробной и антиадгезивной активности ПАВ от степени очистки глицерина (очищенный, технический), а также длительности культивирования *N. vaccinii* ИМВ В-7405 на этих субстратах. МИК по отношению к исследуемым тест-культурам ПАВ, синтезированных на техническом глицерине в течение 5-и сут, составляла 15–121 мкг/мл и была ниже, чем МИК ПАВ, полученных на очищенном субстрате (22,5–180 мкг/мл). Увеличение длительности культивирования *N. vaccinii* ИМВ В-7405 приводило к повышению МИК по отношению к некоторым тест-культурам поверхностно-активных веществ, синтезированных как на техническом, так и очищенном глицерине. Адгезия бактерий *Escherichia coli* ИЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2 (вегетативных клеток и спор), и дрожжей *Candida albicans* Д-6 на абиотических поверхностях, обработанных ПАВ, синтезированными на техническом глицерине в течение как 5-и, так и 7-и сут, была в среднем на 11–12 % ниже, чем после обработки материалов ПАВ, полученными на очищенном субстрате. **Выводы.** Увеличение активности НАДФ⁺-зависимой глутаматдегидрогеназы – ключевого фермента биосинтеза аминокислот (эффективных антимикробных и антиадгезивных агентов) в присутствии K⁺ и Na⁺ может свидетельствовать о возможности усиления биосинтеза этих составляющих комплекса ПАВ при выращивании *N. vaccinii* ИМВ В-7405 на техническом глицерине, который характеризуется высоким содержанием катионов калия и натрия. Замена очищенного глицерина на отход производства биодизеля позволит не только удешевить процесс биосинтеза ПАВ

N. vaccinii IMV B-7405, но и получить целевой продукт с высокой антимикробной и антиадгезивной активностью.

Ключевые слова: *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, поверхностно-активные вещества, антимикробные и антиадгезивные свойства, длительность культивирования, очищенный и технический глицерин.

T.P. Pirog^{1,2}, L.V. Nikituk¹, G.O. Iutynska²

¹National University of Food Technologies,
68 Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Acad. Zabolotnogo St., Kyiv, 03143, Ukraine

BIOLOGICAL PROPERTIES OF *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405 SURFACTANTS SYNTHESIZED ON BYPRODUCT OF BIODIESEL PRODUCTION

Summary

Aim. Comparison of antimicrobial and anti-adhesive activity of *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 surfactants synthesized on purified and technical glycerol (byproduct of biodiesel production). **Methods.** Surfactants were extracted from supernatant of cultural liquid by mixture of chloroform and methanol (2:1). Antimicrobial against bacteria and yeast properties of the surfactant was determined by index of the minimum inhibitory concentration (MIC). The number of attached cells was determined spectrophotometrically. **Results.** The dependence of surfactant antimicrobial and anti-adhesive activity on the degree of glycerol purification (purified, technical), as well as the duration of *N. vaccinii* IMV B-7405 cultivation on these substrates was established. MIC against studied test cultures surfactants, synthesized on technical glycerol during 5 days, was 15–121 µg/ml, that lower than MIC of surfactant obtained on purified substrate (22.5–180 µg/ml). Increasing duration of *N. vaccinii* IMV B-7405 cultivation accompanied by rise the MIC against some test cultures surfactants synthesized on both technical and purified glycerol. Adhesion of the bacteria *Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* BT-2 (vegetative cells and spores) and the yeast *Candida albicans* Д-6 on abiotic surfaces treated with surfactants synthesized on technical glycerol for both 5 and 7 days, was an average of 11–12 % less than after materials treatment with surfactants obtained on the purified substrate. **Conclusions.** Increasing activity of NADP⁺-dependent glutamate dehydrogenase – key enzyme of aminolipids biosynthesis (effective antimicrobial and anti-adhesion agents) in the presence of K⁺ and Na⁺ may indicate the possibility of biosynthesis intensification of these components of surfactants complex under *N. vaccinii* IMV B-7405 cultivation on technical glycerol, which is characterized by a high content of sodium and potassium cations. Replacing refined glycerol on byproduct of biodiesel production will not only reduce the cost of *N. vaccinii* IMV B-7405 surfactant biosynthesis, but also to obtain the final product with high anti-adhesive and antimicrobial activity.

