

Influence of cadmium cations on the surfactants synthesis under cultivation of *Acinetobacter Calcoaceticus* IMB B-7241 on non-carbohydrate substrates

Anastasia Konon, Tetyana Pirog, Nina Antonuk

National University of food technologies, Kyiv, Ukraine

Abstract

Keywords:

Acinetobacter calcoaceticus
IMBB-7241
Cadmium cations
Surfactants
Intensification

Article history:

Received
04.07.2014
Received in revised
form 08.08.2014
Accepted 02.09.2014

Corresponding author:

Anastasia Konon
E-mail:
KononA@meta.ua

Introduction. Microbial surfactants are multifunctional agents and due to their biodegradability, emulsifying, surface-active properties and the ability to form chelates of heavy metals they can be used in various industries and environmental protection technologies instead of the synthetic analogs. It is known that in response to unfavorable conditions (e.g. presence of toxic heavy metals) microorganisms synthesize protective compounds, including surfactants. The purpose of this work was to investigate the surfactants synthesis by *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 in the presence of cadmium cations.

Materials and methods. *A. calcoaceticus* IMB B-7241 was grown in the medium with ethanol, glycerol or liquid paraffin (2% v/v) as the sources of carbon. Cations of cadmium (0,1–0,5mM) were added into the medium at the beginning of cultivation, in exponential and stationary growth phases of the strain IMB B-7241. Growth of *A. calcoaceticus* IMB B-7241 was estimated by the concentration of biomass; the synthesis of surfactant was evaluated by the concentration of extracellular surfactant, which was determined gravimetrically after its extraction from supernatant with a mixture of methanol and chloroform. Protective functions of surfactant were determined by the survival of cells of the strain IMB B-7241 treated with Cd²⁺ at the presence of surfactant or without those.

Results. After addition of 0,1 mM Cd²⁺ into the medium containing all investigated substrates at the exponential growth phase of *A. calcoaceticus* IMB B-7241 the surfactant synthesis was increased in 1.2–1.3 times compared with in the medium without metal cations. One of mechanisms of the surfactant synthesis intensification in the presence of cadmium cations is increasing of their synthesis as protective compounds in response to unfavorable factors. So, after surfactant elimination the survival of cells of the strain IMB B-7241 in the presence of 0.01–0.05 mM Cd²⁺ decreased by several times up to 2–10 % of the cell population.

Conclusions. The results presented in this paper can be used to improve the efficiency of the biotechnologies of microbial surfactants and to develop the environmental protection technologies for the elimination of pollution with toxic metals.

УДК 759.873.088.5:661.185

Останніми роками інтерес до мікробних поверхнево-активних речовин (ПАР) постійно підвищується [1, 2], що зумовлено можливістю їх використання у різних галузях промисловості (харчова, хімічна, нафтодобувна, фармацевтична тощо) та стрімким розвитком тенденцій до збереження довкілля [3]. Завдяки екологічній безпечності, здатності емульгувати гідрофобні сполуки та підвищувати ефективність деструкції деяких ксенобіотиків мікробні ПАР можуть знайти широке застосування у природоохоронних технологіях [4].

Відомо, що наявність важких металів може знижувати ефективність біологічних методів очищення екосистем від ксенобіотиків [5]. Одним із способів знешкодження важких токсичних металів є їх зв'язування хімічними сполуками (карбонатами, фосфатами, хелатуючими агентами), глинистими мінералами, а також мікробними ПАР [6, 7].

У наших попередніх дослідженнях [8] встановлено можливість інтенсифікації синтезу ПАР *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 на гідрофобних (*n*-гексадекан, рідкі парафіни, соняшникова олія) і гідрофільних (етанол) субстратах за внесення катіонів міді і показано високу ефективність використання поверхнево-активних речовин для деструкції комплексних з Cu^{2+} нафтових забруднень води і ґрунту [9, 10].

Зазначимо, що окрім міді найчастіше у навколишньому середовищі зустрічаються катіони кадмію, цинку, свинцю тощо [11, 12].

Мета даної роботи – дослідження впливу катіонів кадмію на синтез ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 при культивуванні на різних неуглеводних субстратах.

