

Influence of heavy metals on the synthesis of *Acinetobacter Calcoaceticus* IMB B-7241 surfactants

Anastasia Konon, Sergii Parfenuk, Tetyana Pirog

National University of food technologies, Kyiv, Ukraine

Abstract

Keywords:

Acinetobacter calcoaceticus
IMB b-7241
Heavy metal
Cation
Surfactants
synthesis

Article history:

Received
04.07.2014
Received in revised
form 08.08.2014
Accepted 02.09.2014

Corresponding author:

Anastasia Konon
E-mail:
Inga_92@ukr.net

Introduction. Microbial surfactant unlike chemical analogs are non-toxic, biodegradable, stable within a wide range of pH and temperature. Due to the surfactant, emulsifying, antibacterial, anti-adhesive properties these products of microbial synthesis can be used in various branches of industry and environmental protection technology for purification from xenobiotics, including toxic heavy metals. On the other hand it is known that in response to unfavorable factors microorganisms increases the synthesis of protective compounds, which may be a surfactant. The purpose of this work is to investigate the surfactants synthesis of *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 in the presence of certain heavy metal cations.

Materials and methods. *A. calcoaceticus* IMB B-7241 was grown in the medium with ethanol, glycerol and liquid paraffins (2 % v/v). In the exponential and stationary growth phase of IMB B-7241 strain Zn^{2+} , mixture Cu^{2+} and Pb^{2+} (0,1–0,5 mM) were added into the medium, or copper cations were added in the exponential with the subsequent introduction of lead cations in the stationary phase. Synthesis of surfactant was evaluated by emulsification index and concentration of extracellular surfactants, which was defined gravimetrically after extraction from supernatant with a mixture of methanol and chloroform.

Results. It was established that after addition 0,1 mM Cu^{2+} in the exponential growth phase of IMB B-7241 strain in medium with liquid paraffins and 0,5 mM Pb^{2+} – in stationary phase surfactant synthesis was increased in 1,2–1,4 times compared with those in medium without metal cations. The use of inoculum grown after adding 0,1 mM Zn^{2+} in the stationary growth phase of *A. calcoaceticus* IMB B-7241 in medium with glycerol, was accompanied by increasing concentration of synthesized on this substrate surfactant by 30–40% as compared to using inoculum grown in medium without cations zinc.

Conclusions. These results suggest that the concentration of metal cations and moment of their introduction into cultivation medium may be factor of synthesis intensification of microbial surfactants.

УДК 759.873.088.5:661.185

Вступ

Поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження викликають великий інтерес у дослідників – мікробіологів, біохіміків, молекулярних біологів, біотехнологів, екологів тощо. Цей інтерес зумовлюється тією роллю, яку виконують ці метаболіти у життєдіяльності клітини, їх значенням у взаємодії мікроорганізмів з навколишнім середовищем. Мікробні ПАР завдяки здатності суттєво знижувати поверхневий і міжфазний натяг водних розчинів і емульгувати різні сполуки знаходять використання для очищення довкілля, у нафтодобувній, хімічній, фармацевтичній та ін. промисловості, сільському господарстві та медицині [1–4]. Мікробні ПАР за своїми властивостями не поступаються синтетичним аналогам, а такі переваги як біодеградабельність і нетоксичність роблять їх перспективними для створення екологічно безпечних технологій [2].

Проте незважаючи на комерційно привабливі властивості поверхнево-активних речовин мікробного походження, факторами, що стримують впровадження технологій їх одержання у світі є високі витрати на біосинтез (сировина, енергетика), виділення та очищення цільового продукту, а також недостатньо висока концентрація синтезованого цільового продукту [5, 6].

Раніше [7] ми показали, що концентрація катіонів металів і момент їх внесення у середовище культивування можуть слугувати фактором інтенсифікації синтезу мікробних ПАР. Встановлено, що додавання невисоких (0,01–0,5 мМ) концентрацій Cu^{2+} в експоненційній фазі росту *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на гідрофобних (*n*-гексадекан, рідкі парафіни, соняшникова олія) і гідрофільних (етанол) супроводжувалося підвищенням умовної концентрації ПАР на 25–140 % порівняно з показниками на середовищі без катіонів міді. Максимальна інтенсифікація синтезу ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 та *R. erythropolis* IMB Ac-5017 спостерігалася у разі внесення Cu^{2+} у середовище з вуглеводнями.