Key words: *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, surfactants, antimicrobial and anti-adhesive properties, the duration of cultivation, purified and technical glycerol.

1. Pirog T., Sofilkanych A., Konon A., Shevchuk T., Ivanov S. Intensification of surfactants' synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* K-8 on fried oil and glycerol containing medium.

- Food Bioprod. Proces.* 2013; **91**(2): 149–157.
2. 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**(6): 732–739.
 3. Pirog T., Shulyakova M., Sofilkanych A., Shevchuk T., Maschenko O. Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac -5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on byproduct of biodiesel production. *Food Bioprod. Proces.* 2015; **93**(1): 11–18.
 4. Pirog T.P., Beregova K.A., Savenko I.V., Shevchuk T.A., Iutynska G.O. Antimicrobial action of *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 surfactants. *Microbiol. Zh.* 2015; **78**(6): 2–10.
 5. Pirog T.P., Sofilkanych A.P., Grytsenko N.A. Elimination of oil pollution in the presence of surfactants produced by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405. *Biotechnology. Theory and Practice.* 2015; 2:42–50. DOI: 10.11134/btp.2.2015.5.
 6. Chatzifragkou A., Papanikolaou S. Effect of impurities in biodiesel-derived waste glycerol on the performance and feasibility of biotechnological processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012; **95**(1):13–27. doi: 10.1007/s00253-012-4111-3.
 7. Samul D., Leja K., Grajek W. Impurities of crude glycerol and their effect on metabolite production. *Ann. Microbiol.* 2014; **64**(3): 891–898. doi 10.1007/s13213-013-0767-x.
 8. Pirog T.P., Grytsenko N.A., Sofilkanych A.P., Savenko I.V. Technologies of synthesis of organic substances by microorganisms using waste biodiesel production. *Biotechnologia acta.* 2015; **8**(3): 9–27.
 9. Pirog T.P., Savenko I.V., Shevchuk T.A., Krutous N.V., Iutynska G.O. Antimicrobial properties surfactants synthesized under different cultivation conditions of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241. *Microbiol. Zh.* 2016; **79**(3): 2–12.
 10. Pirog T.P., Nikituk L.V., Tymoshuk K.V., Shevchuk T.A., Iutynska G.O. Biological properties of *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 surfactants synthesized on fried sunflower oil. *Microbiol. Zh.* 2016; **79**(2): 2–12.
 11. Shiio I., Ozaki H. Regulation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-specific glutamate dehydrogenase from *Brevibacterium flavum*, a glutamate-producing bacterium. *J. Biochem.* 1970; **68**(5): 633–647.
 12. Yazdani S., Gonzalez R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2007; **18**(3): 213–219.
 13. Yang F., Hanna M.A., Sun R. Value-added uses for crude glycerol – a byproduct of biodiesel production. *Biotechnol. Biofuels.* 2012. doi: 10.1186/1754-6834-5-13.
 14. Ashby R.D., Nuñez A., Solaiman D.K.Y., Foglia T.A. Sophorolipid biosynthesis from a biodiesel co-product stream. *JAOCs.* 2005; **82**(9): 625–630.
 15. Sleiman J.N., Kohlhoff S.A., Roblin P.M., Wallner S., Gross R., Hammerschlag M.R., Zenilman M.E., Bluth M.H. Sophorolipids as antibacterial agents. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2009; **39**(1): 60–63.
 16. Pirog T.P., Shevchuk T.A., Beregova K.A., Kudrya N.V. Peculiarities of glucose and glycerol metabolism in *Nocardia vaccinii* IMVB-7405. *Ukr. Biochem. J.* 2015; **87**(2): 66–75.
 17. Bhuiya M.W., Sakuraba H., Kujo C., Nunoura-Kominato N., Kawarabayasi Y., Kikuchi H., Ohshima T. Glutamate dehydrogenase from the aerobic hyperthermophilic archaeon *Aeropyrum pernix* K1: enzymatic characterization, identification of the encoding gene, and phylogenetic implications. *Extremophiles.* 2000; **4**(6): 333–341.

Отримано 03.03.2016