Т.П. Пирог^{1,2}, І.В. Савенко¹, Д. А. Луцай¹,
Т.А. Шевчук², Г.О. Іутинська²

¹ Національний університет харчових технологій,

вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

² Інститут мікробіології і вірусології НАН України,

вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

РОЛЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 У РУЙНУВАННІ БІОПЛІВОК

Мета. Дослідити здатність поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих за умов росту *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на різних субстратах (етанол, гліцерин, н-гексадекан), руйнувати біоплівки деяких бактерій і дріжджів. **Методи.** ПАР екстрагували з супернатанту культуральної рідини сумішшю хлороформу і метанолу (2:1). Ступінь руйнування біоплівки визначали як різницю між кількістю адгезованих клітин у необроблених і оброблених ПАР лунках полістиролового планшету з попередньо сформованою біоплівкою тест-культури і виражали у відсотках. Кількість адгезованих клітин визначали спектрофотометричним методом. **Результати.** Встановлено залежність ступеня руйнування біоплівок під впливом ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 від природи джерела вуглецю у середовищі культивування продуцента, концентрації поверхнево-активних речовин у препаратах і типу тест-культури. Ступінь руйнування біоплівки *Escherichia coli* IEM-1 за дії поверхнево-активних речовин, синтезованих на усіх досліджуваних субстратах, практично не відрізнявся і становив 25–53% залежно від концентрації ПАР (0,04–1,28 мг/мл). Деструкція біоплівки *Bacillus subtilis* БТ-2 досягала 71–86 % після внесення ПАР (0,16–0,64 мг/мл), одержаних на етанолі і гліцерині. Максимальне руйнування біоплівки *Staphylococcus aureus* БМС-1 (69–88%) і *Candida albicans* Д-6 (до 42 %) спостерігали за наявності ПАР (0,32–1,28 мг/мл), утворених на н-гексадекані. **Висновки.** Ефективні концентрації ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, що забезпечують високий ступінь руйнування бактеріальних біоплівок, перебувають у межах, визначених для відомих у світі мікробних ПАР. Одержані дані засвідчують необхідність досліджень впливу умов культивування продуцента на біологічні властивості синтезованих ПАР.

Ключові слова: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, поверхнево-активні речовини, руйнування біоплівки, умови культивування.

Поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження широко використовуються у різних галузях промисловості [1]. Завдяки антимікробним і антиадгезивним властивостям перспективним є застосування мікробних ПАР у біології та медицині як альтернативи синтетичним дезінфікуючим засобам або лікарським препаратам, а також у сільському господарстві для контролю чисельності фітопатогенів [2–4].

Літературні дані останніх років засвідчують, що ПАР, синтезовані бактеріями (*Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*) та дріжджами (*Saccharomyces*), здатні не лише попереджувати адгезію мікроорганізмів на різних матеріалах, а й руйнувати утворені на них біоплівки [5–8].

Раніше [9] нами було встановлено, що поверхнево-активним речови-

нам *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 притаманні антиадгезивні властивості: у концентрації 0,003–0,009 мг/мл вони здатні знижувати адгезію деяких бактерій (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* БТ-2), дріжджів (*Candida albicans* Д-6) та мікроміцетів (*Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7) на абіотичних (пластик, скло, кахель, лінолеум) та біотичних (катетери, зубні протези) матеріалах на 60–75, 55–90 та 35–45% відповідно.

Пізніше [9] було встановлено залежність антиадгезивної активності ПАР від наявності у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 факторів росту і певних мікроелементів, а також від природи джерела вуглецевого живлення. Адгезія бактерій (*E. coli* IEM-1, *B. subtilis* БТ-2) і дріжджів (*C. albicans* Д-6) на пластику, кахлі, лінолеумі та сталі була мінімальною (25–35%) після обробки поверхонь препаратами ПАР (0,005 мг/мл), синтезованими на етанолі за присутності дріжджового автолізу та мікроелементів. Заміна дріжджового автолізу і суміші мікроелементів у складі етанол- і *n*-гексадеканвмісних середовищ на сульфат міді й сульфат заліза, а у середовищі з гліцерином – на KCl, сульфат цинку і сульфат міді супроводжувалася зниженням антиадгезивної активності синтезованих ПАР.