Підвищення синтезу ПАР за присутності катіонів міді зумовлене їх активуючим впливом на активність алкангідроксилаз обох штамів, а також ферментів біосинтезу поверхнево-активних гліко- та аміноліпідів у *A. calcoaceticus* IMB B-7241 [7]. Іншим адаптаційним механізмом, що зумовлює підвищення синтезу ПАР за присутності катіонів міді, може бути збільшення синтезу протекторних сполук у відповідь на несприятливі фактори зовнішнього середовища [8].

Мета даної роботи – дослідження можливості інтенсифікації синтезу поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності у середовищі катіонів цинку, а також суміші катіонів міді та свинцю.

Методи досліджень

Основним об'єктом досліджень був ізолюваний нами із забрудненого нафтою зразка ґрунту штам нафтоокиснювальних бактерій, ідентифікований як *Acinetobacter calcoaceticus* K-4. Штам депоновано у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером IMB B-7241.

Культивування бактерій *A. calcoaceticus* IMB B-7241 здійснювали на рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): NaCl – 1,0; Na₂HPO₄ – 0,6; (NH₂)₂CO – 0,35; KH₂PO₄ – 0,14; MgSO₄·7H₂O – 0,1; pH 6,8–7,0.

Як джерело вуглецю і енергії використовували етанол, гліцерин і рідкі парафіни у концентрації 2 % (об'ємна частка). У середовище додатково вносили дріжджовий автолізат – 0,5 % (об'ємна частка) і розчин мікроелементів – 0,1 % (об'ємна частка). Розчин мікроелементів має такий склад солей (г/100 мл): ZnSO₄·7H₂O – 1,1; MnSO₄·H₂O – 0,6; ЕДТА (Трилон Б) – 0,5; FeSO₄·7H₂O – 0,1; CoSO₄·7H₂O – 0,03; H₃BO₃ – 0,006; CuSO₄·5H₂O – 0,004; KI – 0,0001.

В експоненційній і стаціонарній фазі росту штаму IMB B-7241 у середовище вносили Zn²⁺ (0,1 і 0,5 мМ) у вигляді 1М розчину ZnSO₄·5H₂O.

Під час дослідження комплексної дії катіонів двох металів на ріст і синтез ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 в експоненційній і стаціонарній фазі росту у середовище з рідкими парафінами одночасно вносили Cu²⁺ і Pb²⁺, в одному з варіантів катіони міді добавляли в експоненційній фазі з наступним внесенням катіонів свинцю у стаціонарній фазі. Концентрація Cu²⁺ становила 0,1 мМ, Pb²⁺ – 0,5 мМ.

Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту, вирощену на середовищі наведеного складу з 1 % (об'ємна частка) субстрату, або культуру з стаціонарної фази (120 год), вирощену за присутності суміші Cu²⁺ (0,1 мМ) і Pb²⁺ (0,5 мМ), або Zn²⁺ (0,1 і 0,5 мМ). Концентрація інокуляту (10⁴–10⁵ кл/мл) становила 10 % від об'єму поживного середовища. Культивування бактерій здійснювали в колбах на качалках (320 об/хв) при 30 °С впродовж 120 год.

Біомасу визначали за оптичною густиною клітинної суспензії з наступним перерахунком на суху біомасу за калібрувальним графіком.

Концентрацію позаклітинних ПАР (г/л) визначали ваговим методом після екстракції поверхнево-активних ліпідів модифікованою сумішшю Фолча. Культуральну рідину, отриману після культивування штаму IMB B-7241, центрифугували при 5000g упродовж 20 хв для відділення біомаси. 25 мл супернатанту поміщали в циліндричну ділільну воронку об'ємом 100 мл, додавали 5 мл 1М HCl, воронку закривали пришліфованою пробкою і струшували 3 хв, потім додавали ще 4 мл 1М HCl і 16 мл суміші хлороформу і метанолу (2:1) і струшували (з метою екстракції ліпідів) упродовж 5 хв. Отриману після екстракції суміш залишали у воронці для розділення фаз, після чого нижню фракцію збирали (органічний екстракт 1), а водну фазу піддавали повторній екстракції. Під час повторної екстракції до водної фази додавали 9 мл 1М HCl і 16 мл суміші хлороформу і метанолу (2:1) і здійснювали екстракцію ліпідів упродовж 5 хв. Після розділення фаз збирали нижню фракцію і отримували органічний екстракт 2. На третьому етапі до водної фази додавали 25 мл суміші хлороформу і метанолу (2:1) і здійснювали екстракцію, як описано вище, отримуючи органічний екстракт 3. Екстракти 1–3 змішували і випарювали на роторній випарній установці ІР-1М2 (Росія) при температурі 50 °С і абсолютному тиску 0,4 атм до постійної маси.

