

**Т.П. Пирог^{1,2}, Л.В. Никитюк¹, К.В. Тимошук¹,
Т.А. Шевчук², Г.О. Іутинська²**

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

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

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВО- АКТИВНИХ РЕЧОВИН *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405, СИНТЕЗОВАНИХ НА ВІДПРАЦЬОВАНІЙ СОНЯШНИКОВІЙ ОЛІЇ

Мета. Дослідження антимікробних та антиадгезивних властивостей поверхнево-активних речовин (ПАР) *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на різних олієвмісних субстратах (рафінована і відпрацьована після смаження м'яса та картоплі соняшникова олія). **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 визначали спектрофотометричним методом як відношення оптичної густини суспензії, одержаної з оброблених препаратами ПАР (супернатант, розчин ПАР) матеріалів до оптичної густини контрольних зразків і виражали у відсотках. **Результати.** Встановлено, що ПАР, синтезовані *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на відпрацьованій олії, у концентрації 0,02–0,04 мг/мл знижували адгезію бактерій (*Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2) на пластику, кахлі, склі та лінолеумі на 25–90 %, а дріжджів *Candida albicans* Д-6 – на 15–65 %. Мінімальна інгібуюча концентрація щодо досліджуваних тест-культур поверхнево-активних речовин, синтезованих на відпрацьованій після смаження картоплі олії, становила 8–67 мкг/мл, а щодо фітопатогенних бактерій *Pectobacterium carotovorum* УКМ В-1095, *Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* УКМ В-1015 і *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049 – 14–52 мкг/мл. **Висновки.** Заміна традиційних субстратів на відпрацьовану олію дає змогу не тільки здешевити процес біосинтезу ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, а й отримати цільовий продукт з високими антиадгезивними та антимікробними властивостями. Встановлена залежність антимікробного та антиадгезивного потенціалу ПАР від природи джерела вуглецю засвідчує необхідність проведення досліджень впливу умов культивування продуцентів на біологічні властивості синтезованих мікробних ПАР.

Ключові слова: *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, поверхнево-активні речовини, умови культивування, антимікробні та антиадгезивні властивості, відпрацьована олія.

Раніше [3, 6, 16, 17] було встановлено можливість синтезу поверхнево-активних речовин (ПАР) у процесі культивування *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 на гліцерині (у тому числі й на відходах виробництва біодизелю), а також на олієвмісних промислових відходах і пересмаженій соняшниковій олії. Дослідження потенційного практичного потенціалу ПАР штаму

ІМВ В-7405 показало, що ці продукти мікробного синтезу можуть бути використані для очищення довкілля від нафти, у тому числі й за наявності важких токсичних металів [15], а також як антимікробні та антиадгезивні агенти [4, 14]. Зазначимо, що практично важливі властивості встановлювали для поверхнево-активних речовин, синтезованих за умов росту *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на гліцерині.

У той же час нещодавно у літературі стали з'являтися поодинокі повідомлення про те, що біологічні властивості мікробних ПАР можуть змінюватися залежно від природи джерела вуглецю у середовищі культивування продуцента. Так, у праці [19] було встановлено, що антифунгальні властивості ліпопептидного комплексу, синтезованого *Bacillus amyloliquefaciens* AR2, залежать від природи ростового субстрату (сахароза, декстроза, гліцерин, сорбіт, лактоза, мальтоза). Так, мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) щодо *Fusarium solani* ATCC 36031, *F. oxysporum* MTCC 7229, *Cladosporium cladosporoides* ATCC 16022, *Scopulariopsis acremonium* ATCC 58636, *Microsporium gypseum* MTCC 4522, *Alternaria alternata* MTCC 2724, *Alternaria citri* MTCC 4875 і *Trichophyton rubrum* MTCC 296 ліпопептидів, утворених на середовищі з сахарозою, декстрозою та гліцерином становила 125–750 мкг/мл, а синтезованих на сорбітолі, лактозі та мальтозі підвищувалася до 250–2000 мкг/мл.

