

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SURFACTANTS SYNTHESIZED BY *A. CALCOACETICUS* IMV B-7241, *R. ERYTHROPOLIS* IMV AC-5017 AND *N. VACCINII* IMV B-7405 ON INDUSTRIAL WASTE

T. Pirog, L. Nikitiuk, I. Sidor, O. Paliichuk, N. Petrenko
National University of Food Technologies

Key words:

Microbial surfactants
Biodiesel production waste
Fried oil
Minimum inhibitory concentration

Article history:

Received 06.09.2017
Received in revised form 24.09.2017
Accepted 18.10.2017

Corresponding author:

T. Pirog
E-mail:
npnuht@ukr.net

ABSTRACT

In the article the antimicrobial activity of surfactants synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on fried sunflower oil and technical glycerol (waste of biodiesel production) was studied. It was established that replacement of purified glycerol for technical one (2%) in the medium of *N. vaccinii* IMV B-7405 cultivation as well as the replacement of refined oil for waste oil after frying potatoes (2%) was not accompanied by the significant decrease of antimicrobial activity of the synthesized surfactants. The minimum inhibitory concentrations (MIC) against some bacteria and yeast surfactants synthesized by *A. calcoaceticus* IMV B-7241 on waste of biodiesel production were 2—8 times higher than MIC surfactants obtained on the purified substrate, however these values (MIC 0.96—15.2 µg/ml) are comparable with those established for the world-known microbial surfactants. An increase in the concentration of fried oil to 4—5% in cultivation media of *N. vaccinii* IMV B-7405 and *A. calcoaceticus* IMV B-7241 resulted in the synthesis of surfactants with low antimicrobial activity (MIC > 400—1300 µg/ml), while the surfactants synthesized by *R. erythropolis* IMV Ac-5017 under similar conditions exhibited a sufficiently high antimicrobial activity (MIC against *Escherichia coli* IEM-1 15—80 µg/ml). The possibility of using environmentally-friendly surface-active substances with low antimicrobial activity, which will not cause negative influence on natural microorganisms-destructors, is discussed.

DOI: 10.24263/2225-2924-2017-23-5-2-3

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ *A. CALCOACETICUS* IMB B-7241, *R. ERYTHROPOLIS* IMB AC-5017 І *N. VACCINII* IMB B-7405 НА ПРОМИСЛОВИХ ВІДХОДАХ

Т.П. Пирог, Л.В. Никитюк, І. Сидор, О.І. Палійчук, Н.В. Петренко
Національний університет харчових технологій

У статті досліджено антимікробну активність поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rho-*

dococcus erythropolis IMB Ac-5017 і *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 на відпрацьованій соняшниковій олії й технічному гліцерині (відходи виробництва біодизелю). Встановлено, що заміна у середовищі вирощування *N. vaccinii* IMB B-7405 очищеного гліцерину на технічний (2%), а також рафінованої олії на відпрацьовану після смаження картоплі фри (2%) не супроводжувалася суттєвим зниженням антимікробної активності синтезованих ПАР. Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) щодо деяких бактерій і дріжджів ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на відходах виробництва біодизелю, були у 2—8 разів вищими, ніж МІК ПАР, одержаних на очищеному субстраті, проте ці показники (МІК 0,96—15,2 мкг/мл) є порівнянними з встановленими для відомих у світі мікробних ПАР. Підвищення до 4—5% концентрації відпрацьованої олії у середовищах культивування *N. vaccinii* IMB B-7405 і *A. calcoaceticus* IMB B-7241 призводило до синтезу ПАР з невисокою антимікробною активністю (МІК > 400—1300 мкг/мл), у той час як синтезовані в аналогічних умовах ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017 проявляли достатньо високу антимікробну активність (МІК щодо *Escherichia coli* IEM-1 15—80 мкг/мл). Проаналізовано можливість використання у природоохоронних поверхнево-активних речовин з низькою антимікробною активністю, які не спричинятимуть негативного впливу на природні мікроорганізми-деструктори.

Ключові слова: мікробні поверхнево-активні речовини, відходи виробництва біодизелю, відпрацьована олія, мінімальна інгібуюча концентрація.

