

Т.П. Пироз^{1,2}, А.Д. Конон¹, А.П. Софілканич¹, А.Б. Скочко¹

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

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ ГСП, Д03680, Україна

ДІЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* K-4 ТА *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* EK-1 НА ДЕЯКІ МІКРООРГАНІЗМИ

Встановлено, що препарати поверхнево-активних речовин (ПАР) *Rhodococcus erythropolis* EK-1 (0,61–2,1 мг/мл) та *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 (0,15–0,22 мг/мл) у вигляді супернатанту культуральної рідини проявляють антимікробну дію щодо ряду мікроорганізмів (*Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Candida tropicalis* ПБТ-5, *Candida albicans* Д-6, *Candida utilis* БВС-65, *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3). Не виявлено інгібуючого впливу препаратів ПАР *R. erythropolis* EK-1 на клітини *S. cerevisiae* ОБ-3 і *E. coli* ІЕМ-1 і антифунгальної дії обох досліджуваних ПАР щодо *Aspergillus niger* Р-3 і *Fusarium culmorum* Т-7.

Виживання мікробних клітин залежало від концентрації ПАР у препаратах, тривалості експозиції, а також фізіологічного стану тест-культур. Встановлено, що препарати ПАР *A. calcoaceticus* K-4 спричиняли ефективнішу дію на спори *B. subtilis* БТ-2, ніж на вегетативні клітини, знижуючи виживання спорової культури на 75 % через 2 год експозиції.

Ключові слова: *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, *Rhodococcus erythropolis* EK-1, поверхнево-активні речовини, антимікробні властивості, тест-культури.

Завдяки амфіфільній будові молекул мікробним поверхнево-активним речовинам (ПАР) притаманні різноманітні властивості, що зумовили їхнє використання у нафто- та гірничодобувній, хімічній, харчовій промисловості, сільському господарстві, а також у природоохоронних технологіях для очищення довкілля [6, 7, 18]. Іншим перспективним напрямом практичного застосування мікробних ПАР є медицина. На сьогодні цей напрям лише починає розвиватися, але вже є певні позитивні результати, що дають змогу розглядати ПАР мікробного походження як альтернативу синтетичним лікарським засобам. Завдяки антимікробним, антивірусним і антиадгезивним властивостям мікробні ПАР можуть бути використані як безпечні та ефективні терапевтичні засоби [14, 17, 19].

У попередніх дослідженнях із забруднених нафтою зразків ґрунту нами було виділено нафтоокиснювальні бактерії, ідентифіковані як *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 і *Rhodococcus erythropolis* EK-1 і встановлено здатність цих штамів синтезувати метаболіти з поверхнево-активними і емульгуювальними властивостями під час росту на різних гідрофобних і гідрофільних субстратах [2, 3]. За хімічною природою ПАР *R. erythropolis* EK-1 є комплексом гліко-, фосфо- і нейтральних ліпідів [2], а ПАР *A. calcoaceticus* K-4 – комплексом гліко-, аміно- та нейтральних ліпідів [3]. Гліколіпіди обох штамів представлені трегалозоміколатами.

Мета даної роботи – дослідження антимікробних властивостей поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* EK-1 і *A. calcoaceticus* K-4.

Матеріали і методи. Основними об'єктами дослідження були штами *Rhodococcus erythropolis* EK-1 та *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, виділені із забруднених нафтою зразків ґрунту та депоновані в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології за номерами ІМВ Ас-5017 та ІМВ В-7241 відповідно; а також штами *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Candida albicans* Д-6, *Candida tropicalis* ПБТ-5, *Candida utilis* БВС-65, *Candida pseudotropicalis* П-1, *Candida guilliermondii* МБ-4, *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3, *Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7. Чисті культури бактерій, грибів і дріжджів зберігаються у музеї живих культур мікроорганізмів кафедри біотехнології мікробного синтезу Національного університету харчових технологій.

Культивування *R. erythropolis* EK-1 та *A. calcoaceticus* K-4 здійснювали у встановлених раніше оптимальних умовах на модифікованих нами рідких поживних середовищах [2, 3]. Як джерело вуглецю і енергії використовували етанол у концентрації 2 % (об'ємна частка).