Мета даної роботи – дослідити здатність ПАР, синтезованих за умов росту *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на різних субстратах (етанол, гліцерин, *n*-гексадекан), руйнувати біоплівки деяких бактерій і дріжджів.

Матеріали і методи. Об'єкт досліджень – штам *Acinetobacter calcoaceticus* K-4, зареєстрований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером IMB B-7241.

Штам *A. calcoaceticus* IMB B-7241 вирощували в рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ – 0,35; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; NaCl – 1,0; Na_2HPO_4 – 0,6; KH_2PO_4 – 0,14; вода дистильована – до 1 л, рН 6,8–7,0. У середовище додатково вносили дріжджовий автолізат – 0,5% (об'ємна частка) і розчин мікроелементів – 0,1% (об'ємна частка) (г/100 мл): $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,1; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0,6; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,004; $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,03; H_3BO_3 – 0,006; KI – 0,0001; ЕДТА (Трилон Б) – 0,5 [10].

Джерело вуглецю та енергії в середовищі культивування – етанол, *n*-гексадекан (2%, об'ємна частка) і гліцерин (1%, об'ємна частка).

Як інокулянт використовували культуру в середині експоненційної фази росту, вирощену у середовищі наведеного вище складу з $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ без дріжджового автолізу та розчину мікроелементів. При отриманні посівного матеріалу джерелом вуглецю у середовищі слугували етанол, *n*-гексадекан та гліцерин в концентрації 0,5% (об'ємна частка). Кількість інокулянту становила 5% від об'єму середовища культивування (10^4 – 10^5 клітин/мл). Культивування бактерій здійснювали в колбах об'ємом 750 мл із 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30°C упродовж 120 год.

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини у вигляді супернатанту культуральної рідини і розчину ПАР, екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1), як описано раніше [9].

Як тест-культури для утворення біоплівки використовували бактерії *Bacillus subtilis* БТ-2, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Staphylococcus aureus* БМС-1 і дріжджі *Candida albicans* Д-6 з колекції живих культур кафедри біотехнології та мікробіології Національного університету харчових технологій.

Дослідження впливу ПАР на руйнування біоплівки здійснювали як описано у роботі [11]. Для формування біоплівки у полістиролові мікропланшети вносили 180 мкл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) чи рідкого сусла та 20 мкл суспензії одностодової тест-культури, інкубували упродовж 24 год при оптимальній для тест-культури температурі, після чого зливали культуральну рідину, вносили 180 мкл свіжого МПБ (рідкого сусла) і 20 мкл суспензії тест-культури і ще інкубували упродовж наступних 24 год. У роботі [11] встановлено, що такого вирощування упродовж 48 год достатньо для формування біоплівки у лунках мікропланшети. Через 48 год культуральну рідину зливали, а в лунки мікропланшета (з попередньо сформованою на них біоплівкою тест-культури) вносили по 200 мкл препаратів ПАР різної концентрації (0,005–1,28 мг/мл). У контрольні варіанти (лунки) замість препаратів ПАР вносили стерильну водопровідну воду (200 мкл). Через 24 год експозиції лунки тричі промивали 200 мкл дистильованої води і визначали кількість адгезованих клітин спектрофотометричним методом так само, як і в дослідженнях антиадгезивних властивостей [9, 11]. Ступінь руйнування біоплівки (%) визначали як різницю між адгезією клітин у необроблених і оброблених ПАР лунках полістиролового планшета.

Усі досліді проводили в 3 повторах, кількість паралельних визначень в експериментах становила 3–5. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за Лакінім [12]. Відмінності середніх показників вважали достовірними на рівні значущості $p < 0,05$.

Результати та обговорення. На першому етапі досліджували здатність ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих на різних вуглецевих субстратах, руйнувати біоплівку *E. coli* ІЕМ-1 (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив природи джерела вуглецю в середовищі культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на здатність синтезованих ПАР руйнувати біоплівку *E. coli* ІЕМ-1

Джерело вуглецю в середовищі	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мг/мл)					
		0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
Етанол	супернатант	31	41	42	49	51	53
	розчин ПАР	33	37	39	39	47	49
Гліцерин	супернатант	25	35	37	37	41	37
	розчин ПАР	31	33	35	35	37	41
<i>n</i> -Гексадекан	супернатант	25	27	29	29	31	37
	розчин ПАР	39	43	43	45	47	47