Емульгувальні властивості (індекс емульгування) досліджуваних зразків визначали так. До 2 мл культуральної рідини додавали 2 мл соняшникової олії (субстрат для емульгування) та струшували упродовж 2 хв. Вимірювання індексу емульгування (Е₂₄) проводили через 24 год як величину відношення висоти шару емульсії до загальної висоти рідини в пробірці і виражали у відсотках.

Всі досліди проводили у трьох повторностях, кількість паралельних визначень в експериментах становила від 3 до 5. Статистичну обробку експериментальних даних

проводили як описано раніше [7]. Різницю середніх показників вважали достовірною при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати та обговорення

У попередніх дослідженнях (неопубліковані дані) було встановлено, що за внесення у середовище культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 катіонів Pb^{2+} спостерігали інгібування як росту штаму IMB B-7241, так і біосинтезу ПАР. Оскільки додавання Cu^{2+} у середовище з рідкими парафінами супроводжувалося підвищенням синтезу ПАР штамом IMB B-7241 [7], а поверхнево-активним речовинам *A. calcoaceticus* IMB B-7241 притаманні захисні функції [8], припустили, що токсичну дію Pb^{2+} на клітини бактерій можна знизити у разі одночасного внесення у середовище катіонів міді та свинцю.

Дані, наведені у табл. 1, засвідчують, що за таких умов культивування інгібування росту штаму IMB B-7241 і синтезу ПАР не спостерігали. Зазначимо, що незалежно від моменту і послідовності внесення катіонів міді і свинцю у середовище з рідкими парафінами, концентрація синтезованих поверхнево-активних речовин і індекс емульгування були вищими, а рівень біомаси дещо нижчим, ніж за культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 без Cu^{2+} і Pb^{2+} . Найвищі показники синтезу ПАР (3,0 г/л ПАР, E_{24} 70 %) досягалися за додавання катіонів міді в експоненційній, а катіонів свинцю – у стаціонарній фазі росту бактерій (табл. 1).

Таблиця 1
Вплив Cu^{2+} і Pb^{2+} на синтез ПАР за умов росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на рідких парафінах

Метали, момент внесення (фаза росту)	Біомаса, г/л	ПАР, г/л	E_{24} , %
—	$0,8 \pm 0,04$	$2,1 \pm 0,11$	$56 \pm 2,8$
$Cu^{2+} + Pb^{2+}$ експоненційна	$0,5 \pm 0,02$	$2,3 \pm 0,12$	$65 \pm 3,2$
$Cu^{2+} + Pb^{2+}$ стаціонарна	$0,6 \pm 0,03$	$2,7 \pm 0,13$	$67 \pm 3,4$
Cu^{2+} (експоненційна) + Pb^{2+} (стаціонарна)	$0,7 \pm 0,03$	$3,0 \pm 0,15$	$70 \pm 3,5$

Можна припустити, що катіони міді стимулюють синтез поверхнево-активних речовин, які після наступного внесення катіонів свинцю захищають клітини від їх токсичного впливу. З літератури відомо, що ліпopeптиди *Bacillus cereus* NK1 захищають клітини продуцента від дії катіонів заліза, свинцю, цинку та міді [9].

Захисні функції притаманні і ПАР бактерій *Bacillus circulans*, ізолюваних з Індійського океану [10]. Показано, що 5 %-ні розчини цих ПАР видаляли 98, 88 і 87 % Cd^{2+} (100, 500, 1000 мг/л відповідно) і 100, 96 і 88 % Pb^{2+} (100, 500, 1000 мг/л). За дії катіонів металів на позбавлені ПАР клітини спостерігали інгібування росту бактерій [10].