Методи досліджень

Основним об'єктом досліджень був ізольований нами із забрудненого нафтою зразка ґрунту штамп нафтоокиснювальних бактерій, ідентифікований як *Acinetobacter calcoaceticus* К-4. Штамп депоновано у Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером ІМВ В-7241.

Культивування бактерій *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 здійснювали на рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): NaCl – 1,0; Na_2HPO_4 – 0,6; $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ – 0,35; KH_2PO_4 – 0,14; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; рН 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): $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,1; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0,6; ЕДТА (Трилон Б) – 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,03; H_3BO_3 – 0,006; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,004; KI – 0,0001.

Під час культивування штаму ІМВ В-7241, починаючи з 48 год, рН культуральної рідини підтримували на рівні 7,0 підлужненням 1 н КОН. В одному з варіантів у середовище культивування вносили KCl в еквімолярній за калієм концентрації КОН.

На початку культивування, в експоненційній і стаціонарній фазі росту штаму ІМВ В-7241 у середовище вносили Cd^{2+} (0,1–0,5 мМ) у вигляді 1М розчину $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.

Як посівний матеріал використовували культуру з експоненційної фази росту, виращену на середовищі наведеного складу з 1 % (об'ємна частка) субстрату. Концентрація інокуляту (10^4 – 10^5 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 ІМВ В-7241, центрифугували при 5000g упродовж 20 хв для відділення біомаси. 25 мл супернатанту поміщали в циліндричну ділительну воронку об'ємом 100 мл, додавали 5 мл 1М НСІ, воронку закривали пришліфованою пробкою і струшували 3 хв, потім додавали ще 4 мл 1М НСІ 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 НСІ 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.

Для дослідження захисних функцій ПАР культуральну рідину після вирощування штаму ІМВ В-7241 на рідкому мінеральному середовищі з етанолом до середини експоненційної фази центрифугували (10000 g, 5 хв). Осад клітин двічі промивали від залишків середовища стерильною водопровідною водою, центрифугуючи (10000 g, 5 хв), після чого ресуспендували у вихідному об'ємі стерильної водопровідної води, отримуючи клітини позбавлені ПАР. У пробірці типу errendorf вносили по 1,5 мл культуральної рідини (клітини + ПАР) і суспензії клітин, відмитих від ПАР. Початкову (до внесення катіонів металів) концентрацію клітин в культуральній рідині і суспензії клітин, вільних від ПАР, визначали за методом Коха на м'ясо-пептонному агарі (МПА). Cd^{2+} (0,01 і 0,05 мМ) додавали у культуральну рідину і суспензію клітин у вигляді 1М розчину солі $CdSO_4 \cdot 8H_2O$, витримували у термостаті (30°C) упродовж 1 год і визначали кількість живих клітин за методом Коха на МПА.

Всі досліди проводили у трьох повторностях, кількість паралельних визначень в експериментах становила від 3 до 5. Статистичну обробку експериментальних даних проводили як описано раніше [8]. Різницю середніх показників вважали достовірною при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати та обговорення

На першому етапі досліджували вплив 0,5 мМ Cd^{2+} на синтез ПАР за умов росту *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на етанолі. Встановлено, що незалежно від моменту внесення катіонів кадмію у середовище культивування бактерій спостерігали повне інгібування синтезу ПАР, тому у подальших дослідженнях концентрацію Cd^{2+} знижували до 0,1–0,3 мМ.

У табл. 1 наведено дані щодо впливу катіонів кадмію на синтез ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за умов росту на етанолі, гліцерині і рідких парафінах.

Встановлено, що за додавання 0,1 мМ Cd²⁺ в експоненційній фазі росту штаму ІМВ В-7241 на всіх досліджуваних субстратах спостерігали незначне підвищення (на 20–33 %) кількості синтезованих ПАР порівняно з показниками на середовищі без катіонів металу (табл. 1). Незалежно від моменту внесення Cd²⁺ із збільшенням його концентрації показники росту і синтезу ПАР знижувалися, проте повного інгібування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 не спостерігали.