Наші дослідження [5] також показали залежність антиадгезивних властивостей ПАР від наявності у середовищі культивування *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 факторів росту і певних мікроелементів, а також природи джерела вуглецевого живлення (етанол, гліцерин, *n*-гексадекан). Заміна дріжджового автолізу та суміші мікроелементів у складі етанол- і *n*-гексадеканвмісних середовищ на сульфат міді і сульфат заліза, а у середовищі з гліцерином – на хлорид калію, сульфат цинку і сульфат міді супроводжувалася підвищенням синтезу ПАР, проте зниженням їх антиадгезивних властивостей.

У зв'язку з цим мета даної роботи – дослідження антимікробних та антиадгезивних властивостей ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на відпрацьованій та рафінованій соняшниковій олії.

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.

Як тест-культури під час визначення антимікробних та антиадгезивних властивостей ПАР використовували штами бактерій (*Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2) і дріжджів (*Candida albicans* Д-6) з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій, а також фітопатогенні бактерії з Української колекції мікроорганізмів (УКМ): *Pectobacterium carotovorum* УКМ В-1095, *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1015 і *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049.

Штами фітопатогенних бактерій були люб'язно надані співробітниками відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

N. vaccinii IMB B-7405 вирощували у колбах на качалці (320 об/хв) при 30 °С упродовж 120 год в 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 рафіновану соняшникову олію «Олейна» (Дніпропетровський олійно-екстракційний завод), а також відпрацьовану після смаження картоплі і м'яса олію (мережа ресторанів швидкого харчування McDonald's, Київ) у концентрації 2 % (об'ємна частка).

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

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини у вигляді супернатанту культуральної рідини (препарат 1) і розчину ПАР (препарат 2), екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1), як описано раніше [14, 15].

Антимікробні властивості поверхнево-активних речовин аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) [8, 12]. Визначення МІК здійснювали методом двократних серійних розведень у м'ясопептонному бульйоні (МПБ) для бактерій і рідкому суслі – для дріжджів, як описано нами раніше [2]. Результати оцінювали візуально за помутнінням середовища: (+) – пробірки, в яких спостерігали помутніння середовища (ріст тест-культури), (–) – де помутніння не було (ріст відсутній). Мінімальну інгібуючу 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 [14]. 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.

Усі досліди проводили в 3 повторах, кількість паралельних визначень в експериментах становила 3–5. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за Лакінім [1]. Відмінності середніх показників вважали достовірними на рівні значимості $p < 0,05$.

Результати та обговорення. На першому етапі досліджень встановлювали «ефективну» концентрацію препаратів поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* IMB B-7405, що забезпечувала мінімальну адгезію тест-культур на абіотичних поверхнях, попередньо оброблених цими препаратами. Як приклад, у табл. 1 наведено дані щодо адгезії вегетативних і спорових клітин *B. subtilis* БТ-2 на пластику, кахлі, сталі і лінолеумі після обробки їх препаратами 1 (супернатант) і 2 (розчин ПАР) з різною концентрацією ПАР, синтезованих штамом IMB B-7405 у середовищі з відпрацьованою після смаження м'яса олією.

Експерименти показали, що незалежно від фізіологічного стану тест-культури, ступеня очищення ПАР і типу абіотичної поверхні, кількість адгезованих клітин *B. subtilis* БТ-2 була мінімальною за обробки матері-

алів препаратами з концентрацією ПАР 0,02 мг/мл (табл. 1). Аналогічні результати були отримані під час дослідження адгезії *E. coli* IEM-1 і *S. albicans* Д-6 на поверхнях, оброблених препаратами ПАР, синтезованими у середовищі з відпрацьованою після смаження м'яса олією.