Як препарати поверхнево-активних речовин *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 використовували стерильні супернатанти культуральної рідини. Для одержання супернатанту постферментаційну культуральну рідину центрифугували упродовж 15 хв (5000 г) для осадження біомаси, надосадову рідину зливали і піддавали автоклавуванню при температурі 112 °С (30 хв). Таку термообробку здійснювали для знищення клітин продуцента. У деяких варіантах для зниження концентрації ПАР нативні супернатанти розбавляли у кілька разів стерильною водопровідною водою.

Для експрес-оцінки кількісного вмісту ПАР у супернатантах (препаратах ПАР) використовували показник умовної концентрації ПАР (ПАР*), який визначали як ступінь розбавлення супернатанту у точці збільшення поверхневого натягу на графіку залежності σ_s від значення розведення. Абсциса точки перетину кривої відповідає значенню ПАР*. Умовна концентрація ПАР виражається в умовних одиницях.

Концентрацію поверхнево-активних речовин (г/л) у досліджуваних супернатантах визначали ваговим методом після екстракції поверхнево-активних ліпідів модифікованою сумішшю Фолча як описано у праці [3].

Дослідження дії препаратів поверхнево-активних речовин на різні мікроорганізми здійснювали методом дифузії в агар [4, 8], а також у рідкому середовищі (суспензійна культура) [8, 13].

Для визначення антимікробних властивостей препаратів ПАР методом дифузії в агар середовище ГКА розливали у чашки Петрі товстим шаром (по 30 мл на чашку) і витримували у термостаті (30 °С) упродовж доби, після чого засівали суцільним газоном суспензією (0,1 мл) добових тест-культур, вирощених на агаризованих середовищах (бактерії на МПА, гриби і дріжджі – на ГКА). Після посіву мікроорганізмів у середовищі стерильним свердлом робили чотири лунки діаметром 10 мм, в які вносили досліджувані об'єми препаратів. Після закінчення інкубації (3–4 доби) вимірювали зони затримки росту тест-культур і фіксували найменшу концентрацію препаратів, яка спричиняла антимікробну дію.

Дослідження впливу препаратів ПАР на мікроорганізми у суспензійній культурі здійснювали так. У вихідній суспензії досліджуваних добових (24 год) тест-культур, вирощених на агаризованих середовищах (бактерії на МПА при 30–37 °С, гриби при 26 °С і дріжджі при 30 °С на ГКА), визначали кількість живих клітин за методом Коха (колоній-утворювальні одиниці, КУО/мл). Потім суспензію тест-культур вносили у пробірки (3 мл), додавали по 1,5–3 мл препарату ПАР і витримували упродовж 1 і 2 год при температурі, оптимальній для росту тест-культур. Після експозиції визначали за методом Коха кількість живих клітин (з врахуванням змінення об'єму суспензії в результаті внесення препарату ПАР). В одному з варіантів досліджували дію препаратів ПАР *A. calcoaceticus* К-4 на вегетативні (15 год росту) і спорові (72 год росту) клітини *B. subtilis* БТ-2.

Виживання клітин визначали як відношення кількості живих клітин у оброблених препаратами ПАР зразках до кількості клітин у вихідній суспензії і виражали у відсотках. Статистичну обробку експериментальних даних проводили за Лакінім [1]. Достовірність результатів досліджень оцінювали згідно з *t*-критерієм Стьюдента при 5 %-му рівні значимості.

Результати та їх обговорення. Незважаючи на те, що перші повідомлення про антивірусні властивості мікробних ПАР з'явилися ще у кінці 80-х років ХХ ст. (цит. по [17, 19]), активні дослідження антимікробної дії цих продуктів мікробного синтезу припадають на останні кілька років [7, 8, 13, 14, 17].

На теперішній час найдослідженішими ПАР, яким притаманна антимікробна дія, є ліпопептиди. Цей й зрозуміло, оскільки вони по суті є поліпептидними антибіотиками [7, 8, 12, 13, 17, 19]. Встановлено антимікробну дію поверхнево-активних гліколіпідів: софороліпідів (продуцент – *Candida bombicola* АТСС 22214) [9], манозилеритритолліпідів (продуценти *Candida antartica* Т34, а також дріжджі роду *Pseudozyma*, наприклад, *P. siamensis* SBS 9960) [15], рамноліпідів (продуценти – бактерії роду *Pseudomonas*) [5].

