Измерение оптической плотности растворов красителей показало, что в кислой среде происходит смещение максимума поглощения растворов в сторону более коротких длин волн, в щелочной же среде максимум поглощения почти не меняется. При значения pH 2 и 1 цвет растворов становится желтым. При увеличении значений pH (от 4 до 12) цвет – красный.

Таким образом, выделенные нами красители устойчивы в течение достаточного времени, цвет их стабилен в течение продолжительного кипячения, они устойчивы нейтральной и щелочной средах.

Список литературы:

1. Ходжиматов М. Дикорастущие лекарственные растения Таджикистана. – Душанбе, 1989. – С. 137-144.

2. Харламова О.А., Кафка Б.В. Натуральные пищевые красители. – М. Пищевая промышленность, 1979. – 120 с.

3. Спиричев В.Б., Шатнюк Л.Н. Обогащение пищевых продуктов микронутриентами: современные медико-биологические аспекты // Пищевая промышленность. – 2002. – № 7. – С. 98-101.

4. Касьянов Г.И., Кизим И.Е., Холодцов М.А. Применение пряно-ароматических и лекарственных растений в пищевой промышленности // Пищевая промышленность. – 2000. – № 5. – С. 33-35.

5. Толкунова Н.Н., Чуева Е.Н., Бидюк А.Я. Влияние экстрактов лекарственных растений на развитие микроорганизмов // Пищевая промышленность. – 2002. – № 8. – С. 70-71.

МИКРОБНЫЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА КАК АНТИМИКРОБНЫЕ И АНТИАДГЕЗИВНЫЕ АГЕНТЫ

© Конон А.Д.[♣], Скочко А.Б.[♦], Пирог Т.П.[♥]

Национальный университет пищевых технологий, Украина, г. Киев

Установлено, что препараты поверхностно-активных веществ (ПАВ) Rhodococcus erythropolis ЭК-1 (0,92-1,44 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 ИЭМ-1, Candida tropicalis ПБТ-5, Candida albicans Д-6, Candida utilis БВС-65). Не выяв-

[♣] Ассистент кафедры Биотехнологии микробного синтеза, аспирант.

[♦] Магистрант кафедры Биотехнологии микробного синтеза.

[♥] Заведующий кафедрой Биотехнологии микробного синтеза, доктор биологических наук, профессор.

лено ингибирующего влияния препаратов ПАВ R. erythropolis ЭК-1 на клетки S. cerevisiae ОБ-3 и E. coli ИЭМ-1, а также антифунгального действия обоих исследуемых ПАВ на Aspergillus niger Р-3 и Fusarium culmorum Т-7. Установлено, что препараты ПАВ A. calcoaceticus К-4 (0,28 мг/мл) снижают количество прикрепленных клеток B. subtilis БТ-2 различного физиологического состояния на пластинках кафеля (на 41,3 %) и линолеума (82,4 %), E. coli ИЭМ-1 – на пластинках стали (41 %), пластика (15 %) и кафеля (14 %).

Поверхностно-активные вещества (ПАВ), или сурфактанты – это вещества, состоящие из двух функциональных частей: полярной с основной гидрофильной группой и неполярной – с гидрофобным остатком. Благодаря такому строению молекул растворы ПАВ могут снижать поверхностное и межфазное натяжение.

ПАВ микробного происхождения используются в нефтедобывающей, химической, фармацевтической, пищевой промышленности, сельском хозяйстве, а также для очистки окружающей среды от углеводородов, тяжелых металлов и других ксенобиотиков [1, 2].

В последнее время наблюдается усиление резистентности многих патогенных микроорганизмов к существующим лекарственным средствам, что обусловило поиск альтернативных препаратов. Такими потенциальными для использования в медицине могут быть микробные ПАВ, поскольку они нетоксичны, не вызывают аллергии, проявляют антимикробное действие в отношении широкого спектра микроорганизмов [3, 4]. Известно, что механизм антимикробного действия ПАВ основан на нарушении функций мембран клеток, что приводит к замедлению их роста или гибели. Кроме того, микробные ПАВ могут использоваться как антиадгезивные агенты, предотвращающие формирование биопленок на поверхностях различных материалов [5, 6], что может быть использовано в пищевой промышленности и медицине.