Таблиця 1

Синтез ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за присутності Cd²⁺

Момент внесення Cd ²⁺ (фаза росту)	Концентрація Cd ²⁺ , мМ	Біомаса, г/л			ПАР, г/л		
		етанол	гліцерин	рідкі парафіни	етанол	гліцерин	рідкі парафіни
—	0	0,9 ± 0,04	0,9 ± 0,04	1,0 ± 0,05	1,8 ± 0,09	2,1 ± 0,10	2,4 ± 0,12
Лаг-фаза	0,1	0,5 ± 0,02	0,7 ± 0,03	0,7 ± 0,03	1,2 ± 0,06	1,6 ± 0,08	1,7 ± 0,08
	0,2	0,4 ± 0,02	0,6 ± 0,03	0,8 ± 0,04	1,0 ± 0,05	1,3 ± 0,06	2,0 ± 0,10
	0,3	0,3 ± 0,01	0,4 ± 0,02	0,9 ± 0,04	0,7 ± 0,03	1,0 ± 0,05	2,3 ± 0,11
Експоненційна	0,1	0,9 ± 0,04	0,9 ± 0,04	1,0 ± 0,05	2,3 ± 0,11	2,8 ± 0,14	2,9 ± 0,14
	0,2	0,8 ± 0,04	0,9 ± 0,04	0,9 ± 0,04	1,6 ± 0,08	2,6 ± 0,13	2,5 ± 0,12
	0,3	0,6 ± 0,03	0,9 ± 0,04	0,8 ± 0,04	1,0 ± 0,05	2,5 ± 0,12	2,2 ± 0,11
Стационарна	0,1	0,7 ± 0,03	0,9 ± 0,04	0,8 ± 0,04	0,6 ± 0,03	2,0 ± 0,10	1,6 ± 0,08
	0,2	0,3 ± 0,01	0,8 ± 0,04	0,7 ± 0,03	0,3 ± 0,01	1,7 ± 0,08	1,5 ± 0,07
	0,3	0,3 ± 0,01	0,8 ± 0,04	0,7 ± 0,03	0,2 ± 0,01	1,3 ± 0,06	2,0 ± 0,10

Одержані у даній роботі результати відрізняються від отриманих раніше щодо впливу катіонів кадмію на утворення ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 [9]. Так, за наявності на порядок нижчих концентрацій Cd²⁺ (0,01–0,05 мМ) спостерігали повне пригнічення росту *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 і синтезу поверхнево-активних речовин.

Раніше було встановлено, що підвищення синтезу ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за присутності катіонів міді зумовлене їх активуючим впливом на активність алканглікоксилаз обох штамів, а також ферментів біосинтезу поверхнево-активних гліко- та аміноліпідів у штаму ІМВ В-7241 [8]. Враховуючи, що катіони кадмію є значно токсичнішими, ніж Cu²⁺ [13], малоімовірним є їх позитивний вплив на активність ферментів катаболізму субстратів та біосинтезу ПАР у *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241. Ми припустили, що стійкість клітин *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 до токсичного впливу катіонів кадмію може бути зумовлена кількома причинами: блокуванням транспорту катіонів кадмію у клітини за певних значень рН (упродовж культивування рН підтримували на рівні 7,0 періодичним

підключенням КОН), утворенням комплексних сполук кадмію залежно від значення рН, в результаті чого Cd^{2+} переходить в інертну форму, а стимуляція синтезу ПАР штаму ІМВ В-7241 за присутності 0,1 мМ Cd^{2+} – підтриманням рН на оптимальному для біосинтезу ПАР рівні, як показано у роботі [14].

Для перевірки цих припущень на наступному етапі вивчали вплив 0,1 мМ Cd^{2+} на показники синтезу ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на етанолі без регуляції рН упродовж культивування і з підтриманням рН на рівні 7,0 – оптимальному для утворення ПАР (рис. 1).