Постановка проблеми. Мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) є препаратами мультифункціонального призначення, оскільки, крім поверхнево-активних та емульгувальних властивостей, їм притаманна антимікробна та антиадгезивна дія (у тому числі й здатність до руйнування біоплівки) [1—3]. Інтерес до ПАР мікробного походження як антимікробних агентів зумовлений підвищенням резистентності патогенних мікроорганізмів до антибіотиків і відомих біоцидів [2].

Проте висока антимікробна активність мікробних ПАР може стати суттєвою перешкодою для їх застосування у природоохоронних технологіях. Це зумовлено тим, що основним механізмом дії поверхнево-активних речовин в очищенні доквілля від нафтових забруднень є активація природної нафтоокиснювальної мікробіоти в результаті солюбілізації вуглеводнів нафти і полегшення їх транспорту у клітини [4]. Так, наприклад, у деяких випадках за високої концентрації ПАР можуть знижувати швидкість процесу очищення, негативно впливаючи на мікроорганізми-деструктори. Whang із співавт. [5] зазначають, що сурфактин у концентрації 40 мг/л негативно впливав на ремедіацію ґрунтів від дизельного палива, а за концентрації 400 мг/л повністю її інгібував. Зазначимо, що в літературі відсутні дані щодо кореляції антимікробної активності ПАР та їх ролі у деструкції нафтових забруднень.

У попередніх дослідженнях [6; 7] встановлено антимікробну дію поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 на

традиційних субстратах, а також можливість використання цих ПАР для деструкції нафтових забруднень у воді та ґрунті, у тому числі й за наявності важких токсичних металів [4]. У [8] показано можливість синтезу ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на промислових відходах (пересмаженій соняшниковій олії й технічному гліцерині — відходах виробництва біодизелю).

Проте наявність у складі промислових відходів токсичних компонентів може негативно впливати на якість синтезованих цільових продуктів, зокрема на їхні біологічні властивості. Не виключено, що синтезовані на таких токсичних субстратах поверхнево-активні речовини будуть проявляти низьку антимікробну активність, що, у свою чергу, робить такі ПАР перспективними для використання у природоохоронних технологіях.

Мета статті: дослідити антимікробні властивості поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *N. vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на токсичних промислових відходах.

Матеріали і методи. Об'єкти дослідження — ізольовані із забруднених нафтою зразків ґрунту штами нафтоокиснювальних бактерій, ідентифіковані як *R. erythropolis* ЕК-1, *A. calcoaceticus* К-4 та *N. vaccinii* К-8 і зареєстровані у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України за номерами ІМВ Ас-5017, ІМВ В-7241 та ІМВ В-7405, відповідно.

R. erythropolis ІМВ Ас-5017 вирощували у рідкому середовищі (г/л): NaNO_3 — 1,3—2,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; NaCl — 1,0; Na_2HPO_4 — 0,6; KH_2PO_4 — 0,14; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001, рН 6,8—7,0. Як субстрат використовували рафіновану і відпрацьовану після смаження м'яса, картоплі фрі і картоплі селянської соняшникову олію (мережа ресторанів швидкого харчування McDonald's, Київ) у концентрації 4% (об'ємна частка).

Для культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 використовували середовище такого складу (г/л): $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ — 0,35—1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; NaCl — 1,0; Na_2HPO_4 — 0,6; KH_2PO_4 — 0,14, рН 6,8—7,0. У середовище додатково вносили дріжджовий автолізат — 0,5 (об'ємна частка) і розчин мікроелементів — 0,1 (об'ємна частка). Джерело вуглецю — очищений і технічний гліцерин (Комсомольський біопаливний завод, Полтавська обл.) у концентрації 3 та 5% відповідно (об'ємна частка). Концентрації обох субстратів еквімолярні за вуглицем. Як субстрати використовували також рафіновану і відпрацьовану після смаження м'яса, картоплі фрі і картоплі селянської соняшникову олію у концентрації 4% (об'ємна частка).