Останніми роками значно посилюється інтерес дослідників до фізіологічної ролі ПАР, синтезованих молочнокислими бактеріями. Так, наприклад показано, що ПАР *Lactococcus lactis* 53 і *Streptococcus thermophilus* А [16] проявляють високу антимікробну активність проти *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Rothia dentocariosa*.

Наші дослідження показали, що умовна концентрація ПАР у супернатанті культуральної рідини, одержаної після культивування *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 на середовищі з етанолом, не перевищувала 2,0–2,5. Концентрація поверхнево-активних ліпідів (дані вагового методу) у таких препаратах становила 1,8–4,2 мг/мл.

Встановлено, що незалежно від концентрації ПАР у препаратах *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 не було зафіксовано зон затримки росту досліджуваних тест-культур на агаризованих середовищах. На нашу думку, це зумовлено недостатньо високою концентрацією ПАР у препаратах (супернатантах). Оскільки за використання методу дифузії в агар підвищити концентрацію ПАР збільшенням внесеного у лунки об'єму супернатанту понад 0,3 мл неможливо, наступні експерименти здійснювали з використанням суспензійних тест-культур.

Прояв антимікробних властивостей різних сполук, у тому числі й мікробних поверхнево-активних речовин, залежить від ряду факторів: концентрації клітин, концентрації досліджуваної речовини і тривалості експозиції [4, 8, 9, 12–14, 17, 19].

На першому етапі досліджень аналізували вплив препаратів ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 на добові культури *B. subtilis* БТ-2 і *E. coli* ІЕМ-1. Такі тест-культури були обрані через те, що *B. subtilis* є грам-позитивними бактеріями, які можуть утворювати термостійкі спори і бути шкідниками виробництв, а *E. coli* – грам-негативні бактерії, які можуть ще й спричиняти колі-інфекції.

У табл. 1 наведено залежність виживання клітин *B. subtilis* БТ-2 від концентрації ПАР у досліджуваних препаратах та тривалості експозиції. За концентрації ПАР 0,98 мг/мл у препараті *R. erythropolis* ЕК-1 спостерігали загибель майже 98 % клітин *B. subtilis* БТ-2 уже через годину експозиції. За нижчої (0,61 мг/мл) концентрації ПАР у препараті виживання клітин становило 53–55 % незалежно від тривалості експозиції. Препарати ПАР *A. calcoaceticus* К-4 виявилися ефективнішими порівняно з препаратами *R. erythropolis* ЕК-1. Так, за невисокої (0,15 мг/мл) концентрації ПАР у препараті штаму К-4 кількість клітин тест-культури уже через годину зменшилася більш ніж на 98 %. За вищої (0,22 мг/мл) концентрації ПАР у препараті спостерігали 100 % загибель клітин *B. subtilis* БТ-2.

Зазначимо, що на теперішній час актуальним залишається пошук антимікробних препаратів, ефективних щодо спорових мікроорганізмів. На прикладі тест-культури *B. subtilis* БТ-2 нами було показано ефективність дії препаратів ПАР *A. calcoaceticus* К-4 як проти вегетативних, так і спорових клітин, причому антимікробна дія препарату на спори виявилася сильнішою (табл. 2).

Наступні експерименти показали, що препарати *R. erythropolis* ЕК-1 з концентрацією ПАР 0,98–1,44 мг/мл, на відміну від препаратів *A. calcoaceticus* К-4, не проявляли антимікробної активності щодо *E. coli* ІЕМ-1. За концентрації ПАР 0,22 мг/мл у препараті *A. calcoaceticus* К-4 кількість живих клітин *E. coli* ІЕМ-1 знижувалася на 67 %.

Таблиця 1
Порівняння антибактеріальної дії препаратів ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 щодо тест-культури *B. subtilis* БТ-2

Продуцент ПАР	Концентрація ПАР у препаратах, мг/мл	Вживання (%) через	
		1 год	2 год
<i>R. erythropolis</i> ЕК-1	0,61	55,0±2,7	53,0±2,6
	0,98	1,95±0,1	1,8±0,09
<i>A. calcoaceticus</i> К-4	0,15	1,4±0,07	0,52±0,03
	0,22	0	0

П р и м і т к и. Кількість клітин *B. subtilis* БТ-2 (добова культура) до внесення препаратів ПАР становила $4 \cdot 10^6$ КУО/мл.