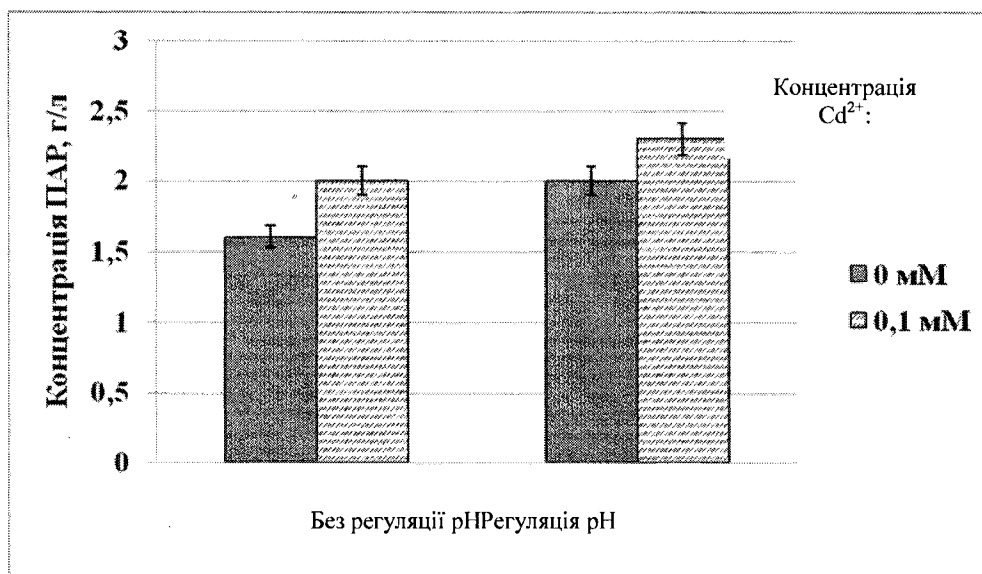


Рис. 1. Вплив регуляції рН на синтез ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на етанолі за присутності катіонів кадмію

рН підтримували на рівні 7,0 періодичним підключенням розчином КОН, починаючи з 48 год культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241.

Одержані результати (рис. 1) узгоджуються з нашими попередніми даними щодо впливу рН на синтез ПАР штаму ІМВ В-7241 [14]. Так, підтримання рН на нейтральному рівні супроводжувалося підвищенням кількості синтезованих ПАР на 15–25 % порівняно з показниками процесу без регуляції, проте інтенсифікацію синтезу ПАР спостерігали як за присутності катіонів кадмію, так і без них (рис. 1).

Враховуючи ці результати, ми припустили, що підвищення показників синтезу ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за присутності Cd^{2+} може бути зумовлене не впливом рН, а стимулювальною дією катіонів калію, що вносяться у середовище у вигляді КОН під час нейтралізації культуральної рідини. У зв'язку з цим на наступному етапі в одному з варіантів у середовище вносили K^+ у вигляді KCl і процес здійснювали без регуляції рН. Як видно з даних, наведених на рис. 2, у варіанті з регуляцією рН за допомогою КОН концентрація ПАР була вищою, ніж без регуляції, тобто додаткове внесення у середовище K^+ (у вигляді KCl) не супроводжувалося підвищенням синтезу поверхнево-активних речовин. Проте в обох варіантах (як з внесенням КОН, так і KCl) за присутності Cd^{2+} спостерігали підвищення синтезу ПАР. Отже, інтенсифікація синтезу ПАР зумовлена наявністю не K^+ у середовищі, а Cd^{2+} .