Штам *N. vaccinii* ІМВ В-7405 вирощували у середовищі, що містило (г/л): NaNO_3 — 0,5—1,25; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; KH_2PO_4 — 0,1; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; дріжджовий автолізат — 0,5% (об'ємна частка). Джерело вуглецю та енергії — очищений гліцерин і технічний гліцерин у концентрації 2 (об'ємна частка), а також відпрацьована після смаження м'яса, картоплі фрі і картоплі селянської соняшникова олія в концентрації 2—5% (об'ємна частка).

Як інокулят використовували культури в експоненційній фазі росту, вирощені на відповідних рідких середовищах, що містили 0,5—1% (об'ємна

частка) субстрату. Кількість посівного матеріалу (10^4 — 10^5 кл/мл) становила 5—10% від об'єму поживного середовища. Культивування бактерій здійснювали в колбах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалці (320 об./хв) при 28—30° С упродовж 120 год.

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини у вигляді розчину ПАР, екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) як описано у наших попередніх роботах [6—8].

Як тест-культури використовували бактерії *Escherichia coli* IEM-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; дріжджі *Candida albicans* Д-6, *Candida tropicalis* РЕ-2, *Candida utilis* ЕІ-8; і мікроміцети *Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7 з колекції мікроорганізмів кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

Антимікробні властивості 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 і грибів. У стерильних умовах у 10 пробірок вносили по 1 мл МПБ (рідкого суслу), у першу додавали 1 мл розчину ПАР певної концентрації, після чого перемішували, відбирали 1 мл і переносили у наступну пробірку. Аналогічно проводили розведення для наступних дев'яти пробірок. З останньої пробірки відбирали 1 мл. Таким чином, кінцевий об'єм у кожній пробірці становив 1 мл (МПБ чи рідке сусло і розчин ПАР), а концентрація ПАР у кожній наступній пробірці знижувалася у 2 рази. Як контроль використовували 1 мл МПБ (рідкого суслу) без додавання розчину ПАР. Далі у кожну з пробірок вносили по 0,1 мл суспензії тест-культур (10^5 — 10^6 КУО/мл), та перемішували. Пробірки інкубували впродовж 24 год при 28—30° С.

Результати оцінювали візуально за помутнінням середовища: (+) — пробірки, в яких спостерігали помутніння середовища (ріст тест-культури), (–) — помутніння не було (ріст відсутній). Мінімальну інгібуючу концентрацію розчину ПАР визначали як концентрацію ПАР в першій пробірці, де ріст був відсутній.

Усі досліди проводили в трьох повторностях, кількість паралельних визначень в експериментах становило від 3 до 5. Статистичну обробку експериментальних даних проводили, як описано раніше [6—8]. Відмінності середніх показників вважали достовірними при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати і обговорення. У табл. 1 наведено дані щодо антимікробної активності поверхнево-активних речовин, синтезованих штамом ІМВ В-7241 на очищеному й технічному гліцерині. Мінімальна інгібуюча концентрація щодо бактеріальних і дріжджових тест-культур розчинів ПАР, синтезованих на технічному гліцерині, була у 2—8 разів вищою порівняно з МІК, встановленими для поверхнево-активних речовин, одержаних на очищеному субстраті. Суттєвішою була різниця у показниках мінімальних інгібуючих концентрацій цих ПАР щодо грибів: МІК поверхнево-активних речовин, синтезованих на відходах виробництва біодизелю, була більш ніж у 60 разів вищою, ніж ПАР, утворених на очищеному гліцерині.