Тут і у табл. 2–5: як препарати ПАР використовували стерильні супернатанти культуральної рідини (див. «Матеріали і методи досліджень»), кількість клітин у контрольних (не оброблених препаратами ПАР) варіантах не змінювалася упродовж 2 год експозиції.

Таблиця 2

Антимікробна дія препаратів ПАР *A. calcoaceticus* К-4 на вегетативні і спорові клітини *B. subtilis* БТ-2

Фізіологічний стан клітин	Об'єм препарату ПАР, мл	Вживання клітин (%) через	
		1 год	2 год
Вегетативні (15 год росту)	1,5	90,8±4,5	63,7±3,1
	3,0	78,5±3,9	52,9±2,6
Спорові (72 год росту)	1,5	26,6±1,3	24,9±1,2
	3,0	49,0±2,4	43,7±2,0

Примітка. Умовна концентрація ПАР у препаратах становила 2,5. Чисельність клітин *B. subtilis* БТ-2 (КУО/мл) до внесення препаратів ПАР: 15 год – $4,5 \cdot 10^6$; 72 год – $6,3 \cdot 10^6$.

Ми припускаємо, що різна антибактеріальна дія препаратів ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 зумовлена відмінностями у їхньому хімічному складі. Зазначимо, що препарати ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 за своєю дією схожі на поверхнево-активну речовину N1, яка була ефективною лише проти грам-позитивних бактерій [19], а препарати *A. calcoaceticus* К-4 – на ліпопептид *B. circulans* [8], який краще діяв на різні види роду *Bacillus*, ніж на *E. coli*.

Для дослідження дії препаратів ПАР на еукаріотичні клітини як тест-культури було обрано деяких представників роду *Candida*, які є збудниками інфекцій та шкідниками виробництва, а також дріжджі *S. cerevisiae* ОБ-3, які широко використовуються у харчовій промисловості.

Наші експерименти показали, що кількість живих клітин *C. tropicalis* ПБТ-5 за присутності препаратів ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 знижувалася із підвищенням концентрації ПАР у препараті і збільшенням тривалості експозиції (табл. 3). На прикладі *C. albicans* Д-6 було показано, що не завжди максимальні концентрації ПАР є найефективнішими. Так, незалежно від концентрації ПАР у препаратах *R. erythropolis* ЕК-1 ($0,61$ – $1,44$ мг/мл) логарифм кількості живих клітин *C. albicans* Д-6 через 2 год експозиції знижувався незначно (табл. 3). Зазначимо, що у деяких випадках через 1 год після обробки суспензії клітин *C. tropicalis* ПБТ-5 і *C. albicans* Д-6 препаратами ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 спостерігали збільшення кількості живих клітин (навіть на порядки) з подальшим зниженням на кінець 2-ої год експозиції (табл. 3 і 4). Аналогічна ситуація спостерігалася при дослідженні дії препаратів ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 на суспензію клітин *C. guilliermondii* МБ-4, тільки стимуляція росту клітин була відзначена для всіх концентрацій ПАР навіть після двогодинної експозиції.

Ми вважаємо, що це явище може бути зумовлене кількома причинами: інерційним розмноженням культури (оскільки використовували клітини у фізіологічно активному стані), наявністю у препаратах ПАР (супернатантах) додаткових поживних речовин, реакцією клітин на стресову дію, а також певною взаємодією ПАР і клітин на молекулярному рівні.

Таблиця 3

Зміна кількості живих клітин *C. tropicalis* ПБТ-5 і *C. albicans* Д-6 за присутності препаратів ПАР *R. erythropolis* ЕК-1

Концентрація ПАР у препараті, мг/мл	<i>C. tropicalis</i> ПБТ-5		<i>C. albicans</i> Д-6	
	Логарифм кількості живих клітин через			
	1 год	2 год	1 год	2 год
0,61	8,2±0,41	6,4±0,32	5,6±0,28	5,3±0,26
0,98	6,4±0,32	5,7±0,28	5,4±0,26	5,3±0,26
1,44	5,8±0,28	5,2±0,26	5,5±0,27	5,5±0,27

Примітка. Логарифм кількості живих клітин у вихідній суспензії (до обробки препаратами ПАР) становив: *C. tropicalis* ПБТ-5 – 6,5; *C. albicans* Д-6 – 5,9.