Дані, наведені у табл. 1, показали, що незалежно від природи джерела вуглецю (етанол, гліцерин, *n*-гексадекан) і ступеня очищення (супернатант, розчин ПАР) всі препарати ПАР у концентрації 0,04–1,28 мг/мл руйнували біоплівку *E. coli* ІЕМ-1 на 25–53%, причому ступінь руйну-

вання підвищувався зі збільшенням концентрації ПАР у препаратах. Слід зазначити, що ефективнішими щодо *E. coli* ІЕМ-1 виявилися препарати ПАР, синтезовані на етанолі. Максимальний ступінь руйнування біоплівки після обробки супернатантом і розчином ПАР (1,28 мг/мл) становив 53 % і 49% відповідно.

Подальші дослідження показали, що препарати ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за концентрації 0,04–1,28 мг/мл руйнували на 25–88% біоплівку *S. aureus* БМС-1 (табл. 2). Найвищий ступінь деструкції (88%) був досягнутий за наявності розчину ПАР (1,28 мг/мл), синтезованих на *n*-гексадекані. Зазначимо, що вже за концентрації 0,04 мг/мл таких ПАР спостерігали руйнування біоплівки тест-культури на 54–58% (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив препаратів ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих на різних субстратах, на деструкцію біоплівки *S. aureus* БМС-1

Джерело вуглецю у середовищі	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мг/мл)					
		0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
Етанол	супернатант	25	19	27	31	38	42
	розчин ПАР	31	35	46	50	54	54
Гліцерин	супернатант	31	42	54	58	62	65
	розчин ПАР	42	56	50	54	58	62
<i>n</i> -Гексадекан	супернатант	54	58	61	62	69	73
	розчин ПАР	58	65	67	69	73	88

Препарати ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 виявилися ефективнішими деструкторами біоплівки *S. aureus*, ніж рамноліпіди *Pseudomonas aeruginosa* LBI та ліпопептиди представників роду *Bacillus* [5, 13]. Так, ПАР штаму ІМВ В-7241, синтезованих на *n*-гексадекані, за концентрації 1,28 мг/мл руйнували біоплівку тест-культури на 88% (табл. 2), а ступінь руйнування біоплівки *S. aureus* за вищих на порядок концентрацій (10 мг/мл) рамноліпідів *P. aeruginosa* LBI та сурфактину *B. subtilis* RT7 (5 мг/мл) становив всього 63 і 58% відповідно. Sriram із співавт. [5] досліджували здатність ліпопептидів *Bacillus cereus* NK1 руйнувати утворені *Staphylococcus epidermidis* PI5 біоплівки на полістироловій поверхні. Експерименти показали, що через 2 год ліпопептиди (5,0–15,0 мг/мл) порушували цілісність біоплівки в середньому на 25–55%. Найвищого ступеня руйнування біоплівок *S. epidermidis* PI5 (54–58%) вдалося досягти за використання максимальної (15 мг/мл) з досліджуваних концентрацій препаратів ПАР [5].

На відміну від деструкції біоплівок *E. coli* ІЕМ-1 та *S. aureus* БМС-1 (табл. 1 і 2) ступінь руйнування біоплівки *B. subtilis* БТ-2 за наявності синтезованих на етанолі та гліцерині ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 у концентрації 0,04, 0,16 і 0,64 мг/мл був значно вищим і становив 51–55, 61–71 та 83–87% відповідно (табл. 3).

Таблиця 3

**Деструкція біоплівки *B. subtilis* БТ-2 за дії ПАР
A. calcoaceticus IMB B-7241**

Джерело вуглецю в середовищі	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мг/мл)					
		0,02	0,04	0,08	0,16	0,32	0,64
Етанол	супернатант	39	53	69	71	74	83
	розчин ПАР	51	54	69	71	77	86
Гліцерин	супернатант	40	51	54	63	69	84
	розчин ПАР	52	55	58	61	63	87
<i>n</i> -Гексадекан	супернатант	43	46	51	55	57	60
	розчин ПАР	Н.в.	15	23	31	40	43

У той же час за дії ПАР, синтезованих на *n*-гексадекані, деструкція біоплівки *B. subtilis* БТ-2 була нижчою (15–60%) в порівнянні з такою поверхнево-активних речовин, одержаних на етанолі й гліцерині, причому супернатант виявився ефективнішим у порівнянні з розчином ПАР аналогічної концентрації: руйнування біоплівки на 43–60 і 15–43% відповідно (табл. 3).