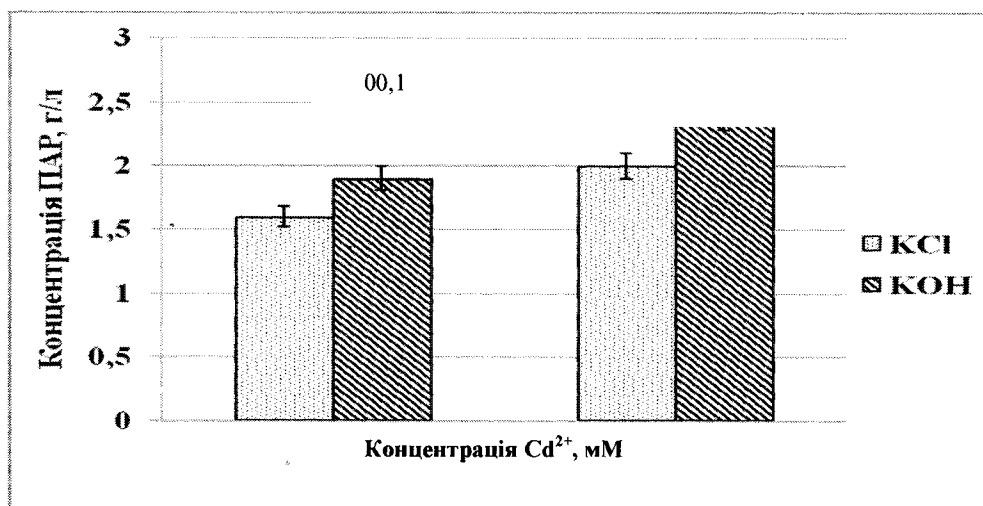


Рис. 2. Вплив K⁺ на синтез ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за присутності катіонів кадмію

У той же час з літератури відомо, що для багатьох мікроорганізмів одним із антистресових адаптаційних механізмів є синтез позаклітинних протекторних сполук. Так, за присутності важких токсичних металів часто спостерігається підвищення синтезу екзополісахаридів і екзогенних білків, яким притаманна здатність до утворення комплексів з металами, завдяки чому метали переводяться в інертну форму [15, 16]. Так, у роботі [15] описана роль екзополісахариду у захисті *Pseudoalteromonas* sp. SCSE425-7 від токсичного впливу Cd²⁺. Стійкість *Pseudoalteromonas* sp. SCSE709-6 до 50 мг/л катіонів кадмію зумовлена адсорбцією металу позаклітинними білками та амініними, карбоксильними і гідроксильними групами вуглеводів [16].

Ми припустили, що у *A. calcoaceticus* IMB B-7241 теж функціонує подібний адапційний механізм у відповідь на внесення катіонів важких металів. У зв'язку з цим на наступному етапі досліджували виживання клітин штаму IMB B-7241 за додавання 0,01–0,05 мМ Cd²⁺ як за присутності ПАР, так і без них.

Показано, що за присутності 0,01 мМ Cd²⁺ виживання клітин штаму IMB B-7241 з експоненційної фази росту за наявності ПАР було на 70 % вищим, ніж без них (табл. 2). За вищої концентрації Cd²⁺ (0,05 мМ) майже усі клітини, позбавлені ПАР, гинули, в той час як у суспензії, що містила ПАР, виживало 12 % клітин.

Таблиця 2.
Роль поверхнево-активних речовин у захисті клітин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 від токсичної дії Cd²⁺

Концентрація Cd ²⁺ , мМ	Вживання, %	
	за присутності ПАР	без ПАР
0,01	80 ± 4,0	10 ± 0,5
0,05	12 ± 0,6	2 ± 0,1

Примітка. Вживання клітин з експоненційної фази росту у контрольних (без катіонів металу) варіантах – 100 %.

Висновки

Отже, наведені у даній роботі результати підтверджують, що внесення катіонів металів у середовище культивування може бути фактором регуляції синтезу мікробних поверхнево-активних речовин. Крім того, представлені дані щодо стійкості *A. calcoaceticus* IMB В-7241 до Cd^{2+} можуть бути основою для створення природоохорончих технологій з використанням мікробних ПАР і клітин штаму IMB В-7241 для ліквідації забруднень як токсичними металами, так і комплексами металів з іншими ксенобіотиками.