Таблиця 4

**Зміна кількості живих клітин *C. utilis* БВС-65
і *C. albicans* Д-6 за присутності препаратів ПАР *A. calcoaceticus* К-4**

Концентрація ПАР у препараті, мг/мл	<i>C. utilis</i> БВС-65		<i>C. albicans</i> Д-6	
	Логарифм кількості живих клітин через			
	1 год	2 год	1 год	2 год
0,15	5,8±0,29	5,3±0,26	6,0±0,30	5,4±0,27
0,22	5,3±0,26	5,1±0,25	5,7±0,28	5,3±0,26

Примітка. Логарифм кількості клітин у вихідній суспензії (до внесення препаратів ПАР): *C. utilis* БВС-65 – 5,6; *C. albicans* Д-6 – 5,5.

Досліджувані препарати ПАР діяли на *C. utilis* БВС-65 лише через 2 год експозиції (табл. 4 і 5). Як видно із даних, наведених у табл. 4, за нижчої концентрації ПАР у препаратах *A. calcoaceticus* К-4 спостерігали збільшення кількості живих клітин *C. utilis* БВС-65. Лише в одному випадку (0,22 мг/мл ПАР, 2 год) логарифм кількості живих клітин становив 5,1 і був нижчим за початковий (5,6). Зазначимо, що за обробки даної тест-культури препаратами ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 стимулюючого ефекту не спостерігалося, а кількість живих клітин знижувалася на 0,6–6,9 % залежно від тривалості обробки і концентрації ПАР у препаратах (табл. 5).

Подальші дослідження показали, що за концентрації ПАР до 2,1 мг/мл препарати *R. erythropolis* ЕК-1 не діяли на клітини *C. pseudotropicalis* П-1. Можливо, це зумовлено наявністю непроникної для ПАР зовнішньої слизової оболонки у цих дріжджових клітин. За своєю спектром дії на представників роду *Candida* досліджувані нами препарати ПАР схожі на гліколіпіди *Pseudozyma fusiformata* [10, 11], які є ефективними за низьких концентрацій (до 1,5 мг/мл), на відміну від ПАР *Lactococcus lactis* 53 і *Streptococcus thermophilus* А, що проявляють антимікробні властивості у значно вищих концентраціях (10–100 мг/мл) [17].

Зазначимо, що препарати *R. erythropolis* ЕК-1 з концентрацією ПАР до 1,5 мг/мл не виявили антимікробної дії щодо до *S. cerevisiae* ОБ-3. У той же час після двох годин обробки препаратами ПАР *A. calcoaceticus* К-4 кількість клітин *S. cerevisiae* ОБ-3 знижувалася майже вдвічі (до 52–55 %) за внесення 1,5 і 3 мл препаратів ПАР відповідно (умовна концентрація ПАР 2,5).

Наступні експерименти показали, що препарати *R. erythropolis* ЕК-1 з концентрацією ПАР до 1,5 мг/мл та *A. calcoaceticus* К-4 з концентрацією до 0,3 мг/мл не проявляли антимікробної дії щодо мікроміцетів *A. niger* Р-3 і *F. culmorum* Т-7. Ймовірно, що для пригнічення росту цих мікроорганізмів необхідна вища концентрація ПАР або більша тривалість обробки.

Таблиця 5

Вплив концентрації ПАР у препаратах *R. erythropolis* ЕК-1 та тривалості експозиції на кількість клітин *C. utilis* БВС-65

Концентрація ПАР у препараті, мг/мл	Вживання клітин (%) через	
	1 год	2 год
1,4	99,4	93,1±1,4
2,1	100	95,0±2,4

Примітка. Чисельність клітин до внесення препаратів ПАР становила $1 \cdot 10^6$ КУО/мл.

У своїх дослідженнях антимікробної дії ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 та *A. calcoaceticus* К-4 як препарати поверхнево-активних речовин ми використовували стерильні супернатанти культуральної рідини. Звичайно ж, для коректнішого порівняння антимікробних властивостей ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 та *A. calcoaceticus* К-4 доцільніше було б досліджувати вплив на тест-культури розчинів очищених препаратів ПАР однакової концентрації. Проте раніше [2] було показано, що ПАР *R. erythropolis* ЕК-1 після екстракції і випарювання не повністю розчинялися у дистильованій чи водопровідній воді, фосфатному буфері (рН 7,0–8,0) різної молярності або підлученій воді (рН 8,0). Крім того, штами ЕК-1 і К-4 синтезують комплекс

позаклітинних метаболітів, яким притаманні не тільки поверхнево-активні, а й емульгувальні властивості [2, 3]. Тому різна ефективність антимікробної дії досліджуваних препаратів поверхнево-активних речовин щодо різних тест-культур може бути зумовлена не тільки різним хімічним складом синтезованих *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 ПАВ, а й наявністю у супернатантах позаклітинних емульгаторів. Разом із тим не виключено, що й метаболітам з емульгувальними властивостями також притаманні антимікробні властивості. Виясненню цих питань будуть присвячені наші подальші дослідження.