Зазначимо, що концентрація рамноліпідів *P. aeruginosa* LCD12, яка спричиняє руйнування біоплівки *B. subtilis* RI6 на полістироловій поверхні на 50%, становила 0,064 мг/мл [14]. Такий самий супінь деструкції біоплівки *B. subtilis* БТ-2 за дії ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на етанолі й гліцерині, досягався за їх нижчої концентрації (0,02–0,04 мг/мл) (табл. 3).

Поверхнево-активні речовини *Saccharomyces cerevisiae* D3 у концентрації 0,1 мг/мл спричиняли руйнування біоплівки *B. subtilis* BT37 всього на 30% [8]. Порівняння ПАР *S. cerevisiae* D3 із додецилсульфатом натрію (sodium dodecyl sulphate, SDS), який широко використовується як компонент дезінфікуючих засобів, показало, що за вищих (до 1,0 мг/мл) концентрацій SDS спостерігали руйнування біоплівки *C. albicans* CA107 на 30, а *B. subtilis* BT37 – на 40 % [8].

На останньому етапі досліджень аналізували вплив ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на деструкцію біоплівки *C. albicans* Д-6. Експерименти показали, що за дії ПАР (0,04–1,28 мг/мл), синтезованих на етанолі, деструкція дріжджової біоплівки не відбувалася. ПАР, утворені на гліцерині і *n*-гексадекані, у максимальній з досліджуваних концентрацій (1,28 мг/мл) спричиняли руйнування біоплівки на 13–42% (табл. 4).

Таблиця 4

**Здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241
до деструкції біоплівки *C. albicans* Д-6**

Джерело вуглецю в середовищі	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мг/мл)					
		0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28
Гліцерин	супернатант	–	–	–	–	13	13
	розчин ПАР	3	3	13	22	22	32
<i>n</i> -Гексадекан	супернатант	3	3	13	22	22	32
	розчин ПАР	13	13	22	32	32	42

Примітка. «–» – руйнування біоплівки не спостерігалось.

Можливо, для ефективнішої деструкції дріжджової біоплівки необхідна вища концентрація ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241. Так, Turbhekar із співавт. [6] встановили, що рамноліпіди *P. aeruginosa* RT руйнували біоплівку дріжджів *C. albicans* BT107 на 70% за суттєво вищої концентрації ПАР (25–100 мг/мл). У роботі [15] показано, що ПАР, синтезовані *Lactobacillus* sp. CV8LAC, у концентрації 800 мкг/мл руйнували на 70% утворену на полістироловій поверхні біоплівку *C. albicans* CA-2894 і *C. albicans* DSMZ 11225. Зазначимо, що це перші дослідження, в яких поверхнево-активні речовини *L. acidophilus* проявили таку високу здатність до порушення структури біоплівки на біотичній поверхні. Продовженням роботи [15] стала праця [7], в якій встановлено здатність препаратів ПАР (10–1000 мкг/мл) *L. acidophilus* ATCC 4356 руйнувати біоплівку дріжджів роду *Candida*. За концентрації ПАР 100 мкг/мл спостерігали деструкцію біоплівки *C. albicans* SDC284 на 55% [7]. Таким чином, суттєвою перевагою ПАР молочнокислих бактерій є достатньо низька концентрація, необхідна для руйнування біоплівки. Проте зазначимо, що молочнокислі бактерії є неефективними продуцентами ПАР: кількість синтезованих ПАР зазвичай не перевищує 100 мг/л. Крім того, для їх одержання необхідні досить дорогі поживні середовища.

Зазначимо, що ефективні концентрації мікробних ПАР, які забезпечують зниження адгезії мікроорганізмів на різних поверхнях і руйнування біоплівок, суттєво різняться: для прояву антиадгезивних властивостей ПАР необхідні значно нижчі (навіть на порядки) концентрації поверхнево-активних речовин. Так, наприклад, наші дослідження показали, що зниження кількості прикріплених бактерій і дріжджів на 55–90% спостерігали у разі обробки поверхонь ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 у концентрації 0,003–0,009 мг/мл [9], у той час як руйнування біоплівок цих же мікроорганізмів на 40–60% спостерігали за дії ПАР у концентрації до 0,64–1,28 мг/мл (табл. 1–3). У роботі [16] зазначається, що концентрація ПАР *Lactobacillus jensenii* 25258 і *Lactobacillus rhamnosus* 7469, яка забезпечує зниження на 40–50% адгезії клінічних ізолятів *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* і *S. aureus* на полістиролі, становила 25–50 мг/мл, а концентрація, необхідна для руйнування на 30–50% біоплівки цих же бактерій, була удвічі вищою.