Після пересіву клітин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на середовище без Cu^{2+} і Pb^{2+} інтенсифікацію синтезу спостерігали лише у варіанті, в якому інокулятив був вирощений за послідовного внесення Cu^{2+} в експоненційній та наступного додавання Pb^{2+} у стаціонарній фазі росту (табл. 2). За таких умов культивування штаму IMB B-7241 концентрація ПАР була максимальною і становила 3,6 г/л.

Одержані у даній роботі результати узгоджуються з нашими попередніми даними щодо впливу катіонів важких металів на утворення ПАР *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 [12]. Так, катіони кадмію інгібували ріст штаму IMB Ac-5017 і синтез ПАР на середовищі з різними джерелами вуглецю (етанол, гексадекан, соняшникова олія). Проте внесення Cu^{2+} (0,01–0,1 мМ) в експоненційній з наступним додаванням Cd^{2+} (0,01 мМ) у стаціонарній фазі росту *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на усіх вуглецевих субстратах приводило до підвищення синтезу ПАР в 1,2 рази порівняно з показниками на середовищі без металів [12]. Одночасне внесення катіонів металів у експоненційній фазі супроводжувалося пригніченням росту штаму IMB Ac-5017, що очевидно пов'язано з низькою концентрацією ПАР, які на даному етапі виконували б захисну функцію.

Таблиця 2

Синтез ПАР штамом IMB B-7241 залежно від якості інокуляту

Момент внесення металу у середовище для одержання інокуляту	Біомаса, г/л	ПАР, г/л	E_{24} , %
—	0,8±0,04	2,2±0,11	58±2,9
$\text{Cu}^{2+}+\text{Pb}^{2+}$ експоненційна	0,65±0,03	2,4±0,12	65±2,3
$\text{Cu}^{2+}+\text{Pb}^{2+}$ стаціонарна	0,7±0,04	2,6±0,14	64±2,2
Cu^{2+} (експоненційна) + Pb^{2+} (стаціонарна)	0,7±0,04	3,6±0,18	68±2,4

Раніше [11] нами було показано можливість заміни суміші мікроелементів у складі гліцеринвмісного середовища для культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на сульфат цинку (38 мкмоль/л) і сульфат міді (0,16 мкмоль/л). За таких умов росту штаму IMB B-7241 концентрація ПАР у 1,2–1,6 разів перевищувала цей показник на середовищі з мікроелементами. Необхідність введення катіонів цинку зумовлене їх стимулювальним впливом на активність 4-нітрозо-N,N-диметиланілін-залежної

алкогольдегідрогенази – одного з ферментів катаболізму цього субстрату у *A. calcoaceticus* IMB B-7241 [11].

Наступні експерименти показали, що за внесення у середовище з різними вуглецевими субстратами вищих (ніж у складі суміші мікроелементів) концентрацій катіонів цинку підвищення концентрації ПАР на 13–20 % спостерігали лише за умов росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на гліцерині (табл. 3).

Після пересіву клітин, вирощених за присутності катіонів цинку, на середовище без Zn^{2+} , збільшення синтезу поверхнево-активних речовин на 30–40 % фіксували лише на середовищі з гліцерином і тільки у разі використання інокуляту, одержаного за внесення $0,1 \text{ mM } Zn^{2+}$ у стаціонарній фазі росту штаму IMB B-7241.

Таблиця 3
Синтез ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за присутності Zn^{2+}

Субстрат	Момент внесення Zn^{2+} (фаза росту)	Концентрація Zn^{2+} , мМ	Біомаса, г/л	ПАР, г/л
Етанол	—	0	$0,8 \pm 0,04$	$1,7 \pm 0,08$
	Експоненційна	0,1	$0,7 \pm 0,03$	$1,4 \pm 0,07$
		0,5	$0,7 \pm 0,03$	$1,2 \pm 0,06$
	Стаціонарна	0,1	$0,8 \pm 0,04$	$1,6 \pm 0,08$
		0,5	$0,8 \pm 0,04$	$1,4 \pm 0,07$
Гліцерин	—	0	$0,6 \pm 0,03$	$1,5 \pm 0,07$
	Експоненційна	0,1	$0,6 \pm 0,03$	$1,7 \pm 0,08$
		0,5	$0,5 \pm 0,02$	$1,5 \pm 0,07$
	Стаціонарна	0,1	$0,5 \pm 0,02$	$1,9 \pm 0,09$
		0,5	$0,5 \pm 0,02$	$1,6 \pm 0,08$
Рідкі парафіни	—	0	$0,9 \pm 0,04$	$2,2 \pm 0,11$
	Експоненційна	0,1	$0,8 \pm 0,04$	$1,8 \pm 0,09$
		0,5	$0,8 \pm 0,04$	$1,6 \pm 0,08$
	Стаціонарна	0,1	$0,9 \pm 0,04$	$2,1 \pm 0,10$
		0,5	$0,9 \pm 0,04$	$1,8 \pm 0,09$