Проте у разі використання для обробки матеріалів препаратів ПАР, отриманих на відпрацьованій після смаження картоплі олії, мінімальна адгезія як спорових, так і вегетативних клітин *B. subtilis* БТ-2, а також *E. coli* IEM-1 і *S. albicans* Д-6 спостерігалася за удвічі вищої (0,04 мг/мл) концентрації ПАР у препаратах. У той же час «ефективна» концентрація

Таблиця 1

Вплив концентрації ПАР у препаратах *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на прикріплення *Bacillus subtilis* БТ-2 до абіотичних поверхонь

Фізіологічний стан тест-культури	Препарат	Концен-трація ПАР, мг/мл	Адгезія, %			
			пластик	кахель	сталь	ліно-ле-ум
Вегетативні клітини	1 Супернатант	0,04	83	92	85	64
		0,02	73	84	78	62
		0,01	92	88	88	72
	2 Розчин ПАР	0,04	66	55	55	42
		0,02	49	47	47	35
		0,01	71	63	50	54
Спори	1 Супернатант	0,04	82	71	85	63
		0,02	74	62	73	52
		0,01	79	69	81	62
	2 Розчин ПАР	0,04	75	69	81	69
		0,02	62	67	76	49
		0,01	66	70	79	56

Примітка: Культивування штаму ІМВ В-7405 здійснювали у середовищі з 2 % з відпрацьованої після смаження м'яса олії. Табл. 1–3: під час визначення адгезії похибка не перевищувала 5 %.

ПАР, синтезованих на рафінованій соняшниковій олії, що забезпечувала мінімальну кількість прикріплених до усіх поверхонь клітин досліджуваних тест-культур батарей і дріжджів, була найнижчою і становила 0,01 мг/мл, як і для препаратів ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на гліцерині [14].

Раніше [5] під час дослідження впливу умов культивування *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 на антиадгезивні властивості ПАР було показано, що ефективна концентрація поверхнево-активних речовин, синтезованих на етанолі, *n*-гексадекані і гліцерині була нижчою (0,005 мг/мл), ніж встановлена у даній роботі для ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405.

У табл. 2 і 3 наведено дані щодо адгезії мікроорганізмів на абіотичних поверхнях, оброблених препаратами поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405 з «ефективною» концентрацією ПАР, синтезованих на рафінованій і відпрацьованій олії. Ці дані показують, що антиадгезивні властивості ПАР залежать від природи джерела вуглецю у середовищі культивування продуцента.

Так, адгезія вегетативних і спорових клітин *B. subtilis* БТ-2 була мінімальною на усіх поверхнях, оброблених розчином ПАР, отриманих на відпрацьованій після смаження картоплі олії (8–18 і 26–50 % відповід-

но) (табл. 2). Мінімальну кількість прикріплених клітин *E. coli* IEM-1 (10–43 %) і *C. albicans* Д-6 (30–44 %) спостерігали за обробки матеріалів розчинами ПАР, синтезованих на відпрацьованій після смаження м'яса олії (табл. 2). Аналіз даних, наведених у табл. 2, показав, що розчини ПАР, отриманих на відпрацьованій олії, виявилися ефективнішими антиадгезивними агентами, ніж синтезовані на рафіновій олії, що, правда, у дещо вищій концентрації.

Антиадгезивні властивості препаратів 1 (супернатант), у більшості випадків, суттєво не відрізнялися від відповідних розчинів ПАР (див. табл. 2 і 3). Так само, як і за використання розчинів ПАР, обробка поверхонь супернатантом культуральної рідини після вирощування штаму ІМВ В-7405 на відпрацьованій після смаження картоплі олії забезпечувала мінімальну адгезію вегетативних і спорових клітин *B. subtilis* БТ-2 (28–60 %), а обробка супернатантом після культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на відпрацьованій після смаження м'яса олії – мінімальну кількість прикріплених до абіотичних поверхонь клітин *E. coli* IEM-1 (10–48 %) (табл. 3).