Таблиця 1. Мінімальна інгібуюча концентрація поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на очищеному і технічному гліцерині

| Мікроорганізми | Назва | МІК (мкг/мл) ПАР, синтезованих на гліцерині | |
|----------------|---|---|------------|
| | | очищеному | технічному |
| Бактерії | <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини) | 0,24 | 0,96 |
| | <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спори) | 3,8 | 15,2 |
| | <i>Enterobacter cloacae</i> С-8 | 0,48 | 3,8 |
| | <i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1 | 0,96 | 3,8 |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1 | 3,8 | 7,6 |
| Дріжджі | <i>Candida albicans</i> Д-6 | 1,9 | 15,2 |
| | <i>Candida tropicalis</i> РЕ-2 | 3,8 | 7,6 |
| | <i>Candida utilis</i> ЕІ-8 | 1,9 | 7,6 |
| Мікроміцети | <i>Aspergillus niger</i> Р-3 | 0,06 | 3,8 |
| | <i>Fusarium culmorum</i> Т-7 | 0,03 | 1,9 |

Примітки: під час визначення мінімальної інгібуючої концентрації похибка не перевищувала 5%. Концентрації очищеного (3%) і технічного (5%) гліцерину еквімолярні за вуглецем.

Разом з тим зазначимо, що, незважаючи на нижчі у кілька разів значення мінімальної інгібуючої концентрації ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на відходах виробництва біодизелю порівняно з МІК ПАР, одержаних на очищеному гліцерині (табл. 1), ці показники (0,96—15,2 мкг/мл) є досить низькими і свідчать про досить високу антимікробну активність препаратів, порівняну навіть з активністю мікробних ліпопептидів — найактивніших антимікробних агентів серед поверхнево-активних речовин мікробного походження [2; 9].

Дані, наведені у табл. 2, засвідчують, що мінімальні інгібуючі концентрації щодо досліджуваних тест-культур ПАР, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на технічному гліцерині (15—121 мкг/мл), дуже близькі до МІК поверхнево-активних речовин, одержаних на очищеному субстраті (22—180 мкг/мл).

Таблиця 2. Антимікробна активність ПАР, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на промислових відходах

| Тест-культура | МІК (мкг/мл) ПАР, синтезованих на | | |
|---|-----------------------------------|------------------------------------|--------------|
| | технічному гліцерині | відпрацьованій олії після смаження | |
| | | м'яса | картоплі фри |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини) | 15 | 71 | 22 |
| <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спори) | 15 | 142 | 44 |
| <i>Escherichia coli</i> ІЕМ-1 | 121 | 35 | 22 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. МІ-2 | 121 | 142 | 88 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1 | 15 | 284 | 88 |
| <i>Proteus vulgaris</i> ПА-12 | 60 | 71 | 88 |
| <i>Erwinia aroideae</i> Н-3 | 60 | 142 | 44 |

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|---------------------------------|-----|-----|-----|
| <i>Enterobacter cloacae</i> C-8 | 121 | 142 | 176 |
| <i>Candida albicans</i> Д-6 | 15 | 71 | 44 |
| <i>Candida tropicalis</i> PE-2 | 30 | 284 | 128 |

Примітки: при визначенні МІК похибка не перевищувала 5%. Концентрація технічного глицерину та відпрацьованої олії у середовищі культивування штаму ІМВ В-7405 становила 2%. МІК щодо досліджуваних тест-культур ПАР, синтезованих на очищеному глицерині і рафінованій олії становила 22—180 і 20—130 мкг/мл відповідно.

Аналогічні результати одержано під час дослідження антимікробної активності ПАР, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на рафінованій і відпрацьованій після смаження картоплі фри соняшниковій олії: МІК щодо бактерій (за винятком *E. cloacae* C-8) і дріжджів роду *Candida* були практично однаковими і становили 22—128 і 20—130 мкг/мл відповідно (табл. 2). У той же час ПАР, утворені на відпрацьованій після смаження м'яса олії, характеризувалися нижчою в 1,6—3,2 раза антимікробною активністю (МІК щодо більшості тест-культур 71—284 мкг/мл) порівняно з поверхнево-активними речовинами, синтезованими на рафінованій і відпрацьованій після смаження картоплі фри олії.

З літератури [10] відомо, що у процесі смаження в олії відбуваються хімічні реакції окиснення, гідролізу, ізомеризації та полімеризації, в результаті яких утворюються вільні жирні кислоти, низькомолекулярні спирти, альдегіди, кетони, лактони, вуглеводні, моно- та дигліцериди, трансізомери тощо. Після використання олія змінює свій склад, що залежить від типу приготовленої страви, способу смаження та кратності використання олії. Цілком імовірно, що утворювані під час смаження м'яса сполуки є потенційними інгібіторами синтезу певних компонентів комплексу ПАР, відповідальних за антимікробну активність цільового продукту.