Література

1. Kapadia Sanket G., Yagnik B. N. (2013), Current trend and potential for microbial biosurfactants, *Asian J. Exp. Biol. Sci.*, Vol. 4 №1, pp. 1–8.
2. Shoeb E., Akhlaq F., Badar U., Akhter J., Imtiaz S. (2013), Classification and industrial applications of biosurfactants Part-I, *Natur. Appl. Sci.*, Vol. 4 № 3, pp. 243–252.
3. Mulligan C.N. (2009), Recent advances in the environmental applications of biosurfactants, *Curr. Opin. Colloid. Interf. Sci.*, Vol. 14 № 5, pp. 372–378.
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. Olaniran A. O., Balgobind A., Pillay B. (2013), Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies, *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 14 № 5, pp. 10197–10228.
6. Lima T.M.S., Procopio L.C., Brandao F.D., Carvalho A.M.X., Totola M.R., Borges A.C. (2011), Simultaneous phenanthrene and cadmium removal from contaminated soil by a ligand/biosurfactant solution, *Biodegradation*, Vol. 22 № 5, pp. 1007–1015.
7. Lima T.M.S., Procopio L.C., Brandao F.D., Leao B.A., Totola M.R., Borges A.C. (2011), Evaluation of bacterial surfactant toxicity towards petroleum degrading microorganisms, *Biores. Technol.*, Vol. 102 № 3, pp. 2957–2964.
8. Пирог Т.П., Конон А.Д., Софілканич А.П. и др. (2013), Влияние Cu^{2+} на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В 7241 и *Rhodococcus erythropolis* IMB Ас-5017, *Микробиол. журнал*, Т. 75 № 1, С. 3–13.
9. Софілканич А.П. (2012), Розробка технології поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 з використанням промислових відходів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук : спец. 03.00.20 «Біотехнологія», 24 с.
10. Конон А.Д. (2013), Вдосконалення технології синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук : спец. 03.00.20 «Біотехнологія», 25 с.
11. Schwartzbord J.R., Emmanuel E., Brown D.L. (2013), Haiti's food and drinking water: a review of toxicological health risks, *Clin. Toxicol. (Phila)*, Vol. 51 № 9, pp. 828–833.
12. Chapman E.E., Dave G., Murimboh J.D. (2013), A review of metal (Pb and Zn) sensitive and pH tolerant bioassay organisms for risk screening of metal-contaminated acidic soils, *Environ. Pollut.*, Vol. 179, pp. 326–342.
13. Nzengue Y., Candéias S.M., Sauvaigo S., Douki T., Favier A., Rachidi W., Guiraud P. (2011), The toxicity redox mechanisms of cadmium alone or together with copper and zinc homeostasis alteration: its redox biomarkers, *J. Trace. Elem. Med. Biol.*, Vol. 25 № 3, pp. 171–180.

14. Пирог Т.П., Антонюк С.И., Конон А.Д., Шевчук Т.А., Парфенюк С.А. (2013), Влияние pH на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241, *Микробиол. журнал*, Т. 75 № 3, С. 32–40.

15. Zhang H.O., Zhou W.Z., Ma Y.H., Zhao H.X., Zhang Y.Z. (2013), FTIR spectrum and detoxication of extracellular polymeric substances secreted by microorganism, *Guang. Pu. Xue. Yu. Guang. Pu. Fen. Xi.*, Vol. 33 № 11, pp. 3041–3043.

16. Zhou W., Zhang H., Ma Y., Zhou J., Zhang Y. (2013), Bio-removal of cadmium by growing deep-sea bacterium *Pseudoalteromonas* sp. SCSE709-6, *Extremophiles*, Vol. 17 № 5, pp. 723–731.

Вплив катіонів кадмію на синтез поверхнево-активних речовин за умов росту *Acinetobacter Calcoaceticus* ИМВ В-7241 на неуглеводних субстратах

Анастасія Конон, Тетяна Пирог, Ніна Антонюк
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) є препаратами мультифункціонального призначення і завдяки біодеградабельності, емульгувальним та поверхнево-активним властивостям, здатності до утворення комплексів з важкими металами можуть бути використані у різних галузях промисловості та природоохоронних технологіях замість синтетичних аналогів. Відомо, що у відповідь на несприятливі умови (наприклад, наявність важких токсичних металів) мікроорганізми синтезують протекторні сполуки, у тому числі й ПАР. Мета роботи – дослідити синтез поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ИМВ В-7241 за присутності катіонів кадмію.