Отже, наведені дані засвідчують можливість використання пересмаженої соняшникової олії як субстрату для біосинтезу поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405 з достатньо високими антиадгезивними властивостями. Зазначимо, що у літературі відомості про антиадгезивні властивості ПАР, синтезованих на олієвмісних промислових відходах та пересмаженій олії, є вкрай обмеженими. У праці [18] повідомляється про синтез *Candida lipolytica* UCP0988 ПАР руйнівану на відходах виробни-

Таблиця 2

Вплив розчинів ПАР (препарат 2) *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 на прикріплення мікроорганізмів до абіотичних поверхонь

Олія як субстрат для синтезу ПАР	Тест-культура	Адгезія, %			
		пластик	кахель	сталь	лінолеум
Рафінована	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	52	50	69	48
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	56	48	51	49
	<i>E. coli</i> IEM-1	47	30	54	50
	<i>C. albicans</i> Д-6	46	39	40	39
Відпрацьована після смаження м'яса	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	49	47	47	35
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	62	67	76	49
	<i>E. coli</i> IEM-1	21	43	27	10
	<i>C. albicans</i> Д-6	43	41	44	30
Відпрацьована після смаження картоплі	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	15	16	18	8
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	26	50	44	50
	<i>E. coli</i> IEM-1	42	53	41	31
	<i>C. albicans</i> Д-6	82	68	86	57

Примітка: Табл. 2 і 3: Концентрація розчинів ПАР (мг/мл), синтезованих на олії: рафінованій – 0,01; відпрацьованій після смаження м'яса – 0,02; відпрацьованій після смаження картоплі – 0,04.

Таблиця 3

**Адгезія мікроорганізмів на абіотичних поверхнях, оброблених су-
пернатантом культуральної рідини *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405**

Олія як субстрат для синтезу ПАР	Тест-культура	Адгезія, %			
		пластик	кахель	сталь	лінолеум
Рафінована	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	70	73	74	51
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	71	70	63	49
	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	42	24	45	37
	<i>C. albicans</i> Д-6	42	37	49	39
Відпрацьована після смаження м'яса	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	73	84	78	62
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	74	62	73	52
	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	Н.в	16,6	47,7	10
	<i>C. albicans</i> Д-6	47,6	43,2	52,8	35
Відпрацьована після смаження картоплі	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	28	53	38	36
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	28	60	44	44
	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	40	46	69	44
	<i>C. albicans</i> Д-6	69	84	67	55

Примітка: Н.в. – не визначали.

цтва соєвої олії. Руфісан знижував адгезію бактерій роду *Streptococcus* і *Lactobacillus* на полістиролових пластинках. Так, вже за мінімально досліджуваної концентрації ПАР (0,75 мг/л), ступінь адгезії тест-культур становив 61–91 %. Із збільшенням концентрації ПАР у розчині до 12 мг/л руфісан знижував кількість прикріплених клітин *E. coli* і *C. albicans* на 21–51 %.

Пробіотичний штам *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* РТСС 1674, за умов росту на різних субстратах, у тому числі й на відпрацьованій соняшниковій олії, синтезував ПАР, яка у концентрації 10 мг/мл знижувала кількість прикріплених на пластику клітин *E. coli* на 13 %, а *Staphylococcus aureus* – на 37 % [11].

Отже, досліджувані нами препарати ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, отримані на відпрацьованій олії, проявляють вищі антиадгезивні властивості за нижчих на порядок концентрацій, ніж відомі з літератури ПАР, синтезовані *C. lipolytica* UCP0988 і *P. freudenreichii* subsp. *freudenreichii* РТСС 1674 на олієвмісних промислових відходах.

На наступному етапі досліджували антимікробні властивості ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, утворюваних на рафінованій і відпрацьованій олії (табл. 4). Дані, наведені у табл. 4, засвідчують, що мінімальна інгібуюча концентрація щодо усіх досліджуваних тест-культур (за винятком спор *B. subtilis* БТ-2) поверхнево-активних речовин, синтезованих на відпрацьованій після смаження картоплі олії, становила 8–52 мкг/мл і була нижчою, ніж МІК препаратів, одержаних на рафінованій (18–85 мкг/мл) і відпрацьованій після смаження м'яса (14–142 мкг/мл) олії.