Крім того, дані, наведені у табл. 1 і 2, показують, що ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 є значно ефективнішими антимікробними агентами, ніж поверхнево-активні речовини *N. vaccinii* ІМВ В-7405.

Наступні експерименти показали, що збільшення до 4—5% концентрації відпрацьованої соняшникової олії різної якості у середовищі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 супроводжувалося синтезом ПАР, що характеризувалися надзвичайно низькою антимікробною активністю: МІК щодо *Pseudomonas* sp. МІ-2 і спор *B. subtilis* ВТ-2 становила > 400—1300 мкг/мл (табл. 3). Зазначимо, що у цих дослідженнях одночасно з підвищенням концентрації джерела вуглецю у середовищі збільшували і вміст джерела азоту для підтримання співвідношення вуглець/азот на оптимальному для синтезу ПАР рівні.

Разом з тим у разі підвищення концентрації рафінованої олії у середовищі вирощування штаму ІМВ В-7405 до 4% синтезувалися ПАР, антимікробна активність яких не відрізнялася від такої поверхнево-активних речовин, одержаних на середовищі з нижчим (2%) вмістом цього субстрату (МІК обох ПАР щодо бактерій 14—29 мкг/мл) (табл. 3). Ці дані підтверджують зроблений нами висновок про наявність у складі відпрацьованої олії інгібіторів

синтезу складових поверхнево-активних речовин, відповідальних за антимікробні властивості комплексу ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405.

Таблиця 3. Вплив концентрації олії та джерела азоту в середовищі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на антимікробну активність синтезованих ПАР

| Олія як субстрат | Концентрація у середовищі | | МІК (мкг/мл) щодо | |
|--|---------------------------|---------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| | олії, % | нітрату натрію, г/л | <i>Pseudomonas</i> sp. МІ-2 | <i>Bacillus subtilis</i> ВТ-2 (спори) |
| Рафінована | 2 | 0,5* | 25 | 25 |
| | 4 | 0,5* | 28 | 28 |
| | | 0,75 | 29 | 29 |
| | | 1,0 | 14 | 28 |
| Відпрацьована після смаження м'яса | 2 | 0,5* | 142 | 142 |
| | 4 | 0,75 | > 400 | > 400 |
| Відпрацьована після смаження картоплі «фрі» | 2 | 0,5* | 88 | 44 |
| | 4 | 0,75 | > 400 | > 400 |
| | 5 | 1,25 | > 600 | > 600 |
| Відпрацьована після смаження картоплі селянської | 4 | 0,75 | 140 | 280 |
| | | 1,0 | > 500 | > 500 |
| | 5 | 1,25 | > 1300 | > 1300 |

Примітка: під час визначення мінімальної інгібуючої концентрації похибка не перевищувала 5%; * — концентрація нітрату натрію у базовому (вихідному) середовищі.

Такі ж самі, як і для ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, результати було отримано під час визначення МІК поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на середовищі з 4% відпрацьованої олії: мінімальні інгібуючі концентрації щодо *E. coli* ІЕМ-1 таких ПАР перебували у межах 500—850 мкг/мл, у той час як МІК препарату, утвореного на середовищі з аналогічною концентрацією рафінованої олії була на порядки нижчою (16 мкг/мл, табл. 4).