Матеріали та методи. *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 вирощували на середовищі з етанолом, гліцерином і рідкими парафінами (2 %, об'ємна частка). На початку культивування, в експоненційній і стаціонарній фазі росту штаму ИМВ В-7241 у середовище вносили Cd^{2+} (0,1–0,5 мМ). Ріст *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 оцінювали за концентрацією біомаси, а синтез ПАР – за концентрацією позаклітинних поверхнево-активних речовин, яку визначали ваговим методом після екстракції з супернатанту сумішшю метанолу і хлороформу. Захисні функції ПАР визначали за виживанням клітин штаму ИМВ В-7241, оброблених Cd^{2+} , за присутності поверхнево-активних речовин і без ПАР.

Результати. Показано, що у разі внесення 0,1 мМ Cd^{2+} в експоненційній фазі росту *A. calcoaceticus* ИМВ В-7241 на всіх досліджуваних субстратах показники синтезу ПАР підвищувалися в 1,2–1,3 рази порівняно з такими на середовищі без катіонів металу. Одним з механізмів інтенсифікації синтезу ПАР за присутності катіонів кадмію є підвищення їх синтезу як протекторних сполук у відповідь на дію несприятливих факторів, про що засвідчили результати дослідження захисних функцій ПАР. Так, після видалення поверхнево-активних речовин виживання клітин штаму ИМВ В-7241 за присутності 0,01–0,05 мМ Cd^{2+} знижувалося у кілька разів (до 2–10 %).

Висновки. Наведені у даній роботі результати можуть бути використані як для підвищення ефективності технологій мікробних ПАР, так і для розробки

природоохоронних технологій для ліквідації забруднень токсичними металами та їх комплексами з іншими ксенобіотиками.

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

Влияние катионов кадмия на синтез поверхностно-активных веществ при культивировании *Acinetobacter Calcoaceticus* IMB B-7241 на неуглеводных субстратах

Анастасия Конон, Татьяна Пирог, Нина Антонюк

Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина

Введение. Микробные поверхностно-активные вещества (ПАВ) являются препаратами мультифункционального назначения и благодаря биodeградability, эмульгирующим и поверхностно-активным свойствам, способности образовывать комплексы с тяжелыми металлами могут быть использованы в различных отраслях промышленности и природоохранных технологиях вместо синтетических аналогов. Известно, что в ответ на неблагоприятные условия (например, наличие тяжелых токсичных металлов) микроорганизмы синтезируют протекторные соединения, в том числе и ПАВ. Цель работы – исследовать синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 в присутствии катионов кадмия.

Материалы и методы. *A. calcoaceticus* IMB B-7241 выращивали на среде с этанолом, глицерином и жидкими парафинами (2% по объему). В начале культивирования, в экспоненциальной и стационарной фазе роста штамма IMB B-7241 в среду вносили Cd^{2+} (0,1–0,5 мМ). Рост *A. calcoaceticus* IMB B-7241 оценивали по концентрации биомассы, а синтез ПАВ – по концентрации внеклеточных поверхностно-активных веществ, которую определяли весовым методом после экстракции из супернатанта смесью метанола и хлороформа. Защитные функции ПАВ определяли по выживаемости клеток штамма IMB B-7241, обработанных Cd^{2+} , в присутствии поверхностно-активных веществ и без ПАВ.

Результаты. Показано, что при внесении 0,1 мМ Cd^{2+} в экспоненциальной фазе роста *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на всех исследуемых субстратах показатели синтеза ПАВ повышались в 1,2–1,3 раза по сравнению с таковыми на среде без катионов металла. Одним из механизмов интенсификации синтеза ПАВ в присутствии катионов кадмия является повышение их синтеза в качестве протекторных соединений в ответ на действие неблагоприятных факторов, о чем свидетельствовали результаты исследования защитных функций ПАВ. Так, после удаления ПАВ выживаемость клеток штамма IMB B-7241 в присутствии 0,01–0,05 мМ Cd^{2+} снижалось в несколько раз (до 2–10 %).

Выводы. Представленные в данной работе результаты могут быть использованы как для повышения эффективности технологий микробных ПАВ, так и для разработки природоохранных технологий для ликвидации загрязнений токсичными металами и их комплексами с другими ксенобіотиками.

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