Цель данной работы – исследование антимикробных свойств и антиадгезивной активности поверхностно-активных веществ *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 и *Acinetobacter calcoaceticus* К-4. Штаммы *R. erythropolis* ЭК-1 и *A. calcoaceticus* К-4 изолированы из загрязненных нефтью образцов почвы [7] и депонированы в Депозитарии микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии НАН Украины под номерами ИМВ Ас-5017 и ИМВ В-7241. В качестве препаратов ПАВ использовали стерильный супернатант культуральной жидкости.

Наши эксперименты показали, что количество живых клеток *Candida tropicalis* ПБТ-5 в присутствии препаратов ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1 снижалось с повышением концентрации ПАВ и увеличением продолжительности обработки (табл. 1). Так, наиболее существенное снижение количества дрожжевых клеток наблюдалось при обработке суспензии препарата-

ми ПАВ в наиболее высокой из исследуемых концентраций (1,44 мг/мл) в течение 2 ч. (табл. 1). При таких условиях количество живых клеток *C. tropicalis* ПБТ-5 снижалось на 80 %.

Таблица 1

Изменение количества живых клеток *C. tropicalis* ПБТ-5 и *C. albicans* Д-6 в присутствии препаратов ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1

Концентрация ПАВ в препарате, мг/мл	*C. tropicalis* ПБТ-5		*C. albicans* Д-6	
	Логарифм количества живых клеток через			
	1 ч.	2 ч.	1 ч.	2 ч.
0,61	8,2 ± 0,41	6,4 ± 0,32	5,6 ± 0,28	5,45 ± 0,29
0,92	6,3 ± 0,32	6,1 ± 0,30	5,4 ± 0,27	5,3 ± 0,25
1,44	5,9 ± 0,27	5,8 ± 0,29	5,5 ± 0,26	5,5 ± 0,26

Примечание: логарифм количества клеток в исходной суспензии составлял: *C. tropicalis* ПБТ-5 – 6,5 ± 0,32; *C. albicans* Д-6 – 5,85 ± 0,29.

На примере *Candida albicans* Д-6 было показано, что не всегда максимальные концентрации являются наиболее эффективными. Так, при внесении препарата ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1 (0,92 мг/мл) выживание клеток составляло 26-33 %, а с увеличением концентрации ПАВ в препарате до 1,44 мг/мл увеличивалось до 44-47 % (табл. 1). Аналогично, под действием ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 количество выживших дрожжевых клеток увеличивалось с 71 % до 89 % с повышением концентрации ПАВ в препаратах с 0,15 до 0,22 мг/мл (табл. 2). Полученные результаты можно объяснить взаимодействием ПАВ и клеток на молекулярном уровне и вспомнить принципы гомеопатии, согласно которым более разбавленные растворы являются более эффективными.

Таблица 2

Изменение количества живых клеток *B. subtilis* БТ-2 и *C. albicans* Д-6 в присутствии препаратов ПАВ *A. calcoaceticus* К-4

Концентрация ПАВ в препарате, мг/мл	*B. subtilis* БТ-2		*C. albicans* Д-6	
	Логарифм количества живых клеток через			
	1 ч.	2 ч.	1 ч.	2 ч.
0,15	4,8 ± 0,24	4,4 ± 0,32	6,0 ± 0,30	5,35 ± 0,27
0,22	–	–	5,6 ± 0,28	5,45 ± 0,26

Примечание: «–» – выживание 0 %; логарифм количества клеток в исходной суспензии составлял: *B. subtilis* БТ-2 – 6,6 ± 0,33; *C. albicans* Д-6 – 5,5 ± 0,28.

Отметим, что через 1 ч. после обработки суспензии клеток *C. tropicalis* ПБТ-5 и *C. albicans* Д-6 препаратами ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1 (0,61 мг/мл) и *A. calcoaceticus* К-4 (0,15 мг/мл) соответственно наблюдали увеличение количества живых клеток (даже на порядки) с последующим резким снижением ко 2-му ч. экспозиции (табл. 1, 2). Мы считаем, что такой эффект

может быть обусловлен несколькими причинами: инерционным размножением культуры (поскольку использовали клетки с экспоненциальной фазы роста), наличием в супернатанте дополнительных питательных веществ и реакцией клеток на стрессовое воздействие.