Таблиця 4. Антимікробна щодо *E. coli* ІЕМ-1 активність ПАР, синтезованих *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на рафінованій і відпрацьованій олії (4%)

| Продуцент ПАР | Олія як субстрат | Концентрація азоту у середовищі, г/л | МІК (мкг/мл) |
|--|---|--------------------------------------|--------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| <i>R. erythropolis</i> ІМВ Ас-5017 | Рафінована | 1,3* | 21 |
| | Відпрацьована після смаження м'яса | 1,3 | 50 |
| | | 2,0 | 18 |
| | Відпрацьована після смаження картоплі фрі | 1,3 | 83 |
| | | 2,0 | 12 |
| Відпрацьована після смаження картоплі селянської | 1,3 | 80 | |
| | 2,0 | 20 | |
| <i>A. calcoaceticus</i> ІМВ В-7241 | Рафінована | 0,7** | 16 |
| | Відпрацьована після смаження м'яса | 0,7 | > 850 |
| | | 1,0 | > 670 |

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|------------------------------------|--|-----|-------|
| <i>A. calcoaceticus</i> IMB B-7241 | Відпрацьована після смаження картоплі фри | 0,7 | > 500 |
| | Відпрацьована після смаження картоплі селянської | 1,0 | > 500 |
| | Відпрацьована після смаження картоплі селянської | 0,7 | > 700 |
| | Відпрацьована після смаження картоплі селянської | 1,0 | > 600 |

Примітки: під час визначення мінімальної інгібуючої концентрації похибка не перевищувала 5%; * — концентрація нітрату натрію у базовому (вихідному) середовищі культивування штаму IMB Ac-5017; ** — концентрація сечовини у базовому (вихідному) середовищі культивування штаму IMB B-7241.

Інші закономірності встановлено у процесі аналізу антимікробної активності поверхнево-активних речовин, синтезованих за умов росту *R. erythropolis* IMB Ac-5017 у середовищі з 4% олієвмісних субстратів. Незалежно від типу соняшникової олії (рафінована чи відпрацьована різної якості) у середовищі культивування штаму IMB Ac-5017 синтезовані ПАР характеризувалися практично однаковою антимікробною активністю (МІК щодо *E. coli* IEM-1 становили 20—80 мкг/мл (табл. 4).

Наступні експерименти показали, що у разі подальшого підвищення (до 5—6%) концентрації відпрацьованої олії у середовищі вирощування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 антимікробна активність синтезованих ПАР суттєво знижувалася (до 500—700 мкг/мл).

Висновок

Отже, в результаті проведеного дослідження встановлено умови культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 і *N. vaccinii* IMB B-7405, що забезпечують синтез ПАР з низькою антимікробною активністю, які є перспективними для очищення довкілля від ксенобіотиків, оскільки вони не спричинятимуть негативного впливу на природні мікроорганізми-деструктори. Для використання в природоохоронних технологіях доцільно використовувати ПАР, синтезовані штамми IMB B-7241, IMB Ac-5017 і IMB B-7405 на середовищах, в яких концентрація відпрацьованої соняшникової олії будь-якої якості є не нижчою за 4—5%.

Література

1. Santos D.K., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Sarubbo L.A. Biosurfactants: multi-functional biomolecules of the 21st century. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17(3). doi: 10.3390/ijms17030401.
2. Cochran S.A., Vederas J.C. Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: a gold mine of antibiotic candidates. *Med. Res. Rev.* 2016, 36(1), 4—31. doi 10.1002/med.21321.
3. Pirog T.P., Savenko I.V., Lutsay D. A. Microbial surface-active substances as antiadhesive agents. *Biotechnologia acta.* 2016, 9(3), 7—22. doi: org/10.15407/biotech9.03.007.
4. Pirog T. P., Konon A. D., Savenko I. V. Microbial surfactants in environmental technologies. *Biotechnologia acta.* 2015, 8(4), 21—39. doi: 10.15407/biotech8.04.021.
5. Whang L.M., Liu P.W., Ma C.C., Cheng S.S. Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *J. Hazard. Mater.* 2008, 151(1), 155—163.

6. Pirog T.P., Konon A.D., Sofilkanych A.P., Iutynskaia G.A. Effect of surface-active substances of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* K-8 on phytopathogenic bacteria. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2013, 49(4), 360—367. doi:10.1134/S000368381304011X.

7. 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, 78(3), 2—12. Ukrainian.

8. 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. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2013.09.003>.

9. 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. doi: 10.1186/s13568-014-0050-y.

10. Zhang Q., Saleh A.S., Chen J., Shen Q. Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review. *Chem. Phys. Lipids.* 2012, 165 (6), 662—681.