Значення МІК поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405, наведені у даній роботі, є порівнянними з мінімальною інгібуючою концентрацією ПАР цього штаму, синтезованих на гліцерині [2], а також МІК

відомих з літератури мікробних ПАР [10].

Зазначимо, що у літературі є лише окремі роботи, в яких автори визначали МІК мікробних ПАР щодо фітопатогенних бактерій. Так, мінімальна інгібуюча концентрація сурфактину, синтезованого *B. subtilis* 6051, щодо бактерій *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 становила 25 мкг/мл. [9]

В огляді [10] наведено значення МІК гліколіпідів мікробного по-

Таблиця 4

Мінімальна інгібуюча концентрація поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих на олієвмісних субстратах

Олія як субстрат для синтезу ПАР	Тест-культура	МІК, мкг/мл
Рафінована	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	21
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	21
	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	10
	<i>C. albicans</i> Д-6	42
	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В- 1015	25
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	21
	<i>P. corotovorum</i> УКМ В-1095	85
Відпрацьована після смаження м'яса	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	71
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	142
	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	35
	<i>C. albicans</i> Д-6	71
	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В- 1015	85
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	14
	<i>P. corotovorum</i> УКМ В-1095	90
Відпрацьована після смаження картоплі	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини)	16
	<i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори)	67
	<i>E. coli</i> ІЕМ-1	8
	<i>C. albicans</i> Д-6	33
	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В- 1015	14
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	16
	<i>P. corotovorum</i> УКМ В-1095	52

Примітка: під час визначення мінімальної інгібуючої концентрації похибка не перевищувала 5 %.

ходження щодо деяких фітопатогенних грибів: МІК рамноліпідів щодо *Fusarium solani*, *Penicillium funiculosum*, *Alternaria* становила 16–75 мкг/мл, МІК софороліпідів щодо *Glomerella cingulata* – 50 мкг/мл.

Крім того, відомості про антимікробні властивості мікробних ПАР, синтезованих на олієвмісних відходах, є небагаточисельними. Хоча ще на початку ХХІ ст. Abalos із співавт. [7] повідомляли про використання відходів виробництва соєвої олії для отримання рамноліпідів *Pseudomonas aeruginosa* АТ110, яким були притаманні фунгіцидні властивості щодо *Aspergillus niger* та *Gliocadium virens* (16 мг/мл); *Chaetonium globosum*, *Penicillium crysogenum* і *Aureobasidium pullulans* (32 мг/мл); *Botrytis cinerea* і *Fusarium solani* (18 мг/мл).

Пізніше з'явилися повідомлення про синтез на олієвмісних відходах рамноліпідів *Thermus thermophilus* НВ8 [13] і руфісану *C. lipolytica* УСР0988 [18]. Руфісан, у концентрації 6–12 мг/л, проявляв ефективну антимікробну дію щодо представників роду *Streptococcus* і *Lactobacil-*

lus, проте практично не інгібував ріст *C. albicans*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus epidermidis* (18 %) [18]; рамноліпід *Thermus thermophilus* HB8 пригнічував ріст *Micrococcus lysodeikticus* [13].

Отже, в результаті проведених досліджень встановлено можливість використання відпрацьованої соняшникової олії для отримання поверхнево-активних речовин *N.vaccinii* ІМВ В-7405 з високими антиадгезивними та антимікробними властивостями. Крім того, наведені дані засвідчують, що біологічні властивості мікробних ПАВ залежать від умов культивування продуцента і розробка технологій одержання цільового продукту, з необхідними для практичного використання властивостями, обов'язково потребує проведення таких досліджень.