Висновки

Наведені у даній роботі результати підтверджують одержані нами раніше дані про те, що концентрація катіонів металів і момент їх внесення у середовище культивування може бути фактором інтенсифікації синтезу мікробних поверхнево-

активних речовин. Крім того, одержані дані є основою для розробки природоохоронних технологій з використанням ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 для видалення як важких токсичних металів, так і комплексних забруднень, що містять різноманітні вуглеводні та катіони металів.

Література

1. Kalyani R.K., Bishwambar M.N., Suneetha V.L. (2011), Recent potential usage of surfactant microbial origin in pharmaceutical and biomedical arena: a perspective, *J. Res. Pharm.*, Vol. 2 № 8, pp. 11–15.
2. Marchant R., Banat I. M. (2012), Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants, *Biotechnol. Lett.*, Vol. 34 № 9, pp. 1597–1605.
3. Sha R., Jiang L., Meng Q. et. al. (2012), Producing cell-free culture broth of rhamnolipids as a cost-effective fungicide against plant pathogens, *J. Basic. Microbiol.*, Vol. 52 № 4, pp. 458–466.
4. Ławniczak Ł., Marecik R., Chrzanowski Ł. (2013), Contributions of biosurfactants to natural or induced bioremediation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 97 № 6, pp. 2327–2339.
5. Sylđatk C., Hausmann R. (2010), Microbial biosurfactants, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, Vol. 112 № 6, pp. 615–616.
6. Makkar R.S., Cameotra S.S., Banat I.M. (2011), Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production, *AMB Express*, 1:5. doi: 10.1186/2191-0855-1-5.
7. Пирог Т.П., Конон А.Д., Софілканіч А.П. и др. (2013), Влияние Cu^{2+} на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B 7241 и *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Микробиол. журнал*, Т. 75 № 1, С. 3–13.
8. Філюк І.В., Софілканіч А.П., Конон А.Д. та ін. (2012), Захисні функції поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Наукові праці НУХТ*, № 43, С. 36–31.
9. Sriram M.I., Kalishwaralal K., Deepak V. et. al. (2011), Biofilm inhibition and antimicrobial action of lipopeptide biosurfactant produced by heavy metal tolerant strain *Bacillus cereus* NK1, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, Vol 85 № 2, pp. 174–181.
10. Das P., Mukherjee S., Sen R. (2009), Biosurfactant of marine origin exhibiting heavy metal remediation properties, *Bioresur. Technol.*, Vol. 100, № 20, pp. 887–4890.
11. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Машенко О.Ю. и др. (2013), Влияние факторов роста и некоторых микроэлементов на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Микробиол. журнал*, Т. 75 № 5, С. 19–27.
12. Пирог Т.П., Шулякова М.О., Шевчук Т.А., Софілканіч А.П. (2012), Біотехнологічний потенціал бактерій роду *Rhodococcus* та їх метаболітів, *Біотехнологія*, Т.5 № 2, С. 51–68.

**Вплив катіонів важких металів на синтез поверхнево-активних речовин
Acinetobacter Calcoaceticus IMB B-7241**

Анастасія Конон, Сергій Парфенюк, Тетяна Пирог
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) на відміну від хімічних аналогів нетоксичні, біодеградабельні, стійкі у широкому діапазоні рН і температури. Завдяки поверхнево-активним, емульгувальним, антимікробним, антиадгезивним та ін. властивостям ці продукти мікробного синтезу можуть бути використані у різних галузях промисловості і природоохоронних технологіях для очищення довкілля від ксенобіотиків, у тому числі й важких токсичних металів. З іншого боку відомо, що у відповідь на дію несприятливих факторів у мікроорганізмів посилюється синтез захисних сполук, якими можуть бути і ПАР. Мета роботи – дослідити синтез поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 за присутності катіонів деяких важких металів.