Исследуемые препараты действовали на *Candida utilis* БВС-65 только через 2 ч. экспозиции. При внесении ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 (0,22 мг/мл) количество дрожжевых клеток снижалось на 19 %, а препаратов *R. erythropolis* ЭК-1 (1,4 мг/мл) – на 7 %.

Исследование зависимости выживания клеток *B. subtilis* БТ-2 от концентрации ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1 и продолжительности обработки показало, что при концентрации ПАВ в препарате 0,98 мг/мл наблюдалась гибель более 90 % клеток уже через час экспозиции. При более низкой концентрации ПАВ (0,61 мг/мл) выживание клеток составляло 53-55 % независимо от длительности обработки. Более сильное антимикробное действие оказывали препараты ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 (0,22 мг/мл), которые вызывали 100 % гибель клеток *B. subtilis* БТ-2 (табл. 2).

Последующие эксперименты показали, что препараты ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1 (0,98-1,47 мг/мл) не проявляли антимикробного действия в отношении бактерий *Escherichia coli* ИЭМ-1, дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ОБ-3 и микромицетов (*Aspergillus niger* Р-3 и *Fusarium culmorum* Т-7). Вероятно, что для подавления роста этих микроорганизмов необходима более высокая концентрация ПАВ или более длительная обработка. ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 оказались более эффективными и в концентрации 0,22 мг/мл снижали количество клеток *E. coli* ИЭМ-1 на 67 %, а *S. cerevisiae* ОБ-3 – на 48 %.

Показано, что препараты ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 являются эффективными антиадгезивными агентами. Они снижали количество прикрепленных к линолеуму и кафелю клеток *B. subtilis* БТ-2 на 82,4 и 41,3 % соответственно (табл. 3). Также препараты ПАВ снижали адгезию *E. coli* ИЭМ-1 на стальные пластинки (на 41 %), пластик (15 %) и кафель (14 %). В тоже время в присутствии ПАВ увеличивалось количество прикрепленных к пластику клеток *B. subtilis* БТ-2 и к линолеуму – *E. coli* ИЭМ-1. Адгезии клеток бацилл на сталь не наблюдалось.

Таблица 3

Влияние препаратов ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 на адгезию бактерий к различным материалам

Тест-культура	Адгезия клеток (%), на			
	линолеум	сталь	пластик	кафель
B. subtilis БТ-2	17,6 ± 0,9	–	*	58,7 ± 2,9
E. coli ИЭМ-1	*	59 ± 2,9	85 ± 4,2	86 ± 4,3

Примечание: табл. 3 и 4: концентрация ПАВ в препарате – 0,28 мг/мл. «–» – адгезии на данный материал не наблюдалось; «*» – стимуляция адгезии на данный материал. Количество клеток в контрольной пробе (материал, обработанный дистиллированной водой вместо ПАВ) принимали за 100 %.

На примере *B. subtilis* БТ-2 было показано, что антиадгезивная активность препаратов ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 зависит от физиологического состояния тест-культур, причем споровые клетки адгезировались меньше (14,2 % на линолеуме, 54,2 % на кафеле), чем вегетативные (20,8 % на линолеуме, 61,3 % на кафеле) (табл. 4).

Таблица 4

Зависимость количества прикрепленных к некоторым материалам клеток *B. subtilis* БТ-2 от их физиологического состояния

Время выращивания тест-культуры, г.	Адгезия клеток (%), на			
	линолеум	сталь	пластик	кафель
15	20,8 ± 1,0	–	*	61,3 ± 3,1
72	14,2 ± 0,7	–	*	54,2 ± 2,7

Так же, как и для суточной культуры, для спор и вегетативных клеток *B. subtilis* БТ-2 характерным было увеличение адгезии на пластиковую поверхность, а прикрепления на пластинки стали не происходило. Отличия в характере прикрепления клеток разного физиологического состояния, а также различных тест-культур может объясняться особенностями строения и химического состава клеточных оболочек и различными адаптационными реакциями этих микроорганизмов на стрессовые воздействия. Выяснению этих вопросов будут посвящены наши дальнейшие исследования.