**Т.П. Пирог^{1,2}, Л.В. Никитюк¹, Е.В. Тимошук¹,
Т.А. Шевчук², Г.А. Иутинская²**

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

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

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА ОТРАБОТАННОМ ПОДСОЛНЕЧНОМ МАСЛЕ

Резюме

Цель. Исследование антимикробных и антиадгезивных свойств поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, синтезированных на различных маслосодержащих субстратах (рафинированное и отработанное после жарки мяса и картофеля подсолнечное масло). **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 определяли спектрофотометрическим методом как отношение оптической плотности суспензии, полученной из обработанных препаратами ПАВ (супернатант, раствор ПАВ) материалов к оптической плотности контрольных образцов и выражали в процентах. **Результаты.** Установлено, что ПАВ, синтезированные *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на отработанном масле, в концентрации 0,02–0,04 мг/мл снижали адгезию бактерий (*Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2) на пластике, кафеле, стекле и линолеуме на 25–90 %, а дрожжей *Candida albicans* Д-6 – на 15–65 %. Минимальная ингибирующая концентрация по отношению к исследуемым тест-культурам поверхностно-активных веществ, синтезированных на отработанном после жарки картофеля масле, составляла 8–67 мкг/мл, а по отношению к фитопатогенным бактериям *Pectobacterium carotovorum* УКМ В-1095, *Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* УКМ В-1015 и *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049 – 14–52 мкг/мл. **Выводы.** Замена традиционных субстратов на отработанное масло позволяет не только удешевить процесс биосинтеза ПАВ *N. vaccinii* ІМВ В-7405, но и получить целевой продукт с высокими антиадгезивными и антимикробными свойствами. Установленная зависимость антимикробного и антиадгезивного потенциала

ПАВ от природы источника углерода свидетельствует о необходимости проведения исследований по влиянию условий культивирования продуцентов на биологические свойства синтезированных микробных ПАВ.

К л ю ч е в ы е с л о в а: *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, поверхностно-активные вещества, условия культивирования, антимикробные и антиадгезивные свойства, отработанное подсолнечное масло.

**T.P. Pirog^{1,2}, L.V. Nikituk¹, K.V. Tymoshuk¹, T.A. Shevchuk²,
G.O. Iutynska²**

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

² Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine,
154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine

BIOLOGICAL PROPERTIES OF *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405 SURFACTANTS SYNTHESIZED ON FRIED SUNFLOWER OIL

Summary

Aim. To study of antimicrobial and antiadhesive properties of the surface-active substances (surfactants) *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 synthesized on different oil-containing substrates (refined and waste after frying meat and potatoes sunflower oil). **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 (adhesion) was determined as a ratio of the optical density of the suspension obtained from the materials treated with surfactants to the optical density of the control samples (100 %). **Results.** It was established that surfactants synthesized *N. vaccinii* IMV B-7405 on fried oil, at a concentration of 0.02–0.04 mg/ml decreased adhesion of bacteria (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* BT-2) on plastic, dutch tile, glass and linoleum by 25–90 %, and yeast *Candida albicans* Д-6 – by 15–65 %. The minimum inhibitory concentration with respect to studied test cultures surfactants synthesized on waste after frying potato oil was 8–67 mg/ml, and against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium carotovorum* UCM B-1095, *Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* UCM B- 1015 and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* UCM B-1049 – 14–52 mg/ml. **Conclusions.** Replacing traditional substrates on fried oil can not only reduce cost of *N. vaccinii* IMV B-7405 surfactant biosynthesis, but also to obtain the final product with high antiadhesive and antimicrobial properties. The dependence of antiadhesive and antimicrobial potential of surfactants on the nature of the carbon source indicate the need for studies effect of cultivation conditions of producer on biological properties of synthesized surfactants.

К е у w o r l d s: *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, surfactants, conditions of cultivation, antimicrobial and antiadhesive properties, fried oil.