Крім того, одержані нами результати показують, що здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 до руйнування біоплівок залежить від умов культивування продуцента, зокрема від природи джерела вуглецю у поживному середовищі. Зазначимо, що у доступній літературі нам не вдалося знайти подібну інформацію.

Отже, в результаті проведеної роботи встановлено, що ефективні концентрації ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, які забезпечують високий ступінь руйнування бактеріальних біоплівок, перебувають у межах, визначених для відомих у світі мікробних ПАР. Одержані дані засвідчують необхідність досліджень впливу умов культивування продуцента на біологічні властивості синтезованих ПАР.

**Т.П. Пирог^{1,2}, И.В. Савенко¹, Д. А. Луцай¹,
Т.А. Шевчук², Г.А. Иутинская²**

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

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

РОЛЬ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 В РАЗРУШЕНИИ БИОПЛЕНОК

Резюме

Цель. Исследовать способность поверхностно-активных веществ (ПАВ), синтезированных *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на различных субстратах (этанол, глицерин, *n*-гексадекан), разрушать биопленки некоторых бактерий и дрожжей. **Методы.** ПАВ экстрагировали из супернатанта культуральной жидкости смесью хлороформа и метанола (2:1). Степень разрушения биопленки определяли как разницу между количеством адгезированных клеток в необработанных и обработанных ПАВ лунках полистиролового планшета с предварительно сформированной биопленкой тест-культуры и выражали в процентах. Количество адгезированных клеток определяли спектрофотометрическим методом. **Результаты.** Установлена зависимость степени разрушения биопленок в присутствии ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241 от природы источника углерода в среде культивирования продуцента, концентрации поверхностно-активных веществ в препаратах и типа тест-культуры. Степень разрушения биопленки *Escherichia coli* IEM-1 в присутствии ПАВ, синтезированных на всех исследуемых субстратах, практически не отличалась и составляла 25–53% в зависимости от концентрации ПАВ (0,04–1,28 мг/мл). Деструкция биопленки *Bacillus subtilis* БТ-2 достигала 71–86% после внесения ПАВ (0,16–0,64 мг/мл), полученных на этаноле и глицерине. Максимальное разрушение биопленки *Staphylococcus aureus* БМС-1 (69–88%) и *Candida albicans* Д-6 (до 42%) наблюдалось в присутствии ПАВ (0,32–1,28 мг/мл), синтезированных на *n*-гексадекане. **Выводы.** Эффективные концентрации ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, обеспечивающие высокую степень разрушения бактериальных биопленок, находятся в пределах, установленных для известных в мире микробных ПАВ. Полученные данные свидетельствуют о необходимости исследований влияния условий культивирования продуцента на биологические свойства синтезированных ПАВ.

Ключевые слова: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, поверхностно-активные вещества, разрушение биопленки, условия культивирования.

THE ROLE OF *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241 SURFACTANTS IN BIOFILMS DESTRUCTION

Summary

Aim. To study the ability of surface-active agents (surfactants) synthesized *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on various substrates (ethanol, glycerol, n-hexadecane), destroy a biofilm certain bacteria and yeasts. **Methods.** Surfactants were extracted from supernatant of cultural liquid by mixture of chloroform and methanol (2: 1). The degree of biofilm destruction was determined as difference between the number of adhered cells in untreated and treated with surfactant holes of polystyrene immunological plate containing pre-formed biofilm of test cultures and was expressed as a percentage. The number of adherent cells was determined by spectrophotometrically. **Results.** The dependence of degree of biofilms destruction in the presence of *A. calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants on the nature of carbon source in medium of producer cultivation, concentration of surfactants in the preparations and test culture type was established. Degree of *Escherichia coli* IEM-1 biofilm destruction in the presence of surfactants synthesized on all tested substrates practically did not differ and was 25–53% depending on the concentration of the surfactants (0,04–1,28 mg/ml). *Bacillus subtilis* BT-2 biofilm destruction reached 71–86% after addition of surfactants (0,16–0,64 mg/ml) obtained on ethanol and glycerol. Maximum destruction of *Staphylococcus aureus* BMS-1 biofilm (69–88%) and *Candida albicans* D-6 (42%) was observed in the presence of surfactants (0,32–1,28 mg/ml) synthesized on n-hexadecane. **Conclusions.** The effective concentrations of *A. calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants, providing a high degree of bacterial biofilms destruction are comparable to those of the known microbial surfactants. The obtained data indicates the need for research the influence of producer cultivation conditions on the biological properties of final product.