Таким образом, в результате проведенной работы установлено, что поверхностно-активные вещества *R. erythropolis* ЭК-1 и *A. calcoaceticus* К-4 обладают антимикробными свойствами в отношении ряда микроорганизмов (*C. tropicalis* ПБТ-5, *B. subtilis* БТ-2, *C. utilis* БВС-65, *S. cerevisiae* ОБ-3, *E. coli* ИЭМ-1 и *C.albicans* Д-6), причем ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 свойственен более широкий спектр действия, хотя в отношении некоторых культур данные препараты менее активны. Выживание клеток в присутствии препаратов ПАВ зависело от их концентрации и продолжительности экспозиции. Через 1-2 ч. обработки исследуемыми препаратами ПАВ *R. erythropolis* ЭК-1 (0,92-1,44 мг/мл) и *A. calcoaceticus* К-4 (0,15-0,22 мг/мл) наблюдалась гибель 100 % клеток *B. subtilis* БТ-2, 85 % – *C. tropicalis* ПБТ-5, 74 % – *C. albicans* Д-6, 67 % – *E. coli* ИЭМ-1, 48 % – *S. cerevisiae* ОБ-3 и 18 % – *C. utilis* БВС-65. Показано, что препараты ПАВ *A. calcoaceticus* К-4 (0,28 мг/мл) обладают антиадгезивной активностью и снижают количество прикрепленных к линолеуму и кафелю клеток *B. subtilis* БТ-2 различного физиологического состояния на 79,1-85,8 % и 38,7-45,8 % соответственно, а также *E. coli* ИЭМ-1 – на стали (41 %), пластике (15 %) и кафеле (14 %).

Список литературы:

1. Ron E.Z., Rosenberg E. Biosurfactants and oil bioremediation // Curr. Opin. Biotechnol. – 2002. – Vol. 13, № 3. – P. 249-252.

2. Singh A., Van Hamme J.D. Surfactants in microbiology and biotechnology. Part 2. Applications aspects // Biotechnol. Adv. – 2007. – Vol. 25. – P. 99-121.

3. Das P., Mukherjee S., Sen R. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine Bacillus circulans // J. Appl. Microbiol. – 2008. – Vol. 104, № 6. – P. 1675-1684.

4. Rodrigues L., Banat I.M., Teixeira J., Oliveira R. Biosurfactants: potential applications in medicine // J. Antimicrob. Chemother. – 2006. – Vol. 57. – P. 609-618.

5. Nitschke M., Araujo L.V., Costa S.G.V.A.O., Pires R.C. at al. Surfactin reduces the adhesion of food-borne pathogenic bacteria to solid surfaces // Let. App. Microbiol. – 2009. – Vol. 49. – P. 241-247.

6. Rivardo F., Turner R.J., Allegrone G. and et. Anti-adhesion activity of two biosurfactants produced by Bacillus spp. prevents biofilm formation of human bacterial pathogens // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – Vol. 83. – P. 541-553.

7. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Волошина И.Н., Грегирчак Н.Н. Использование иммобилизированных на керамзите клеток нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // Прикладная биохимия и микробиология. – 2005. – № 1 (41). – С. 58-63.

ВЫДЕЛЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ШТАММОВ L. INTESTINALIS

© Криушинская Г.В.[♣]

Ульяновский государственный педагогический университет
им. И.Н. Ульянова, г. Ульяновск

Цель исследования: изучение вирулентности (степени проявления патогенности) лямблий.

Определив патогенность штаммов *L.intestinalis* методом внутрибрюшинного заражения лабораторных животных, далее в работе мы использовали модель кишечного лямблиоза К.Т. Мое (1997) в модификации Потатуркиной-Нестеровой Н.И. Всех животных (200 крыс) разделили на 4 группы по 50 в каждой. Животных 1-й группы заражали авирулентными лямблиями, 2-й группы – со слабой выраженностью данного признака (LD_{50}/lg 2,74 ± 0,12), 3-й группы – лямблиями умеренной патогенности LD_{50}/lg 4,3 ± 0,15 и 4-й группы – с наиболее выраженными свойствами (LD_{50}/lg 5,38 ± 0,14). Заражение производили во всех случаях вегетаивными формами лямблий. Животным контрольной группы (50 крыс) вводили per os только стериль-

♣ Соискатель кафедры Зоологии, преподаватель кафедры Гуманитарных и социально-экономических дисциплин Российского государственного гуманитарного университета.