1. Лакін Г.Ф. Биометрия – М.: Высшая школа – 1990. – 352 с.
2. Пирог Т.П., Берегова Х.А., Савенко І.В., Шевчук Т.А., Іутинська Г.О. Антимікробна дія поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Мікробіол. журнал. – 2015. – 78, № 6. – С.
3. Пирог Т.П., Гриценко Н.А., Хомяк Д.И., Конон А.Д., Антонюк С.И. Оптимизация синтеза поверхностно-активных веществ *Nocardia vaccinii* К-8 при биоконвер-

- сии отходов производства биодизеля // Микробиол. журнал. – 2011. – **73**, № 4. – С. 15–24.
4. Пирог Т.П., Конон А.Д., Софилканич А.П., Шевчук Т.А., Иутинская Г.А. Деструкция нефти в присутствии Cu^{2+} и поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Микробиол. журнал. – 2015. – **77**, № 2. – С. 2–8.
 5. Пирог Т.П., Савенко И.В., Шевчук Т.А. Влияние условий культивирования *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на антиадгезивные свойства поверхностно-активных веществ // Микробиол. журнал. – 2016. – **78**, № 1. – С.
 6. Пирог Т.П., Софилканич А.П., Погора К.А., Шевчук Т.А., Иутинская Г.А. Синтез поверхностно-активных веществ *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 на промышленных отходах // Микроб. журнал. – 2014. – **76**, № 2. – С. 18–24.
 7. Abalos A., Pinazo A., Infante M.R., Casals M., Garcia F., Manresa A. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes // Langmuir. 2001. – **17**, N 5. – P. 1367–1371.
 8. Andrews J. Determination of minimum inhibitory concentrations // J. Antimicrob. Chemother. – 2001. – **48**, N 1. – P. 5–16.
 9. Bais H.P., Fall R., Vivanco J.M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production // Plant. Physiol. – 2004. – **134**, N 1. – P. 307–319.
 10. Cortes-Sanchez A., Hernandez-Sanchez H., Jaramillo-Flores M. Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives // Microbiol. Rec. – 2013. – **168**, N 1. – P. 22–32.
 11. Hajfarajollah H., Mokhtarani B., Noghabi K.A. Newly antibacterial and antiadhesive lipopeptide biosurfactant secreted by a probiotic strain, *Propionibacterium freudenreichii* // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2014. – **74**, N 8. – P. 2725–2740. doi: 10.1007/s12010-014-1221-7.
 12. Mazzola P.G., Jozala A.F., Novaes L.C.L., Moriel P., Penna T.C.V. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents // Braz. J. Pharm. Sci. – 2009. – **45**, N 2. – P. 241–248. doi: org/10.1590/S1984-82502009000200008.
 13. Pantazaki A.A., Dimopoulou M.I., Simou O.M., Pritsa A.A. Sunflower seed oil and oleic acid utilization for the production of rhamnolipids by *Thermus thermophilus* HB8 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – **88**, N 4. – P.939–951. doi: 10.1007/s00253-010-2802-1.
 14. Pirog T.P., Konon A.D., Beregovaya K.A., Shulyakova M.A. Antiadhesive properties of the surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Microbiology. – 2014. – **83**, N 6. – P. 732–739.
 15. Pirog T.P., Konon A.D., Sofilkaniч A.P., Iutinskaia 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**, N. 4. – P. 360–367.
 16. Pirog T., Shulyakova M., Sofilkanyч 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 product // Food Bioprod. Proces. – 2015. – **93**, N 1. – P. 11–18.
17. 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**, N 2. – P. 149–157.
18. Rufino R.D., Luna J.M., Sarubbo L.A. Antimicrobial and anti-adhesive potential of a biosurfactant Rufisan produced by *Candida lipolytica* UCP 0988 // Coll. Surf. B. Bio-interfaces. – 2011. – **84**, N 1. – P. 1–5. doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.10.045
19. Singh A.K., Rautela R., Cameotra S.S. Substrate dependent in vitro antifungal activity of *Bacillus* sp. strain AR2 // Microb. Cell. Fact. – 2014. – 13:67. – doi: 10.1186/1475-2859-13-67.

Отримано 28.10.2015