Матеріали та методи. *A. calcoaceticus* IMB B-7241 вирощували на середовищі з етанолом, гліцерином і рідкими парафінами (2 %, об'ємна частка). В експоненційній і стаціонарній фазі росту штаму IMB B-7241 у середовище вносили Zn^{2+} , суміш Cu^{2+} і Pb^{2+} (0,1–0,5 мМ), або катіони міді добавляли в експоненційній з наступним внесенням катіонів свинцю у стаціонарній фазі. Синтез ПАР оцінювали за індексом емульгування і концентрацією позаклітинних поверхнево-активних речовин, яку визначали ваговим методом після екстракції з супернатанту сумішшю метанолу і хлороформу.

Результати. Встановлено, що у разі внесення 0,1 мМ Cu^{2+} в експоненційній фазі росту штаму IMB B-7241 на рідких парафінах, а 0,5 мМ Pb^{2+} – у стаціонарній показники синтезу ПАР підвищувалися в 1,2–1,4 рази порівняно з такими на середовищі без катіонів металів. Використання інокуляту, вирощеного за додавання 0,1 мМ Zn^{2+} у стаціонарній фазі росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на гліцерині, супроводжувалося збільшенням концентрації синтезованих на цьому субстраті ПАР на 30–40 % порівняно із застосуванням посівного матеріалу, вирощеного на середовищі без катіонів цинку.

Висновки. Наведені у даній роботі результати засвідчують, що концентрація катіонів металів і момент їх внесення у середовище культивування може бути фактором інтенсифікації синтезу мікробних поверхнево-активних речовин.

Ключові слова: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, катіони важких металів, поверхнево-активні речовини, інтенсифікація синтезу

**Влияние катионов тяжелых металлов на синтез поверхностно-активных
веществ *Acinetobacter Calcoaceticus* IMB B-7241**

Анастасия Конон, Сергей Парфенюк, Татьяна Пирог
Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина

Введение. Микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) в отличие от химических аналогов нетоксичны, биodegradaбельны, устойчивы в широком диапазоне рН и температуры. Благодаря поверхностно-активным, эмульгирующим, антимикробным, антиадгезивным и др. свойствам эти продукты микробного синтеза

могут быть использованы в различных отраслях промышленности и природоохранных технологиях для очистки окружающей среды от ксенобиотиков, в том числе и тяжелых токсичных металлов. С другой стороны известно, что в ответ на действие неблагоприятных факторов у микроорганизмов усиливается синтез защитных соединений, которыми могут быть и ПАВ. Цель работы – исследовать синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 в присутствии катионов некоторых тяжелых металлов.

Материалы и методы. *A. calcoaceticus* IMB B-7241 выращивали на среде с этанолом, глицерином и жидкими парафинами (2 % по объему). В экспоненциальной и стационарной фазе роста штамма IMB B-7241 в среду вносили Zn^{2+} , смесь Cu^{2+} и Pb^{2+} (0,1–0,5 мМ), или катионы меди добавляли в экспоненциальной с последующим внесением катионов свинца в стационарной фазе. Синтез ПАВ оценивали по индексу эмульгирования и концентрации внеклеточных поверхностно-активных веществ, которую определяли весовым методом после экстракции из супернатанта смесью метанола и хлороформа.

Результаты. Установлено, что при внесении 0,1 мМ Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста штамма IMB B-7241 на жидких парафинах, а 0,5 мМ Pb^{2+} – в стационарной показатели синтеза ПАВ повышались в 1,2–1,4 раза по сравнению с таковыми на среде без катионов металлов. Использование инокулята, выращенного при добавлении 0,1 мМ Zn^{2+} в стационарной фазе роста *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на глицерине, сопровождалось увеличением концентрации синтезированных на этом субстрате ПАВ на 30–40 % по сравнению с применением посевного материала, выращенного на среде без катионов цинка.

Выводы. Представленные в данной работе результаты свидетельствуют, что концентрация катионов металлов и момент их внесения в среду культивирования может быть фактором интенсификации синтеза микробных поверхностно-активных веществ.

Ключевые слова: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, катионы тяжелых металлов, поверхностно-активные вещества, интенсификация синтеза