Keywords: *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, surfactants, destruction of the biofilm, cultivation conditions.

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. Cawoy H., Debois D., Franzil L., De Pauw E., Thonart P., Ongena M. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *subtilis/amyloliquefaciens*. Microb. Biotechnol. 2015; 8(2):281–295. doi: 10.1111/1751-7915. 12238.
3. Meena K.R., Kanwar S.S. Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: applications in food safety and therapeutics. Biomed. Res. Int. 2015. doi: org/10.1155/2015/473050.
4. Padmapriya B., Suganthi S. Antimicrobial and anti adhesive activity of purified biosurfactants produced by *Candida species*. Middle-East J. Sci. Res. 2013; 14(10): 1359–1369. doi: 10.5829/idosi. mejsr.2013.14.10.73221.
5. Sriram M.I., Kalishwaralal K., Deepak V, Gracerosepat R., Srisakthi K., Gurunathan

- S. Biofilm inhibition and antimicrobial action of lipopeptide biosurfactant produced by heavy metal tolerant strain *Bacillus cereus* NK1. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2011; 85(2): 174–181.
6. Turbhekar R., Malik N., Dey D., Thakare D. Disruption of *Candida albicans* biofilms by rhamnolipid obtained from *Pseudomonas aeruginosa* RT. *IJR SB*. 2015; 3(3): 73–78.
7. Vilela S.F., Barbosa J.O., Rossoni R.D., Santos J.D., Prata M.C., Anbinder A.L., Jorge A.O., Junqueira J.C. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 inhibits biofilm formation by *C. albicans* and attenuates the experimental candidiasis in *Galleria mellonella*. *Virulence*. 2015; 6(1): 29–39.
8. Jolly M.J. Inhibitory effect of biosurfactant purified from probiotic yeast against bio-film producers. *IOSR-JESTFT*. 2013; 6(1): 51–55.
9. 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(6), 732–739.
10. Pirog T.P., Savenko I.V., Shevchuk T.A. [Effect of cultivation conditions of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on surfactants antiadhesive properties]. *Microbiol. Zh.* 2016; 78(1): 2–12. Russian.
11. Gomes M-Z.V., Nitschke M. Evaluation of rhamnolipids surfactants as agents to reduce the adhesion of *Staphylococcus aureus* to polystyrene surfaces. *Lett. Appl. Microbiol.* 2012; 49(1): 960–965.
12. Lakin, G.F. [Biometriya] (Biometry), Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 352 p. Russian.
13. Gomes M-Z.V., Nitschke M. Evaluation of rhamnolipid and surfactin to reduce the adhesion and remove biofilms of individual and mixed cultures of food pathogenic bacteria. *Food Control*. 2012; 25(2): 441–447.
14. Das P., Yang X-P., Ma L.Z. Analysis of biosurfactants from industrially viable *Pseudomonas* strain isolated from crude oil suggests how rhamnolipids congeners affect emulsification property and antimicrobial activity. *Front. Microbiol.* 2014. doi: 10.3389/fmicb.2014.00696.
15. Fracchia L., Cavallo M., Allegrone G., Martinotti M.G. A *Lactobacillus* – derived biosurfactant inhibits biofilm formation of human pathogenic *Candida albicans* biofilm producers. In: Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology (Ed. Mendez-Vilas A.). Formatex Research Center. 2010, P. 827–837.
16. Sambanthamoorthy K, Feng X, Patel R, Patel S, Parnavitana C. Antimicrobial and antibiofilm potential of biosurfactants isolated from lactobacilli against multi-drug-resistant pathogens. *BMC Microbiol.* 2014. doi: 10.1186/1471-2180-14-197.

Отримано 18.06.2016