Відомо, що механізм антимікробної дії ПАВ полягає у порушенні цілісності цитоплазматичної мембрани тест-культур і втратою клітиною життєздатності [17, 19]. Ми припускаємо, що відмінності у прояві антимікробних властивостей препаратів ПАВ *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 щодо різних про- та еукаріотичних мікроорганізмів можна пояснити кількома причинами: різним хімічним складом клітинної стінки і плазматичної мембрани у тест-культур, наявністю або відсутністю у них поверхневих структур клітинної стінки, різними механізмами захисту клітин від антимікробних агентів тощо.

Отже, в результаті проведеної роботи встановлено, що препаратам ПАВ *R. erythropolis* ЕК-1 і *A. calcoaceticus* К-4 притаманні антимікробні властивості щодо ряду мікроорганізмів (*C. tropicalis* ПБТ-5, *B. subtilis* БТ-2, *C. utilis* БВС-65, *S. cerevisiae* ОБ-3, *E. coli* ІЕМ-1 і *C. albicans* Д-6), причому препаратам ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 властивий ширший спектр антимікробної дії. Вживання клітин досліджуваних тест-культур за присутності препаратів ПАВ залежить від їхньої концентрації та тривалості експозиції.

Т.П. Пирог^{1,2}, А.Д. Конон¹, А.П. Софилканич¹, А.Б. Скочко¹

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

²Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, Д03680, Украина

ДЕЙСТВИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* К-4 И *RHODOCOCCUS* *ERYTHROPOLIS* ЕК-1 НА НЕКОТОРЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Резюме

Установлено, что препараты поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 (0,61–2,1 мг/мл) и *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 (0,15–0,22 мг/мл) в виде супернатанта культуральной жидкости проявляют антимикробное действие по отношению к ряду микроорганизмов (*Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Candida tropicalis* ПБТ-5, *Candida albicans* Д-6, *Candida utilis* БВС-65, *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3). Не выявлено ингибирующего влияния препаратов ПАВ *R. erythropolis* ЕК-1 на клетки *S. cerevisiae* ОБ-3 и *E. coli* ІЕМ-1 и антифунгального действия обоих исследуемых ПАВ на *Aspergillus niger* Р-3 и *Fusarium culmorum* Т-7. Выживание микробных клеток зависело от концентрации ПАВ в препаратах, продолжительности экспозиции, а также физиологического состояния тест-культур. Установлено, что препараты ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 эффективнее влияли на споры *B. subtilis* БТ-2, чем на вегетативные клетки, снижая выживание споровой культуры на 75 % через 2 ч экспозиции.

Ключевые слова: *Acinetobacter calcoaceticus* К-4, *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1, поверхностно-активные вещества, антимикробные свойства, тест-культуры.

T.P. Pirog^{1,2}, A.D. Konon¹, A.P. Sofilkanich¹, A.B. Skochko¹

¹National University of Food Technologies, Kyiv

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

EFFECT OF BIOSURFACTANTS *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* К-4 AND *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* ЕК-1 ON SOME MICROORGANISMS

Summary

It has been established that the preparations of biosurfactants *Rhodococcus erythropolis* ЕК-1 (0.61 – 2.1 mg/ml) and *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 (0.15 – 0.22 mg/ml) in a form of supernatants of the cultural liquid show antimicrobial effect in respect of a number of microorganisms (*Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia*

coli IEM-1, *Candida tropicalis* BT-5, *Candida albicans* D6, *Candida utilis* BVC-65, *Saccharomyces cerevisiae* OB-3). No inhibiting effect of biosurfactant preparations of *R.erythropolis* EK-1 on the cells of *S.cerevisiae* OB-3 and *E.coli* IEM-1 and antifungal effect of the both studied surfactants on *Aspergillus niger* P-3 and *Fusarium culmorum* T-7 were revealed.

The survival of microbe cells depend on biosurfactants concentration in the preparations, on exposure time as well as on physiological state of test-cultures. It has been established that the surfactant preparations of *A.calcoaceticus* K-4 had a higher effect on the spores of *B.subtilis* BT-2, than on vegetative cells, thus decreasing the spore culture survival by 75 % in 2 h of exposure.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, *Rhodococcus erythropolis* EK-1, biosurfactants, antimicrobial properties, test-culture.

The author's address: Pirog T.P., National University of Food Technologies; 68 Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine.

1. Лакін Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
2. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Волошина И.Н., Карпенко Е.И. Образование поверхностно-активных веществ при росте штамма *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гидрофильных и гидрофобных субстратах // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – 40, № 5. – С. 544–550.
3. Пирог Т.П., Антониук С.И., Карпенко Е.В., Шевчук Т.А. Влияние условий культивирования штамма *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 на синтез поверхностно-активных веществ // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – 45, № 3. – С. 304–310.
4. Abalos A., Pinazo A., Infante M.R. et al. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes // Langmuir. – 2001. – 17, № 5. – P. 1367–1371.
5. Abdel-Mawgoud A.M., Lepine F., Deziel E. Rhamnolipids: diversity of structure, microbial origins and roles // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – 86, № 5. – P. 1323–1336.
6. Banat I.M., Makkar R., Cameotra S. Potential commercial applications of microbial surfactants // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2000. – 53, № 5. – P. 495–508.
7. Banat I.M., Franzetti A., Gandolfi I. et al. Microbial biosurfactants production, application and future potential // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – 87, № 2. – P. 427–444.
8. Das P., Mukherjee S., Sen R. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans* // J. Appl. Microbiol. – 2008. – 104, № 6. – P. 1675–1684.
9. Kim K.J., Yoo D.S., Kim Y.B. et al. Characteristics of sophorolipid as an antimicrobial agent // J. Microbiol. Biotechnol. – 2002. – 12, № 2. – P. 235–241.
10. Kulakovskaya T., Kulakovskaya E., Golubev W. ATP leakage from yeast cell treated by extracellular glycolipids of *Pseudozyma fusiformata* // FEMS Yeast Research. – 2003. – 3, № 4. – P. 401–404.
11. Kulakovskaya T., Shashkov A., Kulakovskaya E., Golubev W. Ustilagic acid secretion by *Pseudozyma fusiformata* strains // FEMS Yeast Research. – 2005. – 5, № 10 – P. 919–923.
12. Lee S., Kim S., Chung S., Choi Y. Isolation and structural analysis of bamylocin A, novel lipopeptide from *Bacillus amyloliquefaciens* LP03 having antagonistic and crude oil-emulsifying activity // Arch. Microbiol. – 2007. – 188, № 4. – P. 307–312.
13. Maldonado M. C., Corona J., Gordillo M. A., Navarro A. R. Isolation and partial characterization of antifungal metabolites produced by *Bacillus* sp. IBA 33 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – 59, № 6. – P. 646–650.
14. Mimeo B., Labbe C., Pelletier R., Belanger R. R. Antifungal activity of flocculosin, a novel glycolipid isolated from *Pseudozyma flocculosa* // Antimicrob. Agents Chemother. – 2005. – 49, № 4. – P. 1597–1599.
15. Morita T., Konishi M., Fukuoka T. et al. Production of glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids, by *Pseudozyma siamensis* CBS 9960 and their interfacial properties // J. Biosci. Bioeng. – 2008. – 105, № 5. – P. 493–502.
16. Rodrigues L., van der Mei H.C., Teixeira J., Oliveira R. Influence of biosurfactants from probiotic bacteria on formation of biofilms on voice prostheses // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – 70, № 7. – P. 4408–4410.
17. Rodrigues L., Banat I.M., Teixeira J., Oliveira R. Biosurfactants: potential applications in medicine // J. Antimicrob. Chemother. – 2006. – 57, № 4. – P. 609–618.
18. Singh A., Van Hamme J.D., Ward O.P. Surfactants in microbiology and biotechnology. Part 2. Applications aspects // Biotechnol. Adv. – 2007. – 25, № 1. – P. 99–121.
19. Singh P., Cameotra S. Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences // Trends in Biotechnol. – 2004. – 22, № 3. – P. 142–146.

Отримано 